PBRU SCIENCE JOURNAL
2026.23(1) : 58-75

ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดกาวไหมจากไหมป่าอีรี่ (*Samia ricini*) ด้วยเทคนิคการสกัดที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

Total Phenolic, Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Sericin Extracted from Eri Silk (*Samia ricini*) Using Green Extraction Techniques

สุนทรต์ ชูลักษณ์*[1] และ สุชาวลี ชูลักษณ์[2]

Sunthorn Chooluck*[1] and Suchawalee Chooluck[2]

[1]*ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[2]*ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*

[1] *Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University*

[2]*Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University*

***Corresponding author; E-mail:** sunthornc@buu.ac.th

Received: 18 March 2026 /Revised: 16 April 2026 /Accepted: 17 April 2026

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการสกัดและศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไหมป่าอีรี่ (*Samia ricini*) เพื่อนำไปพัฒนาเป็นส่วนผสมของเวชสำอางด้วยวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยนำรังไหมไปสกัดหยาบด้วยการต้มกับสารละลายขี้เถ้าที่เหลือจากการเผาข้าวหลามด้วยฟืนไม้ไผ่ เปรียบเทียบกับการต้มด้วยน้ำกลั่น การต้มด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 0.2% w/v และสกัดด้วยสารละลายยูเรียเข้มข้น 8 โมลาร์ พบว่าการสกัดกาวไหมด้วยสารละลายขี้เถ้ามีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต จากนั้นนำสารสกัดหยาบไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford assay พบว่าการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต เป็นเวลา 30 นาทีให้ปริมาณโปรตีนมากที่สุด (791.89± 0.85 mg/g) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS assay ผลการทดลองพบว่าวิธีการสกัดด้วยสารละลายขี้เถ้าเป็นเวลา 90 นาทีนั้นมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด (253.10 ± 7.07 mg GAE/gDW) และมีฟลาโวนอยด์ (41.72 ± 0.00 mg QE/ gDW) อยู่สูง อีกทั้งยังสามารถกำจัดอนุมูล ABTS ได้ดีที่สุดโดยมีร้อยละการยับยั้ง 90.05 ± 2.82 เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH การสกัดด้วยการต้มด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 90 นาทีกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด (ร้อยละการยับยั้ง 62.07 ± 0.79) ดังนั้น วิธีการสกัดด้วยสารละลายขี้เถ้าจากการเผาข้าวหลามจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรังไหมอีรี่ที่สามารถนำไปพัฒนาเป็นส่วนประกอบของเวชสำอางได้ในอนาคตเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับของที่ไม่ได้ใช้แล้วแก่เกษตรกรและชุมชน

คำสำคัญ: กาวไหม สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

This study investigates the extraction and characterization of bioactive compounds from the Eri silkworm (*Samia ricini*) for the development of sustainable cosmeceutical ingredients. To minimize the use

of harsh reagents, a green extraction approach was employed using an alkaline solution derived from bamboo firewood ash residues in Khao-Lam processing. This method was evaluated against conventional solvents, including distilled water, 0.2% (w/v) Na_2CO_3, and 8 M. urea solution. The results demonstrate that the ash-based degumming process achieved efficiency comparable to sodium carbonate. Quantitative analysis via Bradford assay identified that the 30-minute Na_2CO_3 extraction yielded the maximum protein concentration (791.89 ± 0.85 mg/g). However, phytochemical profiling and antioxidant capacity assessments using DPPH and ABTS assays revealed that the 90-minute ash solution extraction produced the highest total phenolic content (253.10 ± 7.07 mg GAE/gDW) and significant flavonoid levels (41.72 ± 0.00 mg QE/gDW). This extract also exhibited the most potent ABTS radical scavenging activity (90.05 ± 2.82% inhibition), while the 90-minute distilled water extract showed the highest DPPH radical scavenging (62.07 ± 0.79% inhibition). In conclusion, utilizing agricultural waste-derived ash provides an efficacious and eco-friendly alternative for recovering bioactive constituents from Eri silk cocoons. This methodology facilitates the valorization of agricultural by-products and offers a promising pathway for the formulation of high-value, bio-based cosmeceuticals, thereby enhancing the economic sustainability of local sericulture communities.

Keywords: Sericin, Phenolic Compound, Flavonoid, Free Radical, Antioxidant

บทนำ

ไหมเป็นเส้นใยโปรตีนธรรมชาติที่ได้จากสิ่งมีชีวิตพวกอาร์โทรพอด (Arthropod) รวมถึง หนอนไหมหรือแมลงชนิดต่าง ๆ ซึ่งสามารถสร้างเส้นใยได้ เช่น แมงมุม แมงป่อง เส้นไหมเป็นพอลิเมอร์อินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่ มีน้ำหนักโมเลกุลสูงมีกรดอะมิโนกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic amino acid) และกรดอะมิโนกลุ่มที่ชอบน้ำ (Hydrophilic amino acid) จัดเรียงตัวอยู่ซ้ำ ๆ กัน เป็นองค์ประกอบในสายเปปไทด์ เส้นไหมจะถูกสร้างจากต่อมที่มีคุณสมบัติพิเศษ (Specialized glands) เรียกว่าต่อมไหม (Silk gland) ใน Glandular epithelial cells ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ที่รวมตัวกันเพื่อทำหน้าที่ในการขับสารไหมที่เป็นของเหลวออกมา จากนั้นจะถูกเก็บไว้ภายใน Lumen ของต่อมดังกล่าว[1] ไหมแต่ละชนิดล้วนแตกต่างกันทั้งด้านองค์ประกอบ โครงสร้างและคุณสมบัติต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของไหม หนอนไหมแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ ไหมบ้าน (Domestric silkworm) หรือไหมกินใบหม่อน (Mulberry silkworm) เป็นอาหารเพียงอย่างเดียวและไหมป่าหรือไหมที่ไม่กินใบหม่อนเป็นอาหาร (Non-mulberry silkworm) เส้นไหมที่มีการศึกษาโครงสร้างคุณสมบัติต่าง ๆ และการประยุกต์ใช้กันอย่างแพร่หลายที่สุดคือเส้นไหมจากไหมบ้าน *Bombyx mori* และจากแมงมุมสายพันธุ์ *Nephila clavipes* และสายพันธุ์ *Araneus diadematus* [2-4]

โปรตีนเซริซิน (Sericin) และ โปรตีนไฟโบรอิน (fibroin) เป็นโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของไหม (Silk) โดยมีโปรตีนไฟโบรอิน (Fibroin) ซึ่งเป็นโปรตีนเส้นใยอยู่ร้อยละ 70-80 ของน้ำหนักรังไหมทั้งหมด และโปรตีนเซริซินอีกร้อยละ 20-30 โปรตีนเซริซินมีปริมาณกรดอะมิโนเซอรีน (Serine) เป็นองค์ประกอบอยู่เป็นจำนวนมากถึงร้อยละ 30-33 จึงเป็นที่มาของชื่อ “เซริซิน” หรือเรียกกันโดยทั่วไปว่า “กาวไหม” เนื่องจากมีลักษณะเหนียวเหมือนกาวเป็นชั้นห่อหุ้มเส้นไหมอยู่ ในธรรมชาติจะพบกาวไหมอย่างน้อย 5-6 ชนิด ซึ่งจะมีขนาดตั้งแต่ 65 kDa ไปจนถึงมากกว่า 400 kDa โปรตีนกาวไหมประกอบไปด้วยกรดอะมิโนจำนวน 18 ชนิดซึ่งรวมถึงกรดอะมิโนจำเป็น

(Essential amino acids) ด้วย โดยจะพบกรดอะมิโนที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) เป็นองค์ประกอบอยู่ถึงร้อยละ 45.8 และกรดอะมิโนที่มีขั้วอยู่ร้อยละ 42.3 ส่วนกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วนั้นมีอยู่ร้อยละ 12.20 ทำให้โปรตีนกาวไหมสามารถละลายน้ำได้ดี[5, 6] กาวไหมเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ผลิตโดยหนอนไหมซึ่งล้อมรอบและและยึดเส้นใยไฟโบรอินทั้ง 2 เส้นเข้าด้วยกัน มักพบในของเสียจากอุตสาหกรรมสิ่งทอ เนื่องจากต้องลอกกาวไหม (Degumming) ออกเพื่อให้เส้นไหมมีความมันวาวและเรียบเนียน จึงถูกทิ้งให้สูญเปล่าโดยไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์ แต่จากการศึกษาพบว่ากาวไหมนั้นมีคุณสมบัติทางชีวภาพที่มีประโยชน์สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในวงการวิทยาศาสตร์และสามารถนำไปเพิ่มมูลค่าทางการค้าได้ เนื่องจากกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในกาวไหมมีหมู่ฟังก์ชันที่มีขั้วสูงอยู่มาก อาทิเช่น หมู่ไฮดร็อกซิล หมู่คาร์บอกซิล และหมู่อะมิโน ทำให้สามารถรวมตัวกับพอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) ชนิดต่าง ๆ ได้ดี และการที่มีสารประกอบฟีนอลิก (Polyphenolic compounds), ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid), รงควัตถุ (Pigments) ต่าง ๆ แทรกอยู่ในชั้นของกาวไหม รวมถึงมีกรดอะมิโน เซอรีน กรดแอสพาร์ติก (Aspartic acid) และ ทรีโอนีน (Threonine) อยู่สูงทำให้กาวไหมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility) กับร่างกายของมนุษย์ โดยกาวไหมสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติส่งผลให้มีความปลอดภัยทั้งต่อร่างกายและสิ่งแวดล้อม เหมาะสำหรับนำไปใช้งานทางการแพทย์ เช่น วัสดุปลูกถ่ายชั่วคราวหรือวัสดุเย็บแผล กาวไหมยังมีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา และต้านการอักเสบ ช่วยป้องกันการติดเชื้อและส่งเสริมการสมานแผล นอกจากนี้ยังสามารถนำไปแปรรูปเป็นเส้นใย ฟิล์ม และวัสดุอื่น ๆ ได้ด้วยเทคนิคการขึ้นรูปต่าง ๆ เช่น การปั่นเส้นใย การหล่อ และการพิมพ์ 3 มิติ คุณสมบัตินี้ทำให้กาวไหมเป็นวัสดุที่หลากหลายเหมาะสำหรับการใช้งานต่าง ๆ เช่น ผ้าอ้อมผู้ใหญ่ ผ้าพันแผล และเครื่องสำอาง รวมถึงพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมได้[2, 7-10]

ในการลอกกาวไหมนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ การต้มน้ำแล้วสาวไหมออก การสกัดด้วยสารละลายกรดหรือด่าง การใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีนหรือใช้สารเคมี โดยในอุตสาหกรรมสิ่งทอนิยมใช้การสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่สามารถลอกกาวไหมได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ[11] ซึ่งปริมาณของกาวไหมที่ได้นั้นจะขึ้นอยู่กับวิธีการสกัด และสายพันธุ์ของหนอนไหมที่นำมาสกัด ส่วนใหญ่หากใช้สารเคมีในการสกัดจะกำจัดกาวไหมออกไปได้มากแต่ต้องทำการแยกเอาสารเคมีที่ใช้ในการสกัดกาวไหมออกก่อนจึงจะสามารถนำไปใช้งานต่อไปได้ การแยกสารเคมีออกไปนั้นมีขั้นตอนที่ยุ่งยากและซับซ้อนในการที่จะได้สารสกัดที่ไม่สูญเสียหน้าที่ทางชีวภาพและยังสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในด้านอุตสาหกรรมจึงมักทิ้งกาวไหมแม้ว่าจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย[12, 13]

กาวไหมจัดเป็นเป็นสารชีวโมเลกุลจำพวกโปรตีน จึงมีสมบัติเหมือนโปรตีนทั่วไปในร่างกายที่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ในกลุ่มที่ย่อยโปรตีน (Proteolytic enzyme) ผ่านกระบวนการทางชีวภาพ (Biodegradable) จึงไม่ก่อให้เกิดการแพ้ นอกจากนี้กาวไหมยังมีคุณสมบัติคล้ายเจลเมื่ออยู่ในสภาวะของเหลว และกักเก็บความชุ่มชื้นได้ดี ทำให้ในปัจจุบันถูกนำไปใช้ในด้านการแพทย์และเวชสำอาง เช่น ลดการอักเสบ ต้านเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด รวมถึงมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งในลำไส้ใหญ่[3, 14] นำไปผลิตเป็นแผ่นฟิล์มปิดแผลเพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้างคอลลาเจนให้แผลหายเร็วขึ้น มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[2, 15] ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลต (UV) ยับยั้งกิจกรรมของปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (Lipid peroxidation) และยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase activity) ที่ทำให้เกิดกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินซึ่งทำให้ผิวหมองคล้ำ[1, 3, 16] นอกจากนี้ยังมีผลการวิจัยมากมายที่แสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของกาวไหมน่าจะมาจากสององค์ประกอบหลัก ได้แก่ปริมาณของกรดแอมิโนเซอรีนและทรีโอนีนที่สูงซึ่งกรดแอมิโนทั้งสองชนิดนี้มีหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งทำหน้าที่จับ (Chelation) กับแร่ธาตุต่าง ๆ

เช่น ทองแดงและเหล็ก แร่ธาตุเหล่านี้สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันในร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นภายในเซลล์ แต่กาวไหมสามารถช่วยในการยับยั้งกระบวนการนี้ได้ อีกทั้งปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์ที่พบในชั้นของกาวไหมก็มีส่วนสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน ทำให้กาวไหมมีคุณสมบัติเด่นในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลายและเป็นสารที่ปลอดภัย เหมาะสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมอาหารและเวชสำอาง[1] ในปัจจุบันมีการวิจัยและออกแบบผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของกาวไหมเกิดขึ้นมากมายแต่ผลิตภัณฑ์เหล่านั้นมักใช้สารเคมีในการลอกกาวไหมเนื่องจากการใช้สารเคมีนั้นทำให้ได้สารสกัดเป็นจำนวนมาก จะเห็นได้ว่ากาวไหมมีประโยชน์มากมายทั้งด้านการแพทย์และเวชสำอาง ซึ่งโดยทั่วไป การสกัดกาวไหมจากรังไหมมักอาศัยกระบวนการทางเคมีที่รุนแรง ซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาแนวทางการสกัดอย่างยั่งยืนเพื่อลดผลกระทบเชิงนิเวศ โดยหนึ่งในแนวทางที่มีประสิทธิภาพคือการใช้ วัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร (Agro-industrial waste) ในการย่อยสลายกาวไหม ซึ่งวิธีการสกัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Green extraction) นี้ สามารถแยกกาวไหมออกได้โดยไม่ทำลายโครงสร้างของไฟโบรอิน จึงถือเป็นทางเลือกที่มีศักยภาพสูงกว่าวิธีการสกัดด้วยสารเคมีแบบดั้งเดิม นอกจากนี้ การพัฒนาวิธีการลอกกาวไหมโดยใช้วัสดุจากธรรมชาติและไม่ใช้สารเคมีในสภาวะที่รุนแรงจะเป็นการเพิ่มมูลค่าของที่ไม่ได้ใช้แล้วให้เกิดประโยชน์สูงสุดแก่เกษตรกรและชุมชนอีกทั้งยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการลอกกาวไหมด้วยวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอย่างต่อเนื่อง เช่นมีการใช้สารสกัดจากใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 เป็นตัวทำละลายทางเลือกแทนการใช้สารเคมีในการสกัดกาวไหมจากรังไหมไทยพื้นเมืองพันธุ์นางสิว โดยวิธีนี้สามารถลอกกาวไหมได้โดยไม่ทำลายความแข็งแรงของเส้นใยไหม เมื่อเทียบกับการใช้สารละลาย Na_2CO_3 แบบดั้งเดิมที่ทำให้โครงสร้างของไฟโบรอินเสียหาย[17] นอกจากนี้ยังมีการใช้ด่างจากขี้เถ้าธรรมชาติโดยมีการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการลอกกาวไหมโดยใช้น้ำด่างจากขี้เถ้าเปลือกนุ่น ขี้เถ้าลูกขนุน และน้ำหมักใบกล้วย ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากธรรมชาติและเกษตรกรรม เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ด่างสังเคราะห์ พบว่าสามารถนำมาใช้สกัดกาวไหมจากไหมบ้านได้อย่างมีประสิทธิภาพ[18, 19] อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบงานวิจัยที่เป็นการพัฒนาวิธีการลอกกาวไหมจากไหมป่าโดยใช้วัสดุจากธรรมชาติ ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากการลอกกาวไหมป่าสายพันธุ์ไหมอีรี่ (*Samia ricini*) โดยการนำขี้เถ้าจากการเผาข้าวหลามด้วยฟืนไม้ไผ่ มาใช้เตรียมสารละลายด่าง (Alkali solution) หรือ น้ำด่างขี้เถ้า (Ash solution) เพื่อลอกกาวไหม โดยใช้ขี้เถ้าที่เหลือจากการเผาข้าวหลามซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์พื้นเมืองที่มีชื่อเสียง จากร้านค้าในพื้นที่ ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี ซึ่งขี้เถ้าไม้ไผ่จะให้สารละลายประเภทโพแทสเซียมคาร์บอเนต (K_2CO_3) ซึ่งมีความเป็นด่างที่พอเหมาะ ทำให้ลอกกาวไหมออกได้และช่วยให้เส้นไหมไม่เปื่อยยุ่ยง่าย น้ำทิ้งจากการลอกกาวไหมสามารถนำไปรดน้ำต้นไม้หรือปล่อยลงแหล่งน้ำได้โดยไม่สร้างมลพิษ เนื่องจากเป็นสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าและลดปริมาณของเสียที่มีอยู่มากมายในชุมชน ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมีสำเร็จรูป ปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังสามารถนำวิธีการลอกกาวไหมดังกล่าวไปประยุกต์ใช้สู่ชุมชนเพื่อนำไปพัฒนาเป็นส่วนผสมในเวชสำอางต่อไป

วิธีการวิจัย

1. **รังไหมและการเตรียมสารสกัดหยาบกาวไหม**

1.1. ตัวอย่างรังไหม

รังไหมอีรี่ ทำการซื้อมาจากเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมในพื้นที่ อำเภอห้วยแถลง จังหวัดนครราชสีมา ปริมาณ 1 กิโลกรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนทำการสกัด

Figure 1. Cocoons of the Eri silkworm (*Samia ricini*)

1.2. การเตรียมสารสกัดหยาบกาวไหม

1.2.1. การต้มด้วยน้ำกลั่น (pH = 6.7)

ทำการเตรียมสารสกัดกาวไหมด้วยการต้มด้วยน้ำกลั่น โดยนำรังไหมมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 0.2 ตารางเซนติเมตรและนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นชั่งไหม 0.5 กรัม ต้มในน้ำกลั่น(อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 30 มิลลิลิตรเป็นเวลา 30, 60 และ 90 นาที จากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 แล้วแยกเอาเส้นใยไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาชั่งแล้วคำนวณหาร้อยละของการลอกกาวไหม (%Degumming) ส่วนสารละลายทำการวัดปริมาตรแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส[20] การคำนวณร้อยละของการลอกกาวไหมทำได้โดยการเปรียบเทียบน้ำหนักของไหมก่อนการลอกกาวไหมและน้ำหนักของไหมที่ผ่านการลอกกาวไหมแล้วดังสมการ

%Degumming= (น้ำหนักไหมก่อนสกัด(g)-น้ำหนักไหมหลังสกัด(g))/น้ำหนักไหมก่อนสกัด(g) ×100

1.2.2. การต้มด้วยสารละลาย Na_2CO_3 (pH = 11.2)

การเตรียมสารสกัดกาวไหมด้วยการต้มด้วยสารละลาย 0.2% (w/v) Na_2CO_3 โดยนำรังไหมมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.2 ตารางเซนติเมตรและนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นชั่งไหม 0.5 กรัม ต้มใน 0.2% Na_2CO_3 (อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 30 มิลลิลิตรเป็นเวลา 30, 60 และ 90 นาที จากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 แล้วแยกเอาเส้นใยไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาชั่งคำนวณหา % Degumming ภายหลังการสกัดด้วย

สารละลายด่าง สารสกัดหยาบที่ได้จะถูกปรับค่า pH ให้เป็นกลางที่ 7.0 ทันทีด้วย1M HCl ขั้นตอนนี้ทำขึ้นเพื่อยืนยันว่าค่า pH จะไม่ส่งผลรบกวนต่อขั้นตอนการวิเคราะห์หรือการทดสอบทางชีวภาพในลำดับถัดไป จากนั้นทำการวัดปริมาตรสารละลายแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส[21]

1.2.3. **การต้มด้วยน้ำขี้เถ้า** (pH = 10.2)

การเตรียมสารสกัดตัวอย่างด้วยการต้มด้วยสารละลายขี้เถ้าที่ได้มาจากการเผาข้าวหลามด้วยฟืนไม้ไผ่ โดยละลายขี้เถ้า 5 กรัมในน้ำ 1 ลิตร คนให้เข้ากันแล้วทิ้งให้ตกตะกอนอย่างน้อย 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 แล้วนำสารละลายขี้เถ้ามาปริมาตร 30 มิลลิลิตร ชั่งรังไหมที่นำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.2 ตารางเซนติเมตร นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง น้ำหนัก 0.5 กรัม ต้มในสารละลายขี้เถ้าปริมาตร 30 มิลลิลิตร (อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30, 60 และ 90 นาที จากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 แยกเอาเส้นใยไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาชั่งแล้วคำนวณหา %Degumming ทำการปรับค่า pH ของสารสกัดให้เป็นกลางและวัดปริมาตรแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.2.4. **การสกัดด้วยสารละลายยูเรีย** (pH = 7.6)

ทำการเตรียมสารสกัดตัวอย่างด้วยยูเรีย โดยนำรังไหมมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 0.2 ตารางเซนติเมตร และนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นชั่งไหม 6 กรัม ใส่ในสารละลายยูเรียความเข้มข้น 8 โมลาร์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตรเป็นเวลา 30 นาทีจากนั้นนำไปรีฟลักซ์ (Reflux) ที่ 85 องศาเซลเซียส 30 นาที จากนั้นกรองสารละลายโดยใช้กรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel) ด้วยการกรองสุญญากาศ (Vacuum filtration) แบ่งสารละลายที่ได้ 50 มิลลิตรไปทำไดอะไลซิส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นวัดปริมาตรแล้วใส่หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตรแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส[12]

2. **การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี** Bradford assay

ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารสกัดด้วยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Bradford (1976) โดยนำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับ Protein assay reagent (Bio-rad) ที่ทำการเจือจางแล้ว 5 เท่า ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร โดยใช้ Bovine serum albumin (BSA) ที่ความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นสารละลายมาตรฐาน และใช้สารละลายมาตรฐาน BSA ที่ความเข้มข้น 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นหลอดเปรียบเทียบ (blank) วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยคำนวนจากกราฟมาตรฐานของสารละลาย BSA เป็นปริมาณโปรตีนหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร[22] คำนวณหาปริมาณโปรตีนทั้งหมดในสารสกัดหยาบโดยเทียบกับน้ำหนักแห้งของรังไหม 1 กรัม หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของรังไหม จากสูตร

$$C = cV/g$$

เมื่อ

C = ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (ต่อน้ำหนักแห้งรังไหม 1 กรัม)

c = ความเข้มข้นของโปรตีนที่คำนวนได้จากกราฟมาตรฐาน (μg/ml)

V = ปริมาตรรวมของสารสกัดกาวไหม (ml)

g = น้ำหนักของรังไหมที่นำมาสกัด (gram)

3. **การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด**

วิธีการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบโดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Singleton และคณะ (1999) โดยใส่สารละลายตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาณ 1,580 ไมโครลิตร จากนั้นเติม Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วเติม 20% โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 300 ไมโครลิตร บ่มในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยเติมน้ำ

กลั่นแทนสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้เป็นหลอดเปรียบเทียบ (Blank) และใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) ที่ความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 200, และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารละลายมาตรฐาน และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแสดงในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิค (Gallic acid equivalent; GAE) ต่อน้ำหนักของรังไหมแห้ง 1 กรัม[18]

4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม โดยใช้วิธี aluminum chloride colorimetric method ที่ดัดแปลงจาก Chandra และคณะ (2014) โดยนำสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ผสมสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดยเติมน้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้เป็นหลอดเปรียบเทียบ (blank) และใช้เควอเซติน (Quercetin) ที่ความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 200, และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นสารมาตรฐาน คำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดหยาบแสดงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเควอเซติน (Quercetin equivalent; QE) ต่อน้ำหนักของรังไหมแห้ง 1 กรัม[18]

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกาวไหม

5.1. วิธี DPPH radical scavenging assay

ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกาวไหมด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ที่ดัดแปลงจาก Shen และคณะ (2010) โดยตรวจสอบค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของสารละลาย DPPH ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วงเข้ม สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นที่ 517 นาโนเมตร เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนแก่ DPPH แล้ว จะเกิดเป็นสารประกอบที่เสถียร ทำให้สีม่วงจางลง โดยปิเปตสารสกัดหยาบกาวไหมด้วยวิธีต่างๆ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร และเติม สารละลาย DPPH ปริมาตร 750 มิลลิลิตร บ่มในที่มืด 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็นหลอดเปรียบเทียบ (Blank) และใช้วิตามินซี (Vitamin C) ที่ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8, 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นสารมาตรฐาน[22] ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแสดงในค่าความเข้มข้น ไมโครกรัมสมมูลของวิตามินซี (Vitamin C equivalent; VCE) โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาค่า % Inhibition และรายงานค่าเปรียบเทียบกับวิตามินซีต่อน้ำหนักของรังไหมแห้ง 1 กรัมในหน่วย (µg VCE/g)

ดังสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{control} - A_{sample})/A_{control}] \times 100$$

เมื่อ

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดลองที่มีกาวไหมที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ

5.2. วิธี ABTS decolorization scavenging effect

ดัดแปลงจาก Re และคณะ (1999) โดยเตรียมสารละลาย ABTS (2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) โดยเตรียมสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ ละลายในน้ำกลั่นผสมกับ ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ละลาย ในน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วน 1:1 เก็บในที่มืดอุณหภูมิห้อง เป็น เวลา 12 ชั่วโมง จะได้สารละลาย ABTS ก่อนนำไปใช้ต้องเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เท่ากับ 0.70 ± 0.02 วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยเติมสารสกัดหยาบกาวไหม 50 ไมโครลิตร ในน้ำกลั่น 200 ไมโครลิตร แล้วเติม ABTS 1500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้เอธานอล เป็น Blank นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ ไปวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน ของ Vitamin C (0, 4, 8, 12, 16, 20 µg/ml)[22] แสดงในค่าความเข้มข้น ไมโครกรัมสมมูลของ Vitamin C และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาค่า

% inhibition ดังสมการ รายงานค่าเปรียบเทียบกับวิตามินซีต่อน้ำหนักของรังไหมแห้ง 1 กรัมในหน่วย (µg VCE/g)

% Inhibition = [(A-B)/A] x 100

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นของ ABTS

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดกาวไหมที่ทำปฏิกิริยากับ ABTS

6. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ในการวิเคราะห์ปริมาณ Bioactive compound และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพแต่ละวิธีทดสอบจะทำการวิเคราะห์โดยการทำซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate) แสดงข้อมูลในรูปแบบ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงมาตรฐาน (Mean ± SD, n = 3) และวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ one-way ANOVA เพื่อดูความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญและใช้ Duncan's multiple range test (DMRT) เพื่อหาความแตกต่างที่สำคัญระหว่างค่าเฉลี่ย โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences เวอร์ชัน 26) ตั้งค่าความสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$

ผลการวิจัย

1. การคำนวณหาร้อยละของการลอกกาวไหม (% Degumming)

เมื่อทำการลอกกาวไหมด้วยวิธีต้มด้วยน้ำกลั่น ต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 ต้มด้วยสารละลายขี้เถ้าปริมาตร 30 มิลลิลิตรและสกัดด้วยสารละลาย 8M ยูเรีย ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดในทุกวิธีมีความใกล้เคียงกันมากคือเป็นสารละลายสีเหลืองอ่อน ได้ร้อยละของการลอกกาวไหม ดังแสดงใน Table 1. ผลการทดลองพบว่าวิธีการลอกกาวและระยะเวลามีผลต่อร้อยละการลอกกาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .05$) โดยวิธีการลอกกาวด้วย Sodium Carbonate ให้ค่าเฉลี่ยสูงสุดและจากการคำนวณร้อยละของการลอกกาวไหม พบว่ามีร้อยละของการลอกกาวไหมอยู่ในช่วงระหว่าง 3.96 - 27.95 โดยการสกัดหยาบด้วย 0.2% Na_2CO_3 ที่เวลา 60 นาที มีร้อยละของการลอกกาวไหมมากที่สุดคือ 27.95

Table 1. Degumming efficiency achieved by various extraction techniques.

Extraction methods	Time (min)	% Degumming
Distilled Water	30	6.96 ± 0.24^{b}
	60	9.37 ± 0.11^{c}
	90	3.96 ± 0.05^{a}
0.2% (w/v) Na_2CO_3	30	27.62 ± 0.03^{h}
	60	27.95 ± 0.04^{i}
	90	26.24 ± 0.04^{g}
Ash solution	30	24.10 ± 0.04^{d}
	60	26.23 ± 0.03^{g}
	90	25.89 ± 0.03^{f}
8M Urea		25.55 ± 0.02^{e}

[a-i] Data are presented as mean ± SD (n=3). Different lowercase letters indicate a statistically significant difference at the $p \leq 0.05$ level, as determined by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test (DMRT).

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่างโดยวิธี Bradford assay

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford assay ปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่างกาวไหมที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ แสดงใน Table 2.

ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างสารสกัดหยาบกาวไหมอีรี่ด้วยวิธีต่าง ๆ พบว่าปริมาณโปรตีนทั้งหมดของกาวไหมอยู่ระหว่าง 129.796± 0.143- 791.890± 0.854 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวิธีการสกัดหยาบด้วย 0.2% Na_2CO_3 ที่เวลา 30 นาที ให้ปริมาณของโปรตีนมากที่สุด คือ 791.890± 0.854 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งของรังไหม 1 กรัม

Table 2. Protein content in sericin extract from Eri Silk.

Extraction methods	Time (min)	Protein Content (*S.ricini*) (mg/g)
Distilled Water	30	129.80± 0.13[a]
	60	233.88± 0.56[b]
	90	250.58± 0.76[c]
0.2% (w/v) Na_2CO_3	30	791.89± 0.85[i]
	60	725.90± 0.72[h]
	90	615.25± 0.37[f]
Ash solution	30	225.15± 0.57[b]
	60	548.89± 0.75[e]
	90	415.08± 0.86[d]
8M Urea		692.86± 0.49[g]

[a-i] Data are presented as mean ± SD (n=3). Different lowercase letters indicate a statistically significant difference at the $p \leq 0.05$ level, as determined by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test (DMRT).

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารฟลาโวนอยด์

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ในสารตัวอย่างกาวไหมที่สกัดหยาบด้วยวิธีต่าง ๆ แสดงใน Table 3. พบว่าสารสกัดหยาบกาวไหมมีสารประกอบฟีนอลิกอยู่ระหว่าง 14.60 ± 2.12- 253.10 ± 7.07 mg GAE/g โดยวิธีการสกัดหยาบด้วยสารละลายน้ำขี้เถ้าเป็นเวลา 90 นาทีให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดคือ 253.10 ± 7.07 mg GAE/g ส่วนการทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ พบว่าสารสกัดหยาบกาวไหมมีสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ระหว่าง 1.72 ± 1.21- 71.66 ± 2.78 mg QE/g โดยวิธีการสกัดหยาบด้วยสารละลายยูเรีย ให้ปริมาณของสารฟลาโวนอยด์มากที่สุดคือ 71.67 ± 2.78 mg QE/g

4. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.1. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ในสารตัวอย่างกาวไหมที่สกัดหยาบด้วยวิธีต่าง ๆ แสดงใน Table 4. พบว่าสารสกัดหยาบมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% inhibition) อยู่ระหว่าง 11.32 ± 0.18- 62.07 ± 0.79 % โดยวิธีการสกัดหยาบด้วยวิธีต้มด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 90 นาทีมีความสามารถในการยับยั้งมากที่สุดคือ 62.07 ± 0.79 %

Table 3. Total phenolic content and flavonoid content of silk sericin crude extracts obtained by different extraction methods.

Extraction methods	Time (min)	Total phenolic content (mg GAE/g of dry weight)	Total flavonoid content (mg QE/g of dry weight)
Distilled Water	30	14.60 ± 2.12[a]	7.14 ± 0.20[c]
	60	21.10 ± 2.83[b]	24.64 ± 0.59[g]
	90	30.10 ± 0.82[c]	27.93 ± 0.64[h]
0.2% (w/v) Na_2CO_3	30	208.77 ± 1.16[f]	2.28 ± 0.48[b]
	60	213.10 ± 0.00[g]	1.72 ± 1.21[a]
	90	247.60 ± 2.12[i]	20.61 ± 0.96[f]
Ash solution	30	175.60 ± 3.54[e]	14.59 ± 0.16[d]
	60	228.60 ± 0.71[h]	18.67 ± 1.57[e]
	90	253.10 ± 7.07[j]	41.72 ± 0.00[i]
8 M Urea		99.00 ± 14.14[d]	71.67 ± 2.78[j]

[a-j] Data are presented as mean ± SD (n=3). Different lowercase letters indicate a statistically significant difference at the $p \leq 0.05$ level, as determined by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test (DMRT).

Table 4. Antioxidant activity of silk sericin crude extracts obtained by different extraction methods using DPPH assay.

Extraction methods	Time (min)	Antioxidant activity (µg VCE/g)	% Inhibition
Distilled Water	30	374.24 ± 7.84	46.82 ± 1.78[g]
	60	336.52 ± 9.77	42.50 ± 1.80[f]
	90	492.29 ± 8.63	62.07 ± 0.79[h]
0.2% (w/v) Na_2CO_3	30	134.57 ± 12.44	17.83 ± 1.88[b]
	60	140.85 ± 3.58	17.81 ± 0.66[b]
	90	165.33 ± 3.80	21.21 ± 0.33[c]
Ash solution	30	166.568 ± 2.44	21.155 ± 0.38[c]
	60	212.889 ± 5.44	27.539 ± 0.94[e]
	90	174.275 ± 5.02	22.253 ± 0.64[d]
8 M Urea		92.87 ± 0.41	11.32 ± 0.18[a]

[a-h] Data are presented as mean ± SD (n=3). Different lowercase letters indicate a statistically significant difference at the $p \leq 0.05$ level, as determined by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test (DMRT).

4.2. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS decolorization scavenging effect

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS decolorization scavenging effect ในสารตัวอย่างกาวไหมที่สกัดหยาบด้วยวิธีต่าง ๆ แสดงใน Table 5 ผลจากการทดสอบ พบว่าสารสกัดหยาบกาวไหมมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%inhibition) อยู่ระหว่าง 2.847 ± 0.273 - 90.005 ± 2.815 โดยวิธีการสกัดหยาบด้วยวิธีต้มด้วยน้ำขี้เถ้าเป็นเวลา 90 นาทีมีร้อยละของความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 90.005 ± 2.815

Table 5. Antioxidant activity of silk sericin crude extracts obtained by different extraction methods using ABTS assay.

Extraction methods	Time (min)	Antioxidant activity (μg VCE/g)	% Inhibition
Distilled Water	30	17.68 ± 3.76	3.16 ± 1.27[b]
	60	30.38 ± 2.14	3.85 ± 0.29[c]
	90	21.68 ± 12.02	2.85 ± 0.27[a]
0.2% (w/v) Na_2CO_3	30	817.73 ± 1.08	79.936 ± 2.569[g]
	60	895.07 ± 13.28	87.096 ± 1.815[h]
	90	901.38 ± 6.50	88.215 ± 0.861[i]
Ash solution	30	600.859 ± 7.59	58.90 ± 1.16[f]
	60	571.980 ± 8.15	56.94 ± 0.98[e]
	90	919.608 ± 2.25	90.01 ± 2.82[j]
8 M Urea		163.01 ± 13.94	16.61 ± 1.60[d]

[a-j] Data are presented as mean ± SD (n=3). Different lowercase letters indicate a statistically significant difference at the $p \leq 0.05$ level, as determined by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test (DMRT).

อภิปรายผลการวิจัย

อุตสาหกรรมการผลิตสิ่งทอจากเส้นไหมเป็นสัญลักษณ์ที่แสดงถึงประวัติศาสตร์และวัฒนธรรมอันดีงามของชาติไทยที่สืบทอดกันมายาวนาน แม้ว่าสภาวะเศรษฐกิจของประเทศจะเปลี่ยนแปลงไปอย่างไร กระบวนการพัฒนา การปลูกหม่อน เลี้ยงไหมก็จะยังคงดำเนินต่อไป ผ้าไหมและผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่ได้จากไหมในประเทศไทยนั้นได้รับการยอมรับไปทั่วโลกถึงคุณภาพและความสวยงามของเส้นไหม โดยประเทศไทยนั้นมีกำลังการผลิตถึงประมาณ 600-700 เมตริกซ์ตันต่อปีจัดว่าเป็นผู้ผลิตรายใหญ่เป็นอันดับที่ 5 ของโลก[23] การนำเส้นไหมไปใช้ประโยชน์นั้นจำเป็นจะต้องมีการลอกกาวไหมที่ยึดเส้นใยไฟโบรอินออกเสียก่อน ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธีเช่น การใช้สารละลายกรด ด่าง หรือเอ็นไซม์ โดยทั่วไปนั้นนิยมใช้สารละลายด่างที่อุณหภูมิสูงซึ่งส่งผลให้คุณภาพของเส้นใยที่ได้นั้นไม่สมบูรณ์ จึงได้มีความพยายามที่จะพัฒนาวิธีในการลอกกาวไหมที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมพร้อมทั้งนำเอาของเสียจากอุตสาหกรรมอื่น ๆ มาประยุกต์ใช้

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาและพัฒนาวิธีการสกัดโปรตีนกาวไหมออกจากเส้นไหมที่ได้จากไหมป่าอีรี่ ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เริ่มได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในประเทศไทย โดยหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีในสภาวะรุนแรงโดยการต้มด้วยสารละลายขี้เถ้าจากการเผาข้าวหลามด้วยฟืนไม้ไผ่ เปรียบเทียบกับวิธีการสกัดหยาบแบบดั้งเดิมอื่นๆที่ใช้

ในอุตสาหกรรมสิ่งทอคือ การต้มด้วยน้ำกลั่น การต้มด้วย 0.2% (w/v) Na_2CO_3 และการสกัดด้วยสารละลาย 8 M ยูเรีย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติในด้านต่าง ๆ ของเส้นไหมป่าอีรี่ (*S. ricini*) พบว่ามีข้อได้เปรียบที่เด่นชัดกว่าไหมบ้าน (*B. mori*) ในหลายมิติ เช่น เส้นไหมอีรี่มีความยืดหยุ่นและทนทานต่อแรงดึงในสภาวะต่าง ๆ ได้ดีกว่า เนื่องจากมีค่าการยืดตัวก่อนขาด (Elongation at break) ที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งยังพบว่าไหมป่าอีรี่ยังมีสัดส่วนของกรดอะมิโนที่มีแขนงข้างขนาดใหญ่ (Bulky side chain) เช่น ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine) และ ไทโรซีน (Tyrosine) ที่สูงกว่า ซึ่งส่งผลให้การจัดเรียงตัวของโมเลกุลมีความเป็นระเบียบน้อยกว่าไหมบ้าน ทำให้เส้นไหมอีรี่มีลักษณะโครงสร้าง รูพรุน (Porosity) และมีขนาดช่องว่างภายในเส้นใยที่มากกว่า ส่งผลให้มีความสามารถในการดูดซับความชื้น (Moisture regain) และการระบายอากาศที่สูงที่สุดในบรรดาไหมเศรษฐกิจทั้งหมด ในด้านสัณฐานวิทยา เส้นไหมอีรี่มีพื้นผิวที่ขรุขระและมีความเป็นผลึก (Crystallinity) ที่แตกต่างจากไหมบ้าน โดยมีกรดอะมิโนอลานีนที่มีลำดับต่อเนื่องกัน (Poly-alanine sequences) ยาวกว่า ทำให้มีโครงสร้างกึ่งผลึกที่ช่วยให้เส้นใยมีความเหนียว (Toughness) และความสามารถในการทนทานต่ออุณหภูมิสูงได้ดีกว่า นอกจากนี้ ไหมอีรี่ยังมีปริมาณกรดอะมิโนที่มีขั้ว (Polar amino acids) เช่น กรดแอสพาร์ติก และกรดกลูตามิก (Glutamic acid) กระจายตัวอยู่ในชั้นโปรตีนเซริซินและไฟโบรอินมากกว่า ทำให้มีคุณสมบัติ การจับยึดเกาะ (Adhesion) กับสารตกแต่งหรือสีย้อมธรรมชาติได้มีประสิทธิภาพกว่า รวมถึงให้สัมผัสที่นุ่มฟูคล้ายขนสัตว์ (Wool-like texture) ซึ่งตอบโจทย์การพัฒนาผลิตภัณฑ์สิ่งทอที่เน้นความสบายและระบายความร้อนได้ดี[1, 24]

ผลการทดลองพบว่า การลอกกาวไหมอีรี่ด้วยการต้มกับสารละลายขี้เถ้า ที่เวลา 30 60 และ 90 นั้น มีร้อยละการลอกกาวไหมไม่แตกต่างกันมาก เมื่อเทียบผลกับการสกัดหยาบด้วยสารละลายยูเรีย การต้มด้วยน้ำกลั่นและต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 โดยพบว่า มีร้อยละการลอกกาวไหมมากกว่าสารสกัดที่ต้มด้วยน้ำกลั่น แต่มีร้อยละการลอกกาวไหมน้อยกว่าการสกัดที่ต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 เล็กน้อยและใกล้เคียงกับการลอกกาวไหมด้วยสารละลายยูเรีย (Table 1.) โดยที่การลอกกาวไหมอีรี่ด้วยวิธีการต้มด้วยน้ำกลั่น ต้มด้วยน้ำขี้เถ้าและต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 ที่เวลา 60 นาทีเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยมีร้อยละของการลอกกาวไหมสูงกว่าการสกัดที่เวลา 30 และ 90 นาที ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยโดย Chattopadhyay และคณะ (2016)[25] ที่ทำการลอกกาวไหมอีรี่โดยใช้สารละลาย Na_2CO_3 และสารละลายสบู่ที่ความเข้มข้นต่างกัน 2 ระดับ (10% และ 20% w/v) ควบคู่กับกับการต้มที่ระยะเวลาแตกต่างกัน ผลการวิจัยพบว่าการใช้โซเดียมคาร์บอเนตและสบู่ที่ความเข้มข้นประมาณ 10% ร่วมกับการต้มนาน 60 นาทีจะช่วยให้ลอกกาวจากรังไหมอีรี่ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงที่สุด และไม่ส่งผลกระทบต่อสมบัติทางกายภาพของเส้นใยไหม นอกจากนี้การใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 20% w/v จะส่งผลให้เส้นใยไหมฉีกขาดอีกด้วย[25] นอกจากนี้ยังได้มีงานวิจัยที่ศึกษาเทคนิคการลอกกาวไหมจากรังไหมอีรี่ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและไม่ใช้สารเคมีใด ๆ โดยเรียกกระบวนการนี้เรียกว่า "Eco-Eri" ซึ่งได้ทำการลอกกาวไหมโดยใช้น้ำอ่อน หรือ soft water ซึ่งคือน้ำที่ได้เข้าสู่ขั้นตอนกระบวนการกรองเอาความกระด้างที่ผสมหรือเจือปนกับน้ำเช่น แคลเซียม แมกนีเซียมออกไปจนหมด และน้ำกระด้าง (hard water) เป็นตัวทำละลายในการสกัดโดยใช้อุณหภูมิที่ 110 120 130 และ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 20 และ 30 นาที แล้วทำการเปรียบเทียบการสกัดแบบ Eco-Eri กับวิธีการสกัดที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ คือใช้โซดาผสมกับสบู่และวิธีการลอกกาวด้วยเอนไซม์โปรตีนเอส รวมถึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสัณฐานพื้นผิวเส้นใยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) และทดสอบคุณสมบัติของเส้นใย เช่น แรงดึงและความยืดหยุ่น ผลการทดลองพบว่า วิธี Eco-Eri ที่ใช้อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที กับน้ำอ่อน สามารถ

ลอกกาวไหมได้ดีที่สุด (15.7% degumming) อีกทั้งเส้นใยไหมอีรี่ที่ได้มีความนุ่มนวลสม่ำเสมอ สัณฐานพื้นผิวของเส้นใยมีผิวเรียบที่สุด ส่วนการลอกกาวไหมด้วยโซดาผสมกับสบู่และการใช้เอนไซม์นั้นมีประสิทธิภาพในการลอกกาวไหมอยู่ที่ 14.5% และ 12% ตามลำดับ นอกจากนี้ การใช้วิธีลอกกาวไหมแบบ Eco-Eri ที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส และโซดาผสมกับสบู่ยังทำให้เกิดความเสียหายและแตกแยกของเส้นใยไหมอีกด้วย[26] ซึ่งในงานวิจัยนี้สารละลายน้ำด่างที่ใช้ในการลอกกาวไหม เตรียมโดยใช้ขี้เถ้าที่ได้จากการเผาข้าวหลามด้วยฟืนไม้ไผ่ ซึ่งเป็นขี้เถ้าที่มีความสะอาดสูง เนื่องจากกระบวนการเผาข้าวหลามเป็นการเผาไหม้ในที่จำกัดและใช้ไม้ไผ่เป็นเชื้อเพลิงหลัก มีเขม่าควันหรือสารแขวนลอยต่ำเมื่อเทียบกับขี้เถ้าจากการเผาขยะ อีกทั้งไม้ไผ่เป็นพืชที่มีปริมาณ โพแทสเซียมสูง เมื่อนำมาทำน้ำด่างจะได้สารละลายที่มีฤทธิ์เป็นด่างแก่ที่นุ่มนวลกว่าโซดาไฟ เหมาะสำหรับการใช้ในการลอกกาวไหมโดยที่ไม่ทำลายเส้นใยธรรมชาติ สารละลายน้ำด่างที่เตรียมได้ในงานวิจัยนี้มีค่ามีค่า pH = 10.2 ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสม (pH = 10-11) ที่ทำให้สามารถกำจัดไขมันและสิ่งสกปรกได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยไม่ทำลายโครงสร้างโปรตีนของเส้นไหม และใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่าในการสกัดคือ 100 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาคุณสมบัติของเส้นใยไหมให้สมบูรณ์ที่สุด และมีประสิทธิภาพในการลอกกาวไหมอีรี่ได้ดีกว่าอีกด้วย นอกจากนี้ในขี้เถ้าไม้ไผ่และเยื่อไผ่ยังมีปริมาณซิลิกา (Silica) อยู่สูงโดยที่ซิลิกาในขี้เถ้ามีลักษณะเป็นอนุภาคละเอียดที่มีรูพรุนสูง ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารขัดผิวระดับไมโครช่วยเสริมแรงในการกำจัดโปรตีนเซริซินออกจากเส้นใยไฟโบรอิน[27] อีกทั้งซิลิกาที่ตกค้างในระดับโมเลกุลจะช่วยปรับปรุงพื้นผิวเส้นใยให้มีความขรุขระเล็กน้อย (Surface roughness) ซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในขั้นตอนการย้อมผ้า ช่วยให้สีย้อมธรรมชาติยึดเกาะกับเส้นใยได้ดีขึ้นอีกด้วย จะเห็นได้ว่ากระบวนการลอกกาวไหมนั้น วิธีการสกัดจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางชีวเคมีของโปรตีนในเส้นไหมอย่างมาก มีงานวิจัยที่ศึกษากระบวนการสกัดเซริซินจากไหมหลายสายพันธุ์โดยใช้สารละลายกรด สารละลายด่างและน้ำร้อน พบว่าสายพันธุ์ไหมที่แตกต่างกันจะมีแบบแผนโปรตีนที่แตกต่างกันและจะส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพและหน้าที่ทางชีวภาพของโปรตีน[28, 29]

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของโปรตีนจากสารสกัดหยาบของกาวไหมอีรี่ด้วยวิธี Bradford assay การสกัดหยาบที่ต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 เป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด (Table 2.) หากเทียบกับการสกัดหยาบที่ต้มด้วยน้ำกลั่นและต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 การต้มด้วยสารละลายขี้เถ้ามีปริมาณโปรตีนมากกว่าการสกัดที่ต้มด้วยน้ำกลั่นและมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าการสกัดที่ต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 และได้ปริมาณโปรตีนน้อยกว่าการสกัดด้วยสารละลายยูเรีย เมื่อคิดเป็นปริมาณต่อน้ำหนักแห้งของรังไหม 1 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ทำการลอกกาวไหมด้วยวิธีต่าง ๆ พบว่าการลอกกาวไหมโดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตและยูเรียจะได้ปริมาณโปรตีนสูงกว่าการใช้น้ำกลั่นในการสกัด[30, 31] นอกจากนี้การสกัดหยาบด้วย 0.2% Na_2CO_3 พบว่าปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการต้มเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากสภาวะความเป็นด่างของโซเดียมคาร์บอเนตร่วมกับความร้อนที่ยาวนาน ส่งผลให้เกิด การสลายตัวของโปรตีนกาวไหม (Alkaline hydrolysis) อย่างรุนแรง ทำให้สายพอลิเมอร์ของโปรตีนถูกย่อยเป็นเปปไทด์ขนาดเล็กหรือกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งมีขนาดต่ำกว่าขีดจำกัดในการตรวจวัดของวิธี Bradford assay (< 3 KDa) ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่ตรวจพบมีค่าลดลงเมื่อใช้เวลาในการลอกกาวนานเกินไป[32]

ผลจากการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin - Ciocalteu ของสารสกัดหยาบกาวไหมอีรี่ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการถ่ายเทอิเล็กตรอนของสารสกัดหยาบโดยวัดปริมาณของสารกลุ่มฟีนอลิกและ reducing substance จากการเปลี่ยนจากสีเหลืองเข้มไปเป็นสีเขียวน้ำเงิน พบว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากการต้มด้วยสารละลายขี้เถ้าที่เวลา 90 นาทีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าเวลาช่วงอื่น และเมื่อ

เทียบกับสารสกัดหยาบที่ต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 ที่เวลา 90 นาทีจะมีปริมาณที่ไม่แตกต่างกันมาก เมื่อเทียบกับวิธีการสกัดหยาบด้วย 8 M Urea พบว่าวิธีการสกัดหยาบด้วยสารละลายยูเรียให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยกว่าการต้มด้วยสารละลายขี้เถ้าและต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 (Table 3.) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในปี ค.ศ. 2017 ที่ตรวจวัดปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในสารสกัดกาวไหมจากไหม 3 สายพันธุ์ซึ่งพบว่าเมื่อสกัดโดยสารละลายยูเรียจะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยกว่าการต้มด้วยสารละลายด่าง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก Polyphenols นั้นหลายชนิดมักจะจับอยู่ (Conjugated) กับโครงสร้างของโปรตีนในเส้นไหม การใช้พลังงานสูงที่เกิดจากการให้ความร้อนเป็นเวลานานมีแนวโน้มที่จะไปทำลายพันธะโควาเลนต์และ Non-covalent ระหว่างโปรตีนไฟโบรอินในเส้นไหมทำให้สารสกัดกาวไหมที่ได้นั้นมีปริมาณ Polyphenols สูงด้วย[2]

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric assay ของสารสกัดหยาบกาวไหมอีรี่ พบว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากการต้มด้วยสารละลายขี้เถ้าที่เวลา 90 นาทีมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากกว่าเวลาช่วงอื่น และมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากกว่าสารสกัดหยาบที่ต้มด้วยน้ำกลั่น ส่วนการต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด (Table 3.) และวิธีการสกัดหยาบด้วย 8 M Urea ให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากกว่าการลอกกาวไหมด้วยวิธีอื่น ๆ ซึ่งสารฟลาโวนอยด์หลายชนิดจะจับกับกาวไหมซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนด้วยพันธะไกลโคซิดิก ยูเรียจะทำหน้าที่เป็น Chaotropic agent ที่ทำให้โครงสร้างไกลโคโปรตีนของกาวไหมเสียสภาพธรรมชาติ และภายใต้อุณหภูมิที่สูงจนสามารถทำลายพันธะไกลโคซิดิกได้โดยโดยตรงทำให้ฟลาโวนอยด์ในชั้นของกาวไหมซึ่งมักอยู่ในรูปของ Glycosides ที่ละลายน้ำได้ดีถูกปลดปล่อยออกมาได้ดีขึ้น ดังนั้นภายใต้สภาวะการสกัดที่เกิดการทำลายพันธะไกลโคซิดิกได้ดีจะส่งผลให้ได้ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่สูง[2, 12] อีกทั้งในงานวิจัยนี้ ใช้สารละลาย Na_2CO_3 เข้มข้นเพียง 0.2% เพื่อรักษาสมบัติทางกายภาพของเส้นไหม ต่างจากในอุตสาหกรรมสิ่งทอซึ่งจะใช้ในความเข้มข้นที่สูง (10%-20% w/v) จึงส่งผลให้ได้สารฟลาโวนอยด์ออกมาในปริมาณน้อย และมีรายงานว่าการใช้สารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรด เช่น กรดซิตริกซึ่งจะทำลายพันธะไกลโคซิดิกได้ดีในการลอกกาวไหมจะส่งผลให้ได้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ออกมามากกว่าการใช้สารละลาย Na_2CO_3[33] ส่วนการสกัดโดยใช้หม้อนึ่งความร้อนภายใต้แรงดันสูงเป็นเวลา 60 นาทีอาจทำให้เกิดมีการสลายพันธะไกลโคซิดิกออกมาทำให้สารฟลาโวนอยด์ออกมาในปริมาณที่สูงขึ้น[2, 34] ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากงานวิจัยนี้

มีรายงานถึงฤทธิ์ทางชีวภาพอันหลากหลายของโปรตีนกาวไหม รวมถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งนอกจากจะเป็นผลมาจากการทำงานของสาร Polyphenols และฟลาโวนอยด์ที่พบอยู่ในสารสกัดจากกาวไหมแล้วนั้น ในโครงสร้างของกาวไหมที่มีกรดอะมิโนในกลุ่ม Hydrophilic amino acids เป็นองค์ประกอบอยู่ถึง 76 % ก็มีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน โดยมีรายงานว่า กรดอะมิโน Serine, Aspartic acid และ Threonine ที่พบมากในกาวไหมทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการต้านอนุมูลอิสระโดย หมู่ –OH ของ Serine และ Threonine สามารถไปจับกับธาตุต่าง ๆ เช่น เหล็กหรือทองแดงได้ ส่วนกรดอะมิโนที่มีวงแหวนอะโรมาติกเป็นองค์ประกอบทำหน้าที่เป็น Electron donors เมื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระต่าง ๆ[1, 3] ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ในสารสกัดหยาบกาวไหมอีรี่ ซึ่ง DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรที่มีสีม่วงหากสารสกัดหยาบกาวไหมมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสีม่วงจะจางลง พบว่าการสกัดหยาบที่ต้มด้วยน้ำกลั่นที่ 90 นาทีมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการต้มด้วยสารละลายขี้เถ้าและต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 โดยมีค่า Antioxidant activity เท่ากับ 492.29 ± 8.63 μg VCE/g และ % inhibition สูงสุดเท่ากับ 62.07 ± 0.79 (Table 4.)

ถึงแม้ว่าการลอกกาวไหมด้วยการต้มด้วยน้ำกลั่นจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่ต่ำกว่าการสกัดด้วยวิธีอื่น แต่การให้ความร้อนเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดกระบวนการ Protein Hydrolysis ขึ้น ส่งผลให้โปรตีนในรังไหมแตกตัวเป็น เปปไทด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive peptide) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารประกอบฟีนอลิกหรือฟลาโวนอยด์หลายชนิด นอกจากนี้กรดอะมิโนบางชนิดที่เป็นองค์ประกอบในรังไหมอีรี่ เช่น Tyrosine หรือ Tryptophan มีคุณสมบัติในการให้ไฮโดรเจน (Hydrogen donor) เพื่อหยุดปฏิกิริยาของ DPPH ได้ดีมากอีกด้วย[35, 36]

สารสกัดกาวไหมที่ได้จากการใช้ด่างและความร้อนจะมีสีเหลืองเข้มกว่าการต้มด้วยน้ำกลั่น เนื่องจากสภาวะด่างไปกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) หรือปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกับอะมีโน (Sugar-amine reaction) ระหว่างส่วนประกอบที่เป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์และกรดอะมิโนในโมเลกุลไกลโคโปรตีนของกาวไหม ส่งผลให้เกิดสารประกอบสีน้ำตาลจำพวกเมลานอยดิน (Melanoidin-like compounds) ขึ้นในสารสกัด[34]

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS decolorization scavenging effect เป็นการนำสารละลาย ABTS มาทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเปอร์ซัลเฟตออกซิเดชันปลดปล่อย $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีสีน้ำเงินเข้ม เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชันสีจะจางลง พบว่า การสกัดหยาบที่ต้มด้วยสารละลายขี้เถ้าที่ 90 นาทีมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการต้มด้วยน้ำกลั่นและมีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดหยาบที่ต้มด้วย 0.2% Na_2CO_3 โดยมีค่า Antioxidant activity เท่ากับ 919.608 ± 2.25 µg VCE/g และ %inhibition สูงสุดเท่ากับ 90.01

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองลอกกาวไหมด้วยวิธีต้มด้วยสารละลายขี้เถ้าจากการเผาข้าวหลาม เปรียบเทียบกับวิธีต้มด้วยน้ำกลั่น การต้มด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.2% w/v และการสกัดด้วยสารละลายยูเรียแล้วหาปริมาณโปรตีนของสารสกัดหยาบไหมป่าอีรี่ด้วยวิธี Bradford assay วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เปรียบเทียบความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกาวไหมด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าการใช้สารละลายขี้เถ้ามาลอกกาวไหมนั้นมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต อีกทั้งยังมีสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณที่สูง ส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีในวิธี ABTS แต่กำจัดอนุมูลอิสระได้น้อยกว่าการสกัดด้วยการต้มด้วยน้ำกลั่นเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสารที่อยู่ในสารละลายขี้เถ้า ดังนั้น วิธีการสกัดด้วยสารละลายขี้เถ้าจากการเผาข้าวหลามด้วยฟืนไม้ไผ่จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำไปสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกาวไหมอีรี่และเป็นการนำของเสียจากการผลิตข้าวหลามซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ในชุมชน มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดอีกด้วย

ส่วนงานวิจัยในอนาคตอาจมุ่งเน้นไปที่การศึกษาโครงสร้างทางโมเลกุลและแบบแผนของโปรตีนกาวไหมที่สกัดด้วยน้ำด่างธรรมชาติ เพื่อยืนยันว่าโครงสร้างและกรดอะมิโนสำคัญยังคงสภาพสมบูรณ์และมีขนาดโมเลกุลที่เหมาะสมต่อการซึมเข้าสู่ผิว โดยต้องทำการวิจัยควบคู่ไปกับการทดสอบความปลอดภัยในระดับเซลล์ (Cytotoxicity) กับเซลล์ผิวหนังมนุษย์ และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น การกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนและการยับยั้งเอนไซม์ที่ทำลายผิว เพื่อสร้างฐานข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่น่าเชื่อถือรองรับความเป็นสารสกัดที่ปลอดภัยและมีศักยภาพในการนำไปเป็นส่วนประกอบของเวชสำอาง นอกจากนี้ ควรต่อยอดไปสู่การพัฒนาสูตรตำรับเวชสำอางที่ใช้ระบบนำส่งสารสำคัญ (Nano-delivery systems) เพื่อเพิ่มความคงตัวและประสิทธิภาพในการฟื้นฟูเป็นต้น รวมถึงเปรียบเทียบความแตกต่างด้านผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมระหว่างวิธีดั้งเดิมกับวิธี Green Extraction นี้ ซึ่งจะช่วยสร้างมูลค่าเพิ่มและจุดขายที่ชัดเจนในเชิงพาณิชย์ในฐานะนวัตกรรมความงามที่ยั่งยืน (Sustainable Beauty)

เอกสารอ้างอิง

1. Chooluck S, Laoharenu R, Chooluck S. Biological activity of silk sericin protein and its application. Journal of Science and Technology Mahasarakham University 2025;44:544-58.
2. Kumar JP, Mandal BB. Antioxidant potential of mulberry and non-mulberry silk sericin and its implications in biomedicine. Free Radic Biol Med 2017;108:803-18.
3. Saad M, El-Samad LM, Gomaa RA, Augustyniak M, Hassan MA. A comprehensive review of recent advances in silk sericin: Extraction approaches, structure, biochemical characterization, and biomedical applications. Int J Biol Macromol 2023;250:126067.
4. Ghosh S, Gupta S, Kapusetti G, Kundu SC. Silk-based biomaterial scaffolds for dental tissue regeneration. Commun Mater 2026;7:63.
5. Kato N, Sato S, Yamanaka A, Yamada H, Fuwa N, Nomura M. Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. Biosci Biotechnol Biochem 1998;62:145-7.
6. Padamwar M, Pawar A. Silk sericin and its applications: A review. J Sci Ind Res (India) 2004;63:323-9.
7. Cho KY, Moon JY, Lee YW, Lee KG, Yeo JH, Kweon HY, et al. Preparation of self-assembled silk sericin nanoparticles. Int J Biol Macromol 2003;32:36-42.
8. Kunz RI, Brancalhão RM, Ribeiro LF, Natali MR. Silkworm Sericin: Properties and Biomedical Applications. Biomed Res Int 2016;2016:8175701.
9. Mondal M, Trivedy K, Kumar N. The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn. - A review. Caspian J Env Sci 2007;5:63-76.
10. Ye J, Xie B, Hu J, Xu X, Lu S, Wang J, et al. Recent advances in silk fibroin-based biomaterials for tissue engineering applications. Int J Biol Macromol 2025;322:146764.
11. Wu J-H, Wang Z, Xu S-Y. Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. Food Chem 2007;103:1255-62.
12. Aramwit P, Damrongsakkul S, Kanokpanont S, Srichana T. Properties and antityrosinase activity of sericin from various extraction methods. Biotechnol Appl Biochem 2010;55:91-8.
13. Aramwit P, Siritientong T, Srichana T. Potential applications of silk sericin, a natural protein from textile industry by-products. Waste Manag Res 2012;30:217-24.
14. Hu D, Li T, Liang Wa, Wang Y, Feng M, Sun J. Silk sericin as building blocks of bioactive materials for advanced therapeutics. J Control Release 2023;353:303-16.
15. Prakash M, Mathikere Naganna C, Radhakrishnan V, Somayaji P, Sabu L. Therapeutic potential of silkworm sericin in wound healing applications. Wound Repair Regen 2024;32:916-40.
16. Liu J, Shi L, Deng Y, Zou M, Cai B, Song Y, et al. Silk sericin-based materials for biomedical applications. Biomaterials 2022;287:121638.
17. Hobanthad T. Extraction of sericin from Thai native silk (Nangsew) yarn using mulberry (cv.Buriram 60) leaves extracts as a greener solvent. SNRU Journal of Science and Technology 2018;10:156-64.
18. Chooluck S, Jankangram W. Extraction and Biological Activity of Silk Sericin from Thai Native Silk (*Bombyx mori* L.) with Macerated Banana Leaves Solution. KKU Science Journal 2022;50:198-211.

19. Wang Y, Gao J, Yang Y, Zhu L, Yang W, Li P, et al. A Review on the Extraction Methods, Bioactivities, and Application in Foods of Silk Sericin. J Food Biochem 2025;2025:2155701.
20. Zhao Z-L, Zhang Y-Q. Greener degumming production of layered sericin peptides from a silkworm cocoon and their physicochemical characteristics and bioactivities in vitro. J Clean Prod 2020;261:121080.
21. Yun H, Oh H, Kim MK, Kwak HW, Lee JY, Um IC, et al. Extraction conditions of *Antheraea mylitta* sericin with high yields and minimum molecular weight degradation. Int J Biol Macromol 2013;52:59-65.
22. Rujakom A, Chusuwan S, Nualnat P, Chooluck S. Extraction and Antioxidant Activity of Bioactive Compounds from Marine Microalgae *Tetraselmis gracilis* BIMS-PP017. KKU Science Journal 2024;52:219-34.
23. Ukav I. Mulberry Production Economy in District of Adiyaman. Asian J Agric Ext Econ Sociol 2018;23:1-10.
24. Chartvivatpornchai N, Okahisa Y. Structural and mechanical comparison of Eri and Mulberry silk fibroin nanofibers films through advanced mechanical treatments for sustainable applications. Int J Biol Macromol 2025;295:139554.
25. Chattopadhyay D, Chakraborty A, Chatterjee S. Studies on degumming of eri silk cocoons. J Text Inst 2016;108:1-13.
26. Sreenivasa T, Padaki N. Development of Eco-Friendly Method for Degumming of Eri Cocoons. Textile Leather Rev 2023;6:742-59.
27. Azman S, Ameram N, Jaafar H, Mohamad Amini MH, Ali A. Extraction of Silica from Bamboo Leaves Ash (Bambusoideae) Using Hydrochloric Acid and Nitric Acid. Orbital Electron J Chem 2023:142-7.
28. Anand P, Pandey JP, Pandey DM. Study on cocoonase, sericin, and degumming of silk cocoon: computational and experimental. J Genet Eng Biotechnol 2021;19:32.
29. Sahu N, Pal S, Sapru S, Kundu J, Talukdar S, Singh N, et al. Non-Mulberry and Mulberry Silk Protein Sericins as Potential Media Supplement for Animal Cell Culture. Biomed Res Int 2016;2016.
30. Gupta D, Agrawal A, Rangi A. Extraction and characterization of silk sericin. Indian J Fibre Text Res 2014;39:364-72.
31. Miguel M GA, Álvarez C. Extraction and antioxidant activity of sericin, a protein from silk. Braz J Food Technol 2020;23:e2019058.
32. Giles H, Gallagher J, Warren-Walker D, Bull SP, Lignou S, Methven L, et al. An investigative study into the suitability of the Bradford assay for rapid protein determination in whey. Food Chem 2026;499:147375.
33. Zhu L, Lin J, Pei L, Luo Y, Li D, Huang Z. Recent Advances in Environmentally Friendly and Green Degumming Processes of Silk for Textile and Non-Textile Applications. Polymers (Basel) 2022;14:659.
34. Kurioka A, Kurioka F, Yamazaki M. Characterization of sericin powder prepared from citric acid-degraded sericin polypeptides of the silkworm, *Bombyx Mori*. Biosci Biotechnol Biochem 2004;68:774-80.

35. Kanyora MG, Kegode TM, Kurgat J, Kibogo H, Asudi G, Tanga CM, et al. Evaluating antibacterial and antioxidant properties of sericin recovered from cocoons of *Bombyx mori*, *Gonometa postica* and *Samia ricini* in Kenya. PLOS ONE 2025;19:e0316259.

36. Wongsrangsap N, Chukiatsiri S. Purification and Identification of Novel Antioxidant Peptides from Enzymatically Hydrolysed *Samia ricini* Pupae. Molecules 2021;26.