

การตรวจเอกสาร

1. การย่อยสลายมูลฝอยทางชีวภาพในหลุมฝังกลบมูลฝอย

การย่อยสลาย (Decomposition Processes) ของมูลฝอยมี 3 กระบวนการ ได้แก่ การสลายตัวทางชีววิทยา การสลายตัวทางเคมีและการสลายตัวทางฟิสิกส์ โดยมีรายละเอียดดังนี้

1.1 การสลายตัวทางชีววิทยา (Biological Decomposition) ได้แก่ การเปลี่ยนธาตุคาร์บอนในสารอินทรีย์โดยกระบวนการทางชีววิทยาของจุลินทรีย์ให้อยู่ในรูปของก๊าซ เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) และก๊าซมีเทน (CH₄) เป็นต้น การสลายตัวนี้นับว่ามีความสำคัญมากที่สุดเพราะมูลฝอยมีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ กระบวนการย่อยสลายทางชีววิทยาสามารถแบ่งได้ 2 ขั้นตอนดังนี้

1.1.1 การย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic Decomposition) กระบวนการย่อยสลายจะเริ่มเมื่อมีการทิ้งมูลฝอยสู่หลุมฝังกลบ โดยในช่วงแรกมูลฝอยที่ทับถมกันยังมีก๊าซออกซิเจนที่แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์และให้ผลิตภัณฑ์เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) น้ำ สารอินทรีย์ที่ย่อยสลายไม่สมบูรณ์และความร้อน โดยปกติการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนจะเกิดได้รวดเร็วกว่าแบบไม่ใช้ออกซิเจน นอกจากนี้พบว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สำคัญของกระบวนการมีปริมาณสูงถึงร้อยละ 90 ของปริมาณก๊าซทั้งหมดและจากคุณสมบัติที่ละลายน้ำค่อนข้างดีดังนั้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) บางส่วนจึงละลายลงสู่น้ำ ผลจากการละลายน้ำนี้ส่งผลให้น้ำชะมูลฝอยมีฤทธิ์ค่อนข้างเป็นกรดเล็กน้อย สำหรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนลดลงในขณะที่ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) สูงขึ้น ส่วนก๊าซไนโตรเจน (N₂) นั้นในทางทฤษฎีจะไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Tchobanoglous *et al.*, 1993)

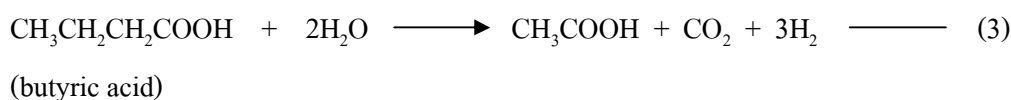
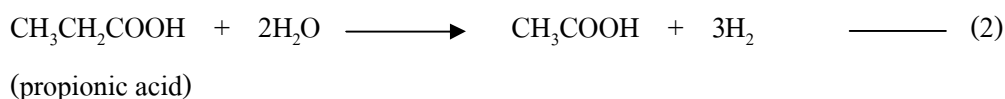
1.1.2 การย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Decomposition) กระบวนการย่อยสลายจะให้ผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย (Final product) ดังสมการที่ 1



ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในส่วนที่เป็นก๊าซจะส่งกลิ่นเหม็นฟุ้งกระจาย กระบวนการนี้เกิดได้ช้ากว่าแบบใช้อากาศประมาณ 2 - 6 เดือน หรือ 1 ปี โดยแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

1) **ปฏิกิริยาการแตกสลายสารโมเลกุล (Hydrolysis)** เป็นกระบวนการแตกสลายสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนที่อาจอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ เช่น โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตที่มีองค์ประกอบหลักของเซลลูโลสและส่วนประกอบต่างๆของเนื้อเยื่อพืช เช่น เซลลูโลสและลิกนิน ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนแรกของกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนเพื่อเปลี่ยนขนาดและรูปร่างโมเลกุลของสารให้เล็กลงทำให้แบคทีเรียสามารถนำสารอาหารผ่านผนังเซลล์เพื่อให้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานได้ โดยแบคทีเรียจะขับเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ทำให้สารโมเลกุลขนาดใหญ่เหล่านี้แตกตัวเป็นโมเลกุลขนาดเล็ก เอนไซม์ที่ขับออกมา ได้แก่ cellulose, lipolytic และ proteolytic

2) **กระบวนการเกิดกรด (Acidogenesis)** สารอินทรีย์ที่มีขนาดเล็กที่ได้จากปฏิกิริยา Hydrolysis จะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียที่สร้างกรด (Acid forming bacteria) อาจเป็นพวก Facultative การย่อยสลายในขั้นตอนนี้พบว่าการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ออกมาอย่างรวดเร็วพร้อมกับกรดอินทรีย์และพลังงานความร้อนเล็กน้อย นอกจากนี้กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจะรวมกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) มีผลทำให้เกิดสภาพความเป็นกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เป็นกรดอะซิติก (acetic acid) , กรดโพรไพโอนิก (propionic acid) , กรดแลคติก (lactic acid) และกรดบิวไทริก (butyric acid) จากนั้นแบคทีเรียจำพวกอะซิโตจีนิก (acetogenic bacteria) จะทำหน้าที่เปลี่ยนกรดบิวไทริก (butyric acid) และกรดโพรไพโอนิก (propionic acid) เป็นกรดอะซิติก (acetic acid) ดังสมการ



3) กระบวนการเกิดก๊าซมีเทน (Methanogenesis) กระบวนการย่อยสลายเริ่มเมื่อออกซิเจนถูกใช้ไปหมดแล้วพร้อมกับสภาวะ reducing ซึ่งอำนวยความสะดวกการเจริญของแบคทีเรียชนิดที่สร้างก๊าซมีเทน (Methane former) และเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ช้า สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการประกอบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) น้ำและก๊าซมีเทน (CH₄) และพลังงานความร้อน การย่อยสลายกรดอินทรีย์ที่มีผลทำให้ปริมาณกรดอินทรีย์ในน้ำชะมูลฝอยลดลงและการลดลงของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ส่งผลทำให้ค่าความเป็นกรดต่างของน้ำชะมูลฝอยมีค่าสูงขึ้นแสดงดังสมการ

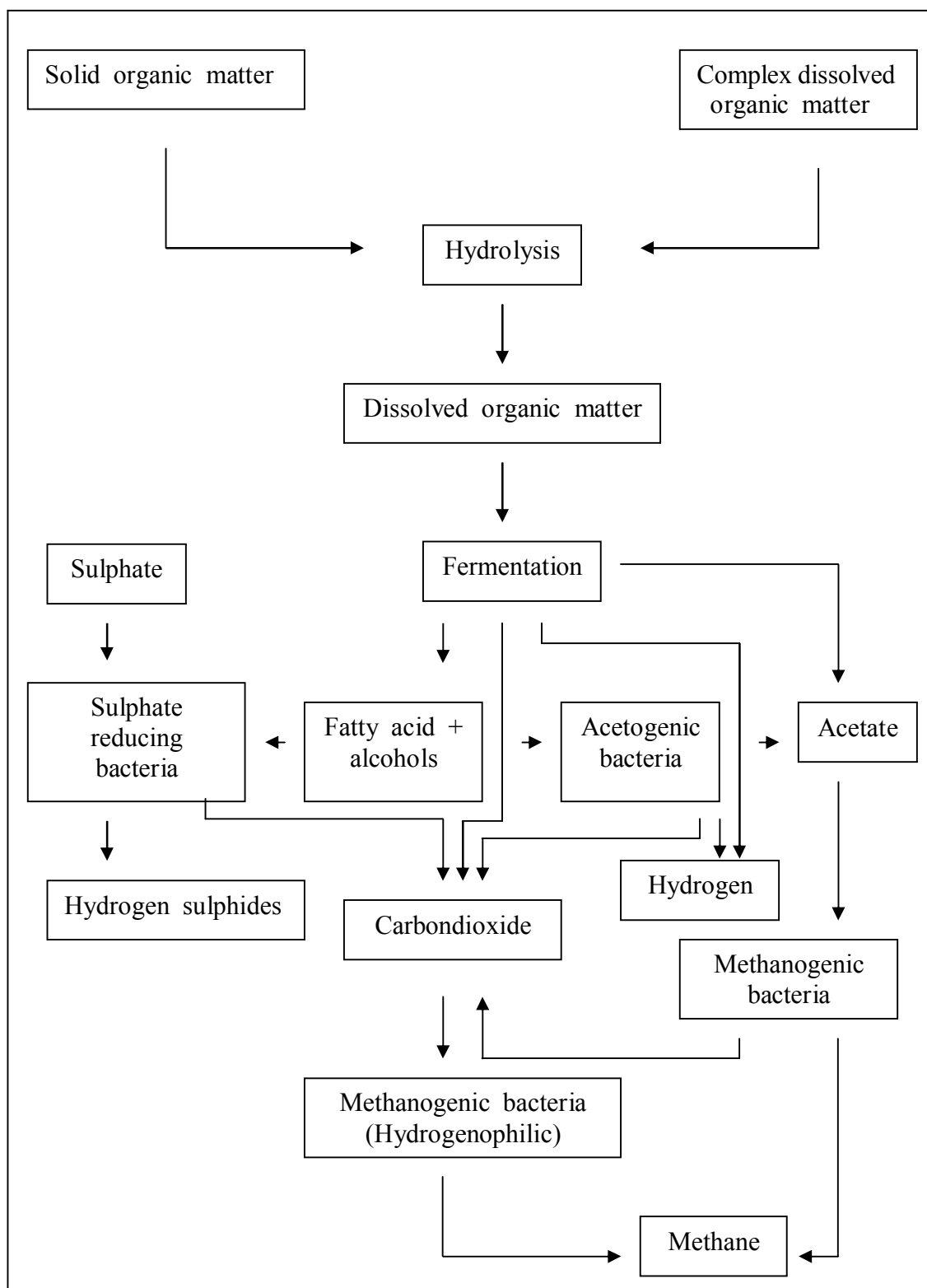


โดยได้แสดงภาพกระบวนการในการย่อยสลายมูลฝอยในกระบวนการต่างๆดังแสดงในภาพที่ 1

1.2 การสลายตัวทางเคมี (Chemical Decomposition) ได้แก่ ปฏิกริยาของไฮโดรไลซิส การดูดซึม การดูดซับหรือปฏิกริยาการแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange) ผลที่เกิดขึ้นจะทำให้น้ำชะมูลฝอยมีปริมาณสารอนินทรีย์ เช่น ไฮดรอกไซด์ คาร์บอเนตหรือโลหะต่างๆ (Tchobanoglous *et al.*, 1993)

1.3 การสลายตัวทางกายภาพ (Physical Decomposition) ได้แก่ การที่สารต่างๆที่เกิดจากปฏิกริยาทางชีววิทยาและกายภาพถูกเคลื่อนย้ายผ่านหรือออกจากหลุมฝังกลบมูลฝอยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีน้ำไหลผ่านในอัตราที่สูง (Tchobanoglous *et al.*, 1993)

ปฏิกริยาที่เกี่ยวข้องในกระบวนการย่อยสลายมูลฝอยแบบไม่ใช้ออกซิเจนโดยจุลินทรีย์แสดงดังตารางที่ 1



ภาพที่ 1 การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนในหลุมฝังกลบมูลฝอย
ที่มา : Christensen *et al.* (1996)

ตารางที่ 1 ปฏิริยาที่เกี่ยวข้องในกระบวนการย่อยสลายมูลฝอยแบบไม่ใช้ออกซิเจน

สารตั้งต้น	ผลิตภัณฑ์
Hydrolysis	
$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O$	$\longrightarrow 2CH_3COOH + 4H_2 + 2CO_2$
$C_6H_{12}O_6$	$\longrightarrow CH_3C_2H_2COOH + 2H_2 + 2CO_2$
$C_6H_{12}O_6$	$\longrightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$
Acidogenesis	
$CH_3CH_2COOH + 2H_2O$	$\longrightarrow CH_3COOH + 3H_2 + CO_2$
$CH_3CH_2COOH + 2H_2O$	$\longrightarrow 2CH_3COOH + 2H_2$
$CH_3CH_2OH + H_2O$	$\longrightarrow CH_3COOH + 2H_2$
$C_6H_5COOH + 6H_2O$	$\longrightarrow 3CH_3COOH + 3H_2 + CO_2$
Methanogenesis	
$4H_2 + CO_2$	$\longrightarrow CH_4 + 2H_2O$
CH_3COOH	$\longrightarrow CH_4 + CO_2$
$HCOOH + 3H_2$	$\longrightarrow CH_4 + 2H_2O$
$CH_3OH + 3H_2$	$\longrightarrow CH_4 + CO_2$
Sulphate Reducing Process	
$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+$	$\longrightarrow HS^- + 2H_2O$
$CH_3COOH + SO_4^{2-}$	$\longrightarrow CO_2 + HS^- + HCO_3^- + H_2O$
$2CH_3C_2H_2COOH + SO_4^{2-} + H^+$	$\longrightarrow 4CH_3COOH + HS^-$

ที่มา : Christensen *et al.* (1996)

2. องค์ประกอบและอัตราการเกิดก๊าซชีวภาพจากหลุมฝังกลบมูลฝอย

2.1 องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพจากหลุมฝังกลบมูลฝอย

ก๊าซที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายในหลุมฝังกลบมูลฝอย เรียกว่า ก๊าซชีวภาพ (biogas) ซึ่งมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นก๊าซมีเทน (CH_4) ประมาณร้อยละ 45 – 60 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ประมาณร้อยละ 40 – 50 และก๊าซอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทั่วไปของก๊าซจากหลุมฝังกลบมูลฝอย

องค์ประกอบ	ร้อยละโดยปริมาตร
มีเทน	45 - 60
คาร์บอนไดออกไซด์	40 - 50
ไนโตรเจน	2 - 5
ออกซิเจน	0.1 - 1
ไฮโดรเจนซัลไฟด์	0 - 1
แอมโมเนีย	0 - 0.2
ไฮโดรเจน	0 - 0.2
คาร์บอนมอนอกไซด์	0 - 0.2
ก๊าซอื่นๆ	0.01 - 0.6

ที่มา : Tchobanoglous *et al.* (1993)

จากการวิจัยของ Nozhevnikova *et al.* (1993) พบว่าในแต่ละหลุมฝังกลบมูลฝอยในประเทศไทยจะมีความเข้มข้นของก๊าซมีเทน (CH_4) แตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณของมูลฝอยและจะเกิดก๊าซมีเทนมากที่สุดที่ระดับความลึกประมาณ 2 – 6 เมตร โดยจุลินทรีย์ที่ทำการผลิตก๊าซมีเทน (CH_4) อยู่ในจำพวก mesophilic methanobacteria นอกจากนี้อาจพบสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยได้ (Volatile Organic Compound : VOC) เกิดขึ้นในหลุมฝังกลบมูลฝอยเนื่องมาจาก

การปนเปื้อนของมูลฝอยจำพวกของใช้จากบ้านเรือนที่ทำจากสารเคมีที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ โดยจากการวิจัยของ Allen *et al.* (1997) พบว่าการแพร่กระจายของสารอินทรีย์ระเหยง่ายจากหลุมฝังกลบมูลฝอย 7 แห่งในประเทศอังกฤษทั้งหมด 140 ชนิด ได้แก่ alkane, aromatic compounds, cycloalkane, terpene, alcohol, ketone และ halogen compounds ดังแสดงในตารางที่ 3 ทั้งนี้ Bounicor and Wayne (1992) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบของก๊าซที่แพร่กระจายออกจากหลุมฝังกลบมูลฝอยประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่าองค์ประกอบหลักของก๊าซจากหลุมฝังกลบมูลฝอยประกอบด้วยก๊าซมีเทนร้อยละ 50 และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อีกประมาณร้อยละ 50 นอกจากนี้ยังมีก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ก๊าซไนโตรเจน (N_2) ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) และสารอินทรีย์ระเหยง่าย (VOC)

ตารางที่ 3 ชนิดของสารอินทรีย์ระเหยง่ายที่พบในก๊าซจากหลุมฝังกลบมูลฝอยตามโครงสร้างทางเคมี

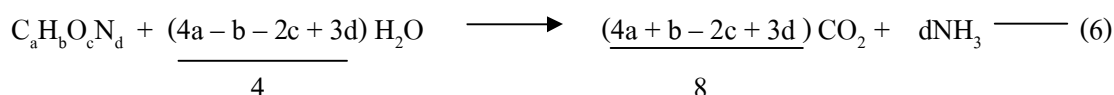
ชนิดของสารอินทรีย์ระเหยง่าย	ความเข้มข้น (mg / m^3)
อัลเคน	302 – 1,543
สารประกอบอะโรมาติก	94 – 1,906
ไซโคลอัลเคน	80 - 487
เทอร์พีน	35 - 652
แอลกอฮอล์และคีโตน	2 - 2,069
สารประกอบฮาโลเจน	327 - 1,239

ที่มา : Allen *et al.* (1997)

2.2 อัตราการเกิดก๊าซชีวภาพจากหลุมฝังกลบมูลฝอย

อัตราการเกิดก๊าซชีวภาพจากหลุมฝังกลบมูลฝอยปกติจะถูกควบคุมจากหลายๆปัจจัย เช่น ขนาดและองค์ประกอบของมูลฝอย อุณหภูมิ พีเอช ปริมาณสารอาหาร ความชื้น เป็นต้น ดังนั้นจึงมีนักวิจัยหลายท่านได้ทำการศึกษาเพื่อหาอัตราการเกิดก๊าซจากหลุมฝังกลบมูลฝอยขนาดเล็กที่จำลองขึ้นพบว่าอัตราการเกิดก๊าซอยู่ในช่วง $0.007 - 3.16 \text{ m}^3 / \text{kg wet solid waste. Year}$

(USEPA, 1985) ในหลุมฝังกลบมูลฝอยจริงจะมีอัตราการเกิดก๊าซอยู่ระหว่าง $187 - 424 \text{ m}^3 / \text{ton wet solid waste. Year}$ (Rees, 1985) หรือ $0.009 - 0.02 \text{ m}^3 / \text{kg wet solid waste. Year}$ (คาดการณ์จากอัตราการเกิด 20 ปี) ซึ่งเป็นผลมาจากองค์ประกอบของมูลฝอยและฤดูกาลที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อัตราการเกิดก๊าซจากหลุมฝังกลบมูลฝอยที่จำลองขึ้นจะสูงกว่าหลุมฝังกลบมูลฝอยจริงเพราะสามารถควบคุมสภาวะได้ เช่น พีเอช ความชื้นและการเติมสารอาหารของมูลฝอยได้มากกว่า ในขณะที่หลุมฝังกลบมูลฝอยจริงไม่สามารถควบคุมสภาวะต่างๆ ได้ เช่น อาจมีปริมาณความชื้นที่ต่ำเกินไป การรั่วไหลของก๊าซ เป็นต้น จึงทำให้ผลผลิตก๊าซที่ได้ต่ำกว่าปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นจากหลุมฝังกลบมูลฝอยจะมีสมการทั่วไปของปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ผลิตภัณฑ์เป็นก๊าซมีเทน ดังสมการ (Tchobanoglous *et al*, 1993)



3. อิทธิพลของก๊าซชีวภาพจากหลุมฝังกลบมูลฝอยต่อภูมิอากาศของโลก

หลุมฝังกลบมูลฝอยถูกนำมาพิจารณาให้เป็นหนึ่งในแหล่งการแพร่กระจายก๊าซมีเทน (CH_4) ที่สำคัญของโลกเพราะองค์ประกอบของก๊าซจากหลุมฝังกลบมูลฝอยประกอบด้วยก๊าซมีเทนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งเป็นก๊าซที่ก่อให้เกิดภาวะเรือนกระจกทั้งคู่แต่ก๊าซมีเทนจะส่งผลกระทบมากกว่าเพราะก๊าซมีเทนสามารถดูดซับความร้อนในชั้นบรรยากาศมากกว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ถึง 21 เท่า ก่อนหน้านี้ได้มีการประมาณการว่าหลุมฝังกลบมูลฝอยเป็นแหล่งพลังงานที่แพร่กระจายก๊าซมีเทนเป็นจำนวนถึงร้อยละ 8 – 20 ของการแพร่กระจายก๊าซมีเทนสู่บรรยากาศโลกนั้นคิดเป็น 360 ล้านตันต่อปี (IPCC, 1992) ดังนั้นการควบคุมการแพร่กระจายก๊าซมีเทนจากหลุมฝังกลบมูลฝอยจึงเป็นเป้าหมายส่วนหนึ่งในการลดปริมาณก๊าซเรือนกระจก ส่วนก๊าซอื่นๆที่ปลดปล่อยออกมาจากหลุมฝังกลบมูลฝอย เช่น สาร CFC (Chlorofluorocarbons) ก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศของโลกในรูปของการดูดซับรังสีอินฟราเรดและไปทำลายชั้นบรรยากาศโอโซน ผลกระทบของก๊าซเรือนกระจกที่มีต่อโลกมีดังนี้ (IPCC, 1992)

- 1) ผลกระทบต่อภูมิอากาศ คือ ทำให้เกิดภาวะความกดดันของอากาศเพิ่มขึ้นซึ่งก่อให้เกิดมรสุมพัดแรงกว่าปัจจุบัน เกิดหิมะละลายและเกิดน้ำเซาะดินพังทลาย

2) ผลกระทบต่อแหล่งน้ำ คือ เกิดความแห้งแล้งขึ้นในบางพื้นที่ เกิดปัญหาพืชมีความต้องการน้ำสูงขึ้นเนื่องจากเกิดการเร่งอัตราการสังเคราะห์แสงของพืช

3) ผลกระทบต่อพลังงาน คือ ความแปรปรวนของภูมิอากาศซึ่งจะเป็นอุปสรรคต่อการสำรวจค้นหาแหล่งน้ำมันดิบ

4) ผลกระทบต่อเกษตรกรรม คือ อาจมีพืชบางพันธุ์สูญพันธุ์ไปเนื่องจากไม่สามารถปรับตัวได้กับการแปรปรวนของภูมิอากาศ

5) ผลกระทบต่อระดับน้ำทะเล คือ ถ้าโลกมีอุณหภูมิสูงขึ้น $1.5 - 4.5^{\circ}\text{C}$ จะทำให้ระดับของน้ำทะเลสูงขึ้น $0.4 - 1.2$ เมตร เนื่องจากการละลายของน้ำแข็งบริเวณขั้วโลก

การประเมินแหล่งที่มีการแพร่กระจายของก๊าซมีเทน (CH_4) แสดงดังตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่า ก๊าซมีเทน (CH_4) ได้มาจากแหล่งกำเนิดตามธรรมชาติมากมาย เช่น พื้นที่ชุ่มน้ำ บ่อ นาข้าว ฯลฯ นอกจากนี้ยังมีการแพร่กระจายออกมาจากอุตสาหกรรมปิโตรเลียม มูลสัตว์ โรงงานบำบัดน้ำเสียและหลุมฝังกลบมูลฝอยซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับการแพร่กระจายของก๊าซมีเทน (CH_4) จากหลุมฝังกลบมูลฝอยประมาณอยู่ในช่วง 30 – 60 ล้านตันต่อปี (Kreileman and Bouwman, 1994) ดังนั้นหลุมฝังกลบมูลฝอยจึงเป็นแหล่งที่มีการแพร่กระจายของก๊าซมีเทน (CH_4) ที่สำคัญมากที่สุด

4. ขั้นตอนการกลบทับ

โดยทั่วไปขั้นตอนการกลบทับแบ่งออกเป็น 2 ประเภท (กรมควบคุมมลพิษ, 2542) คือ

1) ขั้นตอนการกลบทับชั้นกลาง หมายถึง วัสดุธรรมชาติหรือสังเคราะห์ที่ใช้กลบทับบนหลุมของขยะมูลฝอยก่อนที่จะฝังขยะมูลฝอยในวันต่อไปหรือระหว่างชั้นของขยะมูลฝอย

2) ขั้นตอนการกลบทับชั้นสุดท้าย หมายถึง วัสดุธรรมชาติหรือสังเคราะห์ที่ใช้สำหรับการกลบชั้นบนสุดของสถานที่ฝังกลบขยะมูลฝอยหลังจากการฝังกลบได้สิ้นสุดลง

ตารางที่ 4 แหล่งกำเนิดก๊าซมีเทน

แหล่งกำเนิด	ปริมาณการปลดปล่อยก๊าซมีเทน (Tg / year)		
	1970	1990	2050
นาข้าวที่ข่มน้ำ	53	59	52
หลุมข่มน้ำตามธรรมชาติ	111	111	111
หลุมฝังกลบมูลฝอย	24	36	81
การบำบัดของเสียชุมชน	17	25	47
สัตว์เคี้ยวเอื้อง	66	79	161
มูลสัตว์	12	14	28
ปลวก	20	20	20
แหล่งน้ำ	15	15	15
การเผาไหม้มวลชีวภาพ			
- การตัดไม้ทำลายป่า	16	14	12
- การเผาทุ่งหญ้า	17	16	6
- การเผาของเสียจากการเกษตร	7	8	9

ที่มา : Kreieman and Bouwman (1994)

โดยวัสดุกลบทับชั้นสุดท้ายนี้จะมีหน้าที่

- ช่วยลดการซึมผ่านของน้ำสู่ชั้นฝังกลบขยะมูลฝอย
- ควบคุมปริมาณก๊าซจากหลุมฝังกลบขยะมูลฝอยที่จะปล่อยสู่บรรยากาศ
- ความลาดชันด้านข้างชั้นสุดท้ายต้องเหมาะสมเพื่อระบายน้ำผิวดินและลดการกัดเซาะของวัสดุกลบทับชั้นสุดท้าย
- ป้องกันการแพร่กระจายกลิ่นและเชื้อโรคสู่สิ่งแวดล้อม

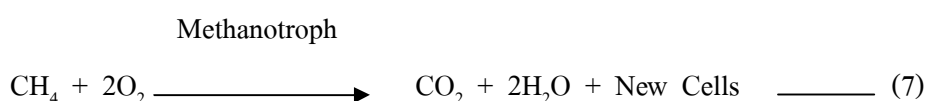
5. การเกิดมีเทนออกซิเดชันในหลุมฝังกลบมูลฝอย

5.1 กระบวนการมีเทนออกซิเดชัน

ก๊าซมีเทนจากหลุมฝังกลบมูลฝอยที่แพร่กระจายสู่บรรยากาศมีปริมาณลดลง เนื่องจากเกิดกระบวนการมีเทนออกซิเดชันโดยจุลินทรีย์ในชั้นดินกลบทับหลุมฝังกลบมูลฝอย โดยกระบวนการมีเทนออกซิเดชันสามารถเกิดได้ใน 2 สถานะ คือ

1) สถานะที่มีอากาศเพียงพอ

ในสถานะดังกล่าวพบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญ คือ แบคทีเรียชนิดที่ใช้ประโยชน์จากมีเทน (Methane Utilizing Bacteria) หรือจุลินทรีย์กลุ่มเมทาโนโทรฟซึ่งจุลินทรีย์ดังกล่าว Whittenbury *et al*, (1970) พบว่ามีลักษณะหลากหลายทางชีวภาพทั้งยังได้ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับเทคนิคการแบ่งชนิดจุลินทรีย์ และลักษณะทางกายภาพของจุลินทรีย์ดังกล่าวด้วยวิธีการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่ามีการสร้างเนื้อเยื่อที่ซับซ้อนภายในไซโตพลาสซึม นอกจากนี้ยังอธิบายว่าจุลินทรีย์กลุ่มเมทาโนโทรฟสามารถใช้มีเทนเป็นแหล่งคาร์บอนและเป็นแหล่งพลังงานซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียชนิดนี้ โดยมีเอนไซม์ทำหน้าที่ออกซิไดส์มีเทนในสถานะที่มีออกซิเจนและได้ผลผลิตออกมา คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ (Baratt, 1995) ดังแสดงในสมการที่ 7



โดยในทางทฤษฎีของปฏิกิริยาทางเคมี 1 โมลของมีเทนทำปฏิกิริยากับออกซิเจน 2 โมล ผลิตภัณฑ์ที่ได้ คือ คาร์บอนไดออกไซด์ 1 โมล แต่ในสภาพความเป็นจริงการผลิตคาร์บอนต่ำกว่าซึ่งแตกต่างกับทฤษฎีเนื่องจากการย่อยและดูดซึมของคาร์บอนไปใช้ในการสร้างเซลล์ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนรูปคาร์บอนสูงสุดจากการสังเกตเกิดขึ้นเพียงร้อยละ 43

2) สภาวะไร้อากาศ

ปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันในสภาวะไร้อากาศสามารถเกิดขึ้นได้โดยอาศัยตัวรับอิเล็กตรอนชนิดอื่น (Pareek *et al.*, 1998) ตัวอย่างเช่น การเกิดมีเทนออกซิเดชันในสภาวะไร้อากาศโดยใช้ซัลเฟตที่เกิดขึ้นในทะเลส่วนใหญ่อยู่ในสภาวะไร้อากาศ ปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันเกิดโดยใช้เหล็กเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ในขณะที่ตัวรับอิเล็กตรอนชนิดอื่นๆมีน้อยมาก อย่างไรก็ตามที่สภาวะไร้อากาศเกิดมีเทนออกซิเดชันในสัดส่วนที่น้อยมากเมื่อเทียบกับในสภาวะที่มีอากาศเพียงพอ (มากกว่าร้อยละ 5) ฉะนั้นในสภาวะดังกล่าวจึงไม่ค่อยจะนำมาพิจารณามากนักในหน้าดินทั่วไป

5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

1) ความเข้มข้นของออกซิเจน

สภาวะที่มีอากาศเพียงพอ ความเข้มข้นของออกซิเจน ในช่วงว่างระหว่างเม็ดดินมีบทบาทสำคัญในการกำหนดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากเป็นสารตั้งต้นสำหรับปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันในสภาวะที่อากาศ

William and Zobell (1949) พบว่าช่วงความเข้มข้นออกซิเจนร้อยละ 10–40 เหมาะสมต่อปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน ในขณะที่ King *et al.* (1996) พบว่าระดับความเข้มข้นออกซิเจนต่ำส่งผลให้อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนมีค่าต่ำ

2) ความเข้มข้นของก๊าซมีเทน

William and Zobell (1949) พบว่าในช่วงความเข้มข้นของมีเทนร้อยละ 0–40 เมื่อระดับความเข้มข้นของมีเทนสูงขึ้น อัตราการออกซิเดชันของก๊าซมีเทนก็เพิ่มขึ้นด้วยแต่เมื่อความเข้มข้นของก๊าซมีเทนมากกว่าร้อยละ 40 พบว่าอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนมีแนวโน้มใกล้เคียงกับที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 40

3) ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์

ในการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์มากกว่าร้อยละ 20 – 30 เป็นผลให้เกิดการลดลงของอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทน ซึ่งการที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์มีปริมาณสูง หมายถึง การมีส่วนปริมาณออกซิเจนและมีเทนในปริมาณต่ำ ทั้งสองปัจจัยนี้จำเป็นสำหรับปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันส่งผลให้อัตราของปฏิกิริยาดังกล่าวลดลง

4) ความชื้น

โดยปกติในดินจะไม่อยู่ในรูปน้ำบริสุทธิ์แต่จะมีสารต่างๆละลายอยู่โดยเฉพาะสารอาหาร ดังนั้นน้ำในดินจึงอาจเรียกว่า สารละลายดิน (Soil Solution) ซึ่งน้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ในกระบวนการเมแทบอลิซึมและการดึงสารอาหารมาใช้โดยผ่านฟิล์มของน้ำที่อยู่ระหว่างอาหารและเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ เนื่องจากดินแต่ละชนิดจะมีโครงสร้างที่แตกต่างกันจึงทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำต่างกัน ดังนั้นปริมาณความชื้นของดินจึงขึ้นกับชนิดของดินและปริมาณน้ำจะมีผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์เพราะหากมีน้อยเกินไปการเจริญจะหยุดชะงักและหากมีปริมาณมากเกินไปน้ำก็จะเข้ามาแทนที่อากาศในดิน ซึ่งเป็นผลลบต่อจุลินทรีย์บางชนิดโดยเฉพาะจำพวกเฮเทอโรโทรฟ (heterotroph) ที่ใช้อากาศ (สมศักดิ์, 2528)

Nesbit and Breitenbeck (1992) รายงานว่าความชื้นบรรจุร้อยละ 25-75 โดยน้ำหนักยับยั้งอัตราการออกซิเดชันของก๊าซมีเทนถึงร้อยละ 56 เนื่องจาก โมเลกุลน้ำแทรกอยู่ในช่องว่างระหว่างอนุภาคดิน ทำให้ก๊าซแพร่ได้น้อยลงในขณะที่ Pokhrel (1998) พบว่าความชื้นที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน คือ ร้อยละ 15 – 20 โดยน้ำหนัก นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนมีค่าเท่ากับ 11.5×10^{-7} กรัมมีเทนต่อชั่วโมงต่อกรัมดินแห้ง ที่ความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก อัตราามีเทนออกซิเดชันมีค่าเกือบเป็นศูนย์และหากเพิ่มความชื้นมากกว่าร้อยละ 18 โดยน้ำหนักอัตรามีเทนออกซิเดชันไม่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับ Whalen *et al.* (1990) ที่พบว่าความชื้นที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน คือ ร้อยละ 11 โดยน้ำหนัก และงานวิจัยของ Chiemchaisri (2000) พบว่าความชื้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนักเหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันมากที่สุด เท่ากับ 2.36 นาโนกรัมมีเทนต่อชั่วโมงต่อกรัมดินแห้งแต่เมื่อเพิ่มความชื้นเป็นร้อยละ 30 โดยน้ำหนักอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนลดลงเหลือ 1.6

นาโนกรัมมีเทนต่อชั่วโมงต่อกรัมดินแห้ง เนื่องจากก๊าซสามารถแพร่ผ่านเข้าสู่ช่องว่างดินได้น้อย และที่ความชื้นบรรจุต่ำๆ อัตราการออกซิเดชันของก๊าซมีเทนลดลงเหลือ 0.84 นาโนกรัมมีเทนต่อชั่วโมงต่อกรัมดินแห้ง

Boechx and Cleemput (1996) ได้ศึกษาผลของปริมาณน้ำในดินที่มีต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในดินกลบทับของหลุมฝังกลบมูลฝอยจริง พบว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเกิดขึ้นได้ดีในช่วงความชื้นระหว่างร้อยละ 10 - 30 และมีค่าสูงสุดที่ความชื้นร้อยละ 15 ในขณะที่ Visvanathan *et al.* (1999) ทำการศึกษาความสามารถในการเกิดมีเทนออกซิเดชันของคอลัมน์ดินพบว่าความชื้นที่ให้ค่าอัตรามีเทนออกซิเดชันสูงสุดที่ร้อยละ 10

5) อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อกระบวนการเมทาบอลิซึมภายในเซลล์ของจุลินทรีย์และเกี่ยวข้องกับลักษณะทางกายภาพและเคมี กล่าวคือ ศักยภาพในการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ การเคลื่อนย้ายและแพร่กระจายของของเหลวภายในมวลดิน อัตราการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีความสำคัญต่อความสามารถในการดำรงชีพของจุลินทรีย์

Chiemchaisri (2000) พบว่าช่วงอุณหภูมิ 31–36 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันแต่ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 36 องศาเซลเซียส อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนมีแนวโน้มลดลงและมีค่าเกือบเป็นศูนย์ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในขณะที่ Nesbit (1992) พบว่าอัตรามีเทนออกซิเดชันมีค่าสูงสุดในช่วง 20-30 องศาเซลเซียส แต่ที่ระดับอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนลดลงเหลือร้อยละ 10–12 ของอัตราออกซิเดชันของก๊าซมีเทนสูงสุดและช่วงอุณหภูมิ 4 และ 50 องศาเซลเซียส ไม่เกิดปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันเช่นเดียวกับ Pascal and Cleemput (1996) ซึ่งพบว่าช่วงอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อการออกซิเดชันของก๊าซมีเทนและพลังงานจากกระบวนการออกซิเดชันของก๊าซมีเทนเท่ากับ 56.5 กิโลจูลต่อเคลวินต่อโมล

6) อันตรกิริยาทางเคมี (Chemical Interaction) ในสารละลายดิน

อันตรกิริยาทางเคมี (Chemical Interaction) ในสารละลายดินมีความเกี่ยวข้องกับ ความแรง (strength) องค์ประกอบของไอออน ความเป็นกรดต่างและศักย์ภาพการเกิดปฏิกิริยา ออกซิเดชันรีดักชัน โดยทั่วไปสารอาหารที่จำเป็นสำหรับจุลินทรีย์จะพบมากในรูปของแคทไอออน และแอนไอออนซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับอันตรกิริยาทางเคมีในมวลของดินและเซลล์ ความแรงของ ไอออนส่วนใหญ่เป็นผลรวมของแคทไอออนชนิดโมโนและไดวาเลนต์ (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+}) และ H^+ (H_3O^+) โดยมีความสำคัญในการดูดซับและการรวมตัวของเซลล์ อนุภาค ไวรัส ดินเหนียว คอลลอยด์และฮิวมิก

โดยปกติความเป็นกรดต่างของดินอยู่ระหว่าง 4 - 8.5 ในดินชั้นบนจะเป็นกรด มากกว่าดินชั้นล่างและในดินที่มีความชื้นจะเป็นมากกว่าดินที่แห้ง ส่วนใหญ่ดินที่มีค่าความเป็น กรดต่าง 5.5 หรือต่ำกว่าก็จะมีกรเจริญของเห็ดและรามากกว่าแบคทีเรีย ในขณะที่ความเป็นกรด ต่างเป็นกลางหรือเบสอ่อน (6-8) จะพบแบคทีเรียและแอคติโนไมเนสเนื่องจากเมทาโนโทรฟ แบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 6-8 (Whittenbury *et al.*, 1970) และ ดินเหนียวมีความเป็นกรด ส่วนดินทรายค่อนข้างเป็นเบสอ่อน ส่วนดินร่วนจะมีความเป็นกลาง ดังนั้นดินร่วนและดินทรายจึงมีความเหมาะสมสำหรับเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียดังรายงานการ วิจัยของ USEPA (1991) พบว่าดินประเภทดินร่วนที่มีความเป็นกรดต่างประมาณ 6.5-7.5 มีความ เหมาะสมต่อการเจริญของพืชและเชื้อแบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟ

7) โครงสร้างของดิน

ดินเป็นที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์และมีความเกี่ยวข้องกับกิจกรรมและกระบวนการ เมทาบอลิซึมที่เกิดขึ้นภายในดิน โดยดินสามารถแบ่งตามโครงสร้างหรือสัดส่วนของอนุภาคได้ 3 กลุ่ม คือ ดินทราย ดินร่วนและดินเหนียว โดยดินทรายมีขนาดอนุภาคระหว่าง 0.2 - 2.0 มิลลิเมตร ดินร่วนมีขนาดอนุภาคระหว่าง 0.02-0.20 มิลลิเมตร และดินเหนียวมีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 0.02 มิลลิเมตร (สมศักดิ์, 2528)

เนื้อดินแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้

- 1) ดินเนื้อหยาบ คือ ดินที่มีอนุภาคของทรายเป็นส่วนประกอบมากกว่าร้อยละ 70
- 2) ดินเนื้อละเอียด คือ ดินที่มีดินเหนียวเป็นส่วนประกอบมากกว่าร้อยละ 35-40
- 3) ดินร่วน คือ ดินที่มีอนุภาคดินทรายเป็นส่วนประกอบน้อยกว่าร้อยละ 70 และมีดินเหนียวเป็นส่วนประกอบน้อยกว่าร้อยละ 35 - 40

ในดินที่เป็นดินเหนียวและมีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบอยู่น้อยมีคุณสมบัติทางฟิสิกส์ เคมีที่เหมาะสมต่อกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์ นอกจากนี้การจัดเรียงตัวและการเกาะกันระหว่างเม็ดดินตลอดจนช่องว่างในดินมีผลต่อการเคลื่อนที่ของน้ำและก๊าซในดินซึ่งมีผลต่อกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์ (Metting, 1993) หากดินมีลักษณะที่พรุนขึ้นการแพร่ผ่านของอากาศจากชั้นบรรยากาศลงสู่ผิวดินดีขึ้น โดยจะเป็นผลดีต่อปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน

จากการวิจัยของ USEPA (1991) พบว่าดินประเภทดินร่วนที่มีปริมาณสารอาหารเพียงพอเป็นดินที่มีความเหมาะสมต่อการปลูกพืชคลุมดินและระบบดินกลบทับชั้นบนควรใช้ดินประเภทดินร่วนมากกว่าดินเหนียวที่มีความหนาแน่นประมาณ 1450 – 1500 กิโลกรัมต่อตารางเมตร เพราะจะช่วยให้กระบวนการมีเทนออกซิเดชันเกิดขึ้นได้ดี (Pokhrel, 1998 ; Chiemchaisri, 2000) และชนิดของดินที่มีความเหมาะสมสำหรับการใช้การออกแบบเป็นดินกลบทับบริเวณหลุมฝังกลบมูลฝอย คือ ดินทรายหรือดินร่วนที่ระดับความลึก 40 เซนติเมตรหรือต่ำกว่า (Chiemchaisri, 2000)

8) เอ็กซ์ตราเซลลูลาโพลีแซคคาไรด์ (EPS) ของเมทาโนโทรฟแบคทีเรีย

เอ็กซ์ตราเซลลูลาโพลีแซคคาไรด์หรืออีพีเอส (Extracellular Polysaccharide, EPS) เป็นโพลีเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตซึ่งจะเกิดขึ้นและปลดปล่อยออกมาในรูปอิสระภายนอกผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ โพลีแซคคาไรด์ของแบคทีเรียโดยปกติจะอยู่ในรูปของแคปซูล เมือกหรือของเหลวเหนียวที่มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ

อีพีเอสส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของดิน เช่น การเกาะกันของอนุภาคดิน ถ้ามีการสะสมของอีพีเอสในดินมากขึ้นจะทำให้อนุภาคดินเกาะกันมากขึ้นทำให้ออกซิเจนแพร่ผ่านลงไปในพื้นที่ดินได้น้อย (Miller and Donahue, 1995; Atlas and Bartha, 1992)

การศึกษาชั้นดินกลบทับในหลุมฝังกลบมูลฝอยจริงของ Hilger *et al.* (1999) พบว่าการสะสมของอีพีเอสระหว่างกระบวนการมีเทนออกซิเดชันจะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้อัตราามีเทนออกซิเดชันลดลง

ปัจจัยที่ควบคุมการผลิตอีพีเอสในดินที่เกิดมีเทนออกซิเดชัน ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณความชื้นและสัดส่วนของก๊าซออกซิเจนต่อก๊าซมีเทน การผลิตอีพีเอสมักพบในดินที่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 5-33 อย่างไรก็ตามการแปรค่าอุณหภูมิระหว่าง 20-45 °C ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการผลิตอีพีเอสและการเพิ่มสัดส่วนของก๊าซออกซิเจนต่อก๊าซมีเทนจะมีผลให้การผลิตอีพีเอสเพิ่มสูงตามไปด้วย (Chiemchaisri *et al.*, 2001)

9) สารอินทรีย์ในดิน

สารอินทรีย์จะช่วยทำให้สภาวะแวดล้อมของดินมีความเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในรูปของแหล่งอาหารเนื่องจากสัดส่วนของสารอินทรีย์ในดินมีปริมาณของคาร์บอนและไนโตรเจนมากซึ่งเป็นแหล่งที่สำคัญในการสะสมอาหารในดิน สารอินทรีย์ในดินส่วนใหญ่พบในรูปของฮิวมัส ทั้งยังช่วยส่งเสริมกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์โดยใช้เป็นแหล่งพลังงาน นอกจากนี้ถ้าปริมาณสารอินทรีย์ในดินสูงมากเกินไปจะเกิดผลในทางตรงข้าม คือ มีผลต่อการแพร่ของก๊าซสู่ช่องว่างของอนุภาคดินน้อยลง เนื่องจากการเกาะกันแน่นของอนุภาคดิน (Glinski and Stepniewski, 1986)

จากการศึกษา Borjesson and Svensson (1997) ซึ่งทำการศึกษาในสวีเดนพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารอินทรีย์ในชั้นดินกลบทับ (สัดส่วน C / N สูง) ส่งผลให้อัตราออกซิเดชันก๊าซมีเทนมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย

10) ธาตุอาหารในดิน

โดยปกติธาตุอาหารเป็นปัจจัยสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิด อย่างไรก็ตามสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อสารอาหารแตกต่างกัน เพราะมีความต้องการธาตุอาหารต่างชนิดกัน แบคทีเรียบางชนิดสามารถใช้ธาตุอาหารเป็นแหล่งอาหารหลัก เช่น แอมโมเนียม ไนโตรเจนและไนเตรทเป็นแหล่งอาหารสำหรับแบคทีเรียจำพวกไนตริไฟอิงและดีไนตริไฟอิง ดินมีองค์ประกอบของสารอินทรีย์คาร์บอน สารอนินทรีย์และอินทรีย์ใน ไตรเจนและแบคทีเรียสามารถใช้แหล่งไนโตรเจนในรูปของไนเตรทและฟอสฟอรัสในรูปของฟอสเฟต

ปริมาณธาตุอาหารมีผลต่อกระบวนการออกซิเดชันของกำมะถันในดินโดย Roslev *et al.* (1997) รายงานว่าปริมาณแอมโมเนียมีผลต่อกระบวนการออกซิเดชันของกำมะถันในดิน โดยที่สภาวะความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.1-1.0 โมลต่อกรัมดินแห้ง พบว่าอัตราออกซิเดชันกำมะถันมีค่าลดลงประมาณร้อยละ 85 – 99

จากการศึกษาของ Boechx and Cleemput (1996) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียในดินจาก 4 เป็น 104 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้งส่งผลให้อัตราการออกซิเดชันกำมะถันในชั้นดินมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นไนเตรทจาก 2.5 - 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้งพบว่าไม่มีผลต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันดังแสดงในตารางที่ 5

11) จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดิน

นอกจากจุลินทรีย์กลุ่มเมทาโนโทรฟแล้วยังพบจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆที่อาศัยอยู่ในดินและใช้ออกซิเจนเช่นเดียวกับเมทาโนโทรฟทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเมทาโนโทรฟลดลงและทำให้อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันต่ำลงโดยจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าว ได้แก่ โปรโตซัวกลุ่ม Actinomycetes กลุ่ม Chemoautotroph (Nitrosomonas, Nitrobacter, Carboxydomonas) และกลุ่ม Heterotrophs (Azotobacter, Arthrobacter, Azotomonas)

ตารางที่ 5 ผลของแอมโมเนียมและไนเตรทอออนต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

แอมโมเนียมอออน		ไนเตรทอออน	
ความเข้มข้น (mg / kg ดินแห้ง)	อัตราการเกิดมีเทน ออกซิเดชัน (ng CH ₄ / g . h)	ความเข้มข้น (mg / kg ดินแห้ง)	อัตราการเกิดมีเทน ออกซิเดชัน (ng CH ₄ / g . h)
4	2.36	0	1.82
29	2.01	2.5	1.86
54	1.52	50	1.81
79	0.78	75	1.84
104	0.53	100	1.73

ที่มา : Boechx and Cleemput (1996)

12) การปลูกพืชคลุมชั้นดิน

Hilger *et al.* (1999) พบว่าการปลูกพืชคลุมหน้าดินจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพทางฟิสิกส์ของดินโดยรากของพืชจะซอนไซลงไปในดินทำให้การกระจายตัวของอากาศลงสู่ดินดีขึ้นซึ่งเหมาะสำหรับการเกิดปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน

Schutz *et al.* (1999) พบว่ามีเทนสามารถถูกกล้ำเลียงในต้นพืช โดย Aerenchyma of Vascular โดยอาศัยการเคลื่อนที่ของโมเลกุลก๊าซเนื่องจากผลของความแตกต่างระหว่างความดันและสำหรับผิวดินที่บริเวณรากพืชมีลักษณะกึ่งไร้อากาศ (Anoxic) พืชอาจมีการดึงก๊าซมีเทนเข้าสู่ต้นพืชทางราก

Maurice and Lagerkvist (1998) พบว่าพืชสามารถดึงคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงซึ่งผลที่ได้คือ ออกซิเจน โดยก๊าซดังกล่าวเป็นสารตั้งต้นสำหรับปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน ปฏิกิริยาสังเคราะห์แสงจะเกิดมากบริเวณส่วนของพืชที่มีคลอโรพลาสต์ โดยร้อยละ 90 ปฏิกิริยาสังเคราะห์แสงจะเกิดขึ้นที่ใบพืช ในขณะที่กระบวนการหายใจของพืชเป็น

กระบวนการออกซิเดชันคาร์โบไฮเดรตเกิดขึ้นที่ไมโทคอนเดรียของพืชจะมีการใช้ออกซิเจนบางส่วนในดิน โดยอาจมีการดึงก๊าซดังกล่าวผ่านทางรากพืชส่งผลให้มีปริมาณออกซิเจนในดินลดลงเป็นผลกระทบต่อการดึงออกซิเจนไปใช้ในปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน เช่นเดียวกับ Glinski and Stepnieaski (1986) ซึ่งได้อธิบายว่ากระบวนการหายใจของพืชส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของก๊าซในชั้นดินที่มีการปลูกพืช โดยพืชจะมีการนำออกซิเจนจากดินไปใช้ในกระบวนการหายใจ โดยมีอัตราการใช้ออกซิเจน 0.15 - 0.52 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกิโลกรัมต่อชั่วโมง สำหรับดินร่วนปนทรายและให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาในอัตรา 0.14 - 1.63 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกิโลกรัมต่อชั่วโมงในดินชนิดเดียวกันและหากพบว่าความพรุนในดินต่ำ (น้อยกว่า 0.2) อัตราการหายใจของพืชจะลดลง

6. แบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟ

เมทิลโลโทรฟแบคทีเรีย (Methylo troph bacteria) คือ กลุ่มของแบคทีเรียที่ใช้ก๊าซในการเจริญและสามารถดึงสารประกอบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ 1 อะตอมมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ โดยสารประกอบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ 1 อะตอมนั้น ได้แก่ มีเทน (CH_4), เมทานอล (CH_3OH), เมทิลเลทเอมีน, ฮาโลมีเทน และสารประกอบเมทิลที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เป็นต้น ดังนั้นเมทาโนโทรฟแบคทีเรีย (Methanotroph bacteria) จึงเป็นสมาชิกของเมทิลโลโทรฟแบคทีเรียเนื่องจากเชื้อเมทาโนโทรฟใช้คาร์บอนอะตอมจากก๊าซมีเทนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญ (Anthony, 1982, 1986, 1991)

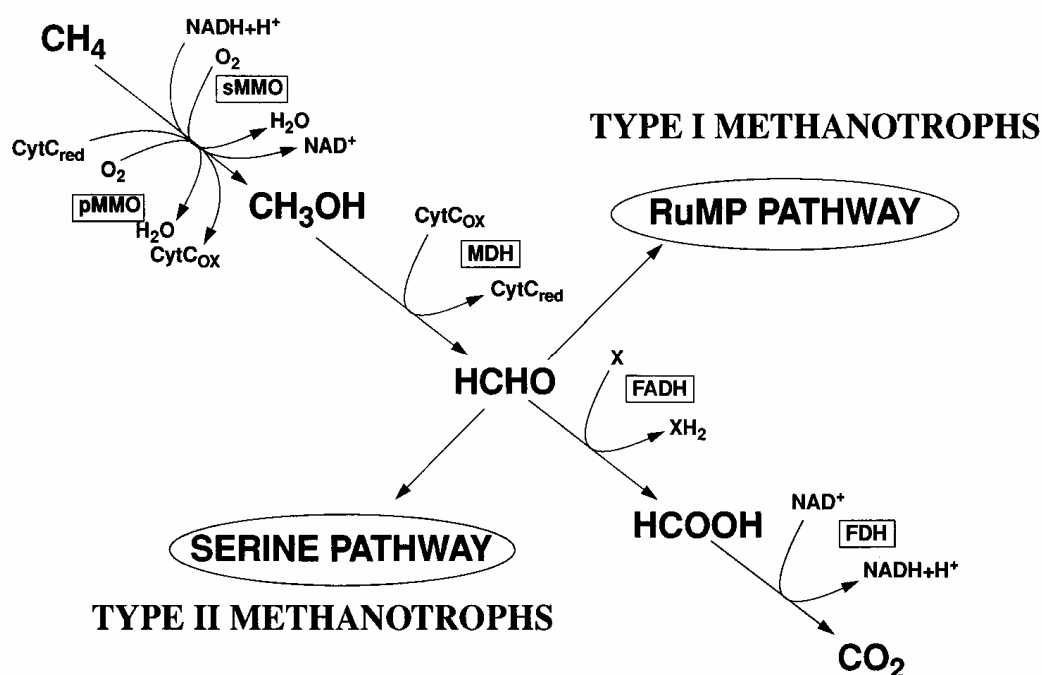
6.1 การจำแนกสายพันธุ์เชื้อเมทาโนโทรฟ

ในการจำแนกเชื้อเมทาโนโทรฟนั้นได้มีการจำแนกเชื่อดังกล่าวโดยอาศัยเกณฑ์ในการจำแนกหลายรูปแบบด้วยกัน กล่าวคือ การจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางกายภาพและชีวเคมี การจำแนกโดยอาศัยรหัสทางพันธุกรรม โดยการจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางกายภาพและชีวเคมีนั้นเป็นการจำแนกที่นิยมใช้มาแต่เดิมเนื่องจากแบคทีเรียแต่ละชนิดมีลักษณะเฉพาะของโคโลนี (การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารแข็ง) ที่สามารถจำแนกได้ด้วยตาและปฏิกิริยาทางชีววิทยาแต่ต้องใช้เวลานานในการวิเคราะห์และไม่เหมาะกับการจำแนกเชื้อที่อยู่รวมกันในพื้นที่ลุ่มเนื่องจากมีข้อจำกัดของสารอาหารที่ไม่สามารถเตรียมได้เหมือนธรรมชาติได้ทั้งหมด ดังนั้นในปัจจุบันจึงนิยม

ใช้รหัสทางพันธุกรรมในการจำแนกเนื่องจากยีนที่ใช้ในการจำแนกนั้นมีความจำเพาะในแต่ละสายพันธุ์และสามารถบอกได้ถึงความใกล้ชิดของแต่ละสายพันธุ์ทั้งยังใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่นานและเหมาะกับการตรวจหาเชื้อที่อาศัยในสิ่งแวดล้อมโดยวิธีการในการวิเคราะห์โดยอาศัยรหัสทางพันธุกรรมนี้ในปัจจุบันมีหลายวิธีด้วยกัน คือ วิธีการฟลูออเรสเซนซ์อินซิติวไฮบริไดเซชันหรือฟิช (Fluorescent In Situ Hybridization, FISH) และวิธีการ โพลีเมอร์เชนรีแอคชันหรือพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR)

1) การจำแนกเชื้อเมทาโนโทรฟทางกายภาพและชีวเคมี

เมทาโนโทรฟเป็นแบคทีเรียที่ใช้คาร์บอนอะตอมจากก๊าซมีเทนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญซึ่งค้นพบโดย Whittenbury *et al.* (1970, 1984) ซึ่งจำแนกเมทาโนโทรฟได้กว่า 100 ชนิดโดยอาศัยลักษณะรูปร่างของเซลล์ (Cell Morphology) รูปแบบของระยะพัก (Resting stages formed) ลักษณะโครงสร้างของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (Fine structure intracytoplasmic membrane) และลักษณะภายนอกทั่วไป (Physiological Characteristics) โดยสามารถแบ่งเชื้อเมทาโนโทรฟดังกล่าวออกเป็น 2 ชนิดด้วยกัน คือ เมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ซึ่งมีลักษณะรูปร่างเป็นแท่งหรือรูปร่างเป็นทรงกลม ไม่สามารถเจริญในที่ที่มีอุณหภูมิสูงได้ (ประมาณ 45°C) ลักษณะของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมมีลักษณะเรียงเป็นแผ่นซ้อนกันคล้ายแผ่นจานภายในเซลล์ มีรูปแบบของระยะพักอยู่ในรูปของซิสต์ (cyst) ได้แก่ สายพันธุ์ *Methylobacter spp.* และ *Methylobacter spp.* ในขณะที่เชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่งและในบางชนิดมีรูปร่างเป็นวงรี ไม่สามารถเจริญในที่ที่มีอุณหภูมิสูงได้ (ประมาณ 45°C) ลักษณะของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมมีลักษณะเป็นเยื่อหุ้ม 2 ชั้น ขนานไปกับผนังเซลล์ รูปแบบของระยะพักอยู่ในรูปของซิสต์ (cyst) และสปอร์ (Exospores) ได้แก่ สายพันธุ์ *Methylosinus.*, *Methylocystis spp.* ต่อมาได้มีการศึกษาโดยนักวิจัยหลายท่านซึ่งได้สรุปว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้จะอาศัยเอนไซม์มีเทนโมโนออกซิเจเนสหรือเอ็มเอ็มโอ (Methane Monooxygenase, MMO) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการออกซิเดชันก๊าซมีเทนให้เปลี่ยนรูปเป็นเมทานอลและฟอร์มัลดีไฮด์ตามลำดับซึ่งฟอร์มัลดีไฮด์นี้เป็นสารตัวกลางที่สำคัญในการนำไปใช้ประโยชน์ของเซลล์และผลของปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ดังแสดงในภาพที่ 2 โดยฟอร์มัลดีไฮด์ซึ่งเซลล์จะสามารถดูดซึมเข้ามาใช้ประโยชน์ในเซลล์นั้นจะมีทางในการนำเข้าสู่เซลล์ 2 รูปแบบด้วยกัน คือ วิถีอาร์ยูเอ็มพี (RumP Pathways) และวิถีซีรีน (Serine Pathways) โดยรูปแบบในการนำเอาฟอร์มัลดีไฮด์เข้าสู่เซลล์นั้นทำให้สามารถจำแนกเชื้อเมทาโนโทรฟออกเป็น 2 ชนิดด้วยกัน คือ ชนิดที่นำเอาฟอร์มัลดีไฮด์เข้าสู่



ภาพที่ 2 วิธีการในการเกิดมีเทนออกซิเดชันและการดูดซึมฟอร์มัลดีไฮด์ของเชื้อเมทาโนโทรฟ
ที่มา : Hanson and Hanson (1996)

เซลล์ด้วยวิธีอาร์ยูเอ็มพีจัดเป็นเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 และชนิดที่นำเอาฟอร์มัลดีไฮด์เข้าสู่เซลล์ด้วยวิธีซีรีนจัดเป็นเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 (Anthony, 1982, 1986, 1991; Large and Bamforth, 1998) นอกจากนี้ยังพบเมทาโนโทรฟสายพันธุ์ใหม่คือเมทาโนโทรฟชนิดเอกซ์ (X) คือ *Methlococcus capsulatus* เนื่องจากมีลักษณะบางประการร่วมกันระหว่างเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 และ 2 แต่มีลักษณะรูปร่างโดยส่วนใหญ่เป็นทรงกลมและมักพบเป็นคู่ (dicocci) สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45 °ซ และมีลักษณะของเยื่อหุ้มไซโตพลาสมีดเรียงเป็นแผ่นซ้อนกันคล้ายแผ่นจาน รูปแบบของระยะพักอยู่ในรูปของซิสต์ (cyst) อาศัยกระบวนการอาร์ยูเอ็มพีและซีรีนในการดูดซึมฟอร์มัลดีไฮด์เข้าไปใช้ประโยชน์ภายในเซลล์โดยสามารถสรุปลักษณะเฉพาะของเมทาโนโทรฟแต่ละชนิดดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบลักษณะการจำแนกเชื่อมทาทาโนโทรฟชนิดที่ 1, 2 และ X

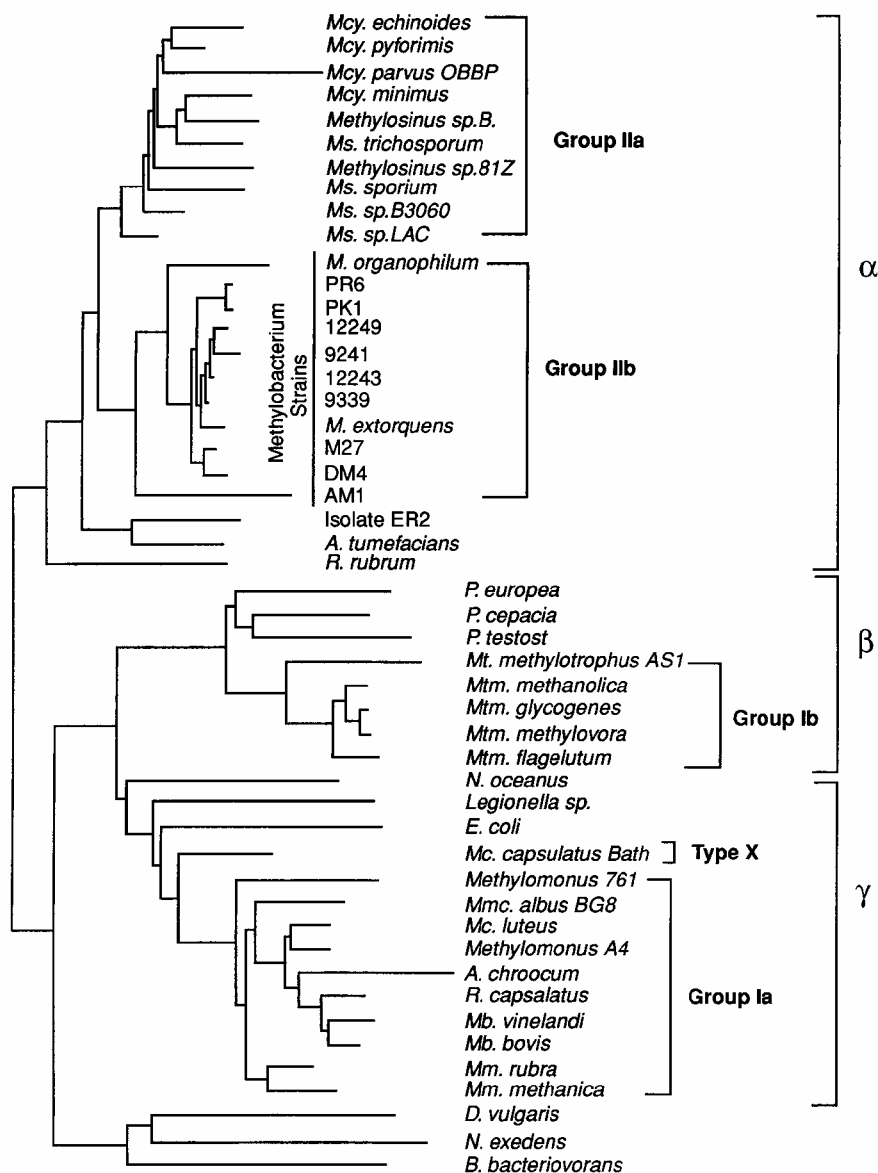
Characteristics	Type I	Type II	Type X
Cell morphology	Short rods, usually occur singly ; some cocci or ellipsoids	Crescent-shaped rods, rods, pear-shaped cells, sometimes occur in rosettes	Cocci, often found as pair
Growth at 45 °C	No	No	Yes
Membrane arrangement			
Bundles of vesicular disks	Yes	No	Yes
Paired membranes aligned	No	Yes	No
Nitrogen fixation	No	Yes	Yes
Resting stages formed			
Exospores	No	Some strains	No
Cysts	Some strains	Some strains	Some strains
RunMP pathway	Yes	No	Yes
Serine pathway	No	Yes	Sometimes
Phylogenetic signature probe	1041 (5'-CTCCGCTAICTCTAACAGATT-3')	1034 (5'-CCATACCGGACATGTCCAAAGC-3')	No specific probe has been tested
	1035 (5'-GATTCTGGATGTCAAGGG-3')		
	MM650(5'-CCCTACTCAACTCTAGT-3')		
	MM850(5'-TACGTTAGTCCACCCTAA-3')		

ที่มา : Bowman *et al.* (1993)

ในปัจจุบันมีการตรวจพบเชื้อเมทาโนโทรฟในพื้นที่วิกฤต เช่น ในพื้นที่ที่มีความเป็นกรด อาทิ Sphagnum peat bogs ซึ่งมีค่าความเป็นกรดค่าประมาณ 4-4.5 สามารถตรวจพบเชื้อเมทาโนโทรฟที่เจริญในพื้นที่ดังกล่าว ได้แก่ *Methylocella palustis* และ *Methylocapsa acidiphila* โดยลักษณะทางกายภาพและชีวเคมีของแบคทีเรียทั้งสองนั้นมีลักษณะเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างแบบแท่งหรือวงรีคล้ายไข่ขนาด 0.6 - 1 ไมโครเมตรและขยายพันธุ์ด้วยวิธีการแบ่งเซลล์ นอกจากนี้แบคทีเรียดังกล่าวไม่สามารถเคลื่อนที่ได้และเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรดค่าประมาณ 4.2-7.5 อุณหภูมิระหว่าง 4–30 °C (อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 15–25 °C) และเป็นแบคทีเรียที่มีการดูดซึมฟอर्मัลดีไฮด์เข้าไปใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ด้วยวิธีซีรีน (Dedysh *et al.*, 1998a; 1998b; 2000) ดังนั้นจึงจัด *Methylocella palustis* และ *Methylocapsa acidiphila* เป็นเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 ที่เจริญได้ในสภาวะกรด (acidophilic methanotrophs)

2) การจำแนกเชื้อเมทาโนโทรฟโดยอาศัยรหัสทางพันธุกรรม

ในปัจจุบันได้มีการใช้ยีน 16s rRNA และ 5s rRNA มาใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตเนื่องจากรหัสทางพันธุกรรมนี้เป็นกลุ่มยีนที่เป็นองค์ประกอบย่อยภายในไรโบโซมของแบคทีเรียที่มีความจำเพาะในแต่ละสายพันธุ์และยังคงลักษณะจำเพาะของสายพันธุ์นั้นๆ ไว้ถึงแม้ว่าสิ่งมีชีวิตเหล่านี้จะเกิดการกลายพันธุ์ โดยในการจำแนกด้วยยีนดังกล่าวทำให้ทราบว่าแบคทีเรียกลุ่มเมทิลโลโทรฟและเมทาโนโทรฟจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่ม Proteobacteria คือ แบคทีเรียที่มีเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) ประกอบไปด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharide) ซึ่งมีการจัดเรียงตัวของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมแตกต่างกันไปซึ่งมีลักษณะยื่นแตกต่างกันทำให้สามารถจำแนกเชื้อแบคทีเรียกลุ่มเมทิลโลโทรฟออกเป็น 3 กลุ่มด้วยกัน คือ กลุ่มที่เป็น γ Proteobacteria, α Proteobacteria และ β Proteobacteria ดังแสดงในภาพที่ 3 โดยเมื่อพิจารณาวิธีการในการดูดซึมฟอर्मัลดีไฮด์และความสามารถในการใช้มีเทนของแบคทีเรียกลุ่ม Proteobacteria แล้วพบว่าเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ซึ่งอยู่ในตระกูลเมทิลโคคคาเซ (Family Methylococcaceae) จัดเป็นเชื้อเมทาโนโทรฟในกลุ่ม γ Proteobacteria และเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 จัดเป็นเมทาโนโทรฟในตระกูล α Proteobacteria ดังแสดงในภาพที่ 3 โดย 16s rRNA และ 5s rRNA ที่ Bowman *et al.*, 1995 ใช้ในการศึกษานั้นแสดงในตารางที่ 7



ภาพที่ 3 Phylogenetic Tree ของเชื้อเมทิลโอโทรฟ เมทาโนโทรฟและแบคทีเรียชนิดอื่นที่จำแนกตามกลุ่มของ Proteobacteria (อาศัย 16s rRNA และ 5s rRNA ในการจำแนก)

หมายเหตุ : *M.*, *Methylobacterium* ; *Mcy.*, *Methyloystis*; *Ms.*, *Methylosinus*; *Mb.*, *Methylobacterium*;

Mc., *Methylococcus*; *Mp.*, *Methylophilus*; *Mmc.*, *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 IIa ; methanotrophic bacteria that employ the serine pathway for formaldehyde assimilation,

Ggroup IIb methanotrophic bacteria that utilize the serine pathway for formaldehyde oxidation but do not utilize methane.

ที่มา : Hanson and Hanson (1996)

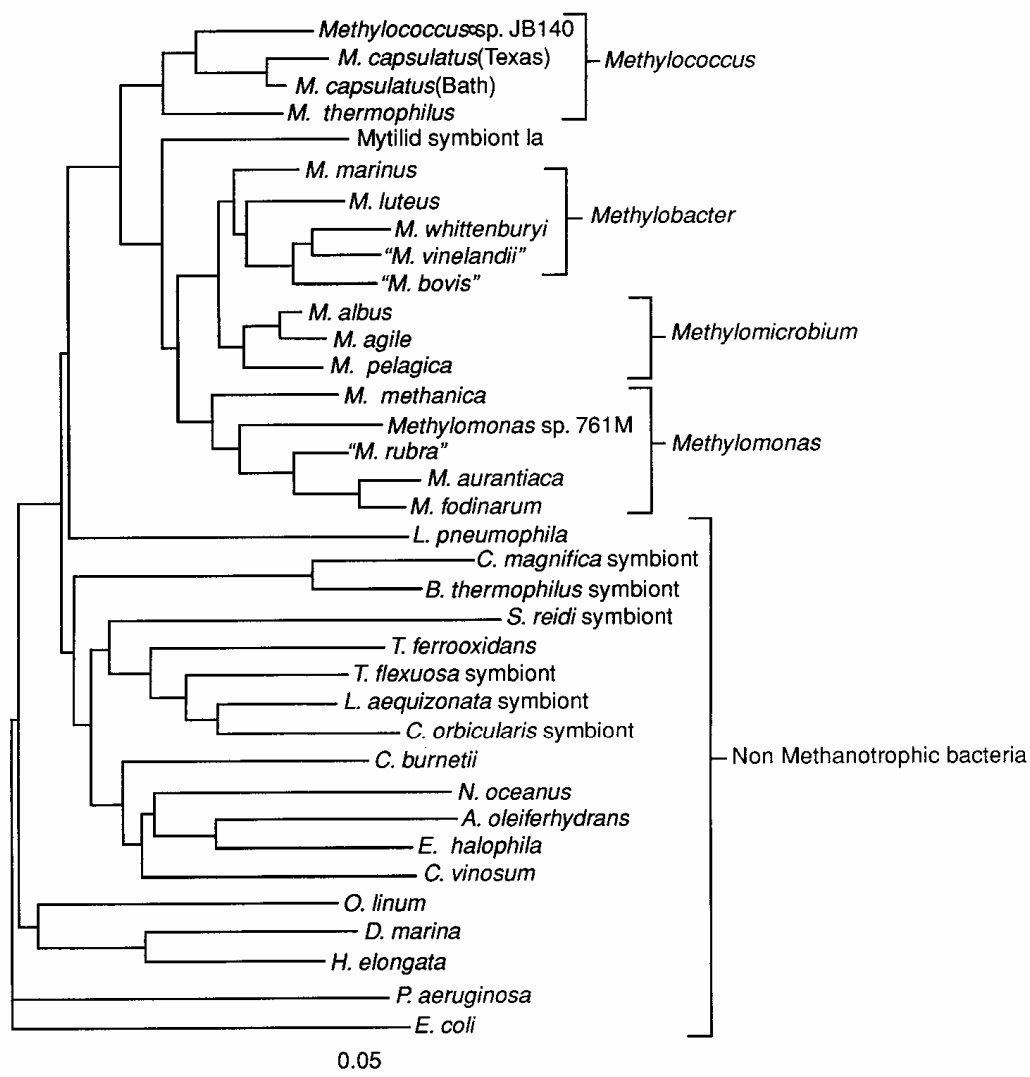
ตารางที่ 7 โพรบ (16s rRNA และ 5s rRNA) ที่ใช้ในการจำแนกเชื้อเมทิลโลโทรฟและเมทาโนโทรฟแบคทีเรียสกุลต่างๆ

Probe	Target group	Target Site	Sequence (3' → 5')
10γ	RuMP Methylophs, including Type I Methanotrophs	197-216	TTCGCCCCCTAGAAGCCTGG
MM650	Type I Methanotrophs	650-667	TGATCTCAACTCATCTCC
MM850	Type I Methanotrophs	850-869	AATCACCACCTCGATTGCAT
9α	Serine Methylophs, including Type II Methanotrophs	142-159	CAAGCCTTATTGAGTCCC
1034	Type II Methanotrophs	1034-1055	CGAAACCTGTACAGGCCATACC
Mγ669	<i>Methylobacter and Methylomonas</i>	669-690	CTCACCTTAAAGTCCACATCG
Mγ1004	<i>Methylomicrobium spp.</i>	1004-1022	TTAGACACTCTCTAGCAT
Mα450	<i>Methylosinus and Methylocystis</i>	450-470	CTATTACTGCCATGGACCTA
Mα84	Type I Methanotrophs	84-103	AGCCCGCGACTGCTCACC
Mα705	Type I Methanotrophs	705-724	CTAGACTTCCTTGTGGTC
Mcell-1026	<i>Methylocella palustris</i>	1026-1043	TGAAGCCCACCGCTCTTG
AcidM-181	<i>Methylocella palustris and Methylocapsa acidiphila</i>	181-198	GCAGGCGTTCCTCTTTCT
Mcaps-1032	<i>Methylocapsa acidiphila</i>	1032-1049	CTCGGCCCTGTGTCCAC
Msint-1268	<i>Methylosinus trichosporium</i>	1268-1285	TGGGCCTCGTTTAGAGGT
Msins-647	<i>Methylosinus sporium</i>	647-664	CCAGATCTCAGGCCCTCT
Mcyst-1432	<i>Methylocystis spp.</i>	1432-1449	TTCCGCAAAGCGGTTGGC

ที่มา : Bratina *et al.* (1992); Bruseau *et al.* (1994); Bulygina *et al.* (1990); Hanson *et al.* (1991); Tsien *et al.* (1990); Dedysh *et al.* (2001,2003); Eller *et al.* (2001)

นอกจากนี้ Bowman *et al.* (1995) ยังอาศัยกลุ่มยีน 16s rRNA และ 5s rRNA ใช้ในการจำแนกแบคทีเรียในตระกูลเมทิลโลคอคคาเซ (Family Methylococcaceae) เพื่อใช้ในการจำแนกในแต่ละสกุล (genus) ของเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 โดยพบว่าเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ประกอบไปด้วย *Methylococcus spp.*, *Methylobacter spp.*, *Methylomicrobium spp.* และ *Methylomonas spp.* ดังแสดงในภาพที่ 4 และสำหรับเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 นั้นประกอบไปด้วยสกุล *Methylosinus spp.*, *Methylocystis spp.*, *Methylocella palustris* และ *Methylocapsa acidiphila* (Bowman, 1995;

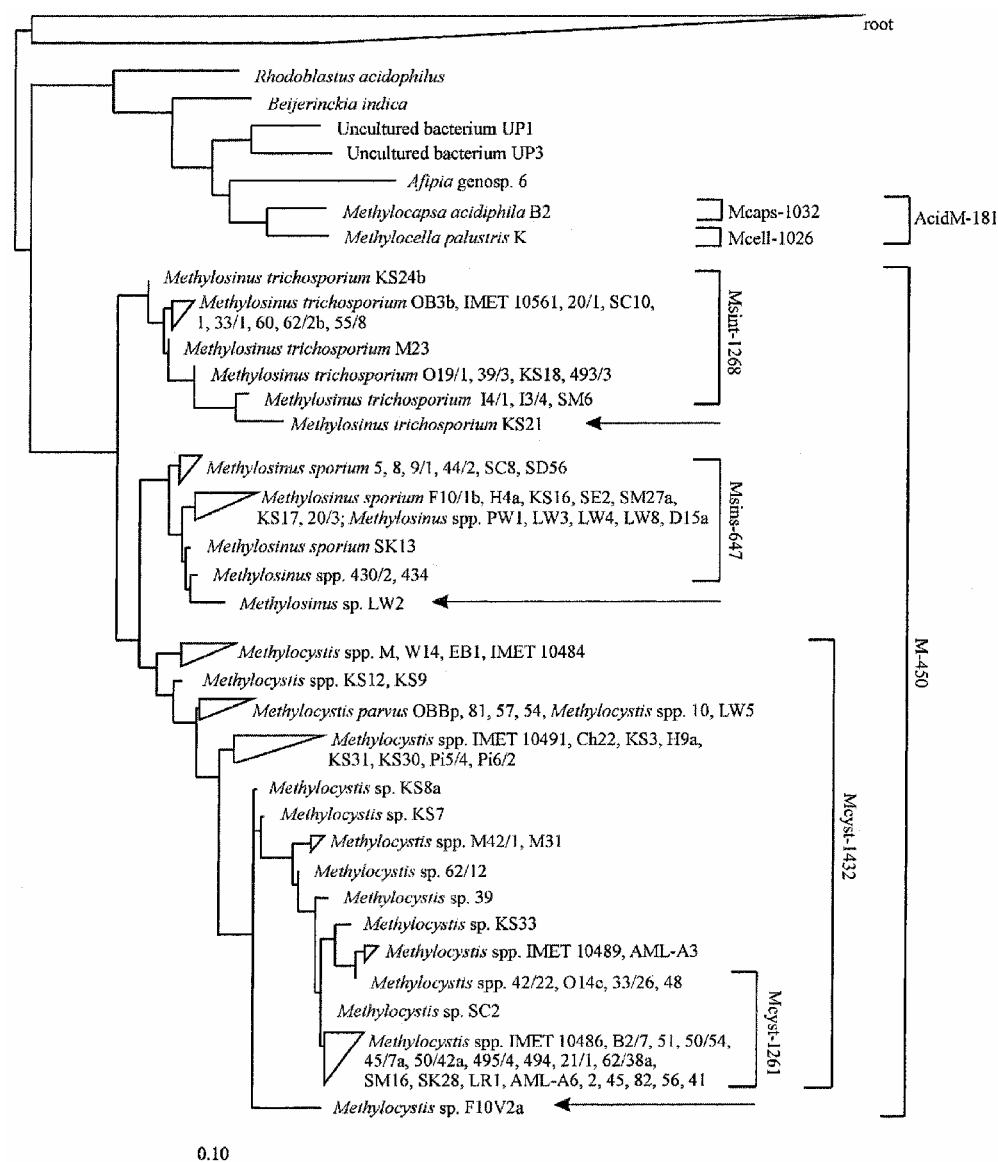
Dedysh *et al.*, 2003) ดังแสดงในภาพที่ 5 โดย 16s rRNA และ 5s rRNA ที่ใช้ในการจำแนกสกุล (genus) ต่างๆของเชื้อเมทาโทรฟนีดังแสดงในตารางที่ 7



ภาพที่ 4 Phylogenetic Tree ของแบคทีเรียตระกูล Methylococcaceae และแบคทีเรียอื่นๆใน

γ Proteobacteria

ที่มา : Hanson and Hanson (1996)



ภาพที่ 5 Phylogenetic Tree ของเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 ใน α Proteobacteria
ที่มา : Dedysh *et al.* (2003)

6.2 การตรวจพบเชื้อเมทาโนโทรฟในสิ่งแวดล้อม

ในงานวิจัยที่ศึกษามาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับเชื้อเมทาโนโทรฟพบว่าสามารถตรวจพบเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียในบริเวณต่างๆ ได้แก่ พื้นที่ฝังกลบมูลฝอย พื้นที่ในนาข้าว ทะเลสาบ เป็นต้น โดยในงานวิจัยที่ศึกษาเมทาโนโทรฟแบคทีเรียในหน้าดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยจริง เช่น Nozhevnikova (1993) พบว่าในรัสเซียมีแบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟทั้ง 2 แบบ

แสดงดังตารางที่ 8 โดยเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 มักพบในสภาพอากาศหนาวเย็น ส่วนงานวิจัยที่ศึกษาแบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟในหน้าดินกลบทับจำลอง เช่น เชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 สามารถเจริญได้ดีในบริเวณด้านบนของคอลัมน์ดิน ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความเข้มข้นของก๊าซมีเทนต่ำ ในขณะที่เชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 นั้นสามารถเจริญได้ดีในบริเวณด้านล่างของคอลัมน์ดินซึ่งเป็นบริเวณที่มีความเข้มข้นก๊าซมีเทนสูงและมีความเข้มข้นของออกซิเจนต่ำแต่อย่างไรอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยนั้นจะมีค่าลดลงตามระดับความลึกเนื่องด้วยข้อจำกัดทางด้านปริมาณออกซิเจน (Hanson and Hanson, 1996)

ตารางที่ 8 แบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟที่พบในหน้าดินกลบทับของหลุมฝังกลบมูลฝอยรัสเซีย

สปีชีส์	ชนิดแบคทีเรีย Methanotrophs	ความถี่ที่พบใน การสุ่มตัวอย่าง (ร้อยละ)	ความสามารถในการเจริญเติบโตที่ 6 °C (นับจำนวนเซลล์โดยใช้กล้อง จุลทรรศน์)
<i>Methylococcus capsulatus</i>	II	30	-
<i>Methylomonas methanica</i>	I	0	-
<i>Methylomonas albus</i>	I	90	++
<i>Methylobacter bovis</i>	I	90	+++
<i>Methylobacter vinelandii</i>	I	0	-
<i>Methylobacter chroococcum</i>	I	95	+++
<i>Methylobacter capsulatus</i>	I	30	-
<i>Methylosinus sporium</i>	II	60	+
<i>Methylosinus triosporium</i>	II	30	-
<i>Methylocystis parvas</i>	II	100	+++
<i>Methylocystis minimus</i>	II	30	+
<i>Methylocystis methanolicus</i>	II	0	-
<i>Methylocystis periformis</i>	II	40	-
<i>Methylocystis echinoids</i>	II	70	+/-

หมายเหตุ (-) : 0 เซลล์, (+/-) : 1-2 เซลล์, (+) : 5-20 เซลล์, (++) : 20-50 เซลล์,
(+++): 50-100 เซลล์

ที่มา : Nozhevnikova (1993)

ในการศึกษาในพื้นที่ที่มีความเป็นกรดตรวจพบเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 สามารถเจริญได้ดีกว่าเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 และพบเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 สายพันธุ์ *Methylocella palustris* และ *Methylocapsa acidiphila* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เจริญในพื้นที่ที่มีความเป็นกรดโดยเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 นี้สามารถเจริญได้ที่ค่าความเป็นกรดต่างระหว่าง 5.5-6.7 (Dedysh *et al.*, 1998a) นอกจากนี้ในการศึกษาของ Dunfield *et al.*, 1993 ยังพบว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ที่เป็นกรดนั้นสามารถเกิดได้ดีที่ค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 6-7 โดยในการศึกษาปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟโดยวิธีพีชในพื้นที่ที่มีความเป็นกรดระหว่าง 4-4.5 สามารถตรวจพบเชื้อแบคทีเรียกลุ่มเมทาโนโทรฟชนิดต่างๆดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟที่ตรวจพบในพื้นที่ที่มีความเป็นกรดโดยวิธีพีช

พื้นที่ที่ทำการศึกษา	จำนวนเซลล์ที่ตรวจพบในโพรบต่างๆ ($\times 10^4$ เซลล์ต่อกรัมดินเปียก)				
	MX450	Mcyst-1432	Mcaps-1032	Mcell-1026	MY84+MY705
ไซบีเรียตอนใต้	180 $\pm$ 10.0	180 $\pm$ 10.0	14 $\pm$ 5.0	119 $\pm$ 11.0	0.2 $\pm$ 0.2
เยอรมันนีตอนเหนือ	570 $\pm$ 60.0	550 $\pm$ 6.0	14 $\pm$ 9.0	6 $\pm$ 4.0	6.1 $\pm$ 3.6

ที่มา : Dedysh *et al.* (2003)

7. ฟลูออเรสเซนส์อินซิทูไฮบริไดเซชัน

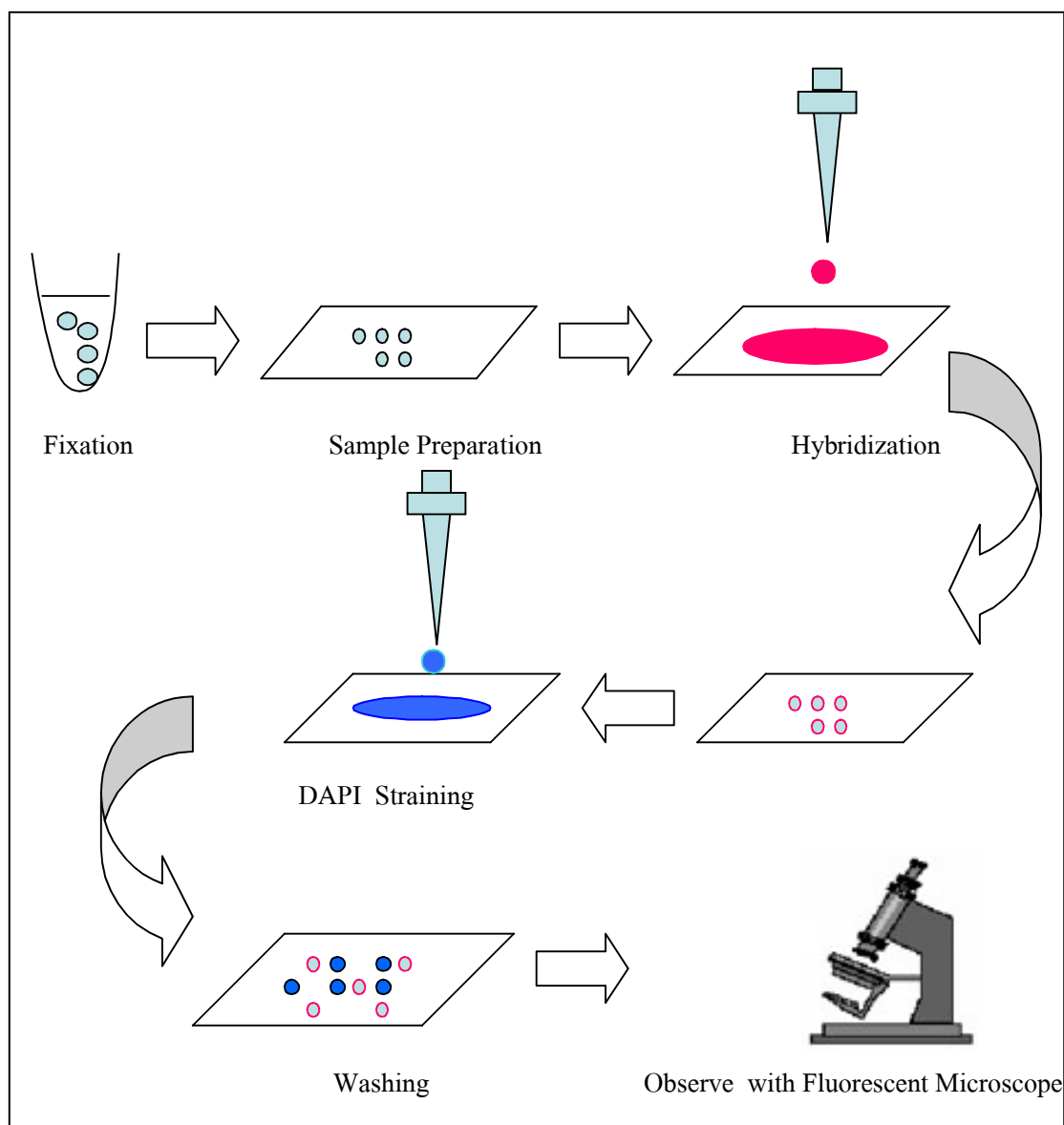
เทคนิคการทำฟลูออเรสเซนส์อินซิทูไฮบริไดเซชันหรือฟิช (Fluorescent In Situ Hybridization, FISH) นั้นเป็นวิธีการในการตรวจหาชนิดของจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมและยังมีความแม่นยำจำเพาะต่อจุลินทรีย์นั้นๆ โดยการใช้โพรบ (probe) ซึ่งโพรบที่ใช้นี้คือลำดับของเบสในสายนิวคลีโอไทด์ของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งมีความจำเพาะต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษาดังกล่าวโดยโพรบนี้จะทำการติดฉลากด้วยสารเรืองแสงที่สามารถคายพลังงานออกมาในรูปของแสงเมื่อถูกซึมหรือกระทบเข้ากับพลังงานสูง เช่น แสงอัลตราไวโอเลต เพื่อใช้ในการตรวจสอบเชื่อดังกล่าวในเชิงปริมาณของเชื่อดังกล่าว

การใช้โพรบติดฉลากเข้าจับกับกรดนิวคลีอิกภายในเซลล์ เกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อปี 1969 โดย Gall และ John ได้ใช้โพรบที่ติดฉลากด้วยสารรังสี (Gall *et al.*, 1969) ต่อมาปี 1980 Bauman ได้พัฒนาการติดฉลากด้วยสารเรืองแสงแทนการใช้สารรังสีเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างสารรังสีและสารปลดปล่อยรังสีที่สามารถเรืองแสงแล้ว สารเรืองแสงจะช่วยให้ทำงานได้สะดวก รวดเร็วและมีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น สัญญาณมีความคมชัดมากขึ้นและมีความคงตัวมากกว่า (Bauman *et al.*, 1980) ในปลายปี ค.ศ. 1980 ได้มีการใช้โพรบหลายประเภทติดฉลากเรืองแสงแต่ที่นิยมในงานพืชเป็นโพรบที่ติดฉลากด้วยไบโอติน (biotin) หรือไดออกซิจีนิ (digoxigenin) แล้วใช้อะวิดิน (avidin) หรือแอนติไดออกซิจีนิ (anti-digoxigenin) มาเชื่อมต่อกับสารเรืองแสงหรือโรดามีน (rhodamine) เข้าจับอีกชั้นหนึ่งเมื่อโพรบที่ติดสารเรืองแสงเข้าสร้างพันธะกับกรดนิวคลีอิกเป้าหมายแล้วสามารถตรวจหาสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้ภายในกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงฟลูออเรสเซนซ์

สำหรับการทำอินซิทูไฮบริไดเซชันนั้นสามารถทำได้โดยที่กรดนิวคลีอิกจะไม่ถูกแยกสกัดออกจากตัวอย่างตรวจโดยจะถูกรักษาให้อยู่ในสภาพเดิมของมันให้มากที่สุดและนำมาปะติดบนสไลด์ ในขั้นตอนของการทำไฮบริไดเซชันจะทำบนแผ่นสไลด์ซึ่งปฏิกิริยาไฮบริไดเซชันจะเกิดขึ้นภายในเซลล์หรือเนื้อเยื่อจึงทำให้ทราบว่าในตัวอย่างดังกล่าวมีกรดนิวคลีอิกเป้าหมายหรือไม่พร้อมทั้งยังสามารถระบุตำแหน่งที่อยู่ของกรดนิวคลีอิกอีกด้วยหลังจากนั้นจึงนำตัวอย่างที่ต้องการตรวจมาทำการล้าง (washing) แล้วสามารถตรวจหาสัญญาณด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ทันทีดังแสดงในภาพที่ 6

แต่ในปัจจุบันการตรวจหาสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จากโพรบที่ได้รับการติดฉลากด้วยสารเรืองแสงโดยตรง ไม่เป็นปัญหาอีกต่อไปเนื่องจากมีอุปกรณ์การตรวจจับสัญญาณแสงที่มีความไวสูง เช่น cooled CCD cameras ที่ต่อเข้ากับคอมพิวเตอร์ประสิทธิภาพสูงเพื่อช่วยในการขยายสัญญาณและประมวลผล การใช้โพรบติดฉลากสารเรืองแสงโดยตรงมีข้อที่ควรระวัง คือ แสงอาจจะอ่อนหรือจางลงในช่วงการทำไฮบริไดเซชัน (hybridization) จึงควรหลีกเลี่ยงไม่ให้กระทบกับแสงสว่างมากเกินไป

สำหรับโพรบที่ใช้ในการตรวจหาเชื้อเมทาโนโทรฟที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้นั้นเป็นโพรบที่มีความจำเพาะต่อเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 (*Methylomonas spp.*, *Methylobacter spp.*, *Methylococcus spp.*, *Methyломicrobium spp.*) และชนิดที่ 2 (*Methylosinus spp.* และ *Methylocystis spp.*) นอกจากนี้ยังมีเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 อีกบางส่วนที่ไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยโพรบ



ภาพที่ 6 เทคนิคการทำฟลูออเรสเซนซ์อินซิติวไฮบริไดเซชัน

ดังกล่าว คือ *Methylocella spp.* และ *Methylocapsa spp.* ดังนั้นจึงต้องใช้โพรบ Mcell-1026, Mcaps-1032 ในการตรวจหาปริมาณเชื้อดังกล่าวตามลำดับ นอกจากนี้ยังทำการศึกษแบคทีเรียชนิดไนโตรไฟอิงซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถเปลี่ยนรูปแอมโมเนียไนโตรเจนให้กลายเป็นไนไตรต์และไนเตรทซึ่งก็คือ *Nitrosomonas spp.* และ *Nitrobacter spp.* ตามลำดับ โดยรายละเอียดของโพรบที่ใช้นั้นดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 โพรบที่ใช้ในการศึกษาด้วยวิธีการฟลูออเรสเซนส์อินซิติวไฮบริไดเซชัน

Probe	Target group	Target Site	Formamide in FISH (%)	Probe and Target sequence	Reference
MY84	Type I Methanotroph	84-103	20	Probe : 3' AGCCCGCGACTGCTCACC 5' Target :5' UCGGGCGCUGACGAGUGG 3'	Eller <i>et al.</i> , 2001
MY705	Type I Methanotroph	705-724	20	Probe : 3' CTAGACTTCCTTGTGGTC 5' Target :5' GAUCUGAAGGAACACCAG 3'	Eller <i>et al.</i> , 2001
MO450	Type II Methanotroph	450-470	20	Probe : 3' CTATTACTGCCAIGGACCTA 5' Target :5' GAUAAUGACGGUACCUUGAU 3'	Eller <i>et al.</i> , 2001
Mcell-1026	<i>Methylocella palustris</i>	1026-1043	0	Probe : 3' GTTCTCGCCACCCGAAAGT 5' Target :5' CAAGAGCGGTGGGCTTCA 3'	Dedysh <i>et al.</i> , 2001
Mcaps-1032	<i>Methylocapsa acidiphila</i>	1032-1049	0	Probe : 3' CACCTGTGTCCTGGCTC 5' Target :5' GTGGACACAGGGACCGAG 3'	Dedysh <i>et al.</i> , 2003
NSM-156	<i>Nitrosomonas spp.</i>	156 - 174	5	Probe :3' TATTAGCACATCTTTCGAT 5' Target :5' ATAATCGTGTAGAAAAGCTA 3'	Mobarry <i>et al.</i> ,1996
NIT-3	<i>Nitrobacter spp.</i>	1032 - 1052	40	Probe :3' CCAGTGTCTCCAIGCTCCG 5' Target :5' GGTCACGAGGTACGGGC 3'	Wagner <i>et al.</i> , 1996

8. ข้อมูลทั่วไปของพื้นที่ทำการศึกษา

8.1 ข้อมูลทั่วไปของจังหวัดปทุมธานี

ปทุมธานีเป็นจังหวัดในภาคกลางของประเทศไทยพื้นที่ส่วนใหญ่ของจังหวัดเป็นที่ราบลุ่มริมสองฝั่งแม่น้ำโดยมีแม่น้ำเจ้าพระยาไหลผ่านใจกลางจังหวัดในเขตอำเภอเมืองปทุมธานีและอำเภอสามโคก ทำให้พื้นที่ของจังหวัดปทุมธานีถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ฝั่งตะวันตกของจังหวัดหรือบนฝั่งขวาของแม่น้ำเจ้าพระยา ได้แก่ พื้นที่ในเขตอำเภอลาดหลุมแก้วกับพื้นที่บางส่วนของอำเภอเมืองและอำเภอสามโคก กับฝั่งตะวันออกของจังหวัดหรือบนฝั่งซ้ายของแม่น้ำเจ้าพระยา ได้แก่ พื้นที่อำเภอเมืองบางส่วนของ อำเภอธัญบุรี อำเภอคลองหลวง อำเภอหนองเสือ อำเภอลำลูกกา และบางส่วนของอำเภอสามโคก

โดยปกติระดับน้ำในแม่น้ำเจ้าพระยาในฤดูฝนจะเพิ่มสูงขึ้นเฉลี่ยประมาณ 50 เซนติเมตร ซึ่งทำให้เกิดภาวะน้ำท่วมในบริเวณพื้นที่ราบริมฝั่งแม่น้ำเจ้าพระยาเป็นบริเวณกว้างและก่อให้เกิดปัญหาอุทกภัยในพื้นที่ฝั่งขวาของแม่น้ำเจ้าพระยาสำหรับพื้นที่ทางฝั่งซ้ายของแม่น้ำเจ้าพระยานั้นเนื่องจากประกอบด้วยคลองซอยเป็นคลองชลประทานจำนวนมากจึงสามารถควบคุมปริมาณน้ำได้ทำให้ปัญหาเกี่ยวกับอุทกภัยในบริเวณดังกล่าวมีน้อยกว่า

จังหวัดปทุมธานีอยู่ห่างจากกรุงเทพฯ ประมาณ 46 กิโลเมตร และมีพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 1,565.856 ตารางกิโลเมตร แบ่งเขตการปกครองออกเป็น 7 อำเภอ คือ อำเภอเมืองปทุมธานี อำเภอสามโคก อำเภอลาดหลุมแก้ว อำเภอธัญบุรี อำเภอหนองเสือ อำเภอคลองหลวงและอำเภอลำลูกกา โดยจำนวนประชากรของทั้งจังหวัดประมาณ 731,711 คน (ที่ทำการปกครองจังหวัดปทุมธานี, 2547)

8.2 ปริมาณมูลฝอยในเขตเทศบาลเมืองปทุมธานี

เทศบาลเมืองปทุมธานี ตั้งอยู่ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี มีพื้นที่ 38.90 ตารางกิโลเมตร มีจำนวนประชากรทั้งสิ้น 18,916 คน จำนวนครัวเรือน 5,324 ครัวเรือน ภายในเขตเทศบาลฯ มีปริมาณขยะมูลฝอยเกิดขึ้นเฉลี่ยประมาณวันละ 34.05 ตัน สำหรับอัตราการเกิดขยะมูลฝอยของเทศบาลเมืองปทุมธานีมีอัตราเท่ากับ 1.80 กิโลกรัมต่อคนต่อวัน การจัดการขยะมูลฝอยที่เกิดขึ้นในปัจจุบันกำจัดโดยการฝังกลบอย่างถูกสุขลักษณะ บริเวณสถานที่กำจัดขยะมูลฝอยของ

เทศบาลเมืองปทุมธานี ตั้งอยู่หมู่ 4 ตำบลบ่อเงินอ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี (กรมควบคุมมลพิษ, 2546)

8.3 ลักษณะสมบัติของมูลฝอยในเขตเทศบาลเมืองปทุมธานี

สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบของมูลฝอยในเขตเทศบาลเมืองปทุมธานีพบว่า องค์ประกอบของมูลฝอยในเขตเทศบาลเมืองปทุมธานีมีปริมาณของเศษอาหาร เศษกระดาษ พลาสติก เศษแก้ว อลูมิเนียม เหล็กไม้ ยาง เศษผ้า หนังสือ ถ่านไฟฉาย แบตเตอรี่ โทรศัพท์ หลอดไฟฟ้าและอื่นๆดังแสดงในตารางที่ 11 และเมื่อนำเอามูลฝอยดังกล่าวทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่ามีความชื้นเท่ากับ (MC%) เท่ากับร้อยละ 54.73 ปริมาณของแข็งรวมทั้งหมด (TS%) เท่ากับร้อยละ 45.27 ปริมาณของของแข็งระเหยทั้งหมด (VS%) เท่ากับร้อยละ 89.51 ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด (C%) เท่ากับร้อยละ 49.73 ปริมาณไฮโดรเจนทั้งหมด (H%) เท่ากับร้อยละ 5.59 ปริมาณออกซิเจนทั้งหมด (O%) เท่ากับร้อยละ 33.63 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (N%) เท่ากับร้อยละ 0.27 ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (P%) เท่ากับร้อยละ 0.28 ปริมาณซัลเฟอร์ (S%) เท่ากับร้อยละ 0.001 และปริมาณความร้อน (Heat of combustion) มีค่าเท่ากับ 4,589.99 แคลอรีต่อกรัม (กรมควบคุมมลพิษ, 2546)

ตารางที่ 11 องค์ประกอบของมูลฝอยในเขตเทศบาลเมืองปทุมธานี

องค์ประกอบ	ปริมาณ (%)	องค์ประกอบ	ปริมาณ (%)
เศษอาหาร	63.36	ยาง	0.53
เศษกระดาษ	2.57	เศษผ้า	1.82
พลาสติก	24.25	หนังสือ	0.02
เศษแก้ว	1.09	ถ่านไฟฉาย, แบตเตอรี่	0.01
อลูมิเนียม	0.62	หลอดไฟฟ้า	0.01
เหล็ก	1.06	อื่นๆ	4.87
ไม้	0.34		
รวม	93.72	รวม	6.28

ที่มา : กรมควบคุมมลพิษ, (2546)

8.4 สถานก้ำจัดมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี

สถานก้ำจัดมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี เป็นพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยแบบถูกสุขลักษณะตั้งอยู่บริเวณหมู่ 4 ตำบลบ่อเงิน อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี โดยรองรับปริมาณมูลฝอยที่เกิดขึ้นในพื้นที่เขตเทศบาลต่างๆในจังหวัดปทุมธานีโดยพื้นที่ที่ทำการศึกษานั้นเป็นพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่มีอายุการใช้งานประมาณ 8 ปีและปิดการใช้งานไปแล้วตั้งแต่ปี พ.ศ. 2546 พื้นที่ฝังกลบมูลฝอยดังกล่าวเป็นแบบถมที่เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีระดับน้ำใต้ดินสูงโดยดินที่นำมาใช้ในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยดังกล่าวเป็นดินในพื้นที่ดังกล่าว โดยจากการสำรวจของสำนักสำรวจดินและวางแผนการใช้ที่ดินพบว่าดินมีลักษณะเป็นดินเหนียวจัด สภาพดินเป็นกรดปานกลางถึงเป็นกรดจัดมีค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 4-6 และเรียกกลุ่มดินดังกล่าวว่าชุดดินรังสิต โดยบริเวณด้านบนซึ่งมีความลึกประมาณ 0-50 เซนติเมตรจะมีลักษณะเนื้อดินเป็นดินเหนียวสีดำหรือสีเทาเข้มและมีจุดสีประเป็นสีน้ำตาลปนเหลือง ปฏิกริยาดินเป็นกรดจัดมากถึงกรดจัด (pH 4.0–5.0) และมักมีรอยแตกแหว่งที่ผิวหน้าดินในฤดูแล้ง ส่วนดินตอนล่างซึ่งเป็นดินที่มีความลึกตั้งแต่ 100 เซนติเมตรลงไปจะมีสีน้ำตาลปนเทาหรือน้ำตาลปนเทาเข้มมีจุดสีประเป็นสีแดงหรือสีแดงปนเหลือง สำหรับดินตอนล่างมีลักษณะเป็นดินเหนียวหรือดินเลนและมีปฏิกริยาเป็นกรดจัดมาก (pH < 4.0) ดังแสดงในภาพที่ 7 (สธิระ, 2542)



ภาพที่ 7 ลักษณะของชุดดินรังสิตที่ใช้ในการกลบทับพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษา
ที่มา : สธิระ (2542)