

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

1. วัตถุดิบ

- 1.1 แป้งถั่วเขียว (mung bean starch, MBS) (บริษัทสิทธิพันธ์ จำกัด ประเทศไทย)
- 1.2 กระดาษเคลือบพลาสติกสำหรับห่อหุ้มอาหาร (บริษัท เจ.ที. แพ็ค ออฟ ฟู้ดส์ จำกัด)

2. สารเคมี

- 2.1 95 % เอทานอล (95 % ethanol) (กรมสรรพสามิต กระทรวงการคลัง ประเทศไทย)
- 2.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) (Lab - Scan, Ireland)
- 2.3 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) (BDH PROLABO, Belgium)
- 2.4 กรดอะซิติก (acetic acid) (Lab - Scan, Ireland)
- 2.5 กลีเซอรอล (glycerol) (Ajax Finechem, Australia)
- 2.6 ซอร์บิทอล (sorbitol) (D - sorbitol powder (Ajax Finechem, Australia)
- 2.7 ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส อี 15 เอลวี พรีเมียม (hydroxypropylmethylcellulose E15LV; HPMC E15LV) (Methocel[®] E15LV) (Rama Production, Thailand)
- 2.8 โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) (Carlo Erba Reagenti, France)
- 2.9 น้ำมันถั่วเหลือง (บริษัทน้ำมันพืชทิพย์ จำกัด)
- 2.10 สี fast green FCF (Fluka Chemika, Steinheim, Germany)

3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.1 เครื่องดีฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริเมทรี (Differential Scanning Calorimetry) (Model DSC 822e, Mettler Toledo, Switzerland)
- 3.2 เครื่องปั๊มสารละลาย (peristaltic pump) (Model 505S, Watson - Marlow, England)
- 3.3 เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analyser) (Model TA - XT Plus, Stable Micro Systems Texture Analyser, UK)
- 3.5 เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Rheometer) (Model DV-III, Brookfield[®] Engineering, Massachusetts, USA)
- 3.6 กล้องถ่ายภาพอิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope; SEM) (Model JSM-5410LV, JEOL, Japan)
- 3.7 เครื่องหาโครงสร้างผลึกของสารด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffractometer) (Model D8 Discover, Bruker AXS, Germany)
- 3.8 เครื่องวัดความเป็นกรด - ด่าง (pH meter) (Model M 250, CORNING[®], England)
- 3.9 เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด (top loading balance) (Model A120S, BP 3100S, Sartorius[®], Germany) (Model AG135, Mettler Toledo, Switzerland)

- 3.10 เวอร์เนียคาลิเปอร์ (vernier caliper) (Mitutoyo[®], Japan)
- 3.11 เครื่องวัดความหนาผิวเคลือบ (Model MiniTest 600, ElektroPhysik, Germany)
- 3.12 ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (Model LD0 - 080F, DAIHAN LABTECH[®], Korea)
- 3.13 เครื่องปั่นกวนสารละลาย (blender, mixer) (Model RW20, IKA[®], Janke & Kunkel, Germany)
- 3.14 เครื่องปั่นเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (centrifuge) (Model Biofuge 28RS, HERAEUS[®], Germany)
- 3.15 เครื่องเขย่าสารละลาย (shaking water bath) (Model SS40 - A5, Grant, Barrington Cambridge, England)
- 3.16 เครื่องฉาบแผ่น TLC (thin - layer chromatography applicator) (DESAGA HEIDELBERG, Germany)
- 3.17 แร้งมาตรฐาน (standard sieve) (ASTM mesh no. 100, Retsch[®], W. Germany)
- 3.18 โถควบคุมความชื้น 12 นิ้ว (glass type dessicator 12")

4. วิธีดำเนินการวิจัย

4.1 การเตรียมแป้งถั่วเขียวดัดแปรโดยใช้ด่างในแอลกอฮอล์ (alcoholic - alkaline treated mung bean starch, AMS)

4.1.1 โปรงแป้งถั่วเขียว (mung bean starch; MBS) จำนวน 200 g ลงใน 40% v/v เอทานอล 1,800 g คนให้เข้ากันเป็นเวลา 15 นาที

4.1.2 เติม 3.0 โมลาร์ (molar, M) โซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 600 g โดยใช้เครื่อง peristaltic pump ด้วยอัตรา 20 g ต่อนาที ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นกวนสารละลายเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 60 % v/v เอทานอล จำนวน 800 g และผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 15 นาที

4.1.3 เติม 2.0 M กรดไฮโดรคลอริกใน 40 % v/v เอทานอล จำนวน 400 g โดยใช้เครื่อง peristaltic pump ด้วยอัตรา 20 g/min และผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องปั่นกวนสารละลาย

4.1.4 แยกของเหลวส่วนใสออกจากตะกอนแป้ง เติม 40 % v/v 1,800 g แล้วเติม 40 % v/v เอทานอล ลงในตะกอนแป้ง 400 g ปั่นกวนสารละลายให้เข้ากัน

4.1.5 เติม 1.0 M กรดอะซิติกใน 40 % v/v เอทานอล 200 g และผสมให้เข้ากัน

4.1.6 เติม 95 % เอทานอล 400 g ลงในตะกอนแป้ง ปั่นกวนสารละลายให้เข้ากัน

4.1.7 กรองแยกตะกอนแป้ง แล้วเติม 95 % เอทานอล 400 g คนให้ทั่ว จากนั้นกรองแยกตะกอนแป้งใส่ลงในภาชนะแบนเลต

4.1.8 นำแป้งที่ได้ไปอบที่ตู้อบลมร้อน (hot air oven) อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำแป้งที่ได้ไปบดให้ละเอียดด้วยโกร่ง แล้วนำไปผ่านแร้งมาตรฐาน เบอร์ 100 mesh ที่รูเปิดขนาด 150 ไมครอน

4.2 การศึกษาคุณสมบัติของแป้งถั่วเขียวดัดแปร

4.2.1 ลักษณะภายนอก

ศึกษาลักษณะขนาดและรูปร่างของแป้งถั่วเขียวดัดแปร โดยการโปรงผงแป้งลงบนสไลด์แล้วเคลือบด้วยทอง (gold) นำไปตรวจดูด้วยกล้องถ่ายภาพอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) ทำการเปรียบเทียบภาพถ่ายที่ได้กับแป้งถั่วเขียว

4.2.2 คุณสมบัติด้านอุณหภูมิ

ศึกษาอุณหภูมิที่ทำให้แป้งถั่วเขียวคั่วคั่วแปรเกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะจากของแข็งกลายเป็นเจล (gelatinization temperature; Tg.) โดยใช้เครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริเมทรี (differential scanning calorimetry; DSC) และใช้ถาดอลูมิเนียม (aluminium pan) ขนาด 40 ไมโครลิตร ทำการทดสอบโดยชั่งตัวอย่างแป้งถั่วเขียวคั่วแปร น้ำหนัก 3.0 - 3.5 มิลลิกรัม ใส่ในถาดอลูมิเนียมบนเครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด 5 ตำแหน่ง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 7 ไมโครลิตร ปิดฉนวนด้วยฝาอลูมิเนียม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำถาดตัวอย่างเข้าทดสอบในเครื่อง DSC กำหนดอุณหภูมิทดสอบที่ 25 ถึง 100 °C ในอัตรา 10 °C ต่อนาที จากนั้นทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิปกติ แล้วบันทึกกราฟคุณสมบัติทางอุณหภูมิหรือเทอร์โมแกรม (thermogram) อุณหภูมิเริ่มต้น (onset Temperature; To) อุณหภูมิสูงสุด (peak Temperature; Tp) อุณหภูมิสุดท้าย (conclusion Temperature; Tc) และเอนทัลปี (enthalpy; ΔH , J/g) เปรียบเทียบเทอร์โมแกรมของแป้งถั่วเขียว จำนวนตัวอย่าง $n = 3$

4.2.3 คุณสมบัติโครงสร้างผลึก

ศึกษาโครงสร้างผลึกของแป้งถั่วเขียวคั่วแปร โดยใช้เครื่องหาโครงสร้างผลึกของสารด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (x - ray diffractometer, XRD) ด้วยรังสี copper (Cu) โดยกำหนดสภาวะที่ 40 กิโลโวลต์ 40 มิลลิแอมป์ มุมกระบอกของรังสี $2\theta = 3 - 40^\circ$ อัตราการสแกน 0.03° ต่อสเตป ที่ 0.5 วินาทีต่อสเตป ทำการเปรียบเทียบโครงสร้างผลึกของแป้งถั่วเขียวคั่วแปรกับแป้งถั่วเขียว

4.2.4 ความสามารถในการพองตัว (swelling capacity)

ศึกษาความสามารถในการพองตัวของแป้งถั่วเขียวคั่วแปรในน้ำกลั่น โดยการชั่งแป้งถั่วเขียวคั่วแปร 2.0 g ใส่ลงในกระบอกตวงขนาด 100 ml เติมน้ำกลั่นปริมาตร 80 ml เขย่านาน 5 นาที เพื่อให้แป้งกระจายตัวในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านค่าปริมาตรของแป้งถั่วเขียวคั่วแปรที่พองตัว (V) เปรียบเทียบกับแป้งถั่วเขียว จำนวนตัวอย่าง $n = 3$ แล้วคำนวณหาความสามารถในการพองตัว จากสูตร

$$\text{Swelling Capacity} = \frac{V}{V_0}$$

V_0 หาได้โดยชั่งแป้ง (mass) 30 g ใส่ลงในกระบอกตวงขนาด 100 ml เคา่ห่างจากพื้นสูง 1 นิ้ว จำนวน 100 ครั้ง แล้วอ่านค่าปริมาตรในกระบอกตวง (VT) คำนวณเป็นความหนาแน่นต่อน้ำหนัก 2 g จากสูตร

$$V_0 = 2 \times \left(\frac{VT}{\text{mass}} \right)$$

4.2.5 ความสามารถในการละลาย (solubility)

ศึกษาความสามารถในการละลายของแป้งถั่วเขียวคั่วแปรในน้ำกลั่น โดยชั่งแป้งถั่วเขียวคั่วแปร 0.25 g (W_0) ลงในหลอดทดลองพลาสติก ขนาด 50 ml เติมน้ำกลั่นจนน้ำหนักครบ 25 g (S_0) ปิดฝาหลอดทดลอง นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารละลายเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปปั่นแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงหนีศูนย์กลางที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 30 นาที นำน้ำแป้งส่วนใส (supernatant) น้ำหนัก 10 g (S_1) ใส่ลงใน petri - dish plate ชั่งน้ำหนักสารกระจายตัวก่อนอบ แล้วนำเข้าตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 100 °C นาน 4 ชั่วโมงจนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักหลังอบ หักลบด้วยน้ำหนัก petri - dish plate เปลา่ ได้ค่าน้ำหนักของแป้งถั่วเขียวคั่วแปรที่สามารถละลายได้ (W) เปรียบเทียบกับแป้งถั่วเขียว จำนวนตัวอย่าง $n = 3$ นำไปคำนวณหาความสามารถในการละลายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ จากสูตร

$$\% \text{ Solubility} = \left(\frac{W_1}{W_0} \right) \times 100$$

โดย

W_0 คือ ปริมาณแป้งทั้งหมด

W_1 คือ ปริมาณแป้งที่ละลายได้ คำนวณได้จากสูตร

$$W_1 = \left(\frac{W}{S_1} \right) \times S_0$$

โดย

W คือ แป้งที่ซึ่งได้จริงจากการละลายใน supernatant

S_0 คือ น้ำหนักของสารกระจายตัวน้ำแป้งเริ่มต้น

S_1 คือ น้ำหนักของ supernatant

4.2.6 คุณสมบัติความหนืด (viscosity)

ศึกษาความหนืดของสารกระจายตัวแป้งถั่วเขียวคั่วคั่วแปรในน้ำกลั่น โดยใช้ความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวคั่วแปรต่อน้ำกลั่นแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 3 %, 4 % และ 5 % w/w โดยค่อยๆ กระจายแป้งถั่วเขียวคั่วแปรลงในน้ำกลั่น ขณะปั่นด้วยเครื่องปั่นแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้แป้งพองตัวเต็มที่ จากนั้นนำไปวัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield® viscometer เปรียบเทียบกับแป้งถั่วเขียว จำนวนตัวอย่าง $n = 3$

4.3 การศึกษาผลของสารเพิ่มความยืดหยุ่นที่มีต่อความหนืดของสารกระจายตัวแป้งถั่วเขียวคั่วแปร

ศึกษาผลของสารเพิ่มความยืดหยุ่น 2 ชนิด ได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอล โดยแต่ละชนิดศึกษาที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 10 %, 20 % และ 30 % w/w ของน้ำหนักแป้ง โดยมีกลุ่มเปรียบเทียบ คือ แป้งถั่วเขียวคั่วแปรที่ไม่ใช้สารเพิ่มความยืดหยุ่น และใช้ hydroxypropyl methylcellulose E15LV (HPMC E15LV) เป็นสารก่อฟิล์มดินแบบ (benchmark) วิธีการเตรียมสารกระจายตัวแป้งถั่วเขียวคั่วแปร ทำโดยค่อยๆ กระจายแป้งถั่วเขียวคั่วแปรลงในน้ำกลั่น ขณะปั่นด้วยเครื่องปั่น และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่ จากนั้นเติมสารเพิ่มความยืดหยุ่นตามที่กำหนดและปั่นจนทำให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจึงนำไปวัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield® viscometer ที่อุณหภูมิห้อง จำนวนตัวอย่าง $n = 3$

4.4 การศึกษาผลของสารเพิ่มความยืดหยุ่นต่อคุณสมบัติของฟิล์มแป้งถั่วเขียวคั่วแปร

4.4.1 การเตรียมฟิล์ม

เตรียมสารกระจายตัวแป้งถั่วเขียวคั่วแปรตามวิธีการในข้อ 4.3 เทสารกระจายตัวแป้งถั่วเขียวคั่วแปรจำนวน 100 g ลงในถาดพลาสติกขนาด $15 \times 20 \text{ cm}^2$ นำไปอบที่ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลอกแผ่นฟิล์มออกจากถาด แล้วเก็บแผ่นฟิล์มที่ได้ในสภาวะที่ควบคุมภายในโถควบคุมความชื้น (dessicator) โดยมีความชื้นสัมพัทธ์ภายในเท่ากับ $40 \pm 2 \% \text{ RH}$ (Pongjanyakul, 2009) ที่อุณหภูมิห้อง

4.4.2 ความหนา (thickness)

โดยการนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้จากข้อ 4.4.1 มาวัดความหนาโดยใช้เครื่องวัดความหนาผิวเคลือบ ซึ่งแต่ละแผ่นวัด 30 จุด จำนวนตัวอย่าง $n = 3$

4.4.3 การศึกษาคุณสมบัติเชิงกล (mechanical property)

ศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของฟิล์มแป้งถั่วเขียวตัดแปรรูป ได้แก่ การต้านทานแรงเจาะ (puncture strength; PS) และความสามารถในการยืด (% elongation at break) โดยใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (texture analyzer) กำหนดสถานะของเครื่อง โดยใช้ load cell ขนาด 50 kg ชุดหัวกดเจาะ (spherical probe) แบบ 5 mm แทนยึดตัวอย่างฟิล์มที่มีช่องเปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.8 mm กำหนดความเร็วในการเคลื่อน probe ที่ 2 mm ต่อวินาที ตัวอย่างฟิล์มที่ทดสอบมีขนาด 25 x 25 mm² บันทึกค่าที่ได้จากการทดสอบ ได้แก่ แรงสูงสุด (max force; F) ที่ฟิล์มทนได้จนฉีกขาด และค่าระยะทางสูงสุด (distance; D) ที่ฟิล์มสามารถยืดได้ก่อนฉีกขาด โดยเปรียบเทียบกับฟิล์ม HPMC E15LV จำนวนตัวอย่าง n = 3 คำนวณหาค่า PS (MPa) และค่า % elongation (Bodmeier and Paeratakul, 1993; Wei, Fang, Bai, Lei, Qing, Zhen et al., 2009) จากสูตร

$$\text{Puncture Strength (MPa)} = \frac{F}{A_{cs}}$$

โดย F คือ แรงที่ใช้ในการกดของ probe สูงสุดจนฟิล์มฉีกขาด (newton; N)

A_{cs} คือ พื้นที่หน้าตัดของตัวอย่างฟิล์มซึ่งมีขนาดเท่ากับช่องเปิดของแท่นยึดฟิล์ม

($A_{cs} = 2rd$, โดย r คือ รัศมีช่องเปิดของแท่นยึดฟิล์ม และ d คือ ความหนาของฟิล์ม)

$$\% \text{ elongation (\%)} = \frac{\left(\left(\frac{r^2 + D^2}{2} \right) - r \right)}{r} \times 100$$

r = รัศมีช่องเปิดของแท่นยึดฟิล์ม

D = ค่าระยะทางสูงสุดที่ฟิล์มสามารถยืดได้ก่อนฉีกขาด (mm)

4.4.4 การศึกษาคุณสมบัติการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor permeability, WVP)

ทำได้โดยใช้ขวดทดสอบที่มีขนาด 5 ml ที่ฝาปิดรูเปิดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10.5 mm และชั่งน้ำหนักขวดทดสอบเปล่าพร้อมฝาและโอริงปิด บันทึกค่าน้ำหนักที่ชั่งได้ ใส่ silica gel (ที่ผ่านการอบไล่ความชื้นที่ 70 °C นาน 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่) น้ำหนัก 5 g บันทึกค่าน้ำหนักที่ชั่งได้จริง เก็บขวดทดสอบเข้าไว้ในภาชนะกันความชื้น ชั่งน้ำหนักตัวอย่างแผ่นฟิล์มที่ตัดด้วย cutting hole ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ½ นิ้ว บันทึกค่าน้ำหนัก และสวมตัวอย่างฟิล์มเข้ากับฝาขวดทดสอบแล้วรองทับด้วยโอริง ประกอบเข้ากับตัวขวดทดสอบ บันทึกค่าน้ำหนักที่ชั่งได้ นำขวดทดสอบเข้าทดสอบในโถควบคุมความชื้น ที่บรรจุ sodium chloride ที่อิ่มตัวด้วยน้ำที่ 75 % RH ที่อุณหภูมิห้อง นำขวดทดสอบออกมาชั่งน้ำหนักเมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที, 1, 2, 6, 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง คำนวณหาค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อพื้นที่และความหนาของแผ่นฟิล์ม ได้ค่า water vapor permeability of films (WVP) เปรียบเทียบคุณสมบัติของฟิล์มแป้งถั่วเขียวตัดแปรรูปที่สถานะต่างๆ กับฟิล์ม HPMC E15LV จำนวนตัวอย่าง n = 3 โดยใช้สูตร

$$\text{Water Vapor Permeability (g.mm / m}^2 \cdot \text{day.kPa)}$$

$$= \frac{(WVTR \times \text{Thickness of film})}{S \times (R_1 - R_2)}$$

$$\text{Water Vapor Transmission Rate (WVTR) (g / m}^2 \cdot \text{day)} = \frac{G}{t \times \text{Area}}$$

โดย

S คือ ค่าความดันไอน้ำอิ่มตัวที่ 25 °C เท่ากับ 23.76 มิลลิเมตรปรอท

(0.1333x103 pascal; Pa เท่ากับ 1 มิลลิเมตรปรอท)

R₁ คือ ค่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในโถทดสอบ เท่ากับ 75 %

R₂ คือ ค่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในขวดทดสอบ เท่ากับ 0 %

G/t คือ ความชันเป็นเส้นตรงของกราฟระหว่างน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง (g) และเวลา (24 ชั่วโมง)

Area คือ พื้นที่หน้าตัดทดสอบของฟิล์ม เท่ากับ 10.84 mm²

4.4.5 การศึกษาคุณสมบัติการดูดความชื้น (moisture uptake; MU)

โดยใช้ขวดทดสอบที่มีปริมาตร 5 ml ที่มีฝาปิดสนิท ชั่งน้ำหนักขวดทดสอบพร้อมฝาปิด นำตัวอย่างแผ่นฟิล์มที่ตัดด้วย cutting hole ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ½ นิ้ว วางเข้าไปในขวดทดสอบแล้วปิดฝาให้สนิท ชั่งน้ำหนักตัวอย่างฟิล์มพร้อมขวดทดสอบที่ชั่งได้แล้วห้กลับน้ำหนักขวดทดสอบได้น้ำหนักฟิล์ม (W₀) จากนั้นเปิดฝาขวดทดสอบแล้วนำเข้าทดสอบใน โถควบคุมความชื้นที่บรรจุ sodium chloride ที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 75 % RH ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที, 1, 2, 6, 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง นำขวดทดสอบออกจากโถควบคุมความชื้นพร้อมปิดฝาให้สนิททันที นำมาชั่งน้ำหนักแล้วห้กลับน้ำหนักขวดทดสอบได้น้ำหนักฟิล์ม (W) คำนวณหาค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นคิดเป็นร้อยละของการดูดซับความชื้นของฟิล์ม ได้ค่า moisture uptake of films (MU) เปรียบเทียบคุณสมบัติของฟิล์มแบ่งถ้วเขียวคัดแปรที่สภาวะต่างๆ กับฟิล์ม HPMC E15LV จำนวนตัวอย่าง n = 3 โดยใช้สูตร

$$\% \text{ Moisture Uptake} = \frac{(W - W_0)}{W_0} \times 100$$

4.4.6 การศึกษาการละลาย (dissolution of films)

โดยตัดฟิล์มให้มีขนาด 2.5 x 2.5 cm² ชั่งน้ำหนักของฟิล์มก่อนทดสอบ (T₀) นำฟิล์มไปทดสอบการละลายโดยวางบนชุดทดสอบ (แผ่นตะแกรง เบอร์ 100 mesh ขนาด 6 x 6 cm² ยกขอบสูงประมาณ 0.5 cm) ก่อนทดสอบทำการชั่งน้ำหนักชุดทดสอบเปล่า วางชุดทดสอบที่มีฟิล์มในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้องในบีกเกอร์ขนาด 1,000 ml (ปริมาตรน้ำกลั่น 800 ml) โดยให้ชุดทดสอบวางที่ความลึกจากผิวน้ำ 50 mm จับเวลาที่ 0 เมื่อชุดทดสอบสัมผัสน้ำกลั่น และให้นำชุดทดสอบขึ้นจากน้ำกลั่นที่เวลา 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 และ 360 นาที นำไปอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที จนน้ำหนักคงที่ นำชุดทดสอบพร้อมฟิล์มมาชั่งน้ำหนักหลังการอบ ได้ค่าน้ำหนักรวม หักกลับน้ำหนักชุดทดสอบ ได้เป็นค่าน้ำหนักฟิล์มที่เหลือ (T) นำค่าน้ำหนักที่เวลาต่างๆ ไปคำนวณหาค่าน้ำหนักฟิล์มที่ละลายออกไปคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบคุณสมบัติในการละลายของฟิล์มแบ่งถ้วเขียวคัดแปรในสภาวะต่างๆ กับฟิล์ม HPMC E15LV จำนวนตัวอย่าง n = 3 โดยใช้สูตร

$$\text{Film dissolved (\%)} = \left(\frac{T_0 - T}{T_0} \right) \times 100$$

4.4.7 การศึกษาคุณสมบัติการต้านการซึมผ่านน้ำ (water resistant)

ดัดแปลงจากวิธีของวุฒิชัย นาครักษา และ รัชฎาภรณ์ ศิริเลิศ (2540) โดยตัดฟิล์มแบ่งถั่วเขียวคั่วแปรงขนาด $2.5 \times 2.5 \text{ cm}^2$ นำมาวางบนแผ่นพลาสติกใส แล้วหยดน้ำ 1 หยด ($0.038 \pm 0.002 \text{ g}$) ลงบนฟิล์มตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ สังเกต และจับเวลาจนกระทั่งน้ำซึมทะลุผ่านแผ่นฟิล์มจนถึงผิวหน้าแผ่นพลาสติกใส โดยระยะเวลาที่น้ำซึมทะลุผ่านฟิล์มจนถึงผิวหน้าแผ่นพลาสติกใสคิดเป็นค่าความต้านทานการซึมผ่านน้ำของแผ่นฟิล์มบันทึกเป็นนาฬิกาหรือชั่วโมงเปรียบเทียบกับฟิล์ม HPMC E15LV จำนวนตัวอย่าง $n = 3$

4.4.8 การศึกษาคุณสมบัติการต้านการซึมผ่านน้ำมัน (grease resistant)

ดัดแปลงจากวิธีของวุฒิชัย นาครักษา และ รัชฎาภรณ์ ศิริเลิศ (2540) โดยการตัดฟิล์มแบ่งถั่วเขียวคั่วแปรงขนาด $2.5 \times 2.5 \text{ cm}^2$ นำมาวางบนแผ่นพลาสติกใส แล้วหยดน้ำมันถั่วเหลือง 1 หยด ($0.022 \pm 0.001 \text{ g}$) ลงบนฟิล์มตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ สังเกต และจับเวลาจนกระทั่งน้ำมันซึมทะลุผ่านแผ่นฟิล์มจนถึงผิวหน้าแผ่นพลาสติกใส โดยระยะเวลาที่น้ำมันถั่วเหลือง ซึมทะลุผ่านฟิล์มจนถึงผิวหน้าแผ่นพลาสติกใสคิดเป็นค่าความต้านทานการซึมผ่านน้ำมันของแผ่นฟิล์มบันทึกเป็นนาฬิกา หรือชั่วโมง เปรียบเทียบกับฟิล์ม HPMC E15LV จำนวนตัวอย่าง $n = 3$

4.5 การคัดเลือกฟิล์มแบ่งถั่วเขียวคั่วแปรงเพื่อนำไปเคลือบกระดาษ

การคัดเลือกฟิล์มแบ่งถั่วเขียวคั่วแปรงทำโดยเลือกฟิล์มตามคุณสมบัติที่นำมาคิดคะแนนประเมินตามคุณสมบัติของกระดาษเคลือบที่คาดว่าจะได้รับ คือ ความแข็งแรง ได้แก่ การต้านแรงเจาะ ความสามารถในการยึด การซึมผ่านไอน้ำและการละลายของฟิล์ม การให้คะแนนจะเรียงจากมากไปหาน้อย (3, 2 และ 1 คะแนน) ตามค่าคุณสมบัติที่ดีที่สุดของฟิล์ม แล้วนำมาคิดคะแนนรวมเพื่อหาฟิล์มที่เติมสารเพิ่มความยืดหยุ่นแต่ละชนิดที่มีคะแนนรวมมากที่สุด อย่างละ 1 ความเข้มข้น ในกรณีที่มีคะแนนรวมเท่ากันให้ใช้คะแนนของคุณสมบัติที่สำคัญเป็นอันดับแรกคือความแข็งแรง ได้แก่ การต้านแรงเจาะ ซึ่งกระดาษที่เคลือบฟิล์มที่ผ่านการคัดเลือกแล้วจะนำไปศึกษาคุณสมบัติต่างๆ โดยเปรียบเทียบกับกระดาษที่ไม่เคลือบและกระดาษเคลือบพลาสติกที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาดต่อไป

4.6 การศึกษาผลของสารเพิ่มความยืดหยุ่นต่อคุณสมบัติของกระดาษเคลือบฟิล์มแบ่งถั่วเขียวคั่วแปรง

4.6.1 การเตรียมกระดาษเคลือบด้วยฟิล์มแบ่งถั่วเขียวคั่วแปรง

เตรียมสารกระจายตัวแบ่งถั่วเขียวคั่วแปรงตามวิธีการในข้อ 4.3 และวิธีการเคลือบกระดาษดัดแปลงจาก Guillaume และคณะ (2010) โดยก่อนเคลือบนำกระดาษโดยจุ่มน้ำเพื่อให้กระดาษพองตัวและไม่ย่นในระหว่างการเคลือบ รองด้วยแผ่นพลาสติกใสที่วางซ้อนบนกระดาษ ด้านบนกระดาษวางแผ่นพลาสติกใสที่เจาะรูตรงกลางขนาด $20 \times 20 \text{ cm}^2$ (ความหนา 3 ระดับ) เทสารกระจายตัวแบ่งถั่วเขียวคั่วแปรงจำนวน 10, 15, 20 g (เพื่อเคลือบกระดาษที่ระดับความหนาแตกต่างกัน 3 ระดับ) แล้วใช้เครื่องฉาบบน TLC (thin - layer chromatography applicator) เคลือบสารกระจายตัวแบ่งถั่วเขียวคั่วแปรงให้เสมอกัน นำไปอบที่อุณหภูมิร้อนอุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 30 นาที จนแห้ง จากนั้นลอกแผ่นกระดาษเคลือบแบ่งถั่วเขียวคั่วแปรงออกจากแผ่นพลาสติก เก็บในโถควบคุมที่มีความชื้นสัมพัทธ์ภายในเท่ากับ $40 \pm 2 \% \text{ RH}$ (Pongjanyakul, 2009) ที่อุณหภูมิห้อง จำนวนตัวอย่าง $n = 3$

4.6.2 ความหนา

โดยการนำตัวอย่างกระดาษเคลือบฟิล์มแป้งถั่วเขียวคั่วแปรที่ได้จากข้อ 4.6.1 มาวัดความหนาโดยใช้เครื่องวัดความหนาผิวเคลือบ ซึ่งแต่ละแผ่นทำการวัด 30 จุด เปรียบเทียบกับกระดาษที่ไม่เคลือบและกระดาษเคลือบพลาสติก จำนวนตัวอย่าง $n = 3$

4.6.3 การศึกษาคุณสมบัติเชิงกล

ศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษเคลือบฟิล์มแป้งถั่วเขียวคั่วแปร ได้แก่ การต้านทานแรงเจาะ (PS) และความสามารถในการยืด (% elongation) โดยใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส กำหนดสภาวะของเครื่องโดยใช้ load cell ขนาด 5 kg ชุดหัวกดเจาะ (spherical probe) แบบ 5 mm แทนยึดตัวอย่างที่มีช่องเปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.8 mm ความเร็วในการเคลื่อน probe ที่ 2 mm ต่อวินาที ตัวอย่างของกระดาษที่ทดสอบมีขนาด $25 \times 25 \text{ mm}^2$ บันทึกค่าที่ได้จากการทดสอบ ได้แก่ ค่าแรงสูงสุดที่กระดาษทนได้จนฉีกขาด และค่าระยะทางสูงสุดที่กระดาษสามารถยืดได้ก่อนฉีกขาด เปรียบเทียบกับกระดาษที่ไม่เคลือบและกระดาษเคลือบพลาสติก จำนวนตัวอย่าง $n = 3$ คำนวณหาค่า PS (MPa) และค่า % elongation (Bodmeier and Paeratakul, 1993; Wei et. al., 2009) จากสูตร

$$\text{Puncture Strength} = \frac{F}{A_{cs}}$$

โดย F คือ แรงที่ใช้ในการกดของ Probe สูงสุดจนฟิล์มฉีกขาด (N)

A_{cs} คือ พื้นที่หน้าตัดของตัวอย่างฟิล์มซึ่งมีขนาดเท่ากับช่องเปิดของแท่นยึดฟิล์ม

($A_{cs} = 2rd$, โดย r คือ รัศมีช่องเปิดของแท่นยึดฟิล์ม และ d คือ ความหนาของฟิล์ม)

$$\% \text{ elongation (\%)} = \frac{\left(\left(\frac{r^2 + D^2}{2} \right) - r \right)}{r} \times 100$$

r = รัศมีช่องเปิดของแท่นยึดฟิล์ม

D = ค่าระยะทางสูงสุดที่ฟิล์มสามารถยืดได้ก่อนฉีกขาด (mm)

4.6.4 การศึกษาคุณสมบัติการซึมผ่านไอน้ำ

ทำได้โดยใช้ขวดทดสอบที่มีขนาด 5 ml ที่ฝาปิดรูเปิดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10.5 mm และชั่งน้ำหนักขวดทดสอบเปล่าพร้อมฝาและโอริงปิด บันทึกค่าน้ำหนักที่ชั่งได้ ใส่ silica gel (ที่ผ่านการอบไล่ความชื้น ที่ 70°C นาน 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่) น้ำหนัก 5 g บันทึกค่าน้ำหนักที่ชั่งได้จริง เก็บขวดทดสอบเอาไว้ในภาชนะกันความชื้น ชั่งน้ำหนักตัวอย่างกระดาษเคลือบฟิล์มแป้งถั่วเขียวคั่วแปรที่ตัดด้วย cutting hole ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง $\frac{1}{2}$ นิ้ว บันทึกค่าน้ำหนัก และสวมตัวอย่างกระดาษเข้ากับฝาขวดทดสอบแล้วรองทับด้วยโอริงประกอบเข้ากับตัวขวดทดสอบ บันทึกค่าน้ำหนักที่ชั่งได้ นำขวดทดสอบเข้าทดสอบในโถควบคุมความชื้น ที่บรรจุ sodium chloride ที่อิ่มตัวด้วยน้ำที่ 75 % RH ที่อุณหภูมิห้อง นำขวดทดสอบออกมาชั่งน้ำหนักเมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที, 1, 2, 6, 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง คำนวณหาค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อพื้นที่และความหนาของกระดาษ ได้ค่า water vapor permeability of films (WVP) เปรียบเทียบกับกระดาษที่ไม่เคลือบและกระดาษเคลือบพลาสติก จำนวนตัวอย่าง $n = 3$ โดยใช้สูตร



$$\text{Water Vapor Permeability (g.mm / m}^2\text{.day.kPa)} \\ = \frac{(WVTR \times \text{Thickness of film})}{S \times (R_1 - R_2)}$$

$$\text{Water Vapor Transmission Rate (WVTR) (g / m}^2\text{.day)} = \frac{G}{t \times \text{Area}}$$

โดย

S คือ ค่าความดันไอน้ำอิ่มตัวที่ 25 °C เท่ากับ 23.76 มิลลิเมตรปรอท
(0.1333x103 Pa เท่ากับ 1 มิลลิเมตรปรอท)

R₁ คือ ค่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในโถทดสอบ เท่ากับ 75 %

R₂ คือ ค่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในขวดทดสอบ เท่ากับ 0 %

G/t คือ ความชันเป็นเส้นตรงของกราฟระหว่างน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง (g) และเวลา (24 ชั่วโมง)

Area คือ พื้นที่หน้าตัดทดสอบของฟิล์ม เท่ากับ 10.84 mm²

4.6.5 การศึกษาคุณสมบัติการด้านการซึมผ่านน้ำ

ดัดแปลงจากวิธีการของ Park และคณะ (2000) โดยการตัดกระดาษเคลือบฟิล์มแป้งข้าวเจ้าตัดแปรขนาด 5 x 5 cm² นำมาวางบนแผ่นพลาสติกใส แล้วหยดน้ำสี (0.0018% fast green) 1 หยด (0.037 ± 0.002 g, n = 3) ลงบนกระดาษตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ เพื่อให้สามารถมองเห็น ได้ชัดเจนขึ้น สังเกต และจับเวลาดูจนกระทั่งน้ำสีซึมทะลุผ่านกระดาษจนถึงผิวหน้าแผ่นพลาสติกใส และคำนวณพื้นที่ที่น้ำสีแพร่กระจายบนกระดาษที่เวลา 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 นาที เปรียบเทียบกับกระดาษที่ไม่เคลือบและกระดาษเคลือบพลาสติก จำนวนตัวอย่าง n = 3 โดยใช้สูตร

$$\text{Area} = \pi \times \left(\frac{R_1}{2} \times \frac{R_2}{2} \right)$$

โดย

$$\pi = 3.143$$

R₁ คือ ความกว้างของน้ำที่อยู่บนกระดาษ

R₂ คือ ความยาวของน้ำที่อยู่บนกระดาษ

4.6.5 การศึกษาคุณสมบัติการด้านการซึมผ่านน้ำมัน

ดัดแปลงจากวิธีการของ Park และคณะ (2000) โดยการตัดกระดาษเคลือบฟิล์มแป้งข้าวเจ้าตัดแปรขนาด 5 x 5 cm² นำมาวางบนแผ่นพลาสติกใส แล้วหยดน้ำมันถั่วเหลือง 1 หยด (0.022 ± 0.001 g, n = 3) ลงบนกระดาษตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ สังเกต และจับเวลาดูจนกระทั่งน้ำมันถั่วเหลืองซึมทะลุผ่านกระดาษจนถึงผิวหน้าแผ่นพลาสติกใส และคำนวณพื้นที่ที่น้ำมันถั่วเหลืองแพร่กระจายบนกระดาษที่เวลา 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 นาที เปรียบเทียบกับกระดาษที่ไม่เคลือบและกระดาษเคลือบพลาสติก จำนวนตัวอย่าง n = 3

$$\text{Area} = \pi \times \left(\frac{R_1}{2} \times \frac{R_2}{2} \right)$$

โดย

$$\pi = 3.143$$

R_1 คือ ความกว้างของน้ำมันที่อยู่บนกระดาน

R_2 คือ ความยาวของน้ำมันที่อยู่บนกระดาน

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

5.1 การวิเคราะห์ตัวอย่าง (data analysis)

สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) โดยแต่ละกลุ่มหาค่าแนวโน้มเข้าสู่ส่วนกลาง (ค่าเฉลี่ย, mean) และการกระจายของข้อมูล (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, standard deviation)

5.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้การวิเคราะห์สถิติด้วย one way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS V.17.0 KKU license ID: 5068054, serial: 5068054

ตั้งสมมติฐานแบบสองทาง (two - sided test)

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu \dots \dots \dots$, $H_a: H_0$ is false กำหนด $\alpha = 0.05$ ใช้ multiple comparisons แบบ Tukey's HSD (Honestly Significant Difference) ในการพิสูจน์ความแตกต่างกัน

