หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 คุณสมบัติของโบรมีเลน

โบรมีเลน (Bromelain) เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช (plant proteolytic enzyme) พบในเนื้อเยื่อของพืชตระกูล Bromeliaceae เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืชตระกูลนี้ถูกพบมาเป็นเวลานานแล้ว ผลของพืชในสายพันธุ์ Bromelia pinguin เป็นแหล่งที่พบว่ามีเอนไซม์ย่อยโปรตีนอยู่มากที่สุด และสามารถผลิตได้จากสับปะรด (Annas comosus L.) (1-3) โบรมีเลนส่วนที่พบจากต้นสับปะรดเรียกว่า โบรมีเลนจากต้น (stem bromelain, EC 3.4.22.4) ส่วนที่พบจากผลสับปะรดเรียกว่า โบรมีเลนจากผล (fruit bromelain, EC 3.4.22.5) (4-6) นอกจากนี้ยังพบโบรมีเลนจากส่วนเปลือก แกน และใบของสับปะรด ปริมาณแอคติวิตีของโบรมีเลนที่พบในส่วนต้น ผล เปลือก แกน และ ใบ ของสับปะรด คิดเป็นร้อยละ 36.1, 34.6, 14.9, 6.6 และ 3.5 ของแอคติวิตีทั้งหมด ตามลำดับ (7)

โบรมีเลนจากต้นสับปะรดจัดเป็นสารประกอบพวกไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) จับอยู่กับสายเพปไทด์ (peptide chain) ด้วยพันธะโควาเลนท์ (covalently linked) (6,8,9) โอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วยแมนโนส (manose) 3 โมเลกุล ฟูโคส (fucose) 1 โมเลกุล ไซโลส (xylose) 2 โมเลกุล และเอน-อะซิทิลกลูโคซามีน (N-acetyl glucosamine) 2 โมเลกุล แต่โบรมีเลนจากผลสับปะรดจะไม่มีกลูโคซามีนเป็นองค์ประกอบ (2,10,11) สายเพปไทด์ประกอบด้วยกรดอะมิโน 285 หน่วย มีกรดอะมิโนวาลีนอยู่ทางด้านปลายอะมิโน (N-terminal) และกรดอะมิโนไกลซีนอยู่ทางด้านปลายคาร์บอกซิล (C-terminal) (6) โบรมีเลนจากต้นสับปะรดจัดอยู่ในกลุ่มเอนไซม์ที่มีหมู่ซัลไฟดริล (-SH, sulfhydryl) ในบริเวณเร่งเช่นเดียวกับเอนไซม์ปาเปน (papain) จากมะละกอ และเอนไซม์ไฟซิน (ficin) จากผลมะเดื่อ (3) โบรมีเลนจากต้นจะมีกลุ่มซัลไฟดริล อยู่ 1 กลุ่มใน 1 โมเลกุล และมีส่วนที่เหลือของกรดอะมิโนซีสเตอีน (cysteinyl residue) 1 โมเลกุล และส่วนที่เหลือของกรดอะมิโนฮีสติดีน (histidyl residue) 1 โมเลกุล ในขณะที่ปาเปน มีส่วนที่เหลือของกรดอะมิโนฮีสติดีน 2

โมเลกุล และในโมเลกุลของโบรมีเลนยังมีส่วนที่เหลือของกรดอะมิโนเมทไทโอนีน (methionyl residues) ในขณะที่ปาเปนไม่มี (6) โบรมีเลนจากต้นจะเป็นโปรตีนขนาดใหญ่ และมีความเป็นเบสสูงกว่าปาเปน นอกจากนี้โบรมีเลนจากต้นยังมีองค์ประกอบเป็นกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติเป็นเบสมากกว่ากรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (11) ดังนั้นโบรมีเลนจากต้นสับปะรดจัดเป็นโปรตีนพวกที่มีคุณสมบัติเป็นเบส (basic protein) ในขณะที่โบรมีเลนจากผลสับปะรดจัดเป็นโปรตีนพวกที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (acidic protein) (6,9,12) โบรมีเลนสามารถที่จะละลายน้ำได้ แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คีโตน แอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ หรือเกลืออินทรีย์ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมคลอไรด์ โปตัสเซียมซัลเฟต (12)

โบรมีเลนมีความจำเพาะในการสลายพันธะเพปไทด์ที่มีกลุ่มคาร์บอนีล (carbonyl group) หรือกลุ่มของกรดอะมิโนที่มีลักษณะโครงสร้างอะโรมติก (aromatic amino acid) เช่น ไทโรซีน (tyrosine) หรือ เฟนิลอะลานีน (phenylalanine) น้ำหนักโมเลกุลของโบรมีเลนประมาณ 33,000 มีพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ในช่วง 6-8 เมื่อใช้เคซีนฮีโมโกลบินเป็นสับสเตรท และมีพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานเท่ากับ 5 เมื่อใช้เจลาตินเป็นสับสเตรท และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายเคซีนของโบรมีเลนและปาเปน พบว่าโบรมีเลนสามารถที่จะย่อยสลายเคซีนได้ค่อนข้างดีกว่าปาเปน (13-15) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของโบรมีเลนประมาณ 50 องศาเซลเซียส เมื่อใช้เคซีนเป็นสับเสตรท และประมาณ 60 องศาเซลเซียสเมื่อใช้เจลาตินเป็นสับเสตรท (15) โบรมีเลนจากต้นสับปะรดมีจุดไอโซอิเลคตริค (Isoelectric point) ที่พีเอช 9.55 โบรมีเลนจากผลสับปะรดมีจุดไอโซอิเลคตริคที่พีเอช 4.6 (6,12,16) โบรมีเลนจากต้น มีค่าคงตัวของการตกตะกอน (sedimentation constant, $S_{20,w}$) เท่ากับ 2.735 ค่าคงที่ของการแพร่ (diffusion constant, $D_{20,w}$) เท่ากับ 7.77×10^{-7} ตารางเซนติเมตรต่อวินาที ความหนืด (frictional ratio, n) เท่ากับ 0.039 เดซิลิตรต่อกรัม (12) โปรตีนที่สกัดจากสับปะรด จะมีโปรตีนยับยั้งการทำงานของโบรมีเลน เป็นองค์ประกอบอยู่มากกว่าที่พบในปาเปนและผลมะเดื่อ ซึ่งจะพบโปรตีนยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนในส่วนของไซโตรปลาสซึม เพื่อทำหน้าที่ป้องกันเอนไซม์ย่อยโปรตีน ที่อาจเกิดอุบัติเหตุถูกปลดปล่อยออกมาจากแวคคิวโอล (vacuoles) โบรมีเลนสามารถถูกยับยั้งการทำงานได้ด้วยสารโลหะหนักเช่น สารพวกปรอท (mercurials) และสามารถกระตุ้นการทำงานของโบรมีเลน ได้ด้วยกรดอะมิโนซีสเตอีน และเมอแคปโตเมท-

ธานอล (mercaptomethanol) (3) มีผู้สนใจผลิตโบรมีเลนในระดับอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง การผลิตโบรมีเลนจากต้นสับปะรดส่วนมากจะใช้ต้นสับปะรดที่มีอายุมากกว่า 3 ปี ลำต้นที่มีอายุมากจะมีเอนไซม์ในปริมาณมากกว่าลำต้นที่มีอายุน้อย แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณของเอนไซม์ขึ้นกับพันธุ์ของสับปะรด ความอุดมสมบูรณ์ของดิน หรือแหล่งเพาะปลูกต่าง ๆ (4)

การผลิตโบรมีเลนจากต้นสับปะรดจะใช้เครื่องบีบซึ่งมีแบบต่าง ๆ กัน บีบน้ำจากต้นสับปะรดที่ปลอกเปลือกแล้ว แล้วนำน้ำสับปะรดที่บีบได้มาตกตะกอนเอนไซม์ ซึ่งอาจทำการตกตะกอนเอนไซม์ด้วย อะซิโตนแบบ 2 ขั้นตอน (อะซิโตนร้อยละ 30-33 กับ ร้อยละ 60-66 โดยปริมาตรทั้งหมด) (17) กรดแทนนิคแบบ 2 ขั้นตอน (กรดแทนนิคร้อยละ 0.02-0.1 กับร้อยละ 0.5-1.0 โดยน้ำหนัก) (18) ตกตะกอนด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ (เข้มข้นร้อยละ 40-60) (7) ตกตะกอนด้วยโพลีอะไคร์ลิค (19) หรือตกตะกอนโบรมีเลนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (อิ่มตัวร้อยละ 80) (20) แล้วนำตะกอนที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบต่าง ๆ เช่น แบบแช่แข็ง (freeze dryer) ตู้อบแห้ง (oven dryer) อบแห้งแบบสูญญากาศ (vaccuum dryer) จากการศึกษาของนิมิตรพิสุทธิ์ (20) เพื่อเปรียบเทียบการตกตะกอน ด้วยสารตกตะกอนชนิดต่าง ๆ กันเช่น อะซิโตน แอมโมเนียมซัลเฟต และกรดแทนนิคพบว่า กรดแทนนิคเป็นสารตกตะกอนที่ดีที่สุดเมื่อใช้ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) (21) ก็ได้ศึกษาพบว่า การใช้กรดแทนนิคในช่วงความเข้มข้น 2-4 กรัมต่อลิตร จะเป็นช่วงที่ตกตะกอนเอนไซม์ได้สูงสุด นอกจากนี้นิมิตรพิสุทธิ์ยังพบว่า การใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ (sodium metabisul-phite) 0.01 โมลาร์ หรือ ซีสเตอีนไฮโดรคลอไรด์ (cystein hydrochloride) 0.05 โมลาร์ จะช่วยเพิ่มแอคติวิตีของโบรมีเลนให้สูงขึ้นประมาณร้อยละ 50 นิตยา (22) ได้ศึกษาและทดลองเพิ่มความบริสุทธิ์ของผงโบรมีเลนที่สกัดจากต้นสับปะรด ด้วยเทคนิคทางชีวภาพต่าง ๆ เช่นใช้เทคนิคอุลตราฟิลเตรชัน (ultrafiltration) การไดอะไลซีส (dialysis) การแลกเปลี่ยนประจุ (ion exchange) และเจลฟิลเตรชัน (gel filtration) และยังได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์โบรมีเลนด้วยคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลส (CM-cellulose) และการตรึงด้วยคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลสชนิดเสริมด้วยกลูตารัลดีไฮด์ ซึ่งพบว่า ทำให้ความสามารถในการไฮโดรไลซ์เคซีนสับสเตรทดีขึ้นประมาณ 20 เท่า และ 15 เท่าตามลำดับเมื่อเทียบกับโบรมีเลนอิสระ นอกจากนี้นิตยากล่าวว่ากรดอะมิโนซีสเตอีนไฮโดรคลอไรด์และโซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ ในความเข้มข้นที่เหมาะสมสามารถกระตุ้นการทำงานของ

โบรมีเลนได้ และความสามารถกระตุ้นการทำงานของโบรมีเลน จะเพิ่มขึ้นเมื่อเติมกรดเอทธิลลีนไดอะมีนเตทระอะซิติคร่วมกับกรดอะมิโนซีสเตอีนไฮโดรคลอไรด์ อีกประมาณ 1 เท่า ของการทำงาน เมื่อกระตุ้นโบรมีเลนด้วยกรดอะมิโนซีสเตอีนไฮโดรคลอไรด์ เพียงอย่างเดียว

1.2 <u>ประโยชน์ของโบรมีเลน</u>

โบรมีเลนสามารถนำไปใช้ประโยชน์กับอุตสาหกรรมหลายชนิดเช่น ใช้ในการผลิตเนยแข็งแทนเอนไซม์เรนเนทที่เตรียมจากกระเพาะลูกวัว เพื่อตกตะกอนโปรตีนเคซีนในน้ำนม ทำให้เกิดการแข็งตัว (milk-clotting) เป็นการแยกเคซีนออกจากน้ำนม (1,16,22-24) ในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ ช่วยทำให้เบียร์ใส (chill proofing) โดยไปย่อยโปรตีนพวกอัลบูมิน (albumin) โปรตีนจากข้าวมอลท์ที่ทำให้เบียร์ขุ่นเมื่อเก็บแช่เย็นนาน ๆ (2,13,25-28) ช่วยทำให้เนื้อนุ่ม (meat tenderizing) (2,29,30) อาจใช้ฉีดเข้าไปในตัวสัตว์ก่อนฆ่า (31) หรือใช้หลังจากฆ่าแล้ว (32) ใช้ในการสกัดโปรตีนจากยีสต์ (33) ใช้ในการผลิตขนมปังกรอบ (34) เพื่อช่วยย่อยสลายโปรตีนกลูเตนิน (glutenin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำในแป้งทำขนม โปรตีนชนิดนี้มีความสำคัญในการทำขนมชนิดที่ฟูขึ้นเมื่อนึ่ง อบ หรือทอด เพราะเส้นใยกลูเตนสามารถยืดหยุ่นได้เมื่อได้รับความร้อน (35) มีการใช้โบรมีเลนเพื่อเร่งกระบวนการหมักน้ำปลา เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเนื้อปลา (36-40) ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมผลิตหนังฟอกสำเร็จรูป อุตสาหกรรมทอผ้า ช่วยในการย่อยสลายเส้นใยโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนในหนังสัตว์ (non-collagen protein) ช่วยกำจัดขน ทำให้หนังนุ่มขึ้น ใช้ปรับปรุงขนแกะและผ้าไหมให้มีคุณภาพดีขึ้น (2,34,41,42) ใช้เป็นสารผสมของน้ำยาล้างคอนแทกเลนซ์เพื่อช่วยกำจัดสิ่งสกปรกประเภทโปรตีนเช่น อัลบูมิน โกลบูลิน (globullin) และไขมันต่าง ๆ (43) นอกจากนี้ยังมีการใช้โบรมีเลนในทางเภสัชกรรม และทางการแพทย์เป็นยาช่วยย่อย หรือยาถ่ายพยาธิ (2,41) ใช้เป็นส่วนประกอบของยาต้านจุลชีพ (anti-inflammatory compositions) เช่น ผสมในสเตียรอยด์พวก คอติโซน (cortisone) ดีแซมตาโซน (dexamthazone) และผสมในยาพวกที่ไม่ใช่สเตียร์รอยด์เช่น อนุพันธ์ของกรดแอนทรานิลิค (anthranilic acid derivatives) ซาลิซิเลท (salicylates) เป็นต้น (44) ใช้ในการเตรียมอนุพันธ์ของเพนนิซิลิน (45) ใช้รักษาผู้ป่วยทางการแพทย์เช่น ใช้ในการกำจัดเนื้อเยื่อที่ตายแล้วโดยไม่ต้องผ่าตัดออก (46) จากการรวบรวมตัวเลขปริมาณ

การนำเข้าสารประกอบเอนไซม์ของกรมศุลการกร กระทรวงการคลัง ในปี พ.ศ. 2530 ประเทศไทยมีการนำเข้าเอนไซม์ย่อยโปรตีนเป็นมูลค่าค่อนข้างสูง ประมาณค่าไม่ต่ำกว่า 70 ล้านบาท และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้น จึงมีผู้สนใจทำการศึกษาวิจัยผลของสภาพวัตถุดิบและการสกัดต่อการผลิตโบรมิเลน เพื่อพัฒนากรรมวิธีการผลิต (47) นอกจากนี้ ภาควิชาชีวเคมีและหลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้พัฒนากระบวนการผลิตโบรมีเลนจากต้นสับปะรด ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร อย่างต่อเนื่องและพัฒนาให้ผลิตได้ในระดับขยายส่วน (20,22)

1.3 ผลิตภัณฑ์หนังฟอกสำเร็จรูปและตลาด

ปัจจุบันประเทศไทยมีการผลิตและส่งผลิตภัณฑ์หนังฟอกสำเร็จรูปออกจำหน่ายยังต่างประเทศเพิ่มขึ้นทุกปี มีรายงานว่าในปี พ.ศ.2530 มูลค่าการส่งออกไม่ต่ำกว่า 5,500 ล้านบาท เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ.2529 ร้อยละ 54.8 เทียบกับการเพิ่มขึ้นของปี พ.ศ.2529 ที่มีมูลค่าของการส่งออกเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ.2528 เพียงร้อยละ 24.8 มูลค่าการส่งออกที่เพิ่มขึ้นส่วนใหญ่เป็นการเพิ่มขึ้นของ กระเป๋าหนัง ถุงมือหนัง รองเท้า รวมทั้งหนังหุ้มเฟอร์นิเจอร์ เครื่องแต่งกาย ของเล่นสำหรับสุนัข นอกจากนี้ในปี พ.ศ.2530 ยังมีการส่งหนังฟอกก่อนการตกแต่ง (Tanned hides) ออกจำหน่ายเป็นมูลค่ากว่าร้อยละ 40 ของมูลค่าส่งออกหนังทั้งหมด (ตารางที่ 1) ซึ่งส่วนมากเป็นหนังโคและหนังงูกว่าร้อยละ 74.4 และ 18.4 ของมูลค่าการส่งออกรวม (48) นอกจากนี้ยังมีอุตสาหกรรมการฟอกหนังสุนัขส่งออกจำหน่ายประเทศแถบยุโรป (49) ตลาดส่งออกผลิตภัณฑ์หนังสำเร็จรูปของไทยที่สำคัญได้แก่ เยอรมัน สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย อังกฤษ และสิงคโปร์ (48,50)

จากการสำรวจและรวบรวมตัวเลขของฝ่ายบริการข้อมูลอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรมจนถึงสิ้นปี พ.ศ.2531 ประเทศไทยมีโรงงานฟอกหนังที่ได้รับการจดทะเบียนจากกองควบคุมโรงงานทั้งสิ้น 149 โรงงาน ใน 8 เดือนแรกของปี พ.ศ.2530 มีการผลิตหนังฟอกได้กว่า 15,000 เมตริกตัน (48,51) ร้อยละ 60 ถึง 70 ส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศ การนำเข้าหนังดิบได้มีแนวโน้มสูงขึ้น กล่าวคือในปี พ.ศ.2530 มีการนำเข้าหนังดิบถึง 95,000 ตัน (49) ส่วนมากเป็นการนำเข้าจากประเทศยุโรป แคนาดา และสหรัฐอเมริกา (48,50)

EXPORTS OF LEATHER PRODUCTS

	1984	1985	1986	1987	% chng 87vs86
Bags	236.7	303.3	463.9	929.5	+100.4
Gloves	359.2	352.1	426.0	470.2	+10.4
Shoes	651.8	622.7	516.4	621.3	+20.3
Accessories	28.3	30.6	33.0	78.3	+137.3
Others	215.0	776.9	1,181.9	1,745.2	+47.7
Sub-total	1,491.0	2,085.6	2,621.2	3,844.5	+46.7
Tanned hides	727.7	778.7	953.6	1,690.5	+77.3
Total	2,218.7	2,864.3	3,574.8	5,535.0	+54.8

UNIT: Million baht.
SOURCE: Customs Department.

ตารางที่ 1 แสดงมูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์หนังฟอกสำเร็จรูปในปี พ.ศ.2527 ถึง พ.ศ.2530 (48)

1.4 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับหนัง

1.4.1 ประเภทของหนัง

หนังสัตว์สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ คือ (52)

1.4.1.1 หนังสัตว์ใหญ่ (hides) เช่น หนังโค หนังกระบือ หนังม้า

1.4.1.2 หนังสัตว์เล็ก (skins) เช่น หนังลูกโค หนังแพะ หนังแกะ หนังสุกร หนังกระต่าย

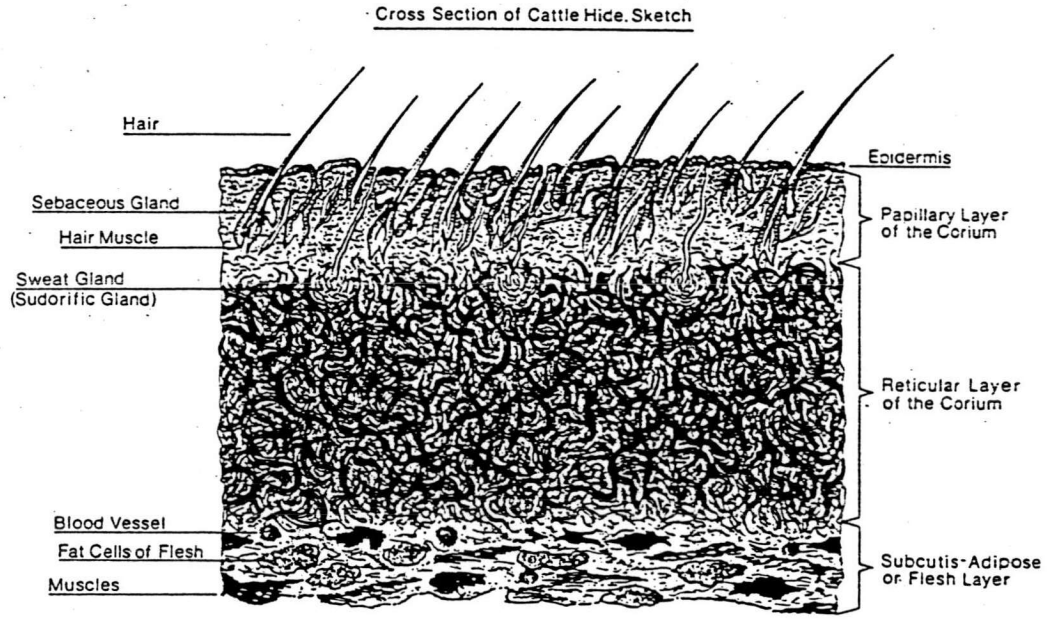
1.4.1.3 หนังสัตว์เลื้อยคลาน เช่น หนังงู หนังจระเข้

Woodroffe (53) ได้ศึกษาความแตกต่างของหนังสัตว์แต่ละชนิดในแต่ละถิ่นของโลก และศึกษาถึงผลของการนำมาฟอกเป็นหนังสำเร็จรูป พบว่าหนังโค และหนังกระบือ เป็นที่นิยมนำมาฟอกเป็นหนังสำเร็จรูปมาช้านาน ก่อนหนังสัตว์ชนิดอื่น ๆ รองลงมาได้แก่ หนังลูกโค หนังแกะ หนังแพะ หนังสัตว์ในแต่ละถิ่นของโลกจะมีสภาพที่แตกต่างกัน การนำหนังมาฟอกจะต้องคำนึงถึง ขนาด ความหนา สภาพผิว ลักษณะของเนื้อหนัง (texture) ความหนาของเส้นใย ซึ่งจะขึ้นอยู่กับ อาหาร การเลี้ยงดู ถิ่นกำเนิด สภาพสิ่งแวดล้อม อายุสัตว์ เพศ ฤดูกาลที่สัตว์ถูกนำมาฆ่า และปัจจัยอื่น ๆ

1.4.2 โครงสร้างของหนัง ประกอบด้วย 3 ส่วนคือ (52,54)

1.4.2.1 หนังชั้นบนสุด (epidermis) เป็นชั้นปกคลุมหนัง มีความหนาประมาณร้อยละ 0.5-2.0 ของความหนารวมของหนัง มีลักษณะเป็นเยื่อบาง ๆ ไม่มีเส้นเลือดมาหล่อเลี้ยง สามารถกำจัดออกได้ในขั้นตอนการลงปูน

1.4.2.2 หนังชั้นกลาง (dermis or corium) มีความหนาประมาณร้อยละ 15 ของความหนารวมของหนัง หนังชั้นนี้จะเป็นส่วนประกอบหลักของหนังฟอก เป็นชั้นควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย (thermostat layer) มีองค์ประกอบที่สำคัญ เช่น โปรตีนเส้นใย (fiber protein) เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ต่อมเหงื่อ เส้นประสาท เส้นเลือด เป็นต้น เมื่อตัดดูตามขวาง (cross section) (รูปที่ 1) จะพบเส้นใยขนาดต่าง ๆ กันสานกันอยู่ หนังชั้นนี้ยังแบ่งได้เป็น 2 ชั้นคือชั้นบน (papillary layer) ประกอบด้วยเส้นใยเล็กสานกันอยู่อย่างหนาแน่น และชั้นล่าง (reticular layer) เป็นเส้นใยที่หยาบกว่าและสานกันอยู่อย่างหลวม ๆ หนังสำเร็จรูปที่ได้ออกมาจะขึ้นกับส่วนบนของหนังชั้นกลางนี้เอง (52,53)



รูปที่ 1 ส่วนประกอบของหนังสัตว์เมื่อตัดตามขวาง (52)

1.4.2.3 หนังชั้นล่างสุด (subcutaneous or hypodermis) ประกอบด้วยไขมันและพังผืดที่จะถูกกำจัดออกด้วยเครื่องถากหนัง (Fleshing machine)

1.4.3 องค์ประกอบทางเคมีของหนัง

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของหนังได้แก่ โปรตีนคอลลาเจน (collagen) เคอราติน (keratin) อีลาสติน (elastin) เยื่อเมือก (mucoids) และไขมัน (lipoids) (ตารางที่ 2) (55)

COMPOSITION OF RAW HIDE

Water	*Protein*	*Fats*	*Mineral salts*	*Other substances*
64%	33%	2%	0·5%	0·5%

Structural Proteins / *Non-structural Proteins*

Collagen	*Keratin*	*Elastin*	*Albumins Globulins*	*Mucins Mucoids, etc.*
This tans to give leather.	Protein of the hair and epidermis contains sulphur.	Yellow elastic fibres interwoven in collagen fibres.	Soluble non-fibrous proteins largely removed in liming, etc.	Mucous materia located between collagen fibres removed in liming, etc.
29%	2%	0·3%	1%	0·7%

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณโดยเฉลี่ยขององค์ประกอบทางเคมีในหนังสัตว์ (55)

1.4.3.1 คอลลาเจน (collagen) เป็นโปรตีนโครงสร้างประกอบด้วยไกลซีน (glycine) ร้อยละ 33 อะลานีน (alanine) ร้อยละ 11 โปรลีน (proline) ร้อยละ 12 และไฮดรอกซิโปรลีน (hydroxyproline) ร้อยละ 11 (56) น้ำหนักโมเลกุล

ของสายโพลีเพปไทด์ (polypeptide chain) ประมาณ 10,000 ถึง 200,000 ใน 1 สาย โพลีเพปไทด์ประกอบด้วยโมเลกุลของโตรโปคอลลาเจน (tropocollagen) จัดเรียงกันเป็นแถวในโมเลกุลของโตรโปคอลลาเจน จะประกอบด้วยโพลีเพปไทด์ที่หมุนเป็นเกลียวเวียนซ้าย 3 สาย แล้วมาม้วนเป็นเกลียวใหญ่ที่เวียนขวา (56-58) คอลลาเจนเป็นเส้นใยที่มีความยาว และแข็งแรงมาก ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถถูกทำลายได้ทีละน้อยด้วยกรดและด่างอย่างอ่อน (54) เส้นใยเล็ก ๆ ที่ประกอบกันขึ้นเป็นเส้นใยคอลลาเจนจะเรียกว่าไฟบริล (fibril) เอนไซม์ที่สามารถจะทำลายคอลลาเจนได้ก็คือ เอนไซม์คอลลาจีเนส (collagenase) ซึ่งสามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์บางชนิด เนื่องจากคอลลาเจนเป็นโปรตีนส่วนสำคัญที่จะสร้างความคงอยู่เป็นหนังสำเร็จรูป ดังนั้นในกระบวนการฟอกหนังจึงควรหลีกเลี่ยงจากการปนเปื้อนของเอนไซม์ย่อยสลายคอลลาเจนนี้ (59,60) คอลลาเจนสามารถที่จะดูดน้ำไว้ในโมเลกุล ทำให้เกิดการบวมตัวและชุ่มน้ำ ซึ่งการดูดน้ำจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับพีเอชของสารละลายที่แช่คอลลาเจนไว้ (54) ความร้อนสามารถทำลายแรงยึดระหว่างสายโพลีเพปไทด์ ทำให้โมเลกุลของคอลลาเจนสลายตัวได้เป็นเจลาติน (gelatin) การเปลี่ยนแปลงนี้จะเร็วหรือช้าขึ้นกับอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 65 องศาเซลเซียส การเปลี่ยนแปลงจะเป็นไปอย่างช้า ๆ และจะเร็วขึ้นที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส แต่ถ้าผ่านความร้อนเป็นเวลานาน ๆ ที่อุณหภูมิสูง จะสูญเสียคุณสมบัติของเจลาตินได้ (61,62) ในขั้นตอนการฟอกหนัง สารฟอก (tanning agent) จะเข้าทำปฏิกิริยากับคอลลาเจน เกิดพันธะเชื่อมโยงระหว่างสายคอลลาเจนกับสารฟอก ทำให้เพิ่มความแข็งแรงและทนทานให้แก่หนังฟอก (52)

1.4.3.2 <u>เคอราติน</u> (keratin) เป็นโปรตีนที่พบในเส้นผม ขนสัตว์ เล็บ และเขา ประกอบด้วยเส้นใยเล็ก ๆ รวมตัวกันเป็นมัดใหญ่ (macrofibril) มีความแข็งแรง สามารถต้านทานกรด และด่างอย่างอ่อน แอลกอฮอล์ อีเธอร์ ดังนั้นจึงเป็นส่วนประกอบอยู่ผิวนอกที่ช่วยป้องกันร่างกายได้ แต่สามารถถูกทำลายได้ด้วยโซเดียมซัลไฟด์ (sodium sulphide) หรือโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ (sodium hydrosulphide) และสารละลายกรดเข้มข้น ดังนั้นเคอราตินจะถูกทำลายได้ในขั้นตอนการลงปูน นอกจากนี้เคอราตินไม่สามารถที่จะขยายตัวหรือบวมตัวได้ในสารละลายที่เป็นกรดหรือด่างเหมือนคอลลาเจน (54,59,63)

1.4.3.3 <u>เมือกจากเซลล์เมือก</u> (mucoids) เป็นโปรตีนที่ไม่ใช่

องค์ประกอบของเส้นใย เป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ที่มีความหนืดสูงและลื่น ทำหน้าที่หล่อลื่นและเคลือบผิวเซลล์ เซลล์เมือกอาจจะอยู่เป็นเนื้อเยื่อระหว่างร่างแหของเส้นใย ทำหน้าที่เชื่อมประสานรอยต่อหรือช่องว่างของเส้นใย (interfibrillary cementing substance) เซลล์เมือกไม่ละลายน้ำแต่สามารถบวมตัวได้ ถูกทำลายได้ด้วยสารละลายด่างเจือจาง ดังนั้นจะถูกทำลายในขั้นตอนการลงปูน (54,59,63)

1.4.3.4 อีลาสติน (elastin) เป็นโปรตีนที่ปรากฏอยู่มากที่ส่วนบนของหนังชั้นกลาง (papillary layer) มีความแตกต่างจากคอลลาเจนเพราะไม่สามารถสลายออกมาเป็นเส้นใยไฟบริลได้ ไม่บวมตัวได้ง่ายเหมือนคอลลาเจนเมื่ออยู่ในสภาวะกรดและด่าง ไม่สลายตัวเป็นเจลาตินเมื่อต้มในน้ำร้อน (63) อีลาสตินถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์อีลาสเตส (elastase) ซึ่งสกัดได้จากตับอ่อนของสัตว์และจุลินทรีย์บางชนิด (59)

1.4.3.5 ไขมัน (lipoids) ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในผิวหนังสัตว์ (natural grease) ทำให้เป็นปัญหาในการฟอกหนัง เพราะทำให้หนังที่แช่น้ำคืนตัวยาก (resistant to soaking) และทำให้หนังฟอกสำเร็จรูปที่ได้มีไขมันเกาะอยู่ที่ส่วนผิว ไม่เป็นที่ต้องการ ในขั้นเตรียมการฟอก (beamhouse) อาจต้องใช้สารกำจัดไขมัน (degreasing agents) พวกอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifiers) หรือสารละลายอินทรีย์ (organic sovents) ในขั้นตอนการแช่หนังเพื่อคืนตัว หรือในขั้นตอนการเบทติ้ง (bating) ไขมันที่ถูกกำจัดออกจากผิวจะรวมกับสารละลายด่างได้เป็นสบู่ (alkaline soaps) ซึ่งสามารถกำจัดออกได้ง่าย (59,61)

1.5 กระบวนการผลิตหนังฟอกสำเร็จรูป

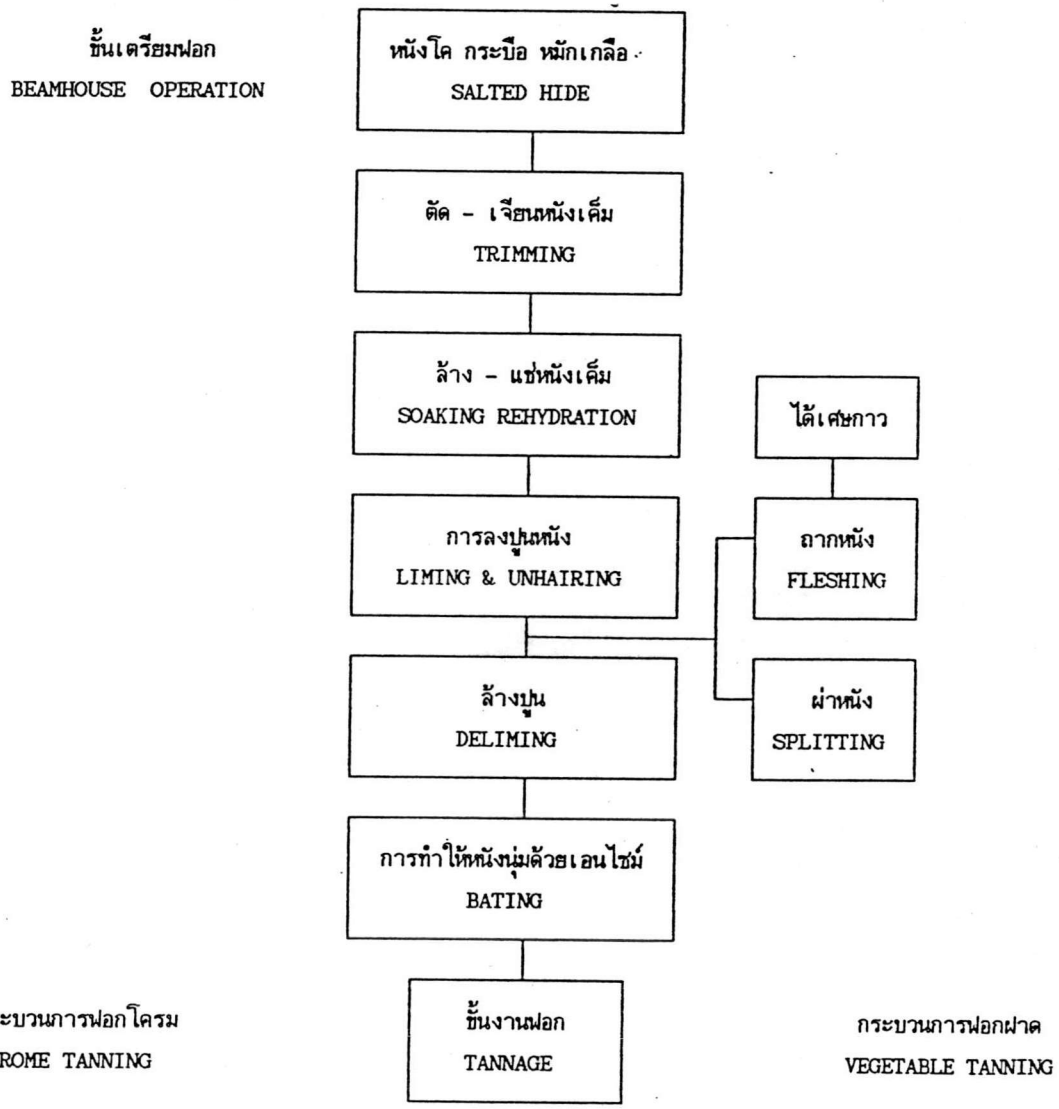
จากกรรมวิธีการผลิตหนังฟอกสำเร็จรูป (รูปที่ 2) (64) สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นตอนคือ การเตรียมการการฟอก (Beamhouse) การฟอกโครมและฝาด (Tannery) และการตกแต่งหนัง (Finishing)

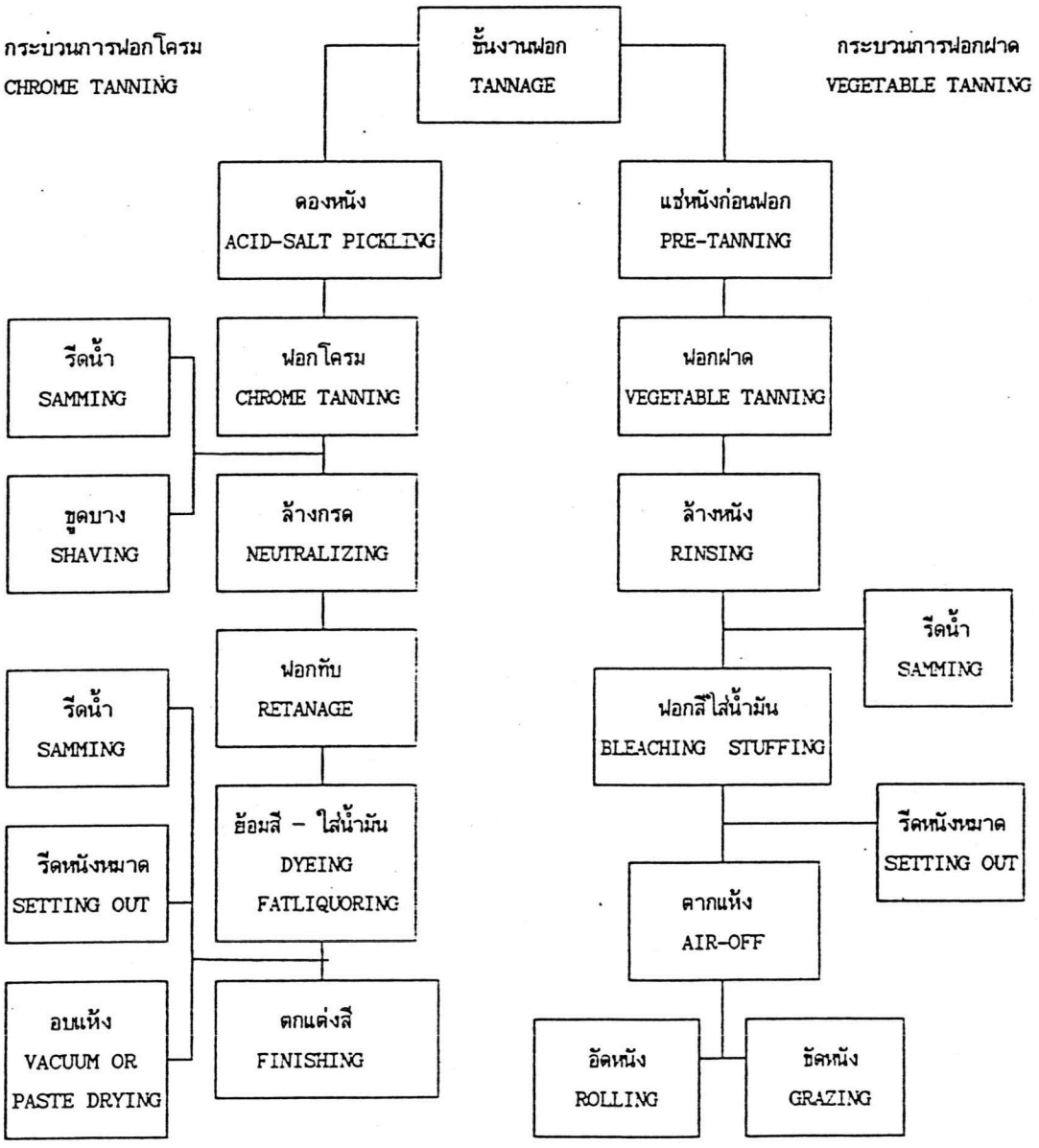
1.5.1 การเตรียมการฟอก

เป็นการเตรียมหนังดิบ (hides) เพื่อการฟอก ประกอบด้วยขั้นตอนต่อไปนี้

1.5.1.1 การแช่น้ำหนัง (Soaking) หนังสด (fresh hides) หรือหนังที่หมักเกลือ (salted hides) จะถูกนำมาแช่น้ำไว้ทั้งคืนเพื่อทำความสะอาด กำจัดสิ่งสกปรก

รูปที่ 2 กรรมวิธีการผลิตหนังสำเร็จรูป (56)




กระบวนการฟอกโครม
CHROME TANNING
ขั้นงานฟอก
TANNAGE
กระบวนการฟอกฝาด
VEGETABLE TANNING
ดองหนัง
ACID-SALT PICKLING
แช่หนังก่อนฟอก
PRE-TANNING
รีดน้ำ
SAMMING
ฟอกโครม
CHROME TANNING
ฟอกฝาด
VEGETABLE TANNING
ขูดบาง
SHAVING
ล้างกรด
NEUTRALIZING
ล้างหนัง
RINSING
ฟอกทับ
RETANAGE
รีดน้ำ
SAMMING
รีดน้ำ
SAMMING
ฟอกสีใส่น้ำมัน
BLEACHING STUFFING
ย้อมสี - ใส่น้ำมัน
DYEING
FATLIQUORING
รีดหนังหมาด
SETTING OUT
รีดหนังหมาด
SETTING OUT
ตากแห้ง
AIR-OFF
อบแห้ง
VACUUM OR
PASTE DRYING
ตกแต่งสี
FINISHING
อัดหนัง
ROLLING
ขัดหนัง
GRAZING

อื่น ๆ เลือด และเกลือที่ติดอยู่กับหนังสัตว์ (65) ทั้งยังเป็นการนำน้ำกลับเข้าไปในหนัง ทำให้หนังอิ่มน้ำคงเดิม (rehydration) เพราะหนังที่หมักเกลือจะหดตัวเนื่องจากเกิดการสูญเสียน้ำ (dehydration) การแช่น้ำจะช่วยให้หนังคืนตัว ทำให้สภาพของหนังที่แห้งอ่อนตัวขึ้น (soften) หนังจะบวมตัว (swelling) และชุ่มน้ำ (63) ซึ่งสามารถใช้เทคนิคทางไมโครสโครป (microscopic techniques) ส่องดูเนื้อเยื่อ และเส้นใยภายในหนังได้โดยการตัดตามขวาง จะพบว่าเส้นใยบวมหรือพองตัวขึ้น ทำให้ลดช่องว่างระหว่างเส้นใยลง (65) การช่วยให้หนังบวมตัวได้เร็ว อาจต้องใช้สารเคมีช่วย เช่น โซเดียมซัลไฟด์ หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) การคืนตัวของหนังยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ อีกได้แก่ อุณหภูมิของน้ำ ระยะเวลาในการแช่หนัง ความกระด้างของน้ำ และคุณลักษณะทั่วไปของหนัง

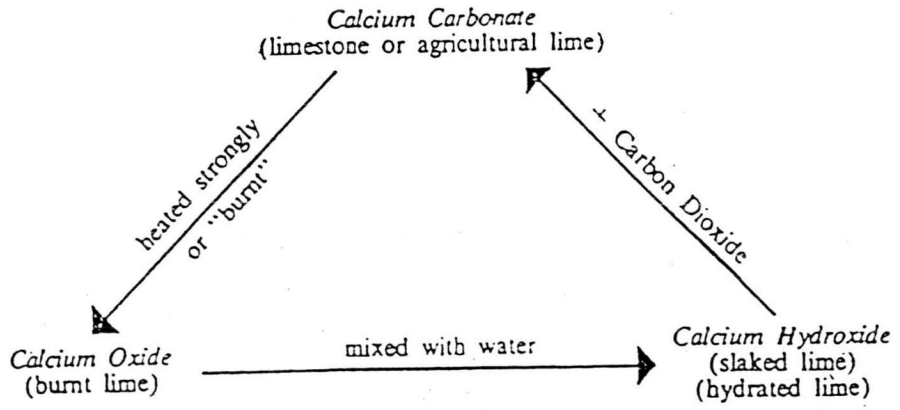
1.5.1.2 <u>การลงปูน</u> (Liming) การลงปูนหนังมีจุดประสงค์เพื่อกำจัดขนออกจากหนัง (unhairing) โดยการทำลายหนังชั้นนอกสุด (epidermis) จะทำให้ขนหลุดง่าย ปูนจะเข้าทำลายกล้ามเนื้อ (muscles) ต่อมเหงื่อ (sweat glands) เส้นเลือด (blood vessels) น้ำเหลือง (lymph) เส้นประสาท (nerve tissue) เนื้อเยื่อต่าง ๆ หรือโปรตีนอื่น ๆ ที่ไม่ใช่โปรตีนเส้นใย (non-fibrous proteins) การลงปูนจะทำให้เส้นใยคอลลาเจนบวมตัวสามารถส่องดูได้ด้วยกล้องไมโครสโครป มัดของเส้นใย (fiber bundle) จะแยกตัวออกจากกันทำให้เนื้อเยื่อต่าง ๆ ที่อยู่ระหว่างเส้นใยและโปรตีนตัวเชื่อม หรือประสานระหว่างช่องว่างของเส้นใย (interfibrillary substances) หลุดออกมาง่าย หรือถูกเปลี่ยนสภาพไปทำให้ง่ายต่อการทำลายในขั้นตอนการเบทติ้ง ไขมันที่มีอยู่ในหนังตามธรรมชาติเมื่อเจอกับปูนจะได้เป็นสบู่ และถูกกำจัดได้ง่ายด้วยเครื่องถากหนัง เช่นเดียวกับต่อมไขมันหรือเนื้อเยื่อต่าง ๆ ที่พองตัวขึ้นก็จะถูกทำลายได้ง่ายด้วยเครื่องถากหนังเช่นกัน (63,66) Reed (65) กล่าวว่าปูนจะทำปฏิกิริยากับหนังให้ขนหลุดได้ โดยปูนไปละลายอยู่ในน้ำเมือก (mucoids) ซึ่งอยู่ระหว่างหนังชั้นบนสุด (epidermis) กับหนังชั้นกลาง (corium) นอกจากนี้ Lollor, Carrie และ Woodroffe (63,66) กล่าวว่า การลงปูนจะทำให้หนังกลวงตัวเพื่อเป็นการเตรียมหนังสำหรับขั้นตอนการฟอกต่อไป ในปัจจุบันจะเรียกว่าการเปิดโครงสร้างหนัง (opening up the structure) (53,54,58,67) เส้นใยจะบวมและพอง (swell and plump) ขยายตัวออกจากกัน เปิดช่องว่างระหว่างเส้นใยเพื่อให้สารเคมีรวมทั้งเอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาได้สะดวกขึ้น

ในการลงปูนจะนิยมใส่โซเดียมซัลไฟด์ หรือกรดต่าง ๆ เช่น กรดอะซิติค กรดฟอร์มิค เพื่อช่วยในการกำจัดขน และมีส่วนช่วยในการบวมตัวของหนัง (53,54,58) ปูนที่ใช้ในการกำจัดขน มักจะอยู่ในรูปของ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide or $Ca(OH)_2$ or Hydrated lime or Slaked lime) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการเติมน้ำในแคลเซียมออกไซด์ (calcium oxide) (รูปที่ 3) (54) ถ้าในสารละลายมีโซเดียมซัลไฟด์ ก็จะมีโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH or caustic soda) เกิดขึ้นด้วยดังสมการ

$$Na_2S + H_2O \text{ ----------> } NaOH + NaHS$$

ซึ่งจะทำให้หนังบวมหรือพองตัวได้มากขึ้นอีก ปฏิกิริยาระหว่างปูนกับโซเดียมซัลไฟด์แสดงได้ดังสมการ

$$Ca(OH)_2 + 2\ NaHS \text{ ----------> } Ca(HS)_2 + 2\ NaOH$$



รูปที่ 3 แสดงปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูปของสารประกอบแคลเซียม (54)

สารพวกซัลไฟด์ยังช่วยในการกำจัดขนเพราะเกิดปฏิกิริยาการทำลายพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide crosslink) ในสายเคอราติน ได้เป็น 2 โมเลกุลของกลุ่มซัลไฟด์ในสารละลายด่าง Gustavson (58) กล่าวว่า ปฏิกิริยาการย่อยสลายเคอราตินเกิดได้ 2 ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องคือ การสลายพันธะไดซัลไฟด์ และการยับยั้งการทำงานของกลุ่มอิสระอื่น ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาแรก ปฏิกิริยาเหล่านี้จะขึ้นกับความเข้มข้นของปริมาณกลุ่มไฮดรอกซิล (hydroxyl group) และความเข้มข้นของสารกำจัดขนเช่น โซเดียมซัลไฟด์ ซึ่งแสดงถึงความเข้มข้นของซัลไฟด์อิออน (SH ions) (58)

ปัจจุบันการกำจัดขนนิยมใช้โซเดียมซัลไฟด์กันอย่างกว้างขวาง โดยจะต้องให้หนังแช่ในน้ำปูนมาก่อน เพื่อปรับสภาพความเป็นด่างให้พอเหมาะกับการเข้าทำปฏิกิริยาของโซเดียมซัลไฟด์ เพราะซัลไฟด์จะมีผลกระทบต่อขนสัตว์เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นด่าง ถ้าพีเอชต่ำกว่า 9 จะมีผลกระทบเพียงเล็กน้อย แต่จะส่งผลกระทบมากขึ้นในช่วงพีเอช 9.0-12.5 และพีเอชที่สูงเกินกว่า 12.5 ผลการกระทบจะลดลง แต่อย่างไรก็ตามการใช้โซเดียมซัลไฟด์ในอุตสาหกรรมฟอกหนังก่อให้เกิดปัญหาเนื่องจากเพิ่มค่าบีโอดี (BOD or Biologycal Oxygen Demand) ให้แก่น้ำเสีย เกิดตะกอนโปรตีนมาก (58) Thorstensen และ DuBost (68) ได้วิจัยเพื่อหาสารเคมีตัวอื่น ๆ มาทดแทนการใช้โซเดียมซัลไฟด์ เช่น การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ รีดิวซิงเอเจนท์ (reducing agents) หรือสารที่ช่วยในการกระจายโปรตีน (protein dispersants) โซเดียมไบซัลไฟด์ (sodium bisulphide) ไฮโดรคลอไรด์ (hydrochloride) ไฮดรอกซิลามีน (hydroxylamine) นอกจากนี้การใช้ปูนในปริมาณที่มากเกินไป จะทำให้เกิดการรวมตัวของปูนกับคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ ได้เป็นแคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) ซึ่งไม่มีประโยชน์ในการกำจัดขน และปริมาณปูนที่มากเกินพอนี้จะจับตัวกันเป็นก้อนที่ไม่ละลายน้ำ และไม่เข้าทำปฏิกิริยากับหนังได้รวดเร็วเช่นกับปูนที่เติมเข้าไปใหม่ ๆ ทำให้เป็นอุปสรรคต่อขั้นตอนการลงปูน (54)

1.5.1.3 <u>การล้างปูน</u> (Deliming) หนังที่ผ่านการลงปูนจะมีความเป็นด่างสูง พีเอชประมาณ 12-13 และมีสภาพของเส้นใยที่บวมตัว ดังนั้นจุดประสงค์ของการกำจัดปูนก็เพื่อที่จะทำให้พีเอชของหนังลดลง พอเหมาะที่จะทำปฏิกิริยากับสารเคมีในขั้นตอนต่อไป ช่วยลดการบวมตัวของหนัง กำจัดชิ้นส่วนของโปรตีนและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ที่ไม่ต้องการ ที่ละลายอยู่ในน้ำ

016677

1 10309056

ล้างปูน (67) การกำจัดปูนอาจใช้กรดต่าง ๆ เช่น กรดไฮโดรคลอริค (hydrochroric acid) กรดซัลฟูริค (sulfuric acid) กรดแลคติค (lactic acid) กรดอะซิติค (acetic acid) กรดบิวทิริค (butyric acid) หรือเกลือของกรดเช่น โซเดียมซัลไฟด์ โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ (sodium metabisulphite) เกลือแอมโมเนียมเช่น แอมโมเนียมคลอไรด์ (ammonium chloride) แอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulphate) การใช้กรดรุนแรง เช่นกรดซัลฟุริค และไฮโดรคลอริค อาจเป็นอันตรายต่อหนังได้ ต้องใช้ปริมาณที่ละน้อย และยังทำให้เกิดแคลเซียมซัลเฟตซึ่งไม่ต้องการ เพราะกำจัดออกยาก (54,62,63) การใช้เกลือแอมโมเนียม จะเป็นที่นิยมมากกว่า เพราะไม่เกิดปฏิกิริยาที่รุนแรงหรือเป็นอันตรายต่อหนัง แต่อย่างไรก็ตามแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นสารที่กำจัดปูนได้ไม่ดีนัก เพราะจะเกิดการรวมตัวกับปูนเป็นแคลเซียมซัลเฟตที่ไม่ละลายน้ำ แต่ในสภาพที่มีแอมโมเนียอยู่ในสารละลาย จะทำให้แคลเซียมซัลเฟตสามารถละลายน้ำได้ จึงสามารถใช้เป็นสารกำจัดปูนได้ ตามปกติแอมโมเนียมซัลเฟตจะช่วยลดพีเอชอย่างช้า ๆ ได้ต่ำกว่า 5.5 และไม่เป็นอันตรายต่อหนัง แต่ในสารละลายมีแอมโมเนียออกมาด้วย จึงทำให้ไม่สามารถลดพีเอชลงมาได้มากตามที่ควรจะเป็น ซึ่งจะคงได้พีเอชประมาณ 8.5-9 การใช้เกลือแอมโมเนียมอาจเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ได้เนื่องจากก๊าซแอมโมเนียเอง (54) Taylor, Diefendorf และ Sweeney (69) ได้ศึกษาการใช้แมกนีเซียมซัลเฟตแทนการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต จากการทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพของหนังพบว่า แมกนีเซียมซัลเฟตสามารถนำมาใช้ได้ดีเช่นเดียวกับแอมโมเนียมซัลเฟต

Woodroffe กล่าวว่าการกำจัดปูนออกจากหนังอาจจะกำจัดออกมากหรือน้อย ขึ้นกับว่าจะใช้หนังเพื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์อะไร หนังที่ใช้ทำพื้นรองเท้า (sole leather) ต้องการหนังที่แน่น และมีความแข็งพอ แต่ผิวของหนัง (grain) ต้องไม่แข็งและคงมีสี ดังนั้นเฉพาะชั้นของผิวต้องไม่มีปูนตกค้าง แต่ถ้าปูนถูกกำจัดออกหมดจะทำให้หนังอ่อนนุ่มเกินไป ไม่เป็นที่ต้องการ ส่วนหนังเบา (light leather) เช่นหนังที่ใช้ทำถุงมือ ทำรองเท้าสตรี หนังตัดเสื้อผ้า ก็ต้องกำจัดปูนออกให้หมด และจำเป็นต้องใช้การเบทติ้งช่วย แต่ถ้าปูนไม่ถูกกำจัดออก หนังสำเร็จรูปที่ได้ก็จะแข็ง (hard) เปราะ (brittle) และไม่มีสี (discoloured) เนื่องจากเกิดเกลือของแคลเซียมตกค้างเป็นตะกอนติดอยู่ตามผิว ทำให้หนังหยาบแข็ง และอาจติดอยู่ภายในถังหมุน หรือใบพัด (63)

1.5.1.4 การเบทติ้ง (Bating) เป็นการทำให้หนังนุ่มด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีนเป็นหลัก มีจุดประสงค์เพื่อทำให้เส้นใย (fibres) สลายตัวเป็นไฟบริล (fibrils) ทำให้หนังยืดหยุ่น มีแรงตึง ช่วยกำจัดขนอ่อน ชั้นส่วนของผิวหนังชั้นนอก และไขมันบางส่วนทำให้ผิวของหนังเรียบเป็นเงา (smoothness and luster or silky) ผิวลื่น (slippery) อ่อนนุ่ม (flaccid) ช่วยทำให้น้ำ และอากาศแพร่ผ่านหนังได้ดีขึ้น (porousity increase) จะปรากฏรอยนิ้วมือเมื่อกดนิ้วลงบนหนัง และรอยนิ้วมือจะคงอยู่นาน (63) การใช้เอนไซม์จะช่วยลดการบวมหรือพองตัวของเส้นใย ช่วยกำจัดขนโดยการทำลายพันธะเพปไทด์ ช่วยทำความสะอาดผิวโดยการย่อยชั้นส่วนของหนังชั้นนอกสุด เซลล์ต่อมไขมัน และรากขนที่ติดค้างที่ผิว ชิ้นส่วนของโปรตีนและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ที่เกิดจากการย่อยสลายของเอนไซม์นี้เรียกว่า scud ซึ่งจะส่งผลให้น้ำที่แช่หนังในขั้นตอนการเบทติ้งนี้ขุ่น การใช้เอนไซม์จะเป็นการช่วยเปิดโครงสร้างของเส้นใย (opening up the structure) เนื่องจากการไปทำลายโปรตีนที่ไม่ใช่เส้นใย เช่นอัลบูมิน โกลบูลิน และสารเมือกซึ่งเป็นโปรตีนจับกับโมเลกุลอื่น (conjugated proteins) เช่นจับกับคาร์โบไฮเดรต หรือที่เรียกว่า มิวโคโปรตีน (mucoprotein) โปรตีนเหล่านี้จะกีดขวางการเข้าทำปฏิกิริยากับหนังของสารฟอก (59,63,67,70,71)

ขั้นตอนการใช้เอนไซม์ในหนังหรือการเบทติ้งนี้ สามารถแยกออกจากขั้นตอนการลงปูน เพื่อความสะดวกต่อการทำงานของเอนไซม์ เนื่องจากไม่มีเศษขนหรือเศษโปรตีนอื่น ๆ จากขั้นตอนการลงปูนมากีดขวางการเข้าทำปฏิกิริยากับหนังของสารฟอก และทำให้การปรับพีเอชเพื่อให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์เป็นไปได้สะดวกมากขึ้น เอนไซม์บางชนิดเหมาะสมในการทำงานที่พีเอชสูงเช่นเอนไซม์จากเชื้อราและจุลินทรีย์บางชนิด (12,59)

1.5.1.5 การดองหนัง (Picking) เป็นการปรับพีเอชของหนังให้ต่ำลง ช่วยลดการบวมตัวของหนัง ช่วยให้สารพวกโครมและแทนนินเข้าสู่หนังได้ดี (63) โดยการใช้กรด และกรดที่นิยมใช้มากคือ กรดซัลฟูริค เพราะราคาถูกและประสิทธิภาพสูง โดยทั่วไปการดองอาจใส่เกลือประมาณร้อยละ 10 และกรดซัลฟูริคร้อยละ 1.0-1.5 ในน้ำร้อยละ 200 ของน้ำหนักหนัง (53) อาจใช้กรดฟอร์มิกร่วมกับกรดซัลฟูริค เพราะจะช่วยทำให้กรดแทรกซึมเข้าหนังได้เร็วขึ้น (52) การใส่เกลือก็เพื่อที่จะลดการบวม หรือพองตัวของหนังอันเนื่องมา

จากกรด (acid swelling) เพราะเกลือจะไปจับกับน้ำ ทำให้ไม่มีน้ำเพียงพอที่จะถูกดูดซับโดยหนัง การพองตัวของหนังจึงไม่เกิดขึ้น นอกจากนี้เกลือและกรดยังช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ด่างสามารถที่จะทำให้หนังบวมตัวได้เช่นเดียวกับกรด แต่สภาวะที่เป็นด่างทำอันตรายต่อหนังมากกว่าสภาวะที่เป็นกรด ระหว่างการดองน้ำจะแพร่ออกจากหนังสู่น้ำแช่หนัง ขณะเดียวกับที่น้ำแช่หนังซึ่งมีเกลือและกรดอยู่ก็จะแพร่เข้าเนื้อเยื่อของหนัง ปฏิกิริยาจะดำเนินไปจนกระทั่งความเข้มข้นของเกลือภายนอกและภายในหนังเท่ากัน (equilibium) ขั้นตอนการดองก็จะเสร็จสิ้น ซึ่งสามารถวัดได้ด้วยไฮโดรมิเตอร์ (Hydrometer) (54)

1.5.2 <u>การฟอกโครมและฝาด</u> (Tanning)

เป็นขั้นตอนสำคัญที่จะเปลี่ยนสภาพของหนังดิบ (pelt) ให้เป็นหนังฟอกสำเร็จรูป (leather) ไม่เกิดการเน่าเสียหรือถูกทำลายได้ง่าย (53) สารตัวฟอก (tanning agent) จะเข้าทำปฏิกิริยา (cross-linking) กับสายใยคอลลาเจน การทำปฏิกิริยากันจะขึ้นกับชนิดของสารฟอก (52) สารฟอกมีหลายชนิด ซึ่งจะมีกรดแทนนิกเป็นองค์ประกอบ อาจจะสกัดได้จากพืช (vegetable tannins) หรือจากการสังเคราะห์ (synthetic tannins) พืชที่เป็นแหล่งของแทนนินเช่น จากเปลือกไม้โอ๊ก (Oak bark; <u>Quercus sessififlora Sm.</u>, <u>Q. pedunculate</u>) ต้นเชสนัท (Chestnut; <u>Astanea vesca</u>) และไมโมซา (Mimosa; <u>Acacia decurrens</u>, <u>A. mollissims</u>) สารฟอกจากการสังเคราะห์ ได้แก่ จากเกลือของแร่บางตัว เช่น สารส้ม เกลือโครเมียม น้ำมันปลา สารพวกซัลเฟอร์ และฟอร์มาดีไฮด์ เป็นต้น (53,72)

การฟอกโครมและฝาด หมายถึงการฟอกหนังขั้นแรกด้วยเบสิคโครเมียมซอลต์ (basic chromium salts) เช่นเกลือโครเมียมซัลเฟต (chromium sulphate) แล้วฟอกทับด้วยน้ำยาฟอกฝาดหรือน้ำยาฟอกที่สังเคราะห์ขึ้นเช่น แทนนินที่สังเคราะห์จากพืช หรือใช้น้ำยาทั้งสองชนิดปนกัน (73) ปกติจะมีการใช้แทนนินสังเคราะห์ร่วมกับแทนนินจากธรรมชาติเสมอ เพื่อช่วยให้แทนนินแทรกซึมเข้าหนังได้เร็วขึ้น (52)

สารฟอกมีมากมายหลายชนิด การเลือกใช้จึงขึ้นอยู่กับว่าต้องการผลิตหนังสำเร็จรูปเพื่อใช้ทำเป็นผลิตภัณฑ์อะไร การฟอกหนังทางการค้ามักผสมสารเคมีอื่น ๆ เพื่อช่วยทำให้สภาพของหนังฟอกมีคุณภาพดีขึ้น การฟอกหนังจะทำให้เส้นใยหนังแข็งแรงขึ้น มีค่าแรงดึง

สูงขึ้น ทนทานต่อความชื้น ความร้อน ต้านทานการซึมน้ำได้ดี หนังที่ผ่านการฟอกแล้วสามารถต้มในน้ำเดือดได้โดยไม่หดตัว (53)

1.5.3 การตกแต่งหนัง (Finishing) จุดประสงค์ของการตกแต่งหนังก็เพื่อช่วยป้องกันสภาพทางธรรมชาติของหนังไว้ ป้องกันหนังจากความชื้น สิ่งสกปรกอื่น ๆ เพื่อตกแต่งผิวของหนังให้ได้ตามที่ต้องการเช่น ให้มีผิวมัน เรียบ มีลาย หรือมีสีตามต้องการ เหมาะแก่ผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด หนังที่ผ่านการฟอกแล้วจะนำมาย้อมสี ใส่น้ำมัน ทำให้แห้ง ขัดมัน ขัดฝุ่น อัดลายหนัง สีและน้ำมันจะมีส่วนช่วยให้ส่วนผิวของหนัง (grain) เกิดรอยประสานกัน มีผิวแน่น (full grain) และต้านทานการซึมน้ำได้ดี (52)

1.6 การใช้เอนไซม์ในกระบวนการฟอกหนัง

เมื่อเริ่มศตวรรษที่ 20 เบทติ้ง (bating) ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญและมีการศึกษาการนำมาใช้ในกระบวนการฟอกหนังมากขึ้น โดยในระยะเริ่มแรกเป็นการนำเอามูลสุนัขและมูลสัตว์ปีกเช่น ไก่ หรือนก มาหมักกับหนังเพื่อช่วยในการกำจัดชนในขั้นตอนของการล้างปูน กระบวนการนี้จะเสร็จสิ้นเมื่อสภาพการบวมของหนังหายไป หนังจะมีความนุ่มขึ้น และปรากฏลายนิ้วมือหลังจากใช้นิ้วกดลงบนหนัง กระบวนการที่มีการใช้มูลสัตว์ปีกจะเรียกว่าเบทติ้ง แต่ถ้าใช้มูลสุนัขจะเรียกว่าพูลิ่ง (puering) (63,67) แต่เนื่องจากกระบวนการผลิตและการใช้สารต่าง ๆ ไม่แตกต่างกัน จึงนิยมเรียกรวม ๆ ว่าเบทติ้งมาจนถึงปัจจุบัน J. Turney Wood ชาวอังกฤษ และ Otto Rohm ชาวเยอรมัน (67) ได้ศึกษาองค์ประกอบในมูลสัตว์ที่ทำให้เกิดหนังนุ่ม และได้พบว่ามีเอนไซม์แพนครีติค (pancreatic) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นจากตับอ่อนของสัตว์ และเอนไซม์จากแบคทีเรียปะปนอยู่ จึงได้พยายามสกัดและแยกออกมาจากมูลสัตว์เพื่อทำเป็นอุตสาหกรรม ประมาณปี ค.ศ.1903 Otto Rohm นักเคมีชาวเยอรมันก็ได้ประสบความสำเร็จในการสกัดเอนไซม์แพนครีติคมาใช้ในขั้นตอนการเบทติ้งได้สำเร็จเป็นรายแรก และได้จดเป็นสิทธิบัตรในปี ค.ศ.1907 และ ค.ศ.1908 จากนั้นผลิตเป็นเบทติ้งทางการค้าใช้ชื่อว่า โอโรพอน (Oropon) (60,74) ในปีต่อ ๆ มาก็เริ่มมีผู้ผลิตเบทติ้งทางการค้าตัวอื่น ๆ อีก การศึกษาวิจัยการใช้เบทติ้งเป็นไปอย่างกว้างขวาง ได้มีผู้ให้ความหมายของคำว่าเบท (bate) กันอย่างมากมาย (63,67,70) สถาบันมาตราฐานการฟอกหนังแห่งประเทศอินเดีย (75)

ให้ความหมายของคำว่าเบทหมายถึง สารผสมของสารเคมีที่ช่วยในการล้างปูน (deliming chemical) กับเอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteolytic enzymes) เพื่อที่จะกำจัดเอาโปรตีนที่ไม่จำเป็นออกเช่น โกลบูลิน เมือก อีลาสติน ชิ้นส่วนที่หลงเหลือของเคอราติน และปูนที่ติดค้างตามผิวหนัง เช่นเดียวกับการใช้มูลสุนัข มูลไก่ หรือ มูลนกพิราบในสมัยก่อน ซึ่งการเบทติ้งจะช่วยให้ได้หนังสำเร็จรูปที่นุ่ม มีผิวเรียบ ผิวหน้าเป็นเงามัน ให้ผิวสัมผัสดี Pepper (76) ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์ในการฟอกหนังสัตว์เปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียกับการใช้ปูนร่วมกับซัลไฟด์ พบว่า การใช้ปูนร่วมกับซัลไฟด์ทำให้สารละลายมีสภาพเป็นด่างสูง เกิดสารพิษพวกซัลไฟด์เป็นอันตรายแก่ผู้เกี่ยวข้องได้ มีชิ้นส่วนของหนังละลายออกมาปะปนในน้ำมากทำให้ค่าบีโอดีในน้ำเสียเพิ่มขึ้น นอกจากนี้สารพวกซัลไฟด์ยังสามารถถูกออกซิไดซ์ได้โดยแบคทีเรีย ได้กรดซัลฟูริคออกมาเป็นอันตรายแก่ผู้ที่เกี่ยวข้อง การใช้เอนไซม์ช่วยลดปัญหาข้อยุ่งยากของการปฏิบัติงาน และมีอันตรายต่อหนังสัตว์น้อยกว่าการใช้สารเคมี อีกทั้งยังช่วยเพิ่มความยืดยุ่นของผลิตภัณฑ์ แต่มีข้อเสียคือ ต้นทุนของการใช้เอนไซม์สูง ในทางการค้า จึงผสมสารที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ และสารประกอบพวกเกลือเพื่อทำการเจือจางเอนไซม์

การใช้เอนไซม์ในการฟอกหนังจะต้องพิจารณาถึงชนิดของเอนไซม์ เวลา อุณหภูมิ และความเข้มข้นของเอนไซม์ Pepper พบว่า การใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้นต่ำแต่เป็นเวลานานจะกำจัดขนได้ดีกว่าการใช้เวลาสั้นแต่ความเข้มข้นของเอนไซม์สูง นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ยังต้องพิจารณาถึง ขั้นตอนที่ผ่านมาซึ่งเป็นการบำบัดหนังด้วยวิธีการใช้ด่าง (alkaline pre-treatment) หรือขั้นตอนของการลงปูนหนังนั่นเอง นอกจากนี้ Pepper ยังสนใจถึงการควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกด้วย Portavella (77) พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิให้แก่การทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ความเข้มข้นต่ำจะได้ผลที่ดีกว่าการใช้เอนไซม์ความเข้มข้นสูงที่อุณหภูมิต่ำ การศึกษาและวิจัยการใช้เอนไซม์ในการช่วยกำจัดขน และเพิ่มคุณภาพของหนัง รวมทั้งการปรับปรุงประสิทธิภาพของเอนไซม์ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในปี ค.ศ.1955 Simoncini, Del Pezzo และ Gelsomino (74) ได้ศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์จากแบคทีเรียสายพันธุ์ Bacilus subtilis vellens จากนั้นทำการผลิตในระดับขยายส่วน และต่อมาประมาณปี ค.ศ.1965 ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์นี้กำจัดขนของหนังโค สำหรับใช้ทำหนังรองพื้นรองเท้า (sole leather) และศึกษาการนำเอนไซม์กลับมาใช้อีก โดยการตรวจวิเคราะห์แอคติวิตีของ

เอนไซม์ในระหว่างการทำปฏิกิริยา วัดผลทางเคมีและกายภาพของหนังหลังการฟอกเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการกำจัดขนโดยการใช้ปูนร่วมกับโซเดียมซัลไฟด์ Simoncini และ Medori (79) ได้ศึกษากลไกในการทำงานของเอนไซม์จาก Bacilus subtilis vellens ที่นำมาใช้กำจัดขน นอกจากนี้ยังมีผู้สนใจศึกษาเอนไซม์ย่อยโปรตีนจาก Streptomyces sp. (80) Andrews และ Dempsey (81) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเส้นใยในหนังโคเมื่อใช้เอนไซม์เปรียบเทียบกับหนังที่ผ่านการลงปูน พบว่ามัดของเส้นใยของหนังที่ผ่านการลงปูนจะขยายตัวออก เกิดการบวม แตกต่างจากการใช้เอนไซม์อย่างค่อนข้างชัดเจน การใช้เอนไซม์จะทำให้ได้โครงสร้างของเส้นใยจะแน่นหนากว่า Urbaniak (82) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจน ในขั้นตอนการแช่น้ำเพื่อให้หนังคืนตัว ในขั้นตอนการเบทติ้ง และในการกำจัดขน พบว่า ในขั้นตอนของการกำจัดขน อีลาสติน และโกลบูลินจะถูกทำลายได้หมด ส่วนขั้นตอนการเบทติ้ง บางส่วนของอีลาสติน และโกลบูลินถูกทำลาย Urbaniak ยังได้กล่าวถึงประโยชน์ของการใช้เอนไซม์ที่ช่วยให้ได้หนังมีสภาพผิวที่ดี ให้ความปลอดภัยแก่ผู้ที่เกี่ยวข้องดีกว่าการใช้สารเคมี แม้ว่าการใช้เอนไซม์จะทำให้ต้นทุนของการฟอกหนังสูงกว่าการใช้สารเคมี Urbaniak กล่าวว่า การนำเอนไซม์มาใช้ในช่วงของการแช่น้ำให้หนังคืนตัว จะช่วยย่นระยะเวลาของการแช่น้ำ และก่อนการนำเอนไซม์ไปใช้ต้องทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ และยังไม่มีวิธีการใดที่ดีพอที่จะใช้ทดสอบการทำงานของเอนไซม์กับหนัง เพราะวิธีการทดสอบที่ใช้ทั่วไป มักได้จากการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายเคซีน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ไม่พบในผิวหนังหรือเนื้อเยื่อของหนัง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องรู้ผลการทำงานของเอนไซม์ที่มีต่อองค์ประกอบของหนัง เพื่อที่จะให้ได้คุณลักษณะของหนังสำเร็จรูปที่ดี Urbaniak ได้ศึกษาเพื่อหาสับสเตรทสำหรับทดสอบการทำงานของเอนไซม์เป็นสับสเตรทที่เป็นโปรตีนองค์ประกอบของหนัง เช่น โกลบูลิน อีลาสติน โดยใช้วิธีการย่อยสลายเคซีนเป็นวิธีมาตราฐาน พบว่าเอนไซม์จะย่อยสับสเตรทต่างชนิดกัน ให้ผลที่แตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเอนไซม์ เอนไซม์ที่เตรียมขึ้นจากตับอ่อน จะมีความสามารถในการย่อยสลายอัลบูมินได้น้อย แต่ย่อยสลายอีลาสตินได้ดี และไม่ย่อยโกลบูลิน เอนไซม์จากการค้าบางตัวย่อยสลายอัลบูมินได้ดีมาก แต่ย่อยสลายอีลาสตินและโกลบูลินได้น้อยมาก แต่จากการศึกษากลไกการย่อยสลายโปรตีนในหนังของเอนไซม์โปรตีเอสโดย Yates (83) พบว่าแอคติวิตีของเอนไซม์ในการย่อย

สลายโปรตีนในหนังมีความสัมพันธ์กับการย่อยสลายเคซีนถึงร้อยละ 100 ถ้าตัวอย่างของหนังที่ใช้ไม่มีความแปรปรวนมาก ดังนั้นสามารถที่จะใช้เคซีนเป็นสับสเตรทเพื่อใช้วัดแอคติวิตีของเอนไซม์ก่อนนำไปใช้กับหนังได้ แต่ต้องไม่ใช่เอนไซม์ที่ย่อยสลายคอลลาเจน เพราะเอนไซม์ที่ย่อยสลายคอลลาเจนไม่มีแอคติวิตีกับเคซีน มีผู้คิดค้นเพื่อที่จะหาสับสเตรทมาใช้ทดสอบเอนไซม์ก่อนนำไปใช้กับหนังด้วยวิธีการที่เรียกว่า Lohlein-Volard method โดยใช้สับสเตรทที่มีสีบางชนิด (chromogenic substrates) ซึ่งเป็นโปรตีนที่สกัดได้จากหนังที่ทำให้เป็นผง (denatured hide powder) ได้แก่ azo-aluminum, hide powder azure, keratin azure และ elastin red เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีผู้คิดค้นวิธีการต่าง ๆ ที่จะใช้ทดสอบเอนไซม์ มีผู้กล่าวว่า การเปิดโครงสร้างของเส้นใยคอลลาเจน เกิดจากการกำจัดเดอมาแตนซัลเฟต (dermatant sulphate) ซึ่งอยู่ในรูปของโปรตีโอไกลแคน (proteoglycan) ออกไป (60, 84) Alexander และ Walker (85) พบว่าการเปิดโครงสร้างของเส้นใย มีความสัมพันธ์กับการกำจัดสารพวกเมือก ที่เชื่อมอยู่ระหว่างเส้นใย (cementing substrates or mucopolysaccharides) Dempsey, Green และ Haines (86) กล่าวว่า การเบทติ้งและการดองหนังในขั้นตอนการเตรียมการฟอก จะส่งผลกระทบต่อโครงสร้างของเส้นใย โดยทำการวัดผลจากคุณลักษณะทางกายภาพเช่นค่าแรงดึง (tensile strength) และแรงฉีก (tear strength) มีผู้สนใจถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเส้นใย หลังการลงปูนและการใช้เอนไซม์กันอย่างมากมาย โดยศึกษาจากการใช้รังสี (Irradiation) (87) การใช้กล้องอิเลคตรอนไมโครสโครป (electron microscopy) (86,88) รวมทั้ง Kronik (89) ได้ศึกษาผลกระทบของขั้นตอนเตรียมการฟอก และการฟอกต่อความคงทนของเส้นใยคอลลาเจน โดยวิธี Differencetial Scanning Calorimetry และกล่าวว่าเส้นใยคอลลาเจนจะมีความคงทนที่พีเอชต่ำได้ไม่ดีเท่าที่พีเอชสูง จึงทำให้คอลลาเจนยังคงอยู่เมื่อผ่านการลงปูนและเบทติ้ง เส้นใยคอลลาเจนจะคงอยู่เพื่อทำปฏิกิริยากับสารฟอกต่อไป ซึ่งสารฟอกจะมีส่วนสำคัญในการทำให้หนังมีสภาพคงทนได้ มีผู้สนใจที่จะหาสารฟอกที่มีคุณภาพโดยการสังเคราะห์ขึ้นจากเกลือของแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น โครเมียม (chromium) ไททาเนียม (titanium) และเซอโครเนียม (zirconium) โดยตรวจสอบจากอุณหภูมิของการหดตัวของหนัง (shrinkage temperature) (90)

การคิดค้นและวิจัยเพื่อที่จะหาเอนไซม์ย่อยโปรตีนมาใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง รวมทั้งการปรับปรุงคุณภาพของเอนไซม์ มีกล่าวถึงกันอย่างกว้างขวาง (60,91-94) Simoncini (95) ได้ทดลองใช้โซเดียมซัลไฟด์เพื่อกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่สกัดจาก Bacillus subtilis vellens พบว่าการใช้โซเดียมซัลไฟด์บำบัดหนังก่อนการใช้เอนไซม์จะช่วยลดปริมาณการใช้เอนไซม์ลง Momodon (96) ได้ศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของโซเดียมซัลไฟด์ ที่เหมาะสมสำหรับแต่ละกรรมวิธีการบำบัดหนัง โดยแปรค่าความเข้มข้นของโซเดียมซัลไฟด์ ในขั้นตอนการลงปูน แล้วตรวจวัดอัตราการทำลายคอลลาเจนจากปริมาณของไฮดรอกซิโปรลีน (hydroxyproline determination) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ Felicjaniak (97) ได้ศึกษาผลของการใช้เอนไซม์โปรตีโอปอล บีพี (Proteopol BP) ซึ่งเตรียมได้จาก Bacillus subtilis ต่อสภาพผิวของหนังสุกร โดยการทดสอบทางไมโครสโครป Jonczyk และ Studniarski (98) ได้ศึกษาปรับปรุงกรรมวิธีการสกัดเอนไซม์จากตับอ่อนของโคและสุกร ซึ่งได้มีการผลิตออกมาเป็นการค้านานแล้ว ให้ได้ผลผลิตสูงขึ้น และลดต้นทุนการผลิต ได้ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ร่วมกับปูน โซเดียมซัลไฟด์ และแอมโมเนียมซัลเฟต Taylor และคณะ (99) ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีนร่วมกับการใช้เอนไซม์ย่อยไขมัน เพื่อช่วยกำจัดโปรตีนและไขมันออกจากหนัง Cranston, Davis และ Scroggie (100) ได้พัฒนากรรมวิธีการกำจัดขนออกจากหนังโคและหนังกระบือ โดยวิธีการที่เรียกว่าไซโลไลม (SIROLIME) ซึ่งเป็นกระบวนการที่รวมหลายขั้นตอนเข้าไว้ด้วยกัน (multi-state process) ได้แก่การลงปูนร่วมกับการใช้โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ (Sodium hydro-sulphide ; NaHS) การกำจัดขน รวมทั้งการกำจัดขนออกจากระบบบ ภายในระบบจะมีการนำเอาโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์และปูนกลับมาใช้อีก Craston และคณะกล่าวว่าวิธีการนี้จะช่วยกำจัดขนออกได้เร็วขึ้น ช่วยลดปริมาณตะกอนของแข็งที่ละลายอยู่ในน้ำ (suspended solids) ลดค่าบีโอดี และซีโอดี และทำให้ได้สภาพผิวสัมผัสของหนังที่ดีขึ้น นอกจากนี้ได้ผู้สนใจศึกษาเอนไซม์ที่พบในผลของพืชตระกูล Cacurbitaceae สายพันธุ์ Adenopus breviflorus ซึ่งมีผลคล้ายแตงโม พบมากในแถบประเทศไนจีเรีย จัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่มของซัลไฟดริลโปรตีน (sulfhydryl protein) ที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง (neutral protese) เพื่อที่จะนำมาใช้ในการกำจัดขน (101) เอนไซม์นอกจากจะมีประโยชน์และมีความจำเป็นในกระบวนการฟอกหนังแล้ว

เอนไซม์ยังมีข้อเสียคือ ไปเพิ่มค่าบีโอดีให้แก่น้ำเสีย นอกจากนี้เอนไซม์อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้ที่เกี่ยวข้องได้เช่น การเกิดโรคภูมิแพ้ในระบบหายใจ (allergic respiration) โรคผิวหนัง (dermatoses) และระบบการย่อยอาหารผิดปกติ (digestion disorders) อันเนื่องมาจากการสัมผัสกับผง หรือฝุ่นของเอนไซม์อีกด้วย (102,103)

แต่อย่างไรก็ตาม การใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง นับวันจะมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้น Alexander (60) กล่าวว่า การใช้เอนไซม์จะเพิ่มสูงขึ้นเพื่อลดปริมาณการใช้ซัลไฟด์ลง นอกจากนี้ Simoncini (92) ยังได้กล่าวถึงความสำคัญของเอนไซม์ในกระบวนการฟอกหนังในแง่ของเทคโนโลยีชีวภาพอีกด้วย

งานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาศักยภาพของการนำโบรมีเลนซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นได้เองภายในประเทศ มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตหนังฟอกสำเร็จรูป ซึ่งหากเป็นไปได้แล้วจะเป็นการลดปริมาณการนำเข้าเอนไซม์ย่อยโปรตีน นับเป็นการช่วยลดภาวะการขาดดุลการค้ากับต่างประเทศ อีกทั้งเป็นการสนับสนุนอุตสาหกรรมการผลิตหนังฟอกสำเร็จรูปโดยตรงอีกด้วย

ขั้นตอนการทำวิจัยมีดังนี้คือ

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของโบรมีเลน และเบทติ้งเอเจนท์ที่ใช้ในเชิงพาณิชย์ (commercial bating agents) เช่น pH ความเข้มข้น อุณหภูมิ และเวลาทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม

2. ศึกษาเปรียบเทียบผลกระทบของปัจจัยต่าง ๆ ที่ใช้ในกระบวนการฟอกหนังต่อการทำงานของโบรมีเลน และเบทติ้งเอเจนท์ที่ใช้ในเชิงพาณิชย์อื่น ๆ เช่น ลูทรอน-เอช (Lutron-H), โพลีซิม (Polyzim 606), โอโรพอน (Oropon N), แพครีติค (Pancreatic 606) (74,104)

3. ศึกษาการใช้โบรมีเลนในกระบวนการฟอกหนังระดับขวดเขย่า (shake flask)

4. ขยายการทดลองในระดับจำลองอุตสาหกรรม (pilot plant)