บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันปัญหามลพิษจากขยะและเศษวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ ซึ่งมีการปนเปื้อนของมลสารและโลหะหนัก ต้องอาศัยการจัดการขยะมูลฝอยที่ดี และไม่เพียงแต่เป็นการกำจัดขยะอย่างถูกต้องเหมาะสม แต่ยังต้องพยายามหลีกเลี่ยงหรือลดปริมาณขยะที่จะเกิดขึ้น ซึ่งเป็นการลดความเสี่ยงอันเกิดจากมลพิษเหล่านี้ โดยต้องเน้นที่การลดการเกิดขยะจากแหล่งกำเนิดแทนการแก้ปัญหาที่ปลายเหตุ หรือตามแนวเทคโนโลยีสะอาด (clean technology)

อุตสาหกรรมฟอกหนังเป็นอุตสาหกรรมเกษตร (Agro-Industry) ประเภทหนึ่ง ซึ่งมีการนำหนังสัตว์มาใช้ประโยชน์ โดยผ่านกรรมวิธีฟอกหนัง หนังสัตว์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการฟอกหนังนั้นประมาณร้อยละ 90 เป็นหนังโค และกระบือ ซึ่งเป็นหนังจากภายในประเทศและหนังดิบ (raw hide) ที่นำเข้าจากต่างประเทศ (จรินทร์,2537)

ในประเทศไทยมีโรงงานฟอกหนังอยู่ประมาณ 150 โรงงาน อุตสาหกรรมฟอกหนังกว่าร้อยละ 80 นิยมใช้วิธีฟอกโครม ในการฟอกหนังจะมีเศษวัสดุเหลือทิ้ง คือเศษหนัง ปริมาณโดยเฉลี่ยมากกว่าปีละ 18,000 ตัน โดยเป็นเศษหนังจากขั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการฟอกหนัง และมีเศษหนังที่มีโครเมียมเป็นองค์ประกอบรวมอยู่ด้วย Environmental Protection Agency (EPA) จัดให้เป็นกากของเสียอันตรายหมายเลข K053 (EPA Hazardous Waste Number K053)(Wecharatana,1995) ซึ่งทางโรงงานไม่ได้นำไปขายหรือใช้ประโยชน์อื่นๆ แต่จะให้เทศบาลนำไปกำจัด ทำให้เพิ่มปัญหากับพื้นที่ทิ้งขยะ และพื้นที่ฝังกลบ (landfill) เนื่องจากข้อจำกัดเรื่องพื้นที่รองรับขยะ มาตรการทางด้านสิ่งแวดล้อม และค่าใช้จ่ายในการขนย้ายและบำบัดกากของเสียเหล่านี้ ขยะที่มีโครเมียมเป็นองค์ประกอบ อาจจะทำให้เกิดปัญหามลพิษจากโครเมียมในสภาพแวดล้อม เช่น ปัญหาน้ำชะขยะ (leachate) ส่งผลต่อการแพร่กระจายของโลหะหนักลงสู่น้ำผิวดิน น้ำใต้ดิน การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดิน ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช และเข้าสู่ระบบห่วงโซ่อาหารของสิ่งมีชีวิต อันจะมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพอนามัยของประชาชน จึงได้พยายามคิดค้นวิธีกำจัดและการใช้ประโยชน์เศษหนังดังกล่าว โดยการแก้ปัญหาในระยะแรกมุ่งเน้นที่การกำจัดเศษหนังและการนำกลับโครเมียมกลับมาใช้ประโยชน์เป็นหลัก

อย่างไรก็ตาม มีการนำเศษหนังที่มีโครเมียมนี้ไปใช้ประโยชน์โดยตรง โดยไม่ผ่านกระบวนการกำจัดโครเมียม เช่น นำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตฉนวนไฟฟ้า วัสดุก่อสร้าง และแผ่นไฟเบอร์ (fibrous sheet) หรือผสมกับไวนิลอะซิเตท เพื่อผลิตพื้นรองเท้า รวมทั้งใช้แทนเยื่อกระดาษ ในอุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ แต่ท้ายที่สุด ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเศษหนังดังกล่าวไปใช้เป็นวัตถุดิบ ก็จะกลายเป็นขยะหลากหลายประเภทที่มีโครเมียมเป็นองค์ประกอบ

การนำโครเมียมกลับมาใช้ใหม่ โดยการเผาเศษหนังที่อุณหภูมิสูง ซึ่งจะทำให้ได้ขี้เถ้าของโครเมียมสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมเกลือไบโครเมต หรือเป็นแหล่งโครเมียม ในการเผาจะทำให้เกิดก๊าซพิษได้แก่ SO_2 และ NO_x รวมทั้งเขม่าควัน แม้ว่าจะสามารถกำจัด SO_2 ได้ แต่มีต้นทุนการกำจัดสูง การเผาจะใช้ความร้อนสูง สิ้นเปลืองพลังงาน และที่สำคัญไม่สามารถนำโปรตีนกลับมาใช้ประโยชน์ได้

การนำโครเมียมกลับมาใช้ใหม่ โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชั่นด้วยอากาศ โดยใช้ตัวออกซิไดซ์ที่แรง เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือใช้คลอรีน ในสภาวะที่เป็นด่างเล็กน้อย สามารถทำได้ไม่สมบูรณ์ เป็นวิธีที่แพงมาก มีโปรตีนละลายผสมอยู่ในสารละลายโครเมียม และยังต้องเพิ่มขั้นตอนการรีดิวซ์โครเมียม(VI) ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยา ให้เป็นโครเมียม (III) ด้วย

การย่อยสลายเศษหนังด้วยกรด เช่น กรดซัลฟุริก แม้ว่าจะเป็นวิธีที่ไม่แพง แต่มีข้อจำกัดคือมีโครเมียมเพียงบางส่วนเท่านั้นที่ละลายออกมาจากเศษหนัง และ ยังคงมีโปรตีนอยู่ในสารละลายโครเมียม สารละลายที่ได้สามารถใช้เป็นสารฟอกทับ (retanning agent) ส่วนกรดอะมิโนสามารถนำมาใช้เติมในอาหารสัตว์ได้ นอกจากนี้สารละลายที่ได้จากการย่อยสลาย จะสามารถใช้เป็น fat liquors , surfactants หรือ fillers ในกระบวนการผลิตหนังฟอกได้

การย่อยสลายเศษหนังด้วยด่าง เช่น แคลเซียมไฮดรอกไซด์จะมีประสิทธิภาพกว่า จะทำให้เกิดตะกอนโครเมียมไฮดรอกไซด์ ส่วนสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตจะนำไปกำจัดเกลือโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ หรือใช้เรซินแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange resin)

การบำบัดเศษหนังที่มีโครเมียม โดยการใช้เอนไซม์ อัลคาไลน์โปรตีเอส มีข้อได้เปรียบคือจะใช้อุณหภูมิไม่สูง ใช้ระยะเวลาสั้นโดยให้ pH ของ ปฏิกิริยาอยู่ในช่วง 8.3 –10.5 เพื่อป้องกันการละลายของโครเมียม โดยจะแยกโครเมียมไฮดรอกไซด์ ออกจากสารละลายโปรตีนโดยการกรอง ทั้งโครเมียมและโปรตีนสามารถนำกลับไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น นำกากตะกอนโครเมียม (chrome cake) ไปใช้ในกระบวนการฟอกหนัง โดยการละลายตะกอนด้วยกรดซัลฟุริก ส่วนโปรตีนที่ได้สามารถนำไปทำ อาหารสัตว์หรือทำปุ๋ยก็ได้

การบำบัดเศษหนังที่มีโครเมียมเป็นองค์ประกอบโดยใช้เอนไซม์ อาศัยการทำให้คอลลาเจนเสียสภาพธรรมชาติ (denature) ในสารละลายด่าง ที่อุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสม ด่างที่ใช้ ได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ แมกนีเซียมออกไซด์ชนิดเดียว หรือร่วมกับด่างอื่น เพื่อปรับให้มี pH ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ แล้วจึงเติมเอนไซม์ลงไป ซึ่งเป็นการย่อยสลายเศษหนังแบบขั้นตอนเดียว (one step process) ต่อมาได้ทำการศึกษาเพื่อพัฒนาการนำกลับโปรตีนโดยการย่อยสลายแบบ 2 ขั้นตอน (two step process) ในขั้นตอนแรกเป็นการย่อยด้วยด่าง จะได้โปรตีนเจล (gelable protein) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลสูง แล้วแยกเอาเศษหนังส่วนที่ไม่ถูกย่อยมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์โปรติเอสในขั้นตอนที่ 2 ซึ่งจะได้โปรตีนโมเลกุลเล็ก

ปัจจุบันการเลี้ยงสัตว์ได้ขยายตัวสูงขึ้น วัตถุดิบที่จะนำมาทำอาหารสัตว์จึงหายากและไม่เพียงพอ เนื่องจากอาหารโปรตีนบางชนิด เช่น ปลาป่น และ กากถั่วเหลือง จะมีน้อยในบางฤดูกาล ทำให้ราคา

อาหารสัตว์สูงขึ้น จึงได้มีความพยายามที่จะหาแหล่งวัตถุดิบใหม่ๆ เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์ เศษหนังจากโรงงานฟอกหนังจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ เนื่องจากเศษหนังมีปริมาณมากและสม่ำเสมอตลอดทั้งปี และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากปริมาณการบริโภคเนื้อสัตว์และความต้องการผลิตภัณฑ์เครื่องหนังเพิ่มขึ้น และที่สำคัญคือเศษหนังเป็นวัสดุเหลือทิ้งที่มีโปรตีนสูง หากสกัดแยกโครเมียมออกไปได้ จะสามารถนำโปรตีนนั้นกลับมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น การนำไปเป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์

โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการช่วยเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์สับสเตรตที่เป็นโพลีเปปไทด์สายใหญ่ให้เป็นโมเลกุลที่เล็กลง ซึ่งผลิตได้จาก พืช สัตว์ และจุลชีพ โดยประมาณ 50% เป็นโปรติเอสจากจุลชีพ ซึ่งมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมฟอกหนัง ผลิตผงซักฟอก เนื่องจากโปรติเอสที่ได้จากจุลชีพ เป็นเอนไซม์ที่สร้างและขับออกสู่นอกเซลล์ (extracellular enzyme) จึงง่ายต่อการแยกสกัดและสามารถผลิตได้ในปริมาณสูง (Ward,1983) โปรติเอสจากจุลชีพที่มีการใช้กันมากในอุตสาหกรรม ได้แก่ อัลคาไลน์โปรติเอสจากแบคทีเรีย โดยเฉพาะ *Bacillus* spp. เช่น *B. subtilis* , *B. licheniformis* และ Alkalophilic *Bacillus*

ปกรณ์(2532) พบว่า *Bacillus subtilis* TISTR 25 สายพันธุ์ที่แยกได้จากดินในประเทศไทย ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิตได้ทั้ง นิวทรัลโปรติเอส และ อัลคาไลน์โปรติเอส ที่มีช่วงการทำงานได้ในระหว่าง pH 7-11 และมีแอคติวิตีสูงสุดที่ pH 8.0 และ pH 10.5

ดังนั้นในการย่อยสลายโปรตีนในเศษหนัง จึงพิจารณาวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในสภาวะที่เป็นด่าง โดยจะใช้เอนไซม์โปรติเอส ที่ผลิตโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* TISTR 25 และสามารถผลิตเอนไซม์ได้ภายใต้สภาวะควบคุมในห้องปฏิบัติการ หากสามารถนำเอนไซม์ที่ผลิตได้เองภายในประเทศมาใช้ประโยชน์ดังกล่าว ก็จะสามารถแก้ปัญหาในกระบวนการผลิตอุตสาหกรรม ปัญหาสิ่งแวดล้อมและสาธารณสุข รวมทั้งสามารถใช้เทคโนโลยีของตนเองในการผลิตผลิตภัณฑ์ใหม่ได้อย่างครบวงจร เป็นการเพิ่มโอกาสในการตลาด นอกจากนี้การประยุกต์ใช้เอนไซม์ที่ผลิตได้เองในประเทศมาใช้ในอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ ยังเป็นการลดต้นทุนการนำเข้าเอนไซม์จากต่างประเทศอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโครเมียม ออกจากเศษหนังวัวที่ผ่านการฟอกโครม โดยวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

2. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำโปรตีนจากเศษหนังวัวที่สกัดโครเมียมออกแล้ว ไปใช้ประโยชน์

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษานี้จะศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ในการสกัดโครเมียมออกจากเศษหนังวัวที่ผ่านการฟอกโครมโดยวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ อัลคาไลน์โปรติเอสแบบขั้นตอนเดียว (one step process) เศษหนังที่ใช้ในการวิจัยเป็นเศษหนังวัว จากขั้นตอนขูดบาง (Chrome shaving) จากโรงงานฟอกหนังขององค์การฟอกหนัง โดยจะศึกษาการตกตะกอนโครเมียมในสารละลายของเกลือแมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) หรือเกลือแมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ ($Mg(OH)_2$) หรือ เกลือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) ที่ pH 8.5 และ pH 10.5 และอุณหภูมิ 30, 37 และ 45°c ในการย่อยสลายโปรตีนที่ไม่ละลายในสารละลายด่างด้วยเอนไซม์โปรตีเอส ที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* TISTR 25 และวิเคราะห์สัดส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential amino acid) เพื่อประเมินความสามารถในการนำโปรตีนไปใช้ในการผลิตอาหารสัตว์

สมมติฐาน

1. เศษหนังวัวที่ผ่านการฟอกโครม สามารถนำมาสกัดโครเมียมออกได้โดยการใช้เอนไซม์ ที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* TISTR 25 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

2. โปรตีนจากเศษหนังวัวที่สกัดโครเมียมออกแล้วโดยวิธีการในข้อ1 มีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ประโยชน์ หรือเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์ได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถลดปริมาณเศษหนังที่มีโครเมียมเป็นองค์ประกอบ และลดความเสี่ยงจากพิษภัยของโครเมียม

2. เป็นแนวทางในการใช้โปรตีนจากเศษหนังสำหรับการผลิตอาหารสัตว์ หรือใช้ประโยชน์ด้านอื่นต่อไป

3. สามารถนำตะกอนโครเมียมที่สกัดออกมาจากเศษหนังไปใช้ประโยชน์ได้อีก