

การดัดแปรไซเลนจากลำต้นข้าวโพดโดยใช้กรดซิตริก



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ ภาควิชาวัสดุศาสตร์  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

MODIFICATION OF XYLAN FROM CORN STOVER BY USING CITRIC ACID



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Applied Polymer Science and Textile

Technology

Department of Materials Science

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การดัดแปรไซเลนจากลำต้นข้าวโพดโดยใช้กรดซิตริก
โดย	นางสาวสุชาวาลี จีนาภักดิ์
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.ประณัฐ โพธิยะราช
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สีหนาท ประสงค์สุข

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริรัตน์ จารุจินดา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประณัฐ โพธิยะราช)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สีหนาท ประสงค์สุข)

.....กรรมการ  
(อาจารย์ ดร.ประสิทธิ์ พัฒนะนุวัฒน์)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(อาจารย์ ดร.สุภโชค ต้นพิชัย)

สุชาวลี จินาภักดิ์ : การดัดแปรไซแลนจากลำต้นข้าวโพดโดยใช้กรดซิตริก (MODIFICATION OF XYLAN FROM CORN STOVER BY USING CITRIC ACID) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.ประณัฐ โพธิยะราช, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. ดร.อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์, รศ. ดร.สีหนาท ประสงค์สุข, 76 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวัสดุชนิดใหม่ที่มีความสามารถในการดักจับสารระเหยให้กลิ่นโดยนำมาจากของเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยสกัดไซแลนจากลำต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยสารละลายต่าง ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีแสดงให้เห็นว่าไซแลนที่สกัดได้มีหมู่ฟังก์ชันที่คล้ายคลึงกับไซแลนทางการค้า นำไซแลนที่สกัดได้มาดัดแปรด้วยปฏิกิริยาเคมีโดยใช้อัตราส่วนของไซแลนต่อกรดซิตริกเท่ากับ 1:1 1:3 1:5 1:7 และ 1:9 โดยน้ำหนัก เมื่อทดสอบระดับการแทนที่ของกรดซิตริกด้วยวิธีไทเทรตด้วยกรด-เบสพบว่าที่อัตราส่วนของไซแลนต่อกรดซิตริกเท่ากับ 1:5 โดยน้ำหนักมีระดับการแทนที่ของกรดซิตริกสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 0.50 หรือคิดเป็นร้อยละ 26.11 นำไซแลนและไซแลนดัดแปรมาทดสอบเสถียรภาพทางความร้อนด้วยเครื่องวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักภายใต้ความร้อนพบว่า ไซแลนดัดแปรด้วยกรดซิตริกมีอุณหภูมิการสลายตัวมากกว่าไซแลนที่ยังไม่ผ่านการดัดแปร ส่วนผลการทดสอบความสามารถในการดักจับสารระเหยให้กลิ่นที่มีสภาพขั้วต่างกัน พบว่าไซแลนมีความสามารถในการดักจับสารระเหยที่มีขั้วได้ดีกว่าไซแลนดัดแปรและพบว่าไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนของไซแลนต่อกรดซิตริกเท่ากับ 1:1 มีความสามารถในการดักจับสารระเหยให้กลิ่นที่มีโครงสร้างเป็นไฮโดรคาร์บอนได้ดีกว่าไซแลน สำหรับผลการทดสอบความต้านทานแบคทีเรีย พบว่าไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนของไซแลนต่อกรดซิตริกเท่ากับ 1:3 นั้นสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* ได้ถึงร้อยละ 84.24 และร้อยละ 79.56 ตามลำดับ จากนั้นนำไซแลนและไซแลนดัดแปรมาทดสอบความต้านทานอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl assay หรือ DPPH assay พบว่าไซแลนดัดแปรอัตราส่วนของไซแลนต่อกรดซิตริกเท่ากับ 1:1 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  หรือความเข้มข้นของสารที่ต่ำที่สุดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 เท่ากับ 0.56 จากผลการทดลองพบว่าไซแลนและไซแลนดัดแปรมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเพื่อการใช้งานในด้านการดักจับกลิ่นได้

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาควิชา	วัสดุศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต	.....
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และ เทคโนโลยีสิ่งทอ	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก	.....
		ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม	.....
ปีการศึกษา	2560	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม	.....

# # 5872075023 : MAJOR APPLIED POLYMER SCIENCE AND TEXTILE TECHNOLOGY

KEYWORDS: HEMICELLULOSE, XYLAN, CITRIC ACID, ESTERIFICATION, SPME-GC/MS

SUCHAWALEE JEENAPAK: MODIFICATION OF XYLAN FROM CORN STOVER BY USING CITRIC ACID. ADVISOR: ASSOC. PROF. PRANUT POTIYARAJ, Ph.D., CO-ADVISOR: ASST. PROF. INTHAWOOT SUPPAVORASATIT, Ph.D., ASSOC. PROF. SEHANAT PRASONGSUK, Ph.D., 76 pp.

The main purpose of this research was to develop a novel material from agricultural wastes that has ability to entrap volatile compounds. Initially, xylan was extracted from corn stover with alkaline extraction method. As illustrated by the Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), the functional groups of the extracted xylan are similar to those of a commercial xylan. The extracted xylan was then modified by a chemical reaction with citric acid at weight ratios of xylan to citric acid of 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 and 1:9. The degree of substitution (DS) of the modified xylan was evaluated by the acid-base titration. It was found that, at the ratio of 1:5, the modified xylan possesses the highest degree of substitution of 0.50 or 26.11%. The extracted xylan and the modified xylan were investigated for their thermal stability using the thermogravimetric analysis (TGA). The results show that the modified xylan has higher maximum decomposition temperature ( $T_{max}$ ) than the extracted xylan. As for the ability of xylan and modified xylan to entrap volatile aroma compounds with different polarity, the extracted xylan can entrap polar volatile compounds more than the modified xylan. Furthermore, at the modified ratio of 1:1, the hydrocarbon volatile compounds entrapment of the modified xylan is better than that of extracted xylan. In the case of antibacterial activity, the modified xylan at the weight ratio of 1:3 can inhibit the growth of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* at 84.24% and 79.56%, respectively. The antioxidation activity evaluation was performed by 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl assay (DPPH assay). It was found that the modified xylan at the ratio 1:1 has the highest antioxidant ability. The  $IC_{50}$  (50% of inhibitory concentration) of the modified xylan at the ratio of 1:1, which has the highest antibacterial activity, is 0.56. The results suggest that extracted xylan and modified xylan are able to utilize potentially for odor entrapment applications.

Department: Materials Science

Student's Signature .....

Field of Study: Applied Polymer Science and  
Textile Technology

Advisor's Signature .....

Co-Advisor's Signature .....

Academic Year: 2017

Co-Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประมัญญ์ โพธิยะราช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษาและช่วยชี้แนะแนวทางในการทำวิจัยให้สำเร็จลุล่วง และมอบโอกาสในการทำวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์และถูกต้องยิ่งขึ้น พร้อมทั้งจัดหาเงินทุน วัสดุอุปกรณ์ และทุนอุดหนุนการศึกษาแก่ผู้วิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สีหนาท ประสงค์สุข และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อินทาวุธ สรรพพรสถิตย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ รวมทั้งให้กำลังใจและแรงผลักดันตลอดระยะเวลาการทำวิจัย อบรมสั่งสอนให้มีความรอบคอบในการทำงาน พร้อมทั้งตรวจและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์และถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ปกรณ์ วรานุกุลกุล ที่ให้ความกรุณาสอนวิธีวิเคราะห์ และวิธีใช้เครื่องมือการแยกองค์ประกอบของสารด้วยเทคนิค SPME-GC/MS พร้อมทั้งให้คำปรึกษาเพื่อให้ผู้วิจัยมีความเข้าใจมากขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริรัตน์ จารุจินดา ที่สละเวลามาเป็นประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.สุภโชค ต้นพิชัย และอาจารย์ ดร.ประสิทธิ์ พัฒนะนิววัฒน์ ที่สละเวลาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.วิชาณี แบนศิริ ที่ช่วยให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางและให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย รวมทั้งรุ่นพี่และเพื่อน ในภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยให้กำลังใจเสมอมา

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเพื่อการใช้สถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ทำวิจัย รวมทั้งรุ่นพี่และเพื่อนในภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยให้คำปรึกษาและช่วยเหลือเป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และพี่สาว ที่ให้การสนับสนุน และคอยเป็นกำลังใจในการทำวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมถึงอาจารย์ทุกท่านที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้วิจัย จนก่อให้เกิดวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จ

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ฉ
สารบัญ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ .....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 วารสารปริทรรศน์.....	3
2.1 เฮมิเซลลูโลส (Hemicelluloses).....	3
2.2 ไซแลน (xylan).....	4
2.2.1 โฮโมไซแลน (homoxylan).....	4
2.2.2 อะราบินไซแลน (arabinoxylan) .....	5
2.2.3 กลูคูโรโนไซแลน (glucuronoxylan) .....	5
2.2.4 อะราบินโกลูคูโรโนไซแลน (arabinoglucuronoxylan).....	6
2.3 การสกัดไซแลน.....	6
2.3.1 การสกัดไซแลนโดยใช้สารละลายต่าง (alkaline extraction).....	7
2.3.2 การสกัดไซแลนโดยใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent extraction) .....	7
2.3.2.1 สารละลายประเภทแอลกอฮอล์.....	7
2.3.2.2 สารละลายประเภทกรดอินทรีย์.....	7
2.3.3 การสกัดไซแลนโดยใช้น้ำร้อน (hot water extraction) .....	7
2.3.4 การสกัดไซแลนโดยใช้ตู้อบแรงดันไอน้ำ (steam explosion).....	8

2.4 การประยุกต์การใช้งานไซแลน.....	8
2.4.1 การใช้งานด้านบรรจุภัณฑ์.....	8
2.4.2 การใช้งานด้านการแพทย์.....	9
2.4.3 การใช้งานด้านอื่น ๆ.....	9
2.5 กรดซิตริก (citric acid).....	9
2.5.1 โครงสร้างของกรดซิตริก.....	9
2.5.2 สมบัติของกรดซิตริก.....	12
2.5.3 การประยุกต์การใช้งานกรดซิตริก.....	12
2.5.3.1 การใช้งานด้านอาหาร.....	12
2.5.3.2 การใช้งานด้านการแพทย์.....	13
2.5.3.3 การใช้งานด้านการเกษตรกรรม.....	13
2.5.3.4 การใช้งานด้านอื่น.....	13
2.6 การดัดแปรทางเคมี.....	14
2.6.1 ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างกรดคาร์บอกซิลิกและแอลกอฮอล์.....	14
2.6.2 ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างแอซิดคลอไรด์และแอลกอฮอล์.....	16
2.7 การจับของสารระเหยให้กลืนกับสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต.....	17
2.8 เทคนิค static headspace ในการศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารระเหยให้กลืนกับ สารประกอบโมเลกุลใหญ่.....	19
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	22
3.1 ขั้นตอนดำเนินงานและแผนการดำเนินการวิจัย.....	22
3.2 วัตถุประสงค์.....	22
3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	22
3.4 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย.....	24



3.5 ขั้นตอนการทดลอง .....	26
3.5.1 การสกัดไซแลนจากต้นข้าวโพด .....	26
3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของชีวมวลพืช (Biomass chemical analysis).....	27
3.5.3 การตัดแปรไซแลนด้วยกระบวนการทางเคมี .....	28
3.5.4. การศึกษาระดับการแทนที่จากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน .....	29
3.5.5 การวิเคราะห์และทดสอบสมบัติของไซแลนและไซแลนตัดแปร.....	30
3.5.5.1 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด-สเปกโทรสโกปี .....	30
3.5.5.2 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของไซแลนและไซแลนตัดแปรภายใต้ความร้อน .....	30
3.5.5.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ .....	31
3.5.5.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย .....	32
3.5.6 การศึกษาการจับกลิ่นของไซแลนและไซแลนตัดแปร .....	33
3.5.6.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง และสกัดสารที่ระเหยได้จากตัวอย่าง .....	33
3.5.6.2 ภาวะของเครื่อง GC-MS .....	34
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	35
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นข้าวโพด .....	35
4.2 ผลการวิเคราะห์ระดับการแทนที่จากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน (degree of substitution).....	36
4.3 การวิเคราะห์และทดสอบสมบัติของไซแลนและไซแลนตัดแปร .....	37
4.3.1 หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของไซแลน.....	37
4.3.2 หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของไซแลนตัดแปร .....	38
4.3.3 อุณหภูมิการสลายตัวทางความร้อน .....	39

4.3.5 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ .....	44
4.3.6 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย.....	46
4.4 ผลการจับสารระเหยให้กลิ่นของไซแลนและไซแลนดัดแปร .....	48
4.4.1 ผลการจับกลิ่นของสารระเหยให้กลิ่น 1-octane .....	50
4.4.2 ผลการจับกลิ่นของสารระเหยให้กลิ่น 2-octanone.....	52
4.4.3 ผลการจับกลิ่นของสารระเหยให้กลิ่น 1-octanol.....	53
4.4.4 ผลการจับกลิ่นของสารระเหยให้กลิ่น 1-octanal .....	55
4.4.5 ผลการจับกลิ่นของสารระเหยให้กลิ่น 2-octenal .....	56
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ .....	58
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	58
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	59
รายการอ้างอิง .....	60
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	76

## สารบัญตาราง

เรื่อง	หน้า
ตารางที่ 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	22
ตารางที่ 3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง .....	24
ตารางที่ 3.3 อัตราส่วนสารเคมีที่ใช้ตัดแปรไซแลน.....	28
ตารางที่ 3.4 อัตราส่วนปริมาตรระหว่างสารระเหยให้กลิ่นและสารมาตรฐาน (IS).....	33
ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบของเซลล์โลส เฮมิเซลล์โลส และลิกนินในลำต้นข้าวโพด .....	35
ตารางที่ 4.2 ปริมาณไซแลนที่สกัดได้จากลำต้นข้าวโพดด้วยวิธีใช้สารละลายต่าง .....	35
ตารางที่ 4.3 ค่าระดับการแทนที่และร้อยละระดับการแทนที่ .....	36
ตารางที่ 4.4 หมู่ฟังก์ชันของไซแลนที่ปรากฏบนอินฟราเรดสเปกตรัม.....	38
ตารางที่ 4.5 อุณหภูมิการสลายตัวทางความร้อนช่วงที่ 1 ของไซแลนและไซแลนตัดแปร.....	41
ตารางที่ 4.6 อุณหภูมิการสลายตัวทางความร้อนช่วงที่ 2 ของไซแลนและไซแลนตัดแปร.....	41
ตารางที่ 4.7 อุณหภูมิการสลายตัวทางความร้อนช่วงที่ 3 ของไซแลนและไซแลนตัดแปร.....	42
ตารางที่ 4.8 การเจริญของ <i>Escherichia coli</i> เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร NB ที่มีการเติมไซแลน และไซแลนตัดแปรที่อัตราส่วนต่างๆ .....	47
ตารางที่ 4.9 การเจริญของ <i>Bacillus subtilis</i> เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร NB ที่มีการเติมไซแลน และไซแลนตัดแปรที่อัตราส่วนต่างๆ .....	47
ตารางที่ 4.10 สารระเหยให้กลิ่นที่ใช้ในการทดลอง ประเภทของหมู่ฟังก์ชันและโครงสร้างของ สารระเหยให้กลิ่น .....	48

## สารบัญรูปภาพ

เรื่อง	หน้า
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน (Sarvesh และคณะ, 2018) .....	4
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของโฮโมไซแลน (John และคณะ, 2018).....	5
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของอะราบีโนไซแลน (John และคณะ, 2018).....	5
รูปที่ 2.4 โครงสร้างของกลูคูโรโนไซแลน (John และคณะ, 2018).....	6
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของอะราบีโนกลูคูโรโนไซแลน (Amidon และคณะ, 2011).....	6
รูปที่ 2.6 โครงสร้างของกรดซิตริก.....	10
รูปที่ 2.7 ขั้นตอนการเกิดกรดซิตริก (Vandenberghe และคณะ, 2017).....	10
รูปที่ 2.8 Tricarboxylic cycle (TCA cycle) (Vandenberghe และคณะ, 2017).....	11
รูปที่ 2.9 กลไกของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างไซแลนและกรดซิตริก (ดัดแปลงจาก Shuaiyang และคณะ, 2013).....	15
รูปที่ 2.10 เทคนิค equilibrium analysis.....	19
รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดไซแลนจากลำต้นข้าวโพด .....	27
รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการดัดแปรไซแลนด้วยกรดซิตริก .....	29
รูปที่ 3.3 เครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Nicolet 6700.....	30
รูปที่ 3.4 เครื่องวิเคราะห์น้ำหนักภายใต้ความร้อน ยี่ห้อ Mettler toledo รุ่น TGA/DSC 3+ star <sup>c</sup> system.....	31
รูปที่ 3.5 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น 6890 series และเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ ยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น 5973 series.....	34
รูปที่ 4.1 อินฟราเรดสเปกตรัมของปีชวูดไซแลน (ก) และไซแลนที่สกัดได้จากลำต้นข้าวโพด (ข) .....	37
รูปที่ 4.2 อินฟราเรดสเปกตรัมของไซแลน (ก), MX1 (ข), MX3 (ค), MX5 (ง), MX7 (จ) และ MX9 (ฉ).....	38

<b>รูปที่ 4.3</b> เทอร์โมแกรมการสลายตัวทางความร้อนของไซแลนและไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนต่าง ๆ .....	39
<b>รูปที่ 4.4</b> DTG เทอร์โมแกรมของไซแลนและไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนต่าง ๆ .....	40
<b>รูปที่ 4.5</b> สีของไซแลนและไซแลนดัดแปรด้วยกรดซิดริกที่อัตราส่วนต่าง ๆ .....	43
<b>รูปที่ 4.6</b> ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (%) ของไซแลน (ก) และไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วน MX1 (ข) MX3 (ค) MX5 (ง) MX7 (จ) และ MX9 (ฉ) ที่ความเข้มข้น 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DPPH assay และกำหนดให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารมาตรฐาน 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ เท่ากับ 0 .....	45
<b>รูปที่ 4.7</b> พื้นที่ใต้กราฟของ 1-octane อีสาระที่หลงเหลือจากการจับกับไซแลนและไซแลนดัดแปร .....	50
<b>รูปที่ 4.8</b> พื้นที่ใต้กราฟของ 2-octanone อีสาระที่หลงเหลือจากการจับกับไซแลนและไซแลนดัดแปร .....	52
<b>รูปที่ 4.9</b> พื้นที่ใต้กราฟของ 1-octanol อีสาระที่หลงเหลือจากการจับกับไซแลนและไซแลนดัดแปร .....	53
<b>รูปที่ 4.10</b> พื้นที่ใต้กราฟของ 1-octanal อีสาระที่หลงเหลือจากการจับกับไซแลนและไซแลนดัดแปร .....	55
<b>รูปที่ 4.11</b> พื้นที่ใต้กราฟของ 2-octenal อีสาระที่หลงเหลือจากการจับกับไซแลนและไซแลนดัดแปร .....	56

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมกระดาษเป็นอุตสาหกรรมหลักที่สำคัญของประเทศไทย โดยในกระบวนการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตรมักมีของเหลือทิ้งซึ่งจะต้องนำไปกำจัดทิ้งโดยเปล่าประโยชน์ประกอบกับก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมตามมาอีกหลายประการ หนึ่งในของเหลือทิ้งทางการเกษตรที่น่าสนใจและยังมีไม่มีการทดลองที่แพร่หลายนัก ได้แก่ ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้นำตัวอย่างของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในแถบตำบลเวียงสาและตำบลผาสิงห์ในจังหวัดน่านมาทำการศึกษา จากการสำรวจวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของกระทรวงพลังงาน พบว่า ปริมาณของยอด ใบและลำต้นของต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์นั้นมีสัดส่วนของเหลือทิ้งสูงถึง 95% และพบว่ามี การนำไปใช้เพียง 5% เพื่อเป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ (กระทรวงพลังงาน, กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2556) โดยต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์นั้นเป็นวัสดุที่มีราคาถูกและหาได้ง่ายในหลายพื้นที่ของประเทศ ในงานวิจัยนี้จึงได้สนใจที่จะนำต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มาใช้ประโยชน์ในแนวทางใหม่ เพื่อเพิ่มมูลค่าของเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้ โดยส่วนใหญ่เป็นของเหลือทิ้งจากการสกัดเซลลูโลสไปใช้ประโยชน์ อย่างไรก็ตามยังมีส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ซึ่งมักถูกทิ้งไปในระหว่างการสกัดและทำให้เซลลูโลสบริสุทธิ์ ในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำไซแลน (xylan) ซึ่งเป็นเฮมิเซลลูโลสประเภทหนึ่งมาใช้ประโยชน์ โดยทำการสกัดจากต้นข้าวโพดด้วยวิธีการใช้สารละลายต่าง (alkaline extraction) จากการศึกษาของ Li และคณะ (2012) และ Saha และคณะ (2013) พบว่าต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์นั้นมีสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสในปริมาณสูงคิดเป็นร้อยละ 20-31 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสนั้นเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide) ที่มีการแตกกิ่งก้าน ทำให้ไม่สามารถก่อตัวเป็นผลึกได้ อีกทั้งมีระดับการเกิดพอลิเมอร์ต่ำอยู่ที่ 80-200 หน่วยมอโนเมอร์ต่อหนึ่งสายโซ่ ทำให้การใช้งานเฮมิเซลลูโลสนั้นมีจำกัด จึงจำเป็นต้องทำการดัดแปรโครงสร้างเคมีผ่านทางปฏิกิริยาเคมีเพื่อปรับปรุงสมบัติไซแลนให้หลากหลายมากขึ้น โดยในงานวิจัยนี้ได้นำไซแลนมาดัดแปรผ่านปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน (esterification) โดยใช้กรดซิตริก (citric acid) ซึ่งเป็นกรดพอลิคาร์บอกซิลิก เพื่อเพิ่มหมู่ฟังก์ชันที่มี

ซ้ำ การปรับเปลี่ยนสภาพซ้ำนี้เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของไซแลนและไซแลนดัดแปรในการจับกลิ่นที่มีอยู่ในอาหาร โดยทดสอบกับกลิ่นที่มีหมู่ฟังก์ชันที่แตกต่างกันหลายประเภท อาทิ ออกเทน (1-octane) ออกทานอน (2-octanone) ออกทีนาล (*trans*-2-octenal) ออกทานอล (1-octanol) และออกทานาล (1-octanal) นอกจากนั้นกรดซิตริกก็นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทเยลลี่และแยม เพื่อเสริมรสเปรี้ยวและถูกใช้เป็นวัตถุกันเสีย (preservative) และเป็นสารต้านแบคทีเรีย (Soccol และคณะ, 2006) ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการทดสอบสมบัติต่าง ๆ ของไซแลนและไซแลนดัดแปร ได้แก่ การทดสอบความต้านเชื้อแบคทีเรีย การทดสอบความต้านอนุมูลอิสระ การทดสอบสมบัติการละลายตัวต่อน้ำหนักและการทดสอบการจับกลิ่น โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีและแมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) ซึ่งเป็นเทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสม โดยอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนเฟสคงที่ (Stationary phase) ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) โดยใช้แก๊สฮีเลียม จากนั้นโมเลกุลของสารเชิงเดี่ยวที่แยกได้แล้วจะถูกพาเข้าสู่เครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ (Mass Spectrometer) เพื่อใช้ในการวัดปริมาณสารให้กลิ่นที่คงเหลืออยู่ภายในขวดที่บรรจุไซแลนและไซแลนดัดแปร

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาสมบัติและลักษณะของไซแลนและไซแลนดัดแปร
2. เพื่อศึกษาสมบัติต้านแบคทีเรียของไซแลนและไซแลนดัดแปรจากต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
3. เพื่อศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระของไซแลนและไซแลนดัดแปรจากต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
4. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของไซแลนและไซแลนดัดแปรในการจับกลิ่นกับสารให้กลิ่นที่มีหมู่ฟังก์ชันแตกต่างกัน

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

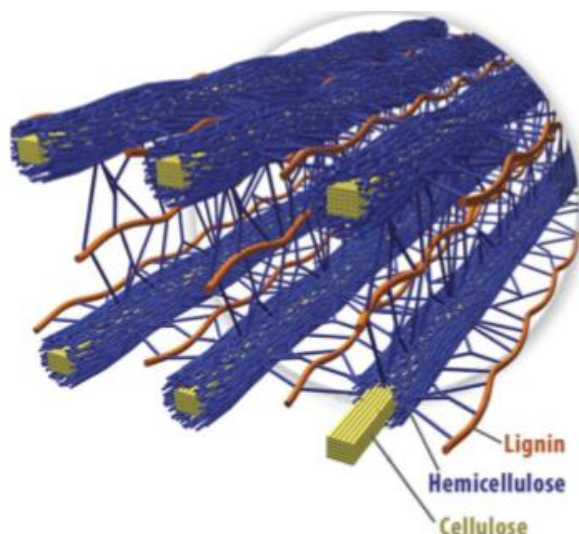
ได้ไซแลนดัดแปรที่สามารถดักจับกลิ่นและต้านแบคทีเรียและต้านอนุมูลอิสระได้

## บทที่ 2 วารสารปริทรรศน์

### 2.1 เฮมิเซลลูโลส (Hemicelluloses)

เฮมิเซลลูโลส จัดเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของพืช โดยเฮมิเซลลูโลสถือเป็นส่วนหนึ่งของสารลิกโนเซลลูโลส (lignocellulosic materials) ที่มีมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส มีสัดส่วนอยู่ในสารลิกโนเซลลูโลส 15-35% โดยน้ำหนัก (Limayem และ Ricke, 2012) ทำหน้าที่ยึดโครงสร้างร่วมกับลิกนินเพื่อห่อหุ้มเส้นใยเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจนและพันธะโคเวเลนต์ภายในผนังเซลล์พืช ดังแสดงในรูปที่ 2.1 เฮมิเซลลูโลสเป็นสารคาร์โบไฮเดรตประเภทเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide) ที่มีการแตกกิ่ง โดยสายโซ่หลักประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม ได้แก่ ไซโลส อะราบิโนส แรมโนส และน้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม ได้แก่ กาแลคโตส กลูโคส แมนโนส และกรดน้ำตาล เช่น กรดกลูคูโรนิก และกรดกาแลคทูโรนิก โครงสร้างเชื่อมต่อกันด้วยพันธะปีตา-1,4 ไซโลซิติก มีโซ่ข้างเชื่อมต่อกับน้ำตาล เช่น อะราบิโนส กาแลคโตส กรดกลูคูโรนิก ทำให้โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสนั้นเรียงตัวไม่เป็นผลึกจึงทำให้สามารถละลายน้ำได้ดีเป็นสายโซ่สั้น ซึ่งมีระดับการพอลิเมอไรเซชันอยู่ในช่วง 50-300 หน่วยมอโนเมอร์ต่อ 1 สายโซ่ (Amidon และคณะ, 2011) โดยชนิดและปริมาณของน้ำตาลบริเวณโซ่ข้างเหล่านี้จะแตกต่างกันและแปรผันตามชนิดของพืช เฮมิเซลลูโลสนั้นจัดเรียงโครงสร้างได้หลายรูปแบบซึ่งแตกต่างกันตามชนิดของน้ำตาลที่อยู่ในสายโซ่หลักและตามชนิดของพืช





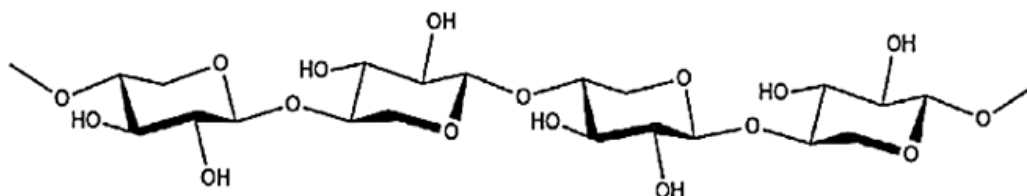
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน (Sarvesh และคณะ, 2018)

## 2.2 ไซแลน (xylan)

ไซแลน (xylan) เป็นเฮมิเซลลูโลสชนิดที่พบมากที่สุดในพืช พบว่ามีสัดส่วน 25-30% โดยน้ำหนักแห้งในเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ และมีสัดส่วนถึง 50% โดยน้ำหนักแห้งในพืชตระกูลหญ้าบางชนิดและในธัญพืช (Samanta และคณะ, 2015) โครงสร้างในสายโซ่หลักของไซแลนประกอบด้วย หน่วยย่อยของน้ำตาลไซโลสที่เรียงต่อกันและเชื่อมกันด้วยพันธะบีตา-1,4 ไซโลซิดิก และมีสายโซ่ข้างเชื่อมต่อกับน้ำตาลและอนุพันธ์ของน้ำตาลหลายชนิดที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ในโครงสร้างของไซแลน ได้แก่ น้ำตาลอะราบินอส กรดกลูคูโรนิก และหมู่อะซีทิล (Samanta และคณะ, 2012) ไซแลนจึงมีความหลากหลายของโครงสร้างในพืชทำให้สามารถแบ่งโครงสร้างของไซแลนได้ 4 ชนิด

### 2.2.1 โฮโมไซแลน (homoxylan)

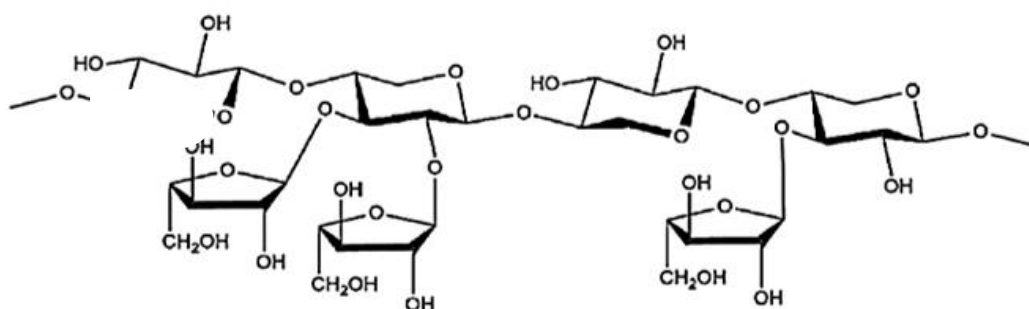
โฮโมไซแลนเป็นไซแลนที่มีโครงสร้างประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลไซโลสเพียงชนิดเดียวภายในสายโซ่ สามารถจัดเรียงตัวได้ทั้งโซ่ตรงและโซ่กิ่ง และเชื่อมกันด้วยพันธะบีตา-1,4 ไซโลซิดิก ดังแสดงในรูปที่ 2.2 โดยโฮโมไซแลนนั้นสามารถพบได้ในผนังเซลล์ของสาหร่ายทะเล (sea weed) และสาหร่ายบางชนิด (Ebringerova และHeinze, 2000)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของโฮโมเซลลูโลส (John และคณะ, 2018)

### 2.2.2 อะราบิโนเซลลูโลส (arabinoxylan)

อะราบิโนเซลลูโลสนั้นเป็นเซลลูโลสที่โดยทั่วไปพบได้ในธัญพืช และจากการศึกษาพบว่า ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่นำมาใช้เป็นวัสดุตั้งต้นในงานวิจัยนี้ เป็นเซลลูโลสประเภทอะราบิโนเซลลูโลส โดยโครงสร้างจะมีน้ำตาลอะราบิโนสเป็นโซ่กิ่งที่แทนที่อยู่บริเวณคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ในหน่วยย่อยของน้ำตาลไซโลส ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ซึ่งสามารถแทนที่ได้ 1 หรือ 2 ตำแหน่งบนสายโซ่หลักของเซลลูโลส (Ebringerová, 2005) และอาจมีหมู่อะซีทิลแทนที่อยู่ภายในคาร์บอนตำแหน่งดังกล่าวด้วย อะราบิโนเซลลูโลสมีระดับการเกิดการพอลิเมอไรเซชันอยู่ที่ 50-185 หน่วยต่อ 1 สายโซ่ (Zhou และคณะ, 2017)

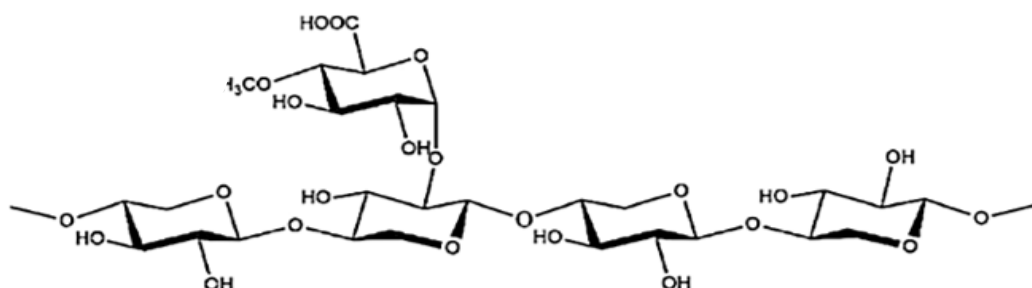


รูปที่ 2.3 โครงสร้างของอะราบิโนเซลลูโลส (John และคณะ, 2018)

### 2.2.3 กลูคูโรโนเซลลูโลส (glucuronoxylan)

กลูคูโรโนเซลลูโลสเป็นเซลลูโลสที่พบได้มากที่สุดในไม้เนื้อแข็ง ซึ่งมีสัดส่วน 15-30% ของน้ำหนักแห้ง ภายในโครงสร้างของเซลลูโลสประเภทนี้จะมีกรดกลูคูโรนิกแทนที่ทุก ๆ 10 หน่วยย่อยของน้ำตาลไซโลสในสายโซ่หลักและบางตำแหน่งในน้ำตาลไซโลสจะมีหมู่อะซีทิลแทนที่อยู่ในคาร์บอน

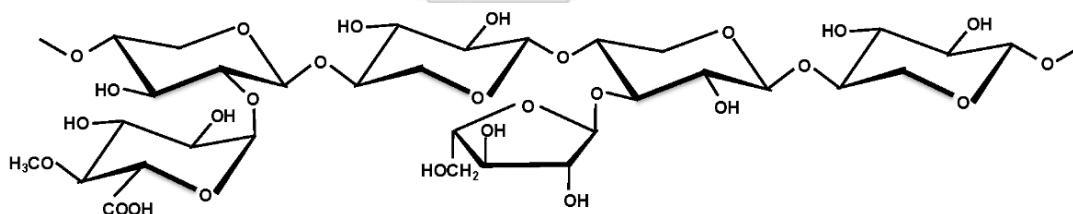
ตำแหน่งที่ 2 และ 3 ดังแสดงในรูปที่ 2.4 กลูคูโรโนไซแลนมีระดับการเกิดการพอลิเมอไรเซชันอยู่ที่ 150-200 หน่วยต่อ 1 สายโซ่



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของกลูคูโรโนไซแลน (John และคณะ, 2018)

#### 2.2.4 อะราบินอกลูคูโรโนไซแลน (arabinoglucuronoxylan)

อะราบินอกลูคูโรโนไซแลนพบได้ในพืชตระกูลหญ้าและในไม้เนื้ออ่อนบางประเภท โดยในพืชตระกูลหญ้านั้นจะมีอะราบินอกลูคูโรโนไซแลนเป็นสัดส่วนที่มากที่สุด อยู่ในช่วง 40-50% ของน้ำหนักแห้ง ภายในสายโซ่หลักของไซแลนประเภทนี้จะมีโซ่ข้างเชื่อมต่อกับ กรดกลูคูโรนิกและ น้ำตาลอะราบินอส ดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของอะราบินอกลูคูโรโนไซแลน (Amidon และคณะ, 2011)

### 2.3 การสกัดไซแลน

การสกัดไซแลนนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เนื่องจากไซแลนนี้นำมาทำหน้าที่ร่วมกับลิกนินเพื่อห่อหุ้มเส้นใยเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจนผ่านทางหมู่เอสเทอร์ จึงเป็นปัจจัยหลักในการสกัดเพื่อให้ไซแลนสามารถแยกออกจากลิกนินได้ ซึ่งโครงสร้าง สมบัติและปริมาณของไซแลนที่สกัดได้นั้น ขึ้นอยู่กับวิธีการสกัดที่ใช้ได้ โดยการสกัดสามารถทำได้หลายวิธี

### 2.3.1 การสกัดไซแลนโดยใช้สารละลายต่าง (alkaline extraction)

การสกัดไซแลนโดยใช้สารละลายต่างมีสารเคมีนิยมใช้ในการสกัดได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ โดยระหว่างการสกัดนั้นหมู่เอสเทอร์ที่เชื่อมต่อระหว่างไซแลนและลิกนินนั้นถูกไฮโดรไลซ์ ทำให้ไซแลนสามารถแยกออกจากส่วนของลิกนินได้ และการใช้สารละลายประเภทต่างนั้นยังสามารถกำจัดหมู่อะซีทิลและกรดยูโรนิก (uronic acid) ที่อยู่ภายในโครงสร้างของไซแลนได้อีกด้วย การสกัดไซแลนโดยใช้สารละลายต่างมักเป็นวิธีสกัดที่นิยมใช้ เนื่องจากมีความรุนแรงจากสารเคมีน้อยและสามารถสกัดได้ที่อุณหภูมิและความดันไม่สูงมาก ทั้งยังได้ปริมาณของไซแลนมากที่สุด จากการศึกษาของ Samata และคณะ (2012) พบว่าเมื่อสกัดไซแลนโดยใช้สารละลายต่างร่วมกับใช้ตัวอบแรงดันไอน้ำจะสามารถสกัดไซแลนกลับมาได้ถึง 90%

### 2.3.2 การสกัดไซแลนโดยใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent extraction)

การสกัดไซแลนด้วยวิธีนี้มักใช้สารละลายต่างหรือน้ำร่วมในการสกัดด้วย (Sharif และคณะ, 2015) แต่การสกัดด้วยวิธีนี้มีข้อจำกัดคือสารเคมีที่ใช้มีต้นทุนสูงและเป็นสารที่สามารถติดไฟได้ง่าย (Maurya และคณะ, 2015) จึงมักไม่เป็นที่นิยมในการสกัด สารละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดมี 2 ประเภท ได้แก่

**2.3.2.1 สารละลายประเภทแอลกอฮอล์** ได้แก่ Methanol, Ethanol, Ethylene glycol และ Glycerol

**2.3.2.2 สารละลายประเภทกรดอินทรีย์** ได้แก่ Acetic acid, Formic acid และ Oxalic acid

### 2.3.3 การสกัดไซแลนโดยใช้น้ำร้อน (hot water extraction)

การสกัดโดยใช้น้ำร้อนถือเป็นวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและใช้สารเคมีน้อยที่สุดใน การสกัด โดยมีหลักการคือ ความร้อนจากน้ำนั้นสามารถทำลายพันธะอีเทอร์ที่อยู่ภายในโครงสร้างของพืชได้ แม้ว่าวิธีการสกัดนี้จะเป็วิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและลดการใช้สารเคมีแต่มีภาวะที่ใช้

ในการสกัดนั้นมีความรุนแรงและต้องใช้พลังงานสูง โดยอุณหภูมิที่ใช้สกัดอยู่ในช่วง 180-200 องศาเซลเซียส

### 2.3.4 การสกัดไซแลนโดยใช้ตู้อบแรงดันไอน้ำ (steam explosion)

การสกัดโดยใช้ตู้อบแรงดันไอน้ำเป็นวิธีที่ต้องใช้ภาวะรุนแรงทั้งความดันในช่วง 0.7-4.8 MPa และอุณหภูมิที่สูงอยู่ระหว่าง 160-240 องศาเซลเซียส โดยในช่วงแรกของการสกัดนั้น จะใช้ความดันที่สูงมาก จากนั้นจะลดความดันภายในลงอย่างรวดเร็วทำให้โครงสร้างของพืชสลายตัว โดยมัดเส้นใยของเซลลูโลสนั้นจะแตกออกและเกิดการสลายตัวของลิกนินที่อยู่โดยรอบเซลลูโลส ทำให้ได้ส่วนของเฮมิเซลลูโลสแยกออกมา อย่างไรก็ตามจากการใช้ภาวะที่รุนแรงนั้นอาจส่งผลให้เฮมิเซลลูโลสบางส่วนถูกทำลายไปด้วย

## 2.4 การประยุกต์การใช้งานไซแลน

### 2.4.1 การใช้งานด้านบรรจุภัณฑ์

ไซแลนสามารถใช้งานด้านคอมพอสิตได้เนื่องจากมีหมู่ไฮดรอกซิลที่อยู่ภายในสายโซ่หลักจึงสามารถทำการตัดแปรรโครงสร้างผ่านปฏิกิริยาเคมีและนำมาประยุกต์ในงานด้านบรรจุภัณฑ์ โดยทำการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม และเนื่องจากไซแลนเป็นสารที่สกัดได้จากธรรมชาติจึงไม่ก่อให้เกิดสารพิษ แต่ไซแลนไม่สามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้จึงต้องทำการผสมกับพอลิเมอร์ชนิดอื่น จากการศึกษาของ Wang และคณะ (2014) ได้ขึ้นรูปฟิล์มจากไซแลนผสมกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Poly(vinyl alcohol), PVA) และใส่กรดซิตริกที่อัตราส่วนต่าง ๆ เพื่อทดสอบสมบัติทางกายภาพ พบว่าฟิล์มที่ได้นั้นมีความยืดตัวสูงสุด ณ จุดขาด (Elongation at break) เพิ่มขึ้น ในขณะที่ระดับการบวมตัวของฟิล์มและการซึมผ่านของไอน้ำลดลง ซึ่งเป็นสมบัติที่เหมาะสมแก่การนำไปประยุกต์เป็นบรรจุภัณฑ์ต่อไป นอกจากนี้ Luo และคณะ (2014) ยังพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณไซแลนลงไปในฟิล์มของไซแลนที่ผสมกับไคโตซาน ฟิล์มที่เกิดขึ้นนั้นมีสมบัติการทนแรงดึง (tensile strength) เพิ่มขึ้นในขณะที่การซึมผ่านของออกซิเจน (oxygen permeability) ลดลง ซึ่งสมบัติเหล่านี้ขึ้นยังอยู่กับการเลือกใช้พอลิเมอร์ที่นำมาผสมกับไซแลนเพื่อเป็นทำเป็นฟิล์มคอมพอสิตอีกด้วย

## 2.4.2 การใช้งานด้านการแพทย์

ไฮโดรเจลจากไซแลนได้รับความนิยมในการศึกษาด้านการแพทย์ โดยใช้เป็นระบบนำส่งยาเพื่อป้องกันเซลล์มะเร็ง ป้องกันสารอนุมูลอิสระ ยับยั้งการผ่าเหล่าของเซลล์ภายในร่างกาย และส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน (Gao และคณะ, 2016) โดยหลักการคือ ไซแลนนั้นไม่สามารถย่อยได้ในกระเพาะของมนุษย์แต่ถูกย่อยในบริเวณลำไส้ใหญ่โดยเอนไซม์ที่อยู่ในลำไส้ในบริเวณนั้น ระบบการนำส่งยาจึงจำเพาะต่อบริเวณที่ไซแลนถูกย่อยและสามารถปลดปล่อยยาที่อยู่ภายในออกมาเพื่อรักษาได้ (Chimphango และคณะ, 2012; Sun และคณะ, 2013)

## 2.4.3 การใช้งานด้านอื่น ๆ

ไซลิตอล (xylitol) ซึ่งได้มาจากการย่อยน้ำตาลไซโลส ยังถูกใช้เป็นสารให้ความหวาน (sweetener) และสารกันบูด (preservative) ในอุตสาหกรรมอาหาร นอกจากนี้ไซแลนยังสามารถผลิตเป็นเอทานอล (ethanol) และกรดแล็กติก (lactic acid) ซึ่งเกิดจากการหมักผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้เอนไซม์หรือใช้กรดในการย่อย (acid hydrolysis) ก่อให้เกิดเป็นน้ำตาลไซโลสและทำการสกัดได้ผลผลิตเป็นเอทานอล (Adnani และคณะ, 2011; Saha และคณะ, 2013)

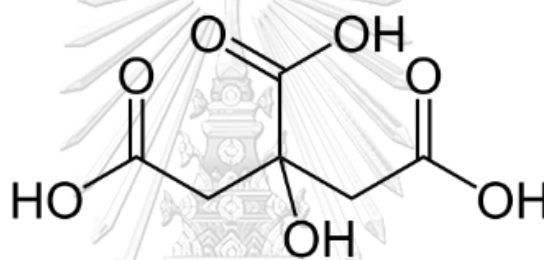
## 2.5 กรดซิตริก (citric acid)

### 2.5.1 โครงสร้างของกรดซิตริก

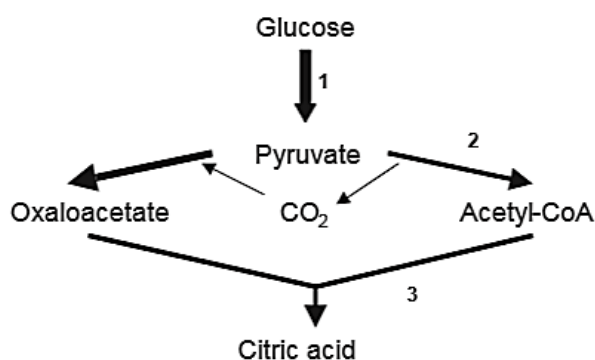
กรดซิตริกมีชื่อตาม IUPAC คือ 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylic acid มีสูตรโมเลกุล คือ  $C_6H_8O_7$  มวลโมเลกุลเท่ากับ 192.123 g/mol มีจุดหลอมเหลว 153 องศาเซลเซียส (Haynes, 2011) กรดซิตริกเป็นกรดไตรคาร์บอกซิลิก (tricarboxylic acid) โครงสร้างประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิลิก 3 หมู่ ดังแสดงในรูปที่ 2.6

ในปี ค.ศ.1784 กรดซิตริกถูกสกัดขึ้นครั้งแรกจากน้ำส้มในประเทศอิตาลี แต่ด้วยความที่มีต้นทุนในการสกัดที่สูงมาก จึงมีการพัฒนาการสกัดกรดซิตริกโดยใช้เทคนิคทางจุลชีพและทางเคมีเข้ามาช่วยในการสกัด ในปี ค.ศ.1917 ได้มีการสกัดกรดซิตริกเพื่อใช้ในเชิงอุตสาหกรรมในประเทศอังกฤษ โดย Currie เป็นผู้ค้นพบว่ากรดซิตริกสามารถสกัดได้จากเชื้อราที่มีชื่อว่า *Aspergillus niger* ซึ่งเก็บสะสมกรดซิตริกไว้ภายในไมโทคอนเดรียของเซลล์ จากนั้นในปี ค.ศ.1950 กรดซิตริกได้

ถูกสกัดเพื่อนำมาใช้ในเชิงการค้าและได้ถูกพัฒนาวิธีสกัดขึ้นอีกหลายวิธี เช่น กระบวนการหมักโดยใช้ จุลินทรีย์ (Fermentation process) มักนิยมใช้เชื้อราสายพันธุ์ *Aspergillus niger* และยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomycopsis* spp. และสายพันธุ์ยีสต์ *Candida lipolytica* จะได้ผลผลิตที่เป็นกรดซิตริก มากที่สุด ซึ่งแบ่งเป็นกระบวนการหมักในอาหารเหลว (Submerged fermentation) เป็นการหมักที่ ทำได้โดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารที่มีลักษณะเหลวจากแป้งหรือน้ำตาลซูโครสและกากน้ำตาล (molasses) และกระบวนการหมักบนอาหารแข็ง (Solid-State fermentation) โดยหมักจากพืชที่เป็นของเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น รำข้าว ชังข้าวโพด ชานอ้อย กากแอปเปิ้ล เป็นต้น เพื่อเป็นแหล่ง คาร์บอนในสกัดกรดซิตริก (Vandenberghe และคณะ, 2017) ขั้นตอนในการผลิตกรดซิตริกนั้น แบ่งเป็น 3 ขั้นตอนหลัก ดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของกรดซิตริก

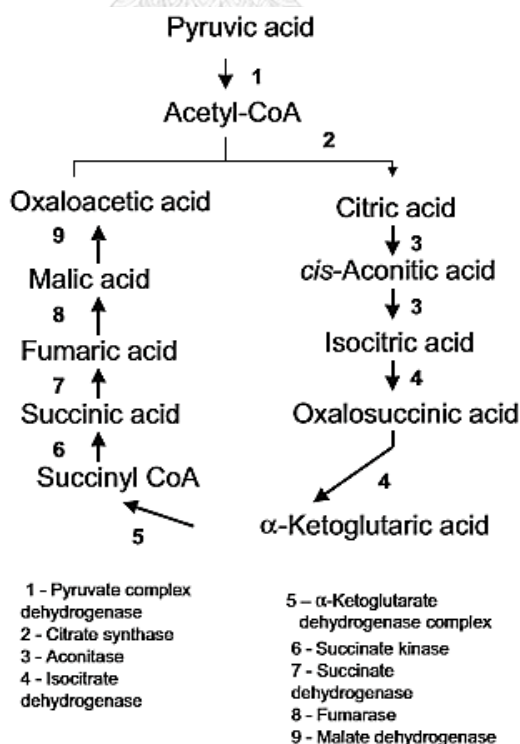


รูปที่ 2.7 ขั้นตอนการเกิดกรดซิตริก (Vandenberghe และคณะ, 2017)

**ขั้นตอนที่ 1** วิถีไกลโคไลซิส (glycolysis pathway) เป็นการสลายตัวของน้ำตาลกลูโคสเพื่อกลายเป็นไพรูเวต (pyruvate) ซึ่งเกิดภายในไซโตซอล (cytosol)

**ขั้นตอนที่ 2** Oxidative decarboxylation ของไพรูเวตและเกิดเป็น Acetyl CoA โดยการย่อยของเอนไซม์ไพรูเวตดีไฮโดรจีเนส (pyruvate dehydrogenase) ซึ่งขั้นตอนนี้เป็นรอยต่อระหว่างวิถีไกลโคไลซิสและวัฏจักรเครบส์และเป็นขั้นแรกในกระบวนการหายใจที่มี CO<sub>2</sub> เกิดขึ้นเนื่องจากหมู่คาร์บอกซิลของไพรูเวตจะหลุดออกจึงกลายเป็นแก๊ส CO<sub>2</sub> โดยเกิดขึ้นภายในไมโทคอนเดรีย

**ขั้นตอนที่ 3** เข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Kreb's cycle) หรือ วัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิก (Tricarboxylic acid cycle, TCA cycle) เกิดขึ้นที่ไมโทคอนเดรีย โดยคาร์บอน 2 อะตอมของ Acetyl CoA เข้ามาในวัฏจักรโดยเกิดการรวมตัวของหมู่อะซีทิลกับคาร์บอน 4 อะตอมของออกซาโลแอซีเตต (oxaloacetate) โดยใช้เอนไซม์ซิเตรตซินเทส (citrate synthase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จึงเกิดการสร้างตัวเป็น citrate (citrate formation) และได้ผลผลิตเป็นกรดซิตริก แสดงไว้ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 Tricarboxylic cycle (TCA cycle) (Vandenberghe และคณะ, 2017)



## 2.5.2 สมบัติของกรดซิตริก

กรดซิตริกเป็นกรดอ่อนและเป็นกรดอินทรีย์ที่สามารถพบได้ในธรรมชาติและไม่เป็นอันตราย มีลักษณะเป็นเกล็ดสีขาว ไม่มีกลิ่น สามารถละลายน้ำได้ และสกัดได้จากพืชตระกูล citrus fruit โดยเฉพาะพืชตระกูลมะนาว สับปะรด และส้ม ซึ่งมีสัดส่วนกรดซิตริกเป็นองค์ประกอบสูง และสามารถย่อยสลายได้ง่ายและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม กรดซิตริกสามารถทำหน้าที่เป็นคีเลต (chelating agent) ซึ่งสามารถจับกับแร่ธาตุประจุบวก ได้แก่ เหล็ก สังกะสี ทองแดง โคบอลต์ แมงกานีส โดยสารคีเลตจะล้อมประจุบวกของธาตุที่เป็นโลหะไว้ เพื่อก่อตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีโลหะถูกจับอยู่ในโมเลกุลไม่เปิดโอกาสให้ประจุลบจากที่อื่นเข้าทำปฏิกิริยาได้ ซึ่งปฏิกิริยารวมกันนี้ เรียกว่า chelation ทั้งยังมีสมบัติเป็น cross-linked agent ที่ทำให้โมเลกุลเกิดการเชื่อมขวางได้อย่างมีประสิทธิภาพจึงเหมาะสมในการนำมาดัดแปรทางเคมีผ่านปฏิกิริยาต่าง ๆ เช่น ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน (esterification)

## 2.5.3 การประยุกต์การใช้งานกรดซิตริก

### 2.5.3.1 การใช้งานด้านอาหาร

กรดซิตริกนั้นยังจัดเป็นสารเติมแต่ง (additive) ในอาหารที่ปลอดภัย มักนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อเป็นสารกันบูด (preservative) สารกันหืน (oxidative) และสามารถสัมผัสกับอาหารได้โดยไม่เป็นอันตราย และทำหน้าที่ช่วยเพิ่มรสเปรี้ยวของอาหารและช่วยป้องกันการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในผักและผลไม้แปรรูป เนื่องจากสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เกิดสีน้ำตาลได้ช้าลงและป้องกันความขุ่น (turbidity) ในผลิตภัณฑ์ไวน์ขาว รวมถึงช่วยปรับสมดุลความเป็นกรด-ด่างช่วยให้แอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์คงสภาพได้นานและชะลอความเสื่อมของเซลล์ (Soccol และคณะ, 2006)

### 2.5.3.2 การใช้งานด้านการแพทย์

กรดซิตริกถูกใช้เป็นส่วนผสมในยาบางชนิดเพื่อให้เกิดฟองฟูเมื่อสัมผัสกับน้ำจะแตกตัวและปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กลายเป็นสารละลาย มักใช้ร่วมกับสารไบคาร์บอเนต (bicarbonates) (แหล่งที่มา :<http://www.siamchemi.com>) และกรดซิตริกยังเป็นส่วนผสมเพื่อควบคุมความเป็นกรด-ด่าง หรือใช้เป็นตัวทำละลาย ช่วยให้อาการกระจายตัวได้ดีขึ้น และใช้ป้องกันการจับตัวเป็นก้อนของยา (anticoagulant) (Soccol และคณะ, 2006)

### 2.5.3.3 การใช้งานด้านการเกษตรกรรม

กรดซิตริกถูกใช้เป็นส่วนผสมในปุ๋ยเคมีเพื่อเพิ่มธาตุฟอสฟอรัสให้แก่ต้นพืช (Soccol และคณะ, 2006) และเป็นส่วนผสมในฮอร์โมนพืชทำหน้าที่ละลายไขที่เคลือบผิวใบ ช่วยให้สารถูกดูดซึมผ่านใบมากขึ้น ในด้านปศุสัตว์ กรดซิตริกถูกใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์เพิ่มความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร ช่วยให้อาหารย่อยได้ง่ายขึ้น และช่วยเพิ่มการดูดซึมสารอาหาร รวมถึงยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ ช่วยเสริมสร้างพลังงาน และส่งเสริมกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกายสัตว์ (Rodrigo และChapman, 1991)

### 2.5.3.4 การใช้งานด้านอื่น

ทางด้านอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับเครื่องสำอาง กรดซิตริกถูกใช้เป็นส่วนปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เนื่องจากเป็นกรดอ่อนและมีความปลอดภัยต่อการใช้งานในผู้บริโภค (Soccol และคณะ, 2006) กรดซิตริกยังสามารถใช้กำจัดสนิมบนพื้นผิวของเหล็กและทองแดง กรดซิตริกถูกใช้เป็นส่วนผสมของสารทำความสะอาด น้ำยาเติมหม้อต้มน้ำ (Boiler) รวมถึงนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียได้อีกด้วย (Shuaiyang และคณะ, 2013) ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ กรดซิตริกนั้นถูกใช้เป็นส่วนกันยับ (anti-wrinkle) บนผ้าฝ้าย โดยยึดโครงสร้างเป็นร่างแหที่สามารถป้องกันผ้าฝ้ายไม่ให้เกิดการยับง่าย โดยใช้โซเดียมไฮโปฟอสไฟต์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

## 2.6 การตัดแปรทางเคมี

เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของไซแลนที่มีปริมาณของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) ภายในสายโซ่หลักเป็นจำนวนมาก จึงเกิดแนวคิดในการตัดแปรทางเคมีผ่านปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันร่วมกับสารที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็นคาร์บอกซิลิก (-COOH group) ซึ่งได้แก่ กรดซิติริก เพื่อปรับปรุงสมบัติของไซแลน

### ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน (Esterification)

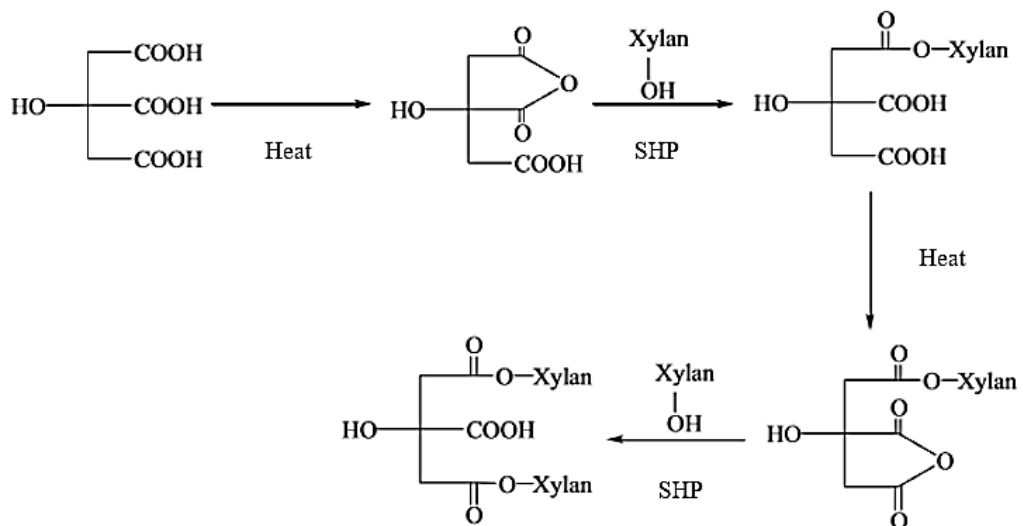
ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน คือปฏิกิริยาระหว่างหมู่ฟังก์ชันของแอลกอฮอล์ได้แก่หมู่ไฮดรอกซิล และหมู่ฟังก์ชันของกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) หรือสารประเภทแอซิดคลอไรด์ (acid chlorides) โดยทั่วไปนิยมเรียกสารที่ทำให้เกิดหมู่เอสเทอร์นี้ว่า เอสเทอร์ฟิเคชันเอเจนต์ (esterifying agent) ซึ่งในงานวิจัยนี้เป็นการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันของไซแลนจากหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) ให้กลายเป็นหมู่เอสเทอร์ (R-COO-R') โดยใช้กรดซิติริกซึ่งเป็นกรดคาร์บอกซิลิกในการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันและใช้โซเดียมไฮโปฟอสไฟต์ (Sodium hypophosphite, SHP) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

#### 2.6.1 ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างกรดคาร์บอกซิลิกและแอลกอฮอล์

การเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันจากกรดคาร์บอกซิลิกและแอลกอฮอล์นั้นสามารถทำได้โดยการอาศัยความร้อนและใช้ตัวเร่งที่มีสภาพเป็นกรด ซึ่งปฏิกิริยาจะเกิดผ่านกลไกแบบ direct esterification กล่าวคือ ผลผลิตของปฏิกิริยาเกิดจากหมู่ -OH ของกรดถูกแทนที่ด้วยหมู่ -OR' ของแอลกอฮอล์ โดยกรดซิติริกจะถูกให้โปรตอน (protonated) ให้กลายเป็นคาร์บอนเนียมไอออน (carbonium ion) จากนั้นไอออนบวกดังกล่าวจะเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลของไซแลน และเกิดโมเลกุลของน้ำขึ้น 1 โมเลกุล ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาที่สามารถผันกลับได้ ดังสมการที่ 2.1 ดังนั้นปริมาณหมู่แทนที่ของไซแลนที่ได้จากวิธีนี้จึงไม่ค้อยสูงมากนัก โดยมีค่าระดับการแทนที่ (Degree of substitution) ต่ำกว่า 0.5 (เทียบกับค่า DS ที่แทนที่ได้สูงสุดคือ 2)



ปฏิกิริยาร่วมในการดัดแปรไซแลนด้วยกรดซिटริกอีกปฏิกิริยาหนึ่งคือ การเชื่อมขวาง (cross-linked) เนื่องจากกรดซिटริกนั้นมีสมบัติเป็นสารเชื่อมขวาง (crosslink agent) โดยจะเชื่อมโยงโครงสร้างของไซแลนเข้าไว้ด้วยกันเป็นร่างแหผ่านหมู่เอสเทอร์ ทำให้เกิดการปรับปรุงคุณสมบัติทางด้านความทนความร้อน (thermal stability) ด้านทานน้ำ (water resistance) และเพิ่มความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ได้ดียิ่งขึ้น (Li และ Pan, 2018) ในกรณีที่ทำปฏิกิริยาโดยใช้น้ำเป็นตัวกลางจะทำการเติมสารละลายประเภทเบสลงไป ซึ่งสารละลายเบสดังกล่าวจะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาโดยทำให้โมเลกุลไซแลนเกิดการแตกตัวเป็นประจุลบ จากนั้นประจุลบที่ตำแหน่งออกซิเจนของไซแลนจึงเข้าทำปฏิกิริยากับซिटริกแอนไฮไดรด์ (เมื่อกรดซिटริกเกิดการ dehydration) ที่ตำแหน่งพันธะคาร์บอนิล ซึ่งกลไกการทำปฏิกิริยาดังแสดงในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 กลไกของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างไซแลนและกรดซिटริก

(ดัดแปลงจาก Shuaiyang และคณะ, 2013)



## 2.7 การจับของสารระเหยให้กลิ่นกับสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต

สารระเหยหลายชนิดสามารถให้กลิ่นได้หากมีปริมาณสูงกว่าค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารระเหยนั้น ๆ ที่คนสามารถรับรู้ได้ (threshold) ซึ่งสมบัติของการให้กลิ่นถือเป็นสิ่งสำคัญที่แสดงถึงคุณภาพของวัตถุดิบที่มีสารระเหยเหล่านั้นอยู่ ซึ่งการรับรู้กลิ่นต่าง ๆ นั้น ได้รับอิทธิพลมาจากอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างสารระเหยให้กลิ่นและส่วนประกอบภายในวัตถุดิบนั้น ๆ เช่น โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น

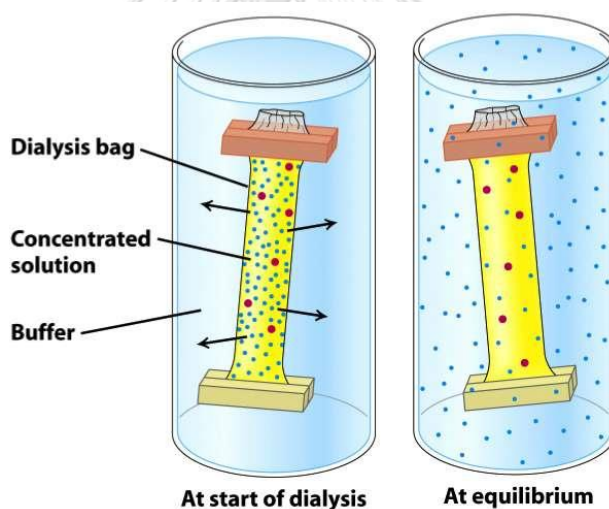
การศึกษาการจับกัน (binding) ของสารระเหยให้กลิ่นกับสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecule) ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาการจับกับสารกลุ่มโปรตีน โดยเฉพาะโปรตีนที่ใช้ หรือเป็นส่วนประกอบในอาหาร พบว่าอาหารที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบหลัก เช่น นม และเนื้อสัตว์ สามารถเกิดอันตรกิริยากับสารระเหยให้กลิ่น ซึ่งการจับกันนี้ส่งผลต่อการรับรู้ของผู้บริโภคเมื่อดมหรือรับประทานอาหารนั้น การจับสารระเหยให้กลิ่นกับโปรตีนนั้นสามารถเกิดได้ทั้งแบบปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ (reversible reaction) และปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ (irreversible reaction) ซึ่งการจับกันดังกล่าวอาจส่งผลให้การรับรู้กลิ่นจากสารระเหยดังกล่าวลดลง หรือเปลี่ยนไปได้ (Suppavorasatit และ Cadwallader, 2010)

นอกจากโปรตีนแล้ว สารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตยังเป็นอีกกลุ่มที่มีการศึกษากัน ซึ่งสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตมีหลากหลาย เช่น แป้ง น้ำตาล โซลอส รวมถึงไซแลน ทั้งนี้การศึกษาเกี่ยวกับการจับของสารระเหยให้กลิ่นกับสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตยังมีไม่มากนัก โดยพบว่าโมเลกุลของแป้ง ซึ่งมีส่วนประกอบของแอมิโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์สายตรง (linear polymer) และแอมิโลเพคตินเป็นพอลิเมอร์ที่มีกิ่งก้าน (branched polymer) ของน้ำตาลเมื่อมีน้ำเป็นตัวทำละลาย พื้นผิวภายนอกของโมเลกุลแป้งจะมีสมบัติความชอบน้ำ (hydrophilicity) ในขณะที่ภายในจะเกิดช่องว่าง (channel) ซึ่งมีสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ทำให้ส่วนด้านในของโมเลกุลเหมาะกับการจับสารระเหยให้กลิ่นที่มีสมบัติชอบไขมัน (lipophilic) เช่น สารระเหยกลุ่มไฮโดรคาร์บอน ทำให้สารระเหยกลุ่มนี้สามารถเข้าไปอยู่ภายในช่องว่างนี้ได้ อย่างไรก็ตามเมื่อมีน้ำเป็นตัวทำละลายที่มากเกินไป จะทำให้โมเลกุลของแอมิโลสขดตัวเป็นเกลียวคู่ (double helix) ทำให้ไม่มีช่องตรงกลางที่จะสามารถจับกับสารระเหยให้กลิ่นได้ ในส่วนของแอมิโลเพคตินนั้น สามารถก่อตัวเป็นเกลียวได้ แต่เกิดขึ้นได้เฉพาะจากโซ่ข้างเท่านั้น การจับของสารระเหยให้กลิ่นกับคาร์โบไฮเดรตลักษณะนี้เรียกว่า inclusion complexation จากการศึกษาของ Rutschmann และ Solms (1990) ที่เปรียบเทียบ

การจับกลืนระหว่างโมเลกุลของแป้งกับไขมัน และแป้งกับสารระเหยให้กลืน พบว่าโมเลกุลของแป้งนั้นสามารถจับกลืนของไขมันได้มากกว่าสารระเหยให้กลืน ในทางกลับกันโมเลกุลของแป้งสามารถจับกับสารระเหยประเภทที่เป็นวง (cyclic) ได้มากกว่าแบบที่เป็นโซ่ตรง (linear) จากการศึกษา ยังพบว่า การจับกลืนของแอมิโลสนั้น สามารถจับกับสารระเหยให้กลืนได้ในปริมาณสูง แต่การจับกันนั้นไม่มีความเสถียร กล่าวคือพันธะที่เกิดอันตรกิริยาหรือการจับกันนั้นไม่แข็งแรง สามารถปลดปล่อยออกจากกันได้ อย่างไรก็ตามกลืนที่อยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารนั้นเกิดจากการผสมของสารระเหยให้กลืนหลายชนิด การจับระหว่างสารระเหยให้กลืนกับคาร์โบไฮเดรตจึงมีได้หลากหลายรูปแบบ นอกจากนี้ยังพบว่า การตัดแปรรูปโครงสร้างของคาร์โบไฮเดรตยังส่งผลต่อการจับกับสารระเหยให้กลืนอีกด้วย โดย Wulff และคณะ (1998) รายงานว่า เมื่อทำการตัดแปรรูปโครงสร้างของแอมิโลสผ่านปฏิกิริยาเคมี พบว่าความสามารถในการสร้างตัวแบบซับซ้อนของแอมิโลสนั้นจะลดลงเมื่อค่าระดับการแทนที่ในโมเลกุลของแอมิโลสเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากระดับการแทนที่ที่เพิ่มขึ้นของสารที่นำมาตัดแปรรูปนั้นไปรบกวนการขยายตัวในส่วนโครงสร้างที่เป็นเกลียวในโมเลกุลของแอมิโลส ทำให้สารให้กลืนไม่สามารถจับกับโมเลกุลของแอมิโลสที่มีระดับการแทนที่สูง ๆ ได้

## 2.8 เทคนิค static headspace ในการศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารระเหยให้กลิ่นกับสารประกอบโมเลกุลใหญ่

การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างสารระเหยให้กลิ่นและสารประกอบโมเลกุลใหญ่ สามารถทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้ในการศึกษามี 2 วิธี ได้แก่ เทคนิค equilibrium dialysis ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีข้อจำกัดคือสามารถทดสอบได้ในสถานะของเหลวเท่านั้น โดยบรรจุสารตัวอย่างไว้ภายในหลอดหรือถุงที่เป็นเยื่อเลือกผ่าน (dialysis membrane) โมเลกุลของสารระเหยให้กลิ่นที่เป็นสารขนาดเล็กจะผ่านเข้าออกถุงที่เป็นเยื่อเลือกผ่านได้ตลอดเวลาจนเข้าสู่จุดสมดุล แล้วนำสารละลายที่อยู่ภายนอกถุงเยื่อเลือกผ่านนั้นมาสกัดด้วยตัวทำละลาย เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นที่ไม่เกิดอันตรกิริยากับสารโมเลกุลใหญ่ที่สนใจศึกษา (รูปที่ 2.10) (Suppavorasatit และ Cadwallader, 2010 )



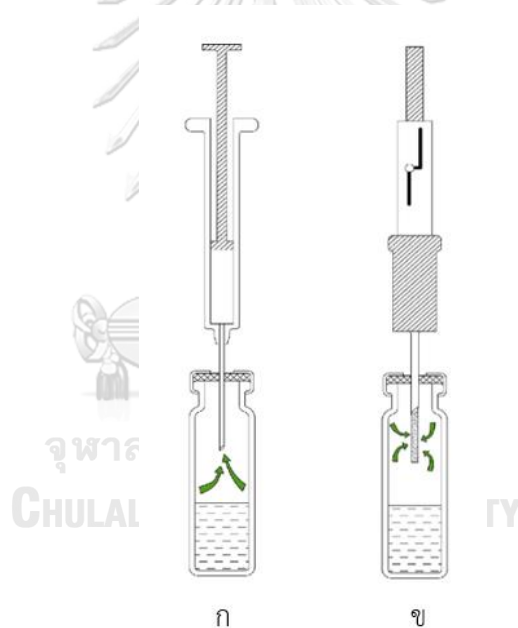
รูปที่ 2.10 เทคนิค equilibrium analysis

(แหล่งที่มา: <https://comis.med.uvm.edu>)

สำหรับเทคนิค static headspace เป็นเทคนิคที่มีการใช้ในการศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารระเหยให้กลิ่น โดยมีหลักการคือการใส่สารระเหยให้กลิ่นเข้าไปในภาชนะปิดที่มีตัวอย่างสารประกอบโมเลกุลใหญ่อยู่ภายใน จากนั้นรอให้สารนั้นกระจายตัวและระเหยออกมาอยู่ในอากาศด้านบนของสารประกอบดังกล่าวจนเข้าสู่จุดสมดุล (equilibrium) จากนั้นจึงนำสารระเหยในรูปของ



แก๊สที่อยู่เหนือสารประกอบศึกษาเชิงปริมาณ ก็จะทราบปริมาณของสารระเหยที่ไม่ได้จับหรือเกิดอันตรกริยากับสารประกอบนั้น ๆ สำหรับเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณสารระเหย ได้แก่ เทคนิคแก๊สสเปกโตรเมทรี (gas spectrometry, GC) โดยวิธีดั้งเดิมจะใช้เข็มดูดสารระเหยด้านบนสารประกอบเพื่อนำไปปลดปล่อย และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC ซึ่งวิธีนี้มีข้อเสียคือ ระหว่างที่ดูดสารระเหยออกจากภาชนะที่ปิดนั้น อาจมีการหลุดลอดของสารระเหยก่อนที่จะนำไปปลดปล่อยภายในเครื่องแก๊สสเปกโตรมิเตอร์ จึงอาจจำเป็นต้องใช้เทคนิคอื่นร่วมด้วย เช่นการสกัดสารโดยใช้ไฟเบอร์ที่มีสารพอลิเมอร์เคลือบอยู่เพื่อดูดซับ (absorb) ตัวอย่างสารระเหยให้กลืนที่ระเหยออกมาและนำไปปลดปล่อย (desorp) ในเครื่องแก๊สสเปกโตรมิเตอร์ ซึ่งเรียกเทคนิคนี้ว่า solid phase micro-extraction (SPME) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและสามารถวิเคราะห์สารให้กลืนรสได้แม่นยำดังแสดงในรูปที่ 2.11



**รูปที่ 2.11** การสกัดสารให้กลืนรสด้วยวิธี Static Headspace (ก)

และ วิธี Solid Phase Micro-extraction, SPME (ข) (ดัดแปลงจาก Majchrzak และคณะ, 2018)

การเลือกชนิดของไฟเบอร์ในการดูดซับสารระเหยด้วยเทคนิค SPME นั้นทำได้หลายวิธี โดยมีการศึกษาชนิดของไฟเบอร์ที่เหมาะสมอย่างมากมาย Li และคณะ (2018) ศึกษาเปรียบเทียบไฟเบอร์ที่ใช้ในการดูดซับสารระเหย 5 ชนิด ได้แก่ divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS), polyacrylate (PA), carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS),

polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB) และ polydimethylsiloxane (PDMS) เพื่อใช้ในการสกัดสารไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 6-15 อะตอม พบว่าไฟเบอร์แต่ละชนิดสามารถดูดซับสารไฮโดรคาร์บอนได้แตกต่างกัน เช่นเมื่อพิจารณาสารที่มีจำนวนคาร์บอน 8 อะตอม ไฟเบอร์ชนิดที่ดูดซับมากไปน้อย สามารถเรียงได้ ดังนี้ DVB/CAR/PDMS > PDMS > CAR/PDMS > PDMS/DVB > PA



## บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

### 3.1 ขั้นตอนดำเนินงานและแผนการดำเนินการวิจัย

- 3.1.1 ศึกษาค้นคว้าทฤษฎี และสืบค้นรวบรวมข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
- 3.1.2 วางแผนงานวิจัย กำหนดขั้นตอนและวิธีการทดลอง
- 3.1.3 จัดหาวัสดุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์การทดลอง
- 3.1.4 ศึกษาการใช้เครื่องมือในการทดสอบและวิธีทดสอบ
- 3.1.5 สกัดไซแลนจากต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
- 3.1.6 ดัดแปรไซแลนจากต้นข้าวโพดโดยใช้กรดซิตริก
- 3.1.7 ทดสอบและวิเคราะห์สมบัติของไซแลนและไซแลนดัดแปรจากกรดซิตริก
- 3.1.8 วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผล และจัดทำเล่มวิทยานิพนธ์

### 3.2 วัสดุดิบ

ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ผสม ซึ่งได้จากการเก็บตัวอย่างในพื้นที่ ตำบลเวียงสาและตำบลผาสิงห์ จังหวัดน่าน นำมาทำการบดให้มีขนาดอยู่ในช่วง 1-5 เซนติเมตร เก็บรักษาโดยการตากแห้งจนน้ำหนักคงที่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

### 3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

ตารางที่ 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์	บริษัท/ประเทศ
1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง รุ่น AB204-S/FACT	Mettler Toledo/USA
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น AB204-S/FACT	Mettler Toledo/USA
3. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH meter) รุ่น Mi150	Milwaukee/Hungary

อุปกรณ์	บริษัท/ประเทศ
4. เครื่องกวนสารแบบให้ความร้อน (hot plate stirrer) รุ่น C-MAG HS 10	Ika/Germany
5. เครื่องกวนสารแบบใช้แม่เหล็ก (Magnetic stirrer) รุ่น Plus Al	Progress Technical/Thailand
6. ตู้อบ (hot air oven) รุ่น UNB400	Mettmert/Germany
7. เครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ รุ่น Nicolet 6700	Thermo Scientific
8. เครื่องวิเคราะห์น้ำหนักภายใต้ความร้อน (Thermogravimetric analyzer, TGA) รุ่น TGA/DSC 3+ star <sup>c</sup> system	Mettler Toledo/USA
9. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) รุ่น 6890 series	Agilent technologies/UK
10. แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Mass Spectrometer) รุ่น 5973 series	Agilent technologies/UK
11. คอลัมน์ชนิด HP-5MS ;model number 19091s-433	Agilent technologies/UK
12. Solid Phase Microextraction (SPME) fiber(DVB/CAR/PDMS) 57328-U	Supelco Analytical/USA
13. เครื่องอ่านไมโครเพลต (Microplate reader) รุ่น OpsysMR	Dynex technologies /USA

อุปกรณ์	บริษัท/ประเทศ
14. เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer)	Scientific Industries /USA
15. อ่างควบคุมอุณหภูมิ รุ่นD-78224 Singen/Htw	Elma/Germany

### 3.4 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

ตารางที่ 3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

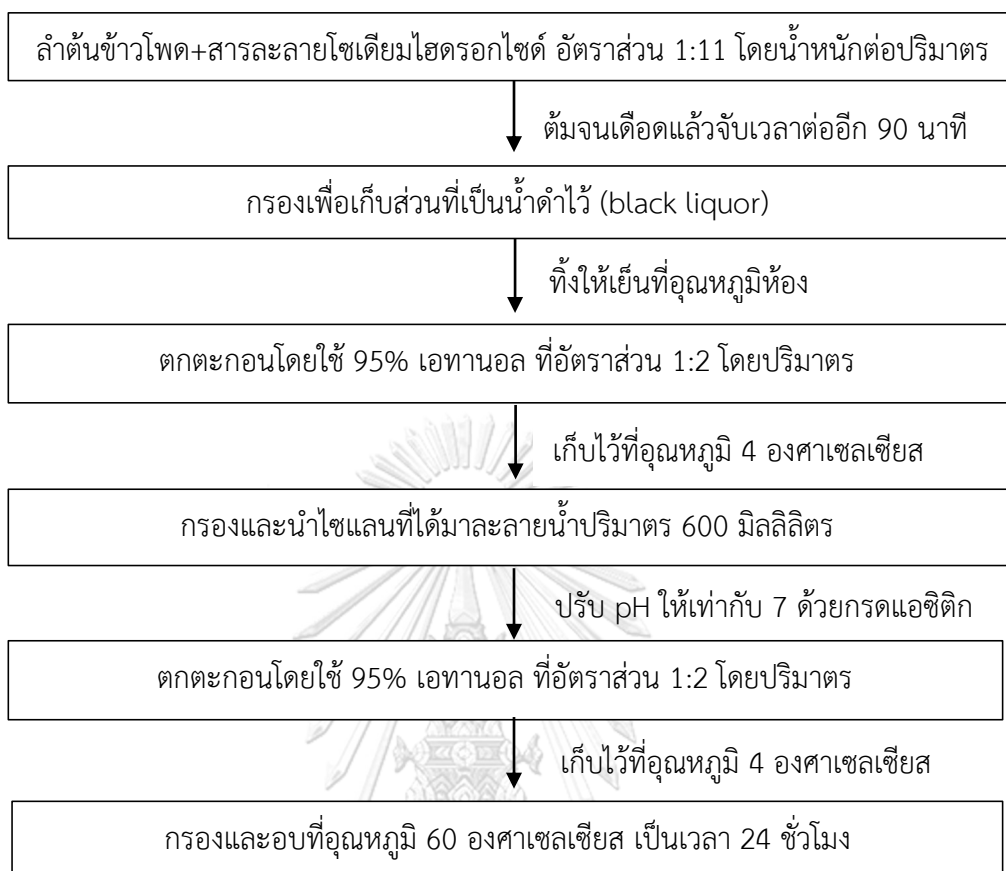
สารเคมี	เกรด	บริษัท/ประเทศ
1. กรดแอซีติก (Acetic acid, CH <sub>3</sub> COOH)	A.R.	Merck/Germany
2. อะซีโตน (Acetone, C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O)	A.R.	ACILabchem
3. Beechwood xylan	-	Sigma-Aldrich/USA
4. Beef extract	-	HiMedia/India
5. สารมาตรฐานอัลเคน C8-C40	A.R.	Sigma-Aldrich/USA
6. กรดซิตริก (Citric acid monohydrate, 99.8%, C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> •H <sub>2</sub> O)	A.R.	Fisher Scientific/UK
7. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	A.R.	Sigma-Aldrich/USA
8. เอทานอล Ethanol, 95% (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH)	A.R.	องค์การสุรากรม สรรพสามิต /ประเทศไทย
9. กรดไฮโดรคลอริก Hydrochloric acid (HCl)	A.R.	Ajax Finechem/Australia

สารเคมี	เกรด	บริษัท/ประเทศ
10. เมทานอล (99.9% Methanol, CH <sub>3</sub> OH)	HPLC	Honeywell/USA
11. ออกเทน (99.9% Octane, CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub> )	A.R.	Sigma-Aldrich/USA
12. ออกทานาล (98.5% Octanal, CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CHO)	A.R.	Sigma-Aldrich/USA
13. 2-ออกทานอน (99.8% 2- Octanone, CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COCH <sub>3</sub> )	A.R.	Sigma-Aldrich/USA
14. 1-ออกทานอล (99.9% 1-Octanol, CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> OH)	A.R.	Sigma-Aldrich/USA
15. เปปโตน (Peptone)	A.R.	HiMedia/India
16. ทรานส์-2-ออกทีนาล (98.1% <i>Trans</i> -2- Octenal, CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH=CHCHO)	A.R.	Sigma-Aldrich/USA
17. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl)	A.R.	Ajax Finechem/Australia
18. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH)	A.R.	Ajax Finechem/Australia
19. โซเดียมไฮโปฟอสไฟต์ (Sodium hypophosphite monohydrate, NaH <sub>2</sub> PO <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O)	A.R.	Ajax Finechem/Australia
20. 2,4,6-ไตรเมทิลไพริดีน (2,4,6- trimethylpyridine)	A.R.	Sigma-Aldrich/USA

### 3.5 ขั้นตอนการทดลอง

#### 3.5.1 การสกัดไซแลนจากต้นข้าวโพด

การสกัดไซแลนจากต้นข้าวโพด ได้ประยุกต์ใช้วิธีการสกัดจาก Samanta และคณะ (2012) โดยนำต้นข้าวโพดที่บดและอบแห้งแล้วน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 15% โดยน้ำหนัก ใช้อัตราส่วนน้ำหนักต้นข้าวโพดต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1:11 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำมาต้มโดยใช้หม้อต้มสแตนเลสขนาด 40 ลิตร รอจนสารละลายเริ่มเดือด จึงจับเวลาต่ออีก 1 ชั่วโมง 30 นาที รอให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองและเก็บสารละลายน้ำดำ (black liquor) นำไปตกตะกอนด้วย 95% เอทานอล ที่อัตราส่วน 1:2 โดยปริมาตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการกรองแล้วนำไซแลนมาละลายน้ำปริมาตร 600 มิลลิลิตร ทำการปรับ pH ให้เท่ากับ 7 ด้วยกรดแอสซิดิก จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาตกตะกอนไซแลนอีกครั้งโดยใช้ 95% เอทานอล ที่อัตราส่วน 1:2 โดยปริมาตร แล้วเก็บสารละลายที่ตกตะกอนแล้วไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองเพื่อนำไซแลนที่ได้มาอบให้แห้ง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไซแลนเข้าสู่ควบคุมความชื้น โดยขั้นตอนการสกัดไซแลนจากลำต้นข้าวโพด ดังแสดงในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดไซแลนจากลำต้นข้าวโพด

### 3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของชีวมวลพืช (Biomass chemical analysis)

อบตัวอย่างแห้งของต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร จนเป็นผงละเอียดสม่ำเสมอ นำไปวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ตามวิธีของ Goering และ Van Soest (1970) โดยวิธีการเตรียมสารและการคำนวณแสดงดังภาคผนวก ก

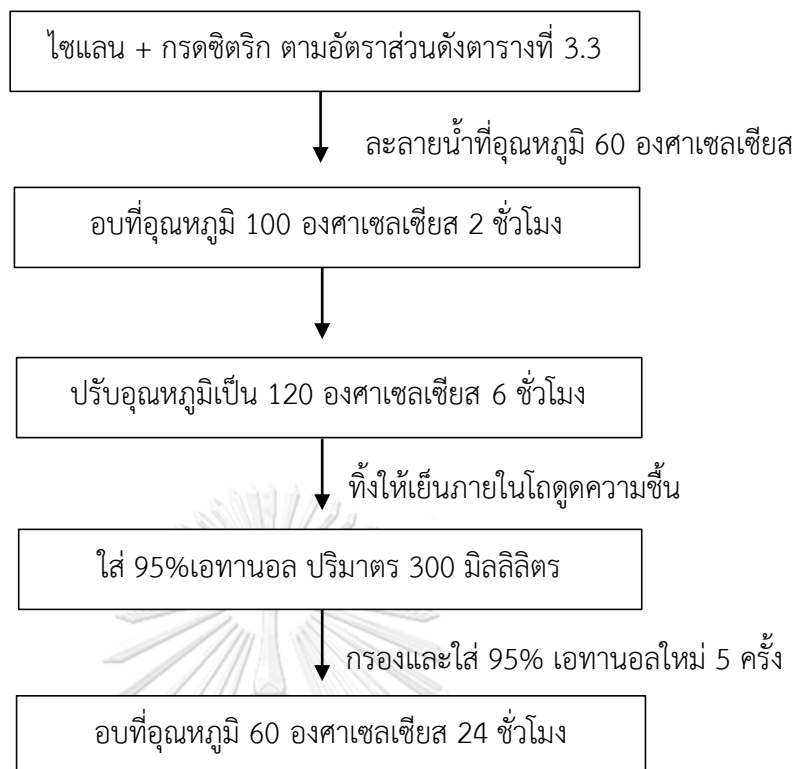


### 3.5.3 การตัดแปรไซแลนด้วยกระบวนการทางเคมี

การตัดแปรไซแลนโดยใช้กรดซिटริก โดยประยุกต์วิธีการตัดแปรจากการศึกษาของ Salam และคณะ (2011) โดยใช้วิธีเซมิเดรย (semi-dry method) เริ่มจากเตรียมไซแลนปริมาณ 5 กรัม ละลายด้วยน้ำ 15 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และเตรียมกรดซिटริกปริมาณตามอัตราส่วนไซแลนต่อกรดซिटริก โดยน้ำหนัก ดังนี้ 1:1 1:3 1:5 1:7 และ 1:9 นำมาละลายน้ำร้อนปริมาตร 8,12,15,20 และ 25 มิลลิลิตร ตามลำดับ และใส่โซเดียมไฮโปฟอสไฟต์ เพื่อเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาปริมาณ 20% ของกรดซिटริกที่ใช้ในแต่ละอัตราส่วน แสดงดังตารางที่ 3.3 จากนั้นผสมสารละลายทั้ง 2 ส่วนที่เตรียมไว้ให้เข้ากัน โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำเข้าสู่อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วเพิ่มอุณหภูมิขึ้นไป ที่ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำบีกเกอร์สารละลายออกมาพักไว้ที่อุณหภูมิห้องแล้วใส่ 95% เอทานอล ปริมาตร 300 มิลลิลิตร กวนสารละลายโดยใช้แท่งแม่เหล็ก เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองเพื่อนำเอทานอลเดิมออกและเติมเอทานอลใหม่ในปริมาตรเท่าเดิม ทำซ้ำจำนวน 5 รอบ ทำกรองไซแลนที่ตัดแปรแล้ว และนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไซแลนที่ตัดแปรแล้วไว้ในตู้ควบคุมความชื้น โดยขั้นตอนการตัดแปรไซแลนด้วยกรดซिटริกดังแสดงในรูปที่ 3.2

ตารางที่ 3.3 อัตราส่วนสารเคมีที่ใช้ตัดแปรไซแลน

อัตราส่วนในการตัดแปร ไซแลน (โดยน้ำหนัก)	ไซแลน (กรัม)	กรดซिटริก (กรัม)	โซเดียมไฮโปฟอสไฟต์ (กรัม)
1:1	5	5	1
1:3	5	15	3
1:5	5	25	5
1:7	5	35	7
1:9	5	45	9



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการดัดแปรไซแลนด้วยกรดซิดริก

#### 3.5.4. การศึกษาระดับการแทนที่จากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน

การทดสอบระดับการแทนที่จากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน เพื่อคำนวณหาระดับการแทนที่ของกรดซิดริกที่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ภายในโครงสร้างของไซแลน ด้วยวิธี acid-base titration โดยประยุกต์จากวิธีของ ธนา บุนนาค, 2560 นำไซแลนและไซแลนดัดแปรที่ได้จากหัวข้อ 3.5.3 มาละลายกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการไทเทรตสารละลายที่ได้กับกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ จากนั้นบันทึกค่าปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ทำการไทเทรตได้ที่ระดับ pH เท่ากับ 7.0 ของไซแลนและไซแลนดัดแปรเพื่อนำไปคำนวณค่าระดับการแทนที่

### 3.5.5 การวิเคราะห์และทดสอบสมบัติของไซแลนและไซแลนดัดแปร

#### 3.5.5.1 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด-สเปกโทรสโกปี

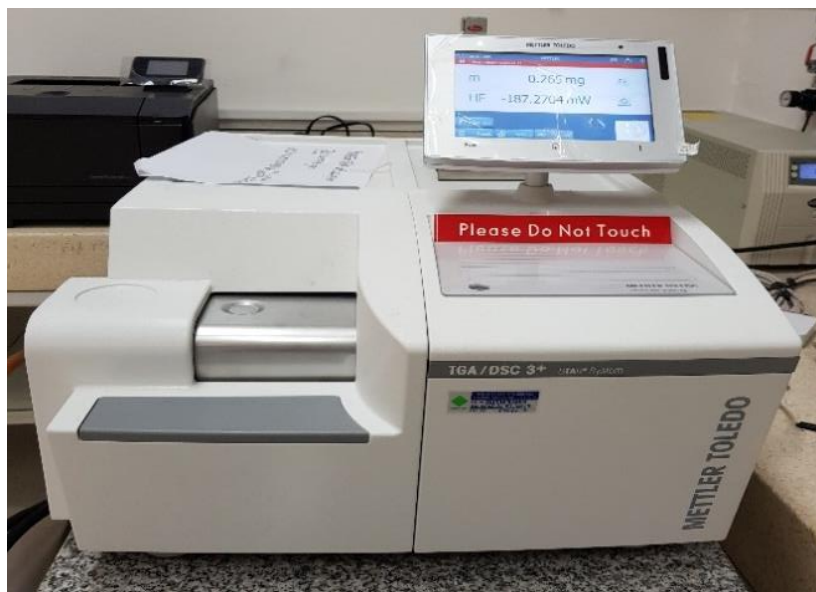
การวิเคราะห์โครงสร้างเคมีของไซแลนและไซแลนดัดแปรโดยสังเกตจากหมู่ฟังก์ชันภายในโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ ดังแสดงในรูปที่ 3.3 ในช่วงเลขคลื่น  $400-4000\text{ cm}^{-1}$



รูปที่ 3.3 เครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Nicolet 6700

#### 3.5.5.2 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของไซแลนและไซแลนดัดแปรภายใต้ความร้อน

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของไซแลนและไซแลนดัดแปรภายใต้ความร้อน เพื่อวิเคราะห์หาอุณหภูมิการสลายตัวของไซแลนและไซแลนดัดแปรด้วยเครื่องวิเคราะห์น้ำหนักภายใต้ความร้อน ดังแสดงในรูปที่ 3.4 โดยทดสอบตัวอย่างภายใต้ความร้อน อุณหภูมิตั้งแต่ 30-600 องศาเซลเซียส และมีอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส/นาที ภายใต้บรรยากาศของแก๊สไนโตรเจนที่มีอัตราการไหล เท่ากับ 40 มิลลิลิตร/นาที



รูปที่ 3.4 เครื่องวิเคราะห์น้ำหนักภายใต้ความร้อน ยี่ห้อ Mettler toledo รุ่น TGA/DSC 3+ star<sup>e</sup> system

### 3.5.5.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือสมบัติต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและไขมันดัดแปรด้วยวิธี DPPH assay ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-williams และคณะ (1995) เริ่มต้นจากการนำไขมันหรือไขมันดัดแปรมาละลายน้ำที่ความเข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารมาตรฐาน 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ให้เข้ากันและบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จึงนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทโฟโตมิเตอร์ ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้งและนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดังสมการ

$$IC_{50} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

เมื่อ  $IC_{50}$  (Inhibitory Concentration) คือ ค่าความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ 50% (mg/L)

A คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารมาตรฐาน DPPH

B คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารละลายตัวอย่างร่วมกับสารมาตรฐาน DPPH

#### 3.5.5.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

เตรียมเชื้อที่ใช้ทดสอบจากการเพาะเลี้ยง *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* ในอาหารเหลว Nutrient broth (NB; ภาคผนวก ข) บ่มในภาวะเขย่าที่ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโทโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และทำการเจือจางให้มีค่าการดูดกลืนแสงระหว่าง 0.1-0.2 (จำนวนเซลล์  $10^5$  CFU/ml) จากนั้นทำการเตรียมตัวอย่างโดยละลาย ไชแลนหรือไชแลนตัดแปรในอาหาร NB ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นตัวอย่างสุดท้ายเท่ากับ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อและเติมเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำสารละลายไปบ่มในภาวะเขย่าที่ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายมาเจือจางให้ความเข้มข้นลดลงครั้งละ 10 เท่าด้วยอาหาร NB ให้ความเข้มข้นต่ำที่สุดเท่ากับ  $10^{-7}$  ตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้จากการ spread สารละลายจากแต่ละตัวอย่างที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนอาหารแข็ง Nutrient Agar (NA; ภาคผนวก ข) และบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ตรวจวัดผลจากจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารซึ่งการทดลองแต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยชุดการทดลองควบคุมคือการทดลองที่ใช้อาหาร NB ที่ปราศจากการเติมไชแลนหรือไชแลนตัดแปร

### 3.5.6 การศึกษาการจับกลิ่นของไซเลนและไซเลนดัดแปร

#### 3.5.6.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง และสกัดสารที่ระเหยได้จากตัวอย่าง

นำไซเลนและไซเลนดัดแปร น้ำหนัก 1.0 กรัม ใส่ในขวด vial สีใส ขนาด 20 มิลลิลิตร จากนั้นปิดด้วยฝาที่มีแผ่น Teflon-coated septum ปิดอยู่ด้านในของฝา ทำการปิดฝาด้วยเครื่องกด (crimper) จากนั้นฉีดสารละลาย 2,4,6-trimethylpyridine ที่ใช้เป็น internal standard (IS) ที่ความเข้มข้น 250 ppm และฉีดสารให้กลิ่นได้แก่ Octane Octanal 2-Octenal 2-Octanone และ 1-Octanol ที่ความเข้มข้น 250 ppm ตามอัตราส่วนในตารางที่ 3.4 จากนั้นให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อให้สารให้กลิ่นนั้นระเหยได้ภายใน vial และยังคงอุณหภูมิไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส ขณะทำการสกัดด้วยเทคนิค Solid Phase Microextraction (SPME) โดยใช้ SPME fiber ชนิด Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำ fiber ที่ผ่านการดูดซับสารที่ระเหยจากตัวอย่างแล้วมาปลดปล่อย (desorp) ใน injection port ที่ตั้งเป็นระบบ split injector ในอัตราส่วน 50:1 ของเครื่อง GC-MS ดังแสดงในรูปที่ 3.5 ที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส และให้ SPME fibers ค้างอยู่ใน glass liner เป็นเวลา 45 วินาที เพื่อชะสารระเหยออกมาจาก fiber ก่อนดึงออกและวัดพื้นที่ใต้กราฟที่เป็นของสารระเหยและสาร internal standard

ตารางที่ 3.4 อัตราส่วนปริมาตรระหว่างสารระเหยให้กลิ่นและสารมาตรฐาน (IS)

สารระเหยให้กลิ่น	ปริมาตรสารระเหยให้กลิ่น (ไมโครลิตร)	ปริมาตรสารมาตรฐาน (IS) (ไมโครลิตร)
1-Octane	5	10
1-Octanol	5	10
1-Octanal	4	8
Trans-2-Octenal	5	10
2-Octanone	5	10

### 3.5.6.2 ภาวะของเครื่อง GC-MS

วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารระเหยด้วยเครื่อง GC-MS ดังแสดงในรูปที่ 3.5 โดยชนิดของคอลัมน์ที่ใช้คือ HP-5MS UI capillary column (Agilent Technologies; column length = 30 เมตร, inner diameter = 0.25 มิลลิเมตร, film thickness = 0.25 ไมโครเมตร) โดยมีก๊าซฮีเลียม (99.999%, TIG, Thailand) เป็น carrier gas ปรับให้มีอัตราการไหล 1.3 มิลลิลิตรต่อนาที ภาวะในการแยกสาร โดยตั้งเป็น split mode ที่อัตราส่วน 50:1 อุณหภูมิของ ion source เท่ากับ 230 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของ transfer line เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส และ injection port ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของ oven ที่ใช้เริ่มต้นที่ 60 องศาเซลเซียส เพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 15 องศาเซลเซียสต่อนาที ถึง 250 องศาเซลเซียส และใช้ Electron impact ionization ใน positive ion mode (70 eV)



รูปที่ 3.5 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น 6890 series และเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ ยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น 5973 series

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นข้าวโพด

จากการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในลำต้นข้าวโพด พบว่ามีองค์ประกอบของเซลลูโลสเท่ากับ  $33.50 \pm 0.37\%$  เฮมิเซลลูโลสเท่ากับ  $29.97 \pm 0.71\%$  และลิกนินเท่ากับ  $5.22 \pm 0.60\%$  ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในลำต้นข้าวโพด

ตัวอย่าง	องค์ประกอบ (% น้ำหนักต่อน้ำหนัก)		
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
ลำต้นข้าวโพด	$33.50 \pm 0.37$	$29.97 \pm 0.71$	$5.22 \pm 0.60$

\*ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เมื่อสกัดไซแลนจากลำต้นข้าวโพดปริมาณ 1,000 กรัม ด้วยวิธีการใช้สารละลายต่าง พบว่าสามารถสกัดไซแลนได้  $99.08 \pm 10.98$  กรัม โดยคิดเป็น  $9.91 \pm 1.10\%$  โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งเมื่อคำนวณเป็นปริมาณไซแลนสัมพัทธ์โดยเทียบกับเฮมิเซลลูโลสในลำต้นข้าวโพดได้เท่ากับ  $33.06 \pm 5.06\%$  ดังแสดงในตารางที่ 4.2

### จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.2 ปริมาณไซแลนที่สกัดได้จากลำต้นข้าวโพดด้วยวิธีใช้สารละลายต่าง

ตัวอย่าง	ปริมาณไซแลนที่สกัดได้ (%)	ปริมาณไซแลนสัมพัทธ์ (%) <sup>1</sup>
ลำต้นข้าวโพด	$9.91 \pm 1.10$	$33.06 \pm 5.06$

\*ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>1</sup>ปริมาณไซแลนสัมพัทธ์คือ ปริมาณไซแลนที่สกัดได้เมื่อเทียบกับปริมาณเฮมิเซลลูโลสในตัวอย่าง



## 4.2 ผลการวิเคราะห์ระดับการแทนที่จากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน (degree of substitution)

ในการวิเคราะห์ระดับการแทนที่ของกรดซिटริกจากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน ด้วยวิธี acid-base titration ผ่านการคำนวณโดยเปรียบเทียบระดับการแทนที่จากไซแลนที่สกัดได้ โดยเมื่อวิเคราะห์จากโครงสร้างโมเลกุลของไซแลนแล้วนั้น ไซแลนสามารถถูกแทนที่ได้ 2 ตำแหน่งที่ตำแหน่งคาร์บอน 2 และ 3 ดังนั้นค่าระดับการแทนที่ได้มากที่สุดจึงมีค่าเท่ากับ 2 ซึ่งเปรียบเทียบเป็น 100% จากผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่าเกิดการแทนที่ของกรดซिटริกในทุกอัตราส่วน โดยอัตราส่วนที่กรดซिटริกสามารถแทนที่ได้มากที่สุดคือ ไซแลนที่ทำการดัดแปรด้วยกรดซिटริกในอัตราส่วน 1:5 (โดยน้ำหนัก) โดยมีระดับการแทนที่เท่ากับ  $0.50 \pm 0.00$  คิดเป็น 26.11% ค่าระดับการแทนที่จะเพิ่มขึ้นจาก MX1 จนถึง MX5 จากนั้นจะมีค่าการแทนที่ลดลงที่ MX7 และ MX9 ตามลำดับ เนื่องจากไซแลนบางส่วนถูกทำลายจากความเป็นของกรดซिटริกในอัตราส่วนสูงพร้อมกับอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาสูง จึงทำให้ค่าการแทนที่ลดลงใน MX7 และ MX9

ตารางที่ 4.3 ค่าระดับการแทนที่และร้อยละระดับการแทนที่

ตัวอย่าง	ค่าระดับการแทนที่	ระดับการแทนที่ (%)
MX1	$0.46 \pm 0.01$	$24.00 \pm 0.57$
MX3	$0.48 \pm 0.01$	$25.18 \pm 0.44$
MX5	$0.50 \pm 0.00$	$26.11 \pm 0.29$
MX7	$0.49 \pm 0.00$	$26.00 \pm 0.16$
MX9	$0.48 \pm 0.01$	$25.53 \pm 0.16$

\*ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

หมายเหตุ: MX1 หมายถึง ไซแลนที่ทำการดัดแปรด้วยกรดซिटริกในอัตราส่วน 1:1 (โดยน้ำหนัก)

MX3 หมายถึง ไซแลนที่ทำการดัดแปรด้วยกรดซिटริกในอัตราส่วน 1:3 (โดยน้ำหนัก)

MX5 หมายถึง ไซแลนที่ทำการดัดแปรด้วยกรดซिटริกในอัตราส่วน 1:5 (โดยน้ำหนัก)

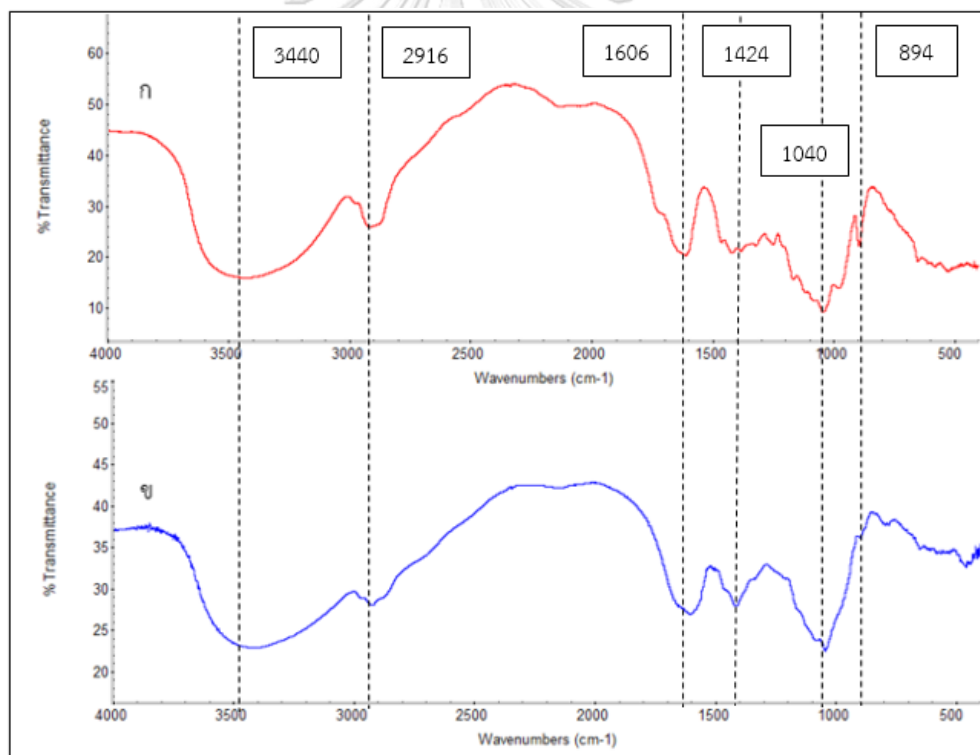
MX7 หมายถึง ไซแลนที่ทำการดัดแปรด้วยกรดซिटริกในอัตราส่วน 1:7 (โดยน้ำหนัก)

MX9 หมายถึง ไซแลนที่ทำการดัดแปรด้วยกรดซिटริกในอัตราส่วน 1:9 (โดยน้ำหนัก)

### 4.3 การวิเคราะห์และทดสอบสมบัติของไซแลนและไซแลนดัดแปร

#### 4.3.1 หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของไซแลน

ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ เพื่อตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของไซแลนที่สกัดได้เปรียบเทียบกับบีสวูดไซแลน (beechwood xylan) จากบริษัท Sigma-Aldrich พบว่าพิกที่ปรากฏบนสเปกตรัมสามารถยืนยันได้ว่าการสกัดไซแลนจากต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สามารถได้ไซแลนที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับไซแลนทางการค้าดังแสดงในรูปที่ 4.1 โดยพบวสเปกตรัมของไซแลนทั้ง 2 ชนิด ประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันได้แก่ ไฮดรอกซิล คาร์บอนิล คาร์บอกซิล ดังแสดงในตารางที่ 4.4 โดยตำแหน่งเลขคลื่นที่สำคัญได้แก่ ตำแหน่งเลขคลื่นที่  $894\text{ cm}^{-1}$  แสดงถึงการเชื่อมต่อด้วยพันธะบีตา-ไซโลซิดิก ( $\beta$ -xylosidic linkage) ที่เชื่อมแต่ละโมเลกุลของน้ำตาลไซโลสในสายโซ่หลักของไซแลน (Shuaiyang และคณะ, 2013)



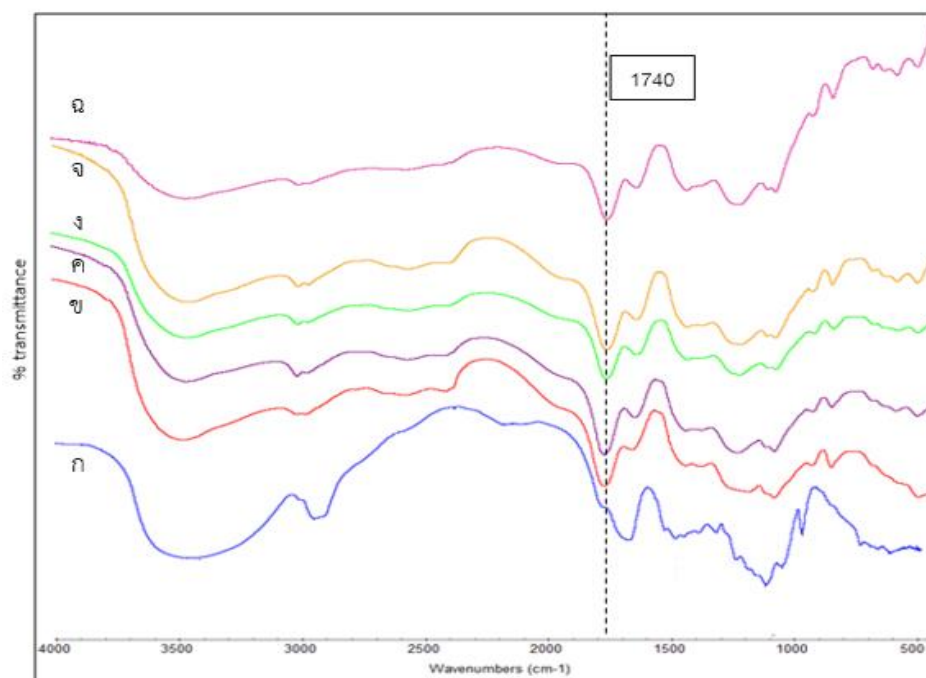
รูปที่ 4.1 อินฟราเรดสเปกตรัมของบีสวูดไซแลน (ก) และไซแลนที่สกัดได้จากลำต้นข้าวโพด (ข)

ตารางที่ 4.4 หมู่ฟังก์ชันของไซแลนที่ปรากฏบนอินฟราเรดสเปกตรัม

ตำแหน่งเลขคลื่น( $\text{cm}^{-1}$ )	พันธะ
3440	-OH stretching
2916	-CH stretching
1606 และ 1424	-C=O stretching
1040	-C-O-C- stretching
894	$\beta$ -xylosidic linkage

#### 4.3.2 หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของไซแลนดัดแปร

เมื่อนำไซแลนที่ผ่านการดัดแปรจากกรดซिटริกที่อัตราส่วน 1:1 (MX1), 1:3 (MX3), 1:5 (MX5), 1:7 (MX7) และ 1:9 (MX9) มาตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ ดังแสดงในรูปที่ 4.2 แสดงในสเปกตรัม ข, ค, ง, จ และฉ ตามลำดับ พบตำแหน่งพีคสำคัญที่ปรากฏได้แก่ ตำแหน่งเลขคลื่นที่  $1740 \text{ cm}^{-1}$  แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันของเอสเทอร์ (ester group,  $\text{RCOOR}'$ ) ที่เกิดขึ้นในโครงสร้างของไซแลน จึงแสดงว่าปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันนั้นเกิดขึ้นจริงและไซแลนที่เกิดขึ้นนั้นเป็นไซแลนที่มีอนุพันธ์ของกรดซिटริกอยู่ในโครงสร้าง

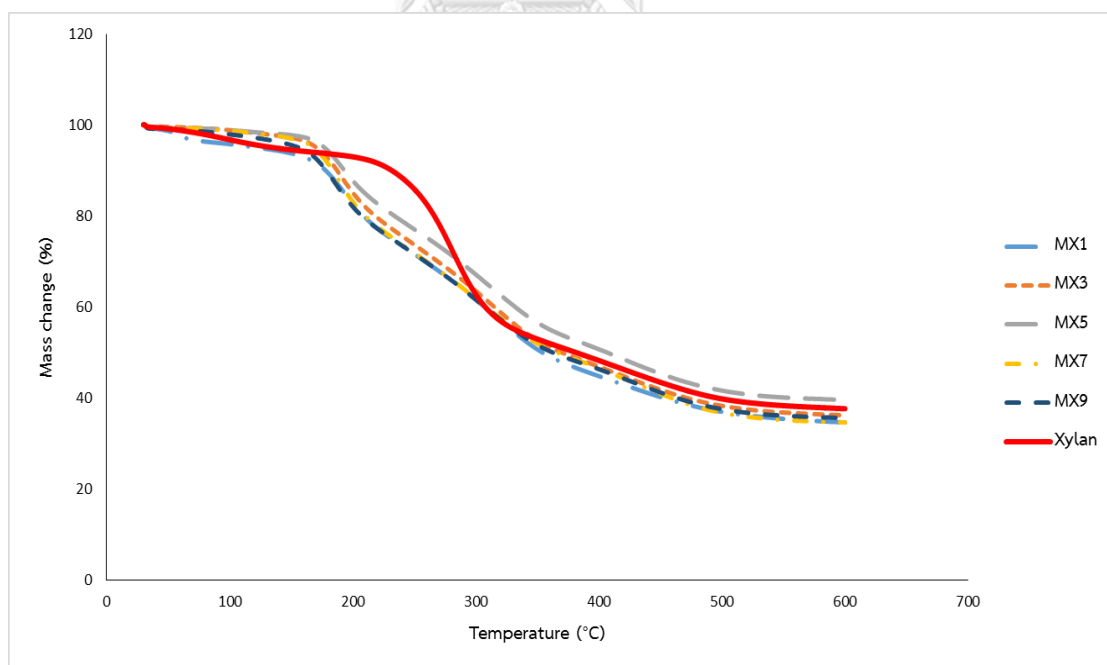


รูปที่ 4.2 อินฟราเรดสเปกตรัมของไซแลน (ก), MX1 (ข), MX3 (ค), MX5 (ง), MX7 (จ) และ MX9 (ฉ)

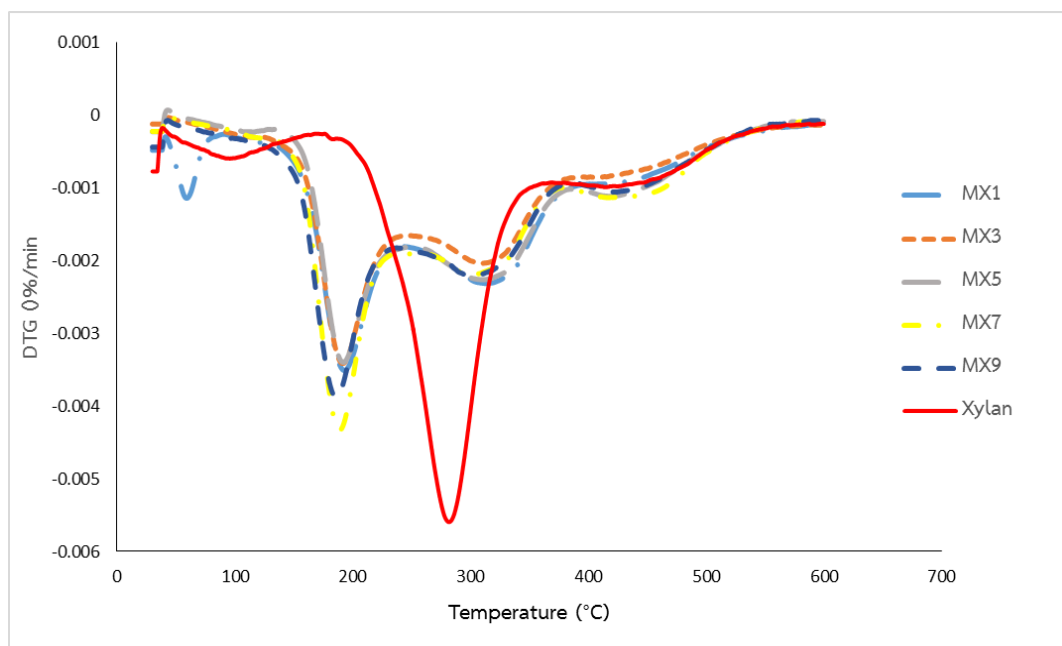
### 4.3.3 อุณหภูมิการสลายตัวทางความร้อน

การศึกษาอุณหภูมิการสลายตัวทางความร้อนด้วยเครื่องวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักภายใต้ความร้อน (TGA) โดยศึกษาอุณหภูมิที่สารเริ่มเกิดการสลายตัว (onset decomposition temperature,  $T_{\text{onset}}$ ) อุณหภูมิที่สารสลายตัวมากที่สุด (maximum decomposition temperature,  $T_{\text{max}}$ ) และอุณหภูมิที่สารสลายตัว (endset decomposition temperature,  $T_{\text{endset}}$ ) ของไซแลนและไซแลนดัดแปรทั้ง 5 อัตราส่วน ดังแสดงในรูปที่ 4.3 และ ตารางที่ 4.5 สำหรับ TGA และ DTG เทอร์โมแกรมของไซแลนและไซแลนดัดแปร แสดงในภาคผนวก ค

จากผลการทดลองพบว่า ไซแลนมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก 2 ช่วง โดยช่วงที่ 1 อยู่ระหว่างช่วงอุณหภูมิ 230.7 – 326.3 องศาเซลเซียส และมีอุณหภูมิที่สารสลายตัวมากที่สุดเท่ากับ 282.4 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการสลายตัวที่เกิดจากโมเลกุลของไซแลน ซึ่งสอดคล้องกับการสลายตัวของไซแลนในรายงานของ Salam และคณะ (2011) ที่รายงานว่าไซแลนเกิดการสลายตัวที่อุณหภูมิ 286.8 องศาเซลเซียส และการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักในช่วงที่ 2 อยู่ระหว่างช่วงอุณหภูมิ 417.7-515.4 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการสลายตัวจากโมเลกุลของลิกนินที่อยู่ภายในโครงสร้างของไซแลนที่ทำการสกัดจากต้นข้าวโพด (Kumar และคณะ, 2008)



รูปที่ 4.3 เทอร์โมแกรมการสลายตัวทางความร้อนของไซแลนและไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนต่าง ๆ



รูปที่ 4.4 DTG เทอร์โมแกรมของไผ่แล่นและไผ่แล่นดัดแปรที่อัตราส่วนต่าง ๆ

ในกรณีของไผ่แล่นที่ทำการดัดแปรแล้วตามอัตราส่วนต่าง ๆ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักภายใต้ความร้อนทั้งหมด 3 ช่วง โดยในช่วงแรกอยู่ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 156.1 - 228.1 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นผลมาจากการสลายตัวของกรดซिटริกที่อยู่ภายในโครงสร้างของไผ่แล่นที่ทำการดัดแปรแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Salam และคณะ (2011) ที่มีอุณหภูมิการสลายตัวของกรดซिटริกอยู่ที่อุณหภูมิ 191.4 องศาเซลเซียส

สำหรับการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักภายใต้ความร้อนในช่วงที่ 2 อยู่ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 256.8 - 374.7 องศาเซลเซียส พบว่าเป็นการสลายตัวของไผ่แล่นที่ทำการดัดแปรด้วยกรดซिटริก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระหว่างไผ่แล่นที่ทำการดัดแปรแล้วนั้น พบว่าไผ่แล่นที่ดัดแปรแล้วนั้นจะสลายตัวที่อุณหภูมิสูงกว่า เนื่องจากไผ่แล่นที่ทำการดัดแปรแล้วนั้น ภายในโครงสร้างเกิดการเชื่อมขวางผ่านพันธะเอสเทอร์จึงทำให้มีความเสถียรภายในโครงสร้างมากขึ้น ส่งผลให้การสลายตัวภายใต้ความร้อนเกิดที่อุณหภูมิสูงขึ้น (Shuaiyang และคณะ, 2013) การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักภายใต้ความร้อนในช่วงที่ 3 อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 417.7 - 515.4 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการสลายตัวจากโมเลกุลของลิกนินที่อยู่ภายในโครงสร้างของไผ่แล่นดัดแปร

ตารางที่ 4.5 อุณหภูมิการสลายตัวทางความร้อนช่วงที่ 1 ของไซแลนและไซแลนดัดแปร

ตัวอย่าง	การสลายตัวทางความร้อนช่วงที่ 1			
	T <sub>onset</sub> (องศาเซลเซียส)	T <sub>max</sub> (องศาเซลเซียส)	T <sub>end set</sub> (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักที่ เปลี่ยนแปลง (%)
Xylan	-	-	-	-
MX1	161.6	191.6	228.1	22.9
MX3	162.9	191.9	227.3	23.3
MX5	163.0	191.2	227.4	21.1
MX7	158.7	188.3	221.9	25.3
MX9	156.1	185.1	220.3	25.2

ตารางที่ 4.6 อุณหภูมิการสลายตัวทางความร้อนช่วงที่ 2 ของไซแลนและไซแลนดัดแปร

ตัวอย่าง	การสลายตัวทางความร้อนช่วงที่ 2			
	T <sub>onset</sub> (องศาเซลเซียส)	T <sub>max</sub> (องศาเซลเซียส)	T <sub>end set</sub> (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักที่ เปลี่ยนแปลง (%)
Xylan	230.7	282.4	326.3	42.7
MX1	259.3	321.5	369.0	25.4
MX3	267.4	322.3	364.2	24.4
MX5	260.5	320.7	368.3	24.0
MX7	256.8	325.2	374.7	23.0
MX9	265.3	319.7	366.2	22.9

ตารางที่ 4.7 อุณหภูมิการสลายตัวทางความร้อนช่วงที่ 3 ของไซแลนและไซแลนดัดแปร

ตัวอย่าง	การสลายตัวทางความร้อนช่วงที่ 3			
	T <sub>onset</sub> (องศาเซลเซียส)	T <sub>max</sub> (องศาเซลเซียส)	T <sub>end set</sub> (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักที่ เปลี่ยนแปลง (%)
Xylan	417.7	448.4	515.4	11.6
MX1	394.6	443.7	502.8	8.6
MX3	399.1	453.6	492.8	9.9
MX5	391.9	437.9	505.3	10.5
MX7	386.4	454.5	501.4	12.2
MX9	395.5	443.8	498.9	10.9

#### 4.3.4 สีของไชเลนหลังการตัดแปร

ภายหลังจากการตัดแปรไชเลนด้วยกรดซिटริกที่อัตราส่วนต่าง ๆ พบว่าสีของไชเลนภายหลังจากการตัดแปรนั้นเปลี่ยนแปลงไป ดังแสดงในรูปที่ 4.5 โดยสีของไชเลนในอัตราส่วน 1:1 (MX1) มีสีเข้มที่สุดและเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของกรดซिटริกในปริมาณมากขึ้น พบว่าสีของไชเลนตัดแปรมีสีอ่อนลงสามารถอธิบายได้ว่า ภายในโครงสร้างของไชเลนที่ทำการสกัดได้นั้นมีลิกนินปะปนอยู่ ทำให้ไชเลนที่สกัดได้มีสีน้ำตาลที่เกิดจากลิกนินและลิกนินสามารถถูกทำลายได้ด้วยกรด (Raj และคณะ, 2007) ดังนั้นเมื่อปริมาณของกรดซिटริกที่ใช้ในการตัดแปรเพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้โครงสร้างของลิกนินนั้นถูกทำลายไปด้วย ทำให้สีของไชเลนภายหลังจากการตัดแปรด้วยอัตราส่วนของกรดซिटริกที่สูงขึ้นนั้นมีสีอ่อนลง

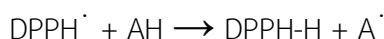


รูปที่ 4.5 สีของไชเลนและไชเลนตัดแปรด้วยกรดซิทริกที่อัตราส่วนต่าง ๆ

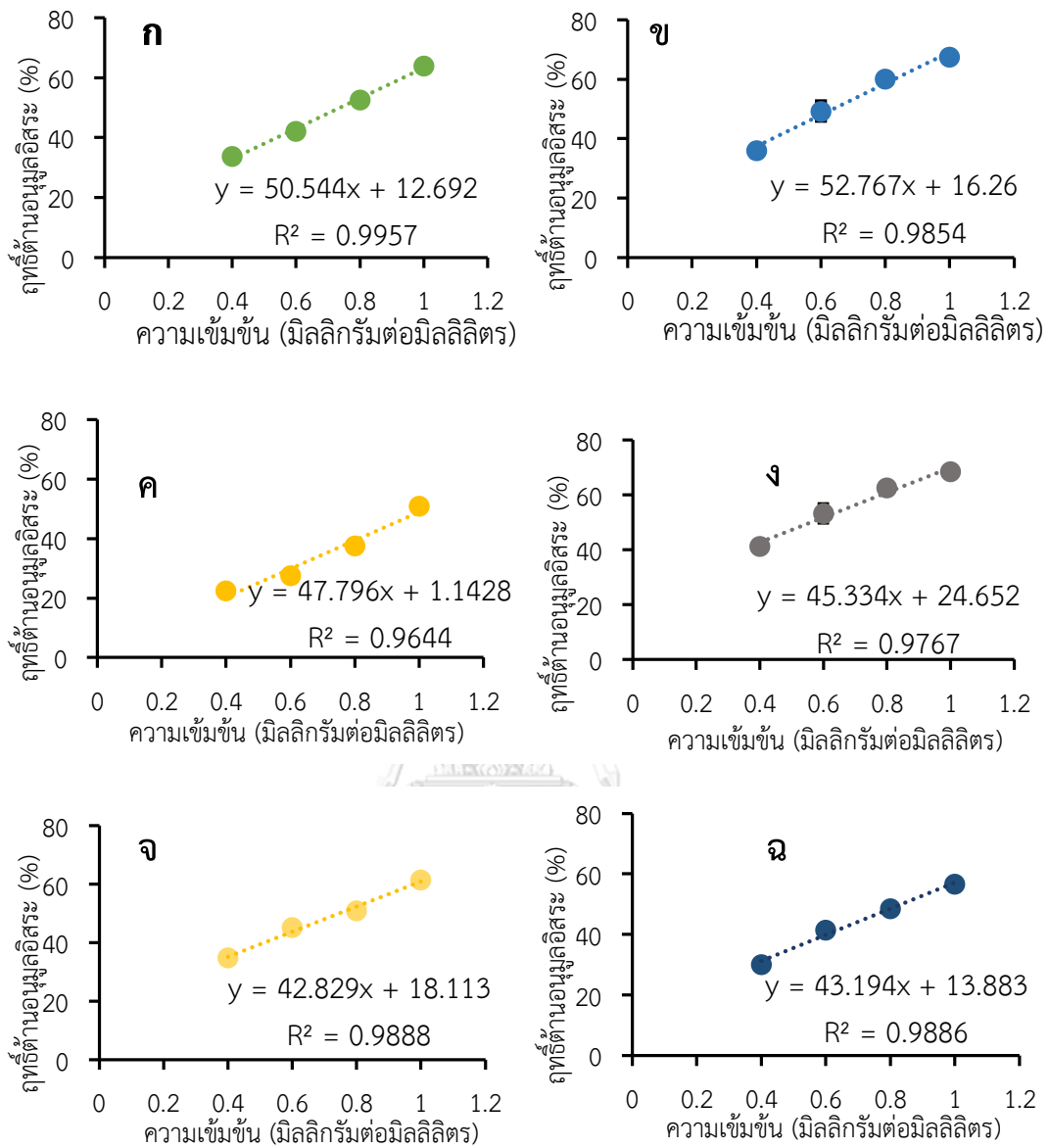


#### 4.3.5 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl assay หรือ DPPH assay เป็นวิธีเบื้องต้นที่นิยมในการตรวจสอบสมบัติของสารสกัดจากธรรมชาติ วิธีการนี้ใช้สารอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้น สารนี้มีสีม่วงจึงดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรและเมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ จะทำให้สีม่วงจางลงดังปฏิกิริยาต่อไปนี้ (Hou และคณะ, 2001)



ผลการตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของไซแลนและไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนต่าง ๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.5 จากผลการทดลองพบว่าไซแลนและไซแลนดัดแปรสามารถยับยั้งกระบวนการเกิดออกซิเดชันได้ ซึ่งไซแลนและไซแลนดัดแปรอัตราส่วน 1:1 (MX1), 1:3 (MX3), 1:5 (MX5), 1:7 (MX7) และ 1:9 (MX9) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ  $63.89 \pm 2.01\%$ ,  $68.38 \pm 1.76\%$ ,  $56.52 \pm 1.89\%$ ,  $67.56 \pm 3.11\%$ ,  $61.45 \pm 2.31\%$  และ  $50.92 \pm 1.65\%$  ตามลำดับ โดยทุกตัวอย่างมีค่าการยับยั้งสูงกว่า 50% จึงสามารถนำมาคำนวณหาค่าปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระลดลง 50% ( $IC_{50}$ , 50% of inhibitory concentration) ได้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.74, 0.56, 1.02, 0.64, 0.74 และ 0.84 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ผลการทดลองสอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้าของ Mengome และคณะ (2014) ที่พบว่าค่า  $IC_{50}$  ของไซแลนเมื่อสกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกันจะอยู่ในช่วง 0.1 ถึง 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับแนวโน้มของค่า  $IC_{50}$  ในตัวอย่างของไซแลนดัดแปรพบว่าไม่สอดคล้องกับอัตราส่วนที่เปลี่ยนแปลง โดยไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วน 1:1 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเนื่องจากมีค่า  $IC_{50}$  ต่ำที่สุด รองมาคือไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วน 1:5 ทั้งนี้อาจมีผลมาจากวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบซึ่งเหมาะสมกับการทดสอบสารชีวภาพที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ในขณะที่ไซแลนเป็นพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มีความหลากหลายทางโครงสร้างและส่วนประกอบ (heterogeneous complex polysaccharides) ทำให้ไม่สามารถทราบได้ว่าส่วนใดของไซแลนที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Wu และคณะ, 2013) แต่โดยทั่วไปแล้วพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพอลิเมอร์ในธรรมชาติจะเกี่ยวข้องกับหมู่ไฮดรอกซิลและ/หรือหมู่คาร์บอกซิลิก เช่น จากกรดยูโรนิก ซึ่งสามารถให้โปรตอนเพื่อรีดิวซ์สาร DPPH ได้ (Melo-Silveira และคณะ, 2011)



**รูปที่ 4.6** ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (%) ของไซเลน (ก) และไซเลนดัดแปรที่อัตราส่วน MX1 (ข) MX3 (ค) MX5 (ง) MX7 (จ) และ MX9 (ฉ) ที่ความเข้มข้น 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DPPH assay และกำหนดให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารมาตรฐาน 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ เท่ากับ 0

#### 4.3.6 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

จากการตรวจสอบอัตราการเจริญของแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* เมื่อมีการผสมไซแลนและไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดลดลงในทุกตัวอย่างที่เติมไซแลนและไซแลนดัดแปรเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่มีการเติมสารตัวอย่างดังตารางที่ 4.6 โดยพบว่าไซแลนดัดแปรอัตราส่วน 1:3 (MX3) สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด และมีผลให้การเจริญของแบคทีเรียลดลง 72.75% และ 74.85% ตามลำดับเมื่อความเข้มข้นของสารตัวอย่างเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และลดลง 79.56% และ 84.24% ตามลำดับเมื่อความเข้มข้นของสารตัวอย่างเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *B. subtilis* จะถูกยับยั้งการเจริญมากกว่า *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวกมีโครงสร้างผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยกรดไทโคอิกและเปปติโดไกลแคนถึง 90% ทำให้สารนอกเซลล์สามารถผ่านเข้าออกได้ง่าย (Scherrer และGerhardt, 1971) จึงถูกยับยั้งการเจริญได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบที่มีโครงสร้างผนังเซลล์ที่ซับซ้อน แม้ว่าประกอบด้วยเปปติโดไกลแคนเพียง 5 ถึง 20% แต่มีองค์ประกอบของไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ที่เพิ่มความแข็งแรงให้กับเซลล์และมีส่วนของช่องพอรินที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร โดยเฉพาะสารที่มีมวลโมเลกุลสูง (Ciardiello และTortora, 2001; Matu และvan Staden, 2003)

ตารางที่ 4.8 การเจริญของ *Escherichia coli* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร NB ที่มีการเติมไซแลนและไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนต่างๆ

ชนิดของตัวอย่าง	จำนวนเซลล์ของ <i>Escherichia coli</i> ( $\times 10^7$ CFU/mL)	
	ความเข้มข้น 0.005 mg/mL	ความเข้มข้น 0.01 mg/mL
ไม่มีสารตัวอย่าง	$3.67 \pm 0.27^c$	$3.67 \pm 0.27^c$
Xylan	$2.40 \pm 0.16^b$	$1.22 \pm 0.16^b$
MX1	$2.33 \pm 0.12^b$	$1.14 \pm 0.81^b$
MX3	$1.00 \pm 0.40^a$	$0.75 \pm 0.14^a$
MX5	$2.33 \pm 0.94^b$	$1.10 \pm 0.47^b$
MX7	$2.10 \pm 0.16^b$	$0.92 \pm 0.14^b$
MX9	$2.33 \pm 0.24^b$	$1.33 \pm 0.27^b$

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงผลการทดลองที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

ตารางที่ 4.9 การเจริญของ *Bacillus subtilis* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร NB ที่มีการเติมไซแลนและไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนต่างๆ

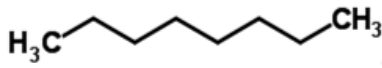
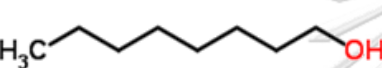


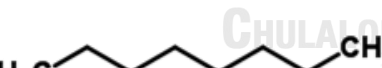
ชนิดของตัวอย่าง	จำนวนเซลล์ของ <i>Bacillus subtilis</i> ( $\times 10^7$ CFU/mL)	
	ความเข้มข้น 0.005 mg/mL	ความเข้มข้น 0.01 mg/mL
ไม่มีสารตัวอย่าง	$3.30 \pm 0.22^c$	$3.30 \pm 0.21^c$
Xylan	$1.47 \pm 0.24^b$	$1.27 \pm 0.09^b$
MX1	$1.27 \pm 0.46^{ab}$	$1.07 \pm 0.21^b$
MX3	$0.83 \pm 0.07^a$	$0.52 \pm 0.08^a$
MX5	$1.10 \pm 0.40^{ab}$	$0.87 \pm 0.12^b$
MX7	$1.23 \pm 0.46^{ab}$	$1.10 \pm 0.29^b$
MX9	$1.20 \pm 0.16^{ab}$	$1.13 \pm 0.12^b$

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงผลการทดลองที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

#### 4.4 ผลการจับสารระเหยให้กลิ่นของไซแลนและไซแลนดัดแปร

จากการทดลองใช้ไซแลนและไซแลนดัดแปรเพื่อจับสารระเหยให้กลิ่น 5 ชนิด ซึ่งสารระเหยทั้ง 5 ชนิดนี้มีจำนวนคาร์บอน 8 อะตอมเท่ากัน แต่มีหมู่ฟังก์ชันต่างกันดังแสดงในตารางที่ 4.10

**ตารางที่ 4.10** สารระเหยให้กลิ่นที่ใช้ในการทดลอง ประเภทของหมู่ฟังก์ชันและโครงสร้างของสารระเหยให้กลิ่น

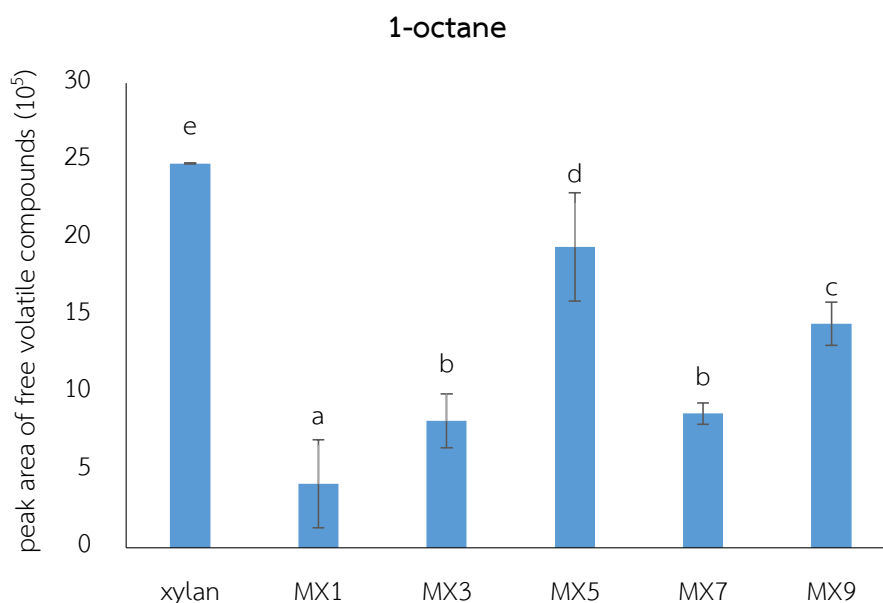
โครงสร้างของสารระเหยให้กลิ่น	สารระเหยให้กลิ่น	หมู่ฟังก์ชัน
	1-octane	aliphatic alkane
	1-octanol	alcohol
	1-octanal	aldehyde
	trans-2-octenal	trans-aldehyde
	2-octanone	ketone

(แหล่งที่มา: <http://www.chemspider.com> )

โดยจากสารระเหยให้กลิ่นที่แสดงในตารางที่ 4.10 สามารถเรียงลำดับตามความมีขี้ของสารได้ดังนี้: alcohol > ketone > aldehyde > aliphatic alkane

จากการศึกษาการจับสารระเหยให้กลิ่นของไซแลน และไซแลนดัดแปร ในเบื้องต้นวางแผนการแสดงผลเป็นปริมาณสารระเหยให้กลิ่นอิสระ (สารแต่ละชนิด) ต่อไซแลน และไซแลนดัดแปร โดยออกแบบการทดลองเพื่อหาปริมาณสารระเหยให้กลิ่นอิสระด้วยวิธีการใช้ internal standard (i.s.) เดิมลงไปให้เป็นสัดส่วนกับสารระเหยให้กลิ่นที่ต้องการศึกษา แต่จากผลการทดลองที่ได้ เมื่อคำนวณปริมาณสารระเหยให้กลิ่นอิสระ พบว่าปริมาณสารระเหยให้กลิ่นอิสระที่ได้มีแนวโน้มแตกต่างจากขนาดพื้นที่ได้กราฟของสารระเหยให้กลิ่นอิสระที่พบในแต่ละตัวอย่าง ซึ่งพื้นที่ได้กราฟนี้สามารถบอกได้ถึงว่ามีปริมาณสารระเหยว่ามากหรือน้อยได้เช่นเดียวกัน เพียงแต่ไม่สามารถบอกถึงปริมาณของสารระเหยในเชิงปริมาณที่แม่นยำได้ และจากผลการใช้ i.s. พบว่าปริมาณ i.s. ที่เติมลงไปมีขนาดพื้นที่ได้กราฟที่ลดลงอย่างมากในตัวอย่างไซแลนที่ผ่านการดัดแปร ซึ่งอาจเกิดจากการที่ i.s. ที่ใช้เข้าไปจับหรือเกิดอันตรกิริยากับไซแลนดัดแปรมากกว่าที่เกิดในไซแลนที่ยังไม่ผ่านการดัดแปร ทำให้ไม่สามารถคำนวณปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นอิสระซึ่งควรให้ผลเป็นแนวโน้มเดียวกับการใช้ขนาดพื้นที่ได้กราฟ ด้วยเหตุนี้ ผู้วิจัยจึงเลือกรายงานผลในรูปแบบกราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ได้กราฟของสารระเหยให้กลิ่นอิสระต่อไซแลนและไซแลนดัดแปรดังแสดงในรูปที่ 4.7-4.11

#### 4.4.1 ผลการจับกลิ่นของสารระเหยให้กลิ่น 1-octane



**รูปที่ 4.7** พื้นที่ใต้กราฟของ 1-octane อีสาระที่หลงเหลือจากการจับกับไซแลนและไซแลนดัดแปร

จากรูปที่ 4.7 พบว่าตัวอย่าง ไซแลนที่ไม่ผ่านการดัดแปรมี 1-octane อีสาระหลงเหลืออยู่มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเทียบกับไซแลนดัดแปร ซึ่งหมายความว่าไซแลนที่ไม่ผ่านการดัดแปรมีสมบัติการจับกับ 1-octane ได้ต่ำกว่าไซแลนดัดแปรทุกตัวอย่าง แต่เมื่อมีการดัดแปรไซแลนด้วยกรดซิตริกที่ทุกอัตราส่วน พบว่าปริมาณ 1-octane อีสาระมีค่าน้อยกว่าที่พบในตัวอย่างไซแลน และเมื่อพิจารณาที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) พบว่าปริมาณ 1-octane อีสาระมีค่าน้อยที่สุด จากนั้นปริมาณ 1-octane อีสาระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีการดัดแปรด้วยกรดซิตริกในปริมาณที่มากขึ้น และยังพบอีกว่าปริมาณ 1-octane อีสาระสูงที่สุดอยู่ที่ตัวอย่างที่อัตราส่วน 1:5 (MX5) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณกรดซิตริกไปอีก พบว่าปริมาณ 1-octane อีสาระกลับลดลง โดยเมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของไซแลนหลังผ่านการดัดแปรแล้ว พบว่าไซแลนที่ผ่านการดัดแปรมีสมบัติของความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) เพิ่มมากขึ้น (Li และ Fan, 2018) ซึ่งเมื่อพิจารณาที่ค่าระดับการแทนที่ พบว่าที่อัตราส่วน 1:5 (MX5) นั้นมีค่าระดับการแทนที่ที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับอัตราส่วนอื่น ซึ่งสอดคล้องกับ Wulff และคณะ (1998) ที่กล่าวว่าโมเลกุลของแอมิโลสนั้นเมื่อถูกแทนที่จากสารที่นำมาดัดแปรมีความสามารถในการจับกับสารระเหยให้กลิ่นได้ลดลง เนื่องจากบริเวณโมเลกุลที่ถูกแทนที่จากโครงสร้างของสารอื่นนั้นไปบดบังโครงสร้างทำให้ไม่สามารถขดตัวเป็นเกลียวได้ ซึ่งทำให้โครงสร้างภายในเกลียวที่มีขั้วตานั้นไม่สามารถจับกับสารระเหยให้กลิ่นได้อีก นอกจากนี้ยังพบงานวิจัยของ Franks และคณะ (1983) ซึ่งรายงานว่าสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตสามารถเกิด

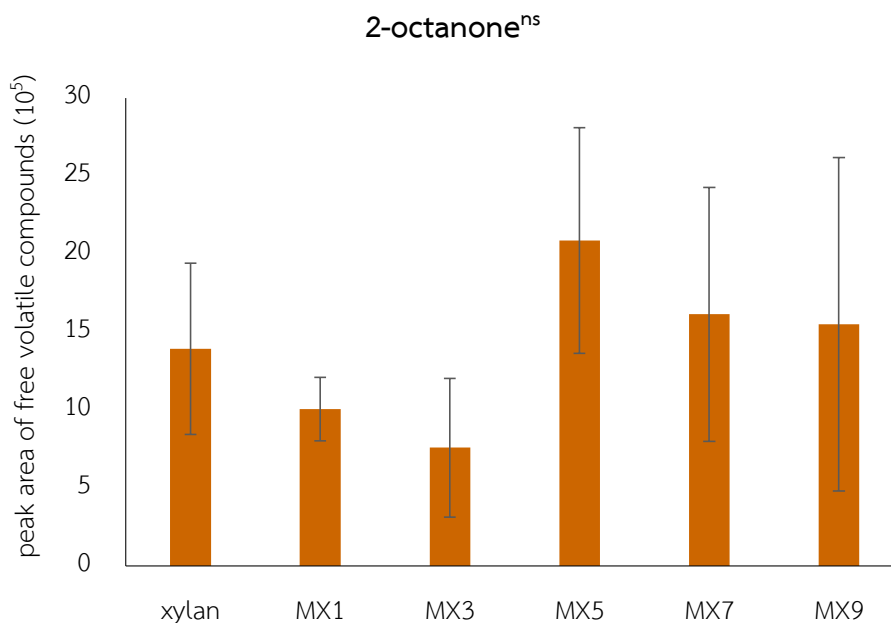
hydrophobic inclusion form ได้เมื่อโครงสร้างในโมเลกุลของสารนั้นมีส่วนที่มีขั้วต่ำปรากฏอยู่ ประกอบกับมีสารให้กลิ่นประเภทที่ไม่มีขั้วอยู่ในระบบ ทำให้สารให้กลิ่นนั้นเกิดการรวมตัวกันอยู่ ณ บริเวณโครงสร้างของไซแลนดัดแปรที่มีความมีขั้วต่ำเหมือนกันภายในโครงสร้าง จึงทำให้ไซแลนดัดแปรส่วนใหญ่มีความสามารถในการจับกับสารระเหยให้กลิ่นประเภทไฮโดรคาร์บอนได้

ในขณะที่ไซแลนที่ยังไม่ผ่านการดัดแปรมีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ภายในโครงสร้างซึ่งเป็นส่วนที่มีขั้วมาก ทำให้ไม่สามารถจับกับสาร 1-octane ที่มีขั้วต่ำและมีโครงสร้างเป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอน และโครงสร้างเรียงตัวเป็นอะลิฟาติกอัลเคน ดังนั้นเมื่อตรวจสอบบริเวณอากาศเหนือไซแลนในขวดตัวอย่างที่ปิดสนิท จึงทำให้สารระเหยให้กลิ่นนี้หลงเหลืออยู่ปริมาณมากที่สุด





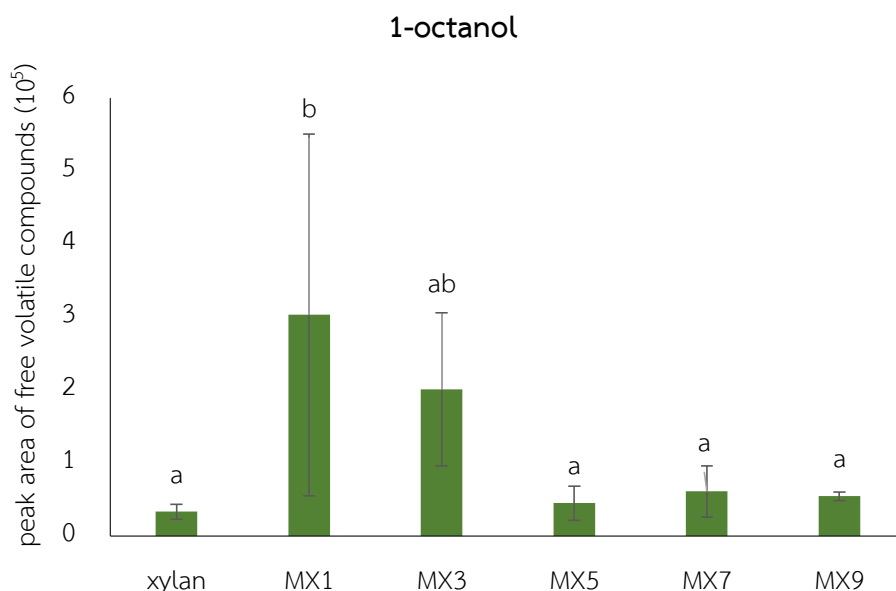
#### 4.4.2 ผลการจับกลิ่นของสารระเหยให้กลิ่น 2-octanone



รูปที่ 4.8 พื้นที่ใต้กราฟของ 2-octanone อีสาระที่หลงเหลือจากการจับกับไซแลนและไซแลนดัดแปร

จากรูปที่ 4.8 เมื่อทำการเปรียบเทียบการจับกลิ่นของไซแลนและไซแลนดัดแปรกับสารระเหยให้กลิ่น 2-octanone พบว่าตัวอย่างของไซแลนและไซแลนดัดแปรนั้นมี 2-octanone อีสาระหลงเหลืออยู่ในระบบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งสามารถอธิบายได้จากโครงสร้างของสารระเหยให้กลิ่น 2-octanone ดังตารางที่ 4.10 โดย 2-octanone เป็นสารระเหยประเภทคีโตน ซึ่งมีส่วนปลายโมเลกุลทั้งสองข้างเป็นส่วนที่มีขั้วต่ำ ในขณะที่ขั้วกลางไซแลนที่ผ่านการดัดแปรด้วยกรดซัลฟิวริกนั้นมีสมบัติความมีขั้วต่ำเช่นเดียวกัน จึงเป็นสาเหตุให้ไซแลนที่ผ่านการดัดแปรสามารถจับกับสารระเหยให้กลิ่นได้ ซึ่งไม่แตกต่างกับไซแลนที่ไม่ผ่านการดัดแปร เนื่องจากโครงสร้างของ 2-octanone มีส่วนของหมู่เอสเทอร์ภายในโมเลกุล ดังนั้นสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับไซแลนซึ่งเป็นสารที่มีหมู่ไฮดรอกซิลภายในโครงสร้างโมเลกุลได้ ทำให้ไซแลนนั้นสามารถจับกับสารระเหยและเหลือสารระเหยให้กลิ่นอีสาระในระบบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) กับไซแลนที่ผ่านการดัดแปร

#### 4.4.3 ผลการจับกลิ่นของสารระเหยให้กลิ่น 1-octanol



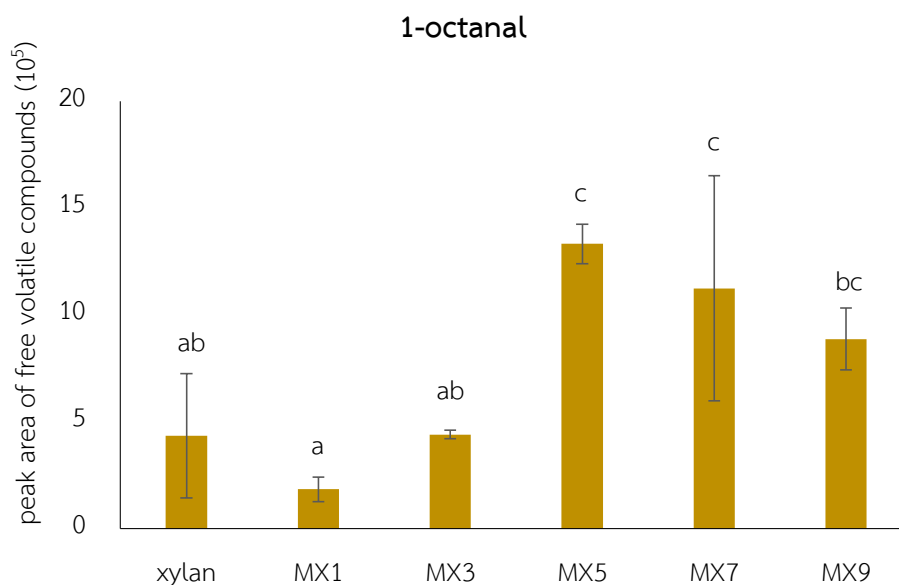
รูปที่ 4.9 พื้นที่ใต้กราฟของ 1-octanol อีสาระที่หลงเหลือจากการจับกับไซแลนและไซแลนตัดแปร

จากรูปที่ 4.9 พบว่าตัวอย่างไซแลนที่ไม่ผ่านการตัดแปรมีสารระเหยให้กลิ่น 1-octanol อีสาระหลงเหลืออยู่ซึ่งไม่ต่างจากอัตราส่วน 1:5 (MX5) 1:7 (MX7) และ 1:9 (MX9) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อมีการตัดแปรไซแลนด้วยกรดซिटริกที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) พบว่าปริมาณ 1-octanol อีสาระมีค่าสูงที่สุด ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่าโครงสร้างไซแลนนั้นมีหมู่ไฮดรอกซิลภายในโมเลกุลสูง สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับสารประเภทที่มีขั้วได้ดี สังเกตได้จากสารระเหยให้กลิ่น 1-octanol ที่มีหมู่ฟังก์ชันของแอลกอฮอล์อยู่ในโครงสร้างนั้น ทำให้สามารถจับกับไซแลน และเหลือสารระเหยให้กลิ่นอีสาระในระบบน้อย ในขณะที่ไซแลนตัดแปรนั้น การจับกับสารระเหยให้กลิ่นของไซแลนตัดแปรที่มีอัตราส่วนสูง ๆ สามารถจับกับ 1-octanol ได้ดี ซึ่งอาจเกิดจากขณะตัดแปรไซแลนที่อัตราส่วนของกรดซिटริกสูงขึ้น ไซแลนซึ่งเป็นโมเลกุลที่สามารถถูกไฮโดรไลซ์ได้ง่ายด้วยกรดอาจถูกตัดทำให้สายโซ่สั้นลง จึงเกิดส่วนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิลเกิดขึ้น ณ ตำแหน่งที่ถูกตัดได้ ในขณะที่ 1-octanol เป็นสารที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็นแอลกอฮอล์และมีหมู่ไฮดรอกซิล จึงสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับไซแลนตัดแปรที่มีอัตราส่วนของกรดซिटริกสูง ๆ ได้ดีกว่าไซแลนที่มีอัตราส่วนต่ำกว่า ในขณะที่ไซแลนที่ผ่านการตัดแปรด้วยกรดซिटริกที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) หลงเหลือสารระเหยให้กลิ่นอีสาระในปริมาณมากที่สุด สามารถอธิบายได้ว่า เมื่อตัดแปรไซแลนด้วยกรดซिटริก อาจเกิดการบดบังของโครงสร้างของกรดซिटริกภายในไซโมเลกุลทำให้โครงสร้างของไซแลนไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันได้ เนื่องจากกรดซिटริกเป็นกรดที่มีโครงสร้างใหญ่และเมื่อเกิดร่างแหเชื่อมขวางแล้วก่อให้เกิดส่วนที่มีขั้ว

ต่ำขึ้นภายในโมเลกุล ทำให้ไม่สามารถสร้างพันธะไฮโดรกับสารระเหยให้กลิ่น 1-octanol ซึ่งเป็นสารประเภทแอลกอฮอล์ มีส่วนของหมู่ไฮดรอกซิลภายในโครงสร้างโมเลกุลและมีสมบัติความมีขี้้วมาก ดังนั้นเมื่อตรวจสอบบริเวณอากาศเหนือไซแลนในขวดตัวอย่างที่ปิดสนิท จึงทำให้สารระเหยให้กลิ่นนี้หลงเหลืออยู่ปริมาณมากที่สุด



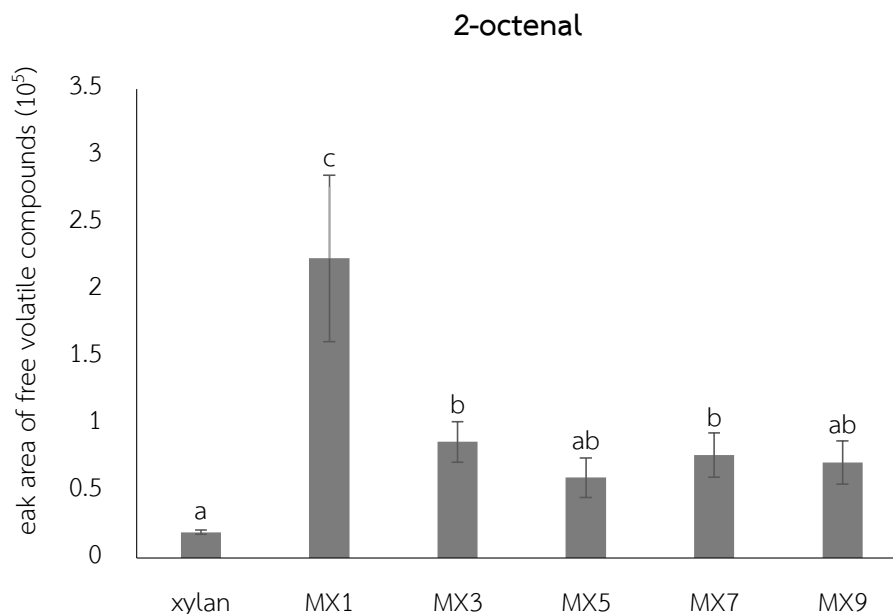
#### 4.4.4 ผลการจับกลิ่นของสารระเหยให้กลิ่น 1-octanal



รูปที่ 4.10 พื้นที่ใต้กราฟของ 1-octanal อีสาระที่หลงเหลือจากการจับกับไซแลนและไซแลนดัดแปร

จากรูปที่ 4.10 พบว่าตัวอย่างไซแลน ที่ไม่ผ่านการดัดแปร มี 1-octanal อีสาระหลงเหลืออยู่มากกว่าไซแลนที่ผ่านการดัดแปรด้วยกรดซิตริกที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) และไม่ต่างจากอัตราส่วน 1:3 (MX3) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อมีการดัดแปรไซแลนด้วยกรดซิตริกเพิ่มขึ้นที่อัตราส่วน 1:5 (MX5) 1:7 (MX7) และ 1:9 (MX9) พบว่ามีสารระเหยให้กลิ่น 1-octanal อีสาระหลงเหลืออยู่ในอัตราส่วน 1:5 มากที่สุดแต่ไม่แตกต่างกับที่อัตราส่วน 1:7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามลำดับ ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า จากโครงสร้างของสารระเหยให้กลิ่น 1-octanal นั้นจัดอยู่ในหมู่ฟังก์ชันประเภทอัลดีไฮด์ ซึ่งมีทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้วอยู่ในโครงสร้าง ซึ่งพบว่าไซแลนที่ผ่านการดัดแปรด้วยกรดซิตริกที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) นั้นสามารถจับสารระเหยให้กลิ่นประเภทนี้ได้มากที่สุด อาจเกิดจากการแทนที่ของซิตริกที่ไม่สมบูรณ์ภายในโครงสร้าง เนื่องจากไซแลนที่ผ่านการดัดแปรด้วยกรดซิตริกที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) มีระดับค่าแทนที่ที่ต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับไซแลนดัดแปรทุกอัตราส่วน ดังตารางที่ 4.3 ทำให้ไซแลนที่ผ่านการดัดแปรที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) จึงมีทั้งส่วนที่มีขั้วของไซแลนเดิมที่ไม่ถูกแทนที่และไม่มีขั้วจากการแทนที่ของกรดซิตริก ด้วยสาเหตุจากความมีขั้วและไม่มีขั้วที่คล้ายคลึงกันของโครงสร้างจึงทำให้ไซแลนที่ผ่านการดัดแปรที่อัตราส่วนนี้สามารถจับกับสารระเหยและเหลือสารระเหยให้กลิ่นอีสาระในระบบน้อยที่สุด

#### 4.4.5 ผลการจับกลิ่นของสารระเหยให้กลิ่น 2-octenal



รูปที่ 4.11 พื้นที่ใต้กราฟของ 2-octenal อีสาระที่หลงเหลือจากการจับกับไซแลนและไซแลนดัดแปร

จากรูปที่ 4.11 พบว่าตัวอย่างไซแลนที่ไม่ผ่านการดัดแปรมี 2-octenal อีสาระหลงเหลืออยู่น้อยที่สุด แต่เมื่อมีการดัดแปรไซแลนด้วยกรดซिटริกที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) พบว่าปริมาณ 2-octenal อีสาระมีค่าสูงที่สุด จากนั้นปริมาณ 2-octenal อีสาระมีแนวโน้มลดลงเมื่อมีการดัดแปรไซแลนด้วยกรดซिटริกในปริมาณที่มากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณกรดซिटริกไปอีก พบว่าปริมาณ 2-octenal อีสาระกลับเพิ่มขึ้นในอัตราส่วนไซแลนดัดแปรที่ 1:7 (MX7) ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่า จากโครงสร้างของ 2-octenal ดังตารางที่ 4.10 ซึ่งเป็นสารระเหยให้กลิ่นที่มีหมู่ฟังก์ชันซึ่งเป็นอัลดีไฮด์ และมีส่วนที่มีขั้วของหมู่ไฮดรอกซิลภายในโครงสร้าง จึงทำให้ไซแลนสร้างพันธะไฮโดรเจนเพื่อจับสารระเหยให้กลิ่นประเภทนี้ได้ สามารถจับกับสารระเหยและเหลือสารระเหยให้กลิ่นอีสาระในระบบน้อย ในส่วนของไซแลนที่ผ่านการดัดแปรด้วยกรดซिटริกนั้นพบว่า ไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนสูง ๆ นั้นสามารถจับสารระเหยให้กลิ่น 2-octenal ได้ดี สาเหตุเนื่องมาจากเมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของสาร 2-octenal มีส่วนที่สามารถเกิด hydrophobic interaction กับไซแลนดัดแปรได้ ซึ่งไซแลนที่ถูกดัดแปรเองนั้นก็มีความขั้วต่ำ ทำให้เกิดการจับกลิ่นได้กับไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนสูง ๆ จากการศึกษาของ Baert และคณะ (2012) ได้กล่าวว่าการจับกลิ่นของหมู่ฟังก์ชันประเภทอัลดีไฮด์นั้นขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของอะตอมไฮโดรเจนที่อยู่ในโครงสร้าง โดยพบว่ายิ่งมีอะตอมไฮโดรเจนในจำนวนที่มากขึ้น ส่งผลให้การจับกลิ่นนั้นมากขึ้นไปด้วย

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารระเหยให้กลิ่นที่มีหมู่ฟังก์ชันเหมือนกัน เช่น 1-octanal (ดังแสดงในรูปที่ 4.10) และ 2-octenal (ดังแสดงในรูปที่ 4.11) พบว่าสารทั้งสองมีความสามารถในการจับกลิ่นที่แตกต่างกัน โดยเมื่อพิจารณาถึงโครงสร้างของ 2-octenal นั้นประกอบด้วยตำแหน่งพันธะคู่ 2 ตำแหน่ง ซึ่งส่งผลถึงความมีขั้วต่ำภายในโครงสร้าง จึงทำให้ไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนสูง ๆ ซึ่งมีขั้วต่ำเช่นเดียวกันจึงสามารถจับกับสารระเหยและเกลือสารระเหยให้กลิ่น 2-octenal อิสระในระบบน้อยกว่า 1-octanal ในขณะที่ 1-octanal นั้น สามารถจับกับสารระเหยและเกลือสารระเหยให้กลิ่นอิสระในไซแลนดัดแปรที่มีอัตราส่วนสูงๆมากกว่า 2-octenal



## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

1. จากการแยกองค์ประกอบของลำต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ มีปริมาณของ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินร้อยละ  $33.50 \pm 0.37$   $29.97 \pm 0.71$  และ  $5.22 \pm 0.60$  ตามลำดับ และการจากสกัดไซแลนโดยใช้สารละลายต่างที่มีความเข้มข้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก พบว่าสามารถสกัดไซแลนได้ร้อยละ  $9.91 \pm 1.10$  โดยน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณไซแลนสัมพัทธ์โดยเทียบกับเฮมิเซลลูโลสในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ร้อยละ  $33.06 \pm 5.06$

2. เมื่อตัดแปรไซแลนด้วยกรดซिटริกที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) 1:3 (MX3) 1:5 (MX5) 1:7 (MX7) และ 1:9 (MX9) พบว่ามีหมู่เอสเทอร์เกิดขึ้น และจากการวิเคราะห์หาค่าระดับการแทนที่ (Degree of substitution, DS) พบว่าไซแลนตัดแปรที่อัตราส่วน 1:5 (MX5) มีค่าระดับการแทนที่สูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $0.50 \pm 0.00$  หรือร้อยละ  $26.11 \pm 0.29$

3. ไซแลนตัดแปรมีเสถียรภาพทางความร้อนมากกว่าไซแลนที่ยังไม่ผ่านการตัดแปร โดยเปรียบเทียบจากอุณหภูมิที่สารละลายตัวมากที่สุด ( $T_{max}$ ) ที่มีค่าเพิ่มขึ้น

4. ไซแลนตัดแปรที่อัตราส่วน 1:1 (MX) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเนื่องจากมีค่า  $IC_{50}$  ต่ำที่สุด สำหรับแนวโน้มของค่า  $IC_{50}$  ในตัวอย่างของไซแลนตัดแปรพบว่าไม่เป็นแนวโน้มไปตามอัตราส่วนที่เปลี่ยนแปลง ทั้งนี้อาจมีผลมาจากวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบซึ่งเหมาะสมกับการทดสอบสารชีวภาพที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ในขณะที่ไซแลนเป็นพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มีความหลากหลายทางโครงสร้างและส่วนประกอบ (heterogeneous complex polysaccharides) ทำให้ไม่สามารถทราบได้ว่าส่วนใดของไซแลนที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

5. ไซแลนตัดแปรอัตราส่วน 1:3 (MX3) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* และ *B.subtilis* ได้ดีที่สุดและเมื่อความเข้มข้นของสารตัวอย่างเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลให้การเจริญของแบคทีเรียลดลงร้อยละ 72.75 และร้อยละ 74.85 ตามลำดับ และเมื่อความเข้มข้นของสารตัวอย่างเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลให้การเจริญของแบคทีเรียลดลงร้อยละ 79.56 และร้อยละ 84.24 ตามลำดับ และพบว่าแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *B.subtilis* ถูกยับยั้งการเจริญมากกว่า *E.coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ

## 6. สมบัติการจับกลิ่นของไซแลนและไซแลนดัดแปร

สารระเหยให้กลิ่นแต่ละตัวที่นำมาใช้ในการทดลองนั้นมีความจำเพาะต่อการจับกับไซแลนและไซแลนดัดแปรที่ต่างกัน โดยสามารถสรุปได้ดังนี้

6.1 สารระเหยให้กลิ่น 1-octane ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันประเภทแอลิฟาติกอัลเคน สามารถจับกับไซแลนที่ยังไม่ได้ดัดแปรได้น้อยกว่าไซแลนดัดแปร โดยจับกับไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) ได้มากที่สุด

6.2 สารระเหยให้กลิ่น 2-octanone ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันประเภทคีโตน สามารถจับกับไซแลนที่ยังไม่ได้ดัดแปรและไซแลนดัดแปรในระดับที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

6.3 สารระเหยให้กลิ่น 1-octanol ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันประเภทแอลกอฮอล์ สามารถจับกับไซแลนที่ยังไม่ได้ดัดแปรและไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วน 1:5 (MX5) 1:7 (MX7) และ 1:9 (MX9) ได้มากที่สุด และใกล้เคียงกันในระดับที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

6.4 สารระเหยให้กลิ่น 1-octenal ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันประเภทอัลดีไฮด์ สามารถจับกับไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วน 1:1 (MX1) ได้มากที่สุด ในขณะที่ 2-octenal ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันประเภทประเภทเดียวกันนั้น สามารถจับกับไซแลนที่ยังไม่ได้ดัดแปรได้มากที่สุด เนื่องจากความเป็นขั้วที่ไม่เท่ากันของสารระเหยให้กลิ่นทั้ง 2 ชนิด

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไซแลนจากต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพื่อให้ได้ปริมาณของไซแลนเพิ่มขึ้น
2. ศึกษาการดัดแปรไซแลนด้วยกรดซัลฟิวริกด้วยวิธีอื่น ๆ เพื่อเปรียบเทียบค่าระดับการแทนที่
3. ศึกษาความสามารถจับกลิ่นโดยเปรียบเทียบระหว่างไซแลนและไซแลนที่อัตราส่วนต่าง ๆ กับสารระเหยให้กลิ่น



## รายการอ้างอิง

- Adnani, A., Basri, M., Chaibakhsh, N., Ahangar, H. A., Salleh, A. B., Rahman, R. N. Z. R. A. and Rahman, M. B. A. 2011. Chemometric analysis of lipase-catalyzed synthesis of xylitol esters in a solvent-free system. *Carbohydrate research* 346: 472-479.
- Amidon, T. E., Bujanovic, B., Liu, S. and Howard, J. R. 2011. Commercializing biorefinery technology: A case for the multi-product pathway to a viable biorefinery. *Forests* 2: 929-947.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology* 28: 25-30.
- Chimphango, A. F., van Zyl, W. H. and Görgens, J. F. 2012. In situ enzymatic aided formation of xylan hydrogels and encapsulation of horse radish peroxidase for slow release. *Carbohydrate polymers* 88: 1109-1117.
- Ciardiello, F. and Tortora, G. 2001. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. *Clinical Cancer Research* 7: 2958-2970.
- Ebringerova, A. and Heinze, T. 2000. Xylan and xylan derivatives—biopolymers with valuable properties, 1. Naturally occurring xylans structures, isolation procedures and properties. *Macromolecular rapid communications* 21: 542-556.
- Gao, C., Ren, J., Zhao, C., Kong, W., Dai, Q., Chen, Q., Liu, C. and Sun, R. 2016. Xylan-based temperature/pH sensitive hydrogels for drug controlled release. *Carbohydrate polymers* 151: 189-197.
- Goering, H. and Van Soest, P. 1970. Forage fiber analysis. United States Department of Agriculture. *Agriculture Handbook* 379: 1-20.
- Hou, W.-C., Lee, M.-H., Chen, H.-J., Liang, W.-L., Han, C.-H., Liu, Y.-W. and Lin, Y.-H. 2001. Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne) tuber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4956-4960.
- Kapelko-Żeberska, M., Buksa, K., Szumny, A., Zięba, T. and Grysztka, A. 2016. Analysis of molecular structure of starch citrate obtained by a well-established method. *LWT-Food Science and Technology* 69: 334-341.
- Li, Q., Gao, Y., Wang, H., Li, B., Liu, C., Yu, G. and Mu, X. 2012. Comparison of different alkali-based pretreatments of corn stover for improving enzymatic saccharification. *Bioresour. Technol.* 125: 193-199.
- Li, Z. and Pan, X. 2018. Strategies to modify physicochemical properties of hemicelluloses from biorefinery and paper industry for packaging material. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 1-23.
- Li, Z., Li, L., Xing, L., Liu, Y., Zhang, M., Wang, X., Cao, C. and Wang, Z. 2018. Development of new method for D/H ratio measurements for volatile hydrocarbons of crude oils using solid phase micro-extraction (SPME) coupled to gas chromatography isotope ratio mass spectrometry (GC-IRMS). *Marine and Petroleum Geology* 89: 232-241.

- Limayem, A. and Ricke, S. C. 2012. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress in Energy and Combustion Science* 38: 449-467.
- Luo, Y., Pan, X., Ling, Y., Wang, X. and Sun, R. 2014. Facile fabrication of chitosan active film with xylan via direct immersion. *Cellulose* 21: 1873-1883.
- Matu, E. N. and van Staden, J. 2003. Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. *Journal of Ethnopharmacology* 87: 35-41.
- Maurya, D. P., Singla, A. and Negi, S. 2015. An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. *3 Biotech* 5: 597-609.
- Mei, J.-Q., Zhou, D.-N., Jin, Z.-Y., Xu, X.-M. and Chen, H.-Q. 2015. Effects of citric acid esterification on digestibility, structural and physicochemical properties of cassava starch. *Food Chemistry* 187: 378-384.
- Melo-Silveira, R. F., Fidelis, G. P., Costa, M. S. S. P., Telles, C. B. S., Dantas-Santos, N., Elias, S. d. O., Ribeiro, V. B., Barth, A. L., Macedo, A. J. and Leite, E. L. 2011. In vitro antioxidant, anticoagulant and antimicrobial activity and in inhibition of cancer cell proliferation by xylan extracted from corn cobs. *International journal of molecular sciences* 13: 409-426.
- Mengome, L. E., Voxeur, A., Akue, J. P. and Lerouge, P. 2014. Screening of antioxidant activities of polysaccharides extracts from endemic plants in Gabon. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 3: 77-88.
- Raj, A., Reddy, M. K. and Chandra, R. 2007. Decolourisation and treatment of pulp and paper mill effluent by lignin-degrading *Bacillus* sp. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology* 82: 399-406.
- Rodrigo, G. and Chapman, R. 1991. The calcium paradox in isolated guinea-pig ventricular myocytes: effects of membrane potential and intracellular sodium. *The Journal of physiology* 434: 627-645.
- Rutschmann, M. and Solms, J. 1990. Formation of inclusion complexes of starch with different organic compounds. IV. Ligand binding and variability in helical conformations of V amylose complexes. *Lebensmittel-Wissenschaft+ Technologie= Food science+ technology*
- Saha, B. C., Yoshida, T., Cotta, M. A. and Sonomoto, K. 2013. Hydrothermal pretreatment and enzymatic saccharification of corn stover for efficient ethanol production. *Industrial Crops and Products* 44: 367-372.
- Salam, A., Pawlak, J. J., Venditti, R. A. and El-tahlawy, K. 2011. Incorporation of carboxyl groups into xylan for improved absorbency. *Cellulose* 18: 1033-1041.
- Samanta, A., Senani, S., Kolte, A. P., Sridhar, M., Sampath, K., Jayapal, N. and Devi, A. 2012. Production and in vitro evaluation of xylooligosaccharides generated from corn cobs. *Food and Bioprocess Processing* 90: 466-474.
- Samanta, A. K., Jayapal, N., Jayaram, C., Roy, S., Kolte, A. P., Senani, S. and Sridhar, M. 2015. Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products: Production and applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 5: 62-71.
- Sarvesh, D., Percy, S. and Jacob, M. 2018. Bio-based products from xylan: A review. *Carbohydrate polymers*

- Scherrer, R. and Gerhardt, P. 1971. Molecular sieving by the *Bacillus megaterium* cell wall and protoplast. *Journal of Bacteriology* 107: 718-735.
- Sharif, A., Akhtar, N., Khan, M., Mena, A., Mena, B., Khan, B. and Mena, F. 2015. Formulation and evaluation on human skin of a water-in-oil emulsion containing Muscat hamburg black grape seed extract. *International journal of cosmetic science* 37: 253-258.
- Shuaiyang, W., Huiling, L., Junli, R., Chuanfu, L., Feng, P. and Runcang, S. 2013. Preparation of xylan citrate—A potential adsorbent for industrial wastewater treatment. *Carbohydrate Polymers* 92: 1960-1965.
- Socol, C. R., Vandenberghe, L. P. S., Rodrigues, C. and Pandey, A. 2006. New perspectives for citric acid production and application. *Food Technology and Biotechnology* 44: 141-149.
- Sun, X.-F., Wang, H.-h., Jing, Z.-x. and Mohanathas, R. 2013. Hemicellulose-based pH-sensitive and biodegradable hydrogel for controlled drug delivery. *Carbohydrate polymers* 92: 1357-1366.
- Wang, S., Ren, J., Li, W., Sun, R. and Liu, S. 2014. Properties of polyvinyl alcohol/xylan composite films with citric acid. *Carbohydrate polymers* 103: 94-99.
- Wulff, G., Steinert, A. and Höller, O. 1998. Modification of amylose and investigation of its inclusion behavior. *Carbohydrate Research* 307: 19-31.
- Zhou, X., Li, W., Mabon, R. and Broadbent, L. J. 2017. A critical review on hemicellulose pyrolysis. *Energy Technology* 5: 52-79.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช

#### 1. การเตรียมสารละลาย Neutral Detergent

Disodium ethylene diamine tetraacetate (EDTA) dehydrate	16 กรัม
Sodium borate decahydrate ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )	6 กรัม
Sodium lauryl sulphate	30 กรัม
2-Ethoxyethanol (Ethylene glycol monoethyl ether)	10 มิลลิลิตร
Disodium hydrogen phosphate anhydrous ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	4.5 กรัม

นำ EDTA และ  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  มาละลายในน้ำกลั่นพอประมาณ และนำไปต้มจนละลายหมด แล้วนำไปผสมกับ Sodium lauryl sulphate และ 2-Ethoxyethanol จากนั้นนำ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  มาละลายในน้ำกลั่นพอประมาณ และนำไปต้มจนละลายหมด และนำไปผสมกับสารละลายข้างต้น เทใส่ขวดปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร และปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 6.9-7.1

#### 2. การเตรียมสารละลาย Acid Detergent

Cetyl trimethylammonium bromide (CTAB)	20 กรัม
Sulfuric acid	27 มิลลิลิตร

นำ Sulfuric acid ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่พอประมาณ ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร สารละลายที่ได้มีความเข้มข้น 1 N จากนั้นเติม CTAB ผสมให้เข้ากัน

CHULALONGKORN UNIVERSITY

#### 3. การเตรียมสารละลาย Saturated potassium permanganate

Potassium permanganate ( $\text{KMnO}_4$ )	50 กรัม
Silver sulphate ( $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ )	0.05 กรัม

นำ  $\text{KMnO}_4$  และ  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  มาผสมให้เข้ากัน แล้วเทใส่ขวดปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บสารละลายในขวดแก้วสีชา อย่าให้โดนแสง

## 4. การเตรียมสารละลาย Lignin buffer

Ferric nitrate nanohydrate [ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ]	6 กรัม
Silver nitrate ( $\text{AgNO}_3$ )	0.15 กรัม
Acetic acid glacial	500 มิลลิลิตร
Potassium acetate	5 กรัม
Tertiary butyl alcohol	400 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ละลาย  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  และ  $\text{AgNO}_3$  ในน้ำกลั่น แล้วนำไปผสมกับ Acetic acid glacial และ Potassium acetate แล้วเติม Tertiary butyl alcohol และผสมให้เข้ากัน

## 5. การเตรียมสารละลาย Combined permanganate

ผสม Saturated potassium permanganate และ Lignin buffer ในอัตราส่วน 2:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จากนั้นเก็บสารละลายผสมในขวดสีชา แช่ในตู้เย็นไม่ให้ถูกแสง ถ้าสารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีแดงแล้วจะไม่สามารถนำมาใช้ได้อีก และควรเตรียมสารใหม่ทุกครั้ง

## 6. การเตรียมสารละลาย Demineralizing

Oxalic acid dehydrate [ $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ]	50 กรัม
95% Ethanol	700 มิลลิลิตร
Hydrochloric acid (HCl)	50 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	250 มิลลิลิตร

ละลาย oxalic acid dehydrate ใน 95% Ethanol จากนั้นเติมน้ำกลั่น และ HCl ผสมให้เข้ากัน

## 7. การเตรียมสารละลาย 80% Ethanol

95% Ethanol	843 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	157 มิลลิลิตร

## การวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช

(Goering และ Van Soest, 1970)

### 1. การสกัดด้วยสารละลาย Neutral detergent

- 1.1) นำ Sintered glass crucible เบอร์ 1 ขนาด 50 มิลลิลิตร ไปอบในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ใน desiccator ตั้งทิ้งให้เย็นแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก
- 1.2) ชั่งตัวอย่างที่แห้งและบดละเอียดขนาด 20-30 mesh หรือ 1 มิลลิเมตร ประมาณ 1 กรัม ใส่ในขวดก้นกลม (round bottom flask)
- 1.3) เติมสารละลาย Neutral detergent 100 มิลลิลิตร Sodium sulfite 0.5 กรัม และ decahydronaphthalene 2 มิลลิลิตร นำมารีฟลักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยนับเวลาตั้งแต่เริ่มเดือด
- 1.4) ถ่ายส่วนผสมที่รีฟลักซ์เสร็จแล้วลงใน Sintered glass crucible ที่วางอยู่บนระบบกรอง ล้างตัวอย่างใน crucible ด้วยน้ำร้อน (90-100 องศาเซลเซียส) 3-4 ครั้ง แล้วล้างด้วย Acetone 2 ครั้ง ดูดสารละลายออกด้วย เครื่อง vacuum pump จนแห้ง จากนั้นนำ crucible ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง
- 1.5) นำ crucible ออกมาเก็บไว้ใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นคือปริมาณ Neutral detergent fiber (NDF)

วิธีคำนวณ

$$\%NDF = \frac{[(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนัก NDF}) - \text{น้ำหนัก crucible}] \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างพืช}}$$

น้ำหนักตัวอย่างพืช

### 2. การสกัดด้วยสารละลาย Acid detergent

- 2.1) นำตัวอย่างพืชที่ผ่านการสกัดด้วย Neutral detergent มาถ่ายใส่ในขวดก้นกลม (round bottom flask) เพื่อทำการ reflux ด้วย Acid detergent โดยเติม Acid detergent ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และ decahydronaphthalene 2 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยนับเวลาตั้งแต่เริ่มเดือด
- 2.2) กรองตัวอย่างพืชใน crucible ใบเดิม เพื่อลดการสูญเสียตัวอย่างให้น้อยที่สุด แล้วล้างด้วย น้ำร้อน (90-100 องศาเซลเซียส) 3-4 ครั้ง และล้างด้วย 80% ethanol 2 ครั้ง

- 2.3) นำ crucible ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเก็บไว้ใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่ได้ คือ น้ำหนักของ เฮมิเซลลูโลส

วิธีการคำนวณ

$$\%ADF = \frac{[(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนัก ADF}) - \text{น้ำหนัก crucible}] \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างพืช}}$$

น้ำหนักตัวอย่างพืช

$$\%Hemicellulose = \%NDF - \%ADF$$

### 3. การวิเคราะห์หา Permanganate lignin (PML)

- 3.1) เติมสารละลาย Combined permanganate 25 มิลลิลิตร ลงใน crucible ที่มีตัวอย่างซึ่งผ่านการสกัด ด้วย Acid detergent แล้ว แช่ crucible ลงในภาชนะที่มีน้ำเย็นสูงประมาณ 2 เซนติเมตร คนด้วยแท่งแก้วเพื่อไม่ให้ตัวอย่างจับเป็นก้อน แช่แต่ละถ้วยไว้เป็นเวลา 45 นาที โดยคนเป็นระยะ จากนั้นดูดสารละลายออกด้วยเครื่อง vacuum pump
- 3.2) เติมสารละลาย Combined permanganate 25 มิลลิลิตร ลงใน crucible อีกครั้ง แช่แต่ละถ้วยไว้เป็นเวลา 45 นาที แล้วดูดสารละลายออกด้วยเครื่อง vacuum pump
- 3.3) เติมสารละลาย Demineralizing 25 มิลลิลิตร ลงใน crucible อีกครั้ง แช่แต่ละถ้วยไว้ 5 นาที แล้วดูดสารละลายออกให้หมดด้วยเครื่อง vacuum pump ทำซ้ำจนตัวอย่างพืช กลายเป็นสีขาวภายในเวลา 20 นาที จากนั้นล้างออกด้วย 80% Ethanol และ Acetone แล้วนำไปดูดออกให้แห้งด้วยเครื่อง vacuum pump
- 3.4) นำ crucible ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเก็บใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่แตกต่างกันระหว่าง Acid detergent fiber (ADF) และน้ำหนักของ ตัวอย่างพืชที่ผ่านการสกัดลิกนินออก คือ น้ำหนักของลิกนิน

วิธีการคำนวณ

$$\%Lignin = \frac{(A - B) \times 100}{C}$$

$$A = \text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนัก ADF}$$

$$B = \text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ผ่านการสกัดลิกนินออก}$$

$$C = \text{น้ำหนักตัวอย่างพืช}$$



#### 4. การวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูโลสด้วยการเผาเถ้า

- 4.1) นำ crucible ที่มีตัวอย่างพืชซึ่งผ่านการสกัดลิกนินออกแล้วในข้อ 3 ไปเผาในเครื่องเผาเถ้า ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
- 4.2) จากนั้นนำออกมาเก็บไว้ให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก โดยน้ำหนักที่แตกต่างกันระหว่างน้ำหนักตัวอย่างพืชหลังการสกัดลิกนินออกและน้ำหนักหลังการเผาเถ้า คือ น้ำหนักของเซลลูโลส ส่วนน้ำหนักเถ้า คือ ผลต่างระหว่างน้ำหนักหลังการเผาเถ้าและน้ำหนัก crucible

วิธีการคำนวณ

$$\% \text{Cellulose} = \frac{(B - D) \times 100}{C}$$

โดย D = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่างของพืชหลังการเผา

## ภาคผนวก ข

### อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม

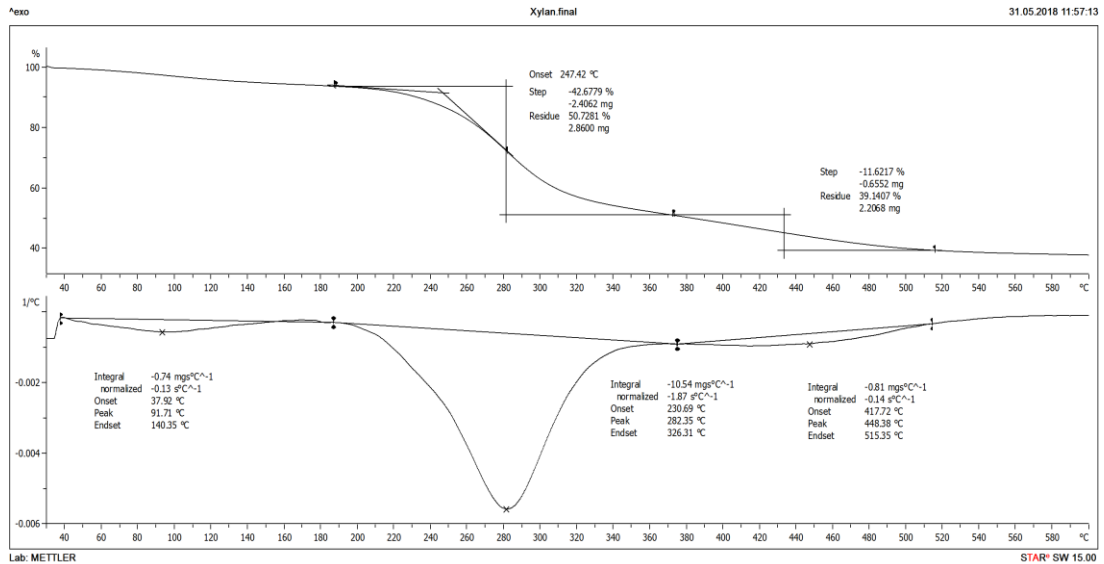
#### การเตรียม Nutrient Broth (NB) และ Nutrient agar (NA)

Beef extract	0.9 กรัม
Sodium chloride (NaCl)	1.5 กรัม
peptone	1.5 กรัม
น้ำกลั่น	300 มิลลิลิตร

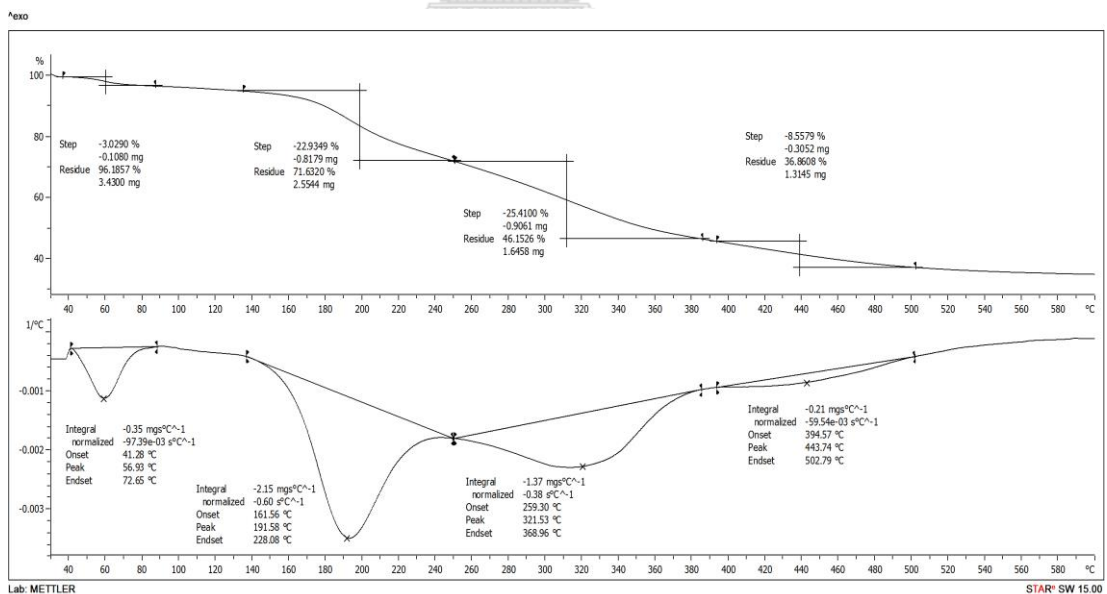
ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น หากต้องการเตรียม Nutrient agar (NA) ให้เติมวุ้น 4.5 กรัม ลงในส่วนผสมที่ละลายในน้ำกลั่นแล้ว จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในหม้อความดันไอน้ำ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อสารละลายเย็นตัวลงแล้วจึงเทอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงใน plastic plate ที่เตรียมไว้

ภาคผนวก ค

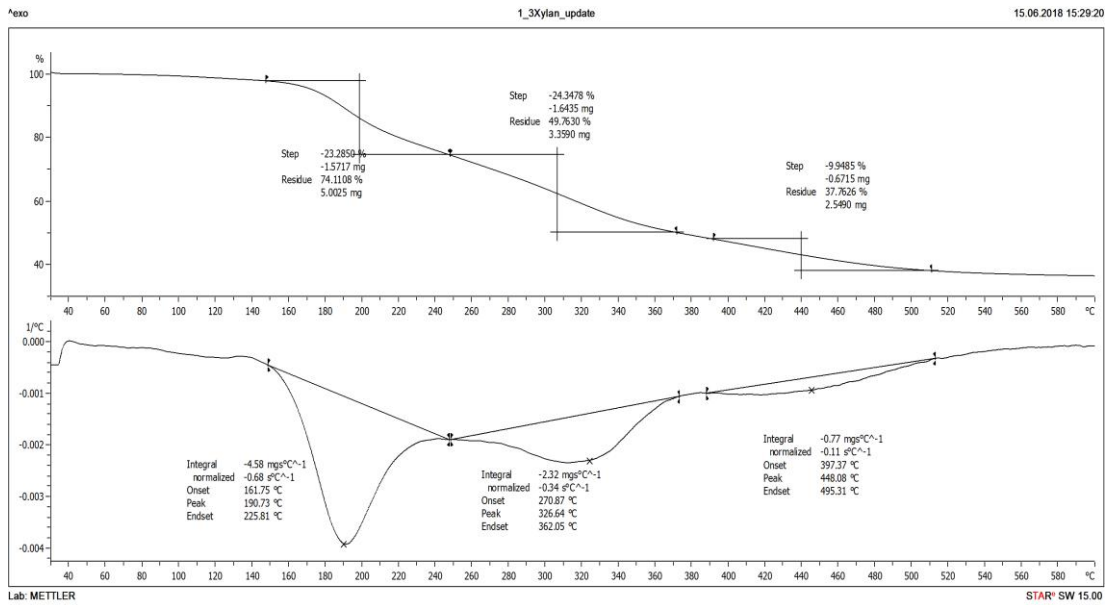
TGA และ DTG เทอร์โมแกรมของไซแลนและไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วนต่าง ๆ



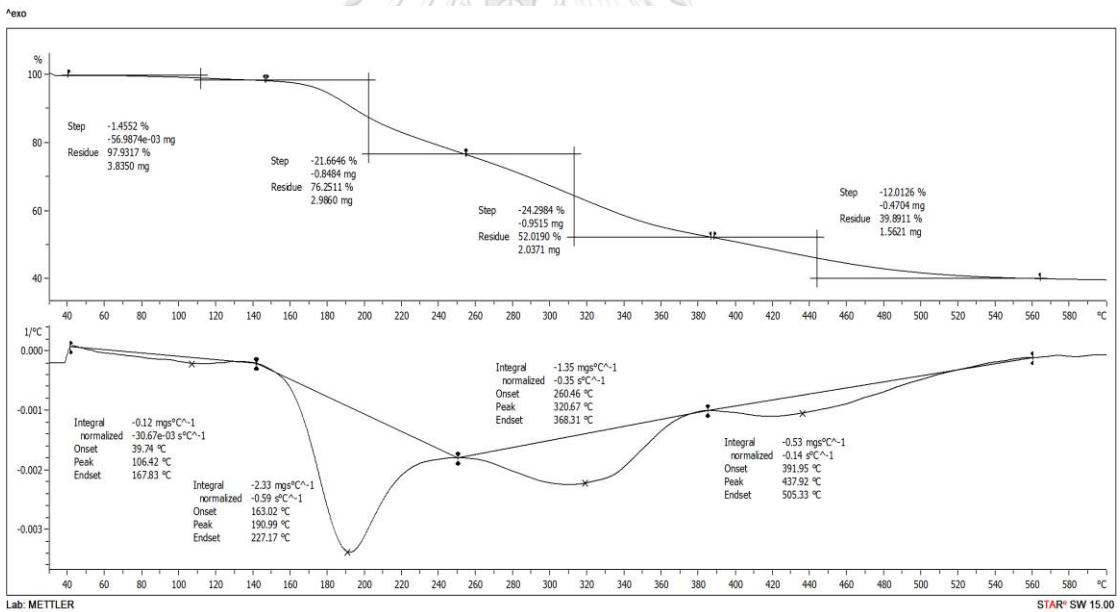
รูปที่ ค-1.1 TGA และ DTG เทอร์โมแกรมของไซแลน



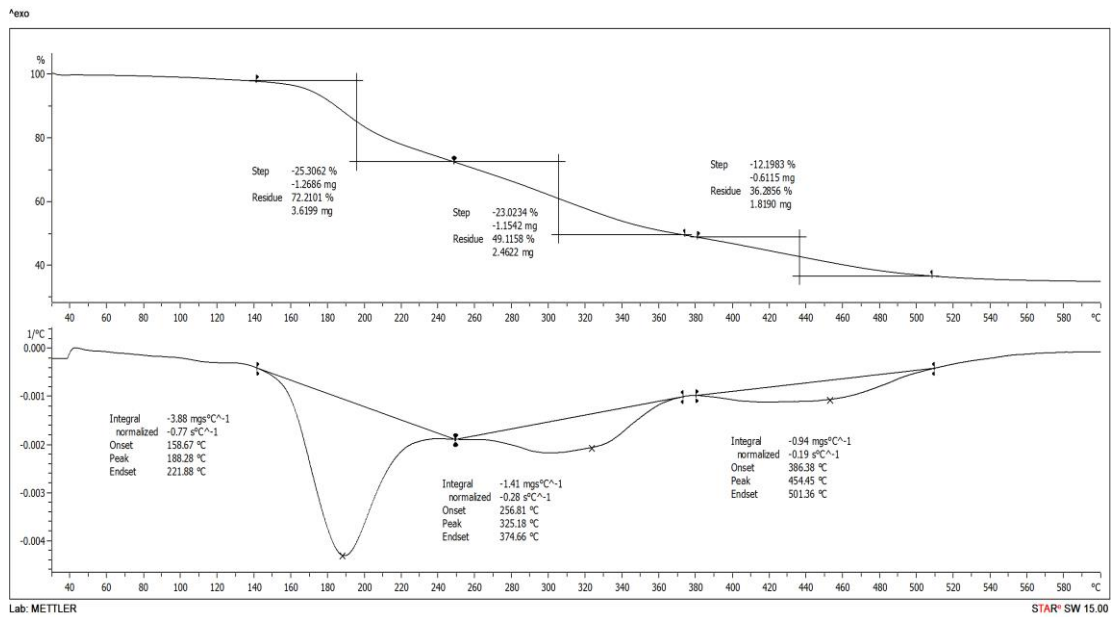
รูปที่ ค-1.2 TGA และ DTG เทอร์โมแกรมของไซแลนดัดแปรที่อัตราส่วน 1:1 (MX1)



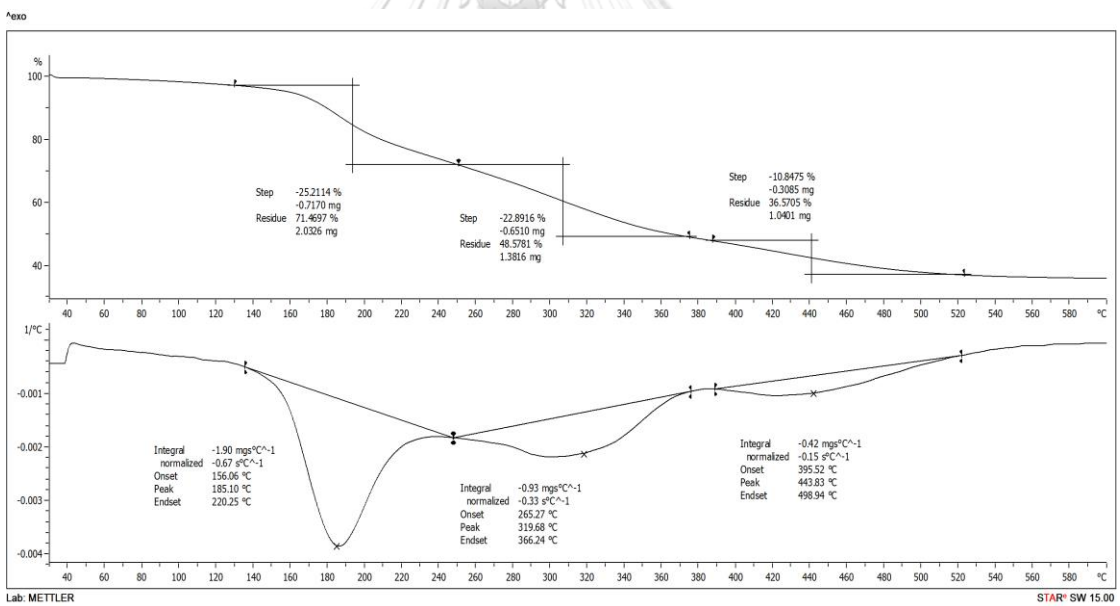
รูปที่ ค-1.3 TGA และ DTG เทอร์โมแกรมของไซแลนดัดแปรอัตราส่วน 1:3 (MX3)



รูปที่ ค-1.4 TGA และ DTG เทอร์โมแกรมของไซแลนดัดแปรอัตราส่วน 1:5 (MX5)



รูปที่ ค-1.5 TGA และ DTG เทอร์โมแกรมของไซแลนดัดแปรอัตราส่วน 1:7 (MX7)



รูปที่ ค-1.6 TGA และ DTG เทอร์โมแกรมของไซแลนดัดแปรอัตราส่วน 1:9 (MX9)

## ภาคผนวก ง

วิธีการทดสอบค่าความแตกต่างทางสถิติของสารระเหยให้กลิ่นแต่ละตัวโดยใช้โปรแกรม ANOVA

ตารางที่ ง-1 การทดสอบค่าทางสถิติของพื้นที่ได้กราฟสารระเหยให้กลิ่น 1-octane

Duncan<sup>a</sup>

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1:01	3	411249.5000				
1:03	3		818054.5000			
1:07	3		865410.5000			
1:09	3			1444966.0000		
1:05	3				1941507.0000	
xylan	3					2481235.5000
Sig.		1.000	.785	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ ง-2 การทดสอบค่าทางสถิติของพื้นที่ได้กราฟสารระเหยให้กลิ่น 2-octanone

Duncan<sup>a</sup>

treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1:03	3	758922.5000
1:01	3	1007217.0000
xylan	3	1392008.5000
1:09	3	1552290.5000
1:07	3	1615474.5000
1:05	3	2088585.0000
Sig.		.055

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ ง-3 การทดสอบทางสถิติของพื้นที่ได้กราฟสารระเหยให้กลิ่น 1-octanol

Duncan<sup>a</sup>

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
xylan	3	33534.0000	
1:05	3	45171.5000	
1:09	3	54750.0000	
1:07	3	61262.5000	
1:03	3	201050.0000	201050.0000
1:01	3		303209.5000
Sig.		.118	.283

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



ตารางที่ ง-4 การทดสอบทางสถิติของพื้นที่ได้กราฟสารระเหยให้กลิ่น 1-octanal

Duncan<sup>a</sup>

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1:01	3	183199.5000		
xylan	3	434263.5000	434263.5000	
1:03	3	439581.0000	439581.0000	
1:09	3		886484.5000	886484.5000
1:07	3			1123627.0000
1:05	3			1331648.0000
Sig.		.267	.062	.065

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ ง-5 การทดสอบทางสถิติของพื้นที่ใต้กราฟสารระเหยให้กลิ่น 2-octenal

Duncan<sup>a</sup>

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
xylan	3	19306.0000		
1:05	3	60052.0000	60052.0000	
1:09	3	71544.0000	71544.0000	
1:07	3		77072.0000	
1:03	3		86776.5000	
1:01	3			223763.5000
Sig.		.053	.307	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.





### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุชาวลี จีนาภักดิ์ เกิดเมื่อวันที่ 4 เมษายน พ.ศ.2535 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี จากหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีสิ่งทอ แขนงวิชาเคมีสิ่งทอ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ในปีการศึกษา 2558 หลังจากนั้นคือเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ ภาควิชาวัสดุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2558

การเสนอผลงานวิจัย จากงานวิทยานิพนธ์ มีดังนี้

Jeenapak, S., Suppavorasatit, I., Prasongsuk, S. and Potiyaraj, P. 2017. Properties of modified corn stover xylan by citric acid. The international Polymer Conference of Thailand: Amari Watergate hotel, Bangkok, Thailand. June 1-2, 2017.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY