



การกำจัดพาราเซตามอลด้วยเปอร์ออกซิเดส จากก้านกะหล่ำดอก

Removal of Paracetamol by Peroxidase from Cauliflower Stem

Karnika Ratanapongleka* and Chalittaporn Saisom**

กรรณิกา รัตนพงศ์เลขา* และ ชลิตตาพร สายโสม**

*ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุบลราชธานี 34190

**สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุบลราชธานี 34190

*E-mail : k_ratanapongleka@hotmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกำจัดพาราเซตามอลด้วยเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่สกัดจากก้านกะหล่ำดอก ในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอนไซม์ ความเข้มข้นของพาราเซตามอล ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายและอุณหภูมิ ทำการทดลองในชุดทดลองแบบกะ ความเร็วรอบในการกวนที่ 200 รอบต่อนาที พบว่าประสิทธิภาพการกำจัดพาราเซตามอลสูงสุดเท่ากับร้อยละ 66.47 ที่ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 1 mg/l ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.124 U/ml และความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 1 mM ค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายเท่ากับ 7 และอุณหภูมิที่ 25 °C ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเพื่อกำจัดพาราเซตามอลปนเปื้อนในน้ำและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมและโรงพยาบาลต่อไป

คำสำคัญ : พาราเซตามอล; เปอร์ออกซิเดส; ก้านกะหล่ำดอก; การกำจัด

Abstract

This research aims to study the removal of paracetamol by peroxidase extracted from cauliflower stems. The concentration of enzyme, the concentration of paracetamol, the concentration of hydrogen peroxide, pH of the solution and temperature were tested. The experiments were carried out in batch system at stirrer speed 200 rpm. The results showed that the maximum removal efficiency of paracetamol was 66.47% at paracetamol concentration 1 mg/l, enzyme concentration 0.124 U/ml, hydrogen peroxide 1 mM, pH of the solution at 7 and 25 °C. The study indicated the feasibility of peroxidase for removal of paracetamol contaminated in water and can be applied in the industries and hospitals.

Keywords : Paracetamol; Peroxidase; Cauliflower stem; Removal

บทนำ

พาราเซตามอล (paracetamol) มีชื่อสามัญคือ อะเซตามิโนเฟน (acetaminophen) เป็นสารประกอบในกลุ่มฟินอล จัดอยู่ในกลุ่มของยาบรรเทาอาการปวด (analgesics) และช่วยลดไข้ หาซื้อได้ง่าย เป็นยาพื้นฐานที่นิยมใช้มากในโรงพยาบาลจึงเป็นเหตุให้น้ำที่ทิ้งจากโรงพยาบาลมียาพาราเซตามอลเจือปนอยู่ หากไม่มีการบำบัดก่อนทิ้งลงแหล่งน้ำสาธารณะก็จะเกิดการปนเปื้อน เมื่อมีการปนเปื้อนในปริมาณมากอาจส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ ยาพาราเซตามอลเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถละลายได้ การกำจัดต้องอาศัยแบคทีเรียในน้ำที่ใช้ออกซิเจนซึ่งละลายในน้ำ เมื่อออกซิเจนในแหล่งน้ำหมดไปจะทำให้แบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว จนทำให้เกิดน้ำเน่าและมีกลิ่นเหม็น จุลินทรีย์ที่กำจัดยาพาราเซตามอลก็จะเข้าห่วงโซ่อาหารต่อไปและไปสะสมในเนื้อปลาหรือสัตว์น้ำ เมื่อมนุษย์บริโภคสัตว์น้ำเหล่านี้จะทำให้มีโอกาสเกิดโรคหรืออาจเกิดการปนเปื้อนได้ และเมื่อนำน้ำที่ปนเปื้อนไปใช้ในการเกษตรอาจทำให้ผลผลิตเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมแล้วนำมาซึ่งโอกาสที่จะเกิดโรคร้ายต่างๆ ได้เช่นกัน

กระบวนการทางชีวภาพโดยการใช้เอนไซม์เป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นวิธีการที่มีค่าใช้จ่ายไม่สูง ไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้าง เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และจากการศึกษางานวิจัยในอดีตพบว่า เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่น่าสนใจเนื่องจากเปอร์ออกซิเดสสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นตัวรีดิวซ์อิเล็กตรอน และออกซิโดซ์สับสเตรทที่ให้อิเล็กตรอน เช่น ฟีนอล (phenol) อะโรมาติกเอมีน (aromatic amine) กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) และสารประกอบอินทรีย์ [1] จึงมีการนำเปอร์ออกซิเดสไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายทั้งในทางการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหาร เกษตรกรรม และการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม [2] ที่มีสารประกอบฟีนอลซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง จากกลไกการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ที่สามารถออกซิโดซ์สับสเตรทในกลุ่มฟีนอลและกลุ่มอะโรมาติกได้ ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีแนวคิดที่จะทดสอบความสามารถในการนำเปอร์ออกซิเดสมากำจัดพาราเซตามอล

เปอร์ออกซิเดสถูกพบได้ทั้งในสัตว์ พืช และจุลินทรีย์ [3] ในปัจจุบันเปอร์ออกซิเดสที่นิยมนำมาประยุกต์ใช้ได้จากรากของฮอร์เรดิช (horseradish root) ซึ่งต้องนำเข้าจากต่างประเทศทำให้เอนไซม์มีราคาสูง ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาหาแหล่งผลิตเปอร์ออกซิเดสจากแหล่งอื่นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป โดยทั่วไปคุณสมบัติเปอร์ออกซิเดสจะแตกต่างกันจากแหล่งผลิต ซึ่งในงานวิจัยนี้เปอร์ออกซิเดสที่ได้สกัดจากก้านกะหล่ำดอกซึ่งจัดเป็นของเหลือทิ้งทางการเกษตรถูกนำมาใช้ในรูปของเปอร์ออกซิเดสหยابสำหรับกำจัดพาราเซตามอลโดยศึกษาในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของพาราเซตามอล ความเข้มข้นของเปอร์ออกซิเดส ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้านี้ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากบริษัท Honeywell (Germany) โพแทสเซียมเพอร์ริกโซยานด์ เพอร์ริกคลอไรด์ จากบริษัท Ajax (Australia) ไฮโดรคลอริก จากบริษัท Merck (Germany) กัวโอเอคอล จากบริษัท Sinoway (China)

การเตรียมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

นำก้านกะหล่ำดอกในเขตจังหวัดอุบลราชธานี ปริมาณ 1000 กรัม มาล้างด้วยน้ำให้สะอาด จากนั้นตัดเป็นชิ้นเล็ก นำไปผ่านเครื่องสกัดน้ำผลไม้แบบแยกกาก และกรองด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนที่เป็นของเหลวไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ส่วนใสที่ได้คือเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสหยاب มีค่ากิจกรรมการทำงานเท่ากับ 0.124 U/ml นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

การกำจัดพาราเซตามอลด้วยเปอร์ออกซิเดสในชุดทดลองแบบกะ

การศึกษากำจัดพาราเซตามอลด้วยเปอร์ออกซิเดสในชุดทดลองแบบกะ นั้นตัวอย่างที่ใช้เป็นน้ำเสียสังเคราะห์เตรียมจากการนำพาราเซตามอลบริสุทธิ์

ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 1-10 mg/l และทำการศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงเข้มข้นของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่ 0.012-0.124 U/ml การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.25-2.0 mM ค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายที่ 4-8 และอุณหภูมิในช่วง 25-65 °C การทดลองทำในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 ml โดยเติมสารละลายพาราเซตามอล 280 ml และเอนไซม์ 20 ml ความเร็วรอบในการกวนที่ 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างสารละลายมาวิเคราะห์หาค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์และความเข้มข้นของพาราเซตามอล ทำการเก็บตัวอย่างทุก 30 นาที เป็นเวลา 240 นาที โดยทุกชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ ผลการทดลองนำเสนอในรูปค่าเฉลี่ย

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณพาราเซตามอลและกิจกรรมการทำงานของเปอร์ออกซิเดส

การวิเคราะห์ปริมาณพาราเซตามอลด้วยเทคนิคการเทียบสี (Colorimetric method) โดยนำสารตัวอย่างมาเติม 0.002 M โปแตสเซียมเฟอร์ริกไซยาไนด์ และ 0.1 M เฟอร์ริกคลอไรด์ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นเติม 5 M ไฮโดรคลอริก เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 715 nm เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟมาตรฐานที่เตรียมโดยใช้สารละลายพาราเซตามอลเป็นสารละลายมาตรฐานตามวิธีของ Nagendra (2011) [4]

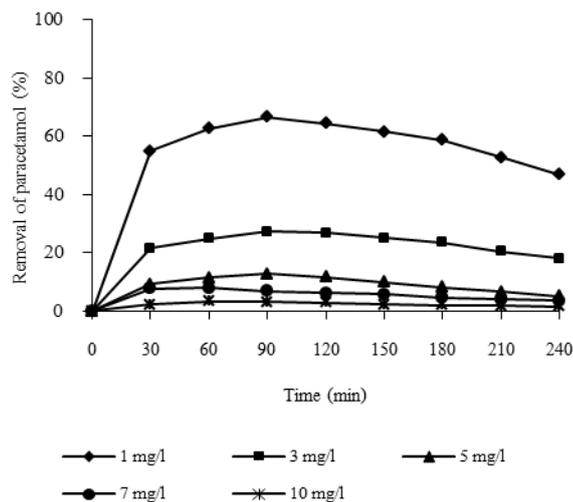
สำหรับการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมการทำงานของเปอร์ออกซิเดสจะใช้กัวโอเอคอลเป็นสารตั้งต้น ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) วัดค่าดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 470 nm

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่มีต่อการกำจัดพาราเซตามอล

การศึกษาความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ โดยความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่ใช้คือ 1, 3, 5, 7 และ 10 mg/l ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7 โดยสภาวะศึกษาควบคุมเอนไซม์ที่ 0.124 U/ml ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1 mM และอุณหภูมิในการทดลองที่ 25 °C

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นพาราเซตามอลส่งผลกระทบต่อร้อยละการกำจัดพาราเซตามอลในชุดทดลองแบบกะ โดยการเพิ่มความเข้มข้นของพาราเซตามอลในระบบทำให้ค่าการกำจัดมีแนวโน้มลดลง ดังแสดงในรูปที่ 1 พบว่าพาราเซตามอล 1 mg/l ให้ค่าการกำจัดที่ดีที่สุด โดยในช่วง 90 นาทีแรก ค่าการกำจัดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องให้ค่าร้อยละการกำจัดสูงสุดที่ 66.47 ส่วนความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่ 3 และ 5 mg/l มีทิศทางเปลี่ยนแปลงค่าการกำจัดที่คล้ายกับการใช้พาราเซตามอลที่ 1 mg/l



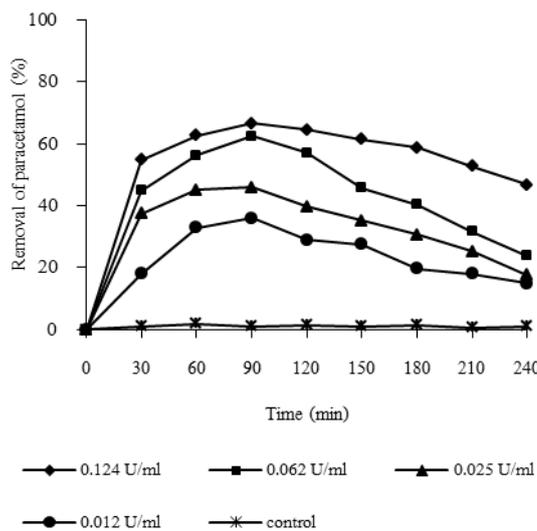
รูปที่ 1 ร้อยละการกำจัดพาราเซตามอลเทียบกับเวลา เมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของพาราเซตามอล

คือค่าการกำจัดจะเพิ่มขึ้นสูงสุดที่นาที่ที่ 90 ให้ร้อยละการกำจัดเท่ากับ 27.26 และ 12.59 ตามลำดับ หลังจากนั้นค่าการกำจัดจะมีแนวโน้มลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น และเมื่อใช้พาราเซตามอลความเข้มข้นที่ 7 และ 10 mg/l พบว่าร้อยละการกำจัดสูงสุดเกิดขึ้นที่นาที่ที่ 60 โดยให้ร้อยละการกำจัดที่ 7.91 และ 3.21 ตามลำดับ หลังจากนั้นเวลาที่กล่าวค่าการกำจัดที่มีแนวโน้มลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ผลการศึกษาข้างต้นสามารถอธิบายได้ว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของพาราเซตามอลสูงขึ้นในช่วงระยะเวลาการทำปฏิกิริยาเดียวกัน ส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัดลดลงเนื่องจากพาราเซตามอลซึ่งเป็นสารตั้งต้นมีปริมาณมากขึ้น การจับกันระหว่างสารตั้งต้นและเอนไซม์มีอยู่อย่างจำกัดเนื่องจากปริมาณที่จำกัดของเอนไซม์ หรืออาจเกิดจากการเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้นส่งผลให้สารผลิตภัณฑ์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นอาจจะเข้าไปเกาะกับเอนไซม์และขัดขวางการจับกันระหว่างสารตั้งต้นกับเอนไซม์ จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัดมีค่าลดลงตามไปด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าหลังจากทำปฏิกิริยาที่ 90 นาที ร้อยละการกำจัดมีแนวโน้มลดลงทุกความเข้มข้นของพาราเซตามอลซึ่งอาจเกิดจากผลของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลายไปรบกวนวิธีการวิเคราะห์ปริมาณพาราเซตามอล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Singh และคณะ [5] ศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดฟีนอลด้วยการใช้รากขนของผักกาดปลี (*Brassica juncea*) โดยศึกษาความเข้มข้นของฟีนอลที่ 50, 100, 200, 500 และ 1,000 mg/l พบว่าใบรากขนผักกาดปลี สามารถกำจัดฟีนอลที่ 50 และ

100 mg/l ได้หมดที่ร้อยละ 100 ในระยะเวลา 3 วัน แต่เมื่อความเข้มข้นของฟีนอลเพิ่มขึ้นที่ 200 และ 500 mg/l ทำให้การกำจัดมีประสิทธิภาพลดลง คือกำจัดได้ร้อยละ 97 และ 47 ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 1000 mg/l กำจัดได้เพียงร้อยละ 27 ดังนั้นผลการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่ารากขนของผักกาดปลีสามารถกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ที่มีต่อการกำจัดพาราเซตามอล

การศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่มีต่อการกำจัดพาราเซตามอล โดยใช้เอนไซม์ที่ 0.012, 0.025, 0.062 และ 0.124 U/ml ในสถานะศึกษาควบคุมความเข้มข้นพาราเซตามอลที่ 1 mg/l ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7 ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1 mM และอุณหภูมิในการทดลองที่ 25 °C ผลการศึกษา (รูปที่ 2) อธิบายได้ว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอนไซม์ส่งผลต่อร้อยละการกำจัดพาราเซตามอล โดยเจือจางความเข้มข้นของเอนไซม์ในระบบทำให้ค่าการกำจัดมีแนวโน้มลดลง จะเห็นได้ว่าการใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.124 U/ml มีประสิทธิภาพการกำจัดที่ดีที่สุดที่สุ่ร้อยละ 66.47 และที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ 0.062, 0.025 และ 0.012 U/ml มีลักษณะการกำจัดที่คล้ายกัน คือในช่วง 90 นาทีแรก จะมีประสิทธิภาพการกำจัดที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยให้ค่าการกำจัดร้อยละ 62.28, 45.80 และ 35.94 ตามลำดับ หลังจากนั้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นทำให้ค่าการกำจัดลดลง



รูปที่ 2 ร้อยละการกำจัดพาราเซตามอลเทียบกับเวลา เมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นเปอร์ออกซิเดส

อาจกล่าวได้ว่า เกิดจากเอนไซม์เสื่อมสภาพหรือเอนไซม์มีปริมาณไม่เพียงพอต่อความเข้มข้นของสารตั้งต้น (พาราเซตามอล) หากมีการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ให้มีปริมาณที่เหมาะสมต่อการกำจัดประสิทธิภาพการกำจัดจะเริ่มคงที่ เนื่องจากความเข้มข้นของเอนไซม์มีมากเกินไปที่จะทำปฏิกิริยากับพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 1 mg/l ยังสามารถศึกษาผลงานวิจัยของ Deva และคณะ [6] ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ ศึกษาการใช้เอนไซม์เปอร็อกซิเดสจากกะหล่ำดอก (*Brassica oleracea*) ในการบำบัดพินอลในน้ำเสีย พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้ในการทดสอบคือ 0.6, 1.25, 3.75 และ 5 U/ml และความเข้มข้นของพินอลที่ 1, 5 และ 10 mM โดยผลของความเข้มข้นเอนไซม์ที่ 5 U/ml มีประสิทธิภาพในการกำจัดพินอลที่ความเข้มข้นเริ่มต้นคือ 1 mM ได้ร้อยละ 93 และเมื่อความเข้มข้นของพินอลเพิ่มขึ้นที่ 5 และ 10 mM ทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดลดลงสามารถกำจัดได้ร้อยละ 81.1 และ 73.6 ตามลำดับ

ผลของความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีต่อการกำจัดพาราเซตามอล

การศึกษาความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ คือ 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 mM ในสถานะศึกษาควบคุมความเข้มข้นพาราเซตามอล 1 mg/l ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7 ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.124 U/ml ที่อุณหภูมิ 25 °C

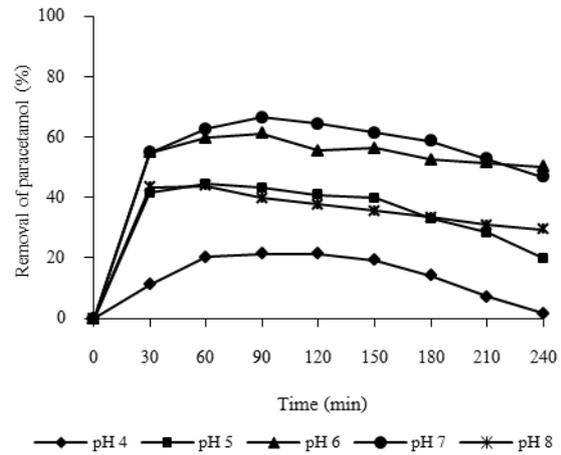
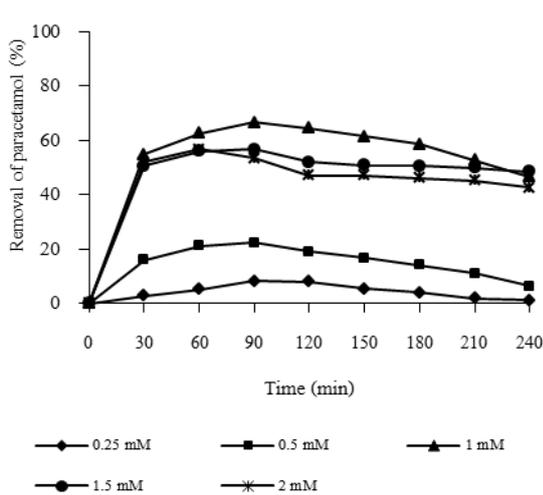
การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีผลต่อการกำจัดพาราเซตามอลในระบบ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับปฏิกิริยาที่ไม่มีการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ไม่ได้แสดงผล) พบว่าไม่สามารถกำจัดพาราเซตามอลได้ และจากผลการศึกษาในรูปที่ 3 แสดงให้เห็นว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 1 mM ให้ค่าการกำจัดพาราเซตามอลสูงสุดที่ร้อยละ 66.47 ที่เวลา 90 นาที เนื่องจากความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีความเหมาะสมต่อการกำจัดพาราเซตามอล แต่เมื่อความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่น้อยกว่าหรือสูงกว่า 1 mM จะมีแนวโน้มทำให้การกำจัดมีประสิทธิภาพที่ต่ำกว่า ซึ่งความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 0.25, 0.5 และ 1.5 mM มีทิศทางการกำจัดคล้าย 1 mM โดยมีค่าการกำจัดที่เวลา 90 นาที ที่ร้อยละ 8.41, 22.32 และ 56.63

ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 2 mM มีประสิทธิภาพการกำจัดได้ดีที่ร้อยละ 56.73 ที่เวลา 60 นาที อาจกล่าวได้ว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้เกิด OH[•] ขึ้น โดย OH[•] ที่เกิดขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับพาราเซตามอล โดยมีเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้ความเข้มข้นของพาราเซตามอลลดลง ซึ่งเอนไซม์นี้จะเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนและออกซิโดสลับสเตรทที่ให้อิเล็กตรอน แต่ถ้าความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากเกินไปจะทำให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำปฏิกิริยากับ OH[•] เกิดเป็นน้ำและสารผลิตภัณฑ์อื่น (HO₂[•]) ซึ่งทำให้ความเข้มข้นของ OH[•] ลดลง แล้วไปทำปฏิกิริยากับพาราเซตามอลได้น้อยลง จึงทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดพาราเซตามอลลดลง ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานของ Bódalo และคณะ [7] ซึ่งศึกษาการกำจัด 4-คลอโรพินอลด้วยเปอร์ออกซิเดสจากถั่วเหลืองและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง พบว่ามีการศึกษาการใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 6 ค่า คือ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 mM ซึ่งความเข้มข้น 1.0 mM มีร้อยละการกำจัดที่ดีกว่า กล่าวคือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ต่ำกว่าหรือสูงกว่า 1 mM จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

ผลของการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายที่มีต่อการกำจัดพาราเซตามอล

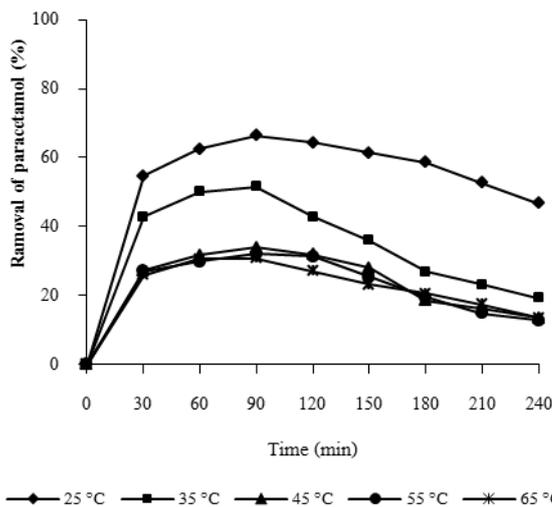
การศึกษาค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายที่ 4, 5, 6, 7 และ 8 ที่มีต่อการกำจัดพาราเซตามอล ในสถานะศึกษาควบคุมความเข้มข้นพาราเซตามอล 1 mg/l ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.124 U/ml ความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1 mM และอุณหภูมิในการทดลองที่ 25 °C

ผลการศึกษา (รูปที่ 4) พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 7 มีประสิทธิภาพการกำจัดที่ดีที่สุดร้อยละ 66.47 ซึ่งจะกำจัดได้ดีในช่วง 90 นาทีแรก หลังจากนั้นประสิทธิภาพการกำจัดมีการลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6 และ 4 มีแนวโน้มการกำจัดคล้ายกัน ซึ่งจะสามารถกำจัดได้ดีที่สุดร้อยละ 61.06 และ 21.32 ตามลำดับ ที่เวลา 90 นาทีแรก หลังจากนั้นแนวโน้มการกำจัดลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเช่นกัน และที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 8 และ 5 มีทิศทางการกำจัดที่ดีที่สุดที่เวลา 60 นาทีแรก กำจัดได้ร้อยละ 43.71 และ 44.32



รูปที่ 3 ร้อยละการกำจัดพาราเซตามอลเทียบกับเวลา เมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

รูปที่ 4 ร้อยละการกำจัดพาราเซตามอลเทียบกับเวลา เมื่อเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง



รูปที่ 5 ร้อยละการกำจัดพาราเซตามอลเทียบกับเวลา เมื่อเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ

ตามลำดับ หลังจากนั้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพการกำจัดจะลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง มีผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดพาราเซตามอล เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีน เมื่อเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ส่งผลต่อประจุในโมเลกุลของโปรตีน หรือทำให้โครงสร้างโมเลกุลของโปรตีนถูกทำลาย ส่งผลโดยตรงต่อบริเวณเร่ง (Active site) และอาจทำให้การจับกันระหว่างเอนไซม์กับสารตั้งต้นที่บริเวณเร่ง ไม่สามารถจับกันได้หรือจับกันได้

ยาก เนื่องจากรูปร่างของเอนไซม์เปลี่ยนรูปหรือเอนไซม์เกิดการเสียสภาพ นอกจากนี้ยังส่งผลต่อประจุของสารตั้งต้นที่เข้าทำปฏิกิริยาด้วย

ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการกำจัดพาราเซตามอล

การกำจัดพาราเซตามอลที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ศึกษาที่อุณหภูมิ 25, 35, 45, 55 และ 65 °C ในสภาวะศึกษาควบคุม

พาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 1 mg/l ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7 เปอร์ออกซิเดสที่ความเข้มข้น 0.124 U/ml ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1 mM

จากรูปที่ 5 อธิบายได้ว่าเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่สูงขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดลดลง ซึ่งจะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิ 25 °C มีประสิทธิภาพการกำจัดที่ดีที่สุดที่ร้อยละ 66.47 ในช่วง 90 นาทีแรก หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นที่ 35, 45, 55 และ 65 °C ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดลดลงและมีลักษณะการกำจัดคล้ายกับที่อุณหภูมิ 25 °C เนื่องจากเอนไซม์ได้ถูกทำลายจากความร้อนทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพไปเป็นเหตุให้โครงสร้างของเอนไซม์เปลี่ยนไปจนสารเริ่มต้นเข้าไปรวมกับบริเวณเร่ง (Active site) ไม่ได้ ทำให้การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์หมดไป สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bayramoglu และ Arica [8] ศึกษาเอนไซม์สำหรับกำจัดฟีนอลและพี-คลอโรฟีนอลในถังปฏิกรณ์ สำหรับอุณหภูมิระหว่าง 25-35 °C พบว่า มีการเกิดปฏิกิริยาได้ดีหรือมีประสิทธิภาพการกำจัดที่ดี แต่สำหรับอุณหภูมิที่ 45-55 °C มีอัตราการกำจัดฟีนอลได้ช้าหรือกำจัดได้ไม่ดี เนื่องจากเอนไซม์สูญเสียสภาพการทำงานที่ความร้อนสูง

สรุป

การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดพาราเซตามอลด้วยเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส พบว่าเปอร์ออกซิเดสมีประสิทธิภาพในการกำจัดพาราเซตามอล โดยสามารถกำจัดได้สูงสุดที่ความเข้มข้นฟีนอล 1 mg/l เมื่อใช้เอนไซม์ 0.124 U/ml ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1 mM ค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายเท่ากับ 7 และอุณหภูมิที่ 25 °C โดยให้ค่าการกำจัดสูงสุดที่ร้อยละ 66.47 ที่เวลา 90 นาที และเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Ba และคณะ [9] ซึ่งใช้เอนไซม์ตรึงบริสุทธิ์ผสมระหว่างแลคเคส 12.3 U/g และไทโรซิเนส 167.4 U/g ในการกำจัดพาราเซตามอลความเข้มข้นในช่วง 0.09-0.18 mg/l อุณหภูมิที่ 20 °C สามารถกำจัดได้ร้อยละ 100 ที่เวลา 8 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าการใช้เปอร์ออกซิเดสเป็นอีกทางเลือกที่สามารถนำมาใช้ในการกำจัดพาราเซตามอลได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหลักสูตรบัณฑิตศึกษา สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี เครื่องมือ สถานที่วิจัย ตลอดจนสนับสนุนการนำเสนอผลงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- [1] Huang, J., Chang, Q., Ding, Y., Han, X. and Tang, H. 2014. Catalytic oxidative removal of 2,4-dichlorophenol by simultaneous use of horseradish peroxidase and graphene oxide/Fe₃O₄ as catalyst. Chem. Eng. J. 254: 434-442.
- [2] Hamid, M. and Khalil ur, R. 2009. Potential applications of peroxidases. Food Chem. 115: 1177-1186.
- [3] Alemzadeh, I. and Nejati, S. 2009. Phenols removal by immobilized horseradish peroxidase. J. Hazard. Mater. 166: 1082-1086.
- [4] Nagenda, P. 2011. Spectrophotometric Estimation of Paracetamol in Bulk and Pharmaceutical Formulations. E-Journal of Chemistry. 8: 149-152.
- [5] Singh, S., Melo, J.S., Eapen, S. and D'Souza, S.F. 2006. Phenol removal using *Brassica juncea* hairy roots: Role of inherent peroxidase and H₂O₂. J. Biotechnol. 123: 43-49.
- [6] Deva, A.N., Arun, C., Arthanareeswaran, G. and Sivashanmugam, P. 2014. Extraction of peroxidase from waste *Brassica oleracea* used for the treatment of aqueous phenol in synthetic waste water. J. Envi Chem. Eng. 2: 1148-1154.

- [7] Bódalo, A., Gómez, J.L., Gómez, E., Hidalgo, A.M., Gómez, M. and Yelo, A.M. 2006. Removal of 4-chlorophenol by soybean peroxidase and hydrogen peroxide in a discontinuous tank reactor. *Desalination*. 195: 51-59.
- [8] Bayramoğlu, G. and Arica, M.Y. 2008. Enzymatic removal of phenol and p-chlorophenol in enzyme reactor: Horseradish peroxidase immobilized on magnetic beads. *J. Hazard. Mater.* 156: 148-155.
- [9] Ba, S., Haroune, L., Cruz-Morató, C., Jacquet, C., Touahar, I.E., Bellenger, J.-P., Legault, C.Y., Jones, J.P. and Cabana, H. 2014. Synthesis and characterization of combined cross-linked laccase and tyrosinase aggregates transforming acetaminophen as a model phenolic compound in wastewaters. *Sci. Total Environ.* 487: 748-755.