

**BIOHYDROGEN PRODUCTION FROM SYNTHETIC WASTEWATER
IN ANAEROBIC SEQUENCING BATCH REACTORS**

7

Hannarong Neramitsuk

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University
in Academic Partnership with
The University of Michigan, The University of Oklahoma,
Case Western Reserve University and Institut Français du Pétrole

2007

501978

Thesis Title: Biohydrogen Production from Synthetic Wastewater in Anaerobic Sequencing Batch Reactors
By: Hannarong Neramitsuk
Program: Petrochemical Technology
Thesis Advisors: Assoc. Prof. Sumaeth Chavadej
Assoc. Prof. Pramoch Rungsunvigit
Dr. Thammanoon Sreethawong

Accepted by the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Master of Science.

Nantaya Yanumet
..... College Director
(Assoc. Prof. Nantaya Yanumet)

Thesis Committee:

Sumaeth Chavadej
.....
(Assoc. Prof. Sumaeth Chavadej)

Pramoch R.
.....
(Assoc. Prof. Pramoch Rungsunvigit)

T. Sreethawong
.....
(Dr. Thammanoon Sreethawong)

Ratana Rujiravanit
.....
(Asst. Prof. Ratana Rujiravanit)

Apanee Luengnaruemitchai
.....
(Asst. Prof. Apanee Luengnaruemitchai)

ABSTRACT

4871010063: Petrochemical Technology Program

Hannarong Neramitsuk: Biohydrogen Production from Synthetic Wastewater in Anaerobic Sequencing Batch Reactors

Thesis Advisors: Assoc. Prof. Sumaeth Chavadej, Assoc. Prof. Pramoch Rungsunvigit, and Dr. Thammanoon Sreethawong, 94 pp.

Keywords: Biohydrogen/ Glucose/ Dark fermentation/ Anaerobic Sequencing Batch Reactor

Biohydrogen is of interest because it can be produced from renewable resources, including wastes, under ambient conditions. In this study, anaerobic sequencing batch reactors (ASBR) were used to produce hydrogen from synthetic wastewater under mesophilic conditions. Glucose was used as a substrate for the carbon source. The anaerobic sludge taken from an anaerobic unit treating brewery wastewater was pretreated by boiling for 15 min before adding into the ASBR units as the seeding sludge. The ASBR units were operated at different chemical oxygen demand (COD) loading rates, and the produced gas composition and the concentration of the produced volatile fatty acids (VFA) were analyzed using a gas chromatograph (GC) with a thermal conductivity detector (TCD) and a GC with a flame ionization detector (FID), respectively. As the COD loading rate increased from 10 to 40 kg m⁻³ d⁻¹, the system pH decreased from 6.68 to 5.2. At the optimum COD loading rate of 30 kg m⁻³ d⁻¹, which corresponded to a hydraulic retention time (HRT) of 24 h, the produced gas was found to contain 38% H₂ and 62% CO₂, and the highest hydrogen yield was 1.16 mol-H₂/mol-glucose consumed. However, the hydrogen yield reached the highest value of 1.46 mol H₂/mol glucose consumed at COD loading rate of 40 kg m⁻³ d⁻¹ in the ASBR with pH control (pH = 5.5). At this COD loading rate, the produced gas was found to contain 43% H₂ and 57% CO₂.

บทคัดย่อ

หาญณรงค์ เนรมิตสุข : การผลิตไฮโดรเจนชีวภาพจากน้ำเสียสังเคราะห์ในถังปฏิกรณ์แบบกะต่อเนื่องในสภาวะไร้ออกซิเจน (Biohydrogen Production from Synthetic Wastewater in Anaerobic Sequencing Batch Reactors) อ. ที่ปรึกษา: รศ. ดร.สุเมธ ชวเดช, รศ. ดร.ปราโมช รั้งสรรค้วจิตร และ ดร.ธรรมนุญ ศรีทะวงศ์ 94 หน้า

ไฮโดรเจนชีวภาพเป็นเชื้อเพลิงที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถผลิตจากแหล่งของเชื้อเพลิงที่ไม่มีวันหมดซึ่งรวมถึงของเสียด้วยภายใต้สภาวะปกติทั่วไป ในงานวิจัยนี้ ถังปฏิกรณ์แบบกะต่อเนื่องในสภาวะไร้ออกซิเจน ได้ถูกนำมาใช้เพื่อผลิตไฮโดรเจนจากน้ำเสียสังเคราะห์ภายใต้สภาวะแบบเมโซฟิลิก กลูโคสถูกนำมาใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนในสารตั้งต้น สกัดจากระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน ที่นำมาจากหน่วยบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์ ถูกนำไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 15 นาที ก่อนใส่ลงไปในถังปฏิกรณ์เพื่อเป็นเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น ถังปฏิกรณ์แบบกะต่อเนื่องในสภาวะไร้ออกซิเจน ถูกทำการทดลองที่ค่าอัตราภาระชีโอดีต่างๆกันไป ในขณะที่ห้องค้ประกอบของก๊าซและกรดอินทรีย์ระเหยง่าย ถูกนำไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่องก๊าซโครมาโทกราฟที่ถูกติดตั้งตัวตรวจสอบแบบ Thermal Conductivity Detector และแบบ Flame Ionization Detector ตามลำดับ เมื่อเพิ่มอัตราภาระชีโอดีจาก 10 ไปจนถึง 40 กิโลกรัม ต่อ ลูกบาศก์เมตร ต่อ วัน พบว่า ค่าความเป็นกรดค้างของระบบลดลงจาก 6.68 ไปเป็น 5.2 เมื่อทำการทดลองค่าอัตราภาระชีโอดีที่เหมาะสมที่ 30 กิโลกรัม ต่อ ลูกบาศก์เมตร ต่อ วัน และค่าระยะเวลากักเก็บของเหลวเท่ากับ 24 ชม. พบว่า ก๊าซที่ผลิตได้ประกอบด้วย ก๊าซไฮโดรเจน 38% และ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 62% และผลได้ของไฮโดรเจน สูงสุดเท่ากับ 1.16 โมลของก๊าซไฮโดรเจน ต่อ โมลของกลูโคสที่ถูกใช้ไป อย่างไรก็ตาม ผลได้ของไฮโดรเจนให้ค่าสูงสุดเท่ากับ 1.46 โมลของก๊าซไฮโดรเจน ต่อ โมลของกลูโคสที่ถูกใช้ไป ที่อัตราภาระชีโอดีที่ 40 กิโลกรัม ต่อ ลูกบาศก์เมตร ต่อ วัน เมื่อทำการทดลองในถังปฏิกรณ์แบบกะต่อเนื่องในสภาวะไร้ออกซิเจน ที่ทำการควบคุมค่าความเป็นกรดค้างที่ค่าเหมาะสมที่ 5.5 ณ ค่าอัตราภาระชีโอดีนี้ ก๊าซที่ผลิตได้ประกอบด้วย ก๊าซไฮโดรเจน 43% และ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 57%

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to thank many people who have contributed to my education over the past 2 years and specifically to this research work.

I would like to express my grateful appreciation to Assoc. Prof. Sumaeth Chavadej, Assoc. Prof. Pramoch Rungsunvigit and Dr. Thammanoon Sreethawong, initiated this research thesis topic, for their support, guidance through this research work and served as the thesis advisors. It has been privilege to work with such a dedicated and resourceful people.

I also greatly appreciate for full funded and partially funded by the Thai Research Fund (TRF) Master Research Grants and Postgraduate Education, the National Excellence Center for Petroleum, Petrochemicals, and Advanced Materials, Thailand, and The Research Unit of Applied Surfactants for Separation and Pollutions Control under the Ratchadapisek Somphot Fund, Chulalongkorn University.

I would like to thank all staff of the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University for their assistance.

I feel fortunate to have spent 2 years with collection of graduated students who not only made the experience bearable, but also quite pleasant. Therefore, I simply say thanks to friends who made the two years such a memorable experience.

Finally, I would like to thank my family for their love, spirit and understanding during my studies and research work.

TABLE OF CONTENTS

	PAGE
Title Page	i
Abstract (in English)	iii
Abstract (in Thai)	iv
Acknowledgements	v
Table of Contents	vi
List of Tables	x
List of Figures	xi

CHAPTER

I	INTRODUCTION	1
II	LITERATURE REVIEW	3
III	EXPERIMENTAL	26
	3.1 Materials and Equipments	26
	3.1.1 Seed Sludge and Chemicals for Bacterial Growth	26
	3.1.2 Instruments and Apparatus	27
	3.1.3 Apparatus for Setting Up ASBR	27
	3.1.3.1 Time Control System	27
	3.1.3.2 Level Control System	28
	3.1.3.3 Temperature Control System	28
	3.1.3.4 pH Control System	28
	3.1.3.5 Mixing System	28
	3.2 Methodology	28
	3.2.1 Feed Preparation	28
	3.2.2 ASBR Operation	29
	3.2.3 The Effects of COD Loading Rate	29

CHAPTER	PAGE
3.2.4 The Maximum COD Loading at the Optimum pH	30
3.3 Monitoring and Analysis	31
3.3.1 Steady-State Analysis	31
3.3.2 COD Analysis (Closed Reflux, Colorimetric Method)	31
3.3.2.1 Apparatus	31
3.3.2.2 Reagents	31
3.3.2.3 Procedure	32
3.3.3 Total Suspended Solids (TSS) Analysis	32
3.3.3.1 Apparatus	32
3.3.3.2 Procedure	32
3.3.3.3 Calculation	33
3.3.4 Volatile Suspended Solids (VSS) Analysis	33
3.3.4.1 Apparatus	33
3.3.4.2 Procedure	33
3.3.4.3 Calculation	34
3.3.5 Analysis of Produced Gases	34
3.3.5.1 Components of Produced Gases	34
3.3.5.2 Volume of Produced Gases	34
3.3.6 The Amount of VFA	34
3.3.6.1 Apparatus	34
3.3.6.2 Reagents	34
3.3.6.3 Procedure	35
3.3.6.4 Calculation	35
3.3.7 Glucose Quantification (Glucose (HK) Assay Kit)	36
3.3.7.1 Components	36
3.3.7.2 Apparatus	36
3.3.7.2 Procedure	36
3.3.7.3 Calculation	37
3.4 ASBR Setup	37
3.4.1 Time control system	38

CHAPTER	Page
3.4.1 Time Control System	38
3.4.2 Level Control System	39
3.4.3 Temperature Control System	40
3.4.4 pH Control System	40
3.4.5 Mixing System	41
3.4.6 Gas-Measuring System	42
IV RESULTS AND DISCUSSION	43
4.1 The Effect of COD Loading Rate	43
4.1.1 Final pH	43
4.1.2 Glucose Conversion	44
4.1.3 Gas Production Rate	45
4.1.4 Yield of Hydrogen Production	47
4.1.5 Production of VFA	48
4.1.6 Biomass Production	49
4.1.7 COD Removal	50
4.2 The Effect of COD Loading Rate at Optimum pH (pH = 5.5)	52
4.2.1 Glucose Conversion	52
4.2.2 Gas Production rate	53
4.2.3 Yield of Hydrogen Production	55
4.2.4 Production of VFA	55
4.2.5 Biomass Production (VSS)	56
4.2.6 COD removal	57
V CONCLUSIONS	59
5.1 The Effect of COD Loading Rate	59
5.2 The Effect of COD Loading Rate at Optimum pH (pH = 5.5)	59
5.3 Recommendations	60

CHAPTER	PAGE
REFERENCES	61
APPENDICE	64
CURRICULUM VITAE	94

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
2.1	Comparison of energy balance for aerobic and anaerobic processes	14
2.2	Typical organic loading rates for anaerobic suspended growth processes at 30°C	16
3.1	Operating conditions for the ASBR	29
3.2	Conditions for investigating the effect of COD loading rate	30
3.3	Conditions for investigating the maximum COD loading at the optimum pH	31
3.4	Samples preparation for glucose quantification	36
4.1	Comparison of percentage of glucose conversion between systems without and with pH control	52
4.2	Comparison of gas production rate between systems without and with pH control	53
4.3	Comparison of percentage of produced gas composition between systems without and with pH control	54
4.4	Comparison of gas production rate between systems without and with pH control	54
4.5	Comparison of yield of hydrogen production between systems without and with pH control	55
4.6	Comparison of VFA production between systems without and with pH control	56
4.7	Comparison of biomass production between systems without and with pH control	57
4.8	Comparison of COD removal between systems without and with pH control	58

LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
2.1	Schematic for wastewater treatment methods	7
2.2	Suspended-growth process	11
2.3	Attached-growth process	12
2.4	Carbon and hydrogen flow in anaerobic digestion process	14
2.5	(a) Complete-mix reactor and (b) Anaerobic contact process	16
2.6	Anaerobic sequencing batch reactor (ASBR)	17
2.7	(a) Original UASB process and (b) UASB with sedimentation tank	18
2.8	Anaerobic baffled reactor (ABR)	19
2.9	(a) Anaerobic upflow packed-bed reactor, (b) Anaerobic upflow expanded-bed reactor, and (c) Anaerobic upflow fluidized-bed reactor	20
2.10	Schematic for H ₂ production in secondary treatment	21
3.1	Seed sludge collected from the wastewater treatment plant of Boonrawd Brewery Co., Ltd	26
3.2	Timer, OMRON model H3CR-F	28
3.3	Schematic of the studied ASBR process	38
3.4	The complete ASBR system	38
3.5	Timers, OMRON model H3CR-F, installed on control board	39
3.6	The level sensor installed at a cover of reactor	39
3.7	The temperature control box	40
3.8	pH controllers (Extech model 48PH2)	41
3.9	pH electrode	41
3.10	Mixing system (Magnetic stirrer)	42

FIGURE		PAGE
3.11	Gas-measuring system (wet gas meter)	42
4.1	Effect of COD loading rate on the final pH of system at 37°C and 24 h of HRT	44
4.2	Effect of COD loading rate on glucose conversion at 37°C and 24 h of HRT	45
4.3	Effect of COD loading rate on gas production rate at 37°C and 24 h of HRT	46
4.4	Effect of COD loading rate on gas content at 37°C and 24 h of HRT	46
4.5	Effect of COD loading rate on H ₂ production rate at 37°C and 24 h of HRT	47
4.6	Effect of COD loading rate on yield of hydrogen at 37°C and 24 h of HRT	48
4.7	Effect of COD loading rate on VFA production at 37°C and 24 h of HRT	49
4.8	Effect of COD loading on biomass concentration (VSS) at 37°C and 24 h of HRT	50
4.9	Effect of COD loading on COD removal at 37°C and 24 h of HRT	51