

การศึกษาการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครม

ฉันทันท์ ศรีพันธ์อม^{1*}, วณิดา ชัยชนะ², วลัยลักษณ์ ชื่นใจดี¹ และนิตยา นิลวรรณ¹

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000

²สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000

*Thanyanan.kae123@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมโดยใช้อัลคาไลน์โปรตีเอสที่ผลิตโดยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมโดยวิธีทางเคมีร่วมกับเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีเอส เปรียบเทียบ 2 วิธี คือ 1) การสกัดโปรตีนด้วยกรด-เบสและเอนไซม์ 2) การสกัดโปรตีนด้วยเบสและเอนไซม์ ผลการวิจัยพบว่า ในการสกัดโปรตีนโดยใช้เบสและเอนไซม์การย่อยครั้งที่ 1 สกัดโปรตีนได้ปริมาณ 92.23 ± 9.61 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการย่อยต่อเนื่องครั้งที่ 2 พบว่า สามารถสกัดโปรตีนได้อีกปริมาณ 84.57 ± 6.11 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนการสกัดโปรตีนโดยกรด-เบสและเอนไซม์ สามารถสกัดโปรตีนครั้งที่ 1 ได้ปริมาณ 18.23 ± 4.16 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการย่อยต่อเนื่องครั้งที่ 2 ได้โปรตีนปริมาณ 10.90 ± 7.21 มิลลิกรัมต่อลิตร การสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมโดยใช้เบสและเอนไซม์เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการสกัดโปรตีนซึ่งมีค่าทางสถิติแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ: เศษหนังฟอกโครม โปรตีน เอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีเอส โครเมียม

The study of protein extraction from leather waste

Thanyanan Sripanlom^{1*}, Vanida Chaichana², Warailuk Cheunjaidee¹ and Nittaya Nilwanna¹

¹Chemistry program, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University 73000

²Crop production and Technology program, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University 73000

*Thanyanan.kae123@gmail.com

Abstract

In this research, the protein was extracted from leather waste by using alkaline protease produced by *Bacillus amyloliquefaciens*. The purpose of this research is to investigate the method of protein extraction from leather waste by chemical method associated with alkaline protease enzyme. Two extraction methods were compared here: 1) protein extraction with acid-base and enzyme; 2) protein extraction with base and enzyme. The results show that the protein extraction methods with base-enzyme can produce protein extracts of 92.23 ± 9.61 mg/L at the first extraction. And the second extraction, the protein extracts were 84.57 ± 6.11 mg/L. For protein extraction methods with acid-base and enzyme, it gave the protein extracts of 18.23 ± 4.16 mg/L and then second extraction gave the protein extracts of 10.90 ± 7.21 mg/L. It can be seen that the protein extraction method with base-enzyme is the most effective method for extracting protein with significant statistical difference.

Keywords: Leather shaving, Protein, Alkaline protease, Chromium

1. บทนำ

โปรตีน (protein) เป็นสารที่พบมากที่สุดในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยทั่วไปในเซลล์ของพืชและสัตว์มีโปรตีนอยู่มากกว่าร้อยละ 50 ของน้ำหนักแห้ง เป็นสารชีวโมเลกุลที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และมีโครงสร้างที่ซับซ้อน ประกอบด้วยธาตุต่างๆ คือ คาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจนและในบางชนิดอาจมีกำมะถันและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบร่วมด้วย (เสาวลักษณ์ ทูลเดช, 2556) ยังเป็นสารอาหารที่พบได้ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดทั้งที่เป็นพืชและสัตว์ โดยจะพบมากในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ต่างๆ เช่น เนื้อปลา เนื้อหมู ไช้ นม เนยจากสัตว์ สามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสกับน้ำ โดยสารละลายกรด เบส หรือเอนไซม์บางชนิดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะถูกไฮโดรไลส์จากโมเลกุลใหญ่ค่อยๆ กลายเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ และถ้าการเกิดไฮโดรลิซิสเป็นไปอย่างสมบูรณ์ กระบวนการเกิดไฮโดรลิซิสของโปรตีนก็คือปฏิกิริยาย้อนกลับของการเกิดโปรตีนนั่นเอง โปรตีนแต่ละชนิดเมื่อนำไปไฮโดรไลส์อาจจะได้กรดอะมิโนชนิดต่างๆ จำนวนมาก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของโปรตีนนั้นๆ

หนังสัตว์จัดเป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง โดยทั่วไปหนังสัตว์ประกอบด้วยน้ำ 64% โปรตีน 33% ไขมัน 2% เกลือแร่ 0.5% และสารอื่นๆ อีก 0.5% โดยโปรตีนในหนังสัตว์ประมาณ 80-90% เป็นโปรตีนคอลลาเจน (collagen) เคอราติน (keratin) อีลาสติน (elastin) โกลบูลูลิน (globucolin) และมูโคโปรตีน (mucoprotein) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ด้วย โดยหนังสัตว์ที่พบส่วนใหญ่เป็นหนังโค กระบือ ได้จากโรงฆ่าสัตว์ ซึ่งได้ชำแหละหนังแยกออกจากส่วนที่เป็นเนื้อและนำไปหมักเกลือเพื่อรักษาสภาพหนังไม่ให้เน่าเปื่อยก่อนส่งไปโรงงานฟอกหนัง อุตสาหกรรมฟอกหนังเป็นอุตสาหกรรมเกษตรประเภทหนึ่งโดยมีการนำหนังสัตว์มาใช้ประโยชน์ นิยมใช้การฟอกด้วยโครม ในการฟอกหนังจะมีเศษวัสดุเหลือทิ้งคือเศษหนังโดยเป็นเศษหนังจากขั้นตอนต่างๆ ในการฟอกหนัง หลักการในการฟอกหนังเป็นการใช้ประโยชน์จากผิวหนังส่วนที่เรียกว่า คอเรียม (corium) โดยใช้สารเคมีไปทำปฏิกิริยากับคอลลาเจน ซึ่งเป็นสารประกอบที่สำคัญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันคอเรียม โปรตีนคอลลาเจนมีลักษณะเป็นเส้นใยสานกันเป็นโครงข่าย เมื่อโปรตีนคอลลาเจนทำปฏิกิริยากับสารเคมีในกระบวนการฟอกหนัง จะสามารถเปลี่ยนหนังดิบเป็นหนังฟอก ซึ่งสามารถเก็บได้นานและมีคุณสมบัติทางฟิสิกส์ดีขึ้น การเก็บรักษาหนังสัตว์ เพื่อไม่ให้หนังเน่าเสียในระหว่างการขนส่งมายังโรงงานฟอกหนัง จะใช้วิธีหมักเกลือ โดยการแช่หนังในน้ำเกลืออยู่ร้อยละ 30 ของน้ำหนักหนังดิบ ในการฟอกหนังหลายประเภทสามารถแบ่งตามประเภทของสารที่ใช้ฟอกออกเป็น 4 ประเภทหลักคือ 1) การฟอกด้วยฟาด 2) การฟอกด้วยสารสังเคราะห์ 3) การฟอกด้วยแร่ธาตุ และ 4) การฟอกด้วยแอลดีไฮด์ (นภา ศิวรังสรรค์, 2542 และ นภา ศิวรังสรรค์ และคณะ, 2546) แต่ประเภทที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง คือ การฟอกฟาดและการฟอกโครม ในการฟอกฟาดอาศัยสารสกัดแทนนินจากส่วนของพืชไปทำปฏิกิริยากับหนังสัตว์ ส่วนการฟอกโครมเป็นการฟอกด้วยแร่ประเภทหนึ่งซึ่งอาศัยการทำปฏิกิริยาของโปรตีนคอลลาเจนกับสารประกอบของโครเมียม (นภา ศิวรังสรรค์, 2542; นภา ศิวรังสรรค์ และคณะ, 2546 และ อภิศักดิ์ สิทธิโชคอรุณ, 2544)

การกำจัดโครเมียมออกจากเศษหนังสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งการนำเอนไซม์มาใช้เป็นวิธีที่ไม่ต้องใช้อุณหภูมิสูงโดยจะปรับ pH ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยการแยกโครเมียมออกจากเศษหนังและสามารถนำโปรตีนมาใช้ประโยชน์ได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมด้วยเอนไซม์ ซึ่งมีความจำเพาะในการย่อยสลายเพื่อกำจัดโครเมียมออกไปโดยไม่ทำให้โปรตีนเสียสภาพซึ่งจะทำให้โปรตีนมีความบริสุทธิ์สูงและสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับการผลิตหรือเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น ปุ๋ย เครื่องสำอาง เป็นต้น

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาการสกัดโปรตีนจากเศษหนังที่ผ่านกระบวนการฟอกโครมด้วยเอนไซม์

3. สมมติฐานการวิจัย

เศษหนังสามารถนำมาสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ได้

4. ขอบเขตของการวิจัย

- 4.1 เศษหนังที่ใช้ในการวิจัยเป็นเศษหนังจากขั้นตอนการชุบยางจากโรงงานฟอกหนัง
- 4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากเศษหนังที่ผ่านการฟอกโครม โดยวิธีทางเคมีร่วมกับเอนไซม์

5. ตัวแปรที่ใช้ในการศึกษา

- ตัวแปรต้น : วิธีสกัด
ตัวแปรตาม : ปริมาณโปรตีน
ตัวแปรควบคุม : เอนไซม์, อุณหภูมิ, เวลา และ pH

6. วิธีดำเนินการวิจัย

6.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

นำเศษหนังฟอกโครม มาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้นออกจากนั้นนำมาปั่นจนมีขนาดเล็กกลง

6.2 การหาค่าประกอบทางเคมีของเศษหนัง (นภา ศิวรังสรรค์ และคณะ, 2546)

6.2.1 การหาค่าความเป็นกรด-ด่าง

ชั่งผงเศษหนังฟอกโครม 2-5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น ปริมาณเป็น 20 เท่าของเศษหนัง (หรือประมาณ 40-100 มิลลิลิตร) ปิดจุกขวดแล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง กรอง และนำสารละลายไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

6.2.2 การหาปริมาณโครเมียม แคลเซียม และแมกนีเซียมโดยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometry

ชั่งผงเศษหนังฟอกโครม 10 กรัม อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ชั่งเศษหนังอบไล่ความชื้น 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้วใส่ในถ้วยกระเบื้องทนความร้อนสูง ที่อบและชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว นำไปเผาในเตาเผา 600±25 องศาเซลเซียส โดยเริ่มเผาตัวอย่างตั้งแต่ตัวอย่างยังไม่ร้อน เมื่ออุณหภูมิสูงถึง 600 องศาเซลเซียส แล้วให้เผาต่อไปอีก 30 นาที หรือจนน้ำหนักคงที่ เอาออกจากเตาเผา จากนั้นชั่งเอาจำนวน 0.2 กรัม ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกรดไนตริก 5 มิลลิลิตร กรดเปอร์คลอริก 4 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริก 3 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้ว 4-5 ลูก นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 250-300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนได้ควันสีขาวของกรดเปอร์คลอริกจางหายไปเกือบหมด หลังจากนั้นทิ้งให้เย็นลง แล้วเติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุด้วยเครื่องอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 357.9, 422.7 และ 285.2 นาโนเมตร สำหรับวิเคราะห์โครเมียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ตามลำดับ เทียบกับกราฟมาตรฐาน

6.2.3 การวัดปริมาณโปรตีนโดยวิธีแบรดฟอร์ด (Bradford)

สารละลายตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายแบรดฟอร์ด 2 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร อ่านค่าปริมาณโปรตีนในสารละลายตัวอย่างเปรียบเทียบกับกราฟสารละลายโปรตีนมาตรฐานที่มีปริมาณ 0-100 ไมโครกรัม

6.2.4 การหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธีเจลดาล์ (Kjeldahl)

ชั่งน้ำหนักแน่นอนของตัวอย่าง 2 กรัมลงในหลอดใส่สารตัวอย่าง เติมตัวเร่งปฏิกิริยาผสมปริมาณ 3 กรัม และเติมน้ำกรดซัลฟูริกปริมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยเครื่องย่อยไนโตรเจน จนกลุ่มควินซีขาวเกิดขึ้นได้สารละลายใส ประมาณ 90 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32% ประมาณ 80 มิลลิลิตร นำตัวอย่างของเหลวในขวดเจลดาล์ไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นไอน้ำ โดยจุ่มปลายท่อลงในกรดบอริก 2% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ที่เติมอินดิเคเตอร์ผสม สารละลายส่วนที่กลั่นออกมา ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรด ซัลฟูริก 0.1 นอร์มัล เมื่อถึงจุดยุติ สารละลายจะเปลี่ยนจากสารละลายสีเขียวอ่อนเป็นสารละลายสีม่วง จุดปริมาตรของกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ทำแปลงค์โดยใส่สารรีเอเจนต์

6.3 การย่อยเศษหนังฟอกโครม (Taylor et al., 1993; Taylor et al., 1994 and Sudha et al., 2011)

6.3.1 การย่อยเศษหนังฟอกโครมด้วยกรด-เบสและเอนไซม์

เศษหนังฟอกโครม 10 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร เติม HCl เข้มข้น 5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าพร้อมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที และเติมเบส 3% NaOH, 5% MgO และ 5% CaO เพื่อปรับค่า pH 8-10.5 เติมเอนไซม์ 0.2 มิลลิลิตร เขย่าพร้อมควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น 1 คืน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 เก็บโปรตีนที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนตะกอนโครเมียมมาเติม HCl เข้มข้น 5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าพร้อมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 90 นาที ปรับค่า pH 8-10.5 ด้วยเบสเหมือนเดิม เติมเอนไซม์ 0.2 มิลลิลิตร เขย่าพร้อมควบคุมอุณหภูมิอีกครั้งที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น 1 คืน กรองโปรตีนเก็บเช่นเดิม นำก้อนโครเมียมมาเติม HCl เข้มข้น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

6.3.2 การย่อยเศษหนังฟอกโครมด้วยเบสและเอนไซม์

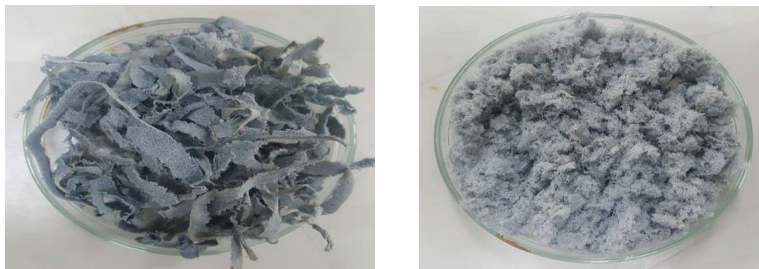
เศษหนังฟอกโครม 10 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าพร้อมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที และเติมเบส 3%NaOH, 5%MgO และ 5%CaO เพื่อปรับค่า pH 8-10.5 เติมเอนไซม์ 0.2 มิลลิลิตร เขย่าพร้อมควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น 1 คืน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 เก็บโปรตีนที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนตะกอนโครเมียมมาปรับค่า pH 8-10.5 ด้วยเบสเช่นเดิม และเติมเอนไซม์ 0.2 มิลลิลิตร นำมาเขย่าพร้อมควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น 1 คืน กรองโปรตีนเก็บนำก้อนโครเมียมมาเติม HCl เข้มข้น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

7. ผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส โดยศึกษาการสกัดโปรตีนด้วยวิธีทางเคมีร่วมกับเอนไซม์ เปรียบเทียบ 2 วิธี คือ 1) สกัดโปรตีนโดยวิธีใช้ความร้อนย่อยด้วยกรด เบส และเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส 2) สกัดโปรตีนโดยวิธีใช้ความร้อนย่อยด้วยเบสและเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส เสนอผลการวิจัยดังนี้

7.1 ผลการเตรียมวัตถุดิบ

เศษหนังฟอกโครมจากขั้นตอนการชุบหนังจะมีลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันที่แตกต่างกัน จึงนำเศษหนังฟอกโครมมาอบไล่ความชื้นออกและปั่นด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง จะทำให้เศษหนังมีลักษณะที่สม่ำเสมอใกล้เคียงกัน และเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการทำปฏิกิริยากับสารเคมี และเอนไซม์ โดยน้ำหนักเศษหนังฟอกโครมก่อนอบ 150.25 กรัม และน้ำหนักเศษหนังฟอกโครมหลังอบ 107.50 กรัม เพื่อนำเศษหนังฟอกโครมที่ไล่ความชื้นออกแล้วไปปั่นให้มีขนาดที่เล็กลงได้ง่ายมากขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การเตรียมวัตถุดิบเศษหนังก่อนและหลังบด

7.2 ผลการหาค่าองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนึ่ง

การหาค่าองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนึ่งฟอกโครมก่อนย่อย โดยจะหาค่าความเป็นกรดเบสเพื่อสามารถแปรผันปริมาณของเบสได้ในการย่อย หาปริมาณโลหะหนัก และหาปริมาณโปรตีน ไนโตรเจน โครเมียม แคลเซียม แมกนีเซียม ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนึ่งฟอกโครมก่อนนำไปย่อย

องค์ประกอบทางเคมี	เศษหนึ่งก่อนย่อย
1. ค่าความเป็นกรด-เบส±SD	3.98±0.02
2. Cr ³⁺ (ppm) ±SD	8.23±0.70
3. Ca (ppm) ±SD	0.33±0.22
4. Mg (ppm) ±SD	0.12±0.17
5. ปริมาณโปรตีน (ppm) ±SD	73.43±13.28
6. ปริมาณไนโตรเจน (%)±SD	5.56±0.40

จากตารางที่ 1 แสดงค่าองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนึ่งฟอกโครมก่อนนำไปย่อย โดยมีค่าความเป็นกรด-เบส อยู่ในช่วงกรด เฉลี่ยเท่ากับ 3.98±0.02 มีปริมาณโลหะหนักมีโครเมียม แคลเซียม และแมกนีเซียม เฉลี่ยเท่ากับ 8.23±0.70, 0.33±0.22 และ 0.12±0.17 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยเท่ากับ 73.43±13.28 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนโตรเจน เฉลี่ยเท่ากับ 5.56±0.40 เปอร์เซ็นต์

7.3 ผลการย่อยเศษหนึ่งฟอกโครมโดยวิธีการย่อยโดยกรด-เบสและเอนไซม์ และวิธีการย่อยโดยเบสและเอนไซม์

ตารางที่ 2 ตารางค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบทางเคมีของเศษหนึ่งฟอกโครมด้วยการย่อย 2 วิธี

องค์ประกอบทางเคมี	เศษหนึ่งหลังย่อยด้วยวิธีการต่างๆ	
	1. ย่อยโดยกรด-เบสและเอนไซม์	2. ย่อยโดยเบสและเอนไซม์
1. ค่าความเป็นกรด-เบส±SD	9.75 ^{ns} ±0.33	9.42 ^{ns} ±0.29
2. Cr ³⁺ (ppm) ±SD	4.27 ^a ±1.12	1.04 ^b ±0.47
3. Ca (ppm) ±SD	1.62 ^{ns} ±0.61	0.61 ^{ns} ±0.73
4. Mg (ppm) ±SD	0.31 ^{ns} ±0.62	0.45 ^{ns} ±0.28
5. ปริมาณโปรตีน (ppm) ±SD	34.87 ^b ±11.02	183.20 ^a ±4.36
6. ปริมาณไนโตรเจน (%)±SD.	3.12 ^b ±0.36	26.27 ^a ±0.30

หมายเหตุ a, b ในแนวนอนที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ns ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

จากตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบทางเคมีของเศษหนึ่งฟอกโครมโดยเปรียบเทียบเศษหนึ่งฟอกโครมด้วยการย่อยด้วยวิธีการย่อยโดยกรด-เบสและเอนไซม์ และวิธีการย่อยโดยเบสและเอนไซม์ พบว่า

ค่า pH ทั้ง 2 วิธีมีค่า pH ไม่แตกต่างกันเนื่องจากปรับสภาวะการทำงานให้อยู่ในช่วงเบสที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์

ค่าโครเมียม พบว่า การย่อยแบบที่ 2 คือ การย่อยโดยเบสและเอนไซม์ มีปริมาณโครเมียมลดลงจากเดิมมากที่สุดโดยคิดเป็นร้อยละที่ลดลงคือ 87.36 ซึ่งลดลงมากกว่าวิธีการย่อยแบบที่ 1 คือ การย่อยโดยกรด-เบสและเอนไซม์ ซึ่งพบว่ามีค่าโครเมียมลดลงร้อยละ 48.11

ค่าแคลเซียมและแมกนีเซียมที่ได้ พบว่ามีปริมาณแตกต่างกันเล็กน้อย และการย่อยทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ

ปริมาณโปรตีนและไนโตรเจนของ พบว่า การย่อยแบบที่ 2 คือ การย่อยโดยเบสและเอนไซม์ มีปริมาณโปรตีนและไนโตรเจนมากกว่าวิธีที่ 1 โดยคิดเป็นร้อยละที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีที่ 1 พบว่ามีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นร้อยละ 202 และไนโตรเจนเพิ่มขึ้นร้อยละ 416.37

8. สรุปผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมมีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดโปรตีนจากเศษหนังที่ผ่านกระบวนการฟอกโครมโดยวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยใช้เศษหนังฟอกโครมผ่านขั้นตอนการชูด่างจากโรงงานฟอกหนัง ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากเศษหนังที่ผ่านการฟอกโครมโดยศึกษาการสกัดโปรตีนโดยวิธีทางเคมี ร่วมกับการใช้เอนไซม์ เปรียบเทียบ 2 วิธีคือ 1) สกัดโปรตีนโดยวิธีใช้ความร้อนย่อยด้วยกรด เบสและเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส 2) สกัดโปรตีนโดยวิธีใช้ความร้อนย่อยด้วยเบสและเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส พบว่าโปรตีนที่สกัดได้โดยวิธีเบสและเอนไซม์มีปริมาณโปรตีน และไนโตรเจนมากกว่า แต่มีปริมาณของโครเมียมที่น้อยกว่า แสดงว่าการสกัดโปรตีนโดยเบสและเอนไซม์เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพที่สุดในการสกัดโปรตีนและการจัดโครเมียม

9. ข้อเสนอแนะ

9.1 ควรศึกษาการสกัดโปรตีนจากเศษหนังโดยการย่อยด้วยวิธีอื่นและการใช้เอนไซม์ชนิดอื่นในการย่อย

9.2 ควรทำการศึกษาองค์ประกอบกรดอะมิโนของสารละลายโปรตีนที่สกัดได้จากเศษหนัง เพื่อทำการตกตะกอนโปรตีนนำไปเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์เพื่อเป็นการต่อยอดงานวิจัย

10. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน (ว.ช.) ปีงบประมาณ 2561 และขอบขอบคุณ บริษัท วี พี แทนเนอร์ จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เศษหนังฟอกโครมในการทำการวิจัย

11. เอกสารอ้างอิง

นภา ศิวรังสรรค์. (2542). รายงานการวิจัยเรื่อง การสกัดโครเมียมออกจากเศษหนังฟอกโครมโดยวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เพื่อนำโปรตีนกลับมาใช้ประโยชน์. กรุงเทพฯ: กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช.

นภา ศิวรังสรรค์ และคณะ. (2546). รายงานการวิจัยเรื่อง การแยกโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมด้วยแอลคาไลน์โปรติเอส เพื่อใช้เป็นอาหารปลา. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

เสาวลักษณ์ ทูลเดช. (2556). รายงานการวิจัยเรื่อง การศึกษาการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากมะรุม. นครปฐม: มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.

อภิศักดิ์ สิทธิโชคอรุณ. (2544). การกำหนดค่าปล่อยมลพิษ : กรณีศึกษาอุตสาหกรรมฟอกหนัง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาเศรษฐศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Sudha, P. N., Latha, S. and Bharghavi, V. L. N. (2011). Towards chrome free chicken-A pilot scale study to remove chromium from leather waste, a source for poultry feed manufacture. *Environ. Sci. An Indian J*, 6 (3), 1-6.

Taylor, M. M., Diefendorf, E. J., Marmer, W. N. and Brown, E. M. (1993). *Enzymatic processing of materials containing chromium and protein*. U.S. Patent 5,271,912.

Taylor, M. M., Diefendorf, E. J., Marmer, W. N. and Brown, E. M. (1994). Effect of various alkalinity-inducing agents on chemical and physical properties of protein products isolated from chromium-containing leather waste. **Journal of the American Leather Chemistry Association**. 89: 221-228.