**Thesis Title** Exhaustive Separation of Fibroin, Sericin and Pigments from

Yellow Thai Silk Cocoon

**Author** Ms. Ruchira Pinkaew

**Degree** Master of Science (Chemistry)

Thesis Advisor Associate Professor Dr. Surasak Watanesk

## **ABSTRACT**

At present, there have been widespread studies on the extraction of silk proteins consisting of sericin and fibroin as well as their various applications. Moreover, pigment components of the yellow silk cocoon are very interesting because they are mostly associated with carotenoids and flavonoids as highly efficient antioxidants. In this research, exhaustive separation of fibroin, sericin and pigments from yellow Thai silk cocoons from two sources (Chiang Mai and Nan provinces) were used in this study. Pigment extraction was conducted in order to investigate the suitable extraction conditions including type of solvent, acid-base condition, temperature and extraction time. The amount of pigment extracted was checked spectrophotometrically. Complete removal of the pigments of silk cocoon could be achieved by repeating reflux extraction 4 times with 0.80 M CH<sub>3</sub>COONa in 80% (v/v) ethanol at 80 °C for 30 min. The total amounts of pigments of cocoon samples from Nan and Chiang Mai provinces were  $24.0 \pm 0.6$  and  $24.5 \pm 0.4$  mg/g, respectively. After removing the pigment, the sericin was extracted using a mixture of sodium carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) and sodium hydrogen carbonate (NaHCO<sub>3</sub>) in the presence of 2% (v/v) sodium dodecyl sulfate (SDS) at 95 °C for 30 min. In the purification step, the degumming solution was precipitated with 5 % (v/v) acetic acid to obtain sericin. For fibroin, the degummed silk was dissolved in a mixed solution of CaCl<sub>2</sub>, ethanol and water. The results showed that the amounts of sericin and fibroin in the cocoons samples from Nan province were  $67.7 \pm 4.9 \text{ mg/g}$  and  $550 \pm 21 \text{ mg/g}$ , respectively while those samples from Chiang Mai province were  $77.8 \pm 7.1$  mg/g and  $576 \pm 33$  mg/g, respectively. The analysis revealed that the amounts of pigment, sericin and fibroin extracted from silk cocoon raised in Chiang Mai province were not significantly different from those raised in Nan province. Hence, this result indicated that the differences in weather, and harvesting conditions did not affect the qualities of mulberry leaves used for feeding the silkworms, thus they did not cause any differences in the amounts of the compounds under study. However, the identities of the extracted products i.e., pigment, sericin and fibroin, were finally verified through their functional groups using Fourier Transform Infrared Spectroscopy.



**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** การแยก ไฟโบรอิน เซริซิน และสารสี ออกให้หมดจาก

รังใหมใทยสีเหลือง

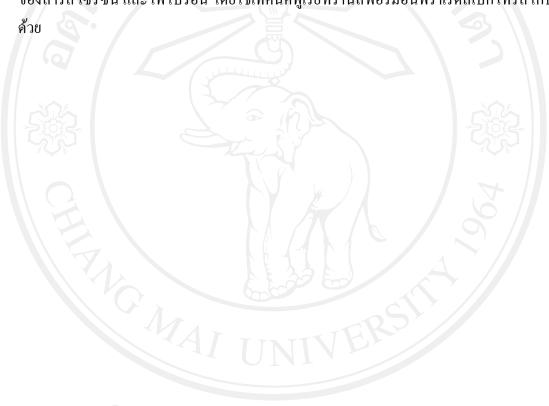
ผู้เขียน นางสาวรุจิรา ปิ่นแก้ว

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ คร. สุรศักดิ์ วัฒเนสก์

## บทคัดย่อ

้ ปัจจุบัน มีการศึกษาการสกัดโปรตีนไหมที่ประกอบด้วยเซริซิน และไฟโบรอินกันอย่าง แพร่หลาย เช่นเดียวกับการนำไปประยุกต์ ยิ่งไปกว่านั้น องค์ประกอบที่เป็นสารสีของรังไหมสี เหลืองยังน่าสนใจ เพราะว่ามีสารจำพวกแคโรทีนอยด์ และฟลาโวนอยค์ที่มีฤทธิ์ในการต่อต้าน อนุมูลอิสระที่ดี ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการแยกไฟโบรอิน เซริซิน และสารสิออกให้หมดจากรังไหม ไทยสีเหลืองที่มาจากสองแหล่ง (จังหวัดเชียงใหม่และน่าน) การสกัดสารสีได้ดำเนินการเพื่อหา สภาวะการสกัดที่เหมาะสม เช่น ชนิดของตัวทำละลาย สภาพกรค-เบส อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ใน การสกัด ได้มีการตรวจวัดปริมาณของสารสีที่สกัดได้โดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี การแยกที่ สมบูรณ์ของสารสีจากรังใหมทำได้โดยการสกัดแบบรีฟลักซ์ซ้ำ 4 ครั้ง ด้วยตัวทำละลายที่ ประกอบด้วย 0.80 โมลาร์โซเดียมแอซิเทต ในเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 ° ซ เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งปริมาณสารสีทั้งหมดที่สกัดได้ คือ 24.0  $\pm$  0.6 และ24.5  $\pm$  0.4 มิลลิกรัมต่อกรัมของตัวอย่างรังใหมจากจังหวัดน่าน และเชียงใหม่ ตามลำดับ สำหรับการสกัด เซริซิน หลังจากที่เอาสารสื่ออกแล้ว นำมาลอกกาวโดยใช้สารละลายผสมของ โซเคียมคาร์บอเนต โซเคียมไฮโครเจนคาร์บอเนตและ สารละลายโซเคียมโคเคซิลซัลเฟต เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โคย ปริมาตร โดยต้มที่ 95 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ในขั้นตอนการทำเซริซินให้บริสุทธิ์นั้น ทำได้โดยนำ สารละลายที่ใค้จากกระบวนการลอกกาวใหม มาตกตะกอนค้วยกรดแอซีติก เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ สำหรับไฟโบรอิน ได้นำใหมที่ผ่านการลอกกาวแล้ว มาละลายในสารละลายผสมของ แคลเซียม คลอไรค์ เอทานอล และน้ำ สำหรับปริมาณเซริซิน และไฟโบรอิน ที่มีในตัวอย่างรังไหมจากจังหวัด น่าน คือ 67.7 ± 4.9 และ550 ± 21 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณเซริซิน และ ไฟโบรอินในตัวอย่างจากจังหวัดเชียงใหม่ คือ 77.8 ± 7.1 และ576 ± 33 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำคับ จะเห็นว่า สารสี เซริซิน และไฟโบรอินที่สกัดจากรังไหมไทยสีเหลืองที่เลี้ยงในจังหวัด เชียงใหม่มีปริมาณที่ไม่แตกต่างไปกว่าสารต่างๆในรังไหมที่เลี้ยงในจังหวัดน่านอย่างเป็นนัยสำคัญ จากผลลัพธ์ที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่าความแตกต่างของสภาพอากาศ และการเก็บเกี่ยว ไม่มีผลต่อ กุณภาพของใบหม่อนที่ใช้เลี้ยงหนอนไหม จึงทำให้ไม่เกิดความแตกต่างของปริมาณของสารต่างๆ ที่ทำการศึกษา แต่อย่างไรก็ตาม ได้มีการยืนยันเอกลักษณ์ของสารที่สกัดได้จากหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ของสารสี เซริซิน และไฟโบรอิน โดยใช้เทคนิกฟูเรียทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีอีก



## ลิบสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright<sup>©</sup> by Chiang Mai University All rights reserved