



วิทยานิพนธ์

อันตรกิริยาระหว่างเมทาโนโทรฟและไนตริไฟเออร์
ที่มีต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในชั้นหน้าดินกลบทับที่มี
ไนโตรเจนสูงของหลุมฝังกลบมูลฝอย

INTERACTION BETWEEN METHANOTROPHS AND
NITRIFIERS ON METHANE OXIDATION IN NITROGEN
RICH LANDFILL COVER SOIL

นางสาวศิริลักษณ์ ตั้งขบวนบุตร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม)

ปริญญา

วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง อันตรกิริยาระหว่างเมทาโนโทรฟและไนตริไฟเออร์ ที่มีต่ออัตราการเกิด
มีเทนออกซิเดชันในชั้นหน้าดินกลบทับที่มีไนโตรเจนสูงของหลุมฝังกลบมูลฝอย

Interaction Between Methanotrophs and Nitrifiers on Methane Oxidation in
Nitrogen Rich Landfill Cover Soil

นามผู้วิจัย นางสาวศิริลักษณ์ ตั้งขบวนบุตร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์วิไล เจียมไชยศรี, D.Tech.Sc.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ชาติ เจียมไชยศรี, D.Eng.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์มงคล ดำรงค์ศรี, Dr.Eng.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

อันตรกิริยาระหว่างเมทาโนโทรฟและไนตริไฟเออร์ ที่มีต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในชั้น
หน้าดินกลบทับที่มีไนโตรเจนสูงของหลุมฝังกลบมูลฝอย

Interaction Between Methanotrophs and Nitrifiers on Methane Oxidation in Nitrogen Rich
Landfill Cover Soil

โดย

นางสาวศิริลักษณ์ ตั้งขบวนบุตร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม)

พ.ศ. 2551

ศิริลักษณ์ ตั้งขบวนบุตร 2551: อันตรกิริยาระหว่างเมทาโนโทรฟและไนตริไฟเออร์ ที่มีต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในชั้นหน้าดินกลบทับที่มีไนโตรเจนสูงของหลุมฝังกลบมูลฝอย ปรินญา วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม) สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ไฉ่ เจียมไชยศรี, D.Tech.Sc. 133 หน้า

ในการศึกษานี้ทำการทดลองหาอัตราเกิดมีเทนออกซิเดชันและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบดินในหน้าดินที่มีไนโตรเจนสูง (1,300 ไมโครกรัม/กรัม) โดยใช้แบบจำลองชั้นหน้าดินหลุมฝังกลบที่ใช้ดินทราย ภายใต้สภาวะได้แก่ สภาวะธรรมชาติที่ไม่มีการพ่นก๊าซชีวภาพ สภาวะหน้าดินหลุมฝังกลบที่ไม่มีลม สภาวะหน้าดินหลุมฝังกลบที่เกิดลมแรงโดยการเติมอากาศ 1,000 มิลลิลิตร/นาที่ และสภาวะหน้าดินหลุมฝังกลบที่ปลูกหญ้าโคสครอสคูลมดิน (*S. virginicus*) ในสภาพแห้งซึ่งไม่มีการรดน้ำ (0-60วัน) และสภาพเปียกที่มีการเติมน้ำ 50 มล./วัน (61-180 วัน)

ผลการทดลองพบว่า ปริมาณแอมโมเนียในไนโตรเจนสูง (1,300 ไมโครกรัม/กรัม) ยังมีสภาวะจำกัดของการเกิดมีเทนออกซิเดชัน หน้าดินที่มีปริมาณไนโตรเจนสูงยังคงสามารถเกิดปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันได้ในทุกสภาวะที่ทดลอง ในสภาพแห้งซึ่งไม่มีการรดน้ำ สภาวะที่ปลูกพืชและสภาวะที่มีลมเกิดมีเทนออกซิเดชัน (>300 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน) สูงกว่าสภาวะที่ไม่มีลม (<100 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน) ส่วนในสภาพเปียกที่มีการรดน้ำอัตราเกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าสูงเกินกว่าสภาพแห้ง โดยมีค่าสูงสุดที่ประมาณ 450 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน แต่เกิดขึ้นในระยะเวลาต่างกัน ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบดินพบว่า ความชื้นมีผลต่อจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 6 หรือสูงกว่า ร้อยละ 11 มีผลทำให้การเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลง ปริมาณแอมโมเนียมีแนวโน้มลดลงตามเวลาที่พืชที่พ่นและไม่พ่นก๊าซชีวภาพ ผลการวิเคราะห์เชื้อโดยเทคนิคพีช พบเชื้อเมทาโนโทรฟร้อยละ 20-40 ของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยเชื้อเมทาโนโทรฟและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงสอดคล้องกัน ซึ่งพบเชื้อเมทาโนโทรฟ Type II มากกว่า Type I โดยเฉพาะในสภาพเปียกที่มีค่าสูงกว่า 3-5 เท่า เชื้อไนโตรโซโมแนสมีการเจริญเติบโตไม่สอดคล้องกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน อย่างไรก็ตามในช่วงที่เกิดมีเทนออกซิเดชันได้ดี (153 วัน) พบการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวเพิ่มขึ้นเท่ากับร้อยละ 12-21 ส่วนไนโตรแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตในช่วงที่เกิดมีเทนออกซิเดชันได้ดีเช่นกัน โดยมีค่าร้อยละ 7-16

Siriluk Tangkhabuanbut 2008: Interaction Between Methanotrophs and Nitrifiers on Methane Oxidation in Nitrogen Rich Landfill Cover Soil. Master of Engineering (Environmental Engineering), Major Field: Environmental Engineering, Department of Environmental Engineering. Thesis Advisor: Associate Professor Wilai Chiemchaisri, D.Tech.Sc. 132 pages.

This study was conducted to investigate methane oxidation rate (MOR) and soil property changes in the nitrogen rich landfill cover soil (1,300 $\mu\text{g/g}$). Four simulated landfill cover soils were set up: no landfill gas feeding (LFG) and LFG feeding: no wind, windy (surface aeration 1,000 ml/min) and vegetated cover soil with *S.virginicus* in dry (0-60 days) and wet conditions (50ml/d, 61-180 day).

The results appeared that rich ammonium nitrogen (1,300 $\mu\text{g/g}$) was not the inhibited condition for MOR. Although soil contained high ammonium concentration, methane oxidations had been detected in all soil conditions throughout the experimental period. In dry condition vegetated and windy cover soil had high methane oxidation ($>300 \text{ gCH}_4/\text{m}^3 \cdot \text{d}$) as compared to no wind condition ($<100 \text{ gCH}_4/\text{m}^3 \cdot \text{d}$). In wet condition average MOR of all wet soils had been higher than the dry soils in which reaching their maximums of 450 $\text{gCH}_4/\text{m}^3 \cdot \text{d}$ at different times. For soil properties, moisture content was found to be an important factor that highly influencing MOR. The moisture content lower than 6% or higher than 11% could reduce MOR. The ammonium nitrogen content of all conditions gradually decreased with time. Determination of microorganisms by FISH technique revealed that methanotrophic population was about 20-40% of all microorganisms and correlating with the MOR. Amount of methanotroph Type II had been more than Type I especially in wet soils in 3-5 times. *Nitrosomonas spp.* had not correlated with the MOR. However in high MOR period (153 day) they were found in range of 12-21%, while *Nitrobactor spp.* were in range of 7-16%.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ วิไล เจียมไชยศรี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำ ตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ และหาทุนสนับสนุนการวิจัย ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ชาติ เจียมไชยศรี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม และผู้ช่วยศาสตราจารย์ มณฑล ฐานุดดวงศ์ ประธานการสอบ รวมทั้งรองศาสตราจารย์ เฉลิมราช วันทวิน ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อมภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง และอำนวยความสะดวกในด้านต่าง ๆ ขอขอบเจ้าหน้าทีธุรการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมที่ช่วยอำนวยความสะดวกด้านธุรกรรมต่างๆ ขอขอบคุณองค์กร Swedish International Development Cooperation Agency (SIDA) ที่ให้เงินทุนสนับสนุนงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณครอบครัว ที่คอยสนับสนุน และให้กำลังใจตลอดมา และขอขอบคุณเพื่อน ๆ สำหรับร่างกายและแรงใจสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้

ศิริลักษณ์ ตั้งขบวนบุตร

เมษายน 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	32
อุปกรณ์	32
วิธีการ	34
ผลและวิจารณ์	42
สรุปและข้อเสนอแนะ	75
สรุป	75
ข้อเสนอแนะ	76
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	77
ภาคผนวก	85
ภาคผนวก ก ผลการวิเคราะห์ก๊าซ	86
ภาคผนวก ข การคำนวณและผลอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน	95
ภาคผนวก ค การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดินทางเคมี	102
ภาคผนวก ง การศึกษาจำนวนเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธีพีช	115
ภาคผนวก จ การคำนวณปริมาณน้ำที่ไ้รูดคอถั่มน์	130
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	132

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลของแอมโมเนียม และไนเตรตอิออนต่ออัตราออกซิเดชันก๊าซมีเทน	12
2	เปรียบเทียบลักษณะการจำแนกเชื้อเมทาโนโทรฟ Type I, Type II และ Type X	20
3	จลนศาสตร์ของการเกิด มีเทนและแอมโมเนียออกซิเดชัน โดยเชื้อเมทาโนโทรฟและแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์	26
4	การศึกษาการใช้โพรบที่มีจำเพาะกับแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ Type I และ Type II และไนตริฟายเออร์	31
5	ลักษณะของดินเริ่มต้นที่ใช้ในการวิจัย	35
6	พารามิเตอร์และวิธีการตรวจวัดองค์ประกอบของก๊าซและดิน	37
ตารางผนวกที่		
ก1	ผลการวิเคราะห์ก๊าซ สภาวะที่ไม่มีลม	87
ก2	ผลการวิเคราะห์ก๊าซ สภาวะที่มีลม	89
ก3	ผลการวิเคราะห์ก๊าซ สภาวะที่ปลูกพืช	92
ข1	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน สภาวะที่ไม่มีลม	99
ข2	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน สภาวะที่มีลม	100
ข3	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน สภาวะที่ปลูกพืช	101
ค1	การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดิน สภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ	103
ค2	การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดิน สภาวะที่ไม่มีลม	106
ค3	การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดิน สภาวะที่มีลม	109
ค4	การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดิน สภาวะที่ปลูกพืช	112

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ง1	อัตราส่วนของสารต่างๆที่ใช้ในการเตรียมน้ำยาไฮบริดไคเซชัน ที่ปริมาตรรวมเท่ากับ 1 มล.	117
ง2	อัตราส่วนของสารต่างๆที่ใช้ในการเตรียมน้ำยา washing buffer ที่ปริมาตรรวมเท่ากับ 50 มล.	118
ง3	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ สภาวะหน้าดินที่ไม่ปนก๊าซชีวภาพ	125
ง4	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ สภาวะไม่มีลม	125
ง5	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ สภาวะที่มีลม	127
ง6	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ สภาวะที่ปลูกพืช	128

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กระบวนการทางชีวภาพในการปริมาณการแพร่ระบาดของก๊าซจากหลุมฝังกลบ	5
2	อิทธิพลของพีชต่ออัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึก (ก) 5-15 เซนติเมตร(ข) 15-30 เซนติเมตร (ค) 30-50 เซนติเมตร	7
3	อิทธิพลของพีชต่ออัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึก 5-15 เซนติเมตร	8
4	การปล่อยก๊าซมีเทนออกจากต้นพีช	8
5	วิธีทางในการเกิดมีเทนออกซิเดชันและการดูดซึมฟอสฟอรัสของเชื้อเมทาโนโทรฟ	18
6	Phylogenetic Tree ของเชื้อเมทิลโลโทรฟ เมทาโนโทรฟและแบคทีเรียชนิดอื่นที่จำแนกตามกลุ่มของ Proteobacteria (อาศัย 16s rRNA และ 5s rRNA ในการจำแนก)	21
7	วิธีการออกซิไดส์แอมโมเนียเป็นไนไตรต์ โดยแบคทีเรียแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์	22
8	ความสัมพันธ์ของกิจกรรมจุลินทรีย์และอัตราการย่อยสลายก๊าซมีเทน ในชั้นหน้าดินกลบทับของหลุมฝังกลบในภูมิภาคอากาศร้อนชื้น	28
9	เทคนิคการทำฟลูออเรสเซนส์อินซิติวไฮบริดไดเซชัน	30
10	รายละเอียดของคอลัมน์ที่ใช้ในการศึกษา	33
11	สรุปขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย	39
12	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันโดยรวมทั้งคอลัมน์ 5-50 ซม.	43
13	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ระดับความลึกต่างๆ (ก) 5-15 ซม. (ข) 15-30 ซม. และ (ค) 30-50 ซม.	46
14	ปริมาณออกซิเจนที่ระดับความลึกต่างๆ (ก) 5 ซม. (ข) 15 ซม. (ค) 30 ซม. และ (ง) 50 ซม.	47
15	ความสัมพันธ์ของความชื้นและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ระดับความลึกต่างๆ (ก) 5-15 ซม. (ข) 15-30 ซม. และ (ค) 30-50 ซม.	48

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	การเปลี่ยนแปลงความชื้นเฉลี่ยที่ระดับความลึก 0-30 ซม.	50
17	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความชื้นและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ที่ระดับความลึก 0-30 ซม. (ก) สภาวะไม่มีลม (ข) สภาวะที่มีลม (ค) สภาวะที่ปลูกพืช	51
18	การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม. (ก) แอมโมเนียม (ข) ไนไตรต์ และ(ค) ไนเตรต	54
19	การเปลี่ยนแปลงอินทรีย์ไนโตรเจนเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.	55
20	การเปลี่ยนแปลงไนโตรเจนทั้งหมดเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.	55
21	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชและแอมโมเนียมเฉลี่ยในดิน ที่ระดับ 0-30 ซม.	58
22	การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.	58
23	การเปลี่ยนแปลงค่าไอพีเอสเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.	60
24	การเปลี่ยนแปลงปริมาณทีโอซีเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.	60
25	ความสัมพันธ์ของทีโอซีและการเกิดมีเทนออกซิเดชันเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.(ก) สภาวะไม่มีลม (ข) สภาวะที่มีลม (ค) สภาวะที่ปลูกพืช	61
26	การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.	62
27	จำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟเฉลี่ยที่ระดับความลึก 0-30 ซม. (ก) เมทาโนโทรฟ Type I (ข) เมทาโนโทรฟ Type II (ค) เมทาโนโทรฟทั้งหมด	65
28	จำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟตามระดับความลึกของชั้นดิน (ก) 0-5 ซม. (ข) 5-15 ซม. (ค) 15-30 ซม. และ (ง) 30-50 ซม.	66
29	ความสัมพันธ์ของจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟเฉลี่ย (MOB) และอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเฉลี่ย (MOR) (ก) 5-15 ซม. (ข) 15-30 ซม. และ (ค) 30-50 ซม.	67
30	จำนวนไนตริฟายเออร์เฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร (ก) ไนโตรโซโมแนส (ข) ไนโตรแบคเตอร์	69
31	จำนวนเชื้อไนตริฟายเออร์ตามระดับความลึกของชั้นดิน (ก) 0-5 ซม. (ข) 5-15 ซม. (ค) 15-30 ซม. และ (ง) 30-50 ซม.	70

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
32	จำนวนเชื้อแบคทีเรียและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเฉลี่ยที่ระดับความลึก 5-50 ซม. (ก) สภาวะไม่มีลม (ข) สภาวะที่มีลม และ(ค) สภาวะที่ปลูกพืช	73
33	สัดส่วนจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่ระดับความลึก 5-50 ซม. (ก) สภาวะที่ไม่มีลม (ข) สภาวะที่มีลม และสภาวะที่ปลูกพืช	74
ภาพผนวกที่		
ง1	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบ (ย้อมเซลล์ด้วย DAPI)	122
ง2	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณเมทาโนโทรฟ Type I (ย้อมเซลล์ด้วย MY84+MY705)	122
ง3	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณเมทาโนโทรฟ Type II (ย้อมเซลล์ด้วยMO450)	123
ง4	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณไนโตรโซโมแนส (ย้อมเซลล์ด้วย NSM 156)	123
ง5	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณไนโตรแบคเตอร์ (ย้อมเซลล์ด้วย NIT 3)	124

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

μg	= ไมโครกรัม
μl	= ไมโครลิตร
μM	= ไมโครโมลาร์
$^{\circ}\text{C}$	= องศาเซลเซียส
CH_4	= มีเทน
CO_2	= คาร์บอนไดออกไซด์
EPS	= เอ็กตราโพลีแซคคาไรด์แซคคาไรด์ (Extracellular Polysaccharides)
$\text{gCH}_4/\text{m}^3 \cdot \text{d}$	= กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน
MC	= ความชื้น (Moisture Content)
mg/kg	= มิลลิกรัม/กิโลกรัม
ml/d	= มิลลิลิตร/วัน
ml/min	= มิลลิลิตร/นาที
MOB	= เชื้อเมทาโนโทรฟ (Methane Oxidation Bacteria : Methanotrophs)
MOR	= อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน (Methane Oxidation Rate)
N_2	= ไนโตรเจน
$\text{ngCH}_4/\text{g} \cdot \text{h}$	= นาโนกรัมมีเทน/กรัม.ชั่วโมง
NH_4^+	= แอมโมเนียมไนโตรเจน
NO_2^-	= ไนไตรต์ไนโตรเจน
NO_3^-	= ไนเตรตไนโตรเจน
NSM	= ไนโตรโซโมแนส (<i>Nitrosomonas spp.</i>)
NIT	= ไนโตรแบคเตอร์ (<i>Nitrobacter spp.</i>)
O_2	= ออกซิเจน
Org-N	= อินทรีย์ไนโตรเจน (Organic Nitrogen)
PO_4^{3-}	= ฟอสเฟต
TKN	= เจดดาห์ไนโตรเจนทั้งหมด (Total Kjeldahl Nitrogen)
TOC	= สารอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (Total Organic Carbon)
ซม.	= เซนติเมตร
ฟิช	= ฟลูออเรสเซนซ์อินซิทูไฮบริไดเซชัน (Fluorescence <i>In Situ</i> Hybridization)

อันตรกิริยาระหว่างเมทาโนโทรฟและไนตริไฟเออร์ ที่มีต่ออัตราการเกิดมีเทน
ออกซิเดชันในชั้นหน้าดินกลบทับที่มีไนโตรเจนสูงของหลุมฝังกลบมูลฝอย

Interaction Between Methanotrophs and Nitrifiers on Methane Oxidation in
Nitrogen Rich Landfill Cover Soil

คำนำ

ขยะมูลฝอยที่ถูกฝังกลบโดยวิธีฝังกลบอย่างถูกสุขลักษณะ จะเกิดการย่อยสลายภายใต้
กระบวนการย่อยสลายแบบ ไร้อากาศ (Anaerobic Decomposition) และก่อให้เกิดก๊าซชีวภาพจาก
การฝังกลบมูลฝอย (Landfill Gas: LFG) ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือก๊าซมีเทนและ
คาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทนที่เกิดจากหลุมฝังกลบนี้ คิดเป็นร้อยละ 8 ถึง 20 ของการแพร่กระจาย
ก๊าซมีเทนสู่บรรยากาศโลก (IPCC, 1992) ซึ่งหากมิได้มีการจัดการอย่างถูกต้องแล้วจะส่งผลกระทบต่อ
ต่อมนุษย์หรือสิ่งแวดล้อมได้ เช่น ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้อาศัยบริเวณใกล้เคียง รวมทั้งก่อให้เกิด
สภาวะโลกร้อนได้อีกด้วย (Hanson and Hanson, 1996)

การลดปริมาณก๊าซมีเทนที่ปลดปล่อยออกจากหลุมฝังกลบ โดยกระบวนการมีเทน
ออกซิเดชันเป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้ เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายต่ำและไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์
กระบวนการมีเทนออกซิเดชันเป็นการย่อยสลายทางชีวภาพซึ่งเกิดขึ้นจากแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ
ในชั้นหน้าดินกลบทับสุดท้ายของหลุมฝังกลบ (Bendard and Knowles, 1989) โดยการใช้มีเทนเป็น
แหล่งคาร์บอนและพลังงาน เกิดผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นเซลล์ใหม่และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
(Baratt, 1995) ส่วนแบคทีเรียไนตริไฟเออร์สามารถออกซิไดส์ไนโตรเจนในดินจากปฏิกิริยาไน
ตริฟิเคชันผ่านสองขั้นตอน โดยขั้นแรกเป็นขั้นตอนการออกซิไดส์แอมโมเนีย โดยมีแบคทีเรีย
ไนโตรโซโมแนสจะทำหน้าที่เป็นแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ในการเปลี่ยนแอมโมเนียเป็นไนไตรต์
และขั้นสองไนโตรแบคเตอร์จะทำหน้าที่เป็นไนไตรต์ออกซิไดส์เซอร์ ในการเปลี่ยนไนไตรต์ให้อยู่
ในรูปของไนเตรต (สมศักดิ์, 2528) ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าแบคทีเรียเมทาโนโทรฟและ
แอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ มีสภาพการดำรงชีวิตใกล้เคียงกันมากทั้งทางกายภาพ ชีวภาพ และ
นิเวศน์ โดยเป็นแบคทีเรียทั้งสองเป็นชนิดแอโรบิก มีแหล่งอาศัยอยู่ในดิน และมีการใช้เอนไซม์โม
โนออกซิเจเนส (Monooxygenase:MO) ในวัฏจักรของการย่อยสลายสาร โดยพบรายงานว่า
แบคทีเรียทั้งสองสามารถออกซิไดส์ทั้งแอมโมเนียและมีเทน (Bendard and Knowles, 1989) ยิ่ง

แสดงให้เห็นอันตรกิริยาระหว่างแบคทีเรียทั้งสองต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ซึ่งในปัจจุบันยังมีข้อมูลอยู่น้อย

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าองค์ประกอบของดินมีผลต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชันทั้งค่าพีเอช ความชื้น เอ็กตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (อีพีเอส) และสารอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (ทีไอซี) โดยเฉพาะปริมาณแอมโมเนียมในดินซึ่งตามรายงานของ Chiemchaisri *et al.* (2001) พบว่าสภาพหลุมฝังกลบที่มีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันสูง เป็นระยะเวลาสั้น มักจะเกิดการสะสมแอมโมเนียมไนโตรเจน (130 ไมโครกรัม/กรัม) ซึ่งมีผลต่อลบบมีเทนออกซิเดชัน โดยปริมาณแอมโมเนียมในดินเป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียไนโตรโซโมแนส (สมศักดิ์, 2528) อีกทั้งยังอาจส่งเสริมการเกิดมีเทนออกซิเดชันในสภาวะซึ่งมีเทนสูงตามงานวิจัยของ Bodelier *et al.* (2000) หรืออาจเกิดการยับยั้งการเกิดมีเทนออกซิเดชันตามงานวิจัยของ (King and Schnell, 1994) นอกจากนี้ การศึกษาที่ผ่านมายังพบว่าปริมาณออกซิเจนในดินยังเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเกิดมีเทนออกซิเดชันอีกด้วยซึ่ง King and Schnell (1994) กล่าวว่าปริมาณออกซิเจนมีผลอย่างมากต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยสภาวะที่มีการปลูกพืชคลุมหน้าดิน(อุบลวรรณ, 2546) และสภาวะที่มีลมพัดสามารถช่วยเพิ่มออกซิเจนได้ (Porkhrel, 1998)

การวิจัยครั้งนี้เป็นการจำลองหน้าดินหลุมฝังกลบสุดท้ายของหลุมฝังกลบมูลฝอยที่มีปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนสูง (1,300 ไมโครกรัม/กรัม) และมีการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดินจากการเกิดมีเทนออกซิเดชัน รวมทั้งมีการตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ และไนตริฟายเออร์ด้วยเทคนิค ฟลูออเรสเซนซ์อินซิติวไฮบริดไดเซชัน : ฟิช (Fluorescence *in situ* hybridization : FISH) สภาวะในการทดลองครั้งนี้มี 4 สภาวะ ได้แก่ สภาวะหน้าดินตามธรรมชาติซึ่งไม่มีการพ่นก๊าซชีวภาพ สภาวะหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันซึ่งจะมีการพ่นก๊าซชีวภาพและมีการกระตุ้นปริมาณออกซิเจนต่างกันอีก 3 สภาวะ ได้แก่ สภาวะไม่มีลม สภาวะที่มีลมพัดผ่าน และสภาวะที่มีการปลูกพืชคลุมดิน ซึ่งผลการวิจัยในครั้งนี้จะทำให้เข้าใจอันตรกิริยาระหว่างแบคทีเรียเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์ต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชันได้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการจัดการหลุมฝังกลบจริงในอนาคตต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในชั้นหน้าดินกลบทับหลุมฝังกลบมูลฝอยจำลองที่มีค่าไนโตรเจนสูง ในชุดการทดลองที่มีการพ่นก๊าซชีวภาพ 3 สภาวะ คือ สภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลมพัดผ่าน และสภาวะที่มีการปลูกพืชคลุมหลุมฝังกลบ
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียเมทาโนโทรฟและไนตริไฟเออร์ รวมทั้งลักษณะสมบัติของดิน ในชั้นหน้าดินกลบทับหลุมฝังกลบมูลฝอยจำลองที่มีไนโตรเจนสูง ทั้ง 4 สภาวะที่ทดลอง ได้แก่ สภาวะธรรมชาติที่ไม่มีการพ่นก๊าซชีวภาพ สภาวะพ่นก๊าซชีวภาพที่ไม่มีลม สภาวะพ่นก๊าซที่มีลมพัดผ่าน และสภาวะพ่นก๊าซที่มีการปลูกพืชคลุมชั้นหน้าดินกลบทับ

ขอบเขตการวิจัย

1. ในการทดลองใช้วิธีแบบต่อเนื่อง (Continuous Experiments) ซึ่งทำการทดลองในห้องปฏิบัติการทั้งหมดโดยใช้ตัวอย่างดินทรายที่ผสมขึ้นเองจำลองเป็นหน้าดินกลบทับชั้นสุดท้ายเติมปุ๋ยยูเรียเพื่อให้มีแอมโมเนียไนโตรเจนอย่างอุดมสมบูรณ์ โดยมีคอลัมน์ดิน 2 แบบ คือ แบบแรกเป็นหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันซึ่งพ่นก๊าซชีวภาพที่มีส่วนผสมของก๊าซมีเทนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 60 ต่อ 40 ด้านล่างของคอลัมน์ ภายในชุดหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันจะมีการจำลองสภาวะต่างๆ 3 สภาวะ ได้แก่ สภาวะที่ไม่มีลมซึ่งเป็นสภาวะควบคุมของการศึกษาการเกิดมีเทนออกซิเดชัน สภาวะที่มีลมพัดผ่าน และ สภาวะที่มีการปลูกพืชคลุมหน้าดินส่วนคอลัมน์อีก 1 ท่อเป็นการจำลองหน้าดินตามธรรมชาติ ซึ่งไม่มีการพ่นก๊าซชีวภาพ
2. การศึกษาในหน้าดินกลบทับที่เกิดมีเทนออกซิเดชันสภาวะที่มีการปลูกพืชคลุมหน้าดินพืชที่ใช้ปลูกภายในคอลัมน์เป็นพืชตระกูลหญ้า ได้แก่ หญ้าโคสครอส (*Sporobolus virginicus*) ซึ่งมีความคงทนต่อสภาวะในหลุมฝังกลบ
3. การศึกษาในหน้าดินกลบทับที่เกิดมีเทนออกซิเดชันสภาวะที่มีลมพัดผ่าน จะจำลองโดยการเป่าอากาศจากบรรยากาศ ในอัตราการ 1,000 มิลลิลิตร/นาที่ โดยเจาะช่องให้มีทางเข้าและออกด้านข้างที่บริเวณส่วนบนของคอลัมน์ (Head space)

4. พารามิเตอร์ที่ใช้วิเคราะห์ลักษณะสมบัติของดิน ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความชื้น สารอินทรีย์ แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนโตรเจน ไนโตรเจน ไนเตรต-ไนโตรเจน อินทรีย์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสทั้งหมด และ เอ็กตร้าเซลล์ูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (อีพีเอส)

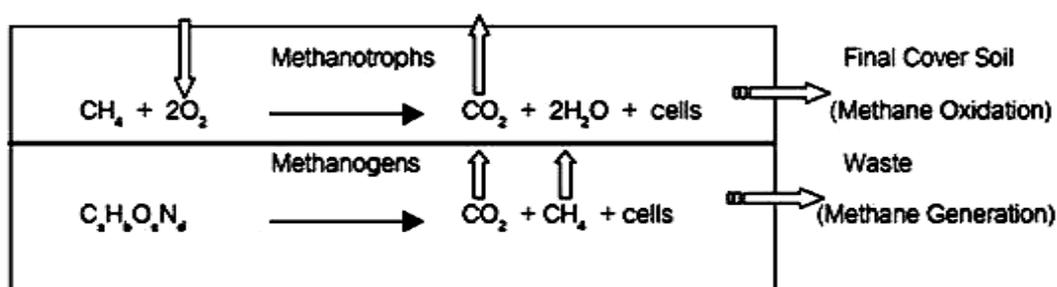
5. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของก๊าซ มีพารามิเตอร์ที่ศึกษาได้แก่ ก๊าซออกซิเจน ก๊าซไนโตรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซมีเทน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงก๊าซมีเทนจะนำไปคำนวณอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันต่อไป

6. การศึกษาความสัมพันธ์จำนวนของแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ และไนตริฟายเออร์ ทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคพีซี

การตรวจเอกสาร

1. การลดปริมาณการแพร่ระบาดของก๊าซจากหลุมฝังกลบมูลฝอยโดยปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน

การลดปริมาณการแพร่ระบาดของก๊าซมีเทน โดยปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน ในหน้าดินกลบทับชั้นบน อาศัยจุลินทรีย์เมทาโนโทรฟ ที่มีอยู่ในดินตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ประเภทใช้ออกซิเจนในการออกซิไดซ์ก๊าซมีเทนเพื่อใช้เป็นอาหารและผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นมาแทน ซึ่งเป็นวิธีทางชีวภาพ แสดงดังภาพที่ 1 ดังนั้นการลดปริมาณการแพร่ระบาดของก๊าซมีเทนโดยกระบวนการมีเทนออกซิเดชันจึงถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางเพราะไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และเสียค่าใช้จ่ายต่ำ



ภาพที่ 1 กระบวนการทางชีวภาพในการปริมาณการแพร่ระบาดของก๊าซจากหลุมฝังกลบ

ที่มา: Chiemchaisri (2000)

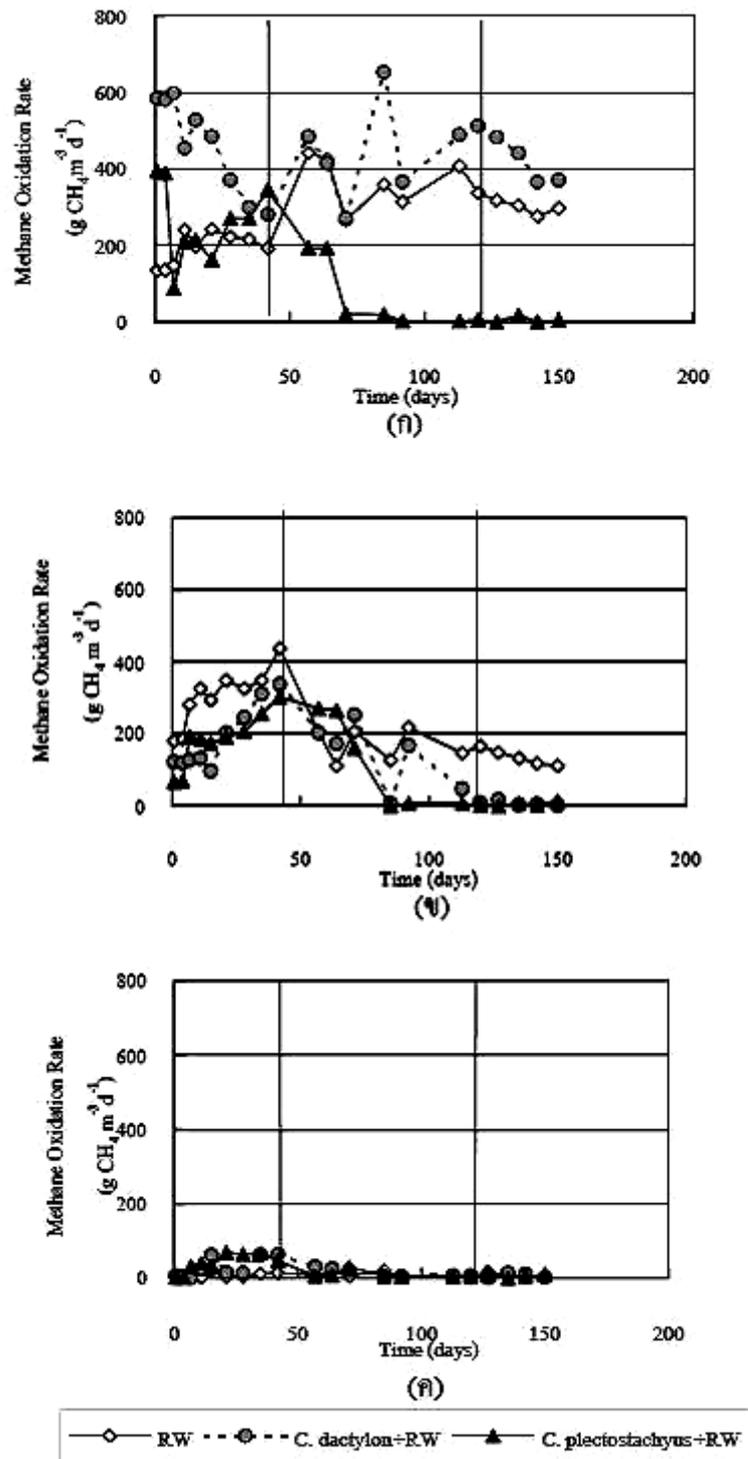
2. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน

2.1 การปลูกพืชคลุมดิน

Hilger *et al.* (2000) พบว่า การปลูกพืชคลุมหน้าดิน จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพทางฟิสิกส์ของดิน โดยรากของพืชจะซอนไซลงไปในดิน ทำให้การอากาศกระจายตัวลงสู่ดินดีขึ้น ซึ่งเหมาะสำหรับการเกิดปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน

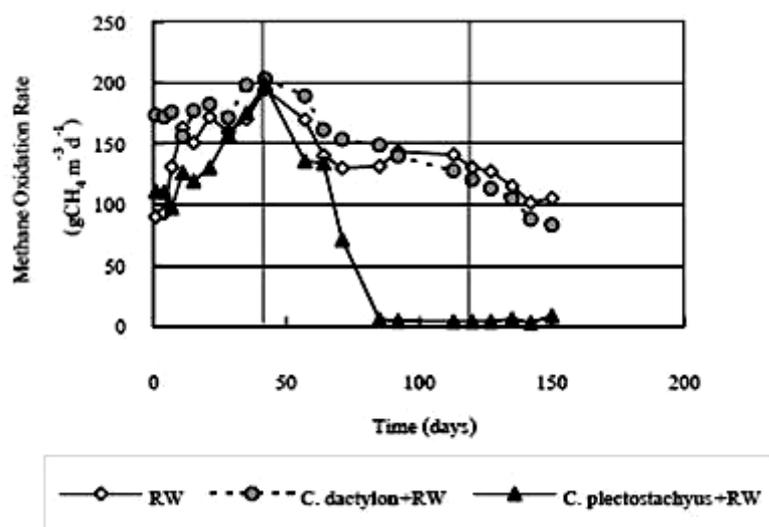
จากการวิจัยของ อุบลวรรณ (2546) พบว่าอิทธิพลของพืชต่ออัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนตามระดับความลึก โดยเปรียบเทียบอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนทั้งสามกรณีที่ได้แก่กรณี

ไม่ปลูกพืช กรณีที่ปลูกหญ้าโคสครอส และกรณีที่ปลูกหญ้าสตาร์ โดยมีการรดน้ำฝนตลอด ระยะเวลาการศึกษาแสดงดังภาพที่ 2 และ 3 เมื่อเปรียบเทียบอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ ระดับความลึกต่าง ๆ พบว่า กรณีที่ปลูกหญ้าโคสครอส (ภาพที่ 2) ปฏิริยาออกซิเดชันของก๊าซ มีเทนเกิดได้ดีบริเวณระดับความลึก 5-15 เซนติเมตร ในขณะที่ หญ้าสตาร์ไม่ได้ช่วยเพิ่มปฏิริยา ออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึกใด ๆ เลยเมื่อเทียบกับกรณีที่ไม่ปลูกหญ้า เมื่อพิจารณา ภาพที่ 3 พบว่า อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนตลอดระดับความลึก 5-50 เซนติเมตร (ภาพที่ 3) พบว่าในช่วง 120 วันแรกของการทดลอง ปฏิริยาออกซิเดชันของก๊าซมีเทนเกิดได้ดีที่สุดในกรณีที่ ปลูกหญ้าโคสครอส รองลงมาคือกรณีที่ปลูกหญ้า และกรณีที่ปลูกหญ้าสตาร์ตามลำดับ โดย อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนตลอดระดับความลึก 5-50 เซนติเมตร ของทั้งสามกรณีค่อยๆเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ 40 วัน โดยค่าอัตราออกซิเดชันของมีเทนมีค่าประมาณ 200 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร. วัน หลังจากนั้นอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันทั้งสามกรณีค่อย ๆ ลดลง ดังนั้นในกรณีที่ร่อนน้ำฝน และปลูกหญ้าโคสครอสช่วยส่งเสริมการเกิดปฏิริยาออกซิเดชันของก๊าซมีเทน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากหญ้าโคสครอสและ หญ้าสตาร์มีระบบรากที่มีความแตกต่างกัน กล่าวคือ หญ้าโคสครอสมี ทั้งระบบรากแบบไหล (Stolon) และลำต้นใต้ดิน (Rhizome) ในขณะที่หญ้า หญ้าสตาร์มีระบบราก แบบไหลเพียงอย่างเดียว (เจลิมพล, 2530) ส่งผลทำให้การใช้ก๊าซ ออกซิเจนของหญ้าแต่ละชนิดที่ ระดับความลึกต่างๆ แตกต่างกัน นอกจากนี้หญ้าที่มีอัตราการหายใจของระบบรากต่ำนั้นจะไม่ แข่งขันกับ จุลินทรีย์ชนิดเมทาโนโทรฟในการใช้ก๊าซออกซิเจน



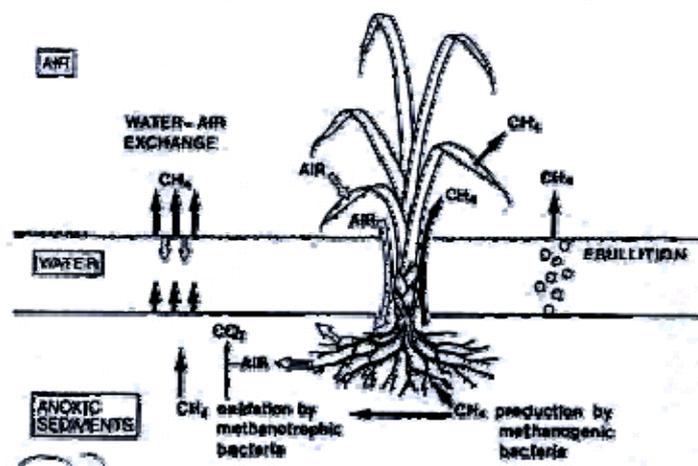
ภาพที่ 2 อิทธิพลของพืชต่ออัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึก (ก) 5-15 เซนติเมตร
(ข) 15-30 เซนติเมตร (ค) 30-50 เซนติเมตร

ที่มา: อุบลวรรณ (2546)



ภาพที่ 3 อิทธิพลของพืชต่ออัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึก 5-15 เซนติเมตร
 ที่มา: อุบลวรรณ (2546)

Schutz *et al.* (1999) พบว่า มีเทนสามารถถูกลำเลียงในต้นพืช โดยช่องว่างระหว่างท่อลำเลียง (Aerenchyma of Vascular) โดยอาศัยการเคลื่อนที่ของโมเลกุลก๊าซ เนื่องจากผลการแตกต่างกันของความดันและสำหรับดินที่บริเวณรากพืชมีลักษณะกึ่งไร้อากาศ (Anoxic) พืชอาจมีการดึงก๊าซมีเทนเข้าสู่ต้นพืชทางราก ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การปล่อยก๊าซมีเทนออกจากต้นพืช
 ที่มา: Schutz *et al.* (1999)

Maurice (1998) พบว่า พืชสามารถดึงคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งผลที่ได้คือ ออกซิเจน โดยก๊าซดังกล่าวเป็นสารตั้งต้นสำหรับปฏิกิริยามีเทน ออกซิเดชัน ปฏิกิริยาสังเคราะห์แสงจะเกิดมากบริเวณส่วนของพืชที่มีคลอโรพลาสต์ โดยร้อยละ 90 ปฏิกิริยาสังเคราะห์แสงจะเกิดขึ้นที่ใบพืช ในขณะที่กระบวนการหายใจของพืช เป็นกระบวนการออกซิเดชัน คาร์โบไฮเดรต เกิดขึ้นที่ไมโทคอนเดรียของพืช จะมีการใช้ออกซิเจนบางส่วนในดินโดยอาจมีการดึงก๊าซดังกล่าวผ่านทางรากพืช ส่งผลให้มีปริมาณออกซิเจนในดินลดลง เป็นผลกระทบต่อการดึงออกซิเจนไปใช้ในปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน เช่นเดียวกับ Glinski and Stepniewski (1983) ซึ่งได้อธิบายว่า กระบวนการหายใจของพืชส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของก๊าซในชั้นดินที่มีการปลูกพืช โดยพืชจะมีการนำออกซิเจนจากดินไปใช้ในกระบวนการหายใจ โดยมีอัตราการใช้ออกซิเจน 0.15 ถึง 0.52 ลูกบาศก์เซนติเมตร/กิโลกรัม.ชั่วโมง สำหรับดินร่วนบนทราย และให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาในอัตรา 0.14 ถึง 1.63 ลูกบาศก์เซนติเมตร/กิโลกรัม.ชั่วโมง ในดินชนิดเดียวกัน และหากพบว่าความพรุนในดินต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 0.2) อัตราการหายใจของพืชจะลดลง

2.2 ความเข้มข้นของออกซิเจน

เนื่องจากออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับกระบวนการมีเทนออกซิเดชัน ดังนั้นจึงต้องมีปริมาณที่เพียงพอในดิน เพื่อให้จุลินทรีย์เมทาโนโทรฟทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากการศึกษาของ Chiemchaisri (2000) พบว่าเมื่อแปรค่าสัดส่วนของก๊าซออกซิเจนต่อก๊าซมีเทน ณ ความเข้มข้นของก๊าซมีเทนในดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันอัตราามีเทนออกซิเดชันเกิดสูงสุดที่สัดส่วนของก๊าซออกซิเจนต่อก๊าซมีเทนเท่ากับ 6.5 โดยน้ำหนักและถ้ามากกว่า 6.5 จะส่งผลให้มีเทนออกซิเดชันเกิดได้น้อยลง ดังนั้นความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในดินกลับทับของหลุมฝังกลบมูลฝอย

William and Zobell (1949) รายงานว่าช่วงความเข้มข้นออกซิเจนร้อยละ 10 ถึง 40 มีความเหมาะสมต่อปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันในเชื้อบริสุทธิ์ ส่วน King and Schnell (1994) พบว่าที่ความเข้มข้นออกซิเจนต่ำ ๆ อัตราามีเทนออกซิเดชันมีค่าต่ำ

2.3 ความเข้มข้นของก๊าซมีเทน

William and Zobell (1949) พบว่า ในช่วงความเข้มข้นของมีเทน 0 ถึง 40 % เมื่อระดับความเข้มข้นของมีเทนเพิ่มขึ้น อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนเพิ่มขึ้นด้วย แต่เมื่อความเข้มข้นของก๊าซมีเทนมากกว่า 40 % พบว่าอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนมีแนวโน้มใกล้เคียงกับที่ระดับความเข้มข้น 40 %

2.4 ปริมาณสารอาหาร

โดยปกติธาตุอาหารเป็นปัจจัยสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิด อย่างไรก็ตามสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อสารอาหารแตกต่างกัน ดินมีองค์ประกอบของสารอินทรีย์คาร์บอนสารอนินทรีย์และอินทรีย์ไนโตรเจนและสารอนินทรีย์ ฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ โดยทั่วไปแบคทีเรียจะใช้แหล่งไนโตรเจนในรูปของไนเตรต (NO_3^-) และ แอมโมเนีย (NH_4^+) และฟอสเฟตในรูปของฟอสเฟต (PO_4^{3-}) Whittenbury *et al.* (1970) พบว่าสารประกอบไนเตรต และฟอสเฟตจะถูกนำไปใช้ในการเจริญเติบโต เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับสารอาหารต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ได้มีผู้ศึกษาดังนี้ การศึกษาของ Boeckx and Cleemput (1996) แสดงผลดังตารางที่ 1 พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมในดินจาก 4-104 มิลลิกรัม/กิโลกรัมดินแห้ง ส่งผลให้อัตราออกซิเดชันก๊าซมีเทนในชั้นดินมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นไนเตรตจาก 2.5-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัมดินแห้ง พบว่าไม่มีผลต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของก๊าซมีเทน ส่วน Kightley *et al.* (1995) ทำการทดลองโดยเติมแอมโมเนียมและไนเตรต ความเข้มข้น 10 โมล แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)/กรัมดินแห้ง และ 10 โมล โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3)/กรัมดินแห้ง ตามลำดับ พบว่ามีผลทำให้อัตรามีเทนออกซิเดชันลดลง นอกจากนี้เมื่อเติมธาตุไนโตรเจนในรูป แอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3) 2 กรัมไนโตรเจน/กิโลกรัมดินเปียก และนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่มีการเติม NH_4NO_3) พบว่าคอสมันท์ที่เติม NH_4NO_3 มีอัตรามีเทนออกซิเดชันลดลงเช่นเดียวกับคอสมันท์ดินที่เติม digested sludge 100 มิลลิกรัมไนโตรเจน/กรัมดิน นอกจากนี้พบว่าเมื่อเติม โพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) 100 มิลลิกรัมฟอสเฟต/กรัมดิน จะไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่ออัตรามีเทนออกซิเดชันในคอสมันท์ดิน ต่อมาการวิจัยของ Chiemchaisri (2000) ซึ่งมีการทดลองเติมแอมโมเนียมในช่วง 0-100 ไมโครกรัม/กรัมดินแห้ง และไนเตรต 0-100 ไมโครกรัม/กรัมดินแห้ง ลงในดินจากคอสมันท์หลุมฝังกลบ ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกับ Boeckx and Cleemput (1996) แสดงผลดังตารางที่ 1

โดยพบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมแอมโมเนียมีแนวโน้มอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลง เช่นเดียวกับ Boeckx and Cleemput (1996) ส่วนชุดการทดลองที่มีการเติมไนเตรตมีแนวโน้มอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลงเช่นกัน โดยชุดการทดลองที่มีการเติมไนเตรตมีผลทำให้อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลงน้อยกว่า เนื่องจากเชื้อเมทาโนโทรฟมีการใช้ไนเตรตในการสร้างเซลล์ได้เร็วกว่าการใช้แอมโมเนีย ซึ่งได้มีการอธิบายการยับยั้งการเกิดมีเทนออกซิเดชันโดยแอมโมเนียว่า แอมโมเนียเป็นคู่แข่งของมีเทนในการจับเอนไซม์โมโนออกซิเจเนส ซึ่งเกี่ยวข้องกับ การย่อยสลายก๊าซมีเทนโดยเชื้อเมทาโทรฟ ในทางตรงกันข้าม การเติมปุ๋ยยูเรีย หรือ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ปริมาณ 200 หรือ 400 กิโลกรัมไนโตรเจน/เฮกตาร์ กลับเป็นการส่งเสริมการเกิดมีเทนออกซิเดชันมากกว่ายับยั้งกิจกรรมของเชื้อเมทาโนโทรฟที่บริเวณรากพืชของนาข้าว เนื่องจากนาข้าวเป็นบริเวณที่มีการปลดปล่อยก๊าซมีเทนสูงผลการแข่งขันของแอมโมเนียต่อมีเทนจึงมีน้อย (Bodelier *et al.*, 2000)

นอกจากนี้การทดลองของ Chiemchaisri (2001) ยังพบว่าการเดินระบบคอกล้มมี จำลองหน้าดินกลบทับมูลฝอย เป็นระยะเวลามากกว่า 10 เดือนจะมีปริมาณแอมโมเนียและไนเตรต ในดินเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันที่เกิดควบคู่ไปกับการเกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยเป็นสาเหตุทำให้การเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลง และ King and Schnell (1994) รายงานว่าไนไตรต์ (NO_2^-) 250 ไมโครโมล/กรัมดินสามารถยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ *Methylobacter albus* BG8 และ *Methylosinus trichosporium* OB3B

2.5 เอ็กส์ตราโพลีแซคคาไรด์จากเมทาโนโทรฟ ต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

เอ็กส์ตราโพลีแซคคาไรด์ (อีพีเอส) เป็นโพลีเมอร์ของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะเกิดขึ้นและปลดปล่อยออกมาในรูปอิสระภายนอกผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ โพลีแซคคาไรด์ของแบคทีเรียโดยปกติจะพบในรูปของแคปซูล เมือกหรือของเหลวเหนียวที่มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ (Lawson and Sutherland, 1978) องค์ประกอบของสารอีพีเอสที่เชื้อแบคทีเรียสร้างขึ้น จะแตกต่างกันไปตามชนิดของแบคทีเรีย (Leach *et al.*, 1957; Lilly *et al.*, 1958) โมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลชนิดเดียวกันหรือหลายชนิดมาต่อกันเป็นเส้นสายโพลีเมอร์ ทำให้มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Wilkinson, 1958) ทำให้สารอีพีเอสมี 2 ชนิด คือ heteropolysaccharide และ homopolysaccharide โดยมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามชนิดของน้ำตาลที่แบคทีเรียสร้างขึ้น เช่น dextran สร้างจากเชื้อแบคทีเรีย *Leuconostoc mesenteroide* และ glucosan สร้างจากเชื้อแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens* (Lilly *et al.*, 1958)

ตารางที่ 1 ผลของแอมโมเนียม และไนเตรตอิออนต่ออัตราออกซิเดชันก๊าซมีเทน

อ้างอิง	NH ₄ ⁺		NO ₃ ⁻	
	ความเข้มข้น (mg/kg)	อัตรามีเทน ออกซิเดชัน (ngCH ₄ /g.h)	ความเข้มข้น (mg/kg)	อัตรามีเทน ออกซิเดชัน (ngCH ₄ /g.h)
Boeckx and Cleemput (1996)	4 29 79 104	2.36 2.01 0.78 0.53	0 2.5 75 100	1.82 1.86 1.84 1.73
Chiemchaisri (2000)	57 87 107 127 157	7.71×10 ³ 5.06×10 ³ 5.05×10 ³ 4.92×10 ³ 4.91×10 ³	1.5 31.5 51.5 70.5 101.5	7.71×10 ³ 5.78×10 ³ 4.91×10 ³ 4.82×10 ³ 3.34×10 ³

อีพีเอสส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของดิน เช่น การเกาะกันของอนุภาคดิน ถ้ามีการสะสมของอีพีเอสในดินมากขึ้นจะทำให้อนุภาคดินเกาะกันมากขึ้น ออกซิเจนสามารถแพร่ผ่านได้น้อยลง (Miller and Donahue, 1995; Atlas and Bartha, 1992) นอกจากนี้อีพีเอสเมื่อรวมตัวกับแร่ธาตุหรือโลหะในอนุภาคดินเกิดเป็นฮิวมิกจะย่อยสลายทางชีวภาพได้ยาก (Smith, 1982) การศึกษาชั้นดินกลบทับในหลุมฝังกลบมูลฝอยจริงของ Hilger *et al.* (1999) พบว่าการสะสมของอีพีเอสระหว่างกระบวนการมีเทนออกซิเดชัน จะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้อัตรามีเทนออกซิเดชันลดลง

Chiemchaisri (2000) ทำการศึกษาการเกิดมีเทนออกซิเดชันในคอลัมน์ในเดือนที่ 10 ของการเดินระบบ พบสารอินทรีย์คาร์บอนและอีพีเอสในดินเป็นจำนวนมาก การสะสมของอีพีเอสที่มากเกินไปจะมีผลทำให้ ดินเกิดการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน และลดการถ่ายเทของก๊าซออกซิเจนในดิน จึงเป็นผลทำให้ลดความสามารถในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน และระดับความลึกของคอลัมน์ที่พบอีพีเอสในปริมาณที่สูงคือ ผิวหน้าดินของหลุมฝังกลบจำลอง (0 ถึง 10 cm)

ปัจจัยที่ควบคุมการผลิตฟีเอสในดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณ ความชื้นและสัดส่วนของก๊าซออกซิเจนต่อก๊าซมีเทน การผลิตฟีเอสมักพบในดินที่มี ปริมาณความชื้นร้อยละ 5 ถึง 33 อย่างไรก็ตามการแปรค่าอุณหภูมิระหว่าง 20 ถึง 45 °C ไม่มีผล อย่างมีนัยสำคัญต่อการผลิตฟีเอสและการเพิ่มสัดส่วนก๊าซออกซิเจนต่อก๊าซมีเทนจะมีผลทำให้ การผลิตฟีเอส เพิ่มสูงตาม ไปด้วย

2.6 สารอินทรีย์

สารอินทรีย์เกิดขึ้นมาจากสิ่งมีชีวิตประมาณร้อยละ 3 ถึง 6 โดยปริมาตร หรือไม่ มากกว่าร้อยละ 5 โดยน้ำหนักของดิน สัดส่วนของสารอินทรีย์ มีผลต่อลักษณะทางกายภาพเคมีและ ชีวภาพของดิน สารอินทรีย์จะช่วยทำให้สภาวะแวดล้อมของดินมีความเหมาะสมต่อการ เจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในรูปของแหล่งอาหาร เนื่องจากสัดส่วนของสารอินทรีย์ในดินมีปริมาณ คาร์บอนและไนโตรเจนมาก ซึ่งเป็นแหล่งที่สำคัญในการสะสมอาหารในดิน โดยปกติปริมาณ สารอินทรีย์จะแตกต่างกันไปตามลักษณะเนื้อดินตัวอย่าง เช่น ทรายมีปริมาณสารอินทรีย์น้อยกว่า ร้อยละ 1 ในขณะที่ดินพรุ มีปริมาณสารอินทรีย์มากกว่าร้อยละ 100 โดยชนิดของสารอินทรีย์ในดิน ส่วนใหญ่พบในรูปของฮิวมัส สารอินทรีย์ในดินช่วยส่งเสริมกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์ที่ใช้ สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงาน นอกจากนี้ปริมาณสารอินทรีย์ในดินที่สูง จะช่วยส่งเสริมการสลาย ของแร่ธาตุในดิน แต่อย่างไรก็ตามถ้าปริมาณสารอินทรีย์ในดินสูงมากเกินไปจะเกิดผลในทางตรง ข้ามคือ มีผลต่อการแพร่กระจายของก๊าซสู่ช่องว่างของอนุภาคดินได้น้อยลงเนื่องจากการเกาะกัน แน่นของอนุภาคดิน (Glinski and Stepniewski, 1986)

Chiemchaisri (2000) รายงานว่าการเติมสารอินทรีย์คาร์บอนปริมาณร้อยละ 1 ถึง 9.5 ไม่มีผลต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันและการเพิ่มสารอินทรีย์คาร์บอนในดินจะมีผลทำให้อัตรา การใช้ก๊าซออกซิเจนและอัตราการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นการเติม สารอินทรีย์คาร์บอนมีผลกระตุ้นต่อจุลินทรีย์จำพวก heterotrophs มากกว่า methanotrophs และจาก การวิจัยของอุบลวรรณ (2546) พบว่าการนำน้ำชะมูลฝอยที่เกิดจากการย่อยสลายมูลฝอยมารดบน ชั้นดินกลบทับควรรนำไปเจือจางด้วยน้ำฝนให้มีค่าซีโอดีเป็น 1,770 มิลลิกรัม/ลิตร จะเกิดผลดีต่อการ เกิดมีเทนออกซิเดชันเพราะทำให้ดินมีปริมาณสารอินทรีย์ในปริมาณที่พอเหมาะไม่ส่งผลลบต่อ จุลินทรีย์ในดิน

2.7 โครงสร้างของดิน

คุณสมบัติ และโครงสร้างของดินมีผลต่อกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์ในดิน โดยดินสามารถแบ่งตามลักษณะเนื้อดินซึ่งบอกสัดส่วนของอนุภาคสารอนินทรีย์ในดิน หรือ คุณสมบัติของดินที่เกี่ยวข้องกับเม็ดดินได้ 3 ชนิด คือ ดินเหนียว (Clay) ดินร่วน (Silt) และดินทราย (Sand) ในอัตราส่วนต่างๆ กัน โดยดินเหนียวมีขนาดอนุภาค 0.2 - 2.0 มิลลิเมตร ดินร่วนมีขนาดอนุภาค 0.02 - 0.2 มิลลิเมตร และดินทรายมีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 0.02 มิลลิเมตร

ในดินที่เป็นดินเหนียว และมีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบอยู่น้อย มีคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีที่เหมาะสมต่อกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์ นอกจากนี้การจัดเรียงตัว และการเกาะกันระหว่างเม็ดดินตลอดจนช่องว่างในดินมีผลต่อการเคลื่อนที่ของน้ำ และก๊าซในดิน ซึ่งมีผลต่อกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์ (Metting, 1993) หากดินมีลักษณะที่พรุนขึ้นการแพร่ผ่านของอากาศจากชั้นบรรยากาศลงสู่ผิวดินดีขึ้น โดยจะเป็นผลดีต่อปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน

จากการวิจัยของ USEPA (1991) พบว่าดินประเภทดินร่วนปนทรายที่มีปริมาณสารอาหารเพียงพอเป็นดินที่มีความเหมาะสมต่อการปลูกพืชคลุมดินและระบบดินกลบทับชั้นบน ควรใช้ดินประเภทดินร่วนปนทรายมากกว่าดินเหนียวที่มีความหนาแน่นประมาณ 1,450 ถึง 1,500 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร เพราะช่วยให้กระบวนการมีเทนออกซิเดชันเกิดได้ดีขึ้น (Pokhrel, 1998; Chiemchaisri, 2000) และชนิดของดินที่มีความเหมาะสมสำหรับการออกแบบเป็นดินกลบทับบริเวณหลุมฝังกลบ มูลฝอยคือ ดินร่วน หรือ ดินร่วน ปนทราย ณ ระดับความลึก 40 เซนติเมตรหรือต่ำกว่า (Chiemchaisri, 2000)

2.8 ความชื้น

Nesbit (1992) รายงานว่าความชื้นบรรจุร้อยละ 25 - 75 โดยน้ำหนัก ยับยั้งอัตราการออกซิเดชันของก๊าซมีเทนถึงร้อยละ 56 เนื่องจากโมเลกุลน้ำแทรกอยู่ในช่องว่างระหว่างอนุภาคดิน ทำให้ก๊าซแพร่ได้น้อยลง

ในขณะที่ Pokhrel (1998) พบว่าความชื้นที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันคือร้อยละ 15 ถึง 20 โดยน้ำหนัก นอกจากนี้ยังพบว่า อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทน มีค่าเท่ากับ 11.5×10^{-5} กรัมมีเทน/ชั่วโมง. กรัมดินแห้ง ที่ความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก อัตรามีเทน

ออกซิเดชัน มีค่าลดลงเกือบเป็นศูนย์ และหากเพิ่มความชื้นมากกว่าร้อยละ 18 โดยน้ำหนัก อัตรา มีเทนออกซิเดชัน ไม่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับ Whalen *et al.* (1990) ที่พบว่าความชื้นที่ เหมาะสมต่อปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันคือร้อยละ 11 โดยน้ำหนัก และงานวิจัยของ Pascal and Cleemput (1996); Pokhrel (1998) ซึ่งอ้างถึงใน Chiemchaisri (2000) พบว่าความชื้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนักเหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันมากที่สุด เท่ากับ 2.36 นาโนกรัมมีเทน/ ชั่วโมง.กรัมดินแห้ง แต่เมื่อเพิ่มความชื้นเป็นร้อยละ 30 โดยน้ำหนักอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทน ลดลงเหลือ 1.60 นาโนกรัมมีเทน/ชั่วโมง.กรัมดินแห้งเนื่องจากก๊าซสามารถแพร่ผ่านเข้าสู่ช่องว่าง ดินได้น้อย และที่ความชื้นบรรจุต่ำ ๆ อัตราการออกซิเดชันของก๊าซมีเทนลดลงเหลือ 0.84 นาโน กรัมมีเทน/ชั่วโมง.กรัมดินแห้ง

3. พืชที่ใช้ในการทดลอง

หญ้า โคนครอส (*Sporobolus virginicus*)

ชื่อสามัญ Salt-water couch (ออสเตรเลีย), Beach drop-seed, Sea-shore rush grass(ฮาวาย)

จัดเป็นหญ้าที่ขึ้นตามธรรมชาติในเขตร้อน พบได้ทั่วไปในทวีปแอฟริกา ประเทศศรีลังกา อเมริกา ออสเตรเลีย และ แถบทะเลตะวันตกของอินเดีย ใบมีลักษณะแหลมยาว 15 ถึง 40 เซนติเมตร ลำต้นตั้งชันต้นหญ้ามักมีการเติบโตเป็นกอ โดยแต่ละกอมีความหนาแน่นสูง ลำต้นกว้าง 15 มิลลิเมตร เป็นต้นหญ้าที่สามารถเจริญเติบโตได้ตลอดปี สามารถอาศัยได้ในดินเกือบทุกชนิด ตั้งแต่ ดินทรายจนถึงดินร่วน ต้องอาศัยระยะเวลาการเติบโตถึง 120 วัน จึงอยู่ในสภาพแข็งแรงทนทานต่อ ฤดูแล้ง สำหรับเขตอเมริกาตอชนิดนี้สามารถทนความเค็มได้และสามารถปลูกใกล้ชายฝั่งทะเลได้ อีกทั้งยังสามารถทนทานต่อ สภาพน้ำท่วมขัง โดยสามารถดำรงชีพได้ในภาวะที่น้ำขังสูงกว่าระดับ ดิน 5 เซนติเมตร มีการสืบพันธุ์โดยใช้เมล็ด และพบว่าหญ้านี้มีโปรตีนและแร่ธาตุสูงเหมาะ สำหรับเลี้ยงสัตว์ (Kunth, n.d.) โดย สายัณห์ (2540) ได้รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงไนโตรเจนที่อยู่ใน ดินภายใต้การทำทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ (หญ้างินนี้) อายุ 8 ปี ที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตรมีค่า ร้อยละ 0.235-0.338 (235,000-338,000 ไมโครกรัมไนโตรเจน/กรัมดิน)

4. แบคทีเรียเมทาโนโทรฟ

เมทิลโลโทรฟแบคทีเรีย (Methylotroph Bacteria) คือ กลุ่มของแบคทีเรียที่ใช้อากาศในการเจริญและสามารถดึงสารประกอบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ 1 อะตอมมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ โดยสารประกอบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ 1 อะตอมนั้น ได้แก่ มีเทน (CH_4) เมทานอล (CH_3OH) เมทิลเลทเอมีน ฮาโลมีเทน และสารประกอบเมทิลที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เป็นต้น ดังนั้นเมทาโนโทรฟแบคทีเรีย (Methanotroph Bacteria) จึงเป็นสมาชิกของเมทิลโลโทรฟแบคทีเรียเนื่องจากเชื้อเมทาโนโทรฟใช้คาร์บอนอะตอมจากก๊าซมีเทนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญ (Anthony, 1982, 1986, 1991)

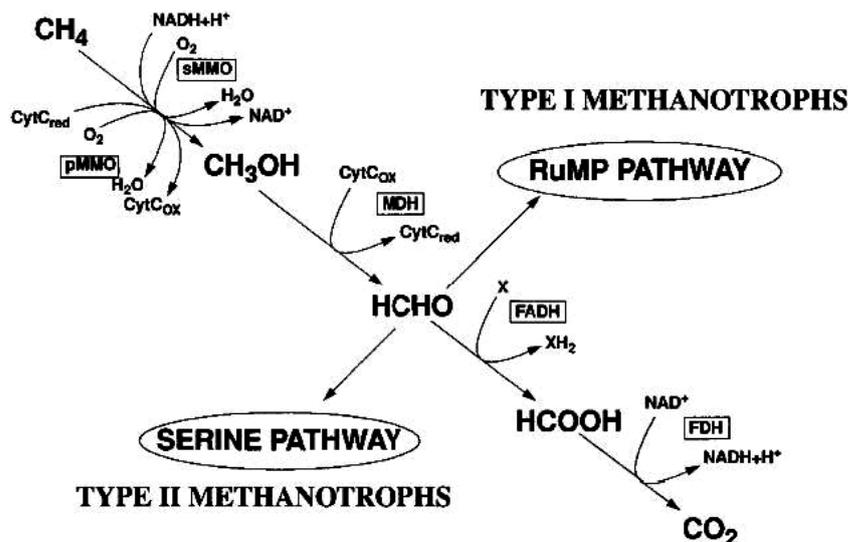
4.1 การจำแนกสายพันธุ์เชื้อเมทาโนโทรฟ

ในการจำแนกเชื้อเมทาโนโทรฟนั้นได้มีการจำแนกเชื่อดังกล่าวโดยอาศัยเกณฑ์ในการจำแนกหลายรูปแบบด้วยกัน กล่าวคือ การจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางกายภาพและชีวเคมี การจำแนกโดยอาศัยรหัสทางพันธุกรรม โดยการจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางกายภาพและชีวเคมีนั้นเป็นการจำแนกที่นิยมใช้มาแต่เดิมเนื่องจากแบคทีเรียแต่ละชนิดมีลักษณะเฉพาะของโคโลนี (การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารแข็ง) ที่สามารถจำแนกได้ด้วยตาและปฏิกิริยาทางชีววิทยาแต่ต้องใช้เวลานานในการวิเคราะห์และไม่เหมาะกับการจำแนกเชื้อที่อยู่รวมกันในสิ่งแวดล้อมเนื่องจากมีข้อจำกัดของสารอาหารที่ไม่สามารถเตรียมได้เหมือนธรรมชาติได้ทั้งหมด ดังนั้นในปัจจุบันจึงนิยมใช้รหัสทางพันธุกรรมในการจำแนกเนื่องจากยีนที่ใช้ในการจำแนกนั้นมีความจำเพาะในแต่ละสายพันธุ์และสามารถบอกได้ถึงความใกล้เคียงของแต่ละสายพันธุ์ทั้งยังใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่นานและเหมาะกับการตรวจหาเชื้อที่อาศัยในสิ่งแวดล้อมโดยวิธีการในการวิเคราะห์โดยอาศัยรหัสทางพันธุกรรมนี้ในปัจจุบันมีหลายวิธีด้วยกัน คือ วิธีพีชและวิธีการ โพลีเมอร์สเซนรีแอกชัน หรือ พีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR)

4.1.1 การจำแนกเมทาโนโทรฟทางกายภาพและทางชีวเคมี

เมทาโนโทรฟเป็นแบคทีเรียที่ใช้คาร์บอนอะตอมจากก๊าซมีเทนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญซึ่งค้นพบโดย Whittenbury *et al.* (1970, 1984) ซึ่งจำแนกเมทาโนโทรฟได้กว่า 100 ชนิดโดยอาศัยลักษณะรูปร่างของเซลล์ (Cell Morphology) รูปแบบของ

ระยะพัก (Resting Stages Formed) ลักษณะโครงสร้างของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (Fine Structure Intracytoplasmic membrane) และลักษณะภายนอกทั่วไป (Physiological Characteristics) โดยสามารถแบ่งเชื้อเมทาโนโทรฟดังกล่าวออกเป็น 2 ชนิดด้วยกัน คือ เมทาโทรฟ Type I ซึ่งมีลักษณะรูปร่างเป็นแท่งหรือรูปร่างเป็นทรงกลม ไม่สามารถเจริญในที่ที่มีอุณหภูมิสูงได้ (ประมาณ 45°C) ลักษณะของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมมีลักษณะเรียงเป็นแผ่นซ้อนกันคล้ายแผ่นจานภายในเซลล์ มีรูปแบบของระยะพักอยู่ในรูปของซิสต์ (cyst) ได้แก่ สายพันธุ์ *Methylomonas spp.* และ *Methylobacter spp.* ในขณะที่เชื้อเมทาโนโทรฟ Type II มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่งและในบางชนิดมีรูปร่างเป็นวงรี ไม่สามารถเจริญในที่ที่มีอุณหภูมิสูงได้ (ประมาณ 45°C) ลักษณะของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมมีลักษณะเป็นเยื่อหุ้ม 2 ชั้นขนานไปกับผนังเซลล์ รูปแบบของระยะพักอยู่ในรูปของซิสต์ (cyst) และสปอร์ (Exospores) ได้แก่ สายพันธุ์ *Methylosinus.*, *Methylocystis spp.* ต่อมาได้มีการศึกษาโดยนักวิจัยหลายท่านซึ่งได้สรุปว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้จะอาศัยเอนไซม์มีเทนโมโนออกซิเจเนสหรือเอ็มเอ็มโอ (Methane Monooxygenase : MMO) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการออกซิเดชันก๊าซมีเทนให้เปลี่ยนรูปเป็นเมทานอลและฟอร์มัลดีไฮด์ตามลำดับซึ่งฟอร์มัลดีไฮด์นี้เป็นสารตัวกลางที่สำคัญในการนำไปใช้ประโยชน์ของเซลล์และผลของปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ดังแสดงในภาพที่ 5 โดยฟอร์มัลดีไฮด์ซึ่งเซลล์จะสามารถดูดซึมเข้ามาใช้ประโยชน์ในเซลล์นั้นจะมีทางในการนำเข้าสู่เซลล์ 2 รูปแบบด้วยกัน คือ วิถีอาร์ยูเอ็มพี (RumP Pathways) และวิถีซีรีน (Serine Pathways) โดยรูปแบบในการนำเอาฟอร์มัลดีไฮด์เข้าสู่เซลล์นั้นทำให้สามารถจำแนกเชื้อเมทาโนโทรฟออกเป็น 2 Type ด้วยกันคือ ชนิดที่นำเอาฟอร์มัลดีไฮด์เข้าสู่เซลล์ด้วยวิถีอาร์ยูเอ็มพีจัดเป็นเชื้อเมทาโนโทรฟ Type I และชนิดที่นำเอาฟอร์มัลดีไฮด์เข้าสู่เซลล์ด้วยวิถีซีรีนจัดเป็นเชื้อเมทาโนโทรฟ Type II (Anthony, 1982, 1986, 1991; Large and Bamforth, 1988) นอกจากนี้ยังพบเมทาโนโทรฟสายพันธุ์ใหม่คือเมทาโนโทรฟ Type X คือ *Methlococcus capsulatus* เนื่องจากมีลักษณะบางประการร่วมกันระหว่างเมทาโนโทรฟ Type I และ II แต่มีลักษณะรูปร่างโดยส่วนใหญ่เป็นทรงกลมและมักพบเป็นคู่ (Diplococci) สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45 °C และมีลักษณะของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมเรียงเป็นแผ่นซ้อนกันคล้ายแผ่นจาน รูปแบบของระยะพักอยู่ในรูปของซิสต์ อาศัยกระบวนการอาร์ยูเอ็มพี และซีรีนในการดูดซึมฟอร์มัลดีไฮด์เข้าไปใช้ประโยชน์ภายในเซลล์โดยสามารถสรุปลักษณะเฉพาะของเมทาโนโทรฟแต่ละชนิดดังแสดงในตารางที่ 2



ภาพที่ 5 วิธีทางในการเกิดมีเทนออกซิเดชันและการดูดซึมฟอร์มัลดีไฮด์ของเชื้อเมทาโนโทรฟ
ที่มา: Hanson and Hanson (1996)

4.1.2 การจำแนกโดยอาศัยรหัสทางพันธุกรรม

ในปัจจุบันได้มีการใช้ยีน 16s rRNA และ 5s rRNA มาใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตเนื่องจากรหัสทางพันธุกรรมนี้เป็นกลุ่มยีนที่เป็นองค์ประกอบย่อยภายในไรโบโซมของแบคทีเรียที่มีความจำเพาะในแต่ละสายพันธุ์และยังคงลักษณะจำเพาะของสายพันธุ์นั้นๆ ไว้ถึงแม้ว่าสิ่งมีชีวิตเหล่านี้จะเกิดการกลายพันธุ์ โดยในการจำแนกด้วยยีนดังกล่าวทำให้ทราบว่าแบคทีเรียกลุ่มเมทิลโอโทรฟและเมทาโนโทรฟจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่ม Proteobacteria คือแบคทีเรียที่มีเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (Outer membrane) ประกอบไปด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharide) ซึ่งมีการจัดเรียงตัวของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมแตกต่างกันไปซึ่งมีลักษณะยีนแตกต่างกันทำให้สามารถจำแนกเชื้อแบคทีเรียกลุ่มเมทิลโอโทรฟออกเป็น 3 กลุ่มด้วยกัน คือ กลุ่มที่เป็น γ Proteobacteria α Proteobacteria และ β Proteobacteria ดังแสดงในภาพที่ 6 โดยเมื่อพิจารณาวิธีการในการดูดซึมฟอร์มัลดีไฮด์และความสามารถในการใช้มีเทนของแบคทีเรียกลุ่ม Proteobacteria แล้วพบว่าเมทาโนโทรฟ Type I ซึ่งอยู่ในตระกูลเมทิลโอคอคคาเซ (Family *Methylococcaceae*) จัดเป็นเชื้อเมทาโนโทรฟในกลุ่ม γ Proteobacteria และเชื้อเมทาโนโทรฟ Type II จัดเป็นเมทาโนโทรฟในตระกูล α Proteobacteria ดังแสดงในภาพที่ 6

5. แบคทีเรียไนโตรฟายเออร์

เป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการแปรสภาพจากอินทรีย์ใน ไตรเจนเป็นอนินทรีย์ใน ไตรเจน และเนื่องจากกระบวนการหลังนี้มักมีอินทรีย์ใน ไตรเจนที่มีขนาดของอนุภาคๆ เกิดขึ้นเสมอ ฉะนั้นในบางครั้งกระบวนการที่เรียกว่า “ไนตริฟิเคชัน” นี้จึงไม่ได้จำกัดอยู่เพียงแต่การแปรสภาพจากแอมโมเนียหรือแอมโมเนียมเท่านั้น แต่มีความหมายถึง “การเกิดไนไตรต์หรือไนเตรด จากสารประกอบที่อยู่ในรูปที่ลดออกซิเจน (Reduce Nitrogenous Compound)” โดยอำนาจของเอนไซม์หรือจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการแปรสภาพของไนโตรเจน กระบวนการไนตริฟิเคชันแบ่งออกได้เป็นสองพวกใหญ่ด้วยกันคือ

5.1 Chemoautotrophic microorganism

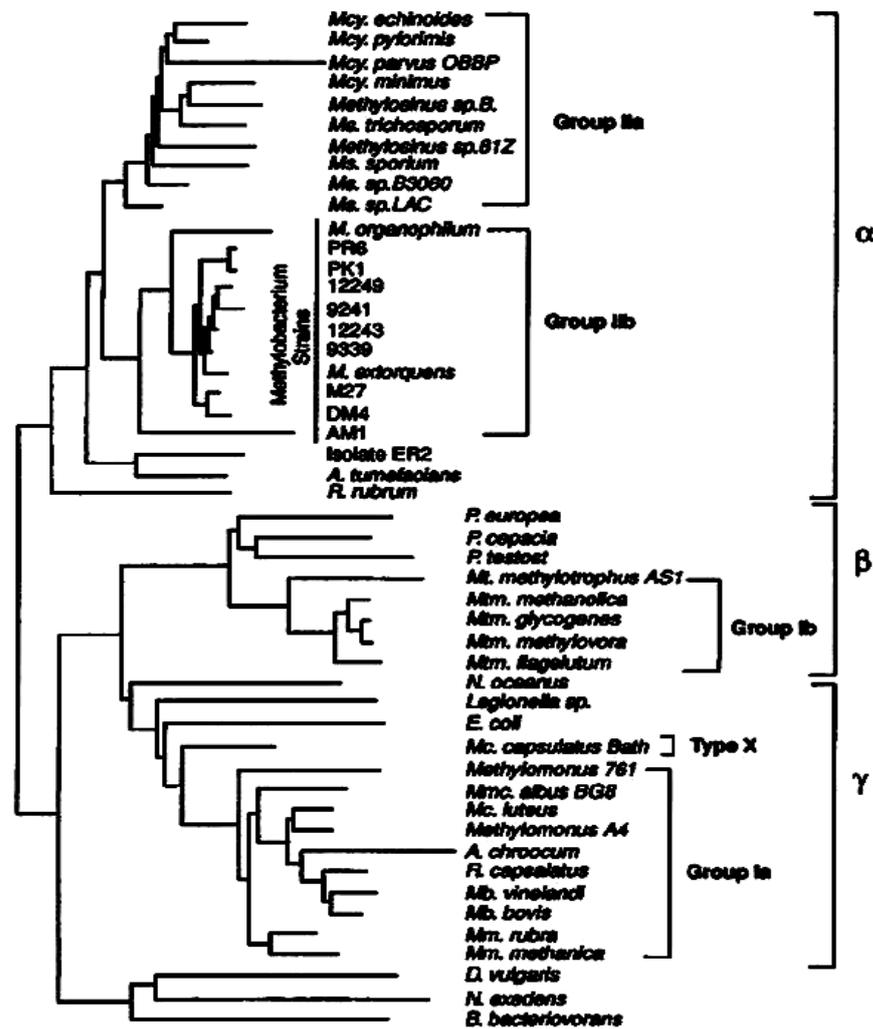
จุลินทรีย์พวกนี้ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย จะมีเพียง 2 จินัส เท่านั้นที่มักพบอยู่ในดิน โดยทั่วไป คือ *Nitrosomonas* และ *Nitrobacter* แบคทีเรียจำพวกแรกสามารถเพิ่มออกซิเจนแก่แอมโมเนียมเป็นไนไตรต์ประกอบด้วย 3 สปีชีส์ คือ *Nitrosomonas europaea* , *N. monocella* และ *N. Oligocarbogenes* ส่วนแบคทีเรียจำพวกหลังเป็นพวกที่เพิ่มออกซิเจนแก่ไนไตรต์เป็นไนเตรตมีอยู่ 2 สปีชีส์ คือ *Nitrobacter winogradskyi* และ *Nitrobacter agilis* โดยมีวิถีของการออกซิไดส์แอมโมเนียมเป็นไนไตรต์ของแบคทีเรียแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์แสดงดังรูปที่ 7

แบคทีเรียในนี้ทั้งหมดเป็นพวกที่อาศัยอินทรีย์ไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงาน โดยการเพิ่มออกซิเจนให้กับอินทรีย์ไนโตรเจน ตามสมการที่ 1 และ 2

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบลักษณะการจำแนกเชื้อเมทาโนโทรฟ Type I, Type II และ Type X

Characteristics	Type I	Type II	Type X
Cell morphology	Short rods, usually occur singly ; some cocci or ellipsoids	Crescent-shaped rods, rods, pear-shaped cell sometimes occur in rosettes	Cocci, often found as pair
Growth at 45 °C	No	No	Yes
Membrane arrangement			
Bundles of vesicular disks	Yes	No	Yes
Paired membrane aligned	No	Yes	No
Nitrogen fixation	No	Yes	Yes
Resting stages formed			
Exospore	No	Some stain	No
Cyst	Some stain	Some stain	Some stain
RuMP pathway	Yes	No	Yes
Serine pathway	No	Yes	Some stain

ที่มา: Bowman *et al.* (1993)



หมายเหตุ : *M.*, *Methylobacterium*; *Mcy.*, *Methylostrus*; *Ms.*, *Methylostrus*; *Mb.*, *Methylobacterium*; *Mc.*, *Methylococcus*; *Mp.*, *Methylophilus*; *Mnc.*, *Methylomicrobium*; *Mm.*, *Methylomonas*; *Mtm.*, *Methanomonas*.

Group Ia ; methanotrophic bacteria that employ the RuMP pathway for formaldehyde assimilation,
Group Ib ; methylotrophs that employ the RuMP pathway for formaldehyde oxidation but do not oxidize or grow with methane as a source of carbon and energy.

Group Ila ; methanotrophic bacteria that employ the serine pathway for formaldehyde assimilation,
Group Iib methanotrophic bacteria that utilize the serine pathway for formaldehyde oxidation but do not utilize methane.

ภาพที่ 6 Phylogenetic Tree ของเชื้อเมทิลโอโทรฟ เมทาโนโทรฟและแบคทีเรียชนิดอื่นที่จำแนกตามกลุ่มของ Proteobacteria (อาศัย 16s rRNA และ 5s rRNA ในการจำแนก)

ที่มา: Hanson and Hanson (1996)

6. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดกระบวนการไนตริฟิเคชัน

ปัจจัยที่นับได้ว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการดังกล่าวนี้ คือ สมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของดิน สมบัติดังกล่าวนี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการไนตริฟิเคชัน หลายกรณีด้วยกัน ดังนี้

6.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของไนตริฟายเออร์แบคทีเรีย อยู่ระหว่าง 25-30 °ซ แบคทีเรียจะมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงร้อยละ 50 ที่อุณหภูมิ 18 °ซ และลดลงร้อยละ 75 ที่อุณหภูมิ 46-50 °ซ แบคทีเรียจะไม่สามารถดำเนินกิจกรรมได้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ และแบคทีเรียจะตายที่อุณหภูมิต่ำสุด 0 °ซ และสูงสุด 49 °ซ โดยที่อุณหภูมิต่ำไนโตรเจนแบคทีเรียจะทนต่อความเย็นได้ดีกว่าไนโตรโซโมแนสและในที่อุณหภูมิสูงจะพบการสะสมของไนไตรต์ (Fritz Industries, n.d.)

6.2 ค่าความเป็นกรดต่าง

ค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมกับ ไนโตรโซโมแนส อยู่ในช่วง 7.8-8.0 และ ไนโตรแบคทีเรีย อยู่ในช่วง 7.3-7.5 ในสภาวะที่เป็นด่างไนโตรแบคทีเรียจะมีการเจริญเติบโตช้า ส่วนในสภาวะที่เป็นกรดไนโตรโซโมแนสจะมีการเจริญเติบโตช้า โดยจะพบปริมาณแอมโมเนียเป็นหลักฐาน จนกระทั่งที่พีเอช 6.5 จะหยุดการเจริญเติบโต แบคทีเรียทั้งสองชนิดจะหยุดการเจริญเติบโตที่ค่าพีเอช 6.0 (Fritz Industries, n.d.)

6.3 ค่าออกซิเจนละลาย

อัตราการการเจริญเติบโตของแบคทีเรียไนตริฟายเออร์จะมีค่าสูงสุดที่ค่าออกซิเจนละลาย (DO) อิ่มตัวร้อยละ 80 โดยแบคทีเรียไนตริฟายเออร์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่ค่าออกซิเจนละลายน้อยกว่า 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร โดยไนโตรแบคทีเรียจะสามารถทนต่อสภาพออกซิเจนละลายต่ำได้ดีกว่าไนโตรโซโมแนส (Fritz Industries, n.d.)

6.4 ปริมาณสารอาหาร

สำหรับไนโตรโซโมแนสจะใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งพลังงานโดยจะทำการเปลี่ยนแอมโมเนียให้อยู่ในรูปไนไตรต์ โดยขั้นแรกแอมโมเนียจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของเอมีน ก่อนที่จะถูกออกซิไดซ์เป็นไนไตรต์ โดยมีรายงานว่าไนโตรโซโมแนส สามารถใช้เอมีนไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงานได้ด้วย สำหรับไนโตรแบคเตอร์จะใช้ไนไตรต์เป็นแหล่งพลังงาน โดยการออกซิไดซ์ให้อยู่ในรูปของไนเตรต (Fritz Industries, n.d.)

7. กระบวนการออกซิเดชันโดยเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์

แบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟ และแอมโมเนียออกซิไดเซอร์ สามารถเกิดปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันและแอมโมเนียออกซิเดชัน ตามสมการที่ 3 4 และ 5 (Bendard and Knowles, 1989)



อินเตอร์มีเดียระหว่างการกระบวนการรีดักชัน (AH_2) จะไปรีดิวซ์ Nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate) [NAD(P)H] ในแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ ส่วนแบคทีเรียแอมโมเนียออกซิไดซ์เซอร์จะไปรีดิวซ์ Cytochrome C การเกิดมีเทนและแอมโมเนียออกซิเดชันตามสมการที่ 3-5 ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์โมโนออกซิจีเนส ซึ่งในแบคทีเรียเมทาโนโทรฟจะเรียกเอนไซม์ชนิดนี้ว่า มีเทนโมโนออกซิจีเนส (MMO) และในแบคทีเรียแอมโมเนียออกซิไดซ์เซอร์ที่สามารถออกซิไดซ์แอมโมเนียได้จะเรียกว่า แอมโมเนียออกซิจีเนส (AMO) (Bendard and Knowles, 1989)

1. ความคล้ายคลึงของแบคทีเรียเมทาโนโทรฟและแอมโมเนียออกซิไดซ์เซอร์

แบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟ และแอมโมเนียออกซิไดซ์เซอร์ มีความคล้ายคลึงกันซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้ (Bendard and Knowles, 1989)

1) การมีระบบเอนไซม์โมโนออกซิจีเนส เหมือนกัน ในแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์แบคทีเรียจะพบเอนไซม์ Hydroxylamine Oxidase (NH_2OH Oxidase) ส่วนในแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ พบเอนไซม์ Methanol Dehydrogenase (CH_3OH Dehydrogenase) ในบางสปีชีส์

2) แบคทีเรียทั้งชนิดเมทาโนโทรฟและแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ มีโครงสร้าง Intercytoplasmic membrane เหมือนกัน

3) แบคทีเรียแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ และเมทาโนโทรฟ Type I มีอัตราส่วนกรดไขมันใกล้เคียงกันที่ 16:0 และ 16:1 ตามลำดับ

4) แบคทีเรียทั้งชนิดเมทาโนโทรฟและแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ มีแหล่งที่อยู่อาศัยในบริเวณเดียวกัน ที่บริเวณรอยต่อระหว่างส่วนที่มีและไม่มีออกซิเจน

2. กระบวนการมีเทนออกซิเดชัน โดยแบคทีเรียแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์

John and Morita (1983) ได้ทำการศึกษาผลิตภัณฑ์ของการเกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยการตรวจสอบด้วยไอโซโทปคาร์บอน ^{14}C ของการเปลี่ยนแปลงจาก $^{14}\text{CH}_4$ ไปเป็น $^{14}\text{CO}_2$ ใน *Nitrococcus oceanus* *N. europaea* และ *Nitrosomonas marinus* พบว่าแบคทีเรียชนิดแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์สามารถเกิดปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันได้ โดยพบว่ามีเทนมากกว่า 17% ถูกใช้ไป นอกจากนี้ยังทำการศึกษานในสภาพที่มีปริมาณแอมโมเนียและมีเทนอยู่ร่วมกัน โดยพบว่า หากมีปริมาณแอมโมเนียอยู่จะทำให้เกิดมีเทนออกซิเดชันของแบคทีเรียแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ลดลง ต่อมา Hyman and Wood (1983) ได้ใช้เทคนิค gas-liquid chromatography ในการศึกษาการสะสมปริมาณเมทานอล ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของการออกซิไดส์มีเทนในเชื้อ *N. europaea* ซึ่งทำการบ่มด้วยก๊าซมีเทน ความเข้มข้น 200 ไมโครโมล พบว่ามีปริมาณเมทานอลสะสมเพิ่มขึ้นเป็น 500 ไมโครโมล ซึ่ง Voysey and Wood (1987) ได้ศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้เทคนิค nuclear magnetic resonance spectroscopy ในการติดตามการออกซิไดส์เมทานอล พบว่า เมทานอลมีค่าลดลงตามเวลา และมีฟอร์มัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นในช่วงต้นและลดลงในเวลาต่อมา ส่วน กรดอะซิติกจะสูงขึ้นตลอดเวลาที่ทดลอง 30 ชั่วโมง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่มีการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ส่วนวิถีของการออกซิไดส์มีเทนโดยแบคทีเรียแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ยังไม่ทราบแน่ชัด

การศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์แอมโมเนียออกซิเจเนสในการออกซิไดส์มีเทน หรือ เมทานอล Hyman and Wood (1983) พบว่ามีเทนสามารถยับยั้งการออกซิไดส์แอมโมเนียไปเป็น ไนไตรต์ โดยมีเทนมีผลทำให้มีเอนไซม์แอมโมเนียออกซิเจเนสลดลง กระตุ้นให้มีการใช้ออกซิเจนมากขึ้น โดยแอมโมเนียและมีเทนจะเกิดการแข่งขันกันในการเข้าจับบริเวณ Active site ของเอนไซม์โมโนออกซิเจเนส จากการตรวจวัดระดับการเกิดมีเทนออกซิเดชันโดยแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์พบว่าค่ามีเทนออกซิเดชันสูงสุดของเชื้อแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ยังมีค่าน้อยกว่าค่าต่ำสุดจากเชื้อเมทาโนโทรฟประมาณ 5 เท่า แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 จลนศาสตร์ของการเกิด มีเทนและแอมโมเนียออกซิเดชัน โดยเชื้อเมทาโนโทรฟและแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์

สาร	เมทาโนโทรฟ		แอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์	
	อัตราออกซิเดชัน		อัตราออกซิเดชัน	
	สูงสุด (C หรือ N g/cell/h)	K_m (μM)	สูงสุด (C หรือ N g/cell/h)	K_m (μM)
มีเทน	10-31 ^(a)	1-66 ^(b)	0.065-1.96 ⁱ	6.6-2,000 ⁱ
แอมโมเนีย	0.03-1.05 ^(d)	600-87,000 ^(e)	24-62 ^(f)	2-2,000 ^(g)
แอมโมเนีย	-	10 ^(e)	-	0.001-21 ^(e)

ที่มา : ^(a) Bhandari and Nicolas (1979) ^(b) Joergensen and Degn (1983) ^(c) Hyman and Wood (1983)
^(d) O'Neill and Wikinon (1977) ^(e) Dalton (1977) ^(f) Painter (1970) and ^(g) Kaplan (1983)

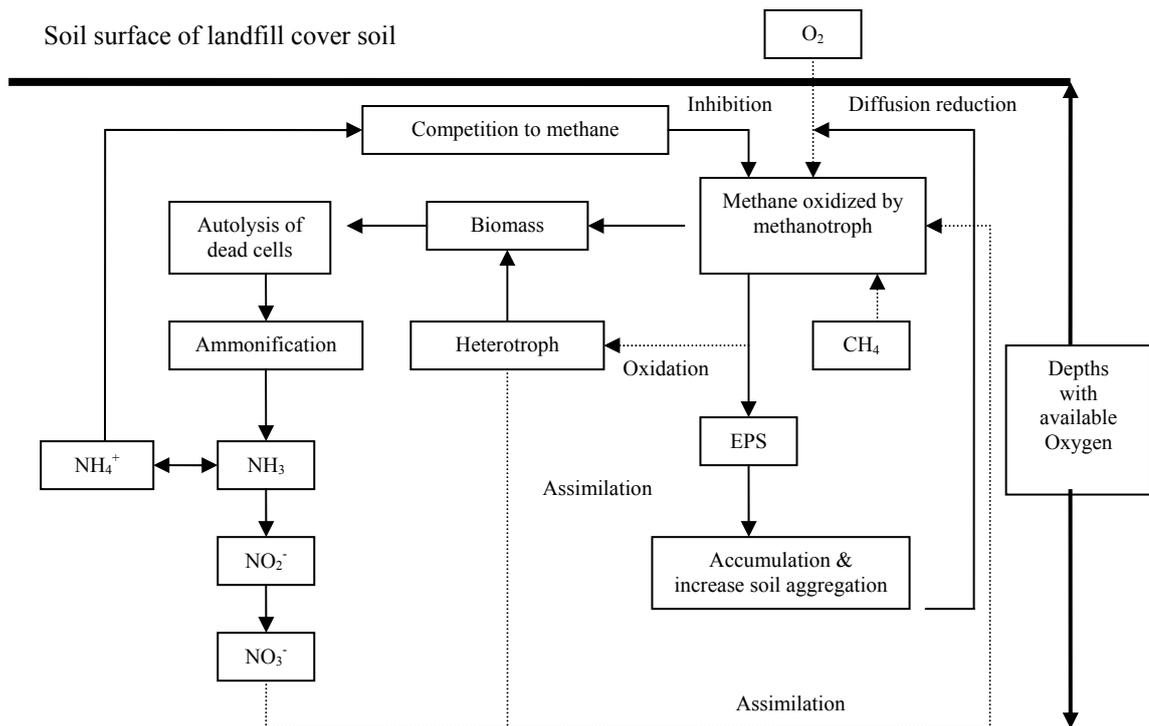
3. กระบวนการแอมโมเนียออกซิเดชัน โดยแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ

Romanovskaya *et al.* (1997) ได้ทำการศึกษาการเกิดแอมโมเนียออกซิเดชันของแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ สปีชีส์ *Methylosinus trichosporium*, *Methylococcus capsulatus* และ *Methylomonas methanica* สามารถออกซิไดส์แอมโมเนียให้เป็นไนไตรต์ ในสภาวะที่มีมีเทนร่วมด้วย แต่การศึกษาของ Hutton and Zobell (1953) พบว่าจะไม่เกิดปฏิกิริยาแอมโมเนียออกซิเดชันของแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ หากขาดมีเทน เนื่องจากไม่มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในเซลล์

การศึกษาเกี่ยวกับการเกิดแอมโมเนียออกซิเดชันของเชื้อเมทาโนโทรฟ โดยเอนไซม์โมโนออกซิจีเนส พบว่า เมทาโนโทรฟ สปีชีส์ *Methylococcus capsulatus* สามารถออกซิไดส์แอมโมเนียเป็นไนไตรต์ได้โดยมีการสะสมของไฮดรอกไซด์อะมิโน (NH_2OH) เพิ่มขึ้น (Dalton and Stirling, 1992) ในสภาพที่มีปริมาณมีเทนร่วมด้วยจะทำให้การเกิดแอมโมเนียออกซิเดชันลดลง โดยพบว่าแอมโมเนียสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเมทาโนโทรฟในการเกิดกระบวนการมีเทนออกซิเดชันได้ ซึ่งระดับของการยับยั้งจะขึ้นอยู่กับสปีชีส์ (Whittenberry *et al.*, 1970) ระดับการตรวจวัดปริมาณผลิตภัณฑ์ไนไตรต์จากเชื้อเมทาโนโทรฟพบว่ามีค่าสูงกว่าค่าต่ำสุดของเชื้อแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ถึง 20 เท่า ตามตารางที่ 3 สอดคล้องตามค่า K_m จะพบว่าเชื้อแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์จะมีค่าต่ำกว่าเชื้อเมทาโนโทรฟ 300 เท่า ซึ่งเป็นการแสดงถึงความผันแปรของเชื้อเมทาโนโทรฟต่อมีเทนในช่วงการเกิดแอมโมเนียออกซิเดชัน

8. ความสัมพันธ์ของเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์แบคทีเรีย

ในการวิจัยของ Chemchaisri (2000) ได้อธิบายความสัมพันธ์ของกิจกรรมจุลินทรีย์และอัตราการย่อยสลายก๊าซมีเทน ในชั้นหน้าดินกลบทับสุดท้ายของหลุมฝังกลบในภูมิภาคอีสานซึ่งว่าการเกิดแอมโมเนียออกซิเดชันจะเกิดพร้อมกับกระบวนการมีเทนออกซิเดชัน โดยพบว่าแอมโมเนียปนแหล่งไนโตรเจนที่จำเป็นต่อการเกิดการเกิดมีเทนออกซิเดชัน และแอมโมเนียจะทำให้การย่อยสลายก๊าซมีเทนลดลงโดยจะเข้าไปแข่งขันกับก๊าซมีเทนในการจับออกซิเจนของเอนไซม์โมโนออกซิจีเนส ความสัมพันธ์ของกิจกรรมจุลินทรีย์และอัตราการย่อยสลายก๊าซมีเทนในชั้นหน้าดินกลบทับของหลุมฝังกลบในภูมิภาคอีสานซึ่งแสดงดังภาพที่ 8 ในขณะที่ Carini *et al.* (2003) ซึ่งทำการวิจัยอันตรกิริยาระหว่างการเกิดมีเทนออกซิเดชันและแอมโมเนียออกซิเดชันในพื้นที่ดินชายฝั่งทะเล พบว่า ชุดการทดลองที่มีปริมาณแอมโมเนียอุดมสมบูรณ์มีอัตรามีเทนออกซิเดชันไม่แตกต่างจากชุดควบคุมซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดมีเทนออกซิเดชัน อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ส่วนอัตรามีเทนออกซิเดชันจะเกิดสูงสุดในชุดการทดลองที่มีการเติมมีเทนและแอมโมเนียอุดมสมบูรณ์ และเนื่องจากแบคทีเรียแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ดังนั้นแอมโมเนียที่เติมลงไป จึงน่าจะช่วยสนับสนุนกิจกรรมของแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ของกิจกรรมจุลินทรีย์และอัตราการย่อยสลายก๊าซมีเทน ในชั้นหน้าดินกลบ ทับของหลุมฝังกลบในภูมิภาคศรีอนันต์

ที่มา: Chiemchaisri (2000)

9. ฟลูออเรสเซนซ์อินซิติวไฮบริดไดเซชัน

เทคนิคการทำฟลูออเรสเซนซ์อินซิติวไฮบริดไดเซชันหรือฟิช (Fluorescent In Situ Hybridization, FISH) นั้นเป็นวิธีการในการตรวจหาชนิดของจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมและยังมีความแม่นยำจำเพาะต่อจุลินทรีย์นั้นๆ โดยการใช้โพรบ (Probe) ซึ่งโพรบที่ใช้ก็คือลำดับของเบสในสายนิวคลีโอไทด์ของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งมีความจำเพาะต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษาดังกล่าวโดยโพรบนี้จะทำการติดฉลากด้วยสารเรืองแสงที่สามารถคายพลังงานออกมาในรูปของแสงเมื่อถูกซึมหรือกระทบเข้ากับพลังงานสูง เช่น แสงอัลตราไวโอเล็ต เพื่อใช้ในการตรวจสอบเชื้อดังกล่าวในเชิงปริมาณของเชื้อดังกล่าว

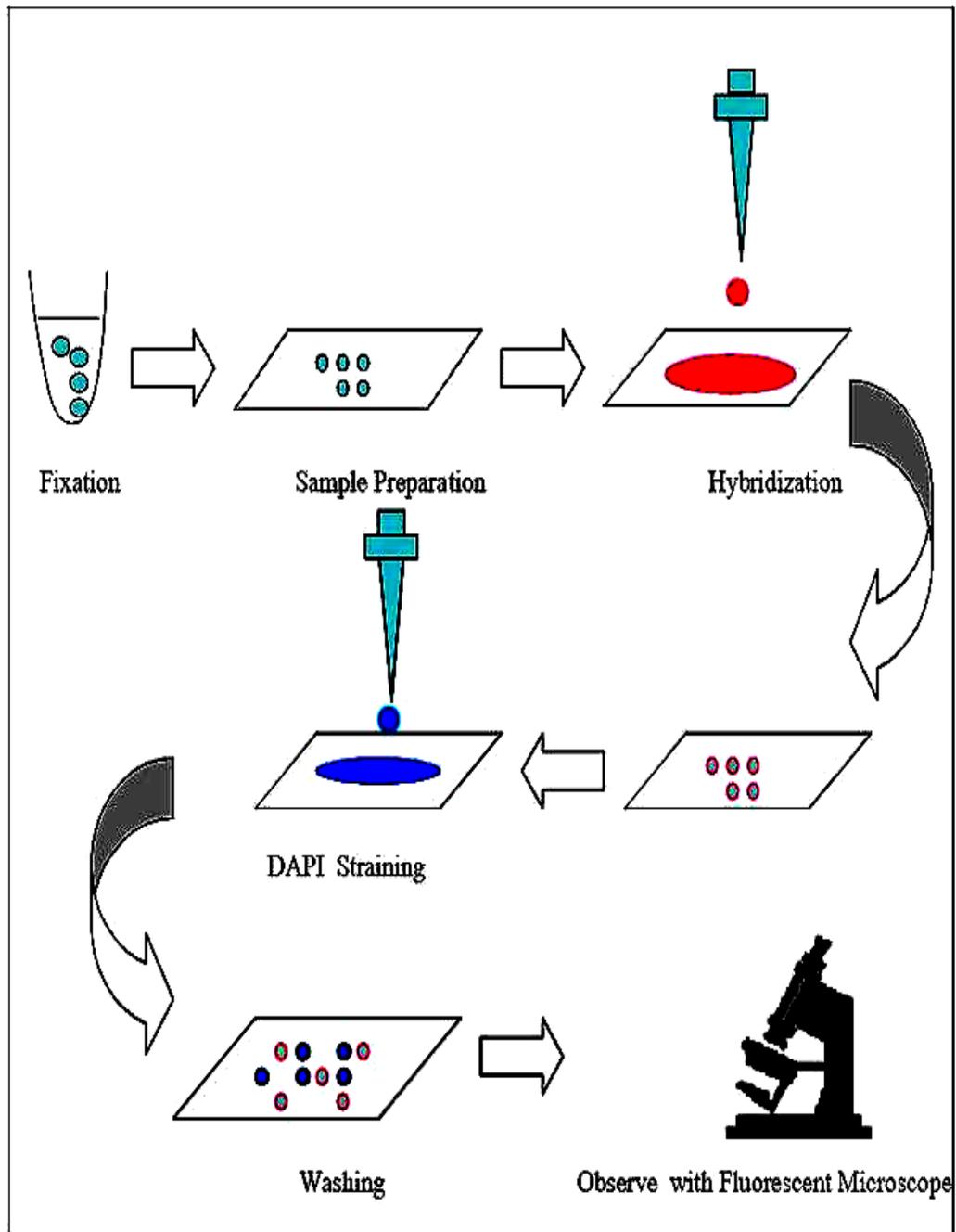
การใช้โพรบติดฉลากเข้าจับกับกรดนิวคลีอิกภายในเซลล์ เกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อปี 1969 โดย Gall และ John ได้ใช้โพรบที่ติดฉลากด้วยสารรังสี (Gall *et al.*, 1969) ต่อมาปี 1980 Bauman ได้

พัฒนาการติดฉลากด้วยสารเรืองแสงแทนการใช้สารรังสีเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างสารรังสีและสารปลอดรังสีที่สามารถเรืองแสงแล้ว สารเรืองแสงจะช่วยให้ทำงานได้สะดวก รวดเร็วและมีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น สัญญาณมีความคมชัดมากขึ้นและมีความคงตัวมากกว่า (Bauman *et al.*, 1980) ในปลายปี ค.ศ.1980 ได้มีการใช้โพรบหลายประเภทติดฉลากเรืองแสงแต่ที่นิยมในงานพีชเป็นโพรบที่ติดฉลากด้วยไบโอติน (Biotin) หรือไดออกซิจีนิน (Digoxigenin) แล้วใช้อะวิดิน (Avidin) หรือแอนติไดออกซิจีนิน (Anti-Digoxigenin) มาเชื่อมต่อกับสารเรืองแสงหรือโรดามีน (Rhodamine) เข้าจับอีกชั้นหนึ่งเมื่อโพรบที่ติดสารเรืองแสงเข้าสร้างพันธะกับกรดนิวคลีอิกเป้าหมายแล้วสามารถตรวจหาสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้ภายในกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงฟลูออเรสเซนซ์

สำหรับการทำอินซิติวไฮบริไดเซชันนั้นสามารถทำได้โดยที่กรดนิวคลีอิกจะไม่ถูกแยกสกัดออกมาจากตัวอย่างตรวจโดยจะถูกรักษาให้อยู่ในสภาพเดิมของมันให้มากที่สุดและนำมาปะติดบนสไลด์ ในขั้นตอนของการทำไฮบริไดเซชันจะทำบนแผ่นสไลด์ซึ่งปฏิกิริยาไฮบริไดเซชันจะเกิดขึ้นภายในเซลล์หรือเนื้อเยื่อจึงทำให้ทราบว่าในตัวอย่างดังกล่าวมีกรดนิวคลีอิกเป้าหมายหรือไม่พร้อมทั้งยังสามารถระบุตำแหน่งที่อยู่ของกรดนิวคลีอิกอีกด้วยหลังจากนั้นจึงนำตัวอย่างที่ต้องการตรวจมาทำการล้าง (Washing) แล้วสามารถตรวจหาสัญญาณด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ทันทีดังแสดงในภาพที่ 9

แต่ในปัจจุบันการตรวจหาสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จากโพรบที่ได้รับการติดฉลากด้วยสารเรืองแสงโดยตรง ไม่เป็นปัญหาอีกต่อไปเนื่องจากมีอุปกรณ์การตรวจจับสัญญาณแสงที่มีความไวสูง เช่น Cooled CCD Cameras ที่ต่อเข้ากับคอมพิวเตอร์ประสิทธิภาพสูงเพื่อช่วยในการขยายสัญญาณและประมวลผล การใช้โพรบติดฉลากสารเรืองแสงโดยตรงมีข้อที่ควรระวัง คือ แสงอาจจะอ่อนหรือจางลงในช่วงการทำไฮบริไดเซชัน (Hybridization) จึงควรหลีกเลี่ยงไม่ให้กระทบกับแสงสว่างมากเกินไป

สำหรับโพรบที่ใช้ในการตรวจหาเชื้อเมทาโนโทรฟที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้นั้นเป็นโพรบที่มีความจำเพาะต่อเชื้อเมทาโนโทรฟ Type I (*Methylomonas spp.*, *Methylobacter spp.*, *Methylococcus spp.*, *Methylomicrobium spp.*) และ Type II (*Methylosinus spp.* และ *Methylocystis spp.*) นอกจากนี้ยังทำการศึกษแบคทีเรียชนิดไนตริไฟอิง *Nitrosomonas spp.* และ *Nitrobacter spp.* ตามลำดับ โดยรายละเอียดของโพรบที่ใช้นั้นดังแสดงในตารางที่ 4



ภาพที่ 9 เทคนิคการทำฟลูออเรสเซนซ์อินซิติวไฮบริดไดเซชัน

ที่มา: พิชญ์ (2550)

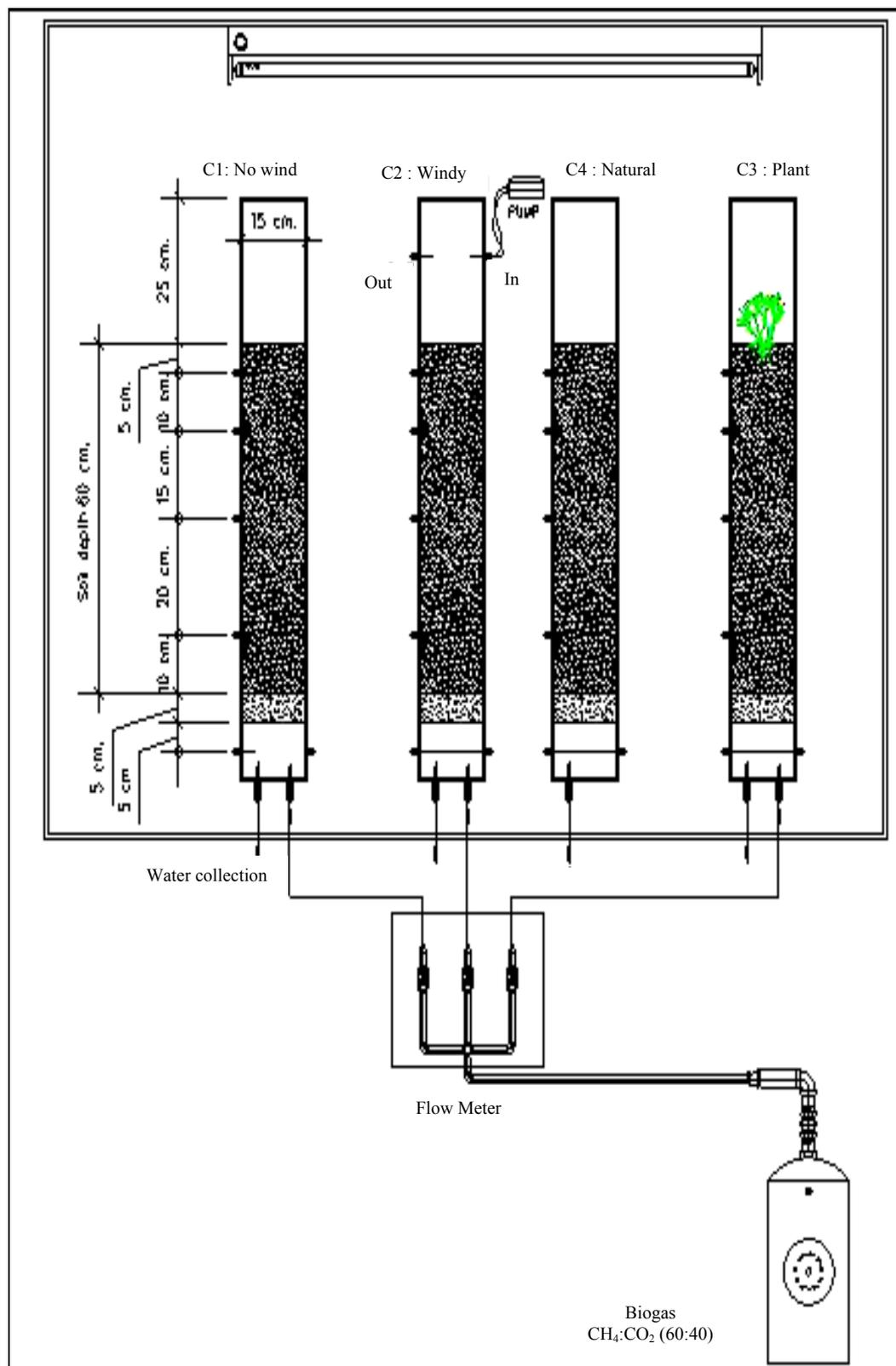
ตารางที่ 4 การศึกษาการใช้โพรบที่มีจำเพาะกับแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ Type I และ Type II และไนตริฟายเออร์

โพรบ	เป้าหมาย	ขนาด เป้าหมาย	ฟอร์มัลดีไฮด์ (%)	ลำดับเบสของโพรบและเป้าหมาย	ไฮบริดซ์ (°C)	อ้างอิง
MQ450	Type II Methanotrophs	450-470	20	probe: 3'-CTATTACTGCCATGGACCTA-5' target: 5'-GAUAAUGACGGUACCUGGAU-3'	46	Eller <i>et al.</i> (2001) ; Dedysh <i>et al.</i> (2001) ; Carini <i>et al.</i> (2005)
MY84	Type I Methanotrophs	84-103	20	probe: 3'-AGCCCGCGACTGCTCACC-5' target: 5'-UCGGGCGCUGACGAGUGG-3'	46	Eller <i>et al.</i> (2001) ; Dedysh <i>et al.</i> (2001) ; Carini <i>et al.</i> (2005)
MY705	Type I Methanotrophs	705-724	20	probe: 3'-CTAGACTTCCTTGTGGTC-5' target: 5'-GAUCUGAAGGAACACCAG-3'	46	Eller <i>et al.</i> (2001) ; Dedysh <i>et al.</i> (2001) ; Carini <i>et al.</i> (2005)
NSM156	<i>Nitrosomonas</i> <i>spp</i>	156-174	5	probe: 3'-TATTAGCACATCTTTCGAT -5' target: 5'-ATAATCGTGTAGAAAGCTA -3'	50	Mobarry <i>et al.</i> (1996)
NIT3	<i>Nitrobacter spp</i>	1032-1052	40	probe: 3'-CCAGTGCTCCATGCTCCG-5' target: 5'-GGTCACGAGGTACGGGC-3'	60	Wagner <i>et al.</i> (1996)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. แบบจำลองหลุมฝังกลบมูลฝอยสภาวะพ่นก๊าซชีวภาพ เป็นคอลัมน์พลาสติกชนิดอะคริลิก หนา 5 มิลลิเมตร ทรงกระบอก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร และสูง 100 เซนติเมตร จำนวน 3 คอลัมน์ รายละเอียดแสดงดังภาพที่ 10
2. แบบจำลองหน้าดินสภาวะธรรมชาติที่ไม่มีกรพ่นก๊าซชีวภาพ เป็นคอลัมน์พลาสติกชนิดพีวีซี หนา 5 มิลลิเมตร ทรงกระบอก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร และสูง 100 เซนติเมตร จำนวน 1 คอลัมน์
3. เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟ (Gas Chromatograph) รุ่น GC 6890 Agilent Technologies Model :G 1530A โดยมีสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ก๊าซดังนี้ ช่องนำตัวอย่างชนิด EPC Purged Packed Inlet ตั้งอุณหภูมิที่ 105 °ซ คอลัมน์ยี่ห้อ Alltech CTRT (Part No. 8700) อุณหภูมิของคอลัมน์ 35 °ซ อัตราการไหลของก๊าซฮีเลียมเท่ากับ 30 มิลลิลิตรต่อนาที และช่วงเวลาในการวิเคราะห์นาน 5.2 นาที และใช้ดีเทคเตอร์ (Detector) ชนิดทีซีดี (TCD ; Thermal Conductivity Detector) อุณหภูมิของ Detector เท่ากับ 150 °ซ
4. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงฟลูออเรสเซนซ์ ยี่ห้อ OLYMPUS
5. เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียด ยี่ห้อ Precisa รุ่น 240A
6. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/4000U
7. เครื่องวิเคราะห์เจดดาห์ไนโตรเจน (Kjedahl Nitrogen)
8. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ยี่ห้อ Yamato



ภาพที่ 10 รายละเอียดของคอลัมน์ที่ใช้ในการศึกษา

9. อ่างต้มน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ยี่ห้อ Memmert
10. เครื่อง Ultrasonic
11. ตู้อบ 105 °ซ ยี่ห้อ Memmert
12. ตู้ทำความเย็นอุณหภูมิ -20 °ซ
13. สไลด์ชนิดหลุมขนาด 14 หลุม
14. ก๊าซผสมระหว่างมีเทน (CH₄) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ในอัตราส่วนร้อยละ 60 : 40 ใช้เป็นก๊าซชีวภาพสังเคราะห์ (Synthetic Landfill Gas) บริษัท TIG
15. โพรปัสแกสสำหรับวิเคราะห์โดยวิธีพีช ที่ติดฉลากที่ปลาย 5' ด้วยสารเรืองแสงชนิด Fluorescein (C₂₀H₁₂O₅) จากบริษัท ไบโอจีโนแมค ซึ่งรายละเอียดโพรปที่ใช้ศึกษาตามตารางที่ 4
16. ปุ๋ยยูเรีย ((NH₂)₂CO) ยี่ห้อ ไน่มุก ที่มีสูตร ไนโตรเจน-ฟอสฟอรัส-โพแทสเซียม เท่ากับ 46-0-0

วิธีการ

1. การเตรียมดินที่ใช้ทดลอง

การวิจัยนี้จำลองหน้าดินที่มีไนโตรเจนสูง (1,300 ไมโครกรัม/กรัม) ซึ่งเป็นค่าที่สูงกว่าการทดลองของ Cheimchaisri (2000) และ Boeckx and Cleemput (1996) ประมาณ 10 เท่า โดยใช้ดินทรายคลุกเคล้าด้วยปุ๋ยยูเรีย ในอัตราส่วนดินทราย 81 กิโลกรัม และปุ๋ยยูเรีย 2.17 กิโลกรัม จากนั้นทำการเติมน้ำเพื่อปรับความชื้นให้อยู่ในช่วงร้อยละ 10 ซึ่งดินที่เตรียมนี้จะใช้สำหรับบรรจุลงในคอลัมน์เมื่อเริ่มต้นการทดลองและใช้เติมลงในคอลัมน์ทดแทนดินส่วนที่ทำการเก็บตัวอย่างออกไปในแต่ละเดือน โดยดินที่เตรียมนี้มีคุณสมบัติตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ลักษณะของดินเริ่มต้นที่ใช้ในการวิจัย

พารามิเตอร์	ค่าที่วิเคราะห์ได้
องค์ประกอบทางเคมี	
พีเอช (ดิน:น้ำ = 1:2)	8.93
เนื้อดิน (ดินเหนียว 8 กิโลกรัม ดินร่วน 2 กิโลกรัม และ ทราย 90 กิโลกรัม)	ดินเหนียว ร้อยละ 8 ดินร่วน ร้อยละ 2 และทราย ร้อยละ 90
ความชื้น (%)	13.01
สารอินทรีย์ทั้งหมด : ทีโอซี (mg/g)	30.70
เอ็กซ์ตร้าเซลล์ูลาร์โพลีแซคคาไรด์ : อีพีเอส (mg/g)	0.95
ฟอสฟอรัสทั้งหมด ($\mu\text{g/g}$)	110.27
ไนไตรต์ ($\mu\text{g/g}$)	4.14
ไนเตรต ($\mu\text{g/g}$)	8.07
แอมโมเนีย ($\mu\text{g/g}$)	1,311
อินทรีย์ไนโตรเจน ($\mu\text{g/g}$)	21.89
ไนโตรเจนทั้งหมด : ทีเคเอ็น ($\mu\text{g/g}$)	1,333
จำนวนเชื้อแบคทีเรีย	
เมทาโนโทรฟ TypeI ($\times 10^5$ cells/g-soil)	4.71
เมทาโนโทรฟ TypeII ($\times 10^5$ cells/g-soil)	2.82
ไนโตรโซโมแนส ($\times 10^5$ cells/g-soil)	4.39
ไนโตรแบคเตอร์ ($\times 10^5$ cells/g-soil)	1.57
เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด ($\times 10^5$ cells/g-soil)	101.11

2. การเดินระบบคอลัมน์แบบจำลองหน้าดินกลบทับสุดท้ายของหลุมฝังกลบ

นำดินที่เตรียมไว้ในข้อ 1 บรรจุลงในคอลัมน์ที่จำลองขึ้นเป็นหน้าดินกลบทับชั้นสุดท้ายให้มีความลึก 60 เซนติเมตรและมีความหนาแน่น (ρ) 1,450 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร จากนั้นพ่นก๊าซผสมระหว่างก๊าซมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ในอัตราส่วน 60 ต่อ 40 ทางด้านล่างของคอลัมน์ในชุดการทดลองหน้าดินที่พ่นก๊าซสถานะไม่มีลม สถานะที่มีลมพัดผ่าน และสถานะที่มีการปลุกพืชด้วยอัตราการไหลเท่ากับ 2.90 มิลลิลิตร/นาที่ ส่วนสถานะหน้าดินธรรมชาติไม่มีการพ่นก๊าซชีวภาพ

โดยทุกสภาวะมีการควบคุมปัจจัยแสงโดยใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ความเข้มแสง 35,000 ลักซ์ วันละ 12 ชั่วโมง เติมน้ำแบบต่อเนื่อง นาน 6 เดือน ในสองเดือนแรกที่เดินระบบจะทดลองให้สภาพแห้งโดยไม่มีการเติมน้ำให้แก่คอลัมน์ ในเดือนที่สามมีการเติมน้ำ 50 มิลลิลิตร/วัน จนถึงสิ้นสุดการทดลอง (แสดงการคำนวณปริมาณน้ำที่ใช้รดคอลัมน์ไว้ในภาคผนวก จ) เพื่อควบคุมสภาพหน้าดินที่มีความชื้น โดยมีรายละเอียดในแต่ละสภาวะที่ทดลอง จำนวน 4 สภาวะ ดังนี้

- | | |
|--------------|--|
| คอลัมน์ที่ 1 | จำลองหน้าดินตามธรรมชาติ ที่ไม่มีการพ่นก๊าซชีวภาพ |
| คอลัมน์ที่ 2 | จำลองหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยการพ่นก๊าซชีวภาพในสภาวะที่ไม่มีมีลม |
| คอลัมน์ที่ 3 | จำลองหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยการพ่นก๊าซชีวภาพและมีลมพัดผ่าน โดยการเติมอากาศ ที่อัตรา 1,000 มิลลิลิตร/นาที่เข้าคอลัมน์ ตลอดเวลาเหนือหน้าดิน 15 เซนติเมตรและเจาะช่องทางออกของลม บริเวณด้านบนตรงข้ามกับทางเข้า |
| คอลัมน์ที่ 4 | จำลองหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยการพ่นก๊าซชีวภาพและมีการปลูกพืชคลุมดิน โดยการปลูกหญ้าโคสครอส (<i>S. virginicus</i>) คลุมหน้าดิน |

3. การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบก๊าซ

ทำการเก็บตัวอย่างก๊าซจากคอลัมน์เฉพาะจุดที่มีการพ่นก๊าซชีวภาพในสภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลมพัดผ่าน และสภาวะที่มีการปลูกพืช ที่ความลึกจากระดับชั้นหน้าดิน 5 15 30 และ 50 เซนติเมตร วิธีการเก็บตัวอย่างจากคอลัมน์โดยใช้เข็มสองทางดึงตัวอย่างก๊าซจากจุดเก็บตัวอย่างก๊าซ เข้าสู่หลอดเก็บก๊าซสุญญากาศขนาด 5 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ Gas-tight Syringe ดึงตัวอย่างก๊าซ ปริมาตร 300 ไมโครลิตรนำไปฉีดเข้าเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลง ปริมาณก๊าซมีเทน ไนโตรเจน ออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ และคำนวณหาอัตราการเกิด มีเทนออกซิเดชันตามวิธีที่แสดงในภาคผนวก ข ความถี่เดือนละ 1 ครั้ง ตามวิธีที่ระบุในตารางที่ 6 ส่วนสภาวะหน้าดินตามธรรมชาติไม่มีการวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซ

ตารางที่ 6 พารามิเตอร์และวิธีการตรวจวัดองค์ประกอบของก๊าซและดิน

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
ก๊าซ	
CH ₄	Gas Chromatograph, TCD
CO ₂	Gas Chromatograph, TCD
O ₂	Gas Chromatograph, TCD
N ₂	Gas Chromatograph, TCD
ดิน	
pH (ดิน : น้ำ = 1 : 2)	pH Meter (Anderson and Ingram, 1993)
ความชื้น	Gravimetric Method (Anderson and Ingram, 1993)
ทีโอซี	Colorimetric Method (Anderson and Ingram, 1993)
อีพีเอส	Colorimetric Method (Lowe, 1993)
ฟอสฟอรัสทั้งหมด	Colorimetric Method (Anderson and Ingram, 1993)
ไนเตรต	Colorimetric Method (Anderson and Ingram, 1993)
ไนเตรต	Colorimetric Method (Anderson and Ingram, 1993)
แอมโมเนีย	Colorimetric Method (Anderson and Ingram, 1993)
อินทรีย์ไนโตรเจน	Total N - [(NH ₃ -N) + (NO ₂ ⁻ N) + (NO ₃ ⁻ N)]
ทีเคเอ็น	Colorimetric Method (Anderson and Ingram, 1993)
เชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์	Fluorescent <i>In Situ</i> Hybridization (Pernthaler <i>et al.</i> , 2001)

4. การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะสมบัติของดิน

ดำเนินการเก็บตัวอย่างดินจากคอลัมน์ในทุกสภาวะการทดลอง ที่ระดับความลึกจากชั้นหน้าดิน 0-5, 5-15, 15-30 และ 30-50 เซนติเมตร ส่วนสภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพทำการเก็บตัวอย่างที่ระดับ 0-30 เซนติเมตร เพียงระดับเดียว วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดิน โดยตรวจวัดค่าพีเอช ความชื้น สารอินทรีย์ แอมโมเนียไนโตรเจน ไนไตรต์ไนโตรเจนไนเตรต ไนโตรเจน อินทรีย์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสทั้งหมด และ เอ็กตราเซลล์ูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (อีพีเอส) โดยทำการตรวจสอบเดือนละ 1 ครั้ง ตามวิธีที่ระบุในตารางที่ 6

5. การตรวจหาปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์ด้วยวิธีพีช

ใช้ตัวอย่างดินชุดเดียวกับการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดิน ในการศึกษาเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์ในเชิงปริมาณด้วยวิธีพีชนั้นได้ปรับปรุงวิธีการของ Pernthaler *et al.* (2001) โดยในหน้าดินที่ไม่ปนก๊าซชีวภาพมีการตรวจสอบเฉพาะเชื้อไนตริฟายเออร์ (ไนโตรโซโมแนส และไนโตรแบคเตอร์) ส่วนชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันมีการตรวจสอบทั้งเชื้อเมทาโนโทรฟ (Type I และ Type II) และไนตริฟายเออร์ โดยมีรายละเอียดโพรบที่ใช้ในการศึกษา ดังตารางที่ 4 และมีขั้นตอนการวิเคราะห์ ตามภาคผนวก ง

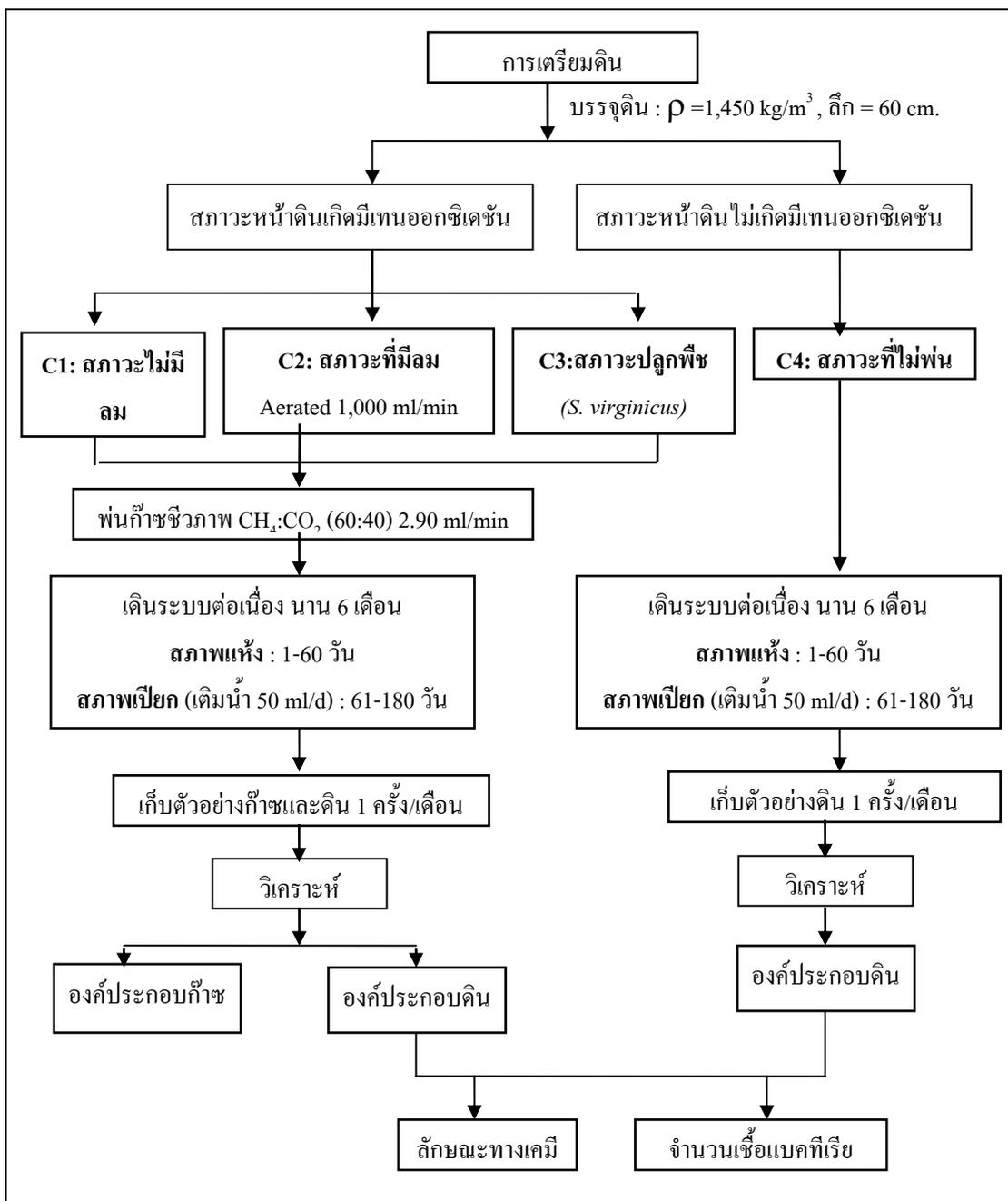
สำหรับการวิจัยครั้งนี้มีขั้นตอนการศึกษาทั้งหมดแสดงได้ดังภาพที่ 11

6. ระยะเวลาทำการวิจัย

เริ่มทำการศึกษาวิจัยตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2549 และสิ้นสุดเดือนธันวาคม 2550 รวมระยะเวลาทั้งสิ้นประมาณ 1 ปี 3 เดือน

7. สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์บางเขน



ภาพที่ 11 สรุปขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

ผลและวิจารณ์

ในการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในหน้าดินกลบทับสุดท้ายของหลุมฝังกลบที่มีปริมาณแอมโมเนียสูง โดยทำการจำลองหน้าดินซึ่งใช้ดินทรายเป็นดินกลบทับสุดท้าย โดยมีการศึกษาองค์ประกอบของก๊าซ องค์ประกอบของดิน และปริมาณเชื้อแบคทีเรีย โดยเน้นศึกษาในแบคทีเรียเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบกันในการอธิบายการเกิดกระบวนการมีเทนออกซิเดชันของการศึกษาในครั้งนี้ สำหรับการวิจัยในครั้งนี้จะแบ่งการศึกษาใน 2 สภาพ คือ สภาพหนึ่งในช่วงเริ่มต้นการทดลองจนกระทั่งเก็บตัวอย่างเดือนที่ 2 (61 วันที่ทดลอง) และสภาพเปียกในช่วงหลังเก็บตัวอย่างเดือนที่ 2 จนกระทั่งเก็บตัวอย่างในเดือนที่ 6 ซึ่งเป็นสภาพที่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนจึงแยกอธิบายผลออกเป็น 2 ช่วง ดังนี้

1. อัตราการการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

ในการทดลองครั้งนี้ พบว่าในสภาวะที่ปลูกพืชคลุมหน้าดิน หญ้าโคสครอสที่ปลูกไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดีโดยเฉพาะในหน้าดินแห้ง อาจเนื่องจากการที่มีปริมาณความชื้นต่ำเกินไป ซึ่งสังเกตได้จากผลการลำต้นของหญ้าโคสครอสที่ปลูกเริ่มเหี่ยวในช่วง 14 วันที่ทดลอง ซึ่งการเหี่ยวของพืชเป็นสิ่งที่แสดงถึงการมีน้ำในเซลล์ของพืชไม่พอกับที่พืชต้องการ (สมเจตน์ และคณะ, 2530) เมื่อมีการรดน้ำในช่วง 90-180 วันหญ้าโคสครอสก็ไม่สามารถสร้างใบใหม่ได้ในเวลาที่ทดลอง (180 วัน) โดยลักษณะความสูงของลำต้น ไม่มีการเปลี่ยนแปลงจากเริ่มต้นการทดลอง อย่างไรก็ตามพบว่าลำต้นของหญ้าและรากยังคงปรากฏอยู่ในลักษณะที่เริ่มปลูก

ผลการทดลองการเกิดมีเทนออกซิเดชันในหน้าดินกลบทับสุดท้ายที่มีปริมาณแอมโมเนียสูงในโตรเจนสูง ทั้งสามสภาวะได้แก่ สภาวะที่ไม่มีลมพัด (No Wind) สภาวะที่มีลมพัด (Windy) และสภาวะที่มีการปลูกพืชคลุมหน้าดิน (Plant) พบว่า ทั้งสามสภาวะสามารถเกิดมีเทนออกซิเดชันได้ในทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษา (184 วัน) โดยสภาพแห้ง หรือ 60 วันแรกของการทดลองตามภาพที่ 12 พบว่า การเกิดมีเทนออกซิเดชันโดยรวมตลอดทั้งคอลัมน์ (ที่ระดับความลึก 5-50 เซนติเมตร) ทุกสภาวะที่ทดลองมีแนวโน้มการเกิดมีเทนออกซิเดชันเพิ่มขึ้นตามเวลาใน 30 วันแรก โดยมีค่าอยู่ในช่วง 200-350 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน สภาวะที่มีลมมีการเกิดมีเทนออกซิเดชันโดยเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาได้แก่สภาวะที่ไม่มีลมและสภาวะปลูกพืช โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 312.13, 282.14 และ 254.50 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน ตามลำดับ หลังจากนั้นระหว่างวันที่ 30-60 วัน ในสภาวะที่ไม่มีลมมีแนวโน้มเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลงตามเวลา โดยมีค่าต่ำกว่า 180 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.

วันที่ 60 วันของการทดลอง แต่สภาวะที่มีลมและสภาวะปลูกพืชยังคงสามารถเกิดได้ดี (>300 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน)

เมื่อพิจารณาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ที่ระดับความลึกต่างๆ ตามภาพที่ 13 ใน 30 วันแรก ที่ความลึก 5-15 เซนติเมตร จากหน้าดินเป็นระดับชั้นที่เกิดมีเทนออกซิเดชันได้ดีที่สุด (100-150 กรัมมีเทน/ ลูกบาศก์เมตร.วัน) สำหรับหน้าดินที่มีลมและไม่มิลม ส่วนระดับความลึก 15-30 เซนติเมตรจะเกิดมีเทนออกซิเดชันได้ดีสำหรับหน้าดินที่ปลูกพืช ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ตามรายงานของ King and Schnell (1994) พบว่า ที่ความเข้มข้นออกซิเจนต่ำ ๆ อัตรามีเทนออกซิเดชันมีค่าต่ำ ดังนั้นจึงพบว่าการเกิดมีเทนออกซิเดชันเกิดได้ดีที่บริเวณผิวหน้าดินซึ่งเป็นบริเวณที่มีออกซิเจนสูงสำหรับกรณีที่มีลมและไม่มิลม และที่ระดับลึกบริเวณรากพืชของกรณีที่ปลูกพืชคลุมหน้าดิน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพืชมีการหยั่งรากลงดิน แม้ว่าส่วนที่เจริญพื้นดินของหญ้าจะไม่สามารถเจริญได้ดีก็ตาม (ภาพที่ 13)

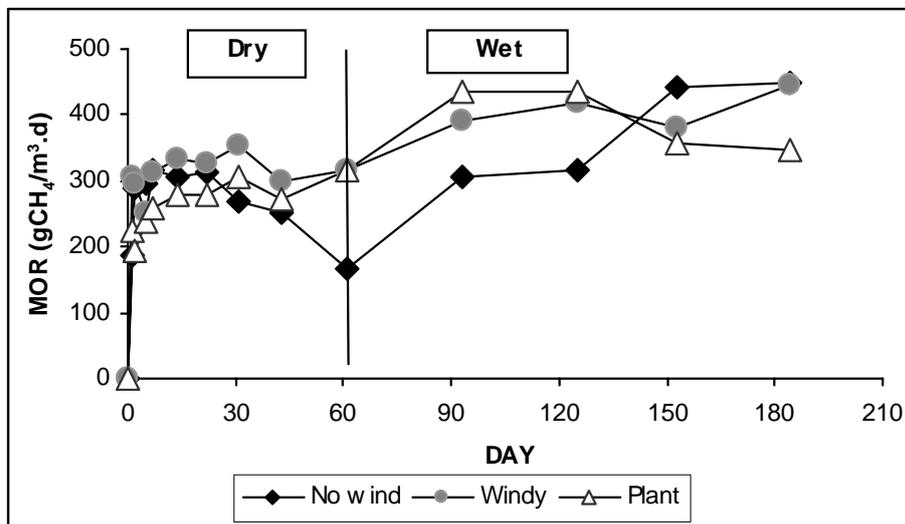
ในสภาวะที่มีลมมีการเติมออกซิเจนโดยตรงจากการป้อนอากาศ ส่วนในสภาวะที่มีการปลูกพืชการชอนไชของรากพืชจะทำให้ดินมีความพรุนมากขึ้นซึ่งมีผลทำให้การแพร่ของออกซิเจนจากบรรยากาศสามารถแพร่กระจายลงไปได้ในปริมาณที่มากกว่าสภาวะที่ไม่มีลม โดยผลการวิเคราะห์ก๊าซออกซิเจน ตามระดับความลึกต่างๆ ตามภาพที่ 14 เป็นการยืนยันผลของออกซิเจนต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยพบว่าทุกสภาวะที่ทดลองมีปริมาณออกซิเจนในดินสูงที่ผิวหน้าดินและลดลงตามระดับความลึก สอดคล้องตามการเกิดมีเทนออกซิเดชัน (ภาพที่ 13) การเติมออกซิเจนทั้งการแพร่จากอากาศและการปลูกพืชจะกระตุ้นให้มีการใช้ออกซิเจนในดินมากขึ้น จึงพบว่าสภาวะที่ไม่มีลมมีปริมาณออกซิเจนเหลืออยู่ปริมาณมากกว่าสภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืชทุกระดับชั้นดิน โดยตรวจพบปริมาณออกซิเจนเฉลี่ยที่ระดับความลึก 5-50 เซนติเมตร ในช่วง 60 วันแรกที่ทดลองของสภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลม และ สภาวะปลูกพืช เท่ากับ ร้อยละ 13.88 10.57 และ 10.04 ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามแม้ปริมาณออกซิเจนในดินมีแนวโน้มสูงขึ้นตามเวลาทุกระดับชั้นในช่วง 60 วันของสภาพแห้ง ซึ่งเกิดจากการที่ดินมีปริมาณความชื้นลดลง (ภาพที่ 15) ทำให้ออกซิเจนในบรรยากาศแพร่ลงดินได้มากขึ้น ส่งผลให้การเกิดมีเทนออกซิเดชันในช่วง 30-60 วัน ที่ บริเวณชั้นหน้าดิน 5-15 เซนติเมตร (ภาพที่ 13ก) กลับมีแนวโน้มการเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลง โดยมีค่ามีเทนออกซิเดชันต่ำกว่า 100 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วันในทุกสภาวะ ที่ 60 วัน สำหรับในระดับดินชั้นกลาง 15-30 เซนติเมตร (ภาพที่ 13ข) พบการเปลี่ยนแปลงของค่ามีเทนออกซิเดชันไม่มากเหมือนชั้นหน้าดิน โดยสภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืชมีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันคงที่

ส่วนสภาวะที่ไม่มีลมอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าลดลงเล็กน้อย โดยมีค่าเฉลี่ยในช่วง 30-60 วันของสภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลม และสภาวะที่ปลูกพืชเท่ากับ 74.19, 79.85 และ 140.85 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน ตามลำดับ ส่วนระดับชั้นดินที่ลึกถึง 30-50 เซนติเมตร (ภาพที่ 13ค) อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกสภาวะ (70-160 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน) ทั้งนี้ล้วนเป็นผลที่เกิดจากอิทธิพลของความชื้นต่อกิจกรรมของแบคทีเรียเมทาโนโทรฟในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยในดินระดับชั้น 5-15 เซนติเมตรมีปริมาณความชื้นต่ำเกินไปต่อเชื้อเมทาโนโทรฟ อัตราการเกิดมีเทนจึงเกิดได้ไม่ดี ซึ่งหากพิจารณาความสัมพันธ์ของความชื้นและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ตามภาพที่ 15 จะเห็นได้ว่าที่ระดับความลึก 5-15 เซนติเมตร (ภาพที่ 15ก) พบความชื้นต่ำ เนื่องจากเป็นชั้นผิวหน้าดินจึงมีการสัมผัสกับอากาศมากกว่าชั้นที่อยู่ลึกลงไป ส่งผลให้ดินแห้ง โดย ณ วันที่ 60 ของการทดลองทุกสภาวะที่ทดลองมีความชื้นในดินต่ำกว่าร้อยละ 6 ดังนั้นอัตราเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลงในทุกสภาวะ ที่ความลึกชั้นกลาง 15-30 เซนติเมตร (ภาพที่ 15ข) ซึ่งเป็นระดับชั้นที่มีอัตรามีเทนออกซิเดชันคงที่ในสภาวะที่มีลมและสภาวะปลูกพืช ส่วนสภาวะที่ไม่มีลมมีอัตรามีเทนออกซิเดชันลดลง พบการสะสมความชื้นในดินมากขึ้นจากชั้นหน้าดิน โดยสภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืชมีความชื้นร้อยละ 8 และ ร้อยละ 7 ตามลำดับสูงกว่าสภาวะที่ไม่มีลมที่มีความชื้นร้อยละ 6.5 ซึ่งสอดคล้องตามการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ส่วนระดับชั้นล่าง 30-50 เซนติเมตร (ภาพที่ 15ค) พบความชื้นสะสมในดินสูงกว่าชั้นอื่นๆ โดยมีค่าร้อยละ 7.5-9.5 ซึ่งเป็นชั้นดินที่ยังเกิดมีเทนออกซิเดชันได้ดี จากผลการวิจัยในสภาพแห่งนี้แสดงให้เห็นว่าความชื้นเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ซึ่งสรุปได้ว่าการมีปริมาณความชื้นในดินต่ำเกินไปมีผลทำให้อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลง ทั้งนี้สภาวะการมีลมพัดและการปลูกพืชซึ่งเกิดมีเทนออกซิเดชันได้ดี และมีความชื้นในดินสูงกว่าสภาวะไม่มีลม เนื่องจากได้รับมีปริมาณน้ำทดแทนจากผลัดกันของปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันเอง ซึ่งผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันจะได้นำเกิดขึ้นเสมอ (Chiemchaisri, 2000)

ส่วนในสภาพเปียกที่มีการเติมน้ำ 50 มิลลิลิตร/วัน ลงในคอลัมน์หลังจากการเก็บตัวอย่างในเดือนที่ 2 (วันที่ 62 ของการทดลอง) ซึ่งเมื่อพิจารณาการเกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยรวมทั้งคอลัมน์ 5-50 เซนติเมตรตามภาพที่ 12 พบว่าทุกสภาวะที่ทดลองมีอัตรามีเทนออกซิเดชันสูงกว่าในสภาพแห้ง ในสภาวะที่มีลมและไม่มิลมมีการเกิดมีเทนออกซิเดชันเพิ่มขึ้นตามเวลาและสูงสุดที่ 180 วันของการทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ 448.28, 444.40 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน ตามลำดับโดยสภาวะที่มีลมมีอัตรามีเทนออกซิเดชันเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 1 เดือนของการเติมน้ำ (90 วัน) และค่อนข้างคงที่ไปจนถึง 180 วัน ส่วนในสภาวะที่ไม่มีลมเกิดมีเทนออกซิเดชันเพิ่มขึ้นตามเวลาอย่าง

ซ้ำๆ โดยมีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเกิดสูงสุดที่ 153 วัน เท่ากับ 440.63 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร.วัน และคงที่ไปจนถึง 180 วัน



ภาพที่ 12 อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันโดยรวมทั้งคอลัมน์ 5-50 เซนติเมตร

ส่วนสภาวะที่มีการปลูกพืชอัตรามีเทนออกซิเดชันในช่วง 90-125 วันคล้ายสภาวะที่มีลม โดยมีค่าสูงสุดที่ 125 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 435.74 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์-เมตร.วัน แต่หลังจาก 125 วันมีแนวโน้มการเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลง จากการอัตรามีเทนออกซิเดชันโดยรวมทั้งคอลัมน์ทุกสภาวะมีค่าการเกิดมีเทนออกซิเดชันสูงสุดไม่แตกต่างกันมากนัก แสดงให้เห็นว่าในสภาพเปียก การเพิ่มออกซิเจนให้แก่หน้าดินกลับทับจะไม่ส่งผลมากนักต่อปริมาณการเกิดมีเทนออกซิเดชัน แต่จะส่งผลให้มีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเร็วขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากออกซิเจนส่วนที่มีการเพิ่มลงไป ในคอลัมน์ทั้งสภาวะมีลมและสภาวะปลูกพืชไม่สามารถแพร่กระจายลงดินได้ทั้งหมดเหมือนในสภาพแห้ง เนื่องจากมีปริมาณน้ำในช่องว่างระหว่างเม็ดดินขัดขวางอยู่ ซึ่งเมื่อพิจารณาปริมาณออกซิเจน ที่ระดับความลึกต่างๆ ตามภาพที่ 14 พบว่าในสภาพเปียก ที่ระดับความลึก 30-50 เซนติเมตร (ภาพที่ 14 ค และง) ปริมาณออกซิเจนสภาวะที่มีการเติมออกซิเจน (สภาวะที่มีลมพัดและสภาวะปลูกพืช) และไม่เติมออกซิเจน (สภาวะไม่มีลม) มีค่าไม่แตกต่างกัน

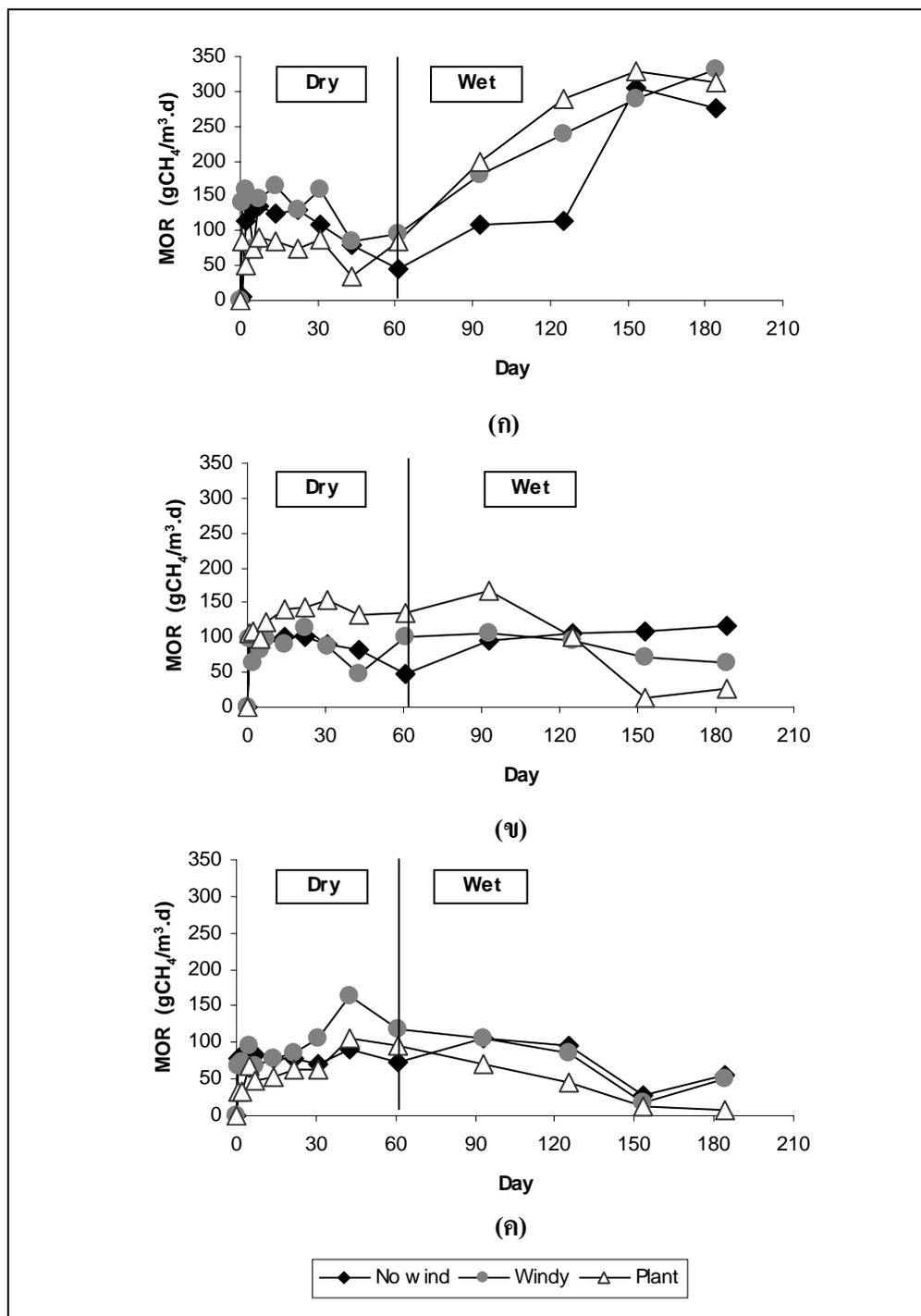
เมื่อพิจารณาการเกิดมีเทนออกซิเดชันตามระดับชั้นดิน ภาพที่ 13 พบว่า ทั้งสามสภาวะเกิดมีเทนออกซิเดชันได้ดีที่ชั้นผิวหน้า 5-15 เซนติเมตร (ภาพที่ 13ก) โดยมีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เริ่มรดน้ำจนถึง 150 วัน ซึ่งสภาวะที่มีไม่มีลม สภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืชมี

อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเฉลี่ย 175.12, 236.00 และ 272.27 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร. วันตามลำดับ (ที่ 90-150 วันที่ทดลอง) หลังจากนั้นสภาวะที่ไม่มีมีลมและสภาวะที่มีการปลูกพืชมีแนวโน้มการเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลง ส่วนสภาวะที่มีลมจะเกิดได้อย่างต่อเนื่องไปจนถึง 180 วัน ในระดับดินชั้นกลาง 15-30 เซนติเมตร (ภาพที่ 13ก) พบว่า สภาวะที่ไม่มีมีลมและสภาวะที่มีลมมีแนวโน้มของอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันคงที่ตั้งแต่มีการรดน้ำจนถึง 180 วัน โดยทั้งสองสภาวะมีค่าเฉลี่ยในระยะเวลา 90-180 วัน เท่ากับ 106.10 และ 83.86 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร. วันตามลำดับ ส่วนสภาวะที่ปลูกพืชมีแนวโน้มการเกิดมีเทนออกซิเดชันเพิ่มขึ้นในเดือนแรกที่มีการเติมน้ำ (90 วัน) ที่ค่า 150 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร. วัน จากนั้นอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีแนวโน้มลดลงในเดือนต่อมา โดยมีค่าต่ำสุดที่ 150 วัน เท่ากับ 13 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์เมตร. วัน ส่วนในระดับหน้าดินชั้นล่าง 30-50 เซนติเมตร (ภาพที่ 13ค) อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันสภาวะที่ไม่มีมีลมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตั้งแต่เริ่มการเติมน้ำจนถึง 125 วัน ที่ค่า 75- 120 กรัมมีเทน/ ลูกบาศก์เมตร. วัน หลังจากนั้นแนวโน้มการเกิดลดลง ส่วนสภาวะที่มีลมและสภาวะปลูกพืชอัตราามีเทนออกซิเดชันมีแนวโน้มลดลงตามเวลาตั้งแต่เดือนแรกที่มีการรดน้ำ โดยมีอัตราามีเทนออกซิเดชันต่ำสุดที่ 150 วัน สภาวะที่ไม่มีมีลม สภาวะที่มีลม และสภาวะที่ปลูกพืช มีค่าเท่ากับ 27.41, 17.86 และ 13.46 กรัมมีเทน/ ลูกบาศก์เมตร. วัน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อมีการเติมน้ำลงในดินมีผลทำให้การเกิดมีเทนออกซิเดชันในสภาวะที่มีการเติมอากาศทั้งปลูกพืชและสภาวะที่มีลมมีระยะเวลาการเกิดมีเทนออกซิเดชันสั้นลงตามลำดับชั้นความลึกของชั้นดิน ในขณะที่สภาวะที่ไม่มีมีลมกลับมีแนวโน้มการเกิดมีเทนออกซิเดชันได้ดีทุกระดับชั้นในช่วงสองเดือนที่มีการเติมน้ำ ทั้งนี้เป็นผลจากการมีปริมาณความชื้นซึ่งเกิดจากผลิตภัณฑ์ของมีเทนออกซิเดชันที่สะสมในสภาวะแห้ง โดยปริมาณความชื้นที่สูงเกินไปจะส่งผลกระทบต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน เนื่องจากช่องว่างในดินถูกแทนที่ด้วยน้ำ ปริมาณออกซิเจนจึงมีการแพร่กระจายลงดินได้ลดลง (Nesbit, 1992)

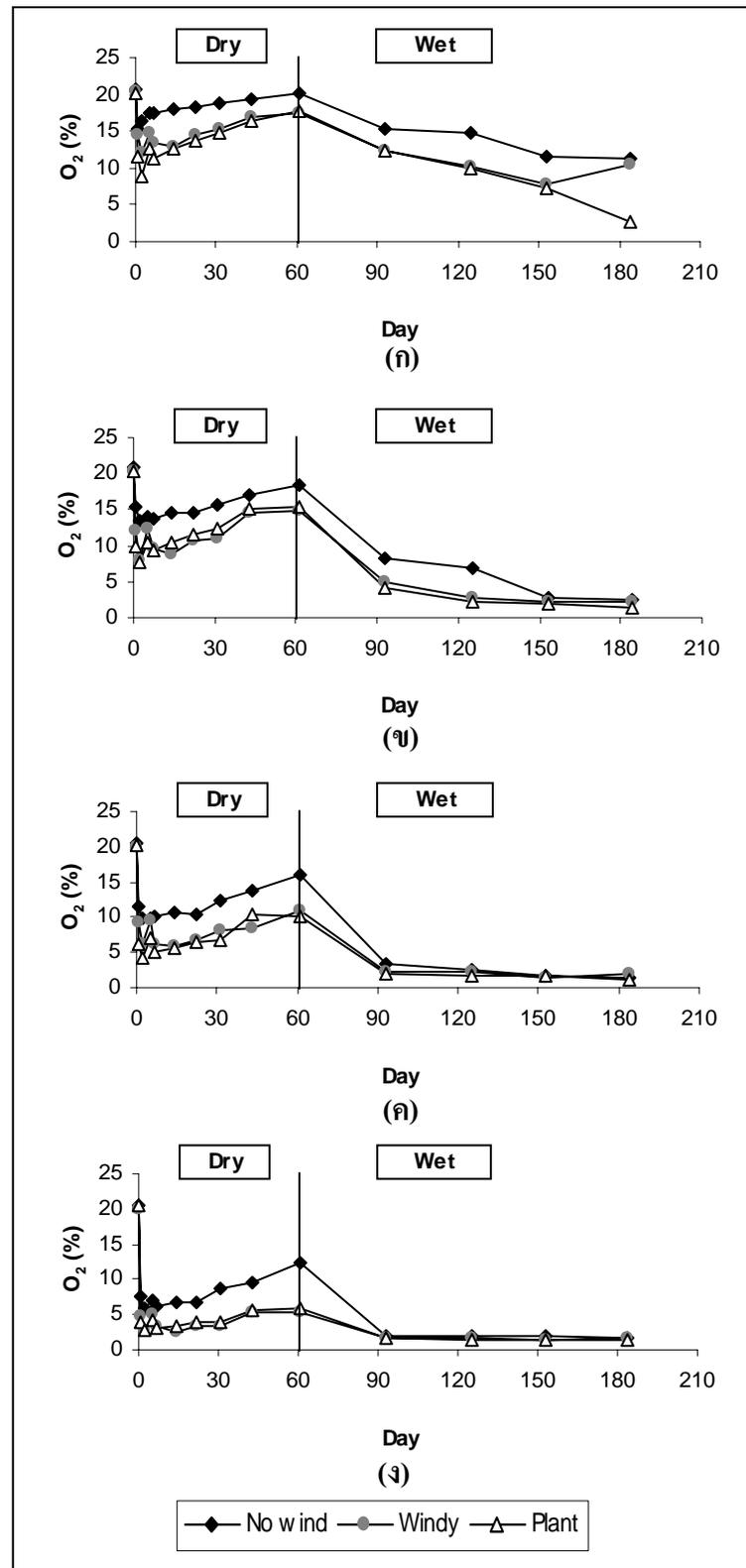
เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของความชื้นและการเกิดมีเทนออกซิเดชันในแต่ละระดับความลึกของชั้นดิน ตามภาพที่ 15 พบว่า ในชั้นหน้าดิน 5-15 เซนติเมตร (ภาพที่ 15ก) อัตราามีเทนออกซิเดชันสภาวะที่ปลูกพืชและสภาวะที่ไม่มีมีลมมีแนวโน้มลดลงหลัง 150 วัน ส่วนสภาวะที่มีลมมีแนวโน้มการเกิดมีเทนออกซิเดชันสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องใน 180 วัน โดยที่ 150 วัน พบค่าความชื้น ในสภาวะที่มีลมร้อยละ 9.99 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสภาวะที่ไม่มีมีลมและสภาวะที่ปลูกพืช ซึ่งมีค่าร้อยละ 16.53 และ 16.22 ตามลำดับ ดังนั้นจึงคงสามารถเกิดมีเทนออกซิเดชันได้อย่างต่อเนื่องไปจนถึง 180 วัน ที่ระดับดินชั้นกลาง 15-30 เซนติเมตร (ภาพที่ 15ข) อัตราามีเทนออกซิเดชันสภาวะที่มีลมและสภาวะปลูกพืชมีแนวโน้มลดลง หลังจาก 125 วันที่ทดลอง ในขณะที่สภาวะที่ไม่มีมีลมอัตราามีเทนออกซิเดชันมีค่าสูงขึ้นเล็กน้อย โดยพบความชื้นเฉลี่ยในช่วง 120-180 วัน สภาวะที่มีลมและสภาวะ

ที่ปลูกพืช เท่ากับร้อยละ 13.22, 13.46 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าสถานะที่ไม่มีลม ที่มีค่าร้อยละ 12.87 สอดคล้องตามการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ส่วนที่ระดับดินชั้นล่าง 30-50 เซนติเมตร (ภาพที่ 15ค) อัตราามีเทนออกซิเดชันสถานะที่มีลมและสถานะปลูกพืชมีแนวโน้มลดลงทันทีหลังจากที่มีการเติมน้ำ (90 วัน) ในขณะที่สถานะที่ไม่มีลมอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าสูงขึ้นในช่วง 90-120 วันก่อนจะลดลงในเวลาต่อมา โดยพบค่าความชื้นเฉลี่ยใน ช่วง 90-120 วัน สถานะที่มีลม และสถานะที่ปลูกพืช เท่ากับ ร้อยละ 12.71, 14.02 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าสถานะที่ไม่มีลม ที่มีค่าร้อยละ 11.19 สอดคล้องตามการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

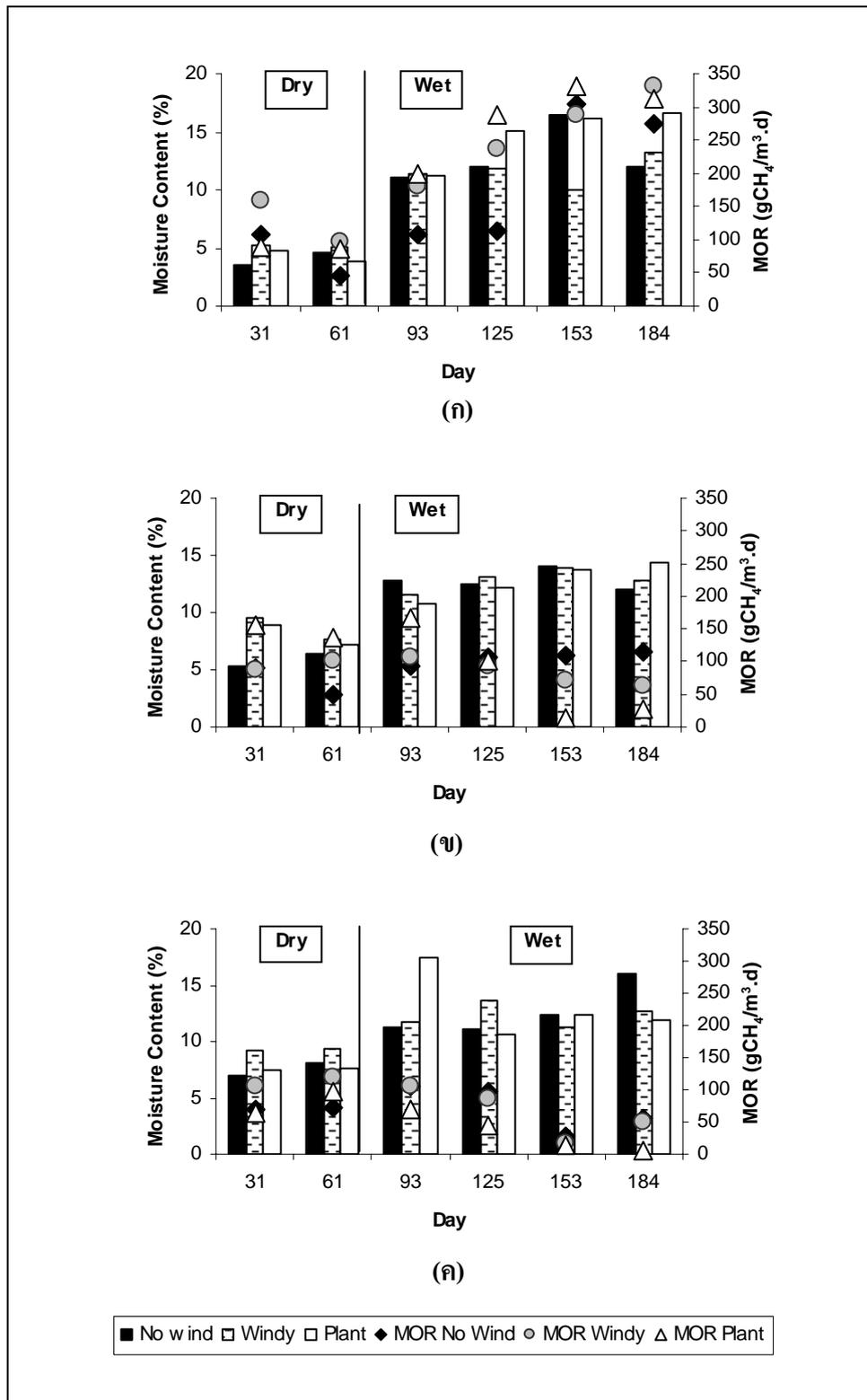
กล่าวโดยสรุปได้ว่า แม้อินทรีย์ที่มีปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนสูง ในระดับที่เป็นพิษตามรายงานที่ผ่านมา การเกิดมีเทนออกซิเดชันยังคงเป็นไปได้ โดยการเกิดมีเทนออกซิเดชันนั้น จำเป็นต้องมีปริมาณออกซิเจนและความชื้นอย่างเหมาะสมต่อกิจกรรมของเชื้อเมทาโนโทรฟ ซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะของเนื้อดินที่นำมาใช้



ภาพที่ 13 อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ระดับความลึกต่างๆ (ก) 5-15 ซม. (ข) 15-30 ซม. และ (ค) 30-50 ซม.



ภาพที่ 14 ปริมาณออกซิเจนที่ระดับความลึกต่างๆ (ก) 5 ซม. (ข) 15 ซม. (ค) 30 ซม. และ (ง) 50 ซม.



ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ของความชื้นและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ระดับความลึกต่างๆ
 (ก) 5-15 ซม. (ข) 15-30 ซม. และ (ค) 30-50 ซม.

2. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดิน

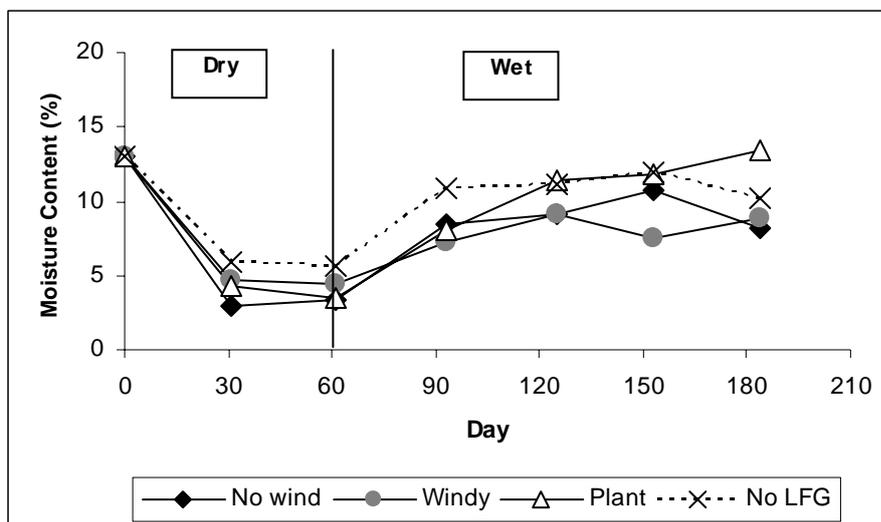
การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดินนั้นทำการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันที่สภาวะต่างๆ เปรียบเทียบกับสภาวะหน้าดินตามธรรมชาติซึ่งไม่มีการพ่นก๊าซชีวภาพ (No Landfill gas: No LFG) ที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตรซึ่งเป็นระดับที่เกิดมีเทนออกซิเดชันได้ดี

2.1 การเปลี่ยนแปลงความชื้น

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นจากการเกิดมีเทนออกซิเดชันในดิน ชุดต่างๆ ที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร ตามภาพที่ 16 พบว่า ในช่วง 125 วันที่ทดลองชุดดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพมีค่าความชื้นทั้งสภาพที่มีกรดน้ำและไม่ร่นน้ำสูงกว่าชุดที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน ร้อยละ 17 ทั้งนี้เป็นผลจากการที่ไม่มีการพ่นก๊าซทำให้ปริมาณน้ำในดินระเหยได้น้อยกว่าชุดที่พ่นก๊าซ ในสภาพแห้งทุกสภาวะที่ทดลองมีค่าความชื้นลดลงอย่างรวดเร็วใน 30 วันแรกและคงที่ใน 30 วันต่อมา โดยมีค่าความชื้นเฉลี่ยในสภาพแห้ง (31-61 วัน) สภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ สภาวะไม่มีลม สภาวะที่มีลมพัดและสภาวะที่ปลูกพืชเท่ากับ ร้อยละ 5.76, 4.06, 5.05 และ 4.62 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างต่ำสำหรับการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ตามที่ Pokhrel (1998) ได้รายงานไว้ว่าค่าความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 5 อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าลดลงเกือบเป็นศูนย์ ในการทดลองนี้สรุปได้ว่าสภาพที่ไม่เติมน้ำการเกิดมีเทนออกซิเดชันไม่สามารถผลิตน้ำทดแทนส่วนที่สูญเสียไปเนื่องจากการระเหยได้ในทุกสภาวะ

ในสภาพเปียกปริมาณน้ำที่เติมลงไปทำให้มีความชื้นเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ซึ่งเป็นการส่งเสริมให้เกิดกระบวนการมีเทนออกซิเดชัน โดยค่าความชื้นในสภาวะปลูกพืชมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดเวลาที่ทดลอง เนื่องจากการพืชที่ปกคลุมหน้าดินมีส่วนช่วยลดการระเหยของน้ำในดิน (สายัณห์, 2530) ส่วนสภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ สภาวะไม่มีลม สภาวะที่มีลมค่าความชื้นในดินมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยหลัง 93 วันที่ทดลอง โดยสภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ สภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลม และสภาวะที่ปลูกพืชมีค่าความชื้นเฉลี่ยในสภาพเปียก (93-184 วัน) เท่ากับร้อยละ 11.07, 9.11, 8.19 และ 11.18 ตามลำดับ ภาพที่ 17 แสดงความสัมพันธ์ของมีเทนออกซิเดชันและปริมาณความชื้นที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร พบว่าเมื่อความชื้นสูงขึ้นแต่ไม่เกินร้อยละ 11 การเกิดมีเทนออกซิเดชันจะสูงขึ้น แต่ความชื้นที่มีค่ามากกว่าร้อยละ 11 กลับมีผลทำให้การเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลง อาจสืบเนื่องมาจากดินที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นดินทราย ซึ่งมีค่า

ความสามารถในการอุ้มน้ำของดินน้ำต่ำ (Holding Water) โดยดินทรายสามารถอุ้มน้ำได้เพียงร้อยละ 12-20 (สัจฉ์, 2530) เมื่อดินมีน้ำบรรจุมากขึ้นทำให้อากาศสามารถแพร่ลงดินได้ต่ำ ดังนั้นอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจึงมีค่าต่ำไปด้วย

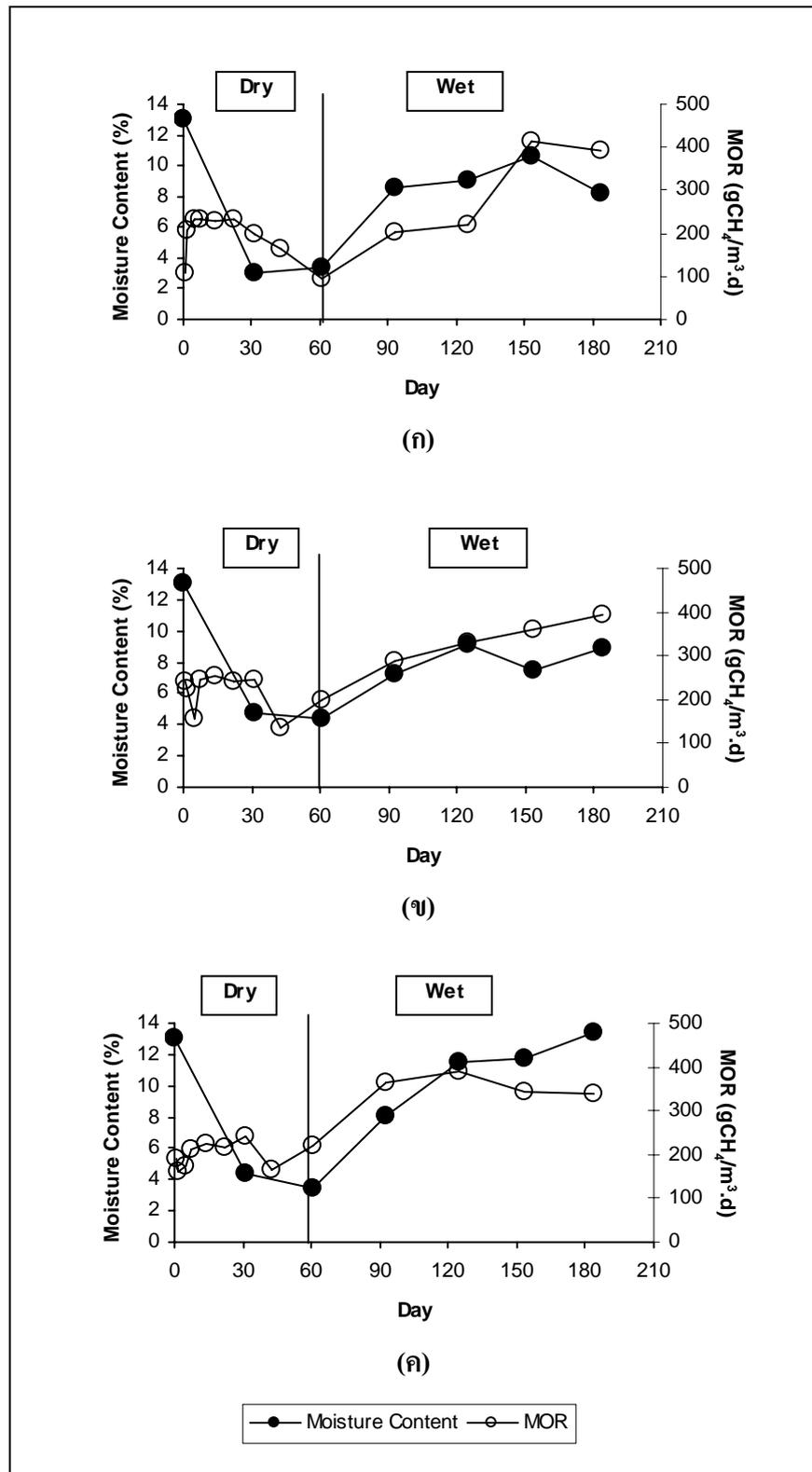


ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงความชื้นเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร

2.2 การเปลี่ยนแปลงค่าไนโตรเจน

สำหรับการเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียม ตามภาพที่ 18(ก) พบว่าทุกสภาวะที่ทดลอง ปริมาณแอมโมเนียมมีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วใน 93 วันที่ทดลอง หลังจากนั้นปริมาณแอมโมเนียมมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ซึ่งการลดลงของแอมโมเนียมนี้เกิดจากปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันในดิน โดย ณ วันที่ 93 วันที่ทดลอง ชูดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพมีแอมโมเนียเหลืออยู่ 177.06 ไมโครกรัม/กรัมสูงกว่าชูดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน ซึ่งสภาวะไม่มีลม สภาวะมีลมพัด และสภาวะปลูกพืช มีค่าแอมโมเนียม เท่ากับ 107.16 , 55.02 และ 93.84 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาเฉพาะในหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน ตามภาพที่ 18 ก พบว่า ทุกสภาวะมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียมไม่แตกต่างกันมากนัก แต่เมื่อพิจารณาค่าแอมโมเนียมที่เปลี่ยนแปลง พบว่า



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความชื้นและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ที่ระดับความลึก 0-30 ซม. (ก) สภาวะไม่มีลitter (ข) สภาวะที่มีลitter (ค) สภาวะที่ปลูกพืช

สภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืชมีค่าแอมโมเนียมเฉลี่ยในช่วง 31-60 วัน เท่ากับ 796.20, 876.53 และ 783.17 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ โดยสภาวะที่ปลูกพืชมีปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนต่ำกว่าสภาวะที่ไม่มีลมและสภาวะที่มีลมในช่วง 60 วันแรกของการทดลอง ซึ่งอาจเป็นผลจากการดึงแอมโมเนียมในดินไปใช้ประโยชน์โดยพืช ซึ่งแอมโมเนียมจัดเป็นไนโตรเจนในรูปที่พืชสามารถดูดซึมได้ (สมเจตน์ และคณะ, 2530) ส่วนในสภาพเปียก สภาวะที่ปลูกพืชกลับมีปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนสะสมสูงกว่าสภาวะที่ไม่มีลมและสภาวะที่มีลม ซึ่งอาจเกิดจากการกระบวนการแอมโมนิฟิเคชันในดินซึ่งเป็นการเปลี่ยนอินทรีย์ไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมที่เกิดขึ้นได้มากกว่า เนื่องจากมีการให้อากาศผ่านรากพืชมากกว่า (อุบลวรรณ, 2546) โดยสภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลม และสภาวะที่ปลูกพืชมีค่าแอมโมเนียมเฉลี่ยในช่วง 90-180 วัน เท่ากับ 38.38, 71.02 และ 102.38 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ

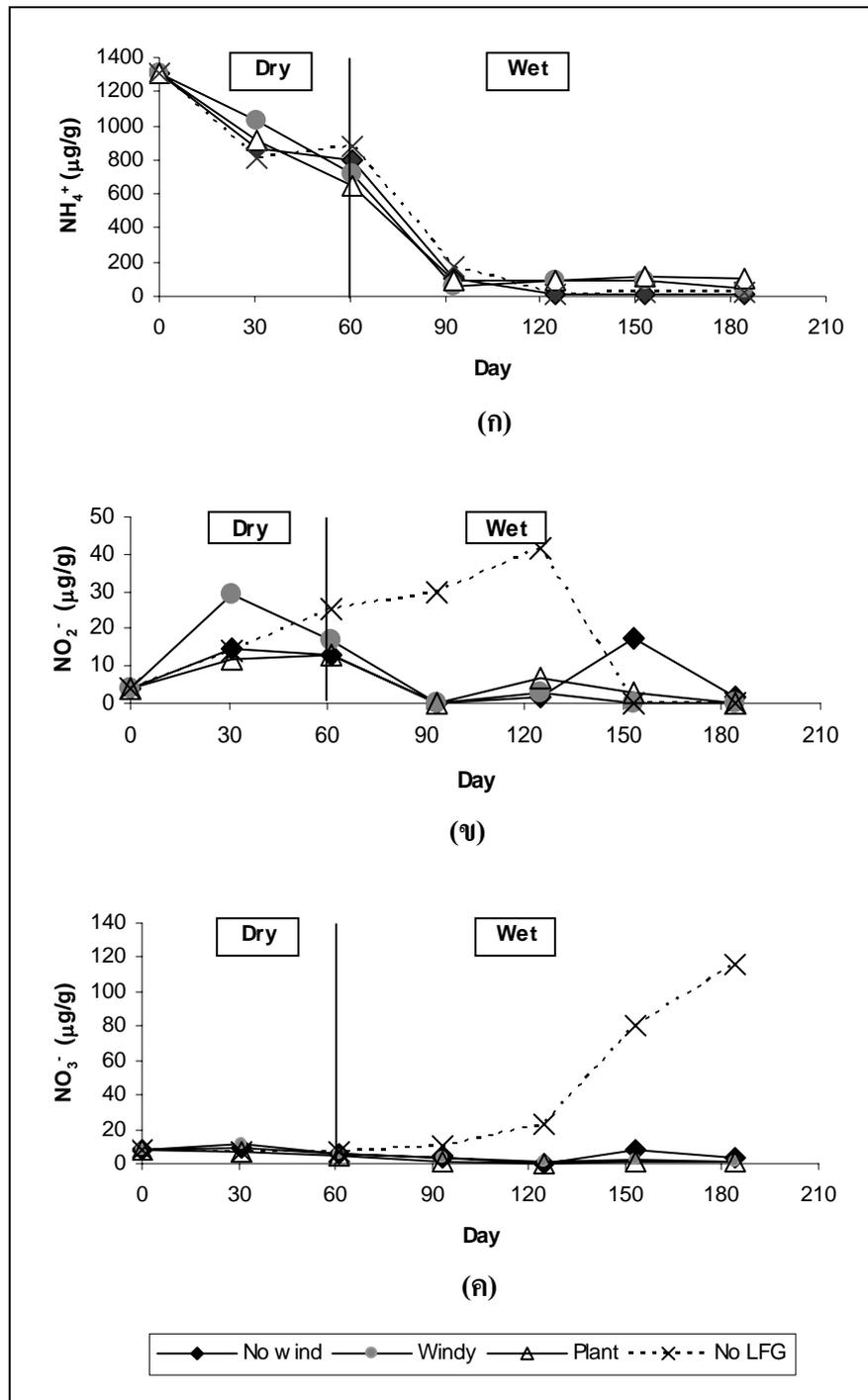
สำหรับการเปลี่ยนแปลงไนโตรเจน ตามภาพที่ 18 (ข) สภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพมีการสะสมไนโตรเจนเพิ่มขึ้นตามเวลาในช่วง 125 วันที่ทดลองจากนั้นจะมีค่าลดลง ส่วนชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันการสะสมไนโตรเจนมีแนวโน้มลดลง ใน 90 วันที่ทดลองทั้งสามสภาวะซึ่งจะเห็นได้ว่าการสะสมปริมาณไนโตรเจนในสภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพในช่วง 153 วันของการทดลองมีค่าสูงและนานกว่าสภาวะหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันของไนโตรเจนในหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพเกิดช้ากว่าหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยมีค่าไนโตรเจนเฉลี่ยในช่วง 31-153 วัน สภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ สภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลม และสภาวะที่ปลูกพืช มีค่าเท่ากับ 22.24, 9.31, 9.75 และ 6.86 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ

ส่วนการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรต ตามภาพที่ 18 (ค) พบว่าในสภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพค่าไนเตรตมีแนวโน้มสูงขึ้นตามเวลาหลังจาก 61 วันที่ทดลอง ส่วนชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าไนเตรตเปลี่ยนแปลงไม่มากนักทั้งในสภาพแห้งและเปียก ซึ่งพบการสะสมไนเตรตสูงสุด ณ วันที่ 184 โดยสภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพมีค่า 115.67 ไมโครกรัม/กรัม สูงกว่าในสภาวะหน้าดินที่เกิดมีเทน โดยสภาวะหน้าดินที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลม และสภาวะที่ปลูกพืช มีค่าเพียง 3.52 1.70 0.88 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อเมทาโนโทรฟิไซ์ในโตรเจนในรูปของไนเตรต จึงทำให้ปริมาณไนเตรตลดลง ซึ่งสรุปได้ว่าการพ่นก๊าซมีเทนซึ่งทำให้เกิดมีเทนออกซิเดชัน ไม่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันตามธรรมชาติได้ซึ่งขัดแย้งกับ Carini *et al.* (2003) ที่กล่าวว่า ชุดดินที่มีการเติมทั้งมีเทนและแอมโมเนียมมีการเกิดมีเทนออกซิเดชันสูง แต่การเกิดแอมโมเนียออกซิเดชันมีค่าน้อยกว่าชุดที่เติมแอมโมเนียมเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้อาจเนื่องจาก

ปริมาณไนโตรเจนที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีค่าสูงกว่าประมาณ 10 เท่า จึงไม่พบการขาดแคลนไนโตรเจน ปฏิกริยาไนตริฟิเคชันยังคงสามารถเกิดได้ดีทั้งสภาพตามธรรมชาติและสภาพมีเทนออกซิเดชัน และในการทดลองครั้งนี้อาจกล่าวได้ว่าปฏิกริยามีเทนออกซิเดชันกลับช่วยกระตุ้นการเกิดไนตริฟิเคชันโดยเฉพาะไนไตรต์ออกซิเดชัน จากการใช้ในเตรตของเมทาโนโทรฟซึ่งเป็นการเร่งปฏิกริยานี้ทางอ้อม

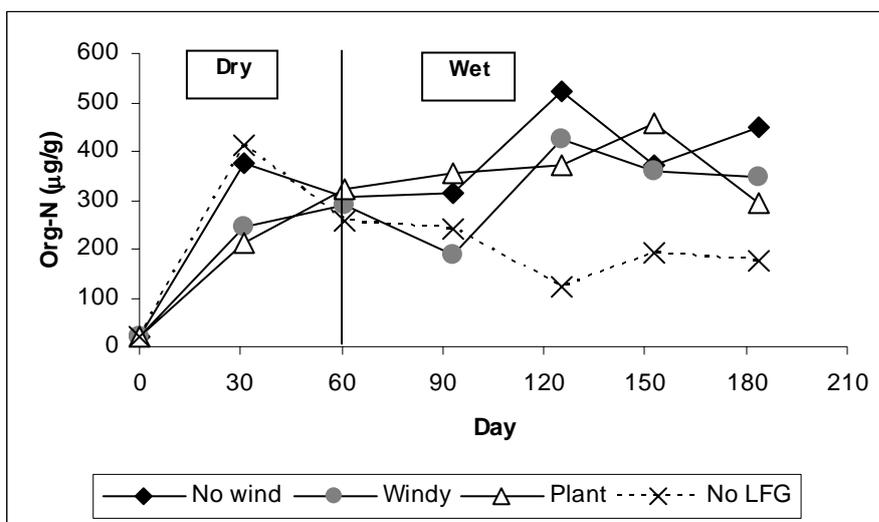
ในหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน พบว่าพืชมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรตในโตรเจน โดยพบว่าสถานะที่ปลูกพืชมีค่าไนเตรตสะสมในดินน้อยกว่าสถานะที่ไม่มีมีลมและสถานะที่มีมีลม ตลอดระยะเวลาที่ทดลอง โดยมีค่าไนเตรตเฉลี่ยตลอดระยะเวลาที่ทดลอง (30-180 วัน) ที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร ในสถานะที่ไม่มีมีลม สถานะที่มีมีลม และสถานะที่ปลูกพืชเท่ากับ 5.01, 2.60 และ 2.43 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการดึงปริมาณไนเตรตไปใช้ประโยชน์ของพืช คล้ายกับการดึงแอมโมเนียมในดิน ซึ่งพืชสามารถใช้ไนโตรเจนได้ทั้งในรูปแบบของแอมโมเนียมและไนเตรต (สมเจตน์ และคณะ, 2530) รวมทั้งอาจเป็นผลจากการเกิดปฏิกริยาดินไนตริฟิเคชัน ซึ่งสถานะที่ปลูกพืชมีความชื้นในดินสะสมในปริมาณที่สูงกว่าสถานะที่ไม่มีมีลม และสถานะที่มีมีลม (ภาพที่ 16) จึงมีโอกาสเกิดสภาพไร้ออกซิเจนได้ดีกว่า ซึ่ง สมศักดิ์ (2528) กล่าวว่า การเกิดปฏิกริยาดินไนตริฟิเคชันเกิดได้ดีในสภาพที่ไร้ออกซิเจน

ส่วนการเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนแสดงในภาพที่ 19 ในสภาพแห้งทุกสถานะที่ทดลองมีปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนสูงขึ้นใน 31 วันที่ทดลองโดยสถานะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ สถานะที่ไม่มีมีลม สถานะที่มีมีลม และสถานะที่ปลูกพืช มีค่า 413.35 375.41 245.76 และ 213.42 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ หลังจากนั้นสถานะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพและสถานะหน้าดินที่ไม่มีมีลมมีแนวโน้มลดลง ส่วนในสถานะที่มีมีลมและสถานะปลูกพืชมีแนวโน้มสูงขึ้นตามเวลา สำหรับการเปลี่ยนแปลงในสภาพเปียกชุดดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพมีค่าอินทรีย์ไนโตรเจนเปลี่ยนแปลงไม่มากนักในช่วง 121.12-240.46 ไมโครกรัม/กรัมต่ำกว่าชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันค่าอินทรีย์ไนโตรเจนมีแนวโน้มสูงขึ้นใน 125 วันที่ทดลอง โดยสถานะที่ไม่มีมีลม สถานะที่มีมีลม และสถานะที่ปลูกพืช 522.40 425.83 และ 373.34 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ เนื่องจากอินทรีย์ไนโตรเจนในดินจะมาจากการดึงอินทรีย์ไนโตรเจนมาใช้ในเซลล์จุลินทรีย์ ดังนั้นจึงสามารถกล่าวเป็นนัยถึงปริมาณจุลินทรีย์ในดินได้โดยอ้อม

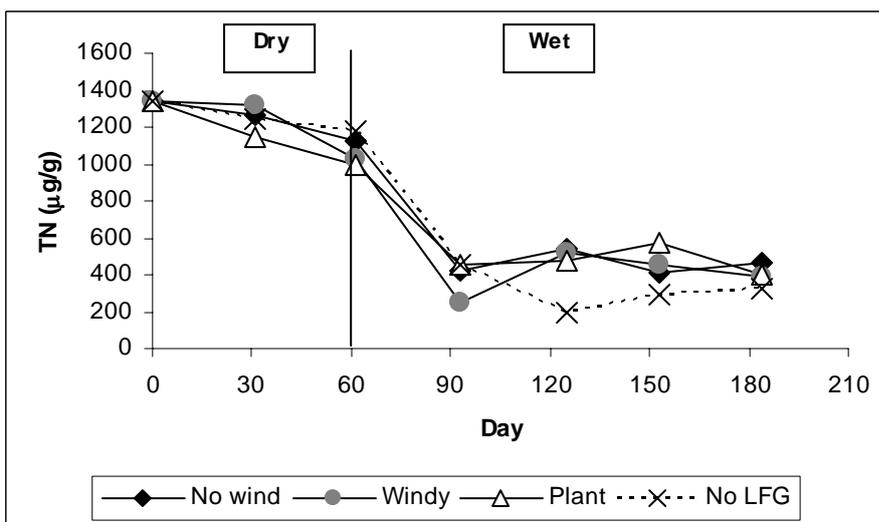


ภาพที่ 18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนเฉลี่ยที่ระดับความลึก 0-30 ซม. (ก) แอมโมเนียม (ข) ไนไตรต์ และ (ค) ไนเตรต

ในสภาพแห้งการเพิ่มปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนน่าจะมาจากประชากรของไนตริไฟเออร์เป็นหลัก ซึ่งเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงไนโตรเจน ภาพที่ 18 จะพบว่าปริมาณไนโตรเจนลดลงเป็นอย่างมากในช่วงนี้ ส่วนในสภาพเปียกการเพิ่มปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนที่เพิ่มสูงขึ้นน่าจะมาจากเชื้อเมทาโนโทรฟเป็นหลัก ซึ่งจะเห็นได้ว่าในสภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพที่ไม่เกิดมีเทนออกซิเดชันอินทรีย์ไนโตรเจนมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย แต่ในชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันทุกสภาวะมีอินทรีย์ไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้นกว่าในสภาพแห้ง



ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงอินทรีย์ไนโตรเจนเฉลี่ยความลึก ที่ระดับ 0-30 ซม.



ภาพที่ 20 การเปลี่ยนแปลงไนโตรเจนทั้งหมดเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.

จากภาพที่ 20 เมื่อพิจารณาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ซึ่งเป็นผลรวมของปริมาณแอมโมเนียม ไนไตรต์ ไนเตรต และอินทรีย์ไนโตรเจน ในสภาพแห้งทุกสภาวะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าไนโตรเจนทั้งหมดเฉลี่ยในช่วง 30-60 วัน ในสภาวะหน้าดินที่ไม่มีการพ่นก๊าซชีวภาพ สภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลม และสภาวะที่ปลูกพืช เท่ากับ 1,210.30, 1,193.25, 1,175.12 และ 1,069.13 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ ในสภาพเปียกพบว่าทุกสภาวะที่ทดลองมีแนวโน้มของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดลดลงอย่างมากในช่วงเดือนแรกของการร่อนน้ำ (90 วัน) หลังจากนั้นในช่วง 120-180 วันมีค่าเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก โดยชุดดินที่ไม่มีการพ่นก๊าซชีวภาพมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเฉลี่ย 269.68 ไมโครกรัม/กรัม ต่ำกว่าชุดที่เกิดมีเทนออกซิเดชันซึ่งสภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืชมีค่า 471.53, 455.51 และ 483.47 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ค่าเริ่มต้นและการเปลี่ยนแปลงในแต่ละเดือนพบว่า ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ค่าเริ่มต้นมีค่าสูงกว่าไนโตรเจนที่เดินระบบในแต่ละเดือน ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีการสูญเสียออกไปจากดิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาพเปียก การทดลองในสภาพแห้งอาจเกิดการสูญเสียไนโตรเจนได้จากการเปลี่ยนรูปของแอมโมเนียมในดินเป็นก๊าซแอมโมเนีย ซึ่งเมื่อพิจารณาควบคู่ไปกับการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (ภาพที่ 21) พบว่าที่สภาพแห้งทุกสภาวะมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 8.5 – 9.0 ซึ่งค่าพีเอชเท่ากับ 9 หรือสูงกว่า ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนรูปของแอมโมเนียมให้อยู่ในรูปของก๊าซแอมโมเนีย (Sawyer *et al.*, 2003) ส่วนในสภาพเปียกการทุกสภาวะมีค่าพีเอชต่ำกว่า 8.5 ดังนั้นการสูญเสียไนโตรเจนในรูปของก๊าซแอมโมเนียจึงไม่ใช่สาเหตุหลัก โดยการสูญเสียปริมาณไนโตรเจนในสภาพเปียกนี้คาดว่ามาจากสาเหตุหลักสองประการ ประการแรกคือการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันซึ่งเป็นการเปลี่ยนปริมาณไนเตรตในดินให้อยู่ในรูปของก๊าซไนโตรเจนในสภาวะไร้ออกซิเจน (สมศักดิ์, 2528) การทดลองในสภาพเปียก การเติมน้ำลงไป มีผลทำให้ ออกซิเจนในดินลดลงซึ่งอาจมีผลทำให้เกิดสภาวะไร้ออกซิเจนในบางช่วงเวลา ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนในดิน (ภาพที่ 18) โดยจะเห็นได้ว่าในช่วงเดือนแรกที่ร่อนน้ำ (90 วัน) แม้ปริมาณแอมโมเนียมมีแนวโน้มลดลงอย่างมาก แต่การสะสมไนเตรตในดินก็มิได้มีค่าสูงขึ้นตามไปด้วย ประการที่สองคืออาจเกิดการสูญเสียไนโตรเจนจากการชะละลายจากปริมาณที่เติมลงไป (Leaching) โดยในการทดลองครั้งนี้ให้ปริมาณน้ำที่มากเกินไปเกินความสามารถในการอุ้มน้ำของดินจึงมีปริมาณส่วนเกินบริเวณด้านล่างคอลัมน์ ดังนั้นจึงอาจมีปริมาณไนโตรเจนบางส่วนที่สูญเสียไปกับน้ำส่วนเกินนี้

2.3 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช

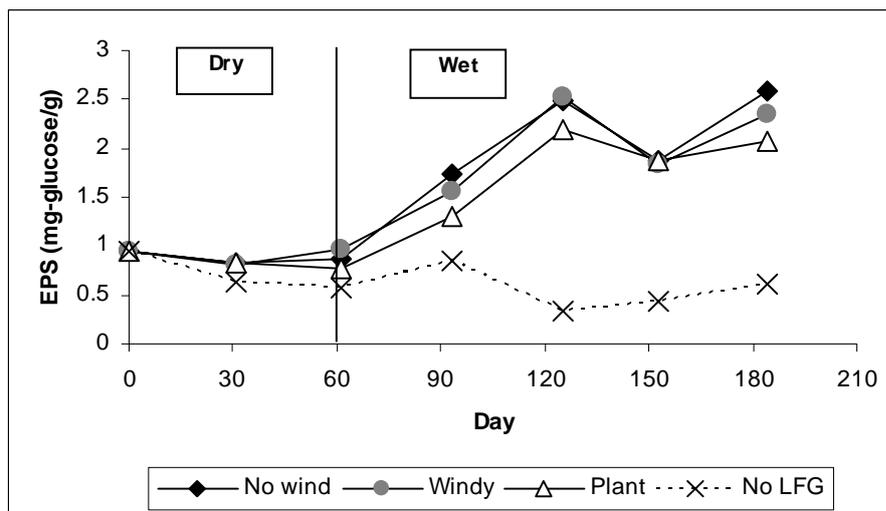
เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชและแอมโมเนียม ตามภาพที่ 21 พบว่าค่าพีเอช และแอมโมเนียมมีความสัมพันธ์กัน โดยเมื่อมีค่าแอมโมเนียมในดินสูง จะพบค่าพีเอชสูงด้วย ดังนั้นการลดลงของค่าพีเอชในดินจึงมาจากการลดลงของปริมาณแอมโมเนียม ซึ่งเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณพีเอชที่ระดับความลึก 30 เซนติเมตร ตามภาพที่ 22 พบว่าค่าพีเอชมีแนวโน้มลดลงตามเวลาในทุกสภาวะที่ทดลอง โดยเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชเฉลี่ยตลอดระยะเวลาที่ทดลอง สภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.77-8.72 ซึ่งต่ำกว่าหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันอย่างชัดเจน โดยสภาวะที่ไม่มีลมมีค่า 7.29-8.42 สภาวะที่มีลม มีค่า 7.29-8.51 และสภาวะที่ปลูกพืชมีค่า 7.70- 8.47 เนื่องจากสภาวะที่เกิดมีเทนออกซิเดชันมีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่พุ่งจากการที่พ่นลงในคอลัมน์และผลิตภัณฑ์จากมีเทนออกซิเดชันสูงกว่า สภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพที่ไม่มีการพ่นก๊าซ โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บางส่วนสามารถรวมตัวกับน้ำในดินเป็นไบคาร์บอเนต และคาร์บอเนต (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, ม.ป.ป.) เกิดเป็นระบบเป็นบัฟเฟอร์ในดิน ช่วยรักษามิให้ค่าพีเอชในดินเปลี่ยนแปลงมากนัก รวมทั้งคาร์บอเนตที่เกิดขึ้นอาจสามารถรวมตัวกับแคลเซียมในดินเกิดเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต (ปูนขาว) ซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่าง (สายัณห์, 2530) ทั้งนี้ค่าพีเอชในการทดลองนี้มีไขข้อจำกัดต่อการเกิดกิจกรรมของเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์ในดิน ซึ่ง Handson and Hanson (1996) รายงานว่าเชื้อเมทาโนโทรฟสามารถสามารถเจริญเติบโตได้ที่พีเอชในช่วง 3.5-8.0 แต่ในดินที่เป็นด่างอ่อนในช่วงต้นของการทดลอง (93 วัน) การเจริญเติบโตของเชื้อเมทาโนโทรฟจะไม่ดีเท่าในสภาพดินที่เป็นกลางในช่วง 6.5-7.5 (Hanson and Handson, 1996) ส่วนไนตริฟายเออร์สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงค่าพีเอชที่สูงกว่าคือ 7.3-8.0 (สมศักดิ์, 2528)

2.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณอีพีเอส และปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมด

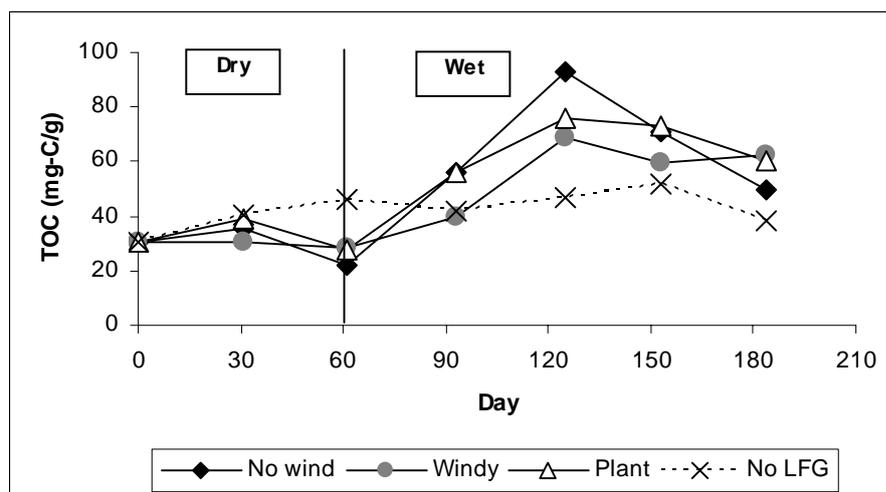
การเปลี่ยนแปลงปริมาณอีพีเอสแสดง ตามภาพที่ 23 พบว่า ชูดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพมีค่าอีพีเอสค่อนข้างคงที่ทั้งสภาวะแห้งและสภาวะเปียก โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.34-0.85 มิลลิกรัม/กรัม ต่ำกว่าชูดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันตลอดระยะเวลาที่ทดลอง ในสภาพแห้งชูดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันค่าอีพีเอสมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยจากค่าดินเริ่มต้น (0.95 มิลลิกรัม/กรัม) โดยทั้งสามสภาวะ คือ สภาวะไม่มีลม สภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืชมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก มีค่าอยู่ในช่วง 0.77-0.96 มิลลิกรัม/กรัม ส่วนในสภาพเปียกค่าอีพีเอสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลา ในช่วง 125 วันสอดคล้องกับการเกิดมีเทนออกซิเดชันซึ่งเกิดได้ดีในช่วง 125 วันเช่นกัน (ภาพที่ 12 และ 13) หลังจากนั้นค่าอีพีเอสมีแนวโน้มลดลงและกลับสูงขึ้นอีกครั้ง โดยทั้งสามสภาวะของหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าสูงสุด ณ วันที่ 125 โดยทั้งสามสภาวะมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก ในช่วง 2.18-2.52 มิลลิกรัม/กรัม จึงกล่าวได้ว่าความชื้นมีผลทำให้เชื้อแบคทีเรียเมทาโนโทรฟทำงานได้ดีขึ้นสามารถผลิตอีพีเอสได้ดีขึ้น ซึ่งมักพบอีพีเอสในดินที่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 5 ถึง 33 (Chiemchaisri, 2000) และจากค่าอีพีเอสในสภาวะที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพที่ไม่เกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าต่ำ จึงกล่าวได้ว่าแบคทีเรียอื่นๆ ในดินจำพวกแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์และไนโตรออกซิไดส์เซอร์สามารถสร้าง อีพีเอสได้ต่ำกว่าเชื้อเมทาโนโทรฟ

การสะสมของทีโอซีมีลักษณะคล้ายกับการสะสมอีพีเอส แสดงตามภาพที่ 24 โดยชูดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนักทั้งในสภาพแห้งและสภาพเปียก โดยมีค่าอยู่ในช่วง 40.93-51.68 มิลลิกรัม/กรัม ในสภาพแห้งชูดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันค่าทีโอซีมีแนวโน้มลดลงตามเวลา ซึ่งมีค่าต่ำกว่าหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ ทั้งนี้เป็นผลจากค่าความชื้นต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในดิน โดยในหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพมีความชื้นสูงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน (ภาพที่ 15) โดยในชูดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันทั้งสามสภาวะที่ทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันในช่วง 21.15-39.59 มิลลิกรัม/กรัม ส่วนในสภาพเปียกค่าทีโอซีในชูดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วง 125 วัน ที่ทดลอง สอดคล้องกับการเกิดมีเทนออกซิเดชัน (ภาพที่ 12 และ 13) สภาวะไม่มีลมจะมีค่า 92.72 มิลลิกรัม/กรัม สูงกว่า สภาวะลมแรงและปลูกพืชซึ่งมีค่า 69.10 และ 75.66 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ทั้งนี้การสะสมปริมาณทีโอซีในดินมีความสอดคล้องกับปริมาณความชื้นในดิน (ภาพที่ 15) โดยในสภาพที่มีความชื้นสูงจะมีการสะสมทีโอซีสูงด้วย ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเกาะกันของอนุภาคดินมากขึ้นทำให้ออกซิเจนแพร่ลงไปได้น้อยลง (Glinski and Stepniowski, 1986) ดังนั้นการสะสมของทีโอซีจึงน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าลดลงสำหรับการทดลองนี้ ภาพ

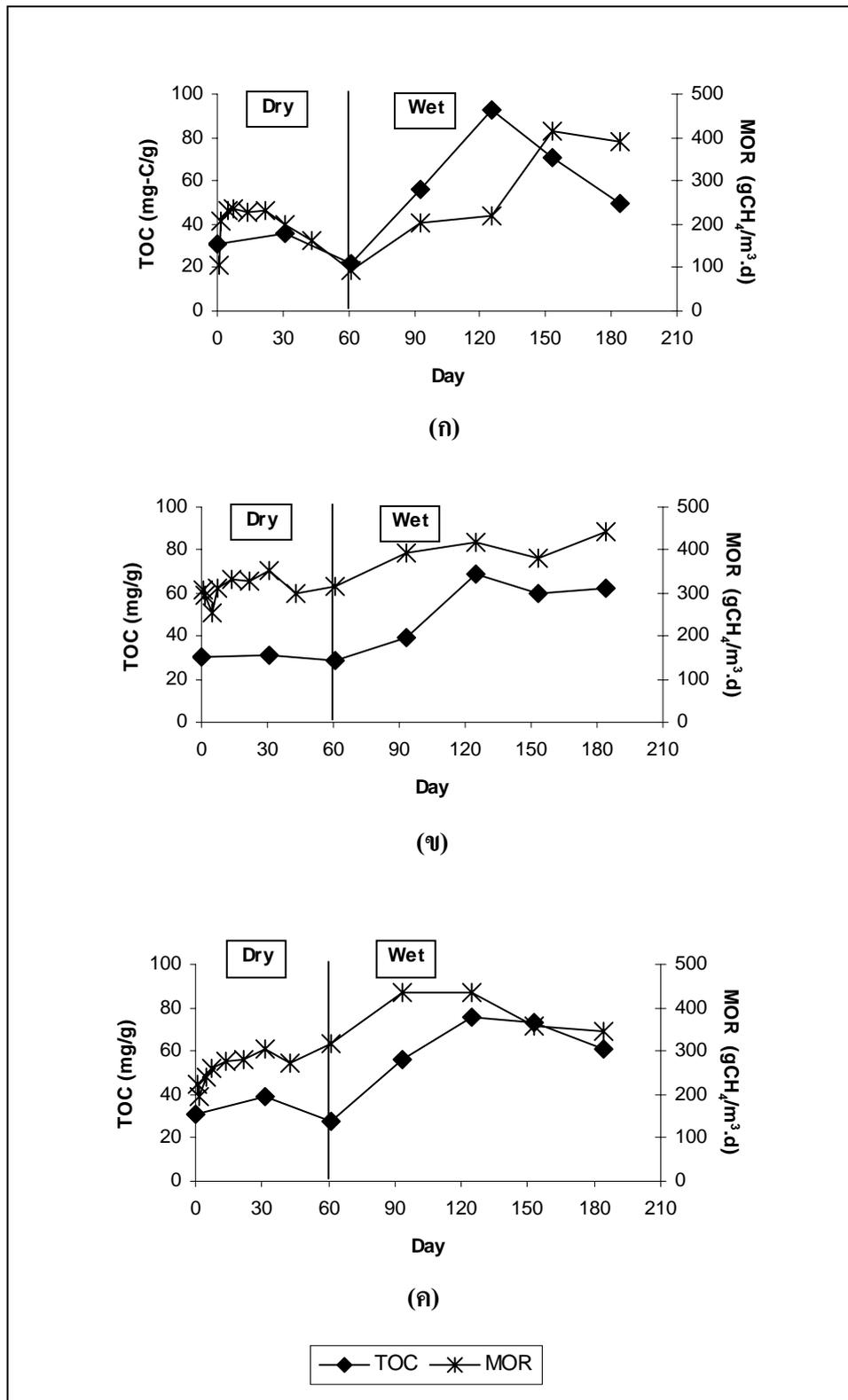
ที่ 25 แสดงความสัมพันธ์ของค่าที่ไอซีและการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร โดยเมื่อค่าที่ไอซีสูงขึ้นอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจะลดลง จึงพบการสะสมที่ไอซีสูงในสถานะที่ไม่มีลมที่มีการเกิดมีเทนออกซิเดชันต่ำ นอกจากนี้การสะสมปริมาณที่ไอซีในดินมาจากสิ่งมีชีวิตในดิน จึงสามารถกล่าวโดยนัยถึงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในดินได้ ซึ่งพบว่าเมื่อเกิดมีเทนออกซิเดชันสูงๆ มีผลทำให้จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในดินสูงขึ้นกว่าหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ



ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงค่าไอพีเอสเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.



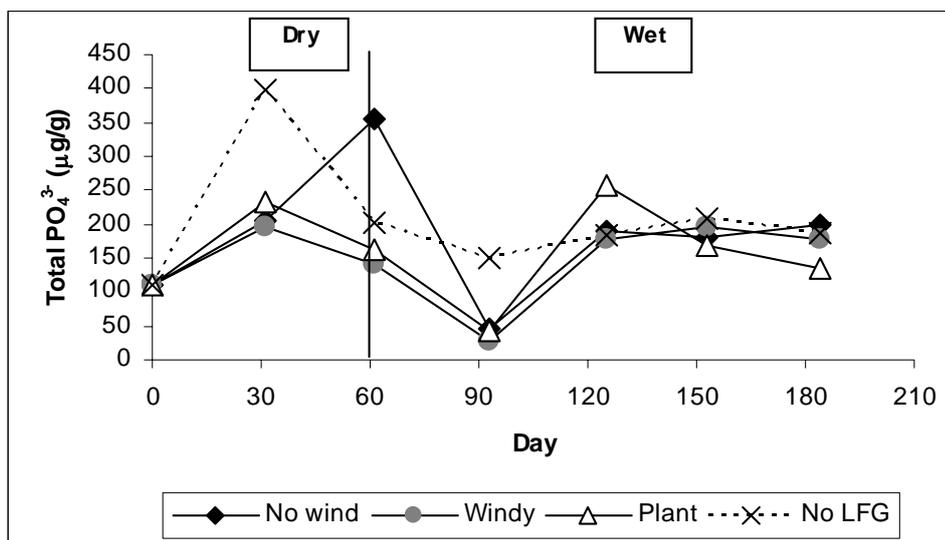
ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงปริมาณที่ไอซีเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.



ภาพที่ 25 ความสัมพันธ์ของทีโอซีเฉลี่ยและการเกิดมีเทนออกซิเดชันเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม. (ก) สภาวะไม่มีลม (ข) สภาวะที่มีลม (ค) สภาวะที่ปลูกพืช

2.5 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอสเฟตทั้งหมด

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสเฟตที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร แสดงตามภาพที่ 26 ซึ่งพบว่าทุกสภาวะที่ทดลอง ปริมาณฟอสเฟตมีแนวโน้มสูงขึ้นใน 31 วันของการทดลอง หลังจากนั้นก็มีแนวโน้มลดลง และมีแนวโน้มกลับสูงขึ้นอีกครั้งหลังจาก 93 วัน ที่ทดลอง โดยสภาพเปียกมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนักจากสภาพแห้ง โดยมีค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองในสภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ สภาวะที่ทึลม สภาวะที่ไม่มีลม และสภาวะปลูกพืช เท่ากับ 221.81 196.07 152.95 และ 167.02 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ ซึ่งปริมาณฟอสเฟตไม่สัมพันธ์กับการเกิดมีเทนออกซิเดชัน สอดคล้องตามรายงานที่ว่าปริมาณก๊าซออกซิเจนมีอิทธิพลต่อค่ามีเทนออกซิเดชันมากกว่าธาตุอาหาร (Hilger *et al.*, 1999)



ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม.

3. การตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรีย

ในการศึกษาปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์โดยอาศัยวิธีการฟลูออเรสเซนซ์อินซิติวไฮบริไดเซชัน หรือฟิชนั้นอาศัยโพรบที่มีความจำเพาะต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการศึกษา สำหรับเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียได้มีการเลือกใช้โพรบที่มีความจำเพาะต่อเมทาโนโทรฟ Type I, เมทาโนโทรฟ Type II ได้แก่ MY84+MY705 และ MC450 ตามลำดับ โดยทำการตรวจวิเคราะห์เชื้อเมทาโนโทรฟเฉพาะหน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน ส่วนการศึกษาเชื้อแบคทีเรียชนิดไนตริฟายเออร์ในเชิงปริมาณ คือ

ไนโตรโซโมแนสและไนโตรแบคเตอร์ ได้เลือกใช้โพรป NSM-156 และ NIT-3 ตามลำดับ โดยชุดหน้าดินทำการวิเคราะห์เฉพาะเชื้อเมทาโนโทรฟ ส่วนชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันทำการวิเคราะห์ทั้งเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์

3.1 ปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟ

ผลการศึกษาในเชิงปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร แสดงตามภาพที่ 27 ซึ่งพบว่า ในสภาพแห้ง หน้าดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันทุกสภาวะที่ทดลองมีจำนวนเมทาโนโทรฟทั้งหมด สูงสุดในช่วงเดือนแรก โดยสภาวะไม่มีลม สภาวะที่มีลมแรง และสภาวะที่ปลูกพืช มีจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟทั้งหมดเท่ากับ 28.59 , 24.21 และ 34.00×10^5 เซลล์/กรัม-ดินแห้ง ตามลำดับ ที่ 31 วันที่ทดลอง โดยพบเชื้อเมทาโนโทรฟ Type II มากกว่า Type I ทุกสภาวะที่ทดลอง ร้อยละ 0.3, 16 และ 49 ในสภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืช ตามลำดับ หลังจากนั้นจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟมีแนวโน้มลดลงในวันที่ 61 ของการทดลองโดยสภาวะไม่มีลม สภาวะที่มีลมแรง และสภาวะที่ปลูกพืช มีจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟทั้งหมดเหลือเท่ากับ 14.62 , 15.35 และ 18.22×10^5 เซลล์/กรัม-ดินแห้ง โดยพบ Type I มีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นร้อยละ 5 ในทุกสภาวะ ส่วน Type II มีจำนวนลดลงอย่างมาก ซึ่งในสภาวะที่ไม่มีลมและสภาวะที่มีลมแรง มีจำนวนเมทาโนโทรฟ Type II ลดลงถึงร้อยละ 50 ส่วนในสภาวะที่ปลูกพืชมีเพียงร้อยละ 16 การเชื้อเมทาโนโทรฟ Type II มีจำนวนลดลงอย่างมากในช่วง 30-60 วัน อาจเป็นผลจากค่าความชื้นที่ลดลง ซึ่งเกิดผลต่อเนื่องไปยังปริมาณออกซิเจนในดิน โดยเมื่อความชื้นลดลง ปริมาณออกซิเจนสามารถแพร่จากบรรยากาศลงสู่ดินได้มากขึ้น ซึ่งตามรายงานของ Hanson and Hanson (1996) ได้รายงานว่าการเชื้อเมทาโนโทรฟ Type I จะมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า Type II เมื่อมีปริมาณออกซิเจนสูง

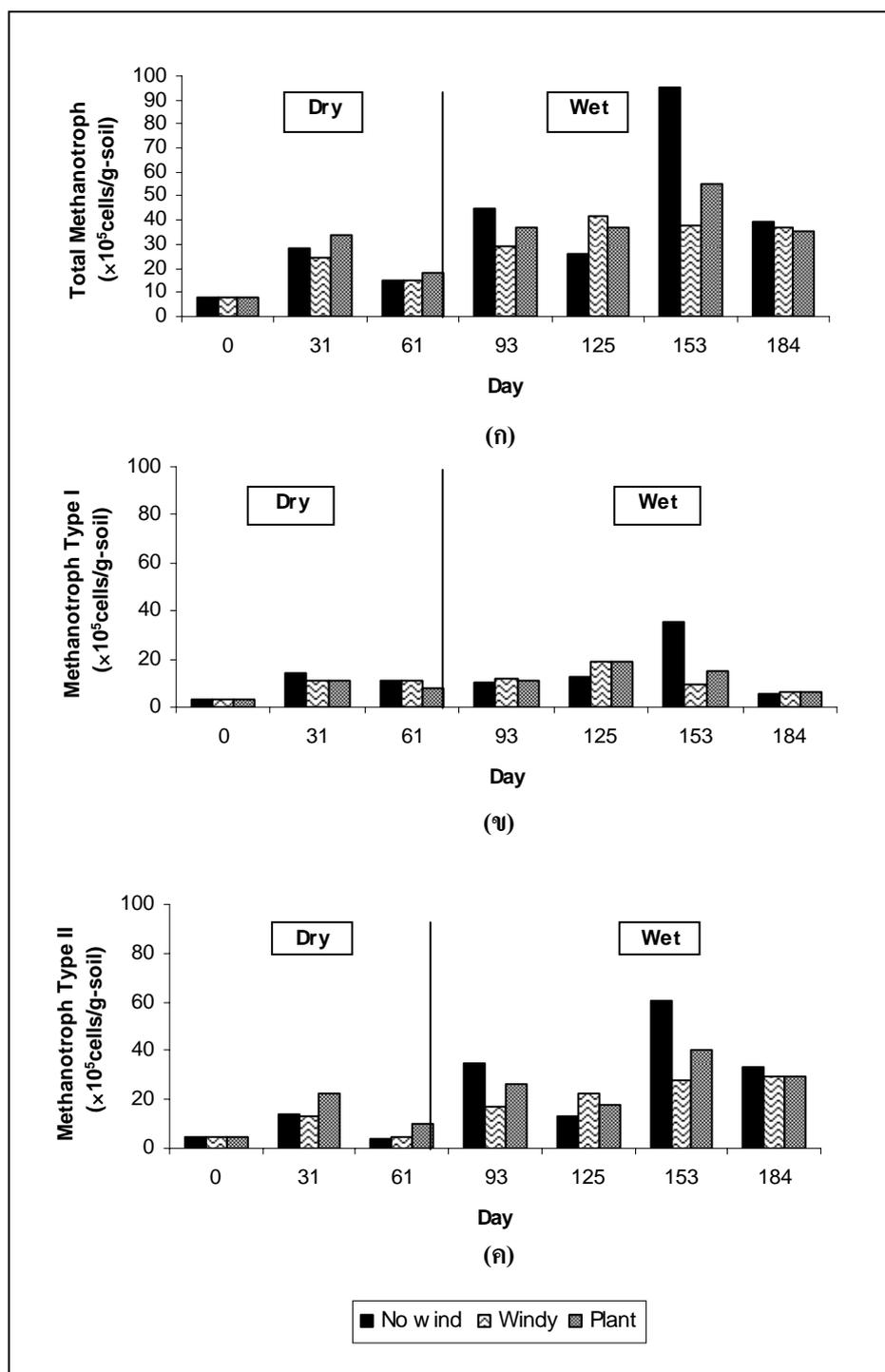
ส่วนในสภาพเปียก พบว่า จำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟทั้งหมด มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกสภาวะที่ทดลอง โดยพบจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟ Type II มากกว่า Type I ตั้งแต่เริ่มการรดน้ำจนถึง 180 วันที่ทดลอง ซึ่งเป็นการยืนยันผลของความชื้นตามที่อธิบายมาแล้วข้างต้น เมื่อเปรียบเทียบในชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันพบว่าสภาวะที่ไม่มีลมมีจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟทั้งหมดสูงกว่าสภาวะที่มีลมและสภาวะปลูกพืช โดยเฉพาะในวันที่ 153 ของการทดลองสภาวะที่ไม่มีลม มีจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟทั้งหมด 95.53×10^5 เซลล์/กรัม-ดินแห้ง มากกว่าสภาวะที่มีลมและสภาวะปลูกพืชซึ่งมีจำนวน 37.69 และ 55.29×10^5 เซลล์/กรัม-ดินแห้ง อย่างชัดเจน สอดคล้องกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่สูงสุดของชุดดินนี้ (ภาพที่ 12 และ 13) เมื่อพิจารณาชนิดของ

เมทาโนโทรฟตามความลึก (ภาพที่ 28) พบว่า เมทาโนโทรฟ Type II มีจำนวนสูงกว่า เมทาโนโทรฟ Type I ในชั้นดินที่มีอัตรามีเทนออกซิเดชันสูง (5-15 เซนติเมตร) โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในสภาพเปียก นอกจากนี้ในสภาวะที่ปลูกพืช ในสภาพแห้ง 31-61 วัน จำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟในระดับชั้นของรากพืช (15-30 เซนติเมตร) พบว่ามีจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟทั้ง Type I และ Type II สูงกว่าสภาวะที่ไม่มีลม และสภาวะที่มีลม โดยที่ 61 วันสภาวะที่ปลูกพืชมีเชื้อเมทาโนโทรฟทั้งหมดร้อยละ 27.52 ขณะที่สภาวะที่ไม่มีลมมีค่าร้อยละ 20.87 และสภาวะที่มีลมมีค่าร้อยละ 16.26 ซึ่งเป็นการยืนยันผลจากการเพิ่มออกซิเจน โดยการชอนไชของรากพืช ต่อเชื้อเมทาโนโทรฟในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

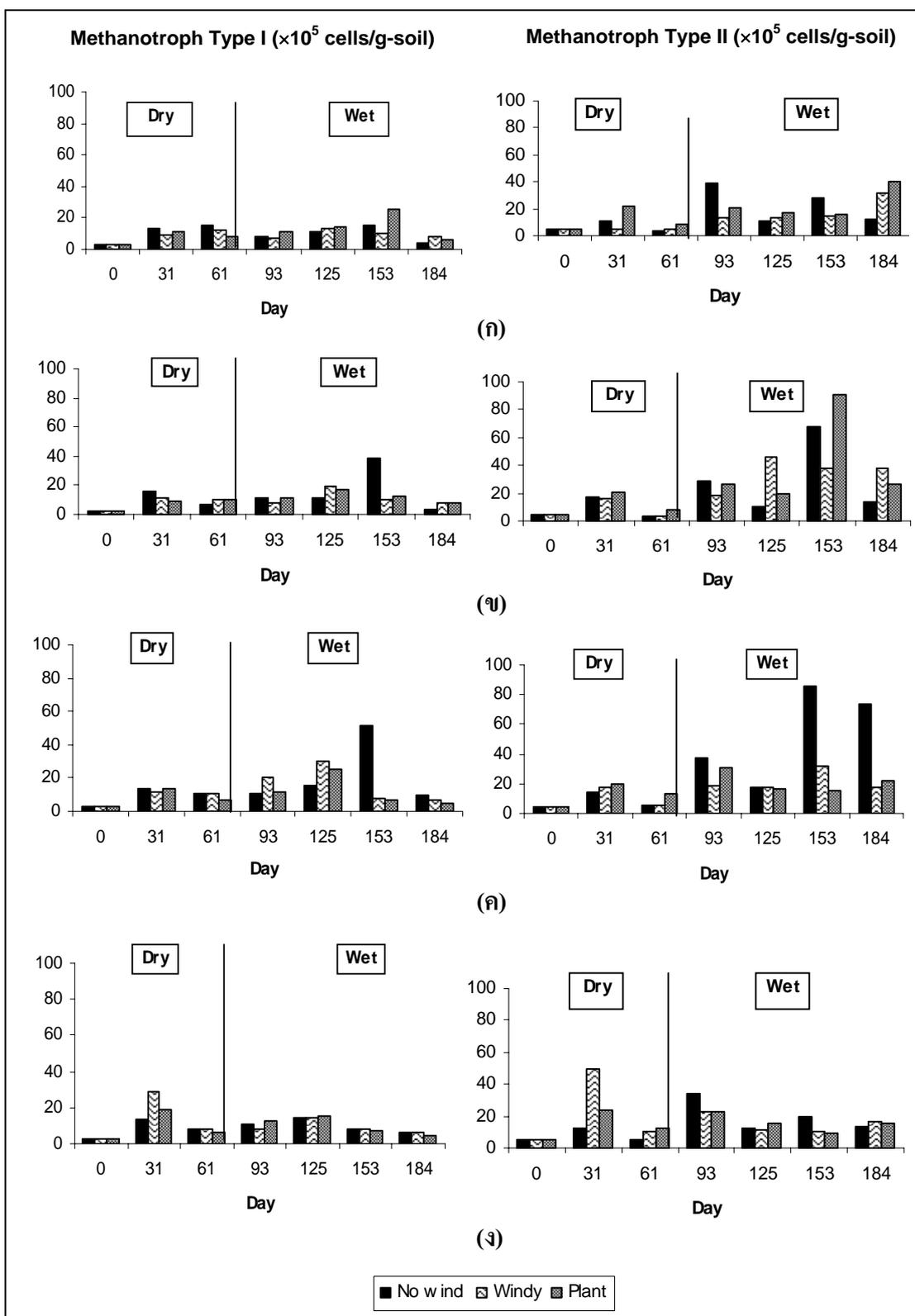
เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟทั้งหมดและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน ตามระดับความลึกต่างๆ ตามภาพที่ 29 พบว่า จำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีความสัมพันธ์กันในทุกระดับความลึก โดยเมื่อมีอัตรามีเทนออกซิเดชันสูง ปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟในดินจะมีค่าสูงด้วย ซึ่งพบจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันสูงที่ชั้นผิวดิน 5-15 เซนติเมตร และมีจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลงตามลำดับความลึก ทั้งในสภาพแห้งและสภาพเปียก

3.2 ปริมาณเชื้อไนตริฟายเออร์

ผลการตรวจวัดจำนวนเชื้อไนตริฟายเออร์ แสดงดังภาพที่ 30 โดยพบว่า ในสภาพแห้งทุกสภาวะที่ทดลองมีจำนวนเชื้อไนโตรโซโมแนสแบคทีเรียเพิ่มขึ้นตามเวลา โดยในชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันมีจำนวนสูงกว่าในชุดดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในชุดหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพมีจำกัด ซึ่งตามรายงานของสมศักดิ์ (2528) กล่าวว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อไนโตรโซโมแนส โดยในชุดดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันจะมีการพ่นก๊าซชีวภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์เป็นส่วนประกอบทำให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จึงมิได้ถูกจำกัดดังเช่นชุดหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ ในสภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ สภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่ลมแรง และสภาวะที่ปลูกพืชจะมีจำนวนเชื้อไนโตรโซโมแนส สูงสุดที่ 61 วัน เท่ากับ 7.03, 17.56, 10.74 และ 15.75×10^5 เซลล์/กรัม-ดินแห้งตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับปริมาณแอมโมเนียมที่ลดลงอย่างมากในช่วง 60 วันตามภาพที่ 18

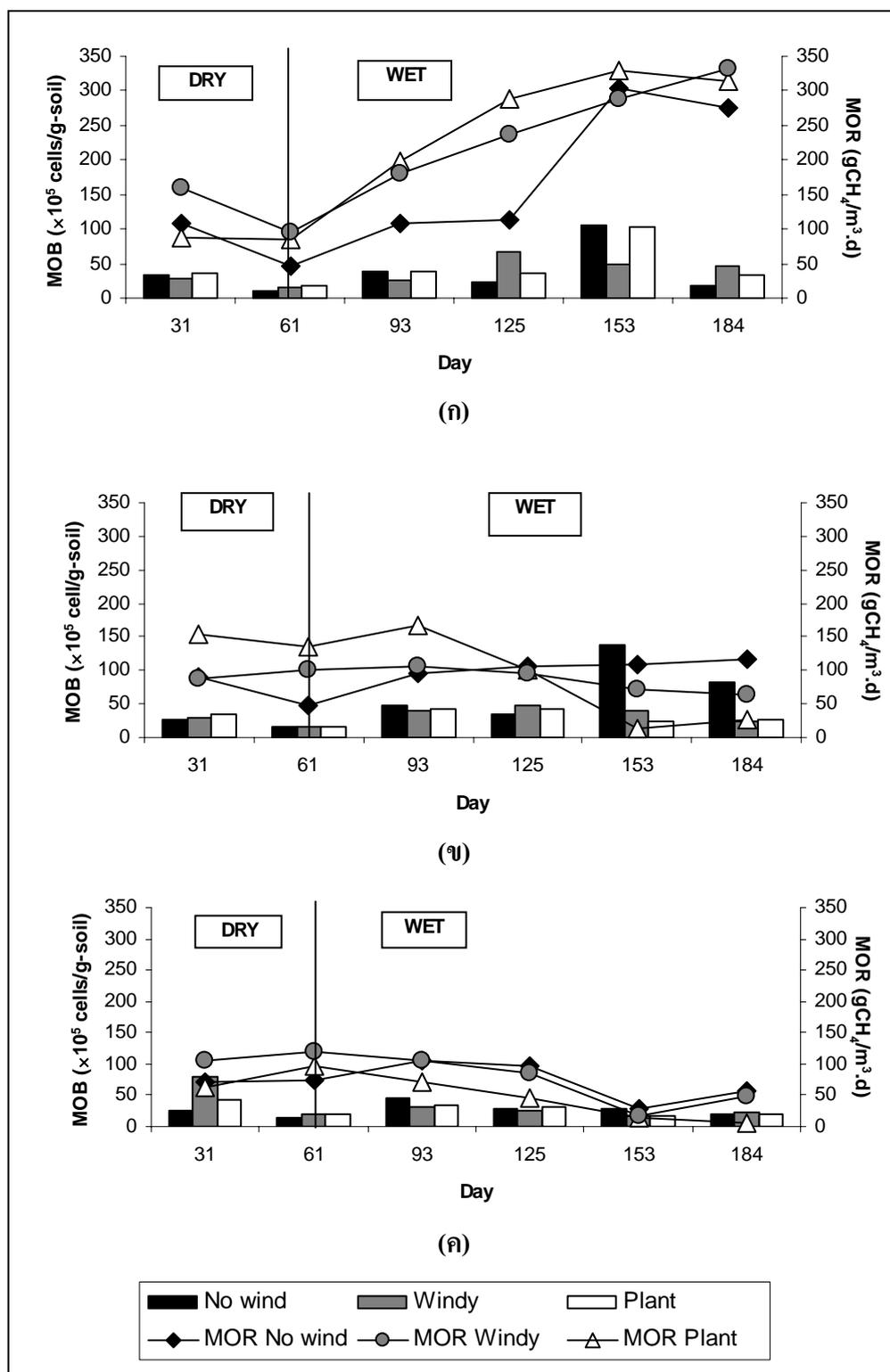


ภาพที่ 27 จำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟเฉลี่ยที่ระดับความลึก 0-30 ซม. (ก) เมทาโนโทรฟทั้งหมด (ข) เมทาโนโทรฟ Type I และ (ค) เมทาโนโทรฟ Type II



ภาพที่ 28 จำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟตามระดับความลึกของชั้นดิน (ก) 0-5 ซม. (ข) 5-15 ซม.

(ค) 15-30 ซม. และ (ง) 30-50 ซม.

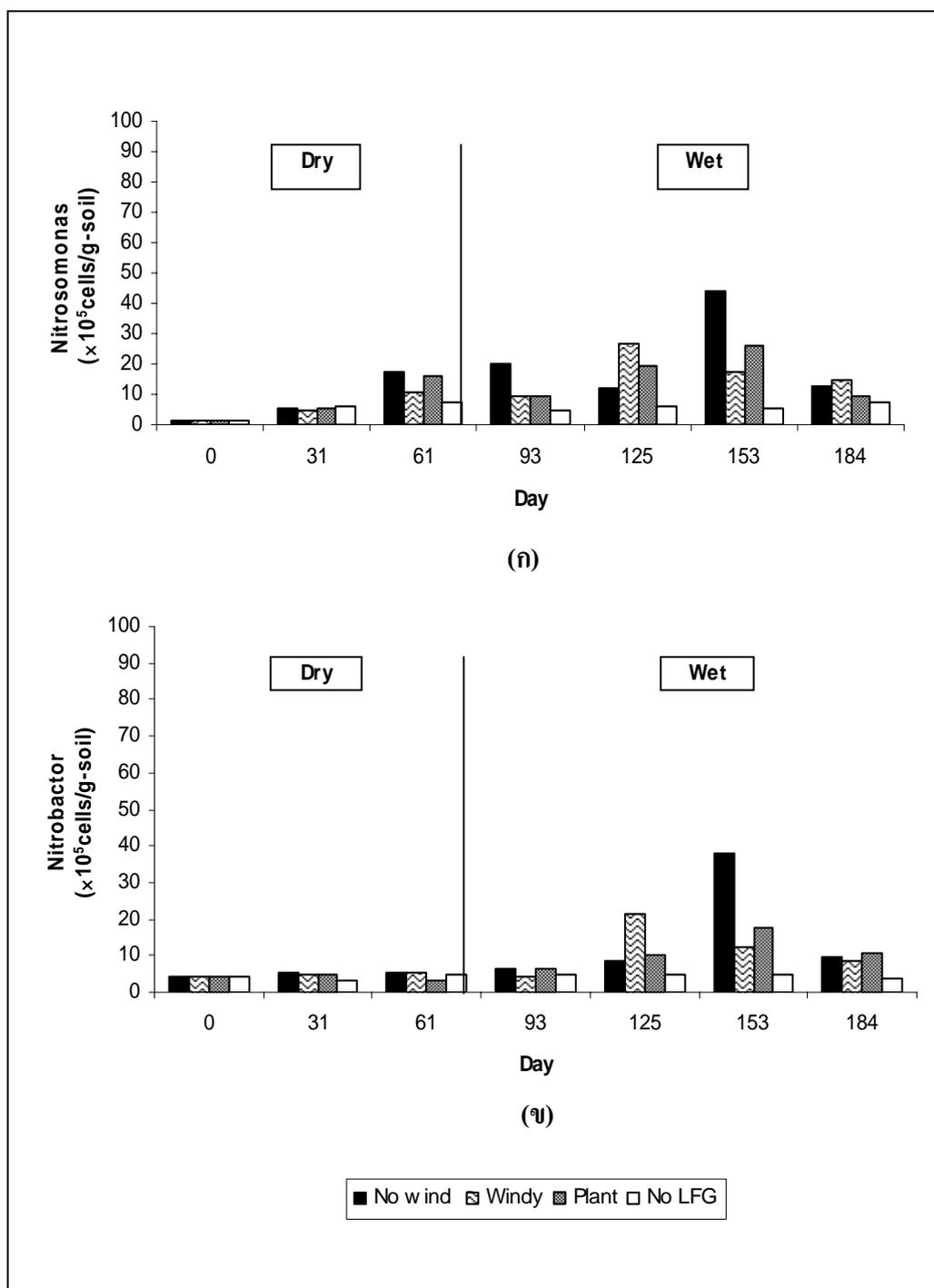


ภาพที่ 29 ความสัมพันธ์ของจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟเจดีย์ (MOB) และอัตราเมเทนออกซิเดชันเจดีย์ (MOR) (ก) 5-15 ซม. (ข) 15-30 ซม. และ (ค) 30-50 ซม.

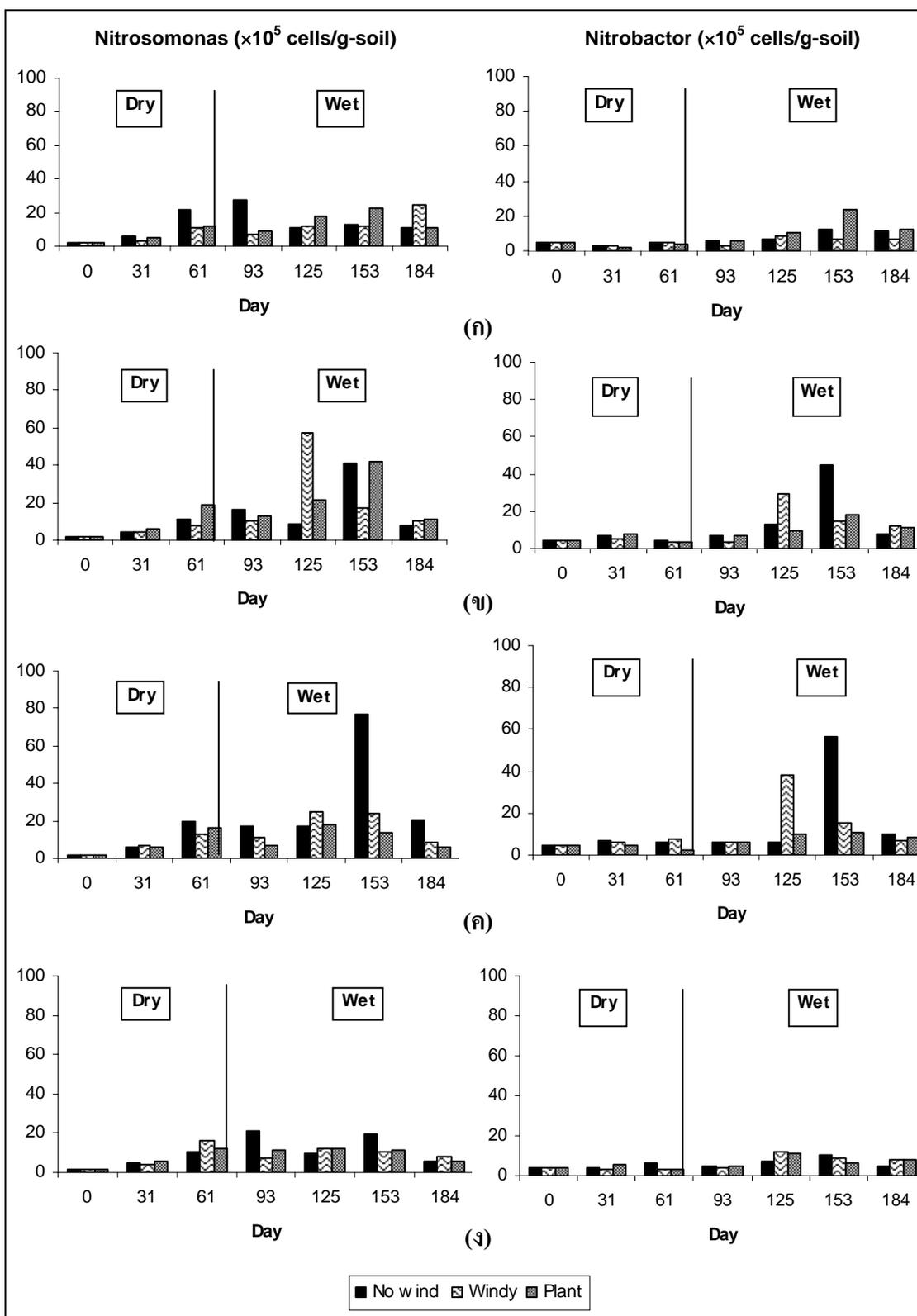
ส่วนจำนวนเชื้อไนโตรแบคทีเรียจะมีการเจริญเติบโตช้ากว่าไนโตรโซโมแนส ซึ่งตามงานวิจัยของ Prosser (1989) ได้รายงานไว้ว่าการเกิดแอมโมเนียออกซิเดชันจะเกิดได้เร็วกว่าไนไตรต์ออกซิเดชัน ดังนั้นในสภาพแห่งนี้จึงพบจำนวนไนโตรแบคทีเรียในทุกสภาวะที่ทดลองมีจำนวน $2.92-5.92 \times 10^5$ เซลล์/กรัม-ดินแห้ง โดยไม่แตกต่างกันจากจำนวนที่เริ่มต้น

ในสภาพเปียก พบว่า ชูดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันมีแนวโน้มการเพิ่มจำนวนไนโตรโซโมแนสสูงขึ้นตามเวลา แต่ชูดินที่ไมพ่นก๊าซชีวภาพจำนวนไนโตรโซโมแนสมีแนวโน้มคงที่ ทั้งนี้เป็นผลจากปริมาณน้ำที่เติมลงไปมีผลทำให้ความชื้นเพิ่มมากขึ้นซึ่งกระตุ้นการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ทำให้มีการใช้ในเตรคของเชื้อเมทาโนโทรฟมากขึ้น ซึ่งอาจมีผลทางอ้อมต่อการเร่งปฏิกิริยาไนไตรต์ออกซิเดชันและแอมโมเนียออกซิเดชันตามลำดับ (ตามภาพที่ 18) ทำให้การเปลี่ยนรูปไนไตรต์เป็นไนเตรตมากขึ้น ซึ่งส่งผลต่อการลดปริมาณไนไตรต์ที่เป็นตัวยับยั้งปฏิกิริยาแอมโมเนียออกซิเดชัน (King and Schnell, 1994) เมื่อพิจารณาชูดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชันในสภาวะที่ไม่มีลมมีจำนวนไนโตรโซโมแนสและไนโตรแบคทีเรียสูงกว่าสภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืช โดยเฉพาะในวันที่ 153 ของการทดลอง ซึ่งโดยในสภาวะหน้าดินที่ไมพ่นก๊าซชีวภาพสภาวะที่ไม่มีลม สภาวะที่ลมแรง และสภาวะที่ปลูกพืชมีจำนวนเชื้อไนโตรโซโมแนส เท่ากับ 5.10, 43.71, 17.55 และ 26.21×10^5 เซลล์/กรัม-ดินแห้ง ตามลำดับ และมีจำนวนไนโตรแบคทีเรีย เท่ากับ 4.85, 37.16, 12.78 และ 11.85×10^5 เซลล์/กรัม-ดินแห้ง ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณไนไตรต์และไนเตรตตามภาพที่ 18 ที่มีปริมาณลดลงในสภาพเปียก

เมื่อพิจารณาจำนวนไนโตรโซโมแนสและไนโตรแบคทีเรียในชูดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน ตามระดับความลึก ตามภาพที่ 31 พบว่าไนโตรโซโมแนสและไนโตรแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตได้ดีที่ระดับความลึก 5-30 เซนติเมตร เช่นเดียวกับเชื้อเมทาโนโทรฟ ภาพที่ 27 อาจเนื่องจากในบริเวณนี้เป็นชั้นที่มีปริมาณออกซิเจนและความชื้นที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของเชื้อทั้งสอง ซึ่งเชื้อไนไตรฟายเออร์และเมทาโนโทรฟเป็นแบคทีเรียชนิดแอโรบ ที่มีการใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต (Hanson and Hanson, 1996 : สมศักดิ์, 2528)



ภาพที่ 30 จำนวนไนตริฟายเออร์เฉลี่ย ที่ระดับความลึก 0-30 ซม. (ก) ไนโตรโซโมแนส
(ข) ไนโตรแบคเตอร์



ภาพที่ 31 จำนวนเชื้อไนโตรฟายเออร์ตามระดับความลึกของชั้นดิน (ก) 0-5 ซม. (ข) 5-15 ซม.
(ค) 15-30 ซม. และ (ง) 30-50 ซม.

3.3 ความสัมพันธ์ของเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์ต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

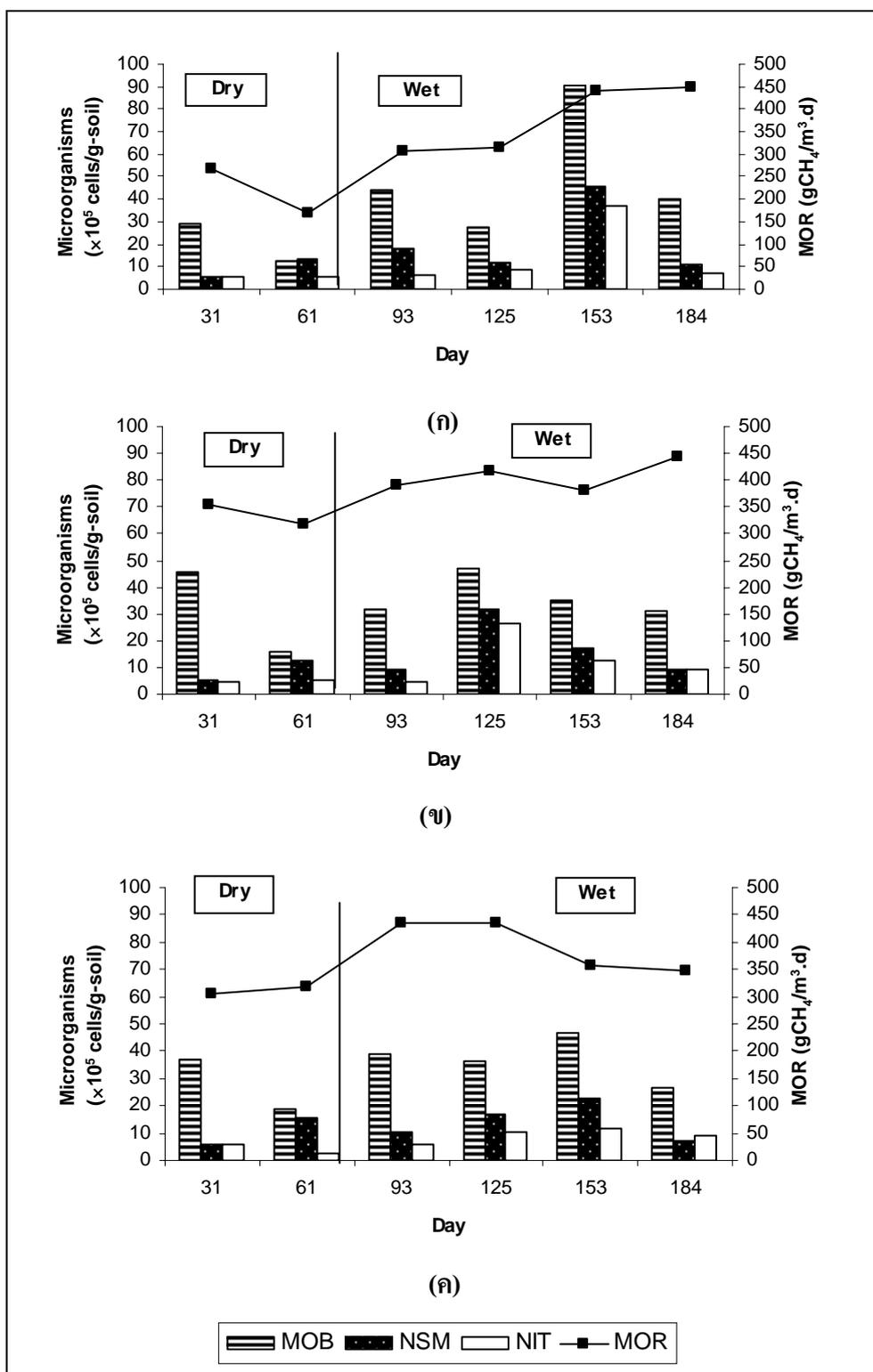
เมื่อพิจารณาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์กับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเฉลี่ย ที่ระดับความลึก 5-50 เซนติเมตร ตามภาพที่ 32 พบว่าเชื้อเมทาโนโทรฟจะมีจำนวนมากกว่าเชื้อไนตริฟายเออร์ตลอดระยะเวลาที่ทดลอง 180 วัน เนื่องจากเชื้อเมทาโนโทรฟมีความสามารถในการแย่งชิงออกซิเจนได้ดีกว่า (Bodegom *et al.*, 2001) เมื่อสังเกตจะพบว่า การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟและการเกิดมีเทนออกซิเดชันตลอดระยะเวลาที่ทดลองในสภาวะที่ไม่มีลมและสภาวะที่มีลมมีแนวโน้มตามกัน แต่สภาวะปลูกพืชกลับมีแนวโน้มต่างกันในช่วงเดือน ซึ่งอาจเป็นผลของการลำเลียงก๊าซมีเทนในดินพืช (Schutz, 1999) ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณมีเทนบางส่วนหายไป ค่ามีเทนออกซิเดชันสูงขึ้นแต่ไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเชื้อ หรืออาจเกิดการมีเทนออกซิเดชันโดยเชื้อกลุ่มอื่นร่วมด้วย เช่น เชื้อไนโตรโซโมแนส (Bendard and Knowles, 1989) ส่วนการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อไนโตรโซโมแนสและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีแนวโน้มต่างกันในทุกสภาวะ ดังนั้นเชื้อเมทาโนโทรฟจึงเป็นประชากรหลักในการเกิดมีเทนออกซิเดชันในการวิจัยครั้งนี้ การเกิดมีเทนออกซิเดชันของเชื้อไนโตรโซโมแนสอาจไม่เกิดหรือเกิดน้อยมากเมื่อเทียบกับเชื้อเมทาโนโทรฟ การเปลี่ยนแปลงจำนวนของเชื้อไนโตรโซโมแนสกับการเกิดมีเทนออกซิเดชันจึงมีแนวโน้มต่างกัน แต่พบว่าการเพิ่มจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟอาจมีส่วนช่วยส่งเสริมในการเพิ่มจำนวนไนโตรโซโมแนส โดยเมื่อเชื้อเมทาโนโทรฟเจริญขึ้นจะมีการปลดปล่อยของเสียในรูปของแอมโมเนียม หรือเมื่อมีเชื้อบางส่วนที่ตายลง จะมีการปลดปล่อยปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนตามกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน เปลี่ยนอินทรีย์ไนโตรเจนให้เป็นแอมโมเนียม ซึ่งมีผลต่อปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน (Chiemchaisri, 2000) ซึ่งตามภาพที่ 30 สภาวะที่มีลมเชื้อเมทาโนโทรฟและไนโตรโซโมแนสมีจำนวนสูงที่ 125 วัน ส่วนสภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืชจะมีเชื้อทั้งสองสูงที่ 153 วัน นอกจากนี้การเพิ่มจำนวนเชื้อไนโตรแบคเตอร์ยังส่งเสริมการเพิ่มจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟ โดยเชื้อไนโตรแบคเตอร์ซึ่งก่อให้เกิดปฏิกิริยาไนไตรต์ออกซิเดชัน ส่งผลให้ไนไตรต์ลดลง ซึ่ง King and Schell (1994) กล่าวว่าไนไตรต์ เป็นสารพิษต่อเชื้อเมทาโนโทรฟ ซึ่งตามภาพที่ 30 โดยสภาวะที่มีลมเชื้อเมทาโนโทรฟและไนโตรแบคเตอร์มีจำนวนสูงที่ 125 วัน ส่วนสภาวะที่มีลมและสภาวะที่ปลูกพืชจะมีเชื้อทั้งสองสูงที่ 153 วัน

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษาที่ปริมาณของเชื้อทั้งหมด (ภาพที่ 33) ในสภาพแห้ง พบว่า ในช่วงต้นของการเดินระบบ ที่ 30 วันทุกสภาวะที่ทดลองมีเชื้อกลุ่มที่ศึกษาอันประกอบไปด้วยเชื้อเมทาโนโทรฟ Type I, Type II, ไนโตรโซโมแนส และไนโตรแบคเตอร์ มีจำนวนร้อยละ 25-35 ของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ในเดือนถัดมาที่ 60 วันเชื้อกลุ่มดังกล่าว

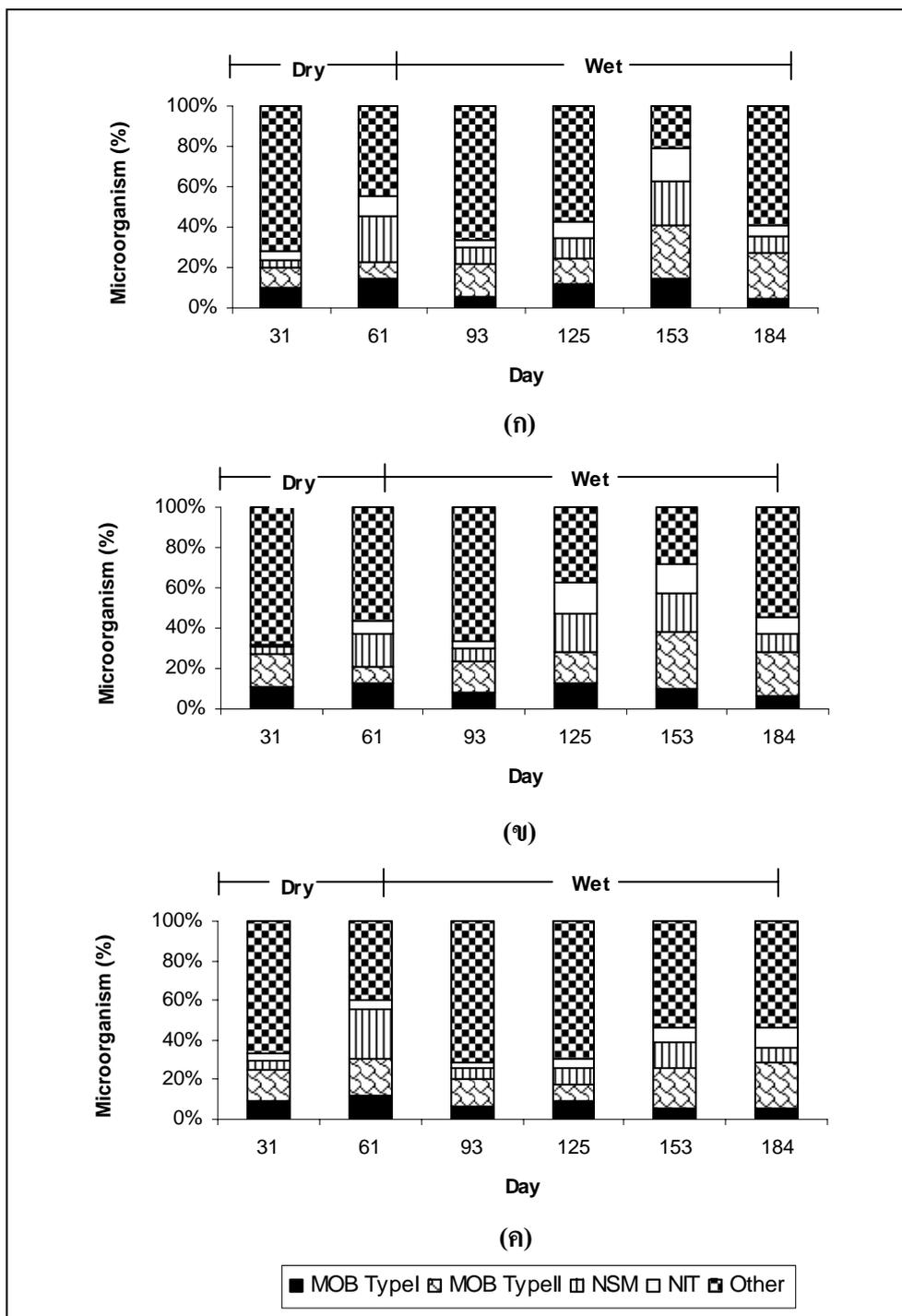
มีจำนวนสูงขึ้นโดยพบร้อยละ 40-60 ของจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยทุกสภาวะมีแนวโน้มของเชื้อเมทาโนโทรฟ Type I และไนโตรโซโมแนสเพิ่มขึ้น ในขณะที่เชื้อเมทาโนโทรฟ Type II มีแนวโน้มลดลง ส่วนเชื้อไนโตรแบคเตอร์ในสภาวะที่ไม่มีลมและสภาวะที่มีลมมีแนวโน้มสูงขึ้น แต่ในสภาวะที่ปลูกพืชมีค่าคงที่ โดยในสภาวะที่ไม่มีลม พบจำนวนเมทาโนโทรฟ Type I, Type II, ไนโตรโซโมแนส, ไนโตรแบคเตอร์ และ เชื้อกลุ่มอื่น มีจำนวนร้อยละ 14.68, 7.67, 23.39, 9.94 และ 44.32 ตามลำดับ สภาวะที่มีลม พบจำนวนร้อยละ 12.62, 8.62, 16.09, 6.28 และ 56.38 ตามลำดับ และในสภาวะที่ปลูกพืช พบจำนวน 12.17, 18.67, 24.96, 4.83 และ 39.37 ตามลำดับ

ในสภาพเปียก พบว่า ทุกสภาวะที่ทดลองเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริไฟเออร์มีจำนวนลดลงในเดือนแรกที่มีการรดน้ำ (90 วัน) โดยมีค่าร้อยละ 30-35 ของเชื้อทั้งหมด หลังจากนั้นในช่วง 125-150 วัน เชื้อกลุ่มดังกล่าวมีจำนวนสูงขึ้นตามเวลาอย่างชัดเจนในสภาวะที่มีลมและสภาวะที่ไม่มีลม ส่วนในสภาวะที่ปลูกพืชมีจำนวนสูงขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยทุกสภาวะที่ทดลองมีเชื้อดังกล่าวสูงสุดที่ 150 วันที่ทดลองโดยในสภาวะที่ไม่มีลม และสภาวะที่มีลมมีเชื้อกลุ่มดังกล่าวสูงถึงร้อยละ 80 ของเชื้อทั้งหมด ส่วนในสภาวะที่ปลูกพืชพบเชื้อที่ศึกษาร้อยละ 50 ของเชื้อทั้งหมด ในสภาวะที่ไม่มีลม พบจำนวนเมทาโนโทรฟ Type I, Type II, ไนโตรโซโมแนส และไนโตรแบคเตอร์ มีจำนวนร้อยละ 14.52, 26.67, 21.13, 16.83 และ 20.86 ตามลำดับ สภาวะที่มีลม พบจำนวนร้อยละ 9.57, 28.99, 18.93, 13.97 และ 28.54 ตามลำดับ ส่วนในสภาวะที่ปลูกพืชพบเชื้อร้อยละ 5.10, 21.09, 12.88, 7.02 และ 53.92 ตามลำดับ โดยจะเห็นได้ว่าปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่อาศัยในพื้นที่ทำการศึกษานี้ คือ เชื้อแบคทีเรียกลุ่มเมทาโนโทรฟ จึงเป็นประชากรหลักในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

กล่าวโดยสรุปได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริไฟเออร์ต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ในการทดลองครั้งนี้แม้ว่าใช้ดินที่มีไนโตรเจนสูง แต่อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันยังคงมาจากเชื้อเมทาโนโทรฟเป็นหลัก ซึ่งเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริไฟเออร์มีส่วนช่วยสนับสนุนซึ่งกันและกัน โดยเชื้อไนตริไฟเออร์มีส่วนช่วยในการเกิดมีเทนออกซิเดชันโดยการลดปริมาณไนไตรต์ที่เป็นพิษต่อเชื้อเมทาโนโทรฟ ส่วนเชื้อเมทาโนโทรฟมีส่วนช่วยในการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันในดิน โดยเมื่อเชื้อเมทาโนโทรฟมีการเติบโตขึ้นจะมีการปล่อยของเสียในรูปของแอมโมเนียมไนโตรเจน หรือหากมีเชื้อเมทาโนโทรฟบางส่วนตายลงจะปลดปล่อยสารอินทรีย์ไนโตรเจนซึ่งเป็นสารเริ่มต้นของปฏิกิริยาแอมโมนิฟิเคชันที่เปลี่ยนอินทรีย์ไนโตรเจนให้เป็นแอมโมเนียม ซึ่งมีผลต่อปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน



ภาพที่ 32 จำนวนเชื้อแบคทีเรียและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเฉลี่ยที่ระดับความลึก 5-50 ซม. (ก) สภาวะไม่มีลม (ข) สภาวะที่มีลม และ(ค) สภาวะที่ปลูกพืช



ภาพที่ 33 สัดส่วนจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่ระดับความลึก 5-50 ซม. (ก) สภาวะที่ไม่มีลม (ข) สภาวะที่มีลม และ (ค) สภาวะที่ปลุกพีช

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างเชื้อโนโทรฟและไนตริฟายเออร์แบคทีเรีย ที่มีต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน ในแบบจำลองหน้าดินกลบทับสุดท้ายที่มีปริมาณไนโตรเจนสูง สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ในสภาวะหน้าดินที่มีแอมโมเนียสูง (1,300 ไมโครกรัม/กรัม) ยังคงสามารถเกิดมีเทนออกซิเดชันได้ตลอดระยะเวลาที่ทดลอง การเพิ่มออกซิเจนโดยการใส่ลมเป่าที่หน้าดิน และการปลูกพืชคลุมหน้าดินมีผลทำให้การเกิดมีเทนออกซิเดชันเกิดใน 125 วันเร็วกว่าสภาวะที่ไม่มีลม 153 วัน
2. การเกิดมีเทนออกซิเดชันมิได้มีผลยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันในดิน แต่การเกิดมีเทนออกซิเดชันมีผลในการเร่งการเกิดไนโตรตออกซิเดชัน จากการใช้ในเตรตของเชื้อเมทาโนโทรฟในช่วงที่เกิดมีเทนออกซิเดชันสูง
3. ปริมาณความชื้นมีผลอย่างมากต่อเชื้อเมทาโนโทรฟในดิน โดยการเกิดมีเทนออกซิเดชันนั้นจะต้องมีค่าความชื้นที่เหมาะสม หากมีค่าน้อยเกินไป (ต่ำกว่าร้อยละ 6) เชื้อเมทาโนโทรฟจะไม่สามารถเติบโตได้ แต่หากมีค่าสูงเกินไป (มากกว่าร้อยละ 11) จะส่งผลทำให้ปริมาณออกซิเจนในดินลดลง อีกทั้งยังอาจทำให้เกิดการสะสมของพีเอสและสารอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดสูงขึ้น
4. ในการศึกษาครั้งนี้ แม้ว่าใช้ดินที่มีไนโตรเจนสูง แต่ยังพบจำนวนเชื้อเมทาโนโทรฟสูงกว่าไนตริฟายเออร์ โดยเฉพาะเมทาโนโทรฟ Type II ที่เป็นประชากรที่มีมากที่สุดในการศึกษา ซึ่งเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์มีส่วนช่วยสนับสนุนซึ่งกันและกัน โดยเชื้อไนตริฟายเออร์มีส่วนช่วยในการเกิดมีเทนออกซิเดชันโดยการลดปริมาณไนเตรตที่เป็นพิษต่อเชื้อเมทาโนโทรฟ ส่วนเชื้อเมทาโนโทรฟมีส่วนช่วยในการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันในดินโดยเมื่อเชื้อเมทาโนโทรฟมีการเติบโตขึ้นจะมีการปล่อยของเสียในรูปของแอมโมเนียมไนโตรเจน หรือหากมีเชื้อเมทาโนโทรฟบางส่วนตายลงจะปลดปล่อยสารอินทรีย์ไนโตรเจนซึ่งเป็นสารเริ่มต้นของปฏิกิริยาแอมโมนิฟิเคชันที่เปลี่ยนอินทรีย์ไนโตรเจนให้เป็นแอมโมเนียม ซึ่งมีผลต่อปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างเชื้อเมทาโนโทรฟและไนตริฟายเออร์แบคทีเรียต่อ อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในหน้าดินหลุมฝังกลบที่มีไนโตรเจนในดินสูง พบว่ามีข้อเสนอแนะในการนำไปใช้ประโยชน์ และการวิจัยต่อไปในอนาคตดังนี้

1. แนวทางการนำไปใช้ประโยชน์

1.1. ในการวิจัยครั้งนี้ พบว่าความชื้น เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชัน มากกว่าค่าไนโตรเจนในดินที่มีค่าไม่เกิน 1,300 ไมโครกรัม/กรัม โดยควรรักษาความชื้นในหน้าดิน กลบทับสุดท้ายให้เหมาะสม ซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะของเนื้อดิน หากมีค่าสูงหรือต่ำจนเกินไป จะส่งผลกระทบต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันได้

1.2. การใช้หน้าดินที่มีไนโตรเจนสูงเป็นหน้าดินกลบทับสุดท้ายของหลุมฝังกลบ พบว่า สามารถเกิดมีเทนออกซิเดชันได้ แต่มีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันต่ำ (167.8 กรัมมีเทน/ลูกบาศก์ เมตร.วัน) การรดน้ำมีส่วนช่วยในการลดปริมาณแอมโมเนียมในดิน จากการชะล้าง ซึ่งในการประยุกต์ใช้งานกับหลุมฝังกลบจริง อาจมีการรดด้วยน้ำชะมูลฝอย ซึ่งเป็นการลดปริมาณน้ำชะมูลฝอยในการบำบัด และเป็นการช่วยเสริมธาตุอาหารในดินด้วย

2. งานวิจัยในอนาคต

2.1. การศึกษาปริมาณเชื้อแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้เลือกใช้โพรบ NIT 3 ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไนโตรโซโมแนส ซึ่งเป็นเชื้อที่พบปริมาณสูงในดิน ทั้งนี้จำนวนเชื้อแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ยังประกอบไปด้วยเชื้ออีกหลายชนิด ดังนั้นงานวิจัยในอนาคตจึงอาจเลือกใช้โพรบที่มีความจำเพาะต่อเชื้อแอมโมเนียออกซิไดส์เซอร์ทั้งหมด เพื่อให้มีความครอบคลุมมากขึ้น

2.2. ในการวิจัยครั้งนี้อิทธิพลของพืชต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชันยังคงไม่ชัดเจนเนื่องจากพืชไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลของพืชในแง่การใช้ ออกซิเจน การดูดซับก๊าซมีเทนและการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เนื่องจากกระบวนการหายใจของพืชในดิน ซึ่งอาจส่งผลต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

เฉลิมพล แซมเพชร. 2530. หญ้าและถั่วอาหารสัตว์เมืองร้อน. โอเอสพรีนติ้ง เฮาส์, กรุงเทพฯ.

2530. หญ้าและถั่วอาหารสัตว์เมืองร้อน. ครั้งที่ 1. โอเดียนสโตร์, โอเอสพรีนติ้ง เฮาส์.

พิชญา สัมเกลี้ยง. 2550. การจำแนกเชื้อเมทาโนโทรฟในดินกลบทับชั้นสุดท้ายของพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่มีผลต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชัน. วิทยานิพนธ์วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. **คาร์บอนไดออกไซด์**. คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี. แหล่งที่มา:

<http://th.wikipedia.org/wiki/>, 1 เมษายน 2551.

สมเจตน์ จันทวัฒน์, ถวิล ครุฑกุล, จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, สุเทพ ทองแพ,

แจ่มจันทร์ วิจารณ์ และ ศุภมาส พนิชศักดิ์พัฒนา. 2530. **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น**. ครั้งที่ 6. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมศักดิ์ วั่งไฉ. 2528. **จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน**. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ.

สายัณฑ์ ทัดศรี. 2530. **พืชอาหารสัตว์และหลักการทำทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์**. ครั้งที่ 3. ชอนนทรี, บริษัทประชาชน จำกัด กรุงเทพฯ.

_____. 2540. **พืชอาหารสัตว์เขตร้อน : การผลิตและการจัดการ**. ครั้งที่ 1. ไร่เขียว, โรงพิมพ์ลินคอร์น.

อุบลวรรณ ยอดแสง. 2546. **อิทธิพลของพืชและการรดน้ำชะมูลฝอยต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของก๊าซมีเทนในหน้าดินกลบทับมูลฝอยชุมชน**. วิทยานิพนธ์วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Anthony, C. 1982. **The Biochemistry of Methylootrophs**. Academic Press Ltd., London.

- Anthony C. 1986. Bacterial Oxidation of Methane and Methanol. **Advanced Microbiology and Physiology** (27): 113-210.
- Anthony C. 1991. Assimilation of carbon by methylotrophs. **Biotechnology** (18): 79-109.
- Atlas R.M. and R. Bartha. 1992. **Microbial Ecology : Fundamentals and Applications**. 3 ed. The Benjamin, Cummings Publishing Company, Inc. Redwood City, California, USA..
- Barratt, P. A. 1995. Microbial Methane Oxidation and the Effective Biological Treatment of Landfill Generated Methane." **Proceedings of the symposium Green '93, Geotechnics Related to the Environment-Waste Disposal by Landfill, Rotterdam, The Netherlands** : 239-246.
- Bauman, J.G.J., Wiegant J, Borst P, Van Duijn P. 1980. A New Method for Fluorescence Microscopical Localization of Specific DNA Sequence by In Situ Hybridization of Fluochrome-Labeled RNA. **Exp.Cell Res.** (128) : 485-490.
- Bedard C. and R. Knowles. 1989. Physiology , Biochemistry and Specific Inhibitor of CH₄ NH₄⁺ and CO Oxidation by Methanotrophs and Nitrifiers. **Microbiological Review** (Mar): 68-84.
- Bhandari, B., and D. J. D. Nicholas. 1979. Ammonia and O₂ Uptake in Relation to Proton Translocation in Cells of *Nitrosomonas eurlopatia*. **Arch. Microbiol.** (122):249-255.
- Bodegom P., F. Stams, L. Mollema, S. Boeke and P. Leffelaar. 2001. Methane Oxidation and the Competition for Oxygen in the Rice Rhizosphere. **Applied and Environmental Microbiology** (67): 3568-3597.
- Bodelier, P., P. Roslev, T. Henckel and P. Frenzel. 2000. Stimulation by Ammonium-Based Fertilizers of Methane Oxidation in Soil Around Rice Roots. **Nature** (403): 421-424.

- Boeckx, P. and O.V. Cleemput. 1996. Methane Oxidation in a Neutral Landfill Cover Soil: Influence of Moisture Content, Temperature, and Nitrogen-Turnover. **Journal of Environmental Quality**. (25): 178-183.
- Bowman, J. P., L. I. Sly, P. D. Nichols, and A. C. Hayward. 1993. Revised taxonomy of the methanotrophs : Description of *Methylobacter* gen. nov., Emendation of *Methylococcus*, Validation of *Methylosinus* and *Methylocystis* species, and a proposal that the Family *Methylococcaceae* Includes only the group I methanotrophs. **Institute Journal Systematic Bacteriology**. (43): 735-753.
- Carini S., Beth N. Orcutt , Samantha B. Joye. 2003. Inetractions Between Methane Oxidation and Nitrification in Coastal Sediments . **Geomicrobiology Jouurnal** , (20): 355-374.
- _____. , N. Bano , G.LeCleur and S.B.Joye.2005.Aerobic Methane Oxidation and Methanotroph Community Composition During seasonnal Stratification in Mono Lake , California (USA). **Environmental Microbiology**. (8): 1127-1138.
- Chiemchaisri, W. 2000. **Experiment Investigation of Nutrient Requirements: EPS Production and VOC Inhibition on Methane Oxidation in Tropical Landfill Cover Soils**. Dissertation. Asian Institute of Technology., Pathumthani,Thailand.
- _____. , Visvanathan C. and Wu Jy S. 2001. Biological Activities of Methane Oxidation in Tropical Landfill Cover Soils. **The Journal of Solid Waste Technology and Management** (27): 129-136.
- Dalton, H. 1977. Ammonia oxidaition by the methane oxidizing bacterium *Mlethlvococcus capsilatits strain Bath*. **Arch. Microbiol.**114:273-279.
- Dalton, H., and D. I. Stirling. 1982. Co-metabolism. **Philos.Trans. R. Soc. London Ser.** (B297) :481-496.

- Dedysh, S.N., Derakshani, M. and Liesack, W. 2001. Detection and Enumeration of Methanotroph in Sphagnum Peat by 16s rRNA Fluorescence In Situ Hybridization, Including the Use of Developed Oligonucleotide Probes for *Methylocella palustris*. **Appl. and Environ. Microbiol.** (67) : 4850-4857.
- Eller, G., Stubner, S. and Frenzel, P. 2001. Group-Specific 16S rRNA Targeted Probes for the Detection of Type I and Type II Methanotrophs by Fluorescence In Situ Hybridization. **FEMS Microbiol. Lett.** (198) : 91-97.
- Fritz Industries. n.d.. **Nitrifying Bacteria Fact.** Biological Data. Available Source: www.bioconlabs.com/nitribactfacts.html, February 20, 2007.
- Glinski, J. and W. Stepniewski. 1986. **Soil Aeration and Its Role for Plants.** 2nd ed., CRC Press, Inc., Boca Raton, USA.
- Glinski, J. and W. Stepniewski. 1986. **Soil Aeration and Its Role for Plants.** 2nd ed., CRC Press, Inc., Boca Raton, USA.
- Hanson, R.S. and T.E. Hanson. 1996. Methanotrophic bacteria. **Microbiological Reviews.** (60) : 439-471.
- Hilger, H.A., A.G. Wollum and M.A. Barlaz. 2000. Landfill Methane Oxidation Response to Vegetation, Fertilization, and Liming. **Journal of Environmental Quality.** (29) : 324-334.
- Hilger, H.A., S.K. Leibr and M.A. Barlaz. 1999. Exopolysaccharide Control of Methane Oxidation in Landfill Cover Soil. **Environmental Engineering.** 125 (12): 1113-1123.
- Hutton, W. F., and C. E. ZoBell. 1953. Production of Nitrite from Ammonia by Methane-Oxidizing Bacteria. **J. Bacteriol.** (65) :216-219.

Hyman, M. R., and P. M. Wood. 1983. Methane Oxidation by *Nitrosomonas europaea*.

Biochem. J. (212):31-37.

Joergensen, L. 1985. The Methane Mono-Oxygenase Reaction System Studied *In Vivo* by

Membrane Inlet Mass Spectrometry. **Biochem. J.** (225):441-448.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 1992. **Climate Change 1992 :The**

Supplementary Report to the IPCC Scientific Assessment. J.T.Houghton, B.A.

Callender and S.K. Varny (ED). The Press Syndicate of the University of Cambridge,

Melbourne, Australia.

Jones, R. D., and R. Y. Morita. 1983. Carbon Monoxide Oxidation by Chemolithotrophic

Ammonium Oxidizers. **Cian. J. Microbiol.** (29) :1545-1551.

Kaplan, W. A. 1983. Nitrification. p. 139-190. *In* E. J. Carpenter and D. J. Capone. (ed.).

Nitrogen in the marine environment. Academic Press, Inc.. New York.

Kightley, D., D.B. Nedwell and M. Cooper. 1995. Capacity for Methane Oxidation in Landfill

Cover Soils Measured in Laboratory-Scale Soil Microcosms. **Applied and**

Environmental Microbiology. 61 (2) : 592-601.

King, G.M., and S. Schnell. 1994. Ammonium and Nitrite Inhibition of Methane Oxidation by

Methylobacter albus BG8 and *Methylosinus trichosporium* OB3b at Low Methane

Concentrations. **Applied and Environmental Microbiology.** 60 (10) : 3508-3513.

Kunth L. n.d.. **Sporobolus virginicus.** *Sporobolus virginicus.* Available Source:

<http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Gbase/data/pf000328.htm>, February 20, 2007.

Large, P. J., and C. W. Bamforth. 1988. **Methylo-trophy and Biotechnology.** Longman Group,

Harlow, United Kingdom.

- Lawson, C.J. and I.W., Sutherland. 1978. **Economic Microbiology Volume 2: Primary Products of Metabolism. Great Britain** : Academic Press Inc Ltd. Edited by A.H. Rose. London
- Leach, J.G., V.G. Lilly, H.A. Wilson and M.R. Purvis. 1957. Bacterial Polysaccharides: The Nature and Function of the Exudate Produced by *Xanthomonas phaseoli*. **Phytopathology**. (47) : 113-120.
- Lilly, V.G., H.A. Wilson and J.G. Leach. 1958. Bacterial Polysaccharides II. Laboratory Scale Production of Polysaccharides by Species of *Xanthomonas*. **Applied Microbiology**. (6) : 105-108.
- Maurice, C. and A. Lagerkvist. 1997. **Landfill Gas Properties and Effect on Green Plants- Literature Review. Report 1998:01**. Division of Landfill Science & Technology, Lulea University of Technology, Sweden.
- Mettings, F.B. 1993. **Soil Microbiology and Ecology. Applications in Agricultural and Environmental Management**. Mettings, F.B., (ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- Miller, R.W. and R.L. Donahue. 1995. **Soils in Our Environment** : 7th ed., Prentice-Hall Inc., New Jersey, USA.
- Mobarry, B. K., M. Wagner, V. Urbain, B. E. Rittmann, and D. A. Stahl. 1996. Phylogenetic Probes for Analyzing Abundance and Spatial Organization of Nitrifying Bacteria. **Appl. and Environ. Microbiol.** (62) : 2156-2162.
- Nesbit, S.P.B. 1992. A Laboratory Study of Factors Influencing Methane Uptake by Soils. Agriculture, **Ecosystem and Environment** 41 (1): 39-54.

- O'Neill, J. G., and J. F. Wilkinson. 1977. Oxidation of Ammonia by Methane-Oxidizing Bacteria and the Effects of Ammonia on Methane Oxidation. **J. Gen. Microbiol.** (100):407-412.
- Painter, H. A. 1970. A Review of Literature on Inorganic Nitrogen Metabolism in Microorganisms. **Water Res.** (4):393-450.
- Pascal, B. and O.V. Cleemput. 1996. Methane Oxidation in Natural Landfill Cover Soil: Influence of Moisture content, Temperature, and Nitrogen turnover. **Journal of Environmental Quality** (25) :178-183.
- Pernthaler J., Glöckner F., Schönhuber W., and R. Amann. 2001. Fluorescence In situ Hybridization. **Methods in Marine Microbiology**, (30) : 207-226
- Pokhrel, D. 1998. **Microbial Methane Oxidation Studies in Laboratory Scale Experiments.** Master Thesis, Asian Institute of Technology.
- Prosser J.L. 1989. Autotrophic Nitrification in Bacteria. **Adv Microbiol Physiol** (30): 125-181.
- Romanovskaya, V. A., Z. P. Skurova, V. V. Yurchenko, L. V. Tkachuk, and Y. R. Malashenko. 1977. Investigation of the Ability of Obligate Methylothropes for Nitrification. **Microbiology** (46) :53-57. (Translation of Mikrobiologiya 46:66-70).
- Sawyer C. N., Mccarty P.L. and Parkin G.F. 2003. **Chemistry for Environmental Engineering and Science.** 5 ed. Magraw Hill,
- Schutz, H., Schorder, P. and H. Rennenberg. 1999. Role of Plants in Regulating the Methane Flux to the Atmosphere. **Academic Press** 30-57.
- Smith, O.L. 1982. **Soil Microbiology: A Model of Decomposition and Nutrient Cycling.** CRC Press, USA.

- Voysey, P. A., and P. M. Wood. 1987. Methanol and Formaldehyde Oxidation by An Autotrophic Nitrifying Bacterium. **J. Gen. Microbiol.** (133) :283-290.
- Wagner, M., G. Rath, H.-P. Koops, J. Flood, and R. I. Amann. 1996. In Situ Analysis of Nitrifying Bacteria in Sewage Treatment Plants. **Water Sci. Technol.** 34 (1/2) : 237-244.
- Whalen, S.C., W.S Reeburgh and K.A. Sandbeck. 1990. Rapid Methane Oxidation in a Landfill Cover Soil. **Applied and Environmental Microbiology** 56 (11) : 3405-3411
- Whittenbury, R., and N. R. Krieg. 1984. *Methylococcacea* fam. nov. *In* N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore. : 256-262.
- Whittenbury, R., K.C. Phillips and J.F. Winkinson. 1970 . Enrichment, Isolation and Some Properties of Methane-Utilizing Bacteria. **Journal of General Microbiology.** 61 (3): 205-218.
- Wilkinson, J.F. 1958. The Extracellular Polysaccharide of Bacteria. **Bacteriological Reviews.** 22: 46-73.
- William, G.M. and C. Zobell. 1949. The Occurrence and Characteristics of Methane Oxidizing Bacteria in Marine Sediment. **Applied and Environmental Microbiology.** (58) : 463-473.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ผลการวิเคราะห์ก๊าซ

ตารางผนวกที่ ก1 ผลการวิเคราะห์ก๊าซ สภาวะที่ไม่มีลม

วันที่	ความลึก (ซม.)	%CH ₄	%CO ₂	%O ₂	%N ₂
0	5	0.00	0.95	20.58	78.47
	15	0.00	1.44	21.00	77.56
	30	0.00	1.53	20.42	78.05
	50	0.00	1.04	20.40	78.55
1	5	17.52	6.43	15.34	60.71
	15	17.71	6.47	15.27	60.55
	30	28.28	11.64	11.66	48.43
	50	38.95	19.41	7.70	33.94
2	5	11.66	8.49	16.51	63.34
	15	19.29	14.58	13.38	52.75
	30	29.09	21.17	9.85	39.89
	50	39.90	27.73	6.03	26.34
5	5	8.38	7.10	17.50	67.02
	15	17.24	14.39	13.91	54.46
	30	27.63	21.82	9.94	40.61
	50	36.80	27.02	6.94	29.23
7	5	8.18	7.40	17.45	66.98
	15	17.34	14.93	13.77	53.95
	30	27.41	22.24	10.01	40.34
	50	38.59	28.67	6.19	26.55
14	5	6.91	6.32	17.98	68.79
	15	15.47	13.65	14.56	56.31
	30	25.69	21.31	10.58	42.43
	50	36.57	27.59	6.87	28.96

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

วันที่	ความลึก (ซม.)	%CH ₄	%CO ₂	%O ₂	%N ₂
22	5	6.65	6.24	18.16	68.94
	15	15.30	13.91	14.53	56.26
	30	26.01	22.18	10.38	41.42
	50	36.73	28.18	6.73	28.36
31	5	5.46	4.68	18.70	71.16
	15	12.72	10.81	15.76	60.71
	30	21.78	17.73	12.25	48.23
	50	31.75	24.40	8.65	35.19
43	5	3.37	2.60	19.24	74.80
	15	8.94	7.49	17.02	66.55
	30	17.41	14.05	13.65	54.90
	50	29.65	21.74	9.55	39.06
61	5	1.58	2.11	20.03	76.28
	15	4.45	6.05	18.52	70.98
	30	9.75	12.20	16.02	62.03
	50	19.59	19.18	12.31	48.93
93	5	4.30	7.46	15.34	72.89
	15	11.37	17.93	8.19	62.51
	30	21.28	26.39	3.31	49.02
	50	35.27	30.83	1.96	31.94
125	5	4.38	8.76	14.74	72.12
	15	12.07	20.94	6.87	60.12
	30	22.78	28.97	2.40	45.86
	50	35.81	32.07	1.84	30.28

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

วันที่	ความลึก (ซม.)	%CH ₄	%CO ₂	%O ₂	%N ₂
153	5	14.80	15.88	11.55	57.77
	15	35.55	31.15	2.79	30.52
	30	46.64	34.26	1.57	17.54
	50	50.37	33.27	2.09	14.27
184	5	12.18	14.05	11.42	62.34
	15	30.96	30.67	2.36	36.01
	30	42.81	33.31	1.40	22.48
	50	50.51	34.30	1.73	13.46

ตารางผนวกที่ ก2 ผลการวิเคราะห์ก๊าซ สภาวะที่มีลม

วันที่	ความลึก (ซม.)	%CH ₄	%CO ₂	%O ₂	%N ₂
0	5	0.03	1.61	20.35	78.01
	15	0.00	1.85	20.24	77.90
	30	0.04	2.62	20.06	77.28
	50	0.09	2.47	20.04	77.39
1	5	21.56	4.71	14.60	59.12
	15	31.35	4.51	12.12	52.02
	30	41.06	8.58	9.21	41.14
	50	50.57	20.99	4.70	23.74
2	5	23.13	16.22	12.19	48.46
	15	34.01	24.20	8.05	33.74
	30	40.50	26.12	6.19	27.18
	50	50.59	31.96	2.81	14.64

ตารางผนวกที่ ก2 (ต่อ)

วันที่	ความลึก (ซม.)	%CH ₄	%CO ₂	%O ₂	%N ₂
5	5	15.03	12.40	14.82	57.75
	15	20.12	16.80	12.45	50.62
	30	28.70	22.90	9.49	38.91
	50	41.49	29.68	5.19	23.64
7	5	18.53	15.20	13.52	52.76
	15	28.58	23.21	9.58	38.62
	30	38.70	29.01	6.07	26.21
	50	47.83	32.05	3.47	16.65
14	5	19.37	16.63	12.96	51.04
	15	30.39	25.01	8.78	35.81
	30	39.72	29.02	5.87	25.38
	50	50.63	33.76	2.53	13.08
22	5	15.67	13.75	14.50	56.08
	15	24.78	21.33	10.82	43.06
	30	36.39	28.61	6.78	28.22
	50	47.62	33.37	3.28	15.74
31	5	13.87	11.61	15.31	59.21
	15	24.68	20.88	11.06	43.38
	30	33.73	24.96	8.13	33.18
	50	48.17	32.77	3.29	15.77
43	5	9.33	6.76	16.96	66.95
	15	15.12	11.93	14.68	58.27
	30	20.19	15.41	8.56	55.83
	50	42.41	28.33	5.33	23.93

ตารางผนวกที่ ก2 (ต่อ)

วันที่	ความลึก (ซม.)	%CH ₄	%CO ₂	%O ₂	%N ₂
61	5	7.86	7.28	17.55	67.31
	15	14.43	13.18	14.77	57.62
	30	24.67	21.11	10.83	43.38
	50	40.94	29.74	5.42	23.90
93	5	12.14	13.94	12.28	61.64
	15	24.72	26.01	4.81	44.47
	30	35.60	31.28	2.28	30.84
	50	49.70	33.63	1.76	14.91
125	5	12.28	16.89	10.20	60.62
	15	28.34	29.95	2.71	39.00
	30	38.20	32.17	2.27	27.36
	50	49.62	34.09	1.58	14.71
153	5	23.22	22.50	7.81	46.47
	15	42.92	32.91	2.07	22.11
	30	50.29	34.62	1.40	13.68
	50	52.73	34.22	1.53	11.52
184	5	16.79	17.65	10.37	55.19
	15	39.36	36.81	2.20	21.64
	30	45.83	30.45	1.90	21.82
	50	52.60	33.44	1.59	12.38

ตารางผนวกที่ ก3 ผลการวิเคราะห์ก๊าซ สภาวะที่ปลูกพืช

วันที่	ความลึก (ซม.)	%CH ₄	%CO ₂	%O ₂	%N ₂
0	5	0.08	1.38	20.25	78.30
	15	0.00	1.49	20.29	78.22
	30	0.05	1.68	20.17	78.11
	50	0.03	1.59	20.35	78.02
1	5	31.00	9.33	11.43	48.23
	15	36.80	10.55	9.85	42.80
	30	47.36	17.16	6.06	29.42
	50	52.12	23.56	3.85	20.47
2	5	31.29	22.30	8.93	37.48
	15	34.65	24.08	7.75	33.51
	30	45.67	30.14	4.15	20.03
	50	50.37	32.39	2.70	14.54
5	5	20.71	16.80	12.63	49.86
	15	25.85	20.83	10.49	42.83
	30	35.77	26.82	7.09	30.32
	50	45.05	31.32	4.12	19.50
7	5	23.24	18.90	11.29	46.57
	15	29.26	23.27	9.35	38.11
	30	41.64	30.21	5.17	22.98
	50	48.33	33.09	3.08	15.49
14	5	20.48	16.94	12.64	49.94
	15	26.40	21.91	10.33	41.37
	30	40.33	29.97	5.54	24.15
	50	47.63	33.12	3.29	15.96

ตารางผนวกที่ ก3 (ต่อ)

วันที่	ความลึก (ซม.)	%CH ₄	%CO ₂	%O ₂	%N ₂
22	5	17.65	15.04	13.74	53.58
	15	22.63	19.85	11.63	45.89
	30	37.44	29.05	6.42	27.10
	50	46.00	32.74	3.80	17.46
31	5	15.30	12.52	14.84	57.35
	15	21.33	17.53	12.41	48.73
	30	37.14	27.38	6.87	28.61
	50	45.73	31.64	4.02	18.61
43	5	11.45	8.15	16.30	64.10
	15	13.86	10.81	15.08	60.25
	30	27.18	19.96	10.32	42.54
	50	41.55	27.07	5.74	25.64
61	5	7.36	6.48	17.75	68.41
	15	13.19	11.60	15.35	59.87
	30	26.99	21.63	10.17	41.21
	50	39.89	28.92	5.89	25.29
93	5	8.86	11.02	12.42	67.70
	15	22.53	24.58	4.10	48.79
	30	39.34	31.11	1.89	27.66
	50	48.79	33.54	1.59	16.07
125	5	14.43	17.61	9.93	58.02
	15	34.08	31.35	2.19	32.38
	30	44.39	33.58	1.71	20.33
	50	50.42	34.68	1.31	13.59

ตารางผนวกที่ ก3 (ต่อ)

วันที่	ความลึก (ซม.)	%CH ₄	%CO ₂	%O ₂	%N ₂
153	5	27.31	24.65	7.25	40.79
	15	49.79	33.78	1.81	14.63
	30	51.15	34.06	1.73	13.07
	50	52.98	34.37	1.47	11.18
184	5	28.81	29.41	2.78	38.99
	15	50.13	33.72	1.38	14.77
	30	52.86	34.34	1.12	11.68
	50	53.77	34.03	1.31	10.89

ภาคผนวก ข

การคำนวณและผลอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

1. การคำนวณความเข้มข้นของก๊าซมีเทน

$$\begin{aligned} \text{จากสมการ ความเข้มข้นของก๊าซ } (\mu\text{g. m}^{-3}) &= \frac{\text{ppm} \times MW \times 10^3}{R \times T} \\ \text{ppm} &= \text{Percentage} \times 10^4 \\ R &= 0.08208 \text{ L-atm.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1} \\ T &= \text{อุณหภูมิที่ทดลอง } 303 \text{ }^\circ\text{K} \end{aligned}$$

$$\text{ความเข้มข้นของก๊าซ (g.L}^{-1}) = \frac{\text{Percentage} \times MW \times 10^{-2}}{R \times T}$$

$$\text{อัตราการไหลของก๊าซผสม} = 4.032 \text{ L.d}^{-1}$$

$$\text{ความเข้มข้นของก๊าซมีเทน (g CH}_4\text{.d}^{-1}) = \frac{\text{Percentage} \times 16 \times 10^{-2} \times 4.032}{0.08208 \times 303}$$

$$= \text{Percentage} \times 0.0259$$

2. การคำนวณหาอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนในดินคอลัมน์

อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึก 5-15 ซม.

$$\begin{aligned} \text{ปริมาตรดินที่ระดับความลึก 5-15 ซม.} &= 0.1 \times \pi \times (0.15)^2 / 4 \\ &= 1.767 \times 10^{-3} \text{ m}^3 \end{aligned}$$

$$\text{อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทน (g CH}_4\text{.m}^{-3}\text{.d}^{-1}) = (\text{CH}_{4,15} - \text{CH}_{4,5}) / (1.767 \times 10^{-3})$$

$$\text{CH}_{4,5} = \text{ความเข้มข้นของก๊าซมีเทนที่ระดับ 5 cm (g CH}_4\text{.d}^{-1})$$

$$\text{CH}_{4,15} = \text{ความเข้มข้นของก๊าซมีเทนที่ระดับ 15 cm (g CH}_4\text{.d}^{-1})$$

อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึก 15-30 ซม.

$$\begin{aligned} \text{ปริมาตรดินที่ระดับความลึก 15-30 ซม.} &= 0.15 \times \pi \times (0.15)^2 / 4 \\ &= 2.651 \times 10^{-3} \text{ m}^3 \end{aligned}$$

$$\text{อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทน (g CH}_4\text{.m}^{-3}\text{.d}^{-1}) = (\text{CH}_{4,30} - \text{CH}_{4,15}) / (2.651 \times 10^{-3})$$

$$\text{CH}_{4,15} = \text{ความเข้มข้นของก๊าซมีเทนที่ระดับ 15 cm (g CH}_4\text{.d}^{-1})$$

$$\text{CH}_{4,30} = \text{ความเข้มข้นของก๊าซมีเทนที่ระดับ 30 cm (g CH}_4\text{.d}^{-1})$$

อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึก 30-50 cm

$$\begin{aligned} \text{ปริมาตรดินที่ระดับความลึก 30-50 ซม.} &= 0.20 \times \pi \times (0.15)^2 / 4 \\ &= 3.534 \times 10^{-3} \text{ m}^3 \end{aligned}$$

$$\text{อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทน (g CH}_4\text{.m}^{-3}\text{.d}^{-1}) = (\text{CH}_{4,50} - \text{CH}_{4,30}) / (3.534 \times 10^{-3})$$

$$\text{CH}_{4,30} = \text{ความเข้มข้นของก๊าซมีเทนที่ระดับ 30 cm (g CH}_4\text{.d}^{-1})$$

$$\text{CH}_{4,50} = \text{ความเข้มข้นของก๊าซมีเทนที่ระดับ 50 cm (g CH}_4\text{.d}^{-1})$$

3. ตัวอย่างการคำนวณ

ผลการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบก๊าซมีเทน ในวันที่ 14 ตามภาคผนวก ก1 พบว่า มีปริมาณมีเทนที่ระดับความลึกต่างๆ ดังนี้

ความลึก (ซม.)	มีเทน (%)
5 ซม.	6.91
15 ซม.	15.47
30 ซม.	25.69
50 ซม.	36.57

ตัวอย่างการคำนวณความเข้มข้นของก๊าซมีเทน

$$\text{ความเข้มข้นของก๊าซมีเทน (g CH}_4\text{.d}^{-1}) = \text{Percentage} \times 0.0259$$

$$\begin{aligned} \text{ที่ระดับความลึก 5 ซม.} &= 6.91 \times 0.0259 \\ &= 0.18 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ที่ระดับความลึก 15 ซม.} &= 15.47 \times 0.0259 \\ &= 0.40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ที่ระดับความลึก 30 ซม.} &= 25.69 \times 0.0259 \\ &= 0.67 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ที่ระดับความลึก 50 ซม.} &= 36.57 \times 0.0259 \\ &= 0.95 \end{aligned}$$

ตัวอย่างการคำนวณหาอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนในดินคอลัมน์

อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึก 5-15 ซม.

$$\begin{aligned} \text{อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทน(g CH}_4\text{.m}^{-3}\text{.d}^{-1}) &= (\text{CH}_{4,15} - \text{CH}_{4,5}) / (1.767 \times 10^{-3}) \\ &= (0.40 - 0.18) / (1.767 \times 10^{-3}) \\ &= 124.5 \text{ g CH}_4\text{.m}^{-3}\text{.d}^{-1} \end{aligned}$$

อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึก 15-30 ซม.

$$\begin{aligned} \text{อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทน(g CH}_4\text{.m}^{-3}\text{.d}^{-1}) &= (\text{CH}_{4,15} - \text{CH}_{4,5}) / (1.767 \times 10^{-3}) \\ &= (0.67 - 0.40) / (2.651 \times 10^{-3}) \\ &= 99.97 \text{ g CH}_4\text{.m}^{-3}\text{.d}^{-1} \end{aligned}$$

อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนที่ระดับความลึก 30-50 ซม.

$$\begin{aligned} \text{อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทน(g CH}_4\text{.m}^{-3}\text{.d}^{-1}) &= (\text{CH}_{4,15} - \text{CH}_{4,5}) / (1.767 \times 10^{-3}) \\ &= (0.95 - 0.67) / (3.534 \times 10^{-3}) \\ &= 79.94 \text{ g CH}_4\text{.m}^{-3}\text{.d}^{-1} \end{aligned}$$

อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทน ทั้งคอลัมน์ที่ระดับความลึก 5-50 ซม.

$$\begin{aligned} \text{อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนรวม(g CH}_4\text{.m}^{-3}\text{.d}^{-1}) &= 124.5 + 99.97 + 79.94 \\ &= 304.41 \end{aligned}$$

สำหรับการคำนวณค่าอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนในตัวอย่างอื่นๆ ใช้การคำนวณในลักษณะเช่นเดียวกันนี้ โดยแสดงค่าไว้ดัง ตารางที่ ข1-ข3

ตารางผนวกที่ ข1 อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน สภาวะที่ไม่มีลม

วันที่	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน (g CH ₄ .m ⁻³ .d ⁻¹)			
	5-15 ชม.	15-30 ชม.	30-50 ชม.	5-50 ชม.
0	0	0	0	0.00
1	5.66	101.85	79.23	186.74
2	113.19	94.3	82.06	289.55
5	130.16	101.85	65.08	297.09
7	135.82	98.08	82.06	315.96
14	124.5	99.97	79.94	304.41
22	130.16	101.85	79.23	311.24
31	107.53	90.53	70.74	268.80
43	79.23	82.99	90.55	252.77
61	45.27	49.04	73.57	167.88
93	107.53	94.3	104.7	306.53
125	113.19	105.62	96.21	315.02
153	304.65	108.57	27.41	440.63
184	275.80	115.91	56.57	448.28

ตารางผนวกที่ ข2 อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน สภาวะที่มีลม

วันที่	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน (g CH ₄ .m ⁻³ .d ⁻¹)			
	5-15 ชม.	15-30 ชม.	30-50 ชม.	5-50 ชม.
0	0	0	0	0
1	141.48	98.08	67.91	307.47
2	158.46	64.13	73.57	296.16
5	73.57	82.99	96.21	252.77
7	147.14	98.08	67.91	313.13
14	164.12	90.53	79.23	333.88
22	130.16	113.16	84.89	328.21
31	158.69	88.65	105.94	353.28
43	84.89	49.04	164.12	298.05
61	96.21	101.85	118.85	316.91
93	181.1	105.62	104.7	391.42
125	237.69	94.3	84.89	416.88
153	289.23	72.23	17.86	379.32
184	331.42	63.28	49.70	444.40

ตารางผนวกที่ ข3 อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน สภาวะที่ปลูกพืช

วันที่	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน (g CH ₄ .m ⁻³ .d ⁻¹)			
	5-15 ชม.	15-30 ชม.	30-50 ชม.	5-50 ชม.
0	0	0	0	0
1	84.89	105.62	33.96	224.47
2	50.93	109.39	33.96	194.28
5	73.57	98.08	67.91	239.56
7	90.55	120.71	48.1	259.36
14	84.89	139.57	53.76	278.22
22	73.57	143.34	62.25	279.16
31	88.62	154.73	63.07	306.42
43	33.96	132.03	104.7	270.69
61	84.89	135.8	96.21	316.9
93	198.08	165.98	70.74	434.8
125	288.62	101.85	45.27	435.74
153	330.10	13.31	13.46	356.87
184	313.06	26.74	6.64	346.44

ภาคผนวก ค
การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดินทางเคมี

ตารางผนวกที่ ค1 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดินทางเคมี สภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซ
ชีวภาพ

พารามิเตอร์	วันที่	ความลึก 0-30 เซนติเมตร
pH	0	8.93
	31	8.72
	61	8.35
	93	7.96
	125	7.22
	153	6.77
	184	6.82
	ความชื้น (%)	0
31		5.84
61		5.67
93		10.86
125		11.17
153		11.98
184		10.25
TOC (mg/g)		0
	31	40.39
	61	46.34
	93	41.93
	125	46.54
	153	51.68
	184	38.02
	EPS (mg/g)	0
31		0.63
61		0.57
93		0.85
125		0.34
153		0.43

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

พารามิเตอร์	วันที่	ความลึก 0-30 เซนติเมตร
EPS (mg/g)	184	0.62
PO ₄ ³⁻ (μg/g)	0	110.27
	31	206.81
	61	201.76
	93	151.26
	125	183.75
	153	208.40
	184	186.48
NO ₂ ⁻ (μg/g)	0	4.14
	31	14.25
	61	25.25
	93	30.00
	125	41.72
	153	0.00
	184	0.00
NO ₃ ⁻ (μg/g)	0	8.07
	31	6.83
	61	7.25
	93	10.54
	125	22.98
	153	80.89
	184	115.67
NH ₄ ⁺ (μg/g)	0	1,311.62
	31	810.50
	61	884.31
	93	177.06
	125	12.86

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

พารามิเตอร์	วันที่	ความลึก 0-30 เซนติเมตร
NH ₄ ⁺ (μg/g)	153	18.33
	184	28.62
TKN (μg/g)	0	1,333.51
	31	1,223.86
	61	1,143.16
	93	417.52
	125	133.98
	153	209.83
	184	203.96
	Org-N (μg/g)	0
31		413.35
61		258.85
93		240.46
125		121.12
153		191.50
184		175.34
TN (μg/g)		0
	31	1,244.93
	61	1,175.67
	93	458.06
	125	198.68
	153	290.73
	184	319.62

ตารางผนวกที่ ค2 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดินทางเคมี สภาวะที่ไม่มีลิ้ม

พารามิเตอร์	วันที่	ระดับความลึก (เซนติเมตร)				
		1	0-5	5-15	15-30	30-50
pH	0	8.93	8.93	8.93	8.93	8.93
	31	8.06	8.07	8.62	8.91	8.81
	61	7.96	8.30	8.54	8.74	8.85
	93	7.92	8.07	8.34	8.46	8.67
	125	7.77	7.78	7.70	7.73	8.55
	153	7.12	7.13	7.83	7.09	8.18
	184	7.75	7.74	7.76	7.35	8.53
ความชื้น (%)	0	13.01	13.01	13.01	13.01	13.01
	31	1.38	1.68	3.61	5.29	7.06
	61	0.40	2.13	4.56	6.43	8.04
	93	2.69	7.38	11.13	12.85	11.30
	125	3.52	8.26	12.07	12.43	11.08
	153	2.34	9.73	16.53	14.10	12.35
	184	2.49	6.16	12.07	12.07	16.04
TOC (mg/g)	0	30.70	30.70	30.70	30.70	30.70
	31	23.94	37.55	35.81	45.35	34.25
	61	28.44	18.27	21.68	19.84	17.52
	93	34.32	54.41	68.36	65.85	46.04
	125	113.71	74.12	90.56	92.48	44.18
	153	54.10	60.84	84.02	84.38	43.33
	184	24.50	49.90	49.90	73.09	100.08
EPS (mg/g)	0	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
	31	1.04	0.85	0.73	0.69	0.60
	61	0.74	0.98	1.00	0.76	0.93
	93	1.65	1.61	1.83	1.85	1.86

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

พารามิเตอร์	วันที่	ระดับความลึก (เซนติเมตร)				
		1	0-5	5-15	15-30	30-50
EPS (mg/g)	125	2.00	2.25	2.47	3.21	1.60
	153	1.11	1.22	2.51	2.64	0.94
	184	1.44	2.38	2.87	3.62	1.07
PO ₄ ³⁻ (μg/g)	0	-	110.27	110.27	110.27	110.27
	31	-	275.76	155.26	180.32	174.78
	61	-	78.28	251.70	145.20	347.29
	93	-	42.51	56.30	36.86	25.15
	125	-	201.18	175.89	196.18	194.08
	153	-	187.60	165.77	192.03	197.27
	184	-	228.10	167.72	202.09	178.35
NO ₂ ⁻ (μg/g)	0	-	4.14	4.14	4.14	4.14
	31	-	8.07	16.03	20.05	31.01
	61	-	15.61	7.64	15.75	16.37
	93	-	ND	ND	ND	ND
	125	-	4.22	0.00	0.00	0.00
	153	-	4.17	25.25	22.87	8.95
	184	-	0.00	0.00	4.66	0.00
NO ₃ ⁻ (μg/g)	0	-	8.07	8.07	8.07	8.07
	31	-	15.20	5.62	6.49	7.21
	61	-	6.89	5.45	4.03	4.19
	93	-	3.00	2.81	3.15	0.99
	125	-	0.25	0.70	0.38	0.00
	153	-	20.68	1.68	3.31	0.48
	184	-	4.67	2.37	3.52	0.99
NH ₄ ⁺ (μg/g)	0	-	1,311.62	1,311.62	1,311.62	1,311.62
	31	-	989.02	841.52	765.15	934.02
	61	-	1,001.06	687.22	700.33	564.49

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

พารามิเตอร์	วันที่	ระดับความลึก (เซนติเมตร)				
		1	0-5	5-15	15-30	30-50
NH ₄ ⁺ (μg/g)	93	-	6.92	18.20	296.36	239.94
	125	-	5.02	0.91	29.75	214.43
	153	-	11.38	6.48	19.86	264.81
	184	-	3.57	1.87	36.20	302.87
TKN (μg/g)	0	-	1,333.51	1,333.51	1,333.51	1,333.51
	31	-	1,172.89	1,205.07	1,343.95	1,663.53
	61	-	1,302.66	1,033.32	974.74	1,113.46
	93	-	340.97	358.26	560.54	517.11
	125	-	405.66	511.03	686.19	636.78
	153	-	223.83	343.41	584.00	507.10
	184	-	254.25	429.81	706.87	462.37
Org-N (μg/g)	0	-	21.89	21.89	21.89	21.89
	31	-	183.87	363.54	578.81	729.51
	61	-	301.60	346.10	274.41	548.97
	93	-	334.04	340.06	264.18	277.17
	125	-	400.63	510.12	656.44	422.35
	153	-	212.45	336.93	564.14	242.29
	184	-	250.67	427.94	670.67	159.50
TN (μg/g)	0	-	1,345.72	1,345.72	1,345.72	1,345.72
	31	-	1,196.17	1,226.72	1,370.49	1,701.74
	61	-	1,325.17	1,046.41	994.53	1,134.02
	93	-	343.96	361.07	563.69	518.10
	125	-	410.13	511.73	686.57	636.78
	153	-	248.68	370.35	610.19	516.53
	184	-	258.91	432.19	715.05	463.36

ตารางผนวกที่ ค3 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดินทางเคมี สภาวะที่มีลม

พารามิเตอร์	วันที่	ระดับความลึก (เซนติเมตร)				
		1	0-5	5-15	15-30	30-50
pH	0	8.93	8.93	8.93	8.93	8.93
	31	8.06	8.23	8.85	8.89	8.83
	61	7.92	8.45	8.74	8.89	8.91
	93	7.60	8.06	8.06	8.56	8.76
	125	7.75	7.66	7.96	8.50	8.71
	153	7.02	7.21	7.00	7.94	8.37
	184	7.67	7.76	7.62	7.99	8.49
ความชื้น (%)	0	13.01	13.01	13.01	13.01	13.01
	31	1.45	2.44	5.29	9.59	9.16
	61	1.12	3.78	5.11	7.65	9.42
	93	1.08	4.84	11.35	11.52	11.82
	125	3.00	8.45	11.89	13.05	13.60
	153	1.60	4.68	9.99	13.84	11.32
	184	3.07	6.64	13.19	12.78	12.77
TOC (mg/g)	0	30.70	30.70	30.70	30.70	30.70
	31	21.78	35.01	32.31	34.07	37.02
	61	25.92	25.60	24.56	38.16	22.08
	93	28.36	48.60	35.64	46.21	29.37
	125	56.91	72.24	91.85	55.40	32.29
	153	43.01	56.95	88.77	50.19	40.58
	184	49.23	44.61	74.60	82.12	42.59
EPS (mg/g)	0	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
	31	0.98	0.93	0.77	0.57	0.55
	61	0.95	0.97	1.03	0.90	0.99
	93	0.93	0.96	3.18	1.13	0.68

ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

พารามิเตอร์	วันที่	ระดับความลึก (เซนติเมตร)				
		1	0-5	5-15	15-30	30-50
EPS (mg/g)	125	1.67	3.03	3.12	2.28	1.14
	153	1.13	1.84	3.11	1.22	0.80
	184	1.40	2.99	3.41	1.62	0.94
PO ₄ ³⁻ (μg/g)	0	-	110.27	110.27	110.27	110.27
	31	-	227.46	191.13	173.23	232.49
	61	-	151.38	121.27	153.47	249.35
	93	-	20.55	10.35	49.15	51.78
	125	-	170.82	147.11	215.78	426.46
	153	-	182.35	213.72	191.12	151.81
	184	-	138.60	226.14	169.55	223.17
NO ₂ ⁻ (μg/g)	0	-	4.14	4.14	4.14	4.14
	31	-	26.58	26.62	34.84	46.67
	61	-	17.21	14.10	18.51	25.92
	93	-	ND	ND	ND	ND
	125	-	0.00	8.43	0.00	0.00
	153	-	0.00	0.00	0.00	0.00
	184	-	0.00	0.00	0.00	0.00
NO ₃ ⁻ (μg/g)	0	-	8.07	8.07	8.07	8.07
	31	-	25.61	5.08	4.66	5.18
	61	-	7.45	5.12	3.69	2.47
	93	-	6.17	1.86	1.10	1.45
	125	-	1.74	0.55	0.25	1.34
	153	-	3.90	1.52	0.60	0.40
	184	-	1.67	1.78	1.64	3.16
NH ₄ ⁺ (μg/g)	0	-	1,311.62	1,311.62	1,311.62	1,311.62
	31	-	1,123.16	857.00	1,116.29	1,018.22
	61	-	731.15	654.02	777.56	592.88

ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

พารามิเตอร์	วันที่	ระดับความลึก (เซนติเมตร)				
		1	0-5	5-15	15-30	30-50
NH ₄ ⁺ (µg/g)	93	-	15.15	12.95	136.97	346.34
	125	-	39.31	20.97	211.16	350.84
	153	-	12.79	10.28	266.54	362.23
	184	-	30.71	10.59	84.81	350.72
TKN (µg/g)	0	-	1,333.51	1,333.51	1,333.51	1,333.51
	31	-	1,399.35	1,179.17	1,255.21	1,535.94
	61	-	848.51	784.24	1,138.97	1,304.12
	93	-	149.84	275.33	304.62	494.56
	125	-	620.93	499.40	428.59	738.74
	153	-	317.20	493.13	557.42	501.68
	184	-	250.77	567.20	342.85	415.66
Org-N (µg/g)	0	-	21.89	21.89	21.89	21.89
	31	-	276.19	322.17	138.92	517.72
	61	-	117.37	130.23	361.41	711.24
	93	-	134.69	262.38	167.65	148.22
	125	-	581.62	478.43	217.43	387.91
	153	-	304.41	482.85	290.88	139.45
	184	-	220.06	556.60	258.04	64.94
TN (µg/g)	0	-	1,345.72	1,345.72	1,345.72	1,345.72
	31	-	1,451.54	1,210.86	1,294.71	1,587.79
	61	-	873.18	1,119.22	1,101.22	1,332.50
	93	-	156.01	277.19	305.72	496.01
	125	-	622.67	508.39	428.84	740.08
	153	-	321.10	494.65	558.02	502.08
	184	-	252.44	568.98	344.49	418.82

ตารางผนวกที่ ค4 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของดินทางเคมี สภาวะที่ปลูกพืช

พารามิเตอร์	วันที่	ระดับความลึก (เซนติเมตร)				
		1	0-5	5-15	15-30	30-50
pH	0	8.93	8.93	8.93	8.93	8.93
	31	7.88	8.27	8.82	8.90	8.93
	61	7.86	8.39	8.67	8.87	8.90
	93	7.58	8.32	8.53	8.70	8.88
	125	7.52	8.05	7.98	8.52	8.82
	153	7.10	7.94	7.57	8.41	8.59
	184	7.17	7.49	7.77	8.35	8.78
ความชื้น (%)	0	13.01	13.01	13.01	13.01	13.01
	31	1.19	2.54	4.72	8.97	7.49
	61	1.00	1.74	3.77	7.19	7.58
	93	3.78	6.33	11.20	10.76	17.45
	125	8.28	10.39	15.05	12.18	10.59
	153	4.59	12.51	16.22	13.82	12.45
	184	8.75	14.14	16.57	14.38	11.91
TOC (mg/g)	0	30.70	30.70	30.70	30.70	30.70
	31	18.88	35.37	36.22	64.48	43.02
	61	31.53	20.17	29.20	30.52	22.39
	93	40.29	56.35	57.62	69.42	29.11
	125	45.62	84.83	99.11	73.08	52.19
	153	55.89	95.79	95.64	44.90	33.58
	184	75.11	28.49	78.30	60.41	37.56
EPS (mg/g)	0	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
	31	1.00	0.65	0.86	0.84	0.77
	61	0.98	0.91	0.67	0.50	1.16
	93	0.93	1.36	1.52	1.43	1.07

ตารางผนวกที่ ค4 (ต่อ)

พารามิเตอร์	วันที่	ระดับความลึก (เซนติเมตร)				
		1	0-5	5-15	15-30	30-50
EPS (mg/g)	125	2.40	1.82	2.59	1.92	1.12
	153	1.55	2.76	2.31	0.91	0.66
	184	2.67	2.15	1.98	1.49	0.63
PO ₄ ³⁻ (μg/g)	0	-	110.27	110.27	110.27	110.27
	31	-	237.48	281.36	178.38	293.14
	61	-	135.68	146.31	207.70	178.71
	93	-	39.06	48.82	42.90	36.65
	125	-	271.61	242.12	260.90	163.83
	153	-	174.43	200.60	132.72	177.80
	184	-	150.21	147.41	108.64	203.86
NO ₂ ⁻ (μg/g)	0	-	4.14	4.14	4.14	4.14
	31	-	14.54	7.47	12.84	45.64
	61	-	18.27	4.03	15.96	12.12
	93	-	ND	ND	ND	ND
	125	-	12.00	8.90	0.00	4.47
	153	-	0.00	8.91	0.00	0.00
	184	-	0.00	0.00	0.00	0.00
NO ₃ ⁻ (μg/g)	0	-	8.07	8.07	8.07	8.07
	31	-	14.61	2.61	1.89	2.41
	61	-	7.39	3.33	4.72	5.10
	93	-	0.85	0.81	1.10	0.56
	125	-	0.22	0.00	0.00	0.14
	153	-	1.55	0.82	1.25	1.60
	184	-	0.26	0.71	1.67	1.40
NH ₄ ⁺ (μg/g)	0	-	1,311.62	1,311.62	1,311.62	1,311.62
	31	-	675.09	982.31	1,083.25	1,032.86
	61	-	721.44	460.01	776.94	597.08

ตารางผนวกที่ ค4 (ต่อ)

พารามิเตอร์	วันที่	ระดับความลึก (เซนติเมตร)				
		1	0-5	5-15	15-30	30-50
NH ₄ ⁺ (μg/g)	93	-	12.71	21.13	247.69	450.42
	125	-	22.69	13.72	257.21	275.16
	153	-	19.77	22.76	287.46	501.20
	184	-	13.13	69.19	241.14	394.32
TKN (μg/g)	0	-	1,333.51	1,333.51	1,333.51	1,333.51
	31	-	907.00	1,232.36	1,241.55	1,462.59
	61	-	1,042.71	1,092.67	790.83	1,070.61
	93	-	334.61	371.81	639.45	654.63
	125	-	550.10	263.88	599.64	479.56
	153	-	482.05	524.94	690.92	681.27
	184	-	375.25	432.08	396.05	502.30
Org-N (μg/g)	0	-	21.89	21.89	21.89	21.89
	31	-	231.91	250.04	158.30	429.73
	61	-	321.27	632.66	13.90	473.53
	93	-	321.90	350.68	391.76	204.20
	125	-	527.41	250.16	342.44	204.40
	153	-	462.27	502.17	403.45	180.07
	184	-	362.12	362.89	154.91	107.98
TN (μg/g)	0	-	1,345.72	1,345.72	1,345.72	1,345.72
	31	-	936.14	1,242.44	1,256.28	1,510.65
	61	-	1,068.37	1,100.03	811.51	1,087.83
	93	-	335.46	372.62	640.55	655.19
	125	-	562.33	272.78	599.64	484.16
	153	-	483.59	534.66	692.17	682.87
	184	-	375.50	432.79	397.73	503.70

ภาคผนวก ง
การศึกษาจำนวนเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธีฟิช

1. การเตรียมสารเคมี

การเตรียม Mili-Q Water

ดูดน้ำกลั่นโดยใช้ Syringe จากนั้นนำตัวกรองขนาด 0.2 μm มาต่อที่ส่วนปลายของ Syringe ทำการกรองโดยกดก้านของ Syringe ลง ทำซ้ำไปเรื่อยๆ จนครบปริมาตรที่ต้องการ นำไปเข้าเครื่อง Auto Clave ที่อุณหภูมิ 121 $^{\circ}\text{C}$ นาน 15 นาที

การเตรียมสาร 3x PBS

ทำการชั่งสารต่างๆดังนี้

NaCl	24 g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.45 g
KCl	0.6 g
KH_2PO_4	0.6 g

นำสารทั้งหมดที่ชั่งได้นี้ ละลายด้วยน้ำ Mili-Q และปรับให้มีปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นนำไป Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 $^{\circ}\text{C}$ นาน 15 นาที

การเตรียมสาร 1x PBS

ทำการเจือจาง จาก 3x PBS ด้วยน้ำ Mili-Q ปรับให้มีค่า pH เท่ากับ 7.3 จากนั้นนำไป Auto Clave ที่อุณหภูมิ 121 $^{\circ}\text{C}$ นาน 15 นาที

การเตรียม 4% Paraformaldehyde Fixing Solution

กรณีเตรียม 50 ml

- ใช้น้ำ Mili-Q 32.5 ml ใส่บีกเกอร์ อุณหภูมิบน Hot plate จนกระทั่งมีอุณหภูมิประมาณ 60 $^{\circ}\text{C}$
- เติม Paraformaldehyde 2 g คนด้วยแท่งแก้วเบาๆ ระวังการฟุ้งกระจาย กลิ่น และควันของสารละลายมีอันตราย (ต้องทำในตู้ดูดควัน) ทำการหยด 2M NaOH ลงไป จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

- นำลงจากเตา เดิม 3x PBS 16.5 ml คนให้เข้ากัน
- ปรับให้ค่า pH เท่ากับ 7.2 โดยใช้ 0.5M HCl
- กรองสารละลายที่เตรียมได้นี้ โดยใช้ตัวกรองขนาด 0.2 μm และ Syringe
- นำสารที่ผ่านการกรองแล้ว แช่เย็นที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อเตรียมไว้ใช้ในขั้นตอนการเตรียม และรักษาสภาพตัวอย่าง (สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง)

การเตรียม 0.1% Gelatin Solution

- นำน้ำ Mili-Q ปริมาตร 750 ml อุ่นที่อุณหภูมิ $60-70^{\circ}\text{C}$ เดิม Gelatin 1.88 g คนเรื่อยๆจนละลาย จากนั้นยกลงจากเตา
- เดิม Chromium Potassium Sulfate ($\text{CrK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 1.88 g คนจนละลาย
- เมื่อสารละลายเย็นตัว เทใส่ภาชนะและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C สารนี้สามารถใช้ซ้ำได้ จนคุณสมบัติทางกายภาพเปลี่ยนไป จึงทำการเตรียมใหม่

การเตรียมไฮบริดไคเซชัน บัฟเฟอร์

ในการเตรียมน้ำยาไฮบริดไคเซชัน บัฟเฟอร์ ความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์ ที่ใช้จะแปรผันตามโพรบแต่ละชนิด ซึ่งสามารถดูได้จากตารางที่ 4 โดยเมื่อทราบความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์แล้วสามารถเตรียมน้ำยาไฮบริดไคเซชัน ซึ่งมีอัตราส่วนของสารต่างๆได้ตาม ตารางผนวกที่ 1

ตารางผนวกที่ 1 อัตราส่วนของสารต่างๆที่ใช้ในการเตรียมน้ำยาไฮบริดไคเซชัน ที่ปริมาตรรวมเท่ากับ 1 มล.

Formamide conc.	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%
Formamide (μl)	50	100	150	200	250	300	350
4.5 M NaCl (μl)	200	200	200	200	200	200	200
1 M Tris-HCl (μl)	20	20	20	20	20	20	20
1% SDS (μl)	10	10	10	10	10	10	10
RNas-DNas free water (μl)	720	670	620	570	520	470	420

การเตรียมน้ำยา Washing Buffer

กรณีเตรียมที่ปริมาตรรวม 50 ml.

- ปิเปต 1 M Tris-HCl ปริมาตรเท่ากับ 1 ml และ 1% SDS ปริมาตรเท่ากับ 0.5 ml และน้ำ Mili-Q ปริมาตร 48.5 ml
- เติม NaCl ซึ่งแปรผันตามความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์ในขั้นตอนการไฮบริด ซึ่งเมื่อทราบความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์แล้วสามารถเตรียมสารน้ำยา Washing Buffer โดยใช้จำนวน NaCl ตามตารางผนวกที่ 2

ตารางผนวกที่ 2 อัตราส่วนของสารต่างๆที่ใช้ในการเตรียม washing buffer ที่ปริมาตรรวมเท่ากับ 50 มล.

Formamide conc.	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%
NaCl (M)	0.731	0.45	0.277	0.17	0.105	0.065	0.404
ความเข้มข้นที่ ต้องการ							
NaCl (g)	2.14	1.32	0.81	0.498	0.307	0.189	0.116
ปริมาณที่ต้องใช้							

2. วิธีการวิเคราะห์

การเตรียมและการรักษาสภาพตัวอย่าง (Fixation)

ชั่งตัวอย่างดิน 0.3 g ใส่ใน Micro Tube ขนาด 1 ml เติม 4%- Paraformaldehyde Fixing Solution ที่เตรียมไว้แล้ว 900 μ l ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการผสมโดยใช้ Vortex ให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 g นาน 5 นาที ใช้ปิเปตดูดส่วนใสทิ้ง และนำส่วนตะกอนมาเติม 1× PBS จำนวน 900 μ l ผสมด้วย Vortex ให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ 10,000 g นาน 5 นาที ใช้ปิเปตดูดส่วนใสทิ้งอีกครั้งเหมือนเช่นครั้งแรกและนำส่วนตะกอนมาเติม 1× PBS 150 ไมโครลิตร และ Ethanol ที่แช่เย็นที่ -20°C จำนวน 150 μ l ผสมด้วย vortex ให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบต่ำ (500 rpm) นาน 5 นาที เพื่อให้ตะกอนดินที่มีน้ำหนักมากกว่าตกตะกอนลงสู่ด้านล่าง ทำการเก็บตะกอนจุลินทรีย์

(ส่วนใส) ลงสู่หลอด Micro tube อันใหม่ ทำการปั่นเหวี่ยงซ้ำหากตัวอย่างยังมีตะกอนดินอยู่ เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20°C โดยสามารถเก็บตัวอย่างได้นานนาน 2-3 เดือน

การเตรียมสไลด์

ผสมน้ำ 700 ml และน้ำยาล้างจาน 1 หยด นำไปอุ่นจนกระทั่งมีอุณหภูมิ 60°C นำสไลด์ใส่ลงในตะกร้าเหล็กในแนวตั้ง จุ่มแช่ไว้ 60 นาที เมื่อครบเวลาใช้ Syringe ดูดน้ำ Mili-Q ฉีดล้างสไลด์และตะกร้าเหล็ก ทิ้งให้แห้ง ระหว่างนั้นทำการอุ่นสารละลาย 0.1% Gelatin จนกระทั่งมีอุณหภูมิ 60°C จุ่มตะกร้าเหล็กที่ใส่สไลด์อยู่ขึ้นลง 10 ครั้ง ทิ้งให้แห้งและเก็บตะกร้าเหล็กที่ใส่สไลด์ในเดซิเคเตอร์ (สามารถเก็บสไลด์ได้นาน 1-2 เดือน)

การตรึงเซลล์ (Immobilization)

นำตัวอย่างที่ถูกเตรียมและรักษาสภาพ ที่แช่เย็นอุณหภูมิ -20°C ตามข้อ 2.1 มาทำให้ละลายด้วยเครื่องอัลตราโซนิก นาน 4 นาที โดยวางตัวอย่างในบีกเกอร์ที่มีน้ำแข็งเพื่อป้องกันความร้อนระหว่างการ Sonicate จากนั้นเปิดตัวอย่าง $3\ \mu\text{l}$ ลงในหลุมสไลด์ที่เคลือบเจลาตินเตรียมไว้แล้ว เคลี่ยให้ทั่ว ทิ้งให้แห้ง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาไล่น้ำออกจากเซลล์โดยแช่สไลด์ลงในเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 50, 80 และ 98 นาน 3 นาที ในแต่ละความเข้มข้น วางสไลด์ให้แห้ง ที่อุณหภูมิห้องรอการไฮบริดเซลล์

การเตรียม Private Probe

ในการเตรียมโพรบต้องระวังอย่าให้สัมผัสแสงโดยตรง เนื่องจากโพรบอาจเสียสภาพได้ จึงควรเตรียมในห้องมืด นำ Master Probe มาเจือจาง เป็น Private Probe (ความเข้มข้น $5\ \mu\text{mol}/\mu\text{l}$) ด้วย DNase-RNase Free Water ผสมให้เข้ากัน เก็บรักษา Master และ Private Probe ที่อุณหภูมิ -20°C

การไฮบริดตัวอย่างและโพรบ

เตรียมภาชนะสำหรับการไฮบริดโดยใช้กระดาษทิชชู 1 แผ่นวางลงในหลอด Plastic Centrifuge Tube ขนาด 50 ml. เปิดน้ำยาไฮบริดไคเซชันบัฟเฟอร์ $600\ \mu\text{l}$ ใส่ลงบนกระดาษทิชชูที่เตรียมไว้

ปิดฝาและนำเข้าตู้บ่ม ณ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับแต่ละโพรบตามตารางที่ 4 จากนั้นผสม Private Probe และ น้ำยาไฮบริดดิเคชันบัฟเฟอร์ลงใน Micro Tube ในอัตราส่วน 1 :8 ปิเปตสารผสมนี้ 9 μ l ลงในแต่ละหลุมสไลด์ที่ตรึงเซลล์ไว้แล้วในข้อ 2.3 จนครบ จากนั้นนำสไลด์วางลงในหลอดพลาสติกที่อบเตรียมไว้ในข้างต้นแล้ว และนำเข้าตู้อบ ณ อุณหภูมิที่เหมาะสมกับโพรบแต่ละชนิด ต่ออีก 2 ชั่วโมง

การล้าง

เมื่อทำการไฮบริดครบ 2 ชั่วโมงใช้ปากคีบ คีบสไลด์ออกจากหลอดพลาสติกที่ใช้ในขั้นตอนไฮบริด ปิเปตน้ำยา Washing Buffer ที่เตรียมใส่หลอด Plastic Centrifuge Tube ขนาด 50 ml. ใไว้จำนวน 500 ml. ล้างสไลด์ตามแนวยาวของสไลด์ โดยให้น้ำยาผ่านทุกหลุมในสไลด์ จากนั้นแช่สไลด์ในหลอดพลาสติกที่มีน้ำยา Washing Buffer นำไปอุ่นใน Water bath ที่อุณหภูมิ 48 °ซ นาน 20 นาที นำสไลด์ออก และปิเปต Mili-Q water จำนวน 500 ml. ล้างสไลด์ตามแนวยาวของสไลด์ โดยให้น้ำผ่านทุกหลุมในสไลด์ แล้วปล่อยให้แห้ง เพื่อทำการย้อมเชื้อในขั้นต่อไป

การย้อมหาปริมาณเชื้อทั้งหมดด้วย DAPI Straining

ทำการย้อมเชื้อด้วย DAPI Straining เพื่อติดตามเชื้อทั้งหมดที่อาศัยอยู่ในตัวอย่างดิน (Total Microorganisms) โดยการปิเปตสารละลาย DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) ที่มีความเข้มข้น 1.25 ng/ml จำนวน 10 μ l ลงในแต่ละหลุม วางในที่มืด 5 นาที ปิเปต Mili-Q water จำนวน 500 ml. ล้างสไลด์ตามแนวยาวของสไลด์ โดยให้น้ำผ่านทุกหลุมในสไลด์ แล้วปล่อยให้แห้ง จากนั้นหยด SlowFade-Ligh เพื่อป้องกันการหักของแสงและปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ (Cover Slip) ระวังอย่าให้มีฟองอากาศและเคลือบรอยต่อระหว่างสไลด์และกระจกปิดสไลด์ด้วยน้ำยาล้างเล็บ และนำไปวิเคราะห์ด้วยกล้องฟลูออเรสเซนซ์ต่อไป

3. การคำนวณเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในหน่วยเซลล์/กรัม

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะปริมาตรตัวอย่างเท่ากัน ดังนี้

- ปริมาณสารละลายหลังการ Fix cell = 300 μ L
- ปริมาณที่ใช้เกลี่ยลงสไลด์ = 3 μ L

คำนวณพื้นที่ของกล้อง

$$\text{ขนาดของพื้นที่ของกล้องจุลทรรศน์ที่หัว 100x} = 24300 \mu\text{m}^2$$

คำนวณพื้นที่ต่อหลุมในสไลด์ที่ใช้ศึกษา

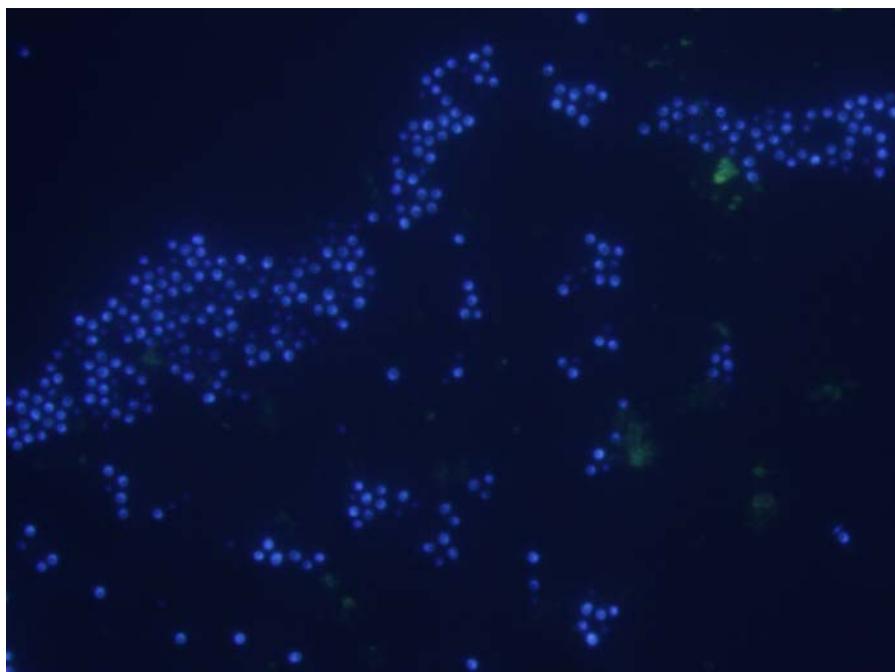
$$\text{ขนาดของพื้นที่หลุมในสไลด์} = \pi r^2 \quad (r = 2.5 \times 10^{-3} \text{ m})$$

$$= 19625000 \mu\text{m}^2$$

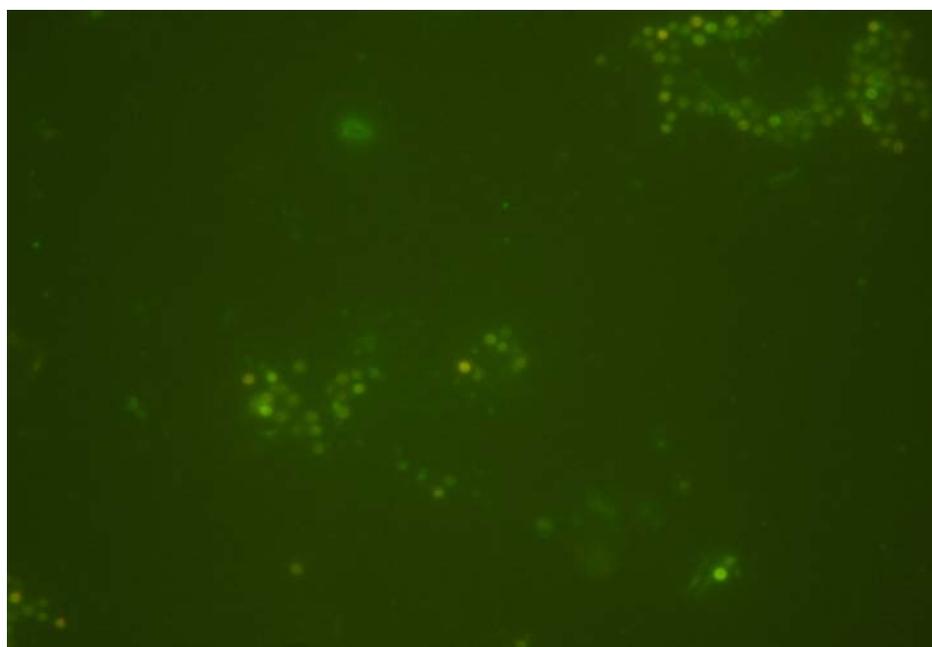
$$\text{กำหนดจำนวนเซลล์ที่นับได้เฉลี่ยต่อภาพถ่าย} = A \text{ เซลล์}$$

$$\text{จำนวนเซลล์/กรัมดินแห้ง} = \frac{A \times 300 \mu\text{L} \times 19625000 \mu\text{m}^2}{24300 \mu\text{m}^2 \times 3 \mu\text{L} \times \text{Dry weight}}$$

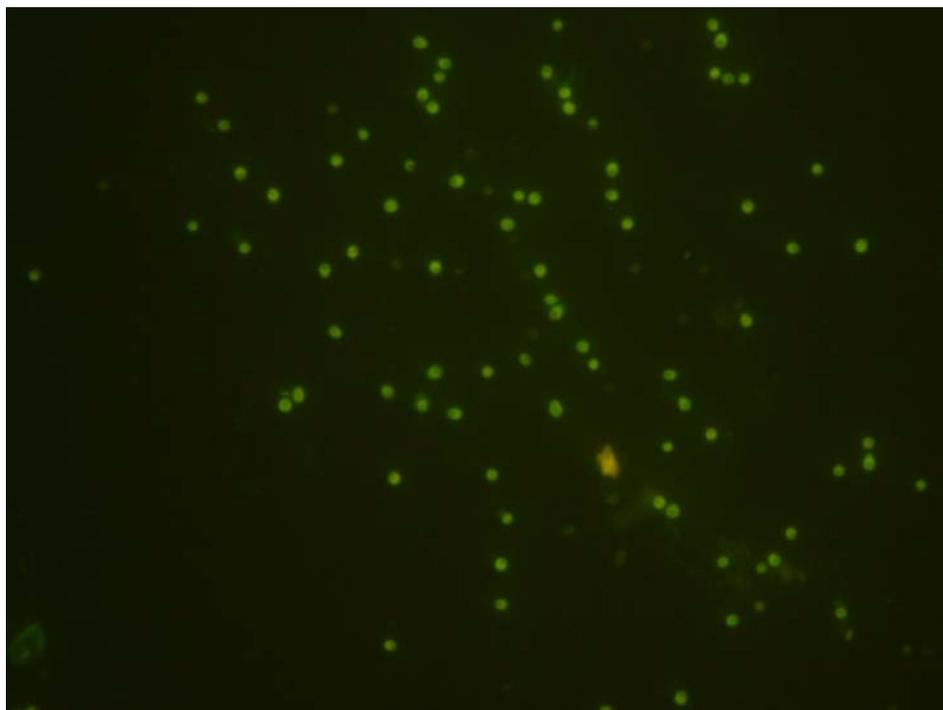
4. ภาพถ่ายผลการศึกษา



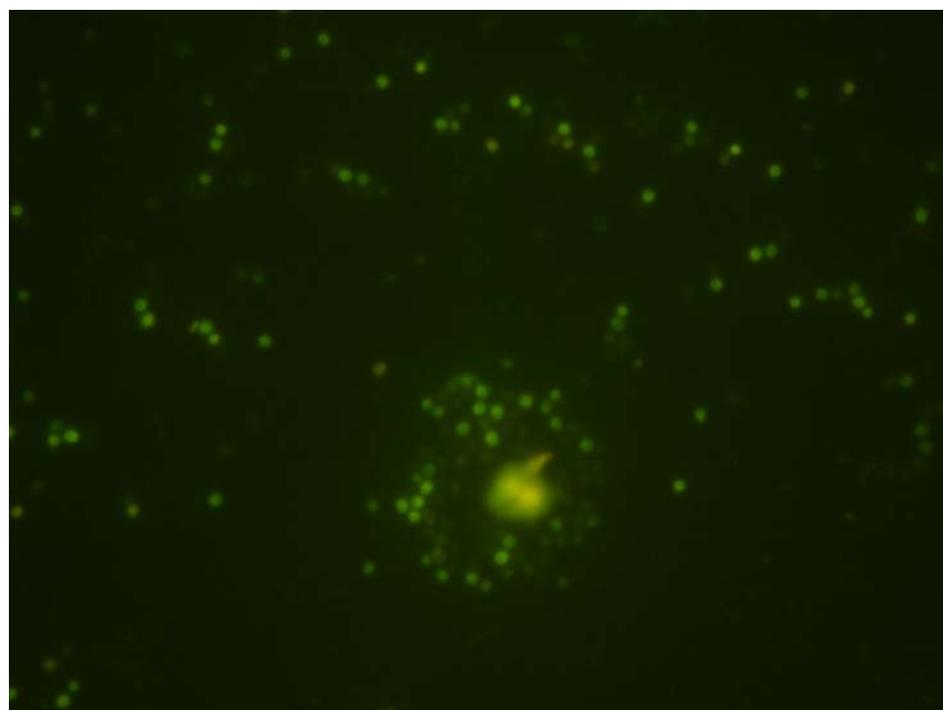
ภาพผนวกที่ ๑1 ภาพถ่ายผลการศึกษาระดับจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบ (ย้อมเซลล์ด้วย DAPI)



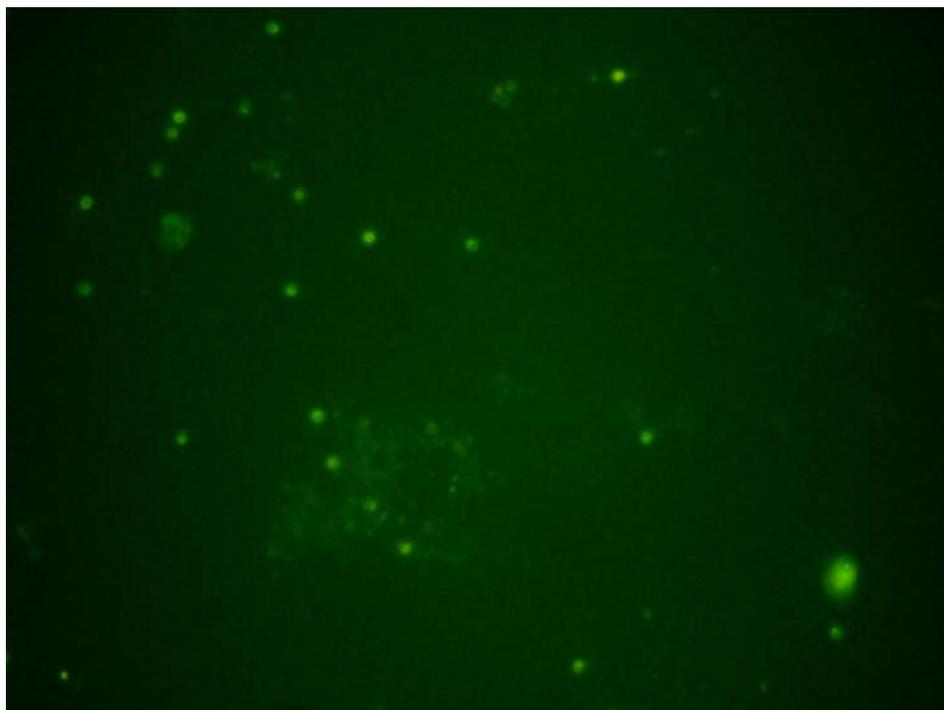
ภาพผนวกที่ ๑2 ภาพถ่ายผลการศึกษาระดับเมทาโนโทรฟ Type I (ย้อมเซลล์ด้วย MY84+MY705)



ภาพผนวกที่ ๓3 ภาพถ่ายผลการศึกษาระดับปริมาณเมทาโนโทรฟ Type II (ย้อมเซลล์ด้วยMC450)



ภาพผนวกที่ ๓4 ภาพถ่ายผลการศึกษาระดับปริมาณไนโตรโซอิมิดาซอล (ย้อมเซลล์ด้วย NSM 156)



ภาพผนวกที่ ๖5 ภาพถ่ายผลการศึกษาระดับไนโตรแบคเตอร์ (ย้อมเซลล์ด้วย NIT 3)

5. ผลการวิเคราะห์

ตารางผนวกที่ 3 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ สภาวะหน้าดินที่ไม่พ่นก๊าซชีวภาพ

วันที่	ระดับ ความลึก (ซม.)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ($\times 10^5$ เซลล์/กรัมดินแห้ง)				
		เชื้อ ทั้งหมด	เมทาโนโทรฟ Type I	เมทาโนโทรฟ Type II	ไนโตรโซ โมเนส	ไนโตรแบค เตอร์
0	-	101.11	-	-	1.57	4.39
31	0-30	145.00	-	-	5.82	3.25
61	0-30	48.06	-	-	7.03	4.64
93	0-30	66.67	-	-	4.72	4.71
125	0-30	97.23	-	-	6.31	5.03
153	0-30	84.15	-	-	5.10	4.85
184	0-30	103.63	-	-	7.28	3.88

ตารางผนวกที่ 4 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ สภาวะไม่มีลม

วันที่	ระดับ ความลึก (ซม.)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ($\times 10^5$ เซลล์/กรัมดินแห้ง)				
		เชื้อ ทั้งหมด	เมทาโนโทรฟ Type I	เมทาโนโทรฟ Type II	ไนโตรโซ โมเนส	ไนโตรแบค เตอร์
0	-	101.11	4.71	2.82	4.39	1.57
31	0-5	200.53	11.36	12.92	2.62	6.29
	5-15	154.88	17.43	16.36	6.76	4.27
	15-30	140.19	14.02	13.68	6.58	6.41
	30-50	131.84	12.38	13.27	4.07	5.13
61	0-5	107.70	3.41	15.10	4.55	21.92
	5-15	46.54	3.05	6.48	4.32	11.15
	15-30	75.80	5.39	10.42	6.47	19.59
	30-50	50.78	4.75	8.31	6.10	10.34

ตารางผนวกที่ ง4 (ต่อ)

วันที่	ระดับ ความลึก (ซม.)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ($\times 10^5$ เซลล์/กรัมดินแห้ง)				
		เชื้อ ทั้งหมด	เมทาโนโทรฟ Type I	เมทาโนโทรฟ Type II	ไนโตรโซ โมแนส	ไนโตรแบค เตอร์
93	0-5	206.02	38.65	8.16	5.26	27.02
	5-15	186.31	28.20	11.69	7.24	15.95
	15-30	223.15	37.19	10.62	6.26	16.69
	30-50	206.01	34.38	11.21	4.67	20.74
125	0-5	96.92	10.98	10.81	6.25	10.64
	5-15	93.88	10.80	11.27	12.54	8.73
	15-30	150.47	17.90	15.49	6.20	16.69
	30-50	98.97	12.78	14.31	6.99	9.71
153	0-5	167.57	27.70	15.46	11.91	12.67
	5-15	203.80	67.55	38.82	45.02	41.44
	15-30	279.01	85.94	51.12	56.23	77.01
	30-50	124.10	19.94	7.67	10.22	19.17
184	0-5	106.04	12.42	3.80	11.15	10.39
	5-15	122.07	14.29	3.81	8.10	7.38
	15-30	160.08	73.58	9.57	9.55	20.91
	30-50	125.00	13.55	6.39	4.60	5.37

ตารางผนวกที่ ๖ จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ สภาวะที่มีลม

วันที่	ระดับ ความลึก (ซม.)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ($\times 10^5$ เซลล์/กรัมดินแห้ง)				
		เชื้อ ทั้งหมด	เมทาโนโทรฟ Type I	เมทาโนโทรฟ Type II	ไนโตรโซ โมแนส	ไนโตรแบค เตอร์
0	-	101.11	4.71	2.82	4.39	1.57
31	0-5	90.88	4.92	9.52	2.98	2.98
	5-15	111.74	16.38	11.74	5.22	4.56
	15-30	116.34	18.07	12.01	5.74	6.48
	30-50	272.84	49.76	28.72	2.89	4.17
61	0-5	60.49	4.40	11.79	4.75	11.09
	5-15	66.83	3.69	10.70	3.79	8.00
	15-30	95.05	5.15	10.30	7.82	13.15
	30-50	71.72	10.70	7.90	3.54	16.11
93	0-5	68.89	13.50	7.46	3.02	6.75
	5-15	121.83	18.30	7.94	3.40	10.07
	15-30	195.52	18.94	20.18	5.74	11.02
	30-50	106.48	22.52	8.09	4.05	7.04
125	0-5	114.44	13.83	13.69	8.58	11.71
	5-15	168.11	46.14	19.80	29.67	57.39
	15-30	194.60	17.64	30.09	38.13	25.05
	30-50	121.18	11.71	14.86	11.71	12.00
153	0-5	100.70	14.72	10.30	6.38	11.28
	5-15	88.30	37.45	10.41	14.40	17.51
	15-30	98.72	32.38	7.80	15.36	23.87
	30-50	85.50	10.07	7.71	8.57	10.93

ตารางผนวกที่ ๖5 (ต่อ)

วันที่	ระดับ ความลึก (ซม.)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ($\times 10^5$ เซลล์/กรัมดินแห้ง)				
		เชื้อ ทั้งหมด	เมทาโนโทรฟ Type I	เมทาโนโทรฟ Type II	ไนโตรโซ โมแนส	ไนโตรแบค เตอร์
184	0-5	142.95	32.14	8.34	6.87	24.53
	5-15	126.36	37.89	7.53	12.41	10.41
	15-30	85.25	17.49	7.09	7.09	8.74
	30-50	108.55	16.07	6.64	7.71	8.14

ตารางผนวกที่ ๖6 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ สภาวะที่ปลูกพืช

วันที่	ระดับ ความลึก (ซม.)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ($\times 10^5$ เซลล์/กรัมดินแห้ง)				
		เชื้อ ทั้งหมด	เมทาโนโทรฟ Type I	เมทาโนโทรฟ Type II	ไนโตรโซ โมแนส	ไนโตรแบค เตอร์
0	-	101.11	4.71	2.82	4.39	1.57
31	0-5	90.88	4.92	9.52	2.98	2.98
	5-15	111.74	16.38	11.74	5.22	4.56
	15-30	116.34	18.07	12.01	5.74	6.48
	30-50	272.84	49.76	28.72	2.89	4.17
61	0-5	60.49	4.40	11.79	4.75	11.09
	5-15	66.83	3.69	10.70	3.79	8.00
	15-30	95.05	5.15	10.30	7.82	13.15
	30-50	71.72	10.70	7.90	3.54	16.11
93	0-5	68.89	13.50	7.46	3.02	6.75
	5-15	121.83	18.30	7.94	3.40	10.07
	15-30	195.52	18.94	20.18	5.74	11.02
	30-50	106.48	22.52	8.09	4.05	7.04

ตารางผนวกที่ ง4 (ต่อ)

วันที่	ระดับ ความลึก (ซม.)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ($\times 10^5$ เซลล์/กรัมดินแห้ง)				
		เชื้อ ทั้งหมด	เมทาโนโทรฟ Type I	เมทาโนโทรฟ Type II	ไนโตรโซ โมแนส	ไนโตรแบค เตอร์
125	0-5	114.44	13.83	13.69	8.58	11.71
	5-15	168.11	46.14	19.80	29.67	57.39
	15-30	194.60	17.64	30.09	38.13	25.05
	30-50	121.18	11.71	14.86	11.71	12.00
153	0-5	100.70	14.72	10.30	6.38	11.28
	5-15	88.30	37.45	10.41	14.40	17.51
	15-30	98.72	32.38	7.80	15.36	23.87
	30-50	85.50	10.07	7.71	8.57	10.93
184	0-5	142.95	32.14	8.34	6.87	24.53
	5-15	126.36	37.89	7.53	12.41	10.41
	15-30	85.25	17.49	7.09	7.09	8.74
	30-50	108.55	16.07	6.64	7.71	8.14

ภาคผนวก จ
การคำนวณปริมาณน้ำที่ใช้รดคอต้นไม้

การคำนวณหาปริมาณน้ำที่ซึบลงในคอลัมน์ดิน

ในการวิจัยครั้งนี้ มีการทดลองหาปริมาณความเหมาะสมของปริมาณน้ำที่ใช้ในการรดคอลัมน์ โดยการนำบีกเกอร์แก้วที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 9 เซนติเมตร จำนวน 3 ใบ บรรจุน้ำ 200 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 วัน ณ บริเวณคอลัมน์หลุมฝังกลบจำลอง หลังจากนั้นวัดปริมาตรที่เหลืออยู่ในบีกเกอร์ทั้ง 3 ใบ โดยวัดได้ 183 185 182 มิลลิลิตร

$$\text{พื้นที่ของบีกเกอร์ที่ใช้ทดลอง} = \frac{\pi \times (9\text{cm})^2}{4}$$

$$= 63.585 \text{ cm}^2$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำที่ระเหยไปในแต่ละวัน} = \left(\frac{17+15+18}{3}\right)\text{ml} \times 100 \times \frac{1}{200\text{ml}}$$

$$= 8.33\%$$

$$\text{ปริมาณน้ำที่หายไปในแต่ละวัน} = \frac{8.33 \times 200\text{ml}}{63.585\text{cm}^2 \times 100}$$

(ความถ่วงจำเพาะของน้ำ = $1 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$)

$$= 0.26 \text{ cm/d}$$

$$\text{ปริมาณน้ำที่ต้องรดลงในคอลัมน์} = \frac{0.26\text{cm/d} \times \pi \times 15^2}{4}$$

$$= 46.10 \text{ cm/d}$$

$$\approx 50 \text{ cm/d}$$

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาว ศิริลักษณ์ ตั้งขบวนบุตร
วัน เดือน ปี ที่เกิด	1 มิถุนายน 2523
สถานที่เกิด	เขตบางนา จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.บ.(เคมีทรัพยากรสิ่งแวดล้อม) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นักวิทยาศาสตร์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	บริษัท ไอ.เอ.เคมีคอลส์ จำกัด
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-