



การปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสด้วยวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้ง: แนวทางการเพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อการผลิตแก๊สชีวภาพอย่างยั่งยืน

Lignocellulosic Biomass Pretreatment with Spent Mushroom Substrate: An Agricultural Residue Valorization Approach for Sustainable Biogas Production

ปฐมพร พูลสวัสดิ์¹, ปัญญกฤช ลาภบริสุทธิ^{1*}

Patomporn Pulsawad¹, Pannagrit Lapborisut^{1*}

¹สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, จังหวัดปทุมธานี 12120

¹Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), 35 Mu 3 Technopolis, Tambon Khlong Ha, Amphoe Khlong Luang, Pathum Thani 12120, THAILAND

*Corresponding author: Tel.: +66-8-55648289, E-mail: pannagrit@hotmail.com

บทคัดย่อ

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตพลังงานทดแทนสามารถช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมและเพิ่มมูลค่าให้กับทรัพยากรชีวมวลที่มีอยู่ในประเทศ วัสดุเหลือทิ้งชีวมวลประเภทใบอ้อยจัดเป็นแหล่งชีวมวลที่สำคัญ แต่การนำมาใช้ผลิตแก๊สชีวภาพยังมีข้อจำกัดสำคัญจากโครงสร้างที่ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในสัดส่วนสูง ส่งผลให้การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักเกิดขึ้นได้ช้าและมีประสิทธิภาพต่ำ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพการใช้วัสดุเพาะเห็ดนางรมเหลือทิ้งเป็นแหล่งจุลินทรีย์และเอนไซม์ธรรมชาติสำหรับการปรับสภาพใบอ้อยก่อนเข้าสู่กระบวนการหมัก เพื่อเพิ่มอัตราการย่อยสลายและประสิทธิภาพในการผลิตแก๊สชีวภาพ

การทดลองได้นำใบอ้อยมาผ่านกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยการผสมกับวัสดุเพาะเห็ดนางรมเหลือทิ้งในอัตราส่วน 1:1 และเปรียบเทียบกับใบอ้อยที่ไม่ได้รับการปรับสภาพรวมถึงเปรียบเทียบความสามารถในการปรับสภาพของเส้นใยราเหลือทิ้งเปรียบเทียบกับหัวเชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมใหม่ทั้งในสภาวะปราศจากเชื้อและสภาวะที่มีเชื้อธรรมชาติเจือปน วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบลิกโนเซลลูโลสรวมถึงน้ำตาลรีดิวซ์และความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD) ซึ่งเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพ รวมทั้งการวิเคราะห์ศักยภาพในการผลิตแก๊สมีเทนโดยอาศัยตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานบำบัดน้ำเสียในระบบไร้ออกซิเจน ผลการทดลองพบว่าการปรับสภาพระยะเวลา 30 วัน ใบอ้อยที่ผสมกับวัสดุเพาะเห็ดนางรมเหลือทิ้งสามารถปลดปล่อยแก๊สชีวภาพสะสมได้ $26.6 \pm 5.8 \text{ L kg}^{-1}$ VS สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทั้งในด้านปริมาณแก๊สมีเทน ความเร็วในการเริ่มต้นกระบวนการหมัก รวมถึงประสิทธิภาพโดยรวมของการเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้เป็นแก๊สชีวภาพเมื่อเปรียบเทียบกับใบอ้อยเพียงอย่างเดียวที่ $3.3 \pm 3.4 \text{ L kg}^{-1}$ VS นอกจากนี้การใช้วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้งเพื่อการปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลสสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตแก๊สมีเทนได้ใกล้เคียงกับการหัวเชื้อบริสุทธิ์ในการปรับสภาพที่ $29.0 \pm 5.5 \text{ L kg}^{-1}$ VS อีกทั้งยังเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับสภาพได้ดีแม้ว่าจะมีเชื้อจุลินทรีย์อื่นในธรรมชาติอยู่ด้วย ในขณะที่การใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ในสภาวะปนเปื้อนเชื้อธรรมชาติประสิทธิภาพผลิตแก๊สมีเทนลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่ $9.2 \pm 2.7 \text{ L kg}^{-1}$ VS ภายในระยะเวลาการผลิตมีเทน 25 วัน

ผลการศึกษาระบุถึงศักยภาพของการนำวัสดุเพาะเห็ดนางรมเหลือทิ้งมาใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์และเอนไซม์สำหรับการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยเฉพาะใบอ้อยที่มีปริมาณมากในภาคการเกษตรไทย ไม่เพียงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพ แต่ยังเป็นแนวทางในการจัดการของเสียอย่างครบวงจร ลดภาระสิ่งแวดล้อม และส่งเสริมการใช้ทรัพยากรชีวมวลอย่าง

Received: September 12, 2025

Revised: October 07, 2025

Accepted: October 14, 2025

Available online: December 22, 2025

คัมค่า งานวิจัยนี้จึงมีความสำคัญในการพัฒนาระบบพลังงานทดแทนที่ยั่งยืน และสามารถประยุกต์ใช้ในระดับชุมชนและอุตสาหกรรมเพื่อเพิ่มความมั่นคงทางพลังงานในอนาคต

คำสำคัญ: ลิกโนเซลลูโลส, การปรับสภาพกระบวนการทางชีวภาพ, แก๊สชีวภาพ

Abstract

The utilization of agricultural residues for renewable energy production offers a dual benefit of reducing environmental impacts and enhancing the value of domestic biomass resources. Sugarcane leaves are an abundant lignocellulosic residue in Thailand but their recalcitrant structure, rich in cellulose, hemicellulose, and lignin, limits microbial degradation and results in low biogas yields. This study investigated the potential of spent oyster mushroom substrate (SMS) as a natural source of microorganisms and enzymes for pretreating sugarcane leaves prior to anaerobic digestion. Pretreatment was performed by mixing sugarcane leaves with SMS at a 1:1 ratio and compared with untreated leaves. The performance of residual fungal mycelia in SMS was further evaluated against newly prepared pure inocula under both sterile and non-sterile conditions. Lignocellulosic composition, reducing sugars, and chemical oxygen demand (COD) were analyzed, and methane potential was assessed using anaerobic sludge from a wastewater treatment plant. Results revealed that SMS pretreatment significantly enhanced biogas production, with higher methane yield at $26.6 \pm 5.8 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$, faster digestion onset, and improved organic matter conversion efficiency compare to sole sugarcane leaf at $3.3 \pm 3.4 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$. Remarkably, SMS achieved methane productivity comparable to pure inoculum at $29.0 \pm 5.5 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$ and retained efficiency under natural microbial contamination, while pure inoculum showed reduced performance in non-sterile conditions at $9.2 \pm 2.7 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$. These findings demonstrate that SMS can serve as an effective, low-cost pretreatment agent for lignocellulosic biomass, particularly sugarcane leaves, thereby enhancing methane production while simultaneously contributing to sustainable waste management. The approach supports circular bioeconomy principles and offers a scalable solution for improving energy security at community and industrial levels.

Keywords: Lignocellulosic materials, Biological pretreatment, Biogas production

1 บทนำ

สถานการณ์ด้านพลังงานในปัจจุบันมีความต้องการพลังงานที่เพิ่มขึ้นจากการเพิ่มของจำนวนประชากรและการเติบโตทางเศรษฐกิจ จากการคาดการณ์ถึงปริมาณการใช้พลังงานทดแทนเพื่อเป็นพลังงานทางเลือกเพิ่มสูงขึ้น 85% ในปี 2050 (Abraham et al., 2020) ตัวอย่างของพลังงานทางเลือกได้แก่ ลม แสงแดด น้ำ และชีวมวลของพืชพลังงานรวมทั้งวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เนื่องด้วยประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมส่งผลให้มีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก ได้แก่ ฟางข้าว ชังข้าวโพด ชานอ้อยและใบอ้อย ดังนั้นจึงสร้างแนวความคิดในการใช้นวัตกรรมในการจัดการวัสดุเหลือทิ้งเพื่อนำมาเป็นแหล่งพลังงานทดแทนจากแหล่งพลังงานที่ได้จากฟอสซิล แปลรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชีวมวลมูลค่าเพิ่ม เช่นการนำไปผลิตเป็นชีวมวลอัดแท่ง

เพื่อใช้เป็นพลังงาน การนำเข้าระบบเผาไหม้เพื่อให้ได้แก๊สพลังงาน (Gasification) หรือการใช้เทคโนโลยีการย่อยสลายชีวมวลด้วยกระบวนการทางชีวภาพแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic digestion) เพื่อผลิตแก๊สชีวภาพ

ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกอ้อยรวมทั้งสิ้น 11,125,480 ไร่ การทำเกษตรไร้อ้อยที่ผ่านมาซึ่งโดยเฉลี่ยไร้อ้อยมีใบสดประมาณ 1.56 ตันต่อไร่ และ 2.45 ตันใบแห้งต่อไร่ (ชัยวัฒน์ และปจรรย์, 2554) เนื่องด้วยลักษณะของใบอ้อยที่มีความสาก คม จึงเป็นอุปสรรคสำคัญในการจัดการวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เพื่อให้เกิดความสะดวกและรวดเร็วในการจัดการ เกษตรกรใช้วิธีการจัดการวัสดุเหลือทิ้งหลังการเก็บเกี่ยวด้วยการเผาในพื้นที่เพาะปลูก อย่างไรก็ตามการเผาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้ก่อให้เกิดความร้อนและฝุ่นละอองลอยตัวกระจายในอากาศสูงกว่า 2,250 เมตร สามารถลอยไปได้ไกลถึง 16 กิโลเมตร เป็น

สาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดฝุ่นละออง (สำนักคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2565) โดยเฉพาะฝุ่นขนาดเล็ก (PM 2.5) ซึ่งเป็นสาเหตุที่สำคัญของมลพิษทางอากาศ ส่งผลอย่างต่อเนื่องกับปัญหาสุขภาพของประชาชนในบริเวณโดยรอบ ในปัจจุบันได้มีมาตรการจากรัฐบาลในการกำหนดนโยบายเรื่องการกำจัดมลพิษทางอากาศเพื่อลดปริมาณการเผาอ้อยสดรวมถึงสนับสนุนการเพิ่มมูลค่าให้กับทรัพยากรชีวภาพเช่นการอัดก้อนใบอ้อยสดและส่งขายให้กับโรงไฟฟ้าชีวมวล การประยุกต์ใช้เป็นสารตั้งต้นของการผลิตพลาสติกชีวภาพที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติจากเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร รวมทั้งสนับสนุนส่งเสริมเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตแก๊สชีวภาพ

การผลิตแก๊สชีวภาพโดยอาศัยเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic digestion) ประกอบด้วย 4 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ กระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) เป็นกระบวนการสลายสารอินทรีย์ขนาดใหญ่ เช่น แป้ง ไขมัน โปรตีน ให้มีขนาดเล็กลง กระบวนการอะซิโดจีเนซิส (Acidogenesis) สารอินทรีย์ขนาดเล็กที่ถูกสลายในกระบวนการไฮโดรไลซิส เช่น กรดไขมัน กรดอะมิโน น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว จะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอินทรีย์ประเภทต่างๆ เช่น กรดไขมันระเหยง่าย (Volatile fatty acid: VFA) กระบวนการอะซิโตจีเนซิส (Acetogenesis) เป็นการเปลี่ยนกรดอินทรีย์ขนาดใหญ่ที่ได้จากขั้นอะซิโดจีเนซิสให้กลายเป็นกรดอินทรีย์ขนาดเล็ก ได้ผลิตภัณฑ์ส่วนมากเป็นกรดอะซิติก และแก๊สไฮโดรเจน เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับกระบวนการสุดท้ายเมทาโนจีเนซิส (Methanogenesis) โดยจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่ทำหน้าที่ผลิตแก๊สมีเทน ได้แก่ เมทาโนเจน (Methanogen) อาศัยกรดอินทรีย์ขนาดเล็กหรือแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตแก๊สมีเทน (Meegoda et al., 2018) แต่ด้วยลักษณะวัสดุชีวมวลเหลือทิ้งทางการเกษตรหรือแม้กระทั่งพืชพลังงานซึ่งมีองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสที่มีโครงสร้างซับซ้อนประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินที่มีตรวมนกันเกิด

เป็นโครงสร้างเส้นใยที่มีลิกนินเป็นองค์ประกอบชั้นนอกสุด ด้วยโครงสร้างของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเกิดจากโมเลกุลของน้ำตาลต่อกันเป็นสายพอลิเมอร์ จุลินทรีย์สามารถนำโมเลกุลเหล่านั้นไปใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพได้ แต่การเข้าถึงเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจุลินทรีย์จำเป็นที่จะต้องย่อยสลายลิกนินที่เปรียบเสมือนโครงสร้างป้องกัน โครงสร้างของลิกนินเกิดจากสารประกอบฟีนอลจับตัวกันเป็นสายพอลิเมอร์ที่มีความซับซ้อนสูง มีเพียงจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายลิกนินได้อย่างมีประสิทธิภาพ ถึงกระนั้นการย่อยสลายลิกนินต้องอาศัยระยะเวลาที่ยาวนานภายใต้สภาวะตามธรรมชาติ (Kannah et al., 2021) รวมถึงการย่อยสลายโครงสร้างซับซ้อนของสายพอลิเมอร์ของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเพื่อให้ได้น้ำตาลพร้อมใช้สำหรับจุลินทรีย์ (Khan et al., 2022) ไม่ว่าอาศัยกระบวนการทางกายภาพ เคมีหรืออาศัยเอนไซม์ก็ตาม ส่งผลให้กระบวนการไฮโดรไลซิสองค์ประกอบของวัสดุลิกโนเซลลูโลสเป็นขั้นตอนสำคัญที่กำหนดอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพ (Rouches et al., 2016)

ดังนั้นการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลสสูง จึงได้มีการพัฒนาวิธีการการปรับสภาพวัสดุ (Pretreatment) เพื่อให้จุลินทรีย์สามารถใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวมวลได้ง่ายยิ่งขึ้น การปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลสมีหลายวิธี เช่น ทางกายภาพโดยกระบวนการตัดบดเพื่อลดขนาดของวัสดุเป็นการเพิ่มพื้นที่สัมผัสให้แก่เอนไซม์ เพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ของการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน (Pommier et al., 2010) นอกจากนี้ยังมีการกระบวนการใช้ความร้อนร่วมกับสารเคมีเช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) สำหรับการปรับสภาพวัสดุชีวมวลที่มีองค์ประกอบลิกโนเซลลูโลสสูงเพื่อส่งเสริมกระบวนการย่อยแบบไร้อากาศในการผลิตแก๊สชีวภาพ (Fox et al., 2003; Teghammar et al., 2010) รายละเอียดดังแสดงใน Table 1

Table 1 Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass with High Structural Complexity Prior to Anaerobic Digestion for Biogas Production

Process	Effects on Biomass	Considerations	Process
Physical pretreatment	- Mechanical operations (milling, chopping, shredding) - Radiation (gamma, microwave, etc.) - Other processes such as heat, steam pressure,	- Reduces particle size and increases surface area - Decreases cellulose crystallinity - Reduces polymer bond strength	- High energy consumption - Ineffective in lignin removal - Limited industrial application - No chemical reagents required
Chemical and physico-chemical pretreatment	- Explosion processes: steam explosion, ammonia fiber explosion, CO₂ explosion, SO₄ explosion - Alkali treatment (NaOH, NH₄OH, (NH₄)₂SO₄) - Acid treatment (H₂SO₄, HCl, H₃PO₄) - Gas treatment (ClO₂, NO₂, SO₂) - Oxidizing agents (H₂O₂, O₃)	- Enhances surface area - Effective lignin removal - Reduces cellulose crystallinity - Weakens polymer bonding - Promotes efficient hemicellulose hydrolysis	- Widely applied at industrial scale - Rapid pretreatment rate - Requires harsh operational conditions - Involves chemical usage
Biological pretreatment	- Microorganisms - Enzymatic treatment	- Degrades lignin - Reduces polymer bonding - Facilitates hemicellulose hydrolysis	- Low energy requirement - No chemical input - Environmentally friendly - Relatively slow process - Limited industrial application

ที่มา: (Dobre et al. 2014; Taherzadeh and Karimi 2008)

อย่างไรก็ตามวิธีการปรับปรุงสภาพด้วยกระบวนการทางกายภาพและทางเคมี มีข้อจำกัดในเรื่องการใช้พลังงานที่สูง รวมทั้งการใช้สารเคมีที่ก่อให้เกิดของเสีย ทั้งยังเพิ่มต้นทุนค่าใช้จ่ายทั้งการผลิตและการจัดการของเสีย ดังนั้นการพัฒนาวิธีการปรับปรุงสภาพด้วยกระบวนการทางชีวภาพ มุ่งเน้นการลดค่าใช้จ่ายในการจัดการและการใช้พลังงานที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการทางกายภาพและกระบวนการทางเคมี ทั้งยังก่อให้เกิดสารเคมีที่เป็นมลพิษปนเปื้อนในระบบน้อย นับว่าเป็นประเด็นสำคัญของกระบวนการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในการจัดการวัสดุชีวมวลธรรมชาติที่มีปริมาณลิกโนเซลลูโลสสูง (Usman et al., 2020; Usman et al., 2021)

รายงานการวิจัยระบุว่าเชื้อราสายพันธุ์ต่างๆ เช่น ราในกลุ่มราผุขาว (White-rot fungi) ได้แก่ *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* และ *Ceriporiopsis subvermispora* มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายลิกนินได้โดยผ่านกระบวนการใช้เอนไซม์ (Extracellular peroxidase และ Laccase) (Bugget et al., 2011) มีรายงานวิจัยพบเอนไซม์และจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสได้ในวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้ง (Spent mushroom substrate: SMS) สามารถนำมาต่อยอดใช้งานได้หลากหลายรูปแบบไม่ว่าจะเป็นการนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ เป็นวัสดุเพาะเห็ดรอบต่อไป ใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดิน แหล่งของสารสกัดที่สำคัญทางชีวภาพ ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ แอลกอฮอล์ ไฮโดรเจน เป็นต้น (Ma et al., 2025)

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการใช้วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดนางรม *Pleurotus ostreatus* เป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับปรับปรุงสภาพเศษวัสดุชีวมวลเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทใบอ้อยและยอดอ้อยด้วยกระบวนการและเทคนิคทางชีวภาพเพื่อให้มีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับเป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพ เป็นแนวทางการเพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยการใช้ประโยชน์ให้เกิดประโยชน์ แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชีวมวลมูลค่าเพิ่มในรูปพลังงานทางเลือกซึ่งสามารถนำมาเป็นพลังงานหมุนเวียนใช้ในระบบ ลดปัญหาจากการกำจัดวัสดุเหลือทิ้งที่ผิดวิธี ส่งเสริมให้เกิดการทำการเกษตรอย่างครบวงจรซึ่งเป็นรูปแบบของการทำการเกษตรอย่างยั่งยืน

2 อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างในพื้นที่

ตัวอย่างใบอ้อยได้รับความอนุเคราะห์จากไร่อ้อยในพื้นที่บ้านหนองตอนไทย อำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดชัยภูมิ เป็นอ้อยสายพันธุ์ขอนแก่น 3 ระยะเวลาปลูกประมาณ 8 เดือน ผ่านการเก็บเกี่ยวโดยอาศัยแรงงานคนตัด ลักษณะใบอ้อยมีใบเรียวยาวและยังคงมีความสดอยู่ การเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ โดยการตากให้ใบอ้อยแห้งตามธรรมชาติ ใบอ้อยที่แห้งถูกนำมาปั่นบดหยาบให้ได้ขนาดประมาณ 0.5-2 mm (ดังแสดงใน Figure 1) ถูกจัดเก็บที่อุณหภูมิห้องก่อนการใช้งาน วัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดนางรมได้รับความอนุเคราะห์จากฟาร์มเห็ดในจังหวัดลพบุรี สภาพก่อนเห็ดถูกเปิดดอกเห็ดแล้ว ก่อนเห็ดถูกนำมาเพาะเลี้ยงต่อให้ดอกออกอีกประมาณ 2-3 รอบ ใช้ระยะเวลาประมาณ 2-3 สัปดาห์ ก่อนเห็ดถูกนำมาตัดบดหยาบๆ ให้มีขนาดเล็กลง (ดังแสดงใน Figure 2) จัดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ตัวอย่างใบอ้อยและวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งนำมาวิเคราะห์ Proximate analysis, Ultimate analysis ตามมาตรฐาน ASTM D 7582, D 5373, D 4239, D 5865 และวิเคราะห์องค์ประกอบลิกโนเซลลูโลสด้วยวิธีการทดสอบ Neutral detergent fiber (NDF), Acid detergent fiber (ADF) และ Acid detergent lignin (ADL) (Mertens, 2002., Möller, 2009., AOAC, 2000)



Figure 1 Dried sugarcane leaves after chopping and grinding.



Figure 2 Spent oyster mushroom substrate after cultivation.

Table 2 Physicochemical composition of Sugarcane Leaves and Spent Mushroom Substrate.

Parameters	Sugarcane leaves	Spent Mushroom Substrate
Moisture (%)	8.03 ± 0.05	67.73 ± 0.16
Total solids (% wet weight)	91.97 ± 0.05	32.27 ± 0.16
Volatiles (% wet weight)	85.08 ± 0.11	29.84 ± 0.23
Ash (% wet weight)	6.89 ± 0.07	2.43 ± 0.16
pH	5.74 ± 0.08	5.53 ± 0.03

Table 2 Physicochemical composition of Sugarcane Leaves and Spent Mushroom Substrate (continue).

Parameters	Sugarcane leaves	Spent Mushroom Substrate
Carbon (% dry weight)	45.41	80.13
Hydrogen (% dry weight)	6.24	1.35
Nitrogen (% dry weight)	0.72	0.86
Oxygen (% dry weight)	39.11	8.96
Sulfur (% dry weight)	0.14	0.09
Cellulose (% dry weight)	49.32 ± 1.15	56.21 ± 2.33
Hemicellulose (% dry weight)	17.16 ± 1.46	7.39 ± 2.33
Lignin (% dry weight)	13.75 ± 1.35	13.74 ± 1.43

2.2 การเตรียมตะกอนจุลินทรีย์จากระบบย่อยแบบไร้อากาศ

ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบศักยภาพการผลิตมีเทนได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ

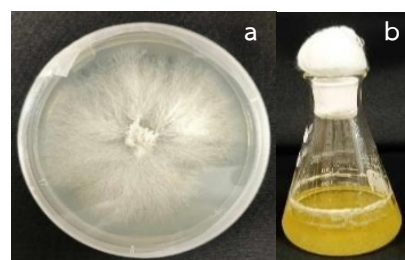
ของโรงงานผลิตขนมปังฟาร์มเฮ้าส์ โรงงานลาดกระบัง 2 แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง (ดังแสดงใน Figure 3) ตะกอนจุลินทรีย์ถูกเก็บรักษาในถังเกลลอนที่ปิดสนิท และทำการปิดฝาอากาศทุกครั้งก่อนนำตะกอนออกจากถังเกลลอน เพื่อรักษาไม่ให้เกิดแรงดันสะสม นำตัวอย่างตะกอนวิเคราะห์ ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณของแข็งระเหยได้ ตามมาตรฐาน APHA, ISO 21656, ISO 21656



Figure 3 Sludge derived from the wastewater treatment of a farmhouse bakery industry.

2.3 การเตรียมหัวเชื้อเห็ดนางรมบริสุทธิ์

การนำชิ้นส่วนดอกเห็ดนางรมจากดอกเห็ดที่เจริญบนถุงเพาะเชื้อเห็ดทำความสะอาดด้วย 70% แอลกอฮอล์ ตัดดอกเห็ดออกเป็นชิ้นเล็กๆ วางลงบนอาหาร PDA เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 7-8 วัน เมื่อเกิดเส้นใยสีขาวบริสุทธิ์ ตัดอาหารเลี้ยงพร้อมเส้นใยขนาดประมาณ 0.5x0.5 cm 4 ชิ้น นำชิ้นส่วนดอกเห็ดใส่ในอาหาร PDB ที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 100 ml จากนั้นนำไปบ่มและเขย่าที่ 150 rpm อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 8 วัน เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อบริสุทธิ์สำหรับการทดลอง (ดังแสดงใน Figure 4)

Figure 4 Pure mycelium of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) (a), Liquid inoculum of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) after 8 days of incubation (b).

2.4 การปรับปรุงสภาพวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทใบอ้อย โดยอาศัยวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะปลูกเห็ดนางรมเพื่อเป็นแหล่งจุลินทรีย์

การจัดเตรียมชุดการทดลอง 6 สภาวะประกอบด้วย

- 1) วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้ง (W)
- 2) ใบอ้อย + วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW)
- 3) ใบอ้อย (L)
- 4) ใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบรืสุทธ์ (CLI)
- 5) ใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดบรืสุทธ์ (LI)
- 6) ใบอ้อยฆ่าเชื้อ + วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1

(CLW)

นำวัสดุตัวอย่างทั้ง 6 สภาวะ ประมาณ 30 g ใส่ลงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 350 ml ที่เจาะฝาแล้วปิดด้วยแผ่นกรองอากาศ เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปรับความชื้นให้ได้ประมาณ 70% สำหรับชุดการทดลองที่มีการใส่หัวเชื้อบรืสุทธ์ใส่หัวเชื้อปริมาตร 7.5 ml ปริมาณหัวเชื้อที่ใส่เข้าไปคิดคำนวณรวมกับปริมาณน้ำกลั่นสำหรับปรับความชื้น (ดังแสดงใน Figure 5) ทุกชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ซ้ำ



Figure 5 Experimental setup for pretreating sugarcane leaves with spent oyster mushroom substrate under aerated conditions.

ชุดการทดลองทุกสภาวะนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นระยะเวลา 30 วัน (Mustafa et al., 2016) ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณของแข็งระเหยได้ ตามมาตรฐาน ISO 21656, ISO 21656 และวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณลิกโนเซลลูโลสโดยอาศัยวิธีการทดสอบหา Neutral detergent fiber (NDF), Acid detergent fiber (ADF) และ Acid detergent lignin (ADL) การคำนวณหาปริมาณสารแทรก เหมิเซลลูโลส เซลลูโลส ลิกนิน และเฝ้าตามสมการ (1) ถึง (9)

$$\%aNDF = \frac{W_{aNDF} - C_{aNDF}}{S} \times 100 \quad (1)$$

$$\%Extracted = \left(\frac{S - (W_{aNDF} - C_{aNDF})}{S} \right) \times 100 \quad (2)$$

$$\%Extracted = 100\% - \%aNDF \quad (3)$$

$$\%ADF = \frac{W_{ADF} - C_{ADF}}{S} \times 100 \quad (4)$$

$$\%Hemicellulose = \%aNDF - \%ADF \quad (5)$$

$$\%ADL = \frac{W_{ADL} - C_{ADF}}{S} \times 100 \quad (6)$$

$$\%Cellulose = \%ADF - \%ADL \quad (7)$$

$$\%Ash = \frac{W_{Ash} - C}{S} \times 100 \quad (8)$$

$$\%Lignin = \%ADL - \%Ash \quad (9)$$

เมื่อ C_{aNDF} คือ น้ำหนักถ้วยกรองแบบแก้วสำหรับการสกัด NDF ที่อบแห้งแล้ว (g)

C_{ADF} คือ น้ำหนักถ้วยกรองแบบแก้วสำหรับการสกัด ADF ที่อบแห้งแล้ว (g)

C คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบที่เผาแล้ว (g)

W_{aNDF} คือ น้ำหนักตัวอย่างพร้อมถ้วยกรองหลังการสกัด NDF ที่อบแห้งแล้ว (g)

W_{ADF} คือ น้ำหนักตัวอย่างพร้อมถ้วยกรองหลังการสกัด ADF ที่อบแห้งแล้ว (g)

W_{ADL} คือ น้ำหนักตัวอย่างพร้อมถ้วยกรองหลังการสกัด ADL ที่อบแห้งแล้ว (g)

W_{Ash} คือ น้ำหนักตัวอย่างพร้อมถ้วยกระเบื้องหลังการเผาแล้ว (g)

S คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้งเริ่มต้น (g)

นำตัวอย่างประมาณ 5 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml ทำการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 ml เขย่าที่ 150 rpm เป็นเวลา 3 hr เพื่อสกัดองค์ประกอบที่ละลายน้ำ ตัวอย่างน้ำวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลง pH หลังการวิเคราะห์ pH ตูดตัวอย่างปริมาตร 0.5 ml เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้ตัวอย่างในหลอดทดลองเติม 3,5 dinitrosalicylic acid (DNSA) ปริมาตร 1 ml ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 15 min ปล่อยตัวอย่างเย็นก่อนเติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 ml วิเคราะห์ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์กับกราฟมาตรฐานกลูโคส (Manmai et al., 2020)

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD) ด้วยระบบปิด (Close reflux) และวิเคราะห์หาปริมาณ COD ด้วยชุดตรวจช่วงความเข้มข้นสูง 0-15,000 mg l⁻¹ ของบริษัท HANNA Instruments ตามคู่มือการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียรุ่น HI8314

2.5 การทดสอบศักยภาพการผลิตมีเทน (Biological Methane Potential; BMP)

การจัดเตรียมชุดการทดลองทั้งหมด 9 สภาวะ ประกอบด้วย

- 1) วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้ง + ตะกอนจุลินทรีย์ (W)
- 2) ใบอ้อย + วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้ง + ตะกอนจุลินทรีย์ (LW)
- 3) ใบอ้อย + ตะกอนจุลินทรีย์ (L)
- 4) ใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ด + ตะกอนจุลินทรีย์ (CLI)
- 5) ใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ด + ตะกอนจุลินทรีย์ (LI)
- 6) ใบอ้อยฆ่าเชื้อ + วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้ง + ตะกอนจุลินทรีย์ (CLW)
- 7) ตะกอนจุลินทรีย์ (S) (Blank)
- 8) Avelil cellulose + ตะกอนจุลินทรีย์ (SC) (Positive control)
- 9) ใบอ้อยก่อนการปรับสภาพไม่ทำอะไรเลย + ตะกอนจุลินทรีย์ (NL)

การเตรียมชุดทดลองเพื่อประเมินศักยภาพในการผลิตมีเทนโดยการผสมตะกอนจุลินทรีย์จำนวน 65 g กับตัวอย่างวัสดุเข้าด้วยกันในขวด Duran ขนาด 250 ml สัดส่วน VS 1:1 ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้ได้ปริมาตรสุดท้ายประมาณ 200 ml ต่อขวด ประกอบชุดปั๊มเข้ากับชุดกำจัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์โดยการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 3 M ปลายท่อต่อหัวทรายเพื่อช่วยให้แก๊สกระจายตัวเป็นฟองขนาดเล็ก ต่ออุปกรณ์เข้ากับชุดแทนที่ด้วยน้ำเพื่อเช็ครอยต่อปิดให้สนิทป้องกันการรั่วไหลของแก๊ส หลังทดสอบการรั่วของชุดอุปกรณ์ บั๊มแก๊สไนโตรเจนที่ผ่านตัวกรองฆ่าเชื้อเข้าขวดชุดอุปกรณ์ด้วยอัตรา 25 ml min⁻¹ เป็นเวลา 5 min เพื่อไล่ออกซิเจนออกจากระบบ ดังแสดงแบบจำลองระบบใน Figure 6 และชุดทดสอบการผลิตมีเทนดังในแสดงใน Figure 7

การทดลองบ่มเพาะที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 °C เขย่าวันละรอบ วัดปริมาณน้ำที่ถูกแทนที่ทุกวันเป็นเวลา 30 วัน หรือจนกว่าปริมาณการผลิตแก๊สมีปริมาณลดลงหรือระบบหยุดการผลิตแก๊ส (ณัฐพล และคณะ, 2566) ทุกชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ซ้ำ

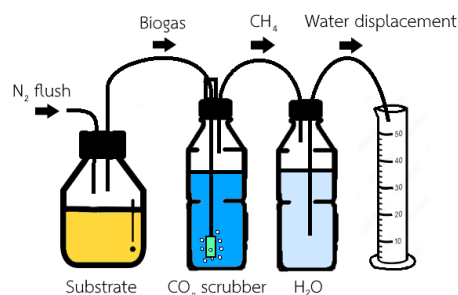


Figure 6 Schematic model of the experimental setup for assessing methane production potential.



Figure 7 Experimental setup for assessing biological methane potential (BMP).

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิจัยทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำทุกชุดการทดลอง วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของสองชุดข้อมูลโดยวิธี t-test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0 ($p < 0.05$)

3 ผลและวิจารณ์

3.1 การเปลี่ยนแปลงของใบอ้อยและวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งหลังปรับสภาพ

ผลการทดสอบปรับสภาพวัสดุชีวมวลลิกโนเซลลูโลสสูง (ใบอ้อย) ที่สภาวะตัวอย่างต่างกัน ๆ (ดังแสดงใน Figure 8) พบว่าวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้ง (W) สังเกตเห็นเส้นใยสีขาวเจริญบนพื้นผิวมากขึ้น เส้นใยของเห็ดนางรมจากก้อนเชื้อเพาะเห็ดเหลือทิ้งมีเส้นใยสีขาวเจริญเติบโตอยู่เต็ม แต่บริเวณพื้นผิวสัมผัสกับอากาศโดยตรงทำให้เห็นการเจริญของเส้นใยสีขาวชัดเจนบริเวณพื้นผิวเมื่อก้อนเพาะเชื้อเห็ดถูกนำมาบดตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทำให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสกับอากาศเพิ่มขึ้นทำให้เห็นเส้นใยสีขาวยิ่งขยายชัดเจน (Shakir and Ahmad, 2024)



Figure 8 pH changes over 30 days in six pretreatment groups: CLW (sterilized sugarcane leaves + spent mushroom substrate, 1:1), W (spent mushroom substrate), CLI (sterilized sugarcane leaves + pure mushroom inoculum), LW (sugarcane leaves + spent mushroom substrate, 1:1), LI (sugarcane leaves + pure mushroom inoculum), and L (sugarcane leaves).

ชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (CLI) ผลการทดสอบสังเกตเห็นการเจริญของเส้นใยสีขาวทั่วทั้งใบอ้อยเร็วที่สุดโดยปกคลุมทั่วพื้นผิวภายในระยะเวลา 10 วัน สังเกตลักษณะใบอ้อยมีสีซีดซึ่งแสดงถึงการย่อยสลายลักษณะเป็นโครงสร้างผลึกของเซลลูโลสเป็นลักษณะเด่นในการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสโดยราหูขาว (Blanchette, 1991)

ชุดการทดลองใบอ้อย + วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW) สังเกตพบการเจริญเติบโตของเส้นใยสีขาวทั่วพื้นที่ปกคลุมใบอ้อยภายในระยะเวลา 15 วัน ระยะเวลาการเจริญเติบโตที่นานกว่าและลักษณะการเจริญของเส้นใยเกาะกลุ่มกันบริเวณที่มีเศษวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งมากกว่าชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ โดยลักษณะใบอ้อยสังเกตพบสีซีดเกิดขึ้นเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นถึงความสามารถของเชื้อเห็ดนางรมที่สามารถเจริญแข่งกับจุลินทรีย์อื่นบนใบอ้อยและขึ้นเป็นจุลินทรีย์หลักได้ จากการที่เส้นใยเจริญอยู่เต็มที่แล้วแต่แรกบนวัสดุเพาะเห็ดเพิ่มโอกาสในการแข่งขันกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น แต่สำหรับชุดการทดลองใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (LI) ไม่สังเกตพบเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุมเต็มพื้นใบอ้อยแต่สังเกตพบเส้นใยขาวสีเทาเจริญอยู่บาง สันนิษฐานว่าเป็นกลุ่มของเชื้อราตามธรรมชาติบนใบอ้อย แสดงให้เห็นชัดเจนว่าหัวเชื้อเห็ดนางรมบริสุทธิ์ไม่สามารถเจริญเติบโตแข่งกับจุลินทรีย์ตามธรรมชาติแล้วขึ้นเป็นจุลินทรีย์หลักได้ นอกจากนี้ลักษณะใบอ้อยพบว่าไม่มีสีเข้มขึ้นตรงข้ามกับชุดการทดลองที่มีเชื้อเห็ดนางรมเจริญเติบโตเต็มที่ ระบุได้

ว่าการที่จุลินทรีย์บนใบอ้อยอาศัยอาหารเลี้ยงเชื้อของหัวเชื้อจุลินทรีย์ในการเจริญซึ่งจุลินทรีย์ตามธรรมชาติมีความสามารถในการเจริญได้รวดเร็วกว่าเห็ดนางรมและทำการย่อยสลายใบอ้อยแทน จึงสังเกตพบลักษณะใบอ้อยเป็นสีดำใกล้เคียงกับการย่อยสลายของเศษซากพืชตามธรรมชาติ (Khademimoshgenani & Green, 2023) นอกจากนี้สังเกตพบว่าความแตกต่างในการย่อยสลายของจุลินทรีย์จากใบอ้อยได้โดยเปรียบเทียบกับชุดการทดลองใบอ้อย (L) ที่แม้ว่าจะพบจุลินทรีย์ในธรรมชาติเหมือนกันแต่สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีน้อยกว่าเนื่องจากปริมาณอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้มีปริมาณน้อย ทำให้จุลินทรีย์ในธรรมชาติเจริญเติบโตได้ช้ากว่า

สำหรับชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (CLW) สังเกตพบการเจริญของเส้นใยขาวอยู่เป็นกลุ่มๆ ไม่ปกคลุมทั่วใบอ้อย ในบริเวณที่เส้นใยปกคลุมสีใบอ้อยมีลักษณะซีดขึ้นกว่าเดิมแสดงให้เห็นว่าเกิดการย่อยสลายขององค์ประกอบลิกนิน เพื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพการย่อยสลายของใบอ้อยของชุดการทดลองนี้กับชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (CLI) เปรียบเสมือนชุดควบคุมที่คาดว่าจะเกิดการย่อยสลายดีที่สุด แต่ผลการทดสอบพบว่าชุดการทดลอง (CLW) เส้นใยเจริญเติบโตเพียงบางส่วน เนื่องจากสังเกตว่าอายุของวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งที่อายุมากส่งผลต่อการทดสอบ การทดสอบนี้ระบุชี้ให้เห็นถึงผลของอายุวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งส่งผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสสูง

3.2 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายของวัสดุชีวมวลที่มีปริมาณลิกโนเซลลูโลสสูง

3.2.1 ความชื้น

ในการทดลองทุกชุดการทดลองได้ปรับสัดส่วนความชื้นให้มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นประมาณ 70% ซึ่งเป็นปริมาณความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเห็ดนางรม (Wiesnerová et al., 2023) และปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณความชื้นเพื่อใช้สำหรับการควบคุมสัดส่วนของแข็งในการปรับสภาพ จากผลการทดลองสังเกตการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นแสดงดัง Figure 9

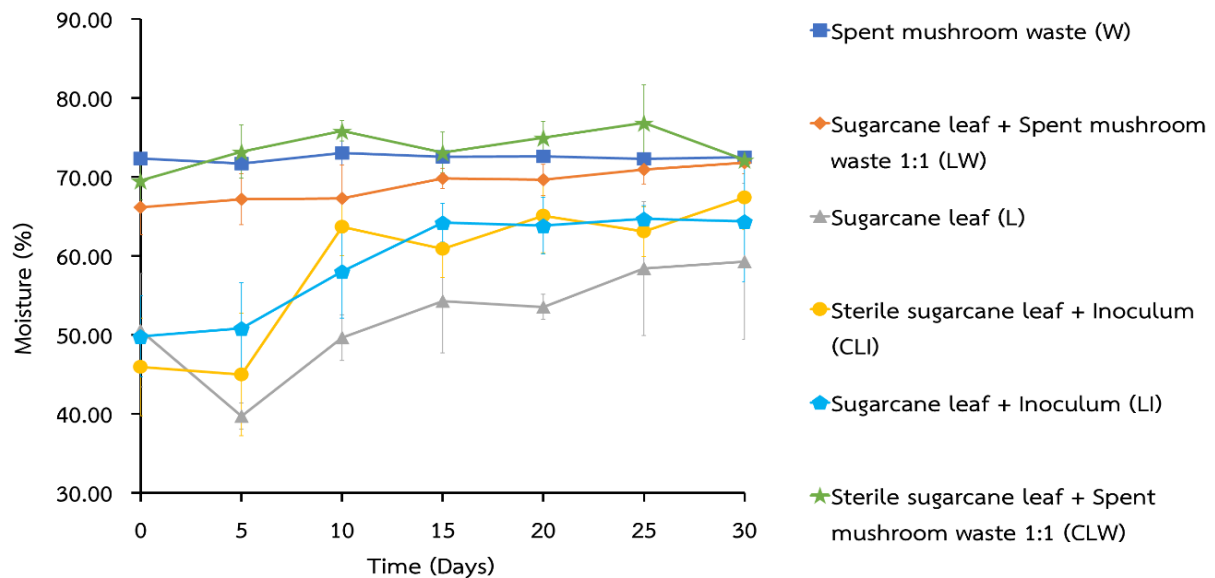


Figure 9 The comparative changes in moisture content of the six experimental treatments.

ผลการทดลองระบุว่าชุดการทดลองที่มีการใส่วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งความชื้นของวัสดุมีค่าใกล้เคียงกับที่ปรับไว้ตั้งแต่เริ่มต้น ในขณะที่ชุดการทดลองที่ไม่มีการใส่วัสดุเพาะเห็ดนั้นมีความชื้นต่ำกว่าที่ตั้งไว้ที่ประมาณ 50% แล้วค่อยๆ เพิ่มขึ้นมีค่าความชื้นใกล้เคียงกับที่ปรับไว้ ซึ่งเป็นผลมาจากความสามารถในการอุ้มน้ำที่ต่ำของใบอ้อยที่มีขนาดประมาณ 0.5-2 cm ทำให้ปริมาณความชื้นกระจายได้ไม่สม่ำเสมอ เมื่อจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโต ใบอ้อยเกิดการย่อยสลายเพิ่มขึ้น เพิ่มความอ่อนนุ่ม ส่งผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณความชื้นในใบอ้อยสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป นอกจากนี้วัสดุที่ใช้ในการผลิตวัสดุเพาะเห็ดส่วนมากมักจะเป็นเศษชี้เลี้ยงที่มีขนาดเล็กมีความสามารถในการอุ้มน้ำที่สูง ทำให้ปริมาณความชื้นกระจายได้ดีทั่ววัสดุ ส่งผลดีต่อการควบคุมสัดส่วนความชื้นเมื่อต้องการขยายขนาดการทดลอง

3.2.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสของวัสดุชีวมวล (ใบอ้อย)

1. การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารแทรก เป็นตัวแทนขององค์ประกอบอื่นๆ ภายในเซลล์นอกเหนือจากลิกโนเซลลูโลส เช่น โปรตีน น้ำตาล ลิพิด (Lipid) การเพิ่มขึ้นของปริมาณสารแทรกสามารถบ่งชี้ถึงการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสรวมไปถึงการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ดังแสดงใน Figure 10 ทุกชุดการทดลองมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารแทรกแสดงให้เห็นว่ามีการย่อยสลายหรือเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ โดยการเปลี่ยนแปลงสูงสุดในกลุ่มที่มีการฆ่าเชื้อบนใบอ้อยได้แก่ใบอ้อยฆ่าเชื้อ + วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (CLW) ที่ $86.02 \pm 25.02\%$ และใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (CLI) ที่ $84.35 \pm 5.18\%$ ที่ระยะเวลาปรับสภาพ 30 วัน

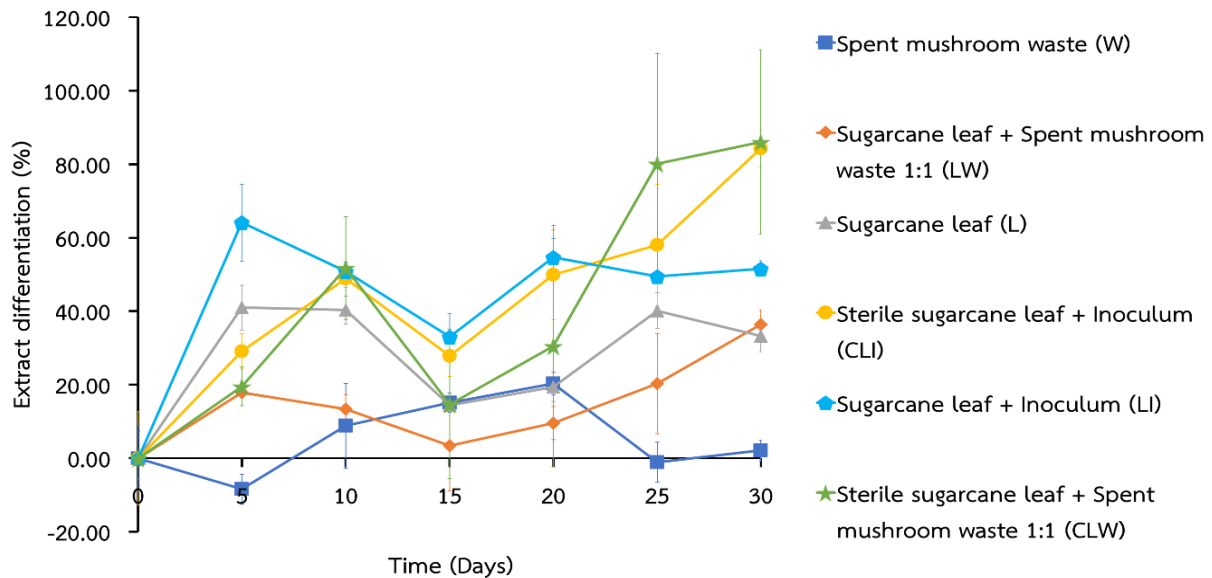


Figure 10 The comparative changes in extractable compound content of six experimental treatments.

2. การเปลี่ยนแปลงเอมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน เป็นตัวแปรสำคัญในการประเมินประสิทธิภาพในการปรับสภาพวัสดุชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสเพื่อให้เป็นวัตถุดิบที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการผลิตแก๊สชีวภาพ จาก Figure 11 ในกลุ่มชุดการทดลองที่มีการใส่เส้นใยเห็ดนางรมได้แก่ ใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (LI), ใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (CLI) และ ใบอ้อยฆ่าเชื้อ + วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (CLW) พบการลดลงของปริมาณเอมิเซลลูโลสในช่วงแรกเด่นชัดกว่าชุดการทดลองอื่น เนื่องจากการย่อยสลายของเอมิเซลลูโลสโดยเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) มีแนวโน้มเกิดขึ้นได้เร็วกว่า (Nie et al., 2020) มีรายงานการวิจัยระบุว่าในกลุ่มราฟุขาวมีการแสดงออกของเอนไซม์ในกลุ่ม Endoxylanase หลากหลายชนิด ส่งผลให้การย่อยสลายของเอมิเซลลูโลสได้ดี (Isroi et al., 2011) อย่างไรก็ตามชุดการทดลองใบอ้อย + วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW) และชุดการทดลองใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (LI) มีสัดส่วนเอมิเซลลูโลสเพิ่มสูงขึ้นในช่วงหลังและมีสัดส่วนเซลลูโลสลดต่ำลง เมื่อสังเกตจาก Figure 12 ชุดการทดลองใบอ้อย + วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW), ใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (LI) รวมถึงชุดการทดลองใบอ้อย (L) ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่มีเส้นใยเห็ดนางรมและเชื้อธรรมชาติเจือปนมีการลดลงของเซลลูโลสเด่นชัดที่ $27.27 \pm 1.01\%$, $26.23 \pm 1.02\%$ และ $25.50 \pm 1.71\%$ ตามลำดับ มากกว่าชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (CLI) และใบอ้อยฆ่าเชื้อ + วัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (CLW) ที่มีแต่เส้นใยเห็ดนางรมที่ $6.88 \pm 1.72\%$ และ $15.81 \pm 1.24\%$ ตามลำดับ

สาเหตุคาดว่าเกิดจากเอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส (Exo/Endo glucanase, β -glucosidases) ที่มีอยู่แล้วในวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งร่วมกับเชื้อธรรมชาติที่ปนเปื้อนบนใบอ้อยที่สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้เร็วกว่าเห็ดนางรม ซึ่งกลูโคสเป็นหนึ่งในตัวยับยั้งปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย (End product inhibitor) ของเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลสที่ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลสทำให้มีการย่อยสลายที่ลดลง (Agrawal et al., 2021) เมื่อน้ำตาลกลูโคสถูกใช้ทำให้เอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลสสามารถทำงานได้มีประสิทธิภาพมากกว่าเกิดการย่อยสลายเซลลูโลสได้เร็วและด้วยการคำนวณสัดส่วนลิกโนเซลลูโลสให้ได้ครบ 100% เมื่อเซลลูโลสและองค์ประกอบส่วนอื่นลดลงมากกว่า ส่งผลให้องค์ประกอบส่วนที่เหลือในที่นี้คือเอมิเซลลูโลสแสดงให้เห็นเป็นลักษณะสัดส่วนที่เพิ่มขึ้น

จาก Figure 13 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณลิกนิน ชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (CLI) มีการลดลงของปริมาณลิกนินสูงที่สุดที่ $54.22 \pm 1.97\%$ แสดงให้เห็นความสามารถของราในกลุ่มราฟุขาวในการย่อยสลายลิกนินที่ดี (Durán-Aranguren et al., 2021) เมื่อเปรียบเทียบการย่อยสลายลิกนิน เซลลูโลสและเอมิเซลลูโลสของชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (CLI) จะเห็นได้ชัดเจนว่ามีการย่อยสลายลิกนินที่ดีกว่า ในงานวิจัยของ Pandey and Singh (2014) แสดงให้เห็นว่าเส้นใยของเห็ดนางรมในช่วงการเจริญเติบโต (Vegetative growth) มีการย่อยสลายลิกนินสูงกว่าเซลลูโลสและเอมิเซลลูโลส ในขณะที่ช่วงใกล้ออกดอกเห็ด (Fructification) มีการย่อยสลายเซลลูโลสและเอมิเซลลูโลสที่สูงกว่าลิกนิน ซึ่งอาจเป็นเหตุผลที่ชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัว

เชื้อเห็ดบรืสุทธ์ (CLI) และใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดบรืสุทธ์ (LI) ที่อาศัยหัวเชื้อเตรียมใหม่มีช่วงการย่อยสลายลิกนินที่สูงกว่าชุดการทดลองที่อาศัยเส้นใยจากวัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้งหลังการออกดอกแล้ว รวมถึงการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมที่ต้องแข่งขันกับเชื้อจากธรรมชาติในชุดการทดลองใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดบรืสุทธ์ (LI) ส่งผลให้ไม่สามารถเจริญเติบโตได้เต็มที่ทำให้เกิดการย่อยสลายลิกนินได้ไม่ดีเทียบเท่าชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบรืสุทธ์ (CLI)

3. การเปลี่ยนแปลงปริมาณเถ้า ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณเถ้าที่เพิ่มขึ้น (ดังแสดงใน Figure 14) แสดงให้เห็นถึงการลดลงของสารอินทรีย์บ่งชี้ถึงการย่อยสลายขององค์ประกอบลิกโนเซลลูโลสที่ถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลและถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่และปลดปล่อยออกมาในรูปของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งสอดคล้องกับชุดการทดลองที่สังเกตเห็นการเจริญของจุลินทรีย์บนวัสดุรวมถึงการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบต่างๆ ที่ได้กล่าวมา

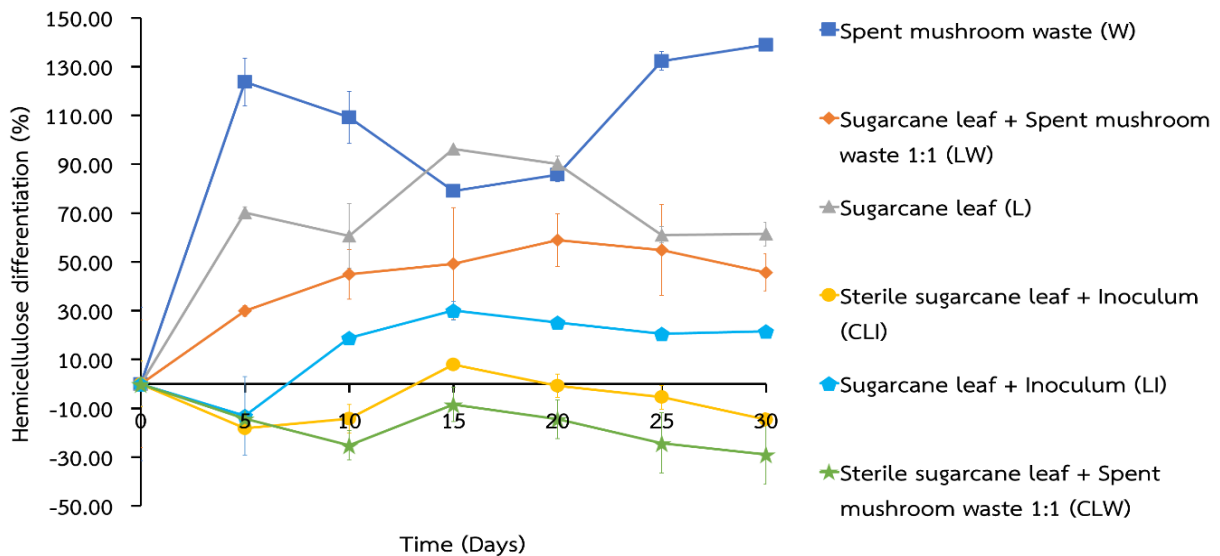


Figure 11 The comparative changes in hemicellulose content of six experimental treatments.

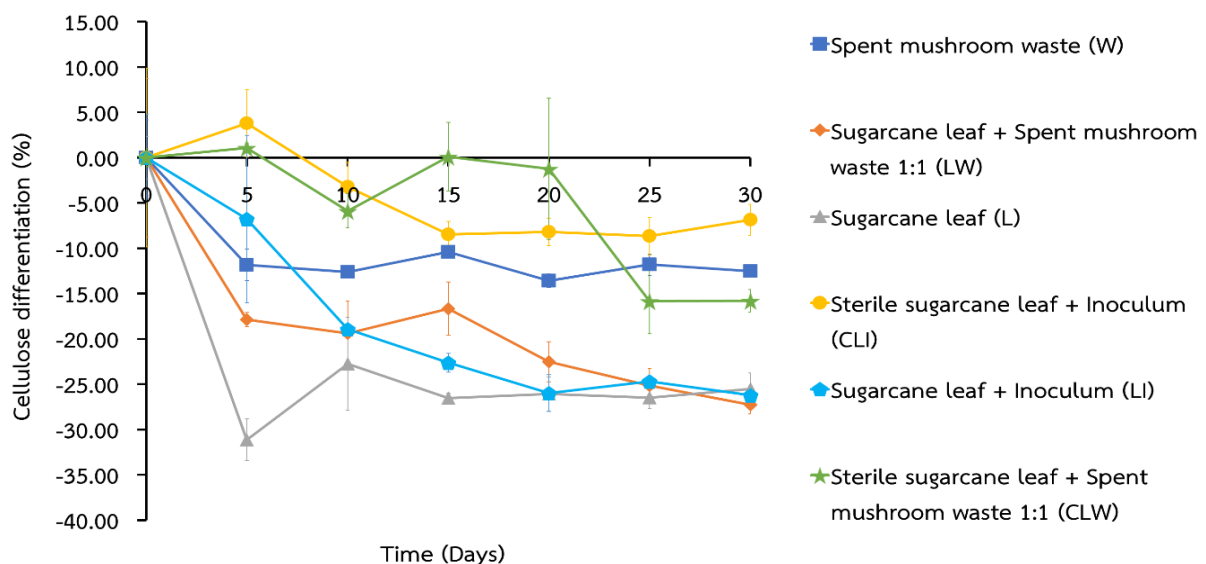


Figure 12 The comparative changes in cellulose content of six experimental treatments.

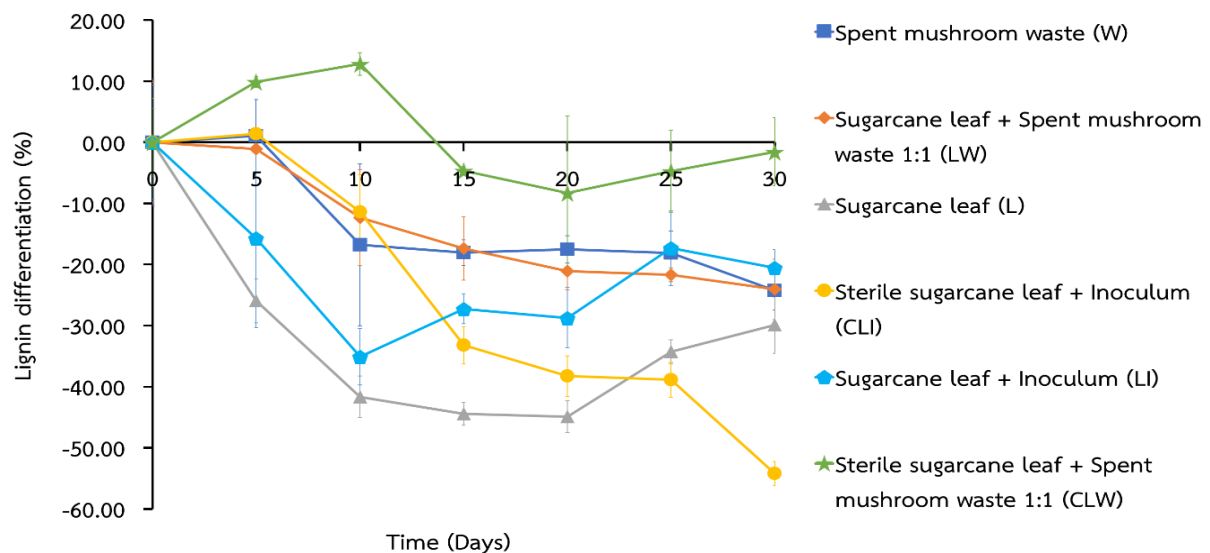


Figure 13 The comparative changes in lignin content of six experimental treatments.

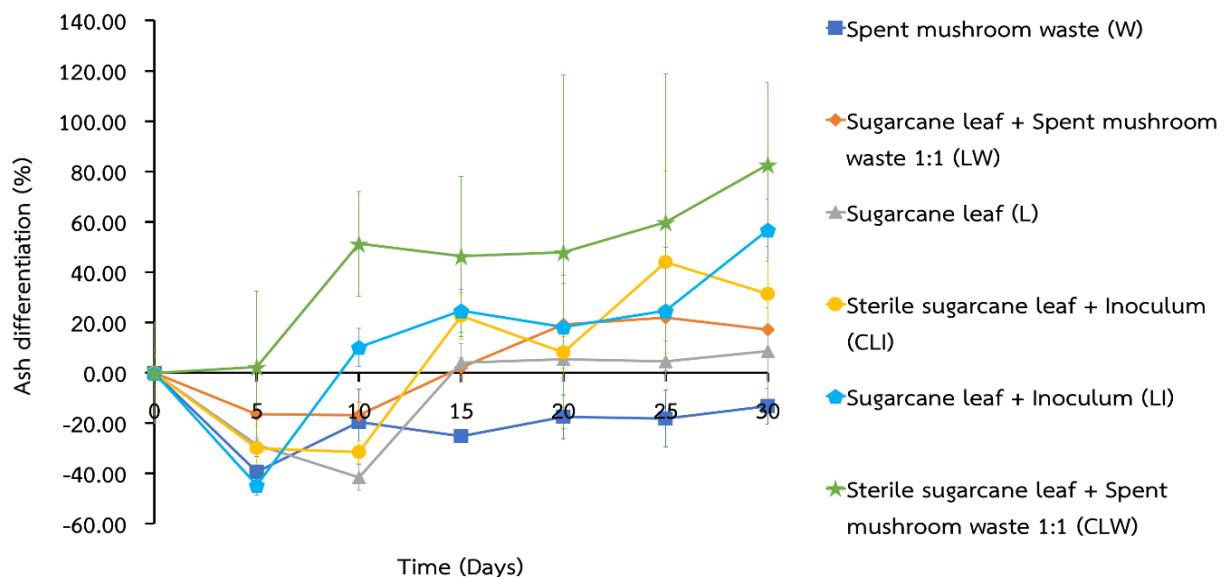


Figure 14 The comparative changes in lignin content of six experimental treatments.

3.2.3 การเปลี่ยนแปลงปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ (ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD)

ชุดการทดลองที่สังเกตเห็นการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมเด่นชัดได้แก่ ใบอ้อยฆ่าเชื้อ + วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (CLW), ใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธ์ (CLI) และใบอ้อย + วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW) สามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงของ pH ในทิศทางลดลงไปอยู่ที่ประมาณ 5.5 ดังแสดงตาม Figure 15 และพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และความต้องการออกซิเจนทางเคมีดังแสดงใน Figure 16 และ 17 บ่งชี้ถึงความสามารถในการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสของเส้นใยเห็ดนางรมให้กลายเป็นน้ำตาล และน้ำตาล

ดังกล่าวสามารถถูกนำไปใช้ต่อไปได้เป็นกรดอินทรีย์ (Durán-Aranguren et al., 2021) โดยชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธ์ (CLW) และใบอ้อย + วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW) มีการเพิ่มขึ้นสูง ผลการทดลองตรวจพบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ $44.36 \pm 11.34\%$ และ $43.66 \pm 16.69\%$ ตามลำดับและความต้องการออกซิเจนทางเคมีที่ $66.11 \pm 1.85\%$ และ $84.27 \pm 22.27\%$ ตามลำดับ

ชุดการทดลองวัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้ง (W) ค่า pH มีค่าต่ำตั้งแต่แรกตลอดทั้งการทดลอง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเล็กน้อยและความต้องการออกซิเจนทางเคมีเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแสดงให้เห็นว่ามีการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสของวัสดุปลูกเห็ดเช่นซีเลื้อยตั้งแต่แรกในขณะที่ทำการเพาะเห็ดทำให้ มีการ

เปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยจากการที่เส้นใยที่ยังมีชีวิตอยู่อาศัยน้ำตาลที่มีอยู่ในการเจริญ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ไม่เห็นการเจริญของเส้นใยเห็นทางรมชัดจนได้แก่ ใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (LI) และชุดการทดลองใบอ้อย (L) พบว่า pH มีค่าเป็น

กลางประมาณ 7.0-7.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และความต้องการออกซิเจนทางเคมีลดลง บ่งชี้ว่าการสร้างกรดที่ต่ำสื่อถึงการย่อยสลายที่ต่ำของกลุ่มจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ ไม่สามารถเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลได้ทันการใช้งานของจุลินทรีย์

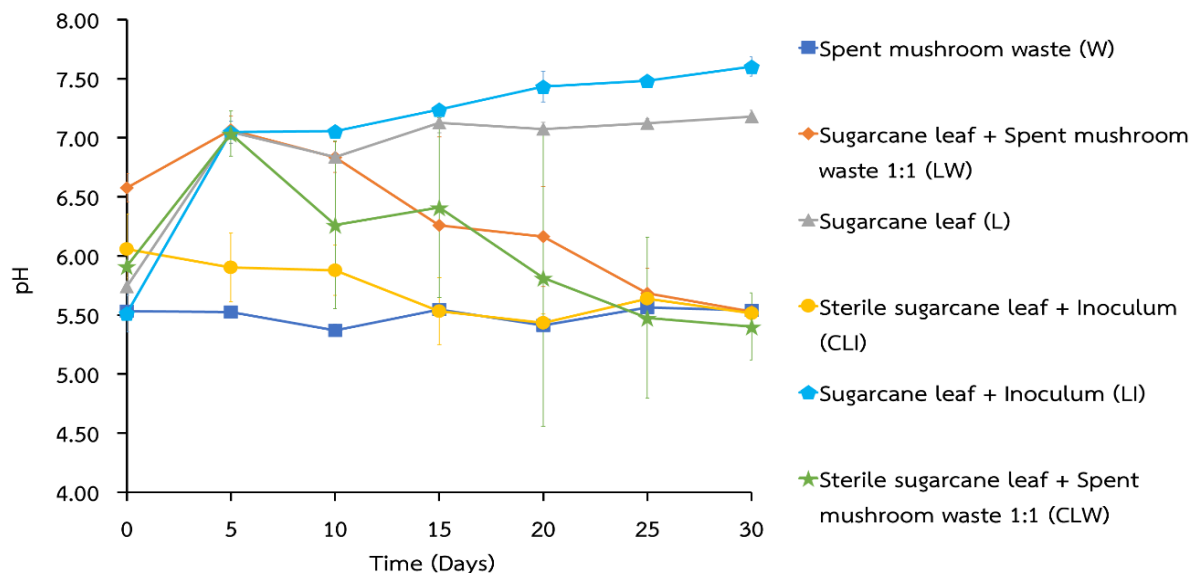


Figure 15 The comparison of pH variations among the six experimental treatments.

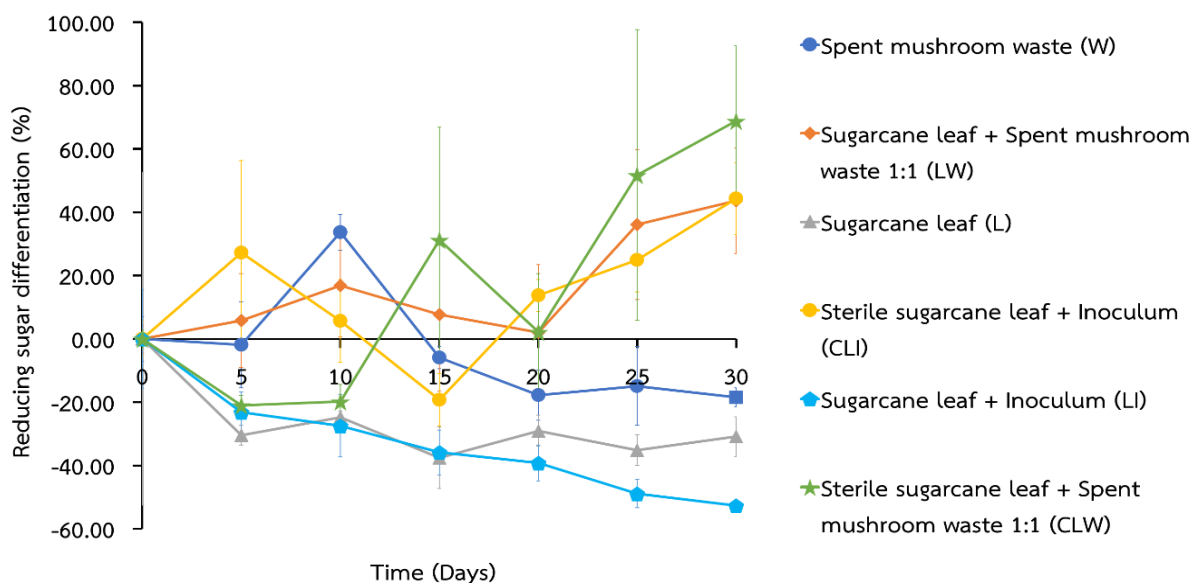


Figure 16 The comparative changes in reducing sugar content of six experimental treatments.

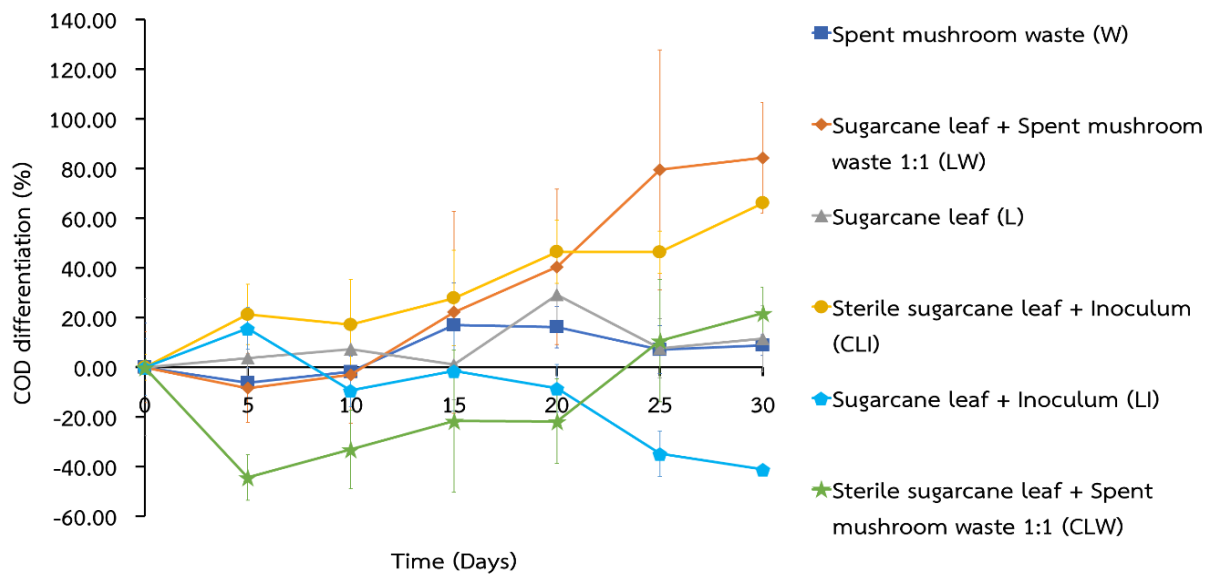


Figure 17 The changes in chemical oxygen demand (COD) of six experimental treatments.

3.3 ศักยภาพการผลิตแก๊สมีเทนของใบอ้อยและวัสดุปลูกเห็ดเหลือทิ้งหลังปรับสภาพ

การผลิตแก๊สมีเทนตามทฤษฎีเซลลูโลส 1 g VS สามารถเปลี่ยนเป็นมีเทนได้ 415 ml แต่ในทางปฏิบัติคาร์บอนส่วนหนึ่งจะถูกนำไปใช้เป็นโครงสร้างของเซลล์และพลังงานเคมีจะสูญเสียไปในรูปของความร้อน ทำให้ในการผลิตมีเทนจากเซลลูโลสจะได้ผลผลิตประมาณ 80% จากทฤษฎีหรือประมาณ 332 ml g⁻¹ VS (Filer, Ding, & Chang, 2019) สำหรับชุดการทดลอง Avecil cellulose + ตะกอนจุลินทรีย์ (SC) (ชุดควบคุม) เพื่อเช็คประสิทธิภาพของตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตมีเทน ซึ่งปริมาณมีเทนสะสมสามารถผลิตได้ 114.9±45.12 ml g⁻¹ VS คิดเป็น 27.6% จากทฤษฎี สาเหตุที่ประสิทธิภาพในการผลิตมีเทนต่ำกว่าทฤษฎีซึ่งคาดว่าเกิดจากอายุของตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเก็บไว้นานประมาณ 9 เดือน อายุตะกอนจุลินทรีย์มากขึ้นส่งผลให้กระบวนการทางชีวเคมีของจุลินทรีย์ลดลง มีผลให้การผลิตมีเทนในภาพรวมมีปริมาณที่ต่ำลงไปด้วย ดังนั้นเพื่อให้การผลิตมีเทนได้ใกล้เคียงกับค่าตามทฤษฎี ดังนั้นปัจจัยเรื่องอายุตะกอนจุลินทรีย์เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ควรคำนึงถึง หรือทำการกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์โดยการใส่สารอาหารเพื่อกระตุ้นจุลินทรีย์เก่าให้กลับมาทำงานก่อนนำไปใช้ทดสอบการผลิตมีเทน

การทดลองเพื่อประเมินศักยภาพการผลิตแก๊สชีวภาพเมื่อทำการปรับสภาพใบอ้อยของชุดการทดลองใบอ้อย + วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW) เปรียบเทียบความแตกต่างกับชุดการทดลองใบอ้อย (L) (โดยวิธี t-test) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 4.56E-14$; < 0.05) และเมื่อเปรียบเทียบ

ศักยภาพการผลิตแก๊สชีวภาพระหว่างชุดการทดลองใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดนางรม (LI) กับใบอ้อย (L) พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 7.82424E-13$; < 0.05) และเมื่อนำข้อมูลของชุดการทดลองการปรับสภาพใบอ้อยของชุดการทดลองใบอ้อย + วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW) เปรียบเทียบกับการทดลองใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดนางรม (LI) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 3.33893E-06$; < 0.05) และเมื่อพิจารณาถึงปริมาณแก๊สมีเทนที่ผลิตขึ้นพบว่าชุดการทดลองที่มีการปรับสภาพใบอ้อยด้วยกระบวนการทางชีวภาพมีศักยภาพในการผลิตมีเทนได้ปริมาณมากกว่าใบอ้อยชุดการทดลองที่ไม่ได้มีการปรับสภาพ (L) และศักยภาพในการผลิตแก๊สมีเทนของชุดใบอ้อย + วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW) สามารถตรวจวัดปริมาณแก๊สมีเทนในปริมาณสูงกว่าชุดการทดลองใบอ้อย + หัวเชื้อเห็ดนางรม (LI)

การผลิตแก๊สมีเทนจากวัสดุชีวมวลที่มีการปรับสภาพชุดการทดลองใบอ้อยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ (CLI) และใบอ้อย + วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW) ให้ผลผลิตมีเทนสูงที่ 29.0±5.5 L kg⁻¹ VS และ 26.6±5.8 L kg⁻¹ VS ได้ตามลำดับ ดังแสดงใน Figure 18 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของสองชุดข้อมูล (ด้วยวิธี t-test) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P = 0.99$; > 0.05)) ระบุได้ว่าชุดการทดลองทั้งสองชุด มีประสิทธิภาพการผลิตแก๊สมีเทนได้ใกล้เคียงกัน สอดคล้องกับผลการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์ ความต้องการออกซิเจนทางเคมี และการเปลี่ยนแปลงลิโกลินเซลลูโลส นอกจากนี้พบว่าการใช้วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งสามารถเป็นแหล่งจุลินทรีย์เพื่อวัสดุปรับ

สภาพกับวัสดุชีวมวลที่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในธรรมชาติได้ดีกว่าการใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ (LI) ที่สามารถผลิตแก๊สมีเทนได้เพียง $9.2 \pm 2.7 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$

ชุดการทดลองไบโอะยที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ (NL) ผลิตมีเทนได้ปริมาณสูงสุดที่ $38.3 \pm 2.0 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$ ชุดการทดลองไบโอะยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพเป็นตัวแทน (Blank) ของการใช้วัสดุชีวมวลลิกโนเซลลูโลสโดยตรงในการผลิตมีเทน ผลการทดลองพบว่าสามารถผลิตมีเทนได้ดีกว่าชุดการทดลองที่ผ่านการปรับสภาพก่อนเข้าระบบผลิตมีเทน รวมถึงชุดการทดลองไบโอะย (L) ที่ทดสอบในสภาวะเดียวกันกับการปรับสภาพในชุดการทดลองอื่นๆ ให้ปริมาณแก๊สมีเทนน้อยกว่าที่ $3.3 \pm 3.4 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$ สาเหตุเนื่องจากไบโอะยเหล่านี้ได้มีการจัดเก็บที่อุณหภูมิห้องในพื้นที่เปิดเป็นระยะเวลาประมาณ 18 เดือน ย่อมเกิดสภาวะการย่อยสลายตามธรรมชาติ (การปรับสภาพทางกายภาพ) ทั้งยังตรวจพบเชื้อราตามธรรมชาติเจริญเติบโตอยู่ จุลินทรีย์ตามธรรมชาติแม้จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสที่ต่ำแต่ด้วยระยะเวลาที่เก็บนานส่งผลให้เกิดการปรับสภาพไบโอะยทางชีวภาพด้วย และเมื่อทำการทดลองทำการปรับสภาพความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เป็นขบวนการกระตุ้นการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในธรรมชาติให้เจริญเติบโตได้ดีขึ้น เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของชุดการทดลองไบโอะย (L) ดังแสดงใน Figure 16 ระบุได้ว่าจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตบนไบโอะยมีการใช้น้ำตาลที่เกิดขึ้นเพื่อการเจริญเติบโต ส่งผลให้กลุ่มจุลินทรีย์จากตะกอนเหลือปริมาณน้ำตาลสำหรับนำไปใช้ในการผลิตมีเทนน้อยลง เมื่อเทียบกับชุดการทดลองไบโอะยที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ (NL) เป็นชุดการทดลองที่เก็บตัวอย่างไบโอะยไว้ในสภาวะอุณหภูมิปกติ 18 เดือน ก่อนทดสอบประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพโดยตรง ซึ่ง

บ่งชี้ได้ว่าปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในไบโอะยชุดนี้ถูกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาตินำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้ในปริมาณน้อย จึงเหลือปริมาณน้ำตาลอย่างเพียงพอสำหรับกระตุ้นให้ตะกอนจุลินทรีย์เกิดกระบวนการทางชีวเคมีเพื่อผลิตแก๊สมีเทนได้สูงกว่า นอกจากนี้ชุดตัวอย่างที่ทำการทดสอบหลังการปรับสภาพวัสดุชีวมวลก่อนเข้าระบบประเมินศักยภาพในการผลิตมีเทนถูกเก็บรักษาสภาพตัวอย่างในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C ก่อนดำเนินการทดสอบ ด้วยเหตุนี้แม้ว่าจุลินทรีย์อยู่ในระยะชะลอการเจริญเติบโต แต่ก็บางส่วนสามารถใช้น้ำตาลอย่างต่อเนื่องทำให้ปริมาณน้ำตาลที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เพื่อผลิตมีเทนจึงมีปริมาณลดลง

การผลิตแก๊สชีวภาพด้วยวัสดุชีวมวลลิกโนเซลลูโลสต้องผ่านกระบวนการควบคุมสภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตแก๊สชีวภาพ ทั้งการควบคุมสัดส่วน C/N สภาวะความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เป็นต้น โดยเฉพาะกระบวนการเมทาโนจีนิซิสที่เกิดขึ้นได้ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน pH ที่เป็นกลางประมาณ 6.5-7.5 สัดส่วน C/N ประมาณ 30:1 – 25:1 อุณหภูมิขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์ในกลุ่มของเมทาโนเจนที่เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic archaea) อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ $30\text{--}37^\circ\text{C}$ (Meegoda et al., 2018) ด้วยสภาวะเริ่มต้นที่เป็นกรดของชุดการทดลองไบโอะยฆ่าเชื้อ + หัวเชื้อหัวเชื้อบริสุทธิ์ (CLI) และไบโอะย + วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งอัตราส่วน 1:1 (LW) และผลการปรับสภาพที่เกิดขึ้นอาจก่อให้เกิดการหมักน้ำตาลจนกลายเป็นกรดเร็วเกินไปทำให้เสียสมดุลการผลิตแก๊สมีเทน ในขณะที่ไบโอะยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลส (NL) ลักษณะของไบโอะยมีคุณสมบัติที่จุลินทรีย์ไม่สามารถใช้ประโยชน์จากน้ำตาลได้ง่ายทำให้ค่อยๆ มีการปลดปล่อยน้ำตาลออกมาและรักษาสมดุลในการผลิตมีเทนได้ดี

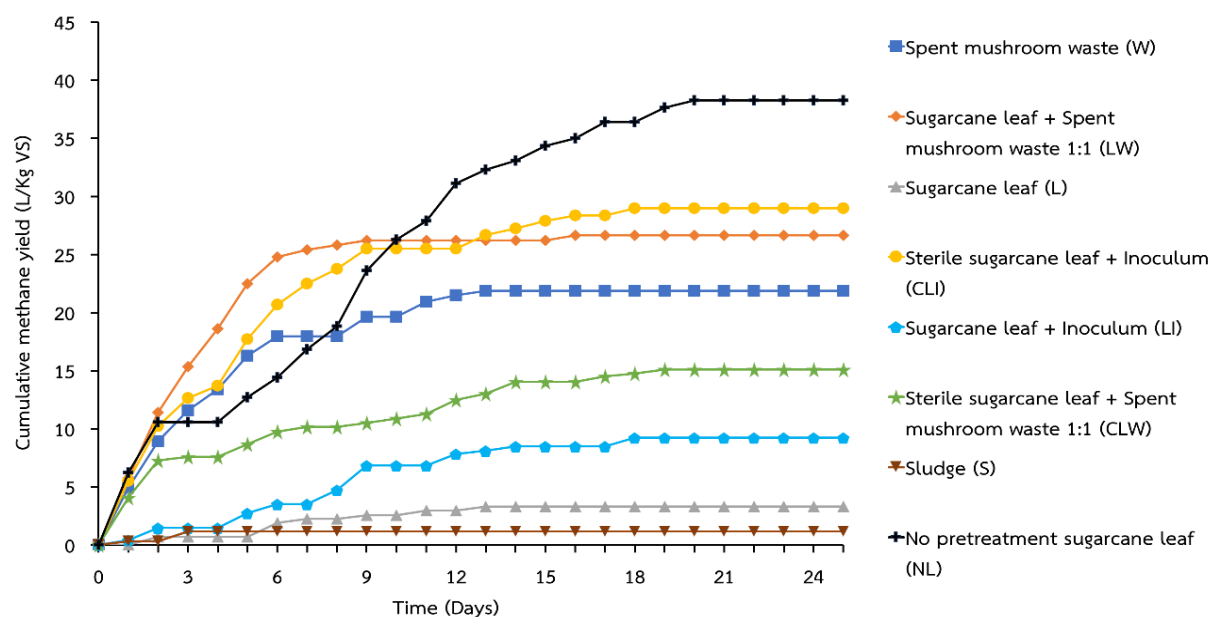


Figure 18 The comparative cumulative methane production of six experimental treatments.

4 สรุป

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการปรับสภาพวัสดุชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสและการผลิตแก๊สมีเทนโดยอาศัยวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งเพื่อเป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสประเภทใบอ้อยมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการนำหัวเชื้อเห็ดนางรมบริสุทธิ์เป็นแหล่งจุลินทรีย์เพื่อปรับสภาพ ผลการทดลองพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ $43.66 \pm 16.69\%$ และ $44.36 \pm 11.34\%$ เพิ่มปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี $84.27 \pm 22.27\%$ และ $66.11 \pm 1.85\%$ และปริมาณการผลิตมีเทนสะสมที่ $29.0 \pm 5.5 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$ และ $26.6 \pm 5.8 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$ ตามลำดับ ซึ่งระบุได้ว่าวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งสามารถนำมาใช้สร้างมูลค่าเพิ่มเพื่อทดแทนจุลินทรีย์ในกระบวนการปรับสภาพทางชีวภาพของวัสดุชีวมวลลิกโนเซลลูโลสได้ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับความสามารถในการผลิตแก๊สชีวภาพของใบอ้อยที่นำมาปรับสภาพด้วยวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งชี้ให้เห็นถึงความสามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้ดีกว่าใบอ้อยที่ไม่ได้มีการปรับสภาพที่สามารถผลิตแก๊สมีเทนได้เพียง $3.3 \pm 3.4 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$ รวมทั้งจุดแข็งในการแข่งขันกับการใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์เพื่อปรับสภาพใบอ้อยที่สามารถผลิตแก๊สมีเทนได้เพียง $9.2 \pm 2.7 \text{ L kg}^{-1} \text{ VS}$

อย่างไรก็ตามแม้ว่าการปรับสภาพวัสดุชีวมวลลิกโนเซลลูโลสสามารถช่วยให้จุลินทรีย์ย่อยสลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสและเปลี่ยนเป็นน้ำตาลในรูปแบบที่สามารถนำมาใช้ในกระบวนการชีวเคมีของเซลล์ได้ง่ายขึ้น แต่การควบคุมสภาวะในขั้นตอนการ

ผลิตแก๊สชีวภาพไม่เหมาะสม การปรับสภาพวัสดุชีวมวลลิกโนเซลลูโลสอาจก่อให้เกิดการหมักที่รวดเร็วเกินไปและทำให้สภาวะในการผลิตแก๊สชีวภาพเสียสมดุล แนวทางการส่งเสริมการใช้วัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งเพื่อเป็นแหล่งจุลินทรีย์ใช้การปรับสภาพวัสดุชีวมวลควรคำนึงถึงปัจจัยหลายอย่างได้แก่ การศึกษาถึงสัดส่วนของวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งต่อวัสดุชีวมวลลิกโนเซลลูโลสที่เหมาะสมที่สามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์ตามธรรมชาติได้ ปัจจัยเกี่ยวกับอายุของวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้ง ปัจจัยของชนิดสายพันธุ์ของเห็ดที่ใช้ และนอกจากนี้การขยายขนาดการวิจัยเพื่อศึกษาสภาวะที่ใช้ควบคุมกระบวนการปรับสภาพวัสดุชีวมวลลิกโนเซลลูโลสให้มีประสิทธิภาพและสามารถประยุกต์ใช้กับวัสดุชีวมวลชนิดอื่นๆ ในกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพ รวมถึงความสำคัญในการควบคุมสมดุลในขั้นตอนการผลิตแก๊สชีวภาพ เพื่อให้การผลิตแก๊สชีวภาพเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว

การนำวัสดุเพาะเห็ดเหลือทิ้งมาใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งชีวมวลลิกโนเซลลูโลสเป็นหนึ่งในทางเลือกของการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้งานให้เกิดประโยชน์ที่สามารถต่อยอด สร้างมูลค่าเพิ่ม ทั้งในแง่การใช้ประโยชน์ด้านพลังงานทดแทน เช่น ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตแก๊สชีวภาพ เป็นวัตถุดิบในกระบวนการไพโรไลซิส หรือการเน้นในเชิงอุตสาหกรรม ได้แก่ การสกัดเอนไซม์หรือสารชีวเคมีเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ ก่อนการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้ใช้ประโยชน์เป็นวัสดุคลุมดินหรือปรับปรุงดิน ช่วยลดปัญหาการกำจัดที่ไม่ถูกวิธี ส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากระบบนิเวศทางบกอย่างครบวงจรและยั่งยืน

5 กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยกระบวนการทางชีวภาพเพื่อการผลิตแก๊สชีวภาพ สามารถดำเนินงานวิจัยจนบรรลุวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยได้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.) นอกจากนี้ขอขอบพระคุณท่านผู้ว่าการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยและผู้บริหารทุกท่านที่ให้การสนับสนุนโครงการ พร้อมทั้งขอคิดเห็นและคำแนะนำ เพื่อให้การดำเนินงานวิจัยในด้านต่าง ๆ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

6 เอกสารอ้างอิง

- ชัยวัฒน์ โพธิ์ทอง, ปาจริย ทองสนิท. 2555. ผลของการเผาอ้อยต่อคุณภาพอากาศและสมบัติของอ้อย. วิศวกรรมสารมหาวิทยาลัยนเรศวร. 7(1), 8-16.
- ณัฐพล เสวตบุตร, ดาวรุ่ง สังข์ทอง, นววรรณ รัตสุข, อุมารัจน์ สันติสุขเกษม. 2566. ศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทนและจุลินทรีย์ของกากหมักกล้วยไม้เศษอาหารและผลิตภัณฑ์เยื่อชีวภาพบรรจุอาหาร. วารสารวิชาการเทคโนโลยีอุตสาหกรรม.
- สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล. 2565. ผลกระทบของอ้อยไฟไหม้ต่ออุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลไทยผลกระทบต่อสถานะแวดล้อมและผู้ที่เกี่ยวข้อง, แหล่งข้อมูล https://www.kubotasolutions.com/knowledge/sugar_cane/detail/376
- Abraham, A., Mathew, A.K., Park, H., Choi, O., Sindhu, R., Parameswaran, B., Pandey, A., Park, J.H., Sang, B.I. 2020. Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 301, 122725.
- Agrawal, R., Verma, A., Singhania, R. R., Varjani, S., Di Dong, C., Kumar Patel, A. 2021. Current understanding of the inhibition factors and their mechanism of action for the lignocellulosic biomass hydrolysis. *Bioresource Technology*. 332, 125042.
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF). 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater. (23rd ed.). American Public Health Association.
- AOAC International. 2000. Official methods of analysis of AOAC International. (17th ed.). AOAC International.
- ASTM International. 2015. ASTM D7582-15: Standard test methods for proximate analysis of coal and coke by macro thermogravimetric analysis. ASTM International.
- ASTM International. 2016. ASTM D5373-16: Standard test methods for instrumental determination of carbon, hydrogen, and nitrogen in laboratory samples of coal. ASTM International.
- ASTM International. 2018. ASTM D4239-18: Standard test method for sulfur in the analysis sample of coal and coke using high-temperature tube furnace combustion methods. ASTM International.
- ASTM International. 2019. ASTM D5865-19: Standard test method for gross calorific value of coal and coke. ASTM International.
- Blanchette, R. A. 1991. Delignification by wood-decay fungi. *Annual Review of Phytopathology*. 29, 381–398.
- Bugg, T.D., Ahmad, M., Hardiman, E.M. and Rahmanpour, R. 2011. Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi. *Natural product reports*. 28(12), 1883-1896.
- Dobre, P., Nicolae, F. and Matei, F. 2014. Main factors affecting biogas production: an overview. *Romanian Biotechnological Letters*. 19(3), 9283-9296.
- Durán-Aranguren, D. D., Meléndez-Melo, J. P., Covo-Ospina, M. C., Díaz-Rendón, J., Reyes-Gutiérrez, D. N., Reina, L. C., Durán-Sequeda, D., Sierra, R. 2021. Biological pretreatment of fruit residues using the genus *Pleurotus*: A review. *Bioresource Technology Reports*. 16, 100849.
- Filer, J., Ding, H. H., Chang, S. 2019. Biochemical methane potential (BMP) assay method for anaerobic digestion research. *Water*. 11(5), 921.

- Fox, M.H., Noike, T. Ohki, T. 2003. Alkaline subcritical-water treatment and alkaline heat treatment for the increase in biodegradability of newsprint waste. *Water science and technology*. 48(4), 77-84.
- Goering, H.K., P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications). USDA Agricultural Research Service. Handbook number 379 as modified by D.R. Mertens (1992, Personal Communication).
- Gonçalves, C., Gomes, N., Rodriguez-Jasso, R., Teixeira, J., Belo, I. 2010. Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates. *Analytical methods*. 2, 2046-2048.
- Hubacher, M.H.; Doernberg, S.; Horner, A. 1953. Laxatives: Chemical Structure and Potency of Phthaleins and Hydroxyanthraquinones. *Journal of the American Pharmaceutical Association*. 42(1), 23-30.
- International Organization for Standardization. 2015. ISO 18134-3: Solid biofuels — Determination of moisture content — Oven dry method — Part 3: Moisture in general analysis sample. ISO.
- International Organization for Standardization. 2021. ISO 21656: Solid biofuels — Determination of ash content of fuel pellets. ISO.
- Isroi, Millati, R., Syamsiah, S., Niklasson, C., Cahyanto, M. N., Lundquist, K., Taherzadeh, M. J. 2011. Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications: A review. *BioResources*. 6(4), 5224-5259.
- Kannah, Y., Kavitha, S., Sivashanmugam, P. and Kumar, G. 2021. Ultrasonic induced mechanoacoustic effect on delignification of rice straw for cost effective biopretreatment and biomethane recovery. *Sustainable Energy & Fuels*. 5(6), 1832-1844.
- Khademimoshgenani, N., Green, S. A. 2023. Synthesis and Characterization of Humic/Melanin-like Compounds by Oxidative Polymerization of Simple Aromatic Precursors. *Water*. 15(7), 1400.
- Khan, M.U., Usman, M., Ashraf, M.A., Dutta, N., Luo, G., Zhang, S. 2022. A review of recent advancements in pretreatment techniques of lignocellulosic materials for biogas production: Opportunities and Limitations. *Chemical Engineering Journal Advances*. 100263.
- Ma, X., Yan, S., Wang, M. 2025. Spent mushroom substrate: A review on present and future of green applications. *Journal of Environmental Management*. 373, 123970.
- Manmai, N., Unpaprom, Y., Ramaraj, R. 2021. Bioethanol production from sunflower stalk: application of chemical and biological pretreatments by response surface methodology (RSM). *Biomass Conversion and Biorefinery*. 11(5), 1759-1773.
- Meegoda, J. N., Li, B., Patel, K., Wang, L. B. 2018. A Review of the Processes, Parameters, and Optimization of Anaerobic Digestion. *Int J Environ Res Public Health*. 15(10).
- Mertens D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC International*. 85(6), 1217–1240.
- Möller J. 2009. Gravimetric Determination of Acid Detergent Fiber and Lignin in Feed: Interlaboratory Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*. 92(1), 74–90.
- Mustafa, A. M., Poulsen, T. G., Sheng, K. 2016. Fungal pretreatment of rice straw with *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma reesei* to enhance methane production under solid-state anaerobic digestion. *Applied Energy*. 180, 661–671.
- Nie, H., Wang, Z., You, J., Zhu, G., Wang, H., Wang, F. 2020. Comparison of in vitro digestibility and chemical composition among four crop straws treated by *Pleurotus ostreatus*. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 33(1), 24–34.

- Pandey, V. K., Singh, M. P. 2014. Biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus*. *Cellular and Molecular Biology*. 60(5), 29-34.
- Pommier, S., Llamas, A.M., Lefebvre, X. 2010. Analysis of the outcome of shredding pretreatment on the anaerobic biodegradability of paper and cardboard materials. *Bioresource Technology*. 101(2), 463-468.
- Rouches, E., Herpoël-Gimbert, I., Steyer, J.P., Carrere, H. 2016. Improvement of anaerobic degradation by white-rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 59, 179-198.
- Shakir, M. A., Ahmad, M. I. 2024. Bioproduct advances: Insight into failure factors in mycelium composite fabrication. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 18(5), 1739–1754.
- Taherzadeh, M.J., Karimi, K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International journal of molecular sciences*. 9(9), 1621-1651.
- Teghammar, A., Yngvesson, J., Lundin, M., Taherzadeh, M.J., Horváth, I.S. 2010. Pretreatment of paper tube residuals for improved biogas production. *Bioresource technology*. 101(4), 1206-1212.
- Usman, M., Ren, S., Ji, M., Sompong, O., Qian, Y., Luo, G., Zhang, S. 2020. Characterization and biogas production potentials of aqueous phase produced from hydrothermal carbonization of biomass–Major components and their binary mixtures. *Chemical Engineering Journal*. 388, 124201.
- Usman, M., Shi, Z., Ji, M., Ren, S., Luo, G., Zhang, S. 2021. Microbial insights towards understanding the role of hydrochar in alleviating ammonia inhibition during anaerobic digestion. *Chemical Engineering Journal*. 419, 129541.
- Van Soest, P.J., J.B. Robertson, B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Science*. 74, 3583-3597.
- Wiesnerová, L., Hřebečková, T., Jablonský, I., Koudela, M. 2023. Effect of different water contents in the substrate on cultivation of *Pleurotus ostreatus* Jacq. P. Kumm. *Folia Horticulturae*. 35(1), 25–31.
- Zhao, J., Ge, X., Vasco-Correa, J., Li, Y. 2014. Fungal pretreatment of yard trimmings for enhancement of methane yield from solid-state anaerobic digestion. *Bioresource Technology*. 156, 176–181.