สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

อินโนซิทอลจากกากรำข้าว

นางสาวเบญจวรรณ วรรณภิญโญชีพ

นางสาวปริฉัตร์ ไล้หลีกพาล

ปพ.
ป๗๔๘๐
2536

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2536

b12527497x

INOSITOL FROM RICE BRAN

Miss Benjawan Wannapinyocheep

Miss Parichat Laileakpal

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the

Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1993

หัวข้อโครงงานพิเศษ	อินโนซิทอลจากกากรำข้าว
โดย	นางสาวเบญจวรรณ วรรณภิญโญชีพ
	นางสาวปริฉัตร์ ไล้หลีกพาล
ภาควิชา	เคมี
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์คณิตา ตังคณานุรักษ์
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรุณี คงศักดิ์ไพศาล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

..... รักษาการหัวหน้าภาควิชาเคมี

(ผศ. นงนุช เภตรานุวัฒน์)

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

..... ประธานกรรมการ

(อ. สุจินต์ ตันติพิสิฐกุล)

..... กรรมการ

(อ. พิศมัย ชัยรัตน์อุทัย)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ	อินโนซิทอลจากกากรำข้าว
นักศึกษา	นางสาวเบญจวรรณ วรรณภิญโญชีพ
	นางสางปริฉัตร์ ไล้หลีกพาล
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์คณิตา ตังคณานุรักษ์
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรุณี คงศักดิ์ไพศาล
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2536

บทคัดย่อ

อินโนซิทอลจัดเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่งมีชื่อโดยทั่วไปทางเคมีว่า ไซโคลเฮกเซนเฮกซอล ($C_6H_6(OH)_6$) มีลักษณะเป็นผลึกหรือผงสีขาว ไม่มีกลิ่น มีรสหวาน ละลายน้ำได้ดี อินโนซิทอลมีสูตรโครงสร้างได้หลายรูปแต่รูปที่สามารถเกิดได้เองอย่างอิสระในธรรมชาติของพืชและสัตว์ คือ มายโยอินโนซิทอล (myo-inositol) ซึ่งเป็นสารอาหารที่ช่วยเพิ่มพลังงานโดยการกระตุ้นระบบการทำงานต่างๆ ของร่างกาย ,ช่วยป้องกันการสะสมของคอเลสเทอรอลและไขมัน (lipotropic agent) จึงมีประโยชน์และนิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมยาและอาหาร โดยเฉพาะเติมลงในเครื่องดื่มที่ช่วยเสริมพลังงาน นอกจากนี้อินโนซิทอลยังปรากฏอยู่ในรูปของเกลือแคลเซียมและแมกนีเซียมของกรดไฟติก (phytic) ได้ เรียกว่า ไฟติน (phytin) พบว่ามีอยู่ในกากรำข้าวซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือทิ้ง ดังนั้นในโครงงานพิเศษนี้จึงทำการศึกษาวิธีการสกัดไฟตินจากกากรำข้าวที่แยกน้ำมันออกมาแล้ว ที่ภาวะต่างๆ กัน (ตัวทำละลาย, อุณหภูมิ, เวลา) พบว่าการใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร สกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 2 ชั่วโมงให้ผลดีที่สุด จากนั้นไฮโดรไลซ์ไฟตินที่สกัดได้ในช่วงพีเอชที่เหมาะสม ระเหยจนแห้งได้สารของแข็งมีลักษณะเป็นผงสีขาว จากนั้นวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพและปริมาณของอินโนซิทอลที่สกัดได้ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) โดยเตรียมเป็นอนุพันธ์ไตรเมทิลไซลิลเอสเทอร์

(trimethylsilyl ester) เทียบกับสารอินโนซิทอลมาตรฐาน พบว่า เวลาการคงไว้ (retention time) ของสารอินโนซิทอลที่สกัดได้มีค่าใกล้เคียงกับสารอินโนซิทอลมาตรฐานและปริมาณที่คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคให้ผลที่ใกล้เคียงกับปริมาณอินโนซิทอลในกากรำข้าวที่มีรายงานไว้

Special Project Title	INOSITOL FROM RICE BRAN
Name	Miss Benjawan Wannapinyocheep
	Miss Parichat Laileakpal
Special Project Advisor	Mrs. Kanitta Tungkananurak
	Assistant Professor Arunee Kongsakphaisan
Department	Chemistry
Academic Year	1993

Abstract

Inositol (cyclohexanehexol ,$C_6H_6(OH)_6$) is a white crystalline or powder carbohydrate compound which is odorless , highly solubility and a sweet taste . Inositol has many forms but only the optically inactive meso form (myo-inositol) is nutritionally active and occurs in nature in the free form . It acts as a lipotropic agent and prevents the development of acutely fatty livers and the accumulation of cholesterol . For a specific property of inositol is widely used in pharmaceutical and food industries . Much of it is consumed in soft drinks additive . The insitol appear in the natural is in formed of calcium and magnesium salt of phytic acid called "phytin" which is the most abundant . By extractive inositol from oilless rice bran with hydrochlolic acid and hydrolysis in optimum rang of pH and temperature after that evaporation and

dryness .

The inositol is analyed using a Gas Chromatograph (GC) based on trimethylsilyl ester derivatization which shown that a retention time of the extracted inositol and standard have closed a fairly . The amount of inositol was calculated from peak area (or peak-height) which have been reported .

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ คณิตา ตังคณานุรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาผู้ซึ่งให้คำปรึกษาแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ ตลอดจนตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อรุณี คงศักดิ์ไพศาล ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ สุจินต์ ตันติพิสิฐกุล ประธานกรรมการตรวจและสอบ อาจารย์ พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย กรรมการตรวจและสอบ ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกๆ ท่านที่ให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด

นางสาว เบญจวรรณ วรรณภิญโญชีพ

นางสาว ปริฉัตร ไล้หลีกพาล

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญรูป	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ความรู้เกี่ยวกับรำข้าว	2
2.2 อินโนซิทอล	9
2.3 ประโยชน์ของอินโนซิทอล	14
2.4 หลักการสกัดและการไฮโดรไลซิส	16
2.5 การเตรียมอนุพันธ์ไตรเมทิลไซลิลเอสเทอร์ ของ อินโนซิทอล	22
2.6 ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี	22
บทที่ 3 การทดลองและการดำเนินการ	
3.1 สารเคมีที่ใช้	25
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	26
3.3 วิธีการสกัด	27
3.4 การเตรียมอนุพันธ์ไตรเมทิลไซลิลเอสเทอร์ ของ สารมาตรฐานอินโนซิทอล	28
3.5 การเตรียมกราฟมาตรฐาน	28
3.6 การเตรียมอนุพันธ์ไตรเมทิลไซลิลเอสเทอร์ ของ สารที่สกัดได้	28

หน้า

3.7 ภาวะของเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟ รุ่น Shimadzu GC-9A 28

บทที่ 4 ผลการทดลอง 30

บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ 44

เอกสารอ้างอิง

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณแร่ธาตุชนิดต่างๆ ที่ประกอบอยู่ในข้าวชนิดต่างๆ 4

ตารางที่ 2.2 แสดงส่วนประกอบของสารอินทรีย์ในรำข้าว 5

ตารางที่ 2.3 แสดงส่วนประกอบของวิตามินในรำข้าว 7

ตารางที่ 2.4 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของชั้น Aleurone จากรำข้าว 8

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการทดลองการสกัด inositol จากกากรำข้าวโดยใช้กรดไนตริกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร 30

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการทดลองการสกัด inositol จากกากรำข้าวโดยใช้กรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 31

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดลองการสกัด inositol จากกากรำข้าวโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร 32

ตารางที่ 5.1 แสดงสรุปผลการทดลองทั้งหมด 45

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 รูปตัดตามยาวของเมล็ดข้าวแสดงส่วนประกอบต่างๆ 3

รูปที่ 2.2 ร้อยละการคงไว้ของสารละลายกรดไฟติกที่ พีเอช ต่างๆ 18

รูปที่ 2.3 (a) ฟอสเฟตอินทรีย์ หลังจากให้ความร้อนสารละลายกรดไฟติก ที่ พีเอช ต่างๆ 19

(b) อินโนซิทอลหลังจากให้ความร้อนสารละลายกรดไฟติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 °C ที่ พีเอชต่างๆ 19

รูปที่ 2.4 ค่าการคงไว้ของกรดไฟติกในสารละลาย ภายหลังจากการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 100 °C ที่ พีเอช ต่างๆ 20

รูปที่ 2.5 (a) การผลิตอินโนซิทอลฟอสเฟต 21

(b) การผลิตอินโนซิทอลอิสระ 21

หลังจากให้ความร้อนสารละลายกรดไฟติกที่อุณหภูมิ 100 °C ที่ พีเอช ต่างๆ

รูปที่ 2.6 (a) GC โครมาโทแกรม ของ อินโนซิทอลมาตรฐาน 24

(b) GC โครมาโทแกรม ของ ส่วนผสมกลูโคส, ฟรุกโตส และ อินโนซิทอล 24

รูปที่ 4.1 อินโนซิทอลมาตรฐาน 2 ไมโครกรัม 33

รูปที่ 4.2 อินโนซิทอลมาตรฐาน 4 ไมโครกรัม 34

รูปที่ 4.3 อินโนซิทอลมาตรฐาน 6 ไมโครกรัม 35

รูปที่ 4.4 อินโนซิทอลมาตรฐาน 8 ไมโครกรัม 36

รูปที่ 4.5 ตัวอย่างที่ 1 (สกัดโดยใช้กรดไนตริกเข้มข้น 3 % โดยปริมาตร) 37

รูปที่ 4.5 ตัวอย่างที่ 2 (สกัดโดยใช้กรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น 3% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) 38

รูปที่ 4.5 ตัวอย่างที่ 3 (สกัดโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 % โดยปริมาตร) 39

รูปที่ 4.6 แสดงกราฟมาตรฐานของสารอินโนซิทอลมาตรฐาน 40

หน้า

รูปที่ 4.7 แสดงกราฟเปอร์เซนต์อินโนซิทอลโดยใช้ความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ของกรดไนตริกสกัดที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆ 41

รูปที่ 4.8 แสดงกราฟเปอร์เซนต์อินโนซิทอลโดยใช้ความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ของกรดไตรคลอโรอะซิติกสกัดที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆ 42

รูปที่ 4.9 แสดงกราฟเปอร์เซนต์อินโนซิทอลโดยใช้ความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ของกรดไฮโดรคลอริกสกัดที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆ 43

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

จากการที่ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม และมีข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญอันดับหนึ่งของประเทศ จึงมีกากรำข้าวเป็นวัสดุเหลือทิ้งอยู่ในปริมาณมากซึ่งพบว่าในกากรำข้าวมีอินโนซิทอลซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญชนิดหนึ่งของร่างกาย ใช้กันมากในอุตสาหกรรมอาหารและยา แต่เนื่องจากปัจจุบันนี้ประเทศไทยยังต้องสั่งซื้ออินโนซิทอลจากต่างประเทศอยู่ ดังนั้น ถ้าเราสามารถสกัดอินโนซิทอลจากกากรำข้าวได้จะเป็นการช่วยลดการนำเข้าอินโนซิทอลจากต่างประเทศ ทั้งยังช่วยให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นจากการขายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการผลิตอินโนซิทอลซึ่งจัดว่าเป็นสารอาหารที่ให้พลังงานสูงชนิดหนึ่ง และมีราคาแพงจากกากรำข้าวที่มีราคาถูกแทนการสังเคราะห์จากปฏิกิริยาเคมี
2. เพื่อศึกษาสภาวะในการสกัดที่เหมาะสมซึ่งจะทำให้ได้อินโนซิทอลในปริมาณมากและมีความบริสุทธิ์สูง
3. เพื่อศึกษาการทดสอบอินโนซิทอลทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. ทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ ขั้นตอนการศึกษาวิธีการสกัดอินโนซิทอลจากกากรำข้าวเพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุด
2. ทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ ขั้นตอนการตรวจสอบเชิงปริมาณและคุณภาพของอินโนซิทอลที่สกัดได้เทียบกับสารอินโนซิทอลมาตรฐาน

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้เกี่ยวกับรำข้าว

ข้าวเป็นพืชในตระกูลหญ้าที่เก่าแก่มากชนิดหนึ่งและเป็นอาหารประเภทแป้ง โดยมีส่วนประกอบต่างๆ ดังนี้

ผลและเมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวเรียกว่า Caryopsis คือผลที่มี seed coat ติดแน่นอยู่กับ pericarp ข้าวเปลือกคือผลของข้าวที่มี lemma และ palea ซึ่งรวมเรียกว่า hull หุ้มอยู่ เมื่อแกะ hull ออกส่วนที่เหลือก็คือเมล็ดข้าวกล้อง (brown rice grain or kernel) หลังจากขัดเอาส่วนของ seed coat และ pericarp ออกแล้วเรียกว่าเมล็ดข้าวสาร (milled rice) ส่วนหัวของเมล็ดข้าวสารจะมีสีขาวขุ่นเรียกว่าจมูกข้าวซึ่งก็คือ embryo นั่นเอง ส่วนที่เหลือคือ endosperm เมล็ดมีสีขาวขุ่นอยู่ทางด้านท้องของเมล็ดเรียกว่าท้องปลาชิวหรือท้องไข่ (abdominal white) ซึ่งอยู่ด้านเดียวกับ embryo และอยู่ทางด้าน lemma

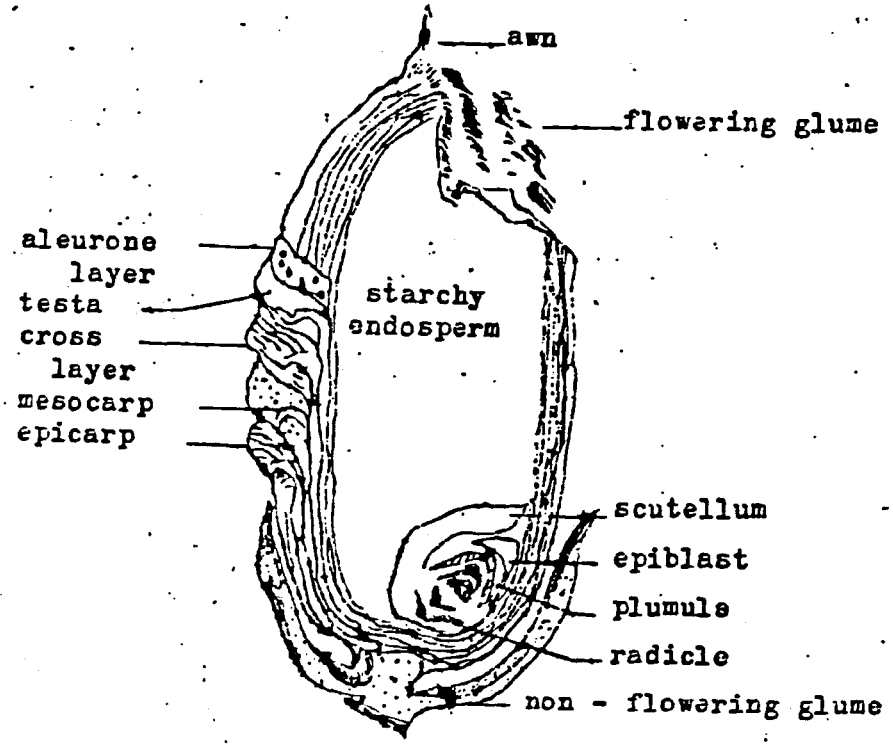
เมล็ดข้าวเปลือกประกอบด้วยส่วนต่างๆ จากภายนอกเข้าไปดังนี้ (รูปที่ 2.1)

1. non-flowering glume (outer หรือ empty glum) มี 2 อัน อยู่ด้านนอกสุดตรงส่วนที่เมล็ดติดกับรวง
2. flowering glume (lemma และ palea) อยู่ถัดเข้าไป
3. pericarp อยู่ถัด flowering glume เข้าไปมีอยู่ 3 ชั้น คือ epicarp, mesocarp และ cross layer ตามลำดับ
4. testa เป็นชั้นที่อยู่ถัดเข้าไป
5. aleurone layer เป็นชั้นบาง ๆ อยู่ถัด testa เข้าไป
6. endosperm ส่วนที่เป็นแป้งทั้งหมด
7. embryo ประกอบด้วย
    7.1 radicle

7.2 plumule

7.3 epiblast (rudimentary cotyledon)

7.4 seutellum



รูปที่ 2.1 รูปตัดตามยาวของเมล็ดข้าวแสดงส่วนประกอบต่างๆ

สำหรับปริมาณแร่ธาตุชนิดต่างๆ และ ไฟเตต ที่ประกอบอยู่ในข้าวชนิดต่างๆ แสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณแร่ธาตุชนิดต่างๆ ที่ประกอบอยู่ในข้าวชนิดต่างๆ

ชนิดของข้าว / แร่ธาตุ	ข้าวสาลี	ข้าวบาเลย์	ข้าวโพด	ข้าวฟ่าง
Ca (mg/100g)	17.5-54.4	21.3-32.9	10.6-13.9	7.8-16.0
Mg (mg/100g)	32.6-71.1	28.4-32.9	27.6-31.6	35.8
Na (mg/100g)	11.1-30.1	12.6-24.2	12.2-24.6	6.4-11.1
K (mg/100g)	143.7-338.1	195.5-300.2	248-338	245-263
phytate P (mg/100g)	349-660	276-480	302-432	284-500
inorganic P(mg/100g)	235-467	96-402	99-255	70-180

รำข้าว

1. อิทธิพลที่มีต่อองค์ประกอบของรำข้าว

รำข้าวได้จากเยื่อชั้นนอกของข้าวที่ถูกขัดสีออกมา โดยองค์ประกอบของรำข้าวขึ้นอยู่กับตัวแปรในเมล็ดข้าวและกระบวนการสีข้าว ดังนี้

1.1 ตัวแปรจากเมล็ดข้าว ได้แก่

1.1.1 องค์ประกอบทางเคมีโดยเฉลี่ย

1.1.2 การกระจายขององค์ประกอบทางเคมี

1.1.3 ความหนาของผิวชั้นนอก (outer layer)

1.1.4 ขนาดและรูปร่างของเมล็ดข้าว

1.1.5 ความต้านทานของเมล็ดข้าวต่อการแตกหักและการขัดสี

1.2 ตัวแปรจากการสีข้าว ได้แก่

1.2.1 กระบวนการและเครื่องจักรที่ใช้ในการสีข้าว

1.2.2 สภาวะที่ใช้ในการสีข้าว

จากอิทธิพลต่าง ๆ ที่มีต่อองค์ประกอบของรำข้าวเมื่อนำมาพิจารณาประกอบกันพบว่า การขัดสีข้าวเปลือกจะทำให้ได้ปริมาณรำข้าวประมาณ 5-8 % โดยน้ำหนักของข้าวเปลือก

2. องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว

รำข้าวมีสารที่จำเป็นสำหรับร่างกายหลายชนิด ในปริมาณต่าง ๆ กัน ซึ่งมีทั้งวิตามินบี, น้ำมันและโปรตีนคุณภาพดีอยู่เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังมีสารไฟติน, ซิลิก้า, ไดเอ็ดทารีไฟเบอร์ (dietary fiber), ทริปซิน อินฮิบิเตอร์ (trypsin inhibitor), แลคติน หรือ ฮีเมกกลูตินิน (lectin or hemagglutinin) และอื่น ๆ อีก โดยชนิดของสารที่สำคัญและปริมาณส่วนประกอบที่มีอยู่ในรำข้าวสามารถจำแนกได้ดังนี้

2.1 คาร์โบไฮเดรต มีอยู่ในรำข้าว 3-5%

2.2 ลิกนิน มีอยู่ในรำข้าว 7.7-13.11%

2.3 โปรตีนและสารประกอบไนโตรเจน มีอยู่ในรำข้าว 1-3%

2.4 เอ็นไซม์ (enzyme) ในรำข้าวมีเอ็นไซม์ประกอบอยู่หลายชนิดเช่น α-amylose, β-amylose ฯลฯ

2.5 แร่ธาตุ ในรำข้าวมีแร่ธาตุประกอบอยู่หลายชนิด โดยมีฟอสฟอรัสในปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ โปแตสเซียม, แมกนีเซียม, ซิลิกอน สำหรับแร่ธาตุแคลเซียม, คลอรีน, แมงกานีส, เหล็ก และ โซเดียม มีอยู่ในปริมาณต่ำ ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงส่วนประกอบของสารอนินทรีย์ในรำข้าว

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (แกมมาต่อกรัม)
อลูมิเนียม (Aluminium)	53.5 - 369
แคลเซียม (Calcium)	140 - 1,310
คลอรีน (Chlorine)	510 - 970
คอปเปอร์ (Copper)	0.37
ไอโอดีน (Iodine)	15
เหล็ก (Iron)	130 - 530

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (แกมมาต่อกรัม)
แมกนีเซียม (Magnesium)	8,650 - 12,300
แมงกานีส (Manganese)	110 - 877
เมอร์คิวรี (Mercury)	0.3
ฟอสฟอรัส (Phosphorus)	14,800 - 28,680
โปแตสเซียม (Potassium)	13,650 - 23,960
ซีลีเนียม (Selenium)	0.170
ซิลิกอน (Silicon)	1,700 - 16,300
โซเดียม (Sodium)	0 - 290
ซัลเฟอร์ (Sulfur)	80
ทิน (Tin)	17.6 - 41.3
ทิตาเนียม (Titanium)	26
สังกะสี (Zinc)	80

จากตารางจะพบว่าฟอสฟอรัสมีถึง 14,800 - 28,680 แกมมาต่อกรัม ซึ่งฟอสฟอรัสในส่วนนี้จะเกิดเป็นกรดไฟติกถึง 89.9%, กรดนิวคลิอิก 4.4%, ฟอสเฟตอินทรีย์ 2.5%, คาร์โบไฮเดรต 2.3%, ฟอสฟาไทด์ 1% โดยกรดไฟติกประมาณ 89.9% นี้ สามารถเปลี่ยนไปเป็นอินโนซิทอลซึ่งจะอยู่ในรูปของเกลือแคลเซียมและแมกนีเซียม ของมายโยอินโนซิทอลเฮกซะฟอสเฟต (myo-inositol hexaphosphate) หรือ ไฟติน (phytin) คือโดยสรุปแล้วในรำข้าวจะมีไฟตินประกอบอยู่ประมาณ 1.8 %

2.6 วิตามิน สำหรับวิตามินที่มีมากที่สุดในรำข้าวคือ วิตามินบี ส่วนวิตามินเอ และ วิตามินซี มีอยู่บ้างเล็กน้อย ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงส่วนประกอบของวิตามินในรำข้าว

วิตามิน	ปริมาณ (แกมมาต่อกรัม)
วิตามินเอ (Vitamin A, carotene)	4.2
ไทอะมิน (Thiamin)	10.1 - 27.9
ไรโบเฟลวิน (Riboflavin)	1.7 - 3.4
ไนอะซิน (Niacin, nicotinic acid)	236 - 590
ไพริดอกซีน (Pyridoxine)	10.3 - 32.1
กรดแพนโตเธอนิก (Pantothenic acid)	27.7 - 71.3
ไบโอทิน (Biotin)	0.16 - 0.60
อินโนซิทอล (Inositol)	4,627 - 9,270
คลอรีน (Chlorine)	1,279 - 1,700
กรดพีอะมิโนเบนโซอิก (p-Amino benzoic acid)	0.75
กรดโฟลิก (Folic acid)	0.50 - 1.46
วิตามินบี 12 (Vitamin B 12)	0.005
วิตามินอี (Vitamin E, toeopherols)	149.2

สำหรับวิตามินที่มีอยู่ในรำข้าวอาจอยู่แบบอิสระหรืออยู่รวมกับสารอื่นก็ได้

3. ไฟตินและกรดไฟติกในชั้น Aleurone

myo-inositol 1,2,3,4,5,6 - hexakis (dihydrogen phosphate) ที่มีอยู่ในเมล็ดข้าว โดยมากจะอยู่ในรูปของเกลือแคลเซียมและแมกนีเซียม โดยกรดไฟติกในเมล็ดข้าวจะอยู่ในชั้น aleurone ซึ่งอยู่ระหว่างชั้น testa และ endosperm ของเมล็ด โดยในชั้น aleurone นี้จะประกอบด้วย ความชื้น 14.9%, โปรตีน 11.7%, คาร์โบไฮเดรต 7.9%, สารประกอบฟอสฟอรัสอินทรีย์ที่ละลายในกรด 11.3%, ฟอสฟอรัสในรูปอื่น ๆ 0.31%, myo-inositol 9.4%, โปแตสเซียม 9.45%, แมกนีเซียม 8.3%, แคลเซียม 0.42% และ

สังกะสี, เหล็ก, ทองแดง, แมงกานีส ในปริมาณที่น้อยกว่า 0.05% สำหรับแต่ละชนิด โดยองค์ประกอบของสารต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของชั้น Aleurone จากรำข้าว

ส่วนประกอบ	น้ำหนัก %
ไนโตรเจน	1.95
คาร์โบไฮเดรต	7.93
ฟอสฟอรัสอินทรีย์ที่ละลายในกรด	11.30
ฟอสฟอรัสอนินทรีย์	0.20
ฟอสฟอรัสอินทรีย์ที่ไม่ละลายในกรด	0.10
ฟอสฟอไลปิด ฟอสฟอรัส	0.012
อาร์เอ็นเอ (RNA)	0.23
ดีเอ็นเอ (DNA)	0.11
มายโยอินโนซิทอล	
รวม	9.41
อิสระ	0.026
ความชื้น	14.90
โลหะ	
แมกนีเซียม	8.30
โปรแตสเซียม	9.45
แคลเซียม	0.42
สังกะสี	0.009
เหล็ก	0.034
ทองแดง	0.0025
แมงกานีส	0.046

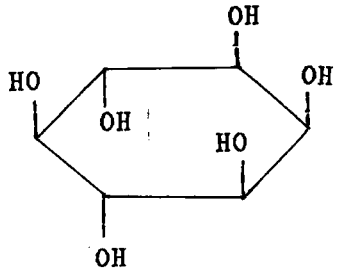
พบว่ารำข้าวที่ได้จากการโม่ครั้งแรกเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตไฟติน โดยใช้การสกัดด้วยกรดแล้วทำให้บริสุทธิ์ด้วย โปรโตไลติกเอ็มไซม์ (protolytic enzyme) ซึ่งเอ็นไซม์ชนิดนี้จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดีขึ้น

ในกรณีที่สกัดไฟตินและกรดไฟติก จากกากรำข้าวจะได้ปริมาณไฟตินเพียง 12.5% โดยน้ำหนัก และกรดไฟติกในปริมาณ 50% โดยน้ำหนัก โดยใช้สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิห้อง และใช้ พีเอช เท่ากับ 3 ซึ่งหลังการสกัดแล้วจะเหลือไฟตินเพียง 0.093% โดยน้ำหนัก และกรดไฟติกอีก 0.106% โดยน้ำหนัก

2.2 อินโนซิทอล

อินโนซิทอล มีชื่อทางเคมีว่า 1,2,3,4,5,6 - hexahydroxycyclohexanes ซึ่งอินโนซิทอลเป็น polyhydroxycarbocycle ชนิดที่มีความสำคัญที่สุดหรือเป็น cyclitol ที่น่าสนใจ คือเป็นหน่วยที่อยู่ใน potential antibiotic อินโนซิทอลมีโครงสร้างเป็นแบบ cyclitol ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide)

มายโยอินโนซิทอล (myo-inositol) เป็นอินโนซิทอลชนิดที่มีมากที่สุดในธรรมชาติ ซึ่งมีทั้งที่อยู่แบบอิสระและอยู่รวมกันในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตเกือบทุกชนิด โดยมีสูตรโครงสร้างดังนี้



myo-inositol

แหล่งที่พบและความสำคัญ

อินโนซิทอลจะพบมากในพืชและสัตว์ โดยอินโนซิทอลนี้จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสัตว์และจุลชีพต่างๆ

ส่วนประกอบและคุณสมบัติ

อินโนซิทอลประกอบด้วย คาร์บอน 40.00%, ไฮโดรเจน 6.71% และออกซิเจน 53.29% โดยมีน้ำหนักมวลโมเลกุล 180.16 มีสูตรโมเลกุลคือ $C_6H_{12}O_6$

ความสามารถในการละลายของอินโนซิทอล คือ อินโนซิทอลสามารถละลายในน้ำที่อุณหภูมิ 25 °C ได้ 14 กรัม/100 มิลลิลิตร และละลายในน้ำที่อุณหภูมิ 60 °C ได้ 20 กรัม/100 มิลลิลิตร สามารถละลายได้เล็กน้อยในอัลกอฮอล์ แต่ไม่ละลายในอีเทอร์ และคลอโรฟอร์มหรือตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ

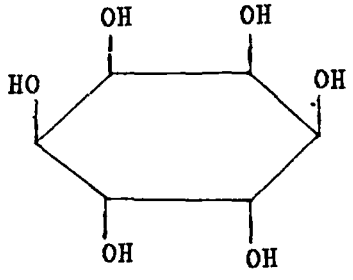
อินโนซิทอลโดยปกติจะอยู่ในรูปผลึกสีขาวที่สวยงามหรืออยู่ในรูปของผงผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น มีรสหวาน และเสถียรในอากาศ สารละลายเป็นกลางต่อลิตมัส มีคุณสมบัติ optically inactive หรือ optically active ความหนาแน่น 1.752 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร จุดหลอมเหลว 225-227 °C

อินโนซิทอลสามารถทำให้แห้งได้ที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ซึ่งจะได้ $C_6H_{12}O_6$ ประกอบอยู่มากกว่า 97%

Stereoisomer

Stereoisomer ของอินโนซิทอล ประกอบด้วย 9 isomer เป็น optically inactive หรือ meso-form 7 ชนิดและอีก 2 ชนิดเป็น optically active ดังนี้

<u>1.allo-inositol</u>

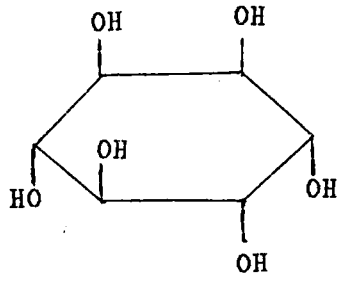


(1α,2α,3α,4α,5β,6β)-Cyclohexanehexol

1,2,3,4,/5,6- Inositol

เป็นประเภท optically inactive

2.chiro-inositol



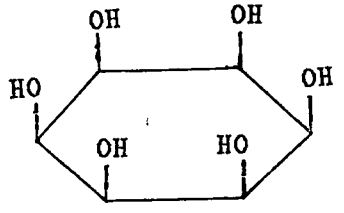
(1α,2α,3β,4α,5β,6β)-Cyclohexanehexol

1,2,4/3,5,6- Inositol

2.1 D-form d- inositol Matezedamloose พบได้ในพืชชั้นสูงในรูปของ monomethyl ether ของมัน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ Kusugamycin โดยมีจุดหลอมเหลว 248 °C , [α]D+ 65 (H_2O)

2.2 L-form l- inositol Laevoinositol (Laevoinosital) พบได้ในพืชชั้นสูงที่มีลักษณะเด่นในรูปของ monomethyl ether ของมันโดยมีจุดหลอมเหลว 246 °C, [α]D- 65 (H_2O)

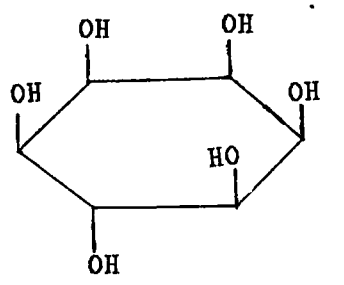
3.cis-inositol



(1α,2α,3α,4α,5α,6α)-Cyclohexanehexol

เป็นประเภท optically inactive โดยมีจุดหลอมเหลว 377 °C

4.epi-inositol

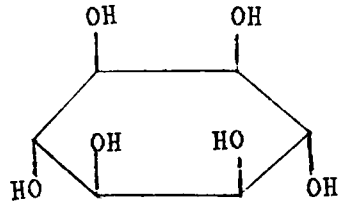


(1α,2α,3α,4α,5α,6β)-Cyclohexanehexol

1,2,3,4,5/6- Inositol

เป็นประเภท optically inactive โดยมีจุดหลอมเหลว 304 °C

5.muco-inositol

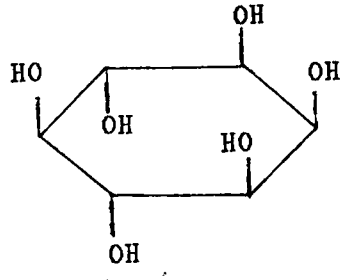


(1α,2α,3β,4α,5α,6β)-Cyclohexanehexol

1,2,4,5/3,6- Inositol

เป็นประเภท optically inactive โดยมีจุดหลอมเหลว 285-290 °C เกิดเหมือนกับ methyl ether ใน conifer, taxopida, cistaceac

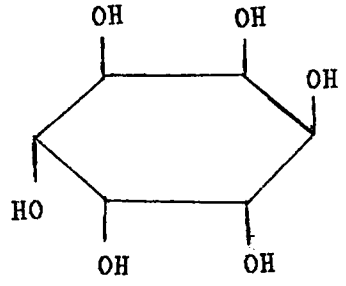
6.myo-inositol



(1α,2α,3α,4β,5α,6β)-Cyclohexanehexol

1,2,3,5/4,6- Inositol, i-inositol, Inositol, Mesoinositol, Dambose, Phasemannitol, Myoinositol เป็นประเภท optically inactive โดยมีจุดหลอมเหลว 225 °C myo-inositol เป็นชนิดที่รู้จักกันแพร่หลายที่สุดและเป็นรูปแบบที่เกิดในธรรมชาติได้อย่างอิสระเนื่องจากมีอยู่ในพืชและสัตว์ ซึ่งส่วนใหญ่มักได้จากกรดไฟติกที่อยู่ในข้าวทั่วๆไป ซึ่งช่วยในการเจริญเติบโตของสัตว์และจุลชีพ

7.neo-inositol

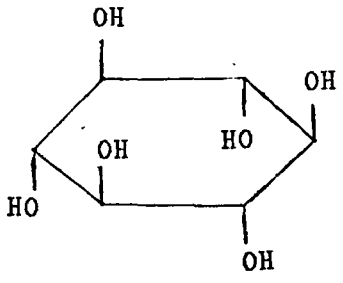


(1α,2α,3α,4β,5β,6β)-Cyclohexanehexol

1,2,3/4,5,6- Inositol

เป็นประเภท optically inactive โดยมีจุดหลอมเหลว 315 °C

8.scyllo-inositol



(1α,2β,3α,4β,5α,6β)-Cyclohexanehexol 1,3,5/2,4,6 - Inositol, Querein, Scylloinositol, Coeositol เป็นประเภท optically inactive โดยมีจุดหลอมเหลว 350-354 °C พบได้ในสัตว์ที่ไม่ใช่ปลาหรือพืช จำพวกพืชดอก โดยตรวจจากยูเรียของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและแมลง

คุณสมบัติบางประการของอินโนซิทอล

1. นำสารละลายอินโนซิทอล 4 มิลลิลิตร (1ใน 100) มาเติม lead subacetate T.S 1 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันใน boiling water bath เป็นเวลา 5 นาที จะได้ส่วนผสมใสและมีลักษณะเป็นเจล

2. นำสารละลายอินโนซิทอล 1 มิลลิลิตร (1ใน 50) ใส่ลงชามระเหยแล้วเติมกรดไนตริก 6 มิลลิลิตร นำไประเหยบน stream bath จนแห้งแล้วละลายส่วนที่เหลือนี้ด้วยน้ำ 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย strontium acetate 0.5 มิลลิลิตร (1ใน 10) แล้วนำไประเหยบน stream bath อีกครั้งหนึ่งจนแห้งจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสีม่วง

3. นำสารละลายอินโนซิทอล 1 มิลลิลิตร (1ใน 50) ใส่ลงชามระเหยแล้วเติมกรดไนตริก 6 มิลลิลิตร นำไประเหยบน stream bath จนแห้ง แล้วนำส่วนที่เหลือมาเติมแคลเซียมคลอไรด์ 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไประเหยอีกครั้งหนึ่งจนแห้ง จะได้ผลิตภัณฑ์สีแดงกุหลาบ

4. จุดหลอมเหลวของอินโนซิทอลเฮกซะอะซิเตต มีค่าอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 212-216 °C

ประเภทของวิตามิน การบรรจุและการเก็บรักษา

อินโนซิทอลเป็นองค์ประกอบของวิตามินบีรวม โดยอินโนซิทอลเป็นสารป้องกันการสะสมของไขมันในตับและการสะสมของคอเลสเทอรอล (lipotropic) ปริมาณที่ใช้ในยาคือ

2 กรัม

อินโนซิทอลต้องเก็บไว้ในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิด

2.3 ประโยชน์ของอินโนซิทอล

อินโนซิทอลสามารถใช้เป็นสารเติมแต่งในอุตสาหกรรมยา, อุตสาหกรรมอาหาร, อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง, อุตสาหกรรมผลิตไวน์, ผงซักฟอก และอื่นๆ ซึ่งจำแนกได้ดังนี้

อุตสาหกรรมยา

1.ใช้บำบัดผู้ป่วย hypercalciuria โดยลดการดูดซึมแคลเซียมในลำไส้ให้ลดความเข้มข้นของแคลเซียมในปัสสาวะ ซึ่งเตรียมได้ดังนี้

นำผงไฟตินมา 22 กรัม (ได้จากกากรำข้าว) ละลายในน้ำ 300 มิลลิลิตร แล้วเติม ไกลซีน 30 กรัม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 26 % จะเกิดการตกตะกอนของไฟตินที่ พีเอช 8 แยกตะกอนออกโดยใช้ centrifugation ซึ่งจะได้ไฟตินออกมา กระบวนการนี้ทำ 2 ครั้ง และทำตะกอนให้แห้ง ,นำไปบดจะได้ ไกลซีน 29 กรัม ซึ่งประกอบด้วยผงไฟตินอยู่ด้วย สำหรับไกลซีนที่ประกอบด้วยผงไฟตินนี้จะสามารถจับแคลเซียม อนุมูลอิสระได้ 84 % ภายในเวลา 30 นาที

2. เพื่อทำให้ยาเกิดความเสถียร

การใช้อินโนซิทอลไตรฟอสเฟตในยาบางชนิด เช่น อินซูลิน, แวกซีน, ซาลิไซเลต, กรดไฮอะลูโรนิก, อินทราไลบิด และฟรอสตาแกลดิน สามารถทำให้ยาเหล่านี้เสถียรได้

3. ใช้รักษาโรคที่มีสาเหตุมาจากการมี Cd^{2+} , Al^{3+} หรือแรดิคัลอิสระในเนื้อเยื่อ คือ ถ้ามีแรดิคัลอิสระเหล่านี้ในเลือด จะสามารถทำให้เกิดการรวมตัวกันของเกล็ดเลือดในร่างกาย แต่ถ้าให้ D-myo-inositol 1,2,6 -triphosphate จะลดการรวมตัวของเกล็ดเลือดได้

4. ใช้เป็นสารช่วยในการอุดฟัน

โดยการนำกรดไฟติกมาทำปฏิกริยากับโลหะออกไซด์, เกลือของโลหะอะลูมีโนซิลิเกต จะทำให้ได้วัสดุที่มีความแข็งแรงมาก ซึ่งสามารถนำไปใช้ซ่อมฟันได้ โดยซีเมนต์ของกรดไฟติกนี้จะมีความต้านทานต่อการสึกกร่อนด้วยน้ำและกรดมากกว่าซีเมนต์ที่ใช้ในการอุดฟันธรรมดา

5. ใช้เป็นสารเติมแต่งให้ความหวานกับคนที่เป็นเบาหวาน

6. ใช้ใส่ลงในยาบำรุงผม โดยเป็นสารควบคุมรังแค

อุตสาหกรรมอาหาร

1. ใช้เป็นสารป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น ของอาหารประเภทไขมัน

2. ใช้เติมลงในเครื่องดื่มที่ช่วยเสริมพลังงาน เนื่องจากอินโนซิทอลสามารถกระตุ้นระบบการทำงานต่างๆ ของร่างกายได้

อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

ใช้ในอุตสาหกรรมการทำเครื่องสำอาง โดยเป็นสาร Emulsifying agent หรือ solubilizing agent

การปรับปรุงเครื่องสำอาง ให้มีความเสถียรโดยใช้น้ำมัน, น้ำ และ emulsifier มากกว่า 1% โดยน้ำหนัก โดยเลือก emulsifier จากสารต่อไปนี้ คือ

1-palmitoyl-3-glyceryl phosphorylinositol

2-palmitoyl-3-glyceryl phosphorylinositol

และ 2-stearoyl-3-glyceryl phosphorylinositol ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันตลอด, ใส, เสถียรและเป็นกลาง

อุตสาหกรรมผงซักฟอก

ใช้เป็นส่วนประกอบในผงซักฟอกชนิดกรดอ่อน (พีเอช 5) โดยให้ผลการซักล้างรอยเปื้อนสิ่งสกปรกได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผงซักฟอกอัลคาไลน์

ประโยชน์อื่นๆ

ใช้ประโยชน์ในการกำจัดกลิ่นกระเทียม โดยใช้สารละลายของกรดไฟติก, ซิลิกา และสารประกอบซิงค์

โดยจุ่มกระเทียมในสารละลายที่ประกอบด้วย ซิลิกาที่ว่องไว, กรดไฟติก, และสารประกอบของซิงค์ แล้วทำให้แห้ง โดยกระเทียมที่ได้จะยังมีลักษณะเฉพาะตัวเหมือนเดิม แต่ปราศจากกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์

ปริมาณส่วนประกอบที่ใช้คือ ใช้น้ำ 5 ลิตร ใส่ในซิลิกาที่ว่องไว 0.1%, กรดไฟติก 0.02 %, เอทานอล 0.01 % และซิงค์ซัลเฟต 0.02 % โดยน้ำหนัก ใช้กระเทียม 10 กิโลกรัม แช่ในสารละลาย 5 วัน ที่อุณหภูมิ 20 °C แล้วจึงทำให้แห้งในเวลา 2 วัน

2.4 หลักการสกัดและการไฮโดรไลซิส

หลักการสกัดไฟตินออกจากรำข้าว

ไฟตินสามารถสกัดได้จากรำข้าวซึ่งรำข้าวที่ใช้จะต้องเป็นรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว คือ เป็นกากรำข้าวแต่ยังคงมีไฟตินประกอบอยู่

สารที่ใช้สำหรับการสกัดไฟตินออกจากรำข้าว คือ สารละลายของกรดประเภทต่าง ๆ เช่น กรดไนตริก, กรดไฮโดรคลอริก, กรดไตรคลอโรอะซิติก, กรดซัลฟูริก เป็นต้น โดยประสิทธิภาพของการสกัดจะขึ้นกับชนิดของกรดที่ใช้, ความเข้มข้นของกรดที่ใช้, ระยะเวลาในการสกัด, อุณหภูมิในการสกัด รวมถึงวิธีการสกัดที่ใช้ด้วย

ตัวอย่างการผลิตอินโนซิทอลจากรำข้าวในทางอุตสาหกรรม

อินโนซิทอลที่ได้จากรำข้าวมีปริมาณสูงโดยอินโนซิทอลละลายในน้ำ นำมาผ่านการกรอง, การทำให้เป็นกลาง, การฟอกสี, การทำให้เข้มข้นขึ้น, การตกผลึก และการทำให้แห้ง ซึ่งได้ไฟตินผสมอยู่ 1:1-5 (ไฟตินนี้ได้จากรำข้าว) และน้ำ ในหม้อปฏิกิริยาชนิดชั้นเดียวจะถูกทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ 120-250 °C และใช้ความดัน 4-30 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 4-10 ชั่วโมง ปรับ พีเอช ให้เป็น 6-9 ด้วยเกลือของกรดคาร์บอนิก นำส่วนผสมที่ได้จากปฏิกิริยามาฟอกสีและทำให้เข้มข้นขึ้น แล้วจึงทำให้เกิดผลึกที่อุณหภูมิ

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ต่ำกว่า 30 °C และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกอีกครั้ง

นำรำข้าวมาร่อนแล้วแช่ในน้ำ ปรับ พีเอช ให้อยู่ในช่วง 1-3 สกัดส่วนผสม 3 ครั้งแล้วเติมสารเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ หลังจากกรองและทำให้เป็นกลางแล้วนำส่วนผสมนี้ไปปรับ พีเอช ให้อยู่ในช่วง 5-8 ด้วยเกลือของโลหะหมู่ 2 แล้วจึงกรองจะได้ ไฟติน ผสมอยู่ในปริมาณ 100-500 %โดยน้ำหนักของน้ำ นำส่วนผสมมาให้ความร้อนที่ 120-250 °C ภายใต้ความดัน 4-30 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 4-10 ชั่วโมง หลังจากปรับ พีเอช ให้เป็น 6-9 ด้วยเกลือของกรดคาร์บอนิกแล้วจึงไฮโดรไลซ์, กรอง, ฟอกสี, ทำให้เข้มข้นขึ้น, ตกผลึกและตกผลึกซ้ำอีกครั้งจะได้อินโนซิทอลที่มีน้ำประกอบอยู่น้อยกว่า 0.5 % โดยน้ำหนัก

ในทางอุตสาหกรรมอาจใช้วิธีการสกัดและเตรียมอินโนซิทอลในแบบต่างๆได้อีกมากซึ่งขึ้นอยู่กับความเหมาะสม

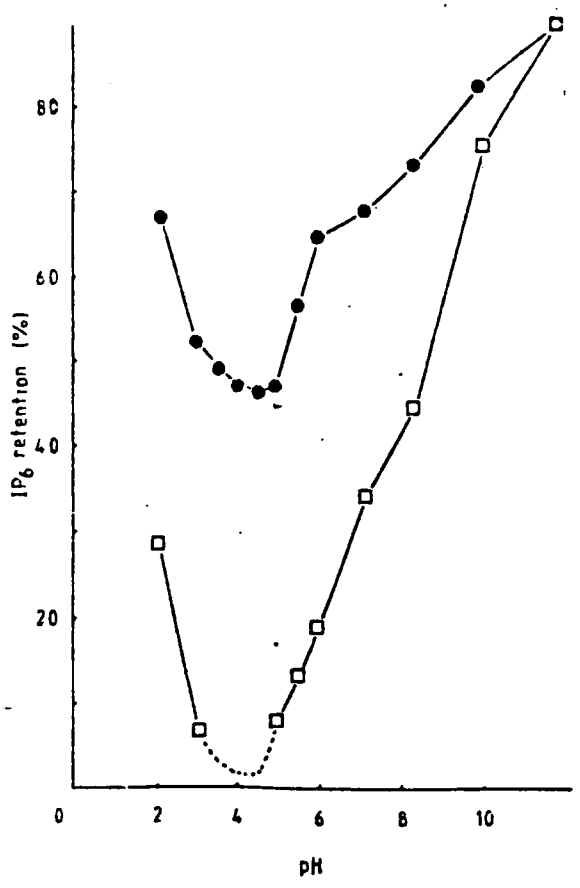
การไฮโดรไลซิสเพื่อให้ได้อินโนซิทอล

จากการสกัดไฟตินออกจากรำข้าวโดยใช้กรดดังที่ได้กล่าวมาแล้วทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดคือสารละลายของกรดไฟติก จึงจำเป็นที่จะต้องทำการไฮโดรไลซิสสารละลายของกรดไฟตินี้ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ในรูปของอินโนซิทอลซึ่งประสิทธิภาพของการไฮโดรไลซ์ขึ้นอยู่กับอิทธิพลของ พีเอช มากที่สุดและยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาในการไฮโดรไลซ์ด้วย

อิทธิพลของ พีเอช ที่มีต่อการไฮโดรไลซิส

การไฮโดรไลซ์สารละลายกรดไฟติกไปเป็นอินโนซิทอลและฟอสเฟตอนินทรีย์ด้วยความร้อนนั้นพบว่าประสิทธิภาพการไฮโดรไลซ์ขึ้นอยู่กับค่า พีเอช เป็นส่วนใหญ่ โดยการไฮโดรไลซ์กรดไฟติกจะให้ค่าสูงสุดที่ พีเอช ประมาณ 4.5 ที่เวลา 1 ชั่วโมงและเมื่อให้ พีเอช มากกว่า 12 การไฮโดรไลซ์จะเกิดขึ้นน้อยที่สุดโดยพิจารณาได้จากรูปที่ 2.2

จากการวิเคราะห์โดยการใช้เทคนิค โครมาโทกราฟี แบบของเหลวที่มีสมรรถนะสูง (high-performance liquid chromatography, HPLC) ศึกษาการไฮโดรไลซิสของฟอสเฟตอนินทรีย์ และอินโนซิทอลพบว่าค่าการไฮโดรไลซีสสูงสุด จะเกิดขึ้นที่ประมาณ พีเอช 4.5 หรืออยู่ในช่วง พีเอช 4-5



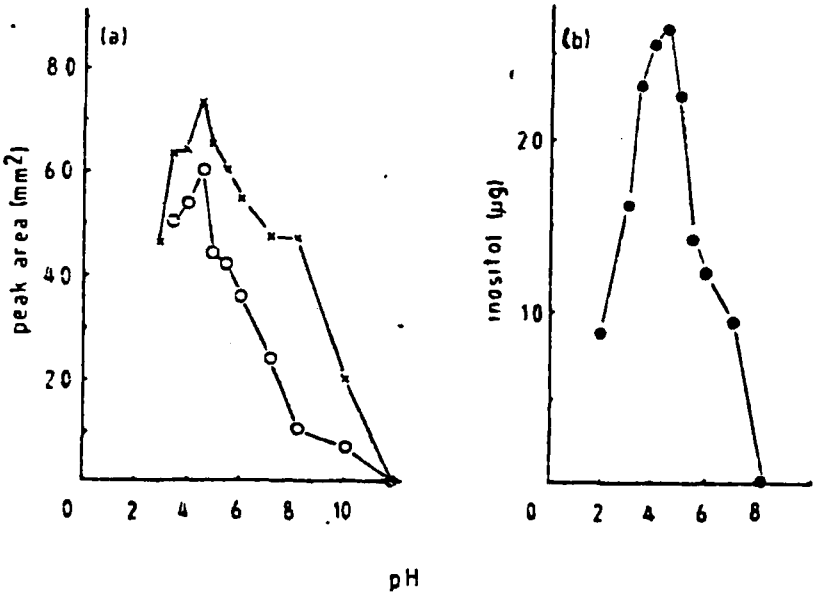
รูปที่ 2.2 ร้อยละการคงไว้ ของสารละลายกรดไฟติก ที่ พีเอช ต่าง ๆ

o--o , 121 °C 1 ชั่วโมง

□--□ , 100 °C 24 ชั่วโมง

ภายหลังจากการให้ความร้อนกับกรดไฟติกที่ 121 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะตรวจไม่พบอินโนซิทอล ถึงแม้ว่ากรดไฟติกจะถูกไฮโดรไลซ์ไปมากกว่า 50% แล้วก็ตาม ซึ่งมีสาเหตุเนื่องจาก ฟอสเฟตอินทรีย์นั้นอยู่ในรูปผลิตภัณฑ์ของสารมัธยันต์ (intermediate) คือ ยังไม่เป็น ฟอสฟอริลเลต อินโนซิทอล (phosphorylated inositol) ที่สมบูรณ์ แต่หลังจากกรดไฟติกถูกไฮโดรไลซ์ไปมากกว่า 80% แล้ว จึงจะสามารถตรวจพบอินโนซิทอล พิจารณารูปที่ 2.3 ประกอบ

หมายเหตุ ส่วนประกอบของสารมัธยันต์ยังไม่สามารถวัดได้



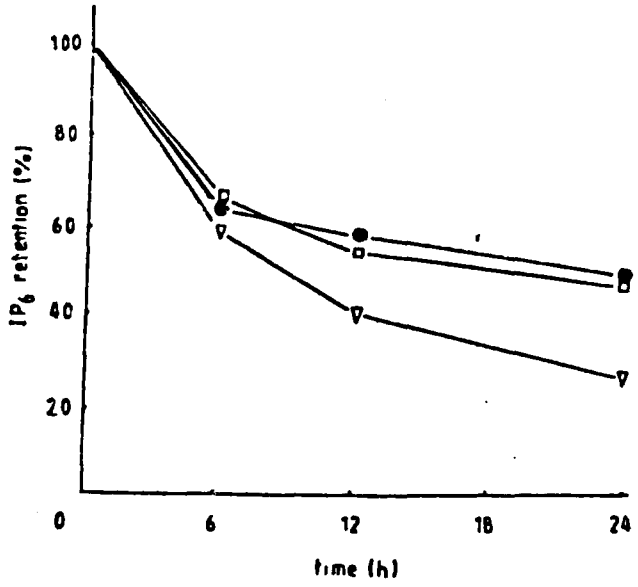
<u>รูปที่2.3</u> (a) ฟอสเฟตอินทรีย์ หลังจากให้ความร้อนสารละลายกรดไฟติกที่ พีเอช ต่างๆ

x--x 100 °C, 24 ชั่วโมง

o--o 121 °C, 1 ชั่วโมง

(b) อินโนซิทอลหลังจากให้ความร้อนสารละลายกรดไฟติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 °C ที่ พีเอช ต่าง ๆ

ค่าการคงไว้ ของกรดไฟติกและการผลิตอินโนซิทอลอิสระ และฟอสเฟตอินทรีย์ ขึ้นอยู่กับอิทธิพลของ พีเอช ในระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C แสดงในรูปที่ 2.4 และ 2.5

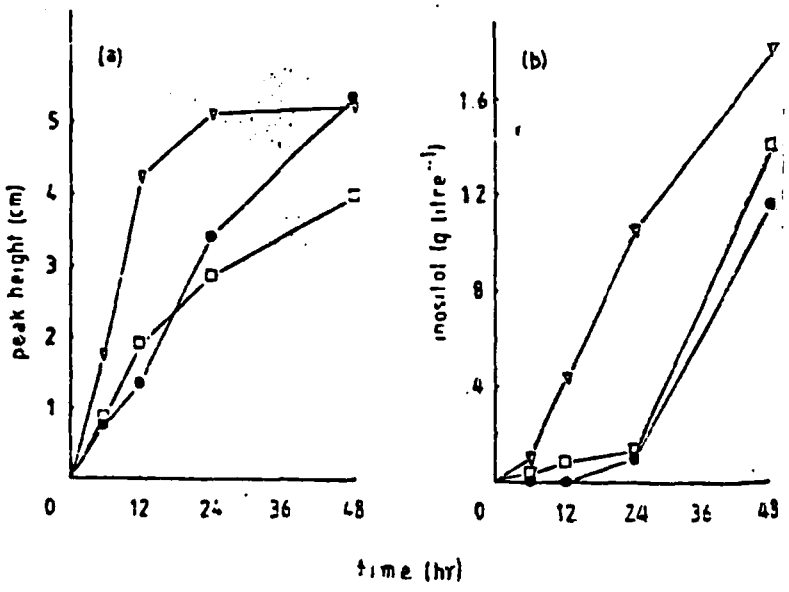


รูปที่2.4 ค่าการคงไว้ ของกรดไฟติกในสารละลาย ภายหลังจากการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 100 °C ที่ พีเอช ต่างๆ

o--o พีเอช 8.2

□--□ พีเอช 6.2

v--v พีเอช 4.3



รูปที่2.5 (a) การผลิต อินโนซิทอลฟอสเฟต

(b) การผลิต อินโนซิทอลอิสระ

หลังจากการให้ความร้อนสารละลายกรดไฟติกที่อุณหภูมิ 100 °C ที่ พีเอช ต่าง ๆ

o--o พีเอช 8.2

□--□ พีเอช 6.2

▽--▽ พีเอช 4.3

2.5 การเตรียมอนุพันธ์ไตรเมทิลไซลิลเอสเทอร์ ของ อินโนซิทอล

ในการวิเคราะห์อินโนซิทอลในเชิงคุณภาพและปริมาณด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี นั้นจะต้องทำการเตรียมอินโนซิทอลให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ของไตรเมทิลไซลิลเอสเทอร์ก่อน โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในขณะเตรียมอนุพันธ์ไตรเมทิลไซลิลเอสเทอร์ คือ ปฏิกิริยาไซลิลเลชัน ซึ่งทำให้อนุพันธ์ที่เกิดขึ้นมีความเป็นขั้วน้อยลง ระเหยได้มากขึ้น และ เสถียรมากขึ้น

ปฏิกิริยาไซลิลเลชันแสดงได้ดังนี้

ใช้ไตรเมทิลคลอโรไซเลน (TMCS)

$$R\text{-}OH + Cl\text{-}SiMe_3 \longrightarrow R\text{-}O\text{-}SiMe_3 + HCl$$

ใช้เฮกซะเมทิลไดไซลาเซน (HMDS)

$$2R\text{-}OH + Me_3Si\text{-}N{=}N\text{-}SiMe_3 \longrightarrow 2(R\text{-}O\text{-}SiMe_3) + N_2$$

ปฏิกิริยาไซลิลเลชันปกติแล้วจะดำเนินไปอย่างรวดเร็ว (ภายใน 5 นาที) โดยส่วนใหญ่ใช้ไพริดีนเป็นตัวทำละลาย

2.6 ความรู้เกี่ยวกับเทคนิค ก๊าซโครมาโทกราฟี

ก๊าซโครมาโทกราฟี (GC) เป็นเทคนิคหนึ่งของการวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟี ซึ่งนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เพราะมีความสามารถแยกและวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนได้ และยังให้ผลที่เที่ยงตรงรวดเร็วอีกด้วย

ก๊าซโครมาโทกราฟี ใช้ได้กับสารที่สามารถระเหยกลายเป็นไอได้ ณ อุณหภูมิของคอลัมน์เท่านั้น ดังนั้นวิธีการของก๊าซโครมาโทกราฟีจึงเป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารประกอบอินทรีย์เท่านั้น เพราะสารประกอบอินทรีย์สามารถกลายเป็นไอได้ง่าย

วิธีการของก๊าซโครมาโทกราฟีสามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้ทั้งทางคุณภาพ และทางปริมาณ

หลักการของก๊าซโครมาโทกราฟี

หลักการของก๊าซโครมาโทกราฟี คือ เฟสที่เคลื่อนที่ได้ (mobile phase)เป็นก๊าซ (carrier gas) และสารที่อยู่นิ่ง (stationary phase) อาจเป็นของแข็งหรือของเหลวก็ได้

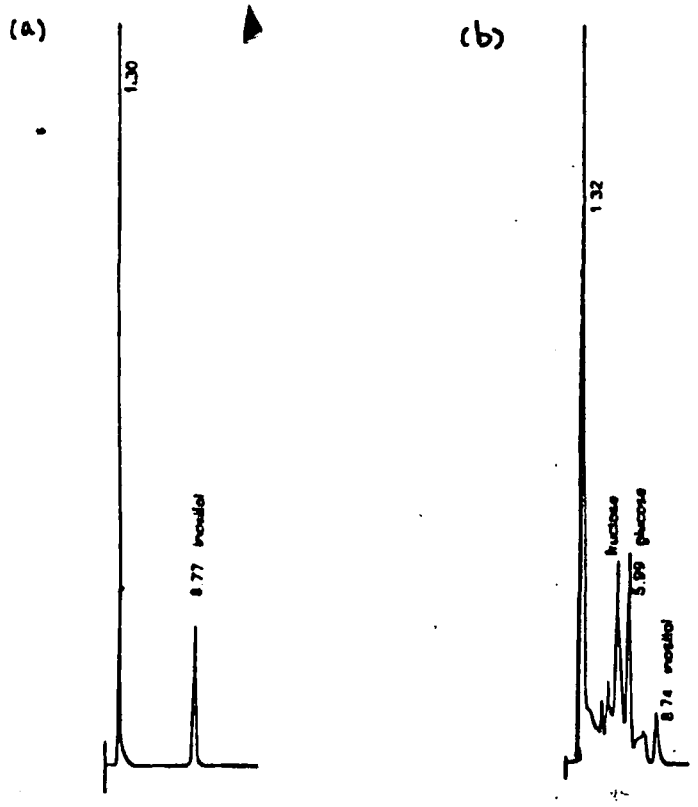
สารตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ได้ต้องสามารถระเหยกลายเป็นไอได้เมื่อให้ความร้อน จากนั้นก๊าซจะพาไอของสารออกจากคอลัมน์ที่บรรจุเฟสที่อยู่นิ่งออกมาก่อนหลังตามลำดับจุดเดือด ดังนั้นการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟีนี้ ภาวะของเครื่องจึงเป็นสิ่งสำคัญ เช่นอุณหภูมิของส่วนฉีดสาร (Injector), คอลัมน์ (column), และเครื่องตรวจวัด (Detector) อัตราการไหลของก๊าซพาและชนิดของเครื่องตรวจวัดที่ใช้ต้องเหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการแยกสารตัวอย่างได้ดีถ้ามีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและอัตราการไหลของก๊าซพาจะมีผลต่อเวลาการคงไว้ของสารตัวอย่าง

การวิเคราะห์ทางคุณภาพนั้นจะพิจารณาได้จากเวลาการคงไว้ของพีคที่ได้ และทางปริมาณพิจารณาได้จากพื้นที่ใต้กราฟหรือความสูงของพีคที่ได้ในโครมาโทแกรม

สำหรับในโครงงานพิเศษนี้ทำการวิเคราะห์โดยเตรียมอินโนซิทอลให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ของ Trimethyl Silyl Ester และใช้ liquid methyl silicon (OV 101) เป็นเฟสอยู่กับที่ เนื่องจากมีความเสถียรที่อุณหภูมิสูง (สามารถใช้ได้สูงถึง 350 °C) และไม่มีผลจากไฮโดรเจนที่ว่องไว นอกจากนี้ยังให้ค่าการคงไว้สำหรับน้ำตาลและอัลกอฮอล์จากน้ำตาลค่อนข้างสั้นเพราะหมู่เมทิลที่อยู่บนซิลิกามีขนาดเล็ก

เครื่องตรวจวัดที่ใช้คือ Flame Ionization Detector (FID)

สำหรับโครมาโทแกรมของอินโนซิทอลมาตรฐาน และส่วนผสมของกลูโคส, ฟรุกโตส, และอินโนซิทอลได้แสดงไว้ดังรูปที่ 2.6



<u>รูปที่ 2.6</u> (a) GC โครมาโทแกรม ของ อินโนซิทอลมาตรฐาน

(b) GC โครมาโทแกรม ของ ส่วนผสมกลูโคส, ฟรุกโตส และอินโนซิทอล

จากรูปที่ 2.6 จะเห็นว่าพีคของอินโนซิทอลที่ได้มีความคมชัดและมีค่าการคงไว้น้อย ดังนั้นการวิเคราะห์อินโนซิทอลด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี จึงเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วให้ผลถูกต้องและน่าเชื่อถือได้

บทที่ 3
การทดลองและการดำเนินการ

3.1 สารเคมีที่ใช้

1. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37 % โดยปริมาตร (HCl)
2. กรดไตรคลอโรอะซิติก 99.5 % โดยน้ำหนัก ($Cl_3C_2O_2H$)
3. กรดไนตริกเข้มข้น 69.0-70.5 % โดยปริมาตร (HNO_3)
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$)
5. ไดไฮโดรเจนโปแตสเซียมฟอสเฟต (H_2KPO_4)
6. สารมาตรฐานอินโนซิทอล
7. เฮกซะเมทิลไดไซลาเซน (hexamethyldisilazane,HMDS)
8. ไตรเมทิลคลอโรไซเลน (trimethylchlorosilane,TMCS)
9. ไพริดีน (pyridine)
10. เอ็น-เฮกเซน (n-hexane)
11. โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)

สารละลายเคมี

1. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 3 % โดยปริมาตร

นำสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 37 % โดยปริมาตร มา 81.1 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตร

2. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกความเข้มข้น 3 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ชั่งไตรคลอโรอะซิติก 99.5 % มา 30.2 กรัม แล้วละลายด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตร

3. สารละลายกรดไนตริกความเข้มข้น 3 % โดยปริมาตร

นำสารละลายกรดไนตริกความเข้มข้น 69.75 % โดยปริมาตร มา 43.0 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตร

4. สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 4.3-4.5

ชั่งไดไฮโดรเจนโปแตสเซียมฟอสเฟต 20.41 กรัม แล้วละลายด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตร

5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 3 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 30 กรัม แล้วละลายด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตร

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องกรองสูญญากาศ
2. เครื่องกลั่นสูญญากาศ (rotary evaporator)
3. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH-meter)
4. เครื่องก๊าซโครมาโทกราฟ (Gas chromatograph)
5. เดซิเคเตอร์
6. ตู้อบ
7. เครื่องให้ความร้อน (heater)
8. แท่งแม่เหล็กสำหรับกวน (magnetic stirrer)
9. ไซลิงค์ (syring) ขนาด 10 ไมโครลิตร
10. เทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้วัดอุณหภูมิในช่วง 0-300 องศาเซลเซียส
11. เครื่องควบแน่น (condenser) ใช้ระบบหล่อเย็นโดยเครื่องทำความเย็น
12. นาฬิกาจับเวลา
13. ช้อนตักสาร
14. แท่งแก้ว
15. ขวดก้นกลมขนาด 1000 มิลลิลิตร
16. กระจกนาฬิกา
17. กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร
18. บีกเกอร์ขนาด 50, 100, 250, 500, 600 และ 1000 มิลลิลิตร
19. ปิเปตขนาด 1, 2 และ 5 มิลลิลิตร

20. หลอดหยด

21. กรวยแก้ว

22. ขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร

23. กระบอกน้ำกลั่น

24. ชุดสำหรับกรองสาร

25. ขวดขนาดเล็กที่มีฝาปิด (vial)

26. กระดาษกรองเบอร์ 1

3.3 วิธีการสกัด

1. ชั่งกากรำข้าว 40 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 % โดยปริมาตร ในปริมาณ 500 มิลลิลิตร ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา กวนที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองสารที่ได้ด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

3. นำสารละลายที่กรองได้มาปรับ พีเอช ให้อยู่ในช่วง 4.3-4.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 3% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 10 มิลลิลิตร

4. นำสารละลายไปรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

5. ระเหยให้แห้งด้วยเครื่องกลั่นสูญญากาศจนเกือบแห้งสนิท นำสารของแข็งสีขาวที่ได้ไปอบให้แห้งสนิทที่อุณหภูมิ 105 °C

6. ชั่งน้ำหนักสารที่ได้ บันทึกผลการทดลอง ควรเก็บสารของแข็งนี้ไว้ในภาชนะที่ปิดฝาและอยู่ในเดซิเคเตอร์

7. ทดลองเปลี่ยนแปลงภาวะการสกัด เช่น ตัวทำละลายเป็น กรดไตรคลอโรอะซิติก หรือ กรดไนตริก อุณหภูมิเป็น 40, 50,...°C เวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 2, 3,...ชั่วโมง

3.4 การเตรียมอนุพันธ์ไตรเมทิลไซลิลเอสเทอร์ ของ สารมาตรฐานอินโนซิทอล

นำสารมาตรฐานอินโนซิทอล 50 มิลลิกรัม ใส่ในขวดขนาดเล็กที่มีฝาปิด (vial) ละลายด้วย แอนไฮดรัสไพริดีน 5 มิลลิลิตร (ผ่านการดูดน้ำออกด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว) เติมสาร HMDS 10 มิลลิลิตร และ TMCS 0.5 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสม 30 วินาที (ถ้าไม่ละลายให้นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 75-85 °C ประมาณ 2-3 นาที) ระเหยไพริดีนออกภายใต้การลดความดันที่อุณหภูมิ 40 °C นำส่วนที่เหลือมาละลายใน n-hexane 1 มิลลิลิตร (ได้ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

3.5 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

นำสารละลายมาตรฐานที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.4 มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ตามที่ต้องการ 40, 30, 20 และ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วนำสารที่ได้แต่ละความเข้มข้นไปฉีดเข้าเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟ เขียนกราฟระหว่างพื้นที่ใต้กราฟหรือความสูงของกราฟกับความเข้มข้นของสารละลายอินโนซิทอลที่ฉีดเข้าไป

3.6 การเตรียมอนุพันธ์ไตรเมทิลไซลิลเอสเทอร์ ของ สารที่สกัดได้

นำสารของแข็งสีขาวจากขั้นตอนที่ 3.3 มา 50 มิลลิกรัม แล้วทำการเตรียมอนุพันธ์เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 3.4

3.7 ภาวะของเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟ รุ่น Shimadzu GC-9A

เครื่องตรวจวัด (Detector)	Flame Ionization Detector (FID)
ก๊าซตัวพา (carrier gas)	ไนโตรเจน (N_2)
อัตราการไหล (Flow rate)	20 มิลลิลิตร/นาที
คอลัมน์ (column)	OV 101 (Liquid Methyl Silicone)
	ยาว 12 ฟุต เส้นผ่านศูนย์กลาง 1/8 นิ้ว
อุณหภูมิ	ดีเทคเตอร์ 250 °C
	คอลัมน์ 220 °C
	บริเวณหัวฉีด (Injector) 250 °C

ปริมาตรของสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไป 0.2 ไมโครลิตร

นำสารที่เตรียมได้ในขั้นตอน 3.4, 3.5 และ 3.6 ฉีดเข้าเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟ โดยใช้ไซริงค์

บทที่4
ผลการทดลองและวิจารณ์

ตารางที่4.1 แสดงผลการทดลองการสกัด inositol จากกากรำข้าวโดยใช้กรดไนตริกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

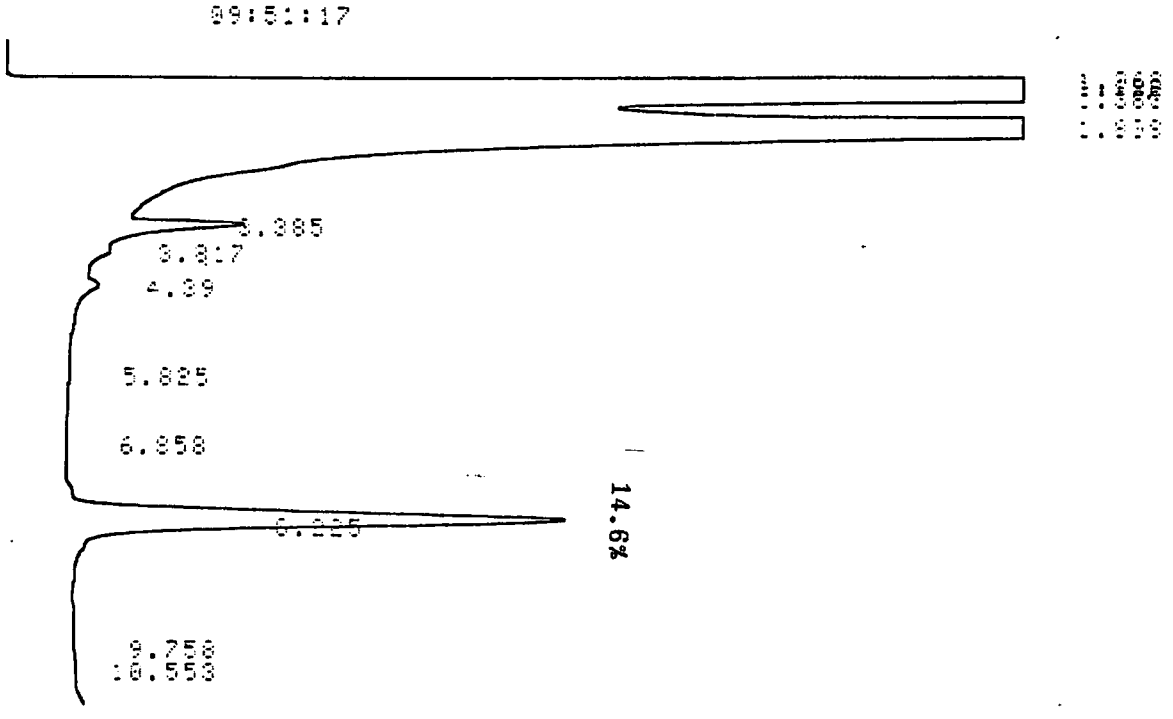
ชุดที่	ปริมาณกากรำข้าว (กรัม)	ปริมาตรกรด ลบ.ซม^3	อุณหภูมิ (°C)	เวลาในการสกัด (ชม.)	น้ำหนักสารที่สกัดได้ (กรัม)	น้ำหนักของinositol (กรัม)	inositolที่สกัดได้ (%)	ความบริสุทธิ์ (%)
1	40	500	30	1	0.3776	0.1412	0.35	37.4
2	40	500	30	2	0.6275	0.2228	0.56	35.5
3	40	500	30	3	0.7683	0.2935	0.73	38.2
4	40	500	40	1	0.4051	0.1483	0.37	36.6
5	40	500	40	2	1.1876	0.4406	1.10	37.1
6	40	500	40	3	1.1627	0.4395	1.10	37.8
7	40	500	50	1	0.5468	0.2089	0.52	38.2
8	40	500	50	2	1.2483	0.4793	1.20	38.4
9	40	500	50	3	1.2811	0.4727	1.18	36.9
10	40	500	60	1	0.7435	0.2847	0.71	38.3
11	40	500	60	2	1.3008	0.5020	1.25	38.6
12	40	500	60	3	1.3124	0.4974	1.24	37.9
13	40	500	70	1	0.7969	0.2933	0.73	36.8
14	40	500	70	2	1.2991	0.4859	1.21	37.4
15	40	500	70	3	1.3026	0.4650	1.16	35.7
16	40	500	80	1	0.8197	0.3008	0.75	36.7
17	40	500	80	2	1.2888	0.4807	1.20	37.3
18	40	500	80	3	1.2951	0.4895	1.22	37.8

ตารางที่4.2 แสดงผลการทดลองการสกัด inositol จากกากรำข้าวโดยใช้กรดไตรคลอโรอะซิติกแอซิดเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

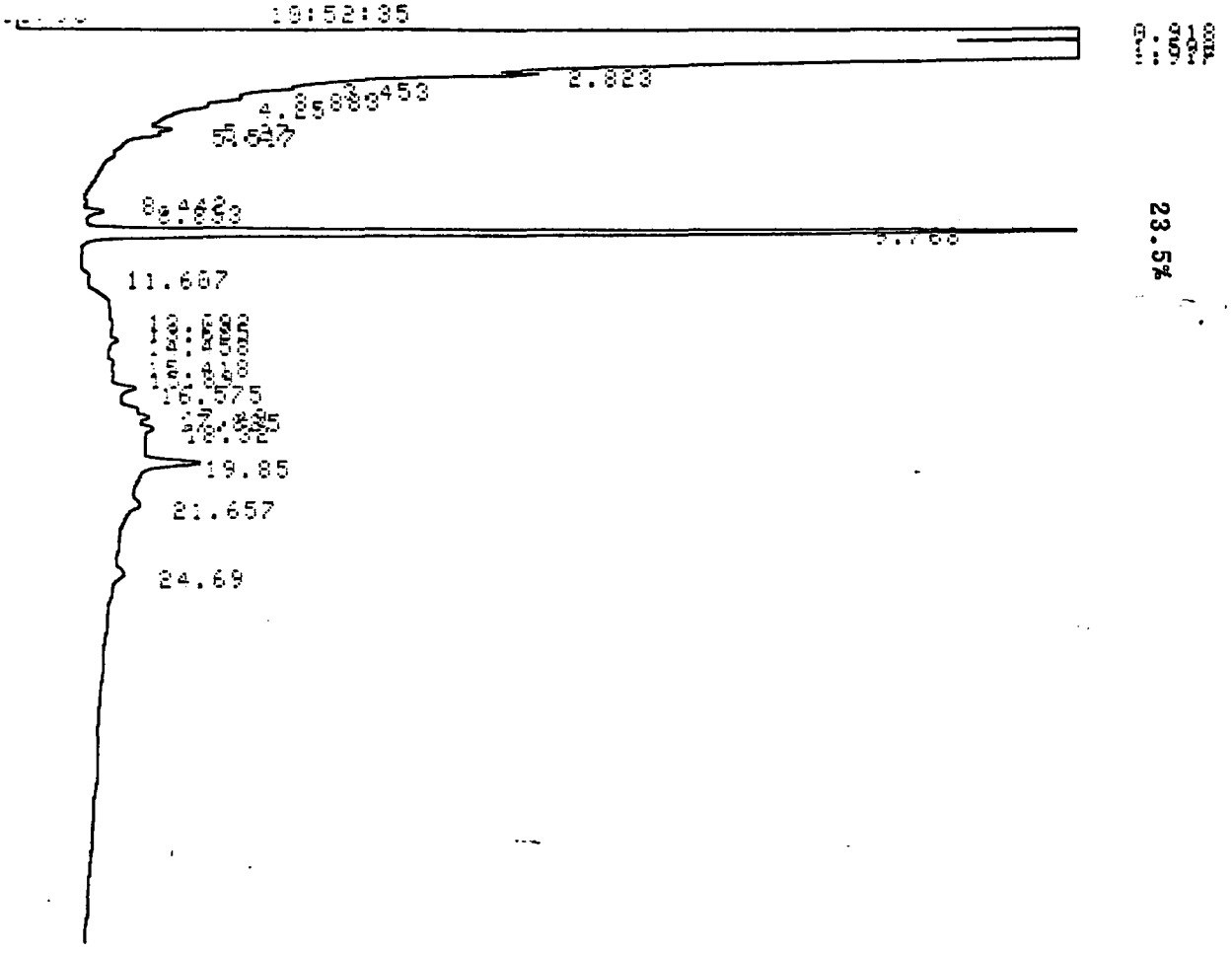
ชุดที่	ปริมาณกากรำข้าว (กรัม)	ปริมาตรกรด ลบ.ซม^3	อุณหภูมิ (°C)	เวลาในการสกัด (ชม.)	น้ำหนักสารที่สกัดได้ (กรัม)	น้ำหนักของ inositol (กรัม)	inositol ที่สกัดได้ (%)	ความบริสุทธิ์ (%)
1	40	500	30	1	0.9881	0.1660	0.42	16.8
2	40	500	30	2	1.3637	0.2346	0.59	17.2
3	40	500	30	3	1.4488	0.2419	0.60	16.7
4	40	500	40	1	0.9182	0.1589	0.40	17.3
5	40	500	40	2	1.4420	0.2567	0.64	17.8
6	40	500	40	3	1.3306	0.2249	0.56	16.9
7	40	500	50	1	0.8608	0.1326	0.33	15.4
8	40	500	50	2	1.8464	0.3176	0.79	17.2
9	40	500	50	3	1.9361	0.3272	0.82	16.9
10	40	500	60	1	1.0045	0.1778	0.44	17.7
11	40	500	60	2	1.9784	0.3498	0.87	17.6
12	40	500	60	3	2.1496	0.3890	0.97	18.1
13	40	500	70	1	1.0208	0.1827	0.46	17.9
14	40	500	70	2	2.4159	0.4131	1.03	17.1
15	40	500	70	3	2.3563	0.4359	1.09	18.5
16	40	500	80	1	1.0587	0.1938	0.48	18.3
17	40	500	80	2	2.3296	0.3914	0.98	16.3
18	40	500	80	3	1.7934	0.3122	0.78	17.4

ตารางที่4.3 แสดงผลการทดลองการสกัด inositol จากกากรำข้าวโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

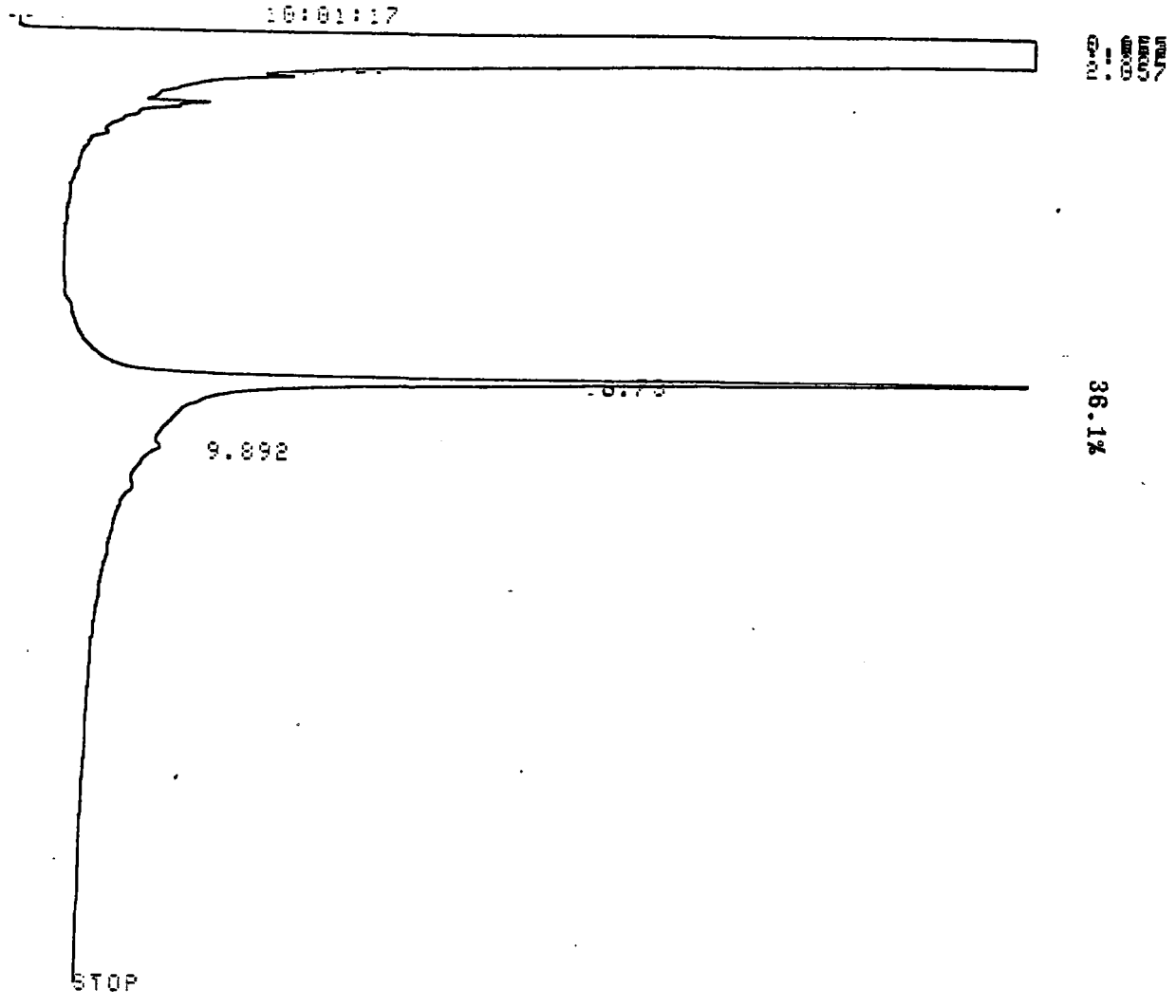
ชุดที่	ปริมาณกากรำข้าว (กรัม)	ปริมาตรกรด ลบ.ซม^3	อุณหภูมิ (°C)	เวลาในการสกัด (ชม.)	น้ำหนักสารที่สกัดได้ (กรัม)	น้ำหนักของ inositol (กรัม)	inositol ที่สกัดได้ (%)	ความบริสุทธิ์ (%)
1	40	500	30	1	0.2734	0.1646	0.41	60.1
2	40	500	30	2	0.4486	0.2659	0.66	59.3
3	40	500	30	3	0.5168	0.2704	0.68	59.8
4	40	500	40	1	0.2889	0.1755	0.44	60.7
5	40	500	40	2	0.7385	0.4458	1.11	60.4
6	40	500	40	3	0.8490	0.4942	1.24	58.2
7	40	500	50	1	0.4762	0.2887	0.72	60.6
8	40	500	50	2	0.8991	0.5341	1.34	59.4
9	40	500	50	3	0.8997	0.5500	1.38	61.1
10	40	500	60	1	0.5593	0.3362	0.84	60.1
11	40	500	60	2	1.1664	0.7138	1.78	61.2
12	40	500	60	3	1.1329	0.6831	1.71	60.3
13	40	500	70	1	0.5467	0.3271	0.82	59.8
14	40	500	70	2	1.0903	0.6564	1.64	60.2
15	40	500	70	3	1.1156	0.6616	1.65	59.3
16	40	500	80	1	0.6157	0.3748	0.94	60.9
17	40	500	80	2	1.0751	0.6440	1.61	59.9
18	40	500	80	3	1.1594	0.7038	1.76	60.7



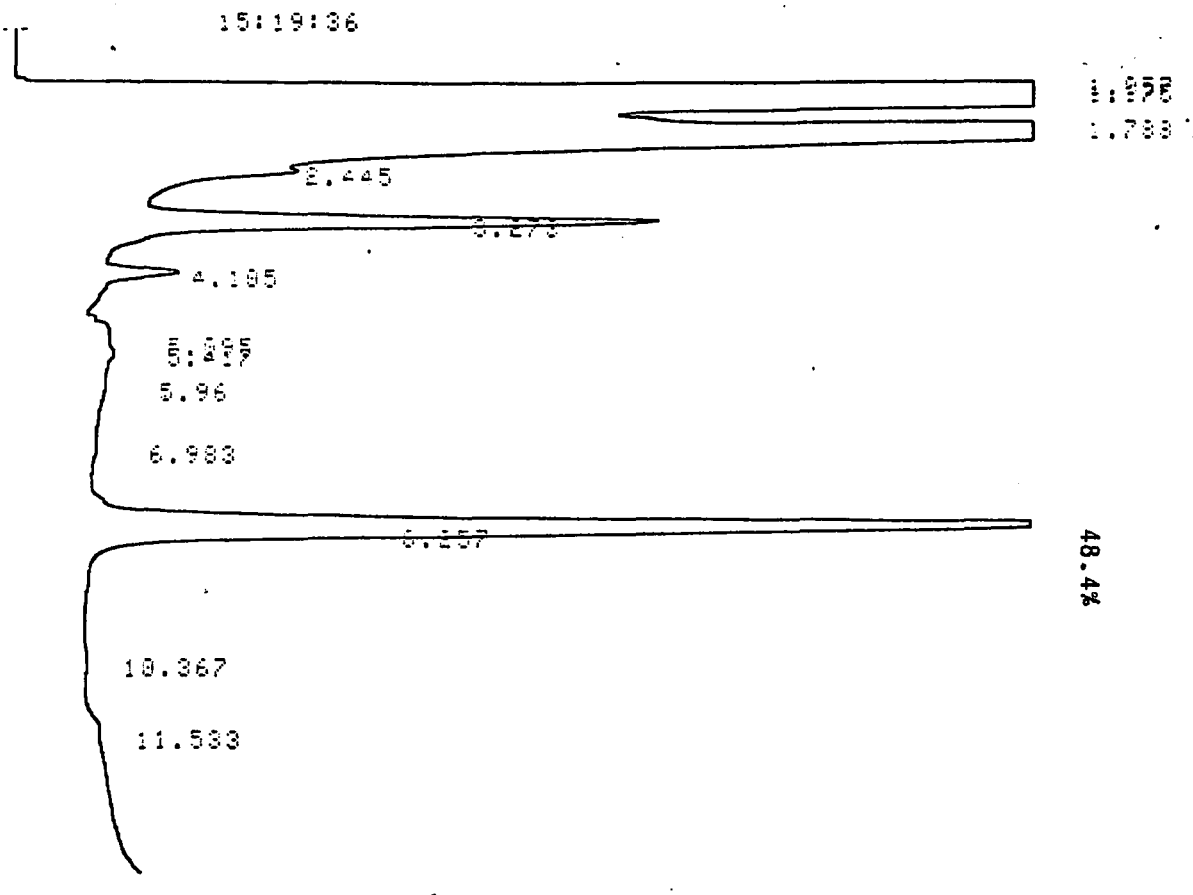
รูปที่ 4.1 อินโนซิทอลมาตรฐาน 2 ไมโครกรัม



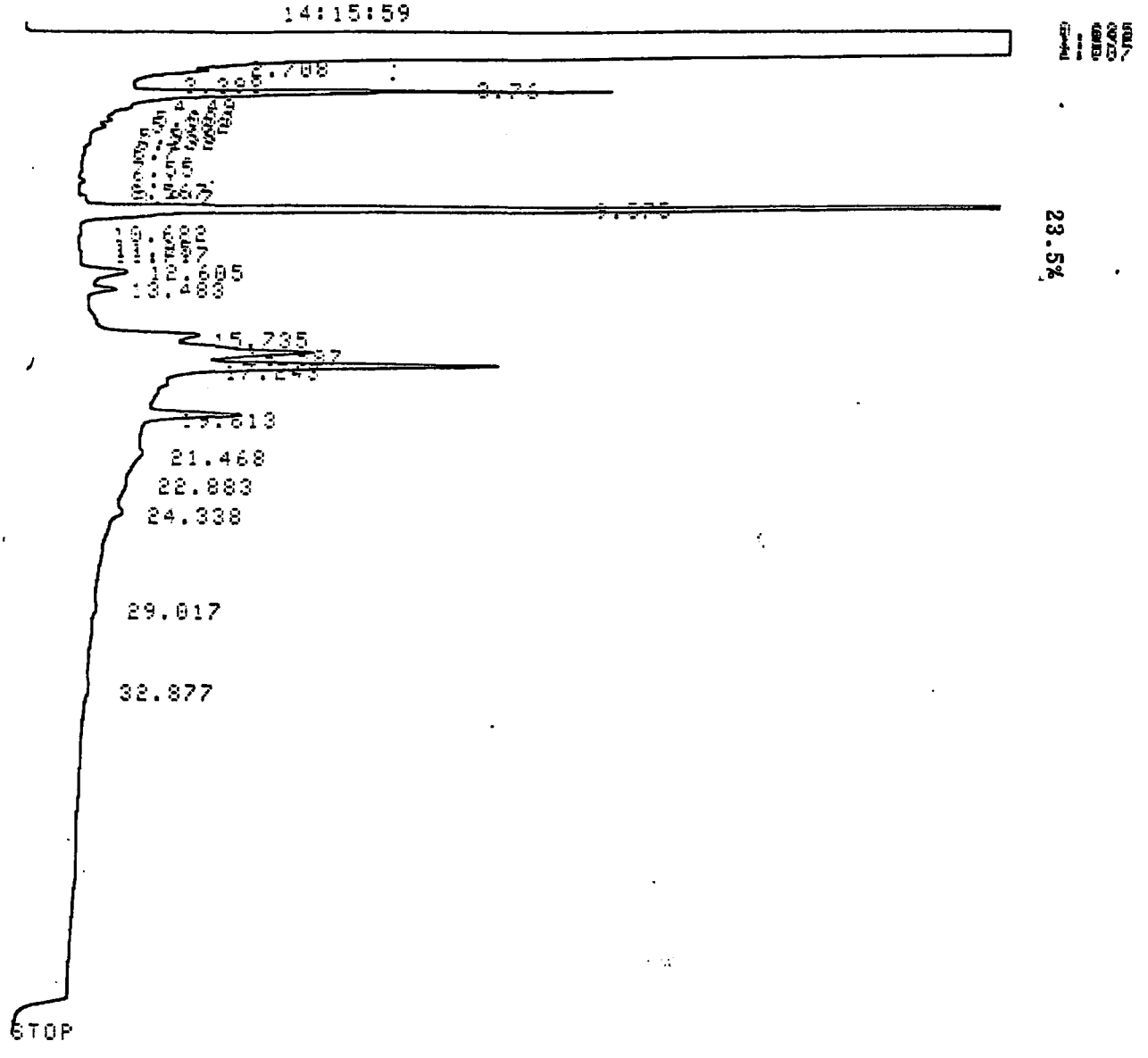
รูปที่ 4.2 อินโนซิทอลมาตรฐาน 4 ไมโครกรัม



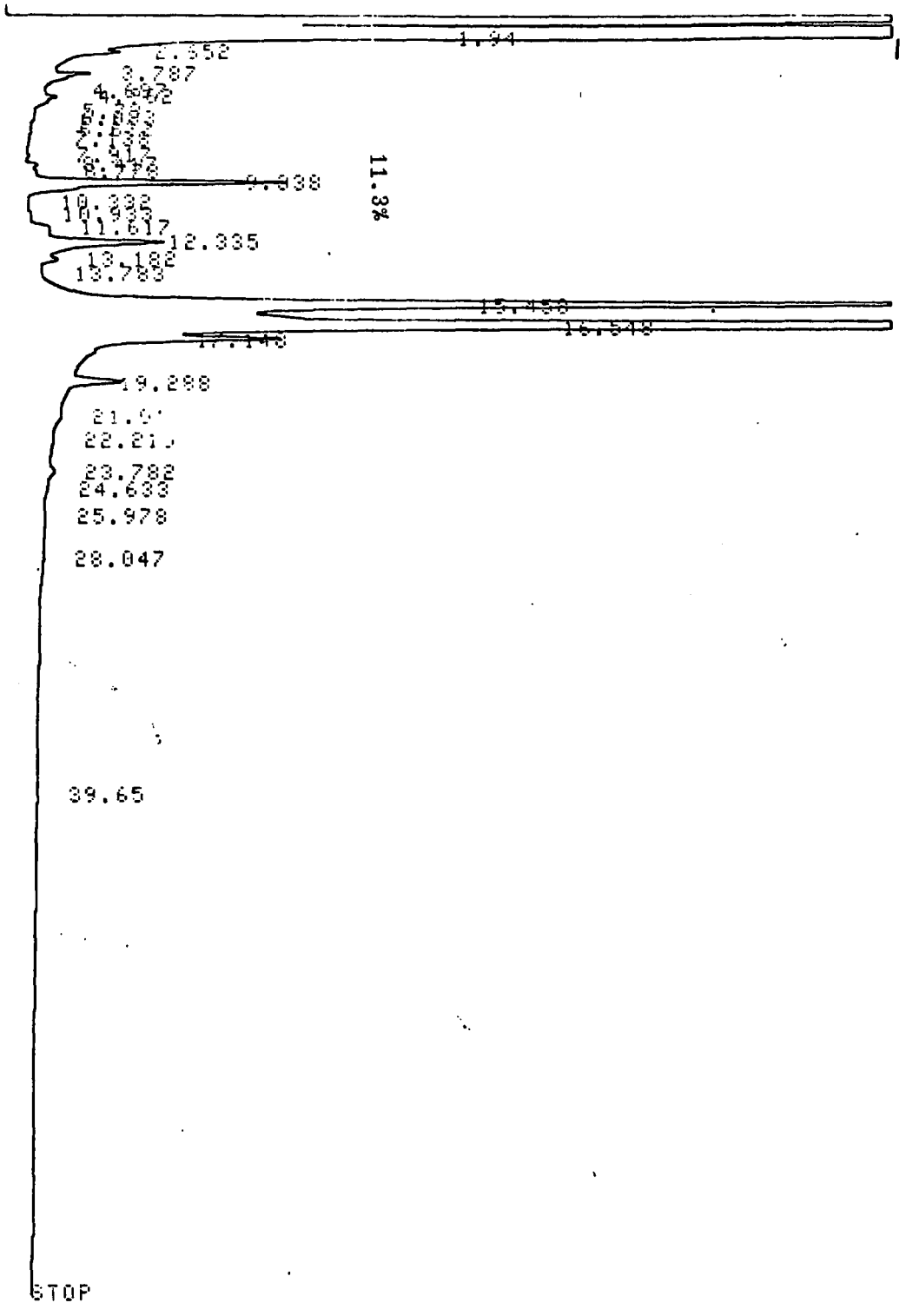
รูปที่ 4.3 อินโนซิทอลมาตรฐาน 6 ไมโครกรัม



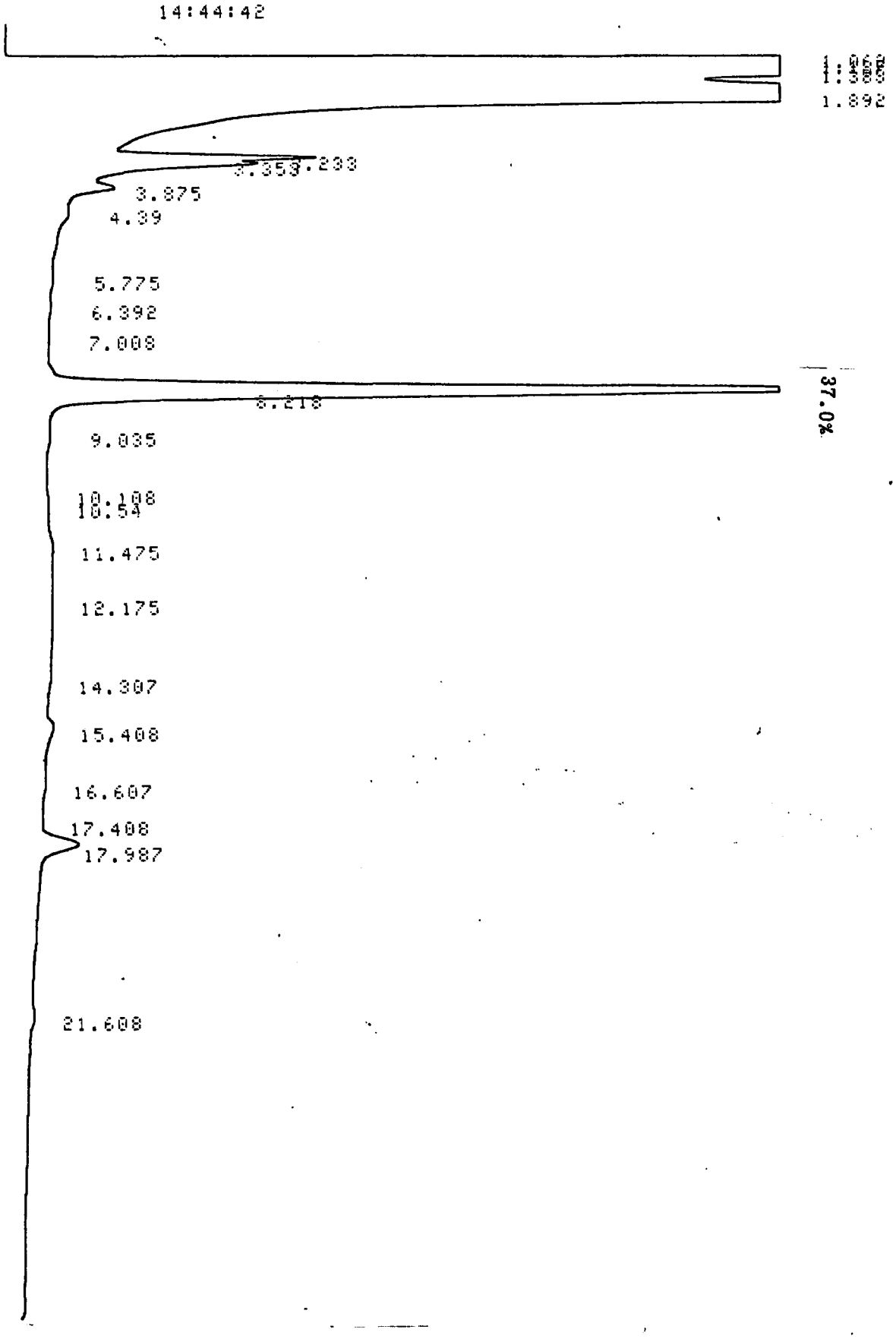
รูปที่ 4.4 อินโนซิทอลมาตรฐาน 8 ไมโครกรัม



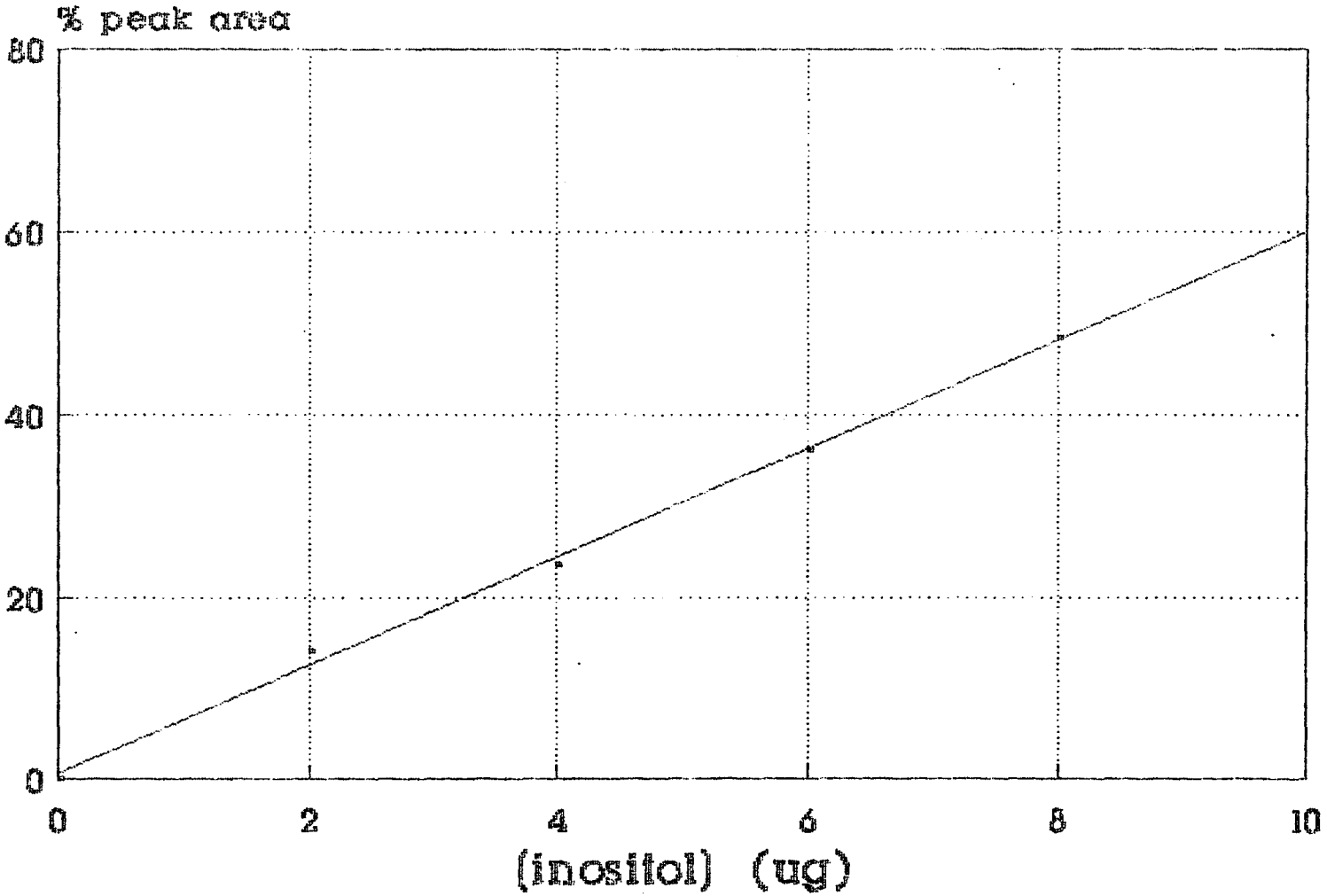
รูปที่ 4.5 ตัวอย่างที่ 1 (สกัดโดยใช้กรดไนตริกเข้มข้น 3 % โดยปริมาตร)



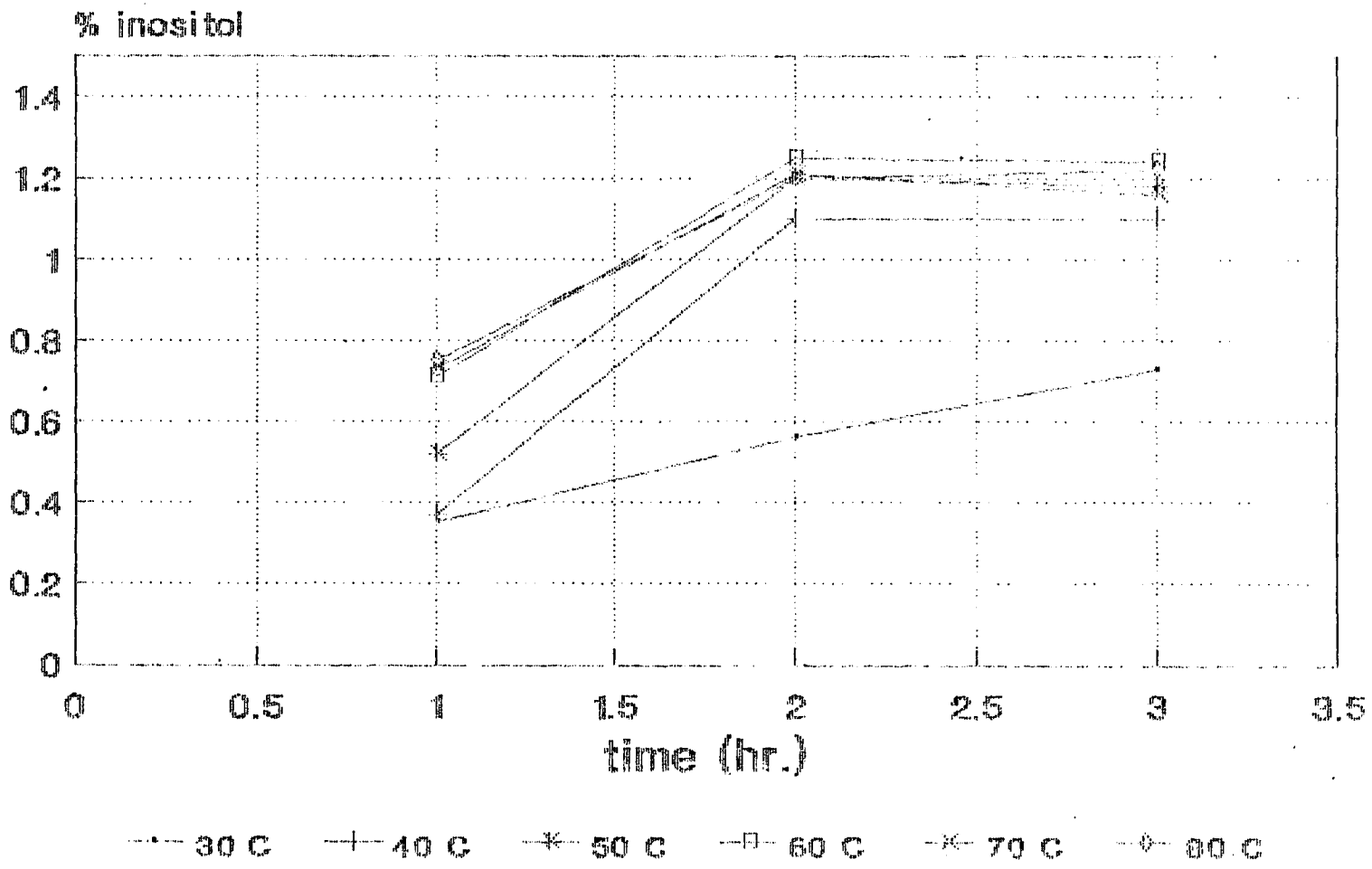
รูปที่ 4.5 ตัวอย่างที่ 2 (สกัดโดยใช้กรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น 3% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)



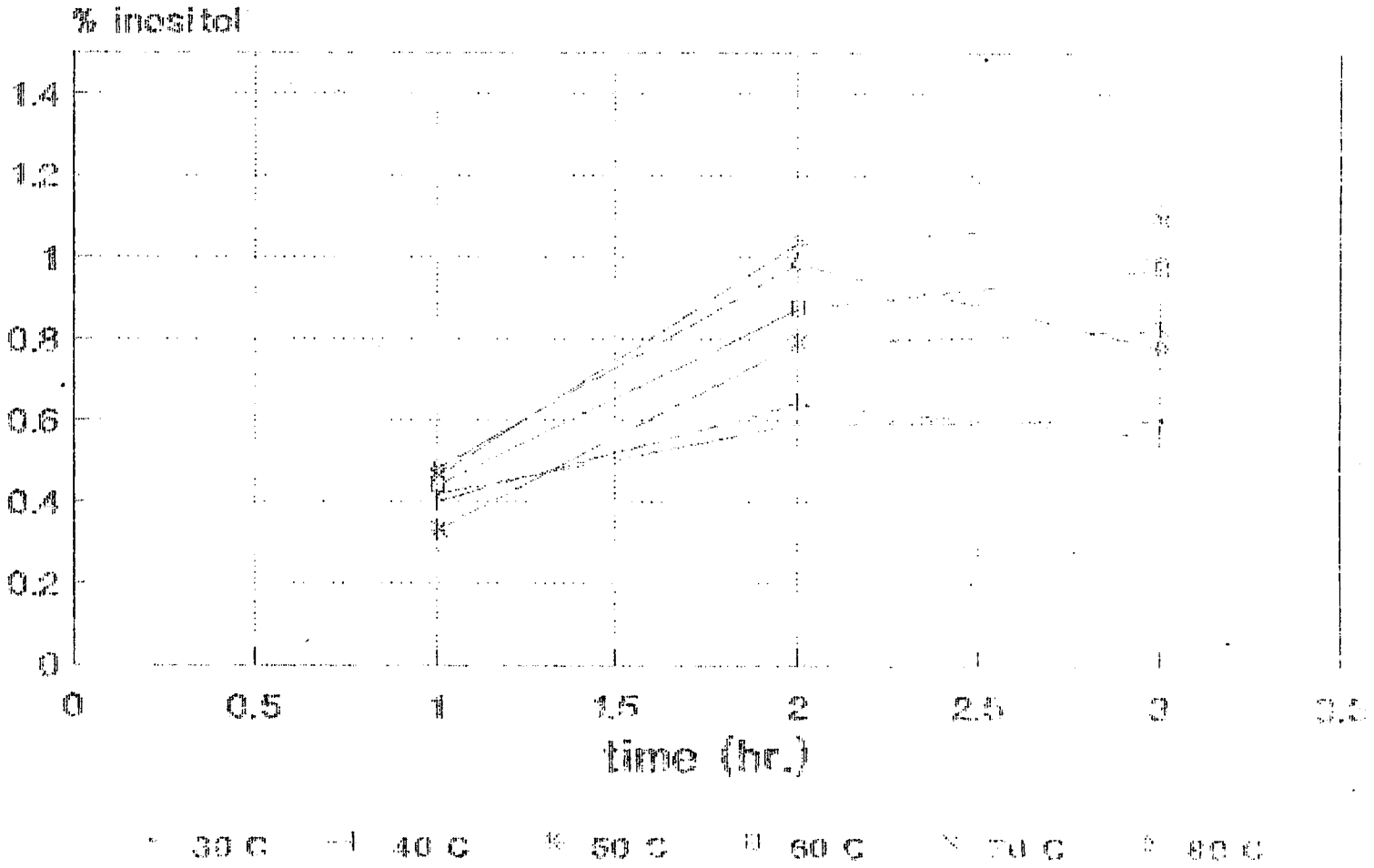
รูปที่ 4.5 ตัวอย่างที่ 3 (สกัดโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 % โดยปริมาตร)



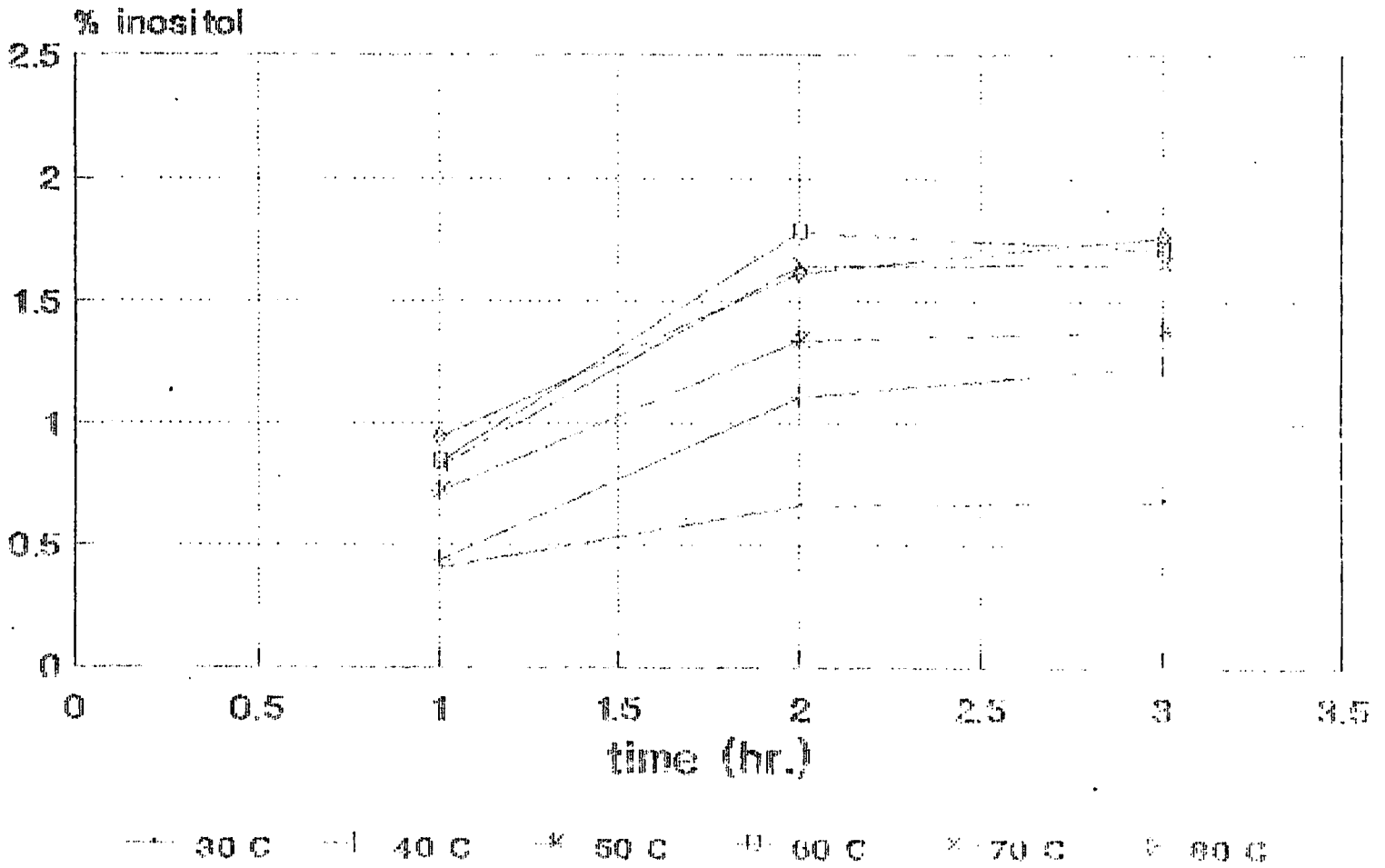
รูปที่ 4.6 แสดงกราฟมาตรฐานของสารอินโนซิทอลมาตรฐาน



รูปที่ 4.7 แสดงกราฟเปอร์เซนต์อินโนซิทอลโดยใช้ความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ของกรดไนตริกสกัดที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆ



รูปที่ 4.8 แสดงกราฟเปอร์เซนต์อินโนซิทอลโดยใช้ความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ของกรดไตรคลอโรอะซิติกสกัดที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆ



รูปที่ 4.9 แสดงกราฟเปอร์เซนต์อินโนซิทอลโดยใช้ความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ของกรดไฮโดรคลอริกสกัดที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆ

บทที่ 5
บทสรุปและข้อแนะนำ

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีพืชผลทางการเกษตรมากมาย ข้าวถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจอันดับหนึ่งของประเทศ เห็นได้จากการที่คนไทยทุกคนบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ดังนั้นประเทศไทยจึงมีการปลูกข้าวกันมาก รำข้าวเป็นผลิตผลที่ได้จากขั้นตอนการสีข้าวมีราคาถูก มีประโยชน์ในด้านใช้เป็นอาหารสัตว์ ดังนั้นรำข้าวที่ผ่านขั้นตอนการสกัดเอาน้ำมันออกแล้ว ซึ่งเรียกว่า กากรำข้าว จึงมีคุณค่าทางอาหารน้อยลง และมีราคาถูกมากไม่เหมาะในการนำไปเลี้ยงสัตว์

ในกากรำข้าวมีสารอาหารอยู่ชนิดหนึ่งพบได้ในพืชและสัตว์ทั่วไป มีประโยชน์มากในอุตสาหกรรมยา อาหาร และเครื่องสำอาง สารชนิดนี้รู้จักกันในชื่อ "อินโนซิทอล" สารดังกล่าวมีราคาแพงมากและในปัจจุบันได้สังเคราะห์จากปฏิกิริยาเคมีและสกัดจากพืช ซึ่งประเทศที่มีการสกัดอยู่คือ จีนและญี่ปุ่น สำหรับประเทศไทยยังต้องสั่งนำเข้ามา ดังนั้นโครงงานพิเศษนี้จึงได้ศึกษาการสกัดอินโนซิทอลจากพืช พืชที่มีสารชนิดนี้อยู่มากคือ ข้าว เมื่อนำข้าวไปสกัดน้ำมันออกแล้วได้กากรำข้าวซึ่งยังมีสารชนิดนี้อยู่มาก อีกทั้งเป็นวัตถุดิบที่เหลือใช้และมีราคาถูกจึงสามารถนำมาสกัดอินโนซิทอลได้ดี มีต้นทุนการผลิตต่ำ

การสกัดอินโนซิทอลจากกากรำข้าวมีหลายวิธี แต่วิธีที่สะดวกและเหมาะสมคือใช้กรดเป็นตัวทำละลายให้เปอร์เซนต์ของสารที่สกัดได้สูงถึงแม้ความบริสุทธิ์ไม่สูงมาก ประสิทธิภาพของการสกัดขึ้นอยู่กับชนิดของกรดที่เลือกใช้ สภาวะการสกัด (อุณหภูมิ, เวลา) กรดไฮโดรคลอริกเป็นกรดชนิดหนึ่งที่นิยมใช้มาก เนื่องจากหาง่ายมีราคาถูก แต่สามารถเลือใช้กรดชนิดอื่นได้ ในการทดลองนี้เลือกใช้กรด 3 ชนิดคือ กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร, กรดไนตริกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร และกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร โดยเปลี่ยนเวลาและอุณหภูมิในการสกัดต่างๆ เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดและเปรียบเทียบการสกัดโดยใช้กรดต่างกัน 3 ชนิด ดังนี้

1. กรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร สารที่สกัดออกมาได้มีความบริสุทธิ์ต่ำที่สุดและสกัดอินโนซิทอลออกมาได้ปริมาณน้อย

2. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร สารที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์สูงที่สุดและสามารถสกัดอินโนซิทอลออกมาได้เปอร์เซนต์สูง

3. กรดไนตริกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร สารที่สกัดได้มีเปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ต่ำแต่สูงกว่าการสกัดด้วยกรดไตรคลอโรอะซิติก

4. อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดต่างมีผลต่อปริมาณอินในซิทอลที่สกัดได้ จากการทดลองใช้อุณหภูมิที่ต่างกันคือ 30, 40, 50, 60, 70, และ 80 °C ปริมาณอินโนซิทอลที่สกัดได้เริ่มคงที่ โดยสังเกตได้จากกราฟแสดงเปอร์เซนต์อินโนซิทอลที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กัน

5. เวลามีผลต่อปริมาณอินโนซิทอลที่สกัดได้ โดยใช้เวลา 1 ชั่วโมงในการสกัดได้ปริมาณสารอินโนซิทอลน้อย และเมื่อใช้เวลาในการสกัดมากขึ้นคือ 2 และ 3 ชั่วโมง จะได้ปริมาณสารอินโนซิทอลมากกว่าเมื่อใช้เวลาเพียง 1 ชั่วโมง และปริมาณสารที่สกัดได้ในช่วงนี้ไม่แตกต่างกันมากนัก

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ภาวะที่เหมาะสม ในการสกัดอินโนซิทอลสามารถสรุปได้ดังตาราง 5.1 ดังนี้

ตารางที่ 5.1 แสดงสรุปผลการทดลองทั้งหมด

ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	เวลา (ชม.)	อุณหภูมิ (°c)	เปอร์เซนต์อินโนซิทอล	เปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์
กรดไนตริก	2	60	1.25	38.6
กรดไตรคลอโรอะซิติก	3	70	1.09	18.5
กรดไฮโดรคลอริก	2	60	1.78	61.2

จากการเปรียบเทียบกรดทั้ง 3 ชนิด การใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร มีประสิทธิภาพการสกัดดีที่สุด เปรียบเทียบได้จากเปอร์เซนต์อินโนซิทอลที่สกัดได้

และเปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ ซึ่งกรดไฮโดรคลอริกเปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ 61.2 เปอร์เซนต์ และมีปริมาณอินโนซิทอลที่สกัดได้สูงถึง 1.78 เปอร์เซนต์ ซึ่งตามปกติในรำข้าวมีอินโนซิทอลประมาณ 1.8 เปอร์เซนต์

จากการวิเคราะห์เชิงปริมาณและคุณภาพของสารอินโนซิทอลที่สกัดได้ทำได้โดยใช้เทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี พบว่าในเชิงคุณภาพสารของแข็ง สีขาวที่สกัดได้จากกากรำข้าวเป็นอินโนซิทอลจริง เนื่องจากมีเวลาการคงไว้ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานอินโนซิทอล คือประมาณ 8-9.5 นาที ดังแสดงในรูป แต่อาจมีบางโครมาโทแกรมที่มีเวลาการคงไว้ที่คลาดเคลื่อนไปบ้าง อาจเนื่องมาจากภาวะของเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟที่ตั้งไว้ในการทดลองแต่ละครั้ง เช่น อัตราการไหลของก๊าซไนโตรเจน และความบริสุทธิ์ของสารที่สกัดได้ ฯลฯ เป็นต้น นอกจากนี้การทดสอบสมบัติทางกายภาพอื่นๆ เช่น จุดหลอมเหลว การละลาย ลักษณะภายนอก ก็ใกล้เคียงกับสารอินโนซิทอล

ส่วนในเชิงปริมาณทำให้ทราบว่าภาวะใดที่เหมาะสมในใช้การสกัดอินโนซิทอลออกจากกากรำข้าว เนื่องจากทราบปริมาณจากพื้นที่ใต้พีค และทราบบริสุทธิ์ของสารที่สกัดได้จากค่าการคงไว้

จากที่กล่าวมาทั้งหมดการสกัดอินโนซิทอลจากกากรำข้าวเหลือใช้ เป็นอุตสาหกรรมที่ทางรัฐบาลน่าจะส่งเสริมให้มีการลงทุนในอนาคต เนื่องจากประเทศไทยผลิตข้าวได้เป็นจำนวนมาก และกากรำข้าวที่นำมาสกัดเป็นวัตถุดิบที่เหลือใช้มีราคาถูก ถ้ามีการวิจัยศึกษาเพิ่มเติม และพัฒนาการสกัดให้มีประสิทธิภาพดียิ่งจนสามารถผลิตใช้เองได้ภายในประเทศจะสามารถลดต้นทุนการผลิตของสินค้าบางชนิดที่ใช้อินโนซิทอลเป็นองค์ประกอบให้ต่ำลงได้ เช่น ยา, อาหาร, เครื่องสำอาง จึงนับว่าการผลิตอินโนซิทอลจากกากรำข้าวเป็นอุตสาหกรรมใหม่ชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ

เอกสารอ้างอิง

1. George Clifford John Irving, *Journal of Chromatography*, 205 (1981) 460-463.
2. B. Tangendjaja , K.A. Buckle and M.Wootton, *Journal of Chromatography*, 197 (1980) 274-277.
3. R.B. Toma and M.M. Tabekhia, *Journal of Food Science*, Vol. 44, No. 2 , 619-621.
4. B. Tangendjaja, K.A. Buckle,and M.Wootton, *Journal of Food Science*, Vol. 46 (1981) 1020-1025.
5. Henry H. Baugr,Gary D. Christian, Jame E.O. Reilly, *Instrumental Analysis*, 689-697.
6. Colin F. Poole and Salwa K. Poole, *Chromatograph Today*, 106-161.
7. Walter Jennings, *Analytical Gas Chromatography*, 63-64, 101-111.
8. Bar S. Luh, Ph.D., "Production and Ultilisation", *Rice* , 453, 790-879.
9. Bienvenido, "Chemistry and Technology", *Rice*, 647-665.
10. Prance Nandhasri , Aung Kyaw Htoon and Chaveewon Phunchaisri, "Determination of Inositol in Royol Jelly" , *Asean Food Journal*, Vol.6 , No.4 (1991), 165-166.
11. Zhu C. F., Zhang J.L., Liu Y.P.," Improved Preparation of Phytic Acid", *Chin J. Pharm*, 21(3). 1990, 99-101.
12. Savirov K. A. , Kamilov Kh. M., "Structure of Phytic Acid and Phytates", *Khim Prir Soedin(Tashk)*, 6(1989), 818-822.

13. Hayakawa T., Suzuki K., Miura H., Ohno T., Igaue I., "Myo Inositol Polyphosphate Intermediates in the Dephosphorylation of Phytic Acid by Acid Phosphatase with Phytase Activity From Rice Bran". *Agric. Biol. Chem.* , 54(2), 1990, 279-286.

14. Savirov K. A., Demkina N. V., Igamnazarov R. P., Yuldaser B. T., Sultanov K, Rakhimov M. M., "Effect of Rice Bran Phytase on Phytin Hydrolysis", *Khim Prir Soedin (Tashk)*, (5), 1989, 703-707.

15. Ohk Awa T., Ebisuno S., Kitagawa M., Morimoto S., Miyazaki Y., Yasukawa S ., " Rice Bran Treatment For Patients with Hypercalciuric Stones Experimental and Clinical Studies", *J. Urol*, 132(6), 1984, 1140-1145.

16. Shin J. D., "Studies of Phytin in the Rice Plant Dressed with Fertilizer", Seoul. Natl. *Univ. Coll. Agric. Bull.*, 6(1), 1981, 83-88.

17. Goldshtein V.G., Saltanova O.V. , "Preparation of Phytin From Grains"., *Sakh. Prom-st.*,(10) 1987, 56-57.

18. Graf Ernst , Empson , Katherine L., "Phytic Acid. A Natural Antioxidat.", *J. Biol. Chem.*, 262(24) ,1987, 11647-11650.

19. Kimura Yukichi, Kanamori Takeshi , Sakamoto Tomonori, "Antioxidant Composition for Oil and Fat Foods.", *Jpn. Tokkyo Koho JP.* (1987).

20. Siren Matti,"Food Compositions Containing Inositol Triphosphate and Method for Making Same.", *U.S.* (1984).

21. Dimov V., Dryanovska Noninska, "Sources for Manufacture of Phytin and Biotechnologic Method for Its Production.", *Farmatsiya,39(2)*, 1989,38-40.

22. Sato Mitsukatsu, Yagi Yoshiaki, Ishikura Tomoyuki, Morita Hiroshi, Oda Nobuhiro, Okumura Kanji, "Glucooligosaccharides Containing Inositol and Their Enzymic Manufacture. "*Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP.* (1987).

23. Prosser H. J., Wilson A.D.,"The Cement Forming Properties of Phytic Acid.", *Phytic Acid*, (1986), 291-302.

24. Shivue, Akira Iamura, Teru,"Production of Vitamin E and Inositol From Plant Material.",*Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP.* (1983)

25. Champagne E.T.,Rao R.M.,Liuzzo J.A., Robinson J.W., Gale R. J., Miller F., "Isolation and Identification of Soluble Magnesium and Potassium Phytic fleid, and Zinc Compounds." , *Jpn, Kokai Tokkyo Koho JP.* (1984).

26. Sakai Isao, "Deordorization of Garlic by an Aqueous Solution Containing Silica, Phytic fleid, and Zinc Compounds.",*Jpn, Kokai Tokkyo Koho JP.* (1984).

27. Horiuchi Teruo , Tanaka Shigeko, "Weakly Acidic Detergent Compositions.", *Jpn, Kokai Tokkyo Koho JP.* (1984).

28. Khan Hamid Hasan, Dar Hala Aziz, Zia G. Mohiuddin, "Phytate and Mineral Comtents of Cereal Grains.", *Pak. J. Sei. Ind. Res.*,30(1), 1987, 15-17.

29. Amr Ayed S.,"Phytic Acid Content of Some Common Jordanian Cercal Foods.", *Dirasat Univ. Jordan*,13(8),1986, 75-83.

30. Togo Takuichi, Arimoto Shuichi, "Preparation of Phytic Acid From Phytin Containing Plants and Other Materials"., *Jpn, Kokai Tokkyo Koho JP.* (1984).

31. Akiba Kiyoshi, Izumya Shoichi, Kobayashi Tokio,"Pharmaceutical for the Control of Hypercalciuria.", *Jpn. Kokai Tokkyo Koho Jp.*(1987).

32. Sakamoto Tetsuo, Ikeda Takashi, Uchara Keiichi, Koyama Junichi, Horii Izumi, "Hair Preparations Containing Dandruff Controlling Agents.", *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP.* (1985).

33. Kondo Mitsuo, Nagasawa Hisanao, "Aqueous Transparent Cosmetics for Skin and Hair.", *Jpn, Kokai Tokkyo Koho JP.* (1985).

34. Kondo Mitsuo,Nagasawa Hisanao,"Emulsifying Agents for Cosmetics.", *Jpn, Kokai Tokkyo Koho JP.* (1985).

35. Siren Matti, " Stabilized Composition Containing Inositol Triphosphate.", *Eur. Pat. Appl. EP* (1984).

36. Li Yi, "Economic Manufacture of Inositol From bran.", *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN* (1989).

37. ร.ศ.ธวัชชัย ศรีวิบูลย์, *เคมีวิเคราะห์* ,พิมพ์ที่โรงพิมพ์สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง, (2533),497-547

38. ดร.ไสว พงษ์เก่า, *พืชเศรษฐกิจ*,(2534), 1-12