

## SINTESIS DAN OPTIMASI MEMBRAN SELULOSA ASETAT PADA PROSES MIKROFILTRASI BAKTERI

Natalia Suseno, Tokok Adiarto, Atie S.

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Surabaya

### Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah mensintesis membran selulosa asetat yang dapat dipakai untuk sterilisasi larutan media pertumbuhan bakteri. Dalam penelitian ini, diupayakan modifikasi ukuran pori membran yang sesuai untuk proses sterilisasi, yaitu mempunyai permeabilitas dan selektivitas tinggi terhadap bakteri tetapi rendah terhadap komponen media lain yang lolos melalui membran. Pembuatan membran dilakukan dengan sistem tiga komponen selulosa asetat, aseton, dan aditif formamida. Struktur pori membran diupayakan asimetris. Karakteristik membran dilakukan terhadap uji permselektivitas (rejeksi), permeabilitas (fluks), struktur dan morfologi membran. Uji dilakukan terhadap larutan umpan media tumbuh bakteri yang dikontaminasi dengan bakteri E-coli. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa membran selulosa asetat dapat digunakan untuk menyaring bakteri. Komposisi larutan cetak berpengaruh pada nilai fluks dan nilai rejeksi. Makin tinggi komposisi larutan selulosa asetat, rejeksi makin tinggi dan fluks makin rendah. Proses gelasi (pemberian waktu untuk penguapan pelarut) dapat meningkatkan rejeksi dari 62,94% menjadi 67,83% pada waktu gelasi 1 menit. Kondisi terbaik dari percobaan komposisi selulosa asetat 16%, aseton 50% dan formamida 34%, waktu gelasi 1 menit dengan nilai rejeksi 67,83% dan nilai fluks  $16,25 \text{ lt.m}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ . Pengamatan Scanning Electron Microscope (SEM) menunjukkan struktur pori membran asimetris.

**Kata kunci :** membran selulosa asetat, media pertumbuhan bakteri, fluks dan rejeksi

## **PENDAHULUAN**

### **Latar Belakang**

Teknologi membran semakin berkembang pemakaiannya, misalnya penggunaan membran mikrofiltrasi, ultrafiltrasi, hiperfiltrasi, *reverse osmosis*, elektrodialisis, pervaporasi pada berbagai industri kimia, logam dan kertas, tekstil, industri pemurnian air dan pengolahan limbah, makanan, dan bioteknologi. Umumnya membran dibuat dari bahan polimer seperti selulosa asetat, selulosa triasetat, aromatik poliamida, poliamid, polibenzimidazole, polisulfon dan polimer sintetis yang lain. Membran yang banyak digunakan adalah membran biologis dan dalam perkembangannya juga digunakan membran sintetis.

Salah satu penggunaan membran di bidang bioteknologi adalah pada proses mikrofiltrasi bakteri. Pemisahan bakteri dengan menggunakan membran banyak dilakukan pada proses pemisahan produk hasil fermentasi. Sedangkan pada proses fermentasi selalu melibatkan pembiakan bakteri dalam suatu media tumbuh yang harus dijaga sterilitasnya. Sterilisasi dapat dilakukan menggunakan autoklaf dengan tekanan cukup tinggi dan temperatur dapat mencapai 120°C.

Permasalahan sering kali timbul pada pemakaian suhu tinggi ini, karena media yang mengandung glukosa atau komponen-komponen lain yang mudah terdekomposisi menjadi berubah komposisinya, sehingga pertumbuhan bakteri tidak optimum. Oleh karena itu proses sterilisasi media cair menggunakan membran lebih menjanjikan keuntungan. Proses sterilisasi didasarkan pada perbedaan ukuran bakteri dengan media tumbuh, bakteri ditahan oleh membran, tetapi komponen-komponen lain diteruskan. Ukuran pori dibuat diantara ukuran kedua kelompok bahan.(Brock D.T.,1994).

Dalam penelitian ini, diupayakan modifikasi ukuran pori membran yang sesuai untuk proses sterilisasi. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan, membran harus tipis tetapi kuat. Mempunyai selektifitas dan permeabilitas tinggi terhadap bakteri tetapi rendah terhadap komponen media yang lain sehingga dapat lolos. Selain itu akan dipelajari pengaruh morfologi dan karakterisasi membran dalam hubungannya dengan proses pembuatan, komposisi bahan dan kondisi-kondisi yang mungkin berpengaruh terhadap hasil membran. Bahan dasar digunakan selulosa asetat yang cukup stabil dalam lingkungan pengoperasian dan relatif murah.

### **Perumusan Masalah**

Penelitian ini bertujuan untuk merumuskan beberapa permasalahan antara lain :

Pengaruh komposisi membran terhadap pembentukan struktur dan ukuran pori dari membran, pengaruh proses (pemberian waktu kontak dengan udara pada proses penguapan) terhadap nilai rejeksi dan fluks membran. Selain itu dipelajari sejauh mana efektivitas membran selulosa asetat untuk proses sterilisasi larutan media pertumbuhan bakteri

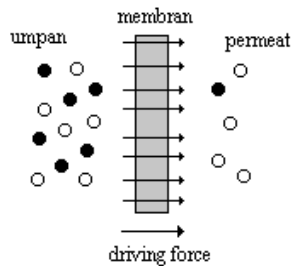
### **Tinjauan Teori**

#### **Pemisahan dengan Menggunakan Membran**

Teknologi membran memiliki beberapa keunggulan dibanding dengan proses pemisahan yang lain, sehingga teknologi membran semakin banyak dikembangkan. Keuntungan tersebut antara lain adalah pemisahan dapat dilakukan secara kontinu, konsumsi energi cenderung rendah, dapat dikombinasikan dengan proses pemisahan yang lain, up-scaling mudah,

sifat-sifat dan variabel membran dapat disesuaikan, zat aditif yang digunakan tidak terlalu banyak.

Sedangkan kerugian-kerugiannya adalah terjadinya polarisasi konsentrasi atau membran fouling, umur membran yang relatif rendah. Membran dapat didefinisikan sebagai suatu lapisan semipermeabel yang dapat memisahkan komponen dalam suatu campuran berdasarkan sifat fisik dan atau sifat kimianya, dapat juga didefinisikan sebagai penghalang selektif antara dua fasa, yaitu fasa umpan dan fasa permeat. Proses pemisahan dapat terjadi karena adanya driving force, antara lain: gradien konsentrasi ( $\Delta C$ ), gradien tekanan ( $\Delta P$ ), gradien suhu ( $\Delta T$ ) dan gradien potensial listrik ( $\Delta E$ ).



**Gambar 1.** Skema pemisahan dua fasa oleh membran

Kinerja membran ditentukan oleh dua parameter, yaitu permeabilitas (fluks) dan permselektifitas (efisiensi pemisahan). Fluks yang mengalir didefinisikan sebagai volume yang melewati membran per satuan luas per satuan waktu. Permselektifitas adalah fraksi konsentrasi zat terlarut yang tertahan oleh membran dinyatakan dalam R (rejeksi).

Penelitian tentang membran mulai ada pada pertengahan abad 18. Secara konvensional membran pertama kali dibuat oleh Sartorius dari Jerman setelah perang dunia I, kemudian membran asimetrik untuk proses industri dikembangkan oleh Loeb dan Sourirajan, membran ini terdiri dari lapisan atas yang sangat tipis (tebal  $< 0,5 \mu\text{m}$ ) dan lapisan berpori (tebal  $50 - 200 \mu\text{m}$ ). Lapisan atas berperan sebagai alat transport dan lapisan berpori sebagai lapisan pendukung.

### **Klasifikasi membran**

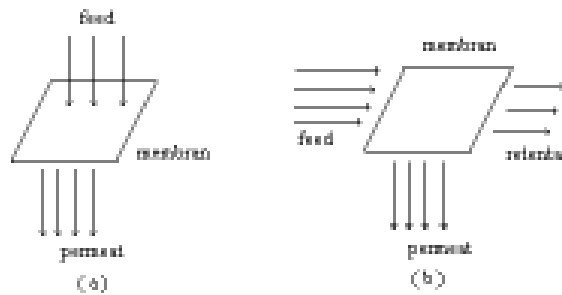
Membran memiliki karakteristik yang beragam, ada yang tebal dan ada yang tipis dengan struktur yang homogen atau heterogen, dapat bersifat aktif dan pasif, dan ada yang bermuatan atau netral. Selain itu membran dapat dibedakan berdasarkan bahan dasar, struktur morfologi dan prinsip pemisahannya. Sebagai contoh membran yang terbuat secara sintesis dari selulosa asetat mempunyai struktur morfologi asimetris. Dari bahan selulosa asetat dapat dibuat membran dengan ukuran mikrofiltrasi ( $0,1-1 \mu\text{m}$ ) atau ultrafiltrasi ( $0,01-0,1 \mu\text{m}$ ).

Salah satu teknik pembuatan membran selulosa asetat dengan morfologi asimetris adalah dengan metode inversi fasa dengan cara presipitasi imersi. Inversi fasa adalah suatu proses perubahan bentuk polimer dari fasa cair menjadi padatan dengan kondisi terkendali. Proses pemadatan ini diawali dengan transisi dari fasa cair ke fasa dua cairan (*liquid-liquid demixing*). Pada tahap tertentu selama proses *demixing* salah satu fasa cair (fasa kaya polimer) akan memadat sehingga terbentuk matriks padat. Membran yang dihasilkan memiliki porositas tinggi dan distribusi porinya sempit/luas. Metode inversi fasa dengan cara presipitasi imersi yaitu mencetak larutan polimer pada suatu penyangga, kemudian

dicelupkan pada bak koagulasi yang mengandung non-pelarut. Presipitasi terjadi karena pertukaran pelarut dengan non-pelarut.

Ada dua macam pola aliran untuk membran mikrofiltrasi:

- \* Sistem batch atau dead-end mikrofiltrasi digunakan untuk konsentrasi rendah
- \* Sistem kontinu dengan cross flow mikrofiltrasi digunakan untuk konsentrasi yang lebih besar



**Gambar 2.** Sel uji Dead-end (a) dan Cross flow (b)

### Transport Massa

Perpindahan molekul atau partikel dari satu fasa (feed) ke fasa (permeat) dapat terjadi karena adanya gaya pendorong (*driving force*). dimana:

$$\text{driving force} = \frac{\Delta X}{\ell} \quad (\text{Mulder, 1991})$$

$\Delta X$  = beda potensial spesies yang melewati membran

$\ell$  = tebal membran

Hubungan antara driving force dengan fluks dinyatakan dengan:

$$\text{flux (J)} = \text{proportionality factor (A)} \times \text{driving force (X)} \quad (\text{Mulder, 1991})$$

Terdapat dua tipe transport massa dalam membran, yaitu secara difusi molekular dan secara konveksi. Nilai fluks untuk difusi pelarut melalui membran adalah:

$$N = A \cdot \Delta P \quad (\text{Mulder, 1991})$$

dimana:

N = fluks massa (kg/s·m<sup>2</sup>)

A = konstanta permeabilitas pelarut (kg solvent/ s·m<sup>2</sup>·atm)

ΔP = perbedaan tekanan (atm)

Proses mikrofiltrasi beroperasi pada tekanan 1 – 3 bar.

Solute yang tertahan oleh membran akan tertumpuk pada permukaan membran sehingga konsentrasi zat terlarut (*solute*) di permukaan membran meningkat (gejala polarisasi konsentrasi), hal ini akan mendorong terjadinya difusi ke arah feed. Dengan meningkatnya pressure drop akan meningkatkan fluks pelarut (*solvent*) yang menuju dan yang melalui membran, perpindahan massa solute secara konveksi ke membran juga akan meningkat sehingga *solute* yang terkandung dalam *solvent* yang melalui membran juga meningkat. Adanya peningkatan konsentrasi *solute* pada permukaan membran ( $C_s$ ) sehingga difusi *solute* dari membran ke larutan juga meningkat. Pada saat steady state fluks konveksi sama dengan fluks difusi.

$$\frac{N \cdot c}{\rho} = -D \cdot \frac{dc}{dx} \quad (\text{Geankoplis, 1997})$$

dimana:

N = fluks massa (kg solvent/s·m<sup>2</sup>)

c = konsentrasi *solute* (kg solute/m<sup>3</sup>)

D = difusifitas *solute* di dalam *solvent* (m<sup>2</sup>/s)

x = jarak (m)

Persamaan di atas diintegrasikan pada batas:  $x = 0, c = c_s$  dan  $x = \delta, c = c_1$ , menjadi;

$$\frac{N \cdot c}{\rho} = -D \cdot \frac{dc}{dx} \quad (\text{Geankoplis, 1997})$$

dimana :

- $k$  = koefisien perpindahan massa (m/s)
- $c_s$  = konsentrasi *solute* pada permukaan membran (kg *solute*/m<sup>3</sup>)
- $c_1$  = konsentrasi *solute* pada feed (kg *solute*/m<sup>3</sup>)

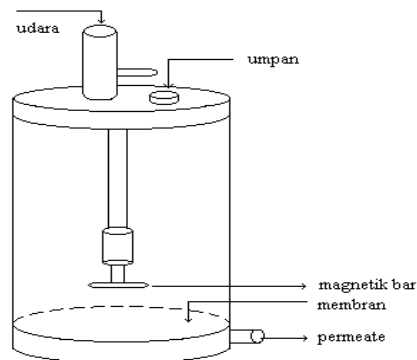
## METODE DAN BAHAN PENELITIAN

### Metode Penelitian :

Penelitian ini meliputi lima tahap kerja antara lain :

1. Pembuatan membran
2. Pembuatan larutan media dan pembiakan bakteri
3. Standarisasi larutan media bakteri
4. Karakterisasi membran
5. Optimasi membran dengan melakukan modifikasi ukuran pori membran

### Gambar Alat



**Gambar 3.** Alat pengujian membran (Dead End)



## **1. Pembuatan Membran**

Untuk membran selulosa asetat:

- Aseton dan formamida dengan berat tertentu dimasukkan dalam erlenmeyer bertutup dilengkapi dengan pengaduk.
- Selulosa asetat ditambahkan secara sedikit-sedikit sambil tetap diaduk selama 24 jam. Untuk menghilangkan gelembung larutan didiamkan selama 24 jam lagi.
- Proses pencetakan di atas kaca datar dan larutan dope diratakan dengan stainless steel silinder.
- Setelah proses pencetakan dengan segera dimasukkan ke dalam bak koagulan yang berisi air.
- Lapisan film yang terbentuk dicuci dengan menggunakan air, membran dalam keadaan basah.

## **2. Pembuatan Larutan Media dan Pemiakan Bakteri**

- Dibuat larutan media nutrient broth yaitu 8 gram nutrient broth dalam 1000 ml air, larutan tersebut dipanaskan sampai semua nutrient broth larut.
- Sterilisasi larutan media tersebut dengan menggunakan autoclave dengan suhu 121°C, 1.71 atm selama setengah jam, setelah itu larutan dibiarkan mendingin pada suhu kamar agar bakteri ditumbuhkan di dalamnya.
- Bakteri yang akan digunakan dalam percobaan adalah bakteri E-Coli. Sedikit bakteri dimasukkan ke dalam larutan media yang telah dibuat, setelah masa inkubasi  $\pm$  2 hari, bakteri tersebut akan berkembang biak.

### **3. Standarisasi Larutan Media Bakteri**

- Untuk standarisasi, digunakan membran selulosa nitrat yang dipasang pada dead end, dilengkapi dengan seal.
- Larutan media nutrient broth yang telah ditumbuhi bakteri, diambil sebanyak 20 ml. Diukur absorbansinya. Kemudian dimasukkan kedalam dead end tersebut dan umpan disaring sampai habis.
- Membran yang telah terisi bakteri tersebut dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 104°C. Kemudian membran ditimbang pada selang waktu tertentu sampai beratnya tidak berubah lagi.
- Larutan media dengan bakteri tersebut diencerkan 50% bagiannya untuk sampel berikutnya.
- Sebelum dimasukkan kedalam dead end yang telah dilengkapi dengan membran selulosa nitrat, larutan diukur absorbansinya.
- Kemudian dilakukan hal yang sama seperti sampel pertama.
- Demikian diulang sampai mendapatkan enam harga sampel terukur.

### **4. Karakterisasi membran (penentuan Rejeksi dan Fluks)**

- Membran yang akan diuji dipotong dengan bentuk lingkaran, seukuran diameter alat pengujian (dead end)
- Membran diletakkan dibagian bawah alat pengujian yang dilengkapi dengan penyaring pada bagian bawah membran dan seal sebagai penahan membran.
- Alat pengujian ditutup dengan rapat, lalu larutan media yang akan disterilisasi yang mengandung bakteri E-Coli dimasukkan dengan

jumlah tertentu ke dalam dead end sampai penuh lalu ditutup rapat-rapat.

- Tekanan sebesar 1 bar dialirkan ke dalam dead end.
- Hasil saringan akan keluar melalui saluran pada bagian bawah alat lalu dilakukan pengukuran volume (untuk menghitung fluks) dan waktu, permeat yang dihasilkan dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer .
- Dari data yang telah diperoleh dihitung fluks dan rejeksi untuk membran tersebut.

#### **Pengukuran Konsentrasi dengan Spektrofotometer**

- Larutan blanko dibuat dengan cara yaitu larutan media (nutrient broth) yang disterilkan. Larutan blanko ini harus mempunyai absorbansi yang berharga nol pada panjang gelombang maksimum.
- Sampel diukur sebelum dan setelah dead-end, dari nilai absorbansi yang diperoleh dapat diketahui berat bakteri dalam sampel dengan kurva standar yang dibuat dengan membran standart (buatan pabrik).

#### **5. Optimasi membran dengan melakukan modifikasi ukuran pori membran (melakukan variasi terhadap komposisi membran)**

Kondisi optimum yang dicari pada percobaan ini didasarkan pada nilai rejeksi dan fluks yang dihasilkan dari penyaringan membran. Titik optimum ini titik dimana nilai rejeksi dari membran yang tinggi, diimbangi dengan nilai fluks yang tinggi.

Pada pembuatan membran selulosa asetat pada percobaan ini, berat aseton sebagai pelarut dibuat tetap yaitu 50 % massa, sedangkan berat selulosa asetat divariasikan (formamida mengikuti perubahan tersebut).

**Bahan Penelitian :**

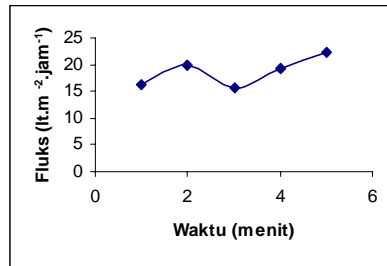
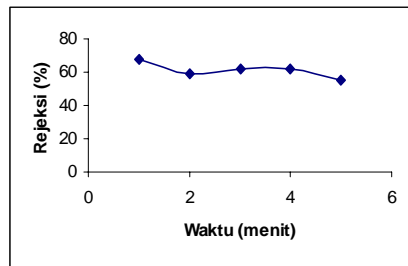
- Untuk pembuatan membran selulosa asetat : Selulosa Asetat , Aseton, Formamida
- Untuk pembuatan media bakteri : Nutrient broth, Aquadest, Bakteri E-Coli

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil Percobaan :

**Tabel 1.** Rejeksi dan Fluks untuk variasi komposisi selulosa asetat

Komposisi selulosa asetat (%)	Berat bakteri awal (gram)	Berat bakteri yang tersaring (gram)	Rejeksi (%)	Fluks (lt.m <sup>-2</sup> .jam <sup>-1</sup> )
13	0,0091	0,0049	54,17	15,75
14	0,0105	0,0061	58,29	12,04
15	0,0093	0,0055	58,77	7,12
16	0,0102	0,0064	62,94	3,55



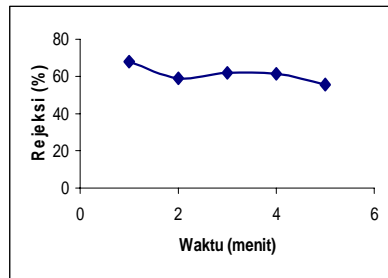
**Gambar 4. 1.** Rejeksi vs Komposisi selulosa asetat

**Gambar 4.2.** Fluks vs komposisi selulosa asetat

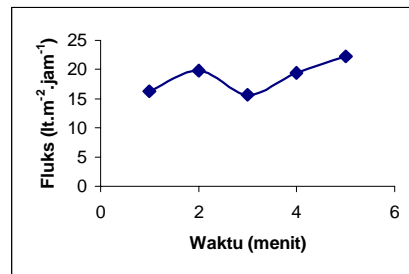
**Tabel 2.** Rejeksi dan Fluks pada Berbagai Waktu Penguapan

Waktu Penguapan (menit)	Absorbansi awal	Absorbansi akhir	Rejeksi (%)	Fluks ( $\text{lt}/\text{m}^2 \cdot \text{jam}^{-1}$ )
1	1,202	0,002	67,85	16,25
2	0,667	-0,061	59,00	19,79
3	0,918	0,000	61,82	15,66
4	0,897	-0,001	61,50	19,40
5	0,712	0,002	55,48	22,28

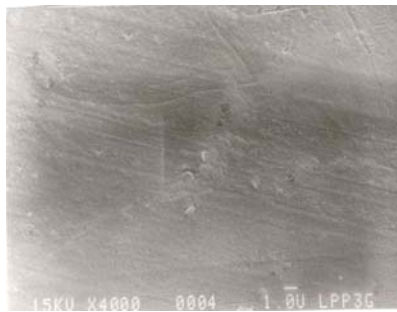
**Gambar 5.1.** Rejeksi vs Waktu Penguapan



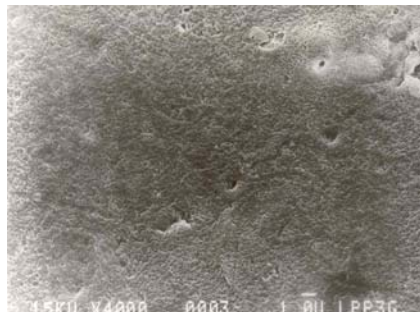
**Gambar 5.2.** Nilai Fluks vs Waktu Penguapan



Hasil pengamatan struktur atau morfologi membran dengan Scanning Electron Microscopy (SEM)



**Gambar 6.** Permukaan atas membran selulosa asetat



**Gambar 7.** Permukaan bawah membran selulosa asetat

## PEMBAHASAN

Dari tabel 1. dan gambar 4.1. hubungan antara rejeksi dan komposisi selulosa asetat terlihat bahwa makin tinggi komposisi selulosa asetat ternyata rejeksi makin tinggi. Hal ini dapat diterangkan bahwa membran adalah lapisan tipis yang berpori. Pori-pori membran dibentuk oleh adanya matrik polimer penyusun membran, sehingga makin banyak polimer (selulosa asetat) maka matrik polimer makin rapat sehingga menghasilkan pori-pori yang lebih kecil, kalau pori-pori makin kecil maka koefisien rejeksi makin besar. Nilai rejeksi mencapai 62,94 % pada komposisi selulosa asetat 16 %.

Hubungan fluks dan komposisi selulosa asetat terlihat pada tabel 1. dan gambar 4.2., makin tinggi selulosa asetat fluksnya makin turun. Hal ini dapat dijelaskan seperti di atas makin tinggi selulosa asetat ukuran pori makin kecil dan fluks juga makin kecil. Hubungan antara rejeksi dan fluks berkebalikan, makin tinggi rejeksi, fluks makin turun dan sebaliknya.

Optimasi lama proses penguapan mendapatkan nilai rejeksi tertinggi sebesar 67,83 % pada penguapan selama 1 menit. Semakin lama proses penguapan kecenderungan nilai rejeksi turun (gambar 5.1) dan membran terlihat lebih transparan, sedangkan nilai fluksnya terbesar pada proses penguapan 5 menit yaitu sebesar 22,28  $\text{lt.m}^{-2}.\text{jam}^{-1}$  (gambar 5.2).

Pemberian waktu kontak dengan udara (proses penguapan) bertujuan untuk mengontrol laju difusi pelarut pada proses inversi fasa, dimana larutan cetak yang cair berubah menjadi membran padat. Pada proses koagulasi yang cepat dimana larutan cetak langsung dimasukkan ke dalam koagulan maka polimer kurang sempurna dalam mengorientasi diri sehingga pori yang terbentuk kasar dan agak besar sehingga rejeksi rendah. Pemberian waktu penguapan 1 menit ternyata mampu menaikkan rejeksi dari 62,94 % menjadi 67,83 %.

Ditinjau dari fluksnya makin lama kontak dengan udara makin besar nilai fluksnya tetapi ini bukan berarti membran makin baik karena rejeksi makin turun dan membran menjadi lebih lunak sehingga mudah sobek karena tekanan.

Gambar 6. memperlihatkan permukaan atas membran selulosa asetat, terlihat halus. Sedangkan gambar 7. permukaan bawah membran selulosa asetat yang terlihat lebih kasar. Hal ini menunjukkan bahwa bagian atas membran mempunyai pori-pori yang kecil sedangkan bagian bawah membran pori-porinya lebih besar. Pengamatan secara langsung membran bagian atas mengkilap sedangkan bagian bawah buram.

## KESIMPULAN DAN SARAN

1. Komposisi dari larutan cetak berpengaruh pada nilai fluks dan nilai rejeksi. Makin tinggi komposisi selulosa asetat, rejeksi makin naik dan fluks main turun.
2. Proses gelasi (pemberian waktu untuk penguapan pelarut) dapat meningkatkan rejeksi dari 62,94 % menjadi 67,83% pada waktu gelasi 1 menit.
3. Kondisi optimum dari membran selulosa asetat yang dihasilkan adalah: komposisi selulosa asetat 16 %, formamid 34% dan aseton 50%. Membran ini mempunyai nilai rejeksi sebesar 67,83 % dan fluks sebesar 16,25 lt.m<sup>-2</sup>.jam<sup>-1</sup>.
4. Membran selulosa asetat dapat digunakan untuk sterilisasi media dari bakteri tetapi efisiensi pemisahan masih perlu ditingkatkan. Peningkatan efisiensi pemisahan bakteri dapat dilakukan dengan mempelajari pengaruh faktor –faktor lain pada proses pembuatan membran misalnya temperatur bak pengendap (koagulan). Untuk mengetahui jumlah bakteri yang tertahan dalam membran dapat digunakan metoda analisa *total plate count*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiarso, A. 1999. *Modifikasi Struktur dan Pori Membran yang Sesuai untuk Transport Massa Pada Proses Membran Hemodialisis*. IPD.
- Brock D.T; Madigan M.T., Martiko J.M., Parker. 1994. *Biology of Microorganism*”, 7<sup>th</sup> ed., page 122. New Jersey : Prentice Hall International, Inx.
- Bukhorest H., Altena F.W., Smolder C.A. 1981. *Formation of Asymmetric Cellulose Acetate Membrane*. Desalination, 38.



- Bungay P.M, Lonsdale H.K., De Pingo M.N. 1986. *Synthetic Membrane : Sciduce, Engineering and Applications*. Holland : Riedel Pib. Comp.
- Cahn, R.W.P. Haasen, E.J. Kamer. 1989. *Material Science and Technology a Compregensive Treatment : Structure and Properties of Polymer*, volume 12. Weinheim VCH.
- Christien J. Geankoplis. 1993. *Transport Processes and Unit Operation*. 3<sup>th</sup> ed. Prentice Hall.
- Kesting, Robert E. 1970. *Synthetic Polymeric Membranes*. New York : Mc. Graw Hill Book Company.
- Meares P. 1976. *Membrane Separation Process*. New York : Elsevier Scientific Pub.Co.
- Mulder N. 1991. *Basic Principles of Membrane Technology*. London : Kliwer Academy Pub.
- Rautenbach R. Albert R. 1989. *Membrane Process*. (Translated by Valarie Cotel). Chicester : John Willey and Sons.