มหาวิทยาลัยฟาฏอนี ร่วมกับ เครือข่ายความร่วมมือ
มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ และมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

# Proceedings

## การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 6

## เรื่อง

## สร้างสรรค์งานวิจัยเพื่อขับเคลื่อนประเทศ
## สู่ความมั่นคง มั่งคั่ง และยั่งยืนในยุค
## Thailand 4.0

(การนำเสนอแบบโปสเตอร์)

18 ตุลาคม 2017
ณ อาคารเรียนรวมเฉลิมพระเกียรติ
มหาวิทยาลัยฟาฏอนี

# กำจัดสีเมทิลีนบลูโดยการใช้เอนไซม์จากเปลือกกล้วยหิน

**นิสาพร มูหะมัด[1] ปิยศิริ สุนทรนนท์[2] อุบล ตันสม[3] สมภพ เภาทอง[4] สตารียัะ มะลี[5]**

[1]ดร. (ชีวเคมี), อาจารย์สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
[2]วท.ม. (ชีวเคมี), อาจารย์สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
[3]วท.ม. (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ-ชีวเคมี), อาจารย์สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
[4]วท.ม. (เคมีศึกษา), ผู้ช่วยศาสตราจารย์, คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
[5]วท.ม. (เคมีศึกษา) อาจารย์สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

## บทคัดย่อ

กล้วยหินเป็นพืชท้องถิ่นที่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายใน 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ เนื่องจากสามารถนำไปทำผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้หลายชนิด ส่งผลให้มีเปลือกกล้วยซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้เป็นจำนวนมาก ในเปลือกกล้วยหินมีสารต่างๆ ที่มีประโยชน์มากมาย งานวิจัยชิ้นนี้ได้ทำการศึกษาสารต่างๆ คือ ปริมาณโปรตีน เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ที่มีอยู่ในส่วนของเปลือกนอกและเยื่อในของเปลือกกล้วยหิน โดยวิธีสกัดที่ดีที่สุดที่ให้ปริมาณของสารต่างๆ ได้ดีที่สุดคือ สารสกัด (extraction buffer) 0.2 โมลาร์ phosphate buffer ที่มี pH 6.5 ที่มี 3 % PVPP และ 0.25 % TritonX-100 ในอัตราส่วน 1:1 นอกจากนี้ เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส บริเวณเยื่อในและเปลือกนอกของเปลือกกล้วยหินยังสามารถกำจัดสี Metylene blue ได้ประมาณร้อยละ 92 ภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมง

**คำสำคัญ:** เปลือกกล้วย โปรตีน เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

# Removal of Methylene blue by Using Enzymatic from Banana Peel

**Nisaporn Muhamad[1] Piyasiri soontornnon[2] Ubol Tansom[3] Somphop Paothong[4] Stareeyah Malee[5]**

[1]Dr. (Biochemistry), Lecturer of Chemistry, Faculty of Science and Agricultural Technology, Yala Rajabhat University.
[2]M.Sc. (Biochemistry), Lecturer of Chemistry, Faculty of Science and Agricultural Technology, Yala Rajabhat University.
[3]M.Sc. (Biological Science-Biochemistry), Lecturer of Chemistry, Faculty of Science and Agricultural Technology, Yala Rajabhat University.
[4]M.Sc. (Chemical Study), Asst. prof., Faculty of Science and Agricultural Technology, Yala Rajabhat University.
[5]M.Sc. (Chemical Study), Lecturer of Chemistry, Faculty of Science and Agricultural Technology, Yala Rajabhat University.

## Abstract

Banana is a popular plant, grown widely in local community of the three southern border provinces. The peels of banana can be applied to various types, which is a lot of banana peel found as waste. The components in the banana peel are known to be useful. In this study, the optimum extraction buffer are 0.2M phosphate buffer pH 6.5 with 3 % PVPP and 0.25 % TritonX-100 in the ratio of 1:1 for highest protein, polyphenoloxidase and peroxidase activity in peel and pulp. Moreover, enzyme polyphenoloxidase and enzyme peroxidase in banana peel and pulp could decolorize methylene blue about 92 % in 12 hours.

**Keyword:** Banana peel, Protein, Polyphenoloxidase, Peroxidase.

## บทนำ

ปัญหาน้ำเสียในปัจจุบันถือได้ว่าเป็นปัญหาใหญ่ที่กำลังหาทางแก้ไขปัญหาอยู่ ซึ่งปัญหาน้ำเสียส่วนใหญ่นั้นได้รับผลกระทบจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ ที่ระบายน้ำเสียลงสู่แม่น้ำลำคลองทำให้เกิดสิ่งสกปรกขึ้น โดยเฉพาะสีย้อมที่เกิดจากอุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมฟอกสี อุตสาหกรรมพลาสติกและอื่นๆ ถ้าหากไม่มีการบำบัดน้ำเสียที่มีประสิทธิภาพ น้ำเสียที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ เหล่านี้จะมีสีย้อมปนเปื้อนอยู่ ส่วนใหญ่จะเป็นสีย้อมสังเคราะห์มากกว่าสีย้อมธรรมชาติ เนื่องจาก สีสังเคราะห์นั้นละลายน้ำได้ดีและสามารถดูดซับกับเส้นใยได้ดีกว่าสีธรรมชาติรวมทั้งหาซื้อได้ง่ายและมีราคาถูก ส่งผลให้สีสังเคราะห์ได้รับความนิยมนำมาใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ (Zoolinger, 1987) ในระหว่างการผลิต สีย้อมเหล่านี้สามารถปนเปื้อนลงสู่น้ำเสียของโรงงานได้ตั้งแต่ร้อยละ 2–50 อันนำไปสู่การปนเปื้อนของสีย้อมสู่น้ำผิวดินและน้ำใต้ดินบริเวณรอบๆ โรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งสีย้อมนี้เป็นสีที่มีความคงทนต่อจุลินทรีย์ จึงทำให้ไม่สามารถที่จะบำบัดน้ำเสียโดยวิธีการทั่วไปได้ (O'Neill et al., 1999) นอกจากนี้สีที่ปนเปื้อนลงไปในแหล่งน้ำยังมีผลต่อการบดบังการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำ อันจะมีผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหารของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศโดยตรง (ประรัชกรณ์, 2545)

โดยทั่วไป สีย้อมเป็นสารที่จัดได้ว่ามีความเป็นพิษต่ำ โดยไม่พบว่ามีอัตราการตายหรือเจ็บป่วยของผู้ที่ทำงานในโรงงานฟอกย้อมสูงกว่าบุคคลอาชีพอื่นแต่อย่างใด สีย้อมอาจเข้าสู่ร่างกายของผู้ใช้ได้ 3 ทาง คือ ทางจมูกโดยการสูดดม ทางผิวหนังโดยการสัมผัส และทางระบบทางเดินอาหาร โดยปนเข้าไปกับอาหารการกิน แต่เป็นที่ทราบกันดีว่า สารวัตถุดิบที่ใช้ในการสังเคราะห์สีย้อมมีจำนวนไม่น้อยที่มีความเป็นพิษสูงมากและมีหลายตัวเป็นสารก่อมะเร็ง เช่น 2-naphthylamine และ benzidine ผลกระทบของสีย้อมต่อสิ่งแวดล้อมหรือสมบัติด้านมลพิษของสีย้อมนั้น พบว่า สีย้อมเป็นสารที่ยากต่อการสลายตัวทางชีวภาพ แต่ความเป็นพิษต่อปลาค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตาม ปัญหาสำคัญของสีย้อมในน้ำทิ้งในปัจจุบันมิได้อยู่ที่ความเป็นพิษของสีย้อม แต่อยู่ที่สีของน้ำทิ้ง เนื่องจาก สีย้อมเป็นสารที่มีสีเข้ม ดังนั้น แม้มีสีอยู่ในน้ำเพียงปริมาณเล็กน้อย ก็สามารถทำให้น้ำมีสีเป็นที่รังเกียจของผู้พบเห็นได้ จึงต้องมีการกำจัดสีของน้ำทิ้งก่อนปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อม (กัณฑรีย์, 2547)

เนื่องจากใน 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้มีการทำผลิตภัณฑ์จากกล้วยหินเป็นจำนวนมาก ไม่ว่าจะเป็น กล้วยต้ม กล้วยทอด กล้วยฉาบ และกล้วยเชื่อม เป็นต้น ส่งผลให้มีเปลือกกล้วยซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้เป็นจำนวนมาก นอกเหนือจากการนำไปใช้สำหรับเลี้ยงสัตว์แล้ว ยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ต่างๆ ได้ เพราะในเปลือกกล้วยมีแทนนินเป็นส่วนประกอบ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมฟอกหนัง ทำหมึกพิมพ์ สีย้อมผ้า หรือยา เป็นต้น จากการวิจัยที่ผ่านมาของ Wuyts et al. (2006) พบว่า ในเปลือกกล้วยมีสารโพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) และ เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) เป็นจำนวนมากซึ่งสารนี้มีคุณสมบัติในการทำให้เกิดสีน้ำตาลซึ่งนิยมนำไปเพิ่มสีสำหรับชาและยังเป็นสารในกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้นกันของพืชภายหลังการได้รับเชื้อได้อีกด้วย (Muhamad et al., 2012) และ จากการวิจัยของ Chanwun et al. (2013) ซึ่งทำการศึกษา เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจากยางพาราและทำการทดสอบความสามารถในการกำจัดสีในกลุ่มอะโซได้ดี และยังมีคุณสมบัติสามารถย่อยสลายสีย้อมในกลุ่มอื่นๆ หรือแม้กระทั่งโลหะหนักที่มีอยู่ตามแหล่งน้ำได้อีกด้วย จากการใช้เอนไซม์จากสารสกัดจากธรรมชาติถือได้ว่าเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถนำมาใช้ในการกำจัดสีย้อมบางประเภทได้ เพราะเอนไซม์เป็นโปรตีนที่สามารถทำปฏิกิริยากับสีย้อมแล้วทำให้โครงสร้างเปลี่ยนไป จึงทำให้สีย้อมนั้นจางลง เอนไซม์ที่สนใจนี้จะสกัดจากเปลือกกล้วยหิน เนื่องจากกล้วยหินนั้นเป็นผลิตผลทางการเกษตรที่มี

อยู่มากและสามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่นของสามจังหวัดชายแดนภาคใต้ นอกจากจะเป็นการประยุกต์ผลผลิตทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์แล้ว ยังเป็นการลดการใช้สารเคมีในการกำจัดสีย้อมอีกด้วย ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาสารสกัดที่มีอยู่ในเปลือกกล้วยหินที่เหลือใช้เหล่านี้เพื่อเป็นการนำไปใช้ประโยชน์ต่างๆ และพัฒนาให้มีประสิทธิภาพในการฟื้นฟูแหล่งน้ำใกล้บริเวณโรงงานสิ่งทอต่อไป

## วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบต่างๆ ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินต่อการกำจัดสีของสีย้อมต่างๆ

## เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### สีย้อม

คือ สารเคมีที่สกัดจากน้ำมันปิโตรเลียม หรือถ่านหินเมื่อน้ำมันปิโตรเลียม หรือถ่านหินผ่านการสกัดจะได้สารไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัว เช่น เบนซิน ไซลีน แอนทราซีน โทลูอีน แนพทาลีน และพาราฟิน ซึ่งสารไฮโดรคาร์บอนเหล่านี้ จะถูกเปลี่ยนเป็นสีย้อมด้วยเทคนิคต่างๆ ซึ่งสีย้อมที่ผลิตขึ้นมามีหลายชนิดขึ้นอยู่กับความเหมาะสมกับเส้นใย และกระบวนการย้อมที่มีลักษณะแตกต่างกันไป การที่จะนำสีย้อมใดๆ มาย้อมให้ได้ผลดีนั้น ขึ้นอยู่กับอำนาจการรวมตัวของสีกับเส้นใย ซึ่งต้องมีอำนาจมากกว่าน้ำ จะสามารถทำให้เกิดสภาวะเช่นนี้ขึ้นได้เมื่อโมเลกุลของสีย้อม มีหมู่อะตอมซึ่งถูกจัดให้เรียงตัวกัน ในลักษณะที่จะทำให้เกิดการดูดติดเส้นใยได้เอง (substantivity) แล้วเกิดพันธะ (bond) ยึดกันแน่น สำหรับแรงยึดติดทางเคมีที่จะให้การยึดติดที่ดีที่สุด ได้แก่ พันธะโควาเลนท์ การเกิดสีของสีย้อม

สีซึ่งปรากฏออกมาทำให้ตามนุษย์ปกติมองเห็นได้เกิดจาก การเรียงตัวของกลุ่มอะตอม ประเภทหนึ่งภายในโมเลกุลของสีย้อม กลุ่มอะตอมที่กล่าวนี้เรียกกันว่า “โครโมฟอร์” ซึ่งมีอยู่ด้วยกัน 7 กลุ่ม คือ กลุ่มไนโตรโซ (Nitroso Group) กลุ่มไนโตร (Nitro Group) กลุ่มอะโซ (Azo Group) กลุ่มเอ็ททิลลีน (Ethylene Group) กลุ่มคาร์บอนิล (Carbonyl Group) กลุ่มคาร์บอนิล-ไนโตรเจน (Carbonyl-Nitrogen Group) และกลุ่มซัลเฟอร์ (Sulphur Group) **กลุ่ม**อะตอมต่างๆ เหล่านี้จะเป็นตัวเพิ่มสีให้แก่สารประกอบอะโรมาติก โดยการดูดกลืนแสงสีขาวไว้บางแถบแสงและปล่อยออกมาบางแถบแสง ทำให้มนุษย์มองเห็นสีย้อมมีโทนสีแตกต่างกันไป

สำหรับสีของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมมีทั้งสีแท้และสีปรากฏ โดยสีแท้มักเป็นน้ำเสียจากอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์มและอบไม้ยางพารา ส่วนสีปรากฏเกิดจากสารแขวนลอยในน้ำจาก 2 กรณี คือ สีของน้ำเสียเองเนื่องจากการปนเปื้อนมาแต่แรกในน้ำเสีย เช่น สีของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมทอผ้าฟอกย้อมเยื่อกระดาษ ซึ่งสีที่เกิดขึ้นเป็นสีปรากฏจากสารเคมี ในกระบวนการผลิต รวมทั้งลิกนินและแทนนิน (มงคล ดำรงศรี และต่อพงศ์ กรีธาชาติ, 2546; วราภรณ์ อภิวัฒนาภิวัต และคณะ, 2550) โดยอาจแบ่งประเภทตามการแตกตัวให้ประจุ เส้นใยที่ใช้ย้อม หมู่ช่วยละลาย รวมทั้งโครงสร้างทางเคมีของสี นอกจากนี้สีที่เกิดขึ้นในน้ำเสียหลังจากการเก็บกัก หรือหลังจากผ่านการบำบัด เช่น ในระบบบำบัดแบบบ่อผึ่ง (Oxidation pond) ที่อาศัยสาหร่ายให้ออกซิเจน แต่สาหร่ายทำให้น้ำมีสีเขียว เป็นต้น (สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์, 2549)

**เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase: PPO)**

จัดเป็นเอนไซม์ที่สำคัญของปฏิกิริยาสีน้ำตาล เนื่องจากเอนไซม์มีทองแดงเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสมักมีชื่อตามสับสเตรท เช่น tyrosinase, diphenoloxidase, catecholase, phenolase (Martinez and Whitaker, 1995) โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์มี 2 ปฏิกิริยา คือ ปฏิกิริยา hydroxylation ซึ่งเปลี่ยนสารประกอบ monophenols ไปเป็น *o*-diphenols (monophenolase และ cresolase activity) และปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเปลี่ยนสารประกอบ *o*-diphenols ไปเป็น *o*-quinones (diphenolase และ catecholase activity) ซึ่ง *o*-quinones เป็นสารประกอบที่สามารถเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ต่อไปเป็น melanins ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเข้มขึ้น

**เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase: POD)**

เป็นเอนไซม์ที่มี heme เป็นองค์ประกอบโดยทั่วไปจะเกิดปฏิกิริยาเมื่อผ่านกระบวน การที่ทำลายเนื้อเยื่อ เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจะทำงานเมื่อสารประกอบฟีนอลอยู่ในรูป single-electron oxidation และมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Cantos *et al*., 2002 ) โดยเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสมีบทบาทในผักและผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวด้านการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพทางด้านกลิ่น รส สี เนื้อสัมผัส และคุณค่าทางโภชนาการในระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษา จากการศึกษาของ Bolanos and Silva (2004) พบว่า เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจะมีความว่องไวสูงขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มของสีที่เพิ่มขึ้นในมันแกวในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

## งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พรสวรรค์ อัศวแสงรัตน์ และวีระวัฒน์ คลอวุฒิมันตร์ (2553) ได้เขียนบทความการดูดซับสีย้อมด้วยตัวดูดซับจากธรรมชาติในบทความฉบับนี้มีจุดประสงค์เพื่อสรุปข้อมูลเกี่ยวกับการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนในสีย้อมด้วยการดูดซับโดยใช้ตัวดูดซับจากธรรมชาติ ซึ่งตัวดูดซับที่ใช้ คือ ตัวดูดซับที่ได้จากธรรมชาติโดยตรง ตัวดูดซับที่เป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และตัวดูดซับที่สังเคราะห์ได้จากวัสดุธรรมชาติ โดยจะกล่าวถึงเรื่องปัจจัยและตัวแปรที่มีผลกระทบต่อการดูดซับแบบกะและแนวโน้มการนำไปประยุกต์ใช้กับโรงงานอุตสาหกรรม

วนิดา ชูอักษร (2555) ได้เขียนบทความเกี่ยวกับเทคโนโลยีการกำจัดสีในน้ำเสียอุตสาหกรรม ซึ่งมีหลายวิธี ได้แก่ วิธีการทางกายภาพ เคมีและชีวภาพ ซึ่งแต่ละวิธีจะมีข้อจำกัดที่แตกต่างกัน เช่น การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ เป็นวิธีการบำบัดที่มีประสิทธิภาพสูง แต่มีข้อจำกัดคือการนำกลับมาใช้ใหม่จะต้องฟื้นฟูสภาพด้วยการเผาที่ความร้อนสูงซึ่งมีค่าใช้จ่ายสูง กระบวนการกรองด้วยเยื่อแผ่น จะต้องควบคุมระดับความดันน้ำ อัตราการไหลของน้ำ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างและอุณหภูมิ การสร้างตะกอนและการรวมตะกอนด้วยสารส้ม ปูนขาว และสารประกอบเหล็ก เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง แต่จะมีกากตะกอนเกิดขึ้นในปริมาณมากซึ่งยุ่งยากในการนำไปกำจัด กระบวนการเฟนตันต้องควบคุมความเข้มข้นของเหล็ก ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ค่าอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่างและระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา การใช้โอโซนต้องควบคุมอุณหภูมิ ความดัน ความเป็นกรดเป็นด่าง และความสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้า รวมทั้งอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ การใช้เทคโนโลยีทางกายภาพและทางเคมีก็มีข้อจำกัด เนื่องจากการใช้สารเคมีในการกำจัดนอกจากจะสิ้นเปลืองแล้วตะกอนที่ได้มีปริมาณมากและเป็นการเพิ่มสารเคมีอีกด้วย การใช้เทคโนโลยีชีวภาพ ได้แก่ การดูดซับด้วยสาหร่าย การย่อยสลายด้วยเชื้อราบางชนิด มีข้อจำกัดในความสะดวกการใช้งาน การเลือกเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับน้ำเสียของอุตสาหกรรม

แต่ละประเภท ต้องคำนึงถึงลักษณะน้ำเสีย ปริมาณน้ำเสีย ประสิทธิภาพ ค่าใช้จ่าย ฯลฯ ในทางปฏิบัติควรมีการนำน้ำเสียมาทดสอบก่อนเพื่อเป็นแนวทางในการใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสม

Lakshimi (2004) ทำการทดลองการกำจัดสารเมทิลีนบลูในน้ำโดยอาศัยกระบวนการโฟโตแคตาไลติก ใช้ไททาเนียมไดออกไซด์เป็นตัวแคตาลิสต์ โดยศึกษาจาก Brunauer Emmett-Teller (BET) มีพื้นที่ผิว 50 ตารางเมตรต่อกรัม ขนาดท่อภายในโดยเฉลี่ย 30 มิลลิเมตร ภายในบรรจุหลอดไฟชนิดหลอดปรอท ความเข้มแสง 125 วัตต์ ศึกษาการกำจัดสารเมทิลีนบลูด้วย NaOH และ $HClO_4$ โดยผสมสารเมทิลีนบลูในหลอด Polymerization มีการเพิ่มก๊าซออกซิเจนด้วยการกวนสารละลายสม่ำเสมอ ควบคุมความเป็นกรดเป็นด่างด้วย pH-meter พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเริ่มต้นของสารเมทิลีนบลู จาก 6.6 x $10^{-6}$ เป็น 3.6 x $10^{-5}$ โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ใช้สารไททาเนียมไดออกไซด์ 0.05 กรัม ควบคุมความเป็นกรดเป็นด่างที่ 3 ค่าคงที่ของปฏิกิริยาที่คำนวณได้เท่ากับ 1.79 x $10^{4}$ โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร จากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นพบอิออนของสารพวกคาร์บอนไดออกไซด์ ไนเตรต และแอมโมเนีย เมื่อเพิ่มปริมาณแคตาลิสต์จาก 0.003 เป็น 0.05 กรัมต่อสารละลาย 75 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น เมทิลีนบลู 1.0 x $10^{-5}$ โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น และจะเริ่มคงที่เมื่อเพิ่มปริมาณแคตาลิสต์ถึง 0.1 กรัม

## วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

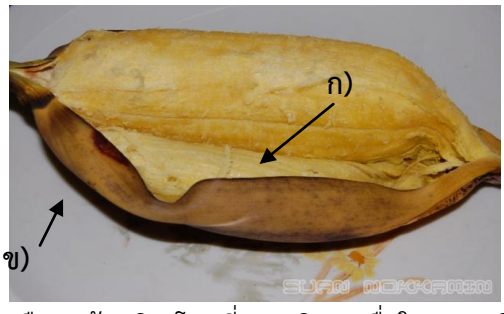
### 1. อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์; เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง เครื่องเหวี่ยงตกตะกอนความเร็วสูง เครื่องวัดค่าความเป็นกรด ด่าง

สารเคมี; Di-sodium hydrogen phosphate-2-hydrate Polyvinylpolypyrolidone(PVPP) TritonX BSA Guaialcal Hydrogen peroxide Methylene blue

### 2. การหาสารสกัดในสภาวะที่เหมาะสม

นำเปลือกกล้วยมาทำความสะอาด แยกเปลือกกล้วยออกเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนเปลือกนอกและเยื่อใน (ภาพที่ 1) จากนั้นนำทั้ง 2 ส่วนมาสกัดใน 0.2 โมลาร์ phosphate buffer ที่มี pH ต่างๆ กัน คือ pH 6.0 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ ที่ผสมด้วย 3% PVPP + 0.25% TritonX-100 ในอัตราส่วน 1:1 (extraction buffer : น้ำหนักของตัวอย่าง) จากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำส่วนที่เป็นกากทิ้งไป แล้ววัดปริมาตรส่วนใส




**ภาพที่ 1** แสดงเปลือกกล้วยหิน โดยที่ ก) บริเวณเยื่อใน ข) บริเวณเปลือกนอก

### 3. การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford

นำสารสกัดที่ได้จากข้อ 2. ไปหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีแบรดฟอร์ด (ใช้สารตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายแบรดฟอร์ด ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

คำนวณหาความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลายตัวอย่าง โดยนำค่าการดูดคลื่นแสงของสารตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA)

**4. ศึกษาความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส**

ใช้ 0.1 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.5 ปริมาตร 2.360 มิลลิลิตร ผสมกับ 0.1 โมลาร์ catechol ซึ่งเป็นสับสเตรท ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร และ สารตัวอย่าง 0.04 มิลลิลิตร โดยทำการทดลองในคิวเวท (cuvette) ขนาด 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดย 1 หน่วยความว่องไวของเอนไซม์ PPO หมายถึง การดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไป 0.001 OD. ต่อ 1 นาที

**5. การศึกษาการสังเคราะห์เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส**

การหาปริมาณหาเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้ 0.1 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.5 ปริมาตร 2.70 มิลลิลิตร ผสมกับ 3% hydrogen peroxide ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร แล้วเติม 3% hydrogen peroxide ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรแล้วเติม 4% guaiacol ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร และสารตัวอย่าง 0.04 มิลลิลิตร จากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดยวัดค่า 15 วินาที/ครั้ง จนครบ 2 นาที

**6. ทดสอบการกำจัดสีย้อม**

6.1 ศึกษาสมบัติของสีย้อม

ชั่งสีย้อม Methylene blue 1 มิลลิกรัม นำมาละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเจือจางสองเท่า แล้วนำไปทดสอบการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร แล้วบันทึกค่า

6.2 ทดสอบเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในการกำจัดสีย้อม

นำเอนไซม์ที่สกัดได้มาทดสอบการกำจัดสีย้อมโดยนำเอนไซม์ 100 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อมปริมาตร 1,900 ไมโครลิตร ตั้งไว้ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร

6.3 ทดสอบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในการกำจัดสีย้อม

นำเอนไซม์ที่สกัดได้มาทดสอบการกำจัดสีย้อมโดยนำเอนไซม์ 100 ไมโครลิตร แล้วเติม 3% Hydrogen peroxide 100 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อมปริมาตร 1,800 ไมโครลิตร ตั้งไว้ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร

การคำนวณหาร้อยละกำจัดสีย้อม

$$\% \text{ Decolorization} = \frac{(C_o - C_c)}{C_o} \times 100$$

โดยที่ $C_O$ คือค่าความเข้มข้นของสีเริ่มต้น

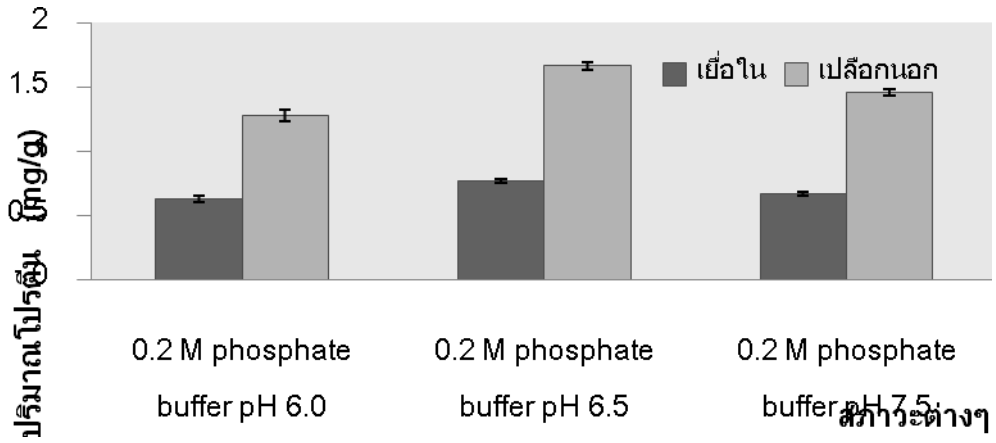
$C_C$ คือค่าความเข้มข้นของสีที่เปลี่ยนไป

## ผลการวิจัย

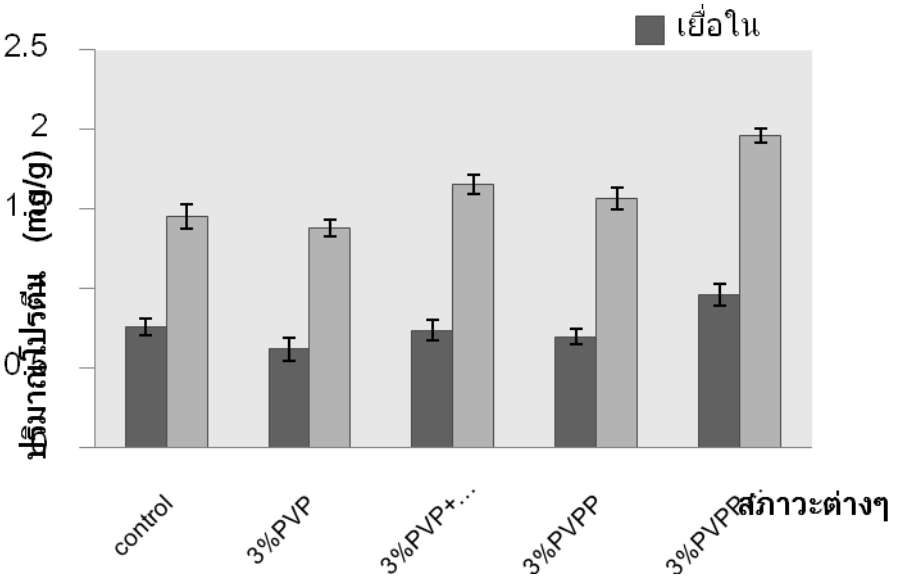
**1. ผลของการหาสารสกัดในสภาวะที่เหมาะสม**

นำเปลือกกล้วยทั้ง 2 บริเวณ คือ บริเวณเปลือกนอกและเยื่อในมาสกัดด้วย 0.2 โมลาร์ phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ คือ pH 6.0 6.5 และ 7.5 ในอัตราส่วน 1:1 (extraction buffer : น้ำหนักตัวอย่าง) ปรากฏว่า ปริมาณโปรตีนบริเวณเยื่อในและเปลือกนอกของเปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วย

0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.5 ให้ค่าปริมาณโปรตีนที่มากที่สุด คือ 0.762±0.015 และ 1.662±0.029 ตามลำดับ รองลงมาคือ 0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 7.5 และ 0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.0 (ภาพที่ 2) และหลังจากนำเปลือกกล้วยทั้ง 2 บริเวณ คือ บริเวณเปลือกนอกและเยื่อในมาสกัดใน 0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.5 ที่มี 3%PVP, 3%PVP+0.25%TritonX-100, 3%PVPP, 3%PVPP+0.25%TritonX-100 ในอัตราส่วน 1:1 (extraction buffer : น้ำหนักตัวอย่าง) พบว่า การสกัดโปรตีนบริเวณเยื่อในของเปลือกกล้วยหินที่ให้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด คือ การใช้ 0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.5 ที่มี 3%PVPP และ 0.25%TritonX-100 ในขณะที่บริเวณเปลือกนอกมีปริมาณโปรตีนสูงสุด เมื่อนำมาสกัดด้วย 0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.5 ที่มี 3%PVPP และ 0.25%TritonX-100 เช่นเดียวกัน แต่ให้ค่าปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าบริเวณเยื่อใน ซึ่งให้ค่าปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.964±0.069 มิลลิกรัมต่อกรัม (ภาพที่ 3)



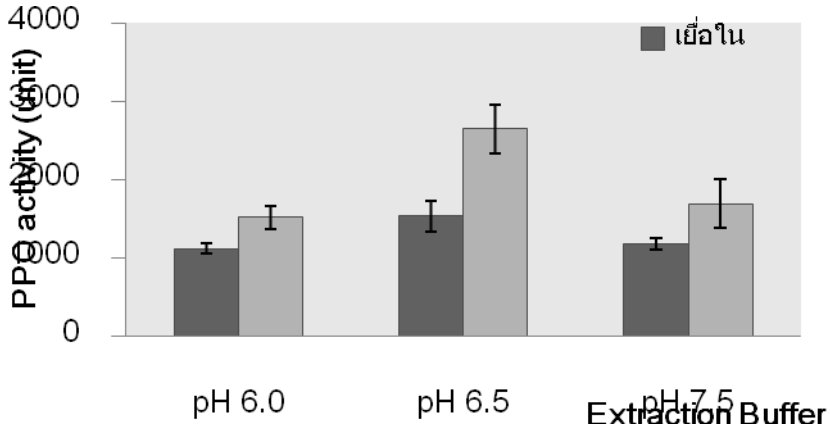

**ภาพที่ 2** แสดงปริมาณโปรตีนบริเวณเยื่อในและเปลือกนอกของเปลือกกล้วยจากการสกัดด้วย 0.2 โมลาร์ phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ




**ภาพที่ 3** แสดงปริมาณโปรตีนบริเวณเยื่อในและเปลือกนอกของเปลือกกล้วยจากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ

**2. ผลการศึกษาความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส**

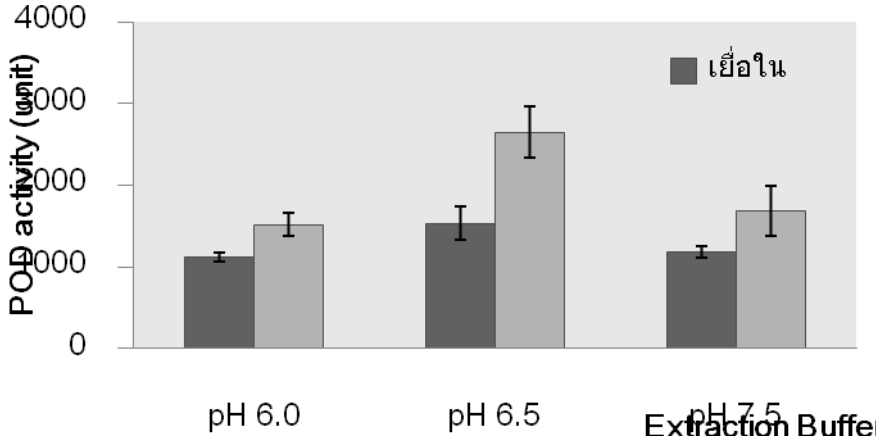
นำเปลือกกล้วยทั้ง 2 บริเวณ คือ บริเวณเปลือกนอกและเยื่อใน มาสกัดเพื่อหาปริมาณเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ด้วย 0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.0 pH 6.5 และ pH 7.5 ที่มี 3%PVPP และ 0.25%TritonX-100 (จากนี้ ผู้วิจัยจะเรียกสารสกัด 0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.0 pH 6.5 และ pH 7.5 ที่มี 3%PVPP และ 0.25%TritonX-100 ว่า Extraction buffer ที่ pH 6.0 pH 6.5 และ pH 7.5) พบว่า บริเวณเปลือกนอกของกล้วยหินที่สกัดด้วย Extraction buffer pH 6.5 จะมีปริมาณของความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสสูงที่สุด คือเท่ากับ 2,645±315.7 unit และสูงกว่าบริเวณเยื่อในประมาณ 1.73 เท่า ในขณะที่บริเวณเยื่อในของเปลือกกล้วยหินจะมีปริมาณความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสสูงที่สุด เมื่อสกัดด้วย Extraction buffer pH 6.5 เท่ากับ 1,533.33±199.19 unit ดังแสดงในภาพที่ 4




**ภาพที่ 4** แสดงปริมาณความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสบริเวณเยื่อในและเปลือกนอกของเปลือกกล้วยจากการสกัดที่ pH ต่างๆ

**3. ผลการศึกษาความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส**

พบว่า บริเวณเปลือกนอกของกล้วยหินที่สกัดด้วย Extraction buffer pH 6.5 มีปริมาณของความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสสูงที่สุด คือเท่ากับ 3,841.78±417.77 unit และสูงกว่าบริเวณเยื่อในประมาณ 1.27 เท่า เมื่อเปรียบเทียบที่สารสกัดตัวเดียวกัน ในขณะที่บริเวณเยื่อในของเปลือกกล้วยหินจะมีปริมาณความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสสูงที่สุด เมื่อสกัดด้วย Extraction buffer pH 6.5 เท่ากับ 4,886.22±168.32 unit ดังแสดงในภาพที่ 5



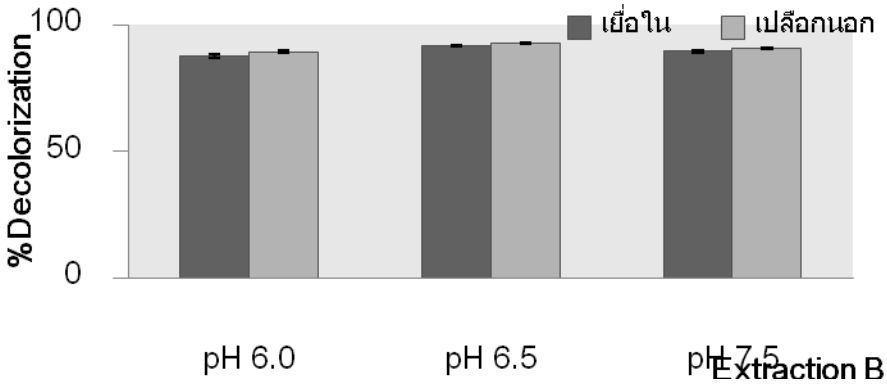
**ภาพที่ 5** แสดงปริมาณความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสบริเวณเยื่อในและเปลือกนอกของเปลือกกล้วยจากการสกัดที่ pH ต่างๆ

**4. ศึกษาการกำจัดสีย้อม (dye decolorization)**

จากการเตรียมสี Methylene blue (ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ใช้เป็นตัวแทนสีย้อมสังเคราะห์อื่นๆ) โดยการ นำสีย้อม Methylene blue 1 มิลลิกรัม นำมาละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเจือจางสองเท่า แล้วนำไปทดสอบการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร โดยมีค่าการดูดแสงเริ่มต้น คือ 0.965 นาโนเมตร คิดเป็น 0.5 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร (5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

4.1 ทดสอบเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในการกำจัดสีย้อม

นำเอนไซม์ที่สกัดได้มาทดสอบการกำจัดสีย้อมโดยนำเอนไซม์ 100 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อมปริมาตร 1,900 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง สังเกตว่า มีการลดลงของสี Methylene blue ได้อย่างชัดเจน และเมื่อครบ 12 ชั่วโมงเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสที่สกัดได้บริเวณเยื่อในของเปลือกกล้วยหินมีความสามารถในการกำจัดสี Methylene blue ได้ร้อยละ 87.67±0.73 91.81±0.21 และ 89.46±0.67 ที่ Extraction buffer pH 6.0 pH 6.5 และ pH 7.5 ตามลำดับ ขณะที่ บริเวณเปลือกนอกของเปลือกกล้วยเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสมีความสามารถในกำจัดสี Methylene blue ได้ร้อยละ 89.33±0.47 92.85±0.27 และ 90.78±0.31 ที่ Extraction buffer pH 6.0 pH 6.5 และ pH 7.5 ตามลำดับ เช่นเดียวกัน โดยจากผลของการกำจัดสี Methylene blue จะเห็นได้ว่า การกำจัดสีย้อมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสที่ได้จากเปลือกกล้วยทั้ง 2 บริเวณไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญ (ภาพที่ 6)

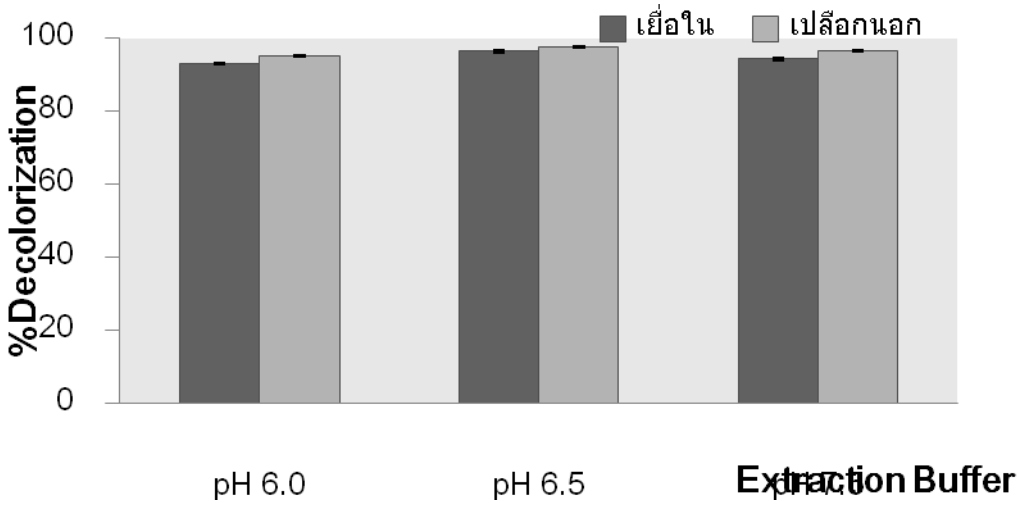



**ภาพที่ 6** ร้อยละการกำจัดสีย้อม Methylene blue ด้วยเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสบริเวณเยื่อในและเปลือกนอกของเปลือกกล้วยจากการสกัดที่ pH ต่างๆ

4.2 ทดสอบเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในการกำจัดสีย้อม

นำเอนไซม์ที่สกัดได้มาทดสอบการกำจัดสีย้อมโดยนำเอนไซม์ 100 ไมโครลิตร แล้วเติม 3% Hydrogen peroxide 100 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อมปริมาตร 1,800 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร (โดยใช้หลอดที่ไม่ใส่เอนไซม์แต่ใส่ Hydrogen peroxide เป็นหลอดควบคุม) พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง มีการลดลงของสี Methylene blue ได้อย่างชัดเจน และเมื่อครบ 12 ชั่วโมง เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่สกัดได้บริเวณเยื่อในของเปลือกกล้วยหินมีความสามารถในการกำจัดสี Methylene blue ได้ร้อยละ 93.16±0.27

96.51±0.26 และ 94.47±0.33 ที่ Extraction buffer pH 6.0 pH 6.5 และ pH 7.5 ตามลำดับ ขณะที่บริเวณเปลือกนอกของเปลือกกล้วยเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสมีความสามารถในกำจัดสี Methylene blue ได้ร้อยละ 95.23±0.31 97.69±0.16 และ 96.51±0.16 ที่ Extraction buffer pH 6.0 pH 6.5 และ pH 7.5 ตามลำดับ (ภาพที่ 7)




**ภาพที่ 7** ร้อยละของการกำจัดสีย้อม Methylene blue ด้วยเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสบริเวณเยื่อในและเปลือกนอกของเปลือกกล้วยจากการสกัดที่ pH ต่างๆ

## สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาสมบัติจากสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินและการนำไปใช้ประโยชน์ ในงานวิจัยนี้สามารถสรุปและอภิปรายผลได้ดังนี้

**1. ผลการศึกษาสมบัติองค์ประกอบต่างๆ ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน**

จากการศึกษาสมบัติองค์ประกอบต่างๆ ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน โดยใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน พบว่า ปริมาณโปรตีน ความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ของทั้ง 2 บริเวณของเปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วย 0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.5 ให้ค่าที่มากที่สุด

เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีองค์ประกอบต่างๆ ที่เพิ่มขึ้นจึงเพิ่มสารที่ช่วยในการสกัด คือ นำมาสกัดใน 0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.5 ที่มี 3%PVP, 3%PVP+0.25%TritonX-100, 3%PVPP, 3%PVPP+0.25%TritonX-100 ในอัตราส่วน 1:1 (extraction buffer : น้ำหนักตัวอย่าง) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่ให้ ปริมาณโปรตีน ความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ทั้งบริเวณเยื่อในและเปลือกนอกของเปลือกกล้วยหิน คือ การใช้ 0.2 โมลาร์ phosphate buffer pH 6.5 ที่มี 3%PVPP และ 0.25%TritonX-100 ซึ่งสอดคล้องจากรายงาน นิสาพร (2551) ได้ศึกษาการสกัดเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในเซลล์แขวนลอยของยางพารา ซึ่งพบว่า ในเซลล์แขวนลอยมีสารประกอบฟีนอลิกอยู่เป็นจำนวนมากส่งผลให้เกิดสีน้ำตาลได้ง่าย และในการศึกษาจึงได้เลือกใช้ 3%PVPP : น้ำหนัก ในการกำจัดสีที่เกิดขึ้นเช่นเดียวกัน Marques et al. (1994) รายงานว่า PPO เป็นโปรตีนประเภท hydrophilic ซึ่งจะมีหางสั้นๆ ที่เป็น hydrophobic เกาะติดอยู่กับเยื่อหุ้มเซลล์ ดังนั้นในการสกัดเพื่อให้ได้เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ทุกชนิดจึงจำเป็นต้องใช้สารที่ลดแรงตึงผิวซึ่งจะทำให้เกิด

การแตกของผนังเซลล์และพลาสติด เช่น TritonX-100, TritonX-114 หรือ SDS (Nicolas et al., 1994) ร่วมในการสกัดจึงจะสามารถช่วยเพิ่มค่าความว่องไวของเอนไซม์ได้ (Mayer, 1979)

**2. ผลการศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินต่อการกำจัดสีของสีย้อมต่างๆ**

พบว่า เมื่อนำเอนไซม์ที่สกัดได้มาทดสอบการกำจัดสีย้อม คือ สี Methylene blue โดยตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง การทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ทำให้มีการลดลงของสี Methylene blue ได้อย่างชัดเจน และเมื่อครบ 12 ชั่วโมงเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสที่สกัดได้ทั้ง 2 บริเวณ คือ บริเวณเยื่อในและเปลือกนอกของเปลือกกล้วยหินมีความสามารถในการกำจัดสี Methylene blue

ในขณะที่ การทำงานของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง มีการลดลงของสี Methylene blue ได้อย่างชัดเจน และเมื่อครบ 12 ชั่วโมง เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่สกัดได้บริเวณเยื่อในของเปลือกกล้วยหินมีความสามารถในการกำจัดสี Methylene blue จนเกือบ 100% และจากการวิจัยของ Chanwun et al. (2013) ซึ่งทำการศึกษา เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส จากเซลล์แขวนลอยยางพาราและทำการทดสอบความสามารถในการกำจัดสีย้อมในกลุ่มต่างๆ พบว่า เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส สามารถกำจัดสีย้อม เช่น aniline blue (83%) malachite green (95%) และ crystal violet (60%) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Koichi et al. (2003) ได้ศึกษาการกำจัดสี Reactive Red 120 โดยเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสที่ได้จาก White-Rot Basidiomycete โดยสามารถกำจัดสี Reactive Red 120 ได้สูงสุดที่ 90.7% เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน

## ข้อเสนอแนะ

1. ในการสกัดสารต่างๆ จากเปลือกกล้วยหิน ควรใช้ไนโตรเจนเหลวร่วมในการสกัดเพื่อให้เซลล์แตกอย่างสมบูรณ์ ทำให้ได้ปริมาณโปรตีนและเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น

2. ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบกำจัดสีเพียงชนิดเดียว คือ สี Methylene blue ซึ่งไม่สามารถที่จะระบุได้ว่าเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้จะสามารถกำจัดสีย้อมชนิดอื่นๆ ได้ด้วยหรือไม่ ในงานวิจัยต่อยอดจะนำสีย้อมชนิดอื่นๆ มาทดสอบความสามารถในการกำจัดสีของสารสกัดจากเปลือกกล้วย รวมถึงการนำสีย้อมผ้าที่ใช้ในชุมชนมาทดสอบการกำจัดสีก่อนการปล่อยสู่ธรรมชาติต่อไป

## เอกสารอ้างอิง (References)


กัณฑรีย์ ศรีพงศ์พันธุ์ (2547). **มลพิษทางน้ำ**. (พิมพ์ครั้งที่ 3) กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร

นิสาพร มูหะมัด (2551). การสะสมของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและสารประกอบฟินอลิกในยางพาราหลังติดเชื้อรา. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประรัชกรณ์ สาธิตคุณ (2545). การกำจัดสีในน้ำเสียจากโรงงานเสื่อกกโดยใช้ซีโอไลต์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พรสวรรค์ อัศวแสงรัตน์ วีระวัฒน์ คลอวุฒิมันตร์ (2553). การดูดซับสีย้อมด้วยตัวดูดซับจากธรรมชาติ สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

มงคล ดำรงศรี และต่อพงศ์ กรีธาชาติ (2546). การลดสีจากน้ำทิ้งที่บำบัดแล้วของโรงงานเยื่อและกระดาษโดยกระบวนการดูดซับด้วยแอ๊คติเวตเต็ดคาร์บอน. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41: สาขาวิศวกรรมศาสตร์และสาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์**. (หน้า 261-268). กรุงเทพฯ

วนิดา ชูอักษร (2012). เทคโนโลยีการกำจัดสีในน้ำเสียอุตสาหกรรม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา: 181-191

วราภรณ์ อภิวัฒนาภิวัต ต่อพงศ์ กรีธาชาติ และพิลาณีไวถนอมสัตย์ (2550). การลดสีน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตเยื่อและกระดาษโดย โอโซนออกซิเดชัน. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45: สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์ สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (หน้า 825-834). กรุงเทพฯ.

สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์ (2549). **ระบบบำบัดน้ำเสีย : การเลือกใช้การออกแบบการควบคุมและการแก้ปัญหา**. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ บริษัท สำนักพิมพ์ท้อป จำกัด

Bolanos A. E. N. & Silva M. E. (2004). Effects of polyphenol oxidase and peroxidase activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama. **Postharvest Biology and Technology**, 33(3), 275-283.

Cantos E., Espin J. C. & Tomas-Barberan F. A. (2002). Postharvest stilbene-enrichment of red and white table grape varieties using UV-C irradiation pulses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 6322-6329.

**Chanwun T., Muhamad N., Chirapongsatonkul N.** & **Churngchow N. (2013).** *Hevea brasiliensis* cell suspension peroxidase: purification, characterization and application for dye decolorization**.** ***AMB Express***. **3,** 14.

Koichi H., Yoshio W. & Kazunori N. (2003). Decolorization of Azo Dye by the White-Rot Basidiomycete *Phanerochaete sordida* and by Its Manganese Peroidase. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 95(5), 455-459.

Lakshimi (2004). ศึกษาการกำจัดสารเมทิลีนบลูในน้ำ โดยอาศัยกระบวนการโฟโตแคตาไลติกใช้ไททาเนียมไดออกไซด์เป็นตัวแคตาลิสต์.[ออนไลน์] สืบค้นจาก www.chiangmai.ac.th/emac/journal, 15/10/2010

Marques, L., Fraignier, M. P., Fleuriet, A. & Macheix, J. J. (1994). Biochemical and immunochemical characteristics of polyphenol oxidases from different fruits of Prunus.

**Journal of Agricultural Food Chemistry**, 43, 2375-2380.

Mayer, A. M. & Harel, E. (1979). Polyphenol oxidases in plants. **Phytochemistry**, 18, 193–215.

Martinez, M. V. & Whitaker, J. R. (1995). The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends of Food Science and Technology**, 6, 195-200,

Muhamad N., Chirapongsatonkul N. & Churngchow N. (2012). Defense-related polyphenol oxidase from *Hevea brasiliensis* cell suspension: purification and characterization. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 167(1), 177-89.

Nicolas, J., Richard-Forget, F. C., Goupy, P. M., Amiot, M. J. & Aubert, S. Y. (1994). Enzymatic browning reactions in apple and apple products. **Critical Review Food Science Nutrition**, 34, 109-157.

O'Neill, C., Hawkes, F.R., Hawkes, D.L., Lourenco, N.D., Pinheiro, H.M. & Delee, W. (1999). Color in textile effluents sources, measurement, discharge consents and simulation: a review. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 74, 1009-1018.

Wuyts N., Waele D. D. & Swennen R., (2006). Extraction and partial characterization of polyphenol oxidase from banana (Musa acuminata Grande naine) roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, 44, 308-314.

Zoolinger, H. (1987). Color chemistry-syntheses, properties and applications of organic dyes and pigments. VCH, New York.