

한외여과를 이용한 α -Amylase 의 분리특성

김현수·유영제

서울대학교 공과대학 화학공학과
(1989년 10월 26일 접수, 1990년 3월 23일 채택)

Separation of α -Amylase using Cross-Flow Ultrafiltration

Hyun-Soo Kim and Young Je Yoo

Department of Chemical Engineering, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
(Received 26 October 1989; accepted 23 March 1990)

요 약

십자흐름 한외여과장치를 이용하여 α -amylase 를 분리하는 경우 조업조건이 분리효율에 미치는 영향을 실험적으로 관찰하였다. 여과압력이 높을수록 그리고 유속이 낮을수록 분리효율은 증가하였다. 또한 여과압력이 높고 유속이 낮으며, α -amylase 의 농도가 낮은 경우 효소활성이 심하게 저하되었다. 여과유속을 예측하기 위하여 모델식을 이용하여 실제 실험치와 비교한 결과 α -amylase 의 농도가 낮은 경우 예측치와 실험치가 잘 일치하였다.

Abstract—The effects of operating conditions on the separation efficiency of α -amylase employing cross-flow ultrafiltration unit were investigated. High transmembrane pressure and low flow rate gave a higher separation efficiency. Severe deactivation of the enzyme during cross-flow ultrafiltration was observed when the transmembrane pressure was high and both flow rate and the enzyme concentration were low. The permeate flow rate could be well predicted by using related model equations, especially for the feed stream of low enzyme activities.

1. 서 론

최근 생명공학의 발달에 따라 많은 단백질 제품이 생산되기 시작하여 효율이 높은 분리정제 기술의 필요성이 대두되었다. 최근 분자량 차이를 이용하는 막분리 기술은 생명화학공학자들의 큰 관심을 끌게 되었으며 단백질 분리에 많이 이용되기 시작하였다[1, 2]. 초기에 개발된 투석여과(diafiltration) 방식의 분리기를 사용하여 분리하는 경우 조업시간이 경과함에 따라 막을 통과하지 못하는 물질들이 막표면에 쌓이게 된다. 이러한 현상을 농도분극(concentration polariza-

tion) 현상이라고 하며 농도분극 현상이 일어날 경우 막을 통과하는 여과유속(permeate flux)은 감소하게 된다[1-4]. 단백질의 분리에 있어서는 이러한 농도분극 현상이 gel 층을 형성시키고 gel 층은 한외여과막을 통과하는 흐름을 중단시킬 수 있을 정도의 큰 수력학적 저항을 생성시킬 뿐 아니라 효소의 활성을 심하게 저하시키므로[5] 실제 단백질의 막분리 방법으로 십자흐름 여과(cross-flow filtration) 방식이 개발되어 많이 이용되고 있다.

십자흐름 여과방식이나 투석여과방식 등을 이용하는 한외여과(Ultrafiltration)는 분자크기 0.001-0.1 μ m

의 단백질과 같은 고분자물질의 분리·정제에 이용된다. 한외여과의 분리성능을 결정하는 여과유속은 여과압력, 단백질 농도 그리고 여과기 내에서의 유속 등의 조업조건에 따라 달라진다. 그러므로 경제성을 고려하여 막분리를 설계하고 제어하기 위해서는 분리특성과 조업조건에 따른 여과유속의 예측에 대한 정보가 요구된다.

본 연구에서는 십자흐름여과기를 사용하여 여러 가지 조업조건에 따른 단백질의 분리특성을 관찰하였으며 또한 경제적인 조업조건을 정하는데 필요한 여과유속을 예측할 수 있는 모델식의 변수를 추정하였다.

2. 이론적 배경

한외여과에서의 여과유속은 막과 용액의 성질, 막과 용질사이의 상호작용 그리고 용매의 이동 mechanism에 따라게 된다. 일반적으로 막의 제조와 응용에 대하여는 많은 논문을 통하여 보고[6]되었으나 막과 용질사이의 상호작용과 이동현상에 대한 연구는 충분하지 않다. 특정한 조업조건과 장치에서의 용매이동을 예측할 수 있는 몇 가지 경험 법칙들이 제안되었다[9, 10].

단백질의 분리에 널리 사용되고 있는 십자흐름여과 방식의 경우 여과유속(permeate flux), J_p 는 정상상태에서 다음 식으로 표현된다.

$$J_p = \frac{\mathcal{Q}}{\delta} \ln \frac{C_w - C_p}{C_b - C_p} = k \ln \frac{C_w - C_p}{C_b - C_p} \quad (1)$$

여기에서 C_w 는 막표면에서의 용질농도이고 C_b 는 공급액에서의 용질농도, C_p 는 여과액에서의 용질농도, \mathcal{Q} 는 용질의 확산도 그리고 δ 는 경계층의 두께이다. \mathcal{Q}/δ 는 물질전달계수 k 로 표현된다. k 는 여과압력과 유속에 관계되며 이러한 인자들에 의하여 확산도, \mathcal{Q} ,와 경계층의 두께, δ ,는 변화된다. 식 (1)에서 막표면에서의 용질농도, C_w ,가 증가하면 여과유속은 증가될 수 있으며 용질농도의 최댓값은 gel 농도, C_g ,이다. 여과액에서의 용질농도, C_p ,를 무시할 수 있고 막표면에서의 용질농도가 최댓에 이르렀을 경우 여과유속은 식 (2)에서와 같이 한계여과유속 ($J_{p,lim}$)에 달하게 된다.

$$J_{p,lim} = k \ln (C_g/C_b) \quad (2)$$

십자흐름 여과방식에 있어서의 여과유속은 여과압력(transmembrane pressure, Δ TPM), gel 층의 농도(C_g), 물질전달계수(k)와 유입농도(C_b)의 함수로 표시할 수 있는데 여과압력을 제외한 3가지 요인은 식 (2)에서와 같이 여과유속에 영향을 준다. 최근 십자흐

름 한외여과에 있어서 물질전달계수에 관한 상관관계식이 많이 보고되고 있는데[11-13], Blatt[11]는 물질전달계수는 유속의 함수임을 보였으며 (3)식과 같이 Sherwood 수(Sh)의 상관관계식을 이용하여 물질전달계수와 유속과의 관계를 제시하였다.

$$Sh = (k \cdot d) / \mathcal{Q} = A \cdot Re^B \cdot Sc^{1/3} \quad (3)$$

여기에서 d 는 channel의 높이, Re 는 Reynolds 수 ($=d \cdot U / \nu$) 그리고 Sc 는 Schmidt 수 ($=\nu / D$), A 와 B 는 상수이다. Leveque[14]는 B 가 laminar flow 영역에서 0.33, turbulent flow 영역에서는 0.8임을 보였다. Leveque의 관계식으로부터 십자흐름 여과기에 대한 관계식은 다음과 같이 표현된다.

$$\text{turbulent flow : } Sh = (k \cdot d) / \mathcal{Q} = A \cdot Re^{0.8} \cdot Sc^{1/3} \quad (4)$$

$$k = A (U^{0.8} \cdot \mathcal{Q}) / (d^{0.2} \cdot \nu^{0.47}) \quad (5)$$

$$\text{laminar flow : } Sh = (k \cdot d) / \mathcal{Q} = A (Re \cdot Sc \cdot d / l) \quad (6)$$

$$k = A (U \cdot \mathcal{Q}^2 / d \cdot l)^{1/3} \quad (7)$$

여기에서 l 은 channel의 길이이다. 윗 식으로부터 물질전달계수는 laminar flow의 경우 유속의 증가에 의해서 또한 channel의 높이 d 와 channel의 길이 l 을 감소시킴으로서 증가될 수 있으며, turbulent flow의 경우 유속을 증가시키고 channel의 높이를 감소시킴으로 물질전달계수를 증가시킬 수 있다. 물질전달계수는 turbulent flow 영역에서는 식 (5)에서와 같이 유속의 함수이며 그 관계는 간단히 식 (8)로 표현할 수 있다.

$$k = \alpha \cdot U^n \quad (8)$$

여기서 α 와 n 은 상수이며 U 는 유속이다.

한외여과에 있어서 용매는 여과압력(Δ TPM)에 의하여 막을 통과하게 된다. 한외여과의 경우 여과압력의 범위는 일반적으로 10-100 psi 정도이다. 압력이 작을 경우 막을 통과하는 여과유속은 압력에 비례하는 것으로 관찰된다. 그러나 압력이 증가함에 따라 여과유속은 압력에 비례하는 값 이하로 점차 떨어지게 되며 결국 압력을 더 증가시켜도 여과유속이 일정하게 되는 한계 여과유속 상태에 도달하게 된다[9]. 따라서 어떤 시스템의 설계나 조업특성을 최적화하기 위해서는 한외여과되어지는 용액에 대한 한계여과유속을 예측하는 것은 매우 중요한 일이다. 막을 통과하지 못하고 막표면에 쌓이는 용질층의 형성은 삼투압을 증가시키게 되어 여과유속을 감소시키게 된다. 막표면에서의 용질의 축적

은 압력이 높아지면서 막표면에서의 농도가 gel 층을 형성하는 농도에까지 도달하게 되고 이것은 결국 압력 증가와는 무관한 수력학적 저항을 형성하게 된다.

$$J_p = L(\Delta \text{TPM} - \pi) \quad (9)$$

여기에서 L 은 용매의 투과도(hydraulic permeability)이며 주어진 온도에서 일정하다. 그러나 용질이 포함된 용액의 여과유속은 경계층에서의 용질의 삼투압, π ,에 의하여 감소된다. 삼투압과 용질과의 관계는 다음과 같다[15].

$$\pi = RT \cdot \left[a \left(\frac{C_w}{\text{MW}_t} \right) + b \left(\frac{C_w}{\text{MW}_t} \right)^2 \right] \quad (10)$$

여기서 a , b 는 상수, MW_t 는 용질의 분자량이다. Film theory에 관한 식 (1)과 (9) 그리고 식 (10) 등을 이용하여 압력에 따른 여과유속을 계산할 수 있으며, 이렇게 계산된 여과유속은 막분리공정의 최적상태를 찾는 데 이용할 수 있다.

3. 실험재료 및 방법

3-1. 시료

효소로서 상업적으로 중요한 α -amylase (MW_t 50000, EC 3.2.1.1., Sigma Chemical Co., Type XI-A)를 실험의 대상물질로서 선정하였으며 α -amylase와 비교하기 위하여 유사한 분자량의 PEG (polyethylene glycol, MW_t 35000)를 사용하였다. α -Amylase와 PEG는 pH 6.9의 tris-buffer에 용해시켜 사용하였다. α -Amylase의 경우 시약속의 불순물을 제거하기 위하여 4000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상등액으로 실험하였다.

3-2. 실험장치 및 방법

한외여과장치는 plate and frame type의 Millipore사 제품을 사용하였으며 실험장치의 개략도는 Fig. 1과 같다. α -Amylase를 농축시키기 위하여 분자량 10000 이상을 배제하는 PT-type (polysulfone)의 막을 사용하였다. 막의 흐름방향으로의 길이는 15 cm, 폭은 8.8 cm이며 막의 표면적은 132 cm^2 이었다. 막은 2% 포르말린 용액에 보존하였으며, 막의 세척을 위하여 α -amylase의 경우에는 0.1 N NaOH 수용액을 사용하였으며 PEG의 경우에는 증류수를 사용하였다. 일반적인 한외여과의 경우 순환방식을 사용하지만 조업 조건에 따른 분리성능을 관찰하기 위하여 분리대상 용

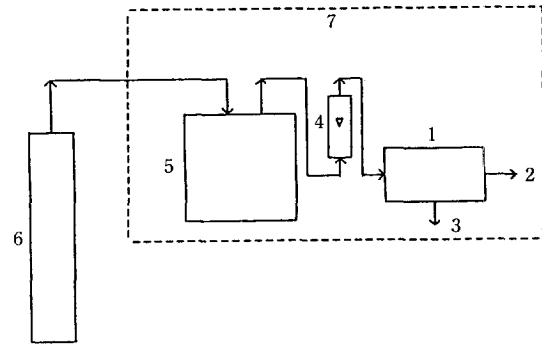


Fig. 1. Schematic diagram of experimental apparatus.

- | | |
|---------------------------|------------------------------|
| 1. Membrane | 2. Concentrate |
| 3. Permeate | 4. Rotameter |
| 5. Reservoir | 6. N_2 gas cylinder |
| 7. Thermo-statted chamber | |

액이 한외여과장치를 연속적으로 통과하도록 실험하였다. 질소가스에 의해 일정한 압력하에서 나온 용액의 유속은 유량계의 밸브를 이용하여 조절하였다. 온도에 의한 영향을 배제하기 위하여 30°C 로 유지된 항온상태에서 실험을 수행하였다.

3-3. α -amylase 활성 및 PEG 농도의 측정

α -Amylase 활성은 starch-iodine method를 이용하여 측정하였다. α -Amylase 1 unit는 25°C , pH 5.9에서 10분간 전분 1mg을 분해하는 효소의 양으로 정의하였다. PEG의 농도는 Shimadzu 회사의 굴절계를 사용하여 굴절지수를 측정한 후 보정곡선으로부터 농도를 구하였다.

4. 결과 및 고찰

4-1. 조업조건에 따른 효소의 분리특성

공급액에서의 효소의 활성을 각각 250 unit/ml, 750 unit/ml와 1250 unit/ml로 하여 주입한 경우 초기 20분 동안 여과액의 유속은 점차로 감소하여 조업시간 20분경부터 여과액의 유속은 일정하게 되었다. 이것은 초기에 α -amylase가 막표면에 쌓여 막위에 저항층을 형성하는 것으로 해석되어진다. 또한 여과액의 유속은 공급액의 효소활성이 높을수록 감소하였는데 이것은 식 (1)에서 C_b 가 증가함에 따라 J_p 가 감소하는 것으로 설명되어진다(실험데이터 생략). 또한 여과액에서의 효소활성은 감지되지 않았다.

효소활성이 750 unit/ml인 공급액의 유속을 각각

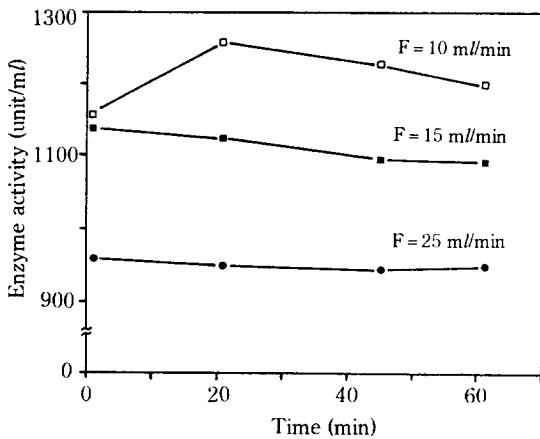


Fig. 2. Effects of flow rate on enzyme activity in concentrate stream ($E_{feed}=750$ unit/ml, $\Delta TPM=1.5$ kg/cm²).

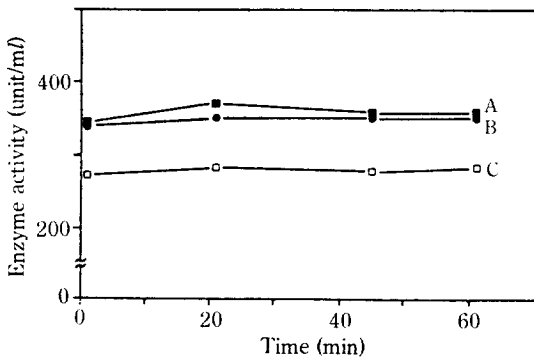


Fig. 3. Effects of transmembrane pressure on enzyme activity in concentration stream ($F=25$ ml/min, $E_{feed}=250$ unit/ml).

A: $\Delta TPM=2.5$ kg/cm²
 B: $\Delta TPM=1.5$ kg/cm²
 C: $\Delta TPM=0.5$ kg/cm²

10 ml/min, 15 ml/min 그리고 25 ml/min로 변화시켜 조업시간에 따른 농축액에서의 효소활성을 관찰하였다. Fig. 2에서와 같이 정상상태에서 농축액에서의 효소활성은 각각 1200 unit/ml, 1100 unit/ml, 950 unit/ml로서 유속이 낮을수록 농축효과가 좋아지고 효소활성이 높아짐을 알 수 있었는데 이것은 막분리기 내에서 분리하고자 하는 용액의 체류시간이 길어지기 때문으로 해석된다.

효소활성이 250 unit/ml 인 공급액의 여과압력을 각각 0.5 kg/cm², 1.5 kg/cm² 그리고 2.5 kg/cm²으로 한 경우, 정상상태에서 농축액에서의 효소활성은 Fig. 3에서와 같이 각각 284 unit/ml, 352 unit/ml, 354

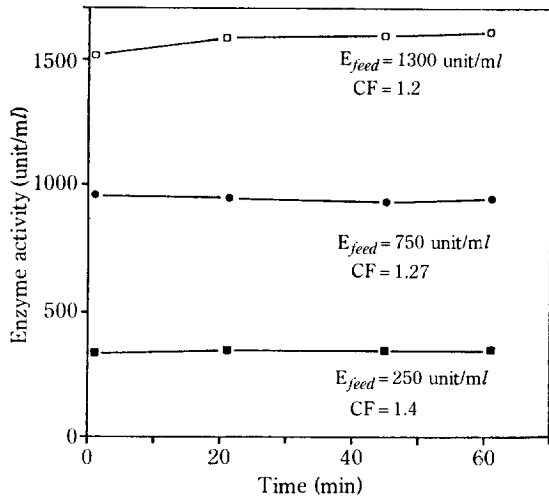


Fig. 4. Effects of protein concentration on enzyme activity in concentrate stream and concentration factor (CF) ($\Delta TPM=1.5$ kg/cm², $F=25$ ml/min).

unit/ml이었다. 여과압력이 증가할수록 효소활성은 증가하였으나 여과압력이 1.5 kg/cm²와 2.5 kg/cm²의 조건에서는 효소활성의 차이가 미미하였다. 낮은 여과압력에서 여과유속은 압력에 비례하지만 여과압력이 높아짐에 따라 막표면에 쌓여진 용질의 저항에 의하여 여과유속의 증가는 둔화되며 이로 인하여 효소활성의 차이는 여과압력이 높아짐에 따라 감소되어진다. 이것은 한외여과시 일정 압력 이상에서는 한계여과유속이 존재한다는 보고[6]와 일치한다.

공급액에서의 효소활성을 각각 1330 unit/ml, 750 unit/ml, 250 unit/ml로 하여 여과한 경우 Fig. 4에서와 같이 농축액에서의 효소활성은 각각 1810 unit/ml, 940 unit/ml, 352 unit/ml로서 농축인자는 각각 1.20, 1.27, 1.40으로 나타났다. 공급액에서의 효소활성이 큰 경우 농축인자가 작게 나타나는데 이것은 식 (1)에서와 같이 공급액에서의 효소활성이 높을수록 여과유속은 감소되는 것으로 해석된다.

4-2. 효소활성의 저하

Fig. 5에 조업시간에 따른 효소활성의 저하를 나타내었다. 유속이 각각 10 ml/min와 25 ml/min인 경우에 약 40분 경과 후 정상상태에서의 여과액에서는 효소의 활성이 감지되지 않았으며 농축액에서의 효소활성은 각각 264 unit/ml와 358 unit/ml로서 효소에 대한 물질수지식을 세워 계산한 결과 효소의 손실은 각각 30%, 2.1%이었다. 유속을 10 ml/min로 한 경우 효

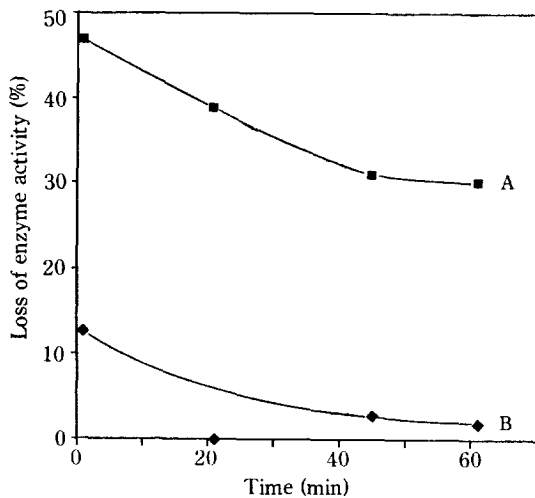


Fig. 5. Loss of enzyme activity during membrane separation ($\Delta \text{TPM} = 2.5 \text{ kg/cm}^2$).
A: $E_{\text{feed}} = 150 \text{ unit/ml}$, $F = 10 \text{ ml/min}$
B: $E_{\text{feed}} = 250 \text{ unit/ml}$, $F = 25 \text{ ml/min}$

손실률이 다른 조건에 비하여 심하였는데 다른 실험에 이타들을 종합하여 분석하면 여과압력이 크고 유속이 낮으며 효소활성이 작은 조건에서만 효소손실이 컸음을 알 수 있었다. 이러한 효소활성의 저하는 투석여과의 경우에는 매우 심각한 것으로 보고되었다[5]. 본 실험에서 관찰된 효소활성의 저하현상에 대한 원인을 규명하기 위하여 다음과 같이 실험을 하였다. 효소가 막에 흡착되었는가를 확인하기 위하여 실험 후 막을 buffer 용액으로 씻어낸 후 세척한 완충용액의 효소활성을 측정하였으나 효소활성은 나타나지 않았다. 이것으로부터 효소가 막에 흡착되지 않은 것으로 판단된다. 또한 α -amylase와 유사한 분자량을 갖는 비단백질인 PEG를 이용하여 조업조건에 따른 손실을 조사하였다. 유속이 각각 10 ml/min, 15 ml/min 그리고 25 ml/min인 조건에서 정상상태에서의 PEG 손실은 각각 1.5%, 0.1%, 0.1%로 미미하였다. PEG는 선형고분자로서 효소에 비하여 형태가 다르지만 이들 일련의 실험결과에 의하면 효소가 막에 갇혀있는 것이 아니라 효소의 활성이 저하되어 효소활성이 낮아졌던 것으로 판단된다. 이러한 효소의 활성저하 현상은 전단력이나 압력과 같은 물리적 힘에 의하여 일어나는 것으로 보이며 심한 활성저하를 나타낸 경우는 공급액에서 효소활성은 낮으나 상대적으로 여과유속이 낮으며 여과압력이 높은 경우로서 느린 유속은 한외여과 장치내에서 효소의 체류시간을 길게 하며 이로 인하여 효소활성의 저하는 더욱 심하여지는 것으로 해석되어진다.

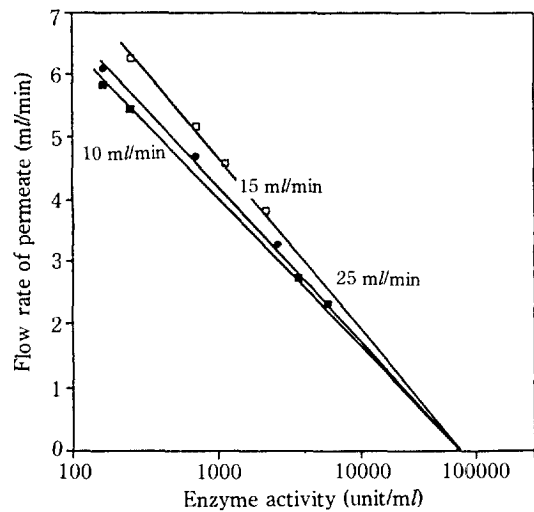


Fig. 6. Determination of mass transfer coefficient and gel concentration.

■: $F = 10 \text{ ml/min}$
●: $F = 15 \text{ ml/min}$
□: $F = 25 \text{ ml/min}$

Table 1. Mass transfer coefficients for various flow rates in cross-flow ultrafiltration

Flow rate	$k(\alpha\text{-amylase})$	$k(\text{PEG})$
25 ml/min	$1.097 \times 10^{-2} \text{ cm/min}$	$8.589 \times 10^{-3} \text{ cm/min}$
15 ml/min	$9.746 \times 10^{-3} \text{ cm/min}$	$7.469 \times 10^{-3} \text{ cm/min}$
10 ml/min	$9.326 \times 10^{-3} \text{ cm/min}$	$6.732 \times 10^{-3} \text{ cm/min}$

4.3. 여과성능 예측

Gel 층이 형성되는 경우의 여과유속은 식 (2)로 표현된다. 이 때의 여과유속은 여과압력의 증가와는 무관한 한계여과유속이다. 식 (2)로부터 C_b 에 따르는 한계여과유속을 측정하여 C_g 와 물질전달계수 k 를 구할 수 있다. 여과압력을 변화시켜 한계여과유속을 구한 다음 한계여과유속을 Fig. 6과 같이 C_b 에 대하여 plotting 하므로써 gel에서의 α -amylase의 활성(C_g) 및 물질전달계수(k)를 구하였다. 이렇게 구한 물질전달계수를 (8)식에서와 같이 유속에 대하여 도식하여 물질전달계수와 유속과의 관계를 나타내는 상수 n 의 값을 구하였다. 실험은 turbulent 영역에서 행해졌으며 이 때 실험 결과로부터 얻어진 gel 층에서의 효소활성과 n 은 각각 85000 unit/min과 0.17이었으며 PEG의 경우에는 gel 농도와 n 은 각각 150 g/l과 0.27이었다. 유속에 따른 α -amylase와 PEG의 물질전달계수를 Table 1에 나타내었다. 식 (9)에 나타난 L 의 값은 실험결과

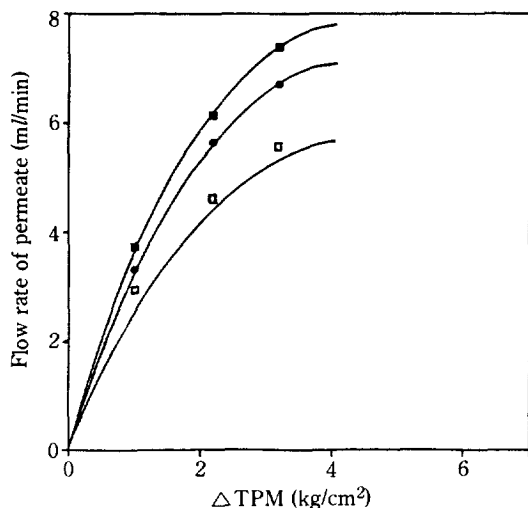


Fig. 7. Simulated results of flow rate in permeate system.

- : Experimental data ($E_{feed} = 750$ unit/ml)
- : Experimental data ($E_{feed} = 250$ unit/ml)
- : Experimental data ($E_{feed} = 1250$ unit/ml)

로부터 $3.071 \times 10^2 \text{ cm}^2/\text{kg} \cdot \text{min}$ 이었다. 식 (10)에서의 상수 a 와 b 는 실험으로부터 얻은 데이터를 이용하여 식 (1)로부터 C_w , 식 (9)로부터 π 를 구한 후 식 (10)에 대입하여 식 (10)에 나타난 a 와 b 각각의 평균치를 구하였는데 이 때 $a=14$, $b=400$ 이었다. 여과 유속, U ,의 변화는 물질전달계수, k ,에만 영향을 미치는 것으로 가정하여 다음과 같이 여과유속을 예측하였다[15].

- (i) J_p 를 가정하여 식 (1)에서 C_w 를 구하고,
- (ii) 여기에서 구한 C_w 를 이용하여 식 (10)에서 π 를 계산한 다음,
- (iii) 식 (9)에서 J_p 를 얻는다.
- (iv) 처음의 J_p 와 식 (9)로부터 계산한 J_p 가 일치할 때까지 계산과정을 반복하므로써 J_p 를 구할 수 있다.

이렇게 계산된 여과유속과 실험에 의한 여과유속을 Fig. 7에 도시하였다. 공급액에서의 효소활성이 낮은 경우에 실험치와 예측치는 잘 일치하였으나 공급액에서의 효소활성이 1250 unit/ml 이상인 경우 실험치와 예측치와의 차이가 컸다. 이러한 차이는 (8)식에서와 같이 물질전달계수 k 에 유속만이 영향을 미치는 것으로 가정하였으나 실제 공급액에서의 효소활성이 변화하면 유체의 특성이 차이가 나게 되는데 이러한 영향이 물질전달계수 k 의 값에 고려되지 않은데 기인하며 또한 효

소의 양을 효소의 활성으로 표시하므로써 비활성화된 효소가 여과에 미치는 영향이 고려되지 못한다. 나옴으로 판단되며 보다 정밀한 여과예측식의 개발이 필요하다.

5. 결 론

십자흐름 한외여과 막분리기를 이용하여 α -amylase 효소를 분리한 실험결과 및 사용한 모델식으로부터 다음의 결론을 얻었다.

1. 여과압력이 높을수록 그리고 유속이 낮을수록 α -amylase의 농축효과는 증가되었다.
2. α -amylase의 활성저하는 높은 여과압력, 낮은 유속 그리고 낮은 농도에서 그 정도가 심하였다.
3. 여과유속 예측 모델식에 의한 계산치와 실험치는 단백질 농도가 낮은 조건에서 잘 일치되었다.

NOMENCLATURE

- C_b : concentration of solute in feed stream [g/l]
- C_g : concentration of solute in gel layer [g/l]
- C_w : concentration of solute in membrane surface [g/l]
- C_p : concentration of solute in permeate stream [g/l]
- d : channel height
- J_p : permeate flow rate [cm/min]
- $J_{p,lim}$: limiting permeate flow rate [cm/min]
- k : mass transfer coefficient [cm/min]
- L : hydraulic permeability [$\text{cm}^3/\text{Kg} \cdot \text{min}$]
- l : membrane length [cm]
- MWt : molecular weight
- n : constant
- R : gas constant
- Re : Reynold number [$\mathcal{D} \cdot U / \nu$]
- Sc : Schmidt number [ν / \mathcal{D}]
- Sh : Sherwood number [$k \cdot d / \mathcal{D}$]
- T : absolute temperature [K]
- \mathcal{D} : diffusivity [cm^2/min]
- π : osmotic pressure [Kg/cm^2]

REFERENCES

1. Strathmann, H.: *Trends in Biotechnol.*, **3**, 112 (1985).
2. Trettin, D.R. and Doshi, M.R.: *I & EC Fundam.*, **19**, 189 (1980).
3. Vilker, V.L., Colton, C.K. and Smith, K.A.: *AIChE*

- J.*, **27**, 4 (1981).
4. Bodzek, M. and Kominsk, D.: *Environ. Prot. Eng.*, **5**, 3 (1979).
5. Hong, J. and Lee, C.K.: *Annals N.Y. Academy Sciences*, **469**, 131 (1986).
6. Lloyd, D.R.: *American Chemical Society Symp.*, **269**, 1 (1985).
7. Mathiasson, E. and Sivik, B.: *Desalination*, **35**, 59 (1980).
8. Porter, M.C.: *I & EC Proc. Res. Dev.*, **11**, 234 (1972).
9. Lopez-Leiva, M.: *Polymer Sci. Technol.*, **13**, 269 (1980).
10. Blatt, W.F., Dravid, A.S., Michaels and Nelson, L.: "Membrane Science and Technology" (J.E. Flinn, ed.) Plenum, New York (1970) pp. 47-97.
11. Gekas, V. and Hallstroem, B.: *J. Memb. Sci.*, **30**, 153 (1987).
12. Schulz, G. and Ripperger, S.: *J. Memb. Sci.*, **40**, 173 (1989).
13. Leveque, M.A.: *Ann. Mines*, **14**, 1 (1928).
14. Lafaille, J.P., Sanchez, V. and Machenc, J.: *International Chem. Eng.*, **27**, 258 (1987).