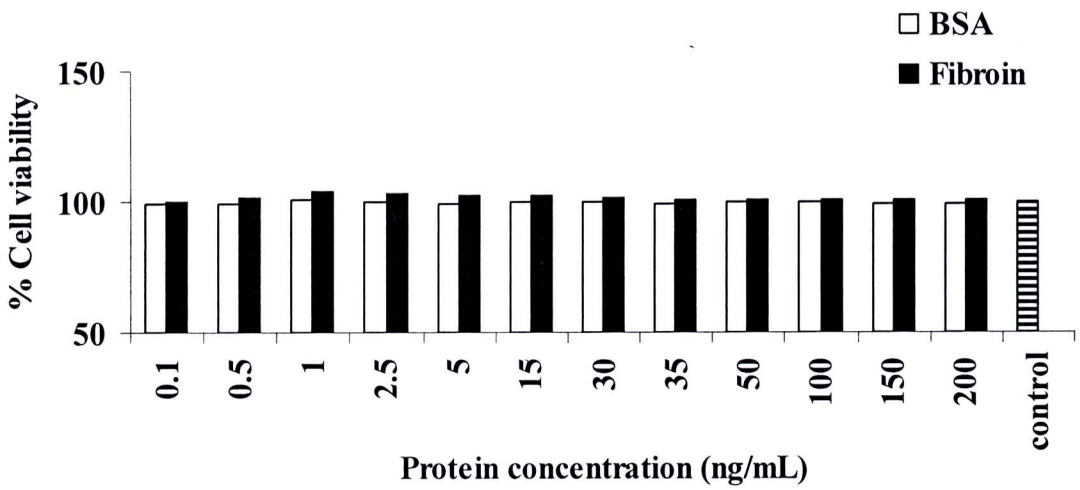
# 4. ผลการวิจัย

## 4.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพของไฟโบรอินไหมอีรี่ในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ NIH/3T3

การทดสอบผลของไฟโบรอินไหมอีรี่ต่อการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ความเข้มข้นของไฟโบรอินที่ใช้ทดสอบ คือ 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 15, 30, 35, 50, 100, 150 และ 200 นาโนกรัม/มล. ผลการทดลองในภาพที่ 3 แสดงว่า ไฟโบรอินที่ความเข้มข้น 0.1 นาโนกรัม/มล. ทำให้มีร้อยละของการชีวิตของเซลล์อยู่ที่ 99.37±0.003 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฟโบรอินไหมอีรี่ตั้งแต่ 5 นาโนกรัม/มล. ถึง 200 นาโนกรัม/มล. ร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ไม่แตกต่างจากผลของไฟโบรอินเข้มข้น 0.1 นาโนกรัม/มล. ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า การรอดชีวิตของเซลล์ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น $p>0.05$ แสดงให้เห็นว่าโปรตีนไฟโบรอินไหมอีรี่ไม่มีผลกระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ได้ในทุกความเข้มข้นของไฟโบรอินที่ใช้ในการทดลอง

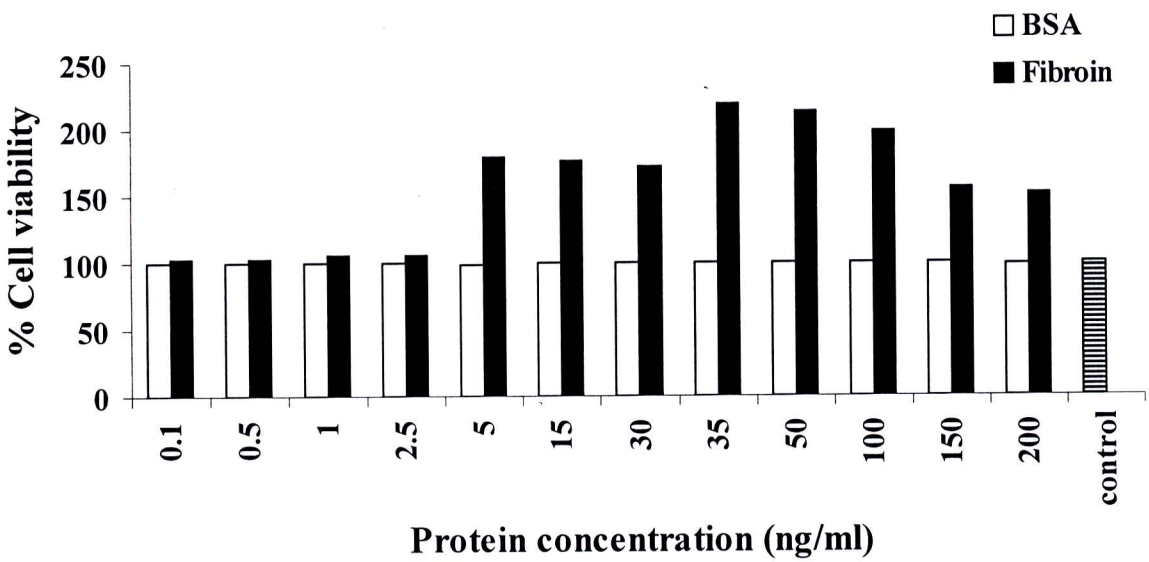



**ภาพที่ 3** การวิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพของไฟโบรอินไหมอีรี่ในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ NIH/3T3

ในการทดลองแสดงผลของโปรตีน BSA ซึ่งเป็น negative control ควบคู่ไปกับผลของไฟโบรอินไหมอีรี่ แท่งกราฟสีดำ คือ สัญลักษณ์แทนชุดการทดลองของโปรตีนไฟโบรอินไหมอีรี่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน แท่งกราฟสีขาว คือ ชุดการทดลองของโปรตีน BSA และ ชุดควบคุม (control) คือ ชุดการทดลองที่เซลล์ไม่ได้รับผลของโปรตีน

**4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพของไฟโบรอินไหมบ้าน *B. mori* ในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ NIH/3T3**

การทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไฟโบรอินจากไหมบ้าน *B. mori* ในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ผลแสดงในภาพที่ 4 ไฟโบรอินของไหมบ้านที่ความเข้มข้น 5 นาโนกรัม/มล. ให้ร้อยละของการมีชีวิตของเซลล์เป็น 179.95±0.027 และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฟโบรอินเพิ่มมากขึ้นพบว่าร้อยละของการมีชีวิตสูงขึ้น โดยร้อยละการรอดชีวิตสูงสุดอยู่ที่ 218.60±0.026% ที่ความเข้มข้น 35 นาโนกรัม/มล. ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่น $p > 0.05$ ผลการเปรียบเทียบแสดงให้เห็นว่าไฟโบรอินของไหมบ้านสามารถกระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ได้ อย่างไรก็ตามถ้าเพิ่มความเข้มข้นเป็น 150 นาโนกรัม/มล. ผลการกระตุ้นกลับลดลงจนมีค่าค่อนข้างคงที่ที่ระดับการมีชีวิตของเซลล์ประมาณร้อยละ 150 เมื่อใช้ไฟโบรอินไหมบ้านความเข้มข้น 150-200 นาโนกรัม/มล.



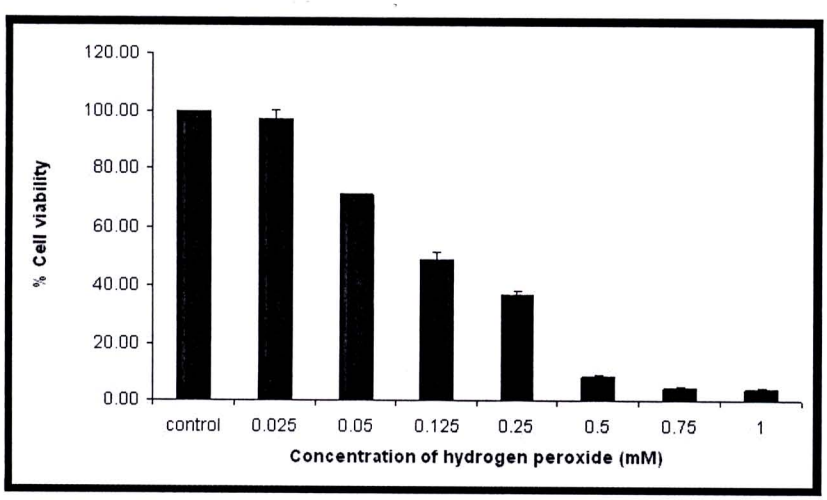

**ภาพที่ 4** การวิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพของไฟโบรอินจากไหมบ้าน *B. mori* ในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ NIH/3T3

ในการทดลองแสดงผลของโปรตีน BSA ซึ่งเป็น negative controls ควบคู่ไปกับผลของไฟโบรอินไหมอีรี่ แท่งกราฟสีดำคือ สัญลักษณ์แทนชุดการทดลองของโปรตีนไฟโบรอินที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน แท่งกราฟสีขาว คือ ชุดการทดลองของโปรตีน BSA และ ชุดควบคุม (control) คือ ชุดการทดลองที่เซลล์ไม่ได้รับผลของโปรตีน

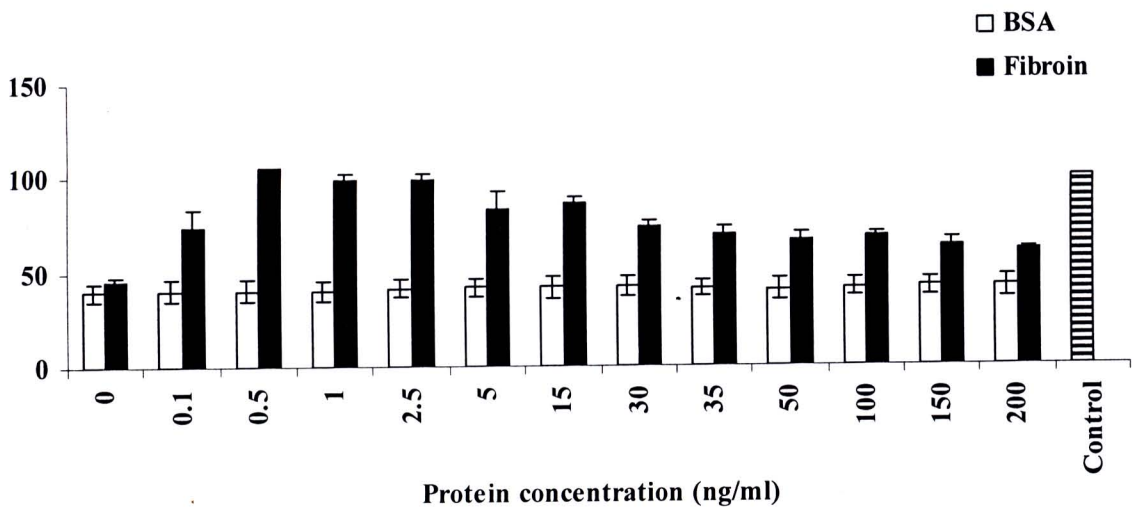
**4.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของผงโปรตีนไฟโบรอินไหมอีรี่**

ทำการทดลองเบื้องต้นทดสอบพิษของสารก่อออกซิเดชัน (oxidizing agent หรือ oxidant) คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) ในการกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ผลการทดลองในภาพที่ 5 แสดงให้เห็นว่า เมื่อเซลล์ได้รับสารในช่วงความเข้มข้น 0.025–1 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารที่ระดับ 0.05 มิลลิโมลาร์ เริ่มออกฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ และผลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น $p<0.05$ (ทำการทดลอง 4 ซ้ำ) ตามความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้น ประเมินค่า $LC_{50}$ (lethal concentration 50%) ของ $H_2O_2$ ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ทำให้การรอดชีวิตของเซลล์เหลือเป็นครึ่งหนึ่งของการทดลองควบคุม (control) ซึ่งไม่ได้รับสาร ได้ค่า $LC_{50}$ เท่ากับ 0.125 มิลลิโมลาร์ (เซลล์รอดชีวิต 48.61±2.68%)

ทดสอบผลของผงไฟโบรอินไหมอีรี่ในการต้านออกซิเดชัน ลดการตายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ได้รับสาร $H_2O_2$ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ ซึ่งเป็น 2 เท่า ของค่า $LC_{50}$ และทำให้เซลล์รอดชีวิตเพียง 36.81±1.4% (ทำการทดลอง 4 ซ้ำ) ความเข้มข้นของไฟโบรอินที่ทดสอบคือ 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 15, 30, 35, 50, 100, 150 และ 200 นาโนกรัม/มล. ผลการทดลองในภาพที่ 6 แสดงให้เห็นว่า โปรตีนไฟโบรอินไหมอีรี่สามารถป้องกันเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากพิษของ $H_2O_2$ (0.25 มิลลิโมลาร์) ได้ โดยเริ่มสังเกตผลได้ที่ความเข้มข้นของไฟโบรอิน 0.1 นาโนกรัม/มล. ซึ่งทำให้เซลล์รอดชีวิตเพิ่มขึ้นเป็น 74.42±9.55% ทั้งนี้ความเข้มข้นของไฟโบรอินไหมอีรี่ที่มีประสิทธิภาพดีในการต้านออกซิเดชันอยู่ในช่วง 0.5 ถึง 2.5 นาโนกรัม/มล. ทำให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์รอดชีวิตเทียบเท่ากับเซลล์ควบคุมที่ไม่ได้รับพิษ $H_2O_2$ แต่ผลการต้านออกซิเดชันลดลงเล็กน้อยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฟโบรอิน อย่างไรก็ตามการเพิ่มความเข้มข้นของไฟโบรอินในช่วง 5-200 นาโนกรัม/มล. พบว่า ให้ผลต้านออกซิเดชันทำให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์มีการรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน




**ภาพที่ 5** พิษของสาร $H_2O_2$ ต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ NIH/3T3

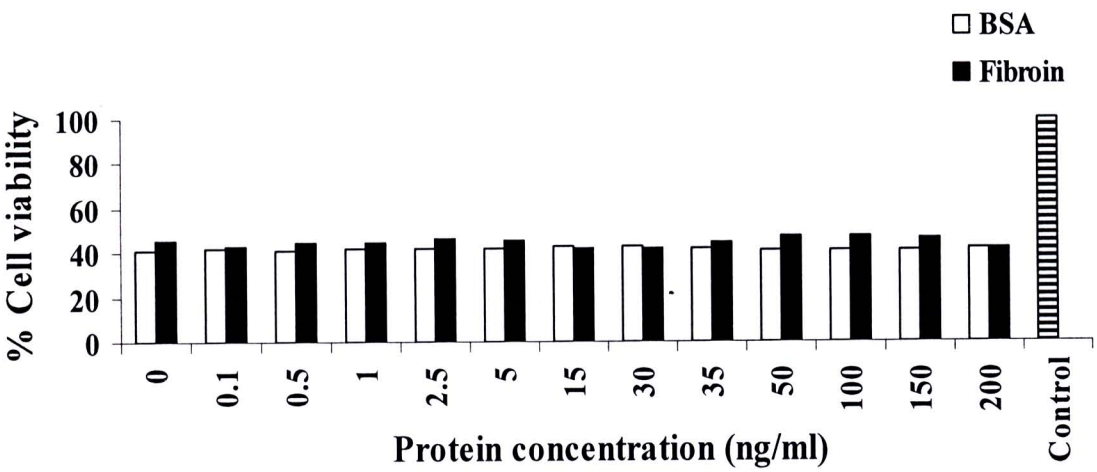



**ภาพที่ 6** การออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของโปรตีนไฟโบรอินไหมอีรี่ ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ NIH/3T3

ในการทดลองแสดงผลของโปรตีน BSA ซึ่งเป็น negative control ควบคู่ไปกับผลของโปรตีนไฟโบรอินไหมอีรี่ แท่งกราฟสีดำ คือ สัญลักษณ์แทนชุดการทดลองของไฟโบรอินไหมอีรี่ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน แท่งกราฟสีขาว คือ ชุดการทดลองของโปรตีน BSA และ ชุดควบคุม (control) คือ ชุดการทดลองที่เซลล์ไม่ได้รับพิษของ $H_2O_2$

### 4.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของผงโปรตีนไฟโบรอินจากไหมบ้าน *B. mori*

ทดสอบผลของผงไฟโบรอินจากไหมบ้าน *B. mori* ในการต้านออกซิเดชันลดการตายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ได้รับสาร $H_2O_2$ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ ผลการทดลองในภาพที่ 7 ความเข้มข้นของไฟโบรอินที่ใช้ทดสอบ คือ 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 15, 30, 35, 50, 100, 150 และ 200 นาโนกรัม/มล. ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า โปรตีนไฟโบรอินจากไหมบ้าน *B. mori* ไม่สามารถป้องกันเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากพิษของ $H_2O_2$ ได้ แต่กลับมีแนวโน้มว่าโปรตีนไฟโบรอินไหมบ้านมีผลทำให้ร้อยละของเซลล์มีชีวิตลดลง



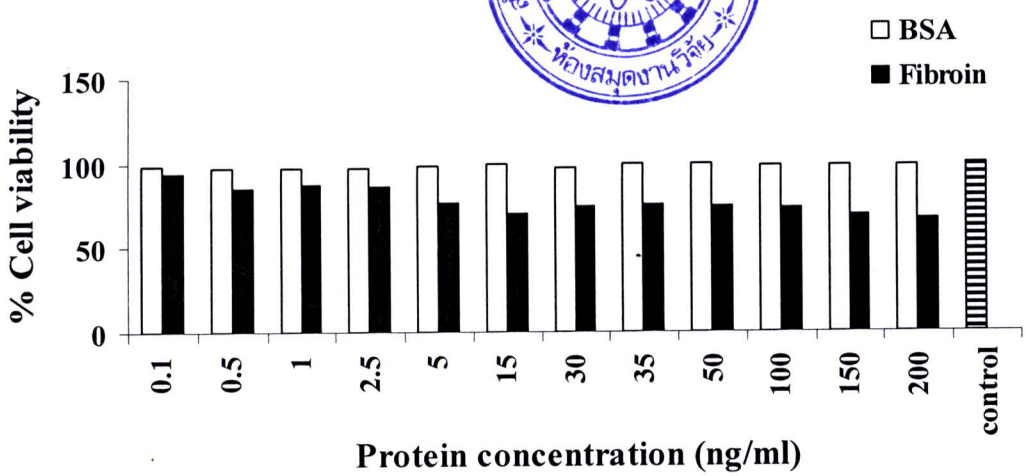

**ภาพที่ 7** การออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของผงโปรตีนไฟโบรอินจากไหมบ้าน *B. mori* ต่อ $H_2O_2$ ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ NIH/3T3

ในการทดลองแสดงผลของโปรตีน BSA ซึ่งเป็น negative control ควบคู่ไปกับผลของโปรตีนไฟโบรอินไหมบ้าน แท่งกราฟสีดำ คือ สัญลักษณ์แทนชุดการทดลองของโปรตีนไฟโบรอินที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน แท่งกราฟสีขาว คือ ชุดการทดลองของ BSA และ ชุดควบคุม (control) คือ ชุดการทดลองที่เซลล์ไม่ได้รับพิษของ $H_2O_2$

### 4.5 การวิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพของไฟโบรอินไหมอีรี่ร่วมกับไฟโบรอินจากไหมบ้าน *B. mori* ในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ NIH/3T3

ภาพที่ 8 แสดงผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพของไฟโบรอินไหมอีรี่ (ความเข้มข้น 0.5 นาโนกรัม/มล.) ร่วมกับไฟโบรอินไหมบ้าน *B. mori* (ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 15, 30, 35, 50, 100, 150 และ 200 นาโนกรัม/มล.) ในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ โดยให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ไม่ได้รับผลของโปรตีนร่วมมีการรอดชีวิตเป็น 100% ซึ่งเมื่อเซลล์ได้รับผลกระทบจากโปรตีนไฟโบรอินของไหมบ้านเข้มข้น 0.1 นาโนกรัม/มล. ร่วมกันไฟโบรอินจากไหมอีรี่เข้มข้น 0.5 นาโนกรัม/มล. พบว่าเซลลไฟโบลาสต์มีการรอดชีวิตน้อยลงเมื่อเทียบกับชุดทดลองโดยมีการรอดชีวิตอยู่ที่ 93.65$\pm$0.011% และยิ่งเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนไฟโบรอินจากไหมบ้านการรอดชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ยิ่งมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย




**ภาพที่ 8** ผลของของไฟโบรอินไหมอีรี่ร่วมกับไฟโบรอินไหมบ้าน *B. mori* ต่อการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ NIH/3T3

ในการทดลองแสดงผลของโปรตีน BSA ซึ่งเป็น negative control ควบคู่ไปกับผลของโปรตีนไฟโบรอิน แท่งกราฟสีดำ คือ สัญลักษณ์แทนชุดการทดลองของโปรตีนไฟโบรอิน แท่งกราฟสีขาว คือ ชุดการทดลองของ BSA และ ชุดควบคุม (control) คือ ชุดการทดลองที่เซลล์ไม่ได้รับผลของโปรตีน

### 4.6 การย่อยผงโปรตีนไฟโบรอินไหมอีรี่ด้วยเอนไซม์ทริปซิน

#### 4.6.1 การย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซินเข้มข้น 0.1 %

การวิเคราะห์การย่อยโปรตีนไฟโบรอินไหมอีรี่ (1%) ด้วยเอนไซม์ทริปซินเข้มข้น 0.1% เปรียบเทียบกับผลของกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 0.001 โมลาร์ ภายใต้เงื่อนไขการย่อย 4 สภาวะ (ตารางที่ 3) แสดงผลการย่อยในหน่วย proteolytic activity unit (PAU) /นาที อ้างอิงกับผลการทดลองลักษณะเดียวกันซึ่งทำกับโปรตีนไฟโบรอินไหมบ้านและโปรตีนมาตรฐานเคซีน

การย่อยโปรตีนตัวอย่างด้วยทริปซิน 0.1% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที (สภาวะที่ 1 ในตารางที่ 3) พบว่า เคซินและไฟโบรอินไหมอีรี่ มีค่าการย่อย $2.420 \times 10^{-5} \pm 0.049$ และ $0.160 \times 10^{-5} \pm 0.015$ PAU/นาที ซึ่งเพิ่มขึ้นจากผลของกรดไฮโดรคลอริก ($0.0012 \times 10^{-5} \pm 0.007$ และ $0.084 \times 10^{-5} \pm 0.002$ PAU/นาที) ส่วนการย่อยไฟโบรอินไหมบ้าน มีค่าการย่อยด้วยเอนไซม์เป็น $5.708 \times 10^{-5} \pm 0.076$ PAU /นาทีซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันกับผลของกรดไฮโดรคลอริก ($5.634 \times 10^{-5} \pm 0.333$ PAU/นาที)

การทดลองให้ไฟโบรอินได้รับความร้อนของสภาวะการทำให้ปลอดเชื้อในอาหาร หรือสเตอริไลซ์ (sterilization) คือ ผ่านหม้อนึ่งความดันสูง (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปย่อยด้วยทริปซินที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที (สภาวะที่ 2 ในตารางที่ 3) พบว่า มีผลในทำนองเดียวกับสภาวะที่ 1 คือ ทริปซินสามารถย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ได้เพิ่มขึ้น คือ $0.219\times10^{-5}\pm 0.008$ PAU/นาที เมื่อเปรียบเทียบกับผลของกรดไฮโดรคลอริก ($0.177\times10^{-5}\pm 0.006$ PAU/นาที) ในขณะที่ไฟโบรอินไหมบ้านมีค่าการย่อยด้วยทริปซิน ($5.713\times10^{-5}\pm 0.043$ PAU/นาที) ไม่แตกต่างจากผลของกรดไฮโดรคลอริก ($5.655\times10^{-5}\pm 0.053$ PAU/นาที)

การทดลองภายใต้สภาวะเลียนแบบการต้มประกอบอาหาร คือ ต้มเดือดไฟโบรอินเป็นเวลา 15 นาที (สภาวะที่ 3 ในตารางที่ 3 ) ก่อนนำไปย่อยด้วยทริปซินที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที พบว่า ทริปซินสามารถย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ได้ดีใกล้เคียงกับสภาวะพาสเจอร์ไรซ์ คือ $0.214\times10^{-5}\pm 0.021$ PAU/นาที เมื่อเปรียบเทียบกับผลของกรดไฮโดรคลอริก ($0.137\times10^{-5}\pm 0.010$ PAU/นาที) ในขณะที่การย่อยไฟโบรอินของไหมบ้านมีค่าไม่แตกต่างกันทั้งการย่อยด้วยทริปซินและกรดไฮโดรคลอริก ($5.793\times10^{-5}\pm 0.035$ และ $5.565\times10^{-5}\pm 0.022$ PAU/นาที)

การทดลองอีกสภาวะหนึ่ง คือ ต้มเดือดไฟโบรอินเป็นเวลา 30 นาที (สภาวะที่ 4 ในตารางที่ 3) ก่อนนำไปย่อยด้วยทริปซินที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที พบว่า ให้ผลการทดลองคล้ายคลึงกับสภาวะที่ 3 ซึ่งต้มเดือด 15 นาที คือ ทริปซินย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ด้วยค่าการย่อย $0.295\times10^{-5}\pm 0.017$ PAU/นาที เปรียบเทียบกับผลจากกรดไฮโดรคลอริก คือ $0.137\times10^{-5}\pm 0.010$ PAU/นาที สำหรับไฟโบรอินไหมบ้าน พบว่าการย่อยโปรตีนด้วยทริปซินและกรดไฮโดรคลอริกมีค่าการย่อยโปรตีนไม่แตกต่างกัน ($5.780\times10^{-5}\pm 0.045$ และ $5.757\times10^{-5}\pm 0.049$ PAU/นาที)

**ตารางที่ 3** ผลการวิเคราะห์การย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ทริปซิน 0.1%

| โปรตีน/การทดลองย่อย | | สภาวะที่ 1 ($\times 10^{-5}$ PAU/นาที) | สภาวะที่ 2 ($\times 10^{-5}$ PAU/นาที) | สภาวะที่ 3 ($\times 10^{-5}$ PAU/นาที) | สภาวะที่ 4 ($\times 10^{-5}$ PAU/นาที) |
|---|---|---|---|---|---|
| เคซีน 1% | ทริปซิน | 2.420 ± 0.049 | _ | _ | _ |
| | HCl | 0.012 ± 0.007 | _ | _ | _ |
| ไฟโบรอินไหมอีรี่ 1% | ทริปซิน | 0.160 ± 0.015 | 0.219 ± 0.008 | 0.214 ± 0.010 | 0.295 ± 0.017 |
| | HCl | 0.084 ± 0.002 | 0.177 ± 0.006 | 0.137 ± 0.009 | 0.143 ± 0.015 |
| ไฟโบรอินไหมบ้าน *B. mori* 1% | ทริปซิน | 5.708 ± 0.076 | 5.713 ± 0.043 | 5.793 ± 0.035 | 5.780 ± 0.045 |
| | HCl | 5.634 ± 0.333 | 5.655 ± 0.053 | 5.565 ± 0.022 | 5.757 ± 0.049 |

**หมายเหตุ :**

สภาวะที่ 1 ย่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (60 นาที)

สภาวะที่ 2 นึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แล้วย่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (60 นาที)

สภาวะที่ 3 ต้มเดือด 15 นาที แล้วย่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (60 นาที)

สภาวะที่ 4 ต้มเดือด 30 นาที แล้วย่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (60 นาที)

**4.6.2 การย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซินเข้มข้น 5 %**

การวิเคราะห์การย่อยโปรตีนไฟโบรอินด้วยทริปซินเข้มข้น 5 % เปรียบเทียบกับผลจากกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ ภายใต้เงื่อนไข 4 สภาวะเช่นเดียวกับการย่อยด้วยทริปซิน 0.1% ในข้อ 4.6.1 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4

การย่อยตัวอย่างด้วยทริปซินที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเวียสเป็นเวลา 60 นาที (แสดงในตารางที่ 4: สภาวะที่ 1) พบว่า ทริปซิน 5% ให้ค่าการย่อยเคซิน ไฟโบรอินไหมอีรี่ และไฟโบรอินไหมบ้านมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ทริปซิน 0.1% โดยมีค่าเป็น $2.143 \times 10^{-5} \pm 0.026$, $0.767 \times 10^{-5} \pm 0.009$ และ $4.265 \times 10^{-5} \pm 0.026$ PAU /นาที ตามลำดับ

การทดลองภายใต้สภาวะปลอดเชื้อในอาหาร คือ นำตัวอย่างผ่านหม้อนึ่งความดันสูงเป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปย่อยด้วยทริปซินที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที (ตารางที่ 4: สภาวะที่ 2) พบว่าทริปซิน 5% ให้ค่าการย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ และไฟโบรอินไหมบ้านมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ทริปซิน 0.1% โดยมีค่าเป็น $0.941 \times 10^{-5} \pm 0.013$ PAU/นาที และ $5.588 \times 10^{-5} \pm 0.110$ PAU/นาที ตามลำดับ

การทดลองภายใต้สภาวะเสมือนการประกอบอาหาร คือ ต้มตัวอย่างเป็นเวลา 15 นาที (ตารางที่ 4: สภาวะที่ 3) ก่อนนำไปย่อยด้วยทริปซินที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที มีผลการทดลองในทำนองเดียวกับสภาวะที่ 2 คือ ผลการย่อยด้วยทริปซิน 5% มีค่าเพิ่มขึ้นในทุกตัวอย่างที่นำมาศึกษาเมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยด้วยทริปซิน 1% โดยมีค่าการย่อยเป็น $0.740 \times 10^{-5} \pm 0.007$ PAU/นาที สำหรับไฟโบรอินไหมอีรี่ และ $5.384 \times 10^{-5} \pm 0.031$ PAU/นาที สำหรับไฟโบรอินไหมบ้าน

การทดลองภายใต้สภาวะเสมือนการประกอบอาหารอีกสภาวะหนึ่ง คือ ต้มตัวอย่างเป็นเวลา 30 นาที (ตารางที่ 4: สภาวะที่ 4) ก่อนนำไปย่อยด้วยทริปซินที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที พบว่าผลการย่อยด้วยทริปซิน 5% มีค่าเพิ่มขึ้นในทุกตัวอย่างที่นำมาศึกษาเมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยด้วยทริปซิน 1% โดยมีค่าการย่อยเป็น $0.901 \times 10^{-5} \pm 0.015$ PAU/นาที สำหรับไฟโบรอินไหมอีรี่ และ $6.165 \times 10^{-5} \pm 0.065$ PAU/นาที สำหรับไฟโบรอินไหมบ้าน

**ตารางที่ 4** ผลการวิเคราะห์การย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซิน 5%

| โปรตีน/ การทดลองย่อย | | สภาวะที่ 1 ($\times 10^{-5}$ PAU/นาที) | สภาวะที่ 2 ($\times 10^{-5}$ PAU/นาที) | สภาวะที่ 3 ($\times 10^{-5}$ PAU/นาที) | สภาวะที่ 4 ($\times 10^{-5}$ PAU/นาที) |
|---|---|---|---|---|---|
| เคซีน 1% | ทริปซิน | 2.143 $\pm$ 0.026 | _ | _ | _ |
| | HCl | 0.063 $\pm$ 0.002 | _ | _ | _ |
| ไฟโบรอินไหมอีรี่ 1% | ทริปซิน | 0.767 $\pm$ 0.009 | 0.941 $\pm$ 0.013 | 0.740 $\pm$ 0.007 | 0.901 $\pm$ 0.015 |
| | HCl | 0.093 $\pm$ 0.004 | 0.177 $\pm$ 0.006 | 0.155 $\pm$ 0.004 | 0.138 $\pm$ 0.013 |
| ไฟโบรอินไหมบ้าน *B. mori* 1% | ทริปซิน | 4.265 $\pm$ 0.026 | 5.588 $\pm$ 0.110 | 5.384 $\pm$ 0.031 | 6.165 $\pm$ 0.065 |
| | HCl | 4.216 $\pm$ 0.069 | 5.505 $\pm$ 0.088 | 5.384 $\pm$ 0.041 | 5.757 $\pm$ 0.049 |

**หมายเหตุ :**

สภาวะที่ 1 ย่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (60 นาที)

สภาวะที่ 2 นึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แล้วย่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (60 นาที)

สภาวะที่ 3 ต้มเดือด 15 นาที แล้วย่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (60 นาที)

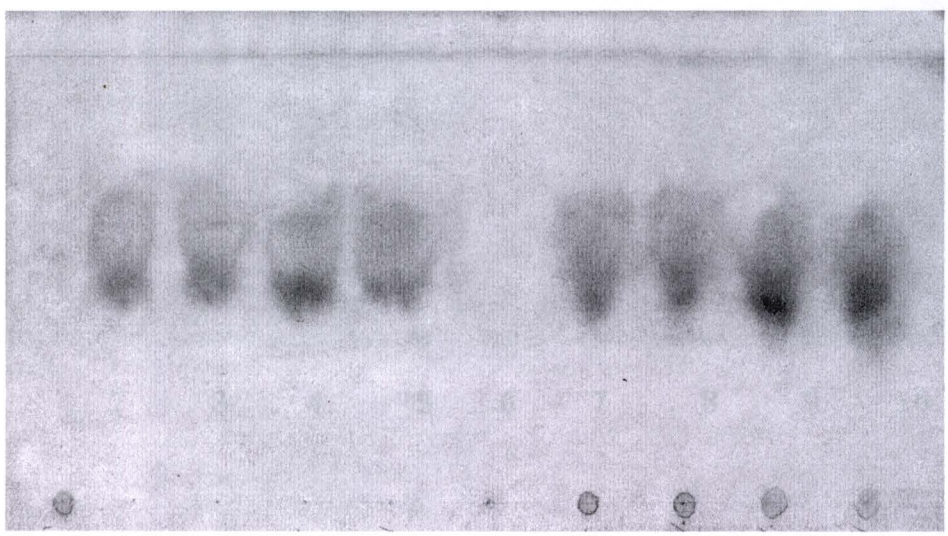
สภาวะที่ 4 ต้มเดือด 30 นาที แล้วย่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (60 นาที)

**4.8 การวิเคราะห์การย่อยโปรตีนไฟโบรอินด้วยกรดซิตริก**

ไฟโบรอินไหมอีรี่และไฟโบรอินไหมบ้าน *B. mori* เข้มข้น 1% เตรียมให้มีกรดซิตริกความเข้มข้นต่างๆกัน คือ 1, 2, 5 และ 10% แล้วใส่หม้อนึ่งความดันสูง (121 องศาเซลเซียส แรงดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ให้เกิดการย่อยในสภาวะกรดดังกล่าว เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลการย่อยโดยใช้ paper chromatography แล้วติดตามผลด้วยปฏิกิริยาของสาร ninhydrin ซึ่งแสดงผลการทดลองในภาพที่ 9 การทดลองของไฟโบรอินไหมอีรี่ อยู่ในช่องที่ 1- 5 พบว่ากรดซิตริกสามารถย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ได้ (ช่องที่ 2-5) เมื่อเปรียบเทียบกับไฟโบรอินไหมอีรี่ที่ไม่ได้รับผลของกรดซิตริก (ช่องที่ 1) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดซิตริกมากขึ้น พบว่าไฟโบรอินสามารถย่อยได้มากขึ้น ส่วนผลการย่อยไฟโบรอินของไหมบ้าน *B. mori* แสดงในภาพที่9 ช่องที่ 6-10 คือ กรดซิตริกสามารถย่อยไฟโบรอินไหมบ้านได้ (ช่องที่ 7-10) เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายไฟโบรอินไหมบ้านที่ไม่ได้รับผลของกรดซิตริก (ช่องที่ 6) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดซิตริกมากขึ้น ผลการศึกษามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการย่อยในไฟโบรอินของไหมอีรี่ จากลักษณะโครมาโตแกรมน่าจะเป็นของผลิตภัณฑ์ประเภทเปปไทด์

ไฟโบรอินจากไหมอีรี่และไหมบ้าน *B. mori* เข้มข้น 1% ผ่านการย่อยด้วยกรดซิตริกที่ความเข้ม 1, 2, 5 และ 10% แล้วเพิ่มเวลาในการนึ่งที่ความดันสูง เป็นเวลา 30 นาที ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 10 โดยการย่อยของสารละลายไฟโบรอินของไหมอีรี่อยู่ในช่องที่ 1- 5 และการย่อยของไฟโบรอินของไหมบ้าน *B. mori* ปรากฏในช่องที่ 6-10 ซึ่งพบว่า ไฟโบรอินทั้งสองชนิดมีแนวโน้มของการย่อยไม่แตกต่างจากการย่อยด้วยกรดซิตริกที่ความเข้มข้นเดียวกันเมื่อย่อยเป็นเวลา 15 นาที (ดูภาพที่ 9) แต่ปริมาณผลิตภัณฑ์เปปไทด์เพิ่มขึ้นสังเกตจากขนาดโครมาโตแกรมใหญ่ขึ้น

ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองเพิ่มความเข้มข้นของกรดซิตริกอีก 2 ความเข้มข้นคือ 20 และ 30% เปรียบเทียบกับ 10% และสารละลายที่ไม่ได้รับผลของกรดซิตริก ซึ่งเวลาที่ใช้ในการย่อยด้วยหม้อนึ่งความดันสูง คือ 15 นาที ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 11 การย่อยของสารละลายไฟโบรอินของไหมอีรี่ (ช่องที่ 1- 4) พบว่ากรดซิตริกสามารถย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ได้ (ช่องที่ 2-4) เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายไฟโบรอินไหมอีรี่ที่ไม่ได้รับผลของกรดซิตริก (ช่องที่ 1) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดซิตริกมากขึ้น (ช่องที่ 3 และ4) พบว่าย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ได้ไม่แตกต่างกันจากความเข้มข้นของกรดซิตริก 10% (ช่องที่ 2) ส่วนผลการย่อยไฟโบรอินของไหมบ้าน *B. mori* แสดงในภาพที่ 11 ช่องที่ 5-8 โดยสารละลายไฟโบรอินไหมบ้านที่ไม่ได้รับผลของกรดซิตริก (ช่องที่ 5) ผลการศึกษามีแนวโน้มเช่นเดียวกับการย่อยในไฟโบรอินของไหมอีรี่



**1 2 3 4 5 6 7 8 9 10**

**ภาพที่ 9** ผลการย่อยไฟโบรอินด้วยกรดซิตริกที่ความเข้มข้น1% 2% 5% และ 10% ในหม้อนึ่งความดันสูงเป็นเวลา 15 นาที โดยหมายเลข 1 ถึง 5 สารตั้งต้นคือโปรตีนไฟโบรอินของไหมอีรี่ หมายเลข 6 ถึง 10 สารตั้งต้นคือโปรตีนไฟโบรอินจากไหมบ้าน *B. mori*

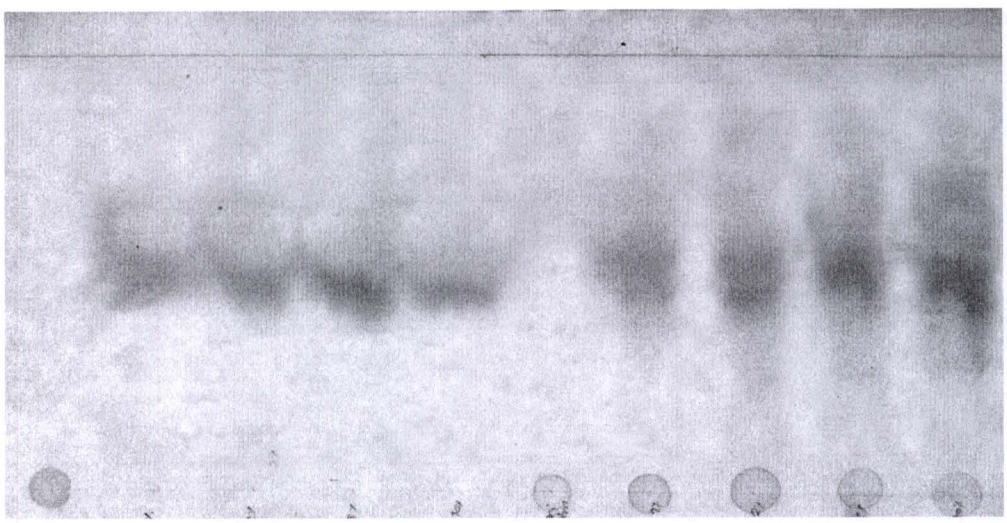
หมายเลข 1 และ 6 เป็นชุดการทดลองที่ไม่ได้รับผลของกรด (ชุดควบคุม)

หมายเลข 2 และ 7 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 1 %

หมายเลข 3 และ 8 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 2%

หมายเลข 4 และ 9 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 5%

หมายเลข 5 และ 10 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 10%



**1 2 3 4 5 6 7 8 9 10**

**ภาพที่ 10** ผลการย่อยไฟโบรอินด้วยกรดซิตริกที่ความเข้มข้น1% 2% 5% และ 10% ในหม้อนึ่งความดันสูงเป็นเวลา 30 นาที โดยหมายเลข 1 ถึง 5 สารตั้งต้นคือโปรตีนไฟโบรอินของไหมอีรี่ หมายเลข 6 ถึง 10 สารตั้งต้นคือโปรตีนไฟโบรอินจากไหมบ้าน *B. mori*

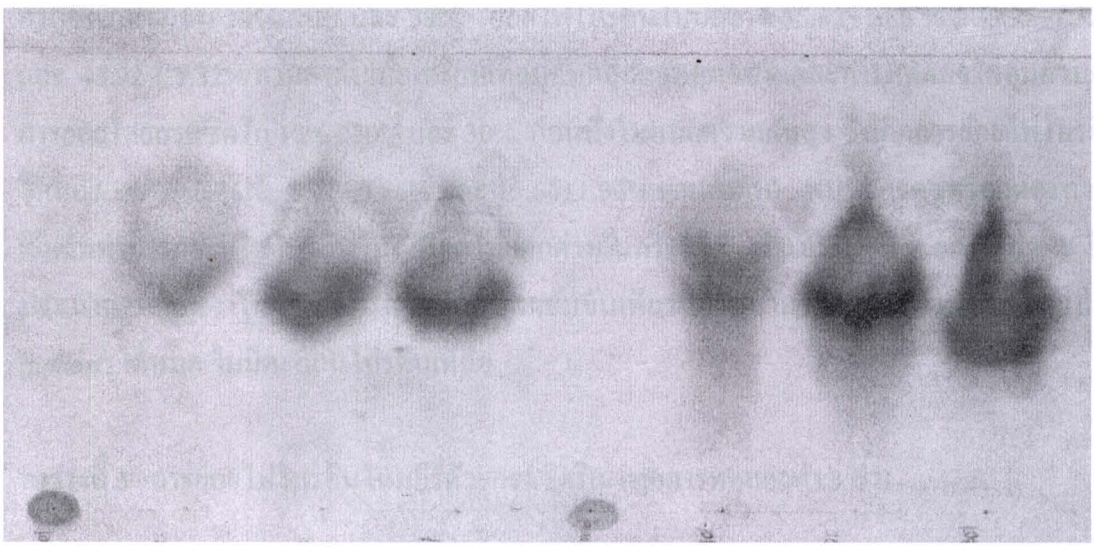
หมายเลข 1 และ 6 เป็นชุดการทดลองที่ไม่ได้รับผลของกรด (ชุดควบคุม)

หมายเลข 2 และ 7 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 1 %

หมายเลข 3 และ 8 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 2%

หมายเลข 4 และ 9 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 5%

หมายเลข 5 และ 10 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 10%



1 2 3 4 5 6 7 8

**ภาพที่ 11** ผลการย่อยไฟโบรอินด้วยกรดซิตริกที่ความเข้มข้น10% 20% และ 30% และในหม้อนึ่งความ ดันสูงเป็นเวลา 15 นาที โดยหมายเลข 1 ถึง 4 สารตั้งต้นคือโปรตีนไฟโบรอินของไหมอีรี่ หมายเลข 5 ถึง 8 สารตั้งต้นคือโปรตีนไฟโบรอินจากไหมบ้าน *B. mori*

หมายเลข 1 และ 5 เป็นชุดการทดลองที่ไม่ได้รับผลของกรด (ชุดควบคุม)

หมายเลข 2 และ 6 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 10 %

หมายเลข 3 และ 7 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 20%

หมายเลข 4 และ 8 เป็นชุดการทดลองที่ย่อยด้วยกรดซิตริกเข้มข้น 30%

เมื่อวิเคราะห์หาน้ำหนักที่หายไปของไฟโบรอินไหมอีรี่ ซึ่งคือส่วนที่ถูกย่อยไป โดยทำการทดลองย่อยด้วยกรดซิตริก 10% และ 30% ในหม้อนึ่งความดันสูงเป็นเวลา 30 นาที ปั่นเหวี่ยงที่แรงเหวี่ยง 10000 rpm (10 นาที) เก็บแยกส่วนตะกอนไหมอีรี่ ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ทำให้แห้งด้วยความเย็นสูง (freeze-drying) แล้วบันทึกน้ำหนักแห้ง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 5 กรดซิตริกเข้มข้น 10%, 20% และ 30% ย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ได้ 35.52±1.86 % , 39.96±1.32% และ 45.92 ±1.32% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมของแต่ละการทดลอง (กลุ่มควบคุมการย่อยโดยกรดซิตริก 10% , 20% และ 30% ก่อนนึ่งในหม้อความดันสูง ซึ่งเกิดการย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ 4.72±0.86%, 8.46±0.86% และ 15.66±1.36% ตามลำดับ) พบว่า กรดซิตริกแต่ละความเข้มข้นสามารถย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ $p < 0.05$ โดยจะย่อยได้ประมาณ 30% ในขณะที่กรดซิตริกความเข้มข้นเพียง 10% สามารถย่อยไฟโบรอินไหมบ้าน *B. mori* ได้หมด ไม่มีตะกอนโปรตีนเหลือ

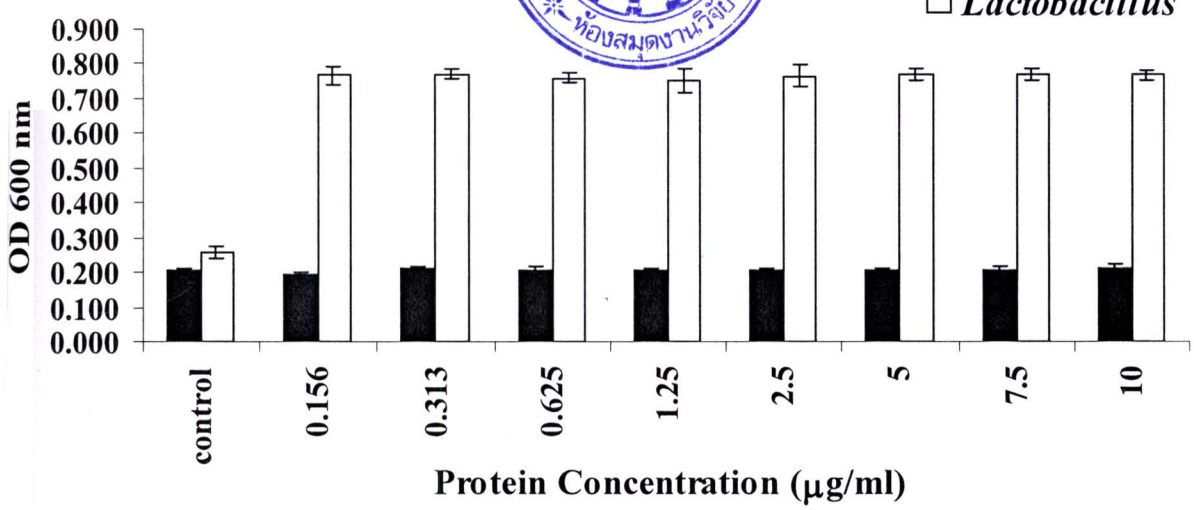
**ตารางที่ 5** การย่อยไฟโบรอินไหมอีรี่ด้วยกรดซิตริก (ทุกการทดลองทำ 3 ซ้ำ)

| ความเข้มข้นของกรด | % การย่อยไฟโบรอิน |
|---|---|
| กรดซิตริก 10% | |
| ควบคุมก่อนย่อย | 4.72±0.86 |
| หลังย่อย | 35.52±1.86 |
| กรดซิตริก 20% | |
| ควบคุมก่อนย่อย | 8.46±0.86 |
| หลังย่อย | 39.96±1.32 |
| กรดซิตริก 30% | |
| ควบคุมก่อนย่อย | 15.66±1.36 |
| หลังย่อย | 45.92±1.32 |

**4.9 การศึกษาผลของไฟโบรอินไหมอีรี่ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย**

ศึกษาผลของไฟโบรอินไหมอีรี่ต่อเชื้อ 2 ชนิด คือ *Escherichia coli* และ *Lactobacillus* 1463 ติดตามผลโดยการวัดความขุ่นของเชื้อที่ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร ความเข้มข้นของไฟโบรอินที่ใช้ทดลอง คือ 0.156-10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบแสดงในภาพที่ 12 พบว่าเชื้อ *E. coli* เจริญในอาหารที่มีไฟโบรอินทุกๆความเข้มข้นได้ไม่แตกต่างกับเชื้อ *E. coli* ในอาหารควบคุมไม่มีไฟโบรอินไหมอีรี่ ในขณะที่เชื้อ *Lactobacillus* 1463 เจริญได้ดีในอาหารที่มีโปรตีนไฟโบรอินไหมอีรี่เข้มข้น 0.156 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยมีค่าความขุ่น 0.765±0.027 ซึ่งดีกว่าเชื้อเจริญในอาหารควบคุม (ค่าความขุ่น 0.257±0.016) ประมาณ 3 เท่า และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฟโบรอินไหมอีรี่ในอาหารจนถึง 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปรากฏว่า เชื้อ *Lactobacillus* 1463 เจริญได้ไม่แตกต่างกันกับเชื้อที่เจริญในอาหารที่มีความเข้มข้นไฟโบรอิน 0.156 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่ค่าความเชื่อมั่น $p < 0.05$

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย




**ภาพที่ 12** การวิเคราะห์ผลของไฟโบรอินไหมอีรี่ต่อการเจริญของ *Escherichia coli* และ *Lactobacillus* 1463 ในการทดลองโปรตีนไฟโบรอินที่ใช้มีความเข้มข้นต่างๆกัน โดยแท่งกราฟสีดำ คือ สัญลักษณ์แทนชุดการทดลองต่อเชื้อ *Escherichia coli* แท่งกราฟสีขาว คือ *Lacto bacillus* ชุดควบคุม คือ ชุดการทดลองที่เชื้อไม่ได้รับของไฟโบรอินของไหมอีรี่

**4.10 ประยุกต์ใช้ไฟโบรอินไหมอีรี่กับเครื่องสำอาง**

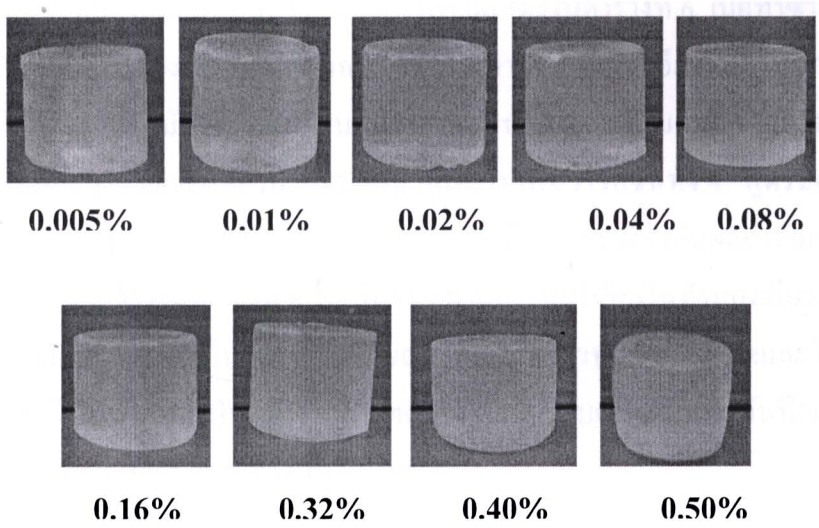
**4.10.1 สบู่**

การทำสบู่แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง กลุ่มที่หนึ่ง คือ กลุ่มควบคุมเป็นกลุ่มของสบู่ที่ไม่มีไฟโบรอินไหมอีรี่ และกลุ่มที่สอง คือ กลุ่มทดลอง ซึ่งจะเติมโปรตีนไฟโบรอินที่ความเข้มข้นต่างๆกัน คือ 0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32, 0.40 และ 0.50% สบู่ที่มีปริมาตรรวม 60 มิลลิลิตร มีส่วนผสมดังตารางต่อไปนี้

| ส่วนผสม | สูตรควบคุม (กรัม) | สูตรทดสอบ (กรัม) |
|---|---|---|
| เม็ดสบู่ | 50 | 50 |
| propylene glycol | 20 | 20 |
| lanolin | 2 | 2 |
| glycerin | 5 | 5 |
| ไฟโบรอินไหมอีรี่ | - | ตามเปอร์เซ็นต์ที่ต้องการทดสอบ |

ผลการทดลองแสดงดัง ภาพที่ 13 การทดลองพบว่าสบู่ที่เติมไฟโบรอินเข้มข้น 0.005 ถึง 0.008 % สามารถผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายสบู่ได้ไม่มีการแยกชั้นกัน เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฟโบรอินเป็น 0.160% สบู่ที่ได้มีตะกอนของไฟโบรอินกองอยู่ด้านล่างของก้อนสบู่และเริ่มมีการแยกชั้นของสบู่กับโปรตีนไฟโบรอิน และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฟโบรอินมากขึ้นจนถึง 0.50% พบว่า เกิดการแยกชั้นและมีตะกอนของไฟโบรอินเพิ่มขึ้นในเนื้อสบู่อย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับสบู่กลุ่มควบคุมที่ไม่มีไฟโบรอิน

ผลการทดสอบความพึงพอใจของสบู่ในด้านรูปลักษณ์ การมีฟอง การให้ความรู้สึกนุ่ม ชุ่มชื่น พบว่า อาสาสมัครมีความพึงพอใจในสบู่ที่มีส่วนผสมของโปรตีนไฟโบรอินมากกว่าสบู่ที่ไม่ได้เติมไฟโบรอิน และในระหว่างกลุ่มสบู่ที่มีส่วนผสมของไฟโบรอินพบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจในสบู่ที่มีไฟโบรอินที่ความเข้มข้น 0.16 % มากที่สุด




**ภาพที่ 13** สบู่ที่มีโปรตีนไฟโบรอินของไหมอีรี่ผสมในความเข้มข้นเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

**4.10.2 โลชั่นทาผิวกาย**

**การทดสอบความคงตัวทางกายภาพของโลชั่น 4 สูตร**

โลชั่นทั้ง 4 สูตรมีสมบัติทางกายภาพเริ่มต้นคือ พีเอช 6-7, สีขาวขุ่น เนื้อละเอียด และผสมเป็นเนื้อเดียวกันระหว่างชั้นของน้ำและน้ำมัน (ไม่แยกชั้น) นำมาทดสอบความคงตัวทางกายภาพของโลชั่นที่เตรียมได้ ซึ่งการทดสอบมี 3 วิธี คือ ทดสอบด้วยสภาวะเร่ง การบ่มที่ 4 องศาเซลเซียสนาน 1 เดือน และการบ่มที่อุณหภูมิห้อง 1 เดือน องค์ประกอบของโลชั่นปริมาตรรวม 50 มิลลิลิตร มีอัตราส่วนเปลี่ยนไปตามสูตรทั้ง 4 สูตร ดังนี้

| ส่วนผสม | สูตร 1(กรัม) | สูตร 2 (กรัม) | สูตร 3 (กรัม) | สูตร 4 (กรัม) |
|---|---|---|---|---|
| น้ำกลั่น | 19.25 | 21.5 | 22.5 | 23.5 |
| aloe vela juice | 19.25 | 17 | 16 | 15 |
| น้ำมันเมล็ดองุ่น | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Emulsifying wax (AP-wax) | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Strearic acid | 2 | 2 | 2 | 2 |
| glycerine | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 |
| preservative (paraben) | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| fragrance | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |

ผลการทดสอบสภาวะเร่งของโลชันแสดงในตารางที่ 6 เมื่อทำซ้ำ 6 รอบ พบว่าโลชั่นมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6-7 ลักษณะโลชั่นมีสีขาวขุ่นเนื้อละเอียดและไม่มีการแยกชั้นของส่วนผสมที่เป็นน้ำกับน้ำมัน ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงจากสมบัติกายภาพเริ่มต้น จากการสังเกตค่าพีเอช สี เนื้อโลชั่นและการแยกชั้นของน้ำกับน้ำมัน แสดงให้เห็นว่าโลชั่นทั้ง 4 สูตรมีความคงตัวทางกายภาพเมื่อบ่มโลชั่นที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน เช่นเดียวกับผลการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน แสดงในตารางที่ 8 โดยโลชั่นที่ผ่านการบ่มให้ผลในทำนองเดียวกัน คือ โลชั่นที่ผ่านการทดสอบมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6-7 ลักษณะโลชั่นมีสีขาวขุ่นเนื้อละเอียดและไม่มีการแยกชั้นของส่วนผสมที่เป็นน้ำกับน้ำมัน ซึ่งจากการทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับการบันทึกผลเริ่มต้นแสดงให้เห็นว่าโลชั่นทั้ง 4 สูตรมีความคงตัวทางกายภาพ

**. การทดสอบความพึงพอใจของโลชั่น 4 สูตร**

การทดสอบความพึงพอใจของอาสาสมัครจำนวน 11 คนโดยการทาโลชั่นบริเวณหลังแขนจำนวน 5 ตำแหน่งแล้วกรอกลงบนแบบสอบถามความพึงพอใจสูตรโลชั่นทาผิวกาย ระดับคะแนนความพอใจ 4 คือ มาก 3 คือ ปานกลาง 2 คือ น้อย 1 คือ ไม่พอใจ และ 0 คือ ไม่แน่ใจ ผลการทดสอบพบว่า โลชันสูตรที่ 2 เป็นที่พึงพอใจของอาสาสมัครมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 76.0 ± 2.9 ลำดับถัดมาเป็นโลชันสูตร 3, 4 และ 1 ซึ่งคิดเป็นร้อยละได้เป็น 73.3 ± 6.3, 67.3 ± 5.1 และ 54.2 ± 4.8 ตามลำดับ แจกแจงความถี่ของความพอใจสูตรโลชันได้ดังตารางที่ 9 (โลชั่นสูตร 1 ) ตารางที่ 10 (โลชั่นสูตร 2) ตารางที่ 11 (โลชั่นสูตร 3) และตารางที่ 12 (โลชั่นสูตร 4)

**ตารางที่ 6** การทดสอบการคงตัวทางกายภาพของโลชั่นโดยสภาวะเร่ง

| **สิ่งที่ทดสอบ/ สูตรโลชั่น** | | **สูตร 1** | **สูตร 2** | **สูตร 3** | **สูตร 4** |
|---|---|---|---|---|---|
| พีเอช | **เริ่มต้น** | 6-7 | 6-7 | 6-7 | 6-7 |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |
| สีของโลชั่น | **เริ่มต้น** | สีขาวข้น | สีขาวข้น | สีขาวข้น | สีขาวข้น |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |
| เนื้อโลชั่น | **เริ่มต้น** | เนื้อละเอียด | เนื้อละเอียด | เนื้อละเอียด | เนื้อละเอียด |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |
| การแยกชั้นของน้ำมันและน้ำ | **เริ่มต้น** | ไม่แยกชั้น | ไม่แยกชั้น | ไม่แยกชั้น | ไม่แยกชั้น |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |

**ตารางที่ 7** การทดสอบการคงตัวทางกายภาพของโลชั่น เมื่อบ่มที่ 4 องศาเซลเซียส

| **สิ่งที่ทดสอบ/ สูตรโลชั่น** | | **สูตร 1** | **สูตร 2** | **สูตร 3** | **สูตร 4** |
|---|---|---|---|---|---|
| พีเอช | **เริ่มต้น** | 6-7 | 6-7 | 6-7 | 6-7 |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |
| สีของโลชั่น | **เริ่มต้น** | สีขาวข้น | สีขาวข้น | สีขาวข้น | สีขาวข้น |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |
| เนื้อโลชั่น | **เริ่มต้น** | เนื้อละเอียด | เนื้อละเอียด | เนื้อละเอียด | เนื้อละเอียด |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |
| การแยกชั้นของน้ำมันและน้ำ | **เริ่มต้น** | ไม่แยกชั้น | ไม่แยกชั้น | ไม่แยกชั้น | ไม่แยกชั้น |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |

**ตารางที่ 8** การทดสอบการคงตัวทางกายภาพของโลชั่น เมื่อบ่มที่อุณหภูมิห้อง

| **สิ่งที่ทดสอบ/ สูตรโลชัน** | | **สูตร 1** | **สูตร 2** | **สูตร 3** | **สูตร 4** |
|---|---|---|---|---|---|
| พีเอช | **เริ่มต้น** | 6-7 | 6-7 | 6-7 | 6-7 |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |
| สีของโลชั่น | **เริ่มต้น** | สีขาวข้น | สีขาวข้น | สีขาวข้น | สีขาวข้น |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |
| เนื้อโลชั่น | **เริ่มต้น** | เนื้อละเอียด | เนื้อละเอียด | เนื้อละเอียด | เนื้อละเอียด |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |
| การแยกชั้นของน้ำมันและน้ำ | **เริ่มต้น** | ไม่แยกชั้น | ไม่แยกชั้น | ไม่แยกชั้น | ไม่แยกชั้น |
| | **เวลายุติ** | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง | ไม่เปลี่ยนแปลง |

**ตารางที่ 9** ความพึงพอใจต่อโลชั่นสูตร 1

| สูตร 1 | ความถี่ของระดับคะแนน (จำนวนอาสาสมัคร) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **0** | **1** | **2** | **3** | **4** |
| ความเข้มข้นของเนื้อโลชั่น | 0 | 0 | 4 | 6 | 1 |
| การให้ความรู้สึกนุ่มเนียน | 0 | 1 | 7 | 3 | 0 |
| การให้ความรู้สึกไม่เหนียวเหนอะ | 0 | 6 | 1 | 3 | 1 |
| การให้ความรู้สึกชุ่มชื้น | 0 | 3 | 7 | 1 | 0 |
| การซึมผ่านผิวหนัง | 0 | 5 | 6 | 0 | 1 |
| การแผ่กระจายเมื่อทาบนผิวกาย | 2 | 0 | 7 | 1 | 1 |

**ตารางที่ 10** ความพึงพอใจต่อโลชั่นสูตร 2

| สูตร 2 | ความถี่ของระดับคะแนน (จำนวนอาสาสมัคร) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **0** | **1** | **2** | **3** | **4** |
| ความเข้มข้นของเนื้อโลชั่น | 0 | 0 | 1 | 7 | 3 |
| การให้ความรู้สึกนุ่มเนียน | 0 | 0 | 1 | 7 | 3 |
| การให้ความรู้สึกไม่เหนียวเหนอะ | 0 | 1 | 0 | 8 | 2 |
| การให้ความรู้สึกชุ่มชื้น | 0 | 0 | 1 | 8 | 2 |
| การซึมผ่านผิวหนัง | 1 | 0 | 2 | 8 | 0 |
| การแผ่กระจายเมื่อทาบนผิวกาย | 0 | 0 | 1 | 10 | 0 |

**ตารางที่ 11** ความพึงพอใจต่อโลชั่นสูตร 3

| สูตร 3 | ความถี่ของระดับคะแนน (จำนวนอาสาสมัคร) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **0** | **1** | **2** | **3** | **4** |
| ความเข้มข้นของเนื้อโลชัน | 0 | 1 | 2 | 6 | 2 |
| การให้ความรู้สึกนุ่มเนียน | 0 | 1 | 2 | 6 | 2 |
| การให้ความรู้สึกไม่เหนียวเหนอะ | 0 | 2 | 1 | 5 | 3 |
| การให้ความรู้สึกชุ่มชื้น | 0 | 1 | 2 | 5 | 3 |
| การซึมผ่านผิวหนัง | 0 | 1 | 2 | 7 | 1 |
| การแผ่กระจายเมื่อทาบนผิวกาย | 1 | 1 | 0 | 8 | 1 |

**ตารางที่ 12** ความพึงพอใจต่อโลชั่นสูตร 4

| สูตร 4 | ความถี่ของระดับคะแนน (จำนวนอาสาสมัคร) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **0** | **1** | **2** | **3** | **4** |
| ความเข้มข้นของเนื้อโลชัน | 0 | 0 | 2 | 7 | 2 |
| การให้ความรู้สึกนุ่มเนียน | 0 | 1 | 3 | 3 | 4 |
| การให้ความรู้สึกไม่เหนียวเหนอะ | 0 | 1 | 2 | 7 | 1 |
| การให้ความรู้สึกชุ่มชื้น | 0 | 0 | 2 | 7 | 2 |
| การซึมผ่านผิวหนัง | 0 | 0 | 4 | 6 | 1 |
| การแผ่กระจายเมื่อทาบนผิวกาย | 1 | 0 | 2 | 6 | 2 |

**การทดสอบความคงตัวทางกายภาพของโลชั่นสูตรปรับผสมไฟโบรอินไหมอีรี่**

จากผลการทดสอบความพึงพอใจของโลชั่นทั้ง 4 สูตร (ตารางที่9-12) จึงเลือกนำ**โลชั่นสูตรที่ 2** มาปรับปรุงให้มีส่วนผสมของไฟโบรอินไหมอีรี่เข้มข้น 0.008% ปริมาตรโลชั่นรวม 50 มิลลิลิตรมีส่วนผสมตามอัตราส่วนดังนี้

| ส่วนผสม | สูตรควบคุม (กรัม) | สูตรทดสอบ (กรัม) |
|---|---|---|
| น้ำกลั่น | 21.5 | 21.5 |
| aloe vela juice | 17 | 17 |
| น้ำมันเมล็ดองุ่น | 5 | 5 |
| Emulsifying wax (AP-wax) | 2 | 2 |
| Strearic acid | 2 | 2 |
| glycerine | 1.5 | 1.5 |
| preservative (paraben) | 0.5 | 0.5 |
| fragrance | 0.5 | 0.5 |
| cyclomethicone | 2 | 2 |
| ไฟโบรอินไหมอีรี่ | - | 0.008% (v/v) |

เมื่อทดสอบความคงตัวทางกายภาพของโลชั่นสูตร 2 ปรับผสมไฟโบรอินไหมอีรี่ด้วยการบ่มในสภาวะเร่ง บ่มที่ 4 องศาเซลเซียสหรืออุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน เปรียบเทียบกับโลชั่นสูตร 2 ควบคุม (ไม่เติมไฟโบรอินไหมอีรี่) พบว่า โลชั่นทั้งสูตร 2 ควบคุมและสูตร 2 ปรับผสมไฟโบรอินไหมอีรี่ มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6-7 ลักษณะโลชั่นมีสีขาวขุ่นเนื้อละเอียดและไม่มีการแยกชั้นของส่วนผสมที่เป็นน้ำกับน้ำมัน ทั้งก่อนและหลังการทดสอบ แสดงว่าโลชั่นสูตรปรับผสมไฟโบรอินไหมอีรี่ 0.008% มีความคงตัวทางกายภาพ

**การทดสอบความพึงพอใจของโลชั่นสูตร 2 ปรับผสมไฟโบรอินไหมอีรี่**

การทดสอบความพึงพอใจของอาสาสมัครจำนวน 12 คนโดยการทาโลชั่นบริเวณหลังแขน 5 ตำแหน่ง ประเมินความพึงพอใจ ตามระดับ 4 (พอใจมาก) 3 (ปานกลาง) 2 (น้อย) 1 (ไม่พอใจ) และ 0 (ไม่แน่ใจ) ผลการทดสอบพบว่า อาสาสมัครพึงพอใจโลชันสูตรปรับผสมไฟโบรอินไหมอีรี่ด้วยระดับคะแนนร้อยละ 81.94 $\pm$ 7.51 มากกว่าความพึงพอใจโลชั่นสูตร 2 ควบคุม (ระดับคะแนนร้อยละ 64.29$\pm$ 5.30) การแจกแจงความถี่ของความพอใจสูตรโลชันสูตรควบคุมและสูตรปรับผสมไฟโบรอินไหมอีรี่ แสดงในตารางที่ 13 และ 14 ตามลำดับ

**ตารางที่ 13** ความพึงพอใจต่อโลชั่นสูตร 2 ควบคุม

| สมบัติทดสอบ | ความถี่ของระดับคะแนน (จำนวนอาสาสมัคร) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **0** | **1** | **2** | **3** | **4** |
| ความเข้มข้นของเนื้อโลชัน | 0 | 0 | 4 | 5 | 3 |
| การให้ความรู้สึกนุ่มเนียน | 0 | 1 | 4 | 6 | 1 |
| การให้ความรู้สึกไม่เหนียวเหนอะ | 1 | 4 | 1 | 6 | 0 |
| การให้ความรู้สึกชุ่มชื้น | 0 | 1 | 2 | 9 | 0 |
| การซึมผ่านผิวหนัง | 0 | 0 | 6 | 5 | 1 |
| การแผ่กระจายบนผิวกาย | 0 | 2 | 1 | 7 | 2 |

**ตารางที่ 14** ความพึงพอใจต่อโลชั่นสูตร 2 ปรับผสมไฟโบรอินไหมอีรี่

| สมบัติทดสอบ | ความถี่ของระดับคะแนน (จำนวนอาสาสมัคร) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **0** | **1** | **2** | **3** | **4** |
| ความเข้มข้นของเนื้อโลชัน | 0 | 0 | 2 | 6 | 4 |
| การให้ความรู้สึกนุ่มเนียน | 0 | 0 | 4 | 4 | 4 |
| การให้ความรู้สึกไม่เหนียวเหนอะ | 0 | 0 | 3 | 4 | 5 |
| การให้ความรู้สึกชุ่มชื้น | 0 | 0 | 2 | 7 | 3 |
| การซึมผ่านผิวหนัง | 0 | 0 | 6 | 4 | 2 |
| การแผ่กระจายบนผิวกาย | 0 | 0 | 3 | 4 | 5 |

**4.10.3 สูตรแชมพูสำหรับสุนัข**

แชมพูสุนัขที่เตรียมมีลักษณะทางกายภาพ คือ ค่าพีเอช 5-6 สีขาวขุ่น ลักษณะเนื้อแชมพูนุ่มลื่น ไหลง่าย ไม่เกิดการแยกชั้นของเฟสน้ำมันและน้ำ เมื่อผสมไฟโบรอินไหมอีรี่ 5% สีของแชมพูเปลี่ยนเป็นสีครีมตามสีของไฟโบรอินและลักษณะเนื้อแชมพูมีสภาพของเหลวมากขึ้น ความหนืดลดลง เมื่อทดสอบการคงตัวทางกายภาพ พบว่า ส่วนผสมทั้งสูตรธรรมดาและสูตรที่เติมไฟโบรอินไหมอีรี่มีความคงตัว ลักษณะทางกายภาพไม่เปลี่ยนแปลง ทั้งโดยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง