●日本膜学会膜学研究奨励賞 (1996年) 受賞論文

限外濾過, 精密濾過膜における物質移動現象解析

望 月 精 一

川崎医療短期大学医用電子技術科 ☎ 701-01 岡山県倉敷市松島 316

Analysis of Mass Transport Phenomena in Ultrafiltration and Microfiltration Membranes

Seiichi Mochizuki

Department of Medical Engineering, Kawasaki College of Allied Health
Professions

316 Matsushima, Kurashiki, Okayama, 701-01, Japan

This review paper focused on i) the mass transport phenomena governing the performance of both ultrafiltration and microfiltration devices and ii) the effects of the pore size distribution, protein adsorption, and protein deposition on the transport characteristics.

The actual sieving coefficients (S_a) of polydisperse dextrans through clean asymmetric polyethersulfone ultrafiltration membranes of varying molecular weight cut-off were evaluated as a function of dextran molecular weight. The flux-dependence of S_a was then used to evaluate the relative contributions of diffusion and convection to the overall rate of dextran transport. These results were well described by membrane transport theory using an available hydrodynamic model with the effective solute to pore size ratio evaluated using a partitioning model for a random porous media.

Theoretical calculations were performed to determine the effects of several different types of pore size distributions on the transport characteristics of ultrafiltration membranes. The above partitioning model was in good agreement with the calculated results for a membrane with a log-normal pore size distribution with a geometric standard deviation of around 2.0. Theoretical modeling of pore blockage and pore constriction associated with protein adsorption showed good qualitative agreement with the experimental data.

Experimental data for the sieving characteristics and hydraulic permeability of protein deposits formed on the surface of microfiltration membranes indicated that these properties are a function of the transmembrane pressure (compressive pressure) and solution ionic environment (electrostatic repulsion between the charged protein molecules).

These experimental and theoretical results provide important insights into the underlying physical phenomena governing solute transport through ultrafiltration and microfiltration membranes, with a rational basis for the characterization and improvement of these membrane processes.

Key words : mass transport/ultrafiltration membrane/microfiltration membrane/sieving coefficient/diffusion/convection/dextran/hydrodynamic theory/pore size distribution/protein adsorption/protein deposition

1. はじめに

膜プロセスによる分離・精製は、一般に常温で行われ相変化がなく薬品添加を伴わないため、生物・医薬分野など失活や変質し易い物質を扱う系への応用が盛んである。しかし、これまで膜プロセスにおける物質移動現象についての基本的な研究は少なかった。そこで、本研究では、限外濾過および精密濾過膜による分離装置の性能を支配する膜中および膜表面近傍における物質移動現象を実験データ、物質移動現象モデルの両面から検討した。さらに、孔径分布とタンパク質を含む溶液（例えば、血漿、発酵プロセス内溶液）の濾過中の膜へのタンパク質の吸着と膜面上でのタンパク質の堆積とが、膜孔中物質移動に与える影響を検討し定量的な評価を行った。

2. デキストランによる非対称限外濾過膜の分離特性の評価¹⁾

限外濾過膜の分離特性の評価は、デキストランを用いて行われることが多いが、そのデータの解釈については不明瞭な点が多い。例えば、i) デキストランは一般的に広い分子量分布を有するが、それを考慮せず平均分子量のみに基づく解析、ii) 膜面上の濃度分極現象が存在する条件下にもかかわらず無視可能と仮定しての解析、iii) 膜を介したデキストランの移動速度の濾過流速への依存性（拡散、対流輸送の影響）についての定量的なデータの不足などである。

ここでは、限外濾過膜のデキストランによる濾過実験データの物質移動現象理論に基づく詳細な解析を行い、非対称限外濾過膜のような不規則な孔構造中のデキストランの移動現象を説明し得る流体力学モデルを導出した。

実験には、分画分子量 (mwco) が 30,000 (30 K), 50 K, 100 K, 300 K の平膜型非対称 OME-GA ポリエーテルスルホン膜 (Filtron Technology Corporation, U.S.A.) を用いた。そして、重量平均分子量が 38,900 (38.9 K), 67.9 K, 147 K, 539 K のいずれかの多分散性デキストランを

0.15 M NaCl または 0.15 M リン酸緩衝溶液 (PBS) に溶解し (濃度: 5, 10 g/l), 攪拌式限外濾過セル (25 mm ϕ ; Model 8010; Amicon, Division of W. R. Grace & Co., U.S.A.; 回転数=1,000 rpm) で濾過実験を行った。なお、デキストランの分子量分布は, gel permeation chromatography (GPC) で評価した。(詳細は原著を参照)

まず、実験からバルク液中濃度 (C_b) に対する濾液中濃度 (C_f) の比, すなわち見かけふるい係数 (S_o) が求められる。そして, (1) 式から濃度分極現象を考慮してバルク液側膜表面上濃度 (C_w) に対する濾液中濃度 (C_f) の比 (S_a) を評価した (Fig. 1)。

$$S_o = \frac{C_f}{C_b} = \frac{S_a}{(1-S_a)\exp(-J_v/k) + S_a} \quad (1)$$

バルク物質移動係数 (k) は Smith らによる攪拌セルにおける実験相関式²⁾ から与えられる。ここで、デキストランの自由拡散係数 (D_∞) は、デキストラン分子量の関数として Granath の提出した相関式³⁾ で与えられる。

Fig. 2 に 30 K の膜による 5 g/l 38.9 K デキストラン溶液の濾過実験の結果を示す。まず、平均分子量が 38.9 K にもかかわらず、分子量分布がかなり広く、分子量によって S_o , S_a とも大きな違いを示すことがわかる。また、濾過流速増加に伴い、 S_o は濃度分極のため上昇するが、一部比較的小さい分子量を除き S_a はほとんど変化していない。

一般に膜を介した溶質流速 (N_s) は、以下のように対流項と拡散項の和で与えられる。

$$N_s = K_c V C_s - K_d D_\infty \frac{dC_s}{dz} \quad (2)$$

上式を膜 (スキン層) 断面について積分すると次式を得る。

$$S_a = \frac{S_\infty \exp(Pe_m)}{S_\infty + \exp(Pe_m) - 1} \quad (3)$$

但し、 Pe_m は次式で与えられる膜ペクレ数を表す。

Fig. 1 Concentration polarization in the bulk solution during membrane filtration. Stirring propeller is not shown for clarity.

$$Pe_m = \left(\frac{K_c}{K_d} \right) \left(\frac{J_v \delta_m}{\varepsilon D_\infty} \right) = S_\infty \left(\frac{\delta_m}{\varepsilon \phi K_d} \right) \left(\frac{J_v}{D_\infty} \right) \quad (4)$$

Fig. 2 のような S_o と S_a の濾過流束依存性を各特定の分子量についてまとめた結果を Fig. 3 に示す。ここで Fig. 3 A に示す実験値 S_o と (3) 式から求めた S_a を (1) 式に代入して算出した S_o とをフィッティングさせることによって2つの物質移動パラメーター，すなわち漸近ふるい係数 (S_∞) と膜孔中の(障害された)拡散係数 (ϕK_d) が求められる (Fig. 3B インセット). S_∞ と ϕK_d は膜と透過溶質の特性により支配される。後述のモデルシミュレーションから求めた S_∞ と ϕK_d と区別してここでは実験値 S_∞ または ϕK_d と呼ぶ。

Fig. 3 B に示すように， S_a は低濾過流束域 ($Pe_m \ll 1$, 孔中拡散支配領域) で流束増加に伴い徐々に減少し，高濾過流束域 ($Pe_m \gg 1$, 対流輸送支配領域) で漸近する傾向 ((3) 式における S_∞) を示した。一方 S_o は Fig. 3 A のように低濾過流束域 (上記 S_a の孔中拡散支配を反映) で流束増加に伴い徐々に減少し，最小値を経て (注， S_o の最小値 $> S_a$ の最小値: S_∞)，高濾過流束域 (濃度分極現象支配領域) で増加していく傾向を示した。

Fig. 2 Observed (S_o , top panel) and actual (S_a , bottom panel) sieving coefficients at several fluxes versus dextran molecular weight for a 30 K membrane. 38.9 K dextran, $C_b = 5$ g/l, $\omega = 1,000$ rpm.

以上の結果から，膜のふるい特性を評価する際に実験計測値 S_o の濾過流束への依存性に留意する必要があると考えられた。さらに，サイズの異なる分子同士の分離を行う際には，濾過流束の設定により分離効率 (異なる分子量の S_o の比) が改善可能であることが示唆された。

次に実験値 S_∞ と ϕK_d を λ^* ($= R^*/2s$) の関数として示す (Fig. 4). s は上記の実験値 S_∞ と $S_\infty = \phi K_c$ のフィッティングから求めた (ϕ は (6) 式から， K_c は λ の代わりに (5) 式の λ' を (9) 式に代入して算出した)。

$$\lambda' = 1 - \sqrt{\phi} \quad (5)$$

分離係数 ϕ は，Giddings ら⁵⁾ によるモデルから

記号

- a_n, b_n : 流体力学モデルにおける拡張係数 (Table 1を参照)
 C_b : バルク相のデキストラン濃度 (g/l)
 C_f : 濾液中のデキストラン濃度 (g/l)
 C_s : 孔半径方向平均の溶質濃度 (g/l)
 C_w : 膜 (スキン層) 表面におけるデキストラン濃度 (g/l)
 D_∞ : 自由拡散係数 (m^2/sec)
 J_v : 体積濾過流束 (m/sec)
 k : バルク物質移動係数 (m/sec)
 k_B : ボルツマン定数 (J/K)
 k_1 : コゼニー定数
 K_c : 阻害因子係数 (対流輸送)
 K_d : 阻害因子係数 (拡散)
 K_s, K_t : Bungay-Brenner 解析における流体力学関数
 L_p : 膜透水係数 (cm)
 $n(r)$: 半径 r の孔の数
 n_o : 孔径分布関数のピークにおける孔の数
 N_s : 膜を介した溶質流束 ($\text{g}/\text{m}^2/\text{sec}$)
 ΔP : 膜間圧力差 (kPa)
 Pe_m : 膜ペクレ数 ((4)式)
 R^* : 平均 (投影) 溶質半径 ($\text{\AA}$)
 r : 円筒状孔半径 ($\text{\AA}$)
 R_m : 孔径分布関数のピークにおける孔の半径 ($\text{\AA}$)
 R_{SE} : ストークス半径 ($\text{\AA}$)
 s : 孔体積と孔表面積の比 ($=V_p/S_p$) ($\text{\AA}$)
 S_a : 実ふるい係数 (actual sieving coefficient, C_f/C_w)
 S_o : 見かけふるい係数 (observed sieving coefficient, C_f/C_b)
 S_p : 孔 (内腔側) 表面積 ($\text{\AA}^2$)
 S_∞ : 漸近ふるい係数
 T : 絶対温度 (K)
 V : 孔中溶液流束 ($=J_v/\epsilon$) (m/sec)
 V_p : 孔体積 ($\text{\AA}^3$)
 z : 孔の中心軸上の位置 (μm)
 δ_m : スキン層厚 (μm)
 ϵ : 空孔率
 ϕ : 分離係数
 λ : 溶質半径と孔半径の比
 λ' : 等価サイズ比
 λ^* : 有効溶質-孔サイズ比 ($=R^*/2s$)
 μ : 溶媒粘度 ($\text{g}/\text{m}/\text{sec}$)
 σ_1 : log-normal 分布における geometric 標準偏差
 σ_2 : Gauss 分布における標準偏差

Fig. 3 S_o (top panel) and S_a (bottom panel) versus filtrate flux for different molecular weight dextrans in the 30 K and 50 K membranes. Solid curves represent the calculated values of S_o and S_a evaluated from eqns. (1) and (3) using the best fit values of the asymptotic sieving coefficient, S_∞ and the hindered diffusivity, ϕK_d .

$$\phi = \exp(-2\lambda^*) \quad (6)$$

このモデルは、平行板をランダムにならべることによってできた等方性の多孔性ネットワーク構造による任意の形の固い溶質の分画モデルである。デキストランの平均分子半径 (R^*) は Stokes-Einstein の式から得られる R_{SE} を用いた。

$$R_{SE} = \frac{k_B T}{6\pi\mu D_\infty} \quad (7)$$

デキストランのような複雑な構造を有する分子

Fig. 4 Best fit values for S_∞ (top panel) and ϕK_d (bottom panel) versus λ^* ($=R^*/2s$) for the 30 K, 50 K, 100 K, and 300 K membranes. Solid curves are hydrodynamic predictions for spherical solutes in cylindrical pores (eqns. 8 to 10) with the effective solute to pore size ratio (eqns. 5 and 6) using the best fit values of s determined from the data for S_∞ . Experimental conditions are summarized in Table 2.

についての S_∞ と ϕK_d を表す一般式はないが、Bungay と Brenner によって円筒状孔中を球状溶質が移動する際の溶質に及ぼされる抵抗を表す流体力学モデル⁴⁾が (8)~(10) 式で与えられている。Fig. 4 の実線は、(5)~(7) 式から導出した λ^* を λ として (8)~(10) 式に代入して算出した結果で、実験値とよく一致した。

Table 1 Expansion coefficients for hydrodynamic functions K_t and K_s in eqn. 10

Subscript n	a_n	b_n
1	-73/60	7/60
2	77,293/50,400	-2,227/50,400
3	-22.5083	4.0180
4	-5.6117	-3.9788
5	-0.3363	-1.9215
6	-1.216	4.392
7	1.647	5.006

$$K_d = \frac{6\pi}{K_t} \quad (8)$$

$$K_s = \frac{(2-\phi)K_s}{2K_t} \quad (9)$$

ここで、 K_s と K_t は、

$$\left[\frac{K_t}{K_s} \right] = \frac{9}{4} \pi^2 \sqrt{2} (1-\lambda)^{-5/2} \left[1 + \sum_{n=1}^2 \left(\frac{a_n}{b_n} \right) (1-\lambda)^n \right] + \sum_{n=0}^4 \left(\frac{a_{n+3}}{b_{n+3}} \right) \lambda^n \quad (10)$$

なお、 a_n , b_n は Table 1 を参照のこと。

また、透水係数 (L_p) の実測値から次の Kozeny-Carman の式を用いて、 s を求めることも可能である。

$$s = \left(\frac{k_1 \delta_m L_p}{\varepsilon} \right)^{1/2} \quad (11)$$

実際、 L_p から求めた s が上記のフィッティングで求めた s と近い値であったことから (5)~(10) 式から S_∞ と ϕK_d とが推算でき、膜の分離特性を予測する可能性もあると考えられた (ただし、スキン層厚 δ_m と空孔率 ε の正確な値が必要)。

3. 孔径分布の膜物質移動特性への影響⁶⁾

前記のモデル ((6) 式) とは異なる 2 種類の孔径分布モデル、すなわち log-normal 分布 ((12) 式) と Gauss 分布 ((13) 式) とによる理論的解析により孔径分布変化が物質移動特性へ及ぼす影

Fig. 5 Variation of S_{∞} (top panel) and ϕK_d (bottom panel) with λ^* ($=R^*/2s$). Solid curves are for the log-normal pore size distributions. Bold curves represent the calculated values determined using the partitioning model (eqns. 5 and 6).

響を検討した。Poiseuille の法則から求めた流量 V を用いて L_p を算出した。また、(2) 式において $V \rightarrow \infty$ の場合から S_{∞} 、 $V \rightarrow 0$ の場合から ϕK_d を求めた。実際は、各係数 (L_p 、 S_{∞} 、 ϕK_d) とともに r に指数関数的に依存しているので積分値 (孔径 $r: 0 \rightarrow +\infty$) の平均値として求めた。(詳細は原著を参照)

$$n(r) = n_0 \exp \left[- \left(\frac{\log(r/R_m)}{\log \sigma_1} \right)^2 \right] \quad (12)$$

$$n(r) = n_0 \exp \left[- \frac{(r - R_m)^2}{2\sigma_2^2} \right] \quad (13)$$

(5), (6) 式を用いて (8)~(10) 式から得られた S_{∞} と ϕK_d は、log-normal 分布 ((12) 式) において geometric 標準偏差 (σ_1) が約 2.0 の時とよく一致した (Fig. 5)。この 2.0 という値は様々な市販の膜に共通する値である⁷⁾。

また、 S_{∞} と ϕK_d との相関関係は、孔径分布にあまり依存しないことが明らかとなり、孔径分布の詳細な特性に関係なく、実験値 S_{∞} から ϕK_d を推測すること (または逆の推測) が可能であると考えられた。

さらに、log-normal 分布モデルを用いてタンパク質の吸着による孔の閉塞 (あるサイズ以下の孔を完全に塞ぐ場合)、あるいは縮小 (孔内壁に吸着し孔径を減少する場合) の影響を調べたところ、閉塞の場合には見かけの平均孔径が上昇するため S_{∞} と ϕK_d はともに増加し、縮小の場合には見かけの平均孔径が減少するためともに減少することを見出した。この結果は、(5), (6) 式に基づくモデルの場合では、 s が増加 (閉塞) あるいは減少 (縮小) したことによるものである。(4 章参照)

4. タンパク質吸着の限外濾過膜特性への影響⁸⁾

限外濾過プロセスにおけるタンパク質の膜孔内吸着による透水性、およびふり特性の変化が問題となっている。そこで、2 章で述べた手法を用いて、タンパク質吸着後の限外濾過膜のふり特性の評価を行った。

予め 5 g/l の牛血アルブミン (BSA) に約 2 日間浸した限外濾過膜 (mwco : 30 K~300 K) と上記の限外濾過セルを用いて、透水性計測およびデキストランのふり実験を行った。Fig. 6 に BSA 吸着前後の 30 K 膜による S_{∞} と $\varepsilon \phi K_d / \delta_m$ を示す。 S_{∞} 、 $\varepsilon \phi K_d / \delta_m$ とも BSA 吸着後に減少した。 L_p も同様に吸着後に減少した。他の mwco の膜の計測結果と合わせて、BSA が大きい径の孔

Fig. 6 Best fit values for S_∞ (top panel) and $\varepsilon\phi K_d/\delta_m$ (bottom panel) as a function of the dextran molecular weight for the clean and pre-adsorbed 30 K membrane. Data were obtained with the 38.9 K dextran. Solid curves represent the calculated values of S_∞ and $\varepsilon\phi K_d/\delta_m$ determined using the best fit values of s and ε/δ_m .

に優先的に吸着されていくことを明らかにした。

さらにこれらの結果は，3章におけるタンパク質の吸着による孔の縮小モデルとよく一致し，閉塞モデルとは異なっていた。

5. 精密濾過中に膜上に形成されたタンパク質堆積層の透水性とふるい特性^{9, 10)}

精密濾過膜をタンパク質を含む系に応用する場合，濾過中膜上に堆積するタンパク質層による透水性およびふるい特性の変化が問題となる。そこで，精密濾過膜上に堆積した BSA 層を介したデ

Fig. 7 S_a (solid curves) at 35 and 69 kPa for dextrans in 0.15 M NaCl at pH 4.7. Dashed curves represent the calculated values of S_∞ for the clean 50 K, 100 K and 300 K membranes.

キストランの S_a と L_p の計測実験を行った。

まず，非対称 OMEGA ポリエーテルスルホン膜（平均孔径：0.16 μm ；Filtron Technology Corporation, U.S.A.）と上記限外濾過セルを用いて，10 g/l BSA 溶液を 69 kPa で 3 時間濾過して BSA の堆積層を形成した後，この膜を 0.15 M NaCl 溶液中に 4°C で一晩浸し，圧縮された BSA 堆積層を非圧縮状態に戻した。そして，この膜を介して 5 g/l のデキストラン溶液（平均分子量：503,000）を濾過し，pH，イオン強度，イオン種（NaCl, CaCl_2 ），膜間圧力差（ ΔP ）を変化させて，透水性およびふるい特性の評価を行った。ただし，BSA 濾過前の膜では， $S_0=1$ であった。

まず，BSA の等電点 (pI) である pH 4.7 において L_p , S_a とともに最大であり，イオン強度あるいはイオン種への依存性はほとんど見られなかった。そして，pH が pI から外れた場合 (pH=3.0, 6.7)，あるいはイオン強度が大きくなった場合 (0.02 M–0.5 M, pH=6.6)， S_a は減少する傾向を示した。これは，i) pI における BSA 分子の正味の荷電がゼロであり，NaCl や CaCl_2 によるタンパク質の荷電を静電的に遮閉する効果が最小となること，つまり BSA 分子間の静電的反発力を抑制することによる分子間距離が縮小する

Table 2 Summary of experimental conditions for dextran filtration experiments (Fig. 4)

Symbol	Membrane mwco	Dextran	Suspending Medium	Dextran Concentration (g/l)	Filtrate Flux (10^{-5} m/s)
○	100 K	147 K	NaCl	10	0.2-1.4
△	100 K	147 K	NaCl	10	0.2-2.0
□	100 K	67.9 K	NaCl	10	0.2-11.0
▽	100 K	147 K	PBS	5	0.2-1.7
●	300 K	539 K	PBS	5	0.3-6.6
▲	50 K	67.9 K	NaCl	10	0.1-3.5
■	30 K	38.9 K	PBS	5	0.3-1.6

効果が低下すること, ii) pH 変化またイオン強度変化による BSA 分子構造の変化, iii) BSA 凝集体のサイズや形の変化などによるものと考えられた。

Fig. 7 に BSA 堆積層の分画特性を示す。ΔP の増加により S_a ($\approx S_{\infty}$) は大きく減少し, BSA 堆積層が圧縮され分画特性を変化させたと考えられた。そして BSA 堆積層のないクリーンな 100 K と 300 K の限外濾過膜を合わせたような特性 (より広い孔径分布の存在) を示したことから, bimodal な孔径分布を有していると推定された (他の pH での結果も同様)。すなわち, i) 小さな径の孔, 例えば BSA 分子同士の隙間と, ii) 大きい径の孔, 例えば BSA 分子の凝集体同士の隙間や BSA 分子の詰まっていない部分の存在である。

以上, 堆積 BSA 層の特性 (L_p , S_o , S_a) が, ΔP (圧縮力) と溶液のイオン条件 (pH, イオン強度, イオン種) に依存していることを認めた。

逆にこのような pH, イオン強度, ΔP など进行操作することによってふるい特性を制御できる可能性も示唆された。

6. まとめ

以上の限外濾過, 精密濾過膜の物質移動に関する実験的, 理論的検討の結果から, ふるい特性, 透水性を支配する現象について詳細な知見を得た。膜プロセスの効率的な利用には, これらの結果に基づいた膜プロセスのキャラクタリゼーションと改善が重要であると考えられた。

謝 辞

この度は, 日本膜学会研究奨励賞を頂き, 心よりお礼申し上げます。本研究を遂行するにあたり, 懇切丁寧にご指導頂いたデラウェア大学化学工学科 Andrew L. Zydney 先生, また素晴らしい研究環境を与えて下さった教官, スタッフの皆様に深く謝意を表します。さらに, 留学の援助を頂いた日米教育委員会・フルブライトプログラムとスタッフの方々, 日本から激励して頂きました早稲田大学理工学部応用化学学科城塚正先生, 酒井清孝先生, 千葉工業大学工学部工業化学科尾上薫先生, 貴重なアドバイスを下さいました東京大学工学部化学システム工学科中尾真一先生, そしてこれまでいろいろな面で支えてくれた友人および家族に深謝致します。

この受賞を期に益々研究に励んで行く所存でありますので, 今後も, ご指導ご鞭撻のほどよろしくお願い申し上げます。

文 献

- 1) Mochizuki S, Zydney AL : *J. Membrane Sci.*, **68** (1992) 21-41
- 2) Smith KA, Colton CK, Merrill EW, Evans LB : *Chem. Eng. Progr. Symp. Ser.*, **64** (1968) 45-58
- 3) Granath KA : *J. Colloid Sci.*, **13** (1958) 308-328
- 4) Bungay PM, Brenner H : *Int. J. Multiph. Flow*, **1** (1973) 25-56
- 5) Giddings JC, Kucera E, Russel CP, Myers MN : *J. Phys. Chem.*, **72** (1968) 4397-4408
- 6) Mochizuki S, Zydney AL : *J. Membrane Sci.*, **82** (1993) 211-227
- 7) Kim KJ, Fane AG, Fell CJD, Suzuki T, Dickson MR : *J. Membrane Sci.*, **54** (1990) 89-102
- 8) Mochizuki S, Zydney AL : *Biotechnol. Prog.*, **8** (1992) 553-561
- 9) Mochizuki S, Zydney AL : *J. Coll. Interf. Sci.*, **158** (1993) 136-145
- 10) Palecek SP, Mochizuki S, Zydney AL : *Desalination*, **90** (1993) 147-159

(受付 1996 年 6 月 28 日 掲載決定 7 月 9 日)