

## การผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินจากเศษหนังฟอกโครม

ธัญนันท์ ศรีพันธ์ลัม<sup>1\*</sup> วนิดา ชัยชนะ<sup>2</sup> วิภาดา ฤงเวียง<sup>1</sup> และ  
ศิริรัตน์ กลิ่นหอม<sup>1</sup>

<sup>1</sup> สาขาวิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

<sup>2</sup> สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

\* ผู้ประสานงานเผยแพร่ (Corresponding Author), E-mail: thanyanan@webmail.npru.ac.th

วันที่รับบทความ: 13 พฤศจิกายน 2564; วันที่ทบทวนบทความ: 7 มีนาคม 2565; วันที่ตอบรับบทความ: 10 มีนาคม 2565

วันที่เผยแพร่ออนไลน์: 27 มิถุนายน 2565

**บทคัดย่อ:** งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษหนังฟอกโครมโดยวิธีทางเคมีร่วมกับอัลคาไลน์โปรติเอส และนำโปรตีนที่สกัดได้ไปใช้ประโยชน์ในการทำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน โดยสารเคมีที่ใช้ได้แก่ สารละลายผสมซึ่งประกอบด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก สารละลายแมกนีเซียมออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และสารละลายแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก หลังการสกัดเศษหนังฟอกโครมและโปรตีนไฮโดรไลเซทที่สกัดได้จะถูกนำไปเป็นวัสดุประกอบในอาหารเลี้ยงไส้เดือนดิน *E. eugeniae* โดยจะทำการศึกษาการเจริญเติบโตของไส้เดือนดิน น้ำหนักปุ๋ยหมักไส้เดือนดิน ปริมาณไนโตรเจน และโครเมียมของวัสดุรองพื้นที่แตกต่างกันทั้งก่อนและหลังการทดลอง ผลการวิจัยพบว่า (1) โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษหนังฟอกโครมมีปริมาณ  $183.20 \pm 4.36$  มิลลิกรัมต่อลิตร และ (2) เศษหนังฟอกโครมและโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษหนังฟอกโครมสามารถนำมาใช้เป็นวัสดุประกอบในอาหารเลี้ยงไส้เดือนดิน ซึ่งนำมาผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินได้ สำหรับปริมาณโครเมียมที่พบในชนิดของวัสดุรองพื้นที่ทั้งสองชนิดหลังทดลอง (40 วัน) มีปริมาณโครเมียมน้อยกว่า 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แสดงให้เห็นว่าอัลคาไลน์โปรติเอสมีความจำเพาะต่อการย่อยพันธะเปปไทด์ของโปรตีนทำให้โปรตีนมีขนาดเล็กส่งผลให้การกำจัดโครเมียมออกจากเศษหนังทำได้ง่าย ซึ่งโครเมียมจะเกิดการตกตะกอนกับสารละลายต่างเกิดเป็นตะกอนของโครเมียมออกไซด์ ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเซทที่สกัดจากเศษหนังฟอกโครมจึงเหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับการเลี้ยงไส้เดือนดินซึ่งช่วยลดต้นทุนในการกำจัด เป็นการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม และยังเป็นแนวทางในการทำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อไป

**คำสำคัญ:** เศษหนังฟอกโครม; โปรตีนไฮโดรไลเซท; อัลคาไลน์โปรติเอส; โครเมียม; ปุ๋ยไส้เดือนดิน

## Production of Earthworm Manure from Chrome Leather Scraps

Thanyanan Sripanlom<sup>1\*</sup>, Vanida Chaichana<sup>2</sup>, Wipada Thungweng<sup>1</sup> and Sirirat Klinhom<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Program of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University

<sup>2</sup> Program of Crop production Technology, Faculty of Science and Technology,  
Nakhon Pathom Rajabhat University

\* Corresponding author, E-mail: thanyanan@webmail.npru.ac.th

Received: 13 November 2021; Revised: 7 March 2022; Accepted: 10 March 2022

Online Published: 27 June 2022

**Abstract:** This research aimed to extract protein hydrolyzate from chrome leather scraps by the chemical method in combination with alkaline protease and extracted protein hydrolyzate was used for earthworm manure. The mixed solution of 3%w/w sodium hydroxide, 5%w/w magnesium oxide and 5%w/w calcium oxide were used as extracting chemicals. After extraction, chrome leather scraps and extracted protein hydrolyzate were utilized as a food ingredient for *E. eugeniae* earthworm. The growth of earthworm, the weight of earthworm manure, nitrogen content and chromium content of different flooring materials were determined both before and after the experiment. The results showed that (1) the quantity of protein hydrolyzate from chrome leather scraps was  $183.20 \pm 4.36$  mg/L and (2) chrome leather scraps and protein hydrolyzate could be used as a food ingredient and manure production for the earthworm. The chromium content found in both flooring materials after the experiment (40 days) was less than 300 mg/kg. It was shown that alkaline protease is specific for peptide bond cleaving to make protein smaller resulting in chromium removal from leather scraps because of the precipitation of chromium oxide in alkaline solution. Therefore, protein hydrolyzate extracted from chrome leather scrap was a suitable in protein source for earthworm growth, reducing the disposal cost, conserving the environment and guiding the earthworm manure production.

**Keywords:** Leather shaving; Protein hydrolysate; Alkaline protease; Chromium; Vermicomposting

## 1. บทนำ

ประเทศไทยมีโรงงานฟอกหนังประมาณ 106 โรงงาน ตั้งอยู่ในจังหวัดสมุทรปราการ ภายใต้องค์กรที่เรียกว่า “สมาคมอุตสาหกรรมฟอกหนังไทย” อุตสาหกรรมฟอกหนังเป็นอุตสาหกรรมที่เกิดขึ้นในประเทศไทยมากกว่า 60 ปี [1] โดยทั่วไปหนังสัตว์ประกอบไปด้วย น้ำร้อยละ 64 โปรตีนร้อยละ 33 ไขมันร้อยละ 2 เกลือแร่ร้อยละ 0.5 และสารอื่น ๆ โปรตีนในหนังสัตว์ประมาณ 80-90% เป็นโปรตีนคอลลาเจน (Collagen) เคอราติน (Keratin) อีลาสติน (Elastin) โกลบูลูลิน (Globucolin) และมูโคโปรตีน (Mucoprotein) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ โดยหนังสัตว์ที่พบส่วนใหญ่เป็นหนังโค กระบือ ที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ ซึ่งได้ฆ่าและหนังแยกออกจากส่วนที่เป็นเนื้อและนำไปหมักเกลือเพื่อรักษาสภาพหนังไม่ให้เน่าเปื่อยก่อนส่งไปโรงงานฟอกหนังซึ่งนิยมใช้การฟอกด้วยโครมเป็นการฟอกด้วยแร่ประเภทหนึ่งซึ่งอาศัยการทำปฏิกิริยาของโปรตีนคอลลาเจนกับสารประกอบของโครเมียม [2-4] การนำหนังสัตว์มาใช้ประโยชน์ในกระบวนการผลิตเครื่องหนัง เช่น รองเท้า กระเป๋า จะพบเศษหนังเหลือทิ้งจากกระบวนการดังกล่าวจำนวนมากซึ่งผู้ประกอบการจะนำไปทิ้งโดยเปล่าประโยชน์ ซึ่งจะก่อให้เกิดเป็นปัญหากับสิ่งแวดล้อมตามมา การกำจัดเศษหนังที่มีโครเมียมเป็นองค์ประกอบ ได้กลายมาเป็นปัญหาสำคัญของโรงงานฟอกหนัง การฝังกลบเศษหนังเหล่านี้ก็ไม่ใช่ที่ยอมรับ เนื่องจากเป็นไปไม่ได้ที่โครเมียม(III) จะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นโครเมียม(VI) ซึ่งเป็นพิษ และสามารถปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม [2] การกำจัดโครเมียมออกจากเศษหนังสามารถทำได้หลายวิธี เช่น

(1) การย่อยสลายด้วยกรด มีข้อจำกัดคือมีโครเมียมเพียงบางส่วนเท่านั้นที่ละลายออกมาจากเศษหนัง (2) การย่อยสลายด้วยสารละลายต่างจะเกิดตะกอนของโครเมียมออกไซด์ (3) การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ใช้ต้นทุนสูง ระยะเวลาสั้น [3] ซึ่งการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูง เนื่องจากเอนไซม์จำเพาะต่อสารตั้งต้น และค่า pH จึงสามารถเลือกชนิดและสภาวะในการย่อยสลายได้ตามความเหมาะสม [5] โดยเมื่อทำการแยกโครเมียมออกจากเศษหนังแล้วสามารถนำเศษหนังที่ได้มาสกัดโปรตีนโดยใช้อัลคาไลน์โปรตีเอสที่ทำหน้าที่ในการช่วยเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์สับสเตรตที่เป็นพอลิเพปไทด์สายใหญ่ให้เป็นโมเลกุลที่เล็กลง โดยอัลคาไลน์โปรตีเอสเป็นเอนไซม์ที่ผลิตได้มาจากแหล่งต่าง ๆ กันพบได้ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โดยได้มีการนำเอนไซม์โปรตีเอสมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหลายอย่าง ได้แก่ อุตสาหกรรมฟอกหนังเคมี ทอผ้า ยา อาหาร กระดาษ บำบัดของเสีย สารซักล้าง เป็นต้น [6]

ไส้เดือนดินจัดเป็นสัตว์ที่กินทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหาร ไส้เดือนดินเป็นตัวชี้วัดความอุดมสมบูรณ์ของดินได้ เนื่องจากไส้เดือนดินมีวงจรชีวิตผูกพันกับดินระบบนิเวศที่ดี ผลจากการกินอาหารของไส้เดือนช่วยพลิกกลับดินหรือนำแร่ธาตุจากใต้ดินขึ้นมาบนดิน โดยดินซากพืชซากสัตว์ เศษอาหาร และอินทรีย์วัตถุต่าง ๆ ที่ไส้เดือนกินเข้าไปถูกย่อยและถูกถ่ายออกมาเป็นมูลซึ่งมีธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณมากและอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ดี และนอกจากนี้ยังพบว่าไส้เดือนดินสามารถกำจัดเศษอาหารและขยะได้ ที่สำคัญคือไม่ก่อให้เกิดมลภาวะเป็นพิษแก่ธรรมชาติและมนุษย์เหมือนวิธีการเผา หรือวิธีการฝังกลบที่ยังไม่มีพื้นที่



รองรับอย่างเพียงพอ และการใช้ไส้เดือนดินสำหรับกำจัดเศษอาหารและขยะยังได้ปุ๋ยมูลไส้เดือน (Vermicompost) ที่สามารถนำมาใช้ในการบำรุงพืชได้ [7] สำหรับไส้เดือนสายพันธุ์ *Eudrilus eugeniae* (*E. eugeniae*) เป็นไส้เดือนดินสีแดงที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ เจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้รวดเร็วมาก ไส้เดือนสายพันธุ์นี้มีความสามารถในการย่อยสลายขยะในปริมาณมากได้อย่างรวดเร็ว [8]

จากปัญหาการกำจัดเศษหนึ่งเหลือทิ้งที่ส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม และความสามารถของไส้เดือนดินในการกำจัดอินทรีย์วัตถุ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษหนึ่งฟอกโครมโดยใช้สารละลายต่างเพื่อกำจัดโครเมียมและจากนั้นใช้อัลคาไลน์โปรตีนเอสซึ่งมีความจำเพาะต่อการย่อยพันธะเปปไทด์ของโปรตีนทำให้โปรตีนมีขนาดเล็กส่งผลให้การกำจัดโครเมียมออกจากเศษหนึ่งทำได้ง่าย ซึ่งโครเมียมจะเกิดการตกตะกอนกับสารละลายต่างเกิดเป็นตะกอนของโครเมียมออกไซด์ ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับการเลี้ยงไส้เดือนดินเพื่อลดต้นทุนในการกำจัด เป็นการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมและเป็นแนวทางในการทำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อไป

## 2. วิธีดำเนินการวิจัย

### 2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำเศษหนึ่งฟอกโครมที่ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท วีพีแทนเนอร์ มาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้นออก จากนั้นนำมาบั่นด้วยเครื่องบดละเอียด รุ่น G-2000 (บริษัท Kitchen Mall) จนมีขนาดเล็กลง

### 2.2 การสกัดโปรตีนจากเศษหนึ่งฟอกโครมโดยวิธีทางเคมีร่วมกับเอนไซม์ [9-11]

ผสมเศษหนึ่งฟอกโครม 10 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าพร้อมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที และเติมสารละลายต่างที่ประกอบไปด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก สารละลายแมกนีเซียมออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และสารละลายแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก เพื่อปรับค่า pH ให้มีค่าประมาณ 8-10.5 เติมเอนไซม์โปรตีนเอส (*Bacillus subtilis*) บริษัท Sigma (Enzyme Activity >1.5 AU-N/g) ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าพร้อมควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น 1 คืน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 เก็บสารละลาย ที่ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนตะกอนที่ได้ มาทำการสกัดซ้ำ ตามแผนภาพการทดลองในรูปที่ 1 แล้วนำส่วนสารละลายที่ได้จากการกรองทั้ง 2 ครั้งไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนและโครเมียม ส่วนตะกอนที่ได้จากการกรองครั้งที่ 2 สามารถนำมาสกัดเป็นตะกอนของโครเมียมได้โดยนำมาเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

### 2.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน [12]

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีแบรดฟอร์ด (Bradford) โดยผสมสารละลายตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายแบรดฟอร์ด 2 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร อ่านค่าปริมาณโปรตีนในสารละลายตัวอย่างเปรียบเทียบกับกราฟสารละลาย



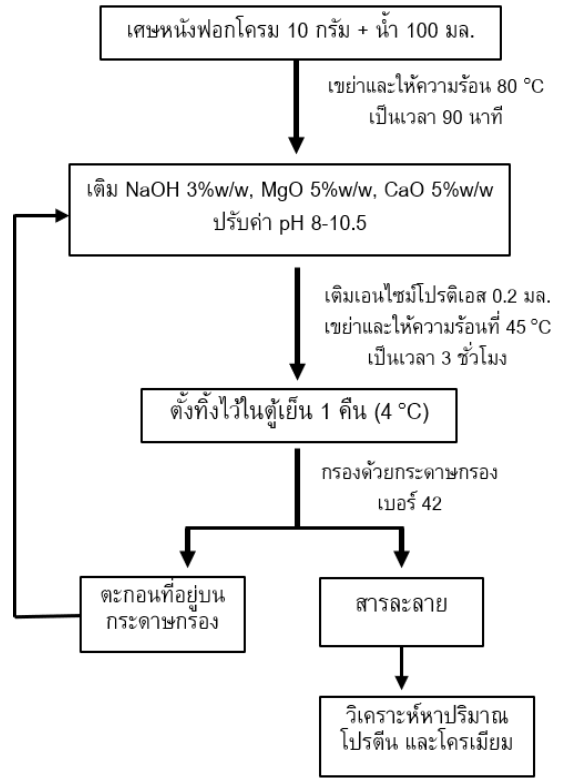
โปรตีนมาตรฐาน Bovine serum albumin (BSA) บริษัท Sigma ที่มีปริมาณ 0-100 ไมโครกรัม

### 2.4 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด [13]

วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธีเจลดาร์ล (Kjeldahl) โดยชั่งน้ำหนักแน่นอนของตัวอย่าง 2 กรัม ลงในหลอดใส่สารตัวอย่าง เติมน้ำกลั่น (ตัวเร่งปฏิกิริยา) ปริมาณ 3 กรัม และเติมกรดซัลฟูริกปริมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยเครื่องย่อยไนโตรเจนประมาณ 90 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 32 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 80 มิลลิลิตร นำตัวอย่างของเหลวในขวดเจลดาร์ลไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นไอน้ำ โดยจุ่มปลายท่อลงในกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่เติมอินดิเคเตอร์ผสมสารละลายส่วนที่กลั่นออกมา ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.1 นอร์มัล

### 2.5 การวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม [3]

วิเคราะห์ปริมาณโครเมียมโดยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometry โดยชั่งเอาที่ได้จากการเผาเศษหนังฟอกโครมที่อุณหภูมิ 600±25 องศาเซลเซียส จำนวน 0.2 กรัม ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร กรดเปอร์คลอริก 4 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริก 3 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้ว 4-5 ลูก นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 250-300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนได้ควันสีขาวของกรดเปอร์คลอริกจางหายไป หลังจากนั้นทิ้งให้เย็นลง แล้วเติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร



รูปที่ 1 แผนภาพการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครม

ปรับปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ปริมาณโครเมียมด้วยเครื่องอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 357.9 นาโนเมตร

### 2.6 การผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินจากโปรตีนไฮโดรไลเซต

#### 2.6.1 การเตรียมตัวอย่างไส้เดือน

สุ่มตัวอย่างไส้เดือนดินวัยเจริญพันธุ์ (ปรากฏโคลเทลล์) ที่ผ่านการปรับสภาพแล้วเพาะเลี้ยงบนวัสดุทดลองที่แตกต่างกันในกะละมังขนาด 20 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร จำนวน 9 กะละมัง ชั่ง Bedding 1.5 กิโลกรัมต่อไส้เดือนดินน้ำหนัก 10 กรัมต่อกะละมัง



(นับจำนวนไส้เดือนดินก่อนปล่อย) กะละมังแต่ละใบทำการเจาะรูด้านล่าง 5-6 รู เพื่อทำการระบายของเหลวจากการชะล้างตัวไส้เดือนดิน นำไปวางบนกะละมังใบที่เล็กกว่าที่ไม่เจาะรูเพื่อเก็บน้ำมูลไส้เดือนดินที่ได้จากการชะล้าง รักษาความชื้นในกะละมังอยู่ที่ 70-80 เปอร์เซ็นต์ โดยการรดน้ำให้ชุ่มเพื่อช่วยในการดำรงชีวิตของไส้เดือนดิน วางไว้ในพื้นที่ที่ไม่ร้อนและโล่งอุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส คลุมปากกะละมังให้มิดชิดเพื่อป้องกันสัตว์รบกวน เช่น หนู มด จิ้งจก เป็นต้น กำหนดปริมาณการให้อาหารเท่ากันในแต่ละครั้ง สังเกตการย่อยสลายของอาหาร เมื่ออาหารหมดให้เติมอาหารเพิ่มตลอดระยะเวลาในการทดลอง 40 วัน ซึ่งเป็นระยะที่ไส้เดือนเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว และทวีจำนวนมากขึ้นตามสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม [14]

### 2.6.2 วิธีการเตรียม Bedding ไส้เดือนดิน

1.การทำ Bedding ทำได้โดยเตรียมมูลโค : ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 2 : 1 คลุกเคล้าให้เข้ากันรดน้ำให้ทั่ว หมักทิ้งไว้ 21 วัน

2.แช่เศษหนังขูดบางบดละเอียดในน้ำอัตรา 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 15 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน

3.เติมเศษหนังบดละเอียด และโปรตีนจากเศษหนังลงใน Bedding ที่เตรียมไว้อัตราส่วนดังนี้

A1 คือ ขุยมะพร้าว : มูลโค อัตราส่วน 1 : 2 (โดยปริมาตร) กลุ่มควบคุม

A2 คือ เศษหนังบดละเอียด : ขุยมะพร้าว : มูลโค อัตราส่วน 0.1 : 0.9 : 2 (โดยปริมาตร) ตามลำดับ

A3 คือ โปรตีนไฮโดรไลเซต : ขุยมะพร้าว : มูลโค อัตราส่วน 0.1 : 0.9 : 2 (โดยปริมาตร) ตามลำดับ

ทำการทดสอบความสามารถของไส้เดือนดินในวัสดุรองพื้นก่อน (Pre-test) เพื่อประเมินการปรับตัวของไส้เดือนดินก่อนทำการทดลองจริงเป็นเวลา 14 วัน

### 2.6.3 การทดสอบปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน

หลังสิ้นสุดการทดลองทำการเก็บเกี่ยวปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน โดยตรงอย่างน้อย 5-7 วัน เพื่อสะดวกในการแยกไส้เดือนดินออกจากปุ๋ยหมัก วิธีการเก็บเกี่ยวทำได้โดยการเก็บไส้เดือนออกจาก ปุ๋ยหมักให้ได้มากที่สุด นำปุ๋ยหมักที่ได้ร่อนผ่านตะแกรงขนาดความถี่ 2 มิลลิเมตร เพื่อคัดแยกตัวไส้เดือนออกจากปุ๋ยหมัก ชั่งน้ำหนักไส้เดือนดิน และนับจำนวนตัวไส้เดือนดินที่เพิ่มขึ้นจากการทดลองแต่ละกลุ่ม บันทึกผล นำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินที่ได้ฝังลมประมาณ 2-3 วัน หลังจากนั้นทำการเก็บใส่ถุงพลาสติก ชั่งน้ำหนักปริมาณปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินที่ได้ในแต่ละการทดลอง บันทึกผล

นำวัสดุรองพื้นทั้งก่อนทดลอง (0 วัน) และหลังการทดลอง (40 วัน) ไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนและโครเมียม

### 2.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) จากนั้นทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



### 3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 3.1 การเตรียมวัตถุดิบ

เศษหนังฟอกโครมจากขั้นตอนการชุบบางนั้นจะมีลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน (รูปที่ 2 (a)) จึงนำเศษหนังฟอกโครมมาอบไล่ความชื้นออกและปั่นด้วยเครื่องปั่นบดละเอียดจะทำให้เศษหนังมีลักษณะที่สม่ำเสมอใกล้เคียงกัน (รูปที่ 2 (b)) และเป็น การเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการทำปฏิกิริยากับสารเคมีและเอนไซม์ โดยน้ำหนักเศษหนังฟอกโครมบั่นก่อนและหลังอบ ดังแสดงในตารางที่ 1

จากตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักเศษหนังฟอกโครมก่อนและหลังอบที่เตรียมได้ โดยน้ำหนักเศษหนังฟอกโครมก่อนอบ 150.25 กรัม และน้ำหนักเศษหนังฟอกโครมหลังอบ 107.50 กรัม เพื่อนำเศษหนังฟอกโครมที่ไล่ความชื้นออกแล้วไปปั่นให้มีขนาดที่เล็กลงได้ง่ายมากขึ้น

สำหรับการเตรียมวัตถุดิบเป็นขั้นตอนแรกที่มีความสำคัญ เนื่องจากเศษหนังฟอกโครมจากขั้นตอนการชุบบางนั้นจะมีลักษณะเหนียวและเบาจึงทำให้เกิดความลำบากในการทำให้มีขนาดเล็ก ดังนั้นควรนำเศษหนังฟอกโครมมาอบไล่ความชื้นออกและปั่นด้วยเครื่องปั่นบดละเอียดจะทำให้เศษหนังมีลักษณะที่สม่ำเสมอใกล้เคียงกัน และเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการทำปฏิกิริยากับสารเคมีและเอนไซม์ [15]

#### 3.2 การสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมโดยวิธีทางเคมีร่วมกับเอนไซม์

ผลการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมโดยวิธีทางเคมีร่วมกับเอนไซม์ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 น้ำหนักเศษหนังฟอกโครมบั่นก่อนและหลังอบ

วัตถุดิบ	น้ำหนักเศษหนังฟอกโครม (g)	
	ก่อนอบ	หลังอบ
เศษหนังฟอกโครม	150.25±0.42	107.50±3.05



(a)



(b)

รูปที่ 2 เศษหนังฟอกโครมที่ได้จากโรงงาน: (a) ก่อน และ (b) หลังปั่นด้วยเครื่องปั่นบดละเอียด

**ตารางที่ 2 ผลการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมโดยวิธีทางเคมีร่วมกับเอนไซม์**

รายการวิเคราะห์	ผลการสกัดโปรตีนจาก เศษหนังฟอกโครม	
	ก่อนสกัด	หลังสกัด
Cr <sup>3+</sup> (ppm) ±SD.	8.23 <sup>a</sup> ±0.70	1.04 <sup>b</sup> ±0.47
ปริมาณโปรตีน (ppm) ±SD.	73.43 <sup>a</sup> ±13.28	183.20 <sup>b</sup> ±4.36
ปริมาณไนโตรเจน (%) ±SD.	5.56 <sup>a</sup> ±0.40	26.27 <sup>b</sup> ±0.30

หมายเหตุ: <sup>a, b</sup> ในแนวนอนที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยใช้การทดสอบ T-test

จากตารางที่ 2 ค่าโครเมียมของทั้งก่อนและหลังการสกัดมีความแตกต่างกันโดยพบว่า มีปริมาณโครเมียมลดลงจากเดิมโดยคิดเป็นร้อยละที่ลดลงคือ 87.36 สำหรับปริมาณโปรตีนและไนโตรเจนของทั้งก่อนและหลังการสกัดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การสกัดโปรตีนเศษหนังฟอกโครมโดยทำการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายต่างและเอนไซม์ทำให้โครเมียมตกตะกอนในรูปโครเมียมไฮดรอกไซด์ (Cr(OH)<sub>3</sub>) ซึ่งจะไม่สามารถละลายกลับมาสู่สารละลายโปรตีนได้อีก [9, 10, 16] สอดคล้องกับงานวิจัยของ N. Siwarungson et al. [3] ได้ทำการแยกโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมด้วยแอลคาไลน์โปรติเอสเพื่อใช้เป็นอาหารปลา

**3.3 การผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินจากเศษหนังฟอกโครมและโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษหนังฟอกโครม**

ไส้เดือนดิน *E. eugeniae* ที่กินวัสดุรองพื้นขุยมะพร้าว: มูลโค (อัตราส่วน 2 : 1) จะให้ค่าเฉลี่ยจำนวนตัว น้ำหนักรวมของไส้เดือนดิน น้ำหนักเฉลี่ยของไส้เดือนดิน และปริมาณปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินสูงกว่าวัสดุรองพื้นที่ชนิดอื่นเท่ากับ 73.33 ตัว, 33.33, 0.46 และ 1,456 กรัม ตามลำดับ รองลงมาคือวัสดุรองพื้น

เศษหนังบดละเอียด : ขุยมะพร้าว : มูลโค (อัตราส่วน 0.1 : 0.9 : 2) เท่ากับ 64.67 ตัว, 29, 0.45 และ 1,444 กรัม ตามลำดับ ส่วนวัสดุรองพื้นโปรตีนไฮโดรไลเซท : ขุยมะพร้าว : มูลโค (อัตราส่วน 0.1 : 0.9 : 2) ให้ค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 51.33 ตัว, 27.67, 0.59 และ 1,247 กรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

การนำเศษหนังฟอกโครมและโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษหนังฟอกโครมมาใช้ประโยชน์เป็นวัสดุประกอบในอาหารเพื่อใช้เลี้ยงไส้เดือนดิน *E. eugeniae* พบว่าเศษหนังฟอกโครมและโปรตีนที่ได้จากการสกัดจากเศษหนังฟอกโครมสามารถนำมาใช้ประโยชน์เป็นวัสดุประกอบในอาหารเพื่อใช้เลี้ยงไส้เดือนดินในการผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินได้ สังเกตได้จากไส้เดือนดิน *E. eugeniae* มีการเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วและย่อยสลายมูลโค เศษขยะจากครัวเรือน และเศษพืชได้ดี ในส่วนของวัสดุรองพื้นที่ใช้เป็นอาหารทั้ง 3 ชนิดพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนตัว น้ำหนักรวมของไส้เดือนดิน น้ำหนักเฉลี่ยของไส้เดือนดิน และปริมาณปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยวัสดุรองพื้น ขุยมะพร้าว: มูลโค (อัตราส่วน 1 : 2) มีแนวโน้มค่าเฉลี่ยจำนวนตัวไส้เดือนดิน น้ำหนักรวมของไส้เดือนดิน น้ำหนักเฉลี่ยของไส้เดือนดิน และปริมาณปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินสูงกว่าวัสดุรองพื้นชนิดอื่น





เท่ากับ 73.33 ตั้ว, 33.33, 0.46 และ 1,456 กรัม ตามลำดับ สอดคล้องกับ P. Sirithanakorn et al. [17] ทำการทดลองเลี้ยงไส้เดือนดิน *E. eugeniae* ในวัสดุรองพื้น 4 ชนิด ได้แก่ ขุยมะพร้าว ปุ๋ยหมักผักตบชวา ปุ๋ยหมักต้นกล้วย และปุ๋ยคอกมูลวัว สิ้นสุดการทดลองพบว่า ปุ๋ยคอกมูลไส้เดือนให้ผลผลิตจำนวนงูไข่น้ำหนักตัวไส้เดือนดิน และผลผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินมากที่สุด ซึ่งวัสดุรองพื้นจำพวกปุ๋ยคอกจะมีธาตุอาหารและอินทรีย์วัตถุมาก ทำให้ไส้เดือนดินมีการเจริญเติบโตได้ดี สอดคล้องกับ R.K. Sinha et al. [18] รายงานว่า *E. eugeniae* สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วและย่อยสลายมูลควาย เศษขยะจากครัวเรือน และเศษพืชได้ดี และ J. Nuchnoon et al. [19] รายงานว่าวัสดุเพาะเลี้ยงที่ส่งผลต่อการผลิตมูลไส้เดือนดินมากที่สุดคือ มูลโคนม รองลงมาคือปุ๋ยหมักพืชสด โดยการนำวัสดุดังกล่าวเป็นวัสดุ โดยวัสดุดังกล่าวมีความเหมาะสมในการนำมาเป็นส่วนผสมในวัสดุประกอบการใช้เลี้ยงไส้เดือนดิน

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณไนโตรเจนของวัสดุรองพื้นแต่ละชนิดก่อนการทดลอง (0 วัน) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ส่วนหลังการทดลอง (40 วัน) พบว่าปริมาณไนโตรเจนของวัสดุรองพื้น (A1) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p < 0.05$ ) กับวัสดุรองพื้น (A2) และ (A3) ส่วนปริมาณโครเมียมของวัสดุรองพื้นแต่ละชนิดพบว่าทั้งก่อนการทดลอง (0 วัน) และหลังการทดลอง (40 วัน) มีปริมาณโครเมียมแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p < 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณโครเมียมทั้งก่อนการทดลอง (0 วัน) และหลังการทดลอง (40 วัน) ในแต่ละชนิดของวัสดุรองพื้น พบว่ามีปริมาณโครเมียมลดลง และปริมาณโครเมียมที่พบในชนิดของวัสดุรองพื้นทั้งสามชนิดหลังทดลอง (40 วัน) มีปริมาณโครเมียมน้อยกว่า 300 mg/kg ตามที่กรมวิชาการเกษตร [20] ได้กำหนดไว้ตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่องมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2548

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของไส้เดือนดิน น้ำหนักปุ๋ยมูลไส้เดือนดินที่เลี้ยงด้วยวัสดุรองพื้นที่แตกต่างกันหลังทำการทดลอง 40 วัน

การทดลอง / ชนิดของวัสดุรองพื้น	ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนดิน (ตั้ว)		น้ำหนักรวมของไส้เดือนดิน (กรัม)		น้ำหนักเฉลี่ยของไส้เดือนดิน (กรัม/ตั้ว)		ปริมาณปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน (กรัม)
	0 วัน	40 วัน	0 วัน	40 วัน	0 วัน	40 วัน	
ขุยมะพร้าว : มูลโค (A1) เศษหีบขี้เหล็ก	7	73.33 ±14.05	15	33.33 ±11.50	2.14	0.46 ±0.13	1,444.00 ±26.96 <sup>a</sup>
ขุยมะพร้าว : มูลโค (A2) โปรตีนไฮโดรไลเซต	7	64.67 ±1.53	15	29.00 ±5.57	2.14	0.45 ±0.10	1,456.00 ±17.34 <sup>a</sup>
ขุยมะพร้าว : มูลโค (A3)	7	51.33 ±23.18	15	27.67 ±2.89	2.14	0.59 ±0.17	1,247.00 ±119.25 <sup>b</sup>
<b>F-test</b>	ns		ns		ns		*

หมายเหตุ: ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยวิธี DMRT  
\* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยวิธี DMRT



ตารางที่ 4 ปริมาณไนโตรเจนและโครเมียมของวัสดุรองพื้นก่อนและหลังการทดลอง

ชนิดของวัสดุรองพื้น	ปริมาณไนโตรเจน (%)		ปริมาณโครเมียม (mg/kg)	
	0 วัน	40 วัน	0 วัน	40 วัน
ขุยมะพร้าว : มูลโค (A1)	1.67 ± 0.09	1.67 ± 0.09 <sup>b</sup>	12.07 ± 0.30 <sup>c</sup>	10.51 ± 1.17 <sup>c</sup>
เศษหนังบดละเอียด : ขุยมะพร้าว : มูลโค (A2)	1.72 ± 0.05	1.93 ± 0.00 <sup>a</sup>	166.90 ± 2.77 <sup>b</sup>	83.57 ± 5.58 <sup>b</sup>
โปรตีนไฮโดรไลเซต : ขุยมะพร้าว : มูลโค (A3)	1.75 ± 0.00	1.96 ± 0.05 <sup>a</sup>	300.16 ± 8.09 <sup>a</sup>	141.59 ± 2.12 <sup>a</sup>
<b>F-test</b>	ns	**	**	**

หมายเหตุ: ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยวิธี DMRT

\*\* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยวิธี DMRT

#### 4. สรุปผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ พบว่า การสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมผ่านขั้นตอนการชุบจากโรงงานฟอกหนังโดยใช้วิธีการย่อยสลายด้วยสารละลายต่างและเอนไซม์ สามารถสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตได้ปริมาณ 183.20 ± 4.36 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อนำมาศึกษาการนำไปใช้ประโยชน์ในการทำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน โดยการนำเศษหนังฟอกโครมมาใช้เป็นวัสดุประกอบในอาหารเลี้ยงไส้เดือนดิน พบว่าวัสดุทั้งสองสามารถนำมาเป็นส่วนประกอบอาหารเลี้ยงไส้เดือนดินสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับการเลี้ยงไส้เดือนดินซึ่งช่วยลดต้นทุน และยังเป็นแนวทางในการทำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อไป

#### 5. ข้อเสนอแนะ

5.1 ควรศึกษาการสกัดโปรตีนจากเศษหนังโดยการใช้อินไซม์โปรติเอสชนิดอื่น

5.2 ควรทำการศึกษาองค์ประกอบกรดอะมิโนของสารละลายโปรตีนที่สกัดได้จากเศษหนัง

5.3 หากนำปุ๋ยมูลไส้เดือนดินที่ได้ไปใช้ในการปลูกพืช ควรมีการศึกษาต่อว่าเหลือปริมาณโครเมียมตกค้างในพืชมากน้อยเพียงใดเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

#### 6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2561 จากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

#### 7. เอกสารอ้างอิง

- [1] <https://thaitanning.org/about-us-th/>. (Accessed on 28 July 2021)
- [2] N. Siwarungson, Chromium removal from chrome-containing leather waste by enzymatic hydrolysis for protein recovery, Research Report, Chulalongkorn University, Thailand. 1999.
- [3] N. Siwarungson, K. Wasantanarut and S. Sawatklang, Protein removal from chrome-containing Leather waste by alkaline protease for fish nutrition, Research Report, Thailand Science Research and Innovation (TSRI), Thailand. 2003.
- [4] A. Sittichokaroon, Determination of pollution charge: Case study of tannery industry, Thesis, Chulalongkorn University, Thailand. 2001.



- [5] T. Julmanlik and S. Kongruang, Functional properties and applications of egg white protein hydrolysates, *Journal of Food Technology*, Siam University, 2019, 14(1), 69-78. (in Thai)
- [6] P. Jamnong, Study on the optimal production and partial purification of alkaline protease from alkalotolerant *Bacillus* sp. B12: Feasibility as a commercial detergent additive, *Mahidol R2R e-Journal*, 2020, 8(1), 34-48. (in Thai)
- [7] Environmental Research and Training Center (ERTC), Application of earthworms on decontamination of hazardous residues in soil amendment derived from municipal solid waste, Department of Environmental Quality Promotion (DEQP), Research Report, Ministry of Natural Resources and Environment, 2019. (in Thai)
- [8] V. Chaichana and T. Sripanlom, The potential of vermicompost produced from leather scraps on agricultural systems and environment, *Science and Technology*, Research Report, Nakhon Pathom Rajabhat University, 2018. (in Thai)
- [9] M.M. Taylor, E.J. Diefendorf, W.N. Marmer and E.M. Brown, Enzymatic processing of materials containing chromium and protein, U.S. Patent, US5271912A.
- [10] M.M. Taylor, E.J. Diefendorf, W.N. Marmer and E.M. Brown, 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*, 1994, 89, 221-228.
- [11] P.N. Sudha, S. Latha and V.L. Bharghavi, Towards chrome free chicken-A pilot scale study to remove chromium from leather waste, a source for poultry feed manufacture, *Environmental Science: An Indian Journal*, 2011, 6(3), 107-111.
- [12] M.M. Bradford, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1-2), 248-254.
- [13] Association of Official Analytical Chemists (AOAC): Official Methods of Analysis, 17<sup>th</sup> Ed., The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA, 2000.
- [14] S. Jaitae, Vermicomposting on organic waste, *RMUTP Research Journal*, 2015, 9(2), 189-200. (in Thai)
- [15] Ministry of University Affairs, Chemistry 1, 11<sup>st</sup> Ed., Aksorn Charoen Tat ACT Co., Ltd, Bangkok, Thailand, 1998. (in Thai)



- [16] A. Pati, R. Chaudhary and S. Subramani, Biochemical method for extraction and reuse of protein and chromium from chrome leather shavings: A waste to wealth approach, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 2013, 108(10), 365-372.
- [17] P. Sirithanakorn, K. Pharam and S. Sanusan, Different of bedding on growth of earthworms and vermicompost productions, *Khon Kaen Agriculture Journal*, 2014, 42(SUPPL 4), 714-721. (In Thai)
- [18] R.K. Sinha, S. Herat, S. Agarwal, R. Asadi and E. Carretero, Vermiculture and waste management: Study of action of earthworms *Elsinia foetida*, *Eudrilus euginae* and *Perionyx excavatus* on biodegradation of some community wastes in India and Australia, *Environmentalist*, 2002, 22, 261-268.
- [19] J. Nuchnoon, K. Lertpanich and A. Popan, Effect of bedding toward number of cocoons, body weight and vermicompost production of african night crawler (*Eudrilus euginae*), *King Mongkut's Agricultural Journal*, 2017, 35(2), 41-48. (in Thai)
- [20] Organic fertilizer standard B.E.2548, Department of Agriculture, Royal Thai Government Gazette, 122, Special Section 109 N, 2005. (in Thai)