

Ewa Stodolak*, Małgorzata Krok, Teresa Gumuła, Stanisław Błażewicz

Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Poland

* Corresponding author. E-mail: stodolak@agh.edu.pl

Otrzymano (Received) 02.02.2009

MEMBRANY KOMPOZYTOWE PRZEZNACZONE NA IMPLANTY OKULISTYCZNE

Zaprojektowano i wykonano materiał kompozytowy przeznaczony na śródgalkowy implant okulistyczny (implant keratocytowy). Materiałem bazowym był syntetyczny niedegradowalny terpolimer (PTFE-PVDF-PP) o stwierdzonej biogodności (norma PN-EN ISO 10993). Jako fazę porotwórczą zastosowano biodegradowalny polimer-alginiat sodu (NaAlg), którego użyto w formie proszku i włókien. Biopolimer mieszano z roztworem terpolimeru. Kompozyty otrzymywano metodą odlewania, a następnie poddawano je obróbce fizykochemicznej w celu nadania im niezbędnej porowatości. W ten sposób otrzymano biomateriał o wysokiej porowatości otwartej z systemem porów połączonych. Średnia wielkość porów w biomateriale zależy od rozmiaru cząstek fazy porogennej oraz od jej rodzaju (włókna lub proszek NaAlg). Membrana kompozytowa jest tworzywem trwałym, odpornym na długotrwałe obciążenia zarówno statyczne, jak i dynamiczne. Niewielki wzrost porowatości i wzrost wielkości porów obserwowany po testach zmęczeniowych nie powoduje deformacji tworzywa membranowego i nie prowadzi do jej zniszczenia. Powierzchnie membran mają charakter silnie hydrofobowy (wyniki pomiarów kąta zwilżania i energii powierzchniowej), co utrudnia adhezję makromolekuł, będącą powodem blokowania się porów membrany. Wysoki kąt zwilżania utrzymuje się również w przypadku zastosowania jako cieczy pomiarowej medium hodowlanego wzbogacanego albuminą. Otrzymane wyniki eksperymentalne stanowiły podstawę do podjęcia dalszych badań nad zachowaniem się materiałów membranowych w warunkach *in vivo*.

Słowa kluczowe: membrany kompozytowe, implanty śródgalkowe, operacyjne metody leczenia jaskry, alginiaty, terpolimer

COMPOSITE MEMBRANES MATERIALS FOR OPHTHALMOLOGICAL IMPLANTS

Glaucoma is an disease in which increased intraocular pressure causes damages of the eye structure. This leads to destruction of ophthalmic nerve, and as a result, changes of the field of vision. As a secondary effect secondary changes in the eye structure are observed. The disease is caused by blocking of a natural porous eyeball structure so called drainage angle. Inflow of the aqueous medium from inside the eye to the anterior chamber is more difficult than in physiological state. This state leads to excessive accumulation of the aqueous medium in the eye ball. As a result, the increased intraocular pressure causes tissue ischemia and afterwards their necrobiosis leading to atrophy of the ophthalmic nerve. The role of materials used in therapy of glaucoma is to decrease the pressure inside eye. Materials for such application should fulfill main criteria, such as biocompatibility, biostability and appropriate high porosity. Moreover, it is necessary to provide nonpenetrating filtration inside the eye. For long-term-use, the material applied for cornea implants also have to withstand static pressure and dynamic pressure changes and have to be stable in biological environment. Therefore, its durability in *in vitro* conditions plays an important role.

A new composite material for intraocular ophthalmic implant (keratitis implant) was designed and manufactured. The composite matrix based on a synthetic non-degradable terpolymer (PTFE-PVDF-PP) with certified biocompatibility (PN-EN ISO 10993 standard). As a porogenic phase bio-degradable polymer - sodium alginate (NaAlg) in the form of powder and fibres was used. The biopolymer was mixed with terpolymer solution. Composites were manufactured by casting technique followed by such a physicochemical treatment which led to obtaining appropriate porosity. This procedure enable to manufacture biomaterial possessing high open porosity with interconnected pore system. The average pore size in biomaterial remains in relation with size of porogenic phases and the type of porogenic phases (fibres or particles of NaAlg). The composite membrane is a material durable and resistant to long-term static and dynamic loads. The slight increase of total porosity and pore size which was observed after fatigue tests did not lead to deformation of the membrane material and did not lead to its destruction. Surfaces of the membrane materials were highly hydrophobic (results of wetting angle measurements and surface energy determination). That prevent adhesion of macromolecules responsible for blocking of membrane pores. High value of wetting angle were registered not only in case of distilled water but also in case of using plasma enriched with albumins. On the basis of results of these experiments new tests in *in vivo* conditions were continued.

Keywords: composite membranes, intraball implant, surgical methods for sclerectomy treatment, alginates, terpolymer

WPROWADZENIE

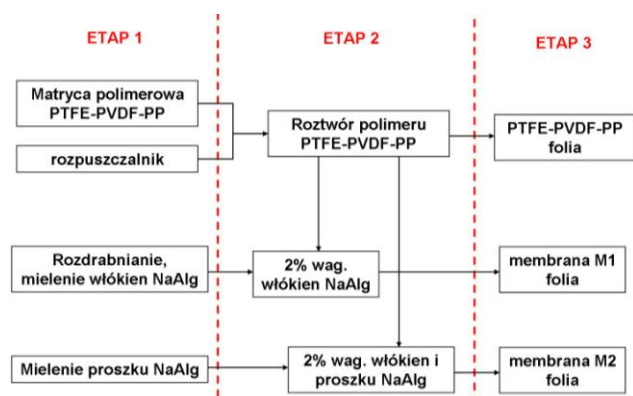
Materiały membranowe od szeregu lat stosowane są w inżynierii biomedycznej. Znalazły one szerokie zastosowanie jako przegrody separujące lub filtry zatrzymujące cząstki o określonej wielkości lub masie molowej [1, 2]. Typowe membrany kompozytowe charakteryzują się specyficzną budową, w których warstwa aktywna i warstwa porowata - nośna zbudowana jest z odrębnych materiałów. Membrana taka może składać się z kilku warstw, różniących się między sobą zarówno rozmiarem porów (kształt, wielkość porów), jak i materiałem. Materiały takie ze względu na swoją grubość (ok. 100÷200 μm) narażone są na szybkie zablokowanie, wynikające z zatykania się porów i rozwarstwianie lub wręcz zniszczenie mechaniczne [3, 4]. Alternatywą dla typowych asymetrycznych membran warstwowych są materiały kompozytowe pełniące funkcję membran. Zachowują one podstawowe właściwości membrany, takie jak: przepuszczalność, porowatość, odpowiednia grubość materiału, trwałość, a dodatkowo charakteryzują się lepszymi właściwościami mechanicznymi. Dzięki takim parametrom membranowe materiały kompozytowe mogą być stosowane w zupełnie nowych dziedzinach inżynierii biomedycznej - okulistyce.

Jaskra jest schorzeniem, w którym podwyższone ciśnienie wewnątrzgałkowe wywołane uszkodzeniami struktury gałki ocznej prowadzi do neuropatii zanikowej nerwu wzrokowego, zmian w polu widzenia, a także jest przyczyną wtórnych zmian oka [5, 6]. Przyczyną powstawania schorzenia jest blokowanie się naturalnej struktury porowatej zwanej kątem przesączania. Przepływ cieczy wodnistej z wnętrza oka do komory przedniej oka jest utrudniony, co prowadzi do nadmiernego gromadzenia się cieczy wodnistej w gałce ocznej. Podwyższone ciśnienie wewnątrzgałkowe powoduje niedokrwienie tkanki i ich sukcesywne obumieranie, kończące się zanikiem nerwu wzrokowego [5]. W zależności od stanu zaawansowania choroby stosuje się różne metody poprawiające wymianę cieczy wodnistej wewnątrz gałki ocznej. Jedną z nich jest technika sklerotomii głębokiej nieperforującej (NPDS), która wykorzystuje implanty śródtwardówkowe. Materiały, z których wykonane są implanty, to zwykle polimery pochodzenia naturalnego (kolagen) lub syntetycznego (e-PTFE, PP, silikon), które niestety posiadają wiele niekorzystnych cech. Podstawowym ich mankamentem jest to, że są to materiały nietrwałe (np. kolagen, haluronian są resorbowalne w warunkach *in vivo* po 6-9 miesiącach po zabiegu). Ponadto, takie membrany mają pory o nieodpowiedniej wielkości, dlatego też często ulegają zatykaniu białkami znajdującymi się w cieczy wodnistej (np. albuminami), co prowadzi do zahamowania procesu filtracji [7, 8]. Blokowanie porów prowadzić może do dodatkowej interwencji chirurgicznej (laser) lub wymiany/usunięcia implantu. Syntetyczne materiały membranowe są przyczyną przewlekłych stanów zapalnych uciążliwych dla pacjenta i nie zawsze po-

siadają odpowiednie parametry użytkowe; takie jak np. niedopasowana do otoczenia tkankowego elastyczność implantu [9, 10]. W celu wydłużenia okresu funkcjonowania przetoki zapewniającej przepływ cieczy konieczne jest wykonanie implantu z materiału, który dobrze będzie tolerowany przez organizm pacjenta. Materiałem proponowanym do tego celu jest membrana złożona z trwałego intertego polimeru syntetycznego PTFE-PVDF-PP, będącego osnową kompozytu, oraz fazy włóknistej (alginianu sodu), która stanowi rodzaj porogenu nadającego osnowie polimerowej odpowiednią porowatość. W ramach badań wykonano i scharakteryzowano materiał w formie membrany, którego cechy fizykochemiczne oraz mikrostruktura zbliżone są do właściwości tkanki będącej miejscem przyszłej implantacji (trabekulum kąta przesączania).

MATERIAŁY I METODY

W pracy wykorzystano fluoropochodny terpolimer otrzymany na bazie politetrafluoroetyleny (teflon, PTFE). Terpolimer zbudowany jest z trzech rodzajów merów, w których 56% wag. stanowi politetrafluoroetylen (PTFE), 27% wag. stanowi polidifluorowiniliden (PVDF), a pozostałą część polipropylene (PP). Fazę modyfikującą stanowił alginian sodu (NaAlg). Użyto dwóch form modyfikatora, alginianu sodu w postaci proszku oraz alginianu sodu w postaci włókien, których prekursorem był proszek NaAlg. Materiał włóknisty wytworzono w Katedrze Włókien Sztucznych Wydziału Inżynierii i Marketingu Tekstyliów na Politechnice Łódzkiej. Zawartość reszt kwasu gulonowego w tworzywie wynosiła 65÷75%, a zawartość reszt kwasu mannuronowego 25÷35%. Morfologię porogenu obserwowano na mikroskopie elektronowym (SEM Jeol 5400). Analizę rozkładu wielkości ziaren proszku wykonano metodą DLS (Nanosizer-ZS). Charakterystykę morfologiczną włókien przeprowadzono za pomocą mikroskopu optycznego (Nikon 300). Włókna (średnica, długość) mierzono, wykorzystując lanometr. Nawązki porogenu (2% wag.) mieszano z roztworem polimeru. Następnie taką mieszaninę poddano procesowi odparowywania rozpuszczalnika na powietrzu (48 h). W celu nadania materiałowi porowatej mikrostruktury przeprowadzono proces usuwania porogenu. Folie kompozytowe inkubowano w wodzie destylowanej w temperaturze 80°C przez 84 h. W trakcie tej kąpieli następowało rozpuszczanie i wymywanie NaAlg (przechodzenie rozpuszczalnej w wodzie soli alginowej do roztworu). W ten sposób otrzymano dwa rodzaje membran: **M1** - membrana powstała po wypłukiwaniu włókien NaAlg z terpolimeru oraz membrana **M2** - powstała po usunięciu włókien NaAlg i proszku NaAlg z terpolimeru. Schemat procesu otrzymywania kompozytowych membran przedstawia rysunek 1.



Rys. 1. Schemat otrzymywania kompozytowych materiałów membranowych M1, M2 i folii czystego terpolimeru (materiał odniesienia)

Fig. 1. Manufacturing process of M1 and M2 composite membranes and thin terpolymer foil (reference sample)

Proces wymywania porogenu monitorowano pomiarami przewodnictwa jonowego wody. Po usunięciu fazy porotwórczej badano mikrostrukturę membrany (Nikon 300).

W celu sprawdzenia przepuszczalności otrzymanych membran kompozytowych przeprowadzono następujący test: przygotowano 0,1 M NaCl, który umieszczono w pojemniku, zamykając go membraną. Pojemnik wypełniony roztworem soli umieszczono w wodzie. Efektywność działania membrany (migracja jonów Na^+ i Cl^- z roztworu soli do wody) sprawdzano, mierząc zmiany przewodnictwa jonowego wody.

Badania trwałości materiału w warunkach działania obciążenia statycznego (stałego ciśnienia słupa cieczy, $P = 4,8$ kPa) prowadzono, umieszczając membranę w układzie zamkniętym z wodą. Badanie prowadzono przez 7 dni. Określono również trwałość membrany poddanej działaniu dynamicznego obciążenia w teście dynamicznego rozciągania (60 cykli/min) przeprowadzonym na uniwersalnym aparacie do badań zmęczeniowych. Badania prowadzono w sposób ciągły przez 7 dni. Wpływ obciążeń statycznego i dynamicznego na mikrostrukturę określono, porównując porowatość i średnią wielkość porów membrany poddanej i niepoddanej obciążaniu.

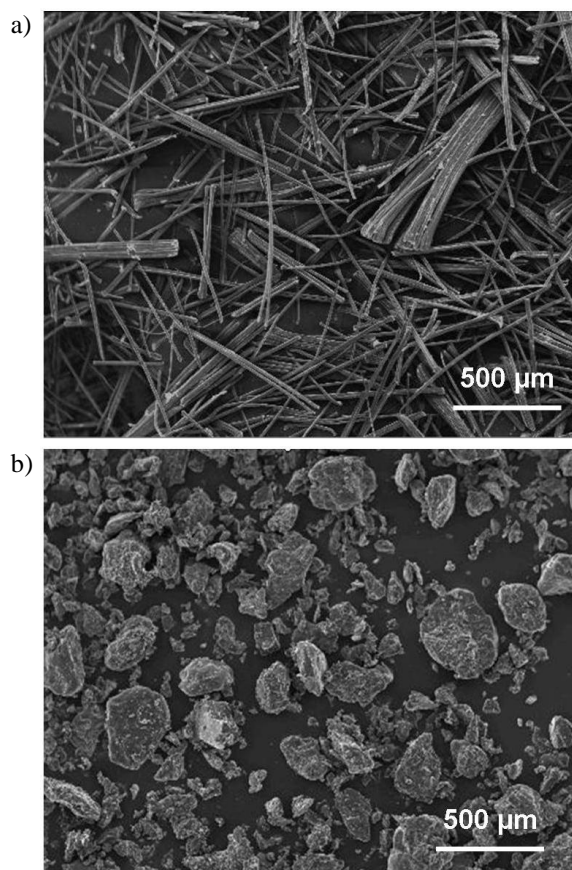
Fizykochemiczne właściwości powierzchni określono, wykonując pomiary zwilżalności powierzchni membrany wodą oraz osoczem z krwi cielęcej wzbogaconej albuminą. Energię powierzchniową dla otrzymanych dwóch rodzajów membran wyznaczono, stosując metodę Owena-Wendta. Parą cieczy pomiarowych były: woda-dijodometan oraz osocze wzbogacone albuminą-dijodometan (DSA 10 Kruss).

Materiał odniesienia dla badań fizykochemicznych membran stanowiła czysta folia polimerowa.

WYNIKI I DISKUSJA

Obserwacje mikroskopowe fazy porotwórczej wykazały, że każda z form porogenu (proszek, włókna) występuje w co najmniej dwóch populacjach, różniących

się między sobą wielkością. Wyniki pomiarów wielkości cząstek proszku alginowego wykazały obecność dwóch populacji ziaren; pierwszej o średniej wielkości ziaren $60 \div 100$ μm oraz drugiej o średniej wielkości ziaren $300 \div 350$ μm . W efekcie rozdrabniania mechanicznego i mielenia w młynku udarowo-wibracyjnym włókien z alginianu sodu otrzymano trzy frakcje włókien: duże o długości $1 \div 1,2$ mm i średnicy $12 \div 16$ μm , mniejsze o wielkości $840 \div 860$ μm i średnicy $14 \div 15$ μm oraz cząstki będące efektem degradacji (mielenia) włókien, których średnica wynosiła poniżej 50 μm (rys. 2). Wcześniejsze badania nad podobnym układem wykazały, że 2% udział wagowy fazy porotwórczej w terpolimerze zapewnia otrzymanie membrany o jednorodnym rozmieszczeniu porów i charakteryzującej się odpowiednią dla badanego zastosowania przepuszczalnością i trwałością mechaniczną [11].

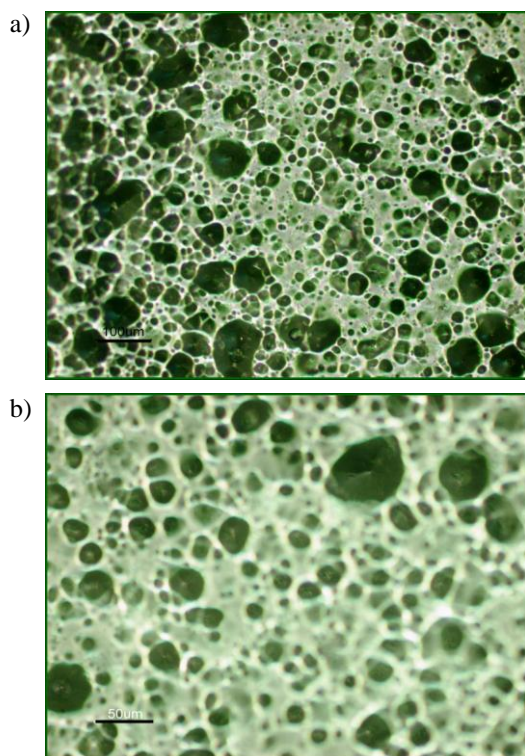


Rys. 2. Mikrofotografia fazy porotwórczej: a) włókien NaAlg, b) proszku NaAlg

Fig. 2. Microphotography of porogenic materials: a) NaAlg fibers, b) NaAlg powder

Zróżnicowane rozmiary włókien/cząstek NaAlg (2-3 frakcje obecne w każdej z populacji porogenu) są przyczyną zjawiska sedymentacji zachodzącego w roztworze polimeru podczas odlewania materiału kompozytowego. Bezpośrednią konsekwencją sedymentacji włókien i produktów ich defragmentacji jest nierównomierne rozłożenie fazy porotwórczej, widoczne w obrębie przekroju materiału, a także widoczne podczas obserwacji mikro-

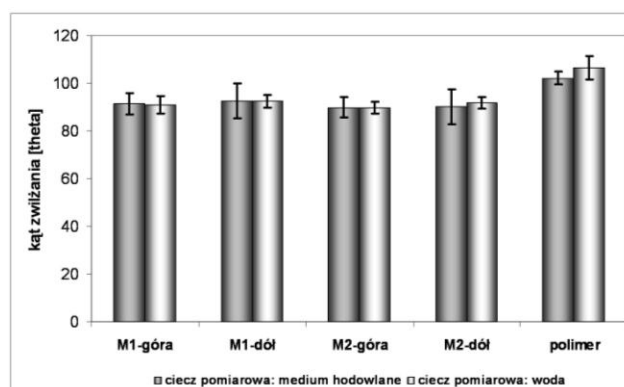
skopowych dwu stron membrany kompozytowej (rys. 3). Potwierdzeniem zjawiska sedymentacji jest wyznaczona porowatość materiału: wyższa od spodniej strony materiału (tam, gdzie szybkość opadania większych, a tym samym cięższych cząstek lub włókien porogenu z NaAlg była wyższa) i niższa w górnej części materiału (gdzie szybkość opadania mniejszych cząstek lub włókien porogenu była znacznie niższa). Stąd w dalszej części pracy stosowane będzie oznaczenie: dół membrany - czyli strona, gdzie lokowały się cząstki podczas sedymentacji, oraz góra membrany, gdzie udział porogenu jest znacznie mniejszy. Wielkość porów oraz ich rozkład zależy w dużej mierze od morfologii samego porogenu: większe różnice w porowatości obserwuje się w materiale, w którym jako porogen zastosowano włókna z biopolimeru ('góra' materiału posiada porowatość rzędu 50%, natomiast 'dół' membrany charakteryzuje się porowatością 60%). Podobną zależność obserwuje się w przypadku średniego rozmiaru porów: w dolnej części materiału średnica porów wynosi 25 μm , natomiast w górnej części materiału średnia wielkość porów jest mniejsza i wynosi 14 μm . W przypadku drugiego rodzaju materiału membranowego (M2) różnice w porowatości nie są aż tak widoczne: porowatość obydwu stron membrany jest na poziomie 50%, a średnia wielkość porów waha się w granicach 12÷16 μm .



Rys. 3. Mikrostruktura materiałów membranowych: a) M1 i b) M2
Fig. 3. Microstructure of membrane materials: a) M1 and b) M2

Zmienna mikrostruktura materiałów, będąca wynikiem sedymentacji porogenu, na etapie otrzymywania materiałów kompozytowych, przekłada się na jego właściwości fizykochemiczne oraz mechaniczne, które są istotne

z punktu widzenia przyszłego zastosowania. Środowisko cieczy wewnątrzgałkowej to środowisko roztworu wodnego bogatego w aminokwasy i proste białka globularne (np. albuminy), będące często przyczyną blokowania porów w materiałach implantacyjnych [12]. Podstawową cechą, uniemożliwiającą adhezję białek i aminokwasów, jest hydrofobowy charakter powierzchni implantu. Badania zwilżalności otrzymanych materiałów membranowych wykazały, że są to materiały o charakterze silnie hydrofobowym (kąt zwilżenia $\sim 90^\circ$) niezależnie od rodzaju zastosowanej cieczy pomiarowej (rys. 4). Duża wartość kąta zwilżania utrzymuje się zarówno wtedy, gdy wyznaczana jest hydrofobowość materiału w środowisku wodnym, jak i wtedy, gdy jako cieczy pomiarowej używa się medium hodowlanego bogatego w aminokwasy (kąt zwilżania również na poziomie $\sim 90^\circ$).

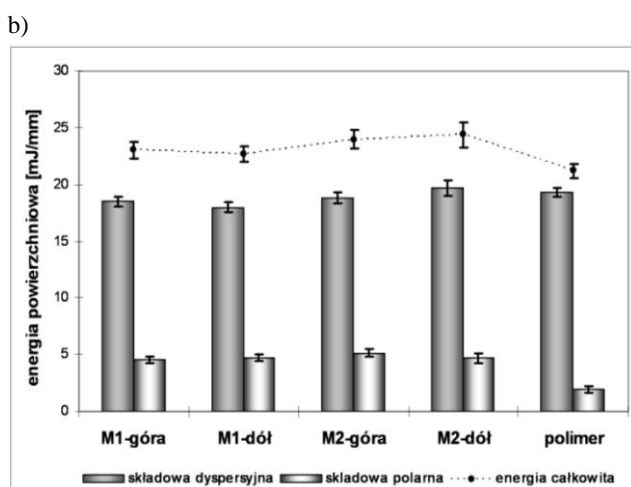
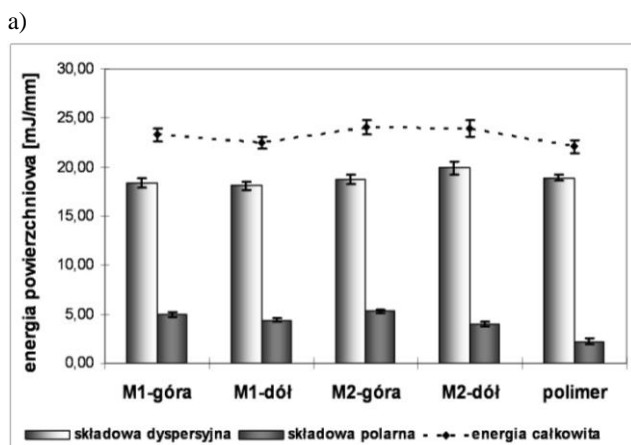


Rys. 4. Zwilżalność powierzchni materiałów membranowych M1 i M2
Fig. 4. Wettability of M1 and M2 membrane surfaces

Dodatkowym potwierdzeniem niskiej zdolności do przyciągania aminokwasów i białek przez powierzchnię materiałów membranowych są wyniki pomiarów energii powierzchniowej membran (rys. 5). Mała wartość składowej polarnej, przy jednocześnie dużym udziale składowej dyspersyjnej energii powierzchniowej, pozwala przypuszczać, że materiały te nie będą tworzyć wiązań wodorowych i połączeń o innym charakterze (np. van der Waalsa, oddziaływania elektrostatyczne itp.) pomiędzy powierzchnią implantu a grupami bocznymi aminokwasów lub białek.

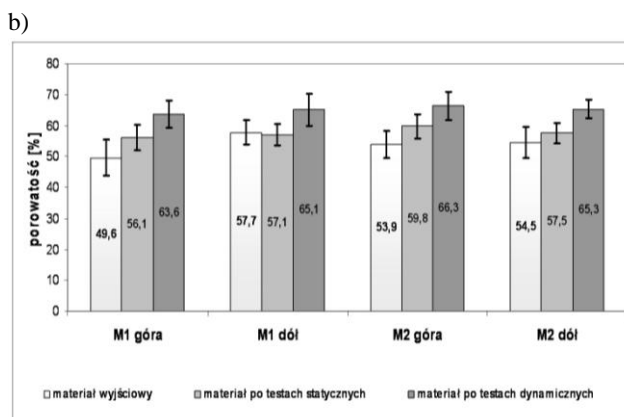
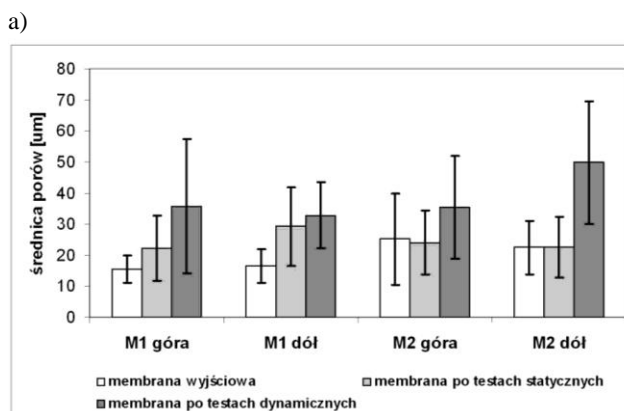
Kolejną istotną własnością dla implantów okulistycznych jest ich trwałość w środowisku biologicznym oraz odporność na działanie niewielkich, ale długotrwałych obciążeń wywołanych ciśnieniem wewnątrzgałkowym. W tym celu wykonano dwa rodzaje badań mechanicznych membran: pierwsze pod stałym, drugie pod zmiennym obciążeniem miały na celu zasymulowanie sytuacji, do jakiej może dochodzić w trakcie np. ataku jaskry, czyli nagłego wzrostu ciśnienia wewnątrzgałkowego. W wyniku działania obciążeń dynamicznych mikrostruktura membrany ulega zmianom. Średnia wielkość porów w dolnej części membrany M2 wzrasta nawet dwukrotnie względem materiału wyjściowego. Jest to związane

z rodzajem zastosowanego porogenu, czyli mieszaniny proszku i włókien z NaAlg. Pory od spodu membrany są większe (sedymentacja włókien) od porów górnej części membrany (głównie proszek). Pory wytworzone w wyniku usuwania włókien stanowią większe defekty i łatwiej ulegają deformacjom. Analiza mikrostruktury materiałów poddanych testom statycznym wykazała, że porowatość materiałów wzrasta w niewielkim stopniu względem materiału wyjściowego membrany o ok. 4÷7%. Obserwowany jest wzrost średniej wielkości porów po teście o ok. 7÷15 μm w porównaniu do średniego rozmiaru porów przed testem - pory ulegają powiększeniu podczas testu. Wzrasta rozrzut wielkości porów w membranach po teście. Membrana bardziej odporna na statyczne obciążenia mechaniczne została wykonana z materiału M2 (rys. 6). Mimo zaobserwowanych zmian parametrów mikrostruktury opracowana membrana uzyskuje wyniki zachęcające do dalszych badań. Zastosowane skrajne warunki testów mechanicznych (dwukrotnie wyższa wartość ciśnienia) znacznie odbiegają od warunków, jakie mogą panować w środowisku biologicznym w wyniku ataku jaskry.



Rys. 5. Energia powierzchniowa membran M1 i M2 mierzona w dwóch układach cieczy pomiarowych: a) woda-dijodometan, b) osocze wzbogacone albuminami - dijomometan

Fig. 5. Surface free energy of for M1 and M2 membranes measured with the use of liquids: a) water-dijodomethane, b) plasma enriched with albumins - dijomometan



Rys. 6. Średnia wielkość porów (a) i porowatość (b) dla materiałów membranowych M1 i M2 poddanych testom działania obciążeń mechanicznych (statycznych i dynamicznych)

Fig. 6. Average pore size (a) and porosity (b) of M1 and M2 membranes before and after mechanical loading (static and dynamic)

WNIOSKI

Materiały kompozytowe wykonane ze stabilnego terpolimeru PTFE-PVDF-PP oraz alginianu sodu metodą odlewania (ang. *tape casting*) mogą być wykorzystane jako materiały wyjściowe, służące do otrzymania membran przeznaczonych dla okulistyki (implanty keratocytowe). Materiały membranowe charakteryzują się wysoką porowatością (ok. 50%), odpornością na stany długotrwałego obciążenia zarówno statycznego, jak i dynamicznego, a także właściwościami fizykochemicznymi powierzchni dopasowanymi do wymogów stawianych implantom okulistycznym (hydrofobowość, niska energia powierzchniowa). Otrzymane wyniki eksperymentalne stanowią podstawę do podjęcia dalszych badań nad zachowaniem się materiałów membranowych w warunkach *in vivo*.

Podziękowania

Praca finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego grant Nr N518 028 32/1769.

LITERATURA

- [1] Narębska A., Membrany i membranowe techniki rozdzielania, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń 1997.

- [2] Ye Xinhao, Lv Lu, Zhao X.S., Wang, Kean, Permeation time lag in polymeric hollow fiber membranes, *Journal of Membrane Science* 2006, 283, 20, 425-429.
- [3] Torras C., Torné V., Fierro V., Montané D., Garcia-Valls R., Polymeric composite membranes based on carbon/PSf, *Journal of Membrane Science* 2006, 273, 38-46.
- [4] Kweon Ji Hyang, Cho Jinwoo, Polprasert Chongrak, Membrane fouling caused by extracellular polymeric substances during microfiltration processes, *Desalination* 2005, 179, 117-124.
- [5] Nizankowska M.H., Kaczmarek R., Prevalance of open angle glaucoma and ocular hypertension as a risk factor for primary open angle glaucoma in Wroclaw population, *Wroclaw Epidemiological Study* 2004, 1-2, 106.
- [6] Tixier J., Dureau P., Buequet F., Dufierb J.L., Sclerectomie profonde dans le glaucoma congenital, Resultants preliminaires, *J. Fr. Ophthalmol.* 1999, 22, 545-548.
- [7] Chiou A.G.Y., Mermoud A., Underdahl J.P., Schnydrer C.C., An ultrasound biomicroscopic study of eyes after deep sclerectomy with Collagen Implant, *Ophthalmology* 1998, 105.
- [8] Klinge U., Klosterhalfen B., Ottinger A.P., Junge K., PVDF as a new polymer for the construction of surgical meshes, *Biomaterials* 2002, 23, 3487-3493.
- [9] Chunseng F., Baoli S., Guomin L., Yonglie W., Preparation and properties of microporous membrane from poly(vinylidene fluoride-co-tetrafluoroethylene) for membrane distillation, *Journal of Membrane Science* 2004, 237.
- [10] Shaarawy T., Nguyen Cr, Achache F., Comparative study between deep sclerotomy with and without collagen implant: long term follow-up, *Br. J. Ophthalmol.* 2004, 88(1), 95-98.
- [11] Stodolak E., Wołowska-Czapik D., Błażewicz M., Mikołajczyk T., Zaczyńska E., Membrane composite materials for medical application - primary material and biological study, *Kompozyty (Composites)* 2006, 6, 4, 47-51.
- [12] Kontturi K., Vuoristo M., Adsorption of globular proteins on polymeric microfiltration membranes, *Desalination* 1996, 104, 1-2, 99-105.