

# การผลิตไฮโดรเจนด้วยกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง

ประวรินทร์ สุขพูล<sup>๑</sup> และ อลิศรา เรืองแสง<sup>๑,๒</sup>

<sup>๑</sup>สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>๒</sup>ภาควิชาชีววิทยา สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม ภาควิชาเทคโนโลยี สำนักวิทยาศาสตร์ ราชบัณฑิตยสภา,  
alissara@kku.ac.th

## บทนำ

ไฮโดรเจนเป็นพาหะพลังงาน (energy carrier) โดยมีพลังงานต่อหน่วยน้ำหนัก (energy density) สูงกว่าเชื้อเพลิงฟอสซิล การเผาไหม้ไฮโดรเจนจะปราศจากการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ จึงจัดเป็นพลังงานสะอาด การผลิตไฮโดรเจนโดยชีววิธีมีกระบวนการหลัก ๒ กระบวนการ ได้แก่ กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง และกระบวนการหมักแบบไร้อากาศและใช้แสง บทความนี้จะกล่าวถึงกระบวนการผลิตไฮโดรเจนด้วยกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง ปัจจัยที่ส่งผลต่อกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง และข้อจำกัดของการใช้พลังงานไฮโดรเจน

## กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง

กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสงคือกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยกลุ่มจุลินทรีย์ไม่ใช้อากาศภายใต้ภาวะไร้อากาศและไม่ต้องการพลังงานจากแสง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์หลัก คือ ไฮโดรเจน และผลิตภัณฑ์ร่วมจากกระบวนการ คือ คาร์บอนไดออกไซด์และกรดไขมันระเหยง่าย (Bari et al., 2022) การผลิตไฮโดรเจนด้วยกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง มีข้อดี คือ รูปแบบของถังปฏิกรณ์เรียบง่าย ในการผลิตสามารถใช้วัตถุดิบได้หลากหลายชนิด และต้องการพลังงานต่ำในการดำเนินระบบ (Bari et al., 2022) อย่างไรก็ตาม ผลได้ไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง จัดว่าค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการผลิตไฮโดรเจนแบบอื่น ๆ เพราะเมื่อใช้กลูโคสเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง จะได้ผลได้ไฮโดรเจนสูงสุด ๔ โมลต่อโมลกลูโคส โดยที่ผลิตภัณฑ์ร่วมคือกรดแอสติกเท่านั้น (คิดเป็น ๓๓ เปอร์เซ็นต์ของผลได้ไฮโดรเจนทางทฤษฎี) หากผลิตภัณฑ์ร่วมคือ กรดบิวทิริกเท่านั้น จะได้ผลได้ไฮโดรเจน ๒ โมลต่อโมลกลูโคส แต่ทว่าในทางปฏิบัติ ผลได้ไฮโดรเจนสูงสุดคือ ๔ โมลต่อโมลกลูโคส ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้พลังงานจากสารอินทรีย์เพื่อการเจริญและกิจกรรมต่าง ๆ ภายในเซลล์ (Wang and Yin, 2021) นอกจากนี้ สารยับยั้งบางชนิดอาจส่งผลให้ผลได้ไฮโดรเจนลดลง ได้แก่ สารยับยั้งอนินทรีย์ (เช่น โลหะหนัก แอมโมเนีย ซัลเฟต) สารยับยั้งอินทรีย์ (เช่น สารประกอบฟีนอล อนุพันธ์ของฟูแรน) และสารยับยั้งชีวภาพ (เช่น แบคทีริโอซิน) (Chen et al., 2021) การสะสมของกรดไขมันระเหยง่ายที่เป็นผลิตภัณฑ์ร่วมของกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง อาจส่งผลให้การผลิตไฮโดรเจนถูกยับยั้งได้ เนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างในถังหมักลดลง ส่งผลให้วิธีการผลิตไฮโดรเจนถูกเปลี่ยนเป็นวิธีการผลิต

ตัวทำละลาย เช่น เอทานอล นอกจากนั้น ความเป็นพิษจากกรดที่ไม่แตกตัวส่งผลให้การผลิตไฮโดรเจนถูกยับยั้งได้เช่นกัน (Yin et al., 2022) ปัจจุบันมีผู้พัฒนากระบวนการหมักแบบลูกผสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวพลังงานจากสารอินทรีย์ เพื่อให้ได้ผลได้ไฮโดรเจนสูงขึ้น (ตารางที่ ๑) ได้แก่ กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช้แสง ร่วมกับกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ใช้แสง และกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช้แสง ร่วมกับเซลล์อิเล็กโทรไลซิสจุลินทรีย์ (Singh and Das, 2019) จากตารางที่ ๑ จะเห็นได้ว่า กระบวนการหมักแบบลูกผสม (แบบสองขั้นตอน) ให้ผลได้ไฮโดรเจนสูงกว่ากระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช้แสง เพียงขั้นตอนเดียว

**ตารางที่ ๑** เปรียบเทียบผลได้ไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช้แสง กับกระบวนการหมักแบบลูกผสม

กระบวนการหมัก	วัตถุดิบ	จุลินทรีย์	ผลได้ไฮโดรเจน		ที่มา
			ขั้นตอนที่ ๑	ขั้นตอนที่ ๒	
กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช้แสง	น้ำเสีย	กากตะกอน	๑๘๕.๕	-	(Mahata et al., 2020)
	โรงงานแปงมัน	จุลินทรีย์	มิลลิลิตรต่อกรัมชีโอดี		
กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช้แสง ร่วมกับ	กากกาแฟ	กากตะกอน	๔๙.๒	-	(Miñón-Fuentes and Aguilar-Juárez, 2019)
		จุลินทรีย์	มิลลิลิตรต่อกรัมชีโอดี		
กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช้แสง ร่วมกับ	ทางนม	<i>Enterobacter aerogenes</i>	๑๔๐.๗๒	๒๒๔.๓๘	(Rao and Basak, 2022)
		และ	มิลลิลิตรต่อกรัมชีโอดี	มิลลิลิตรต่อกรัมชีโอดี	
การหมักแบบไร้อากาศ ใช้แสง	กลูโคส	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	๑๓๒.๙๖	๒๒๐.๗๖	(Cai et al., 2019)
		กล้ำเชื้อผสม	มิลลิลิตรต่อกรัมชีโอดี	มิลลิลิตรต่อกรัมชีโอดี	
กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช้แสง ร่วมกับ	น้ำทิ้ง	<i>Thermoanaerobacterium</i>	๗๓	๑๖๓	(Khongkliang et al., 2019)
		<i>thermosaccharolyticum</i> และ	มิลลิลิตรต่อกรัมชีโอดี	มิลลิลิตรต่อกรัมชีโอดี	
เซลล์อิเล็กโทรไลซิสจุลินทรีย์	โรงงานปาล์มน้ำมัน	กากตะกอน			
		จุลินทรีย์			

## ปัจจัยที่ส่งผลต่อกระบวนการผลิตไฮโดรเจน

กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง เป็นกระบวนการทางชีวภาพ การควบคุมปัจจัยทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพจะส่งผลให้ได้ผลได้ไฮโดรเจนสูงขึ้น ปัจจัยที่สำคัญ ได้แก่

### อุณหภูมิ

อุณหภูมิในกระบวนการหมักจะควบคุมอัตราการเจริญของจุลินทรีย์และส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไฮโดรเจน จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ในภาวะอุณหภูมิปานกลาง (๒๕-๔๕ องศาเซลเซียส) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น จะส่งผลให้อัตราการผลิตไฮโดรเจนและผลได้ไฮโดรเจนสูงขึ้น เนื่องจากเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไฮโดรเจนมีกิจกรรมสูงสุดในช่วงอุณหภูมิปานกลาง ขณะที่ในภาวะอุณหภูมิสูง (๔๕-๖๕ องศาเซลเซียส) จะให้ผลได้ไฮโดรเจนสูงที่สุด เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้สารอินทรีย์ได้ดี และมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นในระบบลดลง (Kumari and Das, 2017) อย่างไรก็ตาม การผลิตไฮโดรเจนโดยรวมจะเริ่มลดลงที่อุณหภูมิ ๓๙ องศาเซลเซียส เนื่องจากการเสถียรภาพของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตไฮโดรเจน (Bari et al., 2022) ดังนั้น ควรมีการทดลองหาอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจน

### ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ค่าความเป็นกรด-ด่างส่งผลอย่างมากต่อการเจริญของจุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์จากกระบวนการหมัก โดยที่การเจริญของจุลินทรีย์จะถูกยับยั้งเมื่ออยู่ในภาวะที่เป็นกรดหรือด่างมากเกินไป (ต่ำกว่า ๓ หรือมากกว่า ๑๒) (Singh et al., 2021) ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมของการผลิตไฮโดรเจนด้วยกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง จะอยู่ในช่วง ๕.๕-๖.๕ ซึ่งเป็นภาวะที่เหมาะสมแก่การเจริญของจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจน และสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ผลิตมีเทน (Soares et al., 2020) อย่างไรก็ตาม การสะสมของผลิตภัณฑ์ร่วมระหว่างกระบวนการหมัก คือ กรดไขมันระเหยง่าย เช่น กรดแอสติก กรดบิวทีริก จะส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ หากค่าความเป็นกรด-ด่างในกระบวนการหมักมีค่าต่ำกว่า ๔.๐ การผลิตไฮโดรเจนจะถูกยับยั้ง (Singh et al., 2021)

### ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง

ธาตุอาหารหลัก เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส มีความสำคัญสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ โดยที่อัตราส่วนที่เหมาะสมแก่การผลิตไฮโดรเจนด้วยกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง คือ คาร์บอน:ไนโตรเจน:ฟอสฟอรัส เท่ากับ ๑๐๐:๐.๕:๐.๑ โดยน้ำหนัก (Argun et al., 2008) ส่วนธาตุอาหารรอง คือ ไอออนของโลหะ ได้แก่ โซเดียมไอออน ( $\text{Na}^+$ ) แมกนีเซียมไอออน ( $\text{Mg}^{2+}$ ) ซิงก์ไอออน ( $\text{Zn}^{2+}$ ) และเฟอร์รัสไอออน ( $\text{Fe}^{2+}$ ) จะทำหน้าที่เป็นปัจจัยร่วม (cofactor) ของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส และส่งเสริมการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในกระบวนการทางชีวภาพภายในเซลล์จุลินทรีย์ (Argun et al., 2008) ธาตุอาหารรองจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง เช่นกัน

## กล้าเชื้อ

จุลินทรีย์ผสม (mixed culture) มักจะใช้เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง มากกว่าจุลินทรีย์บริสุทธิ์ (pure culture) เนื่องจากจุลินทรีย์ผสมสามารถใช้วัตถุดิบในการผลิตไฮโดรเจนได้หลากหลาย ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้มากกว่าจุลินทรีย์บริสุทธิ์ (Soares et al., 2020) อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์ผสมมักมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการ เช่น แบคทีเรียที่ใช้ไฮโดรเจน (hydrogen consuming bacteria) วิธีการกำจัดแบคทีเรียเหล่านี้ ทำได้โดยใช้สารเคมีและการใช้ความร้อน (Bari et al., 2022) กล้าเชื้อแบคทีเรียที่พบมากที่สุดในการบวนการผลิตไฮโดรเจนที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic condition) ได้แก่ *Clostridium* spp. และ *Enterobacter* spp. ส่วนที่อุณหภูมิสูง (thermophilic condition) ได้แก่ *Thermoanaerobacterium* spp. และ *Thermotoga* spp. (Soares et al., 2020)

## ระยะเวลาเก็บ

ระยะเวลากักเก็บคือระยะเวลาเฉลี่ยที่วัตถุดิบอยู่ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ระยะเวลากักเก็บที่เหมาะสมจะส่งผลให้ได้อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูง สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ผลิตมีเทน และลดการผลิตผลิตภัณฑ์จากการหมักที่ไม่ต้องการ โดยทั่วไป กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง จะควบคุมระยะเวลากักเก็บอยู่ระหว่าง ๖-๒๔ ชั่วโมง (Arun et al., 2022) หากระยะเวลาเก็บสั้นเกินไป (ต่ำกว่า ๔ ชั่วโมง) อาจเกิดการชะออกจากระบบ (washout) ของจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจน ส่งผลให้การผลิตไฮโดรเจนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

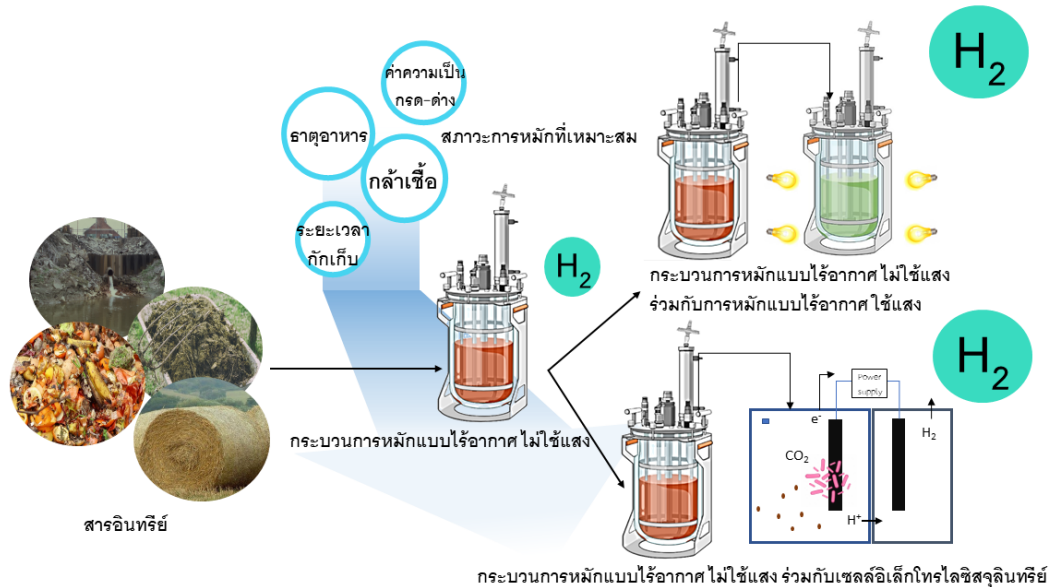
## ข้อจำกัดในการใช้พลังงานไฮโดรเจน

ข้อจำกัดของการใช้พลังงานไฮโดรเจนที่ผลิตจากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง คือปัญหาด้านการจัดเก็บและการขนส่ง เนื่องจากไฮโดรเจนสามารถระเบิดได้ ดังนั้น ในการจัดเก็บและการขนส่งผู้ที่เกี่ยวข้องจึงต้องระมัดระวังเป็นพิเศษ ถึงแม้ว่าการจัดเก็บไฮโดรเจนได้พัฒนาไปหลายรูปแบบในปัจจุบัน (Agyekum et al., 2022) เช่น การทำให้เป็นของเหลว (liquefaction) แก๊สอัด (compressed gaseous) และการเก็บในถังอัดเย็นยิ่งยวด (cryo-compressed tank) แต่เทคโนโลยีบางอย่างที่เกี่ยวข้องยังอยู่ในระหว่างการพัฒนา นอกจากนี้ การจัดการความปลอดภัยเกี่ยวกับการจัดเก็บและการขนส่งไฮโดรเจนยังไม่มีผู้ศึกษาอย่างครอบคลุม ทั้งนี้ การขนส่งไฮโดรเจนในปัจจุบันแบ่งออกเป็น ๓ ประเภท (Agyekum et al., 2022) ได้แก่ การขนส่งทางบก (rail or road transportation) การขนส่งทางทะเล (ocean transportation) และการขนส่งโดยใช้ระบบท่อ (transportation via pipelines)

## บทสรุป

กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง จัดเป็นกระบวนการที่น่าสนใจในการนำไปผลิตไฮโดรเจน เนื่องจากสามารถใช้วัตถุดิบได้หลากหลายชนิดในกระบวนการผลิต เช่น วัสดุลิกโนเซลลูโลสและวัสดุเหลือทิ้งอื่น ๆ การเพิ่มผลได้ไฮโดรเจนให้สูงขึ้นจากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง สามารถทำได้โดยการผลิตไฮโดรเจนแบบไร้อากาศ ไม่ใช่แสง ร่วมกับกระบวนการอื่น ๆ อย่างไรก็ตาม การผลิตไฮโดรเจนที่มีประสิทธิภาพจำเป็นต้องมีปัจจัยและภาวะที่เหมาะสมแก่กระบวนการผลิตไฮโดรเจน เช่น กล้าเชื้อ อุณหภูมิ

ค่าความเป็นกรด-ด่าง ระยะเวลาที่กักเก็บ และธาตุอาหารหลักกับธาตุอาหารรอง (ภาพที่ ๑) ข้อจำกัดของการใช้พลังงานไฮโดรเจนคือการจัดเก็บและการขนส่งไฮโดรเจน ซึ่งต้องศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีใหม่ ๆ อย่างต่อเนื่อง เพื่อให้การใช้พลังงานไฮโดรเจนเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย



ภาพที่ ๑ ภาพรวมการพัฒนากระบวนการหมักแบบไร้อากาศ ไม่ใช้แสง

### เอกสารอ้างอิง

- Arun, J., Sasipraba, T., Gopinath, K.P., Priyadharsini, P., Nachiappan, S., Nirmala, N., Dawn, S.S., Chi, N.T.L. and Pugazhendhi, A. (2022) Influence of Biomass and Nano Additives in Dark Fermentation for Enriched Bio-hydrogen Production: A Detailed Mechanistic Review on Pathway and Commercialization Challenges. *Fuel*. 327, 125112.
- Agyekum, E.B., Nutakor, C., Agwa, A.M. and Kamel, S. (2022) A Critical Review of Renewable Hydrogen Production Methods: Factors affecting Their Scale-up and Its Role in Future Energy Generation. *Membranes*. 12, 173.
- Argun, H., Kargi, F., Kapdan, I. and Oztekin, R. (2008) Biohydrogen Production by Dark Fermentation of Wheat Powder Solution: Effects of C/N and C/P Ratio on Hydrogen Yield and Formation Rate. *Int. J. Hydrog. Energy*. 33(7), 1813–19.

- Bari, H.E., Lahboubi, N., Habchi, S., Rachidi, S., Bayssi, O., Nabil, N., Mortezaei, Y. and Villa, R. (2022) Biohydrogen Production from Fermentation of Organic Waste, Storage and Applications. *Cleaner Waste Syst.* 2, 100043.
- Cai, J., Zhao, Y., Fan, J., Li, F., Feng, C., Guan, Y, Wang, R. and Tang, N. (2019) Photosynthetic Bacteria Improved Hydrogen Yield of Combined Dark- and Photo-fermentation. *J. Biotechnol.* 302, 18–25.
- Chen, Y., Yin, Y. and Wang, J. (2021) Recent Advance in Inhibition of Dark Fermentative Hydrogen Production. *Int. J. Hydrog. Energy.* 46(7), 5053–73.
- Khongkliang, P., Jehlee, A., Kongjan, P., Reungsang, A. and O-Thong, S. (2019) High Efficient Biohydrogen Production from Palm Oil Mill Effluent by Two-stage Dark Fermentation and Microbial Electrolysis under Thermophilic Condition. *Int. J. Hydrog. Energy.* 44(60), 31841–52.
- Kumari, S. and Das, D. (2017) Improvement of Biohydrogen Production using Acidogenic Culture. *Int. J. Hydrog. Energy.* 42(7), 4083–94.
- Mahata, C., Ray, S. and Das, D. (2020) Optimization of Dark Fermentative Hydrogen Production from Organic Wastes using Acidogenic Mixed Consortia. *Energy Convers. Manag.* 219, 113047.
- Miñón-Fuentes, R. and Aguilar-Juárez, O. (2019) Hydrogen Production from Coffee Pulp by Dark Fermentation. *Water Sci. Technol.* 80(9), 1692–701.
- Rao, R. and Basak, N. (2022) Sequential Dark-photo Batch Fermentation and Kinetic Modelling for Biohydrogen Production using Cheese Whey as a Feedstock. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 194, 3930–60.
- Singh, T., Alhazmi, A., Akbar, M., Srivastava, N., Haque, S., Sharma, S., Singh, R., Yoon, T. and Gupta, V.K. (2021) Integrated Biohydrogen Production via Lignocellulosic Waste: Opportunity, Challenges & Future Prospects, *Bioresour. Technol.* 338, 125511.
- Singh, V. and Das, D. (2019) Potential of Hydrogen Production from Biomass. In de Miranda PEV, Editor. *Science and Engineering of Hydrogen-based Energy Technologies.* Academic Press: Cambridge, MA. p. 123–64.
- Soares, J.F., Confortin, T.C., Toderó, I., Mayer, F.D. and Mazutti, M.A. (2020) Dark Fermentative Biohydrogen Production from Lignocellulosic Biomass: Technological Challenges and Future Prospects. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 117, 109484.

Wang, J. and Yin, Y. (2021) *Clostridium* Species for Fermentative Hydrogen Production: An Overview. *Int. J. Hydrog. Energy.* 46(70), 34599–625.

Yin, Y., Song, W. and Wang, J. (2022) Inhibitory Effect of Acetic Acid on Dark-fermentative Hydrogen Production. *Bioresour. Technol.* 364, 128074.