

**IMPROVEMENT OF BIOGAS PRODUCTION BY ADDED CHELANTS
FOR MICRONUTRIENT CONTROL**

Arada Sookkeaw

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment 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
2015

I 283 68484

580014

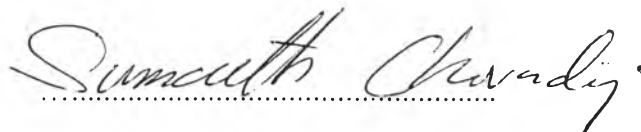
Thesis Title: Improvement of Biogas Production by Added Chelants for
Micronutrient Control
By: Arada Sookkeaw
Program: Petrochemical Technology
Thesis Advisors: Prof. Sumaeth Chavadej
Dr. Malinee Leethochawalit

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

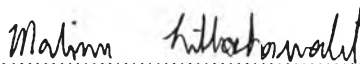


..... College Dean
(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

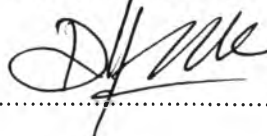
Thesis Committee:



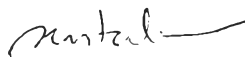
.....
(Prof. Sumaeth Chavadej)



.....
(Dr. Malinee Leethochawalit)



.....
(Asst. Prof. Pomthong Malakul)



.....
(Prof. Dr. Suntud Sirianuntapiboon)

ABSTRACT

5671001063: Petrochemical Technology Program

Arada Sookkeaw: Improvement of Biogas Production by Added Chelants for Micronutrient Control.

Thesis Advisors: Prof. Sumaeth Chavadej, Dr. Malinee

Leethochawalit 88 pp.

Keywords: Chelants / Micronutrient / Anaerobic system / Cassava wastewater / Continuous stirred tank reactor

The objective of the present study was to investigate a use of chelants for micronutrients control in an anaerobic system to improve biogas production. A continuous stirred tank reactor (CSTR) with 4 L in liquid working volume was fed with cassava wastewater at a constant COD loading rate of 1.7 kg/m³d and 37 °C. Two chelants of ethylenediaminetetraaceticacid disodium salt (EDTA) and tetrasodiumglutamate diacetate (Na₄GLDA) were added in to the cassava wastewater at different concentrations. The results showed that the optimum dosages of EDTA and GLDA were 5 and 3 ppm, respectively. As compared to the system without added chelant, the addition of 3 ppm GLDA was found to enhance a methane production rate from 0.45 to 0.76 L/d; CH₄ content from 74.4 to 86.5 %, CH₄ yield from 75 to 152 mL/g COD applied, and COD removal from 51.9 to 63.1 %. The addition of each chelant not less than its optimum dosage, all micronutrients (Co, Ni, Cu, Mo, and Fe) in which are necessary for the production of microbial enzymes are effectively chelated to form water soluble complexes. Moreover, each ferric chloride ion and cobalt chloride ion were added to feed at different concentrations. The optimum dosage of ferric chloride and cobalt chloride were 300 and 1 ppm, respectively. The additions of ferric chloride and cobalt chloride were found to enhance methane production rate from 0.45 to 0.6 and 0.66 CH₄L/d, respectively. Content from 74.4 to 78.2 and 82.6 %, respectively. CH₄ yield from 75 to 100 and 110 mL/g COD applied, respectively. COD removal from 51.9 to 58.7 and 61.4 %, respectively. The addition ferric chloride and cobalt chloride were sufficient for combined with sulfide. Therefore, hydrogen sulfide was decreased from 0.1 to 0 %.

บทคัดย่อ

อารดา สุขแก้ว : การปรับปรุงการผลิตก๊าซชีวภาพโดยการเติมสารคีเลตสำหรับควบคุมสารอาหารรอง (Improvement Biogas Production by Added Chelants for Micronutrient Control) อ. ที่ปริกษา : ศ. ดร. สุเมธ ชวเดช และ ดร. มาลินี ธิโทชวลิต 88 หน้า

ในการศึกษานี้สารคีเลตถูกใช้สำหรับการควบคุมสารอาหารรองในระบบการหมักแบบปิดโดยปราศจากออกซิเจนเพื่อปรับปรุงผลิตภัณฑ์แก๊สชีวภาพ เครื่องปฏิกรณ์ดังกล่าวแบบต่อเนื่องโดยปริมาตรของน้ำเสียเป้งมันสำปะหลังที่ค่าคงที่ของอัตราปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ ๑.๗ กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตรต่อวันและอุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส น้ำเสียเป้งมันถูกป้อนเข้าเป็นจำนวน ๔ ลิตร และไมควบคุมสภาวะความเป็นกรดเป็นด่าง สารคีเลตสองชนิดที่ความเข้มข้นต่างกันถูกเติมเข้าไปในน้ำเสียเป้งมันสำปะหลัง ได้แก่ เกลือเอททิลีน ไดเอมีนเตตระแอซีติกแอซิด ไดโซเดียม (EDTA) และ เตตระโซเดียมกลูตาเมต ไดอะซีเตต (Na_4GLDA) จากการศึกษาพบว่าปริมาณที่เหมาะสมของ EDTA และ GLDA คือ ๕ และ ๓ มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับเมื่อเทียบกับระบบที่ไม่มีการเติมสารคีเลต การเติม GLDA ๓ มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าถูกทำให้ถูกเพิ่มอัตราการผลิตก๊าซมีเทนจาก ๐.๔๕ เป็น ๐.๗๖ ลิตรมีเทนต่อวัน องค์ประกอบเปอร์เซ็นต์ของมีเทนถูกทำให้เพิ่มจาก ๗๔.๔ เป็น ๘๖.๕ เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตมีเทนถูกเพิ่มจาก ๗๕ เป็น ๑๕๒ มิลลิกรัมต่อกรัมชีโอดีที่ใช้ได้ และ เปอร์เซ็นต์ชีโอดีที่ถูกใช้ไปถูกเพิ่มจาก ๕๑.๘ เป็น ๖๓.๑ เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การเพิ่มของแต่ละสารคีเลตจะต้องไม่น้อยกว่าปริมาณที่เหมาะสมสารอาหารรองทั้งหมด (Co, Ni, Cu, Mo, Fe และ Zn) ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการผลิตเอนไซม์ของจุลินทรีย์ถูกทำให้อยู่ในรูปโครงสร้างที่ซับซ้อนที่สามารถละลายน้ำได้กับสารคีเลตได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้เฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3) และโคบอลต์คลอไรด์ (CoCl_2) ที่เติมเข้าไปในน้ำเสียเป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ผลการศึกษาพบว่าปริมาณที่เหมาะสมของ FeCl_3 ที่ ๓๐๐ มิลลิกรัมต่อลิตร และ CoCl_2 ที่ ๑ มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับระบบที่ไม่เติม FeCl_3 และ CoCl_2 พบว่าอัตราการผลิตก๊าซมีเทนเพิ่มจาก ๐.๔๕ เป็น ๐.๖ และ ๐.๖๖ ลิตรมีเทนต่อวันตามลำดับ องค์ประกอบเปอร์เซ็นต์ของมีเทนถูกทำให้เพิ่มจาก ๗๔.๔ เป็น ๗๘.๒ และ ๘๒.๖ เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ผลผลิตมีเทนถูกเพิ่มจาก ๗๕ เป็น ๑๐๐ และ ๑๑๐ มิลลิกรัมต่อกรัมชีโอดีที่ใช้ได้ตามลำดับ และ เปอร์เซ็นต์ชีโอดีที่ถูกใช้ไปถูกเพิ่มจาก ๕๑.๘ เป็น ๕๘.๗ และ ๖๑.๔ เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ FeCl_3 และ CoCl_2 ยังเพียงพอสำหรับการรวมกับซัลไฟด์ทำให้ปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ลดลงจาก ๐.๑ เป็น ๐ เปอร์เซ็นต์

ACKNOWLEDGEMENTS

This work would have not been successful without assistance of the following individuals and organization. First of all. “This thesis work is funded by the Petroleum and Petrochemical College; and the National Center of Excellence for Petroleum, Petrochemicals, and Advanced Materials, Thailand.”

I would like to express my grateful appreciation to my thesis advisors. Prof. Sumaeth Chavadej and Dr. Malinee Leethochawalit, for their support and advice throughout this research work. Special thanks go to Asst. Prof. Pomthong Malakul, Prof. Suntud Sirianuntapaiboon and Dr. Patcharee Intanoo for their valuable suggestions. Moreover, I would to thank Ubon Biogas Co., Ltd., Ubon Ratchathani, Thailand, for kindly providing the seed sludge and cassava wastewater and Thailand Research Fund (TRF) – The TRF Senior Research Scholar Grant for supporting research.

TABLE OF CONTENTS

	PAGE
Title Page	i
Abstract (in English)	iii
Abstract (in Thai)	iv
Acknowledgements	v
Table of Contents	vi
List of Tables	xxi
List of Figures	xli
 CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
 II LITERATURE REVIEW	
2.1 Biogas	3
2.1.1 Advantages of Biogas	3
2.2 Cassava Wastewater	4
2.2.1 Type of Lignocellulosic	5
2.2.2 Pretreatment Lignocellulosic	7
2.3 Anaerobic Digestion	9
2.4 Micronutrients	14
2.5 Chelants	15
2.6 Literature Review on Improvement of Biogas Production by Added Micronutrient	17
 III EXPERIMENTAL	
3.1 Materials	29
3.2 Chemicals	29
3.3 Equipment	31
3.4 Methodology	31

CHAPTER	PAGE
3.4.1 Seed Sludge Preparation	31
3.4.2 Substrate Preparation	31
3.4.3 CSTR Operation	31
3.5 Measurement and Analytical Method	33
3.5.1 COD Analysis	33
3.5.2 Nitrogen Analysis	33
3.5.3 Phosphorous Analysis	33
3.5.4 Total VFA and VFA Composition Analysis	34
3.5.5 pH Analysis	34
3.5.6 The Amount of Produced Gas	34
3.5.7 Gas Composition Analysis	34
3.5.8 TSS Analysis	35
3.5.9 VSS Analysis	36
3.5.10 Micronutrients Analysis	37
3.6 Parameter	37
3.6.1 COD removal	37
3.6.2 Methane Yield (ml CH ₄ /g COD removed)	37
3.6.3 Methane Yield (ml CH ₄ /g COD applied)	38
3.6.4 Specific Methane Production Rate (SMPR) (ml CH ₄ /L _R d)	38
3.6.5 Specific Methane Production Rate (SMPR) (ml CH ₄ /g MLVSS d)	38
IV RESULTS AND DISCUSSION	39
4.1 Anaerobic Digestion of Cassava Wastewater with Added Ethylenediaminetetraaceticacid Disodium Salt (EDTA) Chelant	39
4.1.1 COD Removal and Gas Production Rate	39
4.1.2 Gas Composition and Methane Production Rate	40
4.1.3 Amount of Volatile Fatty Acid	43

CHAPTER	PAGE
4.1.4 Microbial Concentration and Microbial Washout	43
4.1.5 The Amount of Micronutrient Concentration	45
4.2 Anaerobic Digestion of Cassava Wastewater with Added Tetrasodiumglutamate Diacetate (Na_4GLDA) Chelant	47
4.2.1 COD Removal and Gas Production Rate	47
4.2.2 Gas Composition and Methane Production Rate	47
4.2.3 Amount of Volatile Fatty Acid	48
4.2.4 Microbial Concentration and Microbial Washout	48
4.2.5 The Amount of Micronutrient Concentration	52
4.3 Anaerobic Digestion of Cassava Wastewater with Added Ferric Chloride (FeCl_3)	53
4.3.1 COD Removal and Gas Production Rate	53
4.3.2 Gas Composition and Methane Production Rate	54
4.3.3 Amount of Volatile Fatty Acid	55
4.3.4 Microbial Concentration and Microbial Washout	55
4.3.5 The Amount of Micronutrient Concentration	58
4.4 Anaerobic Digestion of Cassava Wastewater with Added Cobalt Chloride (CoCl_2)	59
4.4.1 COD Removal and Gas Production Rate	59
4.4.2 Gas Composition and Methane Production Rate	60
4.4.3 Amount of Volatile Fatty Acid	61
4.4.4 Microbial Concentration and Microbial Washout	61
4.4.5 The Amount of Micronutrient Concentration	64
V CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS	66
5.1 Conclusions	66
5.2 Recommendations	66

CHAPTER	PAGE
REFERENCE	68
APPENDICES	77
Appendix A Calibration Curves for Gas Chromatography	77
Appendix B Calibration Curves for High Performance Liquid Chromatography	82
CURRICULUM VITAE	88

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
2.1	Advantages and disadvantages of various pretreatment processes for lignocellulosic materials	8
2.2	Role of some essential trace elements in various enzymes involved in anaerobic reaction and transformation	26
2.3	Recommended concentrations of trace elements in anaerobic digesters	27
3.1	Characteristics of the seed sludge	30
3.2	Characteristics of the cassava wastewater	30
4.1	The log stability constant of metal chelating compounds	46
4.2	The amount of micronutrient without added EDTA and added EDTA at different concentration	46
4.3	The amount of micronutrient without added GLDA and added GLDA at different concentration	53
4.4	The amount of micronutrient without added FeCl ₃ and added FeCl ₃ at different concentration	59
4.5	The amount of micronutrient without added CoCl ₂ and added CoCl ₂ at different concentration	65
A1	Calibration curve for hydrogen (H ₂)	77
A2	Calibration curve for nitrogen	78
A3	Calibration curve for oxygen	79
A4	Calibration curve for methane (CH ₄)	80
A5	Calibration curve for carbon dioxide (CO ₂)	81
B1	Calibration curve for ethanol (C ₂ H ₅ OH)	82
B2	Calibration curve for lactic acid (C ₃ H ₆ O ₃)	83
B3	Calibration curve for valeric acid (C ₅ H ₁₀ O ₂)	84
B4	Calibration curve for propionic acid (C ₃ H ₆ O ₂)	85
B5	Calibration curve for acetic acid (CH ₃ COOH)	86

TABLE	PAGE
B6	Calibration curve for butyric acid ($C_3H_6O_3$) 87

LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
2.1	Structure of lignocellulosic plant biomass.	6
2.2	Schematic of pretreatment on lignocellulosic material.	7
2.3	Steps involved in anaerobic digestion.	9
2.4	Chemical structures of EDTA chelate.	15
2.5	Chemical structures of GLDA chelate.	16
3.1	Schematic of the studied CSTR process.	32
4.1	Effects of added EDTA on COD removal and gas production rate.	40
4.2	Effects of added EDTA on gas composition and methane production rate.	41
4.3	Effects added EDTA on SMPR (specific methane production rate).	42
4.4	Effects of added EDTA on methane yield.	42
4.5	Effects of added EDTA concentration on total VFA, organic acid, and alcohol concentration.	44
4.6	Effects of added EDTA on MLVSS and effluent VSS.	44
4.7	Effects of added GLDA on COD removal and gas production rate.	49
4.8	Effects of added GLDA on gas composition and methane production rate.	50
4.9	Effects of Added GLDA on SMPR (specific methane production rate).	50
4.10	Effects of added GLDA on methane yield.	51

FIGURE	PAGE	
4.11	Effects of added GLDA on total VFA, organic acid, and alcohol concentration.	51
4.12	Effects of added GLDA on MLVSS and effluent VSS.	52
4.13	Effects of added ferric chloride on COD removal and gas production rate.	54
4.14	Effects of added ferric chloride on gas composition and methane production rate.	56
4.15	Effects of Added ferric chloride on SMPR (specific methane production rate).	56
4.16	Effects of added ferric chloride on methane yield.	57
4.17	Effects of added ferric chloride on total VFA, organic acid, and alcohol concentration.	57
4.18	Effects of added ferric chloride on MLVSS and effluent VSS.	58
4.19	Effects of added cobalt chloride on COD removal and gas production rate.	60
4.20	Effects of added cobalt chloride on gas composition and methane production rate.	62
4.21	Effects of added cobalt chloride on SMPR (specific methane production rate).	62
4.22	Effects of added cobalt chloride on methane yield.	63
4.23	Effects of added cobalt chloride on total VFA, organic acid, and alcohol concentration.	63
4.24	Effects of added cobalt chloride on MLVSS and effluent VSS.	64
A1	The relationship between volume of hydrogen (H ₂) and peak area.	77
A2	The relationship between volume of nitrogen (N ₂) and peak area.	78
A3	The relationship between volume of oxygen (O ₂) and peak area.	79

FIGURE		PAGE
A4	The relationship between volume of methane (CH_4) and peak area.	80
A5	The relationship between volume of carbon dioxide (CO_2) and peak area.	81
B1	The relationship between concentration of ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) and peak area	82
B2	The relationship between concentrations of lactic acid ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$) and peak area.	83
B3	The relationship between concentrations of valeric acid ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$) and peak area.	84
B4	The relationship between concentrations of propionic acid ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$) and peak area.	85
B5	The relationship between concentration of acetic acid (CH_3COOH) and peak area.	86
B6	The relationship between concentrations of butyric acid ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) and peak area.	87