



รายงานการวิจัย

คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของผงไฟโบรอินและซีรีซิน
ที่ผลิตได้จากรังไหมและน้ำต้มรังไหม

(Physicochemical properties of fibroin and sericin powders produced
from silk cocoon and silk water)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของผงไฟโบรอินและซีรีซิน
ที่ผลิตได้จากรังไหมและน้ำต้มรังไหม

(Physicochemical properties of fibroin and sericin powders produced
from silk cocoon and silk water)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ดร. มาโนชญ์ สุธีรวัฒนานนท์

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2547 - 2548

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2546 ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ 1 และ 3 ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ อุปกรณ์และเครื่องมือทำการวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ 3 ที่ให้บริการอำนวยความสะดวกช่วยให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี



บทคัดย่อ

(Abstracts)

การศึกษากุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของผงชิริชินและไฟโบรอินที่ผลิตจากน้ำต้มรังไหม และรังไหมที่สกัดได้จากสภาวะความดันและอุณหภูมิสูง พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนชิริชินลดลงเมื่อระยะเวลาสกัดนานขึ้น ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลมีผลต่อคุณสมบัติในเชิงหน้าที่ ได้แก่ การเกิดเจล การดูดซับน้ำ การดูดซับน้ำมัน การละลายน้ำ คุณสมบัติพื้นผิวไฮโดรฟอบิก การเป็นอิมัลซิไฟเออร์และการคงตัวของอิมันชัน รวมถึงการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม โดยโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาสั้นจะมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำ การดูดซับน้ำมัน การเกิดเจล คุณสมบัติพื้นผิวไฮโดรฟอบิก การเป็นอิมัลซิไฟเออร์และการเกิดโฟมมีค่าสูงกว่าโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการละลาย ความเสถียรของชั้นอิมัลชันและความคงตัวของโฟมมีค่าต่ำ เมื่อนำโปรตีนชิริชินมาเติมลงในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม สังเกตได้ว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 5 โปรตีนชิริชินจะตกตะกอนเนื่องจาก pH ใกล้ค่า pI ของโปรตีน ส่วนผงไฟโบรอินที่ผลิตได้จากรังไหม หลังผ่านกระบวนการย่อยด้วยด่าง พบว่า โครงสร้างของผงไฟโบรอินที่ได้ยังคงคุณสมบัติดั้งเดิมของการเป็นโปรตีนประเภทเส้นใยและไม่ละลายน้ำ เมื่อนำมาทดสอบในระบบทางเดินอาหารจำลอง โดยการย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน ทริปซินและแอลฟาไคโมทริปซินสามารถย่อยผงไฟโบรอินได้บางส่วน จากคุณสมบัติในการดูดซับน้ำมัน ได้เล็กน้อย เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการดักจับไขมัน โดยใช้ตัวอย่างอาหารประเภทอิมัลชันเป็นต้นแบบของการศึกษา พบว่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้น ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างที่มีการเติมผงไฟโบรอินและไม่มีการเติมผงไฟโบรอินหลังจากผ่านระบบทางเดินอาหารจำลอง แสดงให้เห็นว่าผงไฟโบรอินไม่มีความสามารถในการดักจับไขมัน แต่มีความสามารถกระจายในน้ำมันได้ดี

คำสำคัญ : โปรตีนชิริชิน โปรตีนไฟโบรอิน คุณสมบัติเชิงหน้าที่ รังไหม

Abstract

Chemical and physical properties of sericin and fibroin powders extracted under high pressure and temperature from silk cocoon boiled water and silk cocoons were studied. The results indicated that molecular weight of sericin decreased as the extraction time increased, which influenced the functional properties such as gelation, water and oil absorption capacity, solubility, surface hydrophobicity, emulsifying, stability, foaming and foam stability. Sericin extracted for a short time had higher functional properties than that extracted for a long time except the solubility, emulsion and foam stability was lower. When sericin was used in beverages, it precipitated at pH lower than 5.0 as it was near the protein pI value. Fibroin powder produced via alkali digestion showed similar properties to natural fibroin fibers such as water insolubility. Under simulated gastrointestinal (GI) tract conditions, fibroin was partially digested by pepsin, trypsin, and alpha-chymotrypsin. Based on results from oil trapping test of fibroin, they showed that the amount of free fatty acids in a food emulsion with and without fibroin were not different in the simulated GI tract conditions. Although fibroin powder dispersed in oil well, it could not trap any oil in food emulsion systems.

Key word : Sericin protein, Fibroin protein, Functional properties, Silk cocoon



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญเรื่อง

(Table of contents)

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
สารบัญเรื่อง	iv
สารบัญตาราง	v
สารบัญรูปภาพ	ix
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 วิธีการดำเนินวิจัย	18
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปราย	28
<u>ส่วนที่ 1</u> การเตรียมตัวอย่างผงโปรตีนชิริชินและไฟโบรอิน	28
<u>ส่วนที่ 2</u> การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของผงโปรตีนไฟโบรอินและชิริชิน	35
<u>ส่วนที่ 3</u> การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฟโบรอินและชิริชิน	42
<u>ส่วนที่ 4</u> การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี (Chemical properties)	57
<u>ส่วนที่ 5</u> การนำผงชิริชินที่ผลิตได้มาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร	62
บทที่ 5 บทสรุป	65
บรรณานุกรม	67
ภาคผนวก	73
<u>ส่วนที่ 1</u> ผลการทดลองทางเคมี	74
<u>ส่วนที่ 2</u> วิธีการวิเคราะห์ขนาดน้ำหนักโมเลกุลและการวิเคราะห์ปริมาณเปปไทด์	99
<u>ส่วนที่ 3</u> การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ	106
ประวัติผู้ศึกษา	146

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 คุณสมบัติและหน้าที่สำคัญของกรดอะมิโนในรังไหมที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย	3
ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่มีใน โปรตีนชิริชิน	4
ตารางที่ 3 องค์ประกอบและปริมาณกรดอะมิโนใน โปรตีนไฟโบรอิน	14
ตารางที่ 4 ปริมาณของแข็งทั้งหมดของสารสกัดโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัด ภายใต้สภาวะเดียวกันแต่อุณหภูมิต่างกัน	28
ตารางที่ 5 แสดงค่าความสามารถในการดูดซับน้ำ(WAC) และค่าดัชนีความสามารถ ในการละลาย (WSI) ของโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน และโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยด่าง	43
ตารางที่ 6 ค่าความสามารถในการดูดซับน้ำมันของ โปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัด ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันและ โปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยด่าง	46
ตารางที่ 7 ค่าการเรืองแสงของ โปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน และ โปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยด่างที่จับกับสาร ANS ที่ความยาวคลื่น excitation 374 nm. และ emission 485 nm.	47
ตารางที่ 8 ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สารละลายโปรตีนสามารถเกิดเจลได้ ที่อุณหภูมิ 2-4°C นาน 24 และ 48 ชั่วโมงของ โปรตีนชิริชินที่ผ่าน การสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันและ โปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยด่าง	49
ตารางที่ 9 ค่าดัชนีกิจกรรมของการเกิดอิมัลชัน(EAI)และค่าความคงตัวของอิมัลชัน(ES) ของ โปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันและ โปรตีนไฟโบรอิน ที่ผ่านการย่อยด้วยด่าง	52
ตารางที่ 10 ความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมที่ระยะ เวลา 0 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาทีของ โปรตีนชิริชิน ที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน	55
ตารางที่ 11 ปริมาณเพปไทด์หลังจากการย่อยผงโปรตีนไฟโบรอินด้วยเอนไซม์เปปซิน ที่ pH 2.0 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (จำลองสภาวะในกระเพาะอาหาร) และเอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์แอลฟา-ไคโมทริปซิน ที่ pH 8.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (จำลองสภาวะในลำไส้เล็ก)	60

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 12 ผลการย่อยผงโปรตีนไฟโบรอินด้วยเอนไซม์ไลเปสที่ pH 8 นาน 6 ชั่วโมง (จำลองสถานะในลำไส้เล็ก)	61
ตารางที่ 13 ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการย่อย Dressing จากน้ำมันมะพร้าว และน้ำมันมะกอกด้วยเอนไซม์ไลเปส ที่ pH 8.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง	62
ตารางที่ 14 ความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง	63
ตารางที่ 15 ลักษณะปรากฏ กลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์หลังจากเติมซิริซิน	64
ตารางที่ ๑๑ ค่าการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของสารสกัดโปรตีนซิริซิน	74
ตารางที่ ๑๒ ค่าการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำ (Water Absorption Capacity) ของผงโปรตีน	75
ตารางที่ ๑๓ ค่าการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำ (Water Solubility Index) ของผงซิริซินและไฟโบรอิน	76
ตารางที่ ๑๔ ค่าการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (Oil Absorption Capacity) ของผงโปรตีน	77
ตารางที่ ๑๕ ความสามารถในการเกิดเจลของ โปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 20 30 40 และ 50 นาที ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (% w/v) ภายใต้ อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง	78
ตารางที่ ๑๖ ความสามารถในการเกิดเจลของ โปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 60 นาทีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (% w/v) ภายใต้อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง	79
ตารางที่ ๑๗ ความสามารถในการเกิดเจลของ โปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 90 นาทีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (% w/v) ภายใต้อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง	80
ตารางที่ ๑๘-1 ความสามารถในการเกิดเจลของ โปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 120 นาทีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (% w/v) ภายใต้อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง	81
ตารางที่ ๑๘-2 ความสามารถในการเกิดเจลของ โปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 120 นาทีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (% w/v) ภายใต้อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง (ต่อ)	82

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ ๘9 ค่าการเรืองแสงของโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่างๆกันที่ จับกับสาร ANS ที่ความยาวคลื่น excitation 374 nm. และ emission 485 nm.	83
ตารางที่ ๘10 ค่าการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของ โปรตีนซิริซินและไฟโบรอิน	84
ตารางที่ ๘11 ค่าการวิเคราะห์ความคงตัวของชั้นอิมัลชันของโปรตีนหลังตั้งทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที	85
ตารางที่ ๘12 % Whippability ของโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดัน และความร้อนสูงที่ระยะเวลา 20 นาที	86
ตารางที่ ๘13 % Whippability ของโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดัน และความร้อนสูงที่ระยะเวลา 30 นาที	87
ตารางที่ ๘14 % Whippability ของโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดัน และความร้อนสูงที่ระยะเวลา 40 นาที	88
ตารางที่ ๘15 % Whippability ของโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดัน และความร้อนสูงที่ระยะเวลา 50 นาที	89
ตารางที่ ๘16 % Whippability ของโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดัน และความร้อนสูงที่ระยะเวลา 60 นาที	90
ตารางที่ ๘17 % Whippability ของโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดัน และความร้อนสูงที่ระยะเวลา 90 นาที	91
ตารางที่ ๘18 % Whippability ของโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดัน และความร้อนสูงที่ระยะเวลา 120 นาที	92
ตารางที่ ๘19 ปริมาณเปปไทด์ (nM) ของไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Pepsin ที่ pH 2.0 (จำลองสภาวะในกระเพาะอาหาร)	93
ตารางที่ ๘20 ค่าปริมาณเปปไทด์ (nM) ของไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Trypsin ที่ pH 8.0 (จำลองสภาวะในลำไส้เล็ก)	94
ตารางที่ ๘21 ค่าปริมาณเปปไทด์ (nM) ของไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย α -Chymotrypsin ที่ pH 8.0 (จำลองสภาวะในลำไส้เล็ก)	95

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ ผ22 ค่า Acid Value และ % กรดไขมันอิสระ ของผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อย ด้วย lipase ที่ pH 8.0 นาน 6 ชั่วโมง	96
ตารางที่ ผ23 ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการย่อย Dressing จากน้ำมันมะพร้าว ด้วยเอนไซม์ไลเปส ที่ pH 8.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง	97
ตารางที่ ผ24 ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการย่อย Dressing จากน้ำมันมะกอก ด้วยเอนไซม์ไลเปส ที่ pH 8.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง	98



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของโปรตีนซีรีซิน	4
รูปที่ 2 ผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อลักษณะโครงสร้างของไฟโบรอิน	12
รูปที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของโปรตีนไฟโบรอิน	13
รูปที่ 4 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) ของเส้นใยไฟโบรอิน หลังผ่านการกำจัดซีรีซิน (Degumming)	30
รูปที่ 5 เส้นใยไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Alcalase	32
รูปที่ 6 เส้นใยไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Neutrase	33
รูปที่ 7 เส้นใยไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Papain	34
รูปที่ 8 โครงสร้างภายในของผงโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน ภายใต้อุณหภูมิและภายใต้ความดันเดียวกัน	36
รูปที่ 9 โครงสร้างภายในของผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยสารละลายต่าง ที่สภาวะภายใต้ความดันและความร้อนสูง	38
รูปที่ 10 ขนาดอนุภาคของผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมคาร์บอเนต เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาคระบบเลเซอร์	39
รูปที่ 11 ขนาดอนุภาคของผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาคระบบเลเซอร์	39
รูปที่ 12 X-ray Diffraction curve ของผงโปรตีนไฟโบรอินที่ถูกย่อยด้วยสารละลายต่าง	40
รูปที่ 13 X-ray Diffraction curve ของผงโปรตีนไฟโบรอินที่ถูกย่อยด้วยสารละลายต่างเทียบกับ กับผงโปรตีนไฟโบรอินที่ละลายในสารละลายเกลือผสม	41
รูปที่ 14 ผงโปรตีนไฟโบรอินภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงโพลาไรส์	41
รูปที่ 15 ผงโปรตีนซีรีซินภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงโพลาไรส์	42
รูปที่ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผงโปรตีนซีรีซินที่ใช้ระยะเวลาในการสกัด 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที กับความสามารถในการดูดซับน้ำและดัชนีการละลายน้ำ	44
รูปที่ 17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผงโปรตีนซีรีซินที่ใช้ระยะเวลาในการสกัด 20 30 40 50 60 90 120 นาที และผงโปรตีนไฟโบรอินกับความสามารถในการดูดซับน้ำมัน	46
รูปที่ 18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน กับค่าการเรืองแสงของ ANS-bound protein ที่ความยาวคลื่น excitation 374 nm. และ emission 485 nm.	48

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่างกับ กับระดับความเข้มข้นของสารละลายโปรตีน (ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v)) ที่สามารถเกิดเจลอุณหภูมิ 2-4 °C	50
รูปที่ 20 แสดงความสัมพันธ์ค่าดัชนีกิจกรรมของการเกิดอิมัลชัน (EAI) และค่าความคงตัวของอิมัลชัน (ES) กับผงโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัด ที่ระยะเวลาต่างกันและผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยด่าง	53
รูปที่ 21 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรโฟมกับระยะเวลา (นาที)	56
รูปที่ 22 SDS-PAGE ของโปรตีนซิริซินที่ได้จากครั้งใหม่คิบ เมื่อผ่านการสกัดที่อุณหภูมิ 121 °C ด้วยระยะเวลา 20 30 40 และ 50 นาที	57
รูปที่ 23 SDS-PAGE ของโปรตีนซิริซินที่ได้จากครั้งใหม่คิบ เมื่อผ่านการสกัดที่อุณหภูมิ 121 °C ด้วยระยะเวลา 60 90 และ 120 นาที	58
รูปที่ 24 SDS-PAGE ของโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยด่างและนำไปละลาย ในสารละลายเกลือผสม	59
รูปที่ ผ1 Assembling the Mini-PROTEAN 3 casting stand and frame	101
รูปที่ ผ2 Mini-PROTEAN 3 assembly	103
รูปที่ ผ3 The sample loading	103

บทที่ 1

บทนำ

(Introduction)

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

การปลูกหม่อนเลี้ยงไหมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยได้ทำสืบต่อกันมานาน โดยมักทำกันนอกเหนือฤดูกาลเก็บเกี่ยวเป็นการหารายได้เสริมและใช้ในครัวเรือน ไหมที่ผลิตได้ส่วนใหญ่จะใช้ในการผลิตผ้าไหมชนิดต่าง ๆ แต่สำหรับคนทั่วไปแล้วผ้าไหมยังคงมีราคาแพงและดูแลรักษา ยาก ส่งผลให้มีความต้องการในการใช้ลดน้อยลง ทำให้มีผ้าไหมค้างจำหน่ายอยู่ปริมาณมากในท้องตลาด ราคาไหมดิบลดลง การส่งออกมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับประเทศที่ผลิตรายใหญ่ของโลก เช่น ประเทศจีนและอินเดีย โดยประเทศไทยส่งออกเพียง 500 ล้านบาทต่อปี ในขณะที่ประเทศอินเดียส่งออกปีละประมาณ 30,000 ล้านบาท ส่งผลให้ผู้เลี้ยงไหมและช่างทอผ้าหันไปประกอบอาชีพในโรงงานอุตสาหกรรมแทนเพราะมีรายได้ที่แน่นอนกว่า ส่วนผู้บริโภคไม่ได้รับผลกระทบจากราคาไหมดิบที่ลดลงมากนัก เนื่องจากราคาผ้าไหมถูกกำหนดโดยพ่อค้าคนกลาง เกษตรกรบางกลุ่มจึงรวมตัวกันเพื่อทำอุตสาหกรรมไหมครบวงจรแต่ผ้าไหมที่ทอขึ้นมานั้น พบปัญหาขายไม่ได้ เพราะลวดลายและสีไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ทำให้สูญเสียเงินลงทุนและรายได้ แต่ในขณะที่ราคารังไหมตกต่ำมากปรากฏว่าตัวดักแด้สดเป็นที่ต้องการของตลาด ทำให้ราคาของตัวดักแด้สดมีค่าใกล้เคียงกับราคารังไหม เกษตรกรผู้เลี้ยงไหมบางแห่งจึงตัดรังไหมเพื่อเก็บดักแด้สดไปขายและทิ้งรังไหม รังไหมที่ถูกตัดแล้วไม่สามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเส้นไหมได้อีก จึงกลายเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและไม่ก่อให้เกิดมูลค่าเพิ่มในทางเศรษฐกิจ

โดยทั่วไปองค์ประกอบหลักของรังไหมที่ได้จากหนอนไหม *Bombyx mori* ประกอบด้วยโปรตีน 2 ส่วน คือ โปรตีนซีรีซิน (Sericin protein) และโปรตีนไฟโบรอิน (Fibroin protein) โดยโปรตีนซีรีซินเป็นโปรตีนที่เคลือบอยู่รอบ ๆ เส้นใย มีคุณสมบัติเหนียวคล้ายกาว ส่วนโปรตีนไฟโบรอินเป็นโปรตีนประเภทเส้นใย มีคุณสมบัติของเส้นใยที่มีความมันวาวและมีความเหนียว ซึ่งโปรตีนที่ได้จากรังไหมจะมีกรดอะมิโนจำเป็นต่อร่างกาย เช่น อะลานีนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญต่อเนื้อเยื่อ กล้ามเนื้อ ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันแก่ร่างกาย และช่วยกระตุ้นการสลายตัวของแอลกอฮอล์ มีผลลดอาการเมาค้าง ป้องกันตับ ส่วนเซอรินมีผลช่วยกระตุ้นการทำงานของสมองในผู้สูงอายุ (File et al., 1999) และทรีโอนีนช่วยป้องกันการเกิดไขมันในตับและควบคุมระบบการทำงานของร่างกายให้เป็นปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนจากไหมส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่มีความใกล้เคียงกับโปรตีนที่พบในร่างกายของมนุษย์ จึงมีการนำโปรตีนจากไหมมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งจะใช้ออยู่ในรูปของ

ผงหรือสารละลาย เช่น เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง อาหารเสริม เครื่องดื่ม เยื่อเลือกผ่าน วัสดุย่อยสลายทางชีวภาพ วัสดุทางชีวภาพเชิงหน้าที่ เวชภัณฑ์ทางการแพทย์ ดังนั้นหากนํารังใหม่ที่เหลือทิ้งมาแปรรูปและนำกลับมาใช้ได้อีกก็จะเป็นประโยชน์ทั้งทางเศรษฐกิจและทางสังคม

สำหรับประเทศไทย การปลูกหม่อนเลี้ยงไหมยังมุ่งเน้นอยู่ที่อุตสาหกรรมสิ่งทอไม่ว่าจะเป็นระดับครัวเรือนหรือระดับอุตสาหกรรมขนาดเล็กและขนาดใหญ่ เกษตรกรจะผลิตรังไหมหรือสาวเป็นเส้นไหม ขายให้กับโรงสาวไหม หรือพ่อค้าคนกลาง เพื่อนำไปขายให้กับโรงงานทอผ้าต่อไป แม้ว่าจะมีการศึกษาและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากรังไหมและเส้นไหมอยู่บ้าง แต่ก็อยู่ในวงจำกัดและอยู่ในระยะเริ่มต้น ทำให้ไม่ครอบคลุมการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมด้านต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง เป็นต้น และเพื่อเพิ่มคุณค่าของรังไหมและเส้นไหมให้สูงขึ้นมากกว่าการนำไปทอเป็นผ้าไหมเพียงอย่างเดียว จึงจำเป็นต้องพัฒนาการผลิตรังไหมด้วยกระบวนการต่าง ๆ รวมทั้งการหาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของผงไหมเพื่อให้เหมาะสมกับอุตสาหกรรมด้านนั้น ๆ

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตผงโปรตีนไฟโบรอินและโปรตีนซีรีซินแบบใหม่จากรังไหมและน้ำต้มรังไหม สำหรับใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางและอาหารเพื่อสุขภาพ
2. เพื่อทดสอบคุณสมบัติทางด้านเคมีกายภาพของผงไฟโบรอินและซีรีซินที่ผลิตได้
3. เพื่อนำผงไหมที่ผลิตได้มาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้จะเน้นการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพตลอดจนการหาน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนของผงโปรตีนซีรีซินที่ผลิตได้จากน้ำต้มรังไหมที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันภายใต้อุณหภูมิและความดันเดียวกัน และผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยสารละลายต่างและเอนไซม์ต่างชนิดกัน เพื่อให้ได้คุณสมบัติเหมาะสมแก่การนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง โดยจะมีการทดสอบการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทต่าง ๆ

ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

ช่วยพัฒนาศักยภาพการนำของเสียจากขบวนการผลิตไหมมาเพิ่มมูลค่า และแปรรูปเส้นไหมเป็นผลิตภัณฑ์อื่นนอกเหนือการใช้ในอุตสาหกรรมทอผ้าไหม เพื่อช่วยเสริมสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงไหมให้มีทางเลือกในการขายสินค้า อีกทั้งเป็นการพัฒนาอุตสาหกรรมต่อเนื่องที่เกี่ยวข้องกับไหมเพื่อตลาดภายในและต่างประเทศอันเป็นการเสริมสร้างความแข็งแกร่งทางเศรษฐกิจของอุตสาหกรรมไหมไทย

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร (Literature review)

รังไหมที่ได้จากหนอนไหม *Bombyx mori* มีส่วนประกอบหลักเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยโปรตีน 2 ส่วน คือ โปรตีนซีรีซิน (Sericin protein) และโปรตีนไฟโบรอิน (Fibroin protein) โดยโปรตีนซีรีซินเป็นโปรตีนที่ถูกสร้างมาจากต่อมบริเวณส่วนกลางของลำตัวหนอนไหม มีคุณสมบัติเหนียวคล้ายกาว เคลือบอยู่รอบ ๆ เส้นไหมหรือไฟโบรอิน ทำหน้าที่เคลือบ/ห่อหุ้มและเป็นกาวยึดเกาะเส้นใยไฟโบรอินให้คงสภาพเป็นรังไหมไว้ได้ สามารถละลายในน้ำได้ดี มีประมาณร้อยละ 20-30% ส่วนโปรตีนไฟโบรอินถูกสร้างมาจากต่อมบริเวณส่วนหลังของหนอนไหม เป็นโปรตีนประเภทเส้นใย ซึ่งเป็นส่วนที่นำมาใช้ในการทอผ้าไหมและเป็นโปรตีนที่ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายส่วนใหญ่ รวมถึงน้ำ กรด และด่าง มีประมาณร้อยละ 70-80% โดยโปรตีนที่ได้จากหนอนไหมดังกล่าวจะประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีคุณค่า (ดังแสดงในตารางที่ 1) และเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายของมนุษย์

ตารางที่ 1 คุณสมบัติและหน้าที่สำคัญของกรดอะมิโนในรังไหมที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

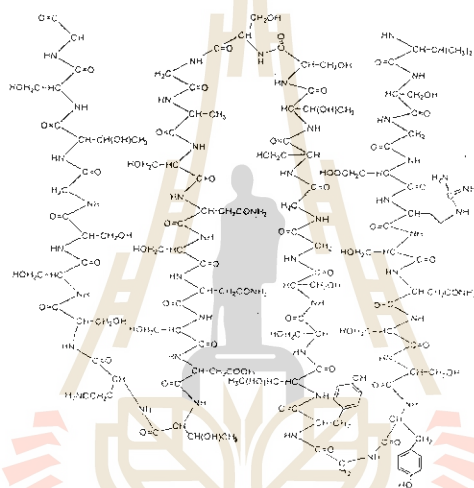
ชนิดกรดอะมิโนใน ผงไหม	หน้าที่และคุณสมบัติ
Glycine	<ul style="list-style-type: none"> - ควบคุมระดับคอเลสเตอรอล - ป้องกันและรักษาความดันโลหิตสูง - ช่วยเสริมสร้างการทำงานของตับ
Alanine	<ul style="list-style-type: none"> - เป็นแหล่งพลังงานสำคัญต่อเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ, สมองและระบบประสาทส่วนกลาง - ผลิต antibodies ที่ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น - ช่วยในกระบวนการทำงานของน้ำตาลและกรดอินทรีย์
Serine	<ul style="list-style-type: none"> - เป็นแหล่งในการสะสมน้ำตาล glucose ในตับ และกล้ามเนื้อ จึงช่วยส่งเสริมระบบการทำงานของ Insulin เป็นการลดน้ำตาลในเลือดซึ่งช่วยในการเผาผลาญไขมันที่สะสมในร่างกาย - ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันแข็งแรงขึ้น - สังเคราะห์กรดไขมันล้อมรอบ nerve fibers
Aspartic acid	<ul style="list-style-type: none"> - ช่วยขับไล่อากรบาดเจ็บและสารพิษแอมโมเนียออกจากร่างกาย

โครงสร้าง องค์ประกอบทางเคมีและประโยชน์ของโปรตีนไหม

2.1 โปรตีนซีรีซิน (Sericin protein)

2.1.1 โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนซีรีซิน

ซีรีซินเป็นโปรตีนที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 10 - >300 kDa ประกอบด้วยกลุ่มเคมีจำพวกกลุ่มไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) กลุ่มคาร์บอนิล (Carbonyl group) และกลุ่มอะมิโน (Amino group) ซึ่งสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนที่แข็งแรงซึ่งส่งผลให้มีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลสูง (ดังแสดงโครงสร้างทางเคมีในรูปที่ 1) โปรตีนซีรีซินประกอบไปด้วยกรดอะมิโนถึง 18 ชนิด (ดังแสดงในตารางที่ 2) ที่พบมากที่สุดได้แก่ เซอรีน (Serine) และกรดแอสปาร์ติก (Aspartic acid) ซึ่งมีประมาณ 33.4 และ 16.7% ตามลำดับ (Zhang, 2002)



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของโปรตีนซีรีซิน

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่มีในโปรตีนซีรีซิน

Amino acid	Assay(g/100g)	Amino acid	Assay(g/100g)
Serine	33.40	Valine	2.80
Aspartate	16.70	Histidine	1.30
Glutamate	4.40	Leucine	1.10
Glycine	13.50	Isoleucine	0.70
Threonine	9.70	Phenylalanine	0.50
Lysine	3.30	Tryptophan	0.20
Tyrosine	2.60	Proline	0.70
Arginine	3.10	Cystine	0.20
Alanine	6.00	Methionine	0.04

ที่มา : NantongDongchang Chemical Industrial (2002)

ซิริซินเป็นโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำและยังเกิดปฏิกิริยาก่อนน้ำ (Hydrolysis) เมื่อละลายในกรดหรือด่าง สามารถย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์โปรตีเอส (Protease) โดยกระบวนการผลิตมีผลต่อขนาดโมเลกุลของซิริซิน เนื่องจากโปรตีนชนิดนี้ไวต่อสภาวะกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในกระบวนการ โปรตีนซิริซินที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก (≤ 20 kDa) หรือโปรตีนซิริซินที่ได้จากกระบวนการก่อน้ำ สามารถใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางประเภทต่าง ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์ถนอมผิว บำรุงผิวและเส้นผม ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเวชภัณฑ์ทางการแพทย์ ส่วนโปรตีนซิริซินที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ (≥ 20 kDa) สามารถใช้ในวัสดุทางการแพทย์ (Medical biomaterials), วัสดุย่อยสลายทางชีวภาพ (Degradable biomaterials), ส่วนผสมของโพลีเมอร์ (Compound Polymers), เยื่อเลือกผ่านเชิงหน้าที่ (Functional biomembrane), ไฮโดรเจล (Hydrogel), และเส้นใยหรือผ้าเฉพาะทาง (Functional fiber and fabrics) (Zhang, 2002)

โปรตีนซิริซินที่เป็นเปปไทด์ขนาดเล็กสามารถละลายได้ดีในน้ำเย็นและแยกออกมาได้โดยง่ายในกระบวนการขึ้นต้นของการผลิตเส้นไหม ในขณะที่โปรตีนซิริซินที่มีขนาดใหญ่สามารถละลายได้ดีในน้ำร้อนทำให้สามารถสกัดได้จากขั้นตอนการสาวไหม (Degumming)

2.1.2 การใช้ประโยชน์จากโปรตีนซิริซิน

1. อุตสาหกรรมอาหาร (Food Materials)

เนื่องจากโปรตีนซิริซินเป็นโปรตีนที่ใกล้เคียงกับโปรตีนในร่างกายมนุษย์มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น เซอรีนที่เป็นแหล่งสะสมน้ำตาล glucose ในตับและกล้ามเนื้อช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ในกรณีเป็นโรคเบาหวาน ส่วนทรีโอนีนช่วยป้องกันการเกิดไขมันในตับและควบคุมระบบการทำงานของร่างกายให้เป็นปกติ จึงมีการนำโปรตีนซิริซินมาเป็นสารปรุงแต่งอาหาร (food additive) ในอุตสาหกรรมอาหารเสริมและเครื่องดื่ม จากการศึกษาของ Kazuhisa et al. (2001) พบว่า sericin-rich repetitive sequence ในซิริซิน และโปรตีนซิริซินที่ผ่านกระบวนการก่อน้ำสามารถป้องกันเซลล์และโปรตีนจากความเสียหายที่เกิดจากกระบวนการแช่เยือกแข็ง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Tsujimoto และคณะ (Kazuhisa et al., 2001) ที่มุ่งเน้นการศึกษาสายเปปไทด์ที่อุดมด้วยโปรตีนซิริซิน (sericin-rich) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 38 ชนิด ซึ่งเป็นโปรตีนซิริซินที่มีลักษณะเป็นสายโซ่ที่มีลำดับซ้ำ ๆ กัน จากการศึกษาขั้นที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี และทำการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน (Polymerase chain reaction; PCR) เพื่อทำให้เกิด dimer ของโปรตีนซิริซินขึ้น แล้วจึงนำ dimer ดังกล่าวถ่ายเข้าไปใน *Escherichia coli* พบว่า สามารถป้องกันความเสียหายจากกระบวนการแช่เยือกแข็ง และจากการนำ dimer ของโปรตีนซิริซินที่ได้จาก *Escherichia coli* ไปทำให้บริสุทธิ์พบว่าสามารถป้องกันการเสียสภาพธรรมชาติ (Denature) ของเอนไซม์แลคเตทเดไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase) ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและทำละลายซ้ำ (freeze-thaw cycle) ได้ โดยการต้านทานต่อการแช่เยือกแข็งนี้เหมือนกับที่พบในโปรตีนซิริซินธรรมชาติที่ผ่านปฏิกิริยาก่อนน้ำ จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าโปรตีน

ซีรีซินที่ผ่านปฏิกิริยาก่อนนำมีความสามารถในการป้องกันอันตรายจากความชื้นและกระบวนการการแช่เยือกแข็งซึ่งสามารถนำไปประยุกต์เพื่อใช้ประโยชน์ได้มากมาย นอกจากนี้โปรตีนซีรีซินยังสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันและยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase; polyphenol oxidase) ได้อีกด้วย (Kato et al., 1997)

2. อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (Cosmetic Materials)

เนื่องจากโปรตีนซีรีซินมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำได้ดี ติดกับเส้นผมและผิวหนังได้แน่นเกิดเป็นฟิล์มเคลือบผิวหนังและเส้นผมจึงช่วยป้องกันแสงอัลตราไวโอเลตได้ดี ป้องกันการเกิดเม็ดสี (melanin) ที่ผิว ช่วยทำให้ผิวชุ่มชื้น ลื่น ตึงและเนียนนุ่ม และเป็นสารแอนติออกซิเดนต์ (antioxidant agent) ยับยั้งการทำลายเซลล์โดย oxygen free radicals ป้องกันการเหี่ยวของผิวพรรณ สามารถกำจัดเซลล์ผิวที่เสื่อมสภาพแล้วให้หลุดออกมาได้ ทำให้เซลล์ผิวหนังแข็งแรง และยังทำให้เซลล์ผิวหนังที่เกิดอาการอักเสบซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากผิวหรือฝ้าได้คืนสภาพเร็วขึ้น โปรตีนซีรีซินจึงถูกนำไปใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง เช่น ครีมขัดหน้าของบริษัท Kanebo จำกัด ที่ทำจากโปรตีนซีรีซินที่มีขนาดอนุภาคต่างๆกัน เพื่อให้มีคุณสมบัติในการขัดผิวที่ไม่รุนแรงจนเกินไป ช่วยรักษาผิวหนังชั้นบนของผิวหนังและช่วยกำจัดเซลล์ผิวที่ตายแล้วให้หลุดลอกออกไป ทำให้ผิวหนังสดใสเปล่งปลั่งแลดูมีน้ำมีนวล (Une and Kusaki, 2003) ผลิตภัณฑ์โฟมล้างหน้า ซึ่งพัฒนาโดย Oodoremari KK (Fujiura, 2004) ผลิตภัณฑ์สเปรย์รองพื้นสำหรับเรือนร่างหรืออุ้งน่องล่องหน โดยบริษัท Nissin Medico จำกัด มีคุณสมบัติที่ช่วยในการปกปิดร่องรอยและจุดด่างดำต่าง ๆ บนผิว ทำให้ผิวเนียนเรียบเป็นธรรมชาติ ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวพรรณ รู้สึกบางเบาและแห้งสบาย สามารถกันน้ำได้ และไม่ทำให้เปราะเปื้อนเสื้อผ้าบริเวณที่สวมใส่ (Hamada, 2004) ผลิตภัณฑ์กำจัดสิวและผลิตภัณฑ์กำจัดเซลล์ผิวของบริษัท Shiseido จำกัด ที่ช่วยให้ผิวเนียนเรียบ และกำจัดเซลล์ผิวที่ไม่ต้องการแล้วให้หลุดลอกออกไป (Hirao, 1999) เครื่องสำอางชนิดน้ำโดยบริษัท Pentel KK จำกัด ซึ่งจะช่วยให้ผิวเกิดความชุ่มชื้น แห้งเร็วไม่เหนียวเหนอะหนะ (Otani, 1994) ผงซักฟอกที่มีส่วนผสมของไหมเยื่อใช้แล้วมือจะไม่แห้งหยาบกร้าน โดยบริษัท Kawaken Fine Chemicals จำกัด และบริษัท Kanebo จำกัด (Terada et al., 1996; Niwase, 1993) สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์อื่นที่มีส่วนผสมของไหม คือ ลิปสติก มาสคาร่า เครื่องสำอางสำหรับความคุมความมันบนใบหน้า แป้งรองพื้น ผลิตภัณฑ์ตกแต่งสีส้นบนใบหน้า ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดบนใบหน้า ผลิตภัณฑ์สำหรับเส้นผมที่ช่วยให้ผมไม่แตกปลาย มีความนุ่ม สางตัว ยืดหยุ่นได้ดี จัดทรงง่าย (Kato, 1992; Takatsu et al., 1992; Miyashita, 1999; Matsui and Sano, 1997; Matsui et al., 1995; Oeda et al., 1999; Otoi and Yamamoto, 1992; Ota and Iwamoto, 1995; Nanbu et al., 1994; Oshita and Naito, 1996) ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้ได้รับการจดสิทธิบัตรคุ้มครองไว้ทั้งหมดแล้วในต่างประเทศ

3. เส้นใย ผ้า และวัสดุเทียมเชิงหน้าที่ (Functional fiber, fabrics and articles)

จากการศึกษาวิจัยของ Yamada และ Nomura (1998) รายงานว่า การเคลือบผ้าด้วยโปรตีนชิริซินสามารถป้องกันการเกิดผื่นคันและอาการแพ้ได้ เหมาะสมกับผิวที่ไวต่อการสัมผัส โดยการนำเส้นใยสังเคราะห์จุ่มลงในสารละลายโปรตีนชิริซินที่มีความเข้มข้น 3% แล้วนำไปทำให้แห้งที่ 100°C นาน 3 นาที แล้วจึงนำเส้นใยนั้นไปทอเพื่อตัดเย็บเป็นชุดสำหรับสวมใส่ต่อไป เช่น การนำไปใช้ในอุตสาหกรรมชุดชั้นในสตรีที่มีราคาแพง ผ้าอ้อมสำหรับเด็กทารก และผ้าพันแผล

Takai (1999) ได้พัฒนาเส้นใยที่มีความสามารถในการดูดซับน้ำได้ดี โดยการทำให้โปรตีนชิริซินเคลือบอยู่บนเส้นใย thermoplastic fiber (rayon) และเส้นใยจากเซลลูโลส (ผ้าฝ้าย) รว 0.1 - 5.0% ทำให้เส้นใยมีความสามารถในการดูดซับมากขึ้นและไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ผื่นคัน และยังมีรายงานการนำสารจากธรรมชาติ เช่น โคลโตซานร่วมกับโปรตีนชิริซินมาใช้ในการพัฒนาเส้นใย (Nabeshima et al., 1997 : Nogata et al, 1997) สามารถนำโปรตีนชิริซินไปใช้กับเส้นใยธรรมชาติอื่น ๆ ที่ผลิตจากพืชและสัตว์ได้ (Nomura and Yamada, 1996)

การนำโปรตีนชิริซินที่ได้จากกระบวนการถ่อน้ำ (5 - 50 kDa, 0.01-10.0% โดยน้ำหนัก) ไปผสมกับยางจะสามารถลดอาการผื่นคันที่เกิดจากยางธรรมชาติได้ วิธีการดังกล่าวสามารถนำไปใช้ผลิตวัสดุสังเคราะห์ เช่น ถุงมือยาง คันบังคับรถจักรยานยนต์และด้ามจับสำหรับอุปกรณ์ออกกำลังกาย ส่วนผงโปรตีนชิริซินที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 20 ไมครอน สามารถนำไปผสมกับยางประกอบ (compound rubber) และ thermoplastic (เช่น vinyl acetate resin) เพื่อใช้ในการผลิตวัสดุสังเคราะห์หรือวัสดุเทียมทั้งหลายได้ (Ueda and Makita, 2000) ในปัจจุบันได้มีการนำโปรตีนชิริซินมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายและผู้บริโภคหันมาให้ความสนใจมากขึ้น ดังที่มีรายงานจาก บริษัท Sciren จำกัด ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งถือได้ว่าเป็นบริษัทแรกที่เริ่มมีการผลิตและใช้ประโยชน์จากโปรตีนชิริซินอย่างจริงจัง โดยเมื่อปี 1997 มีมูลค่าเพียง 3.5 ร้อยล้านบาท (3.2 ล้านดอลลาร์สหรัฐ) แต่เมื่อปี 2000 กลับมีมูลค่าสูงถึง 1.2 พันล้านบาท (10.9 ล้านดอลลาร์สหรัฐ) และยังมีแนวโน้มที่จะขายได้มากขึ้นเรื่อยๆ ในอนาคต (www.jin-japan.org, 2000)

4. วัสดุย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradable materials)

โปรตีนชิริซินเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมสามารถนำไปผสมกับเรซินอื่นๆ เพื่อเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายตัวได้เองตามธรรมชาติ (Annammaria et al., 1998) เช่น การผสมโปรตีนชิริซินลงในโพลียูรีเทนโฟม (Polyurethane foams) ซึ่งทำให้โฟมมีความสามารถในการดูดซับน้ำและความชื้นได้ดี (Nuomura et al., 1995) การผลิตโพลีเมอร์ฟิล์ม โฟม เรซิน และเส้นใยที่มีโปรตีนชิริซินเป็นส่วนประกอบ 0.01 - 50 % ทำได้โดยการทำปฏิกิริยาของสารประกอบจำพวกโพลีออล (Polyol) โทไลอิน ไดไอโซไซยาเนต ไดบิวโทลีน ไดลายูเรท (ตัวเร่งปฏิกิริยา) และไตรคลอโรโมโนฟลูออโรมีเทน (blowing agent) กับโปรตีนชิริซิน อัตราการดูดซับ/ดูดซับน้ำของโพลียูรีเทนโฟมที่ผลิตได้สูงกว่าโฟมที่

ไม่มีโปรตีนซิริซินเป็นส่วนประกอบ 2 ถึง 5 เท่าและมีความสามารถในการทนต่อแรงกลและความร้อนได้ดี (Hatakeyama, 1996)

การนำผงโปรตีนซิริซินไปละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent) เช่น เตตระไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran) และไดออกเซน (Dioxane) ที่มีโพลีเอเทอร์ (Polyether) หรือโพลีเอสเทอร์ โพลีออล (Polyester polyol) เป็นส่วนประกอบ โปรตีนซิริซินจะทำปฏิกิริยากับโพลีไอโซไซยานาต (Polysocyanate) (ประกอบด้วย อะลิฟาติก อะลิไซคลิกหรืออะโรมาติกโพลีไอโซไซยานาต) ส่งผลให้ฟิล์มดังกล่าวสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ

เรซินพุมิกสังเคราะห์ (Synthetic resin pumic) ทำได้โดยการนำสารละลายโพลีออลผสมกับ foaming agent, foam-shaping agent, ตัวเร่งปฏิกิริยา, fire retardant และผงหรือสารละลายโปรตีนซิริซิน จากนั้นทำการนวดแล้วนำสารละลายโพลีไอโซไซยานาตเติมลงไปเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาโพลีแอดดิชัน (Poly-addition) เกิดความร้อนและแก๊สที่ทำให้เกิดรูพรองคล้ายโฟมขึ้นได้เป็นเรซินพุมิกสังเคราะห์ วิธีการนี้สามารถใช้ในการผลิตโพลีเมอร์ผสมโปรตีนชนิดอื่น ๆ ได้อีกด้วย (Fujita et al., 1998; Sumitomo et al., 1997)

5. เยื่อเลือกผ่าน (Membrane Materials)

การแยกของผสมโดยใช้เยื่อเลือกผ่านเป็นที่นิยมกันอย่างกว้างขวางในกระบวนการการแยกเกลือออกจากน้ำทะเล (Reverse Osmosis, Dialysis, Ultrafiltration, Microfiltration) กระบวนการผลิตน้ำบริสุทธิ์และอุตสาหกรรมทางกระบวนการชีวภาพ (Bioprocess) (Chisti, 1998) รวมถึงกระบวนการทางเคมีบางอย่าง จากการทดลองที่ผ่านมามีการใช้โปรตีนซิริซินและโปรตีนไฟโบรินในการผลิตเยื่อเลือกผ่านเพื่อใช้ในกระบวนการแยกสารประกอบที่ผสมกันอยู่ได้ เช่น การศึกษาของ Hirotsu และ Nakajima (1994) นำโปรตีนไฟโบรินชนิดที่ไม่ละลายน้ำไปผลิตเยื่อเลือกผ่าน พบว่า เยื่อเลือกผ่านที่ได้มีคุณสมบัติในการแยกของผสมระหว่างน้ำและแอลกอฮอล์ได้ แต่อย่างไรก็ดีเป็นการยากที่จะผลิตเยื่อเลือกผ่านจากโปรตีนซิริซินบริสุทธิ์ เนื่องจากกรดอะมิโนที่ประกอบในโครงสร้างของซิริซินมีน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่และมีหมู่ function เป็น neutral polar จึงได้มีการนำ crosslink agent มาผสมหรือทำให้โปรตีนซิริซินเกิดการ copolymerized กับสารประกอบอื่นๆ ซึ่งส่งผลให้เยื่อเลือกผ่านที่มีโปรตีนซิริซินเป็นองค์ประกอบมีคุณสมบัติในการชอบน้ำ (Hydrophilic) เยื่อเลือกผ่านที่ผลิตได้จึงมีความสามารถในการแยกน้ำออกจากสารละลายอินทรีย์ได้

Mizoguchi และคณะ (1991) ศึกษา cross-linked thin film ที่ผลิตได้จากโปรตีนซิริซินเพื่อใช้ในการแยกของผสมระหว่างน้ำและแอลกอฮอล์ โดยการนำกรดไฮโดรคลอริก, cross-linking agent เช่น ฟอรัมาลดีไฮด์, อีลาสตรอน E-37 และสารละลายโปรตีนซิริซิน จากนั้นนำไปอบบนวัสดุแผ่นเรียบ เช่น แผ่นกระจก วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดการ cross-link กับฟอรัมาลดีไฮด์ ก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 120°C เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เกิดการ cross-link กับยูริเทน

การสร้าง copolymer ด้วยการนำสารละลายโปรตีนซีรีซินความเข้มข้น 10% ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เติมลงในของผสมที่ประกอบด้วย acrylonitrile 10 กรัม calcium peroxydisulfide 3 กรัม sodium lauryl sulfate 0.15 กรัม และน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ทำให้อุ่นขึ้นที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 4 ชั่วโมง เพื่อให้ทำปฏิกิริยากัน จากนั้นกรองแล้วล้างด้วยน้ำก่อนนำไปทำแห้ง แล้วจึงนำ copolymer ดังกล่าวไปละลายใน dimethyl sulfoxide 5 มิลลิลิตรที่ 80 °C นำไปเคลือบลงบนวัสดุแผ่นเรียบเพื่อขึ้นรูปให้เป็นเยื่อเลือกผ่านโพลีเมอร์สังเคราะห์ที่สร้างขึ้นจากการรวมตัวของ acrylonitrile และ โปรตีนซีรีซินนี้สามารถแยกน้ำออกจากสารอินทรีย์ได้ (Yamada and Fuwa, 1993a, 1994)

การสร้างเยื่อเลือกผ่านที่มีโครงสร้างเป็นร่างแห 3 มิติที่เกิดจากการรวมตัวกันของโปรตีนซีรีซิน สารประกอบอียพอกซีชนิดไม่ละลายน้ำ และ cross-linking agent ทำให้เกิดปฏิกิริยา 3 แบบ ได้แก่ สารประกอบอียพอกซีรวมตัวกับกลุ่มไฮดรอกซิล กลุ่มอะมิโน และกลุ่มคาร์บอนิลของโปรตีนซีรีซิน แบบที่ 2 สารประกอบอียพอกซีที่ได้จากการรวมตัวทำปฏิกิริยากับกลุ่มคาร์บอนิลแล้วให้กลูเตอรอลดีไฮด์ออกมา แบบสุดท้าย คือ กลุ่มไฮดรอกซิล กลุ่มอะมิโนและกลุ่มคาร์บอนิลรวมตัวกับกลูเตอรอลดีไฮด์ ซึ่งจากการทดลองของ Yamada and Fuwa (1993b) ได้นำสารละลายโปรตีนซีรีซิน 10% ผสมกับ 0.38 โมลาร์ของไดไกลิดิไดลอีเทอร์ (Diglycidyl ether) 0.14 โมลาร์ของไดเอทธิลีนไดเอมีน (diethylenetriamine) และน้ำกลั่น แล้วนำไปเคลือบลงบนวัสดุแผ่นเรียบวางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง ก่อนนำไปอบที่ 85 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเยื่อเลือกผ่านที่ได้ไปแช่ลงในสารละลายที่ประกอบด้วย 0.1% กลูเตอรอลดีไฮด์ 1.0% กรดซัลฟูริก และ 20% โซเดียมซัลเฟต นาน 24 ชั่วโมง ซึ่งเยื่อเลือกผ่านเกิดจากการ cross-linked ที่ได้นี้สามารถแยกสารประกอบ racemic ได้

การนำผงโปรตีนซีรีซินไปผสมกับ agar/agarose, sodium azide และน้ำปราศจากไอออน นำไปอุ่นที่ 60 °C แล้วแผ่ให้เป็นแผ่นบางทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แผ่นเจลที่ได้จะมีรูพรุนและมีความสามารถในการดูดซับน้ำสูง อีกทั้งยังหากฟิล์มหรือเจลดังกล่าวมีโปรตีนซีรีซินเป็นองค์ประกอบ 0.1-60% จะสามารถทนแรงดันได้ถึง 0.01-2.0 kgf/cm² และใช้แยก methyl butyether (MTBE) ออกจากแอลกอฮอล์ได้ ส่วนเจลที่ทำจาก agar/agarose และ โปรตีนซีรีซิน หรือ polyoxyethelene และ hydroxyalkyl cellulose เป็นวัสดุที่ดีเยี่ยมในการแยกของผสมระหว่างอีเทอร์-แอลกอฮอล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งของผสมระหว่าง MTBE และเมทานอล (Yoshikawa et al, 2001b)

6. วัสดุทางชีวภาพเชิงหน้าที่ (Functional biomaterials)

จากการที่โปรตีนซีรีซินสามารถทำให้อยู่ในรูปฟิล์มที่มีความแข็งแรงและยืดหยุ่นได้ดีจึงใช้ในการเคลือบหรือหุ้มวัสดุอื่นๆ ได้ Nakajima (1994) พบว่าสามารถนำฟิล์มโปรตีนซีรีซินไปเป็นส่วนประกอบในชั้น liquid crystal ทำให้เกิดเป็น distortion-free high-quality liquid crystal ซึ่งสามารถเตรียมได้จากการนำผงโปรตีนซีรีซินที่ได้จากการต้มรังไหมในน้ำเดือดนาน 2 ชั่วโมง จากนั้นกำจัดไขมันด้วยเบนซีนและเอทานอล (อัตราส่วน 2 ต่อ 1 โดยปริมาตร) จากนั้นนำผงโปรตีนซีรีซินบริสุทธิ์

ที่ได้ไปละลายน้ำกลั่นแล้วกรอง ก่อนนำไปเคลือบบนวัสดุที่โปร่งแสงและทำแห้งโดยการหมุนแผ่นดังกล่าวด้วยความเร็ว 100-5000 รอบต่อนาที

Tanaka et al. (2001) ศึกษาการทำฟิล์มเคลือบจากโปรตีนซีรีซินเพื่อใช้เคลือบผิวหน้าของเครื่องทำความเย็นเพื่อป้องกันการเกาะของน้ำแข็ง ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวางในระบบทำความเย็นต่าง ๆ เช่น ตู้เย็น ตู้แช่แข็ง รถหรือเรือส่งสินค้าแช่เย็นและแช่แข็ง อีกทั้งยังสามารถใช้เคลือบถนนและหลังคาเพื่อป้องกันอุบัติเหตุและยังทำให้ง่ายต่อการกวาดหิมะด้วย

โปรตีนซีรีซินที่เคลือบบนผิววัสดุต่างๆจะช่วยเพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ได้เป็นอย่างดี (Li, 1996) เช่น การใช้โปรตีนซีรีซินในการเตรียมสีที่ใช้ในงานศิลปะและใช้เคลือบบนผิวงานต่างๆ ทำให้มีความทนทานต่อสถานะอากาศและไม่แห้งกรอบเมื่ออยู่ในสภาวะที่แห้ง

Ishikawa และคณะ (1987) พบว่าการนำโปรตีนซีรีซินที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่ (เตรียมได้จากการนำรังไหมต้มในน้ำนาน 30 นาที) ผสมกับโพลีเมอร์ที่สามารถละลายในน้ำได้โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol; PVA) จากนั้นเคลือบลงบนแผ่นพลาสติก รอให้แห้งที่อุณหภูมิห้องใช้เวลาราว 24 ชั่วโมง เมื่อนำแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้ไปวิเคราะห์คุณสมบัติด้วย x-ray diffraction และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด พบว่าฟิล์มดังกล่าวมีโครงสร้างเป็นแบบ microphase-separated ที่มีความแข็งแรงและทนความร้อนได้ดี โดยฟิล์มที่ผลิตได้มีโปรตีนซีรีซินเป็นส่วนผสมประมาณ 10-30%

ในปี 1978 Miyairi และ Sugiura รายงานว่าเมื่อทำการตรึงเอนไซม์บีตาไกลูโคซิเดสลงบนแผ่นฟิล์ม cross-linked sericin film ที่มีกลูเตอรอลดีไฮด์เป็น cross-linking agent จะทำให้เอนไซม์บีตาไกลูโคซิเดสมีความสามารถในการทนต่อความร้อน ทนต่อแรงดันออสโมติกและมีความเสถียรเมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์อิสระ (free enzyme) แต่อย่างไรก็ดีกิจกรรมการตรึงมีไม่สูงมากนัก Asakura et al. (1992) และ Demura et al. (1992) รายงานว่าการเคลือบเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase; GOD) บนผ้าไหมที่ไม่ผ่านการฟอกย้อมโดยใช้สารละลายซีรีซิน/ไฟโบรอิน เมื่อใช้ซีรีซินอย่างเดียวในการเคลือบ GOD พบกิจกรรมของการตรึงเอนไซม์สูงแต่เกิดการหลุดของโปรตีนซีรีซินจากชั้นที่เคลือบไว้ ในทางตรงกันข้ามหากทำการเคลือบผ้าด้วยสารละลายผสมระหว่างโปรตีนซีรีซินและไฟโบรอินและผ่านกระบวนการที่ใช้เมทานอล 80% ช่วยทำให้ชั้นที่เคลือบไว้ไม่สามารถละลายได้ในน้ำ ซึ่งดีกว่าการใช้โปรตีนซีรีซินเพียงอย่างเดียว

Iwamoto et al. (1995) เตรียมเยื่อเลือกผ่านจากการผสมโปรตีนซีรีซินกับ syndiotactic PVA และศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและความเป็นไปได้ในการตรึงเอนไซม์ ระหว่างการผสมโปรตีนซีรีซินจะเปลี่ยนเป็น coil-to- β เมื่อทำการแช่ลงในเมทานอล ซึ่งฟิล์มที่ได้จะมีความแข็งแรงพอที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์ GOD ส่วนการหลุดของโปรตีนซีรีซินระหว่างการใช้งานทำได้โดยการเคลือบเยื่อเลือกผ่านด้วย PVA ทำให้รักษาคุณภาพของเยื่อเลือกผ่านดังกล่าวได้นานขึ้น โดยกิจกรรมของเยื่อเลือกผ่านที่ผ่านการเคลือบจะลดลงไม่เกิน 20% ถึงแม้จะเก็บไว้นาน 8 เดือน

7. วัสดุชีวภาพทางการแพทย์ (Medical biomaterials)

Tsubouchi (1999a) ได้พัฒนาวัสดุปิดรักษาผิวหนัง (wound dressing) ซึ่งมีทั้งโปรตีนซีรีซินและไฟโบรอินเป็นส่วนประกอบในการรักษาบาดแผล พบว่า ช่วยให้แผลหายสนิทโดยไม่ก่อให้เกิดการหลุดลอกของผิวหนังเมื่อเปิดวัสดุปิดปากแผลออก ซึ่งเริ่มจากการศึกษาวัสดุปิดปากแผลที่เป็น non-crystalline fibroin film มีน้ำเป็นส่วนประกอบประมาณ 3.0-16% และมีความหนาประมาณ 10-100 μm จากนั้นทำการศึกษาวัสดุปิดปากแผลที่มีส่วนผสมระหว่างโปรตีนซีรีซินและไฟโบรอินขึ้น (Tsubouchi, 1999b) โดยฟิล์มดังกล่าวมีระดับความเป็น crystalline น้อยกว่า 10% และความหนา 10-30 μm มีความหนาแน่น 1,100-1,400 kg/m^3 ซึ่งวัสดุปิดปากแผลดังกล่าวสามารถละลายน้ำได้น้อยกว่า 10% ที่อุณหภูมิห้อง

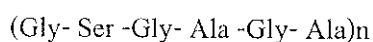
โปรตีนซีรีซินและไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการซัลโฟเนชัน (Sulfonation) จะมีคุณสมบัติในการป้องกันการจับตัวเป็นก้อน (anticoagulant properties) โดยเตรียมได้จากการเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10-90% ลงในโปรตีนซีรีซินหรือไฟโบรอิน (ในช่วง 0.5- 500 เท่าของปริมาณโปรตีน) ทำให้เกิดปฏิกิริยาซัลโฟเนชันที่ 20-100°C ซึ่งสารป้องกันการจับตัวเป็นก้อนเหมาะสำหรับ heparin อีกทั้งสามารถใช้เคลือบลงบนเครื่องมือแพทย์ และยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเข้าสู่ระบบภูมิคุ้มกันของไวรัส ด้วยเหตุนี้จึงสามารถใช้สารป้องกันการจับตัวเป็นก้อนนี้ผสมลงในยาสีฟันและครีมโกนหนวดเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อ HIV (The chemical dairy; Japan, 2001)

นอกจากนี้โปรตีนซีรีซินยังมีคุณสมบัติเป็น semipermeable membrane ทำให้นักวิจัยบางกลุ่มนำโปรตีนซีรีซินไปผสมยาแคปซูล เพื่อให้โปรตีนซีรีซินทำหน้าที่เป็นตัวปลดปล่อยตัวยาออกสู่ร่างกายในปริมาณที่ต้องการ (control release) และจากการวิจัยพบว่าโปรตีนซีรีซินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการทำลายเซลล์โดย oxygen free radicals ซึ่งเชื่อกันว่าการที่เซลล์ถูกทำลายนี้เป็นสาเหตุให้เกิดโรคมะเร็ง ความแก่ โรคหลอดเลือดหัวใจตามมา นอกจากนั้นยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียบางชนิดซึ่งเป็นสาเหตุของโรคผิวหนัง เป็นสาร antioxidant ช่วยรักษาแผลให้หายเร็วขึ้น กำจัดสิ่งสกปรกในเซลล์และยึดอายุเซลล์ (Chvajarenpun and Siri-Upathum, 2004) ลดการเกิดมะเร็งที่ลำไส้ใหญ่ในหนูทดลอง (Sasaki et al., 2000) เพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมแร่ธาตุสังกะสี เหล็ก แมกนีเซียม และแคลเซียมที่ลำไส้ในสัตว์ทดลอง (Sasaki et al., 2000) และลดอาการท้องผูกในหนูทดลอง (Sasaki et al., 2000)

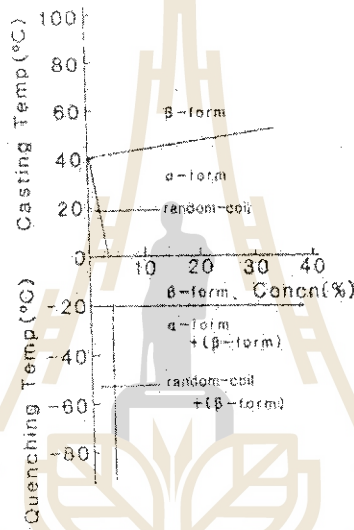
2.2 โปรตีนไฟโบรอิน (Fibroin protein)

2.2.1 โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของไฟโบรอิน

ไฟโบรอิน (Fibroin) เป็นสารประกอบโปรตีนประเภทเส้นใย (Fibrous protein) ที่ถูกสร้างมาจากต่อมบริเวณส่วนหลังของตัวไหม (posterior silk gland) ของหนอนไหม *Bombyx mori* มีโครงสร้างปฐมภูมิที่ประกอบด้วย การเรียงลำดับของกรดอะมิโน 6 หน่วย เรียงลำดับเป็นหน่วยซ้ำดังนี้



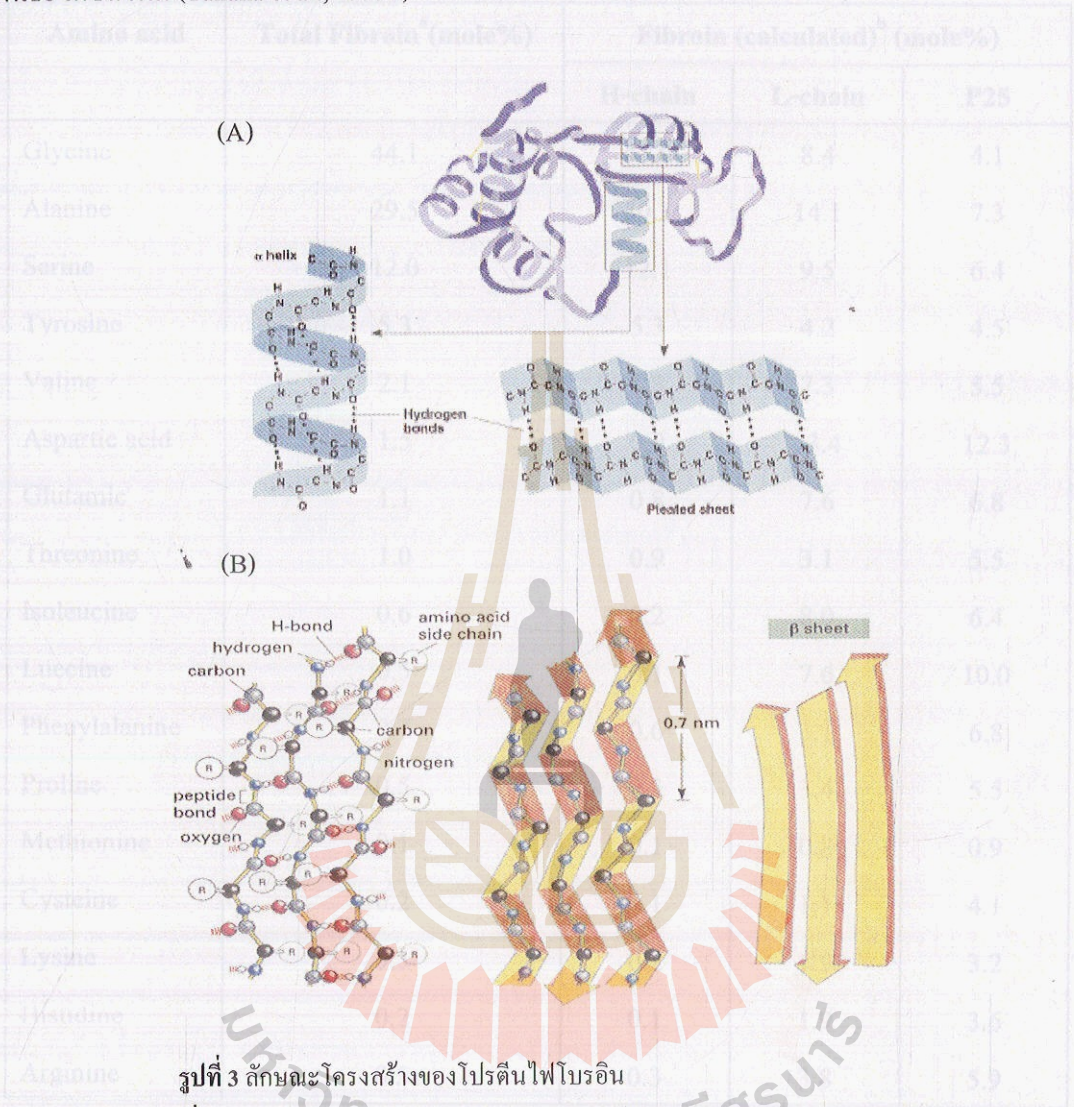
สายพอลิเพปไทด์ของโปรตีนไฟโบรอินมีโครงสร้างทุติยภูมิ 2 ชนิด คือ α -silk หรือ silk I และ antiparallel β -pleated sheet หรือ silk II โดย α -silk หรือ silk I เป็นโครงสร้างธรรมชาติดั้งเดิมของโปรตีนไฟโบรอินขณะที่ยังอยู่ในต่อมส่วนหลังของหนอนไหมซึ่งเป็นโครงสร้างที่ไม่เสถียรสามารถละลายได้ในน้ำ โครงสร้างที่ไม่เสถียรของ silk I นี้จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป silk II ระหว่างกระบวนการชักใยและการสร้างรังไหม โดยที่สาร intermediate ระหว่าง silk I และ silk II ซึ่งมีลักษณะเป็น liquid crystalline phase จะถูกพ่นออกมาระหว่างชักใยและช่วยในการเรียงตัวของโมเลกุลโปรตีนอย่างเป็นระเบียบได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นเส้นใย นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและตัวทำละลายล้วนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจาก silk I ไปเป็น silk II ได้ (ดังแสดงในรูปที่ 2) (He et al., 1999)



รูปที่ 2 ผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อลักษณะ โครงสร้างของไฟโบรอิน
ที่มา : Kaplan et al. (1994)

ไฟโบรอินที่ได้จากเส้นไหมเป็นไฟโบรอินชนิด silk II ไม่สามารถละลายได้ในน้ำ โมเลกุลโปรตีนเรียงตัวเป็นระเบียบมีลักษณะเป็น โครงรูปซิกแซกเรียงกันเป็นแผ่นเบตาแบบไม่ขนาน (antiparallel β -pleated sheet) แต่ละสายพอลิเพปไทด์มีทิศทางตรงกันข้าม (He et al., 1999) โดยพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างสายจะเป็นเส้นตรง และการเรียงตัวของ dipole อยู่ในแนวเส้นตรงด้วยทำให้โครงสร้างดังกล่าวมีความเสถียรมาก (ดังแสดงในรูปที่ 3) โมเลกุลเชิงซ้อนของโปรตีนไฟโบรอินประกอบด้วยพอลิเพปไทด์ 3 สาย คือ heavy (H)-chain มีขนาดโมเลกุลประมาณ 350 kDa light (L)-chain มีขนาดโมเลกุลประมาณ 25 kDa และ P25 ซึ่งเป็นสายพอลิเพปไทด์ที่มีขนาดโมเลกุลประมาณ 30 kDa (Tanaka et al., 1999a) ในโครงสร้างปฐมภูมิของ L-chain ประกอบด้วย Cys จำนวน 3 หน่วย โดยมี 2 หน่วยอยู่ในรูปของพันธะ intramolecular disulfide bond ส่วนอีก 1 หน่วย อยู่ที่ตำแหน่งด้าน C-terminal end ซึ่งเชื่อว่าเป็นส่วนที่สร้างพันธะไคซัลไฟด์กับ H-chain polypeptide (Yamaguchi et al.,

1989) ส่วน P25 เป็นโปรตีนชนิดไกลโคโปรตีนที่ประกอบด้วย oligosaccharide chain เชื่อมต่อสายพอลิเพปไทด์ด้วย Asn และเชื่อมต่อกับโมเลกุลเชิงซ้อน H-L complex ด้วยแรง hydrophobic interaction มิใช่พันธะไดซัลไฟด์ (Tanaka et al., 1999b)



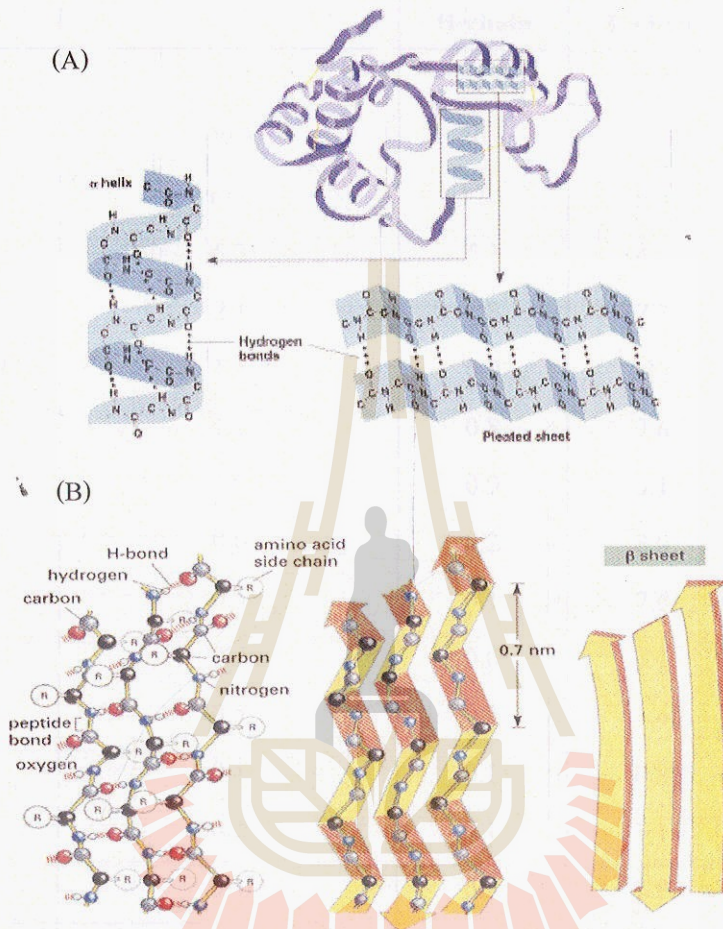
รูปที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของโปรตีนไฟโบรอิน
 เมื่อ (A) คือ ลักษณะโครงสร้างแบบทุติยภูมิของไฟโบรอิน
 (B) คือ ลักษณะโครงสร้างของสายพอลิเพปไทด์ของไฟโบรอิน

ที่มา: <http://www.bio.miami.edu>
<http://fajerpc.magnet.fsu.edu>

องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฟโบรอินประกอบด้วยกรดอะมิโนสายสั้น ๆ จำนวนมาก ร้อยละ 60-80 ของส่วน Crystalline เกิดจากการเรียงต่อกันของลำดับกรดอะมิโน Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser ดังนั้นกรดอะมิโนส่วนใหญ่ที่เป็นองค์ประกอบของไฟโบรอิน คือ ไกลซีน (Glycine) อะลานีน (Alanine) เซรีน (Serine) และไทโรซีน (Tyrosine) ในปริมาณที่แตกต่างกัน (ดังแสดงในตารางที่ 3)

Wada et al., 1972) จะดำเนินไปอย่างต่อเนื่องกับลำดับของกรดอะมิโนที่เชื่อมต่อกัน และอาจกระตุ้นการรวมตัวของสายพอลิเพปไทด์ให้กลายเป็นเส้นใยที่มีความแข็งแรงสูง และอาจกระตุ้นการรวมตัวของสายพอลิเพปไทด์ให้กลายเป็นเส้นใยที่มีความแข็งแรงสูง และอาจกระตุ้นการรวมตัวของสายพอลิเพปไทด์ให้กลายเป็นเส้นใยที่มีความแข็งแรงสูง (File et al.,

1989) ส่วน P25 เป็นโปรตีนชนิดไกลโคโปรตีนที่ประกอบด้วย oligosaccharide chain เชื่อมต่อสายพอลิเพปไทด์ด้วย Asn และเชื่อมต่อกับโมเลกุลเชิงซ้อน H-L complex ด้วยแรง hydrophobic interaction มิใช่พันธะไดซัลไฟด์ (Tanaka et al., 1999b)



รูปที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของโปรตีนไฟโบรอิน

เมื่อ (A) คือ ลักษณะโครงสร้างแบบทุติยภูมิของไฟโบรอิน

(B) คือ ลักษณะโครงสร้างของสายพอลิเพปไทด์ของไฟโบรอิน

ที่มา: <http://www.bio.miami.edu>

<http://fajerpc.magnet.fsu.edu>

องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฟโบรอินประกอบด้วยกรดอะมิโนสายสั้น ๆ จำนวนมาก ร้อยละ 60-80 ของส่วน Crystalline เกิดจากการเรียงต่อกันของลำดับกรดอะมิโน Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser ดังนั้นกรดอะมิโนส่วนใหญ่ที่เป็นองค์ประกอบของไฟโบรอิน คือ ไกลซีน (Glycine) อะลานีน (Alanine) เซรีน (Serine) และไทโรซีน (Tyrosine) ในปริมาณที่แตกต่างกัน (ดังแสดงในตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบและปริมาณกรดอะมิโนใน โปรตีนไฟโบรอิน (mole%)

Amino acid	Total Fibroin ^a (mole%)	Fibroin (calculated) ^b (mole%)		
		H-chain	L-chain	P25
Glycine	44.1	45.9	8.4	4.1
Alanine	29.5	30.3	14.1	7.3
Serine	12.0	12.1	9.5	6.4
Tyrosine	5.3	5.3	4.2	4.5
Valine	2.1	1.8	7.3	5.5
Aspartic acid	1.5	0.9	13.4	12.3
Glutamic	1.1	0.8	7.6	6.8
Threonine	1.0	0.9	3.1	5.5
Isoleucine	0.6	0.2	8.0	6.4
Luccine	0.5	0.1	7.6	10.0
Phenylalanine	0.7	0.6	3.1	6.8
Proline	0.5	0.3	3.4	5.5
Methionine	0.1	0.1	0.8	0.9
Cysteine	0.2	0.1	1.1	4.1
Lysine	0.3	0.2	1.9	3.2
Histidine	0.2	0.1	1.9	3.6
Arginine	0.5	0.3	3.8	5.9

^a Calculated by total amino acid composition of H-chain, L-chain and P25

^b Calculated on amino acid sequences from protein database

ที่มา: Tamada (2004) ...

2.2.2 ประโยชน์ของไฟโบรอิน

เนื่องจากโปรตีนไฟโบรอินจากเส้นใยไหมประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่มีคุณค่ามากมาย เช่น ไกลซีนที่สามารถป้องกันการเกิดฝ้าและจุดด่างดำ กระตุ้นการสร้างไกลโคเจน (Glycogen) ในตับ ลดระดับน้ำตาลและคลอเรสเตอรอลในเลือด (Wada et al., 1972) อะลานีนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญต่อเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันแก่ร่างกาย และช่วยกระตุ้นการสลายตัวของแอลกอฮอล์ มีผลลดอาการเมาค้าง ป้องกันตับ ส่วนเซอรีนมีผลช่วยกระตุ้นการทำงานของสมองในผู้สูงอายุ (File et al.,

1999) และทรีโอนีนช่วยป้องกันการเกิดไขมันในตับและควบคุมระบบการทำงานของร่างกายให้เป็นปกติ จึงมีการนำไฟโบรอินมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารหลายอย่าง

1. อุตสาหกรรมอาหาร (Food Materials)

ใช้เป็นสารช่วยให้เกิดโฟมและเพิ่มความคงตัวของอาหารที่มีลักษณะโฟม (Yoshiharu, 1998) ได้มีการผลิตสารละลายไฟโบรอินจากไหมเพื่อใช้เป็น Foamed food material โดยการเตรียมไฟโบรอินจากการละลายเส้นไหมที่ผ่านการสกัดแยกโปรตีนซีรีซินออกจากรังไหมแล้ว น้ำหนัก 20 กรัมละลายในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50% ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่ 95 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ปลอຍให้เย็นแล้วนำไปกำจัดเกลือออกด้วยวิธีการ dialysis จากนั้นปรับ pH ของสารละลายไฟโบรอินที่ได้ด้วยกรดอะซิติกให้ได้ 2.5 แล้วนำไป dialysis อีกครั้ง สุดท้ายก็จะได้สารละลายไฟโบรอินสำหรับใช้เป็นสารช่วยให้เกิดโฟมและสารเพิ่มความคงตัวของโฟมในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีลักษณะ sponge cake foam นอกจากนี้ยังมีการศึกษาทดลองเพื่อผลิตเครื่องคั้นชนิด extremely soft ที่ร่อยดูใจผู้บริโภค เช่น น้ำผลไม้ ซุปและเครื่องคั้นเพื่อสุขภาพอื่น ๆ โดยการเติมสารละลายไฟโบรอินลงไป ในผลิตภัณฑ์เครื่องคั้น และในกรณีที่ต้องการให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะคล้ายเจลต้องปรับ pH ของส่วนผสมลงที่ค่าไอส์เล็คทริก 4 ซึ่งเป็นจุด isoelectric point ทำให้ได้เจลของไฟโบรอิน (Kiyoshi, 1989)

นอกจากโปรตีนไฟโบรอินจากไหมจะถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นส่วนผสมโดยตรงในผลิตภัณฑ์อาหาร และยังมีมีการนำไฟโบรอินมาผลิตเป็นเยื่อเลือกผ่านเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร โดย Demura และ Asakura (1988) ได้ทำการทดลองตรึงเอนไซม์ glucose oxidase ใน silk fibroin membrane ด้วยวิธีการทางกายภาพโดยไม่ใช้สารเคมีในการตรึง ซึ่งสามารถทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ silk fibroin membrane จาก random coil ไปเป็น antiparallel β -sheet ด้วยวิธีการยืดตัว (stretching treatment) พบว่าค่าความสามารถในการแพร่ผ่าน fibroin membrane ของกลูโคสและออกซิเจนลดลงเมื่อระดับการยืดตัวเพิ่มขึ้น ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ตรึงรูปใน silk membrane มีความเสถียรต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและ pH ได้ดีกว่าเอนไซม์อิสระ และเนื่องจาก silk fibroin จากหนอนไหมที่มีคุณสมบัติเป็นวัสดุในการตรึงรูปเอนไซม์ที่ดีเยี่ยม (Demura et al., 1989) จึงได้ประยุกต์ใช้ immobilized peroxidase (POD) silk fibroin membrane เป็น biophotosensors สำหรับใช้ในการตรวจวัดความเข้มข้นของ hydrogen peroxide ที่เกิดจากปฏิกิริยา luminol โดย POD จะถูกตรึงใน fibroin membrane โดยไม่มีการใช้สาร chemical cross linking ทำการวัดค่า response time และความเข้มของการเรืองแสงจาก photodiode หลังเกิดปฏิกิริยา luminol พบว่าค่า photocurrent หลังเกิดปฏิกิริยา luminol มีค่าเพิ่มขึ้นแบบสมการเชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของ hydrogen peroxide ในสารละลาย แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการนำ silk fibroin membrane ไปใช้ประโยชน์ในการผลิต biosensors ได้ และต่อมาได้มีการทดลองใช้ silk fibroin membrane ในการเคลือบตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ

(biocatalyst) เช่น เอนไซม์ หรือ จุลินทรีย์ เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตเป็น biocatalyst sensors โดยการเคลือบ electrically conductive substrate ด้วยชั้นของ gas-permeable แล้วเคลือบทับชั้นนี้ อีกด้วย silk fibroin membrane ที่มีส่วนผสมของ immobilized biocatalyst ซึ่ง immobilized biocatalyst sensor ที่ได้นี้ทนต่อความร้อนได้ดีกว่า free biocatalyst (Asakura et al., 1991)

2. อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (Cosmetic Materials)

เครื่องสำอางชนิดแรกที่มีส่วนผสมของผงโปรตีนไฟโบรอิน (fibroin powder) ได้วางตลาดมานานกว่า 30 ปีและเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวาง ในปัจจุบันได้มีการนำผงโปรตีนไฟโบรอินมาใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมากมายหลายชนิด ได้แก่ lotion, cream, hair rinse, hair cream แป้งแข็งและแป้งฝุ่น (Nasuno and Otoi, 1983; Grillier, 1999) โดยแป้งแต่งหน้าที่มีส่วนผสมของโปรตีนไฟโบรอินจะมีคุณสมบัติหลายประการ เช่น มีการเกาะติดผิวได้ดี ช่วยรักษาความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง ป้องกันผิวจากรังสี ทำให้เครื่องสำอางติดทนนานไม่หลุดลอก เม็ดแป้งไม่ไหลมารวมตัวกันเมื่อโดนเหงื่อ ช่วยให้เม็ดสี melanin กระจายตัวสม่ำเสมอ ทำให้ผิวเนียนเรียบตื้นและดูสว่างเป็นธรรมชาติ ช่วยรักษากลิ่นหอมของเครื่องสำอางมีความคงตัวนาน ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสีสำหรับทาขอบตา เปลือกตา และแป้งปิดแก้ม ได้แก่ eye color, fineliner และ powder brush (Ichiro et al., 1999) โดยใช้ไฟโบรอินเป็นตัวจับกับสารสีเพื่อให้โทนสีมีความคงตัว สีสวย กระจ่างสดใส ทนต่อความร้อน แสง เกาะติดผิวได้ดี ไม่หลุดลอกเมื่อเหงื่อออก นอกจากนี้บริษัท Kanebo จำกัด ยังได้พัฒนาเครื่องสำอาง facial treatment หลากหลาย เช่น Fresh-up powder และ Bio-powder foam จากผงโปรตีนไฟโบรอินทั้งนี้เพื่อวางภาพลักษณ์ที่เลิศหรูให้แก่ใหม่ โดยทั่วไปแล้วสิ่งสกปรกที่เป็นไขมันที่อยู่บนบริเวณใบหน้าจะถูกกำจัดออกโดยการใช้สบู่ล้าง แต่สิ่งสกปรกที่เป็นโปรตีนจากผิวหนังที่ตายแล้วจะไม่สามารถถูกกำจัดได้ด้วยสบู่ จำเป็นต้องใช้เอนไซม์โปรติเอสไฮโดรไลสส์สิ่งสกปรกจากโปรตีนดังกล่าว โดยความเป็นจริงแล้วเครื่องสำอางแบบเดิมก็มีส่วนผสมของเอนไซม์โปรติเอส แต่เมื่อเวลาผ่านไปแอคติวิตีของโปรติเอสก็จะเปลี่ยนแปลงไปด้วย โดยเฉพาะเมื่อปล่อยให้โปรติเอสอยู่กับสารลดแรงดึงผิวในภาวะเปียก บริษัท Kanebo จำกัดจึงได้พัฒนาเทคนิคการตรึงเอนแคปซูลโปรติเอสในไฟโบรอินของใหม่ (encapsulating protease in fibroin) ซึ่งจะมีความคงตัวต่อความร้อนและแอคติวิตีต่อการไฮโดรไลสส์ก็จะมีความคงทนเป็นระยะเวลานาน เนื่องจากไฟโบรอินจะป้องกันโปรติเอสจากความร้อนและความชื้นนั่นเอง โดยแอคติวิตีต่อการไฮโดรไลสส์ของโปรติเอสจะเปลี่ยนแปลงไปเพียง 10% หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45°C นาน 300 วัน Fresh-up powder ผลิตได้จาก granules ของของผสมระหว่าง proteinase - encapsulated fibroin powder และสารลดแรงดึงผิว

3. วัสดุทางการแพทย์ (Medical materials)

ได้มีการศึกษาเพื่อนำโปรตีนไฟโบรอินจากเส้นไหมมาประยุกต์ใช้ทางยาและเวชภัณฑ์ โดยผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ที่สามารถผลิตจากโปรตีนไฟโบรอิน ได้แก่ เส้นใยเย็บแผลที่ก่อให้เกิดอาการแพ้ต่ำ ปัจจุบันได้มีงานวิจัยจากประเทศสหรัฐอเมริกาแสดงให้เห็นว่า เส้นใยไหมเป็นเส้นใยที่มีความยืดหยุ่นสูง สามารถทนต่อการกดหรือการฉีกขาดได้ดีและทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ สะดวกในการเย็บและทำปมปิดแผล อีกทั้งยังเข้ากับเนื้อเยื่อมนุษย์ได้ดี สามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย เนื่องจากเป็นสารประกอบโปรตีน และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายของโปรตีนสูงกว่าเส้นใยประเภทอื่น จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการเย็บแผลผ่าตัดอวัยวะภายในที่ต้องทนต่อแรงยืดหยุ่นหรือแรงเสียดทานสูง นอกจากนี้โปรตีนไฟโบรอินจากไหมยังมีศักยภาพในการพัฒนาเป็น biosensors เพื่อตรวจจับ antibodies ซึ่งใช้ในการวินิจฉัยโรคมะเร็งและโรคเอดส์ได้อีกด้วย

4. อุตสาหกรรมสิ่งทอ (Fabric Materials)

ไหมเป็นสิ่งทอที่ล้ำค่ามากกว่าสิ่งทออื่น ๆ จนได้รับสมญานามว่า “ราชินีแห่งเส้นใย” แม้ไหมจะมีข้อเสียคือ ยืดหยุ่นได้น้อย ยับง่ายซักรยาก แต่ข้อเสียเหล่านี้ก็ได้กำจัดหรือทำให้ลดน้อยลงไป โดยการใส่สารเคมีหลายชนิดในกระบวนการผลิตเพื่อทำให้ผ้าไหมซักง่ายขึ้น ลดการยับและลดการทำให้ผ้าเหลืองลงได้ ยังมีการพัฒนาเส้นไหมดิบให้มีความยืดหยุ่นมากขึ้นโดยการเติก๊วยเส้นไหม ในทิศทางกลับกันและถี่ขึ้น ใช้เส้นใยที่มีขนาดใหญ่เส้นใยชนิดนี้จะมีคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ดี กำจัดข้อเสียต่างๆ ออกได้ด้วยความเป็นเส้นใยที่ได้จากสัตว์ ไหมจึงได้เปรียบเหนือกว่าฝ้าย ไหมมีคุณสมบัติที่ดีเยี่ยมในการระบายอากาศ ดูดซับความร้อน ทำให้ร่างกายสบายมีการดูดซับน้ำและระบายความชื้นได้ดี สามารถดูดซับน้ำได้มากกว่าฝ้าย 1.5 เท่า แต่ระบายความชื้นได้เร็วกว่า 50% และดูดซับความร้อนไว้ที่เนื้อผ้าได้ สูงกว่า 13-21% ปกป้องอุณหภูมิของร่างกายบริเวณเด้ามน และต้นขาประมาณ 33.3-34.2°C การสวมใส่ชุดผ้าไหมจะทำให้อุณหภูมิของร่างกายบริเวณดังกล่าวลดลงเหลือ 31-33°C ดังนั้นจึงทำให้ผู้สวมใส่รู้สึกอบอุ่นในฤดูหนาว แต่จะเย็นสบายในฤดูร้อนไม่เหนียวเหนอะหนะเวลาสวมใส่ผ้าไหม ด้วยเหตุผลดังกล่าว ประเทศญี่ปุ่นที่มีอากาศร้อนและอากาศหนาวในช่วง 1 ปี จึงพัฒนาชุดชั้นในที่ทำด้วยเส้นใยไหมดึงดูดความสนใจได้มากกว่าเส้นใยสังเคราะห์อื่นๆ นอกจากนี้จะใช้ผ้าไหมเป็นเครื่องนุ่งห่มแล้ว ยังเป็นผ้าปูที่นอน ผ้าห่มชุดเฟอร์นิเจอร์ ฯลฯ ในอดีตถุงน่องสตรี ทำจากไหมเพียงอย่างเดียว ภายหลังใยสังเคราะห์ที่ในล่อนเข้ามาทดแทนไหมได้เกือบสมบูรณ์ เนื่องจากมีความเหนียวและทนทานยืดหยุ่นดีและราคาถูก แต่ไหมยังดีกว่าในล่อนอยู่มากในด้านการสัมผัสการดูดซับความร้อนและระบายอากาศ จึงได้มีการพัฒนาเส้นไหมผสม (hybrid silk) เพื่อรวมคุณสมบัติที่ดีของเส้นใยทั้ง 2 ชนิดไว้ด้วยกัน (www.moac.go.th, 2548)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินวิจัย (Materials and Methods)

ส่วนที่ 1 การเตรียมตัวอย่างผงโปรตีนจากน้ำต้มรังไหมและรังไหม

1. การเตรียมรังไหมดิบ

รังไหมดิบสีขาวจากหนอนไหม *Bombyx mori* ที่รับซื้อมาจากเกษตรกรรายย่อย มาทำการตัดเพื่อนำดักแด้ออกจากรังไหมดิบ จากนั้นทำความสะอาดด้วยการกำจัดเศษใบไม้ ดักแด้และเศษสิ่งสกปรกต่าง ๆ ที่ไม่ต้องการออกจากรังไหมดิบ ลดขนาดของรังไหมดิบด้วยการตัดย่อยรังไหมดิบให้มีขนาดประมาณ 1x1cm.

2. การเตรียมตัวอย่างผงโปรตีนชิริชิน

2.1 การสกัดแยกโปรตีนชิริชิน

นำรังไหมดิบที่ผ่านกระบวนการลดขนาดและทำความสะอาดมาทำการสกัดโปรตีนชิริชินออกด้วยน้ำกลั่น ตามกระบวนการที่ได้ยื่นจดสิทธิบัตรไว้ (กรรมวิธีการสกัดโปรตีนชิริชิน เลขที่คำขอ 080595) โดยทำการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงภายในหม้อนิ่งความดัน (autoclave) (Sanyo Labo Autoclave, Sanyo Electric Co. Ltd., Japan) ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที เมื่อครบตามกำหนดเวลาที่ใช้ในการสกัด นำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดมาแยกระหว่างส่วนของรังไหมและน้ำต้มรังไหมออกจากกัน แล้วจึงนำรังไหมส่วนที่เหลือไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C จนแห้ง ส่วนสารละลายที่ได้นำมาวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดและทำแห้ง

2.2 การทำแห้งโปรตีนชิริชิน

นำน้ำต้มรังไหมที่ได้จากการสกัดไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งทรงกระบอก (Drum dry) (Drum dry, New Way Manufacturing Co., Ltd., Thailand) โดยให้พื้นผิวของลูกกลิ้งมีอุณหภูมิ 120 °C และมีความเร็วรอบ 85-95 รอบต่อนาที จากนั้นจึงนำตัวอย่างโปรตีนชิริชินที่ผ่านการทำแห้งมาทำการบดด้วยเครื่องปั่น (Blender) (AY46R4, Moulinex, China) เพื่อลดขนาดของตัวอย่างให้มีอนุภาคเล็กลง แล้วจึงนำผงโปรตีนชิริชินมาคัดขนาดด้วยการใช้ตะแกรงร่อน (ZM 1000 Vibratory Sieve Shaker, FRITSH, Germany) โดยเลือกเอาเฉพาะผงโปรตีนชิริชินที่ผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรู 0.075 mm. มาทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ภายภาพในขั้นตอนต่อไป

3. การเตรียมเส้นใยไฟโบรอิน

รังไหมส่วนที่เหลือที่ไม่สามารถละลายได้ด้วยน้ำจากกระบวนการสกัดโปรตีนซีรีซิน มาทำการกำจัดโปรตีนซีรีซิน (Degumming) ที่หลงเหลืออยู่ออกจากเส้นใยไฟโบรอิน ด้วยวิธีการดัดแปลงจาก Yamada และคณะ (2001) ดังนี้

วิธีที่ 1 ต้มรังไหมกับสารละลายด่าง Na_2CO_3 ที่ระดับความเข้มข้น 0.05% (w/v) โดยใช้รังไหม 1 ส่วนต่อสารละลายด่าง 50 ส่วน ที่อุณหภูมิ 100°C นาน 60 นาที ทำการต้มจำนวน 1 ครั้ง

วิธีที่ 2 ต้มรังไหมกับสารละลายด่าง NaOH ที่ระดับความเข้มข้น 0.05% (w/v) โดยใช้รังไหม 1 ส่วนต่อสารละลายด่าง 50 ส่วน ที่อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที ทำการต้มจำนวน 2 ครั้ง

วิธีที่ 3 ต้มรังไหมกับสารละลายด่าง Na_2CO_3 ที่ระดับความเข้มข้น 0.05% (w/v) โดยใช้รังไหม 1 ส่วนต่อสารละลายด่าง 50 ส่วน ที่อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที ทำการต้มจำนวน 2 ครั้ง

วิธีที่ 4 ต้มรังไหมกับน้ำสะอาด โดยใช้รังไหม 1 ส่วนต่อน้ำ 50 ส่วน ที่อุณหภูมิ 100°C นาน 60 นาที ทำการต้มจำนวน 2 ครั้ง

หลังจากทำการกำจัดโปรตีนซีรีซินตามวิธีที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จะนำรังไหมมาล้างด้วยน้ำสะอาดจนหมดด่าง นำไฟโบรอินที่ได้ไปอบแห้งภายในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80°C จนแห้ง จากนั้นนำเส้นใยไฟโบรอินที่ผ่านกำจัดโปรตีนซีรีซินมาส่องด้วยกล้อง SEM

4. การเตรียมผงโปรตีนไฟโบรอิน

4.1 การย่อยเส้นใยไฟโบรอินด้วยเอนไซม์ทางการค้า คือ Alcalase Neutrase และ Papain

ชั่งเส้นใยไฟโบรอินน้ำหนัก 100 mg ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 10 ml ลงในหลอดทดลอง (pH 7.5/Alcalase, pH 6.0/Neutrase และ pH 6.2/Papain) ปั่นผสม (MS1 Minishaker, IKA[®] Works, INC., USA.) ให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิที่จะวิเคราะห์ นาน 15 นาที (55°C /Alcalase, 45°C /Neutrase และ 25°C /Papain) จากนั้นเติม Alcalase (EC 3.4.21.62, Alcalase from *Bacillus licheniformis*, Novazymes) Neutrase (EC 3.4.24.28, Neutrase from *Bacillus amyloliquefaciens*, Novazymes) และ Papain (EC 3.4.22.2, Papain from *Carica papaya*, Fluka) ลงไปในหลอดทดลองโดยให้ภายในหลอดทดลองมีความเข้มข้นของเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 0.1% 1.0% และ 2.0% ปิดฝาให้สนิท ผสมให้เข้ากัน (สำหรับตัวอย่างควบคุมจะเติมเอนไซม์ที่เสียหายหรือหมดความสามารถในการทำงาน โดยการนำเอนไซม์ไปให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 15 นาที แล้วจึงเติมลงไป ในหลอดทดลอง) บ่มตัวอย่างทิ้งไว้ให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยานาน 14 วัน โดยในช่วง 7 วันแรกจะเปลี่ยนเอนไซม์ทุก 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะทำการบ่มต่อนาน 7 วัน แล้วสังเกตเส้นใยหลังผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

4.2 การย่อยเส้นใยไฟโบรอินด้วยสารละลายต่าง

เตรียมตัวอย่างผงโปรตีนไฟโบรอินโดยคัดแปลงวิธีของ Tsubouchi (1998) ด้วยการนำไฟโบรอินที่ผ่านการกำจัดซิริซินออกหมดแล้ว มาย่อยด้วยสารละลายต่าง Na_2CO_3 หรือ NaOH โดยให้สารละลายต่างมีค่า $\text{pH} \geq 12$ และให้อัตราส่วนของไฟโบรอิน 1 ส่วนต่อสารละลายต่าง 18 ส่วน ทำการย่อยไฟโบรอินภายใต้ความดันและความร้อนสูงภายในหม้อนึ่งความดัน (autoclave) (Sanyo Labo Autoclave, Sanyo Electric Co. Ltd., Japan) ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้นำไฟโบรอินมาใส่ในถุงผ้าเพื่อทำการกำจัดสารละลายต่างออกและนำมาล้างด้วยน้ำสะอาดจนหมดต่าง (ตรวจค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกระดาษลิตมัส) จากนั้นจึงนำไปอบแห้งภายในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80°C จนแห้ง แล้วจึงนำมาทำการลดขนาดตัวอย่างเพื่อให้ตัวอย่างที่ผลิตได้มีขนาดเล็กลง โดยจะทำการลดขนาดแบบ 2 ขั้นตอน คือ การบดหยาบและบดละเอียด โดยการบดหยาบจะบดด้วยโกร่งบดยาหรือเครื่องปั่น (Blender)(AY46R4, Moulinex, China) และบดละเอียดด้วยเครื่อง Ball mill จากนั้นนำไฟโบรอินมาคัดขนาดด้วยการใช้ตะแกรงร่อน (ZM 1000 Vibratory Sieve Shaker, FRITSH, Germany) โดยเลือกเอาเฉพาะผงไฟโบรอินที่ผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรู 0.075 mm . มาทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ภายภาคต่อไป

ส่วนที่ 2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ (Functional properties)

1. การศึกษาโครงสร้างภายในของผงไหมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

(Scanning Electron Microscope; SEM)

เตรียมตัวอย่างด้วยการนำผงโปรตีนซิริซินและไฟโบรอินติดลงบนแท่น stub ให้ผงตัวอย่างกระจายตัวบนพื้นผิวของ stub อย่างบาง ๆ จากนั้นทำการเคลือบตัวอย่างด้วยทองนาน 4 นาที ด้วยเครื่อง Ion Sputtering (Ion Sputtering Device JFC-110E, Japan) ทำการศึกษาตัวอย่างที่เตรียมไว้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (JSM-6400, LV, JEOL, Japan) ที่กำลังขยาย 1500 เท่า สำหรับผงซิริซินและที่กำลังขยาย 4000 เท่าสำหรับผงไฟโบรอิน

2. การศึกษาขนาดอนุภาคของผงไฟโบรอินด้วยเครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาคระบบเลเซอร์

(Laser Particle Size Analyzer)

วิเคราะห์ขนาดอนุภาคของผงไฟโบรอินด้วยเครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาคระบบเลเซอร์ (Master Sizer, Malvern Instruments Ltd., UK) ที่ใช้ Helium-Neon laser เป็นแหล่งกำเนิดแสง และทำการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคแบบเปียก (Wet Analysis) โดยการใส่ตัวอย่างลงใน Sample Presentation Unit ที่มีน้ำเป็นตัวกลาง

3. การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรส์

นำตัวอย่างผงโปรตีนชิริชินและไฟโบรอินวางบนกระจก cover slide อย่างบาง ๆ จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงโพลาไรส์ (BX500 Olympus, Japan) ที่กำลังขยาย 400 เท่า

4. การศึกษาโครงสร้างของผงไฟโบรอิน ด้วยเครื่องวิเคราะห์สารประกอบรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer; XRD)

โครงสร้างของผงไฟโบรอินวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-Ray Powder Diffraction (D5005 X-Ray Diffractometer, Bruker axs, Germany) โดยการบรรจุผงไฟโบรอินลงใน sample holder ของเครื่อง XRD แล้วใช้แผ่นแก้วคควิวหน้าของตัวอย่างให้เรียบสม่ำเสมอ ทำการวิเคราะห์โดยใช้ $\text{CuK}\alpha$ เป็นแหล่งกำเนิดรังสีเอกซ์ ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$) วัดในช่วงมุม (2θ) 3 – 50 องศา โดยกำหนดกระแสไฟฟ้า 40 mA ศักย์ไฟฟ้า 40 kV ความเร็วในการตรวจวัด 1.5 องศาต่อนาที เริ่มทำงานที่นาทีที่ 5 และสิ้นสุดในนาทีที่ 50

ส่วนที่ 3 การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฟโบรอินและชิริชิน

1. การศึกษาความสามารถในการดูดซับน้ำ (Water absorption capacity; WAC) และค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำ (Water Solubility Index; WSI)

ศึกษาความสามารถในการดูดซับน้ำ (WAC) และค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำ (WSI) ของผงชิริชินและไฟโบรอิน โดยทำการทดลองด้วยการดัดแปลงวิธีของ Lampart-Szczapa et al. (2006) โดยการชั่งผงโปรตีนน้ำหนัก 1.0000 g ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 ml เติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 ml ผสมให้เข้ากันด้วยการปั่นผสมนาน 2 นาที ตั้งของผสมที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) นาน 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำไปปั่นเหวี่ยง (Universal 16R, Hettich Zentrifugen, Germany) ที่ความเร็ว 10000g อุณหภูมิ 10°C นาน 30 นาที เทของเหลวที่เหลือออกจากตัวอย่าง ทำการบั่นที่ก้นน้ำหนักของตัวอย่างที่อยู่ในหลอดทดลองและคำนวณความสามารถในการดูดซับน้ำจากสูตร

$$\text{WAC (\%)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักโปรตีนหลังและก่อนดูดซับน้ำ} \times 100}{\text{น้ำหนักผงโปรตีนก่อนดูดซับน้ำ}}$$

ส่วนค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำ (WSI) ทำการทดลองโดยการนำของเหลวที่เหลือจากการทำการศึกษาความสามารถในการดูดซับน้ำ เติลงใน moisture can ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน จากนั้นนำไปทำการอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105°C จนแห้ง จากนั้นนำไปใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้

ให้ moisture can มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง ทำการบันทึกน้ำหนักของตัวอย่างที่อยู่ใน moisture can และคำนวณค่าดัชนีความสามารถในการละลาย จากสูตร

$$\text{WSI (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ละลายในน้ำหลังการอบแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง}}$$

2. การศึกษาความสามารถการดูดซับน้ำมัน (Oil absorption capacity; OAC) ของผงโปรตีน

ทำการศึกษาศักยภาพการดูดซับน้ำมัน (Oil absorption capacity; OAC) ของผงโปรตีน ทำการศึกษาโดยดัดแปลงวิธีของ Beuchat (1997) และ Ahmendna, M., Prinyawiwatkul, W., and Rao, R.W. (1999) โดยชั่งตัวอย่างผงโปรตีนน้ำหนัก 1.0000 g ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 ml เติมน้ำมันถั่วเหลือง (น้ำมันถั่วเหลือง ตรา อุ่น, บริษัท น้ำมันพืชไทย จำกัด (มหาชน), ประเทศไทย) น้ำหนัก 9.0000 g ลงไป ผสมให้เข้ากันด้วยการปั่นผสมนาน 30 วินาที ตั้งของผสมที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) นาน 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำไปปั่นเหวี่ยง (Universal 16R, Hettich Zentrifugen, Germany) ที่ความเร็ว 8000g อุณหภูมิ 15°C นาน 30 นาที เทของเหลวที่เหลือออกจากตัวอย่าง ทำการบันทึกน้ำหนักของตัวอย่างที่อยู่ในหลอดทดลองและคำนวณ ความสามารถในการดูดซับน้ำมันจากสูตร

$$\text{ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน(\%)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักโปรตีนหลังและก่อนดูดซับน้ำมัน} \times 100}{\text{น้ำหนักโปรตีนก่อนดูดซับน้ำมัน}}$$

3. ดัชนีบ่งชี้ความเป็นไฮโดรโฟบิกที่บริเวณพื้นผิวของโปรตีน (Surface Hydrophobicity)

ทำการทดลองด้วยการดัดแปลงวิธีการทดลองของ Li-Chan et al. (1985) โดยใช้ 1-anilino-8-naphthalene-sulfonate เป็น fluorescence probe ด้วยการละลายผงโปรตีนความเข้มข้น 1.0% (w/v) ด้วยน้ำกลั่น และทำการปรับค่าสารละลายให้มีค่า pH 7.0 จากนั้นทำการปั่นกวน (stir) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที แล้ว centrifuge ที่ 8000xg นาน 15 นาที นำ supernatant มาวิเคราะห์หาปริมาณ โปรตีน ด้วย Lowry Method จากนั้นนำ supernatant ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนมาปรับความเข้มข้นให้เท่ากัน ทุกตัวอย่าง ปิเปิดตัวอย่างปริมาตร 1.0 ml ลงในหลอดทดลอง เติม 10 mM ANS (10 mM ANS ละลายใน 0.1M Phosphate buffer pH7.0) ปริมาตร 10.0 μl วัดค่าการเรืองแสงของ ANS-bound protein ที่ความยาวคลื่น excitation 374 nm. และ emission 485 nm. (RF-1501 spectrofluorophotometer, Shimadzu corporation, Japan)

4. คุณสมบัติในการเป็นเจล (Gel properties)

ทำการศึกษาคามวิธีของ Coffdman และ Garcia (1977) โดยการนำตัวอย่างผงโปรตีนละลายในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.1-15.0 โดยน้ำหนัก ทำการคูดสารละลายโปรตีน ปริมาตร 10 ml. ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยการแช่ในน้ำเดือดนาน 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำตัวอย่างมาทำให้เย็นโดยเร็ว ด้วยการแช่ในน้ำแข็ง หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 2 - 4°C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง บันทึกความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายโปรตีนที่สามารถเกิดเจลได้ โดยสังเกตจากการคว่ำหลอดทดลองลงแล้วตัวอย่างไม่ไหลลงในลักษณะของของเหลว

5. คุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของผงโปรตีน (Emulsifying properties)

ทำการศึกษาคสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนซีรีซินและไฟโบรอิน โดยดัดแปลงวิธีจาก Pearce and Kinsella (1978) ด้วยการนำสารละลายโปรตีนความเข้มข้น 0.1% ที่ละลายใน 100 mM โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Sodium phosphate buffer) pH 7.4 ปริมาตร 15 ml. และน้ำมันถั่วเหลือง (น้ำมันถั่วเหลือง ตรา อุ่น, บริษัท น้ำมันพืชไทย จำกัด (มหาชน), ประเทศไทย) ปริมาตร 5 ml. ใส่ในหลอด centrifuge ขนาดปริมาตร 50 ml. ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenization) ด้วยการ Homogenizer (T 25 B, IKA[®] Works (Asia) Sdn. Bhd., Malaysia) โดยใช้ probe S25N-25G ที่ความเร็วรอบ 13,500 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเปิดชั้นของอิมัลชันปริมาตร 100 μ l มาทำการเจือจางใน 0.1% สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate) ปริมาตร 5.00 ml. ผสมให้เข้ากันด้วยการปั่นผสม (MS1 Minishaker, IKA[®] Works, INC., USA.) นำมาวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 500 nm (GBC doublebeam UV-Visible instrument spectrophotometer, GBC scientific equipment PTY. LTD., Australia) โดยใช้ 0.1% สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate) เป็น blank และใช้อิมัลซิไฟเออร์ของ 100 mM โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Sodium phosphate buffer) pH 7.4 ปริมาตร 15 ml. ที่ homogenized กับน้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 5 ml. เป็น control ส่วนความคงตัวของชั้นอิมัลชันจะตั้งอิมัลชันไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที แล้วจึงไปวัดความขุ่น คำนวณความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Tsumura K. et al., 2005) จากสูตร

$$\begin{aligned} \text{EAI} &= \text{Emulsifying activity index} \\ \text{EAI (m}^2/\text{g)} &= \frac{2T(A_0 \times \text{Dilution factor})}{C \times \Phi \times 10000} \end{aligned}$$

เมื่อ T = 2.303 (ค่าคงที่ของความขุ่น)
 A_0 = ค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร
 C = น้ำหนักของโปรตีนต่อหน่วยปริมาตร (g/ml.)

$$\Phi = \frac{\text{อัตราส่วนของปริมาตรน้ำมันในอัตราส่วนทั้งหมด}}{10000} = \text{patch length of cuvette}$$

6. ความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีน (Foaming properties)

ทำการทดลองตามวิธีของ Lawal O.S. et al. (2003) โดยนำสารละลายโปรตีนความเข้มข้น 0.3% โดยน้ำหนัก ปริมาตร 100 ml. ใส่ลงในโถปั่น จากนั้นนำไปตีให้เกิดโฟม ด้วยเครื่องปั่นสำหรับการประกอบอาหารในครัวเรือน (AY46R4, Moulinex, China) ที่ความเร็วระดับสูงสุด (หรือความเร็วระดับ 2) นาน 60 วินาที แล้วจึงนำไปวัดปริมาตรของโฟมโดยการใส่ใน cylinder ขนาด 250 ml. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกความสามารถในการเกิดโฟมที่เวลา 0 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาที แล้วคำนวณจากสูตร

$$(\%) \text{Whippability} = \frac{(\text{total volume} - \text{drainage volume})}{\text{Initial volume (100 ml)}}$$

ส่วนที่ 3 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี (Chemical properties)

1. การหาน้ำหนักโมเลกุลของผงโปรตีนด้วย SDS-PAGE

วิเคราะห์ขนาดของน้ำหนักโมเลกุลของผงโปรตีนซีรีซินด้วย SDS-PAGE โดยเตรียมตามวิธีของ Sigma ที่ดัดแปลงมาจาก Weber และ Osborn (1969), Davies และ Stark (1970) ด้วยการผสมสารละลายซีรีซินกับ Sample Buffer ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ใน micro-centrifuge tube และนำสารละลายผสมดังกล่าวไปให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 3-5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงนำไป Load ลงใน well บนแผ่นเจล ปริมาตร 10-15 ไมโครลิตร โดยสารละลายผสมของซีรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20, 30, 40 และ 50 นาที จะใช้ 3.5% เจลและใช้ Phosphorylase B เป็น Marker ทำการ run ภายใต้กระแสไฟฟ้า 80 โวลต์ นาน 58-65 นาที ส่วนสารละลายผสมของซีรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 60, 90 และ 120 นาที จะใช้ 7.0% เจล และใช้ Prestained SDS-PAGE standards Broad Range เป็น Marker ทำการ run ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 40-56 นาที จากนั้นนำแผ่นเจลที่ได้มาย้อมสีด้วย Coomassie Brilliant Blue R-250 นาน 30-90 นาทีหรือจนกระทั่งโปรตีนติดสีเข้ม แล้วจึงทำการ Destaining จนกระทั่งเห็น band โปรตีนชัดเจน จากนั้นจึงทำการทำแห้งแผ่นเจลด้วยกระดาษแก้ว นำมาสแกนด้วยเครื่อง scanner (Scanner Epson perfection 4870 photo model J131A, Seiko Epson Corp., Japan) เพื่อวัดค่า R_f และคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน

ส่วนการหาน้ำหนักโมเลกุลของไฟโบรอิน ต้องทำการละลายไฟโบรอินในสารละลายเกลือผสมเพื่อให้ไฟโบรอินอยู่ในรูปของสารละลาย จากนั้นจึงทำการกำจัดเกลือออกด้วยการ dialysis

ในน้ำปราศจากอออน (Deionized water) แล้วจึงนำสารละลายไฟโบรอินมาผสมกับ sample buffer ทำการ load ลงในแผ่น 3.5% เจล

2. การเปลี่ยนแปลงของผงไฟโบรอินด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร

2.1 การเปลี่ยนแปลงของผงไฟโบรอินด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดในระบบทางเดินอาหาร

2.1.1 การเปลี่ยนแปลงของผงไฟโบรอินเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน (จำลองสภาวะในกระเพาะอาหาร)

ซึ่งผงไฟโบรอินน้ำหนัก 100 mg ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 ml จากนั้นเติม 0.1M HCl pH 2 ปริมาตร 10 ml ลงไป ปั่นผสมให้เข้ากัน (MS1 Minishaker, IKA[®] Works, INC., USA.) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (SWB 5050 Shaking Water Bath, LABNET INTERNATIONAL, INC., USA) นาน 15 นาที จากนั้นเติมเอนไซม์เปปซิน (EC 3.4.23.1, Pepsin from Porcine Stomach Mucosa, Sigma-aldrich) ลงไปในหลอดทดลองโดยให้ในหลอดทดลองมีความเข้มข้นของเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 0.1% 1.0% และ 2.0% ปิดฝาให้สนิท ปั่นผสม ผสมให้เข้ากัน (สำหรับตัวอย่างควบคุมจะเติมเอนไซม์ที่เสียสภาพหรือหมดความสามารถในการทำงาน โดยการนำเอนไซม์ไปให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 15 นาที แล้วจึงเติมลงไปหลอดทดลอง) บ่มตัวอย่างทิ้งไว้ให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยา 2 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด นำหลอดทดลองไปให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 15 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (Universal 16R, Hettich Zentrifugen, Germany) ที่ 8000xg อุณหภูมิ 4°C นาน 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทำการวัดปริมาณเปปไทด์โดยใช้ TNBS และ L-Leucine เป็นสารละลายมาตรฐาน ติดตามผลโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm. จากนั้นทำการทดสอบทางสถิติว่าเอนไซม์แต่ละความเข้มข้นให้ผลแตกต่างกันหรือไม่ โดยใช้ SAS (Statistical Analysis System)

2.1.2 การเปลี่ยนแปลงของผงไฟโบรอินเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซินและแอลฟา-ไคโมทริปซิน (จำลองสภาวะในลำไส้เล็ก)

ซึ่งผงไฟโบรอินน้ำหนัก 100 mg ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 ml จากนั้นเติม 0.1M NaHCO₃ pH 8 ปริมาตร 10 ml ลงไป ปั่นผสม (MS1 Minishaker, IKA[®] Works, INC., USA.) ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (SWB 5050 Shaking Water Bath, National Labnet Company, USA) นาน 15 นาที จากนั้นเติมเอนไซม์ทริปซิน (EC 3.4.23.1, Trypsin from Porcine Pancreas, Sigma-aldrich) และแอลฟา-ไคโมทริปซิน (EC 3.4.21.4, α -Chymotrypsin From Bovine Pancreas Type II, Sigma-aldrich) ลงไปในหลอดทดลองโดยให้ในหลอดทดลองมีความเข้มข้นของเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 0.1% 1.0% และ 2.0% ปิดฝาให้สนิท ปั่นผสม ผสมให้เข้ากัน (สำหรับ

ตัวอย่างควบคุมจะเติมเอนไซม์ที่เสียดสภาพหรือหมดความสามารถในการทำงาน โดยการนำเอนไซม์ไปให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 15 นาที แล้วจึงเติมลงไปในหลอดทดลอง) บ่มตัวอย่างทิ้งไว้ให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยา 6 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด นำหลอดทดลองไปให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 15 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (Universal 16R, Hettich Zentrifugen, Germany) ที่ 8000xg อุณหภูมิ 4 °C นาน 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทำการวัดปริมาณเปปไทด์โดยใช้ TNBS และ L-Leucine เป็นสารละลายมาตรฐาน ติดตามผลโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm. จากนั้นทำการทดสอบทางสถิติว่าเอนไซม์แต่ละความเข้มข้นให้ผลแตกต่างกันหรือไม่ โดยใช้ SAS (Statistical Analysis System)

2.1.3 การเปลี่ยนแปลงของผงไฟโบรอินเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปส (จำลองสภาวะในลำไส้เล็ก)

ชั่งผงไฟโบรอินน้ำหนัก 100 mg ใส่ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 ml จากนั้นเติม 11% Bile salt pH 8 ปริมาตร 10 ml ลงไป ปั่นผสม (MS1 Minishaker, IKA® Works, INC., USA.) ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (SWB 5050 Shaking Water Bath, National Labnet Company, USA) นาน 15 นาที จากนั้นเติมเอนไซม์ไลเปส (EC 3.1.1.3, Lipase from *Candida antarctica*, Fluka BioChemika) ลงไปในหลอดทดลองโดยให้ในหลอดทดลองมีความเข้มข้นของเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 0.1% 1.0% และ 2.0% ปิดฝาให้สนิท ปั่นผสม ผสมให้เข้ากัน (สำหรับตัวอย่างควบคุมจะเติมเอนไซม์ที่เสียดสภาพหรือหมดความสามารถในการทำงาน โดยการนำเอนไซม์ไปให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 15 นาที แล้วจึงเติมลงไปหลอดทดลอง) บ่มตัวอย่างทิ้งไว้ให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยา 6 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด นำหลอดทดลองไปให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 15 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (Universal 16R, Hettich Zentrifugen, Germany) ที่ 8000xg อุณหภูมิ 4 °C นาน 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทำการวัดค่าความเป็นกรดและกรดไขมัน โดยใช้ acid value จากนั้นทำการทดสอบทางสถิติว่าเอนไซม์แต่ละความเข้มข้นให้ผลแตกต่างกันหรือไม่ โดยใช้ SAS (Statistical Analysis System)

2.2 ความสามารถในการจับไขมันของผงไฟโบรอินที่ผ่านระบบทางเดินอาหารจำลอง

นำตัวอย่างไขมันอิมัลชัน (น้ำมันมะพร้าว) และไขมันไม่อิ่มตัว (น้ำมันมะกอก) ผสมกับผงไฟโบรอิน โดยใช้อิมัลชันของ Dressing เป็นต้นแบบ เติมผงไฟโบรอิน 1.0 2.5 และ 5.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรลงไป จากนั้นนำตัวอย่างอิมัลชันน้ำหนัก 20 กรัมใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml เติมสารละลาย 0.1M NaHCO₃ pH 8 ปริมาตร 40 ml ผสมให้เข้ากัน เติมเอนไซม์ไลเปสลงไปโดยให้ในขวดทดลองมีความเข้มข้นของเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 1.0% ปิดฝาให้สนิท บ่มตัวอย่างทิ้งไว้ให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยา 6 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด นำหลอดทดลองไปให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 15

นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (Universal 16R, Hettich Zentrifugen, Germany) ที่ 8000xg อุณหภูมิ 4 °C นาน 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทำการวัดค่าความเป็นกรดและกรดไขมัน โดยหา acid value เปรียบเทียบความสามารถในการดักจับไขมันของผงไฟโบรอินระหว่างไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว

ส่วนที่ 4 การนำโปรตีนซีรีซินที่ผลิตได้มาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร

นำโปรตีนซีรีซินที่ผลิตได้มาทดสอบใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่มที่มีกรดต่ำกรดสูง และที่มีแอลกอฮอล์ เช่น น้ำผลไม้ (น้ำส้มแมนดารินผสมเกลือส้มและน้ำแอปเปิ้ล 100% ตรา มาลี, บริษัท มาลีสามพราน จำกัด(มหาชน), ประเทศไทย) น้ำดื่มเกลือแร่ (ตรา สปอนเซอร์, บริษัท ที.ซี. ฟาร์มาซูติคอลอุตสาหกรรม จำกัด, ประเทศไทย) เครื่องดื่มชูกำลัง(ตรา กระทิงแดง, บริษัท ที.ซี. ฟาร์มาซูติคอลอุตสาหกรรม จำกัด, ประเทศไทย) น้ำโซดา (ตรา สิงห์, บริษัท บุญรอด บริวเวอรี่ จำกัด, ประเทศไทย) และเบียร์ (เบียร์ลาเกอร์ ตรา สิงห์, บริษัท บุญรอด บริวเวอรี่ จำกัด, ประเทศไทย) เป็นต้น โดยทำการเติมลงไปในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อให้มีความเข้มข้นของ โปรตีนซีรีซินเท่ากับ 0.010, 0.125 และ 0.250% (v/v) และทำการสังเกตผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มดังกล่าวเมื่อเติมซีรีซินลงไป

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปราย (Results and Discussion)

ส่วนที่ 1 การเตรียมตัวอย่างผงโปรตีนซีรีซินและไฟโบรอิน

1. ปริมาณของแข็งทั้งหมดของสารสกัดโปรตีนซีรีซิน

จากการสกัดโปรตีนซีรีซินออกจากรังไหมดิบภายใต้สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิและความดันเดียวกัน แต่ระยะเวลาในการสกัดแตกต่างกัน พบว่าการเพิ่มระยะเวลาการให้ความร้อนในการสกัดโปรตีนซีรีซินที่อุณหภูมิ 121°C ทำให้ได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดมีค่าแตกต่างกัน ดังแสดงผลในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณของแข็งทั้งหมดของสารสกัดโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดภายใต้สภาวะเดียวกันแต่อุณหภูมิต่างกัน

ตัวอย่าง	Treatment	(%) Total solid
S20m	Autoclaved: 121°C , 20 นาที	21.1766 ± 0.0206^c
S30m	Autoclaved: 121°C , 30 นาที	21.4678 ± 0.0426^d
S40m	Autoclaved: 121°C , 40 นาที	21.4111 ± 0.0176^d
S50m	Autoclaved: 121°C , 50 นาที	21.4191 ± 0.0125^d
S60m	Autoclaved: 121°C , 60 นาที	21.5917 ± 0.0527^c
S90m	Autoclaved: 121°C , 90 นาที	21.8698 ± 0.0756^a
S120m	Autoclaved: 121°C , 120 นาที	21.6801 ± 0.0307^b

หมายเหตุ: ^a ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง, อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดของสารสกัดโปรตีนซีรีซินด้วยการวิเคราะห์ทางด้านสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกได้เป็น 5 กลุ่มที่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณของแข็งทั้งหมดของสารสกัดโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 90 นาทีจะให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 21.87% รองลงมา คือ สารสกัดโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 120 60 30 50 และ 40 นาที มีค่าเท่ากับ 21.68% 21.59% 21.47% 21.42% และ 21.41% ตามลำดับ โดยการสกัดโปรตีนซีรีซินที่ระยะเวลา 30 40 และ 50 นาทีให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดในการสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดของ

สารสกัดโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 นาทีให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 21.18% และจากตารางที่ 4 จะเห็นว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดในสารสกัดโปรตีนชิริชินที่ใช้ระยะเวลาในการสกัด 90 นาทีมีปริมาณแตกต่างกับการสกัดที่ระยะเวลา 20 นาทีเพียง 3.17% จึงอาจกล่าวได้ว่าการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดโปรตีนชิริชินไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดเปลี่ยนแปลงมากนัก โดยปริมาณของแข็งทั้งหมดอาจขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนชิริชินที่เคลือบหรือห่อหุ้มเส้นใยไฟโบรอินในรังไหมดิบในแต่ละรังนั้นๆ ประกอบกับความสามารถในการละลายของโปรตีนชิริชินในรังไหมดิบระหว่างกระบวนการสกัดภายใต้สภาวะและปัจจัยที่กำหนด แต่ทั้งนี้การเพิ่มระยะเวลาในการสกัดอาจมีผลกระทบต่อคุณสมบัติทางด้านเคมี-กายภาพของโปรตีนชิริชินที่ได้แตกต่างกันไป

2. การเตรียมตัวอย่างเส้นใยไฟโบรอิน

เมื่อทำการเปรียบเทียบวิธีการกำจัดโปรตีนชิริชินที่เคลือติดอยู่กับเส้นใยไฟโบรอิน ด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน โดยทำการสกัดภายใต้สภาวะเป็นกลาง (น้ำกลั่น) ค่าอ่อน (0.05% Na_2CO_3 , w/v) และค่าแก่ (0.05% NaOH , w/v) และใช้รังไหมที่ผ่านกระบวนการสกัดโปรตีนชิริชิน เลขที่คำขอ 080595 เป็นตัวอย่างควบคุม จากนั้นนำตัวอย่างมาวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่า การกำจัดโปรตีนชิริชินที่สภาวะการสกัดโปรตีนที่ต่างกันสามารถกำจัดโปรตีนชิริซินออกจากเส้นใยไฟโบรอินได้ในปริมาณที่ต่างกัน รวมทั้งเส้นใยไฟโบรอินที่ได้มีความสมบูรณ์แตกต่างกันด้วย ดังแสดงในรูปที่ 4

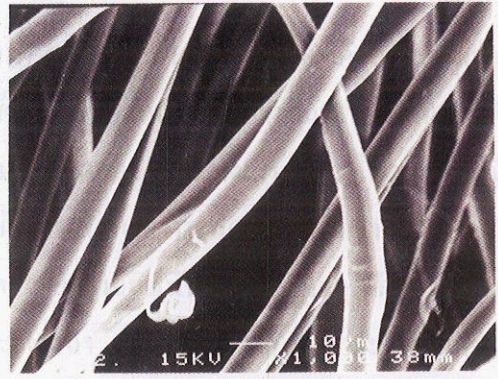


a

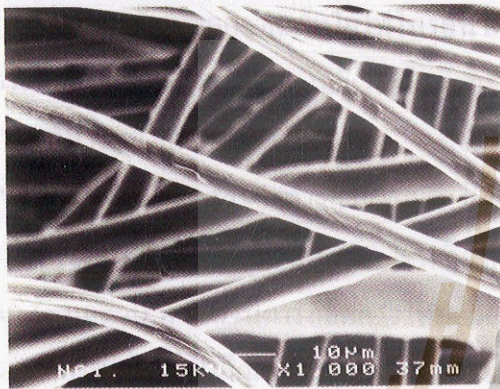
b



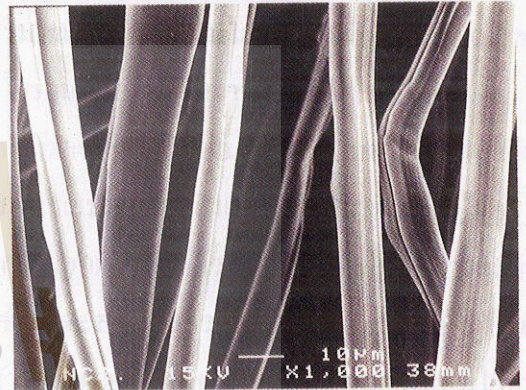
c



d



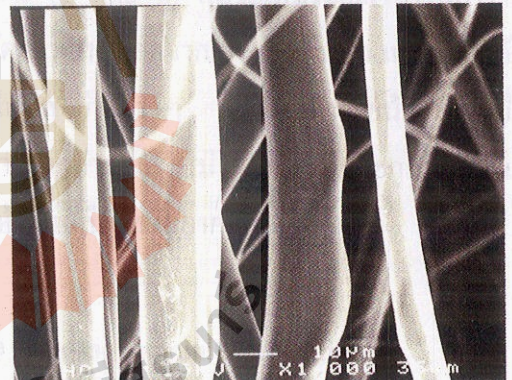
e



f



g



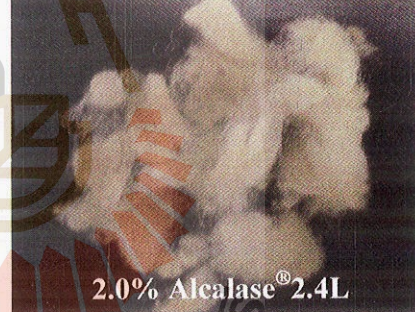
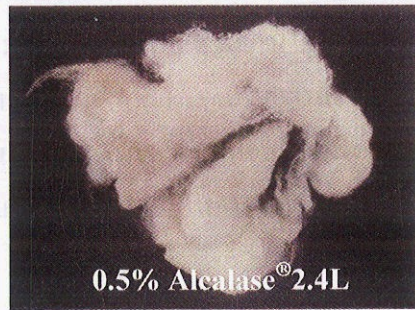
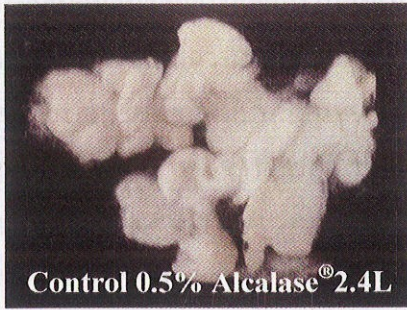
h

รูปที่ 4 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) ของเส้นใยไฟโบรอินหลังผ่านการกำจัดซิริซิน (Degumming) เมื่อ a: รังไหมที่ผ่านการสกัดโปรตีนซิริซินที่ผ่านกรรมวิธีการสกัดโปรตีนซิริซิน เลขที่คำขอ 080595 b: รังไหมที่ผ่านการต้มกับสารละลาย 0.05% (w/v) Na_2CO_3 อุณหภูมิ 100°C นาน 60 นาที c: รังไหมที่ผ่านการต้มกับสารละลาย 0.05% (w/v) NaOH อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที จำนวน 1 ครั้ง d: รังไหมที่ผ่านการต้มกับสารละลาย 0.05% (w/v) NaOH อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที จำนวน 2 ครั้ง e: รังไหมที่ผ่านการต้มกับสารละลาย 0.05% (w/v) Na_2CO_3 อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที จำนวน 1 ครั้ง f: รังไหมที่ผ่านการต้มกับสารละลาย 0.05% (w/v) Na_2CO_3 อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที จำนวน 2 ครั้ง g: รังไหมที่ผ่านการต้มกับน้ำอุณหภูมิ 100°C นาน 60 นาที จำนวน 1 ครั้ง h: รังไหมที่ผ่านการต้มกับน้ำอุณหภูมิ 100°C นาน 60 นาที จำนวน 2 ครั้ง

จากรูปที่ 4 การกำจัดโปรตีนซีรีซิน (กาวใหม่) ออกจากเส้นใยไฟโบรอินด้วยการต้มเส้นใยในสารละลายด่างอ่อน สามารถกำจัดกาวใหม่ออกจากเส้นใยไฟโบรอินได้ในปริมาณมากที่สุดและเส้นใยมีความสะอาด เมื่อเทียบกับวิธีการต่าง ๆ ภายในกลุ่มการทดลอง รวมทั้งเส้นใยไฟโบรอินที่ได้มีความสมบูรณ์ โดยพื้นผิวของเส้นใยไฟโบรอินเรียบ ไม่มีการเสียหาย/การฉีกขาดที่เกิดจากการไฮโดรไลส์ด้วยด่าง (e และ f) ซึ่งการลอกกาวใหม่ด้วยสารละลายด่างอ่อนนั้นกาวใหม่จะถูกกำจัดออกได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์หลังจากทำการลอกกาวใหม่ในระยะเวลา 30 นาที (e) (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2548) แต่เมื่อทำการลอกกาวใหม่ด้วยการต้มกับสารละลายด่างอ่อนในระยเวลานาน 60 นาทีสามารถลอกกาวใหม่ออกจากเส้นใยไฟโบรอินได้ในปริมาณมาก แต่เส้นใยไฟโบรอินที่ได้ไม่สมบูรณ์เกิดการฉีกขาดและมีรอยแตกบนบริเวณพื้นผิวของเส้นใยรวมทั้งความมันวาวของเส้นใยที่เป็นลักษณะเฉพาะของเส้นใยขาดหายไป ทั้งนี้เกิดจากการลอกกาวใหม่ในสารละลายด่างร้อนในระยะเวลาสั้นจะทำให้โมเลกุลของด่างสามารถเข้าไปทำลายพันธะเปปไทด์ของเส้นใยเกิดการไฮโดรไลส์และเส้นใยจะถูกทำลายในที่สุด (b) เช่นเดียวกับวิธีการลอกกาวใหม่ด้วยการต้มเส้นใยกับสารละลายด่างแก่ (c และ d) ดังนั้นในการลอกกาวใหม่ด้วยการใช้สารละลายด่างควรคำนึงถึงค่า pH อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ เพื่อหลีกเลี่ยงการทำลายเส้นใยและความมันวาวที่เป็นคุณสมบัติเฉพาะของเส้นใยขาดหายไป ส่วนการลอกกาวใหม่ด้วยการต้มเส้นใยกับน้ำร้อน (g และ h) แม้จะเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนแก่การลอกกาวใหม่ก็ตาม ไม่สามารถที่จะกำจัดกาวใหม่ออกจากเส้นใยได้หมด เพราะการต้มเส้นใยในน้ำร้อนจะค่อย ๆ ทำให้กาวใหม่ถูกไฮโดรไลส์อย่างช้า ๆ และถูกทำลายน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับการกำจัดกาวใหม่ด้วยสารละลายด่าง ซึ่งวิธีการดังกล่าวแม้จะไม่ได้ทำให้เส้นใยถูกทำลายแต่ต้องใช้เวลานานและใช้พลังงานความร้อนมาก ทำให้สิ้นเปลืองทรัพยากร

3. การย่อยเส้นใยไฟโบรอินด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด คือ Alcalase Papain และ Neutrase

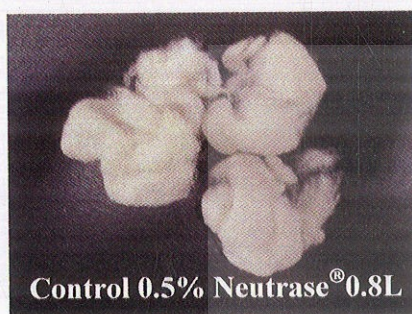
จากการย่อยโปรตีนไฟโบรอินด้วยโปรติเอส (Proteases) ได้แก่ Alcalase Neutrase และ Papain ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5% 1.0% และ 2.0% เพื่อติดตามผลของการไฮโดรไลซิสโปรตีน โดยให้เอนไซม์ Neutrase Papain และ Alcalase ทำงานในสภาวะที่เหมาะสมภายใต้ปัจจัยที่กำหนด ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวมีความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโครงสร้างของโปรตีนที่แตกต่างกัน สำหรับตัวอย่างควบคุม (Control) เดิมเอนไซม์ทั้งหมดความสามารถในการทำงานแทน ด้วยการนำเอนไซม์ไปให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 15 นาที ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 5, 6 และ 7



รูปที่ 5 เส้นใยไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Alcalase ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0% เอนไซม์ pH 7.5 และบ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 14 วัน

จากรูปที่ 5 แสดงการย่อยเส้นใยไฟโบรอินด้วย Alcalase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Serine proteinase ที่มีกรดอะมิโน serine อยู่บริเวณ active site และไม่จำเพาะต่อกรดอะมิโนในสารตั้งต้นสามารถสลายพันธะระหว่างกรดอะมิโนพวก hydrophobic-COOH ของสารตั้งต้นได้ดี (ปราณี, 2543) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างควบคุมกับตัวอย่างทดลองในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าตัวอย่างทดลองให้ลักษณะของเส้นใยไฟโบรอินไม่แตกต่างกันกับตัวอย่างควบคุมเมื่อมองด้วยตาเปล่า ประกอบกับการใช้มือในการยึดเส้นใยของไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ดังกล่าว ซึ่งเส้นใยดังกล่าวยังคงลักษณะของเส้นใยที่มีความเหนียวไม่แตกต่างกัน แสดงว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ดังกล่าวไม่

สามารถทำให้ลักษณะทางกายภาพของเส้นใยไฟโบรอินเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนระหว่างตัวอย่างควบคุมกับตัวอย่างทดลอง เนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวมีความสามารถในการย่อยเส้นใยได้เพียงเล็กน้อยซึ่งสามารถเห็นความเปลี่ยนแปลงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้เท่านั้น ส่วนเส้นใยไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดนี้นั้นมีสีน้ำตาล เกิดจากสีของเอนไซม์ (Alcalase เป็นสารละลายสีน้ำตาล) เกาะอยู่บนเส้นใยไม่ได้เกิดจากการทำปฏิกิริยาย่อยสลายพันธะสารตั้งต้นของเอนไซม์ โดยข้อจำกัดที่เกิดขึ้นจากการย่อยเส้นใยไฟโบรอินคือโครงสร้างที่แข็งแรงรวมทั้งพันธะในการจับกันของกรดอะมิโนภายในสายโปรตีนและระหว่างสายโปรตีน



รูปที่ 6 เส้นใยไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Neutrased ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0% เอนไซม์ pH 6.0 และบ่มที่อุณหภูมิ 42 °C นาน 14 วัน

จากรูปที่ 6 การย่อยเส้นใยไฟโบรอินด้วย Neutrase ในสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของ เอนไซม์ ด้วยการเพิ่มระดับของเอนไซม์ในการไฮโดรไลซิสเส้นใยไฟโบรอิน พบว่า ลักษณะที่ปรากฏ ทางกายภาพของเส้นใยที่สามารถสัมผัสได้ให้ผลเหมือนกับการย่อยด้วย Alcalase ถึงแม้ว่า Neutrase จะเป็นเอนไซม์ในกลุ่มเดียวกันกับ Alcalase ก็ตาม แต่ความจำเพาะของ Neutrase ในการไฮโดรไลซิส โปรตีนนั้นจะกว้างกว่า Alcalase กล่าวคือสามารถไฮโดรไลซิสต่อกรดอะมิโนทุกตัวได้เท่าๆกัน ซึ่งจะ แตกต่างกับ Alcalase ที่สามารถทำงานได้ดีกับกรดอะมิโนพวก hydrophobic-COOH การที่เอนไซม์ ดังกล่าวไม่สามารถไฮโดรไลซิสเส้นใยไฟโบรอินให้เป็นเส้นใยสายสั้นๆที่มีความเปราะบางนั้น เป็น สาเหตุเดียวกับการใช้ Alcalase ในการย่อย คือ โครงสร้างที่ซับซ้อนและแข็งแรงของโปรตีนไฟโบรตีน นั้นเอง



Control 0.5% Papain



0.5% Papain



Control 1.0% Papain



1.0% Papain



Control 2.0% Papain



2.0% Papain

รูปที่ 7 เส้นใยไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Papain ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0% เอนไซม์ pH 6.0 และบ่มที่ อุณหภูมิ 25 °C นาน 14 วัน

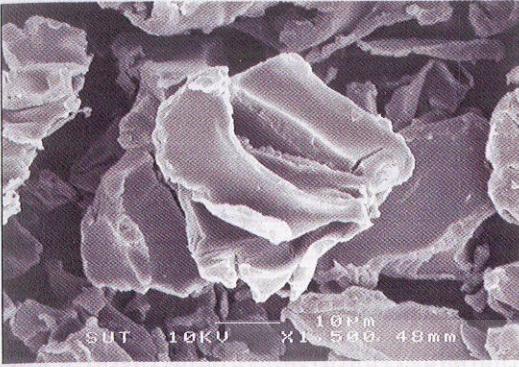
สำหรับรูปที่ 7 การย่อยเส้นใยไฟโบรอินด้วย Papain ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มของ Cysteine proteinase ที่มีกลุ่ม sulfhydryl ของ cystein อยู่บริเวณ active site ของเอนไซม์ ที่มีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนเหมือนกับ Alcalase คือ สามารถไฮโดรไลซิสรคอะมิโนทุกตัวได้ แม้จะสามารถย่อยสลายกรดอะมิโนพวก hydrophobic -COOH ได้ดีกว่า

เมื่อทำการเปรียบเทียบในการทำลายโครงสร้างของโปรตีนไฟโบรอินด้วยเอนไซม์ทางการค้า 3 ชนิด คือ Alcalase Papain และ Neutrase ที่สภาวะเหมาะสมของเอนไซม์แต่ละชนิด นาน 14 วัน พบว่าเอนไซม์ทางการค้าไม่สามารถไฮโดรไลซิสน้ำเส้นใยไฟโบรอินขาดเป็นสายสั้น ๆ หรือมีมวลขนาดเล็กลงได้ ดังแสดงในรูปที่ 5 6 และ 7 โดยเส้นใยไฟโบรอินยังคงไว้ซึ่งความเหนียว ไม่เปราะบาง สามารถสัมผัสได้ด้วยประสาทสัมผัส ทั้งนี้เนื่องมาจากโครงสร้างดั้งเดิมของโปรตีนไฟโบรอินมีความซับซ้อน โดยโมเลกุลโปรตีนเรียงตัวกันอย่างระเบียบมีลักษณะเป็นโครงสร้างซิกแซกเรียงกันเป็นแผ่นเบตาแบบไม่ขนาน (antiparallel β -pleated sheet) และแต่ละสายพอลิเปปไทด์มีทิศทางตรงกันข้าม (He et al., 1999) โดยพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างสายจะเป็นเส้นตรง ประกอบกับการเรียงตัวของ dipole อยู่ในแนวเส้นตรง ทำให้โครงสร้างดังกล่าวมีความเสถียร นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ในการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเส้นใยให้มีขนาดเล็กลงนั้นเป็นการเปลี่ยนแปลงในสภาวะที่ไม่รุนแรงเหมือนกับการใช้สารเคมี ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการเป็นไปอย่างมีระเบียบ และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงชัดเจนสำหรับโปรตีนที่มีความเสถียรภายในโครงสร้างสูง

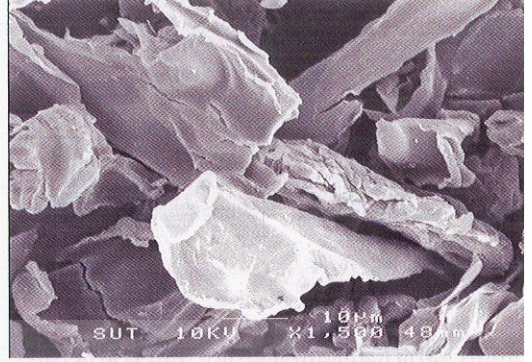
ส่วนที่ 2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของผงโปรตีนไฟโบรอินและซีรีซิน

1. การศึกษารูปร่าง และโครงสร้างภายในของผงไหมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

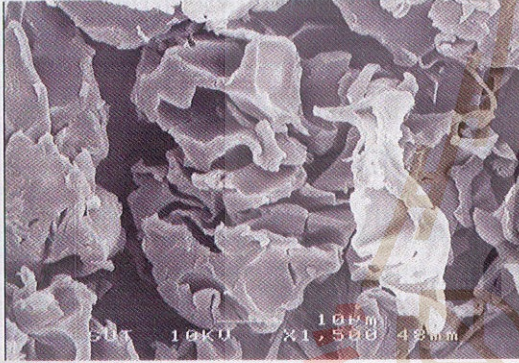
เมื่อนำผงโปรตีนซีรีซินที่ได้จากการสกัดจากรังไหมดิบด้วยน้ำภายใต้ความดันและความร้อนสูงภายในหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที มาทำการศึกษารูปร่างและโครงสร้างภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) โดยใช้กำลังขยาย 1500 เท่าสำหรับผงโปรตีนซีรีซิน และกำลังขยาย 4000 เท่าสำหรับพื้นผิวของผงโปรตีนซีรีซิน ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 8



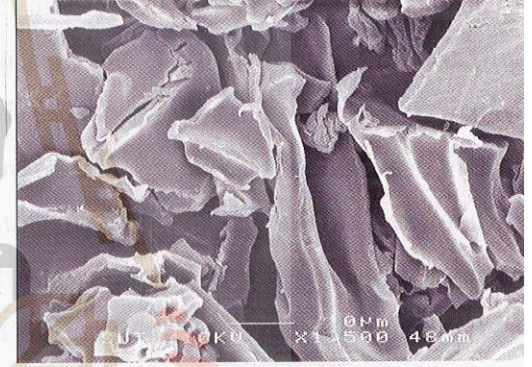
A



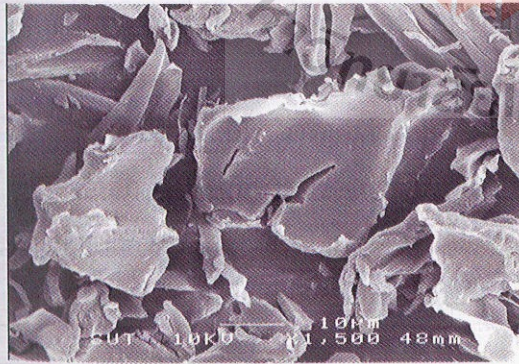
B



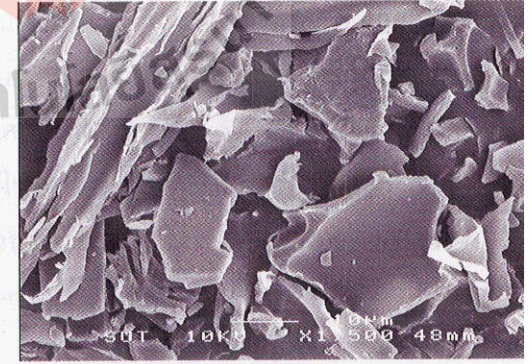
C



D



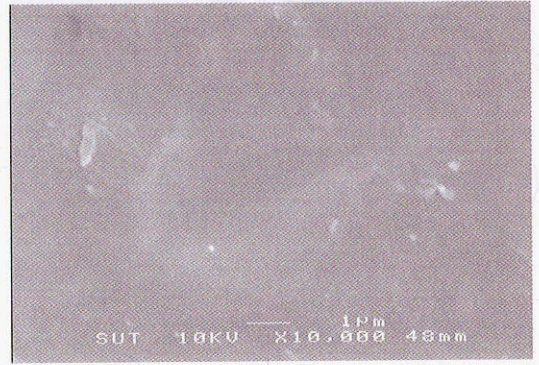
E



F



G

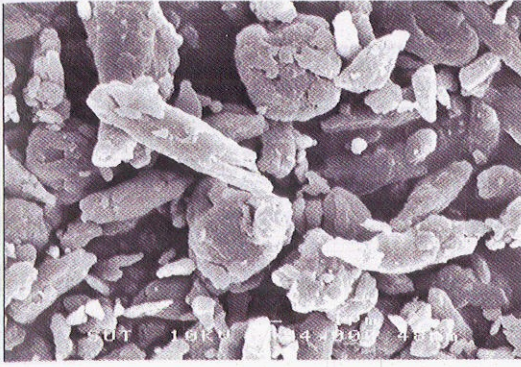


H

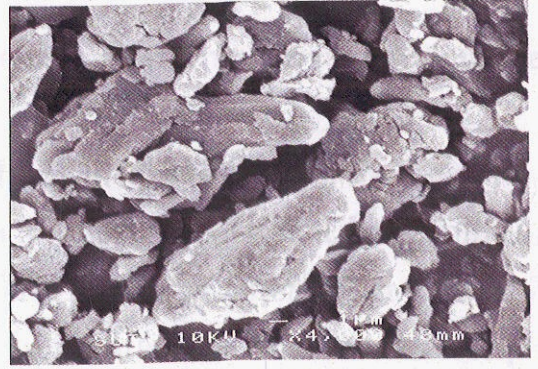
รูปที่ 8 โครงสร้างภายในของผงโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่างๆกัน ภายใต้อุณหภูมิและภายใต้ความดันเดียวกัน A: 20, B:30, C:40, D:50, E:60, F:90 และ G:120 นาที ส่วน H: พื้นที่ผิวหน้าของผงชิริชิน

จากรูปที่ 8 พบว่า โครงสร้างและรูปร่างภายในของผงโปรตีนชิริชินแต่ละรูป (A-G) ให้ผลไม่แตกต่างกัน โดยผงโปรตีนชิริชินมีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ รูปร่างไม่แน่นอนมีขนาดเล็กและใหญ่แตกต่างกันออกไป ส่วนบริเวณพื้นผิวของผงโปรตีนชิริชิน (H) มีพื้นผิวราบเรียบ ไม่มีรูพรุน สำหรับรูปร่างและโครงสร้างภายในของผงโปรตีนชิริชินที่มีลักษณะเป็นแผ่นและมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน เกิดจากผงโปรตีนชิริชินที่ได้จากน้ำต้มรังไหมดิบผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งทรงกระบอกแบบลูกกลิ้งคู่ (Double drum dry) ที่มีพื้นผิวเป็นโลหะที่ให้ความร้อนสูง เมื่อน้ำต้มรังไหมแผ่กระจายอย่างสม่ำเสมอบนผงด้านนอกของโลหะที่ให้ความร้อนสูงน้ำจะระเหยออกไปอย่างรวดเร็ว โดยมีพื้นผิวของลูกกลิ้งทำหน้าที่เป็นตัวนำความร้อนและใช้การหมุนของลูกกลิ้งเป็นตัวช่วยในการส่งน้ำต้มรังไหม และก่อนที่ลูกกลิ้งจะหมุนครบหนึ่งรอบ โปรตีนชิริชินที่แห้งแล้วจะถูกปาดออกด้วยใบมีดที่ติดกับลูกกลิ้งตลอดแนวความยาวของลูกกลิ้ง ส่งผลให้โปรตีนชิริชินที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการดังกล่าวมีรูปร่างเป็นแผ่นขนาดใหญ่และมีลักษณะแบนราบ จากนั้นแผ่นโปรตีนชิริชินจะถูกทำให้มีขนาดเล็กลงด้วยแรงเสียดทานจากใบมีดของเครื่องปั่น ทำให้แผ่นโปรตีนชิริชินเกิดการแตกหักในทิศทางที่ไม่แน่นอน ส่งผลให้ผงโปรตีนชิริชินที่ได้มีรูปร่างลักษณะเป็นแผ่นที่มีขนาดแตกต่างกัน

เมื่อทำการศึกษารูปร่างและโครงสร้างภายในของผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยสารละลายด่างที่สภาวะภายใต้ความดันและความร้อนสูง ด้วยกล้อง SEM กำลังขยาย 4000 เท่า พบว่า ผงโปรตีนไฟโบรอินมีลักษณะเป็นท่อนเล็ก ๆ ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน พื้นที่ยกเว้นบริเวณพื้นผิวมีรอยแตกและไม่มีรูพรุนในโครงสร้างภายใน



I



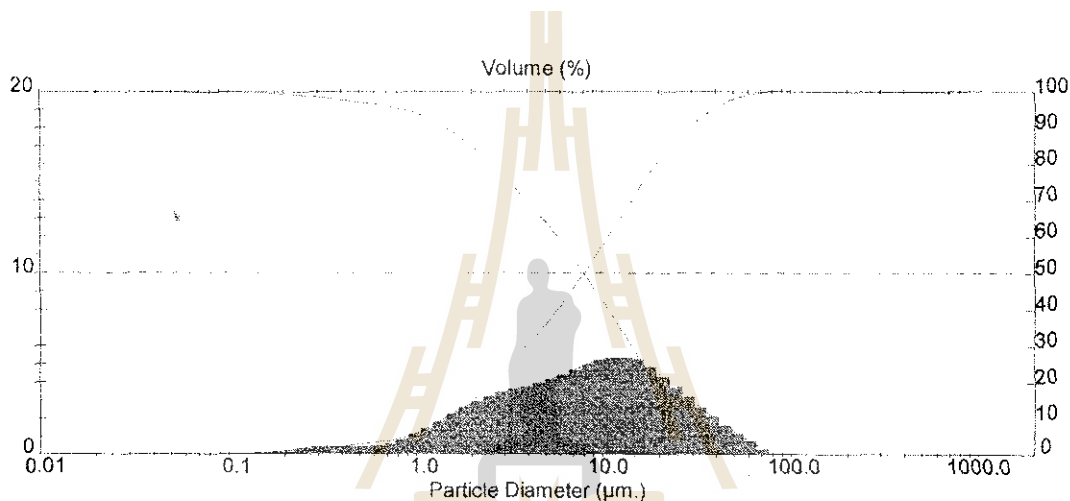
J

รูปที่ 9 โครงสร้างภายในของผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยสารละลายต่างที่สภาวะภายใต้ความดันและความร้อนสูง I : โปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมคาร์บอเนต J : โปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

จากลักษณะโครงสร้างดั้งเดิมของโปรตีนไฟโบรอินที่เป็นโปรตีนประเภทเส้นใย เมื่อทำการลดขนาดเส้นใยให้มีขนาดเล็กลงจนกลายเป็นผงด้วยการย่อยเส้นใยในสภาวะต่างและใช้แรงทางกลในการลดขนาด พบว่าผงโปรตีนไฟโบรอินยังคงไว้ซึ่งโครงสร้างดั้งเดิมของการเป็นโปรตีนประเภทเส้นใยดังแสดงในรูปที่ 9 ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Freddi และคณะ (2006) ที่มีวิธีการผลิตผงโปรตีนไฟโบรอินใกล้เคียงกัน การที่ผงโปรตีนไฟโบรอินมีลักษณะเป็นก้อนขนาดเล็ก มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอนเกิดจากกระบวนการผลิตผงโปรตีนไฟโบรอินที่มีผลมาจากการแทรกตัวของโมเลกุลของน้ำเข้าไปภายในโครงสร้างของโปรตีน ส่งผลให้โครงสร้างของโปรตีนเกิดการคลายตัวออกจากกัน หรือมีโครงสร้างที่หลวมขึ้น ทำให้พันธะเปปไทด์ของโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์อย่างไม่เป็นระเบียบในทิศทางที่ไม่แน่นอนแบบไม่จำเพาะเจาะจงต่อพันธะเปปไทด์ ซึ่งบริเวณพื้นผิวของเส้นใยโปรตีนถูกตัดมากขึ้นไม่เท่ากันในแต่ละตำแหน่งของเส้นใย มีผลทำให้เกิดความเปราะบางของเส้นใยที่ไม่เท่ากัน ดังนั้นเมื่อนำไปลดขนาดด้วยแรงทางกลจะทำให้ได้ผงโปรตีนไฟโบรอินที่มีขนาดแตกต่างกัน (สามารถดูช่วงขนาดอนุภาคที่แตกต่างกันได้จากรูปที่ 10 และ 11) และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะของผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมคาร์บอเนต (I) กับผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (J) พบว่าผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมคาร์บอเนตมีขนาดเล็กกว่า ขนาดของอนุภาคไม่สม่ำเสมอ แต่ผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์มีขนาดที่สม่ำเสมอกว่าแม้ว่ามีขนาดใหญ่กว่า เล็กน้อย

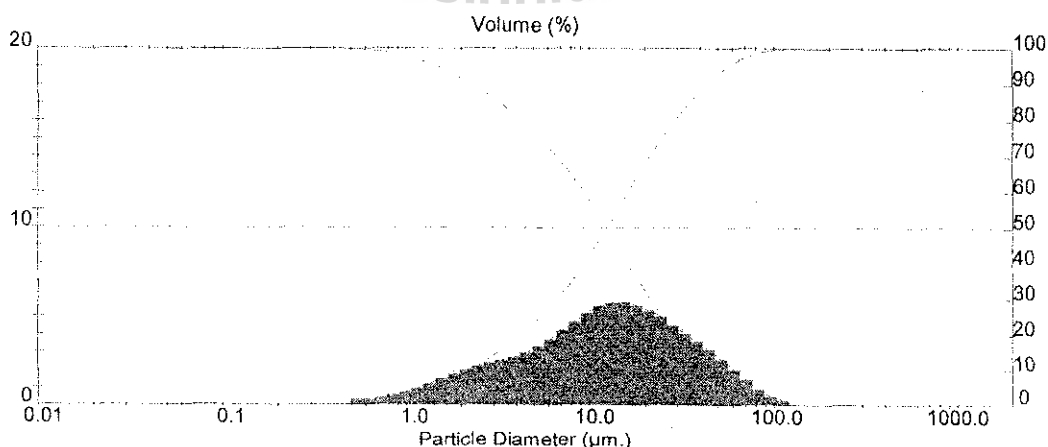
2. การศึกษาขนาดอนุภาคของผงโปรตีนไฟโบรอินด้วยเครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาคระบบเลเซอร์ (Laser Particle Size Analyzer)

เมื่อทำการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคของผงโปรตีนไฟโบรอินด้วยเครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาคระบบเลเซอร์ ที่ใช้ Helium-Neon laser เป็นแหล่งกำเนิดแสง ทำการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคแบบเปียก (Wet analysis) โดยให้อนุภาคของผงโปรตีนไฟโบรอินกระจายตัวอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำที่มีลำแสงผ่าน พบว่า ผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมคาร์บอเนตมีขนาดของอนุภาคกระจายเป็นช่วงกว้าง โดยมีขนาดของอนุภาคกระจายอยู่ภายในช่วง $0.067 - 76.32 \mu\text{m}$ และมีขนาดของอนุภาคเฉลี่ย $12.05 \mu\text{m}$. ดังแสดงในรูปที่ 10



รูปที่ 10 ขนาดอนุภาคของผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมคาร์บอเนตเมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาคระบบเลเซอร์

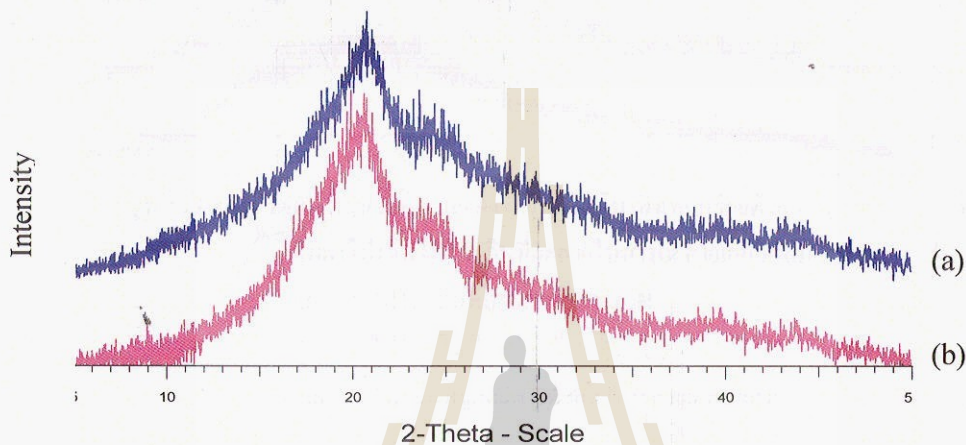
ส่วนผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์มีขนาดของอนุภาคกระจายอยู่ภายในช่วง $0.522-137.20 \mu\text{m}$ และมีขนาดของอนุภาคเฉลี่ย $18.40 \mu\text{m}$. ดังแสดงในรูปที่ 11



รูปที่ 11 ขนาดอนุภาคของผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาคระบบเลเซอร์

3. การศึกษาโครงสร้างของผงโปรตีนไฟโบรอิน ด้วยเครื่องวิเคราะห์สารประกอบรังสีเอ็กซ์ (X-ray Diffractometer, XRD)

เมื่อนำผงโปรตีนไฟโบรอินมาทำการวิเคราะห์โครงสร้าง โดยอาศัยการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ พบว่า ผงโปรตีนไฟโบรอินเกิด broad peak สูงสุดที่ $2\theta = 20.468^\circ$ และ 20.627° สำหรับโปรตีนไฟโบรอินที่ถูกย่อยด้วยค่างอ่อนและค่างแก่ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 13 ซึ่งรูปแบบกราฟที่ได้คล้ายกับการทดลองของ Hino และคณะ (2003)



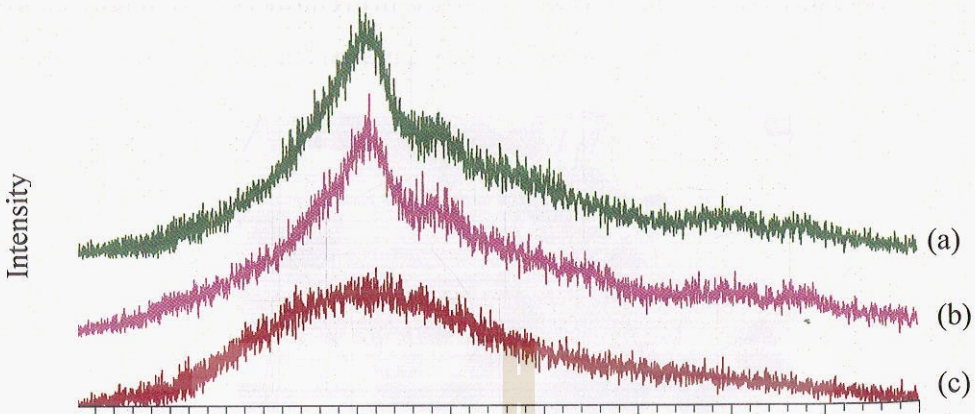
รูปที่ 12 X-ray Diffraction curve ของผงโปรตีนไฟโบรอินที่ถูกย่อยด้วยสารละลายต่าง

(a) ผงไฟโบรอินที่ถูกย่อยด้วย NaOH

(b) ผงไฟโบรอินที่ถูกย่อยด้วย Na_2CO_3

และเมื่อนำผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการละลายด้วยสารละลายเกลือผสมมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับผงโปรตีนที่ผ่านการย่อยด้วยค่าง พบว่าผงโปรตีนที่ผ่านการละลายด้วยสารละลายเกลือผสมไม่สามารถเกิด sharp peak บนเส้นกราฟได้ โดยเส้นกราฟที่ได้มีลักษณะเป็นรูปประฆังคว่ำ (ดังแสดงในรูปที่ 13) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยสารละลายต่างมีโครงสร้างที่มีความเป็นระเบียบ (crystalline) มีลักษณะของความเป็นผลึก (beta-type) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Tsubouchi และคณะ (1999) โดยธรรมชาติโครงสร้างภายในของโปรตีนไฟโบรอินจะประกอบด้วยส่วนที่มีการจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ (crystalline) และส่วนที่มีการจัดเรียงตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบ (amorphous) ซึ่งส่วน crystalline เกิดจากการเรียงตัวกันของกรดอะมิโน Gly และ Ala ในลำดับซ้ำๆกัน (...Gly-Ala-Gly-Ala...) ที่ส่งเสริมให้เกิดการรวมตัวกันเป็น β -sheet แต่เมื่อ Ala ถูกแทนที่ด้วยกรดอะมิโน Ser หรือ Bulkier (Gly-Ala-Gly-Ser) จะทำให้เกิดส่วนของ amorphous เพราะกรดอะมิโนดังกล่าวจะไม่ทำให้เกิดการรวมตัวกันเป็น β -sheet ดังนั้นเมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วย X-ray Diffractometer จึงได้ peak ในลักษณะที่เป็น broad peak เพราะมีส่วนของ amorphous รวมอยู่ด้วย (Hino, Tanimoto and Shimabayashi, 2003) จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้ผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย

ต่างไม่สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งจะแตกต่างกับผงไฟโบรอินที่ผ่านการละลายด้วยสารละลายเกลือผสมที่มีคุณสมบัติในการก่อกำเนิดกับน้ำได้



รูปที่ 13 X-ray Diffraction curve ของผงโปรตีนไฟโบรอินที่ถูกย่อยด้วยสารละลายต่างเทียบกับผงโปรตีนไฟโบรอินที่ละลายในสารละลายเกลือผสม

- (b) ผงไฟโบรอินที่ถูกย่อยด้วย NaOH
- (c) ผงไฟโบรอินที่ถูกย่อยด้วย Na_2CO_3
- (d) ไฟโบรอินที่ถูกละลายด้วยสารละลายเกลือผสม

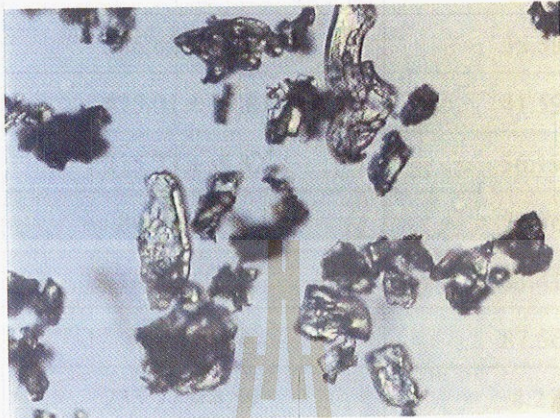
4. การศึกษาด้วยผงโปรตีนไฟโบรอินและซิริซินภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรส์

จากการศึกษาโครงสร้างของผงโปรตีนไฟโบรอินและซิริซินภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรส์ พบว่า ผงไฟโบรอินที่มีขนาดอนุภาคที่เล็กสามารถทำให้เกิดการหักเหของแสงที่ถูกแบ่งออกมาเป็น 2 แนวได้แต่ไม่ชัดเจนนัก เนื่องจากโครงสร้างโปรตีนไฟโบรอินมีส่วนที่เป็น amorphous รวมอยู่ในโครงสร้างดังกล่าวด้วย ดังแสดงในรูปที่ 14 ซึ่งผลการทดลองนี้อาจช่วยยืนยันว่าโครงสร้างของโปรตีนไฟโบรอินมีส่วนของ crystalline ในโครงสร้าง



รูปที่ 14 ผงโปรตีนไฟโบรอินภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงโพลาไรส์

รูปที่ 15 แสดงการหักเหของโปรตีนซีรีซินภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรซ์ พบว่า ผงโปรตีนซีรีซินไม่สามารถทำให้ลำแสงแบ่งออกเป็น 2 แนว แต่แสงสามารถทะลุผ่านได้ โดยแสงที่ทะลุผ่านจะทำให้ผงซีรีซินมีความใส ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าโครงสร้างของโปรตีนซีรีซินนั้นมีส่วนของ amorphous อยู่ภายใน โครงสร้างมากกว่าส่วน crystalline



รูปที่ 15 ผงโปรตีนซีรีซินภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงโพลาไรซ์

ส่วนที่ 3 การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฟโบรอินและซีรีซิน

1. การศึกษาความสามารถในการดูดซับน้ำ (Water absorption capacity; WAC) และค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำ (Water Solubility Index; WSI) ของผงใหม่

เมื่อทำการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำและค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำของผงโปรตีนซีรีซินและโปรตีนไฟโบรอิน พบว่าโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดภายใต้สภาวะอุณหภูมิและความดันเดียวกันแต่ระยะเวลาในการให้ความร้อนในการสกัดแตกต่างกันให้ผลการทดลองที่แปรผกผันต่อกัน โดยผงโปรตีนซีรีซินที่สามารถดูดซับน้ำได้สูงจะมีค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำต่ำ ดังที่แสดงในตาราง 5 และรูปที่ 16

ตารางที่ 5 แสดงค่าความสามารถในการดูดซับน้ำ(WAC) และค่าดัชนีความสามารถในการละลาย (WSI) ของโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันและ โปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยต่าง

ตัวอย่าง	WAC (%)	WSI (%)
S20m	757.10 ± 23.76 ^a	29.14 ± 2.36 ^b
S30m	566.65 ± 14.77 ^b	35.59 ± 1.38 ^f
S40m	475.01 ± 30.81 ^c	41.59 ± 1.51 ^c
S50m	215.23 ± 5.32 ^d	56.19 ± 0.76 ^d
S60m	80.90 ± 14.18 ^e	73.76 ± 2.49 ^e
S90m	16.35 ± 1.01 ^f	83.41 ± 1.02 ^b
S120m	4.73 ± 0.64 ^f	87.56 ± 0.48 ^d
FIBROIN	233.77 ± 4.59 ^d	4.27 ± 1.23 ^h

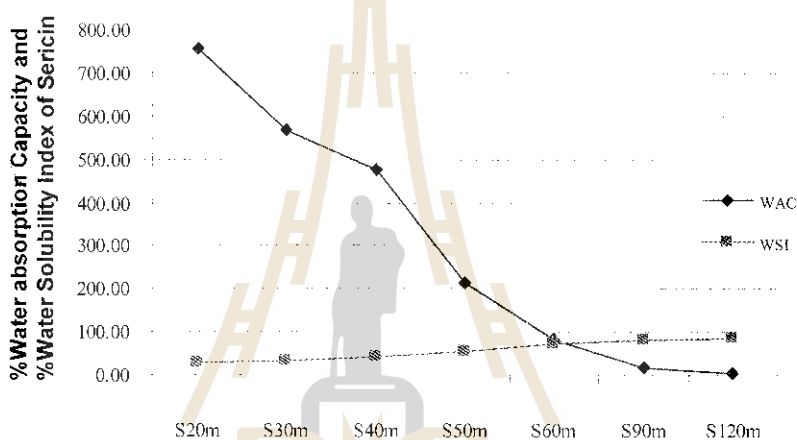
หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS

จากข้อมูลในตารางที่ 5 ผงโปรตีนใหม่มีความสามารถในการดูดซับน้ำได้อยู่ในช่วงระหว่าง 4.73-757.10% โดยผงโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 นาทีให้ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 757.10% ในขณะที่ผงโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 120 นาที ให้ค่าการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 4.73% และเมื่อนำค่าความสามารถในการดูดซับน้ำของผงโปรตีนมาวิเคราะห์ทางสถิติ สามารถแบ่งความสามารถในการดูดซับน้ำของผงโปรตีนใหม่ 8 ตัวอย่าง ได้เป็น 6 กลุ่มตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยค่าความสามารถในการดูดซับน้ำของผงโปรตีนไฟโบรอินและผงโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 50 นาทีให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติที่ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) เช่นเดียวกับผลการวิเคราะห์ทางสถิติของผงโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 90 และ 120 นาที

สำหรับค่าดัชนีในการละลายของผงโปรตีนใหม่ในน้ำ พบว่าผงโปรตีนใหม่มีค่าบ่งชี้ความสามารถในการละลายน้ำอยู่ในช่วงระหว่าง 4.27-87.56 % โดยโปรตีนชิริชินที่ใช้เวลาในการสกัด 120 นาที ให้ค่าการวิเคราะห์ดัชนีความสามารถในการละลายน้ำสูงที่สุดภายในกลุ่มการทดลอง มีค่าเท่ากับ 87.56% ส่วนผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยต่างมีค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 4.27% และเมื่อนำค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำของผงใหม่ไปวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าตัวอย่างมีความแตกต่างกันในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) และเมื่อพิจารณาในเฉพาะภายในกลุ่มของโปรตีนชิริชิน จะสังเกตได้ว่าโปรตีนชิริชินที่ใช้ระยะเวลาในการสกัดเพิ่มมากขึ้น ค่าดัชนีในการละลายน้ำมีค่าสูงขึ้น เพราะการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดมีผลทำให้โปรตีนชิริซินเกิดการ

ไฮโดรไลซิสมากขึ้นมีผลทำให้ขนาดของน้ำหนักรโมเลกุลเล็กลง แล้วไปมีผลต่อค่าดัชนีการละลายในน้ำของโปรตีนซีรีซินดังกล่าว

จากรูปที่ 16 เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าความสามารถในการดูดซับน้ำและค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำของผงโปรตีนซีรีซินภายในกลุ่มการทดลองเดียวกัน พบว่า ความสามารถในการดูดซับน้ำและดัชนีการละลายน้ำของผงโปรตีนซีรีซินเป็นส่วนกลับกัน โดยความสามารถในการดูดซับน้ำของผงโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงภายในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121°C นาน 20 30 40 50 60 90 120 นาที มีค่าความสามารถในการดูดซับน้ำลดลงเมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มมากขึ้น แต่ดัชนีความสามารถในการละลายน้ำของผงโปรตีนซีรีซินมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการสกัดโปรตีนซีรีซินเพิ่มขึ้น



รูปที่ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผงโปรตีนซีรีซินที่ใช้ระยะเวลาในการสกัด 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที กับความสามารถในการดูดซับน้ำและดัชนีการละลายน้ำ

เนื่องจากโปรตีนซีรีซินเป็นโปรตีนที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลใหญ่ มีรูปร่างเป็นก้อนกลมสามารถละลายได้ในน้ำ (water-soluble globular protein) (Zhang et al., 2006) โมเลกุลของโปรตีนประกอบด้วยกลุ่มเคมีจำพวกไฮดรอกซิล กลุ่มคาร์บอนิลและกลุ่มอะมิโน ซึ่งสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนที่แข็งแรงระหว่างกัน ส่งผลให้มีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลสูง (Zhang, 2002) สามารถย่อยสลายได้ด้วยน้ำร้อน (Gamo, 1973) เพราะเป็นโปรตีนที่ไวต่ออุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในกระบวนการสกัด โดยกระบวนการดังกล่าวทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและคุณสมบัติดั้งเดิมไป เพราะความร้อนที่ใช้ในกระบวนการสกัดเข้าไปทำลายพันธะไฮโดรเจนของโปรตีน ทำให้โครงสร้างของโปรตีนเปิดตัวออก (unfolded) ซึ่งการเปิดตัวออกของโปรตีนจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการให้ความร้อน ถ้าระยะเวลาในการให้ความร้อนสั้นจะทำให้โครงสร้างของโปรตีนเปิดออกเพียงบางส่วน ทำให้น้ำสามารถเข้าไปในโครงสร้างของโปรตีนเกิดการดูดซับน้ำไว้ในโครงสร้างได้ แต่เมื่อระยะเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มมากขึ้นจะทำให้โครงสร้างของโปรตีนเปิดตัวออกได้มากทำให้

ความสามารถในการละลายน้ำเพิ่มขึ้น ในขณะที่เดียวกันก็จะสูญเสียความสามารถในการกักเก็บน้ำไว้ในโครงสร้าง ส่วนความสามารถในการดูดซับน้ำของโปรตีนไฟโบรอินที่วิเคราะห์ได้เกิดจากการที่โมเลกุลของน้ำแทรกตัวเข้าไปภายในโครงสร้างของโปรตีนเท่านั้น ส่วนค่าการละลายที่วิเคราะห์ได้เป็นเพียงอนุภาคนาขนาดเล็กของผงไฟโบรอินที่แขวนลอยอยู่ในสารละลาย เพราะการที่ผงโปรไฟอินไม่สามารถละลายได้ในน้ำ เนื่องจากโปรตีนไฟโบรอินเป็นโปรตีนประเภทเส้นใยที่มีโครงสร้างที่เสถียรมาก โดยโครงสร้างปฐมภูมิจะประกอบด้วยกรดอะมิโน Gly Ser และ Ala เป็นส่วนใหญ่ ซึ่ง Ala เป็นกรดอะมิโนที่มีโซ่ข้างเป็นคาร์บอนสายตรง ละลายน้ำได้น้อยเพราะมีความเป็นไฮโดรโฟบิกและมีแนวโน้มที่จะเกิดอันตรกิริยาระหว่างกรดอะมิโนไฮโดรโฟบิกระหว่างกันแทนที่จะจับตัวกับน้ำ ประกอบกับโมเลกุลโปรตีนเรียงตัวกันเป็นระเบียบมีลักษณะเป็นโครงรูปซิกแซกเรียงกันเป็นแผ่นเวตาแบบไม่ขนาน แต่ละสายพอลิเปปไทด์มีทิศทางตรงกันข้าม (He et al., 1999) โดยพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างสายจะเป็นเส้นตรง และการเรียงตัวของ dipole อยู่ในแนวเส้นตรงทำให้โครงสร้างมีความเสถียรมาก โมเลกุลเชิงซ้อนของโปรตีนไฟโบรอินประกอบด้วยพอลิเปปไทด์ 3 สาย คือ heavy (H)-chain light (L)-chain และ P25 (Tanaka et al., 1999a) ในโครงสร้างปฐมภูมิของ L-chain ประกอบด้วย Cys จำนวน 3 หน่วย โดยมี 2 หน่วยอยู่ในรูปของพันธะ intramolecular disulfide bond (พันธะที่เกิดขึ้นมีบทบาทต่อการเสถียรของโปรตีน) ส่วนอีก 1 หน่วย อยู่ที่ตำแหน่งด้าน C-terminal end ซึ่งเป็นส่วนที่สร้างพันธะไคซัลไฟด์กับ H-chain polypeptide (Yamaguchi et al., 1989) ส่วน P25 เป็นโปรตีนชนิดไกลโคโปรตีนที่ประกอบด้วย oligosaccharide chain เชื่อมต่อสายพอลิเปปไทด์ด้วย Asn และเชื่อมต่อกับโมเลกุลเชิงซ้อน H-L complex ด้วยแรง hydrophobic interaction (Tanaka et al., 1999b) และจากการทดลองผงไฟโบรอินที่ผลิตได้เกิดจากกระบวนการย่อยด้วยด่าง โมเลกุลของด่างจะแทรกตัวเข้าไปในโครงสร้างมีผลทำลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีน ส่งผลให้โปรตีนมีมวลขนาดเล็กลงโดยไม่ได้มีผลต่อการปรับเปลี่ยนโครงสร้างดั้งเดิมของโปรตีน

2. การศึกษาความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (Oil absorption capacity) ของผงไหม

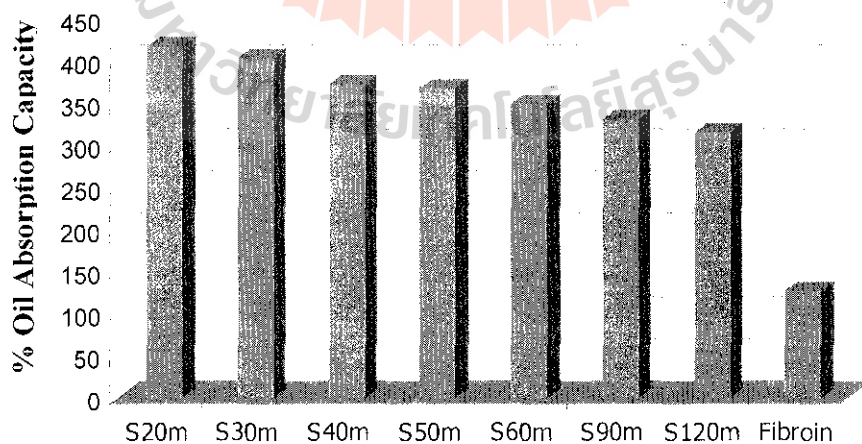
จากการศึกษาความสามารถในการดูดซับน้ำมันของผงโปรตีนไหม พบว่าผงโปรตีนไหมสามารถดูดซับน้ำมันได้อยู่ในช่วงระหว่าง 127.69-417.55% โดยผงโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 นาที มีความสามารถในการดูดซับน้ำมันมากที่สุดภายในกลุ่มการทดลอง มีค่าเท่ากับ 417.55% รองลงมา คือผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดที่เวลา 30 นาที ส่วนผงโปรตีนไฟโบรอินมีความสามารถในการดูดซับน้ำมันน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 127.69% และเมื่อนำค่าการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำมันของผงโปรตีนไหมมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 6 กลุ่มตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังแสดงผลในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่าความสามารถในการดูดซับน้ำมันของโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่างๆกันและ โปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยค่า

ตัวอย่าง	ความสามารถในการดูดซับน้ำมันของผงโปรตีน(%)
S20m	417.55 ± 7.10 ^a
S30m	404.60 ± 6.47 ^b
S40m	371.28 ± 4.33 ^c
S50m	367.01 ± 2.12 ^c
S60m	348.38 ± 2.35 ^d
S90m	330.94 ± 0.26 ^c
S120m	315.79 ± 2.79 ^f
FIBROIN	127.69 ± 1.71 ^e

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS

การดูดซับน้ำมันเป็นคุณสมบัติหนึ่งของโปรตีนเพื่อศึกษาความสามารถในการกักเก็บน้ำมันไว้ในโครงสร้าง โดยน้ำมันจะเข้าไปจับกับพื้นที่ผิวไฮโดรฟอบิกของโปรตีน และจากรูปที่ 17 พบว่าผงโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดด้วยความร้อนในระยะเวลาสั้น จะมีความสามารถในการดูดซับน้ำมันได้ดี แต่เมื่อทำการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดโปรตีนซีรีซินมากขึ้น ความสามารถในการดูดซับน้ำมันกลับมีค่าลดลง



รูปที่ 17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผงโปรตีนซีรีซินที่ใช้ระยะเวลาในการสกัด 20 30 40 50 60 90 120 นาที และผงโปรตีนไฟโบรอินกับความสามารถในการดูดซับน้ำมัน

จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าเมื่อให้ความร้อนกับโปรตีนซีรีซินในระยะเวลาหนึ่ง โครงสร้างของโปรตีนจะเปิดตัวออกทำให้พื้นที่ผิวส่วนไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) ที่ซ่อนอยู่ภายใน โครงสร้างของโปรตีนเปิดตัวออกเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความสามารถในการดูดซับน้ำมันมีค่าสูง แต่เมื่อเพิ่ม ระยะเวลาการให้ความร้อนจะไม่ส่งผลให้โปรตีนเพิ่มพื้นที่ผิวไฮโดรโฟบิกที่มีอยู่ตามธรรมชาติของ โปรตีนได้ ดังนั้นค่าการดูดซับน้ำมันจึงไม่มีค่าเพิ่มสูงขึ้น แต่ในขณะเดียวกันเมื่อโปรตีนเปิดตัวออกก็จะ ทำให้ส่วนไฮโดรฟิลิก (Hydrophilic) มีค่าเพิ่มขึ้น ทำให้น้ำมันไม่สามารถถูกดูดซับบนโครงสร้าง โปรตีนในส่วนนี้ได้ ส่วนการดูดซับน้ำมันของผงโปรตีนไฟโบรอินที่เกิดขึ้นเกิดจากน้ำมันแทรกตัวเข้าไป ภายในโครงสร้างของโปรตีนเช่นเดียวกับค่าที่วิเคราะห์ได้จากการดูดซับน้ำ และส่วนหนึ่งน่าจะเป็น ผล มาจากการที่โปรตีนซีรีซินถูกย่อยด้วยความร้อนแล้วไปมีผลต่อขนาดน้ำหนักโมเลกุลเล็กลง ทำให้ ความสามารถในการดูดซับน้ำมันลดลง (ผลของขนาดโมเลกุลดังรูปที่ 22 และ 23)

3. ดัชนีบ่งชี้ความเป็นไฮโดรโฟบิกที่บริเวณพื้นผิวของโปรตีน (Surface Hydrophobicity)

เมื่อทำการศึกษาความเป็นไฮโดรโฟบิกที่บริเวณพื้นผิวของโปรตีน โดยใช้ 1-anilino-8-naphthalene-sulfonate (ANS) เป็นสารตรวจจับ (probe) และทำการติดตามค่าการเรืองแสงของ ANS-bound protein ที่ความยาวคลื่น excitation 374 nm. และ emission 485 nm.

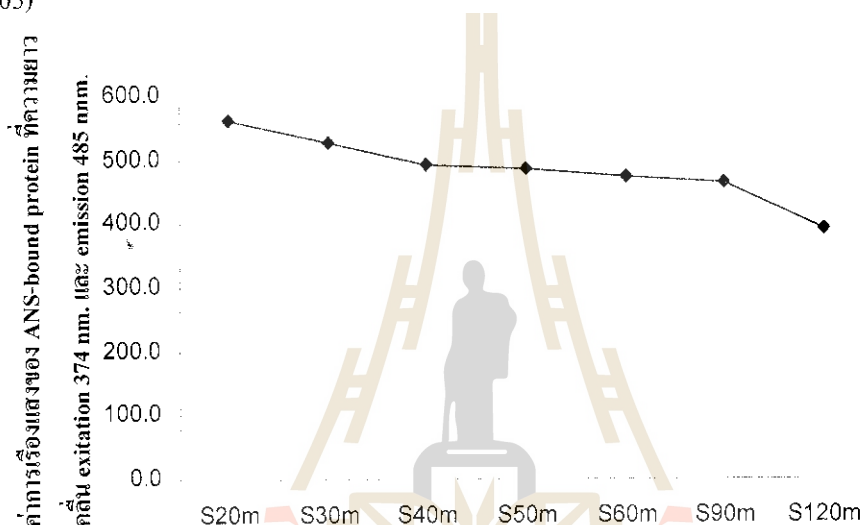
ตารางที่ 7 ค่าการเรืองแสงของโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันและโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อย ด้วยต่างที่จับกับสาร ANS ที่ความยาวคลื่น excitation 374 nm. และ emission 485 nm.

ตัวอย่าง	ค่าการเรืองแสงของ ANS-bound protein ที่ความยาวคลื่น excitation 374 nm. และ emission 485 nm.
S20m	562.91 ± 13.97^a
S30m	526.17 ± 5.97^b
S40m	492.19 ± 15.00^c
S50m	486.27 ± 7.05^c
S60m	474.30 ± 13.93^{cd}
S90m	463.08 ± 10.12^d
S120m	392.31 ± 12.46^c
FIBROIN*	-

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความ เชื่อมั่น 95% วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS

*ไม่สามารถวิเคราะห์ได้เนื่องจากผงไฟโบรอินไม่ละลายน้ำ

โปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 นาทีให้ค่าการวิเคราะห์ดัชนีบ่งชี้ความเป็นไฮโดรโฟบิกที่บริเวณพื้นผิวของโปรตีนสูงที่สุด ส่วนโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลานาน 120 นาทีให้ค่าการวิเคราะห์ดัชนีบ่งชี้ความเป็นไฮโดรโฟบิกที่บริเวณพื้นผิวของโปรตีนต่ำที่สุด ส่วนโปรตีนไฟโบรอินไม่สามารถวิเคราะห์ได้เนื่องจากโปรตีนดังกล่าวไม่ละลายน้ำ และเมื่อนำค่าการวิเคราะห์ที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 6 กลุ่มที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยค่าการวิเคราะห์ดัชนีบ่งชี้ความเป็นไฮโดรโฟบิกที่บริเวณพื้นผิวของโปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 40 และ 50 นาทีให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติที่ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$)



รูปที่ 18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง โปรตีนซิริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่างกับค่าการเรืองแสงของ ANS-bound protein ที่ความยาวคลื่น excitation 374 nm. และ emission 485 nm.

จากการทดลองค่าไฮโดรโฟบิกที่พื้นผิวโปรตีนมีความสอดคล้องกับความสามารถในการละลายของโปรตีน โดยพบว่าโปรตีนที่ผ่านการให้ความร้อนในระยะเวลาสั้นโปรตีนที่มีค่าพื้นผิวไฮโดรโฟบิกสูง ทำให้กรดอะมิโนไฮโดรโฟบิกที่บริเวณพื้นผิวสามารถเกิดอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนลดลง แต่เมื่อโปรตีนที่ผ่านการให้ความร้อนในระยะเวลาเพิ่มขึ้น ค่าพื้นผิวไฮโดรโฟบิกมีแนวโน้มลดลง ทำให้โปรตีนสามารถละลายน้ำได้มากขึ้น เพราะกรดอะมิโนสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับน้ำที่ล้อมรอบโมเลกุลได้ และจากการทดลองค่าที่วิเคราะห์ได้เป็นเพียงค่าประมาณ เนื่องจากการใช้ ANS เป็นสารตรวจจับนั้นมีข้อจำกัด คือ สารตรวจจับดังกล่าวไม่เพียงแต่เข้าจับกับส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิกของโปรตีนเท่านั้น แต่ยังสามารถเกิดอันตรกิริยาทางประจุไฟฟ้ากับโปรตีนได้ เพราะสารตรวจจับนี้มีประจุลบ ค่าที่ได้จึงอาจเป็นการประมาณค่าพื้นผิวไฮโดรโฟบิกที่มากเกินไป

4. คุณสมบัติในการเกิดเจล (Gelation)

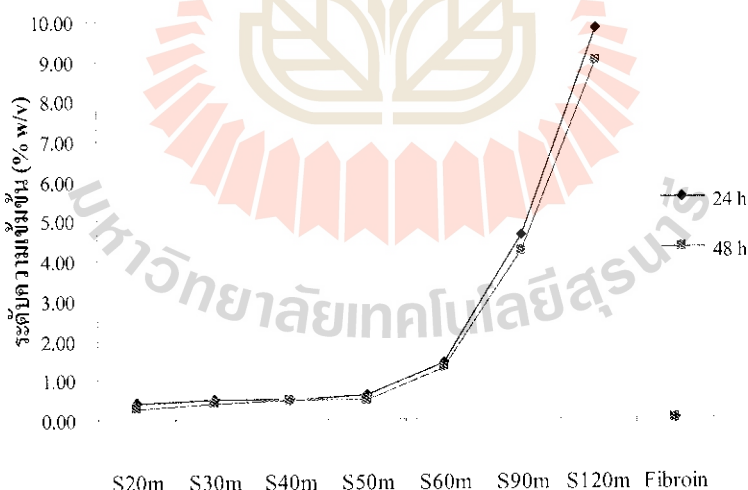
เมื่อทำการทดลองหาคุณสมบัติในการเกิดเจลของผงชิริชินและโปรตีนไฟโบรอิน โดยการละลายผงชิริชินและโปรตีนไฟโบรอินในน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน นำไปให้ความร้อนและบ่มที่อุณหภูมิ 2 - 4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง ติดตามผลโดยการคว่ำหลอดทดลองลงแล้วตัวอย่างไม่ไหลลงในลักษณะของของเหลว พบว่า ผงชิริชินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงภายในหม้อึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที ให้คุณสมบัติในการเกิดเจลที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 8 ส่วนโปรตีนไฟโบรอินไม่สามารถเกิดเจลได้ เนื่องจากผงโปรตีนไฟโบรอินไม่สามารถละลายได้ในน้ำ แต่มีลักษณะเป็นผงคกตะกอนอยู่ภายในหลอดทดลอง

ตารางที่ 8 ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สารละลายโปรตีนสามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมงของโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันและโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยต่าง

ตัวอย่าง	ระยะเวลาในการบ่มที่สารละลายโปรตีนสามารถเกิดเจล (ชม.)	ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สารละลายโปรตีนสามารถเกิดเจล (%)
S20m	24	0.40
	48	0.30
S30m	24	0.50
	48	0.40
S40m	24	0.50
	48	0.50
S50m	24	0.60
	48	0.50
S60m	24	1.40
	48	1.30
S90m	24	4.60
	48	4.20
S120m	24	9.80
	48	9.00
Fibroin	24	-
	48	-

หมายเหตุ: สัญลักษณ์ (-) โปรตีนไม่เกิดเจล

จากรูปที่ 19 สามารถแบ่งคุณสมบัติในการเกิดเจลของโปรตีนซีรีซินได้เป็น 2 กลุ่ม คือ โปรตีนซีรีซินที่มีคุณสมบัติในการเกิดเจลในระดับความเข้มข้นโปรตีนต่ำกับโปรตีนซีรีซินที่มีคุณสมบัติในการเกิดเจลในระดับความเข้มข้นโปรตีนสูง โดยซีรีซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงภายในหม้อหนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 20 30 40 50 นาที มีความสามารถในการเกิดเจลอยู่ในช่วงระดับความเข้มข้น 0.4 - 0.6 ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และมีความสามารถในการเกิดเจลอยู่ในช่วงระดับความเข้มข้น 0.3 - 0.5 ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการเกิดเจลเป็น 48 ชั่วโมง ซึ่งเป็นการเกิดเจลในระดับความเข้มข้นโปรตีนต่ำ ส่วนซีรีซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงภายในหม้อหนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 60 90 120 นาที มีความสามารถในการเกิดเจลอยู่ในช่วงระดับความเข้มข้น 1.4 - 9.8 ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และมีความสามารถในการเกิดเจลอยู่ในช่วงระดับความเข้มข้น 1.3 - 9.0 ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการเกิดเจลเป็น 48 ชั่วโมง ซึ่งเป็นการเกิดเจลในระดับความเข้มข้นโปรตีนสูง โดยโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 90 และ 120 นาที ในระดับความเข้มข้นโปรตีน 4.1 - 4.5 ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) และ 8.1 - 9.7 ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และระดับความเข้มข้นโปรตีน 3.9 - 4.1 ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) และ 7.2 - 8.9 ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า สารละลายโปรตีนที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวมีลักษณะเป็นของเหลวกึ่งแข็งคล้ายกับน้ำมะเขือเทศ



รูปที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่างกัน กับระดับความเข้มข้นของสารละลายโปรตีน (ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v)) ที่สามารถเกิดเจลอุณหภูมิ $2-4^{\circ}\text{C}$

จากการทดลองหาคุณสมบัติในการเกิดเจลของ โปรตีนซีรีซินและ โปรตีนไฟโบรอิน โดยใช้วิธีการเหนี่ยวนำความร้อนภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเพื่อทำให้โมเลกุลของโปรตีนเกิดการเปิดตัวออก (unfold) หรือสูญเสียสภาพธรรมชาติ ซึ่งวิธีการดังกล่าวทำให้โปรตีนที่เปิดตัวออกเกิดการจัดเรียงตัว และรวมตัวเป็นกลุ่มก้อน (aggregate) อย่างเป็นระเบียบแบบแผน การเกาะตัวกันดังกล่าวทำให้เกิด โครงสร้างร่างแห 3 มิติของโปรตีนที่สามารถกักเก็บน้ำหรือตึงน้ำไว้ในโครงข่ายดังกล่าวได้ (Hall, 1996) จากการทดลองสังเกตได้ว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดโปรตีนซีรีซินมากขึ้นความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนซีรีซินลดลง ทำให้ต้องใช้ความเข้มข้นของโปรตีนมากขึ้น ทั้งนี้กล่าวได้ว่า ระยะเวลาการให้ความร้อนในการสกัดที่เพิ่มมากขึ้น มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ รูปร่าง หรือ โครงสร้างดั้งเดิมของโปรตีนซีรีซินไป โดยการให้ความร้อนระยะเวลานานมีผลทำให้น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมีขนาดเล็กลง ส่งผลให้ polymeric molecules ของโปรตีนที่ cross-linked กันมีความสามารถที่จะสร้างโครงข่าย 3 มิติสำหรับการเกิดเจลได้ลดลง ทั้งนี้เนื่องจากขนาดน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนซีรีซินที่มีขนาดใหญ่มีความสามารถในการสร้างโครงข่าย 3 มิติได้ดีและมีจำนวนมากกว่าขนาดน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนซีรีซินที่มีขนาดเล็ก (Oakenfull, Pearfce and Burley, 1997) และจากคุณสมบัติในการเกิดเจลของโปรตีนซีรีซินเป็นการเกิดเจลชนิด Thermally reversible gels โดยเจลสามารถฟื้นกลับมาเป็นสารละลายโปรตีนได้อีกครั้ง เมื่อผ่านการให้ความร้อน และเมื่อนำสารละลายโปรตีนดังกล่าวไปทำให้เย็นก็จะเกิดการจัดเรียงตัวใหม่กลายเป็นเจล ทั้งนี้เนื่องจากพันธะไฮโดรเจนเป็นพันธะเด่นในการเกิดเจลของโปรตีนซีรีซิน

สำหรับคุณสมบัติในการเกิดเจลของผงโปรตีนไฟโบรอินไม่สามารถเกิดขึ้นได้ เนื่องจากโปรตีนไฟโบรอินไม่ละลายน้ำ และความร้อนที่ให้แก่สารละลายโปรตีนไฟโบรอินก็ไม่สามารถทำให้โปรตีนเปิดตัวออกหรือเสียสภาพไปจากเดิม ส่งผลให้โมเลกุลของโปรตีนไม่เกิดการรวมตัวและจับตัวกันเป็นโครงข่าย 3 มิติได้ ทำให้ผงโปรตีนไฟโบรอินมีลักษณะตกตะกอนอยู่ภายใต้หลอดทดลอง

5. คุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifying properties)

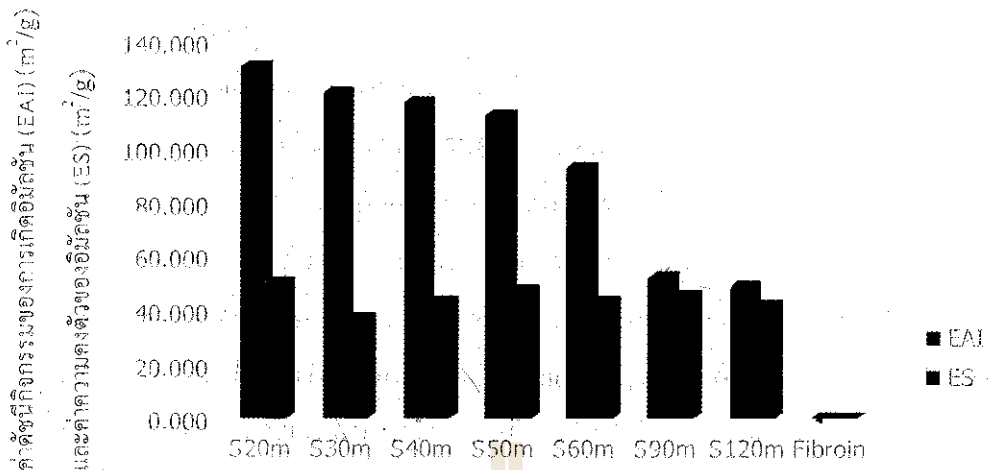
จากการวิเคราะห์ค่าดัชนีกิจกรรมของการเกิดอิมัลชัน (EAD) และค่าความคงตัวของอิมัลชัน (EA) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความขุ่น (Turbidimetric method) ซึ่งอาศัยหลักการที่โปรตีนสามารถเคลื่อนที่ไปยังรอยต่อระหว่างเฟส และล้อมรอบอนุภาคน้ำมันไว้ ทำให้เกิดการกระเจิงแสง โดยติดตามผลที่ความยาวคลื่น 500 nm พบว่า โปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลานานขึ้นมีค่าดัชนีกิจกรรมของการเกิดอิมัลชันลดลง แต่มีค่าความคงตัวของอิมัลชันดีกว่าโปรตีนที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาสั้น ส่วนโปรตีนไฟโบรอินไม่มีคุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (ดังแสดงในตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ค่าดัชนีกิจกรรมของการเกิดอิมัลชัน(EAI)และค่าความคงตัวของอิมัลชัน(ES) ของโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันและ โปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยค่าง

ตัวอย่าง	EAI (m ² /g)	ES (m ² /g)
Control	0.000	0.00
S20m	130.503 ± 5.9916 ^a	49.837 ± 6.6919 ^a
S30m	120.708 ± 3.0682 ^b	36.510 ± 4.7128 ^c
S40m	116.992 ± 1.4478 ^{cb}	42.836 ± 0.7195 ^{bc}
S50m	112.202 ± 1.4478 ^c	46.950 ± 1.2908 ^{ba}
S60m	92.734 ± 3.6489 ^d	43.143 ± 0.5629 ^{bac}
S90m	51.771 ± 3.0774 ^c	45.016 ± 1.9198 ^{ba}
S120m	48.824 ± 2.4215 ^c	41.700 ± 5.8909 ^{bc}
Fibroin	0.000 ± 0.0000 ^d	0 ± 0.0000 ^f

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS

จากตารางข้อมูล โปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 นาที มีค่าดัชนีกิจกรรมของการเกิดอิมัลชันมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 130.503 m²/g ส่วน โปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 120 นาทีที่มีค่าดัชนีกิจกรรมของการเกิดอิมัลชันต่ำสุด มีค่าเท่ากับ 48.824 m²/g (ดังรูปที่ 19) และเมื่อนำค่าการวิเคราะห์ค่าดัชนีกิจกรรมของการเกิดอิมัลชันมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างของค่าดัชนีกิจกรรมของการเกิดอิมัลชันออกเป็น 7 กลุ่มที่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p > 0.05) โดยโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 90 และ 120 นาทีให้ค่าการวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนค่าความคงตัวของอิมัลชัน พบว่าโปรตีนที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 90 นาทีให้ค่าการวิเคราะห์สูงที่สุดภายในกลุ่มการทดลอง ส่วนโปรตีนชิริชินที่สกัดที่ระยะเวลา 30 นาทีจะให้ค่าการวิเคราะห์ต่ำที่สุด เมื่อนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติสามารถแบ่งความแตกต่างของกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 6 กลุ่มที่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 40 และ 120 นาทีให้ค่าการวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 50 และ 90 นาที



รูปที่ 2/ แสดงความสัมพันธ์ค่าดัชนีกิจกรรมของการเกิดอิมัลชัน (EAI) และค่าความคงตัวของอิมัลชัน (ES) กับผงโปรตีนชีวจีนที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่างกันและผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยด่าง

จากรูปที่ 20 พบว่า เมื่อระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มมากขึ้นความสามารถในการเป็นอิมัลชันของโปรตีนชีวจีนมีค่าลดลง เนื่องจากโปรตีนที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาสั้นมีค่าพื้นผิวไฮโดรฟอบิกสูง (สอดคล้องกับค่าพื้นผิวไฮโดรฟอบิกในตารางที่ 7) สามารถทำให้เคลื่อนที่ไปยังรอยต่อระหว่างเฟสได้ดี โดยจะหันส่วนของไฮโดรฟอบิกเข้าหาเฟสน้ำมันและจัดเรียงส่วนไฮโดรฟิลิกในเฟสของน้ำ ประกอบกับโปรตีนที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาสั้นมีน้ำหนักโมเลกุลที่ใหญ่จึงสามารถจัดเรียงตัวเพื่อห่อหุ้มเม็ดไขมันได้ดี แต่มีความคงตัวของอิมัลชันต่ำ เนื่องจากโครงสร้างโปรตีนมีความอ่อนไหวสูงกว่าโปรตีนที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้น ทำให้อันตรกิริยาของโปรตีนที่รอยต่อระหว่างเฟสมีค่าต่ำ

6. คุณสมบัติในอิมัลชันโฟม (Foaming properties)

โฟมเป็นระบบกึ่งเสถียร (metastable system) ที่ไม่มีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิก มีโปรตีนทำหน้าที่เสถียร โครงสร้างของโฟมโดยการดูดซับอยู่บริเวณรอยต่อระหว่างน้ำและอากาศ ซึ่งการจัดเรียงตัวของโปรตีนในลักษณะดังกล่าวสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลง หรือการเสียโครงสร้างของโฟมที่เกิดจากการแยกตัวของของเหลว (drainage) การรวมตัวกันของฟองอากาศ (bubble coalescence) และการเปลี่ยนแปลงขนาดฟองอากาศจากปรากฏการณ์ Ostwald ripening ได้ ทำให้โฟมมีความคงตัวมากขึ้น ซึ่งจากคุณสมบัติการเกิดโฟมที่ดีและมีความคงตัวสูงนี้เอง ถือเป็นลักษณะที่ต้องการของผลิตภัณฑ์อาหาร และเครื่องดื่มหลายชนิด เนื่องจากส่งผลถึงลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส และอายุการเก็บหรือความคงตัวของผลิตภัณฑ์ และนอกจากในผลิตภัณฑ์อาหารแล้ว คุณสมบัติการเกิดโฟมดังกล่าวยังมีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่อาหารอื่นๆ ซึ่งรวมถึงผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและยาหลายชนิดด้วย ดังนั้นจะเห็นว่าโปรตีนเป็นปัจจัยสำคัญที่มีบทบาทต่อการก่อโฟมและเพิ่มความคงตัวให้กับระบบ อย่างไรก็ตามโปรตีน

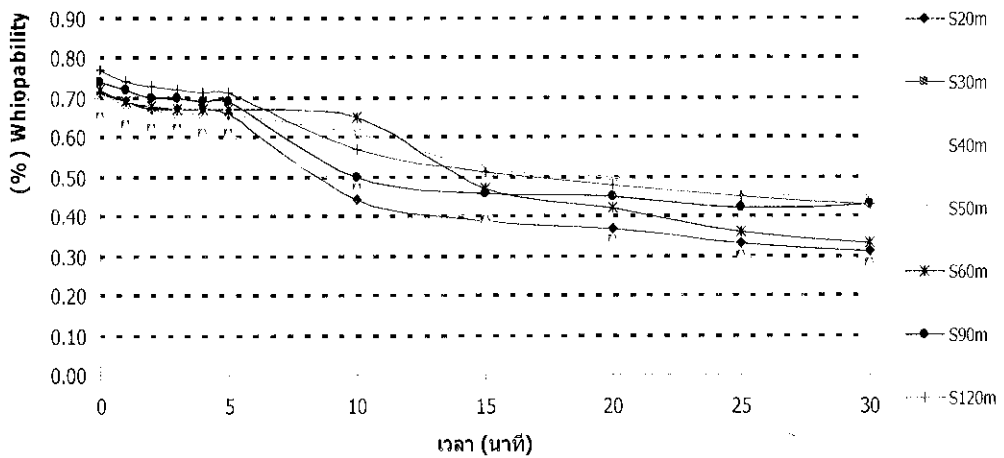
ที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อโพลีเมอร์ที่ดีจำเป็นต้องมีความสามารถดูดซับที่รอยต่อระหว่างเฟสได้เร็ว เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง (conformational change) ได้เร็ว และมีการจัดเรียงตัวบริเวณรอยต่อระหว่างเฟสได้เร็วด้วย นอกจากนี้โปรตีนที่สามารถเกิดฟิล์มที่มีความยืดหยุ่น (viscoelastic films) จากอันตรกิริยาภายในโมเลกุลของโปรตีนจะสามารถกักเก็บอากาศไว้ในโครงสร้างได้ดีขึ้น ส่งผลให้โพลีเมอร์มีความคงตัวมากขึ้น (Berthold et al., 2007) จากการทดสอบความสามารถเป็นสารก่อโพลีเมอร์ของโปรตีนซิริซินเมื่อสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในตารางที่ 10 และรูปที่ 20 แสดงให้เห็นว่า โปรตีนซิริซินที่สกัดที่ระยะเวลา 120 นาที มีคุณสมบัติการเป็นสารก่อโพลีเมอร์ที่ดีที่สุดและมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยให้ความสูงของชั้นโพลีเมอร์หลังการตีผสมน้ำกับอากาศด้วยไฮโมจิในเซอร์ 77 มิลลิลิตร ในขณะที่การสกัดที่ระยะเวลา 20 50 60 และ 90 นาที มีความสามารถก่อโพลีเมอร์ได้ใกล้เคียงกันในช่วง 71 - 74 มิลลิลิตร ซึ่งการสกัดที่ระยะเวลา 60 และ 90 นาที ให้ค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับโปรตีนที่สกัดที่ระยะเวลา 20 และ 50 นาที ส่วนโปรตีนที่สกัดที่ระยะเวลา 30 และ 40 นาที มีความสามารถในการก่อโพลีเมอร์น้อยที่สุด เท่ากับ 65 มิลลิลิตรและความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

จะเห็นว่า โปรตีนซิริซินที่สกัดโดยใช้ระยะเวลามากขึ้นมีแนวโน้มเป็นสารก่อโพลีเมอร์ที่ดี ทั้งนี้อาจเกิดจากการสกัดด้วยความร้อนที่ระยะเวลามากขึ้นทำให้โปรตีนซิริซินที่ได้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง ส่งผลให้ความเทอะทะ (bulky) ของโปรตีนมีแนวโน้มลดลง ซึ่งอาจเป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งช่วยส่งเสริมให้โปรตีนซิริซินสามารถเคลื่อนที่ไปยังรอยต่อระหว่างเฟสน้ำและอากาศ และเกิดการจัดเรียงตัวของโครงสร้างบนรอยต่อระหว่างเฟสได้เร็วกว่าโปรตีนซิริซินที่มีขนาดใหญ่กว่า อย่างไรก็ตามแม้โมเลกุลของโปรตีนซิริซินจะประกอบด้วยทั้งส่วนที่ชอบและไม่ชอบน้ำ (hydrophilic region และ hydrophobic region ตามลำดับ) ซึ่งเอื้อต่อการเป็นสารก่อโพลีเมอร์ที่ดีเนื่องจากโปรตีนมีแนวโน้มเคลื่อนที่ไปยังรอยต่อระหว่างเฟสและเกิดการเปิดตัวออกบางส่วน (partial unfolding) โดยมีการจัดเรียงส่วนไฮโดรฟิลิกเข้าหาเฟสของน้ำและผลึกส่วนไฮโดรโฟบิกออกจากรู้น้ำเข้าหาเฟสที่เป็นอากาศเพื่อลดพลังงานของระบบและทำให้โปรตีนสามารถคงตัวอยู่ได้บนรอยต่อระหว่างเฟส แต่ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อคุณสมบัติเฉพาะตัวของโปรตีนซึ่งรวมถึงความสามารถในการเป็นสารก่อโพลีเมอร์ที่ดีคือองค์ประกอบของโปรตีน รวมถึงสัดส่วนของส่วนไฮโดรฟิลิกและไฮโดรโฟบิก และการจัดเรียงตัวภายในโครงสร้างของโปรตีน ดังนั้นการ hydrolysis จากกระบวนการสกัดโปรตีนซิริซินด้วยความร้อนที่ระยะเวลาต่าง ๆ ย่อมส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนซิริซินที่ได้ให้มีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจมีผลเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการเป็นสารก่อโพลีเมอร์ด้วย จะเห็นได้จาก แม้ระยะเวลาการสกัดนานขึ้นทำให้โปรตีนซิริซินมีแนวโน้มเป็นสารก่อโพลีเมอร์ที่ดีขึ้น แต่ที่ระยะเวลาการสกัด 20 นาที โปรตีนซิริซินเกิดโพลีเมอร์ได้ดีกว่าการสกัดที่ระยะเวลา 30 และ 40 นาที และแสดงคุณสมบัติการเป็นสารก่อโพลีเมอร์ได้ใกล้เคียงกับการสกัดที่ระยะเวลา 50 นาที ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า สาเหตุที่โปรตีนซิริซินที่มีแนวโน้มขนาดโมเลกุลใหญ่ที่สุดและมีความเทอะทะของโมเลกุลมากที่สุดสามารถก่อโพลีเมอร์ได้ดี อาจเกิดจากโปรตีนซิริซินมีความสามารถในการเปิดตัวออก (unfolding) และเกิดการจัดเรียงตัวเพื่อเสถียร โครงสร้างของโปรตีนบนรอยต่อระหว่างเฟสได้ดี

ตารางที่ 10 ความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมที่ระยะเวลา 0 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาทีของโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาด่างกัน

เวลา (นาที)	% Whippability						
	S20m	S30m	S40m	S50m	S60m	S90m	S120m
0	0.71 ± 0.03 ^{A,bc}	0.65 ± 0.05 ^{A,dc}	0.65 ± 0.05 ^{A,d}	0.71 ± 0.05 ^{A,bc}	0.72 ± 0.02 ^{A,ba}	0.74 ± 0.04 ^{A,ba}	0.77 ± 0.03 ^{A,a}
1	0.69 ± 0.02 ^{BA,bc}	0.63 ± 0.05 ^{A,dc}	0.63 ± 0.05 ^{A,d}	0.68 ± 0.05 ^{A,bc}	0.69 ± 0.02 ^{BA,ba}	0.72 ± 0.04 ^{BA,ba}	0.74 ± 0.04 ^{BA,a}
2	0.67 ± 0.02 ^{B,bac}	0.62 ± 0.05 ^{A,dc}	0.62 ± 0.05 ^{A,d}	0.67 ± 0.05 ^{A,bc}	0.68 ± 0.02 ^{B,ba}	0.70 ± 0.03 ^{BA,ba}	0.73 ± 0.03 ^{B,a}
3	0.67 ± 0.02 ^{B,ba}	0.62 ± 0.05 ^{A,dc}	0.62 ± 0.05 ^{A,d}	0.66 ± 0.05 ^{A,bc}	0.67 ± 0.02 ^{BC,ba}	0.70 ± 0.04 ^{BA,ba}	0.72 ± 0.03 ^{B,a}
4	0.67 ± 0.02 ^{B,ba}	0.61 ± 0.05 ^{A,c}	0.61 ± 0.04 ^{A,c}	0.66 ± 0.05 ^{A,b}	0.67 ± 0.02 ^{BC,ba}	0.69 ± 0.03 ^{BA,ba}	0.71 ± 0.03 ^{B,c}
5	0.66 ± 0.02 ^{B,a}	0.61 ± 0.05 ^{A,b}	0.61 ± 0.04 ^{A,b}	0.66 ± 0.05 ^{A,a}	0.67 ± 0.02 ^{BC,a}	0.69 ± 0.03 ^{B,a}	0.71 ± 0.03 ^{B,a}
10	0.44 ± 0.01 ^{C,d}	0.47 ± 0.02 ^{B,dc}	0.47 ± 0.05 ^{BA,c}	0.61 ± 0.03 ^{B,a}	0.65 ± 0.01 ^{C,a}	0.50 ± 0.03 ^{C,c}	0.57 ± 0.02 ^{C,b}
15	0.39 ± 0.04 ^{D,dc}	0.39 ± 0.04 ^{C,d}	0.39 ± 0.11 ^{BC,bdc}	0.52 ± 0.06 ^{C,a}	0.47 ± 0.03 ^{D,ba}	0.46 ± 0.02 ^{DC,bac}	0.51 ± 0.02 ^{D,ba}
20	0.37 ± 0.02 ^{D,dc}	0.34 ± 0.05 ^{DC,d}	0.34 ± 0.13 ^{BC,bac}	0.50 ± 0.06 ^{DC,a}	0.42 ± 0.04 ^{E,bdac}	0.45 ± 0.01 ^{DC,bac}	0.48 ± 0.03 ^{ED,ba}
25	0.33 ± 0.02 ^{E,c}	0.30 ± 0.04 ^{DE,c}	0.30 ± 0.15 ^{BC,bac}	0.46 ± 0.07 ^{DE,a}	0.36 ± 0.01 ^{F,be}	0.43 ± 0.03 ^{D,ba}	0.45 ± 0.02 ^{EF,ba}
30	0.31 ± 0.03 ^{E,dc}	0.28 ± 0.03 ^{E,d}	0.28 ± 0.15 ^{C,bac}	0.44 ± 0.07 ^{E,a}	0.33 ± 0.01 ^{F,bdc}	0.42 ± 0.08 ^{D,ba}	0.43 ± 0.02 ^{F,a}

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS



รูปที่ 21 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรโพลิเมอร์กับระยะเวลา (นาท)

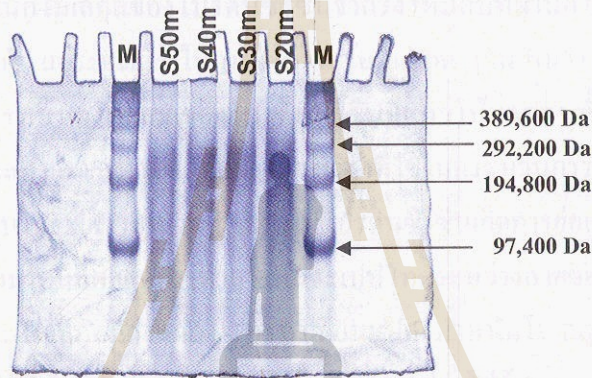
เมื่อทดสอบความคงตัวของโพลิเมอร์ที่ได้โดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที พบว่า ความสูงของชั้นโพลิเมอร์ของโพรตีนชิริชินทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น โดยในช่วง 5 นาทีแรกของการทดสอบ โพลิเมอร์ส่วนใหญ่ร้อยละ 90 – 94 มีความคงตัวดี โดยเฉพาะโพลิเมอร์ของโพรตีนชิริชินสกัดที่ระยะเวลา 50 และ 60 นาที ร้อยละ 86 – 90 มีแนวโน้มคงตัวถึงนาทีที่ 10 อย่างไรก็ตามโพลิเมอร์ของโพรตีนชิริชินส่วนใหญ่เริ่มมีความคงตัวลดลงในช่วงนาทีที่ 10 - 30 โดยโพรตีนชิริชินสกัดที่เวลา 20 30 และ 40 นาที เกิดการสูญเสียโครงสร้างของโพลิเมอร์มากที่สุดในช่วงร้อยละ 38 – 56, 28 – 57 และ 28 – 57 ตามลำดับ รองลงมาคือโพรตีนชิริชินสกัดที่เวลา 90 และ 120 นาที ความสูงของชั้นโพลิเมอร์ ลดลงร้อยละ 32 – 42 และ 26 – 44 ตามลำดับ สำหรับโพรตีนชิริชินสกัดที่เวลา 50 และ 60 นาที ชั้นโพลิเมอร์ส่วนใหญ่ลดลงมากในช่วงนาทีที่ 15 – 30 โดยที่เวลาการสกัด 50 นาที โพรตีนชิริชินมีแนวโน้มเสถียร โครงสร้างของโพลิเมอร์ได้ดีที่สุด เนื่องจากความสูงของชั้นโพลิเมอร์ลดลงเพียงร้อยละ 27 – 38 ในขณะที่เวลาการสกัด 60 นาที ชั้นโพลิเมอร์ลดลงร้อยละ 35 – 54 ใกล้เคียงกับโพรตีนชิริชินที่สกัดที่ระยะเวลา 20 – 40 นาที แสดงให้เห็นว่า โพรตีนชิริชินสกัดที่ระยะเวลา 50 นาที สามารถจัดเรียงตัวและเสถียรโครงสร้างของโพรตีนบนรอยต่อระหว่างเฟสได้ดีที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มโพรตีนชิริชินสกัดที่ระยะเวลา 90 และ 120 นาที และกลุ่มที่สกัดที่ระยะเวลา 30 40 60 และ 20 นาที ตามลำดับ

ส่วนที่ 4 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี (Chemical properties)

1. การหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนด้วย SDS-PAGE

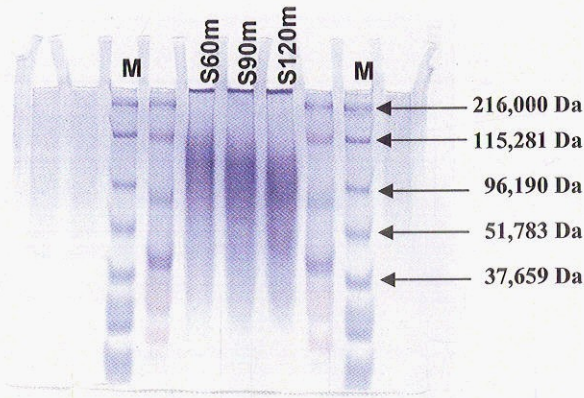
เมื่อทำการแยกองค์ประกอบของโปรตีนซิริชินที่ผ่านการสกัดภายใต้สภาวะอุณหภูมิเดียวกัน แต่ระยะเวลาในการให้ความร้อนต่างกันตามขนาดหรือน้ำหนักโมเลกุล ด้วย SDS-PAGE ตามวิธีการของ Sigma ที่ดัดแปลงจากมาจาก Weber and Osborn (1969) และ Davies and Stark (1970) พบว่า โปรตีนซิริชินที่สกัดจากรังไหมดิบไม่แสดงแถบของน้ำหนักโมเลกุลที่ชัดเจน แต่มีลักษณะเป็นช่วงกว้าง ดังแสดงในรูปที่ 22 และ 23

รูปที่ 22 แสดงลักษณะแถบของน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนซิริชินที่ผ่านการสกัดที่อุณหภูมิ 121°C นาน 20 30 40 50 นาที และใช้ Phosphorylase B เป็น Marker พบว่า โปรตีนซิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 นาที มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 339-191 kDa ส่วนโปรตีนซิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 30 40 50 นาที จะมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 332-195 317-200 และ 310-204 kDa ตามลำดับ



รูปที่ 22 SDS-PAGE ของโปรตีนซิริชินที่ได้จากรังไหมดิบ เมื่อผ่านการสกัดที่อุณหภูมิ 121°C ด้วยระยะเวลา 20 30 40 และ 50 นาที แทนด้วยสัญลักษณ์ S20m S30m S40m และ S50m ตามลำดับ, M หมายถึง standard marker

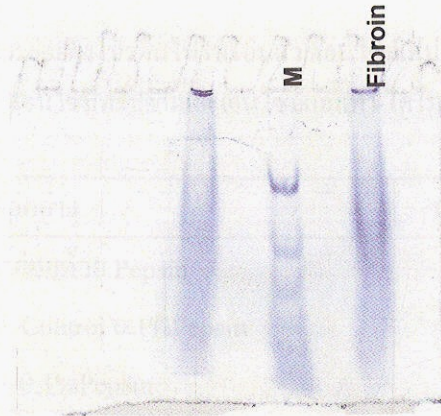
รูปที่ 23 แสดงลักษณะแถบของน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนซิริชินที่ผ่านการสกัดที่อุณหภูมิ 121°C นาน 60 90 และ 120 นาที และใช้ Prestained SDS-PAGE standards Broad Range เป็น Marker พบว่า โปรตีนซิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 60 นาที มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 132-76 kDa ส่วนโปรตีนซิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 90 และ 120 นาที จะมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 118-65 kDa และ 113-61 kDa ตามลำดับ



รูปที่ 23 SDS-PAGE ของโปรตีนชิริซินที่ได้จากรังไหมคิบ เมื่อผ่านการสกัดที่อุณหภูมิ 121°C ด้วยระยะเวลา 60 90 และ 120 นาที แทนด้วยสัญลักษณ์ S60m S90m และ S120m ตามลำดับ, M หมายถึง standard marker

การแยกน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนชิริซินจากรังไหมคิบที่ผ่านการสกัดภายใต้สภาวะอุณหภูมิและความดันเดียวกัน แต่ระยะเวลาในการให้ความร้อนแตกต่างกัน พบว่า เมื่อระยะเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มมากขึ้น น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนชิริซินมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนชิริซินเป็นโปรตีนที่ไวต่อสภาวะของอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในกระบวนการผลิต (Zhang, 2002) การต้มรังไหมคิบในน้ำร้อนในระยะเวลาต่างๆ จะทำให้โปรตีนชิริซินเกิดการย่อยสลายและไฮโดรซิซอย่างช้าๆ โดยการให้ความร้อนมีผลต่อการทำลายพันธะเปปไทด์ระหว่างสายของโปรตีนชิริซินให้มีขนาดสั้นลง ทำให้น้ำหนักโมเลกุลมีค่าลดลง การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนชิริซินที่เกิดขึ้นมีผลทำให้ คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนชิริซินเปลี่ยนแปลงไปด้วย

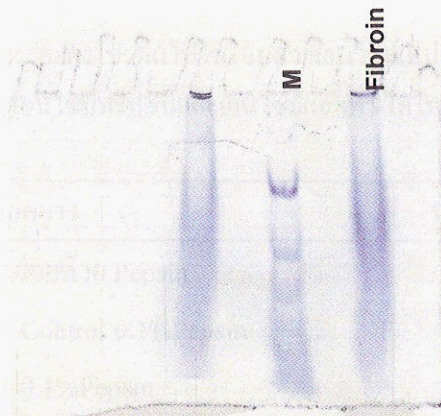
รูปที่ 24 แสดงลักษณะการแยกองค์ประกอบของโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยด่าง ซึ่งในการทดลองได้ทำการละลายโปรตีนดังกล่าวในสารละลายเกลือผสม เพื่อให้ตัวอย่างอยู่ในรูปของสารละลายโปรตีน แล้วนำไปกำจัดเกลือออกด้วยการ dialyzed กับน้ำ พบว่า โปรตีนไฟโบรอินไม่แสดงแถบของน้ำหนักโมเลกุลที่ชัดเจน แต่มีลักษณะเป็นช่วงกว้าง โดยน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนไฟโบรอินอยู่ในช่วง 196-116 kDa



รูปที่ 24 SDS-PAGE ของโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยด่างและนำไปละลายในสารละลายเกลือผสม โดย M หมายถึง standard marker

2. การเปลี่ยนแปลงของผงโปรตีนไฟโบรอินด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดในระบบทางเดินอาหาร

เมื่อทำการทดลองการย่อยผงโปรตีนไฟโบรอินด้วยโปรติเอส (Proteases) ได้แก่ เปปซิน (Pepsin) ทริปซิน (Trypsin) และแอลฟา-ไคโมทริปซิน (α -cymotrypsin) เพื่อติดตามผลของการเปลี่ยนแปลงภายในระบบทางเดินอาหารจำลอง โดยใช้เอนไซม์เปปซินสำหรับการจำลองสถานะในกระเพาะอาหารที่มีค่าความเป็นกรดสูง ส่วนเอนไซม์ทริปซินและเอนไซม์แอลฟา-ไคโมทริปซินจำลองสถานะในลำไส้เล็กที่มีค่าความเป็นเบสเล็กน้อย ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดมีความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโครงสร้างของโปรตีนที่แตกต่างกัน ซึ่งเปปซินจะเป็นเอนไซม์ที่เข้าตัดพันธะเปปไทด์โดยเข้าทางด้านปลายคาร์บอกซิล (C-terminal) และมีความจำเพาะต่ออนุมูลกรดอะมิโน เป็น Phenylalanine Tyrosine และ Tryptophan ส่วนเอนไซม์ทริปซินและเอนไซม์แอลฟา-ไคโมทริปซินจะเป็นเอนไซม์ที่เข้าตัดพันธะเปปไทด์โดยเข้าทางด้านปลายอะมิโน (N-terminal) แต่จะมีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนต่างกัน โดยทริปซินจะมีความจำเพาะต่อ Lysine และ Arginine ส่วนแอลฟา-ไคโมทริปซินจะมีความจำเพาะต่อกรดอะมิโน Tyrosine Phenylalanine และ Tryptophan (ปราณี, 2543) สำหรับสารละลายของผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์โปรติโอไลติกทั้ง 3 ชนิด ติดตามการเกิดไฮโดรไลซิสของโปรตีนโดยใช้ TNBS และ L-Leucine เป็นสารละลายมาตรฐาน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm. ได้ผลแสดงดังตารางที่ 11



รูปที่ 24 SDS-PAGE ของโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยด่างและนำไปละลายในสารละลายเกลือผสม โดย M หมายถึง standard marker

2. การเปลี่ยนแปลงของผงโปรตีนไฟโบรอินด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดในระบบทางเดินอาหาร

เมื่อทำการทดลองการย่อยผงโปรตีนไฟโบรอินด้วยโปรติเอส (Proteases) ได้แก่ เปปซิน (Pepsin) ทริปซิน (Trypsin) และแอลฟา-ไคโมทริปซิน (α -cymotrypsin) เพื่อติดตามผลของการเปลี่ยนแปลงภายในระบบทางเดินอาหารจำลอง โดยใช้เอนไซม์เปปซินสำหรับการจำลองสถานะในกระเพาะอาหารที่มีค่าความเป็นกรดสูง ส่วนเอนไซม์ทริปซินและเอนไซม์แอลฟา-ไคโมทริปซินจำลองสถานะในลำไส้เล็กที่มีค่าความเป็นเบสเล็กน้อย ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดมีความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโครงสร้างของโปรตีนที่แตกต่างกัน ซึ่งเปปซินจะเป็นเอนไซม์ที่เข้าตัดพันธะเปปไทด์โดยเข้าทางด้านปลายคาร์บอกซิล (C-terminal) และมีความจำเพาะต่ออนุกรดอะมิโน เป็น Phenylalanine Tyrosine และ Tryptophan ส่วนเอนไซม์ทริปซินและเอนไซม์แอลฟา-ไคโมทริปซินจะเป็นเอนไซม์ที่เข้าตัดพันธะเปปไทด์โดยเข้าทางด้านปลายอะมิโน (N-terminal) แต่จะมีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนต่างกัน โดยทริปซินจะมีความจำเพาะต่อ Lysine และ Arginine ส่วนแอลฟา-ไคโมทริปซินจะมีความจำเพาะต่อกรดอะมิโน Tyrosine Phenylalanine และ Tryptophan (ปราณี, 2543) สำหรับสารละลายของผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์โปรติโอไลติกทั้ง 3 ชนิด ติดตามการเกิดไฮโดรไลซิสของโปรตีนโดยใช้ TNBS และ L-Leucine เป็นสารละลายมาตรฐาน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm. ได้ผลแสดงดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ปริมาณเปปไทด์หลังจากการย่อยผงโปรตีนไฟโบรอินด้วยเอนไซม์เปปซิน ที่ pH 2.0 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (จำลองสภาวะในกระเพาะอาหาร) และเอนไซม์ทริปซินและเอนไซม์แอลฟา-โคโมทริปซิน ที่ pH 8.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (จำลองสภาวะในลำไส้เล็ก)

ตัวอย่าง	ปริมาณเปปไทด์ (mM)
ผงโปรตีนไฟโบรอินกับการย่อยด้วย Pepsin	
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + Control 0.1%Pepsin	0.943 ± 0.0401 ^{a1}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + 0.1%Pepsin	0.948 ± 0.0244 ^{a1}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + Control 1.0%Pepsin	11.972 ± 0.4392 ^{a2}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + 1.0%Pepsin	11.999 ± 0.2007 ^{a2}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + Control 2.0%Pepsin	21.967 ± 0.6640 ^{a3}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + 2.0%Pepsin	21.967 ± 1.1059 ^{a3}
ผงโปรตีนไฟโบรอินกับการย่อยด้วย Trypsin	
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + Control 0.1%Trypsin	0.228 ± 0.0376 ^{a1}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + 0.1%Trypsin	0.645 ± 0.0255 ^{b1}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + Control 1.0%Trypsin	1.758 ± 0.1077 ^{a2}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + 1.0%Trypsin	2.731 ± 0.0000 ^{b2}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + Control 2.0%Trypsin	3.726 ± 0.0347 ^{a3}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + 2.0%Trypsin	5.088 ± 0.0694 ^{b3}
ผงโปรตีนไฟโบรอินกับการย่อยด้วย α -Chymotrypsin	
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + Control 0.1% α -Chymotrypsin	0.996 ± 0.1757 ^{a1}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + 0.1% α -Chymotrypsin	2.063 ± 0.1454 ^{b1}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + Control 1.0% α -Chymotrypsin	6.344 ± 0.5096 ^{a2}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + 1.0% α -Chymotrypsin	17.909 ± 1.1106 ^{b2}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + Control 2.0% α -Chymotrypsin	19.021 ± 0.5858 ^{a3}
ผงโปรตีนไฟโบรอิน + 2.0% α -Chymotrypsin	55.496 ± 1.5912 ^{b3}

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS

จากตารางที่ 11 พบว่า การใช้เอนไซม์ Pepsin ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการย่อยผงโปรตีนไฟโบรอินจะให้ปริมาณเปปไทด์ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันของเอนไซม์ทริปซินและแอลฟา-โคโมทริปซิน จะให้ปริมาณเปปไทด์ที่แตกต่างกันในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณเปปไทด์ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ 0.1% แตกต่างจาก 1.0% และ 2.0%

โดยปริมาณเปปไทด์จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ทริปซินและแอลฟา-ไคโมทริปซินจะเป็นเอนไซม์พวก alkaline protease ที่สามารถทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง ซึ่งในสภาวะด่างโครงสร้างของโปรตีนไฟโบรอินจะเปิดตัวออกมา เนื่องจากโมเลกุลของด่างสามารถเข้าไปแทรกภายในโครงสร้างของโปรตีน จึงมีผลทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปทำงานยังสารตั้งต้นได้สะดวกมากขึ้น และจากการทดลอง พบว่า แอลฟา-ไคโมทริปซิน จะให้ปริมาณของเปปไทด์มากกว่าเมื่อเทียบกับการย่อยด้วยทริปซิน เนื่องจากแอลฟา-ไคโมทริปซินจะมีความจำเพาะต่อ Tyrosine และ Phenylalanine ที่เป็นกรดอะมิโนที่มีมากเป็นอันดับ 4 และ 11 ของโปรตีนไฟโบรอิน ส่วน Tyrosine จะมีความจำเพาะต่อ Lysine และ Arginine ที่เป็นกรดอะมิโนที่มีอยู่ในอันดับที่ 15 และ 17 ซึ่งทำให้แอลฟา-ไคโมทริปซินมีบริเวณที่สามารถเข้าไปย่อยได้มากกว่าทริปซิน มีผลให้ปริมาณเปปไทด์ที่ผ่านการย่อยมีค่ามากกว่า ส่วนการย่อยด้วย Pepsin จะให้ค่าปริมาณเปปไทด์ไม่แตกต่างกันกับตัวอย่างควบคุม เนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวสามารถทำงานได้ดีในสภาวะกรด (กรดต่ำ) แต่กรดไม่สามารถเข้าไปเปิดโครงสร้างของโปรตีนไฟโบรอินได้ ทำให้เอนไซม์เข้าไปทำงานยังบริเวณของสารตั้งต้นได้ยาก มีผลให้เกิดการย่อยได้ไม่ดี

เมื่อนำผงโปรตีนไฟโบรอินมาย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สลายพันธะเอสเทอร์ (ester) ของไตรเอซิลกลีเซอรอล (Triacylglycerol) และได้ผลิตภัณฑ์เป็นไดเอซิลกลีเซอรอล (Diacylglycerol) หรือ โมโนเอซิลกลีเซอรอล (Monoacylglycerol) และกรดไขมัน สารละลายผงโปรตีนไฟโบรอินที่ผ่านการย่อย จะนำมาวัดปริมาณกรดไขมันที่เกิดขึ้นด้วยการหาค่า Acid Value

ตารางที่ 12 ผลการย่อยผงโปรตีนไฟโบรอินด้วยเอนไซม์ไลเปสที่ pH 8 นาน 6 ชั่วโมง (จำลองสภาวะในลำไส้เล็ก)

ตัวอย่าง	Acid Value (mg KOH/g sample)	ปริมาณกรดไขมันอิสระ
Control 0.1% Lipase	0.00	0.00
ไฟโบรอิน+0.1% Lipase	0.00	0.00
Control 1.0% Lipase	0.00	0.00
ไฟโบรอิน+1.0% Lipase	0.00	0.00
Control 2.0% Lipase	0.00	0.00
ไฟโบรอิน+2.0% Lipase	0.00	0.00

เนื่องจากในผงโปรตีนไฟโบรอินไม่มีองค์ประกอบของไขมันเป็นส่วนประกอบ ดังนั้นเมื่อนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปส จึงไม่มีการแตกสลายของน้ำมัน ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันได้

ความสามารถในการดักจับไขมันของผงโปรตีนไฟโบรอินในระบบทางเดินอาหารจำลอง

ตารางที่ 13 ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการย่อย Dressing จากน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันมะกอกด้วยเอนไซม์ไลเปส ที่ pH 8.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ชนิดของ Dressing	ตัวอย่าง	Acid Value (mg KOH/g sample)
Dressing น้ำมันมะพร้าว	ตัวอย่างควบคุม	1.0846 ± 0.0123 ^a
	Dressing + 1.0% ผงไฟโบรอิน	1.0761 ± 0.0139 ^a
	Dressing + 2.5% ผงไฟโบรอิน	1.0557 ± 0.0410 ^a
	Dressing + 5.0% ผงไฟโบรอิน	1.0541 ± 0.0503 ^b
Dressing น้ำมันมะกอก	ตัวอย่างควบคุม	1.2135 ± 0.0162 ^a
	Dressing + 1.0% ผงไฟโบรอิน	1.1923 ± 0.0202 ^a
	Dressing + 2.5% ผงไฟโบรอิน	1.1916 ± 0.0201 ^a
	Dressing + 5.0% ผงไฟโบรอิน	1.2035 ± 0.3310 ^a

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS

จากตารางที่ 13 เมื่อนำตัวอย่างอิมัลชันที่ผสมกับผงโปรตีนไฟโบรอินที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 2.5 และ 5.0 % นำหนักต่อปริมาตร มาย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปส ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นในตัวอย่าง Dressing จากน้ำมันมะพร้าวซึ่งเป็นตัวแทนของการใช้น้ำมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวเป็นองค์ประกอบ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนตัวอย่าง Dressing จากน้ำมันมะกอกซึ่งเป็นตัวแทนของการใช้น้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบ พบว่า ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังนั้นการเติมผงโปรตีนไฟโบรอินในอิมัลชันเพื่อดักจับไขมันไม่สามารถเกิดขึ้นได้ เนื่องจากโครงสร้างของผงโปรตีนไฟโบรอินมีความเสถียรมาก ไม่สามารถละลายได้ในน้ำมันแต่น้ำมันสามารถแทรกตัวเข้าไปภายในโครงสร้างได้เล็กน้อยทำให้น้ำมันถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปสได้

ส่วนที่ 5 การนำผงชิริซินที่ผลิตได้มาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร

เมื่อนำผงโปรตีนชิริซินมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีค่าความเป็นกรดต่ำ กรดสูง และมีแอลกอฮอล์ พบว่า การเติมโปรตีนชิริซินลงไปในการผลิตเครื่องดื่มประเภทต่าง ๆ ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนชิริซินแตกต่างกันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ โดยทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์มีค่าเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 14) รวมทั้งมีผลต่อลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มมีลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ เนื่องจากเกิดการตกตะกอนของโปรตีน

ซิริซินในเครื่องคั้มและทำให้คุณสมบัติเฉพาะของเครื่องคั้มเปลี่ยนแปลงไป เช่น ความแตกซ่าของโซดาหายไป เป็นต้น นอกจากนี้ยังส่งผลให้กลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์ที่เป็นลักษณะจำเพาะที่พึงมีในผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงตามไปด้วย (ดังแสดงผลในตารางที่ 15)

ตารางที่ 14 ความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์เครื่องคั้ม

ผลิตภัณฑ์เครื่องคั้ม	ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของผลิตภัณฑ์	ค่าความเป็นกรดด่างของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการเติมโปรตีนซิริซิน		
		0.010% (v/v)	0.125% (v/v)	0.250% (v/v)
น้ำส้มแมนดารินผสมเกิ้ลคั้ม	3.35	3.34	3.36	3.40
น้ำแอปเปิ้ล 100%	3.77	3.78	3.80	3.83
เครื่องคั้มชูกำลัง	3.66	3.66	3.67	3.69
เครื่องคั้มเกลือแร่	3.76	3.77	3.84	3.89
น้ำโซดา	5.55	5.58	5.62	5.64
เบียร์	4.29	4.29	4.34	4.39

จากตารางที่ 14 และ 15 เมื่อพิจารณาค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ประเภทต่าง ๆ สังเกตได้ว่าที่ระดับความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์เครื่องคั้มมีค่าต่ำกว่า 5 มีผลทำให้โปรตีนซิริซินนั้นเกิดการตกตะกอนหรือมีลักษณะของคอลลอยด์เกิดขึ้นภายในสารละลาย เนื่องจากโปรตีนซิริซินเป็นโปรตีนที่สามารถละลายได้ดีและมีความเสถียรในช่วงความเป็นกรด-ด่าง 5-9 (pH 5-9) (www.centerchem.com) ซึ่งที่ระดับความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์มีค่าต่ำหรือสูงกว่าช่วงดังกล่าว จะมีผลทำให้โปรตีนซิริซินเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติดั้งเดิมไป เพราะประจุบนโครงสร้างของกรดอะมิโนภายในสายพอลิเปปไทด์ของโปรตีนนั้นเกิดการเปลี่ยนแปลง สำหรับการเติมโปรตีนซิริซินลงในผลิตภัณฑ์เครื่องคั้มประเภทน้ำผลไม้ที่ต้องการความขุ่น โดยในการทดลองใช้น้ำส้มแมนดารินผสมเกิ้ลคั้มเป็นตัวแทน พบว่าการเติมโปรตีนซิริซินลงไปมีผลทำให้รสชาติดั้งเดิมของเครื่องคั้มเปลี่ยนแปลงไป โดยรสชาติของเครื่องคั้มอ่อนละมุนขึ้น เพราะผลของการเติมโปรตีนซิริซินทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น รสชาติจึงเกิดการเปลี่ยนแปลง

ตารางที่ 15 ลักษณะปรากฏ กลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์หลังจากเติมซิริซิน

ชนิดเครื่องดื่ม	ลักษณะปรากฏ กลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์หลังจากเติมซิริซิน
น้ำส้มแมนดารินผสมเกลือดรัม	สีของน้ำส้มยังคงเดิมเหมือนสีเริ่มต้นของผลิตภัณฑ์ กลิ่นเปรี้ยวที่เป็นกลิ่นเฉพาะของน้ำส้มลดลง รสชาติมีความอ่อนละมุนเพิ่มขึ้น โดยซิริซินทำให้รสเปรี้ยวของน้ำส้มลดลง
น้ำแอปเปิ้ล 100%	น้ำแอปเปิ้ลขุ่นเนื่องจากเกิดการตกตะกอนของ โปรตีนซิริซินภายในสารละลาย กลิ่นอ่อนลง รสชาตินุ่มละมุนขึ้น
เครื่องดื่มชูกำลัง	สีของผลิตภัณฑ์ยังคงเดิม เกิดการตกตะกอนของ โปรตีน กลิ่นเปรี้ยวที่เป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์หายไป รสชาติเปรี้ยวอ่อนลง
น้ำดื่มเกลือแร่	สารละลายขุ่น เพราะเกิดการตกตะกอนของ โปรตีน กลิ่นและรสชาติอ่อนลง
น้ำโซดา	น้ำมีความขุ่น เกิดฟองคล้ายเบียร์ โดยเกิดฟองเล็ก ๆ ในระยะเวลาานาน แต่ความแตก-ซ่าที่เป็นลักษณะของน้ำโซดาหายไป รสชาติอ่อนลง และไม่พบการตกตะกอนของ โปรตีน
เบียร์	น้ำเบียร์มีสีอ่อนลงเมื่อเทียบกับสีเดิมของผลิตภัณฑ์ เมื่อตั้งทิ้งไว้เกิดสารละลายประเภทคอลลอยด์และเกิดการตกตะกอนของ โปรตีนลงมาทำให้เครื่องดื่มขุ่น

บทที่ 5

บทสรุป

(Conclusions)

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของผงโปรตีนชิริชินและไฟโบรอินที่ผลิตได้จากน้ำต้มรังไหมและรังไหม พบว่า ผงโปรตีนชิริชินที่ผลิตได้จากส่วนของน้ำต้มรังไหมหลังผ่านการสกัดภายใต้สภาวะอุณหภูมิและความดันเดียวกัน แต่ระยะเวลาในการให้ความร้อนแตกต่างกัน มีผลทำให้คุณสมบัติเชิงหน้าที่และเคมีเปลี่ยนแปลงไป โดยโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาสั้นจะมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำ การดูดซับน้ำมัน การเกิดเจล คุณสมบัติพื้นผิวไฮโดรฟอบิก การเป็นอิมัลซิไฟเออร์และการเกิดโฟมมีค่าสูงกว่าโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการละลาย ความเสถียรของชั้นอิมัลชันและความตัวของโฟมมีค่าต่ำ นอกจากนี้ความร้อนที่ให้แก่กระบวนการสกัดในระยะเวลาสั้น จะทำให้ขนาดของน้ำหนักรวมของโปรตีนชิริชินมีขนาดเล็กลง เนื่องจากระยะเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นนั้นมีผลทำให้โปรตีนชิริชินเกิดการไฮโดรไลซิส เพราะโปรตีนชิริชินนั้นเป็น โปรตีนที่ละลายได้ในน้ำและไวต่ออุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในกระบวนการผลิต ซึ่งผลของขนาดของน้ำหนักรวมที่แตกต่างกันนี้เองที่ทำให้คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป และเมื่อพิจารณาโครงสร้างภายในของโปรตีนชิริชิน พบว่าโครงสร้างภายในของโปรตีนชิริชินที่ผ่านการสกัดภายใต้สภาวะต่างกันั้นก็มีโครงสร้างภายในเหมือนกัน เนื่องจากผงโปรตีนชิริชินที่ผลิตได้นั้นใช้กระบวนการผลิตเดียวกันแต่แตกต่างกันเพียงระยะเวลาในการให้ความร้อนเท่านั้น และจากการเติมโปรตีนชิริชินลงในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ประเภท กรดต่ำ กรดสูงและมีแอลกอฮอล์นั้นพบว่า โปรตีนชิริชินมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะเฉพาะตัวของผลิตภัณฑ์ไป เช่น ความแตกซ่าของโซดา รวมทั้งเกิดการตกตะกอนภายในเครื่องดื่มที่มีกรดต่ำ ทั้งนี้เพราะในสภาวะกรดต่ำทำให้โปรตีนชิริชินไม่เสถียรเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติดั้งเดิมไป สำหรับส่วนของรังไหมที่เป็นเส้นใยหลังผ่านกระบวนการบวมสกัด โปรตีนชิริชินออกแล้วนั้นเมื่อนำมาผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า พบว่า เส้นใยดังกล่าวยังคงสภาพของเส้นใยที่ยังคงความเหนียวนุ่มนั้นไว้ไม่สามารถจะทำให้เส้นใยมีความเปราะและฉีกเส้นใยให้มีขนาดสั้นลงได้ เนื่องจากโครงสร้างของโปรตีนไฟโบรอินมีความเสถียรและโครงสร้างซับซ้อนแข็งแรงทนทานต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ แต่เมื่อนำเส้นใยมาย่อยด้วยค่าพบว่าสามารถย่อยให้เส้นใยมีขนาดสั้นลงและมีความเปราะทำให้สามารถลดขนาดลงได้ ทั้งนี้เพราะการย่อยด้วยค่าเป็นการย่อยแบบสุ่มที่ไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อพันธะเหมือนกับการย่อยด้วยเอนไซม์ รวมทั้งการย่อยด้วยค่าจะใช้สภาวะที่รุนแรง และระยะเวลาในการย่อยสั้น ประกอบกับต้นทุนที่ใช้ในการผลิตต่ำ โดยผงไฟโบรอินที่ผลิตได้จากเส้นใยดังกล่าวยังคงคุณสมบัติดั้งเดิมที่ไม่สามารถละลายได้

ในน้ำ ทั้งนี้การย่อยด้วยด่างไม่ได้ทำให้โครงสร้างดั้งเดิมของไฟโบรอินเปลี่ยนแปลง เพียงแต่ทำให้ไฟโบรอินที่เป็นโปรตีนประเภทเส้นใยมีขนาดเล็กลงเท่านั้น จึงส่งผลให้การวิเคราะห์คุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่ต้องอาศัยคุณสมบัติในการละลายน้ำไม่สามารถวิเคราะห์ได้ ส่วนการวิเคราะห์ทางด้านกายภาพสามารถวิเคราะห์ได้ว่าผงไฟโบรอินที่ผลิตได้จากกระบวนการย่อยด้วยด่าง โปรตีนไฟโบรอินยังคงลักษณะของเส้นใยที่มีขนาดเล็กและสั้นลง รวมทั้งมีโครงสร้างที่เป็น crystalline ส่วนการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะทางเดินอาหารจำลองพบว่าเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ เปปซิน ทริปซินและแอลฟาโคโมทริปซินสามารถย่อยผงไฟโบรอินได้บางส่วน และไม่มีกรดไขมันอิสระเกิดขึ้นเมื่อย่อยผงไฟโบรอินด้วยเอนไซม์ไลเปส เนื่องจากผงไฟโบรอินไม่มีองค์ประกอบของไขมัน จากความสามารถที่ผงไฟโบรอินสามารถดูดซับน้ำมันได้เล็กน้อย และเป็นโปรตีนที่มีกรดอะมิโนที่สำคัญ เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการดักจับไขมันของผงไฟโบรอิน โดยใช้ตัวอย่างอาหารประเภทอิมัลชันปั่นต้นแบบของการศึกษา พบว่า ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นไม่มีความแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างที่มีการเติมผงไฟโบรอินและไม่มีการเติมผงไฟโบรอิน หลังจากผ่านทางเดินอาหารจำลอง แสดงให้เห็นว่าผงไฟโบรอินไม่มีความสามารถในการดักจับไขมัน แต่ผงไฟโบรอินดังกล่าวสามารถกระจายในน้ำมันได้ดี



บทที่ 6

บรรณานุกรม

(References)

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2548). การลอกกวไหมและฟอกขาวไหม. [On-line]. Available: <http://www.moac.go.th/builder/mu/index>.
- ปราณี อ่านเปรื่อง. (2543). เอนไซม์ทางอาหาร. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.
- มนชัย ดวงจินดา. (2537). การใช้โปรแกรม SAS เพื่อวิเคราะห์งานวิจัยทางสัตว. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.
- Anonymous. (nd.). **Silk Protein**. [On-line]. Available: www.niles-hs.k12.il.us/jacnau/chpt513.gif
- Anonymous. (nd.). **Silk Protein**. [On-line]. Available: <http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/255/255prot/ecb4x10b.jpg>
- Anonymous. 2000. **The cocoon strikes back: Innovative products could revive a dyeing industry**. [On-line]. Available: <http://www.jin-japan.org/trends00/honbun/tj001117.html>.
- Annamaria, S., Maria, R., Tullia, M., Silvio, S. And Orio, C. (1998). The microbial degradation of silk: a laboratory investigation. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 42:203-211.
- Ahmendna, M., Prinyawiwatkul, W., and Rao, R.W. (1999). Solubilized wheat protein isolate: Functional properties and potential food application. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 47: 1340-1345.
- Asakura, T., Demura, M., and Koroo T. (1991). Biocatalyst entrapped in a silk fibroin membrane. **United States Patent Number** 4999295.
- Asakura, T., Sakai, H., and Komatsu, S. (1992). Carrier supporting immobilized physiologically active substance and production thereof. **Japan Patent Number** 04053490A.
- Beuchat, L., R. (1997). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 25: 258-261.
- Chvajarernpun J., and Siri-Upathum, C. Radiation Processing of silk protein bilateral research cooperation OAAEP and JAERI. Available from: http://www.fnca.jp/english/cb/country_img/thailand.pdf. Accessed September 7, 2004.

- Coffman, C.W., and Garcia, V.V. (1977). Functional properties and amino acid content of protein isolate from Mung bean flour. **Journal of Food Technology**. 12: 473-484.
- Demura, M., Asakura, T., Nakamura, E., and Tamura, H. (1989). Immobilization of peroxidase with a *Bombyx mori* silk fibroin membrane and its application to biophotosensors. **Journal of Biotechnology**. 10:113-120.
- FAO, Silk reeling and testing manual. <http://www.fao.org/docrep/x2099e/x2099e03.htm>
- File, S.E., Fluck, C., and Fernandes, C. (1999). Beneficial effects of glycine (bioglycin) on memory and attention in young and middle-aged adults. **Journal of Clinical Psychopharmacology**. 19:506-512.
- Freddi, G., Anghileri, A., Sampaio, S., Buchert, J., Monti, P., and Teddei, P. (2006). Tyrosinase-Catalyzed modification of *Bombyx mori* silk fibroin: Grafting of chitisan under heterogeneous reaction conditions. **Journal of Biotechnology**. 125:281-294.
- Fujita, T., Okubo, M., and Oonishi, M. (1998). Production of natural organic polymer compound having polymerizability imparted hereto. **Japan Patent Number** 101995169A.
- Gamo, T. (1973). Electrophoretic analyses of the protein extracted with disulphide cleavage from cocoons of the silkworm, *Bombyx mori*. **Journal of Suricultural Science Japan**. 42:17-23.
- Grillier. (1999). Cosmetic composition comprising a dispersion of liquid vesicles as well as melanin pigments. **United States Patent Number** 5874091.
- Hall, G.M. (1996). **Methods of testing protein functionality**. UK: Chapman & Hall.
- Hamada, Y. (2004). Unit forming a stocking-like layer on stocking-less legs. **United States Patent Number** 2004191435.
- Hatakeyama, H. (1996). Biodegradable sericin-containing polyurethane and its production. **Japan Patent Number** 08012738A.
- He, S.J., Valluzzi, H., and Gido, P. S. (1999). Silk I structure in *Bombyx mori* silk foams. **International Journal of Biological Macromolecules**. 24:187-195.
- Hino, T., Tanimoto, M., and Shimabayashi, S. (2003). Change in secondary structure of silk fibroin during preparation of its microspheres by spray-drying and exposure to humid atmosphere. **Journal of Colloid and Interface Science**. 266: 68-73.
- Hirao, T. (1999). Skin preparation for preventing acne for external use. **Japan Patent Number** 11071232.

- Ichiro, O., Itaru, T., and Takamasa, H. (1999). Fibroin pigment bound it blue pigment originating from cape pasmine and make-up cosmetic. **Japan Patent Number** 11029438.
- Igarashi, S., Usui, T., Hiraoka, J., Harshimoto, K., Uchiwa, H., Marakami, U., Sugimoto, K., Minamino, H., And Horikoshi, T. (1997). Hair coloring composition comprising anti-hair antibodies immobilized on coloring material, and hair coloring methods. **United States Patent Number** 5597386.
- Iwamoto, K., Noguchi, T., Yeramoto, A., and Iizuka, F. (1995). Studies on physical properties of mixed membranes of silk sericin and syniotactic polyvinyl alcohol, and their ability to immobilize an enzyme. **Journal of Seric Science Japan**. 65:427-434.
- Kaphan, D., Adam, W.W., Farmer, B., and Viney, C. (1994). **Silk polymers Material Science and Biotechnology**. American Chemical Society. USA.
- Kato, A., Minaki, K., and Kobayashi, K. (1993). Improvement of Emulsifying Properties of Egg White Proteins by the Attachment of Polysaccharide through Maillard Reaction in a Dry State. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 41: 540-543.
- Kato, N., Sato, S. Yamanaka, A., Yamada, H., Fuwa, N., and Nomura, M. (1998). Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**. 62: 145-147.
- Kato, T. (1992). Lipstick composition. **Japan Patent Number** 4066515.
- Kazuhiisa, t., Taakagi, H., Taakahashi, M., and Nakamori, S. (2001). Cryoprotective effect of the sericin-rich repetitive sequence in silk protein sericin. **Journal of Biochemistry**. 129:979-986.
- Kiyoshi, H. (1989). Food using fibroin and production thereof. **Japan Patent Number** 1256350.
- Lampart-Szczapa, E., koniczny, P., Nogala-Kalucka, M., Walczak, S., Kossowska, I., and Malinowska, M. (2006). Some functional properties of lupin proteins modified by lactic acid fermentation and extrusion. **Food Chemistry**. 96: 290-296.
- Lawal, O.S., and Adebawale, K.O. 2003. Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) protein concentrates. **Food Chemistry**. 83: 237-246
- Lawal, O.S., Adebawale, K.O., Ogunsanwo, B.M., Sosanwo, O.A., and Bankole, S.A. (2005). On the functional properties of globulin and albumin protein fractions and flours of African locust bean (*Parkia biglobossa*). **Food Chemistry**. 92: 681-691.
- Li, X. (1996). Usage of sericin in durable material. **China Patent Number** 1116227A.

- Matsui, J., Kuroda, A., Ogino, K., and Otoi, K. (1995). Cosmetic. **Japan Patent Number** 7316011.
- Matsui, J., and Sano, H. (1997). Powdered cosmetic. **Japan Patent Number** 9025217.
- Miyairi, S., and Sugiura, m. (1978). Properties of β -glucosidase immobilized in sericin membrane. **Journal of Fermentation Technology**. 56:303-308.
- Miyashita, T. (1999). Cosmetic. **Japan Patent Number** 11152206.
- Nabeshima, K., Oyabu, I., Nakano, T., Yamada, H., Nokata, A., and Nomura, M. (1997). Functional fiber product. . **Japan Patent Number** 09-158048A.
- Nakai, S., and Modler, H.W. (1996). **Food proteins properties and characterization**. USA: VCH Publishers, Inc.
- Nakajima, Y. (1994). Liquid crystal element. **Japan Patent Number** 06018892A.
- Nanbu, T., Torii, K., Yasuhara, H., Tomita, K., And Fukuchi, Y. (1994). Hair cosmetic composition. **United States Patent Number** 5286476.
- Nasuno, T., and Otoi, K. (1983). Makeup composition in cake from including fibroin-coated and oily material-coated pigment. **United States Patent Number** 5039368.
- Niwase, H. (1993). Detergent composition. **Japan Patent Number** 5043889.
- Nogata, A., Yamada, H., and Nomura, M. (1997). Functional textile product and its production. **Japan Patent Number** 09031847A.
- Nomura, M., and Iwasa, H. (1995). Moisture absorbing and desorping polyurethane foam and its production. **Japan Patent Number** 07292240A.
- Nomura, M., and Yamada, H. (1996). Skin caring fiber product. **Japan Patent Number** 08060547A.
- Oakenfull, D., Pearce, J., and Burley, R.W. (1997). **Food proteins and their applications**. New York: Marcel Dekker.
- Oeda, I., Tamura, I., and Hirai, T. (1998). Fibroin pigment and makeup cosmetic. **Japan Patent Number** 10194928.
- Oeda, I., Tamura, I., and Hirai, T. (1999). Fibroin pigment bound to blue pigment originating from cape jasmine and make-up cosmetic. **Japan Patent Number** 11029438.
- Oshika, M., and Naito, Y. (1996). Hair cosmetic. **Japan Patent Number** 8310920.
- Ota, M., and Iwamoto, Y. (1995). Cleansing agent composition. **Japan Patent Number** 7126151.
- Otani, S. (1994). Liquid cosmetic. **Japan Patent Number** 6157234.
- Otoi, K., and Yamamoto, O. (1992). Production of colored silk fibroin powder. **Japan Patent Number** 4088027.

- Sasaki, M., Yamada, H., and Kato, N. (2000). Silk protein, sericin, suppresses colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine in mice. **Oncology Reports**. 7:1049-1052.
- Sasaki, M., Yamada, H., and Kato, N. (2000). Consumption of silk protein, sericin elevates intestinal absorption of zinc, iron, magnesium and calcium in rats. **Nutrition Research** 20: 1505-1511.
- Sasaki, M., Yamada, H., and Kato, N. (2000). A resistant protein, sericin improves constipation in rats. **Food Science and Technology Research**. 6:280-283.
- Shimizu, Z. (1980). **Structural basis of silk fiber in : Zoku kinu no kozo**, N. Hojo, Ed., Faculty of textile science and technology. Shinshu University, Ueda, p.9.
- Sumitomo, K., Yamagoshi, K., Tsukiyama, T., and Hori, T. (1997). Protein-containing polymer compound. **Japan Patent Number** 09124796A.
- Takai, Y. (1999). Hydrophilic fiber and aggregate of the same production thereof. **Japan Patent Number** 11350352A.
- Takatsu, A., Kanayama, H., and Jisureenu, R.M. (1992). Emulsion-type mascara. **Japan Patent Number** 4305515.
- Tanaka, T. (2001). Antifrosting agent and snow melting agent. **Japan Patent Number** 2001055562A.
- Tanaka, K., Kajiyama, N., Ishikura, K., Waga, S., Kikuchi, A., Ohtomo, K., Takagi, T., and Mizuno, S. (1999). Determination of the site of disulfide linkage between heavy and light chains of silk fibroin produced by *Bombyx mori*. **Biochemica et Biophysica Acta**. 1432:92-103.
- Tanaka, K., Inoue, S., and Mizuno, S. (1999). Hydrophobic interaction of P25, containing Asn-linked oligosaccharide chains, with the H-L complex of silk fibroin produced by *Bombyx mori*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 29:269-276.
- Tamada, Y. (2004). Sulfation of silk fibroin by chlorosulfonic acid and the anticoagulant activity. **Biomaterials**. 25:377-383.
- Terada, Y., Chiba, N., Fujii, T., and Kimizuka, Y. (1996). Detergent composition. **Japan Patent Number** 8020793.
- Tsubouchi, K. (1996). New applications of silk. **Farming Japan**. 30, 36.
- Tsubouchi, K. (1998). Process for producing fine silk fibroin powder. **Korea patent Number** 100217169B
- Tsumura, K., Saito, T., Tsuge, K., Ashida, H., Kugimiya, W., and Inouye, K. (2005). Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis. **LWT**. 38:255-261.

- Ueda, K., and Makita, M. (2000). Rubber molding having durable skincare property. **Japan Patent Number** 2000169595A.
- Une, T., and Kusaki, K. (2003). Face scrub. **Japan Patent Number** 2003113072.
- Weber, K., and Osborn, M. (1969). The reliability of molecular weight determinations by Dodecyl sulfate-Polyacrylamide gel electrophoresis. **Journal of Biological Chemistry**, 24: 4406-4412.
- Yamada, H., and Fuwa, Y. (1993). Pervaporation membrane and thereof. **Japan Patent Number** 05345118A.
- Yamada, H., and Fuwa, Y. (1993). Filter membrane and production thereof. **Japan Patent Number** 05345447A.
- Yamada, H., and Fuwa, Y. (1993). Protein-containing synthetic high molecular material and its preparation. **Japan Patent Number** 06080741A.
- Yamada, H., and Nomura, M. (1998). Fibrous article for contact with skin. **Japan Patent Number** 10001872A.
- Yamada, H., Nakao, H., Takasu, Y., and Tsubouchi, K. (2001). Preparation of undegraded native molecular fibroin solution from silkworm cocoons. **Materials Science and Engineering**, 14: 41-46.
- Yamaguchi, K., Kikuchi, Y., Takagi, T., Kikuchi, A., Oyama, F., Shimura, K., and Mizuno, S. (1989). Primary structure of the silk fibroin light chain determined by cDNA sequencing and peptide analysis. **Journal of Molecular Biology**, 210:127-139.
- Yoshiharu, I., and Kazuko, H. (1998). Foamable food material consisting of silk fibroin, foamed food material produced therefrom and their production and method for intensifying from stability as well as sponge cake formed by using the same. **Japan Patent Number** 10215781.
- Yoshikawa, M., Murakami, A., and Okushita, Y. (2001). Separating membrane and separating method thereof. **Japan Patent Number** 2001129373A.
- Zhang, Y. (2002). Applications of silk natural silk protein sericin in biomaterials. **Biotechnology Advances**, 20:91-100.
- Zhang, Y.Q., Ma, Y., Xia, Y.Y., Shen, W.D., Mao, J.P., and Xue, R.Y. (2006). Silk sericin-insulin bioconjugate: Synthesis, characterization and biological activity. **Journal of controlled release**, 115:307-315.



ส่วนที่ 1 ผลการทดลองทางเคมี

ตารางที่ ผ1 ค่าการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของสารสกัดโปรตีนจิวรีซินที่อุณหภูมิ 121 °C เวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

ตัวอย่าง	น้ำหนักตัวอย่างหลังการสกัด (g)	Rep.	น้ำหนักก่อนอบ			น้ำหนักหลังอบ				
			น้ำหนัก moisture can (g)	น้ำหนักตัวอย่าง (g)	น้ำหนักรวม (g)	น้ำหนักหลังอบของ moisture can รวม น้ำหนักตัวอย่าง (g)	น้ำหนักตัวอย่าง (g)	Total Solid	ค่าเฉลี่ย	SD.
S20m	457.21	S20-1	12.4788	10.0786	22.5574	12.6190	0.1402	21.2003	21.1766	0.0206
		S20-2	13.6569	10.0532	23.7101	13.7965	0.1396	21.1629		
		S20-3	13.1646	10.0874	23.2520	13.3047	0.1401	21.1667		
S30m	466.42	S30-1	13.5692	10.0626	23.6318	13.7080	0.1388	21.4455	21.4678	0.0426
		S30-2	12.5525	10.0075	22.5600	12.6910	0.1385	21.5169		
		S30-3	13.2754	10.0937	23.3691	13.4146	0.1392	21.4410		
S40m	464.43	S40-1	13.1899	10.0278	23.2177	13.3287	0.1388	21.4281	21.4111	0.0176
		S40-2	12.4908	10.0877	22.5785	12.6302	0.1394	21.3929		
		S40-3	14.7536	10.0641	24.8177	14.8928	0.1392	21.4123		
S50m	463.66	S50-1	14.5762	10.0522	24.6284	14.7156	0.1394	21.4329	21.4191	0.0125
		S50-2	13.3343	10.0637	23.3980	13.4737	0.1394	21.4084		
		S50-3	14.0116	10.0890	24.1006	14.1514	0.1398	21.4160		
S60m	465.24	S60-1	11.8716	10.0250	21.8966	12.0114	0.1398	21.6261	21.5917	0.0527
		S60-2	15.3889	10.0862	25.4751	15.5295	0.1406	21.6179		
		S60-3	13.7100	10.0549	23.7649	13.8496	0.1396	21.5310		
S90m	464.76	S90-1	13.6882	10.0326	23.7208	13.8303	0.1421	21.9426	21.8698	0.0756
		S90-2	13.9899	10.0950	24.0849	14.1319	0.1420	21.7916		
		S90-3	12.0835	10.0352	22.1187	12.2252	0.1417	21.8752		
S120m	465.68	S120-1	12.7849	10.0441	22.8290	12.9254	0.1405	21.7136	21.6801	0.0307
		S120-2	13.2409	10.0578	23.2987	13.3812	0.1403	21.6531		
		S120-3	13.7383	10.0268	23.7651	13.8783	0.1400	21.6736		

ตารางที่ ๒2 ค่าการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำ (Water Absorption Capacity) ของผงโปรตีน

ตัวอย่าง	ก่อนการดูดซับน้ำ				หลังตัวอย่างดูดซับน้ำ				
	น้ำหนักหลอด centrifuge (g)	น้ำหนัก ตัวอย่าง (g)	น้ำหนักน้ำ (g)	น้ำหนักรวมของ ตัวอย่างก่อนการดูดซับน้ำ (g)	ผลรวมน้ำหนักหลอดกับ น้ำหนักตัวอย่างหลังดูดซับน้ำ (g)	น้ำหนักตัวอย่าง ที่ดูดซับน้ำ (g)	เปอร์เซ็นต์การดูดซับน้ำของผงโปรตีน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
S20-1	10.6079	1.0016	20.0117	31.6212	18.9339	8.3260	731.27	757.10	23.7562
S20-2	10.5179	1.0010	20.0033	31.5222	19.3068	8.7889	778.01		
S20-3	10.5849	1.0074	20.0256	31.6179	19.2689	8.6840	762.02		
S30-1	11.6604	1.0031	20.0391	32.7026	18.2039	6.5435	552.33	566.65	14.7680
S30-2	11.6879	1.0009	20.0569	32.7457	18.5123	6.8244	581.83		
S30-3	11.6714	1.0012	20.0495	32.7221	18.3373	6.6659	565.79		
S40-1	11.6518	1.0010	20.0133	32.6661	17.5329	5.8811	487.52	475.01	30.8117
S40-2	11.6738	1.0012	20.0204	32.6954	17.6570	5.9832	497.60		
S40-3	11.6717	1.0019	20.0185	32.6921	17.0811	5.4094	439.91		
S50-1	11.6677	1.0018	20.0299	32.6994	14.8438	3.1761	217.04	215.23	5.3209
S50-2	11.7190	1.0032	20.0139	32.7361	14.9233	3.2043	219.41		
S50-3	11.5673	1.0023	20.0263	32.5959	14.6668	3.0995	209.24		
S60-1	11.6256	1.0037	20.0182	32.6475	13.5986	1.9730	96.57	80.90	14.1752
S60-2	11.6141	1.0020	20.0259	32.6420	13.3072	1.6931	68.97		
S60-3	11.6654	1.0019	20.0299	32.6972	13.4404	1.7750	77.16		
S90-1	11.6395	1.0017	20.0142	32.6554	12.8021	1.1626	16.06	16.35	1.0127
S90-2	11.7142	1.0022	20.0352	32.7516	12.8916	1.1774	17.48		
S90-3	11.7202	1.0032	20.0177	32.7411	12.8791	1.1589	15.52		
S120-1	11.6648	1.0045	20.0351	32.7044	12.7240	1.0592	5.45	4.73	0.6438
S120-2	11.7062	1.0044	20.0703	32.7809	12.7528	1.0466	4.20		
S120-3	11.6610	1.0031	20.0209	32.6850	12.7096	1.0486	4.54		
FIBROIN-1	11.6806	1.0042	20.0473	32.7321	15.0833	3.4027	238.85	233.77	4.5914
FIBROIN-2	11.6723	1.0046	20.0214	32.6983	15.0133	3.3410	232.57		
FIBROIN-3	11.7208	1.0079	20.0406	32.7693	15.0459	3.3251	229.90		

ตารางที่ ๘3 ค่าการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำ (Water Solubility Index) ของผงชิริชินและไฟโบรอิน

ตัวอย่าง	น้ำหนัก moisture can(g)	น้ำหนักตัวอย่าง (g)	น้ำหนัก moisture can รวม กับน้ำหนักตัวอย่าง (g)	น้ำหนักตัวอย่างที่ละลายในน้ำ (g)	เปอร์เซ็นต์การละลายของผงใหม่	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
S20-1	13.9155	1.0016	14.2295	0.3140	31.3498	29.1444	2.3616
S20-2	13.0272	1.0010	13.3218	0.2946	29.4306		
S20-3	12.5530	1.0074	12.8215	0.2685	26.6528		
S30-1	13.1908	1.0031	13.5338	0.3430	34.1940	35.5892	1.3762
S30-2	13.9891	1.0009	14.3457	0.3566	35.6279		
S30-3	12.6195	1.0012	12.9894	0.3699	36.9457		
S40-1	14.4860	1.0010	14.8849	0.3989	39.8501	41.5862	1.5053
S40-2	14.4933	1.0012	14.9176	0.4243	42.3791		
S40-3	13.4558	1.0019	13.8819	0.4261	42.5292		
S50-1	13.6790	1.0018	14.2336	0.5546	55.3604	56.1863	0.7641
S50-2	14.0161	1.0032	14.5866	0.5705	56.8680		
S50-3	12.3787	1.0023	12.9433	0.5646	56.3304		
S60-1	13.8711	1.0037	14.5855	0.7144	71.1766	73.7613	2.4784
S60-2	13.7109	1.0020	14.4736	0.7627	76.1178		
S60-3	13.3129	1.0019	14.0542	0.7413	73.9894		
S90-1	13.7346	1.0017	14.5598	0.8252	82.3800	83.4054	1.0249
S90-2	13.4205	1.0022	14.2564	0.8359	83.4065		
S90-3	13.6279	1.0032	14.4749	0.8470	84.4298		
S120-1	12.8292	1.0045	13.7118	0.8826	87.8646	87.5595	0.4766
S120-2	16.1421	1.0044	17.0240	0.8819	87.8037		
S120-3	13.1698	1.0031	14.0426	0.8728	87.0103		
FIBROIN-1	12.7844	1.0042	12.8216	0.0372	3.7044	4.2680	1.2267
FIBROIN-2	12.5575	1.0046	12.5919	0.0344	3.4242		
FIBROIN-3	12.4785	1.0079	12.5357	0.0572	5.6752		

ตารางที่ ๓4 ค่าการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (Oil Absorption Capacity) ของผง โปรตีน

ตัวอย่าง	ก่อนการดูดซับน้ำมัน				หลังตัวอย่างดูดซับน้ำมัน				
	น้ำหนักหลอด centrifuge (g)	น้ำหนัก ตัวอย่าง(g)	น้ำหนัก น้ำมัน(g)	น้ำหนักรวมของ ตัวอย่างก่อนการดูด ซับน้ำมัน(g)	ผลรวมน้ำหนักหลอด กับ น้ำหนักตัวอย่าง หลังดูดซับน้ำมัน(g)	น้ำหนักตัวอย่าง ที่ดูดซับน้ำมัน (g)	เปอร์เซ็นต์การดูดซับ น้ำมันของผงโปรตีน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
S20-1	11.6504	1.0019	9.0128	21.6651	16.7447	5.0943	408.46	416.55	7.1041
S20-2	11.6228	1.0435	9.0347	21.7010	17.0675	5.4447	421.77		
S20-3	11.7188	1.0079	9.0062	21.7329	16.9541	5.2353	419.43		
S30-1	11.6638	0.9883	9.1050	21.7571	16.6205	4.9567	401.54	403.60	6.4738
S30-2	11.6736	0.9878	9.0215	21.6829	16.7198	5.0462	410.85		
S30-3	11.6643	1.0042	9.0470	21.7155	16.6693	5.0050	398.41		
S40-1	11.7226	1.0465	9.0498	21.8189	16.6450	4.9224	370.37	371.28	4.3251
S40-2	11.7039	1.0424	9.0356	21.7819	16.5770	4.8731	367.49		
S40-3	11.6583	1.0380	9.0198	21.7161	16.5991	4.9408	375.99		
S50-1	11.7134	1.0288	9.0234	21.7656	16.5429	4.8295	369.43	367.01	2.1177
S50-2	11.6627	0.9915	9.0090	21.6632	16.2843	4.6216	366.12		
S50-3	11.6664	1.0277	9.0157	21.7098	16.4502	4.7838	365.49		
S60-1	11.6724	1.0196	9.0575	21.7495	16.2689	4.5965	350.81	348.38	2.3456
S60-2	11.6720	1.0021	9.0079	21.6820	16.1427	4.4707	346.13		
S60-3	11.5750	1.0123	9.0253	21.6126	16.1122	4.5372	348.21		
S90-1	11.7216	1.0114	9.0130	21.7460	16.0713	4.3497	330.07	329.94	0.2611
S90-2	11.6726	1.0045	9.0149	21.6920	15.9930	4.3204	330.10		
S90-3	11.6395	1.0049	9.0169	21.6613	15.9569	4.3174	329.63		
S120-1	11.7076	1.0056	9.0280	21.7412	15.8967	4.1891	316.58	314.79	2.7909
S120-2	11.6818	1.0047	9.0135	21.7000	15.8635	4.1817	316.21		
S120-3	11.6728	1.0180	9.0222	21.7130	15.8626	4.1898	311.57		
FIBROIN-1	11.6681	1.0732	9.0482	21.7895	14.0917	2.4236	125.83	126.69	1.7073
FIBROIN-2	11.6610	1.0447	9.0272	21.7329	14.0176	2.3566	125.58		
FIBROIN-3	11.5675	1.0624	9.0070	21.6369	13.9967	2.4292	128.65		

ตารางที่ ๗5 ความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 20 30 40 และ 50 นาที ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (% w/v) ภายใต้ อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ระดับความเข้มข้น (% w/v)	S20m		S30m		S40m		S50m	
	ความสามารถในการเกิดเจล		ความสามารถในการเกิดเจล		ความสามารถในการเกิดเจล		ความสามารถในการเกิดเจล	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
0.20	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว
0.30	ของเหลว	เจล	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว
0.40	เจล	เจล	ของเหลว	เจล	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว	ของเหลว
0.50	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	ของเหลว	เจล
0.60	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล
0.70	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล
0.80	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล
0.90	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล
1.00	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล	เจล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ ๘6 ความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 60 นาที ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (% w/v) ภายใต้อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ระดับความเข้มข้น (% w/v)	ความสามารถในการเกิดเจล	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
0.20	ของเหลว	ของเหลว
0.30	ของเหลว	ของเหลว
0.40	ของเหลว	ของเหลว
0.50	ของเหลว	ของเหลว
0.60	ของเหลว	ของเหลว
0.70	ของเหลว	ของเหลว
0.80	ของเหลว	ของเหลว
0.90	ของเหลว	ของเหลว
1.00	ของเหลว	ของเหลว
1.10	ของเหลว	ของเหลว
1.20	ของเหลว	ของเหลว
1.30	ของเหลว	เจล
1.40	ของเหลว	เจล
1.50	เจล	เจล
1.60	เจล	เจล
1.70	เจล	เจล
1.80	เจล	เจล
1.90	เจล	เจล
2.00	เจล	เจล

ตารางที่ ๗7 ความสามารถในการเกิดเจลของ โปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 90 นาที
ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (% w/v) ภายใต้อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ระดับความเข้มข้น (% w/v)	ความสามารถในการเกิดเจล	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
2.00	ของเหลว	ของเหลว
2.10	ของเหลว	ของเหลว
2.20	ของเหลว	ของเหลว
2.30	ของเหลว	ของเหลว
2.40	ของเหลว	ของเหลว
2.50	ของเหลว	ของเหลว
2.60	ของเหลว	ของเหลว
2.70	ของเหลว	ของเหลว
2.80	ของเหลว	ของเหลว
2.90	ของเหลว	ของเหลว
3.00	ของเหลว	ของเหลว
3.10	ของเหลว	ของเหลว
3.20	ของเหลว	ของเหลว
3.30	ของเหลว	ของเหลว
3.40	ของเหลว	ของเหลว
3.50	ของเหลว	ของเหลว
3.60	ของเหลว	ของเหลว
3.70	ของเหลว	ของเหลว
3.80	ของเหลว	ของเหลว
3.90	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง
4.00	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง
4.10	ของเหลวกึ่งแข็ง	ของเหลวกึ่งแข็ง
4.20	ของเหลวกึ่งแข็ง	เจล
4.30	ของเหลวกึ่งแข็ง	เจล
4.40	ของเหลวกึ่งแข็ง	เจล
4.50	ของเหลวกึ่งแข็ง	เจล
4.60	เจล	เจล
4.70	เจล	เจล
4.80	เจล	เจล
4.90	เจล	เจล
5.00	เจล	เจล

ตารางที่ ๘8-1 ความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 120 นาที
ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (% w/v) ภายใต้อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ระดับความเข้มข้น (% w/v)	ความสามารถในการเกิดเจล	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
4.80	ของเหลว	ของเหลว
4.90	ของเหลว	ของเหลว
5.10	ของเหลว	ของเหลว
5.20	ของเหลว	ของเหลว
5.30	ของเหลว	ของเหลว
5.40	ของเหลว	ของเหลว
5.50	ของเหลว	ของเหลว
5.60	ของเหลว	ของเหลว
5.70	ของเหลว	ของเหลว
5.80	ของเหลว	ของเหลว
5.90	ของเหลว	ของเหลว
6.00	ของเหลว	ของเหลว
6.10	ของเหลว	ของเหลว
6.20	ของเหลว	ของเหลว
6.30	ของเหลว	ของเหลว
6.40	ของเหลว	ของเหลว
6.50	ของเหลว	ของเหลว
6.60	ของเหลว	ของเหลว
6.70	ของเหลว	ของเหลว
6.80	ของเหลว	ของเหลว
6.90	ของเหลว	ของเหลว
7.00	ของเหลว	ของเหลว
7.10	ของเหลว	ของเหลว
7.20	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง
7.30	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง
7.40	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง
7.50	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง
7.60	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง
7.70	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง
7.80	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง
7.90	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง
8.00	ของเหลว	ของเหลวกึ่งแข็ง

ตารางที่ ผ8-2 ความสามารถในการเกิดเจลของ โปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดด้วยระยะเวลา 120 นาที ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (% w/v) ภายใต้อุณหภูมิ 2-4 °C นาน 24 และ 48 ชั่วโมง (ต่อ)

ระดับความเข้มข้น (% w/v)	ความสามารถในการเกิดเจล	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
8.10	ของเหลวกึ่งแข็ง	ของเหลวกึ่งแข็ง
8.20	ของเหลวกึ่งแข็ง	ของเหลวกึ่งแข็ง
8.30	ของเหลวกึ่งแข็ง	ของเหลวกึ่งแข็ง
8.40	ของเหลวกึ่งแข็ง	ของเหลวกึ่งแข็ง
8.50	ของเหลวกึ่งแข็ง	ของเหลวกึ่งแข็ง
8.60	ของเหลวกึ่งแข็ง	ของเหลวกึ่งแข็ง
8.70	ของเหลวกึ่งแข็ง	ของเหลวกึ่งแข็ง
8.80	ของเหลวกึ่งแข็ง	ของเหลวกึ่งแข็ง
8.90	ของเหลวกึ่งแข็ง	ของเหลวกึ่งแข็ง
9.00	ของเหลวกึ่งแข็ง	เจล
9.10	ของเหลวกึ่งแข็ง	เจล
9.20	ของเหลวกึ่งแข็ง	เจล
9.30	ของเหลวกึ่งแข็ง	เจล
9.40	ของเหลวกึ่งแข็ง	เจล
9.50	ของเหลวกึ่งแข็ง	เจล

ตารางที่ ๘9 ค่าการเรืองแสงของ โปรตีนจิวรีซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันที่จับกับสาร ANS ที่ความยาวคลื่น excitation 374 nm. และ emission 485 nm.

Sample	Delta FI			ave.	std.
	Rep I	Rep II	Rep III		
S20m	548.938	576.8827	562.910	562.91	13.97
S30m	520.201	532.1424	526.172	526.17	5.97
S40m	477.193	507.1919	492.192	492.19	15.00
S50m	479.214	493.3228	486.268	486.27	7.05
S60m	460.367	488.2292	474.298	474.30	13.93
S90m	452.953	473.1999	463.076	463.08	10.12
S120m	379.853	404.7697	392.311	392.31	12.46

ตารางที่ ๑๑ ค่าการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนซีรีซินและไฟโบรอิน

ตัวอย่าง	ค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร			ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์			Average.	Stdev.
	Rep 1	Rep 2	Rep3	EAI 1	EAI 2	EAI 3		
control	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0000
S20m	1.414	1.353	1.483	130.258	124.638	136.614	130.503	5.9916
S30m	1.273	1.337	1.321	117.269	123.164	121.691	120.708	3.0682
S40m	1.287	1.267	1.256	118.558	116.716	115.703	116.992	1.4478
S50m	1.253	1.226	1.175	115.426	112.939	108.241	112.202	3.6489
S60m	1.076	0.980	0.964	99.121	90.278	88.804	92.734	5.5802
S90m	0.598	0.532	0.556	55.088	49.008	51.219	51.771	3.0774
S120m	0.511	0.560	0.519	47.073	51.587	47.810	48.824	2.4215
Fibroin	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0000

ตารางที่ ๗11 ค่าการวิเคราะห์ความคงตัวของชั้นอิมัลชันของโปรตีนหลังตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

ตัวอย่าง	ค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร			ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์			Average.	Stdev.
	Rep 1	Rep 2	Rep3	EAI 1	EAI 2	EAI 3		
control	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0000
S20m	0.572	0.593	0.458	52.693	54.627	42.191	49.837	6.6919
S30m	0.361	0.373	0.455	33.255	34.361	41.915	36.510	4.7128
S40m	0.456	0.469	0.470	42.007	43.204	43.296	42.836	0.7195
S50m	0.494	0.521	0.514	45.507	47.995	47.350	46.950	1.2908
S60m	0.475	0.463	0.467	43.757	42.652	43.020	43.143	0.5629
S90m	0.466	0.493	0.507	42.928	45.415	46.705	45.016	1.9198
S120m	0.440	0.396	0.522	40.533	36.480	48.087	41.700	5.8909
Fibroin	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0000



ตารางที่ ๗12 % Whippability ของโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงที่ระยะเวลา 20 นาที

เวลา (นาที)	Rep 1				Rep 2				Rep 3			
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม	%whip
0	86.00	158.00	72.00	0.72	86.00	153.00	67.00	0.67	84.00	156.00	72.00	0.72
1	88.00	158.00	70.00	0.70	88.00	153.00	65.00	0.65	87.00	156.00	69.00	0.69
2	89.00	158.00	69.00	0.69	89.00	153.00	64.00	0.64	88.00	156.00	68.00	0.68
3	90.00	158.00	68.00	0.68	89.50	153.00	63.50	0.64	88.00	156.00	68.00	0.68
4	90.00	158.00	68.00	0.68	90.00	153.00	63.00	0.63	88.50	156.00	67.50	0.68
5	90.50	158.00	67.50	0.68	90.00	153.00	63.00	0.63	89.00	156.00	67.00	0.67
10	91.00	134.00	43.00	0.43	91.00	134.00	43.00	0.43	90.00	134.00	44.00	0.44
15	91.50	132.00	40.50	0.41	91.00	128.00	37.00	0.37	90.00	126.00	36.00	0.36
20	92.00	130.00	38.00	0.38	91.00	126.00	35.00	0.35	90.00	126.00	36.00	0.36
25	92.00	128.00	36.00	0.36	92.00	122.00	30.00	0.30	90.00	122.00	32.00	0.32
30	92.00	126.00	34.00	0.34	92.00	122.00	30.00	0.30	90.00	120.00	30.00	0.30

เวลา (นาที)	Rep 4				Rep 5				ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม	%whip		
0	82.00	154.00	72.00	0.72	83.25	154.00	70.75	0.71	0.71	0.03
1	84.00	154.00	70.00	0.70	85.50	154.00	68.50	0.69	0.69	0.02
2	85.50	154.00	68.50	0.69	86.63	154.00	67.38	0.67	0.67	0.02
3	86.00	154.00	68.00	0.68	87.13	154.00	66.88	0.67	0.67	0.02
4	86.50	154.00	67.50	0.68	87.50	154.00	66.50	0.67	0.67	0.02
5	86.50	154.00	67.50	0.68	87.75	154.00	66.25	0.66	0.66	0.02
10	87.00	132.00	45.00	0.45	88.25	132.00	43.75	0.44	0.44	0.01
15	88.00	132.00	44.00	0.44	91.63	131.00	39.38	0.39	0.39	0.04
20	88.00	126.00	38.00	0.38	91.25	128.00	36.75	0.37	0.37	0.02
25	89.00	122.00	33.00	0.33	91.25	124.00	32.75	0.33	0.33	0.02
30	89.00	117.00	28.00	0.28	89.50	120.00	30.50	0.31	0.31	0.03

ตารางที่ ๑๓ % Whippability ของ โปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงที่ระยะเวลา 30 นาที

เวลา (นาที)	Rep 1				Rep 2				Rep 3			
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม	ปริมาตร โฟม	%whip
0	85.00	154.00	69.00	0.69	84.00	152.00	68.00	0.68	86.00	154.00	68.00	0.68
1	87.00	154.00	67.00	0.67	87.00	152.00	65.00	0.65	88.00	154.00	66.00	0.66
2	89.00	154.00	65.00	0.65	88.00	152.00	64.00	0.64	89.00	154.00	65.00	0.65
3	90.00	154.00	64.00	0.64	88.50	152.00	63.50	0.64	89.00	154.00	65.00	0.65
4	90.00	154.00	64.00	0.64	89.00	152.00	63.00	0.63	90.00	154.00	64.00	0.64
5	90.00	154.00	64.00	0.64	90.00	152.00	62.00	0.62	90.00	154.00	64.00	0.64
10	90.00	138.00	48.00	0.48	90.00	137.00	47.00	0.47	90.00	134.00	44.00	0.44
15	90.00	134.00	44.00	0.44	90.00	130.00	40.00	0.40	90.00	124.00	34.00	0.34
20	90.00	130.00	40.00	0.40	90.00	126.00	36.00	0.36	90.00	120.00	30.00	0.30
25	91.00	126.00	35.00	0.35	90.00	122.00	32.00	0.32	90.00	118.00	28.00	0.28
30	91.00	122.00	31.00	0.31	90.00	120.00	30.00	0.30	90.00	118.00	28.00	0.28

เวลา (นาที)	Rep 4				Rep 5				ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม	ปริมาตร โฟม	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม	ปริมาตร โฟม	%whip		
0	86.00	142.00	56.00	0.56	84.00	150.00	66.00	0.66	0.65	0.05
1	88.00	142.00	54.00	0.54	85.00	150.00	65.00	0.65	0.63	0.05
2	88.00	142.00	54.00	0.54	86.00	150.00	64.00	0.64	0.62	0.05
3	89.00	142.00	53.00	0.53	88.00	150.00	62.00	0.62	0.62	0.05
4	89.00	142.00	53.00	0.53	89.50	150.00	60.50	0.61	0.61	0.05
5	89.00	142.00	53.00	0.53	90.00	150.00	60.00	0.60	0.61	0.05
10	89.00	136.00	47.00	0.47	90.00	140.00	50.00	0.50	0.47	0.02
15	90.00	126.00	36.00	0.36	90.00	130.00	40.00	0.40	0.39	0.04
20	90.00	118.00	28.00	0.28	90.00	128.00	38.00	0.38	0.34	0.05
25	91.00	116.00	25.00	0.25	90.00	122.00	32.00	0.32	0.30	0.04
30	91.00	114.00	23.00	0.23	90.00	120.00	30.00	0.30	0.28	0.03

ตารางที่ ผ14 % Whippability ของ โปรตีนชริจินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงที่ระยะเวลา 40 นาที

เวลา (นาที)	Rep 1				Rep 2				Rep 3			
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม	ปริมาตร โฟม	%whip
0	86.00	146.00	60.00	0.60	86.00	146.00	60.00	0.60	86.00	154.00	68.00	0.68
1	88.00	146.00	58.00	0.58	88.00	146.00	58.00	0.58	88.00	154.00	66.00	0.66
2	89.00	146.00	57.00	0.57	90.00	146.00	56.00	0.56	89.00	154.00	65.00	0.65
3	89.50	146.00	56.50	0.57	90.00	146.00	56.00	0.56	89.00	154.00	65.00	0.65
4	89.50	146.00	56.50	0.57	90.00	146.00	56.00	0.56	90.00	154.00	64.00	0.64
5	89.50	146.00	56.50	0.57	90.00	146.00	56.00	0.56	90.00	154.00	64.00	0.64
10	89.50	146.00	56.50	0.57	90.00	146.00	56.00	0.56	90.00	134.00	44.00	0.44
15	90.00	146.00	56.00	0.56	91.00	146.00	55.00	0.55	90.00	124.00	34.00	0.34
20	90.00	145.00	55.00	0.55	91.00	145.00	54.00	0.54	90.00	120.00	30.00	0.30
25	90.00	145.00	55.00	0.55	91.00	145.00	54.00	0.54	90.00	118.00	28.00	0.28
30	90.00	145.00	55.00	0.55	91.00	145.00	54.00	0.54	90.00	118.00	28.00	0.28

เวลา (นาที)	Rep 4				Rep 5				ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม	ปริมาตร โฟม	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม	ปริมาตร โฟม	%whip		
0	86.00	142.00	56.00	0.56	84.00	150.00	66.00	0.66	0.62	0.05
1	88.00	142.00	54.00	0.54	85.00	150.00	65.00	0.65	0.60	0.05
2	88.00	142.00	54.00	0.54	86.00	150.00	64.00	0.64	0.59	0.05
3	89.00	142.00	53.00	0.53	88.00	150.00	62.00	0.62	0.59	0.05
4	89.00	142.00	53.00	0.53	89.50	150.00	60.50	0.61	0.58	0.04
5	89.00	142.00	53.00	0.53	90.00	150.00	60.00	0.60	0.58	0.04
10	89.00	136.00	47.00	0.47	90.00	140.00	50.00	0.50	0.51	0.05
15	90.00	126.00	36.00	0.36	90.00	130.00	40.00	0.40	0.44	0.11
20	90.00	118.00	28.00	0.28	90.00	128.00	38.00	0.38	0.41	0.13
25	91.00	116.00	25.00	0.25	90.00	122.00	32.00	0.32	0.39	0.15
30	91.00	114.00	23.00	0.23	90.00	120.00	30.00	0.30	0.38	0.15

ตารางที่ 15 % Whippability ของโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงที่ระยะเวลา 50 นาที

เวลา (นาที)	Rep 1				Rep 2				Rep 3			
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip
0	84.00	164.00	80.00	0.80	84.00	154.00	70.00	0.70	86.00	156.00	70.00	0.70
1	88.00	164.00	76.00	0.76	87.00	154.00	67.00	0.67	88.00	156.00	68.00	0.68
2	88.00	164.00	76.00	0.76	88.00	154.00	66.00	0.66	89.00	156.00	67.00	0.67
3	89.00	164.00	75.00	0.75	89.00	154.00	65.00	0.65	90.00	156.00	66.00	0.66
4	90.00	164.00	74.00	0.74	89.00	154.00	65.00	0.65	90.00	156.00	66.00	0.66
5	90.00	164.00	74.00	0.74	89.50	154.00	64.50	0.65	90.00	156.00	66.00	0.66
10	90.00	154.00	64.00	0.64	89.50	150.00	60.50	0.61	90.00	153.00	63.00	0.63
15	90.00	152.00	62.00	0.62	90.00	142.00	52.00	0.52	90.00	140.00	50.00	0.50
20	90.00	150.00	60.00	0.60	90.00	140.00	50.00	0.50	91.00	138.00	47.00	0.47
25	91.00	150.00	59.00	0.59	90.00	135.00	45.00	0.45	91.00	132.00	41.00	0.41
30	91.50	148.00	56.50	0.57	90.00	135.00	45.00	0.45	91.00	132.00	41.00	0.41

เวลา (นาที)	Rep 4				Rep 5				ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip		
0	86.00	154.00	68.00	0.68	86.00	152.00	66.00	0.66	0.71	0.05
1	88.00	154.00	66.00	0.66	89.00	152.00	63.00	0.63	0.68	0.05
2	90.00	154.00	64.00	0.64	90.00	152.00	62.00	0.62	0.67	0.05
3	90.00	154.00	64.00	0.64	90.00	152.00	62.00	0.62	0.66	0.05
4	91.00	154.00	63.00	0.63	90.50	152.00	61.50	0.62	0.66	0.05
5	91.00	154.00	63.00	0.63	90.50	152.00	61.50	0.62	0.66	0.05
10	91.00	150.00	59.00	0.59	91.00	150.00	59.00	0.59	0.61	0.02
15	91.00	142.00	51.00	0.51	91.00	138.00	47.00	0.47	0.52	0.06
20	91.00	138.00	47.00	0.47	91.00	136.00	45.00	0.45	0.50	0.06
25	91.00	134.00	43.00	0.43	91.00	134.00	43.00	0.43	0.46	0.07
30	91.00	132.00	41.00	0.41	91.00	128.00	37.00	0.37	0.44	0.07

ตารางที่ ๗16 % Whippability ของโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงที่ระยะเวลา 60 นาที

เวลา (นาที)	Rep 1				Rep 2				Rep 3			
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip
0	84.00	154.00	70.00	0.70	84.00	156.00	72.00	0.72	86.00	156.00	70.00	0.70
1	86.00	154.00	68.00	0.68	88.00	156.00	68.00	0.68	88.00	156.00	68.00	0.68
2	87.50	154.00	66.50	0.67	89.00	156.00	67.00	0.67	89.00	156.00	67.00	0.67
3	88.00	154.00	66.00	0.66	89.50	156.00	66.50	0.67	89.50	156.00	66.50	0.67
4	88.50	154.00	65.50	0.66	90.00	156.00	66.00	0.66	90.00	156.00	66.00	0.66
5	89.00	154.00	65.00	0.65	90.00	156.00	66.00	0.66	90.00	155.00	65.00	0.65
10	90.00	154.00	64.00	0.64	91.00	155.00	64.00	0.64	90.50	155.00	64.50	0.65
15	90.00	139.00	49.00	0.49	91.00	138.00	47.00	0.47	91.00	140.00	49.00	0.49
20	90.00	138.00	48.00	0.48	91.00	134.00	43.00	0.43	91.00	135.00	44.00	0.44
25	91.00	126.00	35.00	0.35	91.00	128.00	37.00	0.37	91.00	128.00	37.00	0.37
30	91.00	126.00	35.00	0.35	91.00	124.00	33.00	0.33	91.00	124.00	33.00	0.33

เวลา (นาที)	Rep 4				Rep 5				ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip		
0	85.00	158.00	73.00	0.73	86.00	162.00	76.00	0.76	0.72	0.02
1	88.00	158.00	70.00	0.70	89.00	162.00	73.00	0.73	0.69	0.02
2	89.00	158.00	69.00	0.69	91.00	162.00	71.00	0.71	0.68	0.02
3	90.00	158.00	68.00	0.68	92.00	162.00	70.00	0.70	0.67	0.02
4	90.00	158.00	68.00	0.68	92.00	162.00	70.00	0.70	0.67	0.02
5	90.00	158.00	68.00	0.68	92.50	162.00	69.50	0.70	0.67	0.02
10	91.00	156.00	65.00	0.65	94.00	160.00	66.00	0.66	0.65	0.01
15	91.00	138.00	47.00	0.47	94.00	136.00	42.00	0.42	0.47	0.03
20	91.00	132.00	41.00	0.41	94.00	130.00	36.00	0.36	0.42	0.04
25	92.00	128.00	36.00	0.36	94.00	128.00	34.00	0.34	0.36	0.01
30	92.00	126.00	34.00	0.34	94.00	126.00	32.00	0.32	0.33	0.01

ตารางที่ ๑๗ % Whippability ของโปรตีนซีรีนที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงที่ระยะเวลา 90 นาที

เวลา (นาที)	Rep 1				Rep 2				Rep 3			
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip
0	84.00	160.00	76.00	0.76	85.00	154.00	69.00	0.69	84.00	156.00	72.00	0.72
1	84.00	160.00	76.00	0.76	87.00	154.00	67.00	0.67	87.00	156.00	69.00	0.69
2	88.00	160.00	72.00	0.72	88.00	154.00	66.00	0.66	88.00	156.00	68.00	0.68
3	89.00	160.00	71.00	0.71	89.00	154.00	65.00	0.65	89.00	156.00	67.00	0.67
4	90.00	160.00	70.00	0.70	89.00	154.00	65.00	0.65	90.00	156.00	66.00	0.66
5	90.00	160.00	70.00	0.70	90.00	154.00	64.00	0.64	90.00	156.00	66.00	0.66
10	91.00	140.00	49.00	0.49	90.00	135.00	45.00	0.45	90.00	142.00	52.00	0.52
15	92.00	138.00	46.00	0.46	91.00	135.00	44.00	0.44	90.00	136.00	46.00	0.46
20	92.00	138.00	46.00	0.46	91.00	135.00	44.00	0.44	92.00	136.00	44.00	0.44
25	92.00	148.00	56.00	0.56	91.00	126.00	35.00	0.35	92.00	134.00	42.00	0.42
30	92.00	132.00	40.00	0.40	91.00	130.00	39.00	0.39	92.00	136.00	44.00	0.44

เวลา (นาที)	Rep 4				Rep 5				ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip		
0	84.00	160.00	76.00	0.76	84.00	162.00	78.00	0.78	0.74	0.04
1	86.00	160.00	74.00	0.74	86.00	162.00	76.00	0.76	0.72	0.04
2	88.00	160.00	72.00	0.72	88.00	162.00	74.00	0.74	0.70	0.03
3	88.00	160.00	72.00	0.72	88.50	162.00	73.50	0.74	0.70	0.04
4	89.00	160.00	71.00	0.71	89.00	162.00	73.00	0.73	0.69	0.03
5	89.00	160.00	71.00	0.71	90.00	162.00	72.00	0.72	0.69	0.03
10	90.00	140.00	50.00	0.50	90.00	144.00	54.00	0.54	0.50	0.03
15	90.00	136.00	46.00	0.46	91.00	140.00	49.00	0.49	0.46	0.02
20	91.00	136.00	45.00	0.45	92.00	138.00	46.00	0.46	0.45	0.01
25	91.00	132.00	41.00	0.41	92.00	132.00	40.00	0.40	0.43	0.08
30	91.00	136.00	45.00	0.45	92.00	134.00	42.00	0.42	0.42	0.03

ตารางที่ ๑๗ % Whippability ของโปรตีนซีรีซินที่ผ่านการสกัดภายใต้ความดันและความร้อนสูงที่ระยะเวลา 90 นาที

เวลา (นาที)	Rep 1				Rep 2				Rep 3			
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip
0	84.00	160.00	76.00	0.76	85.00	154.00	69.00	0.69	84.00	156.00	72.00	0.72
1	84.00	160.00	76.00	0.76	87.00	154.00	67.00	0.67	87.00	156.00	69.00	0.69
2	88.00	160.00	72.00	0.72	88.00	154.00	66.00	0.66	88.00	156.00	68.00	0.68
3	89.00	160.00	71.00	0.71	89.00	154.00	65.00	0.65	89.00	156.00	67.00	0.67
4	90.00	160.00	70.00	0.70	89.00	154.00	65.00	0.65	90.00	156.00	66.00	0.66
5	90.00	160.00	70.00	0.70	90.00	154.00	64.00	0.64	90.00	156.00	66.00	0.66
10	91.00	140.00	49.00	0.49	90.00	135.00	45.00	0.45	90.00	142.00	52.00	0.52
15	92.00	138.00	46.00	0.46	91.00	135.00	44.00	0.44	90.00	136.00	46.00	0.46
20	92.00	138.00	46.00	0.46	91.00	135.00	44.00	0.44	92.00	136.00	44.00	0.44
25	92.00	148.00	56.00	0.56	91.00	126.00	35.00	0.35	92.00	134.00	42.00	0.42
30	92.00	132.00	40.00	0.40	91.00	130.00	39.00	0.39	92.00	136.00	44.00	0.44

เวลา (นาที)	Rep 4				Rep 5				ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip	ความสูง สารละลาย (ml)	ความสูง ของโฟม (ml)	ปริมาตร โฟม (ml)	%whip		
0	84.00	160.00	76.00	0.76	84.00	162.00	78.00	0.78	0.74	0.04
1	86.00	160.00	74.00	0.74	86.00	162.00	76.00	0.76	0.72	0.04
2	88.00	160.00	72.00	0.72	88.00	162.00	74.00	0.74	0.70	0.03
3	88.00	160.00	72.00	0.72	88.50	162.00	73.50	0.74	0.70	0.04
4	89.00	160.00	71.00	0.71	89.00	162.00	73.00	0.73	0.69	0.03
5	89.00	160.00	71.00	0.71	90.00	162.00	72.00	0.72	0.69	0.03
10	90.00	140.00	50.00	0.50	90.00	144.00	54.00	0.54	0.50	0.03
15	90.00	136.00	46.00	0.46	91.00	140.00	49.00	0.49	0.46	0.02
20	91.00	136.00	45.00	0.45	92.00	138.00	46.00	0.46	0.45	0.01
25	91.00	132.00	41.00	0.41	92.00	132.00	40.00	0.40	0.43	0.08
30	91.00	136.00	45.00	0.45	92.00	134.00	42.00	0.42	0.42	0.03

ตารางที่ ๘19 ปริมาณเปปไทด์ (nM) ของไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Pepsin ที่ pH 2.0 (จำลองสภาวะในกระเพาะอาหาร)

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 nm.	ระดับความเจือจาง	ปริมาณเปปไทด์ (nM)	ปริมาณเปปไทด์ (nM)xระดับความเจือจาง	ค่าเฉลี่ยปริมาณเปปไทด์ (nM)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ผงไฟโบรอิน + Control 0.1%Pepsin	0.080	2	0.469	0.938	0.943	0.0401
	0.078	2	0.453	0.906		
	0.083	2	0.493	0.986		
ผงไฟโบรอิน + 0.1%Pepsin	0.081	2	0.477	0.954	0.948	0.0244
	0.082	2	0.485	0.970		
	0.079	2	0.461	0.922		
ผงไฟโบรอิน + Control 1.0%Pepsin	0.165	10	1.147	11.467	11.972	0.4392
	0.175	10	1.226	12.265		
	0.174	10	1.219	12.185		
ผงไฟโบรอิน + 1.0%Pepsin	0.172	10	1.203	12.026	11.999	0.2007
	0.174	10	1.219	12.185		
	0.169	10	1.179	11.786		
ผงไฟโบรอิน + Control 2.0%Pepsin	0.306	10	2.271	22.711	21.967	0.6640
	0.294	10	2.175	21.754		
	0.290	10	2.144	21.435		
ผงไฟโบรอิน + 2.0%Pepsin	0.285	10	2.104	21.037	21.967	1.1059
	0.312	10	2.319	23.190		
	0.293	10	2.167	21.675		

ตารางที่ ผ20 ค่าปริมาณเปปไทด์ (nM) ของไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Trypsin ที่ pH 8.0 (จำลองสภาวะในลำไส้เล็ก)

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 nm.	ระดับความเจือจาง	ปริมาณเปปไทด์ (nM)	ปริมาณเปปไทด์ (nM)xระดับความเจือจาง	ค่าเฉลี่ยปริมาณเปปไทด์ (nM)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ผงไฟโบรอิน + Control 0.1%Trypsin	0.045	1	0.231	0.231	0.228	0.0376
	0.049	1	0.264	0.264		
	0.040	1	0.189	0.189		
ผงไฟโบรอิน + 0.1%Trypsin	0.092	1	0.623	0.623	0.645	0.0255
	0.094	1	0.640	0.640		
	0.098	1	0.673	0.673		
ผงไฟโบรอิน + Control 1.0%Trypsin	0.120	2	0.857	1.713	1.758	0.1072
	0.130	2	0.940	1.880		
	0.118	2	0.840	1.680		
ผงไฟโบรอิน + 1.0%Trypsin	0.181	2	1.365	2.731	2.731	0.0000
	0.181	2	1.365	2.731		
	0.181	2	1.365	2.731		
ผงไฟโบรอิน + Control 2.0%Trypsin	0.243	2	1.882	3.765	3.726	0.0347
	0.240	2	1.857	3.715		
	0.239	2	1.849	3.698		
ผงไฟโบรอิน + 2.0%Trypsin	0.327	2	2.583	5.166	5.088	0.0694
	0.319	2	2.516	5.033		
	0.321	2	2.533	5.066		

ตารางที่ ๒21 ค่าปริมาณเปปไทด์ (nM) ของไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย α -Chymotrypsin ที่ pH 8.0 (จำลองสถานะในลำไส้เล็ก)

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 nm.	ระดับความเจือจาง	ปริมาณเปปไทด์ (nM)	ปริมาณเปปไทด์ (nM)ระดับความเจือจาง	ค่าเฉลี่ยปริมาณเปปไทด์ (nM)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ผงไฟโบรอิน +Control 0.1% α -Crymotrypsin	0.076	2	0.490	0.979	0.996	0.1757
	0.088	2	0.590	1.179		
	0.067	2	0.415	0.829		
ผงไฟโบรอิน + 0.1% α -Crymotrypsin	0.135	2	0.982	1.963	2.063	0.1454
	0.151	2	1.115	2.230		
	0.137	2	0.998	1.997		
ผงไฟโบรอิน +Control 1.0% α -Crymotrypsin	0.056	20	0.323	6.455	6.344	0.5096
	0.052	20	0.289	5.788		
	0.058	20	0.339	6.789		
ผงไฟโบรอิน + 1.0% α -Crymotrypsin	0.129	20	0.932	18.632	17.909	1.1106
	0.117	20	0.832	16.631		
	0.128	20	0.923	18.465		
ผงไฟโบรอิน +Control 2.0% α -Crymotrypsin	0.131	20	0.948	18.966	19.021	0.5858
	0.135	20	0.982	19.633		
	0.128	20	0.923	18.465		
ผงไฟโบรอิน + 2.0% α -Crymotrypsin	0.356	20	2.825	56.497	55.496	1.5912
	0.355	20	2.817	56.330		
	0.339	20	2.683	53.661		

ตารางที่ ผ22 ค่า Acid Value และ % กรดไขมันอิสระ ของผงไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย lipase ที่ pH 8.0 นาน 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	น้ำหนัก ตัวอย่าง	ปริมาตร 0.1193N KOH (ml)	%Acid Value	% Free fatty acid
Blank-1	9.5021	0.05	0.00	0.00
Blank-2	9.5043	0.05	0.00	0.00
Blank-3	9.4912	0.05	0.00	0.00
ผงไฟโบรอิน+	9.6907	0.05	0.00	0.00
Control	9.5458	0.05	0.00	0.00
0.1%Lipase	9.5279	0.05	0.00	0.00
ผงไฟโบรอิน+	9.5346	0.05	0.00	0.00
0.1%Lipase	9.6212	0.05	0.00	0.00
	9.5408	0.05	0.00	0.00
ผงไฟโบรอิน+	9.5049	0.05	0.00	0.00
Control	9.6311	0.05	0.00	0.00
1.0%Lipase	9.5820	0.05	0.00	0.00
ผงไฟโบรอิน+	9.6600	0.05	0.00	0.00
1.0%Lipase	9.6401	0.05	0.00	0.00
	9.5678	0.05	0.00	0.00
ผงไฟโบรอิน+	9.4989	0.05	0.00	0.00
Control	9.5432	0.05	0.00	0.00
2.0%Lipase	9.6018	0.05	0.00	0.00
ผงไฟโบรอิน+	9.4598	0.05	0.00	0.00
2.0%Lipase	9.5749	0.05	0.00	0.00
	9.6500	0.05	0.00	0.00

ตารางที่ ๒๓ ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการย่อย Dressing จากน้ำมันมะพร้าวอินไซม์ไลเปส ที่ pH 8.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	น้ำหนัก ตัวอย่าง (g)	ปริมาตร 0.1193N KOH (ml)	% Acid Value	% Acid Value โดยเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน	% Free Fatty Acid	%Free Fatty Acid โดย เฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
Control	10.1103	1.7000	1.0923			0.5490		
	10.1209	1.7000	1.0911	1.0846	0.0123	0.5485	0.5452	0.006205
	10.0048	1.6500	1.0703			0.5380		
Dressing+1.0%(w/v) ไฟโบรอิน	10.0423	1.6500	1.0663			0.5360		
	10.1125	1.7000	1.0920	1.0761	0.0139	0.5489	0.5409	0.006974
	10.0070	1.6500	1.0701			0.5379		
Dressing+2.5%(w/v) ไฟโบรอิน	10.0435	1.7000	1.0995			0.5527		
	10.1863	1.6000	1.0184	1.0557	0.0410	0.5119	0.5307	0.02059
	10.2077	1.6500	1.0490			0.5273		
Dressing+5.0%(w/v) ไฟโบรอิน	10.0527	1.5500	0.9986			0.5020		
	10.0698	1.7000	1.0966	1.0541	0.0503	0.5513	0.5299	0.025268
	10.0352	1.6500	1.0671			0.5364		

ตารางที่ ๒๒๔ ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการย่อย Dressing จากน้ำมันมะกอกด้วยเอนไซม์ไลเปส ที่ pH 8.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	น้ำหนักตัวอย่าง (g)	ปริมาตร 0.1193N KOH (ml)	% Acid Value	% Acid Value โดยเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% Free Fatty Acid	%Free Fatty Acid โดยเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
Control	10.0024	1.8500	1.2044	1.2135	0.0162	0.6054	0.6100	0.0082
	10.0061	1.8500	1.2040					
	10.0478	1.9000	1.2323					
Dressing+1.0%(w/v) ไฟโบรอิน	10.0091	1.8500	1.2036	1.1923	0.0202	0.6050	0.5994	0.0102
	10.0192	1.8000	1.1690					
	10.0023	1.8500	1.2044					
Dressing+2.5%(w/v) ไฟโบรอิน	10.0045	1.8500	1.2041	1.1916	0.0211	0.6053	0.5990	0.0106
	10.0108	1.8500	1.2034					
	10.0345	1.8000	1.1672					
Dressing+5.0%(w/v) ไฟโบรอิน	10.0089	1.8500	1.2036	1.2035	0.0331	0.6050	0.6050	0.0166
	10.0137	1.9000	1.2365					
	10.0075	1.8000	1.1703					

ส่วนที่ 2 วิธีการวิเคราะห์ขนาดน้ำหนักโมเลกุลและการวิเคราะห์ปริมาณเปปไทด์

การหาน้ำหนักโมเลกุลของผงไหม ตาม Protocol ของ Sigma

1.1 การเตรียมสารเคมีสำหรับ SDS-PAGE

1.1.1 Sample Buffer

Sodium phosphate, anhydrous, monobasic (NaH_2PO_4) น้ำหนัก	0.34	กรัม
Sodium phosphate, anhydrous, dibasic (Na_2HPO_4) น้ำหนัก	1.02	กรัม
Sodium dodecyl sulfate (SDS; lauryl sulfate) น้ำหนัก	1.00	กรัม
ยูเรีย (Urea) น้ำหนัก	36.00	กรัม
Bromophenol blue น้ำหนัก	0.015	กรัม
2-Mercaptoethanol ปริมาตร	1.00	มิลลิลิตร

ละลายสารเคมีข้างต้นในน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร โดยการกวนตลอดเวลา แล้วทำการปรับพีเอชของสารละลายให้มีค่าเท่ากับ 7 (pH 7) ปรับปริมาตรของสารละลายให้ครบ 100 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) เก็บสารละลายดังกล่าวในภาชนะที่มีฝาปิดสนิทและเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2–8 °C

1.1.2. Stock Buffer

Sodium phosphate, anhydrous, monobasic (NaH_2PO_4) น้ำหนัก	6.80	กรัม
Sodium phosphate, anhydrous, dibasic (Na_2HPO_4) น้ำหนัก	20.45	กรัม
Sodium dodecyl sulfate (SDS; lauryl sulfate) น้ำหนัก	2.00	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 900 มิลลิลิตร แล้วทำการปรับพีเอชของสารละลายให้มีค่าเท่ากับ 7 (pH 7) จากนั้นนำมาทำการปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร เก็บสารละลายในภาชนะที่ปิดสนิทและเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2–8 °C

1.1.3. Acrylamide Gel

Acrylamide: 15.0% acrylamide (w/v), 0.4% bis-acrylamide (w/v)

Acrylamide น้ำหนัก	15.0	กรัม
$\text{N,N}'$ -Methylene-bis-acrylamide น้ำหนัก	0.4	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นทำการกำจัดส่วนที่ไม่ละลายด้วยการกรอง เก็บสารละลายที่ผ่านการกรองแล้วในภาชนะที่บดแสงปิดสนิท แล้วเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2–8 °C

หมายเหตุ: สวมถุงมือทุกครั้งหากต้องเกี่ยวข้องกับสารตัวนี้ เนื่องจาก acrylamide เป็น neurotoxin

1.1.4. TEMED

N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.1.5. Ammonium Persulfate Solution

ทำการละลาย Ammonium Persulfate Solution น้ำหนัก 100 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตรเก็บในตู้เย็น 2-8 °C และที่มีค ควรถือใหม่ทุกสัปดาห์

1.1.6. Brilliant Blue R Staining Solution:

Coomassie blue	5	กรัม
Ethanol	450	มิลลิลิตร
Acetic acid	100	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร		

1.1.7. Destaining Reagent:

Methanol	400	มิลลิลิตร
Glacial acetic acid	70	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	530	มิลลิลิตร

1.1.8. Tank Buffer

Stock Buffer	500	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

1.1.9. Marker

1.1.9.1 Phosphorylase B Cross-link (Sigmaaldrich)

1.1.9.2 Prestained SDS-PAGE standards Broad Range (Bio-Rad)

1.2 วิธีการทดลอง

1.2.1 การเตรียมสารผสมของ Gel

การเตรียม gel ที่มีความเข้มข้น 3.5%

Stock buffer	5.625	มิลลิลิตร
Acrylamide Gel	2.625	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	2.425	มิลลิลิตร

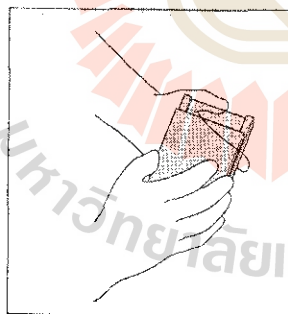
Ammonium Persulfate	562.5	ไมโครลิตร
TEMED	18.75	ไมโครลิตร
การเตรียม gel ที่มีความเข้มข้น 7.0%		
Stock buffer	5.000	มิลลิลิตร
Acrylamide Gel	4.670	มิลลิลิตร
Ammonium Persulfate	500.0	ไมโครลิตร
TEMED	16.67	ไมโครลิตร

ลำดับขั้นตอนในการผสมสารเหล่านี้ คือ

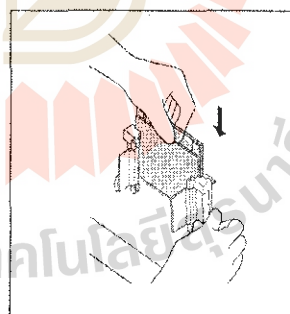
1. ผสม Stock buffer และ Acrylamide Gel เข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่น นำไป Sonicate ภายใต้สุญญากาศ เพื่อไล่ฟองอากาศออกให้มากที่สุดเนื่องจาก O_2 มีผลขัดขวาง polymerization ของ acrylamide
2. เติม Ammonium persulfate และ TEMED เป็นตัวสุดท้าย โดย TEMED ควรเติมเมื่อพร้อมที่จะ pour gel เพราะเมื่อเติม TEMED แล้ว เจลจะ polymerize โดยเร็ว

1.2.2 ขั้นตอนในการ pour gel

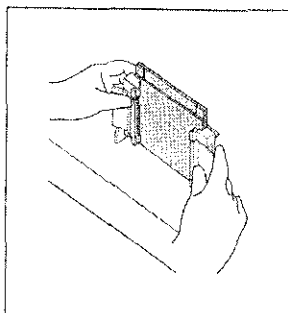
1. ทำความสะอาดแผ่นกระจกให้สะอาดโดยใช้เอทานอล (Ethanol) ต้องดูให้แน่ใจว่าไม่มีเศษผง ฝุ่น ตะออง เกาะอยู่ที่กระจก
2. ประกอบกระจก ดังแสดงในรูป ผ1



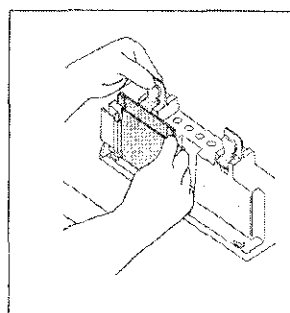
a. Place a Short Plate on top of the Spacer Plate.



b. Slide the two plates into the Casting Frame keeping the Short Plate facing front.



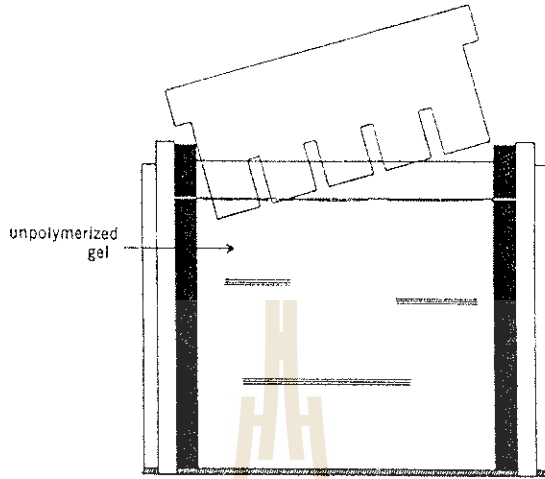
c. Lock the pressure cams to secure the glass plates.



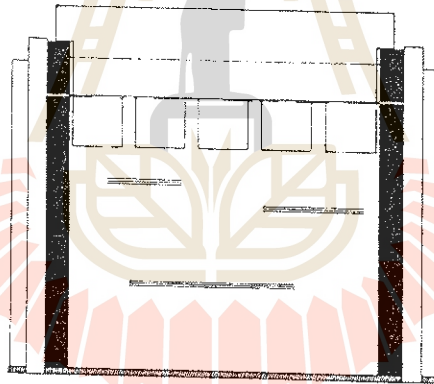
d. Secure the Casting Frame in the Casting Stand by engaging the spring loaded lever.

รูปที่ ผ1 Assembling the Mini-PROTEAN 3 casting stand and frame.

3. เทสารผสมสำหรับเจลให้เต็มขอบกระจก และใส่ comb โดยพยายามให้เกิดฟองอากาศน้อยที่สุด ดังแสดงในรูป

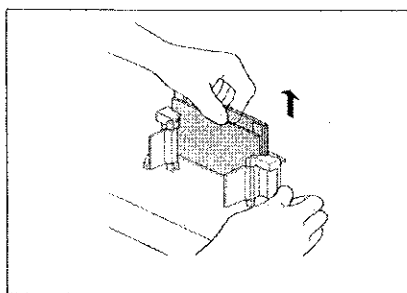


4. รอให้เกิด polymerization ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30-60 นาที

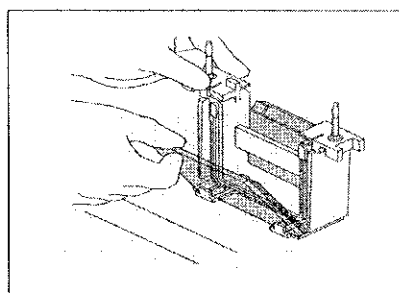


1.2.3 ขั้นตอนการ load ตัวอย่าง

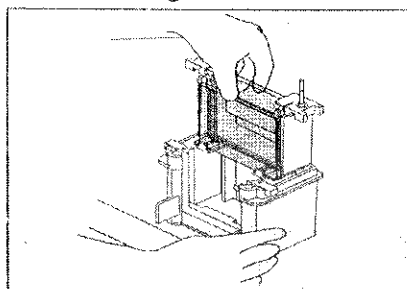
1. ถอด comb ออกด้วยความระมัดระวัง และประกอบแผ่นกระจกที่มีแผ่นเจลอยู่ตรงกลางเข้ากับชุด Mini-PROTEAN 3 assembly ดังแสดงในรูป ผ2



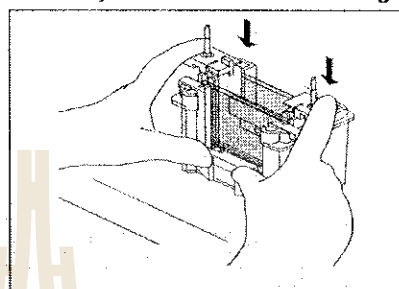
a. Remove the Gel Cassette Sandwich from the Casting Frame.



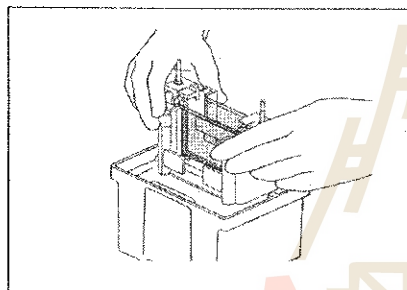
b. Place Gel Cassette Sandwich into the Electrode Assembly with the Short Plate facing inward.



c. Slide Gel Cassette Sandwiches and Electrode Assembly into the clamping frame.



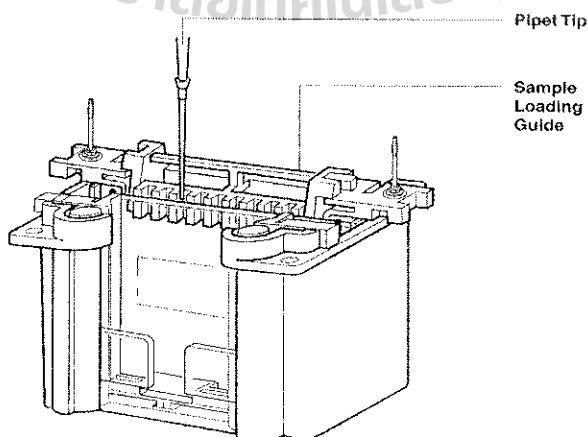
d. Press down on the Electrode Assembly while closing the two cam levers of the Clamping Frame.



e. Lower the Inner Chamber into the Mini Tank.

รูปที่ ผ2 Mini-PROTEAN 3 assembly

2. Rinse แต่ละ well ด้วย tank buffer
3. ทำการ load ตัวอย่างสารละลาย โปรตีน ดังแสดงในรูปที่ ผ3 ระวังอย่าให้ตัวอย่างล้นออกนอก well และไม่ควร load ตัวอย่างที่ well ริมสุดทั้ง 2 ด้าน



รูปที่ ผ3 The sample loading

4. เติมสารละลาย tank buffer ลงใน chamber และต่อเข้ากับเครื่อง power supply โดย run ที่ voltage ที่เหมาะสมกับความเข้มข้นของแผ่นเจล
5. run จนกระทั่ง front dye เคลื่อนที่เกือบสุดแผ่นเจล แต่ต้องระวังไม่ให้ front dye เคลื่อนที่ออกนอกแผ่นเจล มิฉะนั้นจะคำนวณ molecular weight ไม่ได้
6. ปิด power supply นำตัวอย่างออกจาก tank buffer และถ่ายเจลจากแผ่นกระจกใส่ใน staining solution ต้องทำด้วยความระมัดระวัง มิฉะนั้นเจลอาจฉีกขาด
7. Stain เจลเป็นเวลา 30 -120 นาที เท staining solution ทิ้ง และเติม destaining reagent
8. Destaining จน dye ถูกล้างออกจากแผ่นเจล และเห็น protein band ชัดเจน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วย TNBS

1. การเตรียมสารเคมี

1.1 0.2125 M Phosphate (pH 8.2)

ละลาย 30.1665 g Na_2HPO_4 ใน deionized water 900 ml ปรับ pH ให้ได้ 8.2 ด้วย 1.0 N HCl
ปรับปริมาตรครบ 1,000 ml เก็บในตู้เย็น

1.2 1.0% Sodium dodecyl sulfate, SDS

ละลาย 10 g SDS ใน deionized water ปรับปริมาตรครบ 1,000 ml

1.3 10 mM L-Lucine

ละลาย 131.18 mg L-Lucine ($\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$) ใน 1.0% SDS ปรับปริมาตรครบ 100 ml

1.4 0.05% TNBS

เจือจาง 1.0 ml 5% TNBS ใน deionized water ปรับปริมาตรครบ 100 ml เก็บไว้ในตู้เย็น ในขวดสีชา เตรียมก่อนใช้เท่านั้น เพราะ TNBS มีความไวต่อแสงมาก

1.5 0.1 N HCl

สารละลาย conc. HCl 37% ปริมาตร 8.3 ml ใส่ใน deionized water 900 ml ปรับปริมาตรครบ 1,000 ml

การเตรียม Standard L-Lucine

ความเข้มข้น (mM L-Lucine)	0 (blank)	1	2	4	6	8	10
L-Lucine (μl)	0	10	20	40	60	80	100
1.0% SDS (μl)	100	90	80	60	40	20	0

2. วิธีการวิเคราะห์

- เติมน้ำตัวอย่างปริมาตร 100 μ l ลงในหลอดทดลอง (เจือจางด้วย 1.0% SDS ในกรณีที่มีความเข้มข้นเกิน 10 mM L-Lucine)
- เติม 0.2125 M Phosphate pH 8.2 ปริมาตร 1 ml ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน
- เติม 0.05% TNBS ปริมาตร 1 ml ผสมให้เข้ากัน
- นำไปป้อนที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (dark)
- ริมเติม 0.1N HCl ปริมาตร 2 ml ทันที ผสมให้เข้ากัน
- ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
- นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Visible spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 420 nm



ส่วนที่ 3 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดของสารสกัดโปรตีนชิริชิน

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class Levels Values

SILK 7 S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 21

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: SOLID

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.88713831	0.14785638	85.18	0.0001
Error	14	0.02430197	0.00173586		
Corrected Total	20	0.91144028			

R-Square	C.V.	Root MSE	SOLID Mean
0.973337	0.193635	0.04166360	21.51660000

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
SILK	6	0.88713831	0.14785638	85.18	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: SOLID

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha=0.05 df= 14 MSE= 0.001736

Number of Means 2 3 4 5 6 7

Critical Range .07296 .07645 .07861 .08006 .08110 .08186

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	SILK
A	21.86980	3	S90
B	21.68010	3	S12
C	21.59167	3	S60
D	21.46780	3	S30
D	21.41910	3	S50
D	21.41110	3	S40
E	21.17663	3	S20

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำของผงโปรตีน

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class Levels Values
SILK 8 FIB S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 24

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PERCENT

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	1612715.98980000	230387.99854286	929.15	0.0001
Error	16	3967.27453333	247.95465833		
Corrected Total	23	1616683.26433333			

R-Square C.V. Root MSE PERCENT Mean
0.997546 5.361114 15.74657608 293.71833333

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
SILK	7	1612715.98980000	230387.99854286	929.15	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: PERCENT

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 247.9547

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8
Critical Range	27.26	28.58	29.41	29.98	30.39	30.69	30.93

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	SILK
A	757.10	3	S20
B	566.65	3	S30
C	475.01	3	S40
D	233.77	3	FIB
D	215.23	3	S50
E	80.90	3	S60
F	16.35	3	S90
F	4.73	3	S12

ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสามารถในการละลายน้ำของผงโปรตีน

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
SILK	8	FIB S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 24

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PERCENT

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	17753.45928600	2536.20846943	1054.22	0.0001
Error	16	38.49234944	2.40577184		
Corrected Total	23	17791.95163544			

R-Square	C.V.	Root MSE	PERCENT Mean
0.997837	3.015416	1.55105507	51.43752083

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
SILK	7	17753.45928600	2536.20846943	1054.22	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: PERCENT

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 2.405772

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8
Critical Range	2.685	2.815	2.897	2.953	2.993	3.023	3.046

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	SILK
A	87.560	3	S12
B	83.405	3	S90
C	73.761	3	S60
D	56.186	3	S50
E	41.586	3	S40
F	35.589	3	S30
G	29.144	3	S20
H	4.268	3	FIB

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำมันของผงโปรตีน

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
SILK	8	FIB S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 24

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PERCENT

Source	DF	Sum of Squares	Mean S quare	F Value	Pr > F
Model	7	173117.66010607	24731.09430087	1500.63	0.0001
Error	6	263.68780729	16.48048796		
Corrected Total	23	173381.34791337			

R-Square	C.V.	Root MSE	PERCENT Mean
0.998479	1.212621	4.05961673	334.78037500

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
SILK	7	173117.66010607	24731.09430087	1500.63	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: PERCENT

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 16.48049

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8
Critical Range	7.027	7.369	7.582	7.729	7.834	7.913	7.973

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	SILK
A	416.554	3	S20
B	403.599	3	S30
C	371.283	3	S40
C	367.013	3	S50
D	348.385	3	S60
E	329.936	3	S90
F	314.788	3	S12
G	126.686	3	FIB

ผลการวิเคราะห์ดัชนีบ่งชี้ความเป็นไฮโดรฟอบิกที่บริเวณพื้นผิวของโปรตีน (Surface Hydrophobicity)

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class Levels Values

SILK 7 S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 21

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: FI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	51012.37213267	8502.06202211	62.16	0.0001
Error	14	1914.80166600	136.77154757		

Corrected Total 20 52927.17379867

R-Square	C.V.	Root MSE	FI Mean
0.963822	2.409746	11.69493683	485.31833333

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
SILK	6	51012.37213267	8502.06202211	62.16	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: FI

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 14 MSE= 136.7715

Number of Means 2 3 4 5 6 7

Critical Range 20.48 21.46 22.06 22.47 22.76 22.98

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	SILK
A	562.910	3	S20
B	526.172	3	S30
C	492.192	3	S40
C	486.268	3	S50
D C	474.298	3	S60
D	463.076	3	S90
E	392.311	3	S12

ผลการวิเคราะห์ความเป็นอิมัลชันไฟเออร์ของโปรตีน

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
SILK	8	FIB S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 24

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: EAI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	44405.57935729	6343.65419390	473.44	0.0001
Error	16	214.38476533	13.39904783		
Corrected Total	23	44619.96412262			

R-Square	C.V.	Root MSE	EAI Mean
0.995195	4.346482	3.66047099	84.21687500

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
SILK	7	44405.57935729	6343.65419390	473.44	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: EAI

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 13.39905

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8
Critical Range	6.336	6.644	6.837	6.969	7.064	7.135	7.190

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	SILK
A	130.503	3	S20
B	120.708	3	S30
C B	116.992	3	S40
C	112.202	3	S50
D	92.734	3	S60
E	51.772	3	S90
E	48.823	3	S12
F	0.000	3	FIB

ผลการวิเคราะห์ความคงตัวของอิมัลชัน

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
SILK	8	FIB S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 24

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: EAI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	5336.10043983	762.30006283	56.53	0.0001
Error	16	215.76687000	13.48542937		
Corrected Total	23	5551.86730983			

R-Square	C.V.	Root MSE	EAI Mean
0.961136	9.600887	3.67225127	38.24908333

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
SILK	7	5336.10043983	762.30006283	56.53	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: EAI

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 13.48543

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8
Critical Range	6.356	6.665	6.859	6.991	7.087	7.158	7.213

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	SILK
A	49.837	3	S20
B A	46.951	3	S50
B A	45.016	3	S90
B A C	43.143	3	S60
B C	42.836	3	S40
B C	41.700	3	S12
C	36.510	3	S30
D	0.000	3	FIB

ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 0 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาที ของซีริคีนที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	11	0M 10 15 1M 20 25 2M 30 3M 4M 5M

Number of observations in data set = 55

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	1.38521091	0.13852109	320.79	0.0001
Error	44	0.01900000	0.00043182		
Corrected Total	54	1.40421091			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.986469	3.871656	0.02078024	0.53672727

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	10	1.38521091	0.13852109	320.79	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 44 MSE= 0.000432

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Critical Range	.02649	.02785	.02875	.02940	.02989	.03029	.03061	.03088	.03110	.03129

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.70800	5	0M
B A	0.68600	5	1M
B	0.67400	5	2M
B	0.67000	5	3M
B	0.66800	5	4M
B	0.66400	5	5M

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
C	0.43800	5	10
D	0.39400	5	15
D	0.36800	5	20
E	0.32800	5	25
E	0.30600	5	30



ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 0 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาที ของซีริซันที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 30 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	11	0M 10 15 1M 20 25 2M 30 3M 4M 5M

Number of observations in data set = 55

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	1.08229091	0.10822909	54.54	0.0001
Error	44	0.08732000	0.00198455		
Corrected Total	54	1.16961091			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.925343	8.851709	0.04454824	0.50327273

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	10	1.08229091	0.10822909	54.54	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 44 MSE= 0.001985

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Critical Range	.05678	.05971	.06163	.06302	.06408	.06493	.06562	.06619	.06667	.06709

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.65400	5	0M
A	0.63400	5	1M
A	0.62400	5	2M
A	0.61600	5	3M
A	0.61000	5	4M
A	0.60600	5	5M

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
B	0.47200	5	10
C	0.38800	5	15
D C	0.34400	5	20
D E	0.30400	5	25
E	0.28400	5	30



ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 0 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาที ของซีริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 40 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class Levels Values

TIME 11 0M 10 15 1M 20 25 2M 30 3M 4M 5M

Number of observations in data set = 55

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	0.44489091	0.04448909	5.51	0.0001
Error	44	0.35540000	0.00807727		
Corrected Total	54	0.80029091			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.555911	17.37452	0.08987365	0.51727273

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	10	0.44489091	0.04448909	5.51	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 44 MSE= 0.008077

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Critical Range	.1146	.1205	.1243	.1271	.1293	.1310	.1324	.1335	.1345	.1353

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.62000	5	0M
A	0.60200	5	1M
A	0.59200	5	2M
A	0.58600	5	3M
A	0.58200	5	4M
A	0.58000	5	5M

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
B A	0.50800	5	10
B C	0.44200	5	15
B C	0.41000	5	20
B C	0.38800	5	25
C	0.38000	5	30



ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 0 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาที ของซีริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 50 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class Levels Values

TIME 11 0M 10 15 1M 20 25 2M 30 3M 4M 5M

Number of observations in data set = 55

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	1.08229091	0.10822909	54.54	0.0001
Error	44	0.08732000	0.00198455		
Corrected Total	54	1.16961091			

R-Square

C.V.

Root MSE

WHIP Mean

0.925343

8.851709

0.04454824

0.50327273

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	10	1.08229091	0.10822909	54.54	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 44 MSE= 0.001985

Number of Means 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

Critical Range .05678 .05971 .06163 .06302 .06408 .06493 .06562 .06619 .06667 .06709

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.65400	5	0M
A	0.63400	5	1M
A	0.62400	5	2M
A	0.61600	5	3M
A	0.61000	5	4M
A	0.60600	5	5M

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
B	0.47200	5	10
C	0.38800	5	15
D C	0.34400	5	20
D E	0.30400	5	25
E	0.28400	5	30



ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 0 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาที ของซีริซันที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 60 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class Levels Values

TIME 11 0M 10 15 1M 20 25 2M 30 3M 4M 5M

Number of observations in data set = 55

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	1.10093455	0.11009345	217.81	0.0001
Error	44	0.02224000	0.00050545		
Corrected Total	54	1.12317455			

R-Square 0.980199
 C.V. 3.897029
 Root MSE 0.02248232
 WHIP Mean 0.57690909

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	10	1.10093455	0.11009345	217.81	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 44 MSE= 0.000505

Number of Means 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

Critical Range .02866 .03014 .03110 .03181 .03234 .03277 .03311 .03340 .03365 .03386

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.72200	5	0M
B A	0.69400	5	1M
B	0.68200	5	2M
B C	0.67600	5	3M
B C	0.67200	5	4M
B C	0.66800	5	5M

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
C	0.64800	5	10
D	0.46800	5	15
E	0.42400	5	20
F	0.35800	5	25
F	0.33400	5	30



ผลวิเคราะห์การเกิดฟอง (% Whippability) ที่ 0 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาที ของซีริคินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 90 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class Levels Values

TIME 11 0M 10 15 1M 20 25 2M 30 3M 4M 5M

Number of observations in data set = 55

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	0.92073091	0.09207309	62.44	0.0001
Error	44	0.06488000	0.00147455		
Corrected Total	54	0.98561091			

R-Square 0.934173
 C.V. 6.494433
 Root MSE 0.03839981
 WHIP Mean 0.59127273

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	10	0.92073091	0.09207309	62.44	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 44 MSE= 0.001475

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Critical Range	.04895	.05147	.05313	.05432	.05524	.05597	.05656	.05705	.05747	.05783

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.74200	5	0M
B A	0.72400	5	1M
B A	0.70400	5	2M
B A	0.69800	5	3M
B A	0.69000	5	4M
B	0.68600	5	5M

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
C	0.50000	5	10
D C	0.46200	5	15
D C	0.45000	5	20
D	0.42800	5	25
D	0.42000	5	30



ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 0 1 2 3 4 5 10 15 20 25 และ 30 นาที ของซีริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class Levels Values

TIME 11 0M 10 15 1M 20 25 2M 30 3M 4M 5M

Number of observations in data set = 55

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	0.88109818	0.08810982	108.29	0.0001
Error	44	0.03580000	0.00081364		
Corrected Total	54	0.91689818			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.960955	4.602045	0.02852431	0.61981818

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	10	0.88109818	0.08810982	108.29	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

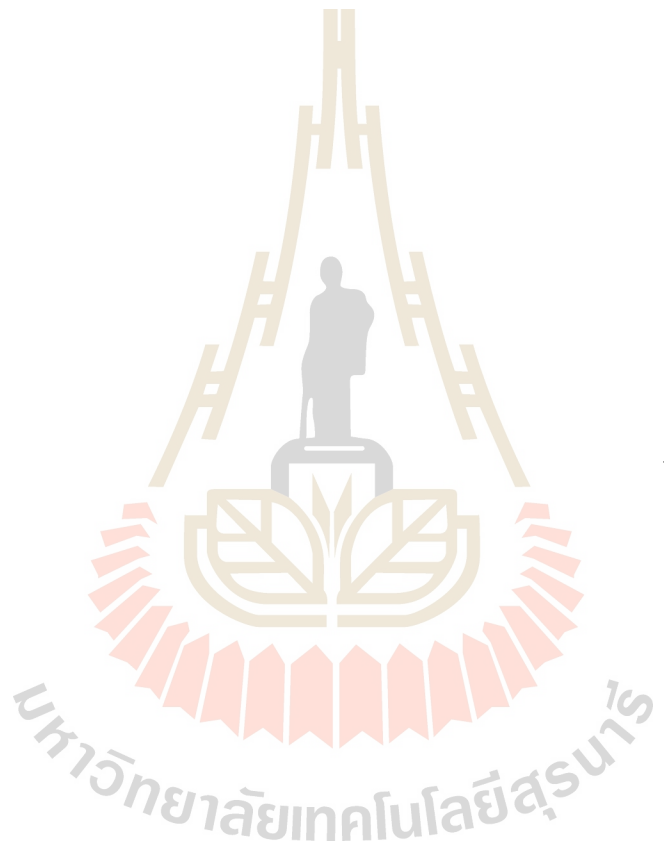
Alpha= 0.05 df= 44 MSE= 0.000814

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Critical Range	.03636	.03823	.03946	.04035	.04103	.04157	.04201	.04238	.04269	.04296

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.77400	5	0M
B A	0.74400	5	1M
B	0.72600	5	2M
B	0.72000	5	3M
B	0.71200	5	4M
B	0.70600	5	5M

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
C	0.56800	5	10
D	0.51200	5	15
E D	0.47600	5	20
E F	0.44800	5	25
F	0.43200	5	30



ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 0 นาทีของซีริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.08128000	0.01354667	8.04	0.0001
Error	28	0.04716000	0.00168429		
Corrected Total	34	0.12844000			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.632825	5.829553	0.04104005	0.70400000

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.08128000	0.01354667	8.04	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.001684

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	.05317	.05587	.05761	.05885	.05978	.06051

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.77400	5	S12
B A	0.74200	5	S90
B A	0.72200	5	S60
B C	0.70800	5	S50
B C	0.70800	5	S20
D C	0.65400	5	S30
D	0.62000	5	S40

ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 1 นาทีของซีริคตินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.07230857	0.01205143	7.20	0.0001
Error	28	0.04688000	0.00167429		
Corrected Total	34	0.11918857			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.606674	6.012306	0.04091804	0.68057143

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.07230857	0.01205143	7.20	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.001674

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	.05301	.05570	.05744	.05868	.05961	.06033

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	IME
A	0.74400	5	S12
B A	0.72400	5	S90
B A	0.69400	5	S60
B C	0.68600	5	S20
B C	0.68000	5	S50
D C	0.63400	5	S30
D	0.60200	5	S40

ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 2 นาทีของซีริจิ้นที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.06302857	0.01050476	6.93	0.0001
Error	28	0.04244000	0.00151571		
Corrected Total	34	0.10546857			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.597605	5.833160	0.03893218	0.66742857

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.06302857	0.01050476	6.93	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.001516

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	.05044	.05300	.05465	.05583	.05671	.05741

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.72600	5	S12
B A	0.70400	5	S90
B A	0.68200	5	S60
B A C	0.67400	5	S20
B C	0.67000	5	S50
D C	0.62400	5	S30
D	0.59200	5	S40

ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 3 นาทีของซีริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.06406857	0.01067810	7.23	0.0001
Error	28	0.04136000	0.00147714		
Corrected Total	34	0.10542857			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.607696	5.810698	0.03843362	0.66142857

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.06406857	0.01067810	7.23	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.001477

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	.04979	.05232	.05395	.05511	.05599	.05667

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.72000	5	S12
B A	0.69800	5	S90
B A	0.67600	5	S60
B A	0.67000	5	S20
B C	0.66400	5	S50
D C	0.61600	5	S30
D	0.58600	5	S40

ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 4 นาทีของชิริชินี่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.06149714	0.01024952	7.90	0.0001
Error	28	0.03632000	0.00129714		
Corrected Total	34	0.09781714			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.628695	5.487834	0.03601587	0.65628571

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.06149714	0.01024952	7.90	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.001297

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	.04666	.04903	.05056	.05165	.05247	.05311

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.71200	5	S12
B A	0.69000	5	S90
B A	0.67200	5	S60
B A	0.66800	5	S20
B	0.66000	5	S50
C	0.61000	5	S30
C	0.58200	5	S40

ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 5 นาทีของซีริคินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.05915429	0.00985905	7.68	0.0001
Error	28	0.03596000	0.00128429		
Corrected Total	34	0.09511429			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.621929	5.489246	0.03583693	0.65285714

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.05915429	0.00985905	7.68	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.001284

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	.04643	.04878	.05031	.05139	.05221	.05284

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.70600	5	S12
A	0.68600	5	S90
A	0.66800	5	S60
A	0.66400	5	S20
A	0.66000	5	S50
B	0.60600	5	S30
B	0.58000	5	S40

ผลวิเคราะห์การเกิดฟอง (% Whippability) ที่ 10 นาทีของซีริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.17559429	0.02926571	35.20	0.0001
Error	28	0.02328000	0.00083143		
Corrected Total	34	0.19887429			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.882941	5.388188	0.02883450	0.53514286

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.17559429	0.02926571	35.20	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.000831

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	.03736	.03925	.04048	.04135	.04200	.04252

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.64800	5	S60
A	0.61200	5	S50
B	0.56800	5	S12
C	0.50800	5	S40
C	0.50000	5	S90
D C	0.47200	5	S30
D	0.43800	5	S20

ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 15 นาทีของซีริจินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.08301714	0.01383619	5.23	0.0010
Error	28	0.07404000	0.00264429		
Corrected Total	34	0.15705714			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.528579	11.28396	0.05142262	0.45571429

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.08301714	0.01383619	5.23	0.0010

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.002644

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	.06662	.07000	.07218	.07374	.07491	.07582

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.52400	5	S50
B A	0.51200	5	S12
B A	0.46800	5	S60
B A C	0.46200	5	S90
B D C	0.44200	5	S40
D C	0.39400	5	S20
D	0.38800	5	S30

ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 20 นาทีของชิริซีนที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.09293714	0.01548952	4.21	0.0038
Error	28	0.10292000	0.00367571		
Corrected Total	34	0.19585714			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.474515	14.28935	0.06062767	0.42428571

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.09293714	0.01548952	4.21	0.0038

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.003676

Number of Means	2	3	4	5	6	7	Means
Critical Range	.07854	.08253	.08511	.08694	.08832	.08940	

with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.49800	5	S50
B A	0.47600	5	S12
B A C	0.45000	5	S90
B D A C	0.42400	5	S60
B D C	0.41000	5	S40
D C	0.36800	5	S20
D	0.34400	5	S30

ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 25 นาทีของซีริซันที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.11116000	0.01852667	3.66	0.0082
Error	28	0.14160000	0.00505714		
Corrected Total	34	0.25276000			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.439785	18.32825	0.07111359	0.38800000

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.11116000	0.01852667	3.66	0.0082

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.005057

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	.0921	.0968	.0998	.1020	.1036	.1049

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.46200	5	S50
B A	0.44800	5	S12
B A	0.42800	5	S90
B A C	0.38800	5	S40
B C	0.35800	5	S60
C	0.32800	5	S20
C	0.30400	5	S30

ผลวิเคราะห์การเกิดโฟม (% Whippability) ที่ 30 นาทีของซีริซินที่ผ่านการสกัดที่ระยะเวลา 20 30 40 50 60 90 และ 120 นาที

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TIME	7	S12 S20 S30 S40 S50 S60 S90

Number of observations in data set = 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: WHIP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.12203429	0.02033905	4.46	0.0028
Error	28	0.12772000	0.00456143		
Corrected Total	34	0.24975429			

R-Square	C.V.	Root MSE	WHIP Mean
0.488617	18.19740	0.06753835	0.37114286

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TIME	6	0.12203429	0.02033905	4.46	0.0028

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: WHIP

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 28 MSE= 0.004561

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	.08750	.09194	.09481	.09685	.09839	.09959

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TIME
A	0.44200	5	S50
A	0.43200	5	S12
B A	0.42000	5	S90
B A C	0.38000	5	S40
B D C	0.33400	5	S60
D C	0.30600	5	S20
D	0.28400	5	S30

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเปปไทด์(mM) ของไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Pepsin ที่ pH 2.0
(จำลองสถานะในกระเพาะอาหาร)

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
REP	3	1 2 3
CONC	3	C01 C02 C03
ENZ	2	C P

Number of observations in data set = 18

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PEPTIDE

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	1327.31241722	189.61605960	582.49	0.0001
Error	10	3.25528056	0.32552806		
Corrected Total	17	1330.56769778			

R-Square	C.V.	Root MSE	PEPTIDE Mean
0.997553	4.904634	0.57055066	11.63288889

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
REP	2	0.54391478	0.27195739	0.84	0.4618
CONC	2	1326.76739244	663.38369622	2037.87	0.0001
ENZ	1	0.00053356	0.00053356	0.00	0.9685
CONC*ENZ	2	0.00057644	0.00028822	0.00	0.9991

Analysis of Variance Procedure

Student-Newman-Keuls test for variable: PEPTIDE

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate under the complete null hypothesis but not under partial null hypotheses.

Alpha= 0.05 df= 10 MSF= 0.325528

Number of Means 2 3

Critical Range 0.7339605 0.9030003

Means with the same letter are not significantly different.

SNK Grouping	Mean	N	CONC
A	21.9670	6	C03
B	11.9857	6	C02
C	0.9460	6	C01

Analysis of Variance Procedure

Student-Newman-Keuls test for variable: PEPTIDE

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate under the complete null hypothesis but not under partial null hypotheses.

Alpha= 0.05 df= 10 MSE= 0.325528

Number of Means 2

Critical Range 0.5992762

Means with the same letter are not significantly different.

SNK Grouping	Mean	N	ENZ
A	11.6383	9	P
A	11.6274	9	C

Level of Level of -----PEPTIDE-----

CONC	ENZ	N	Mean	SD
C01	C	3	0.9433333	0.04026578
C01	P	3	0.9486667	0.02444040
C02	C	3	11.9723333	0.43945572
C02	P	3	11.9990000	0.20086563
C03	C	3	21.9666667	0.66405145
C03	P	3	21.9673333	1.10586904

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเปปไทด์ (nM) ของไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย Trypsin ที่ pH 8.0
(จำลองสถานะในลำไส้เล็ก)

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
REP	3	1 2 3
CONC	3	C01 C02 C03
ENZ	2	C T

Number of observations in data set = 18

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PEPTIDE

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	51.89194939	7.41313563	2168.84	0.0001
Error	10	0.03418022	0.00341802		
Corrected Total	17	51.92612961			

R-Square	C.V.	Root MSE	PEPTIDE Mean
0.999342	2.474428	0.05846385	2.36272222

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
REP	2	0.00494978	0.00247489	0.72	0.5085
CONC	2	47.42075411	23.71037706	6936.87	0.0001
ENZ	1	3.78950450	3.78950450	1108.68	0.0001
CONC*ENZ	2	0.67674100	0.33837050	99.00	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Student-Newman-Keuls test for variable: PEPTIDE

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate under the complete null hypothesis but not under partial null hypotheses.

Alpha= 0.05 df= 10 MSE= 0.003418

Number of Means 2 3

Critical Range 0.0752083 0.0925297

Means with the same letter are not significantly different.

SNK Grouping	Mean	N	CONC
A	4.40717	6	C03
B	2.24433	6	C02
C	0.43667	6	C01

Analysis of Variance Procedure

Student-Newman-Keuls test for variable: PEPTIDE

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate under the complete null hypothesis but not under partial null hypotheses.

Alpha= 0.05 df= 10 MSE= 0.003418

Number of Means 2

Critical Range 0.0614073

Means with the same letter are not significantly different.

SNK Grouping	Mean	N	ENZ
A	2.82156	9	T
B	1.90389	9	C

Level of Level of -----PEPTIDE-----

CONC	ENZ	N	Mean	SD
C01	C	3	0.22800000	0.03758989
C01	T	3	0.64533333	0.02542309
C02	C	3	1.75766667	0.10722096
C02	T	3	2.73100000	0.00000000
C03	C	3	3.72600000	0.03482815
C03	T	3	5.08833333	0.06925557

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเปปไทด์ (µM) ของไฟโบรอินที่ผ่านการย่อยด้วย α -Crymotrypsin ที่ pH 8.0 (จำลองสถานะในลำไส้เล็ก)

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
REP	3	1 2 3
CONC	3	C01 C02 C03
ENZ	2	A C

Number of observations in data set = 18

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PEPTIDE

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	6239.82885572	891.40412225	1122.70	0.0001
Error	10	7.93983856	0.79398386		
Corrected Total	17	6247.76869428			

R-Square C.V. Root MSE PEPTIDE Mean
0.998729 5.250284 0.89105772 16.97161111

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
REP	2	0.90019011	0.45009506	0.57	0.5845
CONC	2	4040.98143211	2020.49071606	2544.75	0.0001
ENZ	1	1205.78146272	1205.78146272	1518.65	0.0001
CONC*ENZ	2	992.16577078	496.08288539	624.80	0.0001

Analysis of Variance Procedure

Student-Newman-Keuls test for variable: PEPTIDE

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate under the complete null hypothesis but not under partial null hypotheses.

Alpha= 0.05 df= 10 MSE= 0.793984

Number of Means 2 3

Critical Range 1.1462631 1.4102611

Means with the same letter are not significantly different.

SNK Grouping	Mean	N	CONC
A	37.2587	6	C03
B	12.1267	6	C02
C	1.5295	6	C01

Analysis of Variance Procedure

Student-Newman-Keuls test for variable: PEPTIDE

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate under the complete null hypothesis but not under partial null hypotheses.

Alpha= 0.05 df= 10 MSE= 0.793984

Number of Means 2

Critical Range 0.9359199

Means with the same letter are not significantly different.

SNK Grouping	Mean	N	ENZ
A	25.1562	9	A
B	8.7870	9	C

Level of Level of -----PEPTIDE-----

CONC	ENZ	N	Mean	SD
C01	A	3	2.0633333	0.14533524
C01	C	3	0.9956667	0.17559423
C02	A	3	17.9093333	1.11021364
C02	C	3	6.3440000	0.50964792
C03	A	3	55.4960000	1.59134880
C03	C	3	19.0213333	0.58596274

ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการย่อย Dressing จากน้ำมันมะพร้าวด้วยเอนไซม์ไลเปส ที่ pH 8.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
EXS	4	CON S10 S25 S50

Number of observations in data set = 12

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: ACV

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.00205841	0.00068614	0.60	0.6311
Error	8	0.00910098	0.00113762		
Corrected Total	11	0.01115939			

R-Square	C.V.	Root MSE	PERCENT Mean
0.184455	3.159273	0.03372866	1.06760833

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
EXS	3	0.00205841	0.00068614	0.60	0.6311

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: ACV

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 8 MSE= 0.001138

Number of Means 2 3 4

Critical Range .06350 .06618 .06767

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	EXS
A	1.08457	3	CON
A	1.07613	3	S10
A	1.05563	3	S25
A	1.05410	3	S50

ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการย่อย Dressing จากน้ำมันมะกอกด้วยเอนไซม์
ไลเปส ที่ pH 8.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
EXS	4	CON S10 S25 S50

Number of observations in data set = 12

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: ACV

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.00097726	0.00032575	0.59	0.6393
Error	8	0.00442557	0.00055320		
Corrected Total	11	0.00540283			

R-Square	C.V.	Root MSE	ACV Mean
0.180879	1.959629	0.02352012	1.20023333

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
EXS	3	0.00097726	0.00032575	0.59	0.6393

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: ACV

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 8 MSE= 0.000553

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.04428	.04615	.04719

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	EXS
A	1.21357	3	CON
A	1.20347	3	S50
A	1.19233	3	S10
A	1.19157	3	S25

ประวัติผู้เชี่ยวชาญ

ชื่อ ดร.มานิชญ์ สุธีร์วัฒนานนท์

ที่อยู่
102 หมู่ 5 ถ.รามอินทรา
แขวงคันทนาขาว เขตคันทนาขาว
กรุงเทพมหานคร 10230
โทรศัพท์ :0-2517-0751

สถานที่ทำงาน
สำนักเทคโนโลยีการเกษตร
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์/โทรสาร 044-224-230/044-224-1
E-mail : msutheera@yahoo.com

การศึกษา:

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี	หัวข้อวิทยานิพนธ์
Post-doc*	Food Science	University of	2542	UF Cheddar cheese
Ph.D.*	Food Science	Minnesota	2541	Physicochemical properties of
		University of		process cheese: Influence on
		Minnesota		meltability
MS*	Food Science		2537	Physical properties and
BS	Food	University of	2534	microstructure of extruded wheat
	Technology	Minnesota		-
BS	สาธารณสุข	Oregon State	2532	-
	ศาสตร์	University		

ประวัติการทำงาน:

อาจารย์มหาวิทยาลัย สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

งานวิจัยที่สำคัญ:

ผู้วิจัยหลัก

Physical Characteristics and Microstructure of Extruded Rice Pasta

Influence of extrusion parameters on textural properties and microstructure of expanded and non-expanded rice products

Qualities and contents of CLA (conjugated linoleic acids) in cow milk after pasteurization and UHT process

Increase of conjugated linoleic acid content in yogurt by fermentation with lactic acid bacteria

Surface modification of synthetic and natural fibers for protein coating

Effect of lactoperoxidase system in milk and UF Mozzarella cheese

Physicochemical properties of fibroin and sericin powders produced from silk cocoons and silk water

ผู้ร่วมวิจัย

Survey of Thailand food industry

A comparative study of characteristics, chemical composition and sensory qualities of hybrid native chicken, commercial broilers and laying male chicks

สิทธิบัตร

- 1) กรรมวิธีการผลิตพาสต้าข้าวเจ้า
- 2) กรรมวิธีการผลิตผงซีรีซินจากรังไหมแบบละลายได้ในน้ำร้อนและที่ละลายได้ในน้ำเย็น
- 3) กรรมวิธีการเคลือบเส้นใยฝ้ายด้วยโปรตีนซีรีซิน
- 4) กรรมวิธีการเคลือบเส้นใยสังเคราะห์ด้วยโปรตีนซีรีซิน
- 5) สูตรน้ำยาเคลือบผืนเส้นใยที่มีส่วนผสมของซีรีซิน

งานที่ปรึกษาบริษัทเอกชน:

Development of silk protein and mulberry for military supplies -- กองบิน 1 กองพล
บินที่ 2 กองบัญชาการทหารอากาศ

Rice pasta process for the commercial production-President Rice (MaMa) products public Co., LTD.

Process development for pellet using a twin-screw extruder-Beril Jocker Foods Limited

Development of process for incorporating sericin into synthetic and natural fibers-Thai Wacoal Public Company Limited; Textile Prestige Public Company Limited, Bangkok Thailand.

GMP and HACCP-ThaiSilk Products Co., LTD, Nakornratchasima, Thailand

Use of fluorescence imaging system to study Mozzarella cheese-Laprino Co. LTD, Denver Colorado, USA.

Method for detecting incomplete coating of polycarbon on zinc oxide microparticles use as bulking agents to treat woman with urinary incontinence – UroScience Co. LTD., Minisota, USA. Submitted reports to the USFDA.

Incorporation of native whey proteins into Cheddar cheese to increase yield using ultrafiltration system – Kraft Foods Co. LTD, Chicago, Illinois, USA.

งานวิจัยที่ตีพิมพ์ในต่างประเทศ:

Sutheerawattananonda, M. and Bastian, E. D. Influence of pH on flow/meltability of process cheese. *J. Dairy Sci.* 1998, 81(Supplement 1), 24. Presented at the 93rd Annual meeting of the American Dairy Science Association, Denver, Colorado. July 1998.

Sutheerawattananonda, M. and Bastian, E. D. Monitoring process cheese meltability using dynamic stress rheometry. *J. Texture Studies.* 1997, 29, 169-183. Presented at the 92nd Annual meeting of the American Dairy Science Association, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada. June 1997.

Sutheerawattananonda, M., Fulcher, R. G., Martin, F., and Bastian, E. D. Fluorescence image analysis of process cheese manufactured with trisodium citrate and sodium chloride. *J. Dairy Sci.* 1997, 80, 620-627.

Sutheerawattananonda, M. and Bastian, E. D. Fat globule evaluation in model process cheese using fluorescence imaging. *J. Dairy Sci.* 1996, 79(Supplement 1), 95. Presented at the 91st Annual meeting of the American Dairy Science Association, Oregon State University, Corvallis, Oregon. July 1996.

Sutheerawattananonda, M. and Bastian, E. D. Quantitative evaluation of fat distribution in process and natural cheeses using fluorescence imaging. *J. Dairy Sci.* 1995,

78(Supplement 1), 129. Presented at the 90th Annual meeting of the American Dairy Science Association, Cornell University, Ithaca, New York. June 1995.

Suthcerawattananonda, M., Bhattacharya, M., Moore, W., and Fulcher, R. G. Differences in physical properties and microstructure of wheat cultivar in extrusion qualities. *Cereal Chem.* 1994, 71, 627-631.

