ผลของสารอินทรีย์ธรรมชาติและโลหะหนักต่อการย่อยสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคสในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน

Effects of Natural Organic Matter and Heavy Metals on the Degradation of Dicofol by Laccase in a Membrane Bioreactor

อภิญญา อ่อนสาร, กรรณิกา รัตนพงศ์เลขา*

Apinya Onsarn, Karnika Ratanapongleka*

Received: 12 March 2019 ; Revised: 24 May 2019 ; Accepted: 10 June 2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการกำจัดไดโคฟอลด้วยแลคเคสจาก *Lentinus polychrous* Lev. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน ซึ่งมีการเติมสารอินทรีย์ธรรมชาติและสารละลายโลหะหนัก (เหล็กและแมงกานีส) ที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของไดโคฟอล 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของแลคเคส 4.32 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ค่าพีเอช 7 และอุณหภูมิที่ 28±3 องศาเซลเซียส จากผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดไดโคฟอลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน ที่เวลา 240นาที พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารอินทรีย์ธรรมชาติและเหล็กสูงขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัดมีแนวโน้มลดลง โดยที่ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ธรรมชาติและเหล็กสูงสุดที่ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพการกำจัดไดโคฟอลเพียง 72 และ 83% ตามลำดับ ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของแมงกานีส พบว่าประสิทธิภาพการกำจัดไดโคฟอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของแมงกานีสทุกความเข้มข้น พบว่ามีประสิทธิภาพการกำจัดไดโคฟอลได้เท่ากับ 100% และประสิทธิภาพการกำจัดไดโคฟอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรนให้ประสิทธิภาพการกำจัดไม่ต่ำกว่า 80% ที่เวลา 480 นาที ในทุกสภาวะ ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพในการนำเอนไซม์แลคเคสมาประยุกต์ใช้สำหรับกำจัดไดโคฟอลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรนได้เป็นอย่างดี

คำสำคัญ : ไดโคฟอล แลคเคส ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน สารอินทรีย์ธรรมชาติ โลหะหนัก

Abstract

The objective of this research was to investigate dicofol removal by laccase from *Lentinus polychrous* Lev. in a membrane bioreactor with addition of natural organic matter (NOM) and heavy metals solutions (iron and manganese) at concentration 0-50 mg/l, dicofol concentration 1 mg/l, laccase concentration 4.32 U/ml, pH 7 and temperature at 28±3 °C. Based on the results of the dicofol removal efficiency in the membrane bioreactor system at 240 minutes, it was found that increasing the concentration of natural organic matter and iron solution caused a decrease in removal efficiency. At maximum NOM or iron concentrations of 50 mg/l the dicofol removal efficiency was only 72 and 83%, respectively. Increasing the concentration of manganese, increased the efficiency of dicofol removal. The efficiency of dicofol removal was 100% at all manganese concentration and the efficiency of dicofol removal in the membrane bioreactor was not less than 80% at 480 minutes in all conditions. This study indicates a good potential for application of laccase for dicofol removal in a membrane bioreactor.

Keywords: dicofol, laccase, membrane bioreactor, natural organic matter, heavy metals

---

[1] *นักศึกษาปริญญาเอก,* [2]*ผู้ช่วยศาสตาจารย์, คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190*

[1] *Doctoral student, Assist. Prof., Faculty of Engineering, Ubonratchathani University, Warinchamrap, Ubonratchathani 34190*

E-mail: apinya.on.58@ubu.ac.th, karnika.r@ubu.ac.th Tel : 045-3533342*

บทนำ

ไดโคฟอล (Dicofol; DCF) มีสูตรเคมีคือ $C_{14}H_9Cl_5O$ เป็นสารเคมีกำจัดศัตรูของพืช เช่น หนอน เพลี้ย แมลง รวมถึงวัชพืช เป็นต้น ซึ่งมีการใช้งานกันอย่างแพร่หลายในกลุ่มของเกษตรกร โดยการฉีดพ่นทางใบของต้นพืช โดยสามารถใช้ได้กับพืชเกือบทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็นพืชไร่ พืชสวน ผักและผลไม้ต่าง ๆ และไม้ดอกไม้ประดับ และด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้ไดโคฟอลเป็นที่นิยมใช้ในภาคการเกษตรเป็นอย่างมาก ปัจจุบันมีมากกว่า 30 ประเทศทั่วโลกใช้สารไดโคฟอลหรือผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของไดโคฟอลอยู่ และพบว่าใช้ในพืชมากกว่า 60 ชนิด ซึ่งทำให้ปริมาณความต้องการใช้สารไดโคฟอลทั่วทั้งโลกเพิ่มขึ้น จึงทำให้ในระหว่างปีพ.ศ. 2544-2556 ประเทศจีนมีการผลิตไดโคฟอลประมาณ 5,500 ตันต่อปี และมีปริมาณการใช้ไดโคฟอลทั่วทั้งโลกประมาณ 2,750 ตันต่อปี[1] ซึ่งการใช้สารเคมีดังกล่าวของกลุ่มเกษตรกรจะทำให้เกิดการสะสมหรือการตกค้างของสารเหล่านี้ในระบบสิ่งแวดล้อมทั่วไป รูปแบบการได้รับพิษของไดโคฟอลมีด้วยกัน 3 ทาง ได้แก่ ทางปาก ผิวหนัง และการหายใจ โดยอาการหลังได้รับพิษ หากสัมผัสจะมีอาการระคายเคืองบริเวณที่สัมผัสและเกิดผดผื่น หากเข้าตาจะทำให้เยื่อบุตาอักเสบได้ และเมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกายโดยการดื่ม กิน หรือหายใจ จะทำให้เกิดการกระตุ้นโซเดียมไหลเข้าเซลล์ได้มากกว่าปกติ ทำให้ไปกระตุ้นกล้ามเนื้อส่วนต่างๆของร่างการ เกิดอาการเป็นพิษต่อระบบประสาทส่วนกลาง รวมถึงเป็นสารที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้[2] จากตัวอย่างต่อสุขภาพมนุษย์ที่กล่าวมาองค์กรพิทักษ์สิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐ หรือ US.PEA จึงจัดให้สารไดโคฟอลมีความเป็นพิษอยู่ในระดับ 2 หมายถึงเป็นสารที่อันตรายที่มีความเป็นพิษสูงในระดับปานกลาง[3] ขณะที่ทางสหภาพยุโรปได้กำหนดให้มีไดโคฟอลปนเปื้อนในน้ำดื่มไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร[4] ปัจจุบันพบว่ามีการนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการบำบัดสารปนเปื้อนที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงและมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารมลพิษสูง โดยเฉพาะสารในกลุ่มของอะโรมาติก นอกจากนี้ยังง่ายต่อการจัดการและเก็บรักษา สามารถทำงานในสภาวะที่มีสารพิษปนเปื้อนได้ และทำงานได้เมื่อสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนแปลง เช่น พีเอช อุณหภูมิ ค่าความเค็ม รวมถึงเอนไซม์ยังสามารถเปลี่ยนรูปสารพิษให้อยู่ในรูปสารประกอบที่มีความเป็นพิษต่อมนุษย์ได้น้อยที่สุดได้[5]

เอนไซม์แลคเคส (Benzenediol: oxygenoxido reductase; EC 1.10.32) พบได้ทั่วไปในเชื้อราพวกไวท์รอท (White-rot fungi) พืชชั้นสูง แมลงบางชนิดและแบคทีเรีย เป็นต้น ซึ่งแลคเคสจัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่มออกซิโดรีดักเทส โดยสามารถย่อยสลายสารพิษได้หลากหลาย เช่นสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ ฟีนอล อะมิโนฟีนอล อะโรมาติก เอมีน สีย้อม และสารกำจัดแมลงบางชนิด เช่น DDE DEET เป็นต้น[6-7] ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์ชนิดอื่นๆแล้ว แลคเคสเป็นเอนไซม์ที่จำเพาะเจาะจงต่อสารตั้งต้นน้อย จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้งานได้หลากหลาย โดยแหล่งเอนไซม์แลคเคสที่ใช้ในการศึกษานี้มาจาก *Lentinus polychrous* Lev. ซึ่งรู้จักกันในชื่อของเห็ดขอนดำ เห็ดลม หรือเห็ดบด จัดเป็นเชื้อราในกลุ่มไวท์รอทชนิดที่สร้างเอนไซม์แลคเคสแล้วขับออกมาภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme)

นอกจากนี้ตามแหล่งน้ำธรรมชาติทั่วไป ไม่ได้มีเฉพาะการปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงเพียงอย่างเดียวเท่านั้น จากการสำรวจในน้ำผิวดินยังพบสารอินทรีย์ธรรมชาติ หรือ NOM ซึ่งเกิดจากซากผลิตภัณฑ์ของเสียในธรรมชาติที่มีองค์ประกอบด้วย คาร์บอน ออกซิเจนและไฮโดรเจน เป็นหลัก นอกจากนี้ยังมีสารกลุ่มโลหะหนักจำพวกเหล็กและแมงกานีส ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่พบได้มากในธรรมชาติ สำหรับปริมาณของ NOM พบว่ามีค่าไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนเหล็กและแมงกานีสที่พบอยู่ในช่วง 5-14 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.3-1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ [8] ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาร่วมกับปัจจัยข้างต้น เพื่อให้มีความสอดคล้องและใกล้เคียงกับสิ่งแวดล้อมจริง ซึ่งผลกระทบของเหล็กและแมงกานีสอาจส่งผลต่อการกำจัดไดโคฟอลด้วยเอนไซม์แลคเคส จากรายงานการศึกษาของZhai และคณะ (2015)[9] พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักที่ระดับไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้เอนไซม์เซลลูเลสสามารถย่อยสลายไดโคฟอลได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักที่ความเข้มข้นมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้นอกจากจะพิจารณาถึงความสามารถในการย่อยสลายสารกำจัดแมลงชนิดไดโคฟอลด้วยแลคเคสแล้ว ยังศึกษาถึงผลของเหล็กและแมงกานีสที่พบอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติต่อการย่อยสลายสารดังกล่าว จะทำให้งานวิจัยนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผลการศึกษาสามารถจะนำไปประยุกต์ใช้งานได้จริง

แต่อย่างไรก็ตามแม้ว่าการใช้แลคเคสในรูปเอนไซม์อิสระ สามารถที่จะบำบัดสารพิษได้เป็นอย่างดี แต่เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการบำบัดแล้ว เอนไซม์ดังกล่าวจะถูกปล่อยทิ้งไปพร้อมกับน้ำที่ผ่านการบำบัด จึงทำให้สิ้นเปลืองการใช้เอนไซม์ในแง่ของค่าใช้จ่ายสำหรับการสกัดเอนไซม์ใหม่ และเพื่อเป็นการแก้ไขข้อเสียที่เกิดขึ้นดังกล่าว จึงมีการนำระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรนมาใช้ โดยเป็นการผสมผสานระหว่างการแยกทางกายภาพด้วยเมมเบรน (Membrane separation) และกระบวนการทางชีวภาพในถังปฏิกรณ์ (Biological

process in reactor) ภายใต้กระบวนการนี้สารพิษต่าง ๆจะถูกย่อยสลายด้วยกระบวนการทางชีวภาพ ส่วนน้ำทิ้งหลังจากการบำบัดจะถูกแยกจากตัวเร่งชีวภาพออกด้วยระบบเมมเบรน ซึ่งการประยุกต์ใช้เมมเบรนส่วนใหญ่ในกระบวนการทางชีวภาพนิยมใช้เมมเบรนชนิดไมโครฟิลเตรชั่น (Microfiltration; MF) และอัลตร้าฟิลเตรชั่น(Ultrafiltration; UF) โดยที่ระบบเมมเบรนจะอาศัยการแยกสารหรืออนุภาคแบบคัดขนาด ซึ่งพบว่ากระบวนการอัลตร้าฟิลเตรชั่น มีขนาดของรูพรุนอยู่ในช่วง 1-100 นาโนเมตร ใช้ในการแยกโมเลกุลขนาดใหญ่เช่นโปรตีน เอนไซม์ เซลล์จุลินทรีย์ออกจากน้ำได้ ซึ่งจากข้อมูลข้างต้นจึงสามารถใช้กระบวนการของอัลตร้าฟิลเตรชั่นมาประยุกต์ใช้ร่วมกับเอนไซม์ ซึ่งข้อดีคือเพื่อทำหน้าที่กักเอนไซม์ไว้ในระบบ จึงทำให้มีเอนไซม์หมุนเวียนไว้ใช้ในระบบได้อย่างต่อเนื่อง โดยไม่ต้องเติมเอนไซม์ใหม่

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้มีเป้าหมายเพื่อย่อยสลายไดโคฟอลด้วยเอนไซม์แลคเคสร่วมกับระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน โดยในการศึกษามุ่งเน้นถึงประสิทธิภาพการย่อยลายไดโคฟอล รวมถึงในสภาวะตามธรรมชาติโดยทั่วไป ที่มีสาร NOM และสารกลุ่มโลหะหนักจำพวกเหล็กและแมงกานีส ซึ่งส่งผลต่อการย่อยสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคส และศึกษาลักษณะทางกายภาพของเมมเบรนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดก่อนและหลังใช้งาน ผลจากการศึกษานี้สามารถชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการย่อยสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคส ที่ตกค้างในน้ำเสียในอนาคตได้

ระเบียบวิธีวิจัย

1. เอนไซม์และสารเคมี

เอนไซม์แลคเคสจาก *Lentinus polychous* Lev. ซึ่งได้จากโรงเพาะเห็ด จ.อุบลราชธานี และสารเคมีที่ใช้เช่น ผงไดโคฟอลบริสุทธิ์, เมทานอล (เกรดวิเคราะห์ HPLC ≥ 99.9%), สารวิเคราะห์ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ABTS และไอรอน (II) คลอไรด์เตตระไฮเดรต (≥ 99%) จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา สารวิเคราะห์โปรตีนสำเร็จรูป (Bradford solution) จากบริษัท AppliChem ประเทศเยอรมัน และแมงกานีส (II) คลอไรด์เตตระไฮเดรต จากบริษัท Fisher Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา

สารอินทรีย์ธรรมชาติได้จากหนองอีเจมส์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จะถูกนำมาทำให้สารดังกล่าวมีความเข้มข้นสูงขึ้นด้วยกระบวนการรีเวอร์ออสโมซีส ซึ่งก่อนเข้าระบบมีปริมาณน้ำเท่ากับ 1,500 ลิตร และกำหนดให้หลังนำเข้าระบบมีปริมาตรน้ำคงเหลือเท่ากับ 30 ลิตร และเก็บน้ำตัวอย่างดังกล่าวไว้ใช้ในการทดลองต่อไป

เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ ได้แก่ เครื่อง UV spectrophotometer (SHIMADZU UV1204, Japan) เครื่อง pH meter (Eutech pH 700 Meter, Singapore) เครื่อง HPLC (SHIMADZU CLASS-VP 10AVP, Japan) คอลัมน์ที่ใช้คือ C18 ซึ่งมีขนาดเท่ากับ 7.8 x 300 mm (Vertisep OA 8 um HPLC) และเครื่อง AAS (PerkinElmer AAnalyst 200, U.S.)

แผ่นเยื่อกรองที่ใช้ผลิตจากบริษัท GE Water & Process Technologies เป็นแบบ Flat sheet membrane มีขนาดรูพรุน (MWCO) 20 KDa วัสดุที่ทำผลิตจาก Poylethersulfone; PES มีขนาดพื้นที่ของเยื่อกรองเท่ากับ 191x 140 mm มีค่าความต้านทานแรงดันสูงสุดที่ 70 psi (483 kPa)

2. การกำจัดไดโคฟอลด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน

การศึกษาการกำจัดไดโคฟอลด้วยเอนไซม์แลคเคสด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน แบบไหลตามขวาง โดยใช้เอนไซม์แลคเคสจาก *Lentinus polychous* Lev. น้ำตัวอย่างที่ใช้เป็นน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งเตรียมจากสารไดโคฟอลบริสุทธิ์ จากนั้นทำการศึกษาโดยใช้ปริมาณเอนไซม์แลคเคสเริ่มต้นที่ 4.32 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นของไดโคฟอลที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าพีเอชเท่ากับ 7 และความเข้มข้นของสารอินทรีย์ธรรมชาติ เหล็กและแมงกานีสในช่วง 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยที่ปริมาตรรวมในถังปฏิกรณ์เริ่มต้นเท่ากับ 12 ลิตร จากนั้นดำเนินการทดสอบและเก็บสารละลายในช่วงเวลา 0-480 นาที เพื่อนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของไดโคฟอลคงเหลือในระบบ สำหรับเปอร์เซ็นต์การกำจัดไดโคฟอลด้วยแลคเคส สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (1)

$$Removal(\%) = (\frac{C_0 - C_t}{C_0}) \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ C_0 คือความเข้มข้นเริ่มต้น (มิลลิกรัมต่อลิตร) และ C_t คือความเข้มข้นที่เวลาใด ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

3. การดำเนินระบบของชุดเยื่อกรองชนิดอัลตร้าฟิลเตรชั่น

จาก Figure 1 เป็นการดำเนินระบบภายใต้การกรองแบบไหลขวาง (Cross flow) หรือเป็นแนวขนานกับแผ่นเยื่อกรอง โดยน้ำตัวอย่างจากถังฟีด (Feed tank) จะถูกป้อนเข้าระบบโดยอาศัยแรงขับเคลื่อนจาก pump(P_1) ผ่านเข้ามายังแผ่นเมมเบรนชนิดอัลตร้าฟิลเตรชั่น ซึ่งความดันที่ใช้ในระบบเท่ากับ 5 psig ในขณะที่น้ำส่วนที่ไม่ผ่านเยื่อกรองจะป้อนกลับ

หรือถูกส่งกลับมายังถังปฏิกรณ์โดยอาศัยแรงจาก pump (P_2) ซึ่งจะเรียกน้ำในส่วนนี้ว่า รีเทนเทท (Retentate) ส่วนน้ำที่ผ่านเมมเบรนไปได้ จะถูกเรียกว่า เพอมิเอท (Permeate) ซึ่งน้ำในส่วนดังกล่าวจะถูกนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นคงเหลือในระบบต่อไป

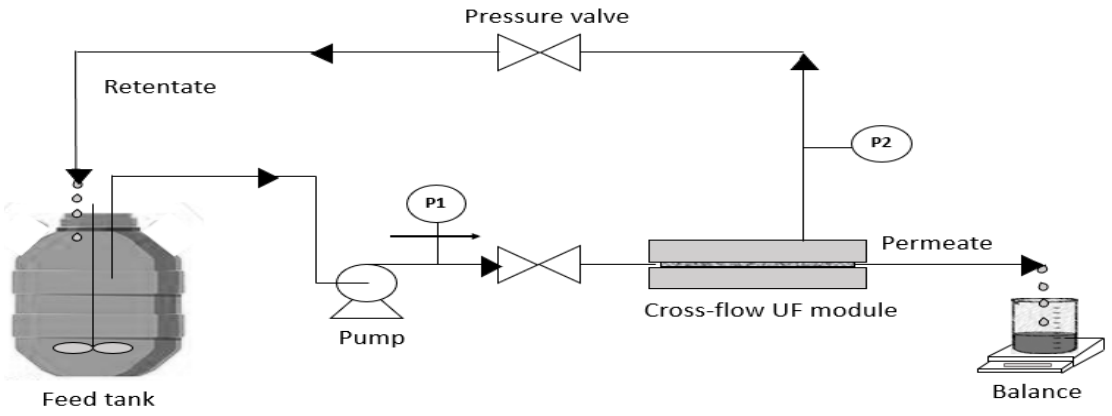

Figure 1 Ultrafiltration membrane bioreactor

4. การล้างแผ่นเยื่อกรอง

เมื่อดำเนินระบบจนถึงช่วงเวลาหนึ่ง ค่าฟลักซ์ที่ได้จะลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกิดการอุดตันของเยื่อกรอง (Fouling) ของตัวถูกละลายทั้งบนผิวหน้าและภายในรูพรุนของแผ่นเยื่อกรองดังนั้นจึงต้องทำความสะอาดเยื่อกรอง เพื่อให้ประสิทธิภาพของแผ่นเยื่อกรองกลับใกล้เคียงหรือเท่ากับแผ่นเยื่อกรองเริ่มต้น ซึ่งหลังดำเนินระบบเสร็จในแต่ละครั้ง เยื่อกรองชนิดอัลตร้าฟิลเตรชั่นจะถูกนำมาล้างด้วยวิธีทางกายภาพและทางเคมี โดยอันดับแรกจะใช้น้ำปราศจากประจุในการล้าง ดำเนินระบบล้างต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 30 นาที หลังจากนั้นล้างต่อด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ พีเอช 10 น้ำปราศจากประจุและกรดซิตริก พีเอช 4 เป็นระยะเวลา 30 นาทีในแต่ละสารและล้างด้วยน้ำปราศจากประจุอีกครั้ง จากนั้นทำการวัดฟลักซ์ที่ความดันในช่วง 5-20 psig แผ่นเยื่อกรองหากยังไม่ได้ใช้ทันทีควรจัดเก็บไว้ในโซเดียมเมตาไบซัลไฟล์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อหลีกเลี่ยงแบคทีเรียต่างๆที่อาจเกิดบนผิวของเยื่อกรอง

5. การตรวจวิเคราะห์ผล

การวิเคราะห์กิจกรรมการทำงานของแลคเคสตามวิธีของ[9] โดยใช้ 2,2′-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate (ABTS) เป็นสารสับสเตรท ผสมสารละลายตัวอย่างกับโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ และ ABTS จากนั้นเขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปแช่

ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส และหยุดปฏิกิริยาด้วยกรดไตรคลอโรอะซิติก ที่ความเข้มข้น 80%โดยน้ำหนัก แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร โดย 1 ยูนิต ของเอนไซม์คือจำนวนของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้นต่อนาที

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี[10] โดยใช้ Bradford reagent สำเร็จรูป และใช้ Bovine serum albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน เจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ จากนั้นนำสารตัวอย่าง ผสมกับ Bradford reagent 200 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำปราศจากประจุ 700 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานโปรตีน

วิเคราะห์ปริมาณไดโคฟอลด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ C18 (7.8 x 300 มิลลิเมตร) ตามวิธีของ[11] โดยละลายไดโคฟอลด้วยเมทานอล สำหรับโมบายเฟสที่ใช้เป็นเมทานอลต่อน้ำปราศจากประจุ ในอัตราส่วน 80:20 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ปริมาณการฉีดตัวอย่างเท่ากับ 20 ไมโครลิตร อัตราการไหลของโมบายเฟสเท่ากับ 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิที่ใช้เป็นอุณหภูมิในสิ่งแวดล้อม และใช้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 229 นาโนเมตร

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ผลของ NOM ที่มีต่อการสลายไดโคฟอลด้วยเอนไซม์แลคเคส

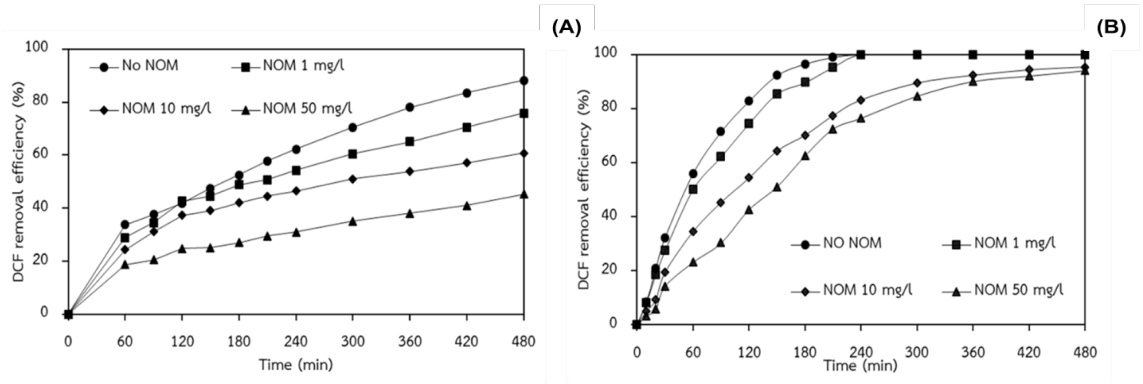

Figure 2 effect of NOM concentration to dicofol removal, (A) batch reactor (B) membrane bioreactor

จากการศึกษาการสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคสในถังปฏิกรณ์แบบกะ ดังแสดงใน Figure 2 (A) เวลาในการทดสอบ 480 นาที ความเข้มข้นของ NOM ที่ใช้มีค่าอยู่ในช่วง 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลลดลงเมื่อความเข้มข้นของ NOM เพิ่มขึ้น และเมื่อนำข้อมูลของไดโคฟอลที่ลดลงจากข้างต้น ไปคำนวณอัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยา และสร้างความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลของอัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยากับความเข้มข้นของไดโคฟอลในกรณีที่ไม่มีและมีการเติม NOM ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อศึกษารูปแบบการยับยั้งของ NOM ที่ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ จากผลการศึกษาความสัมพันธ์ดังกล่าวพบว่า เกิดการยับยั้งปฏิกิริยาการสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคส ในรูปแบบของการยับยั้งแบบไม่แข่งขัน ซึ่งรูปแบบการยับยั้งของ NOM ดังกล่าวเหมือนกับงานวิจัยของ[12] โดยใช้สาร NOM ที่ใช้เติมในระบบเหมือนกัน แต่ชนิดของสารที่ได้นำมาทดสอบต่างชนิดกัน คือ ใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส และสารมลพิษที่ใช้คือบีสฟีนอลเอ โดยรูปแบบการยับยั้งแบบไม่แข่งขันจะมีลักษณะดังนี้ เมื่อแลคเคสเข้าทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น (ไดโคฟอล) จากนั้นสาร NOM จะเข้าไปจับกับแลคเคส ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนขึ้น และส่งผลให้ความสามารถในการสลายไดโคฟอลได้ลดลง และเมื่อทดสอบในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน ดังแสดงในFigure 2 (B) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ NOM ส่งผลให้ประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลลดลงเช่นกัน โดยเมื่อพิจารณาที่เวลา 0-240 นาที พบว่าประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และที่เวลาตั้งแต่ 360 นาทีเป็นต้นไป ประสิทธิภาพการสลายเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่จะสังเกตได้ว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ NOM ที่ 0-1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลได้เท่ากับ 100% ที่เวลา 240 นาที ในขณะเดียวกันที่ความเข้มข้นเท่ากับ 10-50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีประสิทธิภาพการสลายลดลงเท่ากับ 76.33 และ 65.28% ที่เวลา 240 นาที ตามลำดับ สำหรับงานวิจัยของ[13] ได้ใช้กรดฮิวมิกเป็นตัวแทนของสาร NOM เนื่องจากมีโครงสร้างเหมือนกัน ในการสลายบีสฟีนอลเอ โดยใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของกรดฮิวมิก ส่งผลให้ประสิทธิภาพการสลายลดลงเช่นกัน จากผลการพิจารณาประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลที่เวลา 480 นาที ทั้งในระบบถังปฏิกรณ์แบบกะและถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน Figure 2 (A), (B) ที่ความเข้มข้นของ NOM ในช่วง 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลเท่ากับ 78.43, 65.38,

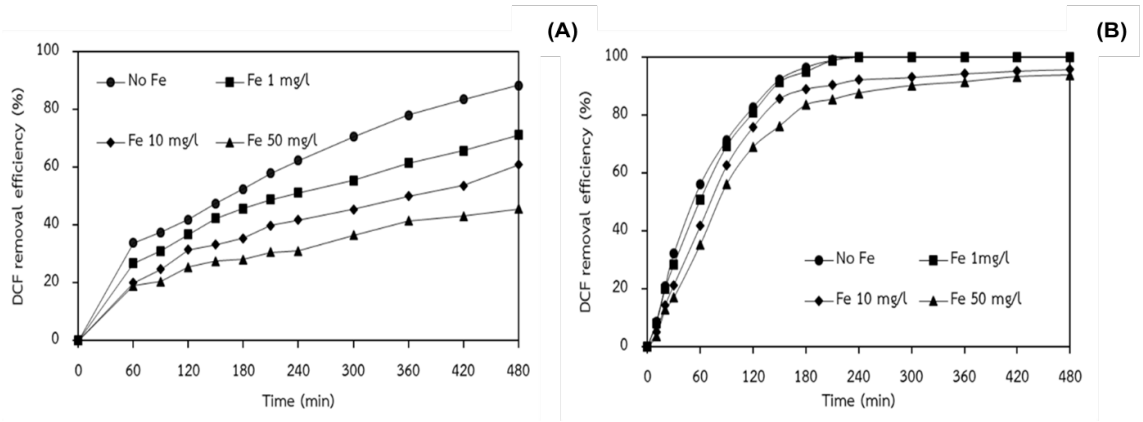

Figure 3 effect of Fe concentration to dicofol removal, (A) batch reactor (B) membrane bioreactor

53.42 และ 35.76% ของระบบถังปฏิกรณ์แบบกะ และ 100, 100, 95.43 และ 94.01% ของระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน ตามลำดับ ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลของทั้งสองระบบแตกต่างกัน อาจเป็นเพราะในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน มีการใช้เมมเบรนชนิดอัลตร้าฟิลเตรชั่นในระบบ ซึ่งในระหว่างการดำเนินระบบของเมมเบรนนั้น จะเกิดการสะสมของเอนไซม์แลคเคส รวมถึงสาร NOM อยู่บริเวณผิวหน้าและภายในรูพรุนของแผ่นเมมเบรนดังกล่าว ทำให้ไดโคฟอลบางส่วนถูกสะสมอยู่บริเวณผิวหน้าของเมมเบรนด้วย และจากมูลเหตุดังกล่าวจึงทำให้ไดโคฟอลหลุดออกจากระบบได้น้อยลง และเมื่อทดสอบเฉพาะสารไดโคฟอลกับแผ่นเมมเบรนในระบบ โดยใช้เพียงสารไดโคฟอล (ไม่แสดงผล) จากนั้นดำเนินระบบภายใต้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรนชนิดอัลตร้าฟิลเตรชั่น ซึ่งแรงดันที่ใช้เท่ากับ 5 psig พบว่าไดโคฟอลสามารถหลุดออกจากระบบได้มากกว่า 95% เมื่อดำเนินระบบเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 480 นาที ดังนั้นจากเหตุผลข้างต้นจึงคาดว่ามีส่วนทำให้ในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรนมีประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลที่สูงกว่าในระบบถังปฏิกรณ์แบบกะ

ผลของสารละลายเหล็กที่มีต่อการกำจัดไดโคฟอลด้วยแลคเคส

จาก Figure 3 (A) ผลของการสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคสในถังปฏิกรณ์แบบกะ โดยใช้เวลาในการทดสอบทั้งสิ้น 480 นาที พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเหล็ก ส่งผลให้ประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลลดลงเช่นเดียวกับในกรณีของการเติม NOM และจากการนำข้อมูลการลดลงของไดโคฟอล ไปคำนวณอัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยาและสร้างความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลของอัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยากับความเข้มข้นของไดโคฟอลในกรณีที่ไม่มีและมีการเติมเหล็กที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าเกิดการยับยั้งปฏิกิริยาการสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคสในรูปแบบของการยับยั้งแบบแข่งขัน

จากการทดสอบในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เมมเบรน ดังแสดงใน Figure 3 (B) พบว่ายิ่งเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเหล็กสูงขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลยิ่งลดลงเช่นกัน และเมื่อพิจารณาที่ช่วงเวลา 0-240 นาที ของทุกความเข้มข้น พบว่าประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลเริ่มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งที่เวลา 300 นาทีเป็นต้นไป การสลายไดโคฟอลเพิ่มขึ้นน้อยมาก และจุดที่น่าสังเกตคือที่ความเข้มข้นสารละลายเหล็กในช่วง 0-1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการสลายไดโคฟอลได้เท่ากันคือ 100% ที่เวลา 240 นาที ซึ่งอาจเป็นเพราะการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเหล็กที่ระดับต่ำๆ ส่งผลต่อการสลายไดโคฟอลเพียงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับในกรณีที่ไม่เติมสารละลายเหล็กในระบบ ในขณะที่ความเข้มข้นของสารละลายเหล็กในช่วง 10-50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการสลายไดโคฟอลลดลงเท่ากับ 83.27 – 88.05% ที่เวลา 240 นาที ตามลำดับ

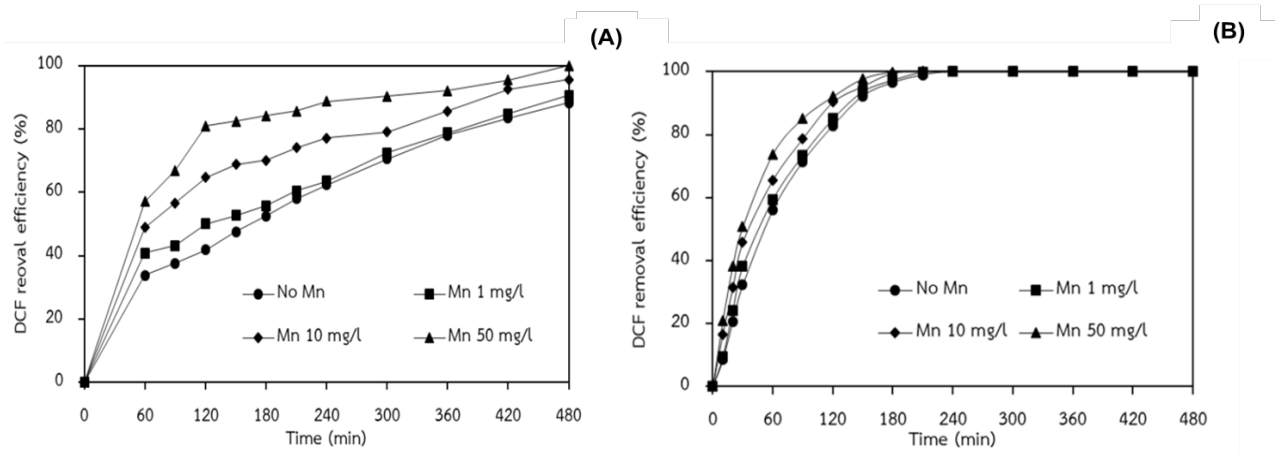

Figure 4 effect of Mn concentration to dicofol removal, (A) batch reactor (B) membrane bioreactor

ผลการพิจารณาการสลายไดโคฟอลที่เวลา 480 นาที ทั้งในระบบถังปฏิกรณ์แบบกะและถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน Figure 3 (A) และ (B) พบว่ามีการสลายไดโคฟอลได้เท่ากับ 88.25, 75.82, 60.71 และ 45.32% และ 100, 100, 95.43 และ 93.45% ตามลำดับ จากการศึกษาข้างต้นจะสังเกตเห็นว่าประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลในถังปฏิกรณ์แบบกะค่อนข้างที่จะต่ำกว่าการสลายไดโคฟอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน และคาดว่าผลดังกล่าวน่าจะเกิดจากแผ่นเมมเบรนที่ใช้ในระบบ ซึ่งข้อจำกัดของการใช้เมมเบรนโดยทั่วไปคือเมื่อดำเนินระบบถึงช่วงระยะเวลาหนึ่งๆ จะเกิดการสะสมและอุดตันบริเวณผิวหน้าและภายในรูพรุนของแผ่น เมมเบรนเอง โดยการอธิบายจะเป็นในลักษณะเช่นเดียวกับในกรณีของผลของการเติม NOM ที่มีต่อการสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคส

ผลของสารละลายแมงกานีสที่มีต่อการกำจัดไดโคฟอลด้วยแลคเคส

จาก Figure 4 (A) ศึกษาการสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคสในระบบถังปฏิกรณ์แบบกะ พบว่าการเพิ่มความเข้นข้นของสารละลายแมงกานีสในระบบ ทำให้ประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลเพิ่มขึ้นไปด้วย ซึ่งจะแตกต่างจากในกรณีของการเติมสาร NOM และ สารละลายเหล็กในการทดลองก่อนหน้านี้ โดยพบว่าที่เวลา 480 นาที ประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลในกรณีที่เติมสารละลายแมงกานีสตั้งแต่ 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในทุกความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 80% ซึ่งคาดว่าการเติมสารละลายแมงกานีสทำให้ประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลดีขึ้น เนื่องจากแมงกานีสอาจไปช่วยให้เอนไซม์ทำงานได้ดีขึ้น และนอกจากนี้ในงานวิจัยของ[14] ได้ทำการศึกษาผลของโลหะหนักต่อค่ากิจกรรมการทำงานของโปรตีเอสจาก *Aspergillus niger* KIBGE-IB36 พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของแมงกานีสส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวมีค่ากิจกรรมการทำงานเพิ่มขึ้น

ผลจากการศึกษาการสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคสในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน ดังแสดงใน Figure 4 (B) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของแมงกานีส ทำให้ประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลด้วยแลคเคสเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน และยิ่งใช้เวลาในการสลายในระบบนานขึ้น ในช่วง 0-240 นาที ประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลก็ยิ่งเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ อย่างรวดเร็ว จนกระทั่งที่เวลา 240 นาทีเป็นต้นไป พบว่ามีประสิทธิภาพของการสลาย ไดโคฟอลได้ 100% ในทุกความเข้มข้นของแมงกานีส ดังนั้นผลจากการสลายไดโคฟอลที่เวลา 480 นาที ทั้งในระบบถังปฏิกรณ์แบบกะและถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน Figure 4 (A), (B) พบว่ามีการสลายไดโคฟอลได้เท่ากับ 88.25, 78.53, 91.51 และ 100% ของระบบถัง

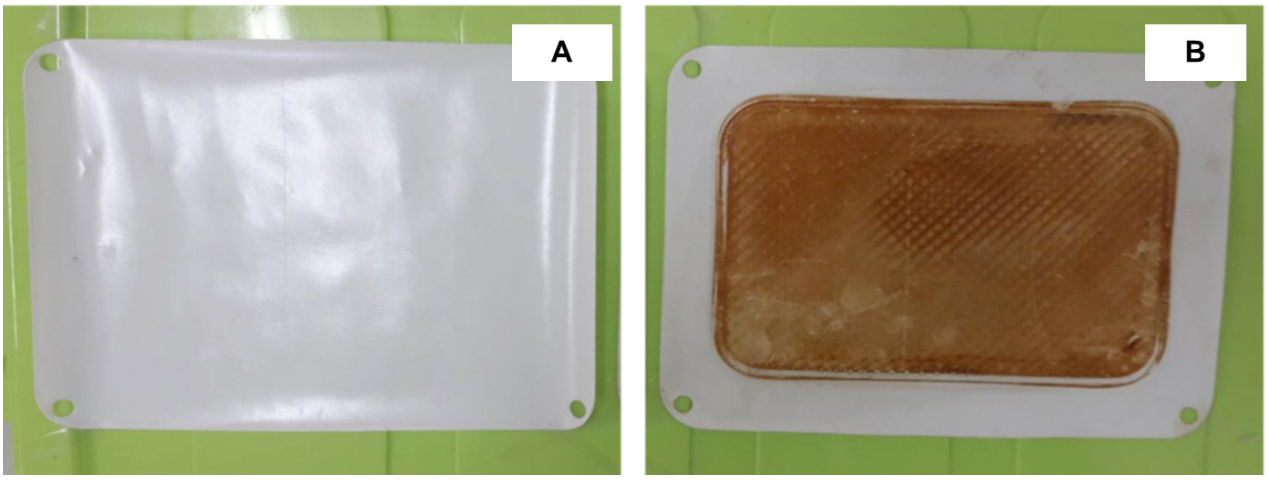

Figure 5 Physical characteristics of membranes, (A) before (B) after

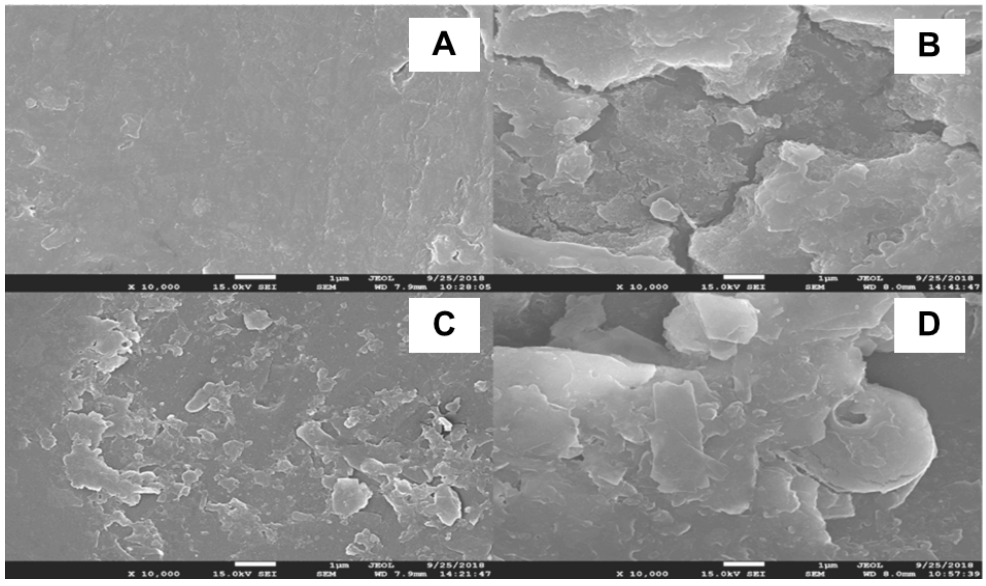

Figure 6 Membrane SEM surface images: (A) before (B) after the addition of NOM (C) after the addition of Fe (D) after the addition of Mn

ปฏิกรณ์แบบกะ และ 100% ในทุกความเข้มข้นของ แมงกานีสของระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน ซึ่งข้อมูลที่ได้ต่างจากการเติมสาร NOM และสารละลายเหล็กในระบบดังที่นำเสนอข้อมูลไปก่อนหน้านี้ ดังนั้นจึงอาจจะสรุปได้ว่าสารละลายแมงกานีสเป็นสารที่ช่วยส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์แลคเคส จึงทำให้ประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลสูงกว่าในกรณีที่เติมสาร NOM และสารละลายเหล็ก (ซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว) และจากผลการศึกษาข้างต้นจะเห็นว่าประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลในถังปฏิกรณ์แบบกะก็ยังคงต่ำกว่าการสลายไดโคฟอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน ซึ่งผลดังกล่าวน่าจะเกิดจากการสะสมและการอุดตันของอนุภาคต่างๆ ที่สามารถเกิดขึ้นได้ในระบบของเมมเบรนเช่นกัน

ลักษณะของแผ่นเยื่อกรองก่อนและหลังใช้งาน

ศึกษาลักษณะทางกายภาพก่อนและหลังใช้งานของแผ่นเยื่อกรอง พบว่าแผ่นเยื่อกรองก่อนเข้าระบบ Figure 5 (A) แผ่นเยื่อกรองมีลักษณะขาวสะอาด แต่เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นเยื่อกรองหลังเข้าระบบ Figure 5 (B) พบว่าหลังดำเนินระบบเป็นระยะเวลา 480 นาที ในกรณีที่ใช้ความเข้มข้นของไดโคฟอลที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เท่ากับ 4.32 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นของ NOM ที่ใช้เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่าส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์รวมถึงสาร NOMเกาะบริเวณผิวหน้าของเยื่อกรอง (เนื่องจากสีของเอนไซม์มีสีน้ำตาลอมเหลือง ส่วนสีของ NOM มีสีน้ำตาลแดง) สำหรับในกรณีที่ไม่ได้เติม NOM ในระบบ จะพบว่าผิวหน้าของเมมเบรนมีสีน้ำตาลอมเหลืองอ่อนๆ ซึ่งเป็นสีของเอนไซม์แลคเคส (ไม่แสดงผล) ดังนั้นพิจารณาผลข้างต้นพบว่าลักษณะทางกายภาพในกรณีที่ศึกษาได้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้อธิบายเหตุผลในกรณีที่ศึกษาผลของ NOM ที่มีต่อการกำจัดไดโคฟอลด้วยแลคเคส ด้วยระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน

สำหรับการศึกษาลักษณะของพื้นผิวเยื่อกรองก่อนและหลังใช้งาน ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscopy) ด้วยกำลังขยาย 10,000 เท่า พบว่า ก่อนใช้งานเยื่อกรอง Figure 6 (A) มีลักษณะพื้นผิวที่เรียบทั่วทั้งแผ่น และหลังใช้งานในกรณีที่มีการเติมสารอินทรีย์ธรรมชาติ Figure 6 (B) พบว่ามีการซ้อนทับของสารเป็นชั้นๆ อย่างหนาแน่น ส่วนการเติมสารละลายเหล็ก Figure 6 (C) พบว่ามีการสะสมของสารละลายเหล็กบริเวณผิวหน้าของแผ่นเยื่อกรอง พื้นผิวขรุขระทั่วทั้งแผ่น และการเติมสารละลายแมงกานีส Figure 6 (D) พบว่ามีสารละลายแมงกานีสมีการเกาะบริเวณผิวหน้าของเยื่อกรองและซ้อนทับกัน

สรุปผลการศึกษา

เอนไซม์แลคเคสที่สกัดจาก *Lentinus polychrous* Lev. สามารถสลายไดโคฟอลได้ในทั้งสองระบบ โดยความเข้มข้นของไดโคฟอลที่ใช้เท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เริ่มต้นเท่ากับ 4.32 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ค่าพีเอชเท่ากับ 7 เมื่อศึกษาในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เมมเบรนในกรณีที่เติมและไม่เติม NOM และสารกลุ่มโลหะหนักจำพวกเหล็กและ

แมงกานีส ที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีประสิทธิภาพการสลาย ไดโคฟอลมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของ NOM และสารละลายเหล็กเพิ่มขึ้น โดยประสิทธิภาพการสลายมีค่าไม่ต่ำกว่า 80% ที่เวลา 480 นาทีของสารดังกล่าว สำหรับในกรณีที่เติมสารละลายแมงกานีส ซึ่งใช้ความเข้มข้นเดียวกันกับข้างต้น พบว่าประสิทธิภาพการสลายไดโคฟอลเท่ากับ 100% ในทุกกรณี ที่เวลา 480 นาที

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากทุนการศึกษาวิจัยสำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และคณะวิศวกรรมศาสตร์ สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี สำหรับการอนุเคราะห์เครื่องมือ ตลอดจนสถานที่ทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1 Hoekstra, P. F., Burnison, B. K., Garrison, A. W., Neheli, T., & Muir, D. C. (2006). Estrogenic activity of dicofol with the human estrogen receptor: Isomer- and enantiomer-specific implications. Chemosphere, 64(1), 174-177.

2 Settimi, L., Masina, A., Andrion, A., &Axelson, O., Prostate cancer and exposure to pesticides in agricultural settings. International Journal of Cancer, 2003. 104(4): p. 458-461.

3 Hoekstra, P. F., Burnison, B. K., Garrison, A. W., Neheli, T., & Muir, D. C. (2006). Estrogenic activity of dicofol with the human estrogen receptor: Isomer- and enantiomer-specific implications. Chemosphere, 64(1), 174-177.

4 Marmot, M., Allen, J., Bell, R., Bloomer, E., &Goldblatt, P. (2012). WHO European review of social determinants of health and the health divide. The lancet, 380(9846), 1011-1029.

5 Robles-Hernández, L., González-Franco, A. C., Crawford, D. L., & Chun, W. W. (2008). Review of environmental organopollutants degradation by white-rot basidiomycete mushrooms. *Tecnociencia Chihuahua*, *2*(2), 32-40.

6 Marmot, M., Allen, J., Bell, R., Bloomer, E., &Goldblatt, P. (2012). WHO European review of social determinants of health and the health divide. The lancet, 380(9846), 1011-1029.

7 สุพจน์ ปุนบุตร และกรรณิกา รัตนพงศ์เลขา “การตรึงแลคเคสและเปรียบเทียบการใช้ในถังปฏิกรณ์แบบกะและแบบไหลต่อเนื่องในหอบรรจุสำหรับกำจัดพาราเซตามอล” วารสารวิชาการ วิศวกรรมศาสตร์ ม.อบ. ปีที่ 10 ฉบับที่ 2

8 Rosconi, F., Fraguas, L. F., Martínez-Drets, G., & Castro-Sowinski, S. (2005). Purification and characterization of a periplasmiclaccase produced by Sinorhizobiummeliloti. *Enzyme and Microbial technology*, 36(5-6), 800-807.

9 Zhai, Z., Yang, T., Zhang, B., & Zhang, J. (2015). Effects of metal ions on the catalytic degradation of dicofol by cellulase. *Journal of Environmental Sciences*, 33, 163-168.

10 Shin, K.-S. and Y.-J.Lee, Purification and characterization of a new member of the laccase family from the white-rot basidiomycete Coriolushirsutus.Archives of Biochemistry and Biophysics, 2000.384(1): p. 109-115.

11 Bradford, M.M., 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): p. 248-254.

12 Qiu, X., et al., Contribution of dicofol to the current DDT pollution in China. Environmental Science & Technology, 2005. 39(12): p. 4385-4390.

13 Zhai, Z., et al., Effects of metal ions on the catalytic degradation of dicofol by cellulase. Journal of environmental sciences, 2015. 33: p. 163-168.

14 Zhang, J., et al., Removal of dicofol from water by immobilized cellulase and its reaction kinetics. Journal of environmental management, 2011. 92(1): p. 53-58.

15 Jiang, W., et al., Influence of NOM and SS on the BPA removal via peroxidase catalyzed reactions: Kinetics and Purification Technology, 2017. 173: p. 244-249.