ว.วิทย. มข. 45(1) 128-137 (2560) KKU Sci. J. 45(1) 128-137 (2017)

การเปรียบเทียบวิธีการสกัดโปรตีนเซริซินจากไหมไทยและแบบแผนโปรตีน

Comparisons of Sericin Protein Extraction Methods from Thai silk and their Protein Patterns

สุพัตรา แคนสิงห์[1] บุษราคัม ป้อมทอง[1] สุนทรต์ ชูลักษณ์[2] และ วิชุดา จันทร์ข้างแรม[3*]

[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา จ. นครราชสีมา 30000

[2]ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ. ชลบุรี 20131

[3]คณะวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว จ. สระแก้ว 27160

[*]Corresponding Author, E-mail: wichudajan@buu.ac.th

บทคัดย่อ

การสกัดโปรตีนเซริซินด้วยน้ำจากเศษเส้นไหมดิบสามพันธุ์ ได้แก่ ไหมพื้นบ้านนางตุ่ย ไหมพื้นบ้านนางน้อยศรีสะเกษ และไหมลูกผสมเหลืองไพโรจน์ ที่อุณหภูมิ 25 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 - 60 นาที เมื่อวิเคราะห์จากปริมาณผลผลิตที่สกัดได้ ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford assay และแถบโปรตีนด้วย SDS-PAGE พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาทีนั้นไม่สามารถสกัดโปรตีนจากเศษเส้นไหมดิบทั้งสามพันธุ์ได้ แต่การสกัดที่ 100 องศาเซลเซียส ให้ผลผลิตของการสกัด ปริมาณโปรตีนเมื่อใช้เวลา 30 และ 60 นาทีมากขึ้นกว่าที่ 0 นาที โดยไหมนางน้อยศรีสะเกษ และเหลืองไพโรจน์ผลผลิตและปริมาณโปรตีนดีกว่าพันธุ์นางตุ่ย เมื่อนำโปรตีนที่สกัดได้มาวิเคราะห์แถบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบแถบโปรตีนจากไหมพันธุ์นางตุ่ย นางน้อยศรีสะเกษ และเหลืองไพโรจน์ในช่วง 100 และ 250 กิโลดาลตัน

ABSTRACT

Water soluble sericin protein from waste silk thread of 3 subspecies of *Bombyx mori* L.; Nang-Tui, Nang-Noi Sri-Sa-Ket and Leung-Pairoj were extracted at 25 and 100 °C for 0 - 60 min. Yield, protein quantity and SDS-PAGE protein pattern were analyzed. Extraction at 25 °C for 60 min did not give neither protein yield not protein pattern. However, extraction at 100 °C for 30 and 60 min gave greater yield and protein than extraction for 0 min. Higher yield and protein were given from Nang-Noi Sri-Sa-Ket and Leung-Pairoj more than Nang-Tui. SDS-PAGE protein

patterns of Nang-Tui, Nang-Noi Sri-Sa-Ket and Leung-Pairoj showed protein bands in range of 100 and 250 kDa.

คำสำคัญ: เซริซิน การสกัด แบบแผนโปรตีน
Keywords: Sericin, Extraction, Protein pattern

บทนำ

เส้นไหม เป็นเส้นใยโปรตีนธรรมชาติ ที่มีองค์ประกอบหลักคือ ไฟโบรอิน (fibroin) ร้อยละ 70-80 ไขมันแว๊กซ์ ร้อยละ 0.4-0.8 สารประกอบไฮโดรคาร์บอนร้อยละ 1.2-1.6 รงควัตถุร้อยละ 0.2 เถ้าร้อยละ 0.7 และกาวไหมหรือเซริซิน (sericin) ร้อยละ 20-30 (Kaplan et al., 1994) เซริซินมีลักษณะเป็น amorphous matrix ทำหน้าที่เป็นกาวเชื่อมไฟโบรอิน (fibroin filaments) ไว้ด้วยกัน เป็นโปรตีนหรือไกลโคโปรตีนที่ละลายน้ำได้ (Gamo et al., 1977) ประกอบด้วยเซริซินอย่างน้อย 6 ชนิด ที่มีขนาดโมเลกุลตั้งแต่ 6-467 กิโลดาลตัน (Kato et al., 1998; Takasu et al., 2002; Wu et al., 2007) โดยเซริซินขนาดโมเลกุลเล็กละลายน้ำได้ง่ายกว่าโมเลกุลใหญ่ โดยทั่วไปโปรตีนเซริซินประกอบด้วยกรดอะมิโน 18 ชนิด จำพวกมีขั้วจึงทำให้เซริซินละลายน้ำได้ดี ที่พบมากกว่าร้อยละ 70 ได้แก่ serine, aspartic, glutamic, arginine, threonine และ lysine ความสามารถในการละลายน้ำของเซริซินแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มแยกตามการละลายจากมากไปหาน้อย ได้แก่ sericin I, II, III และ IV ที่เรียงจากชั้นนอกสุดเข้าหาชั้นในสุดภายในโครงสร้าง amorphous matrix (Komatsu, 1980a) ทั้งนี้ขึ้นกับอัตราส่วนระหว่างกรดอะมิโนที่มีขั้วกับกรดอะมิโนไม่มีขั้ว รวมถึงความเป็นระเบียบของโครงสร้างหรือ crystallinity ของเซริซินในแต่ละชั้นด้วย Dash และคณะ (2006) พบเส้นไหมต่างชนิดกันมีกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม Sothornvit และคณะ (2010) พบว่าการแยกเซริซินออกจากเส้นไหมด้วยวิธีที่แตกต่างกันนั้น ไม่พบความแตกต่างของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ แต่พบปริมาณต่างกันเล็กน้อย

กระบวนการเตรียมเส้นไหมจากรังไหมเพื่อใช้ในการทอผ้านั้น จำเป็นต้องผ่านขั้นตอนที่เรียกว่า “การลอกกาวไหม” ซึ่งเป็นขั้นตอนแยกองค์ประกอบของเส้นไหมอื่น ๆ ออกจากไฟโบรอิน รวมถึงเซริซินด้วย เส้นไหมจากพันธุ์พื้นเมืองและลูกผสมที่มีสีเหลืองเข้มนั้นจำเป็นต้องลอกกาวไหมเพื่อให้มีสีจางลงก่อนเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย้อมสีในขั้นตอนต่อไป สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การต้มกับน้ำเดือด และอาจใช้กรดหรือด่างช่วย (Zhao et al., 2007) นอกจากนั้นการลอกกาวไหมจากรังไหมยังสามารถทำได้อีกหลายวิธี เช่น การต้มรังไหมในน้ำบริสุทธิ์ภายใต้ความดันไอ การใช้สารละลายด่าง การใช้สารละลายกรด การสกัดด้วยสารละลายยูเรีย หรือการสกัดด้วยเอนไซม์ โปรตีนเซริซินที่สกัดจากสายพันธุ์ไหมและวิธีการสกัดที่ต่างกันจะได้ผลผลิต ขนาดของโปรตีนและองค์ประกอบของกรดอะมิโนต่างกันด้วย การสกัดเซริซินจากเส้นไหมของสุธาสินี และคณะ (2553) พบว่าการต้มด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 9 ชั่วโมง ให้ปริมาณผงเซริซินมากที่สุดร้อยละ 21.67 และเซริซินที่ได้มีมวลโมเลกุลในช่วง 3 - 250 กิโลดาลตันจากการวิเคราะห์โดย SDS-PAGE ส่วนการสกัดด้วยด่างให้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 15.14 และได้โปรตีนมีมวลโมเลกุลต่ำกว่า 37 กิโลดาลตัน การเปรียบเทียบ

การสกัดเซริซินจากรังไหมเสียรังสีขาวและรังสีเหลืองของเกียรติชัย (2553) เมื่อสกัดด้วยด่างจากขี้เถ้าแกลบและด่างของขี้เถ้าผักโขมหนามที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 60 และ 90 นาที พบว่าการต้มในน้ำด่างจากขี้เถ้าแกลบ นาน 90 นาที ให้โปรตีนสูงที่สุดจากทั้งรังไหมสีขาวและรังไหมสีเหลือง รองลงมาคือการต้มในน้ำด่างผักโขม นาน 60 และ 30 นาที ตามลำดับ ซึ่งเป็นข้อสังเกตว่าวิธีการลอกกาวไหมมีผลต่อปริมาณเซริซินและมวลโมเลกุลของเซริซินที่สกัดได้

ปัจจุบันมีแนวโน้มนำเซริซินไปใช้ประโยชน์หลายอย่าง เซริซินที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ตั้งแต่ 100 กิโลดาลตันขึ้นไป เป็นโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ด้านชีวการแพทย์ เนื่องจากไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ หรือระคายเคืองต่อเซลล์มนุษย์ (Gregory et al., 2003) ไม่เป็นพาหะหรือสารก่อโรค มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการทำลายเซลล์โดย reactive oxygen species ป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็ง มีการนำไปใช้ในการควบคุมการสลายตัวของยา เช่น การเชื่อมต่อของเซริซิน-แอล-แอสพาราจิเนส ทำให้ความเสถียรของยาสูงขึ้น ยืดระยะเวลาการสลายตัว และลดการต่อต้านของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นยาต้านโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว เซริซิน-อินซูลิน สามารถนำไปใช้กับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน เพื่อช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้มีระยะเวลาในการสลายตัวเพิ่มขึ้นได้ (Zhaorigetu et al., 2003; Dash et al., 2008; สุพัตรา และสุธาสินี , 2555) นอกจากนั้นยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียบางชนิดซึ่งเป็นสาเหตุของโรคผิวหนังและช่วยรักษาแผลให้หายเร็วขึ้น (Zhang, 2002) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์ นำไปใช้ทดแทนซีรัมในการเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการได้ (Terada et al., 2005) ส่วนเซริซินที่มีขนาดโมเลกุลเล็กมีการนำไปใช้ประโยชน์ทางเวชสำอาง เพราะมีคุณสมบัติในการดูดซับ รักษาน้ำไว้ได้ดี และมีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิด เป็นต้น (Dash et al., 2007; Subhas et al., 2008; Modasiya et al., 2011) อย่างไรก็ตามการใช้ประโยชน์จากโปรตีนไหมในด้านการแพทย์นั้นเพื่อให้การนำโปรตีนเซริซินและไหมไฟโบรอินไปใช้อย่างปลอดภัยจำเป็นต้องแยกโปรตีนทั้งสองออกจากกันให้บริสุทธิ์ก่อน ด้วยศักยภาพของเซริซินดังกล่าว ปัจจุบันจึงมีผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของเซริซิน เช่น สบู่ โลชั่นบำรุงผิว ออกมาสู่ท้องตลาดเป็นจำนวนมาก เซริซินจึงเป็นพอลิเมอร์หรือ biomaterial ที่ได้รับความสนใจอย่างมากต่อการนำมาใช้ประโยชน์ ดังนั้นหากมีวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดเซริซินที่มีมวลโมเลกุลที่ต้องการระหว่างกระบวนการผลิต หรือจากเศษวัสดุแล้ว จะสามารถนำมาสร้างแนวทางในการแปรรูปวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมไหมมาใช้ให้เกิดประโยชน์และสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรได้

พันธุ์ไหมไทย (*Bombyx mori* L.) ซึ่งเป็นพันธุ์รับรองจากกรมวิชาการเกษตร และได้รับการส่งเสริมจากภาครัฐ เอกชน และอุตสาหกรรม ให้มีการเพาะเลี้ยงนั้น ได้แก่ ไหมไทยพื้นเมืองนางตุ่ย ไหมไทยพื้นเมืองนางน้อยศรีสะเกษ เนื่องจากเป็นพันธุ์พื้นเมืองที่มีลักษณะเด่น ได้แก่ การเจริญของหนอนไหมเป็นไปอย่างสม่ำเสมอ ให้ปริมาณไข่สูง ผลผลิตรังสูง มีความแข็งแรง เลี้ยงง่ายในทุกสภาพพื้นที่ ร้อยละของการเลี้ยงรอดสูงในสภาพอากาศร้อนจัด และไหมไทยลูกผสมเหลืองไพโรจน์ ซึ่งเกิดจากการนำไหมญี่ปุ่นพันธุ์ J108 ผสมกับไหมไทยนางลาย เป็นพันธุ์ไหมที่มีความแข็งแรง ให้ผลผลิตรัง ที่ดี สาวง่าย มีคุณภาพสูงมาก โดยรังไหม 1 รัง ได้เส้นไหมยาวประมาณ 1,100 เมตร (ไหมไทยพื้นเมือง 1 รังได้เส้นไหมยาวประมาณ 800 เมตร) ซึ่งวิธีการลอกกาวไหมของชาวบ้านทำโดยการต้ม

ไม่จำกัดเวลา (เคี่ยว) ก่อนนำเส้นไหมที่ได้ไปย้อมสี ซึ่งหากสามารถหาวิธีในการลอกกาวไหมที่ใช้ในการสกัดเซริซินที่มีปริมาณและขนาดโมเลกุลตั้งแต่ 100 กิโลดาลตันขึ้นไป จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการนำไปใช้ต่อไป

การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดต่อปริมาณ และแบบแผนของโปรตีนเซริซินจากเศษเส้นไหมดิบจากไหมไทยสามพันธุ์ ได้แก่ ไหมไทยพื้นเมืองนางตุ่ย ไหมไทยพื้นเมืองนางน้อยศรีสะเกษ และไหมไทยลูกผสมเหลืองไพโรจน์

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง เศษเส้นไหมดิบ ได้แก่ ไหมไทยพื้นเมืองนางตุ่ย ไหมไทยพื้นเมืองนางน้อยศรีสะเกษ และไหมไทยลูกผสมเหลืองไพโรจน์ ได้รับการอนุเคราะห์ จากศูนย์วิจัยหม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ นครราชสีมา จ. นครราชสีมา

2. การเตรียมตัวอย่างและการสกัดเซริซินจากเส้นไหม นำเศษเส้นไหมดิบที่ทำความสะอาดและอบแห้งแล้ว ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ยาวประมาณ 1 ซม. นำมาแช่ในน้ำกลั่นที่ 25 องศาเซลเซียส หรือต้มในน้ำเดือด ด้วยอัตราส่วน 1 กรัมต่อน้ำ 60 มิลลิลิตร เป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาที หลังจากนั้นจึงกรองสารที่สกัดได้โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3. การวิเคราะห์ผลผลิตที่สกัดได้

3.1 โดยน้ำหนัก

ชั่งน้ำหนักแห้งของเส้นไหมดิบหลังการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ก่อนและหลังการสกัดด้วยน้ำ นำน้ำหนักที่ได้คำนวณน้ำหนักที่หายไปหลังการสกัด และรายงานเป็นร้อยละของน้ำหนักเส้นไหมดิบที่หายไปหลังการสกัด โดยคำนวณจาก [(น้ำหนักแห้งเส้นไหมดิบก่อนการสกัด – น้ำหนักแห้งหลังการสกัด) / น้ำหนักแห้งเส้นไหมดิบก่อนการสกัด] x 100

3.2 โดยปริมาณโปรตีน

นำสารที่สกัดได้มาวัดปริมาณโปรตีน ด้วย Bradford assay kit (Biorad, USA) โดยใช้ BSA เป็นโปรตีนมาตรฐาน และรายงานในหน่วยของปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่สกัดได้เป็นไมโครกรัมต่อน้ำหนักเส้นไหมทั้งหมด

4. การวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนเซริซินที่สกัดได้ ด้วยวิธี SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

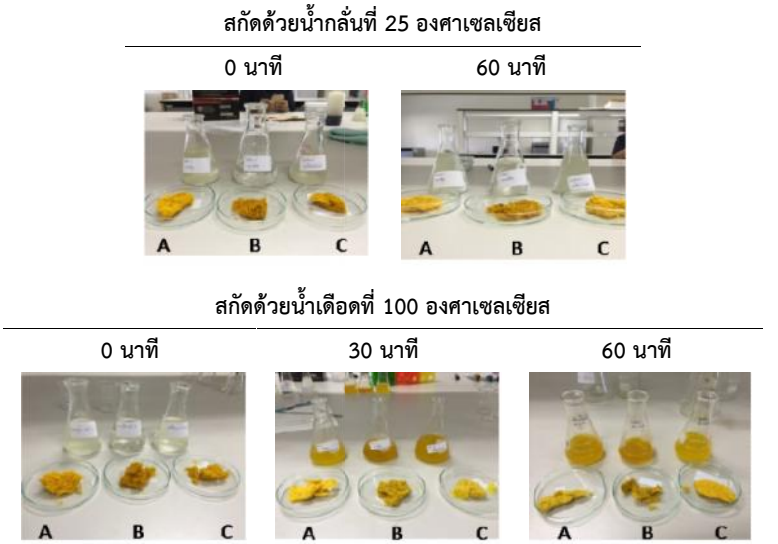
ใช้โปรตีนที่สกัดได้ (5 ไมโครกรัม) มาแยกหน่วยย่อยของโปรตีนด้วย 10% SDS-PAGE (10% acrylamide separating gel และ 5% acrylamide stacking gel) ด้วยกระแสไฟ 120 mV จากนั้นนำเจลที่ได้มาตรึงโปรตีนด้วย fixative solution ที่ประกอบด้วย 50% ethanol และ 10% acetic acid ในน้ำกลั่นสองครั้ง นาน 5-10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วย้อมด้วย Coomassie Blue นาน 30-60 นาที เมื่อสังเกตเห็นแถบโปรตีนปรากฏขึ้นชัดเจน จึงเทสีย้อมออก แล้วล้างสีส่วนเกินด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปถ่ายภาพด้วยเครื่อง Gel Document วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของแถบโปรตีนโดยเปรียบเทียบกับน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานขนาด 10-250 กิโลดาลตัน (Biorad, USA)

ผลการวิจัย

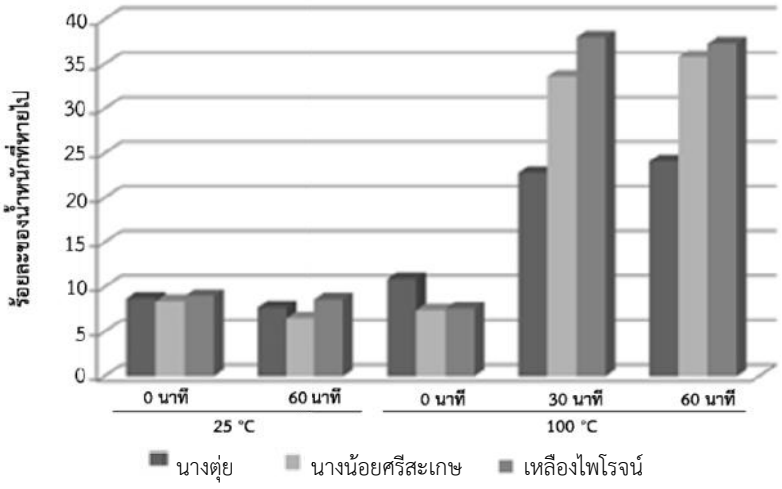
1. การเปรียบเทียบผลผลิตที่สกัดได้

จากการสกัดโปรตีนเซริซินด้วยวิธีการแช่ในน้ำกลั่นและต้มในน้ำเดือด ในเศษเส้นไหมดิบ นางตุ่ย นางน้อยศรีสะเกษ และเหลืองไพโรจน์ ได้ลักษณะของ

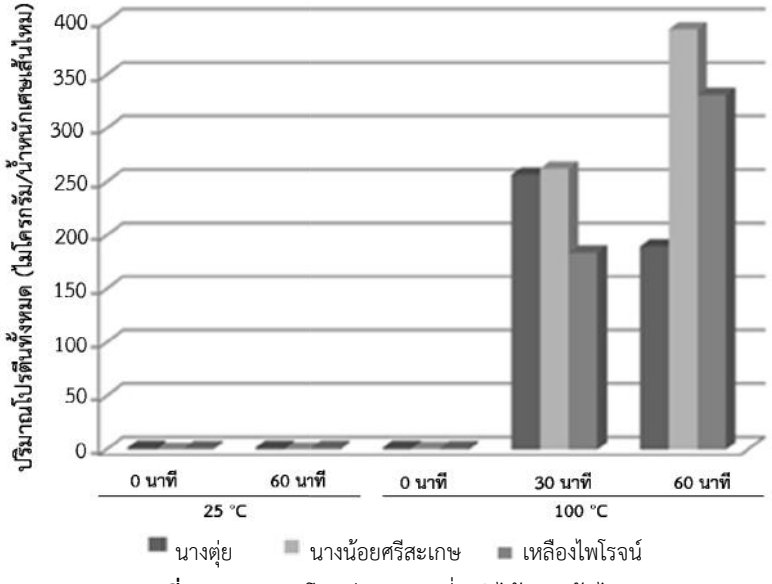
เส้นไหมดิบหลังการสกัดและสารละลายโปรตีนที่สกัดได้ ดังรูปที่ 1 การวิเคราะห์ผลผลิตที่สกัดได้โดยน้ำหนัก (รูปที่ 2) การวิเคราะห์ค่าน้ำหนักของเศษเส้นไหมที่หายไป พบว่าสภาวะการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาทีให้ผลผลิตไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (0 นาที) และเมื่อให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 และ 60 นาที ให้ผลผลิตมากกว่ากลุ่มควบคุม (0 นาที) ไม่แตกต่างกัน ซึ่งพันธุ์ที่ให้ผลผลิตมากที่สุด ได้แก่ เหลืองไพโรจน์ (ประมาณร้อยละ 40) และรองลงมาคือ ไหมพันธุ์นางตุ่ย (ประมาณร้อยละ 35) และไหมพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษให้ (ประมาณร้อยละ 25) ตามลำดับ แต่เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ด้วยวิธี Bradford assay (รูปที่ 3) พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาทีให้ปริมาณโปรตีนมากกว่า 30 นาที ยกเว้นพันธุ์ไหมนางตุ่ยที่ให้ปริมาณโปรตีนลดลง โดยโปรตีนที่สกัดได้อยู่ในช่วง 180-392 มิลลิกรัม และสกัดได้จากไหมพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาทีให้ปริมาณโปรตีนมากที่สุด (392.86 มิลลิกรัม)



รูปที่ 1 การสกัดเซริซินจากเศษเส้นไหมดิบด้วยน้ำที่ 25 และ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0 – 60 นาที A นางตุ่ย B นางน้อยศรีสะเกษ C เหลืองไพโรจน์



รูปที่ 2 ร้อยละของผลผลิตที่สกัดได้จากเส้นไหม

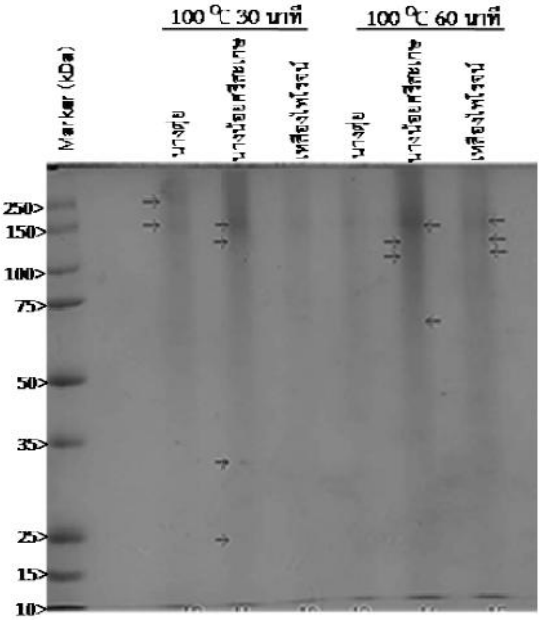


รูปที่ 3 ปริมาณโปรตีนเซริซินที่สกัดได้จากเส้นไหม

2. การวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนเซริซินที่สกัดได้ โดยวิธี SDS-PAGE

ผลการวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนที่สกัดได้จากเส้นไหมดิบทั้งสามพันธุ์นั้น ถึงแม้ว่าการวิเคราะห์ปริมาณด้วย Bradford assay ทำให้เห็นว่าโปรตีนจากเส้นไหมดิบนั้นสามารถละลายน้ำได้อย่างรวดเร็วโดยพบว่าการสกัดโปรตีนที่ 25 และ 100 องศาเซลเซียสยังตรวจพบโปรตีนถึง 2 มิลลิกรัม แต่ไม่สามารถตรวจพบแถบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ได้เลยเมื่อใช้โปรตีนทั้งหมดในการวิเคราะห์ 5 ไมโครกรัม (ไม่ได้แสดงผล) แต่พบแถบโปรตีนหลังการสกัดด้วยความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4 และ ตารางที่ 1) โดยพันธุ์นาง

ตุ่ยพบแถบโปรตีนขนาด 250 กิโลดาลตัน เมื่อใช้เวลาสกัด 30 นาที แต่ไม่พบเมื่อใช้เวลาสกัด 60 นาที ทั้งนี้สอดคล้องกับปริมาณโปรตีนที่ลดลงด้วย (รูปที่ 3) ส่วนสกัดโปรตีนจากเศษไหมนางน้อยศรีสะเกษ พบว่าการใช้เวลาในการสกัด 30 นาที พบแถบโปรตีนขนาดเล็กขนาด 25 กิโลดาลตัน ร่วมกับโปรตีนขนาด 33 กิโลดาลตัน แต่ไม่พบแถบ 25 และ 33 กิโลดาลตัน เมื่อใช้เวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นเป็น 60 นาที ซึ่งเห็นแถบโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ขึ้นเป็น 70 และ 120 กิโลดาลตันเพิ่มเติม ส่วนพันธุ์เหลืองไพโรจน์นั้น เมื่อใช้เวลาในการสกัด 30 นาทีไม่สามารถตรวจพบแถบโปรตีนใด ๆ แต่เมื่อใช้เวลาในการสกัดเป็น 60 นาทีพบว่ามีแถบโปรตีนขนาด 120, 130, 150 กิโลดาลตัน



รูปที่ 4 แบบแผนโปรตีนเซริซินที่สกัดได้

ตารางที่ 1 แถบโปรตีนเซริซินจากเศษไหมสามพันธุ์ที่วิเคราะห์ได้จาก SDS-PAGE

สกัดที่ 100 องศาเซลเซียส	ขนาดของแถบโปรตีนที่สกัดได้ (กิโลดาลตัน)		
	นางตุ่ย	นางน้อยศรีสะเกษ	เหลืองไพโรจน์
30 นาที	150, 250	25, 33, 140, 150	-
60 นาที	-	70, 120, 130, 150	120, 130, 150

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการเปรียบเทียบอุณหภูมิและเวลาในการสกัดโปรตีนเซริซินจากเศษเส้นไหมไทยสามพันธุ์ พบว่าอุณหภูมิสูงสามารถสกัดโปรตีนได้ดีกว่าที่อุณหภูมิต่ำ โดยเมื่อใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสแล้วไม่สามารถสกัดโปรตีนออกจากเศษเส้นไหมได้ แต่เมื่อใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถสกัดได้รวมทั้งองค์ประกอบอื่นของเส้นไหม เช่น รงควัตถุ เป็นต้น แต่การเพิ่มเวลาที่ใช้ในการสกัดจาก 30 เป็น 60 นาทีนั้น พบว่ามีผลต่อปริมาณและคุณภาพของเซริซินที่สกัดได้

การสกัดโปรตีนเซริซินจากเศษเส้นไหมที่เหลือจากขั้นตอนการสาวไหมดิบ หรือเศษเส้นไหมดิบก่อนการนำไปลอกกาวไหมทั้งในระดับครัวเรือนและอุตสาหกรรม เพื่อนำเส้นไหมไปถักทอต่อไป พบว่าไหมพันธุ์นางตุ่ยมีผลผลิตที่สกัดได้จากน้ำและปริมาณโปรตีนน้อยกว่าพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษและเหลืองไพโรจน์ทั้งจากการสกัดที่อุณหภูมิ 25 และ 100 องศาเซลเซียส การสกัดที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาทีให้โปรตีนเซริซินที่มีขนาดใหญ่ในช่วง 150-250 กิโลดาลตัน ซึ่งเป็นขนาดที่ใหญ่กว่าที่พบในพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ และเหลืองไพโรจน์ แต่ไม่พบเมื่อสกัดจากพันธุ์เหลืองไพโรจน์เป็นเวลา 60 นาทีนั้น อาจเป็นไปได้ว่าเซริซินอาจมีการเปลี่ยนโครงรูปและตกตะกอนระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิดังกล่าว ผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดโปรตีนเซริซินจากเศษเส้นไหมพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษที่ 100 องศาเซลเซียสนั้นพบว่าเมื่อเพิ่มเวลา พบการเปลี่ยนขนาดของแถบโปรตีนที่เล็กที่สุดนั้นมีขนาดใหญ่ขึ้น จาก 25 กิโลดาลตันเป็น 70 กิโลดาลตัน ซึ่งน่าจะเกิดการรวมตัวของโมเลกุลโปรตีนหลังการได้รับความร้อนนานขึ้น เช่นเดียวกับเหลืองไพโรจน์ที่พบแถบโปรตีนหลังการสกัดเป็นเวลา 60 นาที อย่างไรก็ตามโปรตีนเซริซินจากไหมทั้งสามพันธุ์นั้นมีขนาดอยู่ในช่วง 100-250 กิโลดาลตัน สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของกนกพร พลเยี่ยม และ สินีนาฏ ศิริ (2556) ที่สกัดโปรตีนเซริซินจากการต้มรังไหมพื้นบ้าน *Bombyx mori* และไหมป่า *Samia Cynthia ricini* ด้วยน้ำกลั่นที่ 60 องศาเซลเซียสและสารละลายด่าง ปรากฏแถบโปรตีนที่ขนาด 15-210 กิโลดาลตัน และ 20-170 กิโลดาลตัน ตามลำดับ ทั้งนี้การสกัดที่ 100 องศาเซลเซียสน่าจะมีข้อดีกว่าการสกัดด้วยน้ำบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสภายใต้ความดัน นาน 60 นาที ซึ่งโปรตีนที่สกัดได้มีขนาด 35-150 กิโลดาลตันที่ต่อเนื่อง (Arawit et al., 2010) ซึ่งน่าจะแสดงถึงผลของการได้รับอุณหภูมิสูงเป็นเวลานานทำให้เกิดการย่อยโปรตีนขึ้น จากการทดลองนี้พบได้ว่าโปรตีนเซริซินจากไหมไทยพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษและเหลืองไพโรจน์ น่าจะเป็นทางเลือกของการนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการแพทย์หรือเวชสำอางได้ เนื่องจากมีขนาดโมเลกุลของเซริซินที่ต่ำ อยู่ในช่วง 100-250 กิโลดาลตัน และมีการเปลี่ยนแปลงขนาดโมเลกุลเล็กน้อยเมื่อได้รับความร้อนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งจะเป็นแนวทางในการนำไปศึกษาถึงวิธีการสกัดที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้สอดคล้องกับวิถีของชาวบ้านเพื่อให้ได้เซริซินที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในโอกาสต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนวิจัยจากคณะวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ งบประมาณเงินรายได้และเงินอุดหนุนรัฐบาล มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ 2558-2559

เอกสารอ้างอิง

กนกพร พลเยี่ยม และ สินีนาฏ ศิริ. (2556) การสกัดเซริซินจากรังไหม *Bombyx mori* and *Samia Cynthia ricini*. บทความวิจัยการประชุมหาดใหญ่วิชาการ ครั้งที่ 4. หน้า 43-51.

เกียรติชัย ดวงศรี. (2553). การใช้สารสกัดเซอริซินจากรังไหมเสีย. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต. คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชมงคลธัญบุรี.

สุธาสินี ทัพพสารพงศ์, จารุวรรณ รองศักดิ์, ณัฏฐพร พิมพะ และวราภรณ์ ภูตะลุน. (2553). โครงการการศึกษาคุณสมบัติผงโปรตีนจากรังไหมเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมเครื่องสำอาง: รายงานฉบับสมบูรณ์, กรุงเทพ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

สุพัตรา บุตราช และสุธาสินี ทัพพสารพงศ์. (2555). ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโร

ซิเนสของไหมเซริซินพันธุ์ UB1 X UB5 โดยเปรียบเทียบกับไหมเซริซินที่มีจำหน่ายทางการค้า. การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานระดับชาติ The 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2012: 11 – 12 กุมภาพันธ์ 2555 “Pharmacy Profession in Harmony” ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น: 206-209.

Aramwit, P., Damrongsakkul, S., Kanokpanont, N., Nakpheng, T. and Srichana, T. (2010). Properties and antityrosinase activity of sericin from various extraction methods. Biotechnol. Appl. Biochem. 55(2): 91-98.

Aramwit, P., Kanokpanont, N., Nakpheng, T., and 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.

Dash, R., Chitrangada, A., Bindu, P.C. and Kundu, S.C. (2008). Antioxidant potential of silk protein sericin against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in skin fibroblasts. BMB reports 41(3): 236-241.

Dash, R., Mandal, M., Ghosh, S. and Kundu, S. (2008). Silk sericin protein of tropical tasar silkworm inhibits UVB-induced apoptosis in human skin keratinocytes. Mol. Cell. Biochem. 311(1): 111- 119.

Dash, R. Mukherjee, S. and Kundu, S.C. (2006). Isolation, purification and characterization of silk protein sericin from cocoon peduncles of tropical tasar silkworm, Antheraea mylitta. Int. J. Biol. Macromol. 38: 255-258.

Gamo, T., Inokuchi, T., and Laufer, H. (1977). Polypeptides OF fibroin and sericin secreted from the different sections of the silk gland in *Bombyx mori*. Insect. Biochem. 7: 285-295.

Gregory, H., Altman, F.D., Caroline, J.T., Calabro, R.L., Horan, C. J., Lu, H., Richmond, J. and Kaplaqn, D.L. (2003). Silk-based biomaterials. Biomaterials 24:401-416.

Kaplan, D.L. Adams, W.W. Farmer, B. and Viney, C. (1994). Silk: biology, structure, properties and genetics. ACS. Symp. Ser. 544: 2-16.

Kato, N. Sato, S. Yamanaka, A., Yamada, H., Fuwa, N. and Nomura, M. (1998). Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase acitivity. Biosci. Biotechnol. Biochem. 62(1): 145-147.

Komatsu, K. (1980a). Chemical and structural characteristics of silk sericin. In Structure of Silk Yarn, Part B: Chemical structure and processing of silk yam. Infield Science Publisbers: 47-65.

Modasiya, R.P. and M.K. (2011). Sericin: pharmaceutical applications. Int. J. Res.Pharmac. Biomed. Sci. 2(3): 913-917.

Sothornvit, R., Chollakup, R. and Suwanruji, P. (2010). Extracted sericin from silk waste for film formation. Songklankarin J. Sci. Technol. 32(1): 17-22.

Subhas, C., Kundu, B.C., Dash, R.D. and David, L. K. (2008). Natural protective glue protein, sericin bioengineered by silkworms: Potential for biomedical and biotech-nological applications. Prog. Polym. Sci. 33: 998-1012.

Terada, S. Sasaki, M. Yanagihara, K. and Yamada, H. (2005). Preparation of silk protein sericin as mitogenic factor for better mammalian cell culture. J. Biosci. Bioeng. 100(6): 667-671.

Takasu, Y., Yamada, H. and Takasu, Y. (2002). Isolation of three main sericin components from the cocoon of the silkworm, *Bombyx mori*.

Biosci. Biotechnol. Biochem. 66(12): 2715-2718.

Wu, J.H., Wang, Z. and Xu, S.Y. (2007). Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. Food Chem. 103: 1255-1262.

Zhao, H.P., Feng, X.Q., Cui, W.Z. and Zou, F.Z. (2007). Mechanical properties of silk-worm cocoon pelades. Eng. Fract. Mech. 74: 1953-62.

Zhaorigetu, S., Yanaka, N., Sasaki, M., Watanabe, H. and Kato, N. (2003). Inhibitory effects of silk protein, sericin on UVB-induced acute damage and tumor promotion by reducing oxidative stress in the skin of hairless mouse. J. Photochem. Photobio. B. 71: 11-17.

Zhang, Y.Q. (2002). Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. Bitechnol. Adv. 20: 91-100.

Zhang, Y.Q., Tao, M.L., Shen, W.D., Zhou, Y.Z., Ding, y. Ma, y. and Zhou, W.L. (2004). Immobilization of L-asparaginase on the microparticles of the natural silk sericin protein and its characters. Biomaterials 25(17): 3751-3759.

❑❑❑❑❑