สารบัญ

หน้า

สารบัญ (1)

สารบัญตาราง (3)

สารบัญภาพ (5)

คำอธิบายสัญลักษณ์ และอักษรย่อ (9)

คำนำ 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

ขอบเขตการศึกษา 3

การตรวจเอกสาร 4

การย่อยสลายมูลฝอยทางชีวภาพในหลุมฝังกลบมูลฝอย 4

องค์ประกอบและอัตราการเกิดก๊าซชีวภาพจากหลุมฝังกลบมูลฝอย 9

อิทธิพลของก๊าซชีวภาพจากหลุมฝังกลบมูลฝอยต่อภูมิอากาศของโลก 11

ชั้นวัสดุกลบทับ 12

การเกิดมีเทนออกซิเดชันในหลุมฝังกลบมูลฝอย 14

แบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟ 23

ฟลูออเรสเซนต์อินซิตูไฮบริไดเซชัน 33

ข้อมูลทั่วไปของพื้นที่ที่ทำการศึกษา 37

อุปกรณ์และวิธีการ 40

อุปกรณ์ 40

วิธีการ 42

ผลการทดลองและวิจารณ์ 47

ลักษณะทางกายภาพและเคมีที่สำคัญของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย
ต่อการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟ 47

การศึกษาความสามารถในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน 53

การตรวจหาปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียด้วยวิธีเอ็มพีเอ็น 57

การตรวจหาปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียและไนติไฟอิงแบคทีเรียด้วยวิธี
ฟลูออเรสเซนต์อินซิตูไฮบริไดเซชัน 60

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

สรุปและข้อเสนอแนะ 68
สรุป 68
ข้อเสนอแนะ 70
เอกสารและสิ่งอ้างอิง 71
ภาคผนวก 81

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องในกระบวนการย่อยสลายมูลฝอยแบบไม่ใช้ออกซิเจน	8
2	องค์ประกอบทั่วไปของก๊าซจากหลุมฝังกลบมูลฝอย	9
3	ชนิดของสารอินทรีย์ระเหยง่ายที่พบในก๊าซจากหลุมฝังกลบมูลฝอย ตามโครงสร้างทางเคมี	10
4	แหล่งกำเนิดก๊าซมีเทน	13
5	ผลของแอมโมเนียมและไนเตรทอิออนต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน	22
6	เปรียบเทียบลักษณะการจำแนกเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1, 2 และ X	26
7	โพรบ (16s rRNA และ 5s rRNA) ที่ใช้ในการจำแนกเมทิลโลโทรฟและเมทาโนโทรฟแบคทีเรียสกุลต่างๆ	29
8	แบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟที่พบในหน้าดินกลบทับของหลุมฝังกลบมูลฝอยรัสเซีย	32
9	ปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟที่ตรวจพบในพื้นที่ที่มีความเป็นกรดโดยวิธีฟิช	33
10	โพรบที่ใช้ในการศึกษาด้วยวิธีการฟลูออเรสเซนต์อินซิตูไฮบริไดเซชัน	36
11	องค์ประกอบของมูลฝอยในเขตเทศบาลเมืองปทุมธานี	38
12	รายละเอียดพารามิเตอร์และวิธีการในการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน	43
13	องค์ประกอบของก๊าซที่ตรวจพบบริเวณท่อระบายก๊าซภายในหลุมฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	50
14	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในช่วงเวลาต่างๆ	54

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ข1	ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ที่ระดับความลึกต่างๆ	87
ข2	ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร	88
ข3	ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ที่ระดับความลึก 16-30 เซนติเมตร	89
ข4	ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ที่ระดับความลึก 31-45 เซนติเมตร	90
ข5	ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ที่ระดับความลึก 46-60 เซนติเมตร	91
ข6	ค่าเฉลี่ยผลการวิเคราะห์ก๊าซมีเทนที่ระดับความลึกต่างๆ	93
ค1	ปริมาณขวดซีรัมที่ให้ผลบวกในการศึกษาปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟด้วยวิธีเอ็มพีเอ็นที่ระดับความลึกต่างๆ	110

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนในหลุมฝังกลบมูลฝอย	7
2	วิถีทางในการเกิดมีเทนออกซิเดชันและการดูดซึมฟอร์มัลดีไฮด์ของเชื้อเมทาโนโทรฟ	25
3	Phylogenetic Tree ของเชื้อเมทิลโลโทรฟ เมทาโนโทรฟและแบคทีเรียชนิดอื่นที่จำแนกตามกลุ่มของ Proteobacteria (อาศัย 16s rRNA และ 5s rRNA ในการจำแนก)	28
4	Phylogenetic Tree ของแบคทีเรียตระกูล Methylococcaceae และแบคทีเรียอื่นๆใน γ Proteobacteia	30
5	Phylogenetic Tree ของเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 ใน α Proteobacteria	31
6	เทคนิคการทำฟลูออเรสเซนต์อินซิตูไฮบริไดเซชัน	35
7	ลักษณะของชุดดินรังสิตที่ใช้ในการกลบทับพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษา	39
8	ตำแหน่งดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยและปากท่อระบายก๊าซที่ทำการศึกษา	41
9	ความเป็นกรดด่าง ความชื้นและอุณหภูมิของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆ	48
10	ปริมาณแอมโมเนียม ไนไตรต์และไนเตรทไนโตรเจนของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆ	49
11	ปริมาณสารอินทรีย์ไนโตรเจน สารอินทรีย์คาร์บอนและฟอสเฟตของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆ	52
12	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันและปริมาณเอ็กซ์ตราเซลลูลาโพลีแซคคาไรด์ของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆ	53
13	ความสัมพันธ์ระหว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยกับความเป็นกรดด่างของดิน	56

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยและปริมาณมีเทนที่ท่อระบายก๊าซ ณ จุดเก็บต่างๆ	57
15	ปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆที่ศึกษาด้วยวิธีเอ็มพีเอ็น	58
16	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยโดยวิธีเอ็มพีเอ็นกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ดังกล่าว	60
17	ปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียชนิดต่างๆที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาในระดับความลึกต่างๆ	62
18	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด Methnotroph type I, Methanotroph typeII, *Nitrosomonas spp., Nitrobacter spp.* ที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาที่ความลึกต่างๆ	63
19	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 และ 2 ในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยกับความเป็นกรดด่างของดิน	64
20	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาด้วยวิธีเอ็มพีเอ็นและฟิช	65
21	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาโดยวิธีฟิชกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ดังกล่าว	65
22	สัดส่วนของ *Nitrosomonas spp., Nitrobacter spp.,* Methanotroph type I, Methanotroph type II เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาที่ความลึกต่างๆ	67

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
ก1	แผนที่พื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	83
ก2	พื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลมแก้ว จ.ปทุมธานี ที่ทำการศึกษาดินกลบทับชั้นสุดท้ายในการวิจัยครั้งนี้	84
ก3	จุดที่ทำการศึกษาดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย	84
ก4	ขวดซีรัมขนาด 20 และ 118 มิลลิลิตร ที่ใช้ในการทดลอง	85
ก5	สไลด์หลุมชนิด 14 หลุมที่ใช้ในการทดลอง	85
ข1	ขวดซีรัมที่ทำการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน	92
ข2	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 1 ที่ความลึก 0-15 ซม.	96
ข3	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 1 ที่ความลึก 16-30 ซม.	96
ข4	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 1 ที่ความลึก 31-45 ซม.	97
ข5	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 1 ที่ความลึก 46-60 ซม.	97
ข6	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 2 ที่ความลึก 0-15 ซม.	98
ข7	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 2 ที่ความลึก 16-30 ซม.	98
ข8	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 2 ที่ความลึก 31-45 ซม.	99
ข9	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 2 ที่ความลึก 46-60 ซม.	99
ข10	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 3 ที่ความลึก 0-15 ซม.	100
ข11	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 3 ที่ความลึก 16-30 ซม.	100
ข12	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 3 ที่ความลึก 31-45 ซม.	101
ข13	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 3 ที่ความลึก 46-60 ซม.	101
ข14	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 4 ที่ความลึก 0-15 ซม.	102
ข15	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 4 ที่ความลึก 16-30 ซม.	102
ข16	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 4 ที่ความลึก 31-45 ซม.	103
ข17	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 4 ที่ความลึก 46-60 ซม.	103
ข18	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 5 ที่ความลึก 0-15 ซม.	104
ข19	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 5 ที่ความลึก 16-30 ซม.	104
ข20	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 5 ที่ความลึก 31-45 ซม.	105

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
ข21	ผลการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจุดเก็บที่ 5 ที่ความลึก 46-60 ซม.	105
ค1	การศึกษาปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียด้วยวิธีเอ็มพีเอ็นในระบบ 3 ขวด	109
ค2	เปรียบเทียบลักษณะของผลการศึกษาด้วยวิธีเอ็มพีเอ็นที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันในวันที่ 1 และ 45	109
ง1	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย (ย้อมด้วย DAPI)	114
ง2	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย (ย้อมด้วย Mγ84 + Mγ705)	114
ง3	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 ที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย (ย้อมด้วย Mα450)	115
ง4	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณเชื้อ *Methylocapsa acidiphila* ที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย (ย้อมด้วย Mcaps-1032)	115
ง5	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณเชื้อ *Methylocella palustris* ที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย (ย้อมด้วย Mcells-1026)	116
ง6	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณเชื้อ *Nitrosomonas spp.*ที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย (ย้อมด้วย NSM156)	116
ง7	ภาพถ่ายผลการศึกษาปริมาณเชื้อ *Nitrobacter spp.*ที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย (ย้อมด้วย NIT3)	117