ฤทธิ์ทางชีวภาพจากโปรตีนไหมเซริซินและการนำไปใช้ประโยชน์

Biological activity of silk sericin protein and its application

สุชาวลี ชูลักษณ์[1], รัฐพร เลาหเรณู[2] และ สุนทรต์ ชูลักษณ์[2*]

Suchawalee Chooluck[1], Rattaporn Laoharenu[2] and Sunthorn Chooluck[2*]

Received: 8 May 2024 ; **Revised**: 4 June 2024 ; **Accepted**: 9 July 2024

บทคัดย่อ

โปรตีนเซริซิน (Sericin protein) หรือโปรตีนกาวไหม (Silk glue protein) จัดเป็นพอลิเมอร์ทางชีวภาพชนิดหนึ่งที่ผลิตจากหนอนไหม มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์หลากหลาย โดยในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา กาวไหมได้รับความสนใจเป็นอย่างมากสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ทางชีวการแพทย์ และเวชสำอางเนื่องจากคุณสมบัติทางชีวภาพที่เข้ากันได้กับร่างกายและสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ รวมทั้งยังมีฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์มากมายที่เกิดจากกรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบในกาวไหมอีกด้วย บทความปริทัศน์นี้จะกล่าวถึงโครงสร้างและองค์ประกอบรวมถึงคุณสมบัติทางชีวภาพของกาวไหม วิธีต่าง ๆ ที่ใช้ในการลอกกาวไหมและการนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์เช่นการรักษาโรคเฉพาะและการส่งเสริมการฟื้นฟูเนื้อเยื่อ รวมถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญของเซลล์ และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ บทความนี้ยังกล่าวการนำกาวไหมไปสร้างวัสดุชีวภาพและความก้าวหน้าในการนำไปใช้ในทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อและการนำส่งยาและงานวิจัยที่จะช่วยเสริมศักยภาพของวัสดุชีวภาพจากกาวไหม

คำสำคัญ: เซริซิน, การสกัด, อนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิก, ฟลาโวนอยด์

Abstract

Silk sericin protein or Silk glue protein, a natural protein biopolymer produced by silkworms, has attracted significant attention particularly in biomedical and cosmeceutical applications over the past decade. Sericin possesses exceptional biocompatibility, biodegradability, and unique amino acid composition endowing it with a range of beneficial properties, making it a promising candidate for various biomedical and cosmeceutical applications. This comprehensive review looks insight into the multifaceted aspects of silk sericin, encompassing its structure, compositions as well as exploring various extraction methods. Biological properties including antioxidant activity and stimulating cell proliferation, therapeutic potential, and applications in tissue engineering and drug delivery were also discussed. Research attempts focused on improving the properties and applications of sericin-based biomaterials were also mentioned.

Keywords: Sericin, extraction, free radical, phenolic compound, flavonoid

[1] โรงเรียนชลกันยานุกูล ถนนตำหนักน้ำ ตำบลบางปลาสร้อย อำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี 20000.

[2] ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

[*] ติดต่อผู้นิพนธ์: สุนทรต์ ชูลักษณ์ อีเมล์: sunthornc@buu.ac.th

[1] Chonkanyanukoon School, Tamnaknum Road, Bang Pla Soi, Mueang, Chonburi, 20000 Thailand

[2] Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University, Saensuk, Mueang, Chonburi, 20131 Thailand

[*] Corresponding author: Sunthorn Chooluck Email: sunthornc@buu.ac.th

บทนำ

เส้นใยไหมเป็นองค์ประกอบสำคัญของอุตสาหกรรมสิ่งทอและการเลี้ยงไหม ผลิตมาจากหนอนไหมหลายชนิดที่อยู่ในวงศ์ Bombycidae, Lasiocampidae และ Saturniidae รวมถึงแมงมุมบางชนิด Bombycidae จัดเป็นวงศ์ที่มีหนอนไหมที่เป็นที่นิยมแพร่หลายที่สุดสำหรับการผลิตเส้นไหมทางการค้า คือ หนอนไหมบ้านหรือไหมกินหม่อน *Bombyx mori* ส่วนหนอนไหมในวงศ์ Lasiocampidae จะผลิตเส้นใยไหมที่มีความแข็งแรงและทนทาน ตัวอย่างที่รู้จักกันดี เช่น หนอนไหมจากผีเสื้อหนอนใบกระท้อนหรือผีเสื้อยักษ์ *Attacus atlas* ส่วนวงศ์ Saturniidae จะมีมีหนอนไหมที่ผลิตเส้นใยไหมที่มีสีสันหลากหลาย ตัวอย่างเช่น หนอนไหมจากมอดญี่ปุ่น (Japanese oak silkmoth) *Antheraea yamamai* ส่วนแมงมุมบางชนิด เช่น แมงมุม *Nephila clavipes* สามารถผลิตเส้นใยไหมที่สามารถใช้ทำเสื้อผ้าได้แต่ปริมาณการผลิตยังมีน้อยเมื่อเทียบกับหนอนไหม *B. mori* (Barajas Gamboa *et al.*, 2016; Seo *et al.*, 2023)

เส้นไหมมีส่วนประกอบที่สำคัญคือโปรตีนเส้นใยที่เรียกว่าไฟโบรอิน (Fibroin) และเคลือบด้วยกาวที่ทำจากโปรตีนเซริซิน (Sericin) หรือกาวไหม โดยในระหว่างกระบวนการผลิตและแปรรูปเส้นไหมดิบ กาวไหมจะถูกกำจัดออกไปและมักจะถูกทิ้งรวมกับของเสียในอุตสาหกรรมสิ่งทอมาเป็นระยะเวลานาน การนำกาวไหมกลับมาใช้ประโยชน์จะก่อให้เกิดประโยชน์ทั้งทางเศรษฐกิจ สังคมและสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาพบว่า กรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบของกาวไหม เช่น เซอรีน ทรีโอนีนและกรดแอสพาร์ติก รวมถึงความหลากหลายในหน้าที่ของหมู่ฟังก์ชันอื่นๆ เช่น Delocalizing electrons ในวงแหวนอะโรมาติก รวมถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพพวก secondary metabolite ที่อยู่ในรังไหม ทำให้สารสกัดกาวไหมมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่นคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการให้ความชุ่มชื้น ความสามารถในการฟื้นฟูเซลล์และการสร้างเนื้อเยื่อ โดยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์เคราติโนไซต์ (Keratinocytes) และไฟโบรบลาสต์ (Fibroblasts) ซึ่งนำไปสู่การพัฒนากาวไหมเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่นพัฒนาวัสดุชีวภาพ (Biomaterials) จากกาวไหมสำหรับการซ่อมแซมเนื้อเยื่อผิวหนัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นแผ่นปิดแผล นอกจากนี้กาวไหมยังสามารถใช้สร้างเนื้อเยื่อกระดูก เนื่องจากมีความสามารถในการกระตุ้นการสร้างไฮดรอกซีอะพาไทต์ (Hydroxyapatite) ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกระดูก ในปัจจุบัน กาวไหมยังสามารถนำมาใช้สำหรับกระบวนการนำส่งยาได้เนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมีและการตอบสนองต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งช่วยในการผลิตอนุภาคนาโน ไฮโดรเจล และโมเลกุลคอนจูเกต (Conjugated molecule) ที่สามารถเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพของยาได้อีกด้วย (Ahsan *et al.*, 2018; Kumar & Mandal, 2017; Li *et al.*, 2023)

การสังเคราะห์เส้นใยไหม

กาวไหมถูกสังเคราะห์ขึ้นที่ต่อมเลเบียล (Labial gland) ของหนอนไหมซึ่งมักเรียกว่า ต่อมไหม (Silk gland) (Figure 1) ซึ่งเป็นอวัยวะรูปท่อคู่ที่ทอดตัวยาวไปทางด้านข้างท้อง (Lateroventrally) ไปยังระบบย่อยอาหาร เริ่มต้นตั้งแต่ปล้องริมฝีปาก (Labial segment) ไปจนถึงบริเวณหาง (Caudal region) ในการสร้างเส้นใยของหนอนไหมนั้น ในระยะไหมสุกก่อนเข้าทำรัง เมื่อต่อมไหมเจริญเต็มที่จนเข้าไปเบียดส่วนของกระเพาะอาหารทำให้หนอนไหมหยุดกินอาหารและเกิดกระบวนการบีบตัวเองให้ของเหลวในต่อมไหมพ่นออกมาทางรูพ่นเส้นใยไหม สารไหมเหลวจะถูกขับออกมาทางต่อมไหมส่วนท้าย (Posterior silk gland) และหลังจากนั้นส่งไปยังต่อมไหมส่วนกลาง (Middle silk gland) ระหว่างที่อยู่ในต่อมไหมส่วนกลาง สารไหมเหลวจะกลายเป็นเจลาติน จากนั้นกาวไหมจะถูกขับออกมาจากส่วนอื่นของต่อมไหมส่วนกลางเพื่อที่จะเคลือบเจลาติน เมื่อโตเต็มที่แล้วหนอนไหมจะหยุดกินอาหาร และพ่นของเหลวออกจากต่อมน้ำลาย 2 ชนิดทางปากอย่างต่อเนื่อง เมื่อของเหลวสัมผัสกับอากาศจะแข็งตัวเกิดเป็นเส้นใยไหมขึ้น (Babu, 2012; Bedge & Dixit- Potadar, 2022)

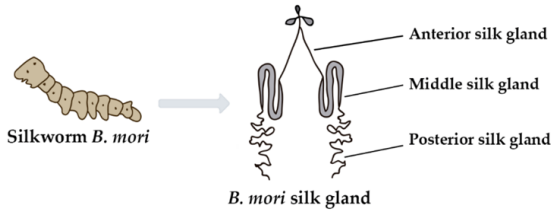

Figure 1 Structure of silk gland from silk worm Bombyx mori (Silva *et al*., 2022)

โครงสร้างและองค์ประกอบของเส้นไหม

เส้นไหม (Silk filament) มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด คือ

1) โปรตีนไฟโบรอิน

เป็นไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) ที่มีลักษณะเป็นเส้นใย (Fibrous) มีคุณสมบัติเฉพาะทางฟิสิกส์และเคมี พบประมาณร้อยละ 70-75 ของเส้นไหม เป็นเส้นคู่ยาวต่อเนื่องตรงแกนกลางถูกเคลือบไว้ด้วยโปรตีนกาวไหม (Figure 2) ไฟโบรอินประกอบด้วยกรดแอมิโนที่สำคัญคือ ไกลซีน อะลานีน

เซอรีน วาลีนและไทโรซีนมีส่วนที่เป็นลำดับกรดแอมิโนซ้ำๆ อยู่มาก (Highly repetitive motifs) ในรูปแบบ (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser)$_n$ หรือ Gly-X (X=Ala/Ser/Thr/Val) ซึ่งเป็นกลุ่มของกรดแอมิโนขนาดเล็กและไม่มีขั้ว ทำให้ไฟโบรอินไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ในกรดแก่หรือเบสแก่เข้มข้น ไฟโบรอินมีโครงสร้างเป็นไดเมอร์ (Dimer) ที่มีเปปไทด์เป็นองค์ประกอบสองสายในอัตราส่วน 1:1 คือ โปรตีนสายหลัก (Heavy chain) มีน้ำหนักประมาณ 350 กิโลดาลตัน ประกอบด้วยกรดแอมิโนที่สำคัญ 2 ชนิด คือ ไกลซีนและอะลานีน โปรตีนสายรอง (Light chain) มีน้ำหนักประมาณ 25 กิโลดาลตันประกอบด้วยกรดแอมิโนหลายชนิด เช่น ลิวซีน ไอโซลิวซีนและวาลีน โดยมีไกลโคโปรตีน P25 ทำหน้าที่เชื่อม Heavy chain และ Light chain เข้าด้วยกัน โดยใช้พันธะไดซัลไฟด์และ Hydrophobic interaction ซึ่ง P25 มีน้ำหนักโมเลกุล 30 กิโลดาลตันประกอบด้วยพอลิเปปไทด์ (Polypeptide) และโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Oligosaccharide) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2-10 โมเลกุลโดยส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลแมนโนส (Mannose) โครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ ส่วนที่มีการจัดเรียงตัวเป็นผลึกและส่วนที่มีการจัดเรียงตัวแบบอสัณฐาน (Amorphous) นอกจากนี้ส่วนที่มีโครงสร้างการจัดเรียงตัวเป็นผลึกยังสามารถแบ่งย่อยออกเป็น 3 แบบ ได้แก่ โครงสร้าง Silk I โครงสร้าง Silk II และโครงสร้าง Silk III โดยโครงสร้าง Silk I มีโครงสร้างแบบก่อนเปลี่ยนแปลงไปเป็นผลึกเส้นใย (Pre-spun pseudo crystalline) ที่เป็นแบบเกลียวสุ่ม (Random coil) หรือโครงสร้างแบบเกลียว α-helix ทำให้สามารถละลายน้ำได้ เป็นโครงสร้างที่ไม่เสถียรสามารถเปลี่ยนเป็นโครงสร้าง Silk II ได้ เมื่อได้รับความร้อน (Heating) การปั่นกวน (Spinning) การให้แรงทางไฟฟ้า (Electric field) หรือการเติมสารละลายที่มีขั้ว เช่น เมทานอล หรือ อะซิโตน โครงสร้าง Silk II มีรูปแบบเป็นเส้นใยและถือเป็นโครงสร้างหลักของไฟโบรอิน ประกอบด้วยโครงสร้างการจัดเรียงตัวแบบเบต้าชีท (ß-sheet) สายพอลิเปปไทด์เรียงตัวแบบไม่ขนาน (Anti-parallel) ยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่คาร์บอกซิลกับหมู่อะมิโน โดยระหว่างเบต้าชีทแต่ละแผ่นซ้อนทับกันด้วยแรงแวนเดอวาส์ว (Van der Waals) ส่งผลให้ไฟโบรอินมีคุณสมบัติเชิงกลที่มีความแข็งแรงสูง ไม่สามารถละลายน้ำได้โดยตรง ต้องใช้สารพวก Chaotropes เป็นตัวทำละลายเช่น ลิเธียมคลอไรด์หรือโซเดียมไทโอไซยาไนด์ (Babu, 2012; Costa *et al*., 2018; Mondal, 2007; Padamwar & Pawar, 2004)

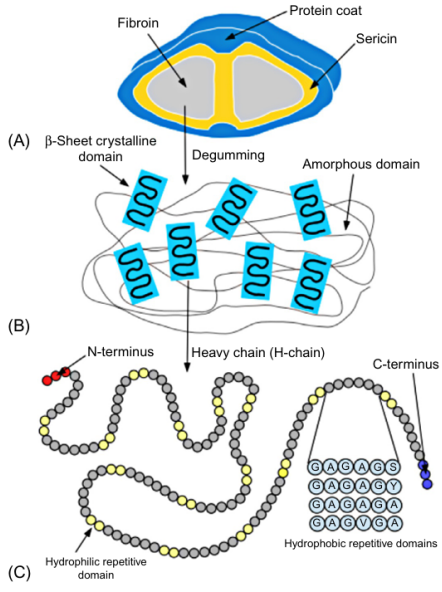

Figure 2 The structure of silk fibroin. A) The raw silk fiber B) ß-sheet crystallite embedded in the amorphous matrix of silk fibroin fibers. C) Silk fibroin heavy chain (H-chain) consists of hydrophobic and hydrophilic repetitive domains (Costa *et al*., 2018)

2) โปรตีนไหมเซริซิน

โปรตีนเซริซินหรือกาวไหม มีลักษณะเหนียวคล้ายกาวทำหน้าที่ห่อหุ้มเส้นใย โดยในเส้นไหมจะมีโปรตีนไฟโบรอิน 2 เส้นประสานกันด้วยกาวไหมยึดเหนี่ยวเส้นใยเข้าด้วยกันเพื่อประกอบกันเป็นรังไหม กาวไหมเป็นโปรตีนที่มีของกรดแอมิโนที่มีขั้วเป็นองค์ประกอบจำนวนมากทำให้สามารถละลายน้ำได้ดี และมีขนาดของโมเลกุลอยู่ที่ 20 ถึง 400 กิโลดาลตัน (Cao & Zhang, 2016) พบประมาณร้อยละ 25-30 ของเส้นไหม สร้างจากต่อมใต้สมองส่วนกลางของหนอนไหมและถูกขับออกมาเคลือบแกนไหมเพื่อให้ยึดกันเป็นเส้นใย ประกอบด้วยเปปไทด์ที่มีขนาดแตกต่างกัน โดยเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็กจะสามารถละลายได้ดีในน้ำเย็น ส่วนพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลใหญ่จะละลายได้ดีในน้ำร้อน ในกาวไหมนอกจากจะมีกรดแอมิโนไกลซีน อะลานีน และเซอรีนในอัตราส่วนที่สูงแล้วยังประกอบด้วยกรดกลูตามิก ทรีโอนีนและไทโรซีน ที่สามารถกักเก็บน้ำได้ ทำให้ช่วยป้องกันผิวแห้ง สามารถลดเลือนริ้วรอย มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเป็นต้นเหตุของผิวหมองคล้ำและจุดด่างดำ กรดแอมิโนเหล่านี้จะก่อเป็นบริเวณอสัณฐานในโครงสร้างของกาวไหมจะพบได้ 2 แบบ คือเบต้าชีท (ß-sheet) ที่จะพบอยู่ในส่วนที่เป็นผลึก (Crystalline) และโครงสร้างแบบเกลียวสุ่ม โดยโครงสร้างหลักที่พบมากที่สุดคือโครงสร้างแบบเกลียวสุ่มซึ่งกรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบจะเรียงตัวแบบสุ่ม

ไม่เป็นระเบียบทำให้โครงสร้างมีความยืดหยุ่น ละลายน้ำได้ง่าย ส่วนโครงสร้างแบบ ß-sheet จะพบได้น้อยกว่าและละลายน้ำได้ยาก เมื่อกาวไหมสัมผัสกับความชื้นซ้ำ ๆ (Repeated moisture absorption) โครงสร้างของโมเลกุลจะปรับตัวเพื่อยึดจับกับโมเลกุลของน้ำ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากแบบ Random coil ไปเป็นแบบ ß-sheet หรือเมื่อมีแรงดึงทางกล (Mechanical stretching) โครงสร้างโมเลกุลของกาวไหมจะถูกดึงให้เรียงตัวเป็นระเบียบส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นโครงสร้างมาเป็นแบบ ß-sheet ได้เช่นกัน (Li *et al.*, 2023; Padamwar & Pawar, 2004) กรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบในกาวไหม จะมีการจัดเรียงตัวแบบซ้ำๆกัน (Repeat sequence) ของ (Gly-Ser-Val-Ser-Ser-Thr-Gly-Ser-Ser-Ser-Asn-Thr-Asp-Ser-Ser-Thr)$_n$ โดย Gly Ser Val Thr Asn Asp คือกรดแอมิโนไกลซีน เซอรีน แวลีน ทรีโอนีน แอสพาราจีน และกรดแอสพาร์ติก ตามลำดับ (Lee, 2004; Silva *et al*., 2022) กาวไหมเป็นโปรตีนโมเลกุลขนาดใหญ่ตามธรรมชาติที่ประกอบด้วยโปรตีน Sericin 1 (Ser1), Sericin 2 (Ser2) และ Sericin 3 (Ser3) โปรตีน Ser1 อยู่ชั้นนอกสุด ละลายน้ำได้ประมาณ 40% ในยีน ser1 มีขนาดประมาณ 23 kb และมี 9 exons เก็บรหัสสำหรับ mRNA ขนาด 10.5, 9.0, 4.0 และ 2.8 kb ตามลำดับผ่านกระบวนการ alternative splicing เมื่อเจอกับความร้อนหรือตัวทำละลายอินทรีย์ ก็สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นโปรตีน *Ser2* ซึ่งละลายน้ำได้ประมาณ 40-50% โครงสร้างของยีน ser2 มี 13 exons เก็บรหัสสำหรับ mRNA ขนาด 3.1 และ 5.0–6.4 kb เป็นชั้นกลาง สามารถละลายได้ด้วย Chaotropes หลายชนิด โปรตีน Ser 3 ละลายได้ประมาณ 10% โครงสร้างของยีน *ser3* มี 2 exons มีขนาดประมาณ 3.5 bp เก็บขนาดสำหรับ mRNA ขนาด 4.5 kb อยู่ชั้นในสุดติดกับไฟโบรอิน (Bedge & Dixit- Potadar, 2022; Kunz *et al*., 2016)

กาวไหมจะทำหน้าที่เหมือนกาวธรรมชาติช่วยเชื่อมและยึดเกาะเส้นใยไฟโบรอินไว้ด้วยกันด้วยพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่คาร์บอนิล (C=O) ของกาวไหมกับไฮโดรเจนอะตอม (N-H) ของหมู่เอมีน (NH_2) ของไฟโบรอิน (Figure 3) ส่งผลให้เส้นใยไหมมีความแข็งแรง ทนทานต่อแรงดึง และไม่เปราะง่าย เมื่อทำการลอกกาวไหม (Degumming) ออก ชั้นกาวจะหายไปทำให้เส้นใยไฟโบรอินซึ่งเรียงตัวอย่างหนาแน่นจะสัมผัสกันโดยตรงส่งผลให้พื้นผิวของเส้นใยเรียบเนียนและเกิดการสะท้อนแสง มีความนุ่มนวลและเงางาม (Seo *et al*., 2023)

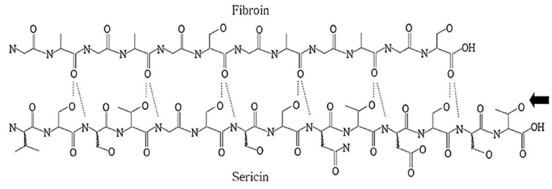

Figure 3 Chemical structure of silk demonstrating the intermolecular H-bonding between sericin and fibroin (Seo *et al.*, 2023)

กาวไหมมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายเนื่องจากมีกรดแอมิโนที่สำคัญต่อร่างกายอยู่มาก มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Jena *et al.*, 2018; Kumar & Mandal, 2017; Napavichayanun *et al.*, 2017) สามารถป้องกันผิวจากรังสี UV (Kaur *et al*., 2013) เป็นตัวกักเก็บน้ำและเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิว (Padamwar *et al*., 2005) สามารถกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตและเพิ่มการยึดเกาะของเซลล์ผิวหนัง (Minoura *et al.*, 1995) ลดการเจริญเติบโตของเนื้องอกในลำไส้ใหญ่ของหนูทดลองได้ (Zhaorigetu *et al.*, 2001) สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเป็นต้นเหตุของผิวหมองคล้ำและจุดด่างดำ (P. Aramwit *et al*., 2010; Shitole *et al*., 2020) จึงมีประโยชน์อย่างมากในการนำไปพัฒนาและประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเวชสำอาง นำไปผลิตวัสดุทดแทนกระดูกในกระบวนการการชักนำให้เนื้อเยื่อกระดูกคืนสภาพ (Guided bone regeneration, GBR) (Kim et al., 2023) ใช้ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) และทางการแพทย์ (Silva *et al*., 2022)

โครงสร้างและรูปแบบของกาวไหม

สามารถแบ่งกาวไหมได้หลายรูปแบบโดยแบ่งตามความสามารถในการละลายได้เป็น 3 ชนิด คือ

เซริซิน เอ (Sericin A): อยู่ชั้นนอกสุดของรังไหม ไม่ละลายในน้ำร้อนมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 17.2% มีกรดแอมิโนที่พบมากคือเซอรีน ทรีโอนีน ไกลซีนและกรดแอสพาร์ติก

เซริซิน บี (Sericin B): อยู่ในชั้นกลาง สามารถละลายได้ในน้ำร้อน มีกรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบเหมือนในเซริซิน เอ นอกจากนี้ยังมีกรดแอมิโน ทริปโตเฟนและมีไนโตรเจนอยู่ประมาณ 16.8%

เซริซิน ซี (Sericin C): อยู่ชั้นในสุดติดกับไฟโบรอิน ไม่ละลายในน้ำร้อน สามารถแยกออกจากไฟโบรอินได้โดยการใช้สารละลายกรดเจือจางหรือด่าง มีองค์ประกอบกรดแอมิโนเหมือนใน เซริซิน บี และมีกรดแอมิโนโพรลีน กำมะถัน และมี

ไนโตรเจนประมาณ 16.6% (Kunz et al., 2016; Padamwar & Pawar, 2004)

จากการศึกษาพบว่ากาวไหมจัดเป็นไกลโคโปรตีนที่มีโอลิโกแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบอยู่สองชนิด ชนิดแรกประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนสหลายโมเลกุลจับอยู่กับ N-acetyl glucosamine 2 โมเลกุล เชื่อมกับกาวไหมที่ตำแหน่งของกรดแอมิโนแอสพาราจีน ชนิดที่ 2 ประกอบด้วย N-acetyl glucosamine และน้ำตาลไดแซคคาไรด์ ß-Galactosyl (1⟶3)-N-acetylgalactosamine เชื่อมกับกาวไหมที่ตำแหน่งกรดแอมิโนเซอรีนหรือทรีโอนีน (Kunz *et al*., 2016)

นอกจากนี้ยังมีการจัดแบ่งโปรตีนกาวไหมออกเป็น 3 กลุ่ม ตามน้ำหนักโมเลกุล ได้แก่ เซริซิน A (250 kDa) เซริซิน M (400 kDa) และเซริซิน P (180 kDa) ซึ่งกระจายอยู่บริเวณด้านหน้า (Anterior: A) กลาง (Middle: M) และหลัง (Posterior: P) ของต่อมไหมส่วนกลาง (MSG) เซริซิน M และ P เป็นผลผลิตของยีน *ser 1* ในขณะที่เซริซิน A เป็นผลผลิตของยีน *ser 3* แต่ไม่พบว่ายีน *ser 2* เกี่ยวข้องในการสร้างโปรตีนหลักของรังไหม (Bedge & Dixit- Potadar, 2022) เซริซิน A M และ P มีกรดแอมิโน เซอริน ไกลซีน และกรดแอสพาร์ติก เป็นองค์ประกอบอยู่สูง อย่างไรก็ตาม เซริซิน A จะมีองค์ประกอบของกรดแอมิโนที่แตกต่างจากเซริซิน M และ P คือ มีกรดกลูตามิกและไลซีนอยู่มาก ขณะที่มีกรดแอมิโนทรีโอนีนและไทโรซีนในปริมาณที่น้อยกว่า โดยที่ไทโรซีนและทรีโอนีนเป็นส่วนสำคัญในการเกิดโครงสร้างทุติยภูมิแบบ ß-sheet ส่วนกรดกลูตามิกและไลซีนเป็นกรดแอมิโนที่ทำให้โครงสร้างแบบ ß-sheet นั้นไม่เสถียร ทำให้โครงสร้างของ เซริซิน A จะเกิดเป็นโครงสร้าง ß-sheet น้อยกว่าเซริซิน M และ P และความสามารถในการละลายน้ำของกาวไหมจะลดลงเมื่อมีโครงสร้างแบบ ß-sheet เพิ่มมากขึ้น (Bedge & Dixit- Potadar, 2022; Takasu *et al*., 2002)

คุณสมบัติของกาวไหม

การย่อยสลายกาวไหมด้วยสารเคมี ความร้อน และเอนไซม์ จะทำให้ได้ส่วนผสมของเปปไทด์ที่มีมวลโมเลกุล (Molecular Mass) ที่แตกต่างกัน เปปไทด์ที่มีขนาดของโมเลกุลใหญ่ (50 ถึง 300 kDa) จะละลายได้ดีในน้ำร้อน (> 60°C) แต่ละลายได้น้อยในน้ำเย็น เปปไทด์ขนาดใหญ่เหล่านี้ นิยมนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น วัสดุชีวภาพที่ย่อยสลายได้ (Degradable Biomaterials) วัสดุทางชีวการแพทย์ (Biomedical Materials) และวัสดุพอลิเมอร์สังเคราะห์ (Synthetic Polymer Materials) เป็นต้น เปปไทด์ที่มีขนาดของโมเลกุลเล็ก (น้อยกว่า 50 kDa) จะสามารถละลายได้ดีในน้ำเย็น และมีคุณสมบัติเด่นในเรื่องของการดูดซับความชื้นและปล่อยความชื้นได้ดีเนื่องจากมีกรดแอมิโนเซอรีนอยู่มาก ซึ่งเซอรีนเป็นกรดแอมิโนที่พบได้มากที่สุดในกลุ่มตัวชี้วัดความชุ่มชื้นตามธรรมชาติของมนุษย์ (Natural moisture factor; NMF) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของชั้นนอกสุดของผิวหนังที่ช่วยรักษาระดับความชุ่มชื้น NMF ประกอบด้วยกรดแอมิโนที่สามารถดูดซับน้ำได้ดี เช่น เซอรีน ไกลซีน และกรดแอสพาร์ติก กรดแอมิโนเหล่านี้จะดึงน้ำจากชั้นล่างของผิวหนังและกักเก็บไว้บนชั้นผิวทำให้ผิวนุ่มนวลและชุ่มชื้น (Bedge & Dixit-Potadar, 2022; Li *et al*., 2023; Padamwar *et al*., 2005) ปริมาณของกรดแอมิโนในกาวไหมโดยทั่วไปแล้วจะมีสัดส่วนที่คงที่ แต่เทคนิคที่ใช้ในการสกัดกาวไหมจะมีผลต่อสัดส่วนของกรดแอมิโนเหล่านั้นเล็กน้อย มีงานวิจัยมากมายที่ระบุว่าเซอรีนเป็นกรดแอมิโนที่พบมากที่สุดในกาวไหมคิดเป็นประมาณ 30% รองลงมาคือกรดแอสพาร์ติกและไกลซีนโดยที่เซอรีนมีหมู่ไฮดรอกซิลที่มีขั้วสูงเป็นหมู่ฟังก์ชั่น ซึ่งส่งผลต่อคุณสมบัติและหน้าที่ทางชีวภาพของกาวไหม นอกจากนี้ กรดแอสพาร์ติกและไกลซีนก็มีบทบาทสำคัญเช่นกัน กาวไหมยังประกอบด้วยกรดแอมิโนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic amino acid) ประมาณ 70% ส่งผลให้สามารถละลายน้ำได้ดีและมีคุณสมบัติในการซึมผ่านของน้ำที่ดี ในทางกลับกัน กรดแอมิโนที่มีหมู่ฟังก์ชั่นเป็นวงแหวนอะโรมาติกเช่น ฟีนิลอะลานีนและทริปโตเฟนจะพบได้ในปริมาณที่น้อยกว่ามาก (Table 1) (Ahsan *et al*., 2018; Seo *et al*., 2023)

กระบวนการฟอร์มตัวเป็นเจล (Gelation process) ของโปรตีนกาวไหมเกิดขึ้นได้จากการเปลี่ยนโครงสร้างทุติยภูมิจากแบบ Random coil ไปเป็น ß-sheet ซึ่งกาวไหมที่มีโครงสร้างส่วนใหญ่แบบ Random coil จะละลายได้ดีในน้ำร้อน แต่เมื่อลดอุณหภูมิลงต่ำ (ประมาณ 10°C) และค่า pH ประมาณ 6-7 โครงสร้างแบบ Random coil จะเปลี่ยนไปเป็น ß-sheet ทำให้เกิดการสร้างเครือข่ายสามมิติ (3D-network) และส่งเสริมการก่อตัวของเจลกาวไหมขึ้นมา ปรากฏการณ์นี้สามารถย้อนกลับได้เมื่อนำเจลที่เกิดขึ้นไปให้ความร้อนประมาณ 50–60°C นอกจากนี้ Gelation process ของกาวไหมยังสามารถทำได้โดยวิธี Chemical crosslinking โดยเติมสารเคมีเช่น กลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) ซึ่งจะนำไปสู่การสร้างโครงสร้าง ß-sheet ที่คงตัว (Silva *et al*., 2022) ส่วนค่า Isoelectric point (pI) ซึ่งเป็นค่า pH ที่ทำให้โมเลกุลมีประจุไฟฟ้าสุทธิเป็นศูนย์นั้น โปรตีนกาวไหมมีค่า pI ที่รายงานอยู่ระหว่าง 3.5 ถึง 4.0 ส่งผลให้กาวไหมจะมีประจุสุทธิเป็นบวกเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่ pH ต่ำกว่า 3.5 และมีประจุสุทธิเป็นลบที่ pH สูงกว่า 4.0 (Barajas Gamboa *et al*., 2016)

Table 1 Amino acid composition of sericin from selected published works.

Amino Acid (mol%)	Author		
	(Terada *et al.*, 2002)	(Aramwit *et al.*, 2012)	(Keawkorn *et al.*, 2013)
Glycine	15.7	15.03	13.5
Alanine	5.3	4.1	6.0
Serine	32.2	33.63	33.4
Tyrosine	3.7	3.45	2.6
Valine	3.6	2.88	2.8
Aspartic acid	18.0	15.64	16.7
Arginine	1.8	2.87	3.1
Glutamic acid	4.6	4.61	4.4
Isoleucine	0.7	0.56	0.7
Leucine	1.1	1.0	1.1
Phenylalanine	0.4	0.28	0.5
Threonine	8.4	8.16	9.7
Cysteine	<0.05	0.4	0.2
Histidine	1.3	1.06	1.3
Lysine	2.5	2.35	3.3
Methionine	<0.05	3.39	0.04
Proline	0.6	0.54	0.7
Tryptophan	0	0	0.2

การลอกกาวไหมและทำบริสุทธิ์

การลอกกาวไหมจะเป็นการย่อยสลายโปรตีน (Protein hydrolysis) โดยสลายพันธะเอไมด์ (Amide bond) ในโมเลกุลของกาวไหมออกเป็นชิ้นส่วนโปรตีนขนาดเล็กที่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่ใช้ในการลอกกาว (Degumming agent) โปรตีนในเส้นใยไหมคือไฟโบรอินและกาวไหมจะมีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่แตกต่างกัน ในอุตสาหกรรมสิ่งทอจะอาศัยความแตกต่างนี้ในการลอกกาวไหมเพื่อนำเส้นไหมไปใช้ประโยชน์ ซึ่งเส้นใยไหมไฟโบรอินจัดเป็นโปรตีนเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำ มีกรดแอมิโนไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic amino acid) เป็นจำนวนมาก (ประมาณ 76%) ทำให้ไฟโบรอินเป็นโครงสร้างหลักที่แข็งแรงของเส้นใยไหม ส่วนกาวไหมเป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างเป็นแบบอสัณฐาน ละลายได้ในน้ำร้อน สารละลายด่าง สบู่ กรดอินทรีย์ และ

สารซักล้างสังเคราะห์ (Synthetic detergent) โดยทั่วไปการลอกกาวไหมจากรังไหมจะนิยมใช้สภาวะที่รุนแรง เช่น ความร้อนสูง ความดันสูง หรือใช้สารเคมีพวก ยูเรีย หรือโซเดียมคาร์บอเนต และกรด ซึ่งวิธีการเหล่านี้ถึงแม้ว่าจะเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว แต่ส่งผลกระทบต่อโครงสร้างธรรมชาติของกาวไหมและอาจทำให้สูญเสียหน้าที่ทางชีวภาพไป อีกทั้งการกำจัดสารเคมีที่ตกค้างจากกระบวนการสกัดนั้นยุ่งยากซับซ้อนและอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้ (Bedge & Dixit- Potadar, 2022; Li *et al*., 2023) นอกจากนี้ กาวไหมที่ถูกลอกออกมาจากเส้นไหมในอุตสาหกรรมสิ่งทอ มักจะถูกทิ้งเป็นของเสียที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์ ปล่อยรวมลงไปในน้ำเสีย ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนกาวไหมในธรรมชาติมีความต้องการใช้ออกซิเจน (Chemical oxygen demand; COD) ในปริมาณที่สูง ซึ่งหมายความว่าจุลินทรีย์จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนจำนวนมากในการย่อยสลายกาวไหม ส่งผลให้น้ำเสียมีปริมาณออกซิเจนน้อยลง อีกทั้งน้ำเสียจากอุตสาหกรรมสิ่งทอที่มีสารประกอบไนโตรเจน (Nitrogen) และฟอสฟอรัส (Phosphorus) ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักในแหล่งน้ำในปริมาณมาก อาจนำไปสู่ภาวะสาหร่ายสะพรั่ง (Eutrophication) หรือมลภาวะจากธาตุอาหารพืช (Nutrient Pollution) ได้ ส่งผลกระทบโดยตรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ ดังนั้นการนำกาวไหมกลับมาใช้ประโยชน์ เช่นผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่มีกาวไหมเป็นส่วนประกอบ นอกจากจะช่วยลดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมแล้วยังสามารถสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจได้อีกด้วย

การลอกกาวไหมด้วยน้ำบริสุทธิ์

การลอกกาวไหมด้วยความร้อนและความดันสูง (High temperature high pressure : HTHP) หรือการใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อแรงดันสูง (Autoclave) ที่ 115 °C เป็นวิธีแบบดั้งเดิมที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายกับเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมรายย่อย โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย และมีรายงานว่าสามารถลอกกาวไหมได้มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าการต้มด้วยสารละลายด่าง (Alkali treatment) โดยไม่ส่งผลกระทบต่อโครงสร้างของเส้นใยไฟโบรอินมากนัก การลอกกาวไหมโดยการ Autoclave รังไหมในน้ำที่ 115 °C นาน 180 นาที สามารถลอกกาวไหมได้ถึง 96% ข้อดีของวิธีนี้คือปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าวิธีการสกัดโดยใช้สารเคมี (Choudhury & Devi, 2016) อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ยังไม่ถูกนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์อย่างจริงจัง เนื่องจากมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น คุณภาพของรังไหมส่งผลต่อการละลายของกาวไหม การใช้รังไหมที่ยังไม่แก่ (Unripe cocoon) จะละลายได้ไม่ดีและจะเกิดเป็นผลึก (Crystalline structures) นอกจากนี้การแช่รังไหมด้วย 70% Ethanol ก่อนนำไปลอกกาวจะช่วยกำจัดสารฟลาโวนอยด์และรงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ออกจากรังไหมที่มีสีได้ (Bedge & Dixit- Potadar, 2022)

การลอกกาวไหมด้วยวิธีต้มด้วยสารละลายด่างและสบู่

การลอกกาวไหมโดยใช้การต้มด้วยสารละลายด่างและสบู่เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมสิ่งทอ วิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว สามารถนำไปใช้ในการลอกกาวในโรงงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยจะต้มรังไหมใน 0.5% โซเดียมคาร์บอเนตเป็นเวลา 30 นาทีแล้วทำการกรองเอาเส้นใยไฟโบรอินไปใช้ประโยชน์ ความเข้มข้นของสารละลายด่างจะขึ้นอยู่กับชนิดของไหม เส้นใยไหมที่ละเอียดอ่อนจะต้องใช้สารละลายด่างที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า การใช้สบู่ซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างอ่อนจะช่วยให้โมเลกุลของกาวไหมดูดซับน้ำ เกิดการพองตัวและสลายพันธะไฮโดรเจนที่เชื่อมต่อระหว่างโมเลกุล ช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างกาวไหมกับน้ำ ทำให้กาวไหมกระจายตัวเป็นหยดเล็กๆ ลอยอยู่ในน้ำเกิดเป็นอิมัลชันขึ้นและจะถูกชะล้างออกจากเส้นใยไหมด้วยน้ำร้อน การลอกกาวโดยใช้สบู่นิยมใช้สบู่ที่ทำจากน้ำมันมะกอก แต่มีข้อจำกัดคือมีราคาแพงและต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ ดังนั้น โรงงานอุตสาหกรรมจึงนิยมใช้สบู่แบบโฮมเมดแทน โดยมีส่วนประกอบหลักเป็นโซเดียมสเตียเรต อย่างไรก็ตามการใช้สบู่และด่างในการลอกกาวจะผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม หากมีการปลดปล่อยสู่แหล่งน้ำในปริมาณสูงจะก่อให้เกิดมลพิษรุนแรงต่อแหล่งน้ำได้ (P. Aramwit *et al*., 2010; Mahmoodi *et al*., 2010)

การลอกกาวไหมด้วยสารละลายกรด

การลอกกาวไหมโดยใช้สารละลายกรดอินทรีย์ เป็นสภาวะที่รุนแรงน้อยกว่าการใช้สารละลายด่าง ในอุตสาหกรรมสิ่งทอนิยมใช้กรดซิตริกซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากกระบวนการหมัก โดยนำรังไหมมาสกัดด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 30% (w/v) ที่อุณหภูมิ 98 °C จะสามารถกำจัดเซริซินได้เกือบ 100% อีกทั้งการลอกกาวด้วยวิธีนี้ทำให้เส้นไหมสูญเสียความแข็งแรงดึง (Tensile strength) น้อยกว่าการลอกกาวแบบสบู่-ด่าง (Soap-alkali method) (Khan *et al*., 2010) นอกเหนือจากกรดซิตริกแล้ว การใช้กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid) ในการลอกกาวก็ให้ผลลัพธ์ที่ดีในแง่ของสมบัติทางกายภาพของเส้นไหม (Physicochemical properties) และการย้อมสีที่ดียิ่งขึ้น (Bedge & Dixit- Potadar, 2022)

การลอกกาวไหมโดยใช้เอนไซม์

การลอกกาวไหมโดยใช้เอนไซม์ (Enzymatic degumming) เป็นกระบวนการที่ใช้ตัวเร่งปฏิกริยาทางชีวภาพ เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และมีผลกระทบต่อเส้นไหมน้อย ได้ผลผลิตเป็นเส้นไหมที่นุ่มนวลและผ่านการลอกกาวอย่างสม่ำเสมอ เอนไซม์ที่นำมาลอกกาวเป็นเอนไซม์ในกลุ่มที่ย่อยสลายโปรตีนหรือโปรตีเอส (Protease) ส่วนใหญ่ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิและความเข้มข้นต่ำ และสามารถช่วยประหยัดทรัพยากรต่างๆ เช่น น้ำ พลังงาน สารเคมี และลดภาระในการบำบัดน้ำเสีย นอกจากนี้ เอนไซม์โปรตีเอสยังสามารถย่อยสลายกาวไหมได้ดีและมีผลต่อไฟโบรอินน้อย โดยเอนไซม์โปรตีเอสชนิดด่าง (Alkali protease) มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการลอกกาวไหม คงความแวววาวของเส้นไหม และรักษาคุณสมบัติด้านความแข็งแรง (Tensile properties) วิธีการลอกกาวไหมด้วยเอนไซม์มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้สารละลายด่างซึ่งจะกำจัดกาวไหมแบบไม่จำเพาะเจาะจงอีกทั้งส่งผลต่อโครงสร้างและคุณสมบัติของเส้นใยไฟโบรอิน (Kim *et al*., 2016) เอนไซม์โปรตีเอสที่ใช้ในการลอกกาวนั้นมีหลายชนิดทั้งที่ได้จากสัตว์ พืช และจุลินทรีย์

การใช้เอนไซม์โปรตีเอสจากแบคทีเรียและราที่นิยมใช้ในการลอกกาวไหม ได้แก่ อัลคาเลส (Alcalase) และซาวิเนส (Savinase) หรือใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดผสมกัน โดยที่มีรายงานว่าการใช้เอนไซม์ซาวิเนส มีประสิทธิภาพที่ดีกว่า นอกจากองค์ประกอบที่เป็นโปรตีนแล้ว เส้นไหมยังมีส่วนที่ไม่ใช่โปรตีน เช่น คาร์โบไฮเดรต ฝุ่น ไข (Wax) และแร่ธาตุ ไขเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำซึ่งจะส่งผลต่อความแวววาวและความนุ่มของไหม การกำจัดไขออกจากเส้นไหมจึงมีความสำคัญ ดังนั้น การใช้เอนไซม์ไลเปส (Lipase) ร่วมกับโปรติเอสจะให้

ผลลัพธ์ที่ใกล้เคียงกับการลอกกาวด้วยสบู่ นอกจากนี้การลอกกาวโดยใช้เอนไซม์ยังช่วยปรับปรุงการย้อมติดสีของเส้นไหมที่มักจะเป็นปัญหาเมื่อใช้สารละลายด่างหรือสบู่ในการลอกกาวได้อย่างมีนัยสำคัญ (Gulrajani, Agarwal, Grover, *et al*., 2000)

เอนไซม์ดีกัมเมส (Degummase) ที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถนำมาใช้ลอกกาวไหมได้ โดยมีประสิทธิภาพในการลอกกาวไหมทำให้น้ำหนักรังไหมหายไป (weight loss) ประมาณ 22% ที่อุณหภูมิ 50°C ในขณะที่การใช้สบู่หรือด่างต้องใช้อุณหภูมิ 100 °C ขึ้นไปจึงจะได้ค่าน้ำหนักที่หายไป 24% นอกจากนี้ เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อรา ก็ถูกนำมาใช้ในการลอกกาวไหมได้เช่นกัน ตัวอย่างเช่น เอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากเชื้อรา *Conidiobolus* sp. เข้มข้น 3 mg/ml ใช้เวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 °C ทำให้น้ำหนักรังไหมหายไปได้ประมาณ 19.8% (Freddi *et al*., 2003; Gulrajani, Agarwal, & Chand, 2000) ส่วนเอนไซม์ โปรติเอสจากเชื้อรา *C. brefeldianus* และ *Actinomycete* ได้ค่าน้ำหนักที่หายไป 19.58% ถึง 21.78% (More *et al*., 2013) ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้สารละลายด่างหรือสบู่ในการลอกกาว

เอนไซม์โปรตีเอสจากพืชสามารถนำมาใช้ลอกกาวไหมได้เช่นกัน โดยเอนไซม์ปาเปน (Papain) ที่สกัดได้จากยางของมะละกอดิบ มีคุณสมบัติในการย่อยสลายโปรตีนและนำมาใช้ลอกกาวได้ผลดีใกล้เคียงกับการใช้สารละลายด่างหรือสบู่ อีกทั้งยังช่วยรักษา Tensile strength ของเส้นไหมและทำให้เส้นไหมสามารถติดสีได้ดีขึ้นหลังการย้อมเช่นกัน (Nakpathom *et al*., 2009)

ในระยะที่หนอนไหมจะเปลี่ยนไปเป็นดักแด้ ซึ่งเป็นระยะที่ไม่กินอาหารและจะสร้างเส้นใยไหมเพื่อห่อหุ้มตัวเอาไว้เพื่อก่อตัวเป็นรังไหม (Cocoon) จากนั้นเมื่อดักแด้ฟักออกมาเป็นผีเสื้อจะใช้เอนไซม์ Cocoonase ช่วยในการออกจากรังไหม Cocoonase เป็นเอนไซม์ในกลุ่มเซอรีนโปรตีเอสที่มีโครงสร้างและกลไกการทำงานคล้ายกับเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin-like serine protease) ผลิตโดยผีเสื้อไหมหลายชนิด ทั้งที่กินใบหม่อนและไม่กินใบหม่อน ทำหน้าที่หลักคือย่อยสลายกาวไหม ทำให้ให้ผีเสื้อไหมมุดออกมาจากรังไหมได้ง่าย เอนไซม์ชนิดนี้มีความจำเพาะสูง คือจะย่อยเฉพาะโปรตีนกาวไหมเท่านั้น ไม่ย่อยไฟโบรอิน ผีเสื้อไหมจึงสามารถขุดรูที่ปลายรังไหมที่ไฟโบรอินนั้นไม่มีกาวยึดติดอีกต่อไปและมุดออกมาจากรังไหมได้ (Rodbumrer *et al*., 2012) ด้วยความจำเพาะของ Cocoonase ทำให้นักวิทยาศาสตร์สนใจนำไปใช้ในการลอกกาวไหม ด้วยวิธีการโคลนยีนที่เก็บรหัสสำหรับเอนไซม์ Cocoonase เพื่อสร้าง Recombinant cocoonase ทั้งในแบคทีเรีย *Escherichia coli* ใน Insect cell และในยีสต์ *Pichia pastoris* เพื่อผลิตเอนไซม์ในปริมาณมาก โดยเอนไซม์ที่ได้จากกระบวนการพันธุวิศวกรรมนี้สามารถย่อยสลายกาวไหมได้ถึง 98% โดยไม่กระทบต่อเส้นใยไฟโบรอิน นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มคุณภาพของเส้นใยไหมด้วยการทำให้สีของเส้นใยอ่อนลงและมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า cocoonase จากธรรมชาติที่สกัดจากหนอนไหมอีกด้วย (Rodbumrer *et al*., 2012; Unajak *et al*., 2015)

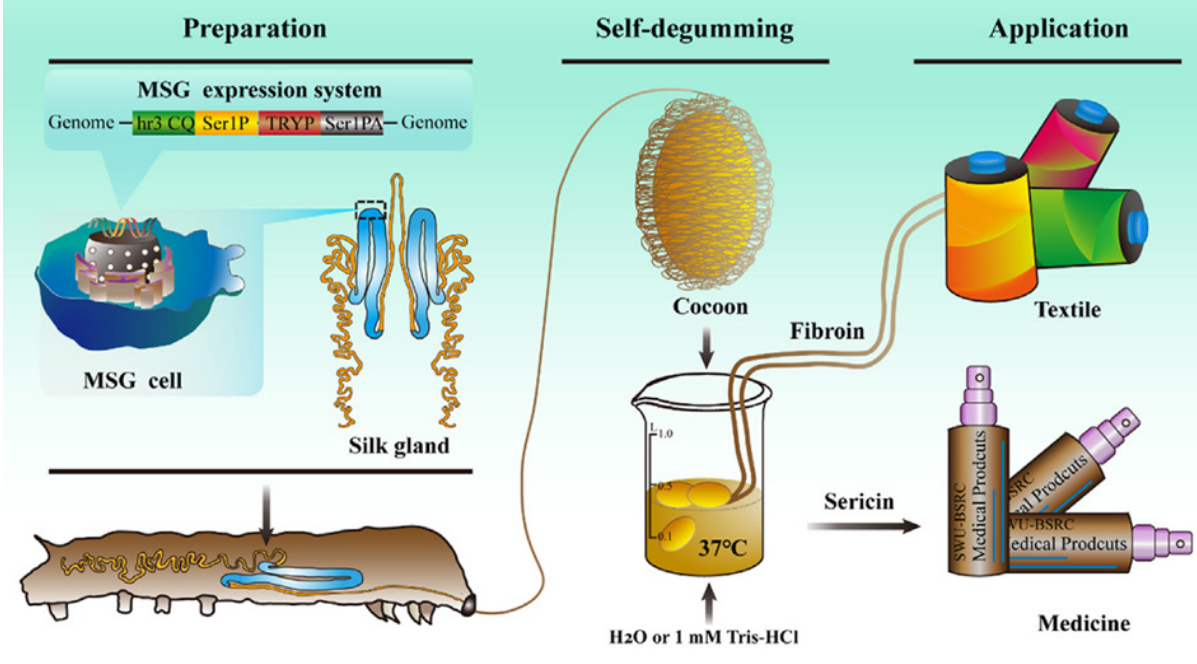

Figure 4 A novel technique to generate self-degummed cocoon using genetic engineering (Wang *et al*., 2023)

ได้มีการศึกษาค้นคว้าวิธีการสลายรังไหมแบบ Self-degumming โดยใช้เทคนิคการตัดต่อพันธุกรรมของหนอนไหมซึ่งเป็นนวัตกรรมใหม่ที่อาศัยการตัดต่อยีนที่เก็บรหัสสำหรับโปรตีนทริปซิโนเจน (Trypsinogen) ซึ่งเป็น Precursor ของเอนไซม์ทริปซิน แล้วนำเข้าสู่เซลล์เพื่อให้มีการผลิต Recombinant protein ของทริปซิโนเจน ซึ่งจะเกิด Auto-activation เปลี่ยนไปเป็นเอนไซม์ทริปซินในปริมาณมากภายในชั้นของกาวไหมในรังไหม ทริปซิโนเจนเป็นเอนไซม์ที่ยังไม่พร้อมที่จะเร่งปฏิกริยา (Inactive) จะต้องผ่านกระบวนการกระตุ้นตัวเอง (Auto-activation) หรือถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ชนิดอื่น (Enterokinase) โดยการตัดส่วน Inhibitory peptides ที่มีลำดับกรดแอมิโน Phe-Pro-Thr-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys ออกจากทริปซิโนเจนเพื่อกลายเป็นเอนไซม์ทริปซินที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์บริเวณ C-terminal ในตำแหน่งที่มีกรดแอมิโนไลซีนและอาร์จินีนที่อยู่ติดกัน นอกจากนี้ทริปซินยังมีความจำเพาะสูงเพราะจะไม่สามารถย่อยสลายไฟโบรอินเนื่องจากโมเลกุลของไฟโบรอินมีตำแหน่งที่ทริปซินตัดได้ (Cleavage site; Lys-Arg) น้อยมาก ส่วนโมเลกุลของกาวไหมมีตำแหน่งที่ทริปซินตัดได้ค่อนข้างมาก ทำให้ทริปซินสามารถกำจัดชั้นกาวไหมออกจากเส้นไหมได้โดยไม่กระทบต่อโครงสร้างของไฟโบรอิน (Omar *et al*., 2021) อีกทั้งยังส่งผลให้ได้เส้นไหมที่มีคุณภาพดีและได้กาวไหมไปใช้ประโยน์โดยไม่ต้องใช้สารเคมีใด ๆในการลอกกาวอีกด้วยโดยนำรังไหมไปแช่ในน้ำกลั่นหรือ 1 mM Tris-HCl, pH = 8.0 แล้วนำไปบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Figure 4) (Wang *et al*., 2023)

การลอกกาวไหมด้วยสารละลายยูเรีย

การลอกกาวไหมด้วยสารละลายยูเรียควบคู่กับการใช้ Autoclave มีประสิทธิภาพในการลอกกาวไหมมากกว่า (18.60–23.10% และ 17.00–21.27% weight loss ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับการสกัดโดยใช้สารละลายกรดซิตริกและโซเดียมคาร์บอเนต (8.33–15.19% และ 5.93–12.69% weight loss ตามลำดับ) นอกจากนี้การใช้ยูเรียในการสกัดจะส่งผลให้โปรตีนกาวไหมที่มีมวลโมเลกุลสูงกว่า (10 ถึง >225 kDa) เมื่อเทียบกับขนาดของโปรตีนที่ได้จากการลอกกาวด้วยสารละลายกรด (50–150 kDa) สารละลายด่าง (15–75 kDa) หรือใช้ความร้อนสูง (25–150 kDa) และเมื่อนำไปวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE กาวไหมที่สกัดด้วยสารละลายยูเรียจะเห็นแถบของโปรตีนได้ชัดเจนกว่าวิธีอื่นๆ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดด้วยยูเรียมีผลกระทบต่อการย่อยสลายหรือการเสียสภาพธรรมชาติของกาวไหมน้อยและได้ผลผลิตที่สูง (P. Aramwit *et al*., 2010; Silva *et al*., 2022)

ฤทธิ์ทางชีวภาพของกาวไหมและการนำไปใช้ประโยชน์

1. Biocompatibility และ immunogenicity

กาวไหมเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีประโยชน์ใช้สอยหลากหลายในด้านชีวการแพทย์ มีคุณสมบัติเข้ากันได้กับร่างกาย (Biocompatibility) ไม่ก่อให้เกิดการแพ้ เพราะไม่กระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งเป็นสิ่งที่สำคัญสำหรับวัสดุที่จะนำไปใช้ทางการแพทย์ ทำให้เป็นวัสดุที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในทางชีวภาพ งานวิจัยใหม่ๆ ชี้ให้เห็นว่ากาวไหมมีศักยภาพที่ดีในการเป็นวัสดุทางชีวภาพที่มีความปลอดภัยสูงและยังช่วยส่งเสริมการเจริญของเซลล์และเนื้อเยื่อได้เป็นอย่างดี ในปัจจุบัน นักวิจัยกำลังศึกษาและพัฒนากาวไหมสำหรับการใช้งานทางการแพทย์ที่หลากหลาย เช่น เป็นวัสดุปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ วัสดุที่ใช้ในการขนส่งยา แผ่นปิดแผลที่ช่วยในการรักษาแผล ช่วยให้แผลหายเร็ว ลดการอักเสบ และป้องกันการติดเชื้อ (Liu *et al*., 2022) เป็นต้น โดยได้มีการศึกษาและพัฒนาวัสดุปิดแผลชนิดไฮโดรเจลที่ทำจากโปรตีนกาวไหม (Silk sericin based hydrogel; SSH) โดยใช้เอนไซม์ Horseradish peroxidase (HRP) เป็นตัวเชื่อมประสาน (Crosslink) ผลการทดลองพบว่า SSH มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานในทางคลินิกและไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ ส่งเสริมประสิทธิภาพในการรักษาแผลรวมถึงเพิ่มจำนวนของหลอดเลือดที่สร้างใหม่ได้ ซึ่งจากการศึกษาในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวาน พบว่า การใช้ SSH ที่บาดแผลของหนูทดลองช่วยลดระยะห่างของขอบแผลและทำให้แผลสมานกันได้เร็วขึ้น รวมถึงมีประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ยารักษาแผล Tegaderm เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่าแผลที่ได้รับการรักษาด้วย SSH มีการงอกของรากขนตามปกติ ลดภาวะพังผืดที่ผิวหนังและมีระดับของสารกระตุ้นการอักเสบในเนื้อเยื่อแผลน้อยกว่าซึ่งอาจเป็นปัจจัยสำคัญในการลดรอยแผลเป็นและส่งผลต่อคุณภาพผิวที่ดีขึ้น (Baptista-Silva *et al*., 2022) กาวไหมยังสามารถนำมาผลิตเป็นพลาสติกชีวภาพ (Biodegradable polymers) ที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ โดยการนำไปผสมกับเรซินชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ โฟมยูริเทน (Polyurethane foams) ที่มีส่วนผสมของกาวไหม ยังมีคุณสมบัติในการดูดซับและปล่อยความชื้นได้ดีเยี่ยม (Minoura *et al*., 1995) แผ่นฟิล์มที่ทำจากกาวไหมและไฟโบรอิน มีคุณสมบัติเด่นตรงที่สามารถให้ออกซิเจนซึมผ่านได้ดี เหมาะสำหรับการนำไปใช้สร้างกระจกตาเทียม นอกจากนี้ยังสามารถนำไปผลิตวัสดุทางการแพทย์ที่มีสมบัติในการต้านการแข็งตัวของเลือด (Anticoagulant properties) โดยผสมกาวไหมและไฟโบรอินแล้วนำไปผ่านกระบวนการซัลโฟเนต (Sulfonation treatment) (Bedge & Dixit- Potadar, 2022)

2. ความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของเซลล์

จากการวิจัยพบว่า กาวไหมมีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์และยังรักษาหน้าที่ทางชีวภาพของเซลล์ประเภทต่างๆ ไว้ได้ ทั้งเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมปกติ (Normal mammalian cell) เซลล์มะเร็ง (Tumor cell) และเซลล์แมลง (Insect cell) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่กาวไหมสามารถใช้ทดแทนโปรตีนพวก Bovine serum albumin (BSA) หรือ Fetal bovine serum (FBS) เพื่อใช้เป็นสารอาหารเลี้ยงเซลล์ได้ ตัวอย่างเช่น อาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) ที่ไม่มีซีรั่ม เมื่อผสมกับกาวไหม (0.05%) สามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการต่อต้านริ้วรอยของเซลล์ Skin fibroblasts ได้ และอาหารเลี้ยงเซลล์ Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 ที่มีเซริซิน (0.01%) ช่วยรักษาการทำงานของ Pancreatic islet cells ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด (Li *et al*., 2023; Liu *et al*., 2022) กาวไหมยังมีคุณสมบัติในการรองรับการยึดเกาะของเซลล์ โดยแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากกาวไหมสามารถนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ซึ่งผลการทดลองพบว่าเซลล์สามารถยึดเกาะและเพิ่มจำนวนได้ดีเทียบเท่ากับ Styrene culture plate ที่ใช้กันโดยทั่วไป (Pornanong Aramwit *et al*., 2010)

จากการศึกษาพบว่ากาวไหมสามารถช่วยป้องกันเซลล์ผิวหนังจากการเกิดการตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ (Programmed cell death หรือ Apoptosis) ที่เหนี่ยวนำด้วยรังสี UV ได้ เมื่อเซลล์ได้รับรังสี UV ทำให้เอนไซม์ Caspase-3 ถูกกระตุ้นและทำให้เกิดการสลายตัวของโปรตีนที่จำเป็นสำหรับการอยู่รอดของเซลล์ กาวไหมสามารถยับยั้งการกระตุ้น Caspase-3 และป้องกันเซลล์จากการตายได้ ทำให้กาวไหมมีศักยภาพในการป้องกันผิวจากรังสี UV (Dash *et al*., 2008) นอกจากนั้นกาวไหมยังช่วยกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์และช่วยส่งเสริมกระบวนการ Cell differentiation อีกด้วย โดยมีงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นว่ากาวไหมสามารถกระตุ้น Primary human retinal pigment epithelial cells (hRPEs) ให้เกิดการ Differentiate และเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว โดยอาศัย NF-$_{\kappa}$B pathway และพบว่าใน hRPEs มีการสังเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับวงจรการมองเห็น (Visual cycle) เช่น RPE65, RDH10 และ CRALBP เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Liu *et al*., 2022) ส่วนทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก (Bone tissue engineering) กำลังมีการศึกษาค้นคว้าเพื่อนำกาวไหมมาประยุกต์ใช้ในงานปลูกถ่ายกระดูกเพราะกาวไหมมีคุณสมบัติที่น่าสนใจหลายประการ ได้แก่ เข้ากันได้กับร่างกาย ชอบน้ำ (Hydrophilic) และมีราคาไม่แพง ทำให้เป็นตัวเลือกที่ดีในการเสริมประสิทธิภาพของวัสดุปลูกถ่ายกระดูกแบบเดิม นอกจากนี้ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) และป้องกันรังสี UV ของกาวไหมยังส่งเสริมสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการฟื้นฟูของกระดูก อีกทั้งการนำกาวไหมไปผสมผสานกับเทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติ (3D-printing) อาจจะช่วยสร้างวัสดุปลูกถ่ายกระดูกแบบเฉพาะบุคคลได้อีกด้วย (Kim *et al*., 2023) จะเห็นได้ว่ากาวไหมเหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยวัสดุชีวภาพที่ผลิตจากกาวไหมมีการศึกษาและนำไปใช้กันอย่างแพร่หลายในด้านต่างๆ เช่น วิศวกรรมเนื้อเยื่อไขมัน (Adipose tissue engineering) การฟื้นฟูประสาทที่ได้รับบาดเจ็บ (Nerve injury repair) การรักษาแผลบนผิวหนัง (Skin injury repair) และการรักษาแผลที่กระจกตา (Corneal epithelial repair) เป็นต้น (Li *et al*., 2023; Liu *et al*., 2022)

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

มีงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกาวไหมในหลอดทดลอง *(in vitro)* เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1998 พบว่า กาวไหมสามารถยับยั้งการเกิด Lipid peroxidation ในเนื้อเยื่อสมองของสัตว์ทดลองซึ่งเกิดจากจากการที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (Polyunsaturated fatty acids) ซึ่งมีความไม่คงตัวสูงและสามารถสลายไปเป็น Malondialdehyde ซึ่งถ้ามีอยู่ในเซลล์ในปริมาณมาก จะนำไปสู่การเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ความดันโลหิตสูง เบาหวาน และไขมันในเลือดสูง (Hyperlipidemia) นอกจากนั้นกาวไหมยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในปฏิกิริยาการเกิดเป็นสีน้ำตาลของอาหารต่างๆ (Browning reactions) และการสังเคราะห์เมลานิน รวมถึงมีบทบาทในการเกิดโรคมะเร็งและโรคระบบประสาทเสื่อม (Kato *et al*., 1998)

ในรังไหมของหนอนไหมบ้าน *Bombyx mori* ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และรงควัตถุหลายชนิด รวมถึงแคโรทีนอยด์สะสมอยู่ในชั้นของกาวไหม สารเหล่านี้มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญคือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากการวิจัยพบว่า กาวไหมที่สกัดจากรังไหมที่มีสี มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้ดีกว่ากาวไหมที่สกัดได้จากรังไหมที่ผ่านกระบวนการกำจัดรงควัตถุด้วยเอธานอลแต่ก็ยังคงมีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์นี้ แสดงให้เห็นว่ากาวไหมเองก็มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้สายพันธุ์ของหนอนไหม และวิธีการลอกกาวไหมจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี รวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเช่นกัน (P. Aramwit *et al*.,

2010; Kurioka & Yamazaki, 2002) การลอกกาวไหมโดยใช้สารละลายยูเรียจะได้เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 10 ถึง 225 kDa และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับเปปไทด์ที่ได้จากการลอกกาวไหมด้วยสารละลายด่าง การลอกกาวด้วยยูเรียนั้นจะพบเปปไทด์สายสั้น ๆที่มีกรดแอมิโนอาร์จินีนและวาลีนเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง ซึ่งเปปไทด์กลุ่มนี้ที่มักจะมีฤทธิ์ในการจับกับเอนไซม์ไทโรซิเนสและมีฤทธิ์ในการยับยั้งที่ดีที่สุดในกลุ่มเปปไทด์ขนาดเล็ก และจากการศึกษารังไหมของหนอน *B. mori* 20 สายพันธุ์ แสดงให้เห็นว่าแหล่งที่มาของกาวไหมมีผลต่อคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเทส และการกำจัดอนุมูลอิสระอีกด้วย (Chlapanidas *et al*., 2013; Kunz *et al*., 2016)

มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นผลของวิธีการสกัดต่อศักยภาพต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกาวไหมที่ได้มาจากรังไหมของหนอนไหม 3 สายพันธุ์คือ *B. mori*, *Antheraea assamensis* และ *Philosamia ricini* จากผลการทดลองพบว่าวิธีการสกัดที่ใช้คือ ใช้ความร้อน Autoclave สารละลายกรด สารละลายด่าง และสารละลายยูเรีย นั้นส่งผลต่อน้ำหนักโมเลกุลและโครงสร้างทุติยภูมิของเปปไทด์ที่ได้ นอกจากนั้น ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ยังแตกต่างกันไปตามวิธีการสกัดด้วย และพบว่าการสกัดด้วยสารละลายกรดจะได้ปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด ส่วนการสกัดด้วยสารละลายด่างด่างจะได้เปปไทด์ไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีโครงสร้างทุติยภูมิแบบ Random coil และ α-helix เป็นหลัก และละลายได้ดีในเมทานอล รวมถึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดโดยแสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงกำจัด Reactive Oxygen Species และยับยั้งการเกิด Lipid peroxidation ภายใน เซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู L-929 ได้ดีที่สุด (Kumar & Mandal, 2017)

กาวไหมยังมีฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์ตับและกระเพาะอาหารจากการเกิด Oxidative damage ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยแอลกอฮอล์ในหนูทดลอง โดยคณะผู้วิจัยพบว่าหนูที่ได้รับโปรตีนกาวไหมสามารถขับแอลกอฮอล์ออกทางปัสสาวะได้มากกว่าหนูในกลุ่มควบคุม ส่งผลให้ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในเลือดลดลงอีกทั้งยังช่วยกระตุ้นให้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์เช่น เอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD) เอนไซม์ Catalase (CAT) และเอนไซม์ Glutathione peroxidase (GPx) ให้ทำหน้าที่ได้ดียิ่งขึ้น แสดงให้เห็นถึงบทบาทในการปกป้องเซลล์ตับจากภาวะ Lipid peroxidation และยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ นอกจากนี้กาวไหมยังช่วยฟื้นฟูสัณฐานของเซลล์และรักษาความสมบูรณ์ของไมโตคอนเดรียในเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหาร ซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกาวไหมเช่นกัน (Jena *et al*., 2018; Li *et al*., 2008) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพในการปกป้องผิวของสารสกัดกาวไหม จากไหมไทยพื้นบ้าน *B. mori* สามสายพันธุ์โดยใช้ เซลล์มะเร็งผิวหนังชนิด Human epidermoid carcinoma (A431) และแบบจำลองเนื้อเยื่อผิวหนังชั้นนอกของมนุษย์ (Reconstructed human epidermis; RhE) โดยใช้ยา Chlorpromazine (CPZ) เหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดภาวะ Phototoxicity ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดกาวไหมช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเซลล์ A431 ได้อย่างมีประสิทธิภาพหลังจากการสัมผัสกับยา CPZ และการฉายรังสี UVA โดยมีค่า IC_{50} ของยา CPZ และรังสี UVA ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญรวมถึงมีสัดส่วนของเซลล์ที่ตาย (Apoptotic cells) ที่ลดลง ซึ่งกลไกการปกป้องนี้เกี่ยวข้องกับการลดระดับของความเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ภายในเซลล์ผ่านกระบวนการเพิ่มระดับกลูตาไธโอน (Glutathione) นอกจากนี้สารสกัดกาวไหมยังแสดงฤทธิ์ในการปกป้องผิวหนังจำลอง (RhE) จากอาการแพ้แสงที่เกิดจากยา CPZ ร่วมกับรังสี UVA โดยสังเกตจากการคงอยู่ของเซลล์ผิวหนังชั้นนอกและการลดลงของสารไซโตไคน์ interleukin-1α ซึ่งเป็นสารที่กระตุ้นการอักเสบ ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดกาวไหมในการนำไปใช้ประโยชน์ใหม่ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการปกป้องผิวจากอาการแพ้แสงที่เกิดจากการใช้ยา (Rosena *et al*., 2018)

การแช่แข็งเพื่อเก็บรักษา (Cryopreservation) เป็นเทคโนโลยีสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ รวมถึงสามารถการนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย อย่างไรก็ตามการแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำมากนั้นก่อให้เกิดความเครียดออกซิเดชันอย่างรุนแรงต่อเซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะ ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตนั้นลดลงและส่งผลกระทบต่อการทำหน้าที่ทางชีวภาพ จากการวิจัยพบว่า กาวไหมมีฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์จากความเครียดออกซิเดชันที่เกิดจากอุณหภูมิต่ำมากๆได้ อีกทั้งยังมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ จึงได้มีการศึกษาเพื่อพัฒนาสารป้องกันเซลล์จากการแช่แข็ง (Cryoprotectants) ที่มีส่วนผสมของกาวไหมขึ้นมาเพื่อใช้ปกป้องเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม น้ำเชื้อกระบือ และสเปิร์มของมนุษย์ในการแช่แข็งเพื่อเก็บรักษา โดยการเติมสารสกัดกาวไหม (0.25%–0.5%) ซึ่งส่งผลให้ระดับของ Malondialdehyde ในน้ำเชื้อลดลง พร้อมทั้งช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ GPx และ SOD ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์สเปิร์มมีความสมบูรณ์แข็งแรงมากขึ้นและทำให้อัตราการรอดชีวิตของสเปิร์มในการแช่แข็งเพื่อเก็บรักษาสูงขึ้น (Aghaz *et al*., 2020; Cao & Zhang, 2017; Liu *et al*., 2022)

ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตถึงแม้จะมีการสร้าง ROS ขึ้นมาตลอดเวลาจากกระบวนการเมแทบอลิซึม แต่ ROS จะส่งผลเสียกับร่างกายเมื่อสะสมอยู่ในปริมาณที่มากเกินไป ซึ่ง ROS เหล่านี้มีอนุมูลอิสระที่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆได้ เนื่องจากความไม่เสถียรที่จะส่งผลเสียต่อเซลล์และนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ ในอุตสาหกรรมอาหาร (Food industry) มักนิยมใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เช่น BHT (Butylated hydroxytoluene) และ BHA (Butylated hydroxyanisole) เพราะมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติและมีราคาถูกกว่า อย่างไรก็ตามสารสังเคราะห์เหล่านี้ก็มักสร้างความกังวลด้านความปลอดภัยต่อสุขภาพ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติจึงเป็นที่ต้องการมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ในปัจจุบันมีการนำโปรตีนกาวไหมมาประยุกต์ใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากมีกรดแอมิโนที่มีหมู่ฟังก์ชันต่างๆที่ทำให้อนุมูลอิสระเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่เสถียรและช่วยยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ เช่นไทโรซีน ทริปโตเฟน ฮีสทิดีนและซิสเตอีน นอกจากนี้ในกาวไหมยังมีสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย ด้วยเหตุนี้การนำกาวไหมไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารจะส่งผลดีต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของอาหารได้เป็นอย่างดี (Fan *et al*., 2009; Seo *et al*., 2023)

มีผลการวิจัยมากมายที่แสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของกาวไหมน่าจะมาจากสององค์ประกอบหลัก ได้แก่ปริมาณของกรดแอมิโนเซอรีนและทรีโอนีนที่สูงซึ่งกรดแอมิโนทั้งสองชนิดนี้มีหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งทำหน้าที่จับ (Chelation) กับแร่ธาตุต่างๆ เช่น ทองแดงและเหล็ก แร่ธาตุเหล่านี้สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันในร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นภายในเซลล์ แต่กาวไหมสามารถช่วยในการยับยั้งกระบวนการนี้ได้ นอกจากนี้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์ที่พบในชั้นของกาวไหมก็มีส่วนสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน ทำให้กาวไหมมีคุณสมบัติเด่นในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลายและเป็นสารที่ปลอดภัย เหมาะสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมอาหารและเวชสำอาง (Devi *et al*., 2011; Jena *et al*., 2018; Kunz *et al*., 2016; Liu *et al*., 2022)

บทสรุป

เซริซินหรือกาวไหมเป็นโปรตีนที่พบในธรรมชาติพบได้ในรังไหมและต่อมไหม มีคุณสมบัติที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ร่างกาย และสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ แต่ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ กาวไหมส่วนใหญ่กลับถูกทิ้งให้สูญเปล่าไปกับของเสียในอุตสาหกรรม ทำให้ไม่ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่ จากการศึกษาพบว่ากาวไหม มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่นสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ทำให้ลดการสร้างเม็ดสี มีประโยชน์ในผลิตภัณฑ์ดูแลผิว และเวชสำอาง มีฤทธิ์ยับยั้งการแข็งตัวของเลือด มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง และฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย หรือช่วยป้องกันรังสี UV เป็นต้น นอกจากนี้ กาวไหมยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์ชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ไม่มีซีรั่ม จะเห็นได้ว่าการนำกาวไหมมาใช้ประโยชน์นั้นมีข้อได้เปรียบกว่าการใช้วัสดุธรรมชาติชนิดอื่นๆ เพราะนำมาใช้ได้ง่าย สะดวก สามารถนำไปผสมกับพอลิเมอร์ธรรมชาติหรือพอลิเมอร์สังเคราะห์ชนิดอื่นได้ ข้อดีนี้เมื่อรวมกับศักยภาพทางด้านต่างๆที่กล่าวมาและคุณสมบัติทางชีวภาพที่หลากหลายเหล่านี้ รวมถึงการที่สามารถสกัดกาวไหมจากของเสียที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมสิ่งทอจึงมีราคาที่ไม่สูง ทำให้กาวไหมจัดเป็นโปรตีนจากธรรมชาติที่มีศักยภาพสำหรับการนำไปใช้ในทางเภสัชกรรม การแพทย์ชีวภาพ เวชสำอาง อุตสาหกรรมอาหาร และเทคโนโลยีชีวภาพอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

Aghaz, F., Khazaei, M., Vaisi-Raygani, A., & Bakhtiyari, M. (2020). Cryoprotective effect of sericin supplementation in freezing and thawing media on the outcome of cryopreservation in human sperm. *The Aging Male, 23*(5), 469-476. https://doi.org/10.1080/13685538.2018.1529156

Ahsan, F., Ansari, T. M., Usmani, S., & Bagga, P. (2018). An insight on silk protein sericin: From processing to biomedical application. *Drug Res (Stuttg), 68*(6), 317-327. https://doi.org/10.1055/s-0043-121464

Aramwit, P., Damrongsakkul, S., Kanokpanont, S., & Srichana, T. (2010). Properties and antityrosinase activity of sericin from various extraction methods. *Biotechnol Appl Biochem, 55*(2), 91-98. https://doi.org/10.1042/ba20090186

Aramwit, P., Kanokpanont, S., Nakpheng, T., & Srichana, T. (2010). The effect of sericin from various extraction methods on cell viability and collagen production. *Int J Mol Sci, 11*(5), 2200-2211. https://www.mdpi.com/1422-0067/11/5/2200

Aramwit, P., Keongamaroon, O., Siritientong, T., Bang, N., & Supasyndh, O. (2012). Sericin cream reduces pruritus in hemodialysis patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled experimental study. *BMC Nephrol, 13*, 119. https://doi.org/10.1186/1471-2369-13-119

Babu, K. M. (2012). *Silk production and the future of natural silk manufacture.* In (Vol. 2, pp. 3-29). https://doi.org/10.1533/9780857095510.1.3

Baptista-Silva, S., Bernardes, B. G., Borges, S., Rodrigues, I., Fernandes, R., Gomes-Guerreiro, S., . . . Oliveira, A. L. (2022). Exploring silk sericin for diabetic wounds: An in situ-forming hydrogel to protect against oxidative stress and improve tissue healing and regeneration. *Biomolecules*, 12(6). https://doi.org/10.3390/biom12060801

Barajas Gamboa, J., Guerra, A., Restrepo Osorio, A., & Álvarez, C. (2016). *Sericin applications: A globular silk protein. 18*, 193-206.

Bedge, P., & Dixit- Potadar, S. (2022). *A Review on The Silk Protein Sericin in Silkworms (Bombyx mori).*

Cao, T.-T., & Zhang, Y.-Q. (2017). The potential of silk sericin protein as a serum substitute or an additive in cell culture and cryopreservation. *Amino Acids, 49*(6), 1029-1039. https://doi.org/10.1007/s00726-017-2396-3

Cao, T. T., & Zhang, Y. Q. (2016). Processing and characterization of silk sericin from Bombyx mori and its application in biomaterials and biomedicines. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 61*, 940-952. https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.082

Chlapanidas, T., Faragò, S., Lucconi, G., Perteghella, S., Galuzzi, M., Mantelli, M., . . . Faustini, M. (2013). Sericins exhibit ROS-scavenging, anti-tyrosinase, anti-elastase, and in vitro immunomodulatory activities. *Int J Biol Macromol, 58*, 47-56. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.03.054

Choudhury, M., & Devi, D. (2016). Impact of high temperature and pressure on sericin scouring of muga silk cocoons. *Indian J Fibre Text Res, 41*, 93-96.

Costa, F., Silva, R., & Boccaccini, A. R. (2018). 7 - Fibrous protein-based biomaterials (silk, keratin, elastin, and resilin proteins) for tissue regeneration and repair. In M. A. Barbosa & M. C. L. Martins (Eds.), *Peptides and Proteins as Biomaterials for Tissue Regeneration and Repair* (pp. 175-204). Woodhead Publishing. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100803-4.00007-3

Dash, R., Mandal, M., Ghosh, S. K., & Kundu, S. C. (2008). Silk sericin protein of tropical tasar silkworm inhibits UVB-induced apoptosis in human skin keratinocytes. *Mol Cell Biochem*, 311(1-2), 111-119. https://doi.org/10.1007/s11010-008-9702-z

Devi, R., Deori, M., & Devi, D. (2011). Evaluation of antioxidant activities of silk protein sericin secreted by silkworm Antheraea assamensis (Lepidoptera: Saturniidae). *J. Pharm. Res., 4*, 4688-4691.

Fan, J. B., Wu, L. P., Chen, L. S., Mao, X. Y., & Ren, F.-Z. (2009). Antioxidant activities of silk sericin from silkworm Bombyx Mori. *J Food Biochem, 33*, 74-88. https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2008.00204.x

Freddi, G., Mossotti, R., & Innocenti, R. (2003). Degumming of silk fabric with several proteases. *J Biotechnol, 106*(1), 101-112. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2003.09.006

Gulrajani, M., Agarwal, R., & Chand, S. (2000). Degumming of silk with a fungal protease. *Indian J Fibre Text Res, 25,* 138-142.

Gulrajani, M., Agarwal, R., Grover, A., & Suri, M. (2000). Degumming of silk with lipase and protease. *Indian J Fibre Text Res, 25*, 69-74.

Jena, K., Pandey, J. P., Kumari, R., Sinha, A. K., Gupta, V. P., & Singh, G. P. (2018). Free radical scavenging potential of sericin obtained from various ecoraces of tasar cocoons and its cosmeceuticals implication. *Int J Biol Macromol, 120*(Pt A), 255-262. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.090

Kato, N., Sato, S., Yamanaka, A., Yamada, H., Fuwa, N., & Nomura, M. (1998). Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. *Biosci Biotechnol Biochem, 62*(1), 145-147. https://doi.org/10.1271/bbb.62.145

Kaur, J., Rajkhowa, R., Tsuzuki, T., Millington, K., Zhang, J., & Wang, X. (2013). Photoprotection by silk cocoons. *Biomacromolecules, 14*(10), 3660-3667. https://doi.org/10.1021/bm401023h

Keawkorn, W., Limpeanchob, N., Tiyaboonchai, W., Pongcharoen, S., & Sutheerawattananonda, M. (2013). The effect of dietary sericin on rats. *ScienceAsia, 39*, 252. https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2013.39.252

Khan, M. R., Tsukada, M., Gotoh, Y., Morikawa, H., Freddi, G., & Shiozaki, H. (2010). Physical properties and dyeability of silk fibers degummed with citric acid. *Bioresour Technol, 101*(21), 8439-8445. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.100

Kim, J., Kwon, M., & Kim, S. (2016). Biological Degumming of Silk Fabrics with Proteolytic Enzymes. *J Nat Fibers, 13*(6), 629-639. https://doi.org/10.1080/15440478.2015.1093578

Kim, J. Y., Kim, S. G., & Garagiola, U. (2023). Relevant Properties and Potential Applications of Sericin in Bone Regeneration. *Curr Issues Mol Biol, 45*(8), 6728-6742. https://doi.org/10.3390/cimb45080426

Kumar, J. P., & Mandal, B. B. (2017). Antioxidant potential of mulberry and non-mulberry silk sericin and its implications in biomedicine. *Free Radic Biol Med, 108*, 803-818. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.05.002

Kunz, R. I., Brancalhão, R. M. C., Ribeiro, L. d. F. C., & Natali, M. R. M. (2016). Silkworm Sericin: Properties and Biomedical Applications. *Biomed Res Int*, 2016, 8175701. https://doi.org/10.1155/2016/81 75701

Kurioka, A., & Yamazaki, M. (2002). Purification and identification of flavonoids from the yellow green cocoon shell (Sasamayu) of the silkworm, Bombyx mori. *Biosci Biotechnol Biochem, 66*(6), 1396-1399. https://doi.org/10.1271/bbb.66.1396

Lee, K. (2004). Silk Sericin Retards the Crystallization of Silk Fibroin. *Macromol Rapid Commun, 25*, 1792-1796. https://doi.org/10.1002/marc.200400333

Li, Y., Wei, Y., Zhang, G., & Zhang, Y. (2023). Sericin from fibroin-deficient silkworms served as a promising resource for biomedicine. *Polymers (Basel), 15*(13). https://doi.org/10.3390/polym15132941

Li, Y. G., Ji, D. F., Lin, T. B., Zhong, S., Hu, G. Y., & Chen, S. (2008). Protective effect of sericin peptide against alcohol-induced gastric injury in mice. *Chin Med J (Engl), 121*(20), 2083-2087.

Liu, J., Shi, L., Deng, Y., Zou, M., Cai, B., Song, Y., . . . Wang, L. (2022). Silk sericin-based materials for biomedical applications. *Biomaterials, 287*, 121638. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121638

Mahmoodi, N. M., Mazaheri, F., & Rahimi, S. (2010). Degradation of sericin (degumming) of Persian silk by ultrasound and enzymes as a cleaner and environmentally friendly process. *J Clean Prod, 18*, 146-151. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2009.10.003

Minoura, N., Aiba, S., Higuchi, M., Gotoh, Y., Tsukada, M., & Imai, Y. (1995). Attachment and growth of fibroblast cells on silk fibroin. *Biochem Biophys Res Commun, 208*(2), 511-516. https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1368

Mondal, M. S. (2007). The silk proteins , sericin and fibroin in silkworm , *Bombyx mori*.

More, S. V., Khandelwal, H. B., Joseph, M. A., & Laxman, R. S. (2013). Enzymatic Degumming of Silk with Microbial Proteases. *J Nat Fibers, 10*(2), 98-111. https://doi.org/10.1080/15440478.2012.761114

Nakpathom, M., Somboon, B., & Narumol, N. (2009). Papain enzymatic degumming of thai Bombyx mori silk fibers. Microsc *Microanal Res, 23,* 142-146.

Napavichayanun, S., Lutz, O., Fischnaller, M., Jakschitz, T., Bonn, G., & Aramwit, P. (2017). Identification and quantification and antioxidant activity of flavonoids in different strains of silk cocoon, Bombyx mori. *Arch Biochem Biophys, 631*, 58-65. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.08.010

Omar, A., Gao, Y., Wubulikasimu, A., Arken, A., Aisa, H. A., & Yili, A. (2021). Effects of trypsin-induced limited hydrolysis on the structural, functional, and bioactive properties of sericin [10.1039/D1RA03772B]. *RSC Advances, 11*(41), 25431-25440. https://doi.org/10.1039/D1RA03772B

Padamwar, M., & Pawar, A. (2004). Silk sericin and its applications: A review. *J Sci Ind Res, 63*, 323-329.

Padamwar, M. N., Pawar, A. P., Daithankar, A. V., & Mahadik, K. R. (2005). Silk sericin as a moisturizer: an in vivo study. *J Cosmet Dermatol, 4*(4), 250-257. https://doi.org/10.1111/j.1473-2165.2005.00200.x

Rodbumrer, P., Arthan, D., Uyen, U., Yuvaniyama, J., Svasti, J., & Wongsaengchantra, P. Y. (2012). Functional expression of a Bombyx mori cocoonase: potential application for silk degumming. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 44*(12), 974-983. https://doi.org/https://doi.org/10.1093/abbs/gms090

Rosena, A., Koobkokkruad, T., Eaknai, W., Bunwatcharaphansakun, P., Maniratanachote, R., & Aueviriyavit, S. (2018). Protective effect of Thai silk extracts on drug-induced phototoxicity in human epidermal A431 cells and a reconstructed human epidermis model. *J Photochem Photobiol B, 188*, 50-59. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.08.022

Seo, S. J., Das, G., Shin, H. S., & Patra, J. K. (2023). Silk Sericin Protein Materials: Characteristics and Applications in Food-Sector Industries. *Int J Mol Sci,* 24(5). https://doi.org/10.3390/ijms24054951

Shitole, M., Dugam, S., Tade, R., & Nangare, S. (2020). Pharmaceutical applications of silk sericin. *Ann Pharm Fr, 78*(6), 469-486. https://doi.org/10.1016/j.pharma.2020.06.005

Silva, A., Costa, E., Reis, S., Spencer, C., Calhelha, R., Miguel, S., . . . Coutinho, P. (2022). Silk Sericin: A Promising Sustainable Biomaterial for Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Polymers, 14*, 4931. https://doi.org/10.3390/polym14224931

Takasu, Y., Yamada, H., & Tsubouchi, K. (2002). Isolation of three main sericin components from the cocoon of the silkworm, Bombyx mori. *Biosci Biotechnol Biochem, 66*(12), 2715-2718. https://doi.org/10.1271/bbb.66.2715

Terada, S., Nishimura, T., Sasaki, M., Yamada, H., & Miki, M. (2002). Sericin, a protein derived from silkworms, accelerates the proliferation of several mammalian cell lines including a hybridoma. *Cytotechnology, 40*(1-3), 3-12. https://doi.org/10.1023/a:10239 93400608

Unajak, S., Aroonluke, S., & Promboon, A. (2015). An active recombinant cocoonase from the silkworm Bombyx mori: bleaching, degumming and sericin degrading activities. *J Sci Food Agric, 95*(6), 1179-1189. https://doi.org/10.1002/jsfa.6806

Wang, R., Wang, Y., Song, J., Tian, C., Jing, X., Zhao, P., & Xia, Q. (2023). A novel method for silkworm cocoons self-degumming and its effect on silk fibers. *J Adv Res, 53,* 87-98. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.12.005

Zhaorigetu, S., Sasaki, M., Watanabe, H., & Kato, N. (2001). Supplemental silk protein, sericin, suppresses colon tumorigenesis in 1,2-dimethylhydrazine-treated mice by reducing oxidative stress and cell proliferation. *Biosci Biotechnol Biochem, 65*(10), 2181-2186. https://doi.org/10.1271/bbb.65.2181