

Stirred Cell 안에서 BSA의 흡착 과정에 의해 응집된 Microsphere가 투과 Flux에 미치는 영향 고찰

최성욱 · 윤정열* · 함승주 · 정준기** · 김우식†

연세대학교 공과대학 화학공학과, *산업기술연구소

**생명공학연구소 실용화연구사업단

(1999년 5월 12일 접수, 1999년 9월 7일 채택)

Study on the Permeate Flux in the Filtration of BSA-Adsorbed Microsphere Using Stirred Cell

Sung-Wook Choi, Jeong-Yeol Yoon*, Seung-Joo Haam, Joon-Ki Jung** and Woo-Sik Kim†

Department of Chemical Engineering, College of Engineering, *Engineering Research Institute,
Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

**Biopilot Plant Division, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejeon 305-333, Korea

(Received 12 May 1999; accepted 7 September 1999)

요 약

본 논문은 stirred cell 안에서 BSA가 microsphere에 흡착되는 과정중의 투과 flux의 변화에 관한 연구 결과이다. 모델 단백질로 널리 사용되는 BSA 용액의 농도(0.1, 0.2, 0.4 g/L)와 stirrer speed(300, 400, 600 rpm)를 변수로 하여 실험하였으며, 시간에 따른 투과 flux의 변화를 고찰하였다. 단백질을 투입한 후 시간이 지남에 따라 투과 flux는 증가하다가 다시 감소하는 경향을 보임을 알 수 있었다. Hydrophobic interaction에 의해 BSA가 microsphere에 흡착되며 이 BSA-adsorbed microsphere는 흡착이 계속 진행되면서 유효 입자 크기가 커지게 된다. 이러한 이유로 투과 flux는 증가하게 된다. 입자의 크기가 크면 투과 flux가 커진다는 사실은 잘 알려져 있다. BSA에 의해 포화 흡착된 후에는 더 이상 흡착이 진행되지 못하고 BSA는 stirred cell에 장착된 막을 통과하여 빠져 나오게 된다. 이때 BSA가 막 기공 안쪽에 흡착되어 투과 flux는 감소하게 된다. BSA 용액의 농도가 높아지게 되면 포화 흡착이 빨리 일어나기 때문에 투과 flux가 증가하는 부분이 짧아짐을 알 수 있었으며, stirrer speed가 높아질수록 투과 flux는 증가하였다.

Abstract - A study on permeate flux variation in the filtration of BSA-adsorbed microspheres was performed, to investigate the effects of the stirrer speed (300, 400 and 600 rpm) and the concentration of BSA solutions (0.1, 0.2 and 0.4 g/L). The permeate flux was increased with time until the break point, but decreased after that point. This is in contrast to the observation from the conventional filtration. It could be explained that the microspheres which were adsorbed by BSA agglutinated each other, and resulted in the increase of effective particle diameter of BSA-adsorbed microsphere. It is well known that the large-sized substances make flux increase. When BSA's were saturated on the surface of microspheres, they permeated through membrane and some of them absorbed inside the pore of membrane, resulting in the flux decline as observed in the general filtration. The period of flux increase was shortened with an increase in the concentration of BSA solution and permeate flux was increased with a increase in the stirrer speed.

Key words: Microsphere, Stirred Cell, Permeate Flux, Effective Particle Diameter

1. 서 론

Microsphere란 유화중합을 통해 얻어지는 latex입자를 일컫는 것으로, 보통 스티렌(styrene)이나 아크릴(acrylate) 계열의 단량체가 주로 사용된다. Microsphere는 입자 크기 분포가 극도로 균일하며, 작은 입자 크기로 인해(0.1-수 μm) 비 다공성이면서도 넓은 표면적을 제공한다. 또한 합성 고분자이기 때문에 표면 특성의 조절이 용이하며 2

단계 공중합법을 사용하면 표면에 다양한 기능성기를 원하는 만큼 도입시킬 수도 있다.

본 연구팀에서는 microsphere에의 단백질 흡착에 관여하는 상호작용력에 대한 연구를 집중적으로 수행하여, 세 가지 상호작용력-소수성 상호작용력, 정전기적 상호작용력, 수소 작용력-의 상호관계를 체계적으로 규명해 낸 바 있다[1-3]. 이 결과를 이용하면 microsphere의 리간드와 완충용액의 pH 등을 조절하여 단백질이 선택적으로 흡착/탈착하는 것을 정확히 제어할 수가 있으며, 본 연구팀에서는 이를 이용하여 회분식으로 단백질을 분리해 낸 바 있다[4]. 회분식 흡착 분리

†E-mail: wskim@bubble.yonsei.ac.kr

연구 결과 낮은 표면전하밀도의 microsphere가 높은 선택도를 나타내었으며 그 주 동력은 소수성 상호작용력이었다. 많은 microsphere 중에 PS/PMAA[polystyrene/poly(methacrylic acid)]가 선택도 면에서 제일 우수하였다[4, 5]. 이러한 연구 결과를 바탕으로 단백질 농축/정제, 라텍스 정제에 사용되는 stirred cell을 크로마토그래피의 컬럼 대신 사용하는 연속식 분리 공정도 개발하였다. 이 연속식 분리 공정을 이용하여 혼합 단백질간의 흡착 거동시 상호 영향 및 투과 flux에의 영향을 고찰한 바 있다[5]. 그러나 이러한 결과는 평균 투과 flux만을 고찰한 결과이며, 시간에 따른 투과 flux 연구는 아직 체계적으로 연구되지 못하였다.

대부분의 막을 사용한 공정에서는 농도 분극과 막 오염으로 인해 투과 flux의 감소가 일반적이었다. 농도 분극은 bulk상의 입자들이 막 표면 위로 축적되어 층을 형성하는 것을 말하며, 이 층은 투과 flux에 저항으로 작용하여 투과 flux가 감소하는 원인이 된다. 막 오염은 입자들이 막 기공에 흡착되는 것을 말하며, 역시 투과 flux 감소의 원인이다. 많은 연구자들에 의해 이러한 농도 분극과 막 오염을 막기 위한 연구가 진행중이다. 막을 전 처리하는 방법으로 투과도를 높이거나 charged 막을 이용하여 막 오염 정도를 줄이는 방법 등이 보고되었다[6, 7]. 투과 flux는 막 공정의 경제성에 큰 영향을 끼칠 수 있으며 이러한 이유에서 농도분극과 막 오염을 최소한으로 줄여야 한다.

본 연구는 microsphere로 채워진 stirred cell을 이용하여 연속식 단백질 분리 공정을 개발하기 위한 기초 연구 결과이다. 기존의 막 분리 공정은 sieve 효과를 이용한 것이지만, 본 단백질 분리 공정은 흡착에 의해 단백질을 분리하려는 것으로 분리 메커니즘이 다르다. 본 연구는 두 성분 이상 단백질 용액의 분리에 앞서, 한 성분인 BSA를 모델 단백질로 하여 농도와 stirrer speed를 변수로 시간에 따른 투과 flux의 변화에 대해 고찰해 보고자 한다.

2. 실험방법

2-1. Microsphere의 제조와 정제

Microsphere는 styrene(S)을 주단량체로, methacrylic acid(MAA)를 공단량체로하여 회분식 무유화제 유화 공중합을 행하여 제조하였다. 개시제로는 KPS(potassium persulfate)를 사용하였으며 중합온도 70°C에서 행하였다. Table 1에 제조법을 나타내었다.

제조된 microsphere는 양이온 교환수지와 음이온 교환수지가 1:1 당량비로 혼합된 Dowex MR-3(Sigma Chemical Co., I-9005)를 이용하여 counter ion을 제거한 후 serum replacement method[8]를 이용하여 homopolymer와 다른 불순물을 제거하였다. 1차 세척된 latex를 400 mL stirred cell(Amicon, model 8400, USA)에 투입한 후 증류수로 배출액의 전도도가 탈이온 증류수의 전도도와 같아질 때까지 세척하였다.

2-2. 실험방법

모델 단백질로서 bovine serum albumin(BSA, Sigma Chemical Co., A-7906)을 완충 용액에 농도별로 용해시켜서 사용하였으며, stirred cell은 50 mL 급(Amicon, model 8050, USA)을 사용하였다. 완충용액은 pH 4.5의 acetic buffer를 사용하였으며 전체용액의 이온강도를 0.01이 되게 하였다.

2-2-1. Batch 흡착 실험

흡착 등온선과 BSA-adsorbed microsphere의 유효 입자 크기를 결

Table 1. Recipe of the PS/PMAA microsphere

Styrene(g)	MAA(g)	KPS(g)	DDI(g)
60	0.6	0.24	600

정하기 위해 batch 흡착 실험을 25°C에서 행하였다. pH 4.5인 acetic buffer에 BSA를 농도별로 용해시킨 후 비 표면적 0.19 m²/mL로 고정된 latex(dispersion of microspheres)를 넣고 3시간 동안 항온조에 서 교반시킨다.

- 흡착 등온선: 시료를 원심 분리한 후 microsphere를 완벽히 제거하기 위해 cellulose nitrate filter(Whatman, pore size 0.2 μm)를 이용하여 여과시킨다. 남은 단백질의 농도를 UV spectrophotometer(UV-160A, Shimadzu, Japan)로 측정된 후 막에 흡착된 단백질의 양을 보정, 계산하여 흡착 등온선을 얻는다.

- 유효 입자 크기 결정: 시료를 acetic buffer에 희석시킨 후 zeta potential analyzer(Dynamic Lazer-Light Scattering Method, ZetaPlus, Brookhaven Instruments Co., USA)를 이용하여 유효 입자 크기를 결정하였다.

2-2-2. 본 실험 과정

Acetic buffer와 latex를 0.2 μm 정밀여과 막(Orange Scientific Co., Belgium)을 장착한 stirred cell에 넣어 전체 부피는 30 mL, 비 표면적은 0.19 m²/mL로 만든다. Stirred cell에 장착된 막은 pore size가 0.2 μm로 500 nm인 microsphere는 투과하지 못하고, 크기가 14 nm인 BSA는 투과 가능하다. Stirred cell을 교반기 위에 놓고, 약 1 m위의 높이에서 같은 완충용액을 흘려주어 투과 flux가 정상상태에 이를 때까지 계속한다. 정상상태에서의 투과 flux는 J₀로 표시한다.

완전히 투과 flux가 정상상태로 된 후에 제조된 단백질 용액을 step input한다. 시간에 따라서 투과 flux의 변화를 살펴보기 위해 stirred cell을 통하여 나오는 용액을 3분마다 컴퓨터에 RS 232 C로 연결되어 있는 저울(precision plus, Ohaus Co., USA)로 무게를 측정하여 투과 flux를 결정한다. 한편, 과과 곡선을 얻기 위해서는 stirred cell을 통하여 나오는 용액을 autosampler로 받아 UV spectrophotometer(UV-160A, Shimadzu, Japan)로 흡광도를 측정한다. 위와 같은 실험을 stirrer speed(300, 400, 600 rpm)와 BSA의 농도(0.1, 0.2, 0.4 g/L)를 변화시켜 반복한다. 실험장치는 Fig. 1에 나타내었다.

3. 실험결과 및 고찰

3-1. PS/PMAA microsphere의 특성분석

본 연구에 사용된 PS/PMAA의 SEM 사진을 Fig. 2에 나타내었다. PS/PMAA microsphere는 uniformity ratio(U)가 1.004로 monodisperse 하며, 카르복시(carboxyl)기를 갖는다. N_c(number density of surface

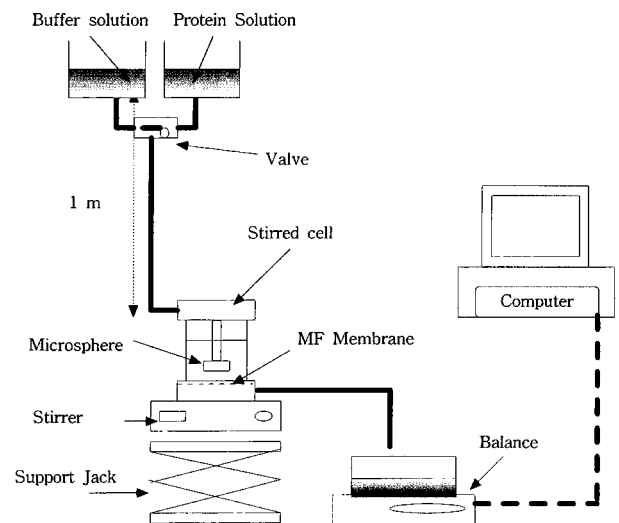


Fig. 1. Experimental apparatus.

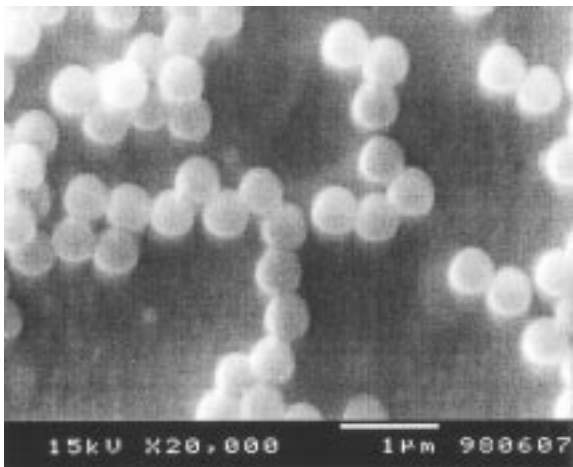


Fig. 2. SEM photograph of PS/PMAA microspheres.

carboxyl groups)는 0.45 nm^{-2} 이며, 수평균 직경(D_n)은 500 nm 이다. N_2 가 1 보다 작을 경우에는 단백질의 microsphere 흡착은 세 가지 상호작용력(소수성 상호작용력, 정전기적 상호작용력, 수소 작용력) 중에 소수성 상호작용력이 가장 강하게 작용한다[1-3].

3-2. 파과 곡선

Latex만 넣은 상태의 투과 flux가 정상상태에 이르면 BSA 용액을 투입한다. 투입된 BSA 용액은 bulk상의 microsphere에 흡착된다. Microsphere가 BSA에 의해 포화 흡착되면, BSA는 더 이상 흡착하지 못하고 막을 통과하여 빠져 나오게 된다. Fig. 3에서 보듯이 단백질 용액의 농도가 0.1 g/L 의 경우는 투과 용액의 부피가 100 mL 에서 파과가 이루어지며, 0.2 g/L 는 50 mL , 0.4 g/L 는 25 mL 에서 각각 파과가 이루어진다. 단백질 농도의 증가에 비례하여 포화흡착이 빨리 이루어짐을 알 수 있었다. 이 결과로서 $0.19 \text{ m}^2/\text{mL}$ 의 비 표면적을 가진 30 mL 의 latex는 0.01 g 의 단백질을 흡착할 수 있다는 것을 알 수 있다. 각 실험은 모두 400 rpm 에서 실험한 결과이다.

3-3. Latex만 넣은 상태의 stirred cell의 rpm에 대한 flux 고찰

Fig. 4는 stirred cell에 latex만 넣고, 완충용액만을 흘리는 단계의 시간에 따른 투과 flux를 보여주고 있으며, 시간에 따라서 감소하다

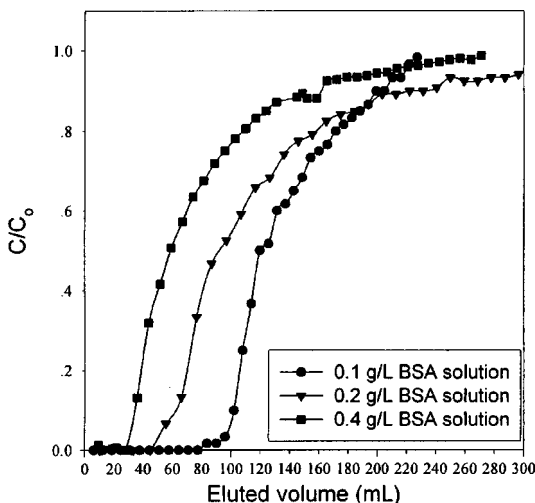


Fig. 3. Breakthrough curve at different BSA concentration.

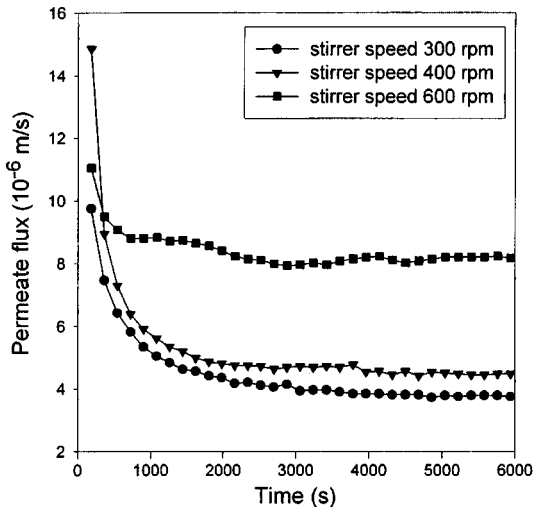


Fig. 4. Permeate flux with time before protein solution input.

가 정상상태에 이르렀다. 각각 stirrer speed 300, 400, 600 rpm에서 행하였으며 이 과정은 단백질을 넣기 전의 투과 flux를 정상상태로 만들어주기 위함이다. Stirrer speed가 커질수록 정상상태 투과 flux는 증가하였으며, 300 rpm에서는 $3.76 \times 10^{-6} \text{ m/s}$, 400 rpm에서는 $4.45 \times 10^{-6} \text{ m/s}$, 600 rpm에서는 $8.05 \times 10^{-6} \text{ m/s}$ 의 정상상태 투과 flux값을 갖는다.

초기에는 bulk상에 있는 microsphere 입자가 막 표면 위로 집중되어 농도분극 층의 두께가 증가하기 때문에 시간이 지나면서 투과 flux는 낮아지게 된다. 약 40분이 지나면 정상상태에 도달하게 되며 stirrer speed가 증가할수록 정상상태 투과 flux는 증가한다. 이는 기계적 교반으로 인해 shear stress가 증가하여 농도 분극된 층의 두께가 얇아지기 때문이다.

3-4. BSA-adsorbed microsphere의 유효 입자 크기와 흡착 등온선

Batch 흡착 실험결과로서 BSA-adsorbed microsphere의 유효 입자 크기와 흡착 등온선을 농도에 대해 결정할 수 있다. 실험결과를 Fig. 5에 나타내었으며 Langmuir-Freundlich 등온선과 비슷한 경향을 보인다. Non-linear regression법을 이용하여 Langmuir-Freundlich 등온선의 상수들을 얻을 수 있다.

$$C_s = C_m \frac{KC_b^{1/n}}{1 + KC_b^{1/n}} \tag{1}$$

여기서, C_s = 단위면적당 흡착된 BSA의 양, mg/m^2
 C_m = 평형상태의 흡착량, mg/m^2

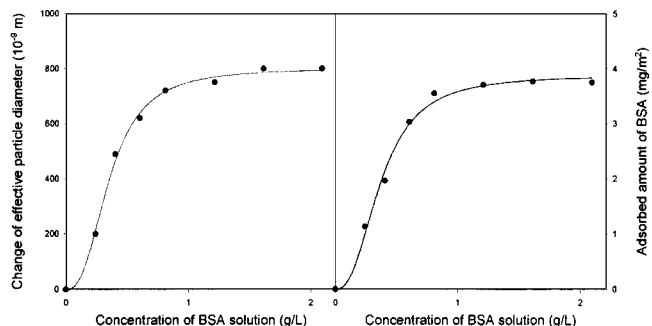


Fig. 5. Adsorption isotherm and effective particle size with the concentration of BSA solution.

C_b = bulk BSA 농도, g/L
 K = L-F 흡착 상수
 n = L-F 지수 상수

L-F 흡착 상수(K)값은 11.77이며, L-F 지수 상수(n)의 값은 0.4이다. L-F 흡착 상수는 흡착 속도와 관계가 있으며, 값이 크면 빠른 흡착을 의미한다[1]. L-F 지수 상수값이 0.5일 경우에 두 개의 active site중 하나만이 흡착에 관여한다는 물리적 의미를 가진다[9].

한편, 흡착에 의해 증가한 유효 입자 크기를 식 (1)과 같은 식을 이용하여 상수값을 얻어낼 수 있다.

$$\Delta D_s = D_m \frac{K_d C_b^{1/n_d}}{1 + K_d C_b^{1/n_d}} \quad (2)$$

여기서, ΔD_s = BSA의 흡착에 의해 증가한 유효 입자 크기, nm

D_m = 유효 입자 크기 최대 증가량, nm

C_b = bulk BSA 농도, g/L

K_d = 흡착 상수

n_d = 지수 상수

Non-linear regression 결과, K_d 의 값은 14.94, n_d 의 값은 0.38로 흡착 등온선의 상수와 거의 같은 값을 가짐을 알 수 있다. 흡착이 전혀 되지 않은 microsphere의 크기는 500 nm이며, 포화 흡착되어 응집된 microsphere의 최대 유효 입자 크기는 1,300 nm이다. 따라서 D_m 은 800 nm의 값을 가짐을 알 수 있다.

Batch 실험결과로 흡착 등온선과 흡착에 의한 유효 입자 크기의 변화는 밀접한 관계가 있음을 알 수 있다. Stirred cell을 이용한 연속식 과정에서 흡착이 진행되면서 동시에 응집이 일어난다는 사실을 알 수 있다. 즉 흡착량과 응집 현상에 의한 유효 입자 크기가 커지는 현상은 식 (1)과 (2)를 이용하여 다음과 같이 선형적인 관계로 표시될 수 있다.

$$\Delta D_s = \alpha C_s \quad (3)$$

Christel 등은 용액의 이온 강도와 pH를 변수로 하여 BSA가 clay에 흡착할 때의 평균 입자 크기, zeta potential의 영향을 고찰한 바 있으며, 이 연구에서도 흡착에 의해 평균 직경이 증가한다는 사실이 보고되었다[10]. 하지만 흡착 등온선과 유효 입자 크기의 변화를 함께 고찰하지 않았다.

3-5. 단백질 투입후의 투과 flux 고찰

투과 flux를 나타낸 Fig. 6, 7, 8을 살펴보면 각각의 시간에 따른 투과 flux는 증가하다가 다시 감소하는 경향이 있음을 알 수 있었다. 이를 Fig. 3의 파과 곡선에 나타난 파과점과 비교하여 보면, 단백질이 microsphere에 흡착되는 동안에는 투과 flux가 증가하고 포화흡착 이후에 감소한다는 것을 알 수 있다. Fig. 9는 이러한 flux의 변화를 개념도로 보여주고 있다.

Fig. 9(a)는 처음 latex만을 stirred cell에 넣고 완충용액을 흘리는 단계를 보여준다. Convective mass transfer에 의해 microsphere가 막 표면 위에 계속 쌓이게 되어 투과 flux는 시간에 따라 감소하게 된다. 약 40분 후에 정상상태에 도달하게 되며, 이는 stirrer의 shear stress로 인해 농도분극층의 두께가 더 이상 증가하지 못하기 때문이다. 모든 과정에서 막 표면에 있는 microsphere는 bulk상의 microsphere와 동적 평형 상태에 있다.

Fig. 9(b)는 단백질을 투입한 후 흡착 과정이 진행되는 것을 보여주고 있다. 투입된 단백질은 먼저 bulk상에 있는 microsphere에 흡착되게 되며, BSA-adsorbed microspheres는 서로 엉겨붙어 안정성을 잃어버린다. 안정성을 잃어버린 BSA-adsorbed microspheres는 막 표면

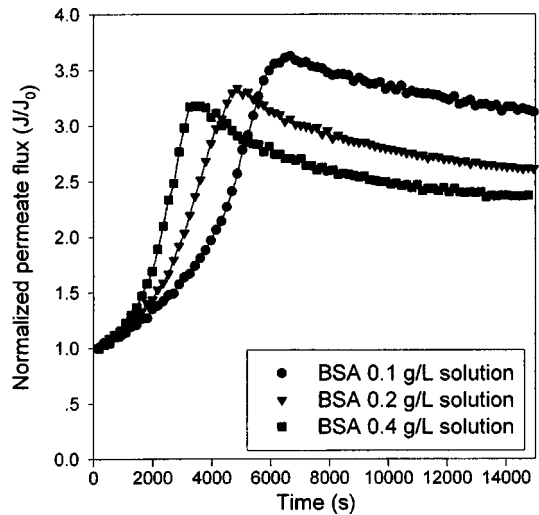


Fig. 6. Normalized permeate flux with time at the stirrer speed of 300 rpm.

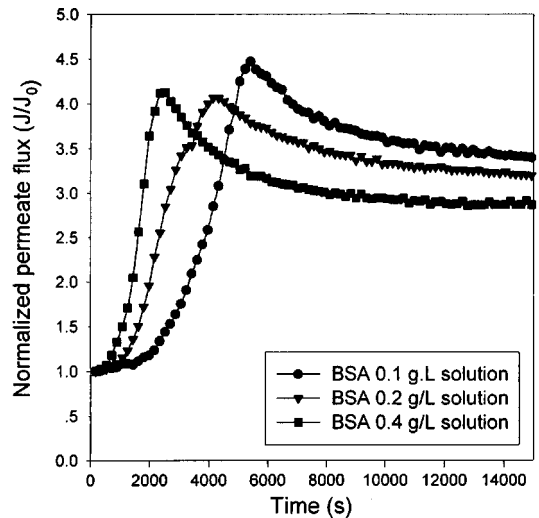


Fig. 7. Normalized permeate flux with time at the stirrer speed of 400 rpm.

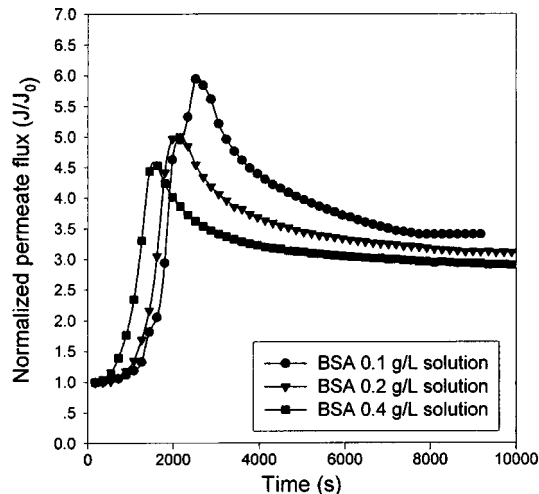


Fig. 8. Normalized permeate flux with time at the stirrer speed of 600 rpm.

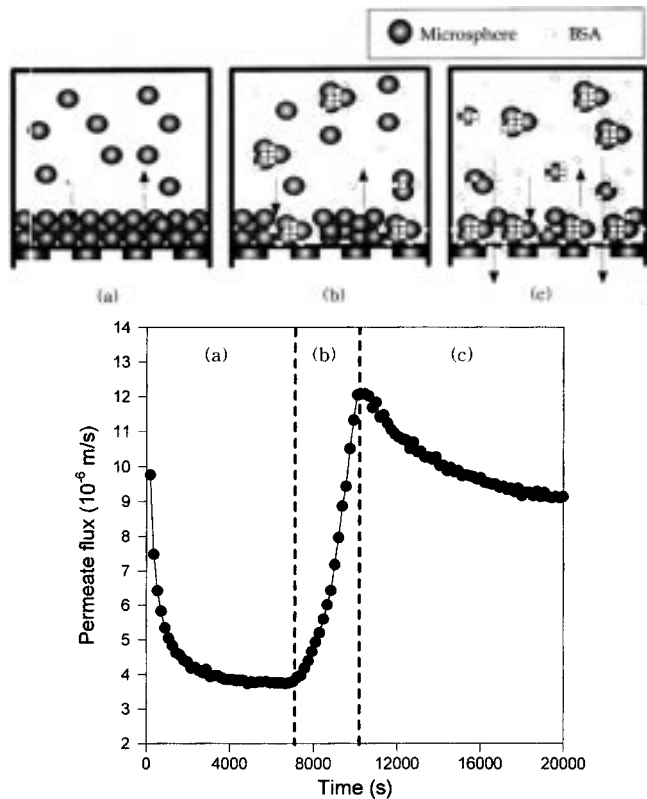


Fig. 9. Schematic diagram illustrating flux variation with time.

위에 있는 microsphere와 자리바꿈하게 된다. 이 BSA-adsorbed microspheres은 유효 입자 크기가 커져 따라서 투과 flux는 흡착과정 중에 증가하게 된다. 흡착에 의해 microsphere가 응집되어 유효 입자 크기가 커진다는 것은 batch 흡착 실험을 행한 후 laser light scattering method를 이용하여 확인할 수 있다. 입자가 엉켜서 doublets, triplets, 이보다 더 큰 입자가 형성될 경우 이러한 입자는 하나의 입자처럼 거동할 수 있으며, 이와 비슷한 개념은 Clark과 Flora의 fluc restructuring에 관한 논문에서 사용된 바 있다[11]. 입자 크기가 커지면 flux가 증가한다는 것은 이미 알려진 사실이다[12-16].

Fig. 9(c)에서 보듯이 microsphere가 단백질에 의해 모두 포화되면, 단백질은 더 이상 microsphere에 흡착되지 못하고 막을 통과하여 빠져나오게 된다. 이때, 막 기공에 단백질이 흡착(internal fouling)되어 일반적인 막 분리 공정과 마찬가지로 투과 flux는 감소하게 되며, 일정한 투과 flux에 도달하게 된다. 이는 막 기공에 BSA가 충분히 흡착되어 더 이상 흡착할 수 없기 때문이다.

Fig. 6, 7, 8에서 최대 투과 flux가 일정 stirrer speed에서 거의 비슷하였으며, 단백질의 농도가 커질수록 투과 flux가 증가하는 시간이 짧아졌다. 따라서 단백질의 농도는 최대 투과 flux에 영향을 주지 못함을 알 수 있다. 한편, stirrer speed는 최대 투과 flux에 큰 영향을 미친다. 즉, 투과 flux는 단백질의 농도보다는 stirrer speed에 더 영향을 많이 받음을 알 수 있다.

4. 결 론

Microsphere로 채워진 stirred cell에 BSA 용액을 step input하여 투과 용액의 flux를 측정하여 다음의 결과를 얻을 수 있었다.

BSA 용액의 농도에 대한 BSA-adsorbed microsphere의 유효 입자 크기는 Langmuir-Freundlich 등온선과 같은 모양이며, 흡착 상수와

지수 상수도 거의 유사한 값을 가진다. 이로써 흡착등온선과 유효 입자 크기의 변화는 밀접한 관계가 있음을 알 수 있다.

단백질이 stirred cell 내에 투입되면 소수성 상호작용력으로 인해 microsphere에 흡착된다. Microsphere가 BSA에 의해 포화 흡착되기 전까지 flux가 증가하며, 포화 흡착 후에 단백질은 막을 통과하여 빠져 나오기 때문에 막 오염(internal fouling)으로 인해 flux는 감소한다. BSA 용액의 농도가 증가하면 flux는 빠르게 증가하며 포화 흡착되는 시간이 짧아짐을 알 수 있었다. Stirrer speed의 영향은 일반적인 막 분리와 같이 stirrer speed가 증가하면 flux도 증가하였다.

사용기호

- α : proportional constant [-]
- C/C_0 : eluted fraction of protein [-]
- C_s : the adsorbed amount of BSA per unit surface area [mg/m^2]
- C_m : the adsorbed amount of BSA in equilibrium [mg/m^2]
- C_b : the bulk concentration of BSA [g/L]
- D_n : the average particle diameter [nm]
- ΔD_s : change of effective particle diameter [nm]
- D_m : maximum change of effective particle diameter [nm]
- J : permeate flux [m/s]
- J_o : permeate flux before protein solution input in steady state [m/s]
- J/J_o : normalized permeate flux [-]
- K_d : adsorption constant [-]
- K : adsorption constant in Langmuir-Freundlich isotherm [-]
- n_d : exponential constant [-]
- n : exponential constant in Langmuir-Freundlich isotherm [-]
- N_c : the number density of carboxyl groups [nm^{-2}]
- U : uniformity ratio [-]

감 사

본 연구는 연세대학교 생물산업소재 연구센터(과제번호: 94U4-1005-00-01-6)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사합니다.

참고문헌

1. Yoon, J.-Y., Park, H.-Y., Kim, J.-H. and Kim, W.-S.: *J. Colloid Interface Sci.*, **177**, 613(1996).
2. Yoon, J.-Y., Kim, J.-H. and Kim, W.-S.: *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*, **12**, 15(1998).
3. Yoon, J.-Y., Kim, J.-H. and Kim, W.-S.: *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **153**, 415(1999).
4. Yoon, J.-Y., Lee, J.H., Kim, J.-H. and Kim, W.-S.: *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*, **10**, 365(1998).
5. Lee, J. H., Yoon, J.-Y. and Kim, W.-S.: *Biomed. Chromatogr.*, **12**, 330(1998).
6. Pouliot, Y., Wijers, M. C., Gauthier, S. F. and Nadeau, L.: *J. Membr. Sci.*, **158**, 105(1999).
7. Ghosh, R. and Cui, Z. F.: *J. Membr. Sci.*, **139**, 17(1998).
8. El-Aasser, M. S.: in "Advances in Emulsion Polymerization and Latex Technology" (M. S. El-Aasser, Ed.), Vol. II, Lec. 13. Emulsion Polymers Institute(Lehigh Univ.), Bethlehem, PA(1984).
9. Yang, R. T.: "Gas Separation by Adsorption Process," Butterworths, Stoneham, MA, 33(1997).

10. Christel, C., Karine, J., Pierre, A. and Martine, M.: *J. Membr. Sci.*, **137**, 31(1997).
11. Clark, M. M. and Flora, J. R. V.: *J. Colloid Interface Sci.*, **147**(2), 407(1991).
12. Bacchin, P., Aimar, P. and Sanchez, V.: *J. Membr. Sci.*, **115**, 49 (1996).
13. Hong, S. K., Faibish, R. S. and Elimelech, M.: *J. Colloid Interface Sci.*, **196**, 267(1997).
14. Causserand, C., Jover, K., Aimar, P. and Meireles, M.: *J. Membr. Sci.*, **137**, 31(1997).
15. Lee, Y. H. and Clark, M. M.: *J. Membrane Sci.*, **149**, 181(1998).
16. Huisman, I. H., Trägårdh, G. and Trägårdh C.: *Chemical Engineering Sci.*, **54**, 281(1999).