บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

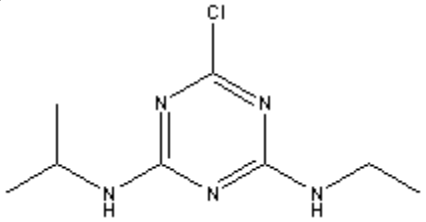
2.1 สารอาทราซีน **(Atrazine)**

สารอาทราซีนเป็นสารจำพวก xenobiotic compounds ชนิดหนึ่ง ซึ่งสารจำพวก xenobiotic compounds เป็นสารที่แปลกปลอมสำหรับสิ่งมีชีวิต มีความหมายที่หลากหลายและเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมทางเคมี สามารถเป็นได้ทั้งสารตั้งต้นและสารผลิตภัณฑ์ สารพวก xenobiotic compounds นี้มีโครงสร้างทางโมเลกุลที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์หรือผลผลิตของเอนไซม์ในธรรมชาติ สารพวก xenobiotic compounds เป็นสารที่มนุษย์สร้างขึ้นโดยกระบวนการทางอุตสาหกรรมและการสังเคราะห์ (O. Hutzinger และ W. Veerkamp, 1981) สารประกอบเหล่านี้เป็นสารประกอบที่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปได้ช้า จึงทำให้มีแนวโน้มที่จะเกิดการสะสมในสภาพแวดล้อมและยากต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ (R.M. Atlas และ R. Bartha, 1998) เนื่องจากการแทนที่ (substitutions) ของโมเลกุลที่แตกต่างไปจากธรรมชาติ อีกทั้งโครงสร้างของสารเป็นพันธะที่แข็งแรง และเป็นวงแหวน อโรมาติกซึ่งยากต่อการย่อยสลาย สารอาทราซีนเป็นสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม *s*-triazines ที่มีโครงสร้างหลักประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอน 3 อะตอมกับอะตอมของไนโตรเจน 3 อะตอม เรียงตัวสลับกันเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเดี่ยวสลับกับพันธะคู่เป็นรูปวงแหวน 6 เหลี่ยม (J.R. Stein, 1973) สารในกลุ่ม *s*-triazines เข้าสู่สภาพแวดล้อมในรูปของผลิตภัณฑ์ทางการค้า โดยเป็นสารที่ใช้ในการฟอกขาว สารพิษ โพลิเมอร์ และสารกำจัดวัชพืช ซึ่งสารกำจัดวัชพืชหลายชนิดที่นำมาใช้เป็นสารในกลุ่ม *s*-triazines เช่น สารอาทราซีน ซิมาซีน ไซยานาซีน อามีทริน และโพมิทริน (C. Mouginyet และคณะ, 1994) โดยสารเหล่านี้จะแตกต่างกันที่การแทนที่ในตำแหน่งที่ 2 4 และ 6 ด้วยหมู่คลอรีน เมทอกซิล และเมทิลไธโอ สำหรับสารอาทราซีนถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในปี พ.ศ. 1955 มีสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ มีคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบเป็นรูปวงแหวนเช่นเดียวกับ *s*-triazines แต่สารอาทราซีนมีการแทนที่ด้วยหมู่คลอรีนในตำแหน่งที่ 2 สารอาทราซีนมีชื่อทางเคมีว่า 2- คลอโร- 4- เอสทริลอะมิโน- 6- ไอโซ โพพริลอะมิโน- 1, 3, 5-เอส-ไตรอะซีน (2-chloro-4-ethylamino-6-isopropylamino-1,3,5- *s*-triazines)

2.2 องค์ประกอบทางเคมี

ชื่อสามัญ atrazine

สูตรโครงสร้างทางเคมี



ชื่อทางเคมี 2-Chloro-4-ethylamino-6-isopropylamino-1,3,5-s-triazine

สูตรโมเลกุล $C_8H_{14}ClN_5$
น้ำหนักโมเลกุล 215.69
ลักษณะทางกายภาพ ผลึกขาวใส ไม่มีสี
จุดหลอมเหลวและจุดเดือด จุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 175-177°C และจุดเดือด 200°C
สามารถละลายได้ในน้ำความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสภาพ pH เท่ากับ 7 ที่อุณหภูมิ 20°C และสามารถละลายในสารละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้เช่นกัน

2.3 ชื่อทางการค้า

Gesaprim, Aatrex, Atratol, Bicep, Primapol A (Ciba-Geige), Aktikon (Chemolimpex), Atazinax (Pepro), Griffex (Griffin), Zeazin (Rumianca), Atranex (Makhteshim Agan), Atrataaf (Rallis India), Hungazin (Chemolimpex), Inakor, Maizina (Sipcam), Mebazine (Rhone-Poulenc), Radazin, Vectal (Schering), Zeapos (Chemolimpex), Zeazin (Rumianca), Bullet, Boxer, lariat (Monsanto), Twintrazin และ Wataprim เป็นต้น

2.4 การนำไปใช้ทางการเกษตร

เป็นสารเลือกทำลายชนิดใช้ทางดิน แบบก่อนงอก สามารถควบคุมวัชพืชใบกว้างและพืชวงศ์หญ้า เช่น หญ้านกสีชมพู และหญ้าหางจิ้งจอก เป็นต้น ในพืชปลูกข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย สับปะรด ต้นคริสต์มาส ต้นสนที่ใช้ในการปลูกป่า หน่อไม้ฝรั่ง พืชวงศ์ส้ม กล้วย มะคาเดเมีย กาแฟ น้ำมันปาล์ม กุหลาบ และยังใช้เป็นสารไม่เลือกทำลายในพื้นที่ที่ไม่ได้ทำการเกษตร ซึ่งอาจเป็นพิษกับพืชปลูกหลายชนิด เช่น ผัก มันฝรั่ง ถั่งลิสง ถั่วเหลือง เป็นต้น ไม่ควรใช้สารในขณะลมแรง

รูปที่ใช้กัน dry flowable, flowable liquid, liquid, water dispersible granular และ wettable powder เป็นต้น สารที่สามารถนำมาผสมกันได้ เช่น alachlor, bentazone, bromofenoxim, bromoxynil, eyanazine, amitrole, imazapyr, pyridate amitrole + 2,4-D, amitole + simazine, dichlobenil, diuron, diuron + simazine, mecoprop + 2,4,5-T, metolachlor, pendimethalin, simazine และสารชนิดอื่น เป็นต้น

2.5 ข้อมูลการเป็นพิษ

สารอาทราซีน (atrazine) ถูกจัดอันดับความเป็นพิษในกลุ่ม 3 ในเดือนธันวาคม ปี ค.ศ. 1994 ทาง EPA ออกประเทศเลิกห้ามไม่ให้ใช้ มีค่า LD50 ทางปาก ในหนู 3,090 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในแฮมเตอร์ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า LD50 ทางผิวหนัง ในกระต่าย 7,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในหนู $>$ 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

จากการทดลองหนูที่ได้รับสาร 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน จะตายไปในเวลา 6 เดือน เนื่องจากเป็นอัมพาตระบบการหายใจถูกรบกวน มีการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างและทางเคมีของสมอง หัวใจ ตับ ปอด ไต ซึ่งคาดว่าสามารถทำให้เกิดมะเร็งได้ ในคนที่ได้รับปริมาณมากจะแสดงอาการ ปวดท้องน้อย คลื่นเหียน อาเจียน ในหนูทดลองพบว่าจะมีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้นร่วมด้วยอาการชักกระตุก สั่น ต่อมากล้ามเนื้อจะอ่อนล้า หายใจลำบาก หมดกำลัง ชัก และตายภายในที่สุด ส่วนไอของสารจะทำให้ตาเกิดอาการระคายเคือง และเกิดปฏิกิริยากับผิวหนังได้

ความเป็นพิษกับสัตว์ชนิดอื่นๆ ไม่เป็นพิษกับนกและผึ้ง เป็นพิษน้อยกับปลาและสัตว์น้ำ การย่อยสลายในคนและสัตว์ ปริมาณ 20% ของสารจะถูกขับถ่ายออกมาภายใน 72 ชั่วโมง และ อีก 80% จะถูกดูดซึมทางระบบทางเดินอาหารและเข้าสู่เส้นเลือดหลังจากนั้น 65-75% จะถูกกำจัดออกในรูป urine และอีก 15%จะถูกสะสมไว้ในเนื้อเยื่อของตับ ไต และปอด

2.6 กลไกการทำงานของสารอาทราซีนในพืช

พืชจะดูดซึมสารอาทราซีนเข้าไปภายในต้นพืชผ่านทางวิถีทางอะโพพลาสต์ (apoplastic pathway) ซึ่งเป็นช่องทางการลำเลียงน้ำของพืช และสารอาทราซีนจะเคลื่อนย้ายไปในส่วนของใบแล้วไปขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช โดยกลไกการทำงานของสารอาทราซีนที่ปรากฏส่วนใหญ่จะเป็นการขัดขวางความสามารถของพืชในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ในกระบวนการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนในระบบแสง II สารอาทราซีนจะไปขัดขวางการทำงานของตัวรับอิเล็กตรอนลำดับที่สอง คือ พลาสโตควิโนน (Q_B) (Arntzen และคณะ, 1982) โดยสารอาทราซีนจะเข้าไปจับกับโปรตีน D ไ ซึ่งเป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของพลาสโตควิโนน (Q_B) มีผลทำให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชไม่สมบูรณ์ และทำให้เกิดการสะสมซิงเลต ออกซิเจน (singlet oxygen) ซึ่งจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาเพอริออกซิเดชัน (perioxidation) ทำให้เม็ดสีที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงและลิพิดในเยื่อถูกทำลาย

2.7 การย่อยสลายสารอาทราซีน

การย่อยสลายสารอาทราซีนโดยจุลินทรีย์ในอดีตนั้นยังไม่เป็นที่ยอมรับกันมากนัก ถึงแม้จะมีการค้นพบจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปสารเคมีในกลุ่ม เอส-ไตรอะซีน แต่จุลินทรีย์เหล่านั้นก็ไม่สามารถเปลี่ยนรูปของสารอาทราซีนได้ ตัวอย่างเช่น เอนไซม์จาก *Rhodococcus corallines* สามารถทำให้เกิดดีคลอริเนชัน (dechlorination) กับสารในกลุ่มของคลอโร-เอส-ไตรอะซีน แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอาทราซีน (Mulbry, 1994) แต่ต่อมาเมื่อได้มีการแยกเชื้อบริสุทธ์ที่มีความสามารถในการเมแทบอไลซ์สารอาทราซีน (Boundy-Mills และคณะ, 1997 ; Bouquard และคณะ, 1997 ; de Souza และคณะ, 1998c ; Mandelbaum และคณะ, 1995 ; Mandelbaum และคณะ, 1993; Mulbry, 1994; Nagy และคณะ, 1995 ; Struthers และคณะ, 1998; Yanze-Kontcou และ Gschwind, 1994) แนวคิดเรื่องการย่อยสลายสารอาทราซีนในจุลินทรีย์จึงเริ่มเป็นที่ยอมรับ และพบว่าการย่อยสลายสารอาทราซีนและสารในกลุ่มเอส-ไตรอะซีน ในจุลินทรีย์เกิดขึ้นโดยกระบวนการเอ็น-ดีอัลคิลเลชัน และ ดีคลอริเนชัน (N-dealkylation และ dechlorination)

2.8 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารอาทราซีน

สำหรับสารพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารอาทราซีนนั้น เริ่มจากการค้นพบในจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารในกลุ่มเอส-ไตรอะซีน ก่อน ตัวอย่างเช่น สารเมลามีน ซึ่งในกระบวนการย่อยสลายสารเมลามีน เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นใน *Pseudomonas sp.* สายพันธุ์ NRRL B-1227 โดยยีน 3 ยีน คือ *trz*B, *trz*C และ *trz*D ซึ่งได้มีการศึกษาและแสดงให้เห็นว่าเกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายสารเมลามีน และยังพบกระบวนการย่อยสลายที่คล้ายคลึงกันนี้ใน *Klebsilla pneumonia* สายพันธุ์ 99 (Eaton and Karns, 1991a; 1991b) ในช่วงเวลาต่อมาได้มีการค้นพบยีน *trz*A ซึ่งควบคุมเอนไซม์ไฮโดรไลติก (hydrolytic enzyme) จาก *Rhodococcus corallines* NRRL B-15444 R (Mulbry, 1994) ที่สามารถทำปฏิกิริยาดีคลอลิเนชันและดีแอมมิเนชัน (dechlorination and deamination reactions) กับสารเอส-ไตรอะซีน ดีสเอทิลซิมาซีน (desethylsimazine) และดีสเอทิล อาทราซีน (desethylatrazine) และพบกลุ่มของยีนที่ควบคุมกระบวนการดีคอลลิเนชันหรือดีแอมมิเนชันของสาร

อาทราซีนใน *Rhodococcus* sp. สายพันธุ์ NR 86/21 ซึ่งมียีนที่เกี่ยวข้องคือ *thc*B, *thc*C และ *thc*D และเป็นยีนใน cytochrome P 450 system (Shao และคณะ, 1995) จากการศึกษาทำให้พบเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารอาทราซีนได้หลายชนิดดังนี้

Pseudomonas sp.

ในช่วงเวลาประมาณ 10 ปี ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการย่อยสลายอาทราซีนอย่างกว้างขวางในประเทศสหรัฐอเมริกา แคนาดา และฝรั่งเศส แต่ *Pseudomonas* สายพันธุ์ ADP เท่านั้น ที่มีการศึกษาในรายละเอียดของวิถีการย่อยสลายสารอาทราซีน และพบว่าขั้นตอนการย่อยสลายนี้มีความแตกต่างกับจุลินทรีย์ที่พบมาในอดีต ขั้นตอนการย่อยสลายสารอาทราซีนในสายพันธุ์ ADP ประกอบด้วย 6 ยีน ซึ่งอยู่บนพลาสมิดที่มีขนาด 108,000 คู่เบส คือ *atz*A, *atz*B, *atz*C, *atz*D, *atz*E และ*atz*F (Boundy-Mills และคณะ, 1997; de Souza และคณะ, 1996; de Souza และคณะ, 1995; Fruchey และคณะ, 2003; Martinez และคณะ, 2001; Sadowsky และคณะ, 1998; Shapir และคณะ, 2002) โดยแต่ละยีนจะมีหน้าที่ที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ยีนแรก *atz*A จะเปลี่ยนรูปของสารอาทราซีนเป็นไฮดรอกซีอาทราซีน (hydroxyatrazine) ยีนที่สอง คือ *atz*B จะเปลี่ยนรูป ไฮดรอกซีอาทราซีนเป็น เอ็น-ไอโซโพรพิลแอมเมไลด์ (N-isopropylammelide) ขั้นตอนต่อไปเป็นหน้าที่ของยีน *atz*C ซึ่งจะเปลี่ยน เอ็น- ไอโซโพรพิลแอมเมไลด์เป็น กรดไซยานูริก (cyanuric acid) อีก 3 ขั้นตอนประกอบด้วย *atz*D, E และ F ที่จะเปลี่ยนไซยานูริก ไปเป็นไบยูเรต (biuret) และ ไบยูเรต ไปเป็นอัลโลฟาเนต (allophanate) จนถึงขั้นสุดท้ายเปลี่ยนจากอัลโลฟาเนต (allophanate) เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย ในขณะเดียวกันยังมีการศึกษาอื่นๆ ที่พบว่าแบคทีเรียแกรมลบหลายชนิดซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายสารอาทราซีนนั้นมียีน *atz*A, *atz*B และ *atz*C อยู่และทำหน้าที่เหมือนกัน (de Souza และคณะ, 1998a)

Nocardioides sp.

หลังจากการค้นพบกระบวนการย่อยสลายสารอาทราซีนในสายพันธุ์ ADP แล้ว ต่อมาในปี พ.ศ 2000 ได้มีการค้นพบกระบวนการย่อยสลายสารอาทราซีน ซึ่งแตกต่างจากที่พบในสายพันธุ์ ADP โดยพบในจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรียแกรมบวก จุลินทรีย์ชนิดแรกคือ *Nocardioides* sp. C190 (Topp และคณะ, 2000) ซึ่งมี *trz*N เป็นยีนในขั้นตอนแรกของกระบวนการย่อยสลาย สำหรับ *trz*N มีลักษณะพิเศษกว่า *atz*A ตรงที่สามารถเปลี่ยนรูปสารเคมีในกลุ่ม เอส-ไตรอะซีน ได้หลายชนิด ในช่วงเวลาเดียวกันยังค้นพบจุลินทรีย์ประกอบด้วยแบคทีเรียแกรมบวก อีก 2 ชนิด คือ *Arthrobacter aurescens* สายพันธุ์ TCl ในจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดนี้มียีน *trz*N, *atz*B และ *atz*C ในการย่อยสลายสารอาทราซีน จากนั้นในปี 2003 ได้มีรายงานการพบ *Nocardioides* sp. ชนิดใหม่ในแปลงข้าวโพดที่มีความสามารถในการย่อยสลายอาทราซีนได้โดยการควบคุมของยีน *trz*N (Piutti และคณะ, 2003) ในปี 2006 Satsuma และคณะสามารถแยกเชื้อ *Nocardioides* ชนิดใหม่ 2 ชนิดจากดินตะกอนจากแม่น้ำในประเทศญี่ปุ่นและพบว่าสามารถย่อยอาทราซีนได้ทั้ง 2 ชนิด

Arthrobacter sp.

Arthrobacter เป็นจีนัส (genus) ของแบคทีเรียที่พบได้ในดิน *Arthrobacter* เป็นสมาชิกที่มีเปอร์เซ็นต์ของจำนวนเบส G+C ในปริมาณสูง (Jones และ Keddie, 1999) ทุกๆสปีชีส์ (species) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพที่มีออกซิเจนมีรูปร่าง 2 แบบ คือ ในการเจริญเติบโตช่วง exponential phase มีรูปร่างลักษณะแบบแท่ง (rods) และในช่วง stationary phase มีลักษณะกลม (cocci) (DePrada และคณะ, 1996 ; Loveland และคณะ, 1994)

จีนัสนี้มีลักษณะพิเศษ เนื่องจากมีพฤติกรรมที่ผิดปกติในช่วงการแบ่งเซลล์อย่างชัดเจนตรงรอยต่อของผนังเซลล์ชั้นนอก นักจุลชีววิทยากล่าวว่าชนิดของการแบ่งเซลล์จากลักษณะแท่งไปเป็นลักษณะกลมเป็นการกลับทิศทาง เมื่อดูใต้กล้องจุลทรรศน์จะเห็นว่าแบคทีเรียชนิดนี้แบ่งเซลล์เป็นรูปตัว V จากนั้นแบคทีเรียจะกลายรูปร่างเป็นลักษณะกลมซึ่งจะทนทานต่อสภาพที่แห้งแล้งและอดอยากซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการเอาตัวรอดของจุลินทรีย์ในดิน

Arthrobacter สามารถย่อยสลายสารประกอบได้หลายชนิด เช่น *Arthrobacter atrocyaneus* MCM B-425 สามารถเปลี่ยนรูปสารฆ่าศัตรูพืชโมโนโครโตฟอส (monocrotophos) ซึ่งเป็นออร์แกโนฟอสฟอรัส (Baitsch และคณะ, 2001) และพบ *Arthrobacter* sp. สายพันธ์ RC100 สามารถย่อยสลายสารคาร์บาริล (l-naphthyl N-methylcarbamate) ได้ โดยใช้สารคาร์บาริลเป็นแหล่งคาร์บอน (Hayatsu และคณะ, 2001) นอกจากนี้ยังพบ *Arthrobacter* ทั้งที่เป็นแบคทีเรียชนิดเดียว และชนิดที่ต้องอาศัยอยู่ร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่สามารถย่อยสลายสารประกอบที่ย่อยสลายยากได้อีกด้วย

Klebsiella sp.

จีนัส *Klebsiella* เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อนตรงยาวประมาณ 1-2 ไมโครเมตร กว้าง 0.5-0.8 ไมโครเมตร มีความหนาและสั้นกว่าเอนเทอโรแบคทีเรียชนิดอื่นๆ สมาชิกในจีนัสนี้มีแคปซูล จึงทำให้โคโลนีเป็นเมือก และทำให้เชื้อมีความรุนแรง โดยแคปซูลจะสร้างได้มากเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตจำนวนมาก โคโลนีมีเมือกมากและมีสีขาวปนเทา โคโลนีบนอาหารผสมเลือดมีขนาดใหญ่และเป็นเมือกมาก เชื้อนี้ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีฟิมเบรีย (fimbriae) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิตั้งแต่ 12-43 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิเหมาะสมคือ 37 องศาเซลเซียส) เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้จะถูกฆ่าตายด้วยความร้อนชื้นที่อุณหภูมิ 55 °C ภายใน 30 นาที สามารถทนความแห้งได้หลายเดือน และเมื่อเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องเชื้อยังมีชีวิตได้หลายเดือน การดำรงชีวิตเป็นฟาคัลเตตีฟแอนแอโรบ (facultative anaerobe) แต่เจริญในสภาพไร้อากาศได้ไม่ดี และไม่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงของม้าหรือแกะได้

ความสัมพันธ์ของ DNA สามารถแบ่งจีนัส *Klebsiella* ออกเป็น 5 สปีชีส์ คือ *K. pneumonia, K. oxytoca, K. planticola, K.ozaenae* และ *K. rhinoscleromatis* รวมทั้ง *Klebsiella* group 47 *K. planticola* ซึ่งพบในสิ่งแวดล้อม แต่จะมีส่วนเกี่ยวข้องอยู่ในระบบทางเดินปัสสาวะของคนและการติดเชื้อที่บาดแผล *Klebsiella* group 47 ในครั้งแรกสามารถแยกได้จากระบบทางเดินหายใจ และบางครั้งอาจแยกได้จากเลือด *K. oxytoca* เดิมเคยจัดเป็นพวก *K. pneumonia* ที่ให้ผลบวกกับอินโดล และทำให้เกิดโรคแบบเดียวกันกับ *K. pneumonia* แต่ความถี่ในการเกิดโรคน้อยครั้งกว่า

คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อในจีนัส *Klesiella* นั้นพบว่า *Klebsiella* สปีชีส์ต่างๆ ยกเว้น *K. rhinoscleromatis* และแบคทีเรียสายพันธุ์ส่วนใหญ่ของ *K. ozaenae* เป็นพวกเฟอร์เมนต์น้ำตาลแล็กโทส ทุกสปีชีส์จะไม่สามารถเคลื่อนที่และสร้างแคปซูลขนาดใหญ่ ทำให้โคโลนีบนอาหารแข็งมีขนาดใหญ่ เปียกชื้นและเป็นเมือก

Ochrobactrum sp.

เปนแบคทีเรียแกรมลบ รูปแทง ไมสรางสปอร มีแฟลกเจลลาเปนออรแกเนลล สามารถเคลื่อนที่ไดโดยอาศัยแฟลกเจลลาแบบ peritrichous เจริญไดดีในสภาวะที่มีออกซิเจน การเจริญบนอาหาร nutrient agar ในรูปแบบของโคโลนีไมมีการสรางเม็ดสี การทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดส (Oxidase) และแคทแทเลส (Catalase) ใหผลเปนบวก และสามารถเปลี่ยนไนเตรทไปเปนไนไตรทได ซึ่งเปนคุณสมบัติของแบคทีเรียในกลุม non-fermentative Gram-negative bacilli สวนการทดสอบ อินโดล (Indole) ให

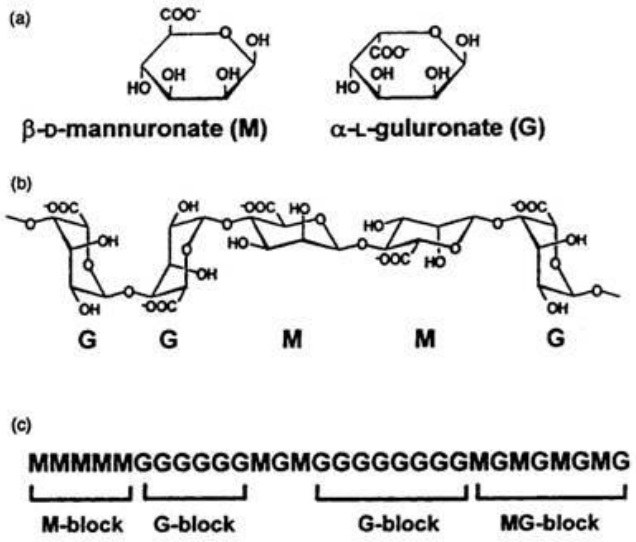
ผลเปนลบ ไมสามารถยอยสลาย esculin, gelatin และ DNA ได้ อุณหภูมิที่สามารถเจริญได้ดีอยู่ในชวงระหวาง 20 – 37°C นอกจากนี้ยังเปนแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางด้านจุลชีววิทยาคลินิกอีกด้วย อาทิ *Ochrobactrum anthropi* เปนตน

2.9 **อัลจิเนต (Alginate)**

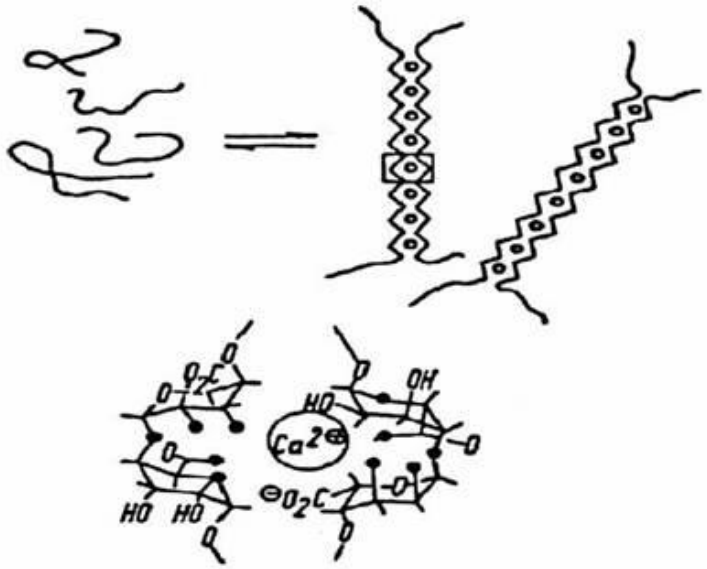
อัลจิเนตหรืออัลจินเป็นสารที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (Phaeophyceae) ในการผลิตอัลจิเนตเป็นอุตสาหกรรมสาหร่ายทะเลที่ใช้ ได้แก่ Macrocystis pyrifera มีอัลจินประมาณ 14-19 %, Laminaria cloustoni และ Laminaria digitata มีอัลจินประมาณ 15-40 % ปริมาณที่พบจะขึ้นกับชนิดของสาหร่าย ฤดูกาล และแหล่งที่สาหร่ายเจริญเติบโต สาหร่ายเหล่านี้พบได้ทั่ว ๆไปในโลก ประเทศที่ผลิตอัลจิเนต มาก คือ อเมริกา อังกฤษ ฝรั่งเศส สเปน นอร์เวย์ แคนนาดา และญี่ปุ่น

อัลจิเนตเป็น unbranched binary copolymer ของ 1,4-b-D-manuronic acid (M) และ L-guluronic acid (G) ในโมเลกุลประกอบด้วย homopolymeric regions ของ G และ M ที่เรียกว่า G- และ M-blocks ตามลำดับและยังมีบางส่วนของโมเลกุลเป็น MG-blocks ดังภาพที่ 2.1 สัดส่วนของ copolymer และโครงสร้างเหล่านี้จะเป็นตัวกำหนดสมบัติของอัลจิเนต เช่น ถ้าโพลีเมอร์มี G ในปริมาณที่สูงจะมี สมบัติเป็นเจลที่แข็งที่ความเข้มข้นของโลหะประจุบวกเฉพาะ (polyvalent metal cation) แต่ถ้าโพลิเมอร์มี M ปริมาณสูงจะมีแนวโน้มที่จะเกิดเจลที่อ่อนนุ่ม และมีสภาวะในการเกิดเจล ที่กว้างกว่า อัลจิเนตที่ผลิตจำหน่ายเป็นการค้ามีหลายอนุพันธ์จึงมีสมบัติการละลายในน้ำที่แตกต่างกัน เช่น อนุพันธ์ ของเกลือ Ca2+, K+, Na+, NH4+ และยังผลิตในรูปของ propylene glycol alginate ซึ่งได้จากปฏิกิริยาของ alginic acid กับ propylene oxide ภายใต้ความดัน อนุพันธ์เหล่านี้จะละลายได้ทั้งในน้ำร้อนและน้ำเย็น ความหนืดของสารละลายอัลจิเนตที่ได้ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ ความเข้มข้น น้ำหนักโมเลกุล และการมีโลหะประจุบวก

อัลจิเนตไม่ทุกชนิดมีคุณสมบัติเป็นเจลและจะเกิดเจลได้เมื่อทำปฏิกิริยากับ Ca2+โครงสร้าง ของเจลมีลักษณะคล้ายกล่องไข่ (egg box) โดยมี Ca2+ เกาะอยู่กับสายโพลิเมอร์ดังภาพที่ 2.2 คุณสมบัติที่ดีของอัลจิเนตคือ ทำให้เกิด Irreversible gel ในน้ำเย็นเมื่อมี Ca2+รวมอยู่ด้วย ซึ่งคุณสมบัติในการเกิดเจลที่อุณหภูมิต่ำนี้ทำให้อัลจิเนต แตกต่างจากไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากสาหร่ายสีแดง



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของอัลจิเนต (Alginate) ชนิดต่างๆ



ภาพที่ 2.2 กลไกการเกิดเจลของ calcium alginate (Egg-box model)

อัลจิเนตถูกนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดตั้งแต่ปี ค.ศ. 1920 โดยเติมในอาหารกระป๋องบางชนิด ใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด สารเพิ่มความคงตัว ทำให้อีมัลชั่นคงตัว สารทำให้เกิดเจล และสารยับยั้งการเกิด syneresis ตัวอย่างเช่น

- propylene glycol alginate ใช้ในน้ำสลัด (salad dressing) และเบียร์ เพราะมีความสามารถละลายได้สูงที่ pH ต่ำ
- โซเดี่ยมอัลจิเนตใช้เป็นส่วนผสมในไส้พายมะนาวที่แช่เย็นเพื่อให้เกิดความคงตัวระหว่าง freeze-thaw
- ใช้เคลือบผิวชิ้นเนื้อปลาก่อนนำไปแช่เยือกแข็งเพื่อป้องกันไม่ให้เกิด freeze burn กับชิ้นเนื้อปลา
- ใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวให้กับไอศกรีม, frozen dessert, sherbet, processed cheese และใช้เป็น Alginate gel restructured products เช่น Onion rings และ Shrimp-like fish products

จากการทบทวนวรรณกรรมผู้วิจัยได้สังเคราะห์แล้วสรุปแนวคิดเชื่อมโยงแนวพระราชดำริด้านทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ในการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ เกิดความสมดุลทั้งในด้านระบบนิเวศน์ สภาพแวดล้อมและการพัฒนาด้วยความร่วมมือจากหลายฝ่าย อีกหนึ่งหลักการทรงงานที่คณะผู้วิจัยได้น้อมนำมาใช้เป็นหลักสำคัญของการศึกษานี้คือ การ**ใช้ธรรมชาติช่วยธรรมชาติ** (สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. ๒๕๔๙) โดยการนำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ไทยที่เจริญอยู่ในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติมาทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารอาทราซีนซึ่งเป็นผลจากโครงการวิจัยก่อนหน้านี้มาพัฒนาให้อยู่ในรูปที่สะดวกต่อการนำไปใช้และมีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสารอาทราซีนที่ตกค้างในธรรมชาติ ซึ่งถือว่าเป็นอีกหนึ่งกลไกที่สำคัญในการกำจัดและบำบัดสารมลพิษที่ตกค้างและสะสมในทรัพยากรธรรมชาติทั้งดินและแหล่งน้ำ