บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมซึ่งมีรายได้หลักมาจากการส่งสินค้าในภาคการเกษตรสู่ตลาดต่างประเทศไม่ว่าจะเป็นพืชสวน พืชไร่ ยางพารา และผลไม้ชนิดต่างๆ โดยอ้อยถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอันดับ3 ของประเทศรองจากข้าว มันสำปะหลังหรือยางพารา การปลูกอ้อยมีอยู่ทุกภาคของประเทศยกเว้นภาคใต้ สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย รายงานผลการสำรวจพื้นที่ปลูกอ้อยประจำปีการผลิต 2556/57 พบว่ามีพื้นที่เพาะปลูกอ้อยในเขตพื้นที่สำรวจรวม 48 จังหวัด จำนวน 10,078,025 ไร่ แบ่งเป็นพื้นที่ปลูกอ้อยส่งโรงงาน 9,234,253 ไร่และพื้นที่ปลูกอ้อยทำพันธุ์ 843,772 ไร่ โดยมีพื้นที่เพิ่มขึ้นจากปี การผลิต 2555/56 จำนวน 590,705 ไร่หรือร้อยละ 6.23 เนื่องจากมีปัจจัยสนับสนุนด้านราคาอ้อยที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ตลอดจนปริมาณน้ำฝนและสภาพภูมิอากาศที่เอื้ออำนวยต่อการเพิ่มผลผลิตอ้อยอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการเก็บเกี่ยวอ้อยส่งโรงงาน ด้วยปัจจัยด้านราคาดังกล่าวข้างต้นจึงเป็นแรงจูงใจให้เกษตรกรขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นจึงทำให้มีอัตราการใช้สารกำจัดวัชพืชในแปลงอ้อยเป็นจำนวนมากอย่างสม่ำเสมอโดยสารที่นิยมใช้กันมากที่สุดชนิดหนึ่งคือสารอาทราซีน เนื่องจากเป็นสารกำจัดวัชพืชที่มีราคาถูกมาก แต่ในฤดูหนึ่งต้องใช้รวมกันไม่ควรเกิน 1,500 กรัม สารออกฤทธิ์ต่อไร่ ถ้าใช้เกินกว่านี้จะมีปัญหาสารตกค้างของอาทราซีนในน้ำใต้ดิน ทำให้ปัจจุบันประเทศไทยกำลังประสบปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษประเภทสารกำจัดวัช พืชในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในแหล่งน้ำและดินบริเวณพื้นที่การเกษตร ซึ่งเป็นอันตรายต่อประชากรที่อาศัยอยู่ในบริเวณดังกล่าว และสารพิษเหล่านี้อาจปนเปื้อนสู่ผลผลิตทางการเกษตรทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคโดยตรง ประเทศไทยมีการนำเข้าอาทราซีนมากเป็นอันดับสองของสารกำจัดวัชพืชรองจาก 2,4 D (2,4 Dichloro-phenoxyacetic acid) ส่วนมากนำมาใช้กำจัดวัชพืชในไร่ข้าวโพด อ้อย และข้าวฟ่าง อัตราการใช้เฉลี่ยประมาณ 500-1,000 กิโลกรัมต่อตารางกิโลเมตร ขึ้นกับชนิดของดิน และสภาวะแวดล้อมอื่นๆ และได้มีการตรวจพบสารอาทราซีนปนเปื้อนในน้ำผิวดินและน้ำใต้ดินในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทยด้วย (ศิวาภรณ์ และคณะ, 2545; สุพัตรา 2548; K. Solomon และคณะ, 1996) สารอาทราซีนเหล่านี้เป็นพิษต่อ แบคทีเรีย แพลงก์ตอนพืช สัตว์ และมนุษย์ (W.J. Hayes, 1982; A.E. Pipe, 1992) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาแนวทางในการแก้ปัญหาการปนเปื้อนนี้

อาทราซีน (Atrazine) เป็นสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มไตรอะซีน (Triazine) ที่ประกอบด้วย atrazine, simazine และ cyanazine มีน้ำหนักโมเลกุล 215.72 อาทราซีนออกฤทธิ์ในการป้องกันไม่ให้วัชพืชเกิดการสังเคราะห์แสง มีการนำอาทราซีนมาใช้กันอย่างกว้างขวางทั่วโลกเป็นเวลานานกว่า 50 ปีมาแล้ว เช่นในประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศอื่นๆ โดยใช้อาทราซีนในการควบคุมวัชพืชใบกว้างในแปลงข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย สับปะรดและพืชอื่นๆ หลายชนิด (M.L. Fabrice และคณะ, 2006; J.P. Tomkins และคณะ,

2001) ในสภาพแวดล้อมธรรมชาติสารอาทราซีนมีการตกค้างสะสมอยู่ในดินโดยมีระยะคงตัวอยู่ในช่วงระหว่าง 4 ถึง 57 สัปดาห์และตกค้างคงตัวในน้ำได้นานถึง 100 วัน สำหรับการย่อยสลายของสารอาทราซีนในธรรมชาตินั้นเกิดโดยการสลายอาทราซีน ให้กลายเป็น deethylatrazine (DEA) และ deisopropylatrazine (DIA) โดยจุลินทรีย์ในดิน (E. Barriuso และ S. Houat, 1996) จากผลที่เกิดขึ้นนี้สารอาทราซีนและเมตาโบไลต์หลักๆคือ DEA และ DIA มักจะถูกตรวจพบในดิน น้ำผิวดิน และน้ำใต้ดินที่ความเข้มข้นสูงเกินระดับมาตรฐาน European Union Standard ที่ 0.1 μl/l (F.E. Pick และคณะ, 1992; N. Spliid และ B. Koppen, 1998) การปนเปื้อนของอาทราซีนในดิน อากาศ และแหล่งน้ำนำไปสู่การสะสมเป็นระยะเวลานานในห่วงโซ่อาหารซึ่งจากผลดังกล่าวนี้จึงทำให้สารกำจัดวัชพืชชนิดนี้ถูกกำหนดให้เป็นสารต้องห้ามในหลายๆประเทศในทวีปยุโรป ได้แก่ ประเทศออสเตรีย เดนมาร์ก ฝรั่งเศส เยอรมันนี อิตาลี นอร์เวย์และสวีเดน

จากรายงานการศึกษาต่างๆถึงการตรวจพบการสะสมของสารอาทราซีนในแหล่งน้ำธรรมชาตินี้จึงทำให้หน่วยงานด้านสิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกา ได้แก่ Environmental Protection Agency (EPA) และ Office of Water (OW) ได้ร่วมกันกำหนดเกณฑ์ความปลอดภัยสำหรับน้ำดื่ม ในปี ค.ศ. 1991 ซึ่งกำหนดไว้ว่าน้ำดื่มต้องมีสารอาทราซีนปนเปื้อนไม่เกิน 3 ppb (Maximum Contaminant Level, MCL) เนื่องจากอาทราซีนจะถูกเมตาบอไลส์เป็นสารประกอบ hydroxy atrazine และ chlorinated atrazine โดยที่ hydroxy atrazine เป็นเมตาบอไลส์ที่พบเป็นองค์ประกอบหลักในพืช ส่วน chlorinated atrazine เป็นเมตาบอไลส์ที่พบในดินและน้ำ ดังนั้นโอกาสที่จะได้รับพิษจาก chlorinated atrazine จึงมาจากการดื่มน้ำเป็นส่วนใหญ่ ส่วนพิษที่เกิดจาก hydroxy atrazine จะถูกส่งผ่านทางอาหาร โดยการรับประทานพืชและสัตว์ที่กินพืชเป็นอาหาร อีกทั้งยังพบว่าสารอาทราซีนเป็นสารที่ยับยั้งหรือลดปริมาณฮอร์โมน (endocrine disruptor) ที่ไปมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเพศ ของสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำในทางผิดปกติอีกด้วย (T.B. Hayes และคณะ, 2003; Y. Hase และคณะ, 2008)

ในช่วงหลายปีมานี้หลายประเทศทั่วโลกมีความกังวลเป็นอย่างมากเกี่ยวกับปัญหาความเป็นพิษและผลกระทบที่เกิดจากการตกค้างของสารอาทราซีนที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมซึ่งมีปริมาณที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง (A.D. Crain และคณะ, 1997; T.B. Hayes และคณะ, 2002) จึงทำให้เกิดความตื่นตัวเป็นอย่างมากในการศึกษาและวิจัยเพื่อหาวิธีการบำบัดสารมลพิษที่ตกค้างในบริเวณต่างๆ ทั้งในดินและน้ำโดยวิธีการที่แตกต่างกัน และวิธีการหนึ่งที่ได้รับการส่งเสริมให้มีการวิจัยกันอย่างกว้างขวางคือ การบำบัดสารมลพิษโดยวิธีการทางชีวภาพ หรือ Bioremediation เนื่องจากเป็นวิธีที่มีต้นทุนค่าใช้จ่ายน้อยและไม่มีผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม ซึ่งมีการศึกษากันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศโดยเฉพาะในประเทศสหรัฐอเมริกา แคนาดา และประเทศจีน เป็นต้น ซึ่งงานวิจัยแขนงหนึ่งที่เป็นการศึกษาพื้นฐานเพื่อเป็นองค์ความรู้ในการรองรับการพัฒนาวิธีการบำบัดโดยชีววิธีนี้คือการค้นหาและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยสารอาทราซีนซึ่งคาดว่าจุลินทรีย์เหล่านี้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอาทราซีนได้ รวมทั้งได้มีการศึกษาถึงคุณสมบัติและความสามารถของจุลินทรีย์เหล่านั้นในการย่อยสลายสารอะทราซีนด้วย (R.K. Ralebitso และคณะ, 2002; E. Topp และคณะ, 1995; V. Vanderheyden และคณะ, 1997) และจากผลการวิจัยหลายๆ ฉบับพบว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดที่คัดแยก

ได้และมีความสามารถในการย่อยสลายสารอาทราซีน ได้แก่ *Nocardia* (M.T. Giardi และคณะ 1985), *Pseudomonas* (R.T. Mandelbaum และคณะ, 1995), *Ralstonia* (M. Radosevich และคณะ, 1995), *Alcaligen* (M.L. de Souza และคณะ, 1998b), *Rhodococcus* (R.M. Behki และคณะ, 1993), *Acinetobacter* (I. Mirgain และคณะ, 1993), *Rhizobium* (C. Bouquard และคณะ, 1997), *Agrobacterium* (J.K. Struthers และคณะ, 1998) และ *Clavibacter* (M.L. de Souza และคณะ, 1998a) เป็นต้น

ในประเทศไทยมีความหลากหลายทางทรัพยากรธรรมชาติที่เหมาะสมสำหรับการคัดแยกจุลินทรีย์สายพันธุ์ใหม่ที่สามารถย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชอาทราซีนได้โดยเฉพาะในบริเวณที่มีการใช้สารอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ซึ่งตั้งแต่ปีพ.ศ. 2553 เป็นต้นมา ข้าพเจ้า อ.ดร.โสพิศ สว่างจิตรได้ทำการศึกษา คัดแยกเชื้อแบคทีเรียย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชอาทราซีนจากพื้นที่ต่างๆของประเทศไทยอย่างต่อเนื่องและสามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ย่อยสลายสารอาทราซีนได้ทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ *Rhizobium sp.*, *Stenotrophomonas sp, Burkholderia sp*, *Klebsiella* sp. และ *Ochrobactrum* sp. (โสพิศ และคณะ, 2553; โสพิศ และคณะ, 2555ก; โสพิศ และคณะ, 2555ข) และจากโครงการวิจัยเรื่อง "การประเมินความสามารถในการย่อยสลายสารอาทราซีนของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ไทยในดินปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืชในพื้นที่ตำบลดอนชะเอม อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี" ซึ่งได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประเภททุนวิจัยนวมินทร์ ด้านทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (ดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 นั้น ผลที่ได้พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ไทยที่มีความสามารถในการย่อยสลายอาทราซีนได้ในอัตราสูงได้แก่เชื้อ *Burkholderia sp.* สายพันธุ์ ARB (โสพิศ และคณะ, 2555ข)

โครงการวิจัยครั้งนี้เป็นโครงการที่ดำเนินการต่อเนื่องเพื่อขยายผลต่อจากโครงการวิจัยเรื่อง"การประเมินความสามารถในการย่อยสลายสารอาทราซีนของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ไทยในดินปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืชในพื้นที่ตำบลดอนชะเอม อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี" เพื่อให้เกิดผลผลิตจากงานวิจัยที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง เป็นการนำงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยสู่ชุมชนอย่างแท้จริง ในการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการผลิตเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia sp.* สายพันธุ์ ARB ที่ถูกบรรจุอยู่ในเม็ดอัลจิเนตเพื่อให้อยู่ในรูปที่สะดวกและมีประสิทธิภาพสูงในการนำไปใช้ย่อยสลายสารอาทราซีนในสภาพแวดล้อม รวมทั้งศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายกับเซลล์แบคทีเรียที่อยู่ในรูปแบบเซลล์อิสระอีกด้วย โดยผลการวิจัยที่ได้นี้สามารถใช้เป็นองค์ความรู้และข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาปรับปรุงวิธีการและรูปแบบของการนำไปใช้ในการบำบัดและการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชที่ตกค้างในสภาพแวดล้อมต่างๆทั้งในดินและน้ำโดยวิธีการทางชีวภาพให้มีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายอาทราซีนในพื้นที่จริงต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เป้าหมายสูงสุดของงานวิจัยนี้มุ่งเน้นไปที่การผลิตและทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอาทราซีนของแบคทีเรียที่อยู่ในรูปเม็ดบีดอัลจิเนต เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชอาทราซีนของแบคทีเรียสายพันธุ์ไทยที่อยู่ในรูปแบบที่ต่างกัน ดังนั้นจึงกำหนดวัตถุประสงค์เป็นรายข้อดังนี้

1.2.1 เพื่อผลิตเม็ดบีดอัลจิเนตที่ห่อหุ้มแบคทีเรียย่อยสลายอาทราซีนสายพันธุ์ไทยและศึกษาอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์แบคทีเรียเมื่ออยู่ในรูปเม็ดบีดอัลจิเนต

1.2.2 ศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอาทราซีนที่สะสมในอาหารเหลวและสะสมในดินโดยเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ไทยที่อยู่ในรูปเซลล์อิสระและเซลล์ที่ห่อหุ้มด้วยเม็ดบีดอัลจิเนต

1.2.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอาทราซีนที่สะสมในอาหารเหลวและสะสมในดินโดยเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ไทยที่อยู่ในรูปเซลล์อิสระและเซลล์ที่ห่อหุ้มด้วยเม็ดบีดอัลจิเนต