

## บทที่ 4

### การทดลอง และแผนการดำเนินงาน

#### 4.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. Hot Plate (พร้อมเครื่องควบคุมอุณหภูมิ)
2. เครื่องวัดความหนืด (Model DV-I+ viscosity, Brookfield ENG. LAB INC., USA)
3. เครื่องวัด solid (Refractometer)
4. เครื่องกวนผสม (Stirrer)
5. เทอร์โมมิเตอร์
6. เครื่องวัดความแข็งแรงของผิวหน้ากระดาษ  
(IGT testing system Model AIC2-5, IGT Amsterdam LTD, Holland)
7. กล้องจุลทรรศน์ (Microscope Model SMZ-2T Nikon, Japan)
8. Scanning electron microscope (SEM, JSM-6490LV, Jeol, Japan)
9. Spectrophotometer (Model V-530, Jasco Cooperation, USA)
10. เครื่องเคลือบผิวหน้ากระดาษ (Model M202, K control coater, Japan)

#### 4.2 วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1: ศึกษาแนวโน้มของค่าความหนืดและโครงสร้างภายในของน้ำแป้งที่ได้รับผลมาจากปัจจัยต่างๆ

ในการย่อย และหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยแป้งเพื่อใช้ในการฉาบผิวหน้ากระดาษ

1. ต้มน้ำในหม้อต้มให้ได้อุณหภูมิ 70°C โดยใช้เครื่องควบคุมอุณหภูมิรักษาอุณหภูมิให้คงที่
2. นำแป้ง 31.1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์และเติมน้ำให้ได้ 400 กรัม ใส่เอนไซม์ (0.1%v/v) 1 มิลลิลิตร แล้ว นำไปใส่ในหม้อต้ม เพื่อทำการย่อยแป้งให้สุก โดยใช้เวลาในการย่อย 10 นาที
3. เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด ให้เติมสารไฮโปคลอไรต์ 1.3 มิลลิลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา
4. นำน้ำแป้งต้มสุกที่ได้มาทำการหาค่าความหนืด ด้วย เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Model DV-I+ viscosity)
5. นำน้ำแป้งที่ได้มาฉาบที่ผิวหน้ากระดาษให้มีความหนาประมาณ 3 แกรม ด้วยเครื่องเคลือบด้วยมือ รุ่น K control coater (การควบคุมความหนาของน้ำแป้งทำได้โดยทำการเคลือบแป้งที่กระดาษครั้งแผ่น และไม่ผ่านการเคลือบครั้งแผ่น จากนั้นนำไปหาค่าหน้าหนักต่อพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร ความต่างของน้ำหนักคือ แกรมที่ได้จากการเคลือบ) คุณสมบัติของกระดาษและวิธีการฉาบผิวดังภาคผนวก ก, ข และทำการหาความแข็งแรงของผิวหน้ากระดาษด้วยเครื่อง IGT testing วิธีการทดสอบดังภาคผนวก ค

6. ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนปริมาณของเอนไซม์เป็น 3 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร หลังจากทำการทดลองครบทั้ง 3 ปริมาณ ให้ทำการเปลี่ยนเวลาในการย่อยเป็น 20 นาที และ 30 นาที
7. ทำการทดลองตั้งแต่ข้อ 1-6 ซ้ำโดยเปลี่ยนอุณหภูมิในการย่อยเป็น 80°C และ 90°C โดยสภาวะทั้งหมดแสดงตามตารางที่ 7 และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ในทุกๆ สภาวะ
8. ทำการตรวจสอบสภาวะที่ส่งผลให้เกิดค่าความแข็งแรงที่ผิวหนังกระดาดาศดีที่สุด

ตอนที่ 2 : ศึกษาโครงสร้างภายในของน้ำแป้งต้มสุกด้วยกล้องจุลทรรศน์

1. นำน้ำแป้งต้มสุก 0.5 มิลลิลิตร ลงบน cover slide
2. หยดไอโอดีน ที่มีความเข้มข้น 0.05 N แล้วใช้ cover glass เชียให้สารละลายไอโอดีนกระจายทั่วทั้งน้ำแป้ง และปิดสารตัวอย่างด้วย cover glass
3. ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย X100 และทำการถ่ายด้วยกล้อง digital ที่มีกำลังขยาย 2 เท่า

ตอนที่ 3 : ศึกษาโครงสร้างภายในของน้ำแป้งด้วย Scanning electron microscope (SEM)

1. นำกระดาดาศที่ผ่านการฉาบผิวหนังด้วยน้ำแป้งสุกที่ต้มที่สภาวะที่ดีที่สุดจากตอนที่ 1 มาทำการถ่ายภาพด้วยกำลังขยายประมาณ 500 เท่า เพื่อศึกษาลักษณะของผิวหนังกระดาดาศ โดยวิธีการเตรียมตัวอย่างและการทดสอบดังภาคผนวก ง

ตอนที่ 4 : ศึกษาการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำแป้งต้มสุกที่ได้จากสภาวะต่างๆตามตอนที่ 1 ด้วยวิธี

Dinitrosalicylic Acid Method (DNS)

1. ทำการเตรียมสารเคมี DNS เพื่อใช้ในการทดลอง
2. เตรียมกราฟของสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (Standard Curve)
3. นำน้ำแป้งที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 1 มาเตรียมตัวอย่างตามวิธี DNS ดังภาคผนวก จ
4. วัดค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ ทำการคำนวณและเปรียบเทียบค่าที่ได้

ตารางที่ 7 แสดงเงื่อนไขในการทดลองเพื่อหาแนวโน้มของค่าความหนืดและโครงสร้างภายในของน้ำแป้งที่ได้รับผลมาจากปัจจัยต่างๆในการต้ม

ปริมาณเอนไซม์ (มิลลิลิตร)	pH	เวลาในการต้ม (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ไฮโปคลอไรต์ (มิลลิลิตร)
1	7	10	70	1.3
1	7	10	80	1.3
1	7	10	90	1.3
1	7	20	70	1.3
1	7	20	80	1.3
1	7	20	90	1.3
1	7	30	70	1.3
1	7	30	80	1.3
1	7	30	90	1.3
3	7	10	70	1.3
3	7	10	80	1.3
3	7	10	90	1.3
3	7	20	70	1.3
3	7	20	80	1.3
3	7	20	90	1.3
3	7	30	70	1.3
3	7	30	80	1.3
3	7	30	90	1.3
5	7	10	70	1.3
5	7	10	80	1.3
5	7	10	90	1.3
5	7	20	70	1.3
5	7	20	80	1.3
5	7	20	90	1.3
5	7	30	70	1.3
5	7	30	80	1.3
5	7	30	90	1.3

