

เยื่อแผ่นชนิดโซล-เจลด้วยอะลูมินาเพื่อการแยกเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากสารละลาย

นางสาว วีรวรรณ วัจนพรศาล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-636-626-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 20503064

ALUMINA SOL-GEL MEMBRANE FOR α -AMYLASE ENZYME
SEPARATION FROM SOLUTION

Miss Veerawan Vajanapornsan

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering

Department of Chemical Engineering

Graduate School

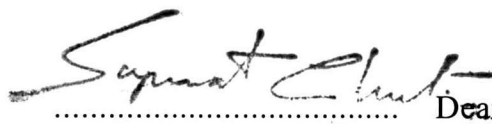
Chulalongkorn University

Academic Year 1996

ISBN 974-636-626-2

Thesis Title Alumina Sol-Gel Membrane for α -Amylase Enzyme
Separation from Solution
By Miss Veerawan Vajanapornsan
Department Chemical Engineering
Thesis Advisor Associate Professor Chirakarn Muangnapoh, Dr.Ing.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.



..... Dean of Graduate School

(Professor Supawat Chutivongse, M.D.)

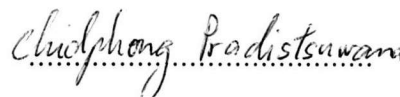
Thesis Committee

 Chairman

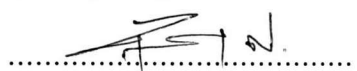
(Professor Wiwut Tanthapanichakoon, Ph.D.)

 Thesis Advisor

(Associate Professor Chirakarn Muangnapoh, Dr.Ing.)

 Member

(Chidphong Pradistsuwana, Ph.D.)

 Member

(Pakamat Sdinthammasak, M.Eng.)

พิมพ์ต้นฉบับบทความวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

วีรวรรณ วัจนพรศาล : เยื่อแผ่นชนิดโซล-เจลด้วยอะลูมินาเพื่อการแยกเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส
จากสารละลาย (ALUMINA SOL-GEL MEMBRANE FOR α -AMYLASE ENZYME
SEPARATION FROM SOLUTION) อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ :
รองศาสตราจารย์ ดร.จิรกานต์ เมืองนาโพธิ์, 110 หน้า. ISBN 974-636-626-2

วิธีการเตรียมตัวกรองอะลูมินาถูกศึกษาโดยใช้เทคนิคโซล-เจลเพื่อใช้ในการแยกเอนไซม์แอลฟา
อะไมเลสจากสารละลาย สารละลายโซลเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างอะลูมิเนียมเฮกซะแคบดริบวาทอกไซด์, น้ำ
และกรดไนตริก ที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 1:100:0.07 โดยโมลตามลำดับ สารละลายโซลที่
ได้จะถูกนำไปเคลือบบนตัวกรองรับเป็นเวลา 10 วินาที จากนั้นเผาตัวกรองที่ได้ที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส
เป็นเวลา 30 นาที เพื่อเปลี่ยนโบรไมต์ให้เป็นแกรมมาอะลูมินา ตัวกรองที่เคลือบสองชั้นจะได้เยื่อแผ่นที่มีขนาดรู
พรุน 73.9 อัมสตรอง ปริมาตรรูพรุน 0.1322 ลบ.ซม./กรัม และ ความพรุนตัว 48.04 % ตามลำดับ ตัวกรองอะลู
มินาที่ผลิตได้กักเก็บโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ 0.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ได้ถึง 44.9 เปอร์เซ็นต์ ตัวกรองเหล่านี้ได้
ถูกนำมาใช้แยกเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากสารละลาย ภายใต้ความดัน 0.3-0.5 บาร์, ความเข้มข้นของสาร
ละลายเอนไซม์ 1.2-2.4 กรัม/ลิตร และ ความเร็วเวียนกลับ 1.04-1.66 เมตร/วินาที พบว่า การเพิ่มความดันและ
ความเร็วเวียนกลับทำให้เพอเมอชันฟลักซ์และความเข้มข้นเพิ่มขึ้นที่การกักเก็บเฉลี่ย 67.22 เปอร์เซ็นต์ และยัง
พบว่าเยื่อแผ่นที่ทำได้สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ได้ 44.60 เปอร์เซ็นต์ภายใน 120 นาที

ภาควิชา วิศวกรรมเคมี
สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา 2539

ลายมือชื่อนิสิต *Imr Kimh*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *(Mr - Siam)*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาพร้อม

C717187 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEY WORD: SOL-GEL/ALUMINA/MEMBRANE/ α -AMYLASE ENZYME/SEPARATION
VEERAWAN VAJANAPORNAN : ALUMINA SOL-GEL MEMBRANE FOR
 α -AMYLASE ENZYME SEPARATION FROM SOLUTION.

THESIS ADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR CHIRAKARN MUANGNAPOH, Dr.Ing.
110 pp. ISBN 974-636-626-2.

The preparation method of Alumina filters were studied by using sol-gel technique for separating α -amylase enzyme from the solution. Sol solution was obtained from the reaction of Aluminium secondary butoxide, water and nitric acid at 80-85°C in mole ratio of 1:100:0.07, respectively. The obtained sol solution was coated on the support for 10 seconds. After that, the made filter was calcined at 600°C for 30 minute to change boehmite to be gamma alumina. The obtained bi-layer membrane has pore size of 73.9 A, pore volume of 0.1322 cm³/g, and porosity of 48.04 %, respectively. The rejection of 0.2 % wt. Polyvinyl Alcohol by home made alumina filters is 44.9 %. These filters were used to separated α -amylase enzyme from solution, under pressure of 0.3-0.5 bars, enzyme concentration of 1.2-2.4 g/litre, and recirculation velocity of 1.04-1.66 m/sec. It was found that permeation flux increases as enzyme and recirculation velocity increase at average rejection of 67.22 %. And it was also found that made membrane can increase enzyme concentration to 44.60 % in 120 minutes.

ภาควิชา..... วิศวกรรมเคมี

สาขาวิชา..... วิศวกรรมเคมี

ปีการศึกษา..... 2539

ลายมือชื่อนิสิต..... *Mr. Veerawan*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *(Chirakarn Muangnapoh)*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to express her highest gratitude to Associate Professor Dr. Chirakarn Muangnapoh for her inspirational advice, guidance, supervision, and helpful suggestions throughout this research study. She is also grateful to Professor Dr. Wiwut Tanthapanichkoon for serving as chairman, Dr. Chidphong Pradistsuwana and Mrs. Pakamat Sdinthammasak as members of this thesis committee.

Many favorite thanks to Siam Cement Public Company Limited for alumina, The East Asiatic Company (Thailand) Ltd. for α -amylase enzyme. Loxley Public Company Limited and Osi Specialties (Thailand) Ltd. for chemicals.

Thank you for the instrumental support from Metallurgy and Material Science Research Institute and Department of Material Science, Chulalongkorn University.

Most of all, the author would like to express her highest gratitude to her parents for their inspiration and encouragement during her research.

Finally, special thanks to Mr. Smith Teratrakoonwichaya for his valuable suggestion, encouragement, and aspiration. And sincere gratitude to members of Biochemical Engineering Laboratory for supporting over the years of her study.

NOMECLATURE

C	=	Concentration	[g/l]
C _B	=	Concentration of solute	[g/l]
C _G	=	Concentration of gel	[g/l]
C _P	=	Concentration of permeate	[g/l]
C _w	=	Concentration at the membrane surface	[g/l]
D _v	=	Solute diffusivity	[cm ² /min]
d	=	Fluid channel height on membrane	[μm]
J	=	Filtration flux rate	[cm ³ /min-cm ²]
K	=	Mass transfer coefficient	[cm/min]
L	=	Filter length	[cm]
M	=	Metal	[-]
n	=	Valence number	[-]
P _f	=	Filtrate pressure	[bar]
P _i	=	Inlet pressure	[bar]
P _o	=	Outlet pressure	[bar]
ΔP	=	Pressure drop	[bar]
ΔPTM	=	Transmembrane pressure	[bar]
Q	=	Volumetric flow rate	[cm ³ /min]
R	=	Alkyl group	[-]
R _M	=	Membrane resistances	[cm ⁻¹]

R_G	=	Gel resistances	$[\text{cm}^{-1}]$
Re	=	Reynolds number	$[-]$
Sc	=	Schmidt number	$[-]$
Sh	=	Sherwood number	$[-]$
t	=	Coating time	$[\text{sec}]$
V	=	Recirculation velocity	$[\text{cm}/\text{min}]$
v_o	=	Total volume absorbed	$[\text{cm}^3/\text{g}]$
x	=	Membrane thickness	$[\mu\text{m}]$
δ	=	Boundary layer thickness	$[\mu\text{m}]$
ρ	=	Density	$[\text{kg}/\text{cm}^3]$
ρ_s	=	Skeletal density	$[\text{g}/\text{cm}^3]$
μ	=	Viscosity	$[\text{kg}/\text{cm}\cdot\text{min}]$
σ	=	Rejection coefficient	$[-]$
v	=	Valence	$[-]$
ε	=	Membrane porosity	$[-]$

CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (IN THAI).....	iv
ABSTRACT (IN ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENT.....	vi
NOMECLATURE.....	vii
CONTENTS.....	ix
LIST OF TABLES.....	xii
LIST OF FIGURES.....	xiv
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
1.1 The objectives of this study.....	2
1.2 The scopes of this study.....	3
II LITERATURE REVIEW.....	4
2.1 Reviewed Papers on Ceramic Membrane.....	4
2.2 Reviewed Papers of α -Amylase Enzyme.....	8
III THEORY.....	11
3.1 Membrane.....	11
3.2 Membrane Processing.....	14
3.3 Preparation of Membrane Over Support.....	15

	PAGE
3.4 Influential Factors of Ceramic Membrane.....	21
3.5 Sol-Gel Theory.....	22
3.6 Enzymes.....	25
3.7 α -Amylase Enzyme.....	28
3.8 Ultrafiltration.....	35
IV EXPERIMENTS.....	46
4.1 Chemicals.....	46
4.2 Equipments.....	47
4.3 Experimental Procedures.....	48
V RESULTS AND DISCUSSIONS.....	58
5.1 Characterization of Supported and Intermediated Layers' Properties.....	58
5.2 The Influence of Acid Concentration in Sol Solution on Membrane Formation.....	62
5.3 The Effect of Coating Time on the Membrane Thickness.....	66
5.4 The Effect of Calcination Temperature on the Microstructure.....	70
5.5 The Effect of Calcination Time on the Microstructure.....	73

	PAGE
5.6 Study of Rejection Performance on Home Made Porous Filter.....	75
5.7 Standard Permeation Flux of Distilled Water on Home Made Porous Filter.....	77
5.8 α -Amylase Concentration.....	81
VI CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS.....	89
REFERENCES.....	91
APPENDIX	
A SUPPORT PROPERTIES DETERMINATION.....	96
B POLYVINYL ALCOHOL DETERMINATION.....	98
C SACCHARIFYING AMYLASE DETERMINATION.....	100
D EXPERIMENTAL DATA.....	103
BIOGRAPHY.....	110

LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
2.1 Influence of Support (Pore Size) and Peptizing Acid on the Formation of Gel Layers During Dipping.....	6
2.2 Influence of Water Concentration on Gelation.....	7
3.1 Sources of α -Amylase Enzyme from Natural.....	28
5.1 Properties of Supported Layer.....	58
5.2 Comparison of One and Bi-Layer Membrane Properties.....	76
5.3 Result of Percent Increasing of Enzyme Concentration at 120 minutes of Filtration.....	81
5.4 Comparison of Percent Increasing α -Amylase Enzyme at Transmembrane Pressure 0.5 bar, Recirculation Velocity 1.66 m/sec.....	83
D1 Pore Size Distribution of Support Layers.....	103
D2 Membrane Thickness VS. Coating Time.....	103
D3 Properties of Membranes in Various Calcination Temperature.....	104
D4 Properties of Membranes in Various Calcination Time.....	104
D5 Permeation Flux of Support and Intermediate at Recirculation Velocity 1.66 m/sec in Various Transmembrane Pressure.....	104

TABLE	PAGE
D6 Permeation Flux of Bi-Layer Membrane in Various Transmembrane Pressure.....	104
D7 Pore Size Distribution of One and Bi-Layer Membrane	105
D8 Experimental datas of Filtration at Enzyme Concentration and Recirculation Velocity of 2.4 g/litre and 1.66 m/sec.....	106
D8 Experimental datas of Filtration at Enzyme Concentration and Recirculation Velocity of 2.4 g/litre and 1.43 m/sec.....	107
D10 Experimental datas of Filtration at Enzyme Concentration and Recirculation Velocity of 2.4 g/litre and 1.04 m/sec.....	108
D11 Experimental datas of Filtration at Transmembrane Pressure and Recirculation Velocity of 0.5 bar and 1.66 m/sec.....	109

LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
3.1 Schematic Representation of an Asymmetric Membrane and a Symmetric Membrane.....	11
3.2 Dehydration Sequence of Alumina Hydrates in Air.....	16
3.3 Structure of Boehmite.....	17
3.4 Preparation Scheme for DCS and PMU.....	19
3.5 Reaction Mechanisms of Various Amylase.....	30
3.6 Concentration Gradient.....	36
3.7 Concentration Gradient until Gel Polarization.....	39
3.8 The Comparison between Conventional Filtration and Cross-Flow Filtration.....	40
3.9 Cross-Flow Filtration Pressure Relationship.....	42
4.1 Sol-Gel Equipment.....	50
4.2 Photograph of Ceramic Filter.....	54
4.3 Schematic diagram of Ceramic Module.....	55
4.4 Experimental Apparatus of Filtraton Unit.....	56
4.5 Schematic diagram of Fitraton Apparatus.....	57
5.1 Pore Size Distribution of Support and Intermediate.....	60
5.2 SEM Photograph of Supports.....	61

FIGURE	PAGE
5.3 SEM Photograph of Gel Layer at Various Acid Concentration.....	65
5.4 Correlation between Membrane Thickness and Coating Time....	67
5.5 SEM Photograph of Gel Layer at Various Coating Time.....	69
5.6 X-Ray Diffraction Patterns of Al ₂ O ₃	71
5.7 Correlation between Porosity, Pore Volume, and Pore Diameter VS. Calcination Temperature	72
5.8 Correlation between Porosity, Pore Volume, and Pore Diameter VS. Calcination Time.....	74
5.9 Correlation between Permeation Flux of Distilled Water and Transmembrane Pressure on Supported and Intermediated Layer...	78
5.10 Correlation between Permeation Flux of Distilled Water and Transmembrane Pressure on Bi-Layer Membrane.....	79
5.11 Permeation Flux at Enzyme Concentration and Recirculation Velocity of 2.4 g/litre and 1.66 m/sec.....	84
5.12 Permeation Flux at Enzyme Concentration and Recirculation Velocity of 2.4 g/litre and 1.43 m/sec.....	85
5.13 Permeation Flux at Enzyme Concentration and Recirculation Velocity of 2.4 g/litre and 1.04 m/sec.....	86
5.14 Correlation of Transmembrane Pressure and Permeation Flux at Enzyme Concentration 2.4 g/litre.....	87

FIGURE	PAGE
5.15 Permeation Flux at Transmembrane Pressure and Recirculation	
Velocity of 0.5 bar and 1.66 m/sec.....	88
B1 Polyvinyl Alcohol (MW 70,000-100,000) Standardization Curve..	99
C1 Glucose Standardization Curve.....	102