การศึกษาการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครม

ธันยนันท์ ศรีพันธ์ลม[1*], วนิดา ชัยชนะ[2], วลัยลักษณ์ ชื่นใจดี[1] และนิตยา นิลวรรณา[1]

[1]สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000
[2]สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000
[*]Thanyanan.kae123@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมโดยใช้อัลคาไลน์โปรติเอสที่ผลิตโดยเชื้อ Bacillus amyloliquefaciens มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมโดยวิธีทางเคมีร่วมกับเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส 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 เอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส โครเมียม

The study of protein extraction from leather waste

Thanyanan Sripanlom[1*], Vanida Chaichana[2], Warailuk Cheunjaidee[1] and Nittaya Nilwanna[1]

[1]*Chemistry program, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University 73000*
[2]*Crop 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 ไข่ นม เนยจากสัตว์ สามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสกับน้ำ โดยสารละลายกรด เบส หรือเอนไซม์บางชนิดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะถูกไฮโดรไลส์จากโมเลกุลใหญ่ค่อยๆ กลายเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ และถ้าการเกิดไฮโดรลิซิสเป็นไปอย่างสมบูรณ์ กระบวนการเกิดไฮโดรลิซิสของโปรตีนก็คือปฏิกิริยาย้อนกลับของการเกิดโปรตีนนั้นเอง โปรตีนแต่ละชนิดเมื่อนำไปไฮโดรไลส์อาจจะได้กรดอะมิโนชนิดต่างๆ จำนวนมาก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของโปรตีนนั้นๆ

หนังสัตว์จัดเป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง โดยทั่วไปหนังสัตว์ประกอบด้วยน้ำ 64% โปรตีน 33% ไขมัน 2% เกลือแร่ 0.5% และสารอื่นๆ อีก 0.5% โดยโปรตีนในหนังสัตว์ประมาณ 80-90% เป็นโปรตีนคอลลาเจน (collagen) เคอราติน (keratin) อิลาสติน (elastin) โกลบูโคลิน (globucolin) และมูโคโปรตีน (mucoprotein) ทั้งนี้อยู่กับชนิดของสัตว์ด้วย โดยหนังสัตว์ที่พบส่วนใหญ่เป็นหนังโค กระบือ ได้จากโรงฆ่าสัตว์ ซึ่งได้ชำแหละหนังแยกออกจากส่วนที่เป็นเนื้อและนำไปหมักเกลือเพื่อรักษาสภาพหนังไม่ให้เน่าเปื่อยก่อนส่งไปโรงงานฟอกหนัง อุตสาหกรรมฟอกหนังเป็นอุตสาหกรรมเกษตรประเภทหนึ่งโดยมีการนำหนังสัตว์มาใช้ประโยชน์ นิยมใช้การฟอกด้วยโครม ในการฟอกหนังจะมีเศษวัสดุเหลือทิ้งคือเศษหนังโดยเป็นเศษหนังจากขั้นตอนต่างๆ ในการฟอกหนัง หลักการในการฟอกหนังเป็นการใช้ประโยชน์จากผิวหนังส่วนที่เรียกว่า คอเรี่ยม (corium) โดยใช้สารเคมีไปทำปฏิกิริยาจากคอลลาเจน ซึ่งเป็นสารประกอบที่สำคัญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันคอเรี่ยม โปรตีนคอลลาเจนมีลักษณะเป็นเส้นใยสานกันเป็นโครงข่าย เมื่อโปรตีนคอลลาเจนทำปฏิกิริยากับสารเคมีในกระบวนการฟอกหนัง จะสามารถเปลี่ยนหนังดิบเป็นหนังฟอกซึ่งสามารถเก็บได้นานและมีคุณสมบัติทางฟิสิกส์ดีขึ้น การเก็บรักษาหนังสัตว์ เพื่อไม่ให้หนังเน่าเสียในระหว่างการขนส่งมายังโรงงานฟอกหนัง จะใช้วิธีหมักเกลือ โดยการแช่หนังในน้ำเกลืออยู่ร้อยละ 30 ของน้ำหนักหนังดิบ ในการฟอกหนังหลายประเภทสามารถแบ่งตามประเภทของสารที่ใช้ฟอกออกเป็น 4 ประเภทหลักคือ 1) การฟอกด้วยฝาด 2) การฟอกด้วยสารสังเคราะห์ 3) การฟอกด้วยแร่ธาตุ และ 4) การฟอกด้วยแอลดีไฮด์ (นภา ศิวรังสรรค์, 2542 และ นภา ศิวรังสรรค์ และคณะ, 2546) แต่ประเภทที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง คือ การฟอกฝาดและการฟอกโครม ในการฟอกฝาดอาศัยสารสกัดแทนนินจากส่วนของพืชไปทำปฏิกิริยากับหนังสัตว์ 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 เศษหนังที่ใช้ในการวิจัยเป็นเศษหนังจากขั้นตอนการขูดบางจากโรงงานฟอกหนัง

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากเศษหนังที่ผ่านการฟอกโครม โดยวิธีทางเคมีร่วมกับเอนไซม์

5. ตัวแปรที่ใช้ในการศึกษา

ตัวแปรต้น : วิธีการสกัด
ตัวแปรตาม : ปริมาณโปรตีน
ตัวแปรควบคุม : เอนไซม์, อุณหภูมิ, เวลา และ pH

6. วิธีดำเนินการวิจัย

6.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

นำเศษหนังฟอกโครม มาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้นออก จากนั้นนำมาปั่นจนมีขนาดเล็กลง

6.2 การหาองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนัง (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 จากนั้นชั่งเถ้าจำนวน 0.2 กรัม ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริก 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 นำไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ 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 การหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธีเจลดาห์ล (Kjeldahl)

ชั่งน้ำหนักแน่นอนของตัวอย่าง 2 กรัมลงในหลอดใส่สารตัวอย่าง เติมตัวเร่งปฏิกิริยาผสมปริมาณ 3 กรัม และเติมกรดซัลฟูริกปริมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยเครื่องย่อยไนโตรเจน จนกลุ่มควันสีขาวเกิดขึ้นได้สารละลายใส ประมาณ 90 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32% ประมาณ 80 มิลลิลิตร นำตัวอย่างของเหลวในขวดเจลดาห์ลไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นไอน้ำ โดยจุ่มปลายท่อลงในกรดบอริก 2% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ที่เติมอินดิเคเตอร์ผสม สารละลายส่วนที่กลั่นออกมา ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรด ซัลฟูริก 0.1 นอร์มัล เมื่อถึงจุดยุติ สารละลายจะเปลี่ยนจากสารละลายสีเขียวอ่อนเป็นสารละลายสีม่วง จดปริมาตรของกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ทำแบลงค์โดยใส่สารรีเอเจนต์

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 ตั้งทิ้งในตู้เย็น 1 คืน กรองโปรตีนเก็บเช่นเดิม นำก้อนโครเมียมมาเติม HCl เข้มข้น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

6.3.2 การย่อยเศษหนังฟอกโครมด้วยเบสและเอนไซม์

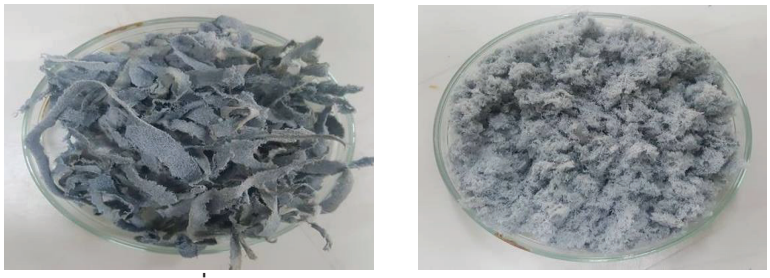
เศษหนังฟอกโครม 10 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าพร้อมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที และเติมเบส 3%NaOH, 5%MgO และ 5%CaO เพื่อปรับค่า pH 8-10.5 เติมเอนไซม์ 0.2 มิลลิลิตร เขย่าพร้อมควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น 1 คืน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์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

เศษหนังฟอกโครมจากขั้นตอนการขูดบางนั้นจะมีลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันที่แตกต่างกัน จึงนำเศษหนังฟอกโครมมาอบไล่ความชื้นออกและปั่นด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง จะทำให้เศษหนังมีลักษณะที่สม่ำเสมอใกล้เคียงกันและเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการทำปฏิกิริยากับสารเคมี และเอนไซม์ โดยน้ำหนักเศษหนังฟอกโครมก่อนอบ 150.25 กรัม และน้ำหนักเศษหนังฟอกโครมหลังอบ 107.50 กรัม เพื่อนำเศษหนังฟอกโครมที่ไล่ความชื้นออกแล้วไปปั่นให้มีขนาดที่เล็กลงได้ง่ายมากขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การเตรียมวัตถุดิบเศษหนังก่อนและหลังบด

7.2 ผลการหาองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนัง

การหาองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนังฟอกโครมก่อนย่อย โดยจะหาค่าความเป็นกรดเบสเพื่อสามารถแปรผันปริมาณของเบสได้ในการย่อย หาปริมาณโลหะหนัก และหาปริมาณโปรตีน ไนโตรเจน โครเมียม แคลเซียม แมกนีเซียม ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนังฟอกโครมก่อนนำไปย่อย

องค์ประกอบทางเคมี	เศษหนังก่อนย่อย
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 แสดงค่าองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนังฟอกโครมก่อนนำไปย่อย 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 ผลการย่อยเศษหนังฟอกโครมโดยวิธีการย่อยโดยกรด-เบสและเอนไซม์ และวิธีการย่อยโดยเบสและเอนไซม์

ตารางที่ 2 ตารางค่าเฉลี่ยองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนังฟอกโครมด้วยการย่อย 2 วิธี

องค์ประกอบทางเคมี	เศษหนังหลังย่อยด้วยวิธีการต่างๆ	
	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 แสดงค่าเฉลี่ยองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนังฟอกโครมโดยเปรียบเทียบเศษหนังฟอกโครมด้วยการย่อยด้วยวิธีการย่อยโดยกรด-เบสและเอนไซม์ และวิธีการย่อยโดยเบสและเอนไซม์ พบว่า

ค่า pH ทั้ง 2 วิธีมีค่า pH ไม่แตกต่างกันเนื่องจากปรับสภาวะการทำงานให้อยู่ในช่วงเบสให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์

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 โดยใช้เศษหนังฟอกโครมผ่านขั้นตอนการขูดบางจากโรงงานฟอกหนัง ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากเศษหนังที่ผ่านการฟอกโครมโดยศึกษาการสกัดโปรตีนโดยวิธีทางเคมีร่วมกับการใช้เอนไซม์ เปรียบเทียบ 2 วิธีคือ 1) สกัดโปรตีนโดยวิธีใช้ความร้อนย่อยด้วยกรด เบสและเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส 2) สกัดโปรตีนโดยวิธีใช้ความร้อนย่อยด้วยเบสและเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส พบว่าโปรตีนที่สกัดได้โดยวิธีเบสและเอนไซม์มีปริมาณโปรตีน และไนโตรเจนมากกว่า แต่มีปริมาณของโครเมียมที่น้อยกว่า แสดงว่าการสกัดโปรตีนโดยเบสและเอนไซม์เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพที่สุดในการสกัดโปรตีนและการขจัดโครเมียม

9. ข้อเสนอแนะ

9.1 ควรศึกษาการสกัดโปรตีนจากเศษหนังโดยการย่อยด้วยวิธีอื่นและการใช้เอนไซม์ชนิดอื่นในการย่อย

9.2 ควรทำการศึกษาองค์ประกอบกรดอะมิโนของสารละลายโปรตีนที่สกัดได้จากเศษหนัง เพื่อทำการตกตะกอนโปรตีนนำทำไปเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์เพื่อเป็นการต่อยอดงานวิจัย

10. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน (วช.) ปีงบประมาณ 2561 และขอบขอบคุณ บริษัท วี พี แทนเนอรี่ จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เศษหนังฟอกโครมในการทำการวิจัย

11. เอกสารอ้างอิง

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

นภา ศิวรังสรรค์ และคณะ. (2546). **รายงานการวิจัยเรื่อง การแยกโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมด้วยแอลคาไลน์โปรติเอสเพื่อใช้เป็นอาหารปลา**. 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.