

ผลการทดลองและวิจารณ์

ในการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาเชื้อแบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟที่อาศัยอยู่ในบริเวณดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี ซึ่งเป็นพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยขนาด 30,000 ตารางเมตรที่มีอายุการใช้งานประมาณ 8 ปีและทำการปิดพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยดังกล่าวเมื่อปี พ.ศ. 2546 โดยได้ทำการศึกษาดินกลบทับชั้นสุดท้ายที่ระดับความลึกต่างๆ คือ 0–15 เซนติเมตร, 16–30 เซนติเมตร, 31–45 เซนติเมตร และ 46–60 เซนติเมตร

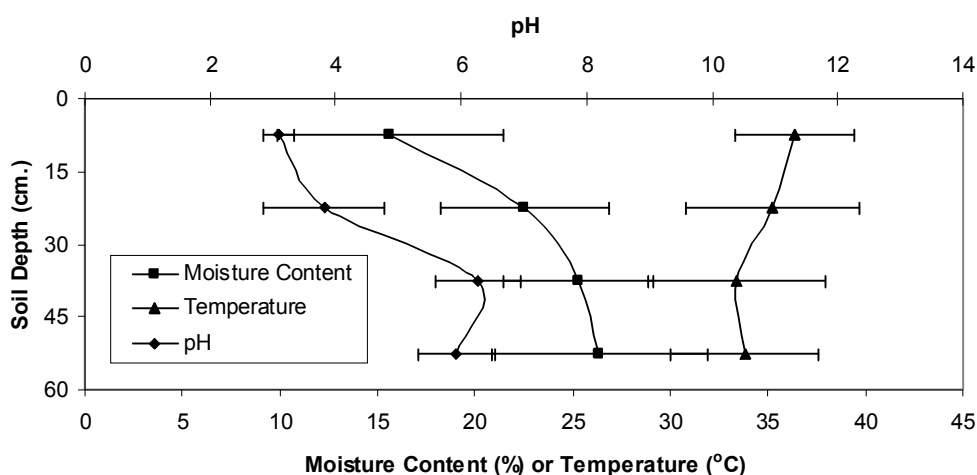
ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันกับเชื้อแบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 และ 2 ในเชิงปริมาณโดยวิธีเอ็มพีเอ็นและพีชที่ระดับความลึกดังกล่าว ทั้งนี้ยังทำการศึกษาแบคทีเรียชนิดไนตริไฟอิงซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทในการลดปริมาณสารอนินทรีย์ไนโตรเจนที่เป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียดังกล่าวซึ่งต่อต้านปฏิกิริยาการเกิดมีเทนออกซิเดชัน โดยในการศึกษาเชื้อเมทาโนโทรฟในเชิงปริมาณนั้นได้ทำการศึกษาด้วย 2 วิธีการด้วยกัน คือ วิธีเอ็มพีเอ็นและวิธีพีช นอกจากนี้ยังทำการศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของดินกลบทับชั้นสุดท้ายของพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาโดยผลการทดลองดังกล่าวดังจะได้นำเสนอต่อไป

1. ลักษณะทางกายภาพและเคมีที่สำคัญของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยต่อการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟ

ในเบื้องต้นได้ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของดินกลบทับชั้นสุดท้ายของพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี พบว่าคุณลักษณะของดินที่ทำการศึกษาดังกล่าวมีค่าความเป็นกรดสูงในดินระดับบน กล่าวคือ ที่ระดับความลึก 0–15 เซนติเมตร และ 16–30 เซนติเมตร มีค่า 3.09 ± 0.24 และ 3.82 ± 0.96 ตามลำดับ ส่วนดินในระดับล่างมีความเป็นกรดอ่อนคือ ที่ระดับความลึก 31–45 เซนติเมตร และ 46–60 เซนติเมตร มีค่า 6.27 ± 0.69 และ 5.93 ± 0.60 ตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งโดยปกติแล้วเชื้อเมทาโนโทรฟเจริญได้ดีที่พีเอชเป็นกลาง คือ 6.5 – 7.5 (Whittenbry *et al.*, 1970) ดังนั้นความเป็นกรดของดินอาจเป็นข้อจำกัดต่อปริมาณและชนิดของเชื้อเมทาโนโทรฟในหน้าดินนี้ ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าผลการวิเคราะห์ความเป็นกรดดังกล่าวนี้อาจสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์ชุดดินรังสีของสำนักสำรวจดินและวางแผนการใช้ที่ดินได้กล่าวมาข้างต้นแต่ที่ระดับความลึกด้านล่าง คือ 31–60 เซนติเมตร จะเห็นได้ว่าดินมีความเป็นกรด

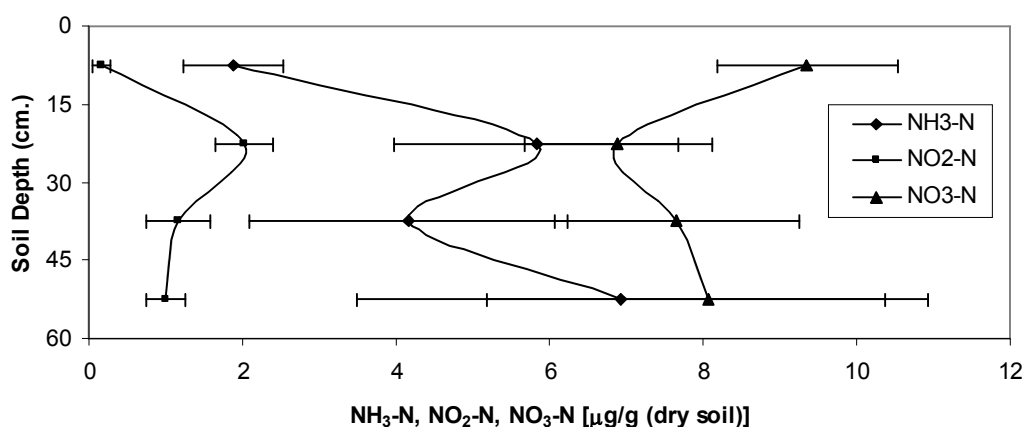
อ่อนทั้งนี้ น่าจะมีสาเหตุเนื่องมาจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายในดิน กล่าวคือ ในกระบวนการย่อยสลาย มูลฝอยและกิจกรรมของเซลล์ที่เกิดขึ้นภายในหลุมฝังกลบมูลฝอยทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นมาและเมื่อก๊าซดังกล่าวทำปฏิกิริยากับความชื้นที่อยู่ในดินจึงทำให้เกิดสารประกอบคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนตขึ้นซึ่งสารประกอบดังกล่าวจะเกิดปฏิกิริยาในการ สะเทินความเป็นกรดในชั้นดินและลดความเป็นกรดแก่ในชั้นดินลงมาจนเป็นกรดอ่อนที่ความลึก 31-60 เซนติเมตรจึงทำให้ตรวจพบความเป็นกรดต่ำในดินด้านล่างมีความเป็นกรดน้อยกว่าด้านบน

นอกจากความเป็นกรดต่ำที่เป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญของเชื้อดังกล่าว ยังมีปัจจัยอื่นๆที่มีบทบาทอีกเช่นกัน อาทิ อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น โดยอุณหภูมิในดินที่ทำการศึกษามีค่าอยู่ระหว่าง 36.4 – 33.4 °ซ ดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งอุณหภูมิดังกล่าวมีค่าลดลงตามระดับความลึกของดินที่ทำการศึกษาและจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิดังกล่าวมีค่าสูงกว่าอุณหภูมิที่เชื้อเมทาโนโทรฟเจริญได้ดีไม่มากนัก คือ 25–30 °ซ (Pascal and Cleemput 1996 ; Visvanathan *et al.*, 1999) และเมื่อพิจารณา ค่าความชื้นพบว่าค่าความชื้นมีค่าสูงขึ้นตามระดับความลึก กล่าวคือ ที่ความลึก 0–15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตร พบว่าความชื้นมีค่าเฉลี่ยประมาณร้อยละ 15.65±5.77, 22.51±4.33, 25.28±3.81, 26.37±5.54 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งความชื้นนี้มีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มเมทาโนโทรฟซึ่งควรอยู่ระหว่างร้อยละ 10 – 30 (Boechx and Cleemput 1996 ; Visvanathan *et al.*, 1999) ดังนั้นความชื้นในดินหลุมฝังกลบนี้จึงมีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟ



ภาพที่ 9 ความเป็นกรดต่ำ ความชื้นและอุณหภูมิของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆ

สำหรับปริมาณสารอนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียม ไนไตรต์ และไนเตรท (โดยเฉพาะแอมโมเนียมซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดการยับยั้งปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน (Rosvlev *et al.*, 1997)) พบว่าปริมาณแอมโมเนียมในดินดังกล่าวมีปริมาณที่ค่อนข้างต่ำมาก กล่าวคือ ที่ความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรมีปริมาณแอมโมเนียมเฉลี่ย 3.89 ± 0.65 , 5.83 ± 1.85 , 4.16 ± 2.07 , 6.94 ± 3.44 ไมโครกรัมต่อกรัมดินแห้งดังแสดงในภาพที่ 10 โดยการลดลงของปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชันอันเนื่องมาจากแอมโมเนียมนั้นเนื่องจากแอมโมเนียมสามารถเป็นสารตั้งต้นให้เอนไซม์มีเทนโมโนออกซิเจเนสเข้าทำปฏิกิริยาจึงเป็นผลให้มีเทนที่จะเข้าทำปฏิกิริยานั้นไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ไม่เต็มที่โดยปริมาณของแอมโมเนียมที่ทำให้อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าลดลง คือ ในปริมาณที่มากกว่า 104 ไมโครกรัมต่อกรัมดิน (King and Schnell, 1994) แต่จากปริมาณของแอมโมเนียมในตัวอย่างดินที่ทุกระดับความลึกดังกล่าวจะเห็นได้ว่ามีปริมาณแอมโมเนียมน้อยมากที่จะก่อให้เกิดการลดลงของปฏิกิริยามีเทนออกซิเดชัน นอกจากนี้ Dunfield and Knowles. (1995) ยังพบอีกว่าในภาวะแข่งขันของการใช้มีเทนหรือแอมโมเนียมของเอนไซม์มีเทนโมโนออกซิเจเนสนั้นแอมโมเนียมจะลดการต่อต้านการเกิดมีเทนออกซิเดชันในสถานะที่มีปริมาณมีเทนอยู่สูงซึ่งจากการวัดปริมาณมีเทนในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี ที่บริเวณปากท่อระบายก๊าซที่เกิดขึ้นภายในหลุมฝังกลบมูลฝอยพบปริมาณก๊าซต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 13 โดยตำแหน่งของปากท่อระบายก๊าซที่ทำการตรวจวัดปริมาณก๊าซนี้เป็นปากท่อที่อยู่ใกล้เคียงกับบริเวณจุดที่ทำการเก็บตัวอย่างดินกลบทับชั้นสุดท้ายทั้ง 5 จุดมากที่สุดดังแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 10 ปริมาณแอมโมเนียม ไนไตรต์ และไนเตรทในโตรเจนของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆ

ตารางที่ 13 องค์ประกอบของก๊าซที่ตรวจพบบริเวณที่ระบายก๊าซภายในหลุมฝังกลบมูลฝอย
อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี

ปากท่อ ระบายก๊าซ	องค์ประกอบของก๊าซในหลุมฝังกลบมูลฝอย (%)			
	CH ₄	CO ₂	O ₂	N ₂
1	10.77	8.84	16.96	63.43
2	36.24	22.82	9.37	31.57
3	7.11	1.43	19.06	72.40
4	13.73	0.31	19.36	66.60

ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณก๊าซมีเทนที่พื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี มีค่าสูง
อีกทั้งปริมาณแอมโมเนียมที่ตรวจพบมีค่าต่ำจึงทำให้แอมโมเนียมไม่ใช่ข้อจำกัดในการทำให้เกิด
มีเทนออกซิเดชันต่ำในพื้นที่ที่ทำการศึกษา

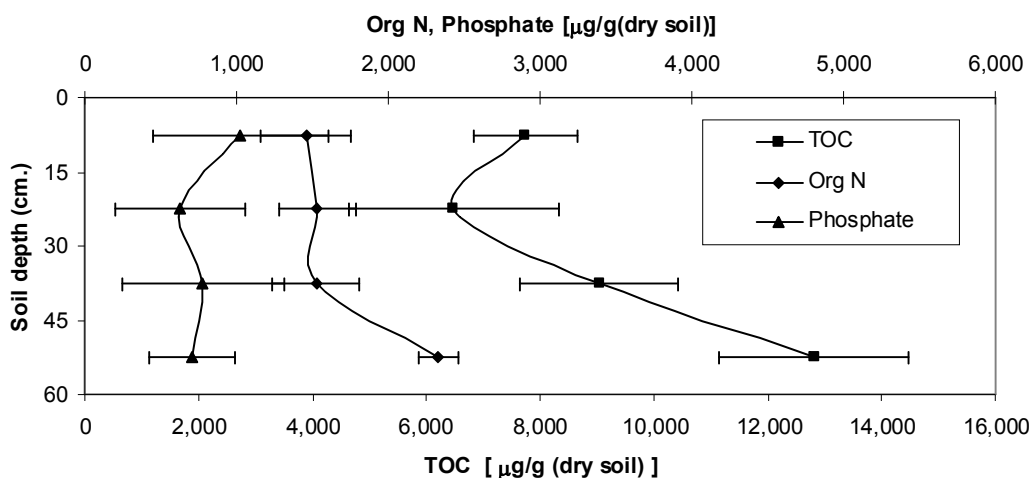
นอกจากที่กล่าวมาข้างต้นแล้วแอมโมเนียมสามารถถูกออกซิไดซ์ได้ด้วยเมทาโนโทรฟและ
ได้สารประกอบของไฮดรอกซีลาไมด์ (hydroxylamide) (Hubley *et al.*, 1975) และไนไตรต์ (King
and Schnell, 1994 ; Neill and Wilkinson, 1977) ซึ่งสารประกอบทั้งสองนี้จะต่อต้านการเกิดมีเทน
ออกซิเดชันเนื่องจากไฮดรอกซีลาไมด์จะลดความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์มีเทน
โมโนออกซิจีเนส ในขณะที่ไนไตรต์จะส่งผลต่อกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์และ
ความสามารถของเอนไซม์ฟอร์เมทไฮโดรจีเนสซึ่งเอนไซม์นี้ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการ
สร้าง NADH + H⁺ ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาของเชื้อเมทาโนโทรฟ (Sylvia and King, 1994) โดยใน
ดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษานี้ตรวจพบปริมาณไนไตรต์ค่อนข้างต่ำ
กล่าวคือ พบไนไตรต์ที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตร เฉลี่ย 0.16 ± 0.12 ,
 2.02 ± 0.38 , 1.16 ± 0.42 , 0.99 ± 0.26 ไมโครกรัมต่อกรัมดินแห้งดังแสดงในภาพที่ 10 จึงทำให้
ปริมาณไนไตรต์ที่พบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาทุกระดับความลึก
ไม่ใช่ข้อจำกัดในการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรีย

สำหรับปริมาณไนเตรตซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ไนโตรเจนที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้น
สุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยโดยที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตร ตรวจพบ

ไนเตรทปริมาณ 9.36 ± 1.18 , 6.89 ± 1.22 , 7.66 ± 1.60 , 8.06 ± 2.88 ไมโครกรัมต่อกรัมดินแห้ง ดังแสดงในภาพที่ 10 ซึ่งจากการศึกษาของ Dunfield and Knowles (1995) พบว่าปริมาณไนเตรทนั้นสามารถใช้เป็นสารอาหารในการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟและปริมาณที่มีความเหมาะสมนั้นควรอยู่ในช่วงไม่เกิน 75 ไมโครกรัมต่อกรัมดิน ดังนั้นจึงกล่าวโดยสรุปได้ว่าไนเตรทมีปริมาณเพียงพอต่อการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟในหน้าดินที่ทำการศึกษา

นอกจากนี้ปริมาณของแอมโมเนียมและไนไตรต์ยังเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญของเชื้อไนไตรไฟอิง คือ *Nitrosomonas spp.*, *Nitrobacter spp.* ตามลำดับซึ่งตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายของพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยจึงทำให้สามารถลดปริมาณแอมโมเนียมและไนไตรต์ซึ่งเป็นสารประกอบที่เป็นตัวการในการต่อต้านการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียและผลิตไนเตรทซึ่งมีผลต่อกิจกรรมของเชื้อเมทาโนโทรฟ โดยปริมาณของเชื้อทั้งสองสกุลนั้นจะได้กล่าวในหัวข้อถัดไป

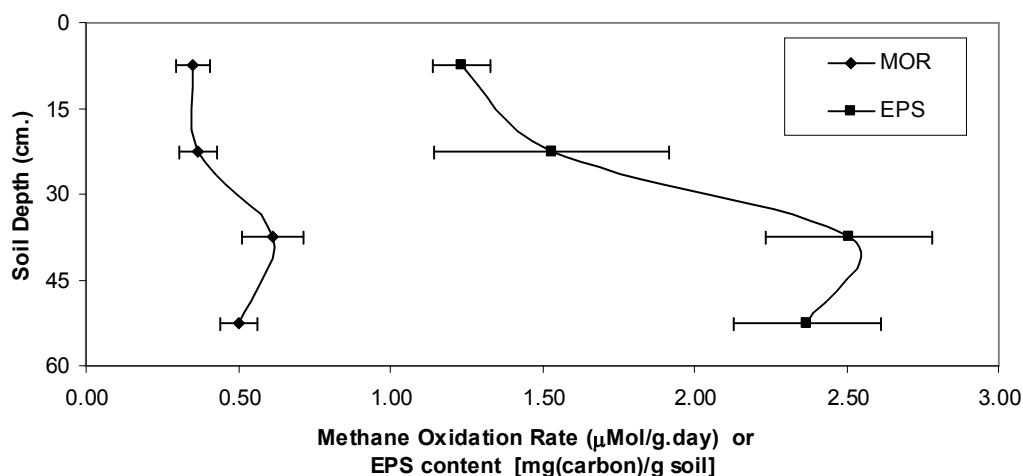
สำหรับในตัวอย่างดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษายังพบปริมาณสารอินทรีย์ไนโตรเจน ฟอสเฟตและสารอินทรีย์คาร์บอนในปริมาณที่ค่อนข้างสูงกล่าวคือ ตรวจพบสารอินทรีย์ไนโตรเจนที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรเฉลี่ย $1,457.93 \pm 297.51$; $1,532.87 \pm 255.33$; $1,524.13 \pm 288.09$; $2,329.77 \pm 132.13$ ไมโครกรัมต่อกรัมดินแห้ง นอกจากนี้ตรวจพบสารอินทรีย์คาร์บอนที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรเฉลี่ย $7,738.82 \pm 905.98$; $6,478.80 \pm 1,849.40$, $9,033.78 \pm 1,399.23$, $12,812.04 \pm 1,668.92$ ไมโครกรัมต่อกรัมดินแห้งและฟอสเฟตที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรมีปริมาณเฉลี่ย $1,025.56 \pm 578.71$; 628.26 ± 429.14 ; 780.42 ± 533.91 ; 707.93 ± 286 ไมโครกรัมต่อกรัมดินแห้งดังแสดงในภาพที่ 11 โดยปริมาณของสารอินทรีย์ไนโตรเจน คาร์บอนและฟอสเฟตดังกล่าวจะเห็นได้ว่ามีปริมาณที่ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับสารประกอบอินทรีย์อื่นๆที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยในทุกระดับความลึก โดยสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน สารอินทรีย์คาร์บอนและฟอสเฟตนี้จะเป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียชนิดเฮทาโลโทรฟ (Heterotrophs) ซึ่งมีปริมาณมากเกินไปซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวจะเป็นคู่แข่งของเชื้อเมทาโนโทรฟในการใช้ออกซิเจน



ภาพที่ 11 ปริมาณสารอินทรีย์ไนโตรเจน สารอินทรีย์คาร์บอนและฟอสเฟตของดินกลบทับชั้น
สุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆ

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าค่าความเป็นกรด่างและอุณหภูมิของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาคาดว่าเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดความสามารถในการดำเนินกิจกรรมของเชื้อเมทาโนโทรฟในหน้าดินที่ศึกษาเนื่องจากปัจจัยทั้งสองนั้นมีค่าที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟแต่อย่างไรก็ตามในการดำเนินการวิจัยในการศึกษาความสามารถของเชื้อเมทาโนโทรฟในการเกิดมีเทนออกซิเดชันนั้นได้ทำการศึกษาที่อุณหภูมิห้อง (30 °ซ) ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่มีความเหมาะสมในการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรีย (Boechx and Cleemput, 1996 ; Visvanathan *et al.*, 1999) เพื่อตัดปัจจัยผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

นอกจากลักษณะทางกายภาพและเคมีของดินแล้วยังวิเคราะห์ปริมาณเอ็กส์ตราเซลลูลาโพลีแซคคาไรด์หรืออีพีเอส (Extracellular Polysaccharides, EPS) มาพิจารณาซึ่งค่านี้สามารถบ่งชี้ได้ถึงกิจกรรมของเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียเนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน (Hilger *et al.*, 1999) โดยพบว่าที่ระดับความลึก 0–15, 16–30, 31–45, 46–60 เซนติเมตรมีปริมาณเอ็กส์ตราเซลลูลาโพลีแซคคาไรด์อยู่ 1.23 ± 0.10 , 1.53 ± 0.38 , 2.51 ± 0.28 , 2.24 ± 0.24 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อกรัมดินแห้งดังแสดงในภาพที่ 12 ซึ่งจากค่าอีพีเอสที่ตรวจพบจะเห็นได้ว่ามีค่าสูงที่ความลึก 31–45 และ 46–60 เซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจพบอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันสูงที่ระดับความลึกตอนล่าง (31–60 เซนติเมตร) ดังแสดงในภาพที่ 12 ซึ่งจะได้กล่าวในหัวข้อถัดไป



ภาพที่ 12 อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันและปริมาณเอ็กซ์ตราเซลลูลาโพลีแซคคาไรด์ของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆ

2. การศึกษาความสามารถในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน

สำหรับการศึกษาความสามารถในการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่มีค่าความชื้นเริ่มต้นของตัวอย่างดินที่ทำการศึกษาคือค่าความชื้นเดิมของดินที่ทำการศึกษาจากพื้นที่ศึกษาจริง โดยในการศึกษาการเกิดมีเทนออกซิเดชันของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี ที่ระดับความลึก 0–15, 16–30, 31–45, 46–60 เซนติเมตรและนำค่าการลดลงของปริมาณความเข้มข้นของก๊าซมีเทน ณ จุดเริ่มต้นและลดลงจนกลายเป็นศูนย์พบว่าการเกิดมีเทนออกซิเดชันแบ่งออกเป็น 3 ช่วงด้วยกัน โดยในช่วงแรกที่ระดับความลึก 0–15, 16–30, 31–45, 46–60 เซนติเมตรพบอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเฉลี่ย 0.35, 0.37, 0.61, 0.50 ไมโครโมลต่อกรัมดินแห้ง ในช่วงที่สองที่ระดับความลึก 0–15, 16–30, 31–45, 46–60 เซนติเมตรพบอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเฉลี่ย 0.47, 0.44, 0.70, 0.59 ไมโครโมลต่อกรัมดินแห้ง และในช่วงที่สามตรวจพบอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ระดับความลึก 0–15, 16–30, 31–45, 46–60 เซนติเมตร เฉลี่ย 0.21, 0.23, 0.12, 0.18 ไมโครโมลต่อกรัมดินแห้งดังแสดงในตารางที่ 14 โดยในช่วงแรกนั้นอยู่ในช่วง 0-12 วัน ซึ่งเป็นช่วง Zero Reaction เนื่องจากเป็นช่วงที่ทำการศึกษาโดยให้ปริมาณก๊าซมีเทนมากเกินไปเพื่อให้เชื้อเมทาโนโทรฟเจริญอย่างเต็มที่ในช่วงที่เชื้อพยายามปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่เนื่องจากการเปลี่ยนสภาพแวดล้อมจากเดิมที่อาศัยอยู่ในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยมาอยู่ภายในขวดทดลองจึงทำให้การดำเนินกิจกรรมของเชื้อเมทาโนโทรฟในการออกซิไดส์ก๊าซมีเทนทำได้ไม่เต็มที่ (lag phase) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการลดลงของปริมาณมีเทนใน

ช่วงแรกนั้นเป็นช่วงที่แทบจะไม่มี การเปลี่ยนแปลงของปริมาณก๊าซมีเทน สำหรับในช่วงที่สองนั้นจะเป็นช่วงวันที่ 12-33 ซึ่งพบว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากเชื้อเมทาโนโทรฟสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ได้แล้วอีกทั้งเซลล์ยังอยู่ภายใต้สภาวะที่มีปริมาณของอาหารพอเพียง (ก๊าซมีเทน) จึงทำให้เชื่อกันว่าการเพิ่มทั้งในด้านของน้ำหนักและจำนวนอย่างรวดเร็วโดยการแบ่งตัวแบบแบ่งเซลล์ (Binary Fission) จึงทำให้กิจกรรมของเซลล์ในการเกิดมีเทนออกซิเดชันเกิดขึ้นในอัตราที่สูงกว่าระยะเวลาอื่นๆ และช่วงที่สามคือตั้งแต่วันที่ 33 จนปริมาณก๊าซมีเทนกลายเป็นศูนย์ซึ่งจะเห็นได้ว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าลดลงเนื่องจากปริมาณอาหารที่เชื้อเมทาโนโทรฟจะนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการดำรงชีพและเป็นแหล่งพลังงานของเซลล์ซึ่งก็คือก๊าซมีเทนมีค่าลดลงจนไม่เพียงพอต่อปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟที่อาศัยอยู่ในขวดทดลองจึงทำให้เกิดภาวะแข่งขันในการแย่งอาหารเพื่อการดำรงชีพของเซลล์และเมื่อปริมาณอาหารลดลงเป็นศูนย์ก็จะทำให้เซลล์ต้องดึงอาหารที่เก็บไว้ในเซลล์มาใช้ในการดำรงชีพจึงทำให้เซลล์อยู่ในสภาพที่ไม่แข็งแรงและดำเนินกิจกรรมของเซลล์ได้ไม่เต็มที่จึงทำให้อัตราการลดลงของก๊าซมีเทนลดลงจนกลายเป็นศูนย์

ตารางที่ 14 อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในช่วงเวลาต่างๆ

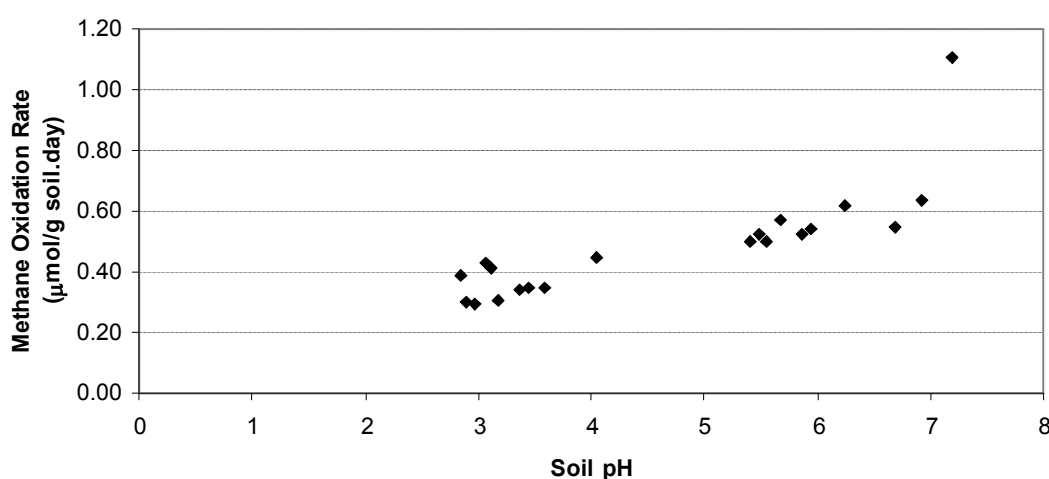
Days	Methane Oxidation Rate ($\mu\text{mol} / \text{g soil.day}$)			
	0-15 cm.	16-30 cm.	31-45 cm.	46-60 cm.
0-12	0.35	0.37	0.61	0.50
12-33	0.47	0.44	0.70	0.59
33 เป็นต้นไป	0.21	0.23	0.12	0.18

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าในการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆ คือ 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรจะต้องทำการศึกษ้อัตราการลดลงของปริมาณก๊าซมีเทนในระยะแรกเนื่องจากเชื้อเมทาโนโทรฟในดินกลบทับชั้นสุดท้ายยังคงคุ้นเคยกับสภาวะแวดล้อมเดิมที่เคยอาศัยและยังไม่ปรับสภาพเข้าสู่สิ่งแวดล้อมใหม่และเพิ่มจำนวนเซลล์จนทำให้อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันมีค่าสูงกว่าในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาโดยค่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยนี้มีค่าเฉลี่ยดังแสดงในภาพที่ 12

โดยเมื่อนำผลการวิเคราะห์ปริมาณเอ็กสตราเซลลูลาโพลีแซคคาไรด์ (Extracellular Polysaccharides, EPS) มาพิจารณาซึ่งค่านี้สามารถบ่งชี้ได้ถึงกิจกรรมของเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียเนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน (Hilger *et al.*, 1999) โดยมีแนวโน้มสอดคล้องกับปริมาณอีพีเอสในดินดังนั้นจึงสรุปได้ว่ากิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟในดินมีการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ความลึก 31-45 เซนติเมตรสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่ความลึกอื่นๆของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาซึ่งต่างจากงานวิจัยที่ผ่านมาเนื่องจากในงานวิจัยของ Chen *et al.* (2003) ซึ่งทำการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึก 10, 30, 100 และ 300 เซนติเมตร โดยพบว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ระดับความลึก 10 เซนติเมตรมีค่า 5.69 มิลลิโมลต่อกรัมดินแห้งต่อวันและลดลงมาอยู่ที่ 0.69 มิลลิโมลต่อกรัมดินแห้งต่อวันที่ระดับความลึก 30 เซนติเมตร สำหรับที่ระดับความลึก 100 และ 300 เซนติเมตร พบว่ามีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ 0.44 และ 0.41 มิลลิโมลต่อกรัมดินแห้งต่อวันตามลำดับ โดยสรุปได้ว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจะมีค่าสูงสุดในบริเวณด้านบนของพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยและลดลงตามระดับความลึก นอกจากนี้ Svenning *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยในดินกลบทับชั้นสุดท้ายที่ระดับความลึก 20 เซนติเมตรแรกโดยทำการเปรียบเทียบอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในฤดูกาลต่างๆพบว่าในเดือนกรกฎาคมมีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน 44.64 ± 0.9 ไมโครโมลต่อกรัมดินแห้งต่อวันและตรวจพบอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในเดือนกันยายนซึ่งเป็นช่วงหน้าหนาวมีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันลดลงเหลือ 8.82 ± 1.62 ไมโครโมลต่อกรัมดินแห้งต่อวันโดยสรุปได้ว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจะพบได้สูงสุดในช่วงฤดูฝน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Bodelier *et al.* (2004) โดยได้ทำการศึกษาอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ชุ่มน้ำ (wet lands) ที่ระดับความลึก 0-5, 5-10 และ 10-20 เซนติเมตรพบว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเท่ากับ 16.8, 15.2 และ 8.4 ไมโครโมลต่อกรัมดินต่อวัน จากงานวิจัยเกี่ยวกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันของนักวิจัยท่านอื่นๆจะเห็นได้ว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันจะมีค่าลดลงตามระดับความลึกและมีค่าสูงกว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในดินกลบทับชั้นสุดท้ายในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย

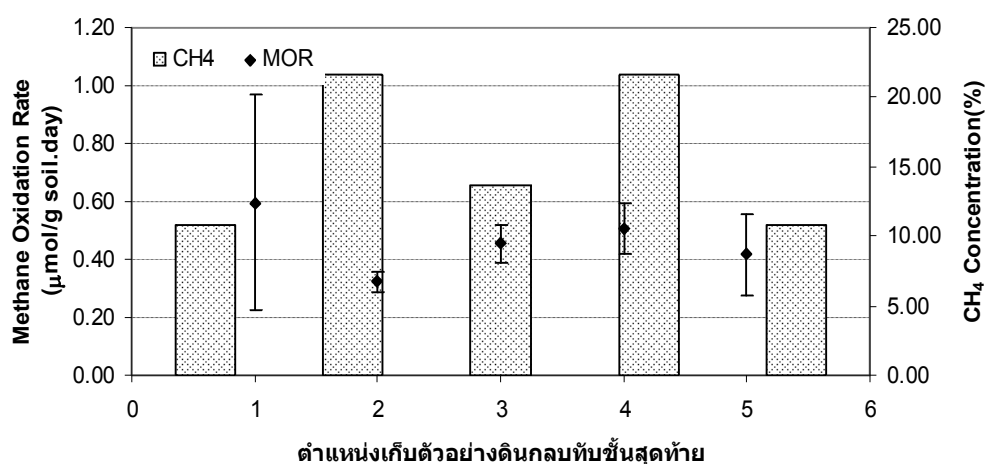
อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี และเห็นได้ว่าจากค่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันซึ่งเก็บตัวอย่างดินในช่วงฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม) ซึ่งเป็นช่วงที่มีการเกิดมีเทนออกซิเดชันสูงสุดกลับพบอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันต่ำโดยเฉพาะที่ระดับความลึก 0-15 และ 16-30 เซนติเมตร และมีค่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ต่ำกว่าระดับความลึก 31-45 เซนติเมตร และ 46-60 เซนติเมตรทั้งนี้น่าจะมีสาเหตุมาจากปัจจัยที่มีผลให้เชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้เต็มที่ในสภาพความเป็นกรดจัดซึ่งเป็นลักษณะของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึก 0-30

เซนติเมตร (3.09 ± 0.24 ถึง 3.82 ± 0.96) แต่สำหรับที่ระดับความลึก 31–60 เซนติเมตร มีค่าความเป็นกรดอ่อน (6.27 ± 0.69 ถึง 5.93 ± 0.60) จึงน่าจะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟเจริญได้ดีกว่าที่ระดับความลึก 0–15 เซนติเมตรและ 16–30 เซนติเมตรจึงทำให้อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในความลึกที่เป็นกรดอ่อนมีค่าสูงกว่าบริเวณที่มีความเป็นกรดจัดดังแสดงในภาพที่ 13 โดยผลการศึกษ้อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในดินกลบทับชั้นสุดท้ายที่มีความเป็นกรดนี้มีผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Dunfield *et al.* (1993) ที่ทำการศึกษในพื้นที่ที่เป็นกรดเช่นกันโดยพบว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ที่เป็นกรดนั้นสามารถเกิดได้ดีที่มีความเป็นกรดต่างประมาณ 6-7 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้โดยในการศึกษาเชื้อเมทาโนโทรฟในเชิงปริมาณนั้นจะได้กล่าวในหัวข้อถัดไป



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยกับความเป็นกรดต่างของดิน

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยในแต่ละจุดที่ทำการเก็บตัวอย่างดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยนั้นพบว่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในจุดที่ 1 มีค่าสูงสุด คือ 0.60 ± 0.37 ไมโครโมลต่อกรัมดินแห้งต่อวัน และจุดที่ 2 มีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันต่ำที่สุด คือ 0.32 ± 0.03 ไมโครโมลต่อกรัมดินแห้งต่อวันโดยเมื่อนำค่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในแต่ละจุดเก็บทำการเปรียบเทียบกับปริมาณก๊าซมีเทนที่ปล่อยออกมาบริเวณท่อระบายก๊าซแล้วพบว่าไม่มีความสัมพันธ์หรือสอดคล้องกันดังแสดงในภาพที่ 14

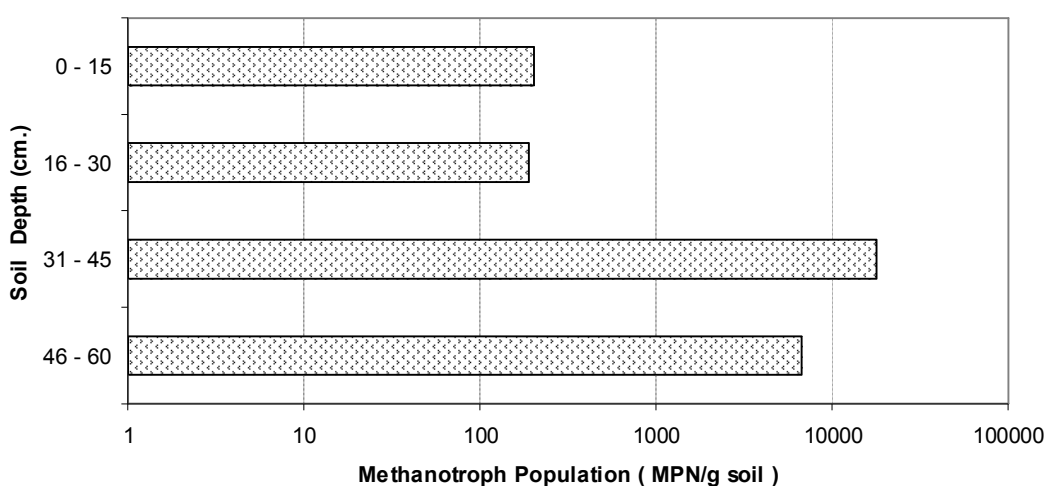


ภาพที่ 14 อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในดินกลบทับชั้นสุดท้ายในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยและปริมาณมีเทนที่ท่อระบายก๊าซ ณ จุดเก็บต่างๆ

3. การตรวจหาปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียด้วยวิธีเอ็มพีเอ็น

การตรวจหาเชื้อเมทาโนโทรฟในเชิงปริมาณโดยอาศัยวิธีการเอ็มพีเอ็นนั้นเป็นการเลี้ยงเชื้อดังกล่าวให้เจริญภายใต้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความจำเพาะกับเชืวดังกล่าว คือ เอ็นเอ็มเอสมีเดีย (NMS Medium) และอยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมอื่นๆที่มีความเหมาะสมเพื่อให้เชื้อเมทาโนโทรฟเจริญได้อย่างเต็มที่ โดยสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียชนิดเมทาโนโทรฟที่ใช้ในการทดลองนี้คือ อุณหภูมิประมาณ 30°C ค่าความเป็นกรดค่าประมาณ 8.3 และเลี้ยงเชืวดังกล่าวให้เจริญเต็มที่ประมาณ 45 วัน ผลการทดสอบพบว่า การนับปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟด้วยวิธีเอ็มพีเอ็นมีแนวโน้มสอดคล้องกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน กล่าวคือ เชื้อเมทาโนโทรฟจากตัวอย่างดินกลบทับมูลฝอยชั้นสุดท้ายในพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึก 31–45 เซนติเมตรพบเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียสูงสุด คือ 17,785.00 เอ็มพีเอ็นต่อกรัมดินแห้ง สำหรับปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียที่มีปริมาณรองลงมา คือ ที่ระดับความลึก 46–60 เซนติเมตร โดยพบเป็นจำนวน 6,758.74 เอ็มพีเอ็นต่อกรัมดินแห้งสำหรับดินกลบทับมูลฝอยชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ความลึก 0–15 เซนติเมตร และ 16–30 เซนติเมตรนั้นมีปริมาณใกล้เคียงกัน คือ 202.16 และ 191.56 เอ็มพีเอ็นต่อกรัมดินแห้งตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 15

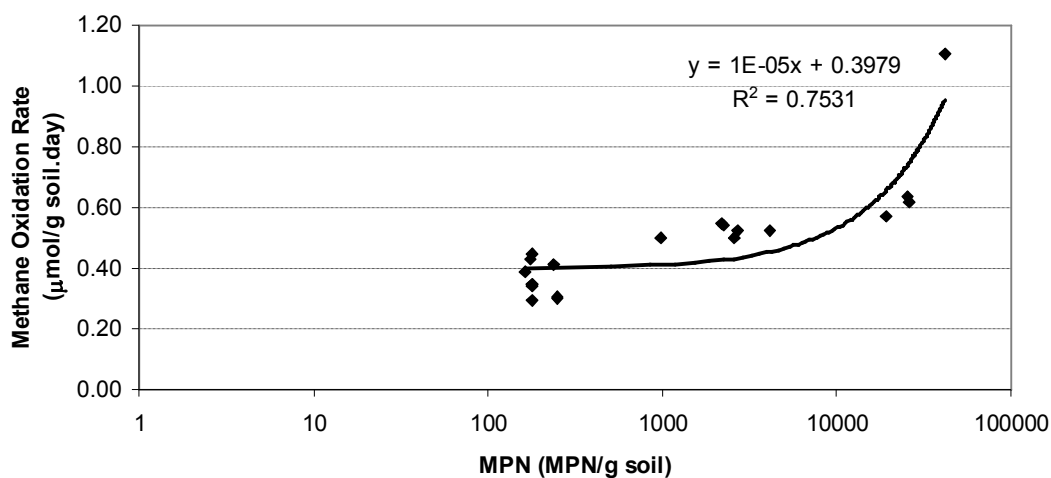
จากผลการศึกษาด้วยวิธีเอ็มพีเอ็นพบว่าปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟที่เลี้ยงให้เติบโตภายใต้สภาวะที่สมบูรณ์ต่อการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟที่ระดับความลึก 31–60 เซนติเมตร มีปริมาณสูงกว่าระดับความลึก 0–15 เซนติเมตรอย่างมีนัยสำคัญซึ่งพบปริมาณสูงสุดที่ระดับความลึก 31–45 เซนติเมตรเช่นเดียวกันกับการตรวจพบกิจกรรมของเชื่อดังกล่าวในการเกิดมีเทนออกซิเดชัน จึงทำให้สามารถบ่งชี้ได้ว่าที่ระดับความลึก 31–45 เซนติเมตรนั้นจะมีเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียสูงสุดจึงทำให้อัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ระดับความลึกนี้มีค่าสูงสุดและสำหรับที่ระดับความลึกอื่นๆก็เช่นกันที่ตรวจพบว่าปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟที่ตรวจวัดด้วยวิธีการเอ็มพีเอ็นมีความสัมพันธ์เป็นไปในทางเดียวกันกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน



ภาพที่ 15 ปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ระดับความลึกต่างๆที่ศึกษาด้วยวิธีเอ็มพีเอ็น

อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อและอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันตามความลึกมีความสัมพันธ์ไม่ชัดเจนนัก โดยเฉพาะในช่วงดินระดับ 0-30 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับดินช่วง 31-60 เซนติเมตร กล่าวคือ จำนวนเมทาโนโทรฟมีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันซึ่งจากงานวิจัยที่ทำการศึกษามาก่อนหน้านี้ อาทิ Svenning *et al.* (2003) ที่ทำการตรวจวัดด้วยวิธีการเอ็มพีเอ็นได้ถึง 2.7×10^6 เอ็มพีเอ็นต่อกรัมดินแห้งในเดือนกรกฎาคม และเดือนกันยายนพบเพียง 4.1×10^5 เอ็มพีเอ็นต่อกรัมดินแห้งตามอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ลดลง สำหรับการทดลองของ Bodelier *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาในพื้นที่ชุ่มน้ำ (wet lands) พบอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันที่ระดับความลึก 0–5 เซนติเมตร เท่ากับ 16.8 ไมโคร

โมลต่อกรัมดินต่อวันและตรวจพบเอมพีเอ็นได้เท่ากับ 5×10^6 เอ็มพีเอ็นต่อกรัมดิน ที่ระดับความลึก 5–10 เซนติเมตรจะมีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน 15.12 ไมโครโมลต่อกรัมดินและมีปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟที่ศึกษาด้วยวิธีการเอ็มพีเอ็นเท่ากับ 1.8×10^6 เอ็มพีเอ็นต่อกรัมดินและที่ระดับความลึก 10–20 เซนติเมตรมีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชัน 8.4 ไมโครโมลต่อกรัมดินและปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟเท่ากับ 1.7×10^6 เอ็มพีเอ็นต่อกรัมดิน นอกจากนี้ในการศึกษาในเชิงเปรียบเทียบถึงปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟในฤดูกาลต่างๆ ในงานวิจัยก่อนหน้านี้ อาทิ Svenning *et al.* (2003) พบว่าปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟจะมีการเจริญสูงสุดและมีอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันสูงสุดในช่วงฤดูฝน ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ผู้ทำการวิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยในช่วงฤดูฝนแต่ผลการทดลองกลับมีปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียที่เรี่ยร้นน้อยมาก ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่เป็นสาเหตุสำคัญดังที่ได้กล่าวมาแล้วก็คือค่าความเป็นกรดด่างที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟ และอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟที่เจริญในอาหารเหลวเอ็นเอ็มเอสมีค่าน้อยน่าจะเนื่องมาจากค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เหมาะสมเนื่องจากในอาหารเหลวเอ็นเอ็มเอสมีค่าพีเอชประมาณ 8.3 ซึ่งเหมาะสำหรับการเจริญของเมทาโนโทรฟที่เจริญในภาวะที่เป็นกลางจึงทำให้เชื้อเมทาโนโทรฟที่อาศัยในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่เจริญในภาวะที่เป็นกรดไม่สามารถเจริญได้อย่างเต็มที่จึงตรวจพบเชื่อดังกล่าวในปริมาณที่ต่ำกว่าที่ควรจะเป็นและจึงเป็นข้อจำกัดในการตรวจวัดเชื้อเมทาโนโทรฟด้วยวิธีการเอ็มพีเอ็นในการวิจัยครั้งนี้โดยเมื่อนำผลการตรวจวัดในเชิงปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟด้วยวิธีการเอ็มพีเอ็นกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในแต่ละตัวอย่างมาหาความสัมพันธ์พบว่าในกรณีที่ไม่มีการตรวจพบเชื้อเมทาโนโทรฟด้วยวิธีเอ็มพีเอ็นนั้นจะพบอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันเท่ากับ 0.3979 ไมโครโมลต่อกรัมดินแห้งต่อวันดังแสดงในภาพที่ 16 ซึ่งเห็นได้ว่าการใช้วิธีการเอ็มพีเอ็นในการตรวจวัดเชิงปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟนี้มีค่าต่ำกว่าความเป็นจริงดังนั้นในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียที่เจริญในดินกลบทับชั้นสุดท้ายที่มีความเป็นกรดจึงควรเตรียมอาหารเหลวเอ็นเอ็มเอสที่มีค่าพีเอชประมาณ 5.5 (Dunfield *et al.*, 2003)



ภาพที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบ มูลฝอยโดยวิธีเอ็มพีเอ็นกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ดังกล่าว

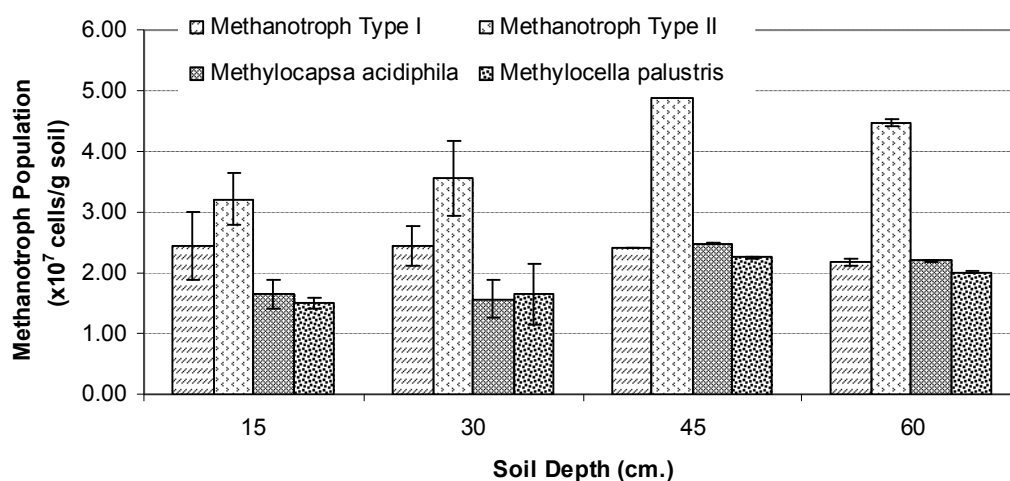
4. การตรวจหาปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียและไนตริไฟอิงแบคทีเรียด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์อินซิติวไฮบริไดเซชัน

ในการศึกษาปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์โดยอาศัยวิธีการฟลูออเรสเซนซ์อินซิติวไฮบริไดเซชัน หรือพีชนั้นอาศัยโพรบที่มีความจำเพาะต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการศึกษา สำหรับเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียก็เช่นกันที่ต้องอาศัยโพรบที่มีความจำเพาะต่อเชื้อดังกล่าวโดยในการทดลองนี้ได้อาศัยโพรบที่มีความจำเพาะต่อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1, เมทาโนโทรฟชนิดที่ 2, เมทาโนโทรฟสายพันธุ์ที่เจริญได้ดีที่สุดในสภาวะที่เป็นกรด คือ *Methylocella palustris* และ *Methylocapsa acidiphila* ซึ่งก็คือ MY84+MY705, MQ450, Mcell-1026 และ Mcaps-1032 ตามลำดับซึ่ง *Methylocella palustris* และ *Methylocapsa acidiphila* นี้จัดเป็นเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 ที่ไม่สามารถตรวจวัดได้ด้วยโพรบ MQ450 นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาเชื้อแบคทีเรียชนิดไนตริไฟอิงในเชิงปริมาณ คือ *Nitrosomonas spp.* และ *Nitrobacter spp.* โดยอาศัยโพรบ NSM-156, NIT-3 ในการศึกษาเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ตามลำดับ ซึ่งแบคทีเรียชนิด *Nitrosomonas spp.* และ *Nitrobacter spp.* จัดเป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทในการเปลี่ยนรูปอนินทรีย์ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียให้เปลี่ยนมาเป็นไนไตรต์และทำการเปลี่ยนรูปไนไตรต์ให้เป็นไนเตรทตามลำดับ

โดยผลการศึกษาในเชิงปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรีน้นพบว่าทุกระดับความลึกนั้นพบปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียชนิดที่ 2 สูงที่สุดเมื่อเทียบกับเชื้อเมทาโนโทรฟ

แบคทีเรียชนิดอื่นๆ โดยที่ความลึก 31–45 เซนติเมตรจะเป็นระดับความลึกที่พบเมทาโนโทรฟแบคทีเรียสูงที่สุด คือ $4.89 \pm 0.79 \times 10^7$ เซลล์ต่อกรัมดินแห้ง รองลงมาคือที่ระดับความลึก 46–60, 16–30, 0–15 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยพบเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียชนิดที่ 2 ปริมาณ $4.48 \pm 0.89 \times 10^7$, $3.56 \pm 0.62 \times 10^7$, $3.22 \pm 0.42 \times 10^7$ เซลล์ต่อกรัมดินแห้งตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 17 ทั้งนี้จากผลการทดลองของ Dedysch *et al.* (2003) ในการใช้ฟิชในการตรวจสอบเชื้อเมทาโนโทรฟในพื้นที่ที่มีความเป็นกรดประมาณ 3.6–4.5 โดยพบปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 จำนวน $0.2 \pm 0.2 \times 10^4$ เซลล์ต่อกรัมดินเปียก, เชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 จำนวน $1.8 \pm 0.1 \times 10^6$ เซลล์ต่อกรัมดินเปียก, *Methylocapsa acidiphila* จำนวน $1.4 \pm 0.5 \times 10^5$ เซลล์ต่อกรัมดินเปียกและ *Methylocella palustris* จำนวน $11.9 \pm 1.1 \times 10^5$ เซลล์ต่อกรัมดินเปียกโดยสรุปได้ว่าเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 สามารถเจริญในภาวะที่เป็นกรดได้ดีกว่าเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 และในสภาวะที่เป็นกรดดังกล่าวยังพบว่าเชื้อเมทาโนโทรฟสามารถเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรดค่าระหว่าง 5.5 – 6.7 (Dedysch *et al.*, 1998a) จึงทำให้ผลการศึกษาพบเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 ที่ระดับความลึกระหว่าง 31–60 เซนติเมตรสูงกว่าที่ระดับความลึก 0–30 เซนติเมตรอย่างมีนัยสำคัญทั้งนี้เนื่องจากเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีกว่าเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ในสภาวะที่เป็นกรด (Dedysch *et al.*, 2000) และเนื่องจากในชั้นดินด้านล่าง (ความลึก 31–60 เซนติเมตร) ของดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบนี้ที่เกิดปฏิกิริยากับความชื้นในดินและเกิดสารประกอบคาร์บอนและไบคาร์บอนในการลดความเป็นกรดในดินลงมาถึง 6.27 ± 0.69 และ 5.93 ± 0.60 จึงทำให้พบเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 อย่างโดดเด่นที่ระดับความลึก 31–45 และ 46–60 เซนติเมตรตามลำดับ นอกจากนี้เหตุผลอีกประการหนึ่ง คือ เชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 เป็นเชื้อที่เจริญได้ดีในภาวะที่มีความเข้มข้นของออกซิเจนต่ำและมีเทนสูง (Hanson and Hanson, 1996) ซึ่งเป็นลักษณะของดินซึ่งอยู่บริเวณด้านล่างของพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย

สำหรับเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียชนิดที่ 1 พบว่าที่ในทุกระดับความลึกในปริมาณใกล้เคียงกัน กล่าวคือ ที่ความลึก 0–15, 16–30, 31–45, 46–60 เซนติเมตรตรวจพบเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ในปริมาณเฉลี่ย $2.44 \pm 0.56 \times 10^7$, $2.44 \pm 0.32 \times 10^7$, $2.41 \pm 0.41 \times 10^7$, $2.18 \pm 0.45 \times 10^7$ เซลล์ต่อกรัมดินแห้งตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 17 สำหรับเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียชนิดที่ 1 ในทุกระดับความลึกไม่มีความแตกต่างกันในเชิงปริมาณเนื่องจากเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ไม่สามารถเจริญได้ดีในภาวะที่เป็นกรดไม่ว่าจะอยู่ในช่วงของความเข้มข้นมากหรือน้อยจึงทำให้ไม่มีความแตกต่างกันในเชิงปริมาณ (Dedysch *et al.*, 2000) ดังแสดงในภาพที่ 16 แต่หากพิจารณารายละเอียดของตัวเลขพบว่า



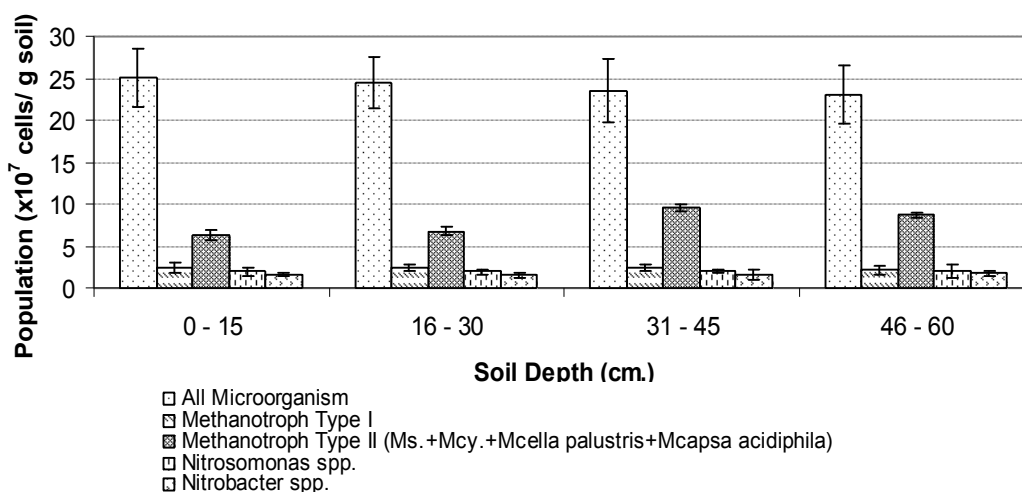
ภาพที่ 17 ปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียชนิดต่างๆที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาในระดับความลึกต่างๆ

เชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 นี้มีปริมาณลดลงตามระดับความลึก ทั้งนี้เนื่องจากในบริเวณด้านบนของดินกลบทับชั้นสุดท้ายของพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยจะมีความเข้มข้นของก๊าซมีเทนต่ำกว่าในชั้นดินด้านล่างและมีความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนสูงกว่าในชั้นดินด้านล่างซึ่งปัจจัยนี้เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้พบเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ในชั้นดินด้านบนสูงกว่าชั้นดินในบริเวณด้านล่างเนื่องจากการศึกษาพบว่าเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 สามารถเจริญได้ดีในภาวะที่มีความเข้มข้นของออกซิเจนสูงและมีความเข้มข้นของก๊าซมีเทนต่ำ ในขณะที่เชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียชนิดที่ 2 จะเจริญได้ดีในภาวะที่มีความเข้มข้นของก๊าซมีเทนสูงความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนต่ำ (Hanson and Hanson, 1996)

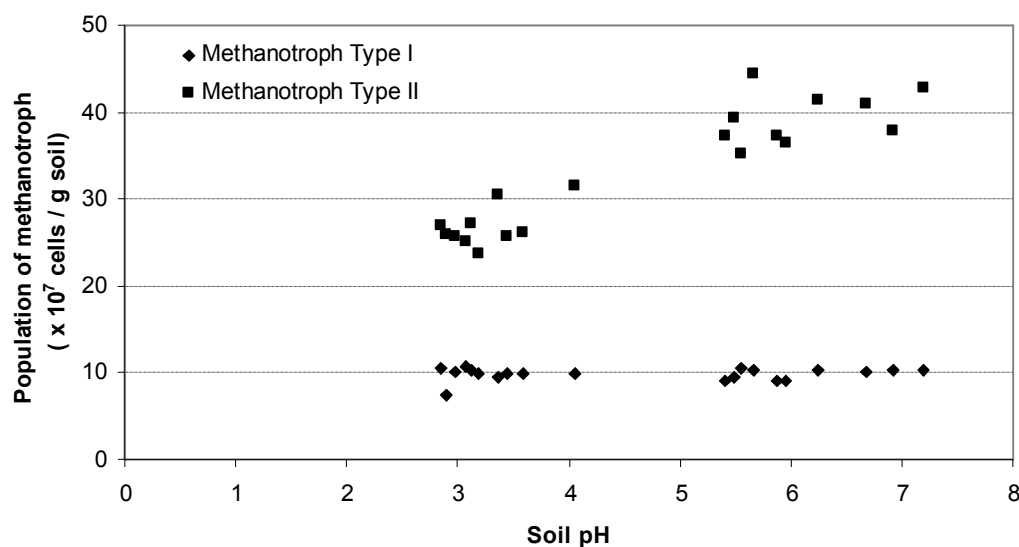
เมื่อพิจารณาถึงเชื้อเมทาโนโทรฟแบคทีเรียที่เจริญในภาวะที่เป็นกรดโดยอาศัย 2 สายพันธุ์ที่เป็นตัวแทนของเชื้อเมทาโนโทรฟดังกล่าวอีกทั้งยังเป็นเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 คือ *Methylocella palustris* และ *Methylocapsa acidiphila* โดยพบว่าเชื้อเมทาโนโทรฟ *Methylocella palustris* ที่ความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรเฉลี่ย $1.49 \pm 0.09 \times 10^7$, $1.64 \pm 0.49 \times 10^7$, $2.26 \pm 0.50 \times 10^7$, $2.01 \pm 0.28 \times 10^7$ เซลล์ต่อกรัมดินแห้งตามลำดับและตรวจพบเชื้อ *Methylocapsa acidiphila* ที่ความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรเฉลี่ย $1.64 \pm 0.23 \times 10^7$, $1.57 \pm 0.31 \times 10^7$, $2.48 \pm 0.50 \times 10^7$, $2.28 \pm 0.01 \times 10^7$ เซลล์ต่อกรัมดินแห้งตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 17 เห็นได้ว่า *Methylocella palustris* และ *Methylocapsa acidiphila* ตรวจพบได้มากที่สุดที่ระดับความลึก 31-60

เซนติเมตร ทั้งนี้เนื่องมาจากค่าความเป็นกรดด่างที่มีค่าเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ โดย Dedysh *et al.* (1998a) พบว่าเชื้อเมทาโนโทรฟ *Methylocella palustris* และ *Methylocapsa acidiphila* นั้นเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ดีในช่วงค่าความเป็นกรดด่างระหว่าง 5.5-6.7 จึงทำให้ตรวจพบเชื้อเมทาโนโทรฟทั้งสองสายพันธุ์ในระดับความลึกดังกล่าวสูงกว่าที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตรอย่างมีนัยสำคัญ

ทั้งนี้หากพิจารณาปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 ทั้งหมดที่ทำการศึกษากับด้วยโปรบ MQ450, Mcell-1026 และ Mcap-1032 เห็นได้ว่าเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 มีความโดดเด่นในพื้นที่ดังกล่าวเป็นอย่างมาก กล่าวคือ ที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรพบปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 ทั้งหมด $6.36 \pm 0.61 \times 10^7$, $6.78 \pm 0.52 \times 10^7$, $9.63 \pm 0.37 \times 10^7$, $8.68 \pm 0.24 \times 10^7$ เซลล์ต่อกรัมดินแห้งดังแสดงในภาพที่ 18 โดยเฉพาะที่ระดับความลึก 31-60 เซนติเมตรอย่างมีนัยสำคัญด้วยเหตุผลสำคัญคือจากค่าความเป็นกรดด่างในช่วงที่เป็นกรดซึ่งเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 สามารถปรับตัวได้ดีกว่าเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ทำให้ตรวจพบเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 ในปริมาณที่สูงกว่าเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 ดังแสดงในภาพที่ 19



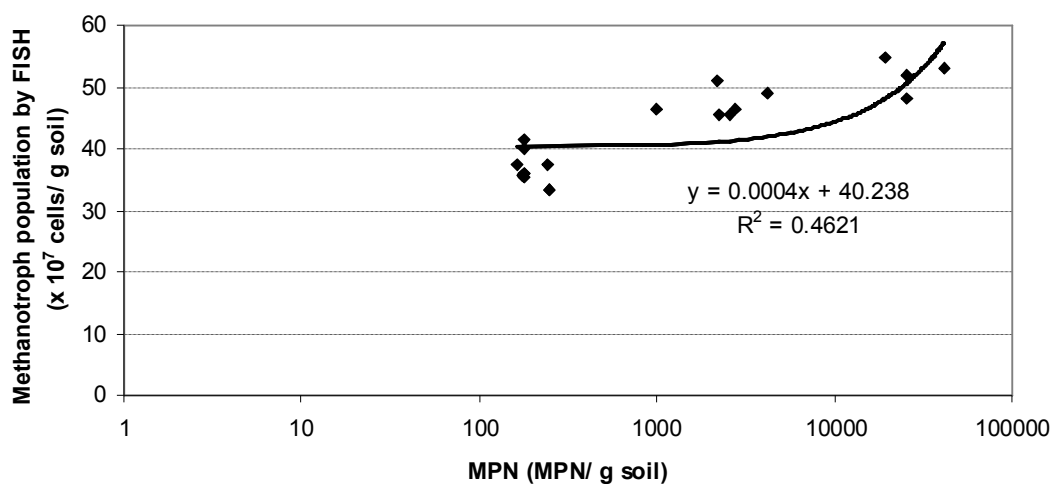
ภาพที่ 18 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด Methanotroph type I, Methanotroph type II, *Nitrosomonas* spp., *Nitrobacter* spp. ที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาที่ความลึกต่างๆ



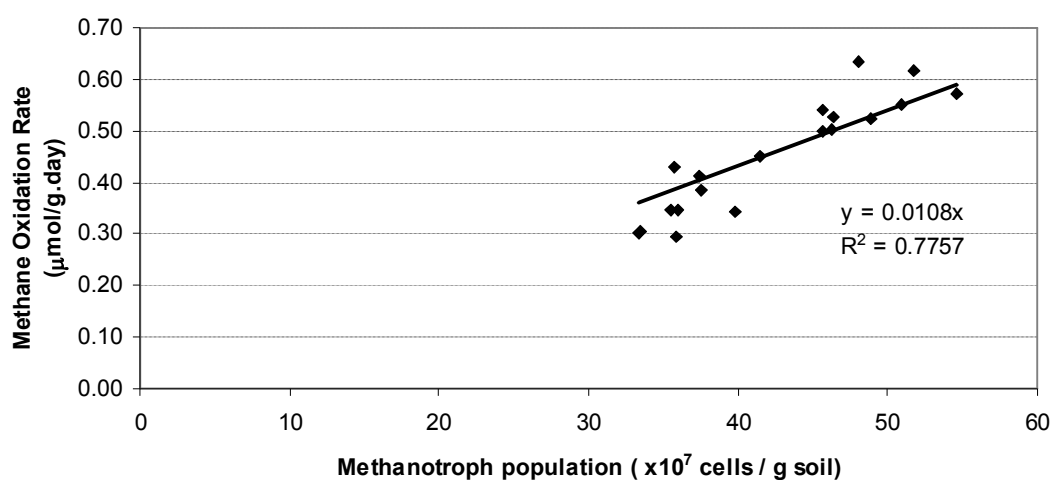
ภาพที่ 19 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 และ 2 ในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยกับความเป็นกรดด่างของดิน

จากปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟที่การศึกษาในเชิงปริมาณด้วยวิธีการเอ็มพีเอ็นและพีชนั้นจะเห็นได้ว่าปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟจากการศึกษาด้วยวิธีพีชและเอ็มพีเอ็นนั้นไม่มีความสัมพันธ์สอดคล้องในแนวทางเดียวกันดังแสดงในภาพที่ 20 ($R^2 < 0.75$) จึงสามารถบ่งชี้ได้ว่าวิธีการศึกษาในการจำแนกชนิดและศึกษาเชื้อเมทาโนโทรฟในเชิงปริมาณด้วยวิธีการพีชมีความเหมาะสมในการตรวจนับปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟในการศึกษานี้ ทั้งนี้จากค่าอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในตัวอย่างดินที่มีความเป็นกรดก็มีความสัมพันธ์สอดคล้องและเป็นไปในทางเดียวกันกับปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟที่ตรวจพบโดยวิธีพีชดังแสดงในภาพที่ 21

สำหรับแบคทีเรียในกลุ่มไนตริไฟอิงนั้นพบว่าที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตร ตรวจพบไนโตรโซโมแนสเฉลี่ย $1.95 \pm 0.57 \times 10^7$, $2.00 \pm 0.24 \times 10^7$, $2.09 \pm 0.77 \times 10^7$, $1.99 \pm 0.77 \times 10^7$ เซลล์ต่อกรัมดินแห้งตามลำดับและมีปริมาณไนโตรแบคเตอร์แบคทีเรียที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรเฉลี่ยอยู่ $1.61 \pm 0.23 \times 10^7$, $1.55 \pm 0.60 \times 10^7$, $1.71 \pm 0.32 \times 10^7$, $1.79 \pm 0.03 \times 10^7$ เซลล์ต่อกรัมดินแห้งตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 18 โดยเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่มไนตริไฟอิงที่พบในทุกๆระดับความลึกนั้นมีปริมาณไม่สูงมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของเชื้อเมทาโนโทรฟที่ทำการศึกษาแต่จากการศึกษาถึงปริมาณสารอนินทรีย์ไนโตรเจน



ภาพที่ 20 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบ
มูลฝอยที่ทำการศึกษาด้วยวิธีการเอ็มพีเอ็นและฟิช



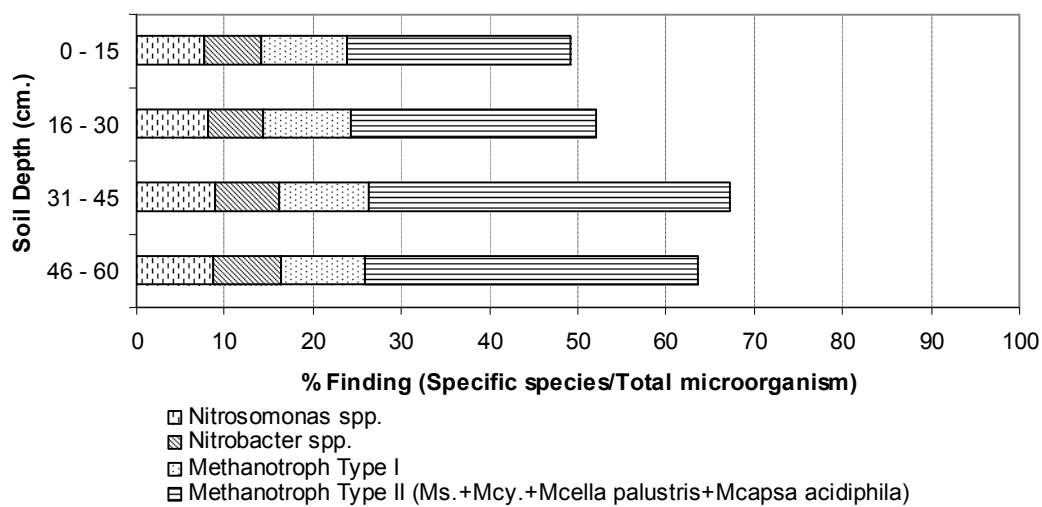
ภาพที่ 21 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อเมทาโนโทรฟในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบ
มูลฝอยที่ทำการศึกษาด้วยวิธีฟิชกับอัตราการเกิดมีเทนออกซิเดชันในพื้นที่ดังกล่าว

ในกลุ่มของแอมโมเนียมและไนไตรต์ที่พบในปริมาณต่ำในทุกระดับความลึกและตรวจพบปริมาณสารอินทรีย์ในดินในปริมาณที่สูงจึงสามารถบอกเป็นนัยได้ว่าการใช้แอมโมเนียมและไนไตรต์โดยเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองไปแล้วบางส่วนและด้วยปริมาณของแหล่งอาหารที่พบต่ำนี้จึงทำให้ในภายหลังที่ไนโตรโซโมแนสและไนโตรแบคเตอร์แบคทีเรียใช้แอมโมเนียมและไนไตรต์เป็นแหล่ง

อาหารจนหมดแล้วแบคทีเรียดังกล่าวจะลดจำนวนลงเนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องของแหล่งอาหารและพลังงานในการดำรงชีพของจุลินทรีย์ทั้งสอง

สำหรับปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝั่งกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษพบว่าที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตร มีเชื้อจุลินทรีย์อาศัยเฉลี่ย $25.07 \pm 3.47 \times 10^7$, $24.54 \pm 3.04 \times 10^7$, $23.56 \pm 0.72 \times 10^7$, $23.03 \pm 0.42 \times 10^7$ เซลล์ต่อกรัมดินแห้งดังแสดงในภาพที่ 18 ซึ่งมีปริมาณที่ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาที่ผ่านมาเนื่องจากความเป็นกรดในดิน โดยการศึกษาของ Dedysh *et al.* (2003) โดยใช้เทคนิคพีชในการตรวจปริมาณเชื้อในพื้นที่ที่เป็นกรด (Peatlands) ซึ่งมีค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 3.6-4.5 ที่ความลึก 10-15 เซนติเมตรซึ่งพบปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด $4.5 \pm 0.4 \times 10^8$, $1.7 \pm 0.2 \times 10^8$ ในไซบีเรียตอนใต้และเยอรมันนีตอนเหนือตามลำดับ นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าปริมาณของเชื้อที่ตรวจพบมีค่าลดลงตามระดับความลึกเนื่องจากปริมาณของออกซิเจนที่ลดลงตามระดับความลึกจึงทำให้พบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในชั้นดินด้านล่างต่ำกว่าด้านบน

โดยเมื่อเปรียบเทียบปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับปริมาณของเชื้อทั้งหมดในตัวอย่างดินที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝั่งกลบมูลฝอย พบว่า ที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรมีไนโตรโซโมแนสอยู่ร้อยละ 7.76, 8.15, 8.87, 8.66 ตามลำดับ สำหรับไนโตรแบคเตอร์พบปริมาณร้อยละ 6.44, 6.31, 7.26, 7.78 ตามลำดับ เชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 1 มีปริมาณร้อยละ 9.72, 9.93, 10.25, 9.45 ตามลำดับ เชื้อเมทาโนโทรฟชนิดที่ 2 มีปริมาณร้อยละ 25.35, 27.62, 40.89, 37.71 ตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 22 โดยพบว่าปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่มีได้ทำการศึกษและอาศัยในดินกลบทับชั้นสุดท้ายที่ระดับความลึกต่างๆมีปริมาณเชื้ออยู่ร้อยละ 49.27, 52.01, 67.27, 63.60 ที่ระดับความลึก 0-15, 16-30, 31-45, 46-60 เซนติเมตรตามลำดับ โดยเห็นได้ว่าปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่อาศัยในพื้นที่ที่ทำการศึกษานี้ คือ เชื้อแบคทีเรียกลุ่มเมทาโนโทรฟ



ภาพที่ 22 สัดส่วนของ *Nitrosomonas spp.*, *Nitrobacter spp.*, Methanotroph type I, Methanotroph type II เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในดินกลบทับชั้นสุดท้ายพื้นที่ฝังกลบมูลฝอยที่ทำการศึกษาที่ความลึกต่างๆ