

แบบสรุปผู้บริหาร
(Executive Summary)

1. รายละเอียดเกี่ยวกับแผนงานวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง การวิจัยและพัฒนาเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ

Research and Development of Siamese Crocodile Blood as Food Supplement for Health

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

- นางสาวจินดาวรรณ สิริันทวินิต** ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3262
- นายวิน เขยชมศรี** ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3264
- นางราตรี ลีละวงศ์เทวีญ** สาขาวิชาจุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยา สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
โทรศัพท์ 0-2926-9710 ต่อ 971
- นางกัญญา อารีย์** สาขาจุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยา สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
โทรศัพท์ 02-926-9710-1
- นางสาวสิรินดา กุสุมภ์** ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
โทรศัพท์ 02-564-4440 ต่อ 2550
- นางบริสุทธิ์ แสนมโน หาญพานิช** สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
โทรศัพท์ 02-929-9806
- นางสาวดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์** ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
โทรศัพท์ 0-2942-8629-35 ต่อ 906
- นางสาวเยาวดี คุปตะพันธ์** ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
โทรศัพท์ 0-2942-8629-35 ต่อ 905
- นายเอกวิทย์ ตรีเนตร** โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3264
- นางสาววิภาภรณ์ ณ ถลาง** ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2942-8629-35
- นางบุญเกื้อ วัชรเสถียร** ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2562-5555,
0-2562- 5444 ต่อ 3234
- นางอรุณพร อธิรัตน์** ศูนย์การแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ โทรศัพท์ 02-9269749
- นางสาวสุวรรพร แซ่ลิ้ม** คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ โทรศัพท์ 02-9269830

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณประจำปีงบประมาณ 2551 งบประมาณที่ได้รับ 3,209,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 ถึง กันยายน 2552

2. สรุปโครงการวิจัย

การใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของวัตถุดิบธรรมชาติที่ได้จากทรัพยากรจระเข้พันธุ์ไทย ที่มีอยู่ในประเทศภายใต้ทฤษฎีเศรษฐกิจพอเพียง ลดมลพิษทางน้ำของสิ่งแวดล้อมจากการทิ้งเลือดจระเข้ไปอย่างเปล่าประโยชน์ ในระหว่างกระบวนการของอุตสาหกรรมจระเข้ ตลอดจนสถานการณ์ของการเกิดโรคติดเชื้อ (เช่น โรคเฮดส์) และโรคไม่ติดเชื้อต่างๆ (เช่น โรคโลหิตจาง โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ) ของประเทศไทยที่มีเพิ่มและรุนแรงมากขึ้น ค่าใช้จ่ายที่เพิ่มสูงขึ้นมากของการนำเข้ายาและผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากต่างประเทศ และแนวโน้มที่ดีของการใช้สารจากธรรมชาติเพื่อการบำบัดรักษาโรค รวมถึงการประยุกต์ใช้ประโยชน์ของการแพทย์แผนไทยในส่วนที่เกี่ยวข้องกับสัตว์สมุนไพร และการพัฒนาตำรับยาในอนาคต จึงเกิดการเชื่อมโยงการทำงานวิจัยร่วมกันเป็นโครงการวิจัยแบบบูรณาการของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพตามแผนงานวิจัยฉบับนี้ เพื่อให้เกิดศักยภาพในการได้มาซึ่งองค์ความรู้ต่างๆ และฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญของเลือดจระเข้ รวมถึงส่วนต่างๆ ที่แยกจากเลือดจระเข้ ซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์จากผลงานวิจัยที่ดี และให้ทันกับสถานการณ์ของโลก ใช้ประโยชน์ในการป้องกันโรคและการรักษาสุขภาพ ในปีที่ 1 ของแผนงานวิจัย ประกอบด้วย 6 โครงการวิจัยย่อยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาองค์ความรู้ต่างๆ ที่สำคัญของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ได้แก่ องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ กระบวนการเกาะเก็บเลือดโดยไม่ทำลายชีวิต ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ฤทธิ์ในการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวมนุษย์ สารยับยั้งเอนไซม์อินฮิบิเตอร์ของเอนไซม์ในเลือดจระเข้ไทย ฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการสมานแผลของสารสกัดจากเลือดจระเข้ โดยมีโครงการบริหารเป็นโครงการประสานโครงการย่อยต่างๆ ในแผนงานวิจัยฯ ผลของการวิจัยต่างๆ แสดง องค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ที่สำคัญต่างๆ ที่มีอยู่ในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย และส่วนแยกต่างๆ ของเลือดจระเข้ฯ ทั้งในกลุ่มอินทรีย์สาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และกลุ่มอนินทรีย์สาร ได้แก่ วิตามิน แร่ธาตุต่างๆ รวมถึงการศึกษาวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนของเลือดจระเข้ ชีรรมสด และชีรรมแห้ง มีศักยภาพในการเป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราบางชนิดได้ ส่วนประกอบของน้ำเลือดมีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มประสิทธิภาพการกลืนกินแบคทีเรียและสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว (แมโครเฟจ และลิมโฟไซต์) ที่มีหน้าที่สำคัญในการเป็นศูนย์กลางของการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ การศึกษาสารยับยั้งเอนไซม์เอนไซม์อินฮิบิเตอร์ (ACE inhibitor) ซึ่งให้ผลดีในการรักษาโรคความดันโลหิต

สูง พบการย่อยเลือดจระเข้ไทยด้วยเอนไซม์เปปซินและทริปซินที่สภาวะต่างๆ สามารถผลิตเปปไตด์ที่สามารถเป็นสารดังกล่าวได้ และการรับประทานเลือดจระเข้สามารถผลิตสารนี้ได้เช่นกัน การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการสมานแผลจากเซลล์เพาะเลี้ยงพบ ส่วนของน้ำเลือดจระเข้ให้ผลดีต่อการเจริญของเซลล์ผิวหนังที่เกี่ยวข้องในการสมานแผล นอกจากนี้ยังเกิดนวัตกรรมการเจาะเก็บเลือดจระเข้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง โดยไม่ทำลายชีวิตจากจระเข้พันธุ์ไทย จากการเจาะเก็บเลือดจากแอ่งเลือดค้ำหลังกระดูก โหลก ปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อตัว ช่วงห่างของระยะการเจาะเก็บเลือดแต่ละครั้งไม่น้อยกว่า 12 สัปดาห์ โดยไม่มีผลกระทบต่อการทำงานของชีวิตของจระเข้ ซึ่งได้ยื่นขอจดอนุสิทธิบัตรกระบวนการและผลิตภัณฑ์ที่ได้ฯ แล้ว ซึ่งองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยเหล่านี้จะเป็นรากฐานที่สำคัญในการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพได้ต่อไป

3. บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการเพิ่มมูลค่า พัฒนา และใช้ประโยชน์เลือดจระเข้เพิ่มมากขึ้น แต่ยังคงขาดความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ที่มีอยู่ในเลือด รวมถึงส่วนต่างๆ ที่แยกจากเลือดจระเข้พันธุ์ไทย การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญโดยเจาะเก็บเลือดจากจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) อายุ 2-4 ปี ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากภาคต่างๆ (กลาง ตะวันออก และใต้) พบว่าในเลือดครบโปรตีนมีปริมาณมากที่สุด (87.4 g/100g) รองลงมาคือ ไขมัน (2.4 g/100g) และคาร์โบไฮเดรต (0.6 g/100g) ส่วนในซีรัมพบมีโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ปริมาณ 69.0, 8.2 และ 6.9 g/100g ตามลำดับ โดยในเลือดครบมีโปรตีน ฟอสฟอรัส และเหล็ก มากกว่าในซีรัม วิตามินที่พบในเลือดจระเข้ปริมาณมากที่สุดได้แก่ วิตามินซี รองลงมา คือ วิตามินบี2, วิตามินบี6, วิตามินบี1, และ วิตามินบี12 ตามลำดับ วิตามินที่พบปริมาณน้อยที่สุดคือ วิตามินเอ องค์ประกอบทางเคมีในเลือดจระเข้ฯ ที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันเด่นชัด กรดอะมิโนที่พบปริมาณมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ Glutamic acid (9960.25 mg/100g), Leucine (7761.15 mg/100g), Aspartic acid (7538.34 mg/100g), Lysine (7508.79 mg/100g) และ Alanine (5442.63 mg/100g) ตามลำดับ กรดอะมิโนที่พบปริมาณน้อยที่สุด 3 อันดับสุดท้าย ได้แก่ Tryptophan (1006.58 mg/100g), Methionine (1197.69 mg/100g) และ Isoleucine (2054.58 mg/100g) ตามลำดับ การศึกษารูปแบบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ในภาวะที่มีเมอร์เคปโทเททานอลเป็นสารรีดิวซ์ ที่ 10% (w/v) ของเจลส่วนแยก พบความแตกต่างของรูปแบบโปรตีนจากตัวอย่างเลือดจระเข้ส่วนที่แตกต่างกัน

การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดโดยไม่ทำลายชีวิตจากจระเข้พันธุ์ไทย (*C. siamensis*) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง เจาะเก็บเลือดจระเข้จากแอ่งเลือดค้ำหลังกระดูก โหลก ปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อตัว และทิ้งมีช่วงห่างของระยะการเจาะเก็บเลือดแต่ละครั้ง ไม่น้อยกว่า 12 สัปดาห์ โดยไม่มี

ผลกระทบกับการดำรงชีวิตของจระเข้ ซึ่งปริมาณการเจาะเลือดที่เหมาะสมในแต่ละครั้งควรมีการศึกษาต่อไป

การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราของเลือดครบแห้ง (FD-WB) และ ส่วนประกอบของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (ซีรัม (S) และซีรัมแห้ง (FD-S)) โดยใช้เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานและเชื้อรา พบว่า FD-WB (100 mg/ml) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อรา อีกทั้ง S และ FD-S (100 mg/ml) นั้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ อย่างไรก็ตาม S และ FD-S มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *S. typhimurium* ATCC 13311 และ *P. aeruginosa* ATCC 27853 และยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. neoformans* และ *Aspergillus* sp. แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* แต่อย่างไรก็ตามทั้ง S และ FD-S ไม่สามารถฆ่าเชื้อรา ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าซีรัมสด และซีรัมแห้ง มีศักยภาพในการเป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราบางชนิดได้

การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันประกอบด้วยภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด (innate immunity) และภูมิคุ้มกันปรับใช้ (adaptive immunity) ซึ่งทำหน้าที่ร่วมกันในการกำจัดจุลชีพที่อาจเป็นอันตรายต่อร่างกาย ในบรรดาเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันที่มีอยู่หลากหลาย แมโครเฟจ (macrophage) และลิมโฟไซท์ (lymphocyte) เป็นเซลล์ที่มีหน้าที่สำคัญในการเป็นศูนย์กลางของการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ จากการศึกษาการกระตุ้นให้เซลล์เหล่านี้ทำหน้าที่อย่างเหมาะสม โดยใช้เลือดจระเข้และส่วนต่างๆ ที่แยกจากเลือดจระเข้ พบว่าซีรัมจระเข้และพลาสมาจะเห็ดแห้ง มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มประสิทธิภาพการกลืนกินแบคทีเรียและอนุภาค microspheres ของเซลล์ แสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ที่สำคัญน่าจะเป็นส่วนประกอบของน้ำเลือด

แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ (Angiotensin converting enzyme, ACE) เป็นเอนไซม์ที่พบในระบบเรนิน-แองจิโอเทนซิน มีหน้าที่ในการควบคุมความดันโลหิต สมดุลน้ำและอิเล็กโทรไลต์ของร่างกาย การใช้สารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติง (ACE inhibitor) เป็นวิธีหนึ่งที่ได้ผลในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตเปปไทด์ที่สามารถเป็น ACE inhibitor จากเลือดจระเข้ไทย โดยใช้การย่อยด้วยเอนไซม์เปปซินและทริปซินที่สภาวะต่างๆ ผลการศึกษาพบว่า ACE inhibitor ที่มีฤทธิ์สูง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 447.35 $\mu\text{g/ml}$ สามารถผลิตได้จากการใช้เอนไซม์เปปซินย่อยเลือดจระเข้เป็นเวลา 10 ชั่วโมง โดยส่วนของเม็ดเลือดที่แยกมาได้จากเลือดจระเข้ให้ฤทธิ์ที่สูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 404.12 $\mu\text{g/ml}$ จากการศึกษาการจำลองสภาวะการย่อยอาหารในร่างกายมนุษย์พบว่า การรับประทานเลือดจระเข้สามารถผลิต ACE

inhibitory peptide ได้เช่นกัน แต่ ACE inhibitory peptide ที่ผลิตได้มีฤทธิ์ต่ำกว่าเปปไทด์ที่ได้จากการใช้เอนไซม์เปปซิน

จากการสังเกตการสมานบาดแผลของผิวหนังจะเข้ามามีผลหลังการต่อสู้กัน จึงได้ทำการศึกษาผลของเลือดจระเข้ที่มีต่อการหายของแผลทั้งผลในหลอดทดลอง และในร่างกาย (vitro - vivo effect) โดยศึกษาพิษต่อเซลล์ ของเลือดจระเข้ (cytotoxicity test) และผลต่อการหายของแผลในหนูทดลอง (Re-epithelization in animal model) จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของ Serum และ Plasma ที่ใช้ทดสอบมีความเป็นพิษกับเซลล์ Fibroblasts สูง มีผลทำให้การเจริญของเซลล์ลดลงเมื่อเทียบกับ Positive control ความเข้มข้นของ Serum และ Plasma ที่ความเข้มข้น 100% มีความเป็นพิษกับเซลล์ Keratinocyte น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่น เมื่อใช้ ความเข้มข้นของ Serum และ Plasma ที่ความเข้มข้น 0.10% มีผลต่อการเจริญของเซลล์ fibroblasts มากที่สุด เมื่อเทียบกับ Positive control จึงนำ Serum และ Plasma มาพัฒนาเป็นครีม เพื่อทดสอบผลที่มีต่อการหายของแผลในสัตว์ทดลอง

Abstract

Recently, crocodile blood has been added value, developed and increase in its use. However, the knowledge about chemical compositions and biological properties of Siamese crocodile blood and its fractions has been limited. The analyses of crocodile blood main chemical compositions were collected from Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) in ages of 2-4 years those were captured in difference parts (Middle, Eastern and Southern parts). Results shows that in whole blood the protein had the highest concentration (87.4 g/100g), followed by total fat (2.4 g/100g) and total carbohydrate (0.6 g/100g). The serum demonstrated protein, total carbohydrate and total fat concentrations in amount of 69.0, 8.2 และ 6.9 g/100g, respectively. In addition, crocodile whole blood had higher levels of protein, phosphorus and iron than in serum. Analysis vitamin components of crocodile blood samples (whole blood, serum) revealed vitamin-C had the highest concentration follow by vitamin-B2, vitamin-B6, vitamin-B1 and vitamin-B12, respectively. Vitamin-A was the lowest content in crocodile bloods. No major differences were observed between blood chemical composition and captive places of crocodile. The five major amino acids were Glutamic acid (9960.25 mg/100g), Aspartic acid (7538.34 mg/100g), Lysine (7508.79 mg/100g) and Alanine (5442.63 mg/100g). The three minor amino acids were Tryptophan (1006.58 mg/100g), Methionine (1197.69 mg/100g) and Isoleucine (2054.58 mg/100g). The protein patterns of crocodile blood were studied by SDS-PAGE method in

mercaptoethanol-reducing condition at 10% (w/v) separating gel. The pattern was distinct in difference of crocodile blood types.

The donation of crocodile blood was studied by development of blood collection process on animal life maintains in captive Siamese crocodile (*C. siamensis*). The blood collection at the anterior dorsal sinus in a 100 milliliters volume every 12 weeks was not effect the life style of crocodile blood donors. However, the optimal blood volume has remained to be elucidated.

The antibacterial and antifungal activities of freeze-dried (FD-WB) and blood components (serum, S and freeze-dried serum, FD-S) Siamese crocodile blood were studied against the ATCC strains of bacteria and fungus. The result showed FD-WB (100 mg/ml) could not inhibit bacteria and fungus. In addition, S and FD-S (100 mg/ml) could not inhibit gram positive bacteria. However, S and FD-S inhibited gram negative bacteria such as *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *S. typhimurium* ATCC 13311 and *P. aeruginosa* ATCC 27853, and inhibit *C. neoformans* and *Aspergillus* sp., but could not inhibit *C. albicans*. Both S and FD-S did not have minimum fungicidal concentration; MFC. The result showed that the FS and FDS from Siamese Crocodile have a potential of antibacterial and antifungal agent.

The immune system is a crucial defense mechanism of the body that fights infection. It is made up of a wide variety of effector cells and molecules. As parts of the immune system, phagocytes and lymphocytes have central roles in innate and adaptive immunity, respectively. Hence, appropriate stimulation of those cells in a certain circumstances will help the body to battle against harmful microbe. The Siamese crocodile blood and its fractions induced the phagocytic activity of macrophage, cell proliferation, and cytokine secretion from human PBMC, were investigated. The results show that crocodile serum and freeze-dried plasma blood was the most efficient blood products for induction of bacterial and microspheres phagocytic activity of the cells. This effect is possibly caused by the substances inside the serum rather than the blood cells.

Angiotensin converting enzyme (ACE), a multifunctional enzyme present in the rennin-angiotensin system, has a prominent role in the regulations of blood pressure as well as water and electrolyte balance. One of the successful remedy for hypertensive management is an application of angiotensin converting enzyme inhibitor (ACE inhibitor). This study was focused on the

production of ACE inhibitory peptide from Siamese crocodile blood. Various peptic and tryptic hydrolysis conditions were applied to generate ACE inhibitory peptide from the blood. The results showed that potent ACE inhibitors can be obtained from 10-hour hydrolysis of pepsin with an IC_{50} of 447.35 μ g/ml. A blood cell portion of the crocodile blood yielded the highest ACE inhibitory activity with an IC_{50} of 404.12 μ g/ml. Digestive condition model indicated that ACE inhibitory peptides can be produced from a consumption of crocodile blood. However, the peptides obtained from the digestive condition possessed weaker ACE inhibitory activity than did peptides derived from the peptic hydrolysis.

Base on the observation of healing process on crocodile skin after fighting without any intervention, crocodile blood extraction to wound healing both in vitro and vivo result were done. The cytotoxicity test and re-epitheliration in animal model were examined. The results show all concentrations of tested serum and plasma had toxic to fibroblast and reduced the cell growth when compared with positive control. The 100% of serum and plasma concentration has the less toxic effect on keratocyte when compared with the other concentrations. The concentration of serum and plasma at 0.10% demonstrated the best effect on fibroblast growth when compared with positive control. So, these serum and plasma were used in developed cream for testing the wound healing in animal model.
