

UNIVERSIDAD DE GRANADA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA



**ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES PROTEÍNA-MEMBRANA EN
LOS PROCESOS DE FILTRACIÓN TANGENCIAL**

TESIS DOCTORAL

Emilio José de la Casa García

2006



UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA
18071 - GRANADA

ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES PROTEÍNA-MEMBRANA EN LOS PROCESOS DE FILTRACIÓN TANGENCIAL

Memoria que presenta el Ingeniero Químico Emilio José de la Casa García para aspirar al Grado de Doctor por la Universidad de Granada.

Granada, 14 de septiembre de 2006

Fdo: Emilio José de la Casa García

ENCARNACIÓN JURADO ALAMEDA, Catedrática de Ingeniería Química y Directora del Departamento del mismo nombre,

CERTIFICA: Que el presente trabajo sobre "Estudio de las interacciones proteína-membrana en los procesos de filtración tangencial" ha sido realizado en los laboratorios de este Departamento bajo la dirección del Dr. D. Fernando Camacho Rubio, Dra. D^a Emilia María Guadix Escobar y del Dr. D. Antonio María Guadix Escobar por el Ingeniero Químico Emilio José de la Casa García para aspirar al grado de Doctor por la Universidad de Granada.



Fdo: Encarnación Jurado Alameda

Los Directores de la Tesis

Fdo: Fernando Camacho Rubio
Catedrático de Ingeniería Química

Fdo: Emilia M. Guadix Escobar
Profesora Titular de Ingeniería Química

Fdo: Antonio María Guadix Escobar
Profesor Ayudante Doctor de Ingeniería Química

El autor expresa su agradecimiento:

- A los doctores Fernando Camacho, Emilia M^a Guadix y Antonio M^a Guadix por su dirección y ayuda.
- Al Ministerio de Educación y Ciencia por la concesión de una Beca del Subprograma de Formación de Profesorado Universitario.
- A los miembros del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Granada por su ayuda desinteresada.
- A su familia y amigos por su apoyo y ánimo constante, y en especial.
- A su mujer por su cariño y estímulo, sin la que este texto no habría sido posible.

A la memoria de mis padres

*"Non nobis, Domine, non nobis,
sed nomini tuo da gloriam"*

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	5
2.1. SEPARACIÓN CON MEMBRANAS	7
2.1.1. Procesos	8
2.1.2. Estructura	11
2.1.2.1. Morfología	11
2.1.2.2. Material	13
2.1.3. Configuraciones	16
2.2. COLMATACIÓN Y LIMPIEZA	24
2.2.1. Colmatación o “fouling”	24
2.2.1.1. Factores de colmatación	25
2.2.1.2. Mejora del flujo	28
2.2.2. Limpieza	30
2.2.2.1. Limpieza física	31
2.2.2.2. Limpieza química	32
2.2.2.3. Desinfección y esterilización	35
2.3. SEPARACIÓN DE PROTEÍNAS	36
2.3.1. Filtración tangencial	38

2.3.2. Filtración tangencial de alta resolución	39
3. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	43
3.1. FILTRACIÓN DE PROTEÍNAS INDIVIDUALES	45
3.2. FRACCIONAMIENTO DE PROTEÍNAS	59
3.3. MODELOS DE FLUJO	64
3.3.1. Modelo hidrodinámico	64
3.3.2. Modelo de capa de polarización.....	69
3.3.3. Modelo de resistencias en serie.....	75
3.3.4. Modelo de presión osmótica	77
3.3.5. Modelos de colmatación (fouling).....	78
4. OBJETIVO.....	87
5. MATERIALES Y MÉTODOS	91
5.1. PROTEÍNA MODELO.....	93
5.1.1. Estructura.....	93
5.1.2. Carga superficial	95
5.1.3. Efectos del pH.....	95
5.1.4. Efecto de la temperatura	97
5.2. MÓDULO DE FILTRACIÓN.....	97
5.3. DISPOSITIVO EXPERIMENTAL	98

5.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	99
5.4.1. Determinación del punto de carga cero de la membrana.....	99
5.4.2. Determinación de la influencia del pH y de la fuerza iónica.....	101
5.5. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA.....	102
5.6. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.....	102
6. RESULTADOS EXPERIMENTALES	105
7. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	127
7.1. CARACTERÍSTICAS DEL MÓDULO DE FILTRACIÓN	129
7.1.1. Circulación por la cámara de retenido.....	129
7.1.2. Estimación del coeficiente de transferencia de materia: superficie-retenido	132
7.1.3. Circulación a través de la membrana.....	134
7.1.4. Determinación del punto de carga cero.....	139
7.2. EVOLUCIÓN DEL CAUDAL DE FILTRADO CON EL TIEMPO.....	140
7.2.1. Análisis de la influencia del pH sobre el caudal de filtrado.....	155
7.2.2. Análisis de la influencia de la fuerza iónica sobre el caudal de filtrado	161
7.3. TRANSPORTE DE SOLUTO A TRAVÉS DE LA MEMBRANA.....	163
7.4. ADSORCIÓN DE SOLUTO EN LA MEMBRANA	174
7.5. POLARIZACIÓN DE CONCENTRACIÓN Y COEFICIENTE DE PARTICIÓN.....	181
8. CONCLUSIONES	187

Índice

9. NOMENCLATURA	195
10. BIBLIOGRAFÍA	211

1. RESUMEN

El desarrollo de procesos efectivos para la purificación y el fraccionamiento de proteínas es de gran interés científico e industrial. Hasta el momento, las técnicas utilizadas en laboratorio (intercambio iónico, cromatografía por afinidad o precipitación selectiva) no han resultado viables para su implantación a escala industrial por su difícil escalado, alto coste y bajo rendimiento.

En 1997 surge la filtración tangencial de alta resolución (HPTFF). Esta técnica de separación con membranas, utiliza estrategias como una adecuada selección del pH y de la fuerza iónica de la disolución, para maximizar las diferencias en el volumen hidrodinámico de especies cargadas y minimizar las interacciones electrostáticas soluto-membrana. Los estudios realizados en este campo están poniendo de manifiesto la capacidad de esta técnica y su potencial aplicabilidad a la purificación y el fraccionamiento de proteínas a gran escala.

Así, el objetivo propuesto en esta Tesis Doctoral fue el estudio de la influencia del ambiente químico en las interacciones proteína-membrana en el proceso de filtración tangencial. Para ello se eligió una proteína modelo, seroalbúmina bovina (BSA), y se utilizaron membranas cerámicas por su mayor resistencia mecánica y química. Se procedió a caracterizar el flujo en la cámara de retenido y a través de la membrana, y se analizó el efecto del pH y fuerza iónica en la evolución del caudal de filtrado y transmisión de proteína.

Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto la importancia del pH y la fuerza iónica en el comportamiento del sistema. En la evolución del caudal de filtrado se han observado siempre dos etapas: un proceso rápido, que transcurre en los primeros minutos, de caída brusca y muy importante del caudal, al menos el 50%, debido al taponamiento de los poros de la membrana o a la formación de torta. Esta etapa inicial continúa con una disminución progresiva y más lenta del caudal, debida a la reducción del diámetro de los poros por deposición interna. Para la interpretación de los resultados se ha desarrollado un modelo de dos parámetros, α (fracción de caudal que circula por poros bloqueables) y k_2 (parámetro cinético de deposición interna). Los valores de α y k_2 se han discutido en función del pH y de la I . A $\text{pH} = 4.9$ (pI de la proteína) e $I = 0$, la reducción de caudal es máxima. Por otro lado, la transmisión de soluto es importante fundamentalmente a este pH. En el pI de la proteína las moléculas de BSA tienen el menor volumen hidrodinámico y densidad de carga nula, y por tanto se minimizan las interacciones

electroestáticas proteína-membrana. Sin embargo, la mayor concentración de moléculas en el interior del poro y su neutralidad potencian fenómenos de agregación, que son los responsables a los 20-25 min del proceso de la caída del caudal y de la transmisión. En este sentido, la presencia de iones evita la formación de estos agregados y contribuye a la estabilización del caudal y del transporte de la proteína.

2. INTRODUCCIÓN

Desde su aparición en los años 60, los procesos de separación con membranas han experimentado un importante desarrollo, encontrando cada vez mayor aplicabilidad como alternativa a las técnicas de concentración, separación y clarificación convencionales. La ventaja principal de la tecnología de membranas reside en la no existencia de cambio de fase, así como en las condiciones moderadas de temperatura y por tanto, bajo consumo energético.

2.1. SEPARACIÓN CON MEMBRANAS

Una membrana puede definirse, en esencia, como una barrera que separa dos fases, restringiendo el transporte de varias sustancias de manera selectiva.

Un sistema de filtración por membranas separa una corriente de entrada en dos efluentes, conocidos como retenido y filtrado (o permeado). El filtrado es la porción del fluido que pasa a través de la membrana semi-permeable. Por su parte el retenido contiene los constituyentes que son rechazados por la membrana (Figura 2.1). El transporte a través de la membrana puede efectuarse por convección o por difusión de moléculas individuales, siendo inducido por un campo eléctrico o un gradiente de concentración, presión o temperatura.

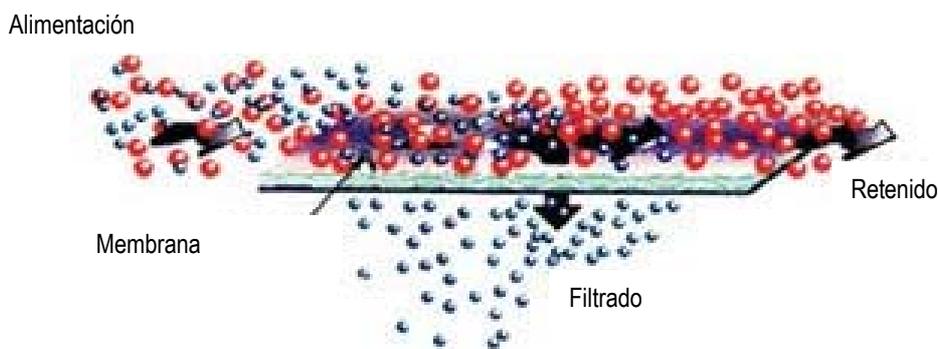


Figura 2.1 Filtración por membranas

En la Tabla 2.1 se enumeran los distintos procesos de separación con membranas en función de la fuerza impulsora (Mulder, 1991):

Tabla 2.1 Clasificación de los procesos de membrana

Fuerza impulsora	Gradiente de presión	Gradiente de concentración (actividad)	Gradiente de temperatura	Gradiente de potencial eléctrico
Proceso de membrana	Microfiltración Ultrafiltración Nanofiltración Ósmosis inversa	Pervaporación Separación gaseosa Diálisis Membranas líquidas	Termo-ósmosis Destilación por membranas	Electrodialisis Electroósmosis

De entre ellos destacan los procesos basados en la presión como fuerza impulsora, los cuales se detallan en la Figura 2.2:

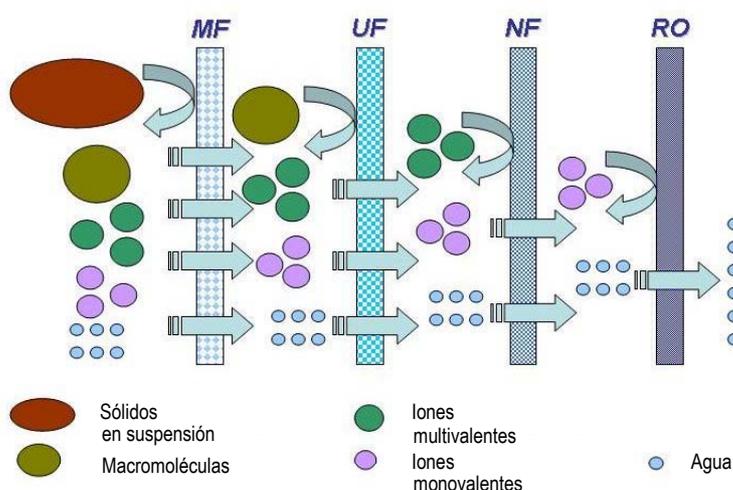


Figura 2.2 Procesos de membrana por gradiente de presión

2.1.1. Procesos

Microfiltración

Es con mucho el proceso más extendido, por encima del resto de procesos de membrana. Se utiliza para separar partículas en el rango de 0.1 a 10 μm , utilizando para ello presiones entre 0.5 y 3 bar. Este proceso permite retener materiales de tamaño coloidal y aún mayores, tales como los microorganismos, siendo el proceso más parecido a la filtración convencional.

Las membranas empleadas pueden fabricarse a partir de polímeros naturales o sintéticos, tales como nitrato de celulosa o acetato, PVDF, poliamida, polisulfona, policarbonato, polipropileno, PTFE, etc. También suelen utilizarse materiales inorgánicos, como los óxidos metálicos

(alúmina). Los criterios utilizados para la selección de materiales son la fuerza mecánica, la temperatura máxima de resistencia, la compatibilidad química, su carácter hidrófilo o hidrófobo, la permeabilidad y el coste del material.

Entre sus aplicaciones se encuentran: eliminación de metales pesados en la industria de tratamiento de superficies, separación de disolventes en pinturas, obtención de agua purificada para la industria (nuclear, electrónica), así como esterilización y eliminación de partículas en la industria farmacéutica (clarificación de antibióticos) y agroalimentaria (vino, cerveza, zumos).

Ultrafiltración

Este proceso se emplea para retener especies comprendidas en el rango de 300 a 500.000 Da de peso molecular, con poros que van de los 0.001 a los 0.1 μm , aunque se suelen describir por su tamaño de corte molecular (1000-100.000 Da). Las presiones usadas están comprendidas entre los 2 y los 10 bar, llegando en algunos casos a 25-30 bar. Normalmente la ultrafiltración se emplea en la separación, clarificación o fraccionamiento de macromoléculas tales como las proteínas.

Las membranas utilizadas están hechas de materiales poliméricos (polisulfona, polipropileno, nylon 6, PTFE, PVC, etc.) o inorgánicos (cerámica).

La ultrafiltración es utilizada en múltiples procesos como son: tratamiento de efluentes (industria papelera, aguas residuales urbanas), obtención de agua ultrapura para la industria farmacéutica y de semiconductores, recuperación de pintura en la industria automovilística y de electrodomésticos, recuperación de colorantes en la industria textil, obtención de proteínas en la industria láctea y clarificación de zumos.

Nanofiltración

Es un proceso intermedio entre la ultrafiltración y la ósmosis inversa en el que se retienen moléculas orgánicas de bajo peso molecular (entre 200 y 1000 Da), así como iones multivalentes (calcio), mediante presiones entre 5 y 30 bar. Los iones pueden separarse basándose en sus

características de difusión y carga. La separación se halla gobernada por fenómenos de transferencia de materia, consistentes en difusión y flujo a través de los poros.

Utiliza membranas de estructura compuesta (composite), muy similares a las usadas en ósmosis inversa, que suelen ser de acetato de celulosa y de poliamidas aromáticas.

Se utiliza sobre todo para la eliminación de pequeñas partículas, tales como los colorantes en el procesado de pulpa de madera, en el tratamiento de aguas residuales de la industria alimentaria (aceites, suero del queso) o de vertidos al litoral (eliminación de sulfatos en el agua de mar) y en la eliminación de sustancias orgánicas peligrosas (tricloroetano, tetracloroetano, clorofenol, diclorofenol y triclorofenol) de diferentes procesos.

Ósmosis inversa

Este proceso se emplea para retener moléculas de muy bajo peso molecular tales como las sales, siendo su mecanismo fundamental la difusión. Las membranas utilizadas son las de menor tamaño de poro, con diámetros que van de los 0.5 a los 1.5 nm, llegando a aplicar presiones del orden de 10 a 50 bar. Este tamaño tan extremadamente pequeño permite que sólo las más pequeñas moléculas orgánicas y los solutos sin carga pasen por ellas junto con el agua. Más de un 95-99 % de las sales inorgánicas y compuestos orgánicos cargados son rechazados, debido a repulsión electrostática con la superficie de la membrana.

Estas membranas tienen una resistencia muy alta, con lo que el flujo es bastante menor que en el resto de procesos. Casi todas las membranas de ósmosis inversa están fabricadas con polímeros (acetato de celulosa y poliamidas). Suelen ser de dos tipos: asimétricas o de tipo composite. El material de soporte es normalmente polisulfona.

Su principal campo de aplicación es la desalinización de agua de mar. No obstante, otras aplicaciones importantes son: potabilización de agua, producción de agua ultrapura para la industria (alimentación, centrales eléctricas, electrónica), tratamiento de aguas (industria papelera, galvanotecnia, fotografía, residuales urbanas), recuperación de productos valiosos en fotografía (cianuro férrico y ferroso), estabilización del vino y eliminación de sus tartratos, obtención de aromas y sabores a partir de zumos de frutas (normalmente alcoholes C₂-C₆,

ésteres C₄-C₈ y aldehídos C₂-C₆), así como reducción del contenido en alcohol en bebidas (cerveza).

2.1.2. Estructura

Las membranas pueden clasificarse basándose en su morfología o al material del que están hechas.

2.1.2.1. Morfología

Atendiendo a la morfología se distingue entre membranas microporosas y asimétricas (Figura 2.3):

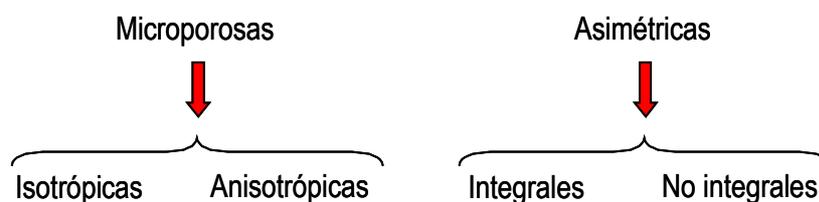


Figura 2.3 Morfología de las membranas.

a) Membranas microporosas

Estas membranas pueden ser isotrópicas (con poros de tamaño uniforme a lo largo del cuerpo de la membrana) o anisotrópicas (donde los poros cambian de tamaño de una superficie de la membrana a la otra). Están diseñadas para retener todas las partículas por encima de un tamaño determinado, aunque con frecuencia los poros son mucho mayores que las partículas que retienen. De este modo, las partículas que son del mismo tamaño que los poros penetran parcialmente en los poros y los bloquean (Figura 2.4). Esto provoca una rápida caída del flujo a los pocos minutos de operación, con lo que si un número suficiente de poros se bloquean la membrana puede llegar a taponarse.

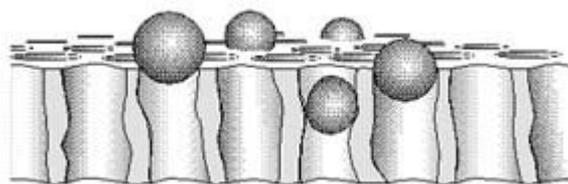


Figura 2.4 Estructura de una membrana microporosa

b) Membranas asimétricas

Las membranas asimétricas están formadas por una fina película superficial (de 0.1 a 0.5 μm), la cual se soporta sobre una sub-capa porosa con un espesor de entre 50-150 μm (Figura 2.5). La retención ocurre sólo en la superficie, con lo que las partículas retenidas no entran en el cuerpo principal de la membrana (taponándose raramente), si bien el flujo de filtrado se reduce por la colmatación ("fouling") y la concentración de polarización. La mayoría de membranas de ultrafiltración, nanofiltración y ósmosis inversa son de este tipo. El método usado en la preparación de la membrana determina si la película es porosa o no. Si se hace por inversión de fases es porosa y se denomina "integralmente revestida". Si por el contrario la película se deposita desde una solución o plasma sobre un soporte poroso es probablemente homogénea, denominándose "integralmente no revestida".

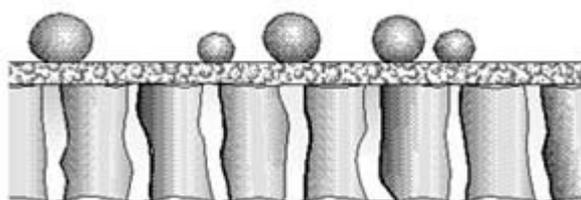


Figura 2.5 Estructura de una membrana asimétrica

Las membranas asimétricas combinan la selectividad de una membrana densa con el alto índice de permeabilidad de una membrana delgada, puesto que la resistencia a la transferencia de materia está determinada fundamentalmente por esta película. Un tipo especial de membranas asimétricas son las compuestas, desarrolladas con el fin de aumentar la permeabilidad de las membranas mediante una disminución del espesor de la capa activa. En su elaboración se deposita una delgada película semipermeable, de 10 a 100 nm, sobre un soporte poroso. Entre

el soporte y la capa activa se sitúa una capa mesoporosa que hace de unión entre capas y da estabilidad al conjunto. El soporte macroporoso y la capa activa están formados por materiales diferentes, de ahí el nombre de compuestas.

Una diferencia importante entre las membranas asimétricas y las microporosas es el límite de retención. Mientras en las microporosas está establecido en términos del diámetro del máximo poro equivalente (reteniendo por tanto partículas mayores, hasta determinados límites de concentración en la alimentación), en las asimétricas hace referencia al tamaño molecular por encima del cual se retiene un determinado porcentaje del soluto en la solución de entrada.

2.1.2.2. Material

Las membranas pueden ser de naturaleza orgánica o inorgánica. En la Tabla 2.2 (Cheryan, 1998) se enumeran algunos materiales utilizados en su fabricación.

Tabla 2.2 Materiales usados en la fabricación de membranas

Material	MF	UF	RO
Alúmina	×		
Composite carbón-carbón	×		
Ésteres de celulosa	×		
Nitrato de celulosa	×		
Poliamida alifática (e.j. nylon)	×		
Policarbonato	×		
Poliéster	×		
Polipropileno	×		
Politetrafluoretileno (PTFE)	×		
Cloruro de polivinilo (PVC)	×		
Fluoruro de polivinilo (PVDF)	×		
Acero inoxidable sinterizado	×		
Celulosa (regenerada)	×	×	
Composite cerámico (zirconio sobre alúmina)	×	×	
Poliacrilonitrilo (PAN)	×	×	
Alcohol polivinílico (PVA)	×	×	
Polisulfona (PS)	×	×	
Polietersulfona (PES)	×	×	
Acetato de celulosa (CA)	×	×	×
Triacetato de celulosa (CTA)	×	×	×
Poliamida aromática (PA)	×	×	×
Poliimida (PI)		×	×
Mezclas CA/CTA			×
Composites (e.j. ácido poliacrílico sobre zirconio o acero inoxidable)			×
Composites, capa polimérica fina (e.j. PA sobre poliéterurea o acero inoxidable)			×
Polibencimidazol (PBI)			×
Poliéterimida (PEI)			×

a) Membranas orgánicas

Reciben este nombre todas aquellas membranas cuya capa activa está fabricada a partir de un polímero o copolímero orgánico. Se estima que se utilizan más de 130 materiales poliméricos en la manufactura de membranas, aunque sólo unos pocos son de aplicación comercial (la cantidad es menor en la industria alimentaria y farmacéutica). Estas membranas están muy desarrolladas y son competitivas por sus propiedades de separación y aceptables costes. Pueden ser hidrófilas, si están hechas de materiales altamente polares con alta afinidad por el agua (ésteres celulósicos, poliamidas alifáticas...), o hidrófobas, si se componen de materiales apolares con baja afinidad por el agua (polietileno, polipropileno...). Los materiales más empleados son:

- Acetato de celulosa. Es el material clásico usado por los primeros pioneros en la tecnología de membranas. La materia prima es celulosa, cuya fuente tradicional es la pulpa de madera o el algodón. El acetato se obtiene de la celulosa mediante acetilación. Su estructura es hidrófila y posee un gran rango de tamaños de poro (de la ósmosis inversa a la microfiltración), siendo fácil de fabricar y con un bajo coste. Sin embargo su rango de temperatura es bajo (hasta 30 °C), al igual que el de pH (3-6). Presenta poca resistencia al cloro, puede compactarse y es altamente biodegradable.
- Poliamida. Posee un enlace amida en su estructura. Supera algunos de los problemas anteriores (como la tolerancia de pH) pero es aún más sensible a la presencia de cloro.
- Polisulfona. De fácil manufactura, con una estructura difenilsulfona que se repite. Se utiliza en micro y ultrafiltración, con un rango de tamaño de 10 Å a 0.2 µm. Trabaja en un amplio rango de temperaturas (hasta 75-125 °C) y de pH (1-13). Presenta buena resistencia al cloro, hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos halogenados, alcoholes y ácidos (aunque no a hidrocarburos aromáticos, cetonas, éteres y ésteres). Por el contrario, entre sus desventajas están los bajos límites de presión (7 bar para configuración plana y 1.7 para hollow fiber) y su hidrofobicidad.

También son comunes el nylon, el polifluoruro de vinilideno (PVDF), el politetrafluoretileno (PTFE), el polipropileno (PP) y la celulosa regenerada (RC). Se fabrican por polimerización

interfacial (membranas de nanofiltración y ósmosis inversa) y por separación o inversión de fases (membranas de microfiltración y ultrafiltración).

b) Membranas inorgánicas:

Su aparición en los años 80 constituyó el mayor avance en la tecnología de membranas, abriendo nuevos campos de aplicación impensables anteriormente para las poliméricas. Son membranas de sinterización y se clasifican en cuatro grandes grupos:

- Cerámicas. Han sido hasta ahora las más investigadas. El material cerámico más utilizado para la fabricación de membranas ha sido la alúmina (Al_2O_3). Partiendo de un compuesto orgánico de aluminio, controlando la formación del gel y variando las condiciones de precipitación y calcinación, se modifica el tamaño de los poros de la membrana.
- Vidrios. A partir de proporciones adecuadas de cuarzo, ácido bórico y carbonato cálcico, a las que se añade óxido bórico, cálcico y alúmina, para aumentar su resistencia a álcalis, se obtiene una mezcla de dos fases, una de vidrio de silicio casi pura y otra de ácido bórico, rica en borato sódico. Tratando este vidrio con ácido se disuelve la fase rica en borato, quedando un vidrio con estructura porosa.
- Fosfacenos. Las membranas fabricadas con este polímero pueden soportar temperaturas de hasta 250 °C en presencia de disolventes o ácidos y bases fuertes.
- Carbonos. Estas membranas son de estructura compuesta. El lecho de soporte suele ser carbono sinterizado y la capa filtrante la constituyen óxidos metálicos a base de zirconio (ZrO_2). Estas membranas soportan valores extremos de pH y altas temperaturas.

En general las membranas inorgánicas poseen múltiples ventajas, por lo que su empleo es muy generalizado. En primer lugar, son muy inertes a los agentes químicos y a los disolventes más comunes (excepto al ácido fluorhídrico y al ácido fosfórico). Presentan también una alta tolerancia al cloro, agente de limpieza muy efectivo junto al pH básico. Trabajan en un amplio

margen de temperaturas (hasta los 350 °C), con lo que pueden utilizarse para esterilización. A su vez pueden operar a valores de pH entre 0.5 y 13, pudiendo llegar incluso a 0-14. Toleran frecuentes limpiezas (incluidas las de tipo invertido o “backflushing”) aunque sean agresivas, llegando algunas membranas a tener una vida útil de más de 10 años desde su puesta en marcha. Por el contrario, se cuenta con una menor variedad en tamaños de corte, requieren mayor capacidad de bombeo (ya que se utilizan en casi todas las membranas velocidades entre 2-6 m/s) y su coste de fabricación es mayor. No obstante, su larga expectativa de vida y altos flujos de trabajo hacen que sean más rentables que las poliméricas.

c) Membranas líquidas

Se utilizan tanto adsorbidas en capilares como emulsionadas. Aunque han sido muy estudiadas se les ha encontrado muy pocas aplicaciones a escala industrial. Una de ellas es la recuperación de uranio del agua de mar (Franklin et al., 1989).

2.1.3. Configuraciones

La membrana por sí misma es sólo uno de los componentes del sistema de filtración. El módulo de la membrana es la unidad física que la alberga. Éste debe satisfacer una serie de requisitos mecánicos, hidrodinámicos y económicos, de los cuales los más importantes son:

- Mecánicos: obtener una separación efectiva del alimento y el filtrado; proporcionar el soporte físico necesario para la membrana (incluyendo la capacidad para soportar la caída de presión requerida).
- Hidrodinámicos: minimizar la caída de presión a través del dispositivo (para reducir los costes de bombeo); optimizar la transferencia de materia del soluto (reducir la concentración de polarización); minimizar el taponamiento o colmatación (“fouling”); evitar las zonas muertas (para cumplir los requisitos sanitarios).
- Económicos: maximizar la densidad de empaquetamiento de la membrana (razón entre el área de la membrana y volumen del equipo); minimizar los costes de fabricación; permitir el fácil acceso para la limpieza o sustitución de la membrana; suministrar

suficiente resistencia química y vida operativa; incorporar la modularidad del diseño para el escalado, montaje u operación en cascada.

Muchos de estos criterios citados son contrapuestos. Por ejemplo, equipos de alta densidad de compactación son más susceptibles de colmatación, y por tanto de limpieza más difícil. De la importancia relativa de los distintos requisitos dependerá el diseño elegido.

Cabe destacar que uno de los aspectos críticos en el diseño de cualquier módulo es la transferencia de materia. La formación de una capa de polarización es el factor dominante que controla el comportamiento de la membrana. Con el propósito de obtener una alta transferencia de materia, es necesario tener una alta velocidad tangencial y/o turbulencia en los alrededores de la membrana. La forma más sencilla de conseguirlo es mediante un flujo de alimentación paralelo a la membrana y perpendicular al flujo de filtrado (Figura 2.6), a diferencia de la filtración clásica, con la alimentación perpendicular a la membrana (Figura 2.7). La primera es la configuración más extendida hoy día.

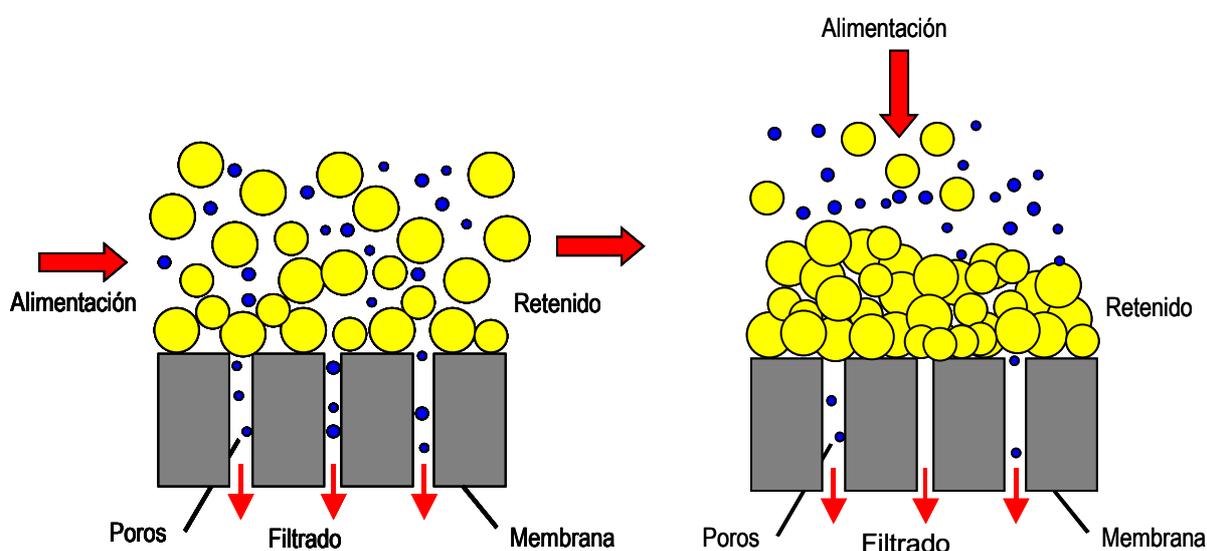


Figura 2.6 Filtración tangencial

Figura 2.7 Filtración clásica (dead end)

Los módulos comerciales disponibles en filtración tangencial se pueden clasificar en: módulo plano, espiral, tubular, de fibra hueca y de vórtice (rotante). Algunas de sus características principales se resumen en la Tabla 2.3 (Zeman y Zydney, 1996):

Tabla 2.3 Módulos de membrana

Módulo	Espaciado de canal (cm)	Densidad de empaquetamiento (m ² /m ³)	Coste de energía (bombeo)	Taponamiento de partículas	Facilidad de limpieza
Fibra hueca	0.02-0.25	1200	Bajo	Alto	Razonable
Tubular	1.02-2.5	60	Alto	Bajo	Excelente
Módulo plano	0.03-0.25	300	Moderado	Moderado	Buena
Espiral	0.03-0.1	600	Bajo	Muy alto	Baja-Razonable
Vórtice	0.05-0.1	10	*	Moderado	Razonable

* Los gastos de energía en estos sistemas se determinan en función de la velocidad de giro en vez de el bombeo.

Fibra hueca

Este módulo fue desarrollado por Dupont a finales de los 60 para desalinización, siendo posteriormente diseñado para ultra y microfiltración por Amicon y Romicon a principios de los 70. Consiste en un conjunto de estrechas fibras de pequeño calibre, con una densa capa que da a la membrana su permeoselectividad, y una matriz más abierta que da a la membrana su integridad estructural. Por tanto, son soporte y membrana a la vez. La capa suele estar situada en la parte interior. Los diámetros de las fibras van desde 200 a 2500 µm, con un espesor de fibra en torno a 200 µm.

Los haces de fibras (que pueden ir desde 50 hasta 10000) se colocan en una configuración análoga a la de los intercambiadores de calor, asegurando una separación adecuada entre la alimentación y el filtrado. Normalmente se hace circular la alimentación por el interior de las fibras, con lo que el filtrado sale al exterior de forma radial, permitiendo una mayor presión y estabilidad estructural. Este filtrado es recogido en el interior de la carcasa y conducido al exterior. Por tanto, el equipo dispone de una alimentación simple, una corriente de salida (retenido) y dos salidas de filtrado (cercasas a cada extremo de la unidad). La alimentación y el retenido pueden circular en co-corriente o en contracorriente (Figura 2.8).

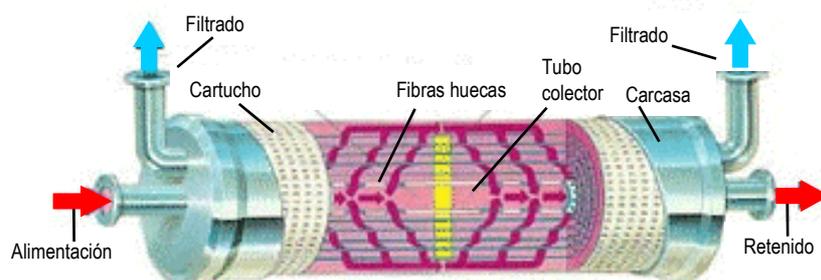


Figura 2.8 Módulo de fibra hueca. Filtrado en carcasa

Otra posible configuración es aquella en la que la alimentación circula por el exterior de las fibras y el filtrado es recogido en el interior de las fibras. Es muy característica de la ósmosis, siendo poco común en ultra y microfiltración, debido a los problemas creados por el atrapamiento de partículas. En este caso las fibras se disponen en forma de U (Figura 2.9).

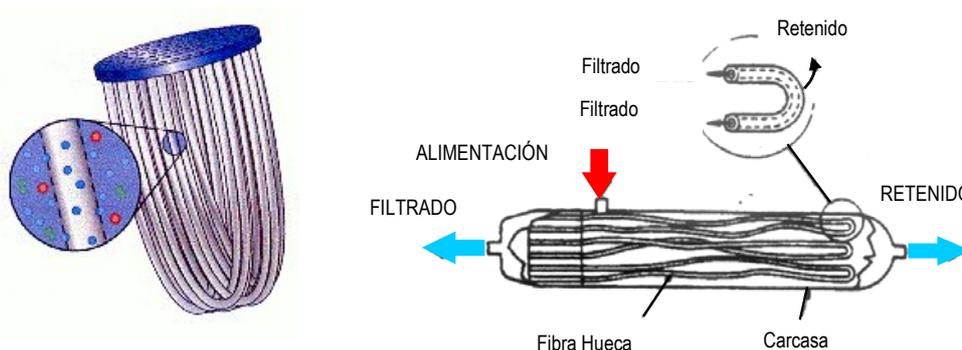


Figura 2.9 Módulo de fibra hueca. Filtrado en fibras

La configuración en fibra hueca trabaja en régimen laminar (con valores de Reynolds entre 500 y 3000) y opera a bajas presiones, normalmente inferiores a 2 bar. Durante la filtración se produce un cizallamiento muy elevado, debido al efecto combinado de delgados canales y altas velocidades. La relación área/volumen es la mayor de todas las configuraciones. Para mejorar su limpieza se puede trabajar en “backflushing”, aunque es recomendable prefiltrar la alimentación por el pequeño diámetro de la fibra. Finalmente, su coste de reposición es alto, ya que si se rompe una sola fibra el cartucho ha de ser cambiado por completo.

Tubular

Estos módulos son muy similares en diseño a los de fibra hueca antes descritos, aunque poseen diámetros mucho mayores (en torno a 0.3-2.5 cm). El diámetro de los tubos resulta de un compromiso entre el consumo de energía (que aumenta con el diámetro) y el coste de fabricación (que disminuye con el mismo). Estas membranas no son auto-portantes, sino que se disponen en un soporte poroso tubular hecho de fibra de vidrio, cerámica, plástico o acero inoxidable.

Varios de estos tubos pueden ensamblarse en una carcasa, formando un único cartucho. La alimentación fluye por el interior de los tubos de un extremo a otro, con lo que el filtrado pasa a través del soporte poroso y se recoge finalmente en la parte exterior del tubo, como se ve en la Figura 2.10 (Judkins y Bischoff, 2003).

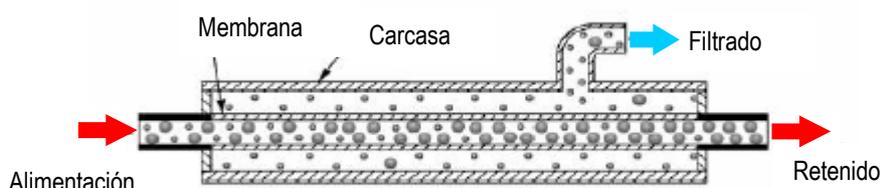


Figura 2.10 Configuración tubular

Esta configuración trabaja en flujo turbulento, con números de Reynolds mayores de 10.000. Las velocidades recomendadas en ultrafiltración son de 2-6 m/s. No obstante valores altos pueden ser dañinos para macromoléculas y células delicadas. Su diseño hace que sean muy fáciles de limpiar, tanto por método mecánicos como químicos. Además, son muy resistentes a la oclusión por partículas, pudiendo aceptar fluidos relativamente cargados de las mismas.

Por otro lado, las caídas de presión y los altos flujos hacen de esta configuración la de mayor gasto energético. Poseen sin embargo, la menor relación área/volumen de todos los módulos ($<100 \text{ m}^{-1}$), por lo que necesitan mayor espacio de trabajo, con grandes volúmenes muertos. Son sistemas relativamente caros, aunque depende mucho del material.

Módulo plano

Esta configuración es una de las más antiguas desarrolladas a escala comercial. Se presenta en forma de placas planas y rígidas sobre las que se coloca la membrana. Estas placas se superponen en múltiples láminas con una disposición tipo “sándwich”, consistente en una placa de soporte (que define la dirección del filtrado), la membrana y los canales espaciadores, como se aprecia en la Figura 2.11.

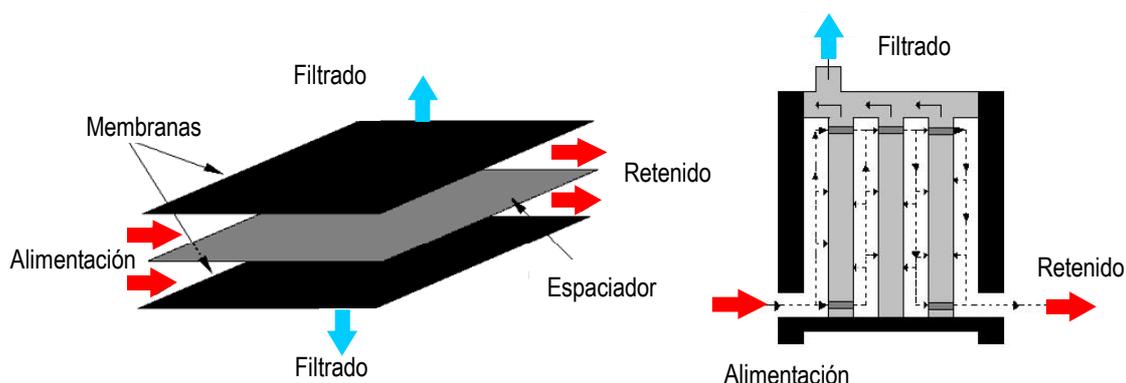


Figura 2.11 Configuración plana

Varios de estos elementos membrana/placas se apilan juntos formando un módulo completo. Las membranas adyacentes se separan con un espaciador. La mayoría de estos sistemas emplean elementos rectangulares, donde la corriente de entrada se distribuye a lo largo de los diferentes canales en un extremo, y el retenido se recoge en el extremo opuesto. En los nuevos diseños los espaciadores se diseñan en forma de red, dando mayor turbulencia al flujo.

Esta configuración trabaja en régimen laminar, si bien el régimen es turbulento en el canal de alimentación; a esto último contribuyen considerablemente los espaciadores. Las membranas poseen una alta densidad de empaquetamiento ($300-500 \text{ m}^{-1}$), con poco volumen muerto, lo que las hace muy atractivas para la recuperación de productos biológicos. Por el contrario son difíciles de limpiar, debido a la tortuosidad en el recorrido de los flujos. Además el “backflushing” es a menudo poco factible. En cuanto a su consumo energético y coste, es intermedio entre los módulos de fibra hueca y los tubulares

En espiral

Estos módulos fueron desarrollados a mediados de los 60 para la desalinización del agua. Como en las membranas planas, antes descritas, se diseñan a partir de láminas planas. Éstas se disponen con sus partes activas una frente a otra y se separan por un espaciador (malla de plástico hecha de polietileno, polipropileno y otras resinas de plástico), quedando pegados por tres de sus cuatro lados. El cuarto lado se fija alrededor de un tubo central perforado. Finalmente otro espaciador en forma de malla, de espesor adecuado, se coloca sobre un lado de esta estructura y todo el ensamblaje se enrolla alrededor del tubo central, en configuración espiral (Figura 2.12).

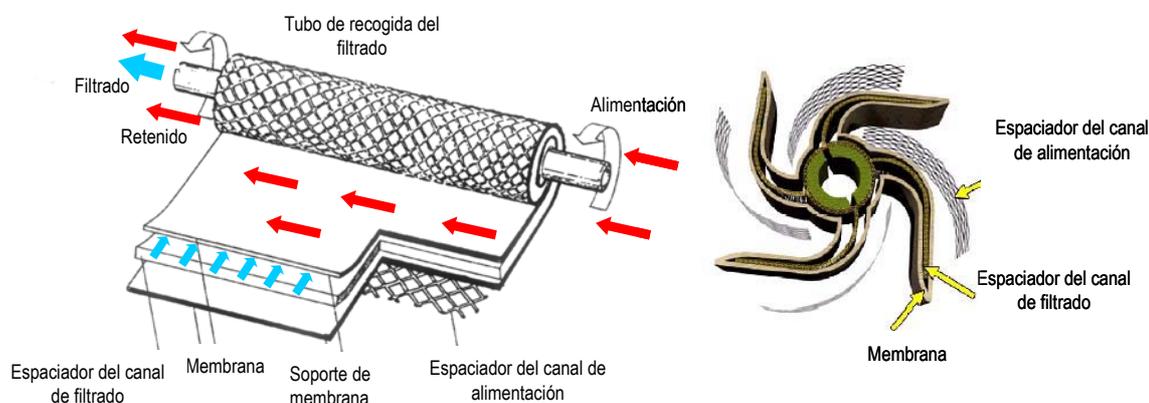


Figura 2.12 Configuración en espiral

La alimentación se bombea longitudinalmente a lo largo de la unidad. El filtrado, por su parte, se fuerza a pasar a través de las láminas de la membrana hacia el canal de permeado. A partir del canal, el filtrado se dirige en espiral hacia el tubo colector central.

En esta configuración los módulos operan en flujo turbulento, con velocidades entre 10-60 cm/s. Esta turbulencia se debe a los espaciadores, ya que las velocidades se corresponden con valores de Reynolds de 100-1300 (flujo laminar). No obstante, los espaciadores de malla pueden producir puntos muertos bajo la malla, debido a la irregularidad en la dirección del flujo, con lo que las partículas en suspensión pueden quedar atrapadas y bloquear el canal de entrada.

Presentan una relación área/volumen bastante alta, con valores entre 650-1000 m²/m³, comparable a la de fibras huecas. La combinación de bajos caudales de flujo, bajas caídas de presión y relativamente alta turbulencia, hace de estos módulos los de menor consumo energético.

Módulos rotatorios

Un problema de los diseñadores de membranas es minimizar los efectos de la capa de polarización y de la colmatación. Una solución al problema consiste en mover la membrana en un módulo rotatorio, como ya propusieron en 1978 Hallstrom y López-Levia, o en un módulo centrífugo (Robertson et al., 1982). Los módulos rotatorios se comercializaron a partir de los años 80. La Figura 2.13 (Cheryan, 1998) muestra la configuración de uno de estos módulos.

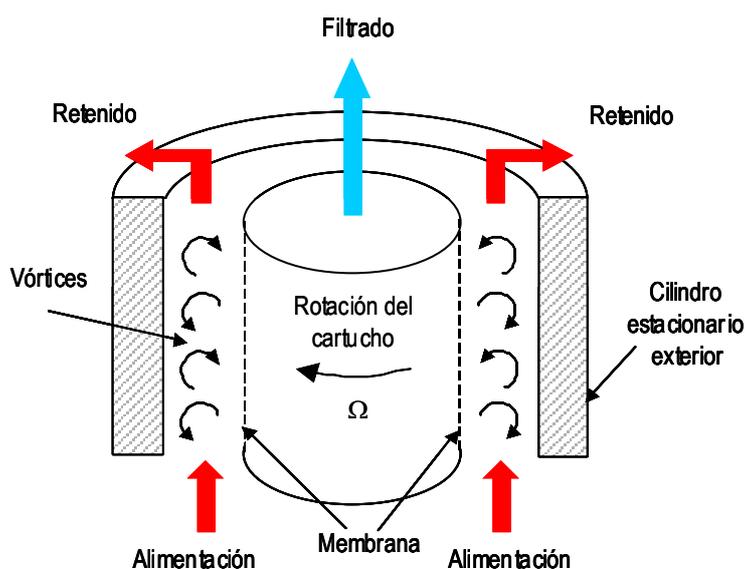


Figura 2.13 Principios de un módulo rotatorio

La membrana se dispone en un cilindro rotatorio, situado en el interior de un cilindro estacionario externo. De esta forma se crea una zona anular por la que entra la alimentación, mientras que el filtrado sale por el interior del cilindro. Éste gira a unas 500-4000 rpm, originando una serie de vórtices en la región anular, llamados de Taylor, los cuales crean una gran turbulencia y un elevado cizallamiento. Estos vórtices provocan una mezcla del fluido cercano a la superficie de la

membrana, aumentando la transferencia de materia, que está determinada por la velocidad de rotación.

A diferencia de los módulos clásicos, su mayor transferencia de materia les permite trabajar a menores caudales. Esto los hace muy adecuados en muchas aplicaciones biológicas, donde las macromoléculas pueden verse dañadas por altos valores de flujo. Sin embargo, los costes energéticos son muy altos. Además requieren un alto coste de capital, debido a que su fabricación es más compleja. Esta configuración presenta también una alta inestabilidad mecánica, al depender de un sistema con tantas partes móviles. Finalmente, su densidad de empaquetado es muy baja y su escalado industrial muy difícil.

2.2. COLMATACIÓN Y LIMPIEZA

2.2.1. Colmatación o “fouling”

Uno de los factores limitantes en la filtración con membranas es su colmatación o “fouling”, intrínseco a la propia operación, lo que se manifiesta en un descenso del flujo y en cambios en las características filtrantes de la membrana. Esta colmatación se debe a la deposición y acumulación de componentes de la corriente de entrada sobre la superficie de la membrana y/o en el interior de los poros de la misma.

El flujo de las disoluciones reales a través de materiales porosos es mucho menor que el de agua pura debido a:

- i) Formación de una capa de polarización. Si bien ésta disminuye el flujo, sus efectos son reversibles. Disminuye si baja la presión o la concentración a la entrada, o bien si aumenta la velocidad o turbulencia.
- ii) Cambios en las propiedades de la alimentación. Debido a aumentos en la viscosidad y la densidad; esto provoca una disminución de la difusividad, con lo que el flujo disminuye debido a factores hidrodinámicos.

- iii) Cambios en las propiedades de las membranas, como resultado del deterioro físico o químico de la membrana.
- iv) Colmatación o “fouling”. Se caracteriza por ser irreversible, rápida en los primeros minutos y con una disminución posterior más gradual. Casi todos los componentes colmatan las membranas hasta cierto punto, dependiendo principalmente de la naturaleza físico-química de las membranas y del soluto. El principal problema del “fouling” es el aumento de los gastos de operación, no sólo por la disminución del flujo, sino por el uso de agentes de limpieza que reducen a su vez la vida media de la membrana.

2.2.1.1. Factores de colmatación

La colmatación depende de las propiedades de las membranas, las características de las disoluciones a filtrar y de las condiciones del proceso.

Propiedades de las membranas

- a) Carácter hidrófilo. Con soluciones acuosas las membranas a usar deben ser hidrófilas, ya que si son hidrófobas adsorben componentes hidrófobos o anfóteros. La hidrofiliidad relativa se mide con el ángulo de contacto, que varía según el material de la membrana. Los materiales celulósicos y cerámicos, hidrófilos, poseen bajos ángulos (menores de 30 °).
- b) Rugosidad de la superficie. Es el caso de las membranas de acetato de celulosa, las cuales se colmatan menos que las de otros materiales poliméricos, al poseer una superficie suave y uniforme.
- c) Carga de las membranas. Según el pH, membrana y partículas poseen cargas diferentes que condicionan las interacciones electrostáticas partícula-membrana y por tanto, la capacidad de adsorción.
- d) Tamaño de poro. Se ha observado en muchas ocasiones (Marshall et al., 1993) que los poros de tamaño mayor dan al principio un flujo más grande, aunque progresivamente éste disminuye más que el de membranas de menor tamaño de poro. Esto se debe a que partículas de tamaño

similar al del poro pueden ocluir los poros, aunque no los atraviesen, causando una rápida caída del flujo en los primeros instantes. Por el contrario si los poros son mucho más pequeños que las partículas a separar, éstas no quedan atrapadas en los poros, sino que rodarán sobre la superficie de la membrana bajo la acción del flujo.

e) Modificación de la superficie. Una membrana puede hacerse más hidrófila, y por tanto tener menos tendencia a colmatarse con componentes acuosos, mediante la introducción de grupos funcionales hidrófilos. Éstos son capaces de unir agua o formar enlaces de hidrógeno tales como los grupos hidroxilo (-OH). Los métodos usados para modificar la superficie son muy variados (tratamientos con microondas, plasma, revestimiento por adsorción...). Por ejemplo, la unión de radicales libres de glicina a la superficie de membranas de PVDF en condiciones fuertemente básicas, las hace hidrófilas. Por otro lado las membranas de nylon tienden a atrapar grandes cantidades de proteína, este fenómeno disminuye tratando la superficie con hidroxipropilcelulosa (Hildebrandt, 1991). No obstante la modificación de la superficie de las membranas puede hacerlas menos resistentes a ambientes agresivos que aquellas que no han sido modificadas.

Características de las disoluciones

Dado que la colmatación es resultado de la interacción entre la disolución y la membrana, es lógico pensar que las características de los componentes a filtrar influyen especialmente. En este sentido podemos distinguir los siguientes tipos de agentes que favorecen la colmatación:

a) Proteínas. Constituyen una de las sustancias con mayor capacidad de colmatación, dada la gran cantidad de grupos funcionales, densidad de carga y grados de hidrofobicidad que presentan. Además, su compleja estructura secundaria y terciaria les permite interactuar con otros componentes de la alimentación, aparte de con las propias membranas. Este fenómeno depende del pH, la fuerza iónica, la temperatura y otros factores ambientales.

b) Sales. Las sales minerales pueden depositarse sobre la membrana, bien por su baja solubilidad, o bien por la unión mediante interacciones electrostáticas. Como ejemplos tenemos el cloruro sódico, que además de cambiar el ambiente iónico (lo que afecta a las interacciones soluto-soluto y soluto-membrana), aumenta la deposición de proteínas y la pérdida del flujo. Por su parte, las sales de calcio dan lugar a la precipitación de fosfato tricálcico y a la formación de

enlaces entre las membranas y las proteínas, siendo una de las mayores causas de colmatación en la industria láctea.

c) pH del proceso. Cambios en el pH afectan a la solubilidad, carga y conformación de los componentes de la alimentación.

d) Lípidos, grasas y aceites. La experiencia indica que la eliminación previa de lípidos tiene un efecto beneficioso en la filtración de suero lácteo. En los casos de separación de mezclas de grasas en agua, y dado que lo similar atrae a lo similar, si se utilizan membranas hidrófobas las grasas pueden envolver a la membrana, dando lugar a un flujo menor.

e) Antiespumantes. La mayoría colmatan las membranas hidrófobas, mientras que las hidrófilas no se ven tan afectadas.

Condiciones del proceso

a) Temperatura. El efecto de la temperatura sobre la colmatación depende del sistema. De acuerdo a la ecuación de Hagen-Poiseuille el aumento de la temperatura aumenta el flujo, lo que se confirma en la práctica. No obstante también puede darse una disminución del flujo para determinados compuestos. Es obvio que para los sistemas biológicos unas temperaturas muy elevadas provocan la desnaturalización de las proteínas, disminuyendo el flujo. Igualmente, la adsorción de proteínas aumenta con la temperatura.

b) Velocidad de filtración y turbulencia. Velocidades altas tienden a eliminar el material depositado, reduciendo la resistencia hidráulica. Sin embargo, esto no siempre sucede si la presión transmembrana es muy alta comparada con la caída de presión en la circulación.

c) Presión. Si la presión transmembrana se encuentra en la región pre-gel, el flujo aumenta con la presión. Para mayores incrementos de la presión, la capa de polarización alcanza una concentración límite y el flujo se hace independiente de la presión. Esta situación varía cuando se forman capas de colmatación y empiezan a comprimirse a altas presiones. En este caso un aumento de la presión por encima de un punto crítico da lugar a un flujo menor.

2.2.1.2. Mejora del flujo

Para minimizar los efectos del fouling se han desarrollado una serie de estrategias de operación. Entre ellas destacan:

a) Promotores de la turbulencia. La inserción de anillos, barras, baffles... en el canal de alimentación permite minimizar la colmatación, con flujos superiores entre un 50-300 %. Reducen los espacios muertos, aumentan la velocidad y los esfuerzos de cizallamiento.

b) Cambios en la dirección del flujo. En el modo convencional de operación se utilizan altas velocidades de paso para minimizar la polarización en la filtración. Esto da lugar a altas caídas de presión, aunque los canales del filtrado trabajen a bajas presiones. En el lado del retenido, la alta presión de entrada puede provocar colmatación por compactación, mientras que la baja presión a la salida indica que parte del área disponible de la membrana no ha sido utilizada eficazmente (Figura 2.14).

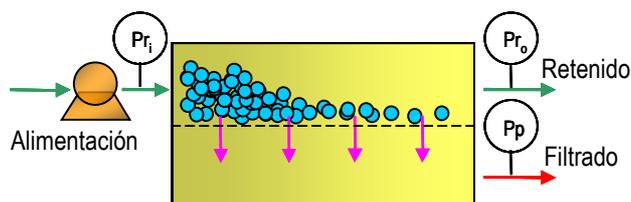


Figura 2.14 Modelo convencional

Para mejorar esta situación se puede cambiar periódicamente la dirección del flujo de filtrado, en dirección al canal de entrada. Para ello se cierra el canal de filtrado durante unos segundos, de forma que se desalojan partículas acumuladas en la superficie de la membrana (Figura 2.15). En este caso la presión en la cámara de filtrado llegaría al valor medio de la presión en el canal de retenido.

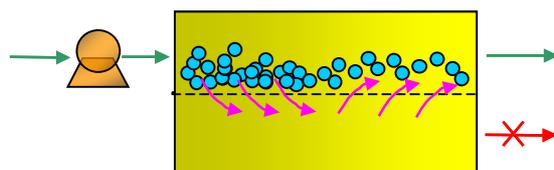


Figura 2.15 Cambio de flujo

Otra estrategia también utilizada es la limpieza invertida periódica (PBW –periodic backwash-). En ella se bombea filtrado hacia el canal de alimentación, a fin de retirar partículas depositadas en la superficie de la membrana (Figura 2.16). Su efectividad depende de la naturaleza del depósito, teniendo que trabajar a presiones mayores de las normales. La mayoría de las veces se realiza durante 1-5 segundos a una frecuencia de 1 a 5 veces por minuto, a presiones de 1-10 bar.

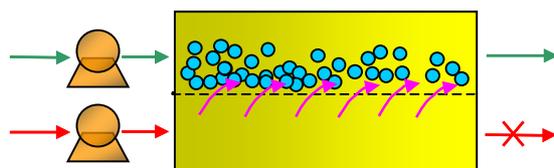


Figura 2.16 Limpieza invertida (PWB)

c) Flujo de filtrado en co-corriente. Esta técnica implica una variación con respecto a la limpieza invertida y es especialmente adecuada para la microfiltración de suspensiones coloidales. En los procesos de microfiltración el flujo se reduce rápidamente debido a la formación de una segunda “membrana” de partículas en la capa de polarización. Para evitarlo se opera a velocidades relativamente altas (4-6 m/s) a fin de minimizar la compactación de la capa de polarización, provocando altas caídas de presión. Para superar este problema se trabaja en co-corriente, lo que requiere la operación conjunta de un circuito de retenido y otro de filtrado, simulando una limpieza invertida pero en modo continuo. Con ello se consigue que la caída de presión sea la misma a lo largo de toda la membrana (Figura 2.17). De esta manera se obtienen resultados espectaculares, como en la filtración de leche desnatada, con flujos de hasta 500-900 LMH durante varias horas a una presión de 0.1-0.8 bar (Pafylis et al., 1996).

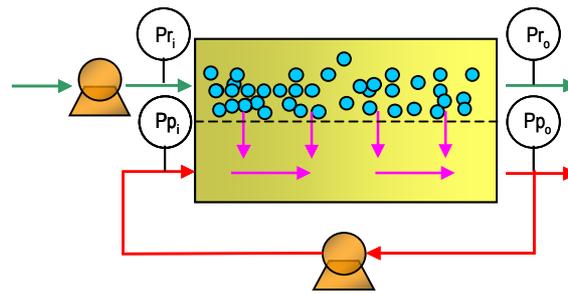


Figura 2.17 Flujo en co-corriente

d) Presión en la cámara de filtrado. En los procesos de filtración cuanto menor es la presión transmembrana, menor es el flujo inicial (aunque a largo plazo éste acabe siendo mayor). Las presiones bajas minimizan el taponamiento de los poros, pero no dan suficiente velocidad tangencial para retirar las partículas de la superficie. A fin de operar a bajos flujos y altas velocidades se puede trabajar creando cierta presión en la cámara de filtrado. Para ello, se empieza cerrando la salida de filtrado hasta llegar a una presión de alimentación establecida, y a continuación se abre la salida de filtrado lentamente hasta obtener la presión establecida para el filtrado. Se requiere trabajar con membranas robustas y autoportantes, como son las inorgánicas.

f) Otros métodos. Aparte de las técnicas anteriores para mejorar el flujo, se pueden crear turbulencias mediante impulsión a chorro de la alimentación o mediante flujo pulsátil de la alimentación o el filtrado. También se puede hacer uso de las características electrostáticas de las partículas cargadas, lo que depende del pH y de la fuerza iónica de la solución; algunas técnicas estudian la aplicación de campos eléctricos a la alimentación, incluso mediante pulsos.

2.2.2. Limpieza

El proceso de limpieza es una parte esencial en todas las filtraciones. Implica la retirada de todos los componentes extraños, tanto de la superficie como del cuerpo de la membrana, además del equipo de trabajo. Se puede considerar hasta cierto punto un “arte”, ya que en muchas ocasiones la elección del procedimiento adecuado para cada aplicación es fruto de pruebas de ensayo-error (Zeman y Zydney, 1996). Esto se debe a que si bien se conocen los principios

básicos, existen pocos estudios cuantitativos que comparen la eficacia de los distintos procedimientos.

El objetivo a conseguir en la limpieza es recuperar el flujo inicial con agua y las características filtrantes de la membrana. En principio no siempre es posible alcanzar ese valor ya que éste baja hasta un valor estable después de varios ciclos de funcionamiento, pero al menos se ha de llegar al valor del proceso anterior. La limpieza puede realizarse de distintas maneras: física, química y biológica o sanitaria.

Para ello se requieren tres tipos concretos de energía:

- Química. En forma de detergentes o agentes de limpieza, que mediante reacción físico-química solubilizan o dispersan las sustancias contaminantes.
- Térmica. Por medio de calor, que aumenta la eficacia de los agentes químicos.
- Mecánica. Mediante alta velocidad en las conducciones y en ocasiones elementos de fricción, cuando los agentes químicos no son efectivos.

2.2.2.1. Limpieza física

Algunos elementos pueden ser retirados de la superficie de las membranas de forma eficiente por medios mecánicos.

Entre estas técnicas se hallan los procesos de enjuague a velocidades relativamente altas, los cuales son más efectivos cuando se realizan sin presión transmembrana. De hecho, es normal que cualquier proceso de limpieza comience con un enjuague de agua, como recomiendan la mayoría de los fabricantes, ya que una de las reglas más importantes es no dejar nunca la membrana seca tras filtrar en contacto con la disolución de alimentación (Cheryan, 1998). Con ello se pretende remover las sustancias presentes y eliminar las capas de la superficie de la membrana, con lo que se reduce el consumo posterior de agentes químicos.

Si bien el solo enjuague con agua no limpia la membrana satisfactoriamente, pueden alcanzarse recuperaciones de hasta el 90 % tras 5 minutos de enjuague (Nakanishi y Kessler, 1985). Para el

lactosuero, Cabero et al. (1999) estudiaron el efecto del enjuague en membranas cerámicas y concluyeron que: la eficacia era mayor si se hacía sin recirculación, la temperatura tenía un efecto positivo, no dependía de la velocidad tangencial, era óptima a una determinada presión y podía mejorarse haciendo entrar el agua por el lado del filtrado.

Así mismo se pueden emplear técnicas ya comentadas como la limpieza invertida (Figura 2.16), con ciclos alternados a lo largo del proceso de filtración. Estas técnicas, junto al empleo de variaciones de presión de forma pulsátil, son muy efectivas para eliminar las tortas de partículas de la superficie de la membrana.

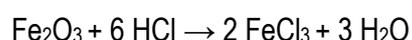
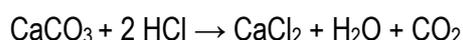
Otros métodos mecánicos son el empleo de bolas de goma que se hacen pasar por los circuitos (Al-Bakeri y El-Hares, 1993) o el uso de cepillos de esponja, especialmente efectivo para retirar contaminantes biológicos y orgánicos de la superficie. Para ello se requiere tener acceso a la superficie activa de la membrana, lo cual sólo es posible en modelos tubulares y de placas. No obstante, dado que el espesor de la capa activa es muy pequeño y que una limpieza de estas características puede rayar y destruir dicha capa, no es muy aconsejable. Por último, cabe mencionar el empleo de campos eléctricos como opción de limpieza.

2.2.2.2. Limpieza química

Los agentes químicos de limpieza actúan de diferentes maneras: por desplazamiento de la materia atrapada en la membrana (agentes surfactantes), solubilización (agentes emulsificantes o dispersantes) o modificación química de los contaminantes.

Los productos empleados son muy numerosos y muchas veces específicos. A continuación se mencionan los más utilizados así como sus propiedades y mecanismos de actuación:

a) Ácidos. Son los productos más efectivos para remover sales de calcio u óxidos metálicos. En ambos casos se disuelven por reacción para dar lugar a una sal soluble:



Los ácidos clorhídrico y sulfúrico son los más usados y baratos, aunque muchos módulos de membrana y carcasas pueden dañarse a altas concentraciones. El ácido nítrico es un oxidante muy fuerte que puede nitrificar algunos compuestos orgánicos, haciéndolo útil en la limpieza de partículas orgánicas y biológicas, si bien es muy corrosivo. El ácido fosfórico es menos corrosivo que los anteriores y un fuerte agente quelante, útil para eliminar algunos cationes metálicos, pero relativamente caro.

Los ácidos orgánicos pueden usarse en la limpieza de óxidos metálicos y precipitados de calcio. Son más débiles que los anteriores, por lo que causan menos daño a las membranas y sus módulos. El ácido cítrico es bastante efectivo con los precipitados de calcio, por su poder quelante, pero forma complejos con los iones ferrosos que pueden depositarse (lo que se reduce añadiendo amoníaco).

b) Bases. Son agentes muy efectivos para la limpieza de sílice, coloides inorgánicos y muchas sustancias biológicas y orgánicas; también se usan en esterilización. Actúan de diversas formas: neutralizando ácidos, saponificando grasas y emulsionando partículas coloidales.

Existe gran número de bases para la limpieza, incluyendo hidróxidos, carbonatos, silicatos y fosfatos. La sosa cáustica (NaOH) es la más usada de todas. El carbonato sódico (Na_2CO_3) es el más económico aunque puede dar lugar a depósitos de CaCO_3 a partir de Ca^{+2} . Los fosfatos son muy útiles al reducir la dureza del agua y dispersar partículas coloidales, sin embargo pueden hidrolizarse y formar sales insolubles con metales divalentes. La lejía o hipoclorito sódico (NaClO) también puede usarse, a excepción de las membranas susceptibles a daños por el cloro, siendo muy útil como agente desinfectante.

c) Surfactantes. Estas moléculas (detergentes sintéticos) tienen una parte soluble en agua y otra en materia grasa. Su acción se basa en desplazar los contaminantes de la superficie de la membrana, emulsificar las grasas y solubilizar los contaminantes hidrófobos incorporándolos en las micelas, como se aprecia en la Figura 2.18 (Zeman y Zydney, 1996). La parte hidrófoba del surfactante (cadena larga hidrocarbonada) se asocia rápidamente con la superficie de los contaminantes hidrófobos, retirándolos de la membrana y llevándolos a la solución, debido a las

fuertes interacciones de los grupos hidrófilos (polar). La forma esférica de la micela optimiza las interacciones entre los surfactantes y el agua.

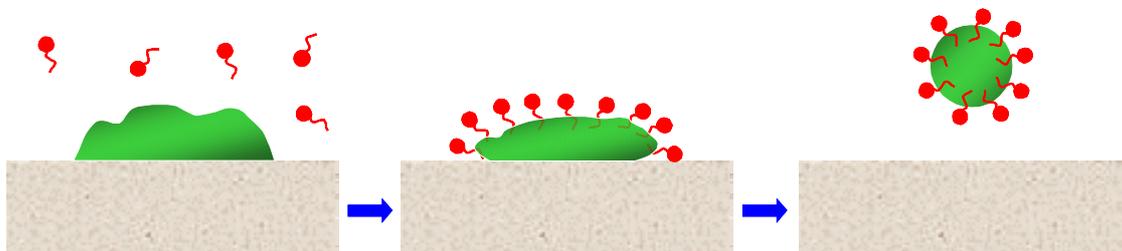


Figura 2.18 Solubilización por surfactantes

Existe una gran variedad de surfactantes de diversa estructura: neutra (no iónica), negativa (aniónica) o positiva (catiónica), donde la longitud relativa y propiedades de las partes hidrófilas e hidrófobas son las que determinan sus propiedades, siendo lo más adecuado un surfactante que posea ambas propiedades con intensidad similar.

Los surfactantes no iónicos se componen de largas cadenas hidrófilas de grupos polioxietileno $(O-CH_2)_n$ combinadas con una cadena de tipo alcohol, alquilfenil u óxido de propileno. Estos agentes de limpieza no se ven afectados por la presencia de cationes metálicos (adecuados en aguas duras) y son estables en medios ácidos y básicos, siendo usados para retirar contaminantes orgánicos. El óxido de polietileno sin embargo se degrada por agentes oxidantes, con lo que no se puede usar con lejía.

Como surfactantes típicos aniónicos se incluyen carboxilatos, sulfonatos, sulfatos y fosfatos. Los sulfonatos $(-C-SO_3^-)$ son muy estables a la oxidación y a la hidrólisis, y moderadamente efectivos en presencia de Ca^{+2} y Mg^{+2} . Los sulfatos $(-C-O-SO_3^-)$ son más hidrófilos, pero su estabilidad es menor en medios ácidos y alcalinos al ser susceptibles de hidrólisis ácida o básica. Por su parte los fosfatos se usan poco ya que sus sales de calcio y magnesio son insolubles en agua. La mayoría de los aniónicos tienen un pH óptimo para limpieza en torno a 10.5, con lo que suelen usarse con una base para mantener el pH alcalino.

Por último los surfactantes catiónicos poseen una carga positiva sobre un grupo amino y pueden usarse en medios ácidos, aunque son insolubles en medios básicos. Se adsorben fuertemente en membranas negativamente cargadas, lo que puede ser un inconveniente.

d) Agentes quelantes. Estos agentes forman complejos con los átomos metálicos con estructuras de ciclo o anillo. Esto los hace más solubles en agua, pudiendo eliminarse los cationes metálicos (Ca^{+2} y Mg^{+2}), lo que reduce la formación de sales insolubles metálicas de ácidos grasos.

El más efectivo es el EDTA. Entre los quelantes inorgánicos el más común es el tripolifosfato ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$). El sodio hexametáfosfato es muy eficaz para dispersar pequeñas partículas y coloides. Los silicatos y carbonatos pueden tener también efecto quelante.

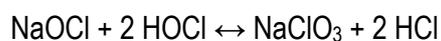
e) Enzimas. Estos agentes de limpieza son normalmente caros, pero son componentes importantes en las formulaciones de limpieza para membranas que son incapaces de resistir temperaturas elevadas, agentes agresivos o pH extremos. Son capaces de degradar proteínas (proteasas), almidones (amilasas), grasas (lipasas) y celulosa (celulasas).

Las proteasas son las más usadas en la limpieza de membranas, debido a la importancia de la colmatación por proteínas y a su difícil eliminación. Rompen los enlaces peptídicos en determinadas posiciones, con lo que los fragmentos resultantes son más fáciles de eliminar.

2.2.2.3. Desinfección y esterilización

La desinfección destruye los microorganismos patógenos. La esterilización, además, elimina las esporas bacterianas de alta resistencia. La primera es típica de la industria alimentaria, mientras que la segunda lo es de la industria farmacéutica.

El hipoclorito es el desinfectante más usado en la desinfección de membranas (salvo en las de poliamida) y su acción química depende del pH:



Aunque el mecanismo de desinfección no es del todo conocido, se piensa que el ácido hipocloroso sin disociar (HClO) es el que tiene mayor actividad biocida. También se usan otros agentes oxidantes fuertes para desinfectar membranas, como el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y el ácido peracético (CH₃COCOOH); este último sobre todo en hemodiálisis. El bisulfito sódico (NaHSO₃), agente reductor, es usado en membranas que pueden degradarse por la acción de agentes oxidantes (hipoclorito).

La esterilización con vapor se usa con frecuencia en la industria farmacéutica, con mínimos de exposición de 15 minutos a 121 °C y 1 atmósfera de presión. Las membranas también pueden esterilizarse con óxido de etileno o clorofluorocarbonos (CFC), aunque requieren un largo periodo de incubación. La irradiación con rayos gamma es otra alternativa, aunque algunos materiales son sensibles a la misma (PTFE y celulósicos).

2.3. SEPARACIÓN DE PROTEÍNAS

Dentro de las aplicaciones de la tecnología de membranas merece una especial atención el empleo de la técnica en el aislamiento y purificación de proteínas.

Las proteínas por sus propiedades funcionales, nutricionales, terapéuticas y catalíticas son productos de interés en la industria alimentaria, farmacéutica y biotecnológica. En la Tabla 2.4 (Ghosh, 2003) se recogen algunas de las proteínas comercializadas.

Tabla 2.4 Proteínas comercializadas

Alimentos/Aditivos alimenticios/Nutracéuticos
Albúmina del huevo
Caseínas
Proteínas de soja
Concentrado de proteínas séricas
Hidrolizados de proteínas
α-lactoalbúmina
β-lactoglobulina
Lisozima

Fármacos
Anticuerpos monoclonales
Sero albúmina
Sero inmunoglobulinas
Factor VIII
Activador plasmogénico de tejidos

Uroquinasa
 Estreptoquinasa
 Insulina
 Eritropoietina
 α y β interferona
 Factor IX

Enzimas industriales

Hemicelulasa
 Glucosa isomerasa
 α -amilasa
 Penicilina G acilasa
 Proteasas alcalinas
 Celulasas

Enzimas de diagnóstico

Peroxidasa
 Glucosaoxidasa

Otras

Enzimas usadas en cosmética
 Enzimas para detergentes
 Enzimas digestivas
 Enzimas basadas en aditivos de ensilaje

En la producción de proteínas a escala industrial, las etapas de fraccionamiento y aislamiento tienen un enorme interés comercial, ya que la purificación y concentración potencian sus propiedades biológicas (Zydney, 1998). Un proceso de separación ideal debe combinar una alta productividad con una alta selectividad en la separación, además de poderse llevar a cabo en condiciones no extremas de operación. Esta alta selectividad-productividad no siempre es factible, por lo que en muchos casos la separación de las proteínas es la etapa limitante de una comercialización satisfactoria. Además, desde un punto de vista económico, este proceso supone un coste importante en los procesos de producción, como refleja la Tabla 2.5 (Ghosh, 2003), con lo que su estudio supone un incentivo a la hora de optimizar los procesos industriales.

Tabla 2.5 Coste de la separación de proteínas

Producto	Precio relativo aproximado	% del coste de la separación en el proceso
Alimentos, aditivos	1	10-30
Neutraceuticos	2-10	30-50
Enzimas industriales	5-10	30-50
Enzimas para diagnóstico	50-100	50-70
Enzimas terapéuticas	50-500	60-80

Entre los procesos utilizados para la separación de proteínas se pueden mencionar los siguientes: métodos cromatográficos (de fase normal y reversa, de adsorción, de intercambio iónico, de exclusión por tamaño, por afinidad), separación multidimensional (electroforesis bidimensional en gel y cromatografía multidimensional), tecnología de membranas, sistemas de dos fases, purificación y electroforesis capilar (Larive et al, 1999). Las técnicas tradicionalmente usadas para fraccionar proteínas en investigación (cromatografía, electroforesis...) están indicadas para purificar pequeñas cantidades. Sin embargo, de entre todos los métodos mencionados, a excepción de la tecnología de membranas ninguno ha tenido implantación a gran escala, bien por su complejidad, alto costo, pobre selectividad, baja producción y/o degradación inaceptable del producto -asociada a pH, temperatura o concentración de sales usados en el proceso- (Zydney, 1998).

2.3.1. Filtración tangencial

El desarrollo de membranas de intercambio iónico hace cuarenta años preparó el terreno para la tecnología de separación por membranas. Desde entonces debido a las innovaciones tecnológicas, especialmente en el área de nuevos materiales, las tecnologías de membranas se han consolidado como una opción efectiva y comercialmente atractiva en los procesos de purificación y separación.

La filtración tangencial (TFF) se ha considerado tradicionalmente como una operación unitaria que permite la separación de solutos cuyo tamaño difiere en una razón superior a 10 (Cherkasov y Polotsky, 1996). Esto ha permitido entre otros procesos, la recuperación de las proteínas del lactosuero o la clarificación de zumos, vino y cerveza, y ha limitado la aplicación de la TFF en la industria biotecnológica a tres principales aplicaciones: separación de proteínas celulares, perfusión y clarificación de proteínas o cultivos celulares. Se consigue así separar eficientemente proteínas (1-15 nm) de bacterias (0.5-5 μm), levaduras (2-15 μm) y células mamíferas (5-60 μm).

Estas limitaciones para la utilización de la filtración tangencial en la separación de proteínas de similar tamaño se deben a una serie de factores como son: la distribución de tamaños de poro, la

concentración de polarización, la colmatación de la membrana y las interacciones entre proteínas (Van Reis et al., 1997).

La velocidad de filtración tangencial puede ajustarse para disminuir la polarización, reduciendo la concentración de soluto en la pared de la membrana. Este efecto también puede conseguirse mediante la modificación de la presión transmembrana, trabajando en la región en que el caudal es dependiente de la presión. La colmatación de la membrana es otro problema añadido: la membrana, las proteínas, el tampón y la hidrodinámica del proceso contribuyen al mismo (Causerrand et al., 1994). Por tanto, una elección adecuada del material de membrana, de las condiciones del medio y del procedimiento de puesta en marcha facilita la separación.

La carga de las proteínas, el volumen hidrodinámico y los coeficientes de difusión pueden alterarse drásticamente modificando el pH de la solución, la fuerza iónica y las soluciones tampones usadas (Saksena y Zydney, 1994). Las interacciones proteína-proteína también juegan un importante papel en la separación, modificándose mediante cambios en las condiciones de la disolución.

Como resultado de lo anterior surge la filtración tangencial de alta resolución (HPTFF), una nueva tecnología de membrana que supera a la filtración tangencial clásica, al permitir la separación de proteínas sin tener en cuenta el límite de su tamaño relativo.

2.3.2. Filtración tangencial de alta resolución

En la actualidad, la técnica que permiten llevar a cabo el fraccionamiento de proteínas de similar tamaño es la combinación de la cromatografía de intercambio iónico con la ultrafiltración y la cromatografía de exclusión (SEC). Por su parte, la HPTFF permite realizar todos estos pasos en una simple operación unitaria, lo que reduce los costes de producción.

La HPTFF es un método de purificación en dos dimensiones, ya que integra las diferencias de tamaño y las características electrostáticas de las biomoléculas (Christy et al., 2002). Permite obtener una alta selectividad mediante un control adecuado del pH y de la fuerza iónica, maximizando las diferencias entre volúmenes efectivos de diferentes especies (Saksena y Zydney, 1994). Además, opera en la región en la que el caudal es dependiente de la presión, en

condiciones que permiten minimizar la colmatación y la concentración de polarización. De esta manera moléculas cuya relación de tamaños es inferior a tres, pueden separarse mediante el uso de membranas cargadas y una adecuada optimización de las condiciones de la disolución y de la dinámica del proceso.

El volumen efectivo de la proteína aumenta, bien por el incremento de la carga neta de la proteína (ajuste del pH), o bien por el aumento del espesor de la doble capa (reducción de la fuerza iónica). Esto supone una reducción en la transmisión a través de la membrana.

El volumen efectivo de una proteína cargada se explica por la presencia de una doble capa eléctrica difusa (Figura 2.19) que rodea a la proteína (Pujar y Zydney, 1998). Su espesor viene dado por la longitud de Debye (Atkins, 1991):

$$\kappa^{-1} = \left(\frac{\epsilon_r \epsilon_0 RT}{F^2 \sum C_i z_i^2} \right)^{1/2} \quad [2.1]$$

donde ϵ_0 y ϵ_R son la permitividad del vacío y la permitividad relativa, respectivamente; T es la temperatura, z_i y C_i son la valencia y la concentración de los iones del electrolito, y F es la constante de Faraday.

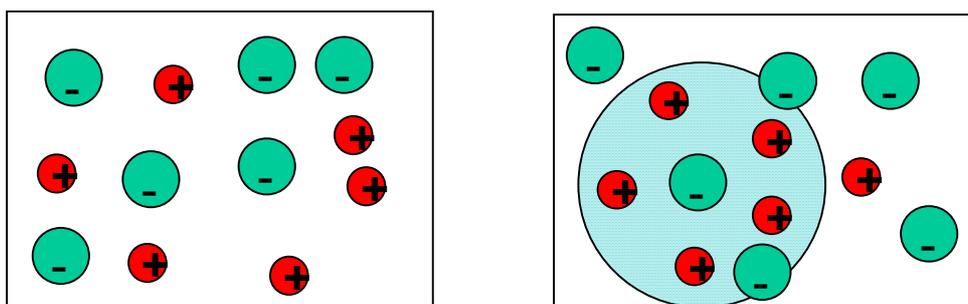


Figura 2.19 Disolución ideal y real (atmósfera iónica)

De hecho, Zyney (1998) determinó para la BSA, a partir de la expresión previamente establecida por Pujar y Zydney (1998), una variación en su radio efectivo que respondía a la siguiente expresión:

$$r_{\text{eff}} = r_s + 0.045z^2 \frac{\kappa^{-1}}{r_s} \quad [2.2]$$

donde r_{eff} es el radio efectivo de la proteína, r_s es el radio de la proteína no cargada (en nm) y z es la carga superficial de la proteína (en unidades de carga eléctrica). De conformidad con dicha expresión, una reducción en la concentración de sal de 150 a 1.5 mM, aumentaría el radio efectivo de la BSA de 5.2 a 20.5 nm, provocando durante la ultrafiltración un gran aumento en el rechazo de la proteína.

Por otra parte, para aumentar la exclusión electrostática entre todas las especies de carga similar, se puede modificar la carga eléctrica de la membrana. Una membrana cargada positivamente provoca, a igual tamaño molecular, una mayor retención en las proteínas positivamente cargadas que en las negativas.

Es bien conocido que las características de las membranas cerámicas, hechas de óxidos metálicos, se ven afectadas por las propiedades electroquímicas de su superficie. Debido al comportamiento anfótero de su superficie (vg. grupos hidroxilo), la membrana se protona y carga positivamente o bien se desprotona y carga negativamente, en función del pH de la solución (Mullet et al., 1999). Como el fraccionamiento de proteínas se modifica por las interacciones entre las moléculas y la propia membrana, la selectividad puede también mejorarse manipulando las características de la membrana. Un pretratamiento de la superficie puede ser el modo más sencillo y económico de alterar las propiedades de la membrana (Ghosh y Cui, 1998).

Esta nueva técnica amplía el campo de aplicaciones de la filtración tangencial a la separación de proteínas, ya que permite separar incluso monómeros de dímeros, o proteínas de similar tamaño pero diferente carga.

Esto hace de la HPTFF una poderosa herramienta para las separaciones necesarias en el campo de la biotecnología (Van Reis y Zydney, 2001; Ghosh y Cui, 2000; Kelley, 2001), e industria farmacéutica (Sirkar, 2001). Por ello, el esfuerzo investigador en esta área en la última década ha sido considerable, destacando las contribuciones de Zydney, Nyström, Cui y Daufin.

Por su importancia, a continuación se resumen algunos de los trabajos más representativos.

3. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

Las investigaciones realizadas en tecnología de membranas, aplicadas a la separación de proteínas, se pueden agrupar en dos líneas principales:

- El estudio del proceso de filtración de proteínas individuales. En este caso los trabajos se centran en la evolución del flujo y la transmisión, y en la influencia de variables de operación.
- El estudio del fraccionamiento de proteínas. Se trata de encontrar las condiciones de operación que garanticen una alta selectividad.

3.1. FILTRACIÓN DE PROTEÍNAS INDIVIDUALES

En el estudio de la filtración de proteínas individuales a través de membranas, el foco principal de atención ha sido la colmatación de las membranas y la caída de caudal a lo largo de la filtración. En este sentido, muchos autores han centrado sus trabajos en la adsorción y deposición de las proteínas en la estructura de la membrana. En otro término, otros autores han analizado el efecto que las distintas condiciones de filtración tienen sobre la transmisión a través de la membrana. A continuación se detallan cronológicamente los estudios más interesantes al respecto:

Fane et al. (1983) estudiaron la ultrafiltración de la BSA a través de membranas orgánicas de poliestersulfona de 20 y 30 kDa. Analizaron la influencia del pH (2-10) y de la fuerza iónica. Correlacionaron el flujo final de filtrado con la adsorción de proteína. Obtuvieron que el flujo mínimo se daba en el punto isoeléctrico de la proteína, pH = 5. En presencia de fuerza iónica (0.2 M NaCl) el flujo mínimo se obtuvo a pH = 2.

Aimar et al. (1986) determinaron las isotermas de adsorción de la BSA en membranas de poliacrilonitrilo de 20 kDa para valores de pH de 2.0, 4.7 y 7.2 en un rango de concentración de 0.1 a 50 g/L. Las isotermas de adsorción se correspondían con las leyes de Freundlich. La proteína adsorbida aumentaba: (i) al aumentar la concentración de la disolución, (ii) al aumentar el tiempo de contacto y (iii) al disminuir el pH. El menor valor de adsorción se obtuvo en el punto isoeléctrico de la proteína.

Hanemaaijer et al. (1989) comprobaron que en la filtración de suero influían la precipitación de sales poco solubles y/o la adsorción de proteínas en el interior de la membrana, variando la distribución de poros. Determinaron en membranas de polisulfona, celulosa regenerada y copolímero acrílico (6-50 kDa) la cantidad de proteína individual adsorbida en función del pH. Para la β -lactoglobulina, la resistencia hidráulica y la retención corrían paralelas y eran máximas a un pH próximo a 4, cercano al punto de mínima estabilidad (pH = 4.5). A este pH también era máxima la cantidad de proteína adsorbida. Las retenciones y resistencias eran mayores para las membranas de polisulfona de menor tamaño de poro. Para la membrana hidrófila de celulosa regenerada apenas había adsorción. La α -lactoalbúmina presentó un comportamiento similar.

Nyström (1989) filtró ovoalbúmina a través de membranas de polisulfona de 20 kDa. El flujo mínimo se obtuvo en el punto isoeléctrico de la proteína (pH = 4.58). Posteriormente la superficie de la membrana fue modificada usando un polielectrolito, polietilenimina de punto isoeléctrico 10.8, lo que aumentó considerablemente el caudal de filtrado en el intervalo de pH en el que se producía repulsión electrostática.

Bowen y Hughes (1990) estudiaron la adsorción de BSA a través de membranas simétricas de óxido de aluminio de 0.2 μm , en función de la concentración de proteína, el pH y el caudal de alimentación. La adsorción era inicialmente rápida, alcanzando un estado de equilibrio tras 30 minutos de filtración, consistente en una monocapa de proteínas fuertemente unidas y una serie de multicapas de proteínas débilmente unidas. La adsorción dependía del valor de pH; para valores menores de 6.5 la proteína adsorbida crecía hasta un máximo al pH del punto isoeléctrico; por debajo de pH = 4 se producía una menor adsorción, siendo nula a pH = 3. Estos fenómenos se explicaban en función de las interacciones electrostáticas proteína-membrana. Por otro lado se demostró que la adsorción aumentaba con el caudal de alimentación.

Opong y Zydney (1991) analizaron la filtración de BSA a través de membranas de polietersulfona de ultrafiltración (30-1000 kDa) y de microfiltración (0.16 μm). Encontraron que los depósitos formados eran muy estables, incluso para altas velocidades de filtración, y que la permeabilidad hidráulica disminuía al aumentar la presión transmembrana. Por otro lado, estudiaron la influencia del pH y de la fuerza iónica, obteniendo que la permeabilidad de los depósitos disminuía al aumentar la fuerza iónica (como resultado de un aumento de porosidad en la capa

de proteínas, al aumentar la repulsión entre las moléculas de BSA), siendo máxima al punto isoeléctrico de la BSA (formación de una estructura muy abierta con grandes agregados de proteínas ante la falta de repulsión).

Mochizuki y Zydney (1993) estudiaron la filtración de BSA a través de membranas de microfiltración de polietersulfona de 0.16 μm . Los resultados obtenidos mostraron una disminución de la transmisión con la presión transmembrana, debido a la compresión de los depósitos formados, en concordancia con el modelo de capa límite. La máxima transmisión se obtuvo en el punto isoeléctrico de la proteína. A valores de pH por encima y por debajo del punto isoeléctrico, la transmisión fue menor y dependiente de la fuerza y composición iónica (Ca^{+2} , Na^{+}).

Pujar y Zydney (1994) comprobaron la influencia de la fuerza iónica (0.0015 a 0.15 M NaCl) en la filtración de BSA a través de membranas de polietersulfona de 100 kDa. El incremento de fuerza iónica aumentaba la transmisión. Cuando la fuerza iónica pasaba de 0.0015 a 0.15 M la transmisión aumentaba en más de 100 veces, debido a la disminución del apantallamiento electrostático. Los autores desarrollaron un modelo que incluía las contribuciones por difusión, convección y transporte electroforéticos.

Iritani et al. (1994) evaluaron el efecto del pH en la adsorción de BSA a través de una membrana de nitrocelulosa de 0.1 μm . La resistencia de la membrana fue analizada mediante la ecuación de Kozeny-Carman. Comprobaron que la mayor adsorción de proteína se daba alrededor del punto isoeléctrico, aumentando la resistencia de la membrana.

Nyström et al. (1994) analizaron la adsorción de BSA con membranas de polisulfona (50 kDa) y polisulfona-zirconio (60 y 40 kDa) mediante valores de flujo y corriente de potencial. A valores altos y bajos de pH, la proteína y la membrana tenían la misma carga, con lo que ambas se repelían, disminuyendo la adsorción. En los casos en los que se producía adsorción, ésta modificaba la carga de la membrana.

Palecek y Zydney (1994a) estudiaron la adsorción de diversas proteínas (BSA, inmunoglobulina, hemoglobina, lysozima y ribonucleasa) en membranas de polietersulfona de 0.16 μm . Utilizaron

disoluciones de 5 g/L a una presión de 69 kPa. La adsorción fue mínima en el punto isoeléctrico de cada proteína. A valores de pH por encima y por debajo del punto isoeléctrico, la adsorción disminuía al aumentar la fuerza iónica, dando lugar a un incremento inicial del flujo. Esto era consistente con las interacciones electrostáticas entre las moléculas de proteína del depósito y con los fenómenos de electro-ósmosis. En otro artículo estos autores, Palecek y Zydney (1994b), ampliaron el estudio anterior a membranas de ultrafiltración de 100 kDa y 30 kDa, corroborando los resultados anteriormente obtenidos.

Bowen et al. (1995) analizaron el mecanismo de "fouling" en membranas de policarbonato (0.1, 0.2, 0.4 y 1.0 μm). Para ello filtraron BSA (1 y 0.1 kg/m^3) a pH = 5 y 0.01 M NaCl. La caída de flujo observada se explicaba por: i) taponamiento de los poros más pequeños, ii) adsorción en la superficie interior de los poros mayores, iii) bloqueo de poros y superposición de partículas, y iv) formación final de una torta. También demostraron que el aumento de la velocidad de alimentación disminuía la deposición de proteínas.

Kelly y Zydney (1995) evaluaron el fenómeno de colmatación en membranas de PVDF de 0.22 μm . Para ello filtraron soluciones de BSA de distintas concentraciones. Los resultados obtenidos indicaron que inicialmente se producía una deposición de agregados de proteínas sobre la superficie de la membrana. Posteriormente, mediante las uniones disulfuro, la proteína de la alimentación se unía al depósito ya existente en la membrana.

Millesime et al. (1995) investigaron la influencia de la fuerza iónica en la transmisión a pH = 7 de lisozima (con carga positiva) y BSA (con carga negativa) con membranas de zirconio de 150 kDa. Los datos de transmisión se ajustaron a un modelo controlado por la fuerza iónica, dependiente del término $I^{-1/2}$. Posteriormente la membrana fue modificada, por adición de polivinilimidazol en su superficie, y la transmisión adquirió forma de U en función de $I^{-1/2}$. El máximo de la curva se debía a las interacciones de las sales con la proteína y el polímero que recubría la superficie de la membrana.

Musale y Kulkarni (1996) comprobaron el efecto del pH en la filtración de proteínas. Para ello filtraron BSA con membranas de acrilonitrilo de tamaño de poro 20 nm. Estas membranas se hicieron posteriormente más hidrófilas añadiendo acrilamida en diferentes concentraciones, lo

que aumentó el flujo. La transmisión creció considerablemente con el aumento de pH en las membranas hidrófilas, permaneciendo baja en las no modificadas. La adición de acrilamida disminuyó la energía superficial de dispersión y la repulsión electrostática de las membranas.

Oppenheim et al. (1996) centraron su estudio en la colmatación de membranas por proteínas. Para ello filtraron BSA a diferentes valores de pH (5 y 7) y fuerza iónica (0.05 y 0.15 M NaCl) con membranas de polisulfona de 100 kDa, en periodos de 1 a 4 horas. A pH = 5 el flujo fue mínimo, estando la proteína adsorbida en toda su estructura. A pH = 7 el soluto adsorbido formaba sólo una capa ultra fina sobre la superficie de la membrana.

Barba et al. (1997) filtraron distintas disoluciones de BSA (4, 8, 18, 43 y 88 kg/m³) con membranas planas de polisulfona de 10 kDa. Estos autores determinaron que la caída en el flujo se debía a la colmatación de la membrana y a la presión osmótica en los momentos iniciales, y posteriormente, sólo a la presión osmótica.

Herrero et al. (1997) analizaron la influencia del pH (4, 5, 6.8 y 8), la fuerza iónica (0 y 0.15 M NaCl), la presión (14, 25, 35, 50 y 70 kPa) y la concentración de proteína (1, 3, 5 y 10 g/L) en la microfiltración de BSA con membranas de policarbonato de 0.1 µm. En todos los casos la membrana se colmataba en dos pasos: un rápido bloqueo interno inicial (fuertemente dependiente de los parámetros de operación) y una fase final de bloqueo externo (menos sensible a estos parámetros). El bloqueo inicial interno era debido a la adsorción de proteína mientras que la colmatación a largo plazo se debía principalmente a las interacciones soluto-soluto. Para valores de pH lejanos del punto isoeléctrico la colmatación disminuía, siendo especialmente bajo cuando no se introducía aditivos (pH neutro y ausencia de sales), con independencia de la presión aplicada.

Kelly y Zydney (1997) estudiaron la colmatación que distintas proteínas (BSA, Cys-BSA, ovoalbúmina, lisozima, pepsina, mioglobina, α-lactoalbúmina, mioglobina y β-lactoalbúmina) producían en una membrana de PVDF de 0.22 µm. Estos autores comprobaron que dicha colmatación tenía su origen en la deposición de proteínas y en la atracción química con esos depósitos formados. Esta atracción se debía a los enlaces intermoleculares disulfuro,

alcanzándose un estado estacionario final que era proporcional al cuadrado de la densidad de carga superficial de las proteínas.

Marshall et al. (1997) analizaron la influencia del caudal de alimentación, 50-200 L/m²h, en la colmatación de membranas de óxido de zirconio (50 y 100 nm) mediante la microfiltración de β -lactoglobulina. La colmatación aumentó con el caudal, pasando de transmisiones estables y mayores del 90 % a 50 L/m²h, a transmisiones decrecientes y menores del 20 % a 200 L/m²h. Los autores desarrollaron un modelo en el que el efecto de la colmatación se explicaba principalmente por el taponamiento del poro (la proteína se desnaturalizaba y agregaba por los esfuerzos que sufría en la filtración y que aumentaban con el caudal de alimentación).

Benavente y Jonson (1998) filtraron BSA con una membrana de polisulfona y comprobaron que el caudal de filtrado aumentaba a medida que bajaba el pH, alcanzando un máximo en el punto isoeléctrico de la proteína. El potencial zeta de la membrana era función del pH y de la fuerza iónica. A su vez determinaron que la colmatación de la membrana se debía a dos mecanismos diferentes: deposición de la proteína en los poros de la membrana y adsorción de proteína sobre su superficie.

Ghosh y Cui (1998) comprobaron que la transmisión de un soluto a través de membranas no dependía sólo del tamaño de la proteína, sino de otros factores como las interacciones soluto-soluto y soluto-membrana. Para ello filtraron BSA y lisozima con membranas de polisulfona de 50 kDa (punto isoeléctrico 4.0), obteniendo las mayores transmisiones a los puntos isoeléctricos de las proteínas (11 para la lisozima y 4.9 para la BSA). En el rango de pH de 5 a 9 la transmisión de la lisozima aumentó y la de BSA decreció, al aumentar el pH. El caudal apenas varió para la lisozima, mientras que aumentó con el pH en el caso de la BSA. Por otra parte, demostraron que un pretratamiento de la membrana con mioglobina mejoraba la transmisión de la lisozima entre un 20 y un 60 %, obteniéndose la mayor transmisión a pH = 7 (pH al que la mioglobina no tiene carga neta). Esta mejora se debía a que la mioglobina actuaba como una pantalla que impedía la formación de una capa de lisozima en la membrana, evitando la repulsión de la lisozima por sí misma.

Lucas et al. (1998) filtraron lisozima a través de membranas de zirconio de 150 kDa, parcialmente modificadas por adición de polietilenimina, con el fin de mostrar las interacciones electrostáticas proteína-membrana. La transmisión de lisozima varió entre un 0 y un 100 % en función del pH, la fuerza iónica y la naturaleza de los electrolitos. La mayor transmisión se obtuvo al pH correspondiente al punto isoeléctrico de la proteína.

Pujar y Zydney (1998) analizaron la influencia de la fuerza iónica en la filtración de dextranos y BSA con una membrana de polietersulfona de 100 kDa. El tamaño efectivo de la proteína variaba linealmente con la longitud de Debye, o lo que es lo mismo, con la inversa de la raíz cuadrada de la fuerza iónica de la solución. Los resultados se cuantificaron con modelos teóricos y mostraron la similitud existente entre los procesos de ultrafiltración y la cromatografía por exclusión de tamaños.

Burns y Zydney (1999) centraron su estudio en el efecto del pH sobre la transmisión de un variado número de proteínas (citocromo-C, mioglobina, α -quimitripsinógeno, pulmozima, BSA monómero y dímero, ovotransferrina, E25 y anti-CD 11a), de diferente carga superficial y peso molecular, a través de membranas de 100 y 30 kDa de polietersulfona. La transmisión fue máxima cerca del punto isoeléctrico y disminuía a valores de pH por encima y por debajo del mismo. Por ejemplo, la transmisión de BSA disminuyó más de 100 veces (de 0.22 a 0.002) al pasar el pH de 4.7 a 3.5. Este comportamiento de las proteínas se regía por la carga de la proteína y era proporcional al cuadrado de la carga superficial de la proteína. Dichos autores comprobaron la gran importancia de este efecto cuando la proteína y la membrana poseían grandes diferencias en las características de su superficie. Éste era el caso de la α -quimitripsinógeno (positiva a pH < 9), que experimentaba una fuerte atracción con la membrana (negativa a pH 5-9), lo que se traducía en un aumento de la transmisión de la proteína, llegando a alcanzar un segundo máximo a pH = 5.5.

Ho y Zydney (1999) analizaron el efecto de la morfología de la membrana y la estructura del poro en la colmatación. Para ello filtraron BSA a través de membranas de distintos materiales: policarbonato (0.2 μm), polietersulfona (0.16 μm), poliéster (0.2 μm), PVDF (0.22 μm), acetato de celulosa (0.2 μm), aluminio (0.2 μm) y mezcla de ésteres de celulosa (0.22 μm). Llegaron a la conclusión que las membranas de poros rectos se colmataban más rápidamente debido al

bloqueo de poros por la deposición de agregados de proteínas en la superficie de la membrana. En las membranas con poros interconectados este fenómeno era más lento, ya que el fluido podía pasar alrededor de los poros bloqueados.

Howell et al. (1999) estudiaron la transmisión de BSA en membranas de polietersulfona (50 kDa, 100 kDa) y de polisulfona (0.2 μm) a bajas presiones transmembrana, para un Reynolds de 248. Los experimentos se llevaron a cabo en el punto isoeléctrico de la BSA (4.9), por debajo (pH = 3.5) y por encima (pH = 8) de éste. Para la membrana de 50 kDa la transmisión se mantuvo baja, consiguiéndose la transmisión máxima cuando el caudal de entrada se aumentó hasta 50 $\text{Lm}^{-2}\text{h}^{-1}$ (para flujos mayores se sugería que podía cambiar la conformación de la molécula de BSA). Sin embargo, este repentino cambio no se apreció en la membrana de 0.2 μm . En la experimentación también se comprobó que la transmisión era muy superior en el punto isoeléctrico bajo las mismas condiciones de operación.

Kuberkar y Davis (1999) mejoraron la transmisión y el flujo a largo plazo en la microfiltración de BSA (con una membrana de acetato de celulosa de 0.07 μm) añadiendo una levadura. En la filtración de la proteína sola se formaba sobre la superficie de la membrana una capa de proteína poco permeable, por lo que a largo plazo la transmisión llegaba al 25-40 % de su valor inicial. Al añadir la levadura, se formaba una capa en la superficie que actuaba como una membrana secundaria. Esta capa dejaba pasar a los monómeros de BSA y evitaba la formación de agregados de proteína. Se obtuvo así una menor caída de caudal y una mayor transmisión a largo plazo, del orden del 60-90 % del valor inicial.

Menon y Zydney (1999) estudiaron la influencia del pH, fuerza y composición iónica en la transmisión de BSA a través de una membrana de polietersulfona de 100 kDa. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto la importancia de las condiciones fisico-químicas de la disolución en el proceso de filtración.

Möckel et al. (1999) filtraron cys-BSA a través de membranas fabricadas con distinta hidrofiliidad, a partir de polisulfona modificada, a valores de pH = 3, 4.8 y 9. A pH = 3 la adsorción y la disminución de caudal de filtrado fueron menores que a pH = 9, alcanzándose un máximo en estas variables en el punto isoeléctrico. Las membranas de polisulfona con carácter

hidrófilo mostraron una menor adsorción y disminución de caudal que las membranas hidrófobas originales de polisulfona no tratada. Este efecto positivo, debido al carácter hidrófilo de las membranas, se redujo al aumentar la fuerza iónica a valores de pH distintos al punto isoeléctrico, si bien aumentó en dicho punto.

Ricq et al. (1999) investigaron la influencia del pH, la fuerza iónica y la naturaleza de la sal (NaCl o CaCl₂) en la filtración de β -lactoglobulina y lisozima con una membrana inorgánica de óxido de zirconio de 150 kDa. Las medidas de corriente de potencial tomadas mostraban que las proteínas contribuían a la carga neta del sistema y que la transferencia se regía por fenómenos iónicos y estéricos. El flujo de filtrado era menor a un pH cercano al punto isoeléctrico de las proteínas. Para un valor de pH en el que las proteínas y la membrana tuvieran carga de igual signo, el flujo aumentaba si lo hacía la fuerza iónica, mientras que disminuía si la carga era opuesta. Por otra parte, la transmisión aumentaba a valores de pH cercanos al punto isoeléctrico de las proteínas y a altas fuerzas iónicas.

Su et al. (1999) evaluaron el proceso de colmatación mediante medidas de caída de caudal de filtrado y medidas de difracción. Para ello, filtraron BSA con una membrana de alúmina de 200 Å de poro. El primer experimento se hizo a pH = 5 con concentraciones entre 0.1 y 1 g/dm³. El caudal disminuía con la concentración debido a la adsorción de proteína, bloqueándose los poros internamente. Las siguientes medidas se hicieron a valores de pH lejanos del punto isoeléctrico a una concentración de 1 g/dm³. A pH = 3 se observó una mayor caída del flujo, bloqueándose en este caso la parte frontal de la superficie de la membrana. A pH = 7 la caída fue menor que a pH = 3, con una deposición intermedia de la proteína debida a una adsorción lenta en el interior de los poros de la membrana.

Huisman et al. (2000) analizaron la influencia de las interacciones proteína-proteína y proteína-membrana en la ultrafiltración de BSA con membranas poliméricas de polisulfona de varios tamaños (30, 100 y 300 kDa). Para ello midieron el flujo, la corriente de potencial y la transmisión a distintos valores de pH. Las interacciones proteína-membrana influían en la colmatación inicial de la membrana. En las etapas posteriores eran las interacciones proteína-proteína las que controlaban el proceso. Por otra parte, obtuvieron imágenes por microscopía electrónica de las superficies de las membranas tras la filtración, mostrando que estaban totalmente cubiertas por

capas de proteínas. La estructura de estas capas dependía enormemente del pH. A valores bajos de pH, por debajo del punto isoeléctrico, las estructuras eran muy abiertas y presentaban altas permeabilidades, lo que provocaba altos valores de flujo y de la transmisión.

Jones y O'Melia (2000) estudiaron el efecto del pH, la fuerza iónica y la concentración de la disolución de entrada en la adsorción de BSA y ácido húmico en la ultrafiltración con membranas de celulosa regenerada de 30 kDa. Para ambos solutos la adsorción disminuía al aumentar el pH. El aumento en la fuerza iónica reducía la repulsión electrostática entre partículas igualmente cargadas (aumentando la adsorción) y disminuía la atracción entre materiales con carga opuesta (disminuyendo la adsorción). Ambos autores concluyeron que se podía reducir la adsorción de soluto en membranas mediante un control de las interacciones electrostáticas, disminuyendo por tanto la colmatación de la membrana a largo plazo.

Rabiller-Baudry et al. (2000) filtraron lisozima con una membrana de zirconio de 150 kDa, modificada con polietilenimina, a distintos valores de pH (4, 7 y 9) y fuerza iónica. Estos autores también caracterizaron electrocinéticamente el sistema proteína-membrana-electrolito a fin de justificar las interacciones electrostáticas. Comprobaron que el potencial zeta y la movilidad de la membrana dependían del pH, la fuerza iónica y la naturaleza del electrolito. Además ajustaron los resultados a un modelo de convección-difusión que incluía los fenómenos electroforéticos. A partir del modelo definieron un número adimensional $\mu_i \psi_Z / J_F \delta$ (análogo al número de Peclet) que comparaba el transporte de proteína debido a fuerzas electrostáticas con el debido a convección.

Su et al. (2000) estudiaron la colmatación producida por albúminas (BSA y HSA) en membranas cerámicas de alúmina, con tamaños entre 200 y 2000 Å, en función del pH. El comportamiento de ambas proteínas con el pH fue similar al observado en trabajos anteriores (Su et al., 1999), con una alta deposición de proteína en el interior de los poros a pH = 5. Por otra parte, analizaron el efecto producido por la velocidad de filtración, constatando que el caudal de filtrado decrecía más rápidamente a elevadas velocidades. La deposición de proteínas en el interior de los poros fue similar en todos los casos. No obstante, a medida que aumentaba la velocidad crecía el bloqueo superficial de la membrana.

Babu y Gaikar (2001) analizaron la influencia de la hidrofobicidad de la membrana en el fenómeno de colmatación. Para ello filtraron BSA con membranas de triacetato de celulosa (CTA, de 20 kDa) y celulosa regenerada (RC, de 30 kDa). Se comprobó una mayor adsorción de proteína en las membranas de CTA, que eran más hidrófobas. La presencia de electrolitos en la alimentación aumentaba la colmatación, reduciendo el flujo; por el contrario, el aumento de temperatura disminuía la adsorción.

Burns y Zydney (2001) comprobaron la validez de los modelos teóricos disponibles con los datos obtenidos de la filtración de ovotransferrina a través de membranas de polietersulfona de 100 kDa. Explicaron la influencia del pH y la fuerza iónica y el máximo local de transmisión encontrado a pH = 9 y a fuerza iónica intermedia.

Chilukuri et al. (2001) estudiaron el efecto que la velocidad de filtración y la adición de sodio dodecil sulfato (SDS) tenían en la microfiltración de lactoferrina, a través de una membrana de óxido de zirconio de 100 nm. Las curvas de resistencia frente a tiempo mostraron una fase inicial de lenta colmatación (por bloqueo o deposición de agregados). Este efecto era estable y bajo a 50 L/m²h, aumentando drásticamente conforme aumentaba el caudal de filtrado al formarse una capa superficial de polarización. Por su parte la transmisión era cero inicialmente, aunque aumentaba rápidamente hasta llegar a un máximo. Por ejemplo, para 100 y 200 L/m²h la transmisión fue del 90 % durante los 15-25 primeros minutos; a partir de aquí empezó a decrecer rápidamente. Sin embargo, para 50 L/m²h la transmisión se mantuvo todo el tiempo en un 90 %.

Jones y O'Melia (2001) llevaron a cabo la filtración de BSA y ácido húmico a través de membranas de celulosa regenerada (30 y 100 kDa) y de diacetato de celulosa (50 kDa), a fin de relacionar la adsorción con el grado de colmatación de la membrana en estado estático y dinámico. Si bien las fuerzas de convección aumentaban la cantidad de material acumulado cerca de la membrana, las interacciones electrostáticas jugaban un papel mayor. La resistencia irreversible era mayor en el caso dinámico y en las condiciones de pH correspondientes al punto isoeléctrico de la proteína.

Rabiller-Baudry et al. (2001) filtraron lisozima y lactoferrina a través de membranas inorgánicas de óxido de zirconio de 300 kDa, modificadas mediante la unión de distintos grupos (aniónicos y

cationicos). A pH = 7, el caudal y la transmisión aumentaban al aumentar la fuerza iónica (0-1000 mM), aunque los valores obtenidos eran más bajos que los esperados por efectos puramente estéricos.

Noordman et al (2002) estudiaron el efecto del pH y la fuerza iónica en la filtración de BSA con membranas de polietersulfona de 30 kDa. Para ello trabajaron en un intervalo de pH 3-8 y fuerza iónica 5-150 mM, en NaCl. En los experimentos realizados el flujo mínimo se obtuvo a valores de pH correspondientes al punto isoeléctrico de la proteína. Para valores de pH por encima del punto isoeléctrico se produjo un rechazo de los iones cloruros, debido a la repulsión entre éstos y las proteínas cargadas negativamente. A un pH = 3 (por debajo del punto isoeléctrico), los iones cloruros eran atraídos por la proteína, cargada positivamente. En cuanto a la fuerza iónica, se observó un aumento del flujo a medida que ésta disminuía. Los resultados obtenidos se explicaron mediante un modelo basado en la teoría de transferencia de materia de Maxwell-Stefan, que tiene en cuenta los efectos electrostáticos.

Palacio et al. (2002) analizaron los datos de caudal de filtrado para estudiar el comportamiento de distintas proteínas (BSA, lisozima, pepsina, inmunoglobulina G y mioglobina) a través de membranas de policarbonato de 0.2 μm , mediante un modelo que incluía el bloqueo de poros y la formación de una capa de proteínas. La caída inicial de flujo se debía al bloqueo de poros, asociado con la presencia de agregados de proteínas en la solución (como es el caso de la BSA y la mioglobina). La transición a la formación de una capa de proteínas en la superficie de la membrana se apreciaba claramente para la BSA y la mioglobina (máximo en la representación de d^2t/dV_F^2 frente a dt/dV_F), pero apenas para el resto de las proteínas.

Ghosh et al. (2003) estudiaron la influencia del pH y fuerza iónica en la transmisión de distintas proteínas (lisozima, BSA, 1H anticuerpo monoclonal, HSA y HlgG) con membranas de polietersulfona (30, 100 y 300 kDa). Por ejemplo, en el caso de la lisozima y con la membrana de 30 kDa, la transmisión máxima no se dio a pH = 11 (punto isoeléctrico) sino a valores de pH entre 6.5 y 10 debido a la dimerización de la proteína. Para la BSA y con la membrana de 100 kDa, la transmisión fue mínima a pH = 5.8, constante a un pH entre 8.7 y 7.5, y máxima a pH = 4.8.

Marchese et al. (2003) comprobaron cómo la composición de la membrana influía en la permeabilidad de la misma. Para ello filtraron BSA y DL-Histidina (DLH) a través de membranas preparadas a partir de polietersulfona (diámetro de poro 3.32, 4.06 y 4.32 nm) y distintas cantidades de polivinil-pirrolidona (PVP). La PVP cambió la hidrofiliidad de la membrana aumentando su permeabilidad. Se comprobó que la BSA se adsorbía en la superficie de la membrana, mientras que la DLH lo hacía en el interior de los poros.

Persson et al. (2003) estudiaron la transmisión de BSA a través de dos membranas de microfiltración (nylon 0.2 μm y polietersulfona 0.16 μm). La transmisión fue mayor para la segunda membrana, al tener menor capacidad de adsorber proteína. En cualquier caso la transmisión dependía del pH y de la fuerza iónica de la disolución. A pH = 5, punto isoeléctrico de la BSA, la transmisión fue máxima (100 %). A pH = 3 y 7 los valores fueron inferiores al 40 %; no obstante, un aumento del contenido salino incrementó significativamente la transmisión. Este comportamiento se podía explicar atendiendo a las interacciones proteína-membrana y proteína-proteína. La falta de repulsión electrostática y/o el apantallamiento de cargas maximizaba la transmisión.

Velasco et al. (2003) analizaron la influencia de la presión transmembrana en la adsorción de BSA en membranas de polietersulfona de 0.45 μm a valores de pH entre 4 y 6. Los resultados obtenidos demostraron que las interacciones electrostáticas ejercían una mayor influencia que la presión. En ausencia de dichas interacciones la adsorción aumentaba a medida que lo hacía la presión.

Shao y Zydney (2004) filtraron pequeñas impurezas (azul cibacron 3GA -774 Da-, rosa bengala -1017 Da- y vitamina B₁₂ -1355 Da-) a través de membranas de polietersulfona y composite de celulosa regenerada, ambas de 30 kDa a pH = 7. La clarificación de pequeñas impurezas es algo muy común en múltiples procesos, si bien esto puede ser inadecuado cuando las impurezas se hallan cargadas, debido a las interacciones electrostáticas con la membrana cargada. Las anteriores impurezas se caracterizaban por su distinta carga eléctrica, así como las membranas por su diferente carga superficial. Dichas impurezas, fuertemente cargadas, fueron rechazadas por ambas membranas, aunque su tamaño fuese mucho menor que el tamaño del poro de las membranas. Esto se redujo aumentando mucho la fuerza iónica de la disolución: la transmisión

del azul cibacrón, pasó de 0.2 (10 mM) a más de 0.85, mediante la adición de KCl, 500 mM en la membrana de polietersulfona. Los valores de transmisión se ajustaron bien a modelos basados en la separación de esferas cargadas en poros cilíndricos cargados, y se pudo calcular la fuerza iónica mínima para excluir la repulsión electrostática (120 mM para el azul cibacron a través de una membrana de 30 kDa).

Rao y Zydney (2005) quisieron comprobar cómo afectaba a la transmisión de una proteína la adición de un pequeño ligando altamente cargado, el cual se uniera selectivamente a la proteína de estudio. Para ello emplearon BSA con el tinte azul cibacron con membranas neutra (30 y 100 kDa) y negativa (100 kDa) de celulosa regenerada, a fin de estudiar las interacciones electrostáticas. La adición de 1 g/L de azul cibacron a una disolución de 8 g/L de BSA redujo la transmisión de la proteína en más de 2 órdenes de magnitud en la membrana negativa, lo cual se eliminó añadiendo gran cantidad de sal o bien usando la membrana neutra. Los datos se correlacionaron bien con los modelos de reparto de esferas cargadas en poros cargados, teniendo en cuenta la variación de carga de la proteína debida al ligando y la fuerza iónica.

Salgin et al. (2005) estudiaron las interacciones proteína-membrana-ambiente iónico a partir de las características químicas y electroquímicas de las membranas de ultrafiltración y de la proteína (en este caso BSA), dada su influencia en la adsorción de proteína sobre la membrana, lo cual se reflejaba en la colmatación de ésta. Para ello utilizaron membranas de 10 kDa de polietersulfona -PES- (hidrófoba) y de triacetato de celulosa -CTA- (hidrófila) a valores de pH 3.78, 4.78 y 6.80, con fuerzas iónicas 0.01 y 0.1 M. En ambas membranas las isothermas de adsorción se correspondían a la ecuación de Freundlich, adsorbiéndose más en la hidrófoba. Para la membrana de PES la mayor adsorción se obtuvo a pH = 3.78 y la menor al punto isoeléctrico de la BSA (pH = 4.78). Conforme se aumentaba la fuerza iónica, disminuía la adsorción en ambas membranas.

Thomassen et al. (2005) analizaron el efecto de la variación de la presión transmembrana y la velocidad de flujo en la colmatación de una membrana de microfiltración de óxido de titanio y 0.45 μm , mediante la filtración de una cerveza modelo constituida por dextrina y proteína a un pH = 4.8. Comprobaron que para una velocidad dada, un aumento en la presión provocaba una reducción en la transmisión de ambas, debido a un aumento en el espesor de la capa de

colmatación a causa de los mayores flujos de filtrado. Por su parte, para una presión transmembrana dada, un aumento en la velocidad de transmisión aumentaba la transmisión de la dextrina y la proteína, ya que se inhibía la formación de la capa de colmatación.

Mehta y Zydney (2006) estudiaron el efecto de la densidad de carga de la membrana sobre el transporte de proteína y la permeabilidad hidráulica. Para ello usaron una serie de membranas de celulosa (30 kDa) modificadas a partir de la adición de una amina cuaternaria. A través de la filtración de citocromo C comprobaron que la transmisión de la proteína disminuía en un factor de 100 conforme el potencial zeta de la membrana pasaba de 0.3 a 6.6 mV. Los valores fueron consistentes con los modelos de partición y de flujo, constituyendo el primer análisis cuantitativo de los efectos de la densidad de carga de la membrana en la ultrafiltración.

3.2. FRACCIONAMIENTO DE PROTEÍNAS

Entre los estudios que aplican los principios de la filtración tangencial de alta resolución al fraccionamiento de proteínas se destacan los siguientes:

Nakao et al. (1988) estudiaron la filtración de proteínas individuales y mezclas (BSA, mioglobina y citocromo-C) a través de membranas de polisulfona de 2000 kDa. Comprobaron que la máxima transmisión se producía al pH correspondiente al punto isoeléctrico de cada proteína. Por otro lado, cuando se filtró una mezcla de mioglobina y citocromo-C al pH del punto isoeléctrico de la mioglobina, la transmisión observada fue del 100 % para la mioglobina y del 80 % para el citocromo-C. A un pH correspondiente al punto isoeléctrico del citocromo-C, éste pasó completamente; sin embargo la mioglobina fue rechazada en un 80 %, consiguiéndose una mejor separación. Esta separación podía explicarse por las repulsiones mioglobina-membrana, ambas negativamente cargadas.

Nakatsuka y Michaels (1992) filtraron soluciones acuosas de BSA y mioglobina a través de membranas de celulosa regenerada y de polisulfona de 30 kDa. Observaron la influencia de la concentración de soluto, la presión, el pH, la fuerza iónica y el pretratamiento de la membrana. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que las condiciones de operación controlaban el

flujo y la transmisión a través de la membrana, como consecuencia de sus efectos sobre la adsorción.

Mehra y Donnelly (1993) analizaron el efecto del pH, el ambiente iónico y la presencia de calcio en la filtración de soluciones de proteínas séricas a través de una membrana hidrófila de celulosa de 100 kDa. Observaron que un aumento de pH en el rango 5-10 aumentaba la velocidad de filtración y la permeabilidad individual de cada proteína. También comprobaron el efecto negativo de la presencia de calcio. Por otro lado, a pH = 8 se consiguió una buena separación de las proteínas de bajo peso molecular (β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina) de las de alto peso molecular (BSA, lactoferrina e inmunoglobulinas).

Saksena y Zydney (1994) estudiaron el fraccionamiento de BSA e inmunoglobulinas, a distintas condiciones de pH y fuerza iónica a través de membranas de 100 y 300 kDa de polietersulfona. Con la membrana de 100 kDa y bajo condiciones fisiológicas (pH = 7 y 0.15 M NaCl) la máxima selectividad que se obtuvo fue de 2.0. Por el contrario se consiguieron selectividades de hasta 50 a pH = 4.8 y 0.0015 M NaCl. Esta selectividad podía invertirse, con un mayor paso de IgG, mediante una membrana de 300 kDa a pH = 7.4 y 0.0015 M NaCl. Estos resultados demostraron claramente que la efectividad en la separación de proteínas se podía alterar drásticamente mediante el control de las interacciones electrostáticas a través de cambios en el pH y/o fuerza iónica.

Van Eijndhoven et al. (1995) consiguieron separar dos proteínas de similar peso molecular, albúmina (69000) y hemoglobina (67000), trabajando a pH = 7 (punto isoeléctrico de la hemoglobina) mediante una membrana de 100 kDa de polietersulfona. Se obtuvo una recuperación del 70 % de la hemoglobina tras una diafiltración con 3 diavolúmenes.

Iritani et al. (1997) separaron mezclas binarias de BSA y lisozima con membranas de 30 kDa de polisulfona y de celulosa regenerada. Los resultados obtenidos indicaron que las interacciones proteína-proteína controlaban la velocidad de filtración y la selectividad. A pH = 7 (intermedio entre los puntos isoeléctricos de ambas proteínas), donde la BSA estaba negativamente cargada y la lisozima lo estaba positivamente, un aumento en la concentración de NaCl disminuía la

selectividad, ya que aumentaba la transmisión de lisozima debido a una disminución de la doble capa eléctrica.

Musale y Kulkarni (1997) filtraron, por separado y conjuntamente, BSA ($pI = 4.8$) y hemoglobina ($pI = 6.8$) con dos membranas modificadas de poliacrilonitrilo en un rango de pH entre 4.0 y 7.5. Los datos de flujo y rechazo se explicaron por la adsorción de proteínas y el consiguiente estrechamiento del poro como resultado de interacciones electrostáticas e hidrófobas. Para la membrana más hidrófila se observaba un aumento del flujo y de la transmisión de ambas proteínas cuando el pH se incrementaba por encima del punto isoelectrico. Este comportamiento varió cuando se filtró la mezcla binaria, explicándose en este caso los resultados obtenidos por la adsorción preferencial de la hemoglobina y las interacciones electrostáticas entre ambas proteínas.

Van Reis et al. (1997) establecieron que la filtración tangencial de alta resolución podía permitir separaciones entre solutos cuya relación de peso molecular fuera menor a 10. Para ello filtraron una mezcla de BSA-inmunoglobulina a través de una membrana de polietersulfona de 300 kDa. La mayor selectividad se obtuvo a un pH cercano al punto isoelectrico de la proteína más permeable, a fin de reducir la exclusión electrostática. Por otra parte, separaron monómeros y dímeros de BSA mediante un proceso en dos etapas a través de membranas de 150 kDa (polietersulfona) y 10 kDa (celulosa regenerada).

Ghosh y Cui (1998) estudiaron el fraccionamiento de BSA y lisozima con una membrana de polisulfona de 50 kDa. Las selectividades obtenidas variaron desde 3.3 para $pH = 5.2$, hasta 220 para $pH = 8.8$. Por otra parte, comprobaron que un pretratamiento de la membrana con mioglobina producía una mejora de la selectividad, ya que aumentaba la transmisión de lisozima.

Le Berre y Daufin (1998) consiguieron separar las proteínas de la leche: caseínas y proteínas séricas, con una membrana cerámica de $0.1 \mu m$, modificando la carga y tamaño mediante cambios fisicoquímicos (tratamiento térmico, pH, fuerza iónica, adición de iones). La mejor separación se obtuvo para una fuerza iónica de 1 M.

Nyström et al. (1998) estudiaron la filtración de mezclas binarias de distintas proteínas a través de membranas orgánicas de ultrafiltración. Las proteínas estudiadas fueron lisozima, mioglobina,

conalbúmina, BSA, lactoferrina y ovoalbúmina, con pesos moleculares comprendidos entre 15.000 y 80.000 g/mol y con puntos isoeléctricos entre 4.6 y 11. Se emplearon membranas de celulosa regenerada, polisulfona, polietilen-teraftalao y policarbonato, con tamaños de corte: 30, 50, 100 y 200 kDa y 0.19 y 0.20 μm . En todas las mezclas binarias ensayadas la presión transmembrana fue inferior a 1 bar. En algunos casos se modificó la fuerza iónica de la solución por adición de sales. Los resultados obtenidos mostraban mayor selectividad en el fraccionamiento cuando el pH de la solución era cercano al punto isoeléctrico de la proteína a filtrar. El aumento de fuerza iónica disminuía la selectividad. Por otro lado, la mayoría de las proteínas necesitaban una presión mínima para atravesar la membrana, aumentando la transmisión con la presión. También se observó que la transmisión decrecía si se aumentaba la velocidad de flujo. Concluyeron así que se podían obtener muy buenas selectividades, incluso para proteínas de parecido tamaño, mediante la optimización de las condiciones de operación.

Punidades y Rizvi (1998) filtraron leche parcialmente desnatada con una membrana cerámica de 0.05 μm de tamaño de poro a 50 °C, 5.4 m/s y 138 kPa. Se obtuvo una fracción rica en caseína y otra rica en proteínas séricas. El filtrado mantenía sus características funcionales (poder espumante, formación de geles...).

Van Reis et al. (1999) analizaron el efecto del pH en la separación de una mezcla de proteínas de similar tamaño: 68 y 45 kDa, utilizando una membrana de polietersulfona de 100 kDa. Comprobaron que una adecuada selección del pH de trabajo mejoraba la separación.

Shukla et al. (2000) investigaron la separación de dos proteínas de parecido peso molecular, BSA (69 kDa) y hemoglobina bovina (67 kDa) mediante ultrafiltración con membranas de celulosa regenerada, polisulfona y poliacrilonitrilo modificado de 100 kDa. Analizaron el efecto del pH y de la fuerza iónica. La mejor selectividad se obtuvo para la membrana de poliacrilonitrilo, a pH = 6.8 (punto isoeléctrico de la hemoglobina) y fuerza iónica 0.15 M, con factores de separación de 40.

Cheang y Zydney (2003) estudiaron la separación de α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina utilizando membranas de celulosa regenerada (30 kDa) y polietersulfona (50 kDa). A pH = 5.5 y 50 mM de fuerza iónica se obtuvo con la membrana de 30 kDa una selectividad de 55. A partir

de estos datos se diseñó un proceso de diafiltración continua para la separación. Para 16 diavolumenes, se consiguió un retenido de β -lactoglobulina con un factor de purificación de 100 y una recuperación del 90 %, así como un filtrado de α -lactoalbúmina con un factor de purificación de 10 y casi un 99 % de rendimiento.

Ghosh (2004) llevó a cabo la separación de inmunoglobulina y seroalbúmina humanas en un solo paso, combinando tres procesos: precipitación mediante sulfato de amonio, microfiltración y adsorción sobre membrana (PVDF de 0.65 μm), todos ellos en el mismo equipo de filtración. La membrana de microfiltración retuvo la HlgG mediante dos mecanismos, mientras que la HSA pasó sin quedar retenida. Se obtuvieron fracciones con purezas superiores al 96 % y recuperaciones superiores al 95 %.

Kanani et al. (2004) utilizaron la BSA (67 kDa y $\text{pI} = 4.9$) como agente para facilitar la separación de dos proteínas modelos de pesos moleculares parecidos, con membranas de polietersulfona (30 kDa) y a un $\text{pH} = 9$. Cuando se filtró primeramente una mezcla binaria de mioglobina (17 kDa y $\text{pI} = 7$) y lisozima (14 kDa y $\text{pI} = 11$), la lisozima se transmitió substancialmente más que la mioglobina. Sin embargo, añadiendo BSA a la alimentación, la membrana retuvo bastante a la lisozima, aumentando significativamente la transmisión de mioglobina e invirtiendo por tanto la selectividad en la separación. La reducción en la transmisión de lisozima se debió a las interacciones electrostáticas BSA-lisozima, mientras que el aumento en la mioglobina fue consecuencia del efecto Donan. La correcta elección del agente separador podía por tanto manipular la transmisión de ambas proteínas en la dirección deseada, aumentando la flexibilidad de la filtración de alta resolución de proteínas mediante ultrafiltración.

Filipe y Ghosh (2005) filtraron varias mezclas binarias de proteínas (BSA-lisozima, mioglobina-lisozima, HlgG-lisozima y BSA-mioglobina) a través de membranas de polietersulfona (30 y 50 kDa) y PVDF (0.2 μm) con objeto de estudiar las interacciones proteína-proteína sobre la transmisión. En dichas mezclas una de las proteínas se transmitía preferentemente, mientras que la otra se retenía totalmente o en parte. El efecto de la proteína "retenida" sobre la transmisión de la otra dependía del tipo de interacción (asociativa, repulsiva o neutra) que existiera entre ellas. Dichas interacciones no sólo dependían de las proteínas elegidas, sino también de las condiciones de operación (pH y concentración de sal).

Wan et al. (2005) estudiaron el fenómeno denominado por algunos autores "selectividad inversa", en la cual se da mayor transmisión de la especie de mayor tamaño, mediante la filtración de BSA y el anticuerpo monoclonal alentuzumab (Campath-1H) a través de una membrana PES de 300 kDa, a diferentes condiciones de pH y fuerza iónica. Consiguieron obtener alentuzumab (155 kDa) purificado en el filtrado, con un valor de selectividad inversa alrededor de 10, a pH = 9 y 1.5 mM de NaCl. Dicha selectividad aumentaba conforme lo hacía el flujo de filtrado.

3.3. MODELOS DE FLUJO

Para la implantación de la tecnología de membranas a escala industrial, es importante disponer de modelos matemáticos que describan el transporte de los solutos a través de los poros de la membrana y reproduzcan la realidad fenomenológica.

Aunque se dispone de numerosas teorías, realmente son pocos los modelos que permiten predecir a priori la evolución del proceso de filtración (Russotti y Göklen, 2001) y por tanto garantizar el escalado de la operación. En este sentido, el desarrollo de modelos ha de ser una línea prioritaria de investigación.

No obstante, los modelos desarrollados han ayudado al mayor conocimiento del complejo proceso de filtración, han permitido la interpretación de resultados y constituyen la base del conocimiento.

A continuación se resumen las teorías más utilizadas:

3.3.1. Modelo hidrodinámico

Han sido muchas las distintas aproximaciones utilizadas para describir el transporte de soluto y disolvente a través de las membranas. Entre ellas tenemos el análisis de Kedem-Katchalsky (1958) y las ecuaciones de difusión de Stefan-Maxwell (Thiel y Lloyd, 1988; Bellara y Cui, 1998). Estas aproximaciones se obtienen a partir de principios termodinámicos, donde el soluto y el flujo están relacionados con la presión y el gradiente de concentración.

Por el contrario, los modelos hidrodinámicos resuelven ecuaciones de movimiento para un soluto bien definido (normalmente esférico) en un poro establecido (normalmente cilíndrico). Aunque estas aproximaciones conducen a ecuaciones similares a las anteriores, los modelos hidrodinámicos tienen la ventaja de que son capaces de estimar a priori los efectos del soluto y las características del poro en el transporte por la membrana.

Flujo a través de la membrana

La velocidad de filtración, U_p , a través de una membrana ideal viene dada por la ley de Hagen-Poiseuille:

$$U_p = \frac{r_p^2 (\Delta P)_m}{8\mu \delta_M} \quad [3.1]$$

donde:

$(\Delta P)_m$ = presión transmembrana media

r_p = radio del poro

μ = viscosidad del disolvente

δ_M = espesor de la membrana

La ecuación [3.1] sólo es válida en ausencia de presión osmótica u otros efectos de rechazo. A esta expresión se le puede agregar un factor de tortuosidad en el denominador para tener en cuenta la morfología de la membrana.

La permeabilidad hidráulica de la membrana, H_M , se utiliza en el análisis de Kedem-Katchalsky y se define a partir de la expresión anterior como:

$$H_M = \frac{J_F}{(\Delta P)_m} = \frac{\chi r_p^2}{8\mu \delta_M} \quad [3.2]$$

siendo la segunda expresión válida para una membrana con poros cilíndricos. El término J_F es el flujo volumétrico de filtrado, que es igual a $\chi \cdot U_p$, donde χ es la porosidad de la membrana. Para las membranas asimétricas, la permeabilidad es mucho mayor que en las membranas simétricas, a igual tamaño de poro y valor de porosidad. Esto se debe a que el espesor de capa en la membranas asimétricas ($\delta_M \approx 0.5 \mu\text{m}$) es menor que en las simétricas ($\delta_M \approx 100 \mu\text{m}$).

La permeabilidad depende mucho del radio del poro, como se aprecia en la ecuación [3.2]. Sin embargo el radio de poro no es uniforme. En la membrana existe una distribución de poros de diferente tamaño. Esta distribución hace que la velocidad media de filtración se defina como:

$$\overline{U_p} = \frac{\int_0^{\infty} U_p N_p(r) \pi r^2 dr}{\int_0^{\infty} N_p(r) \pi r^2 dr} \quad [3.3]$$

donde $N_p(r)$ es el número de poros de radio r . Para expresar la distribución de tamaños de poros muchos autores han empleado una densidad de probabilidad o fracción de poros de tamaño r del tipo (Zydney et al., 1994):

$$f(r) = \frac{1}{r\sqrt{2\pi b}} \exp\left[-\frac{\left(\ln\frac{r}{r_p} + \frac{b}{2}\right)^2}{2b}\right], \text{ con } b = \ln\left[1 + \left(\frac{\sigma}{r_p}\right)^2\right] \quad [3.4]$$

en la que el término b se expresa en función del radio medio r_p , y de la desviación estándar σ .

La presencia de diferentes solutos en la disolución de alimentación altera el flujo. Éstos varían la viscosidad, las características del poro por colmatación y generan presión osmótica, lo que contribuye a disminuir la velocidad de filtración según la ecuación [3.1]. La adsorción de soluto y la deposición de partículas en la superficie de la membrana disminuyen igualmente el flujo.

Transporte del soluto

El flujo de soluto por el interior de una membrana, N_s , es igual a la suma de la contribución de los fenómenos de convección y difusión:

$$N_s = K_C U_P C_s - K_D D_s \frac{dC_s}{dz} \quad [3.5]$$

donde C_s es la concentración de soluto en el poro (promediada en dirección radial), D_s es el coeficiente de difusión binaria del soluto, y z es la posición axial en el poro. Por su parte K_C y K_D son los coeficientes de retraso en el movimiento del soluto provocados por las paredes del poro, para el flujo másico y la difusión respectivamente. Estos factores provienen de la resistencia adicional que ejercen las paredes del poro sobre las moléculas de soluto. Por tanto, dichos factores dependen tanto de la razón de tamaños entre el soluto y el poro, como de las interacciones (v. gr. electrostáticas) entre el soluto y las paredes del poro.

Estos coeficientes hidrodinámicos se obtienen resolviendo la ecuación de Navier-Stokes a partir de una serie de aproximaciones. Algunos autores han propuesto diversas expresiones para ellos (Bungay y Brenner, 1973).

En la Figura 3.1 (Zeman y Zydney, 1996) se representan las diferentes concentraciones de soluto. Las concentraciones en el interior de los poros de la membrana, a la entrada ($z = 0$) y a la salida ($z = \delta_M$), se hallan en equilibrio con las concentraciones en el exterior, C_w y C_F :

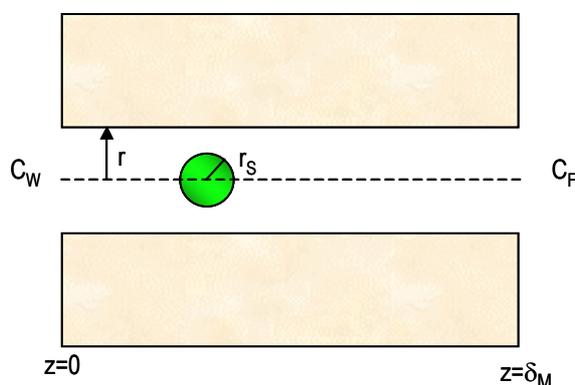


Figura 3.1 Representación de un soluto esférico en un poro cilíndrico

$$\phi = \frac{C_{S,z=0}}{C_W} = \frac{C_{S,z=\delta_M}}{C_F} \quad [3.6]$$

donde C_W es la concentración de soluto en la capa límite superficial por la que entra la alimentación, C_F la concentración en la capa límite por donde sale el filtrado y ϕ el coeficiente de partición entre la solución externa y el poro de membrana. La ecuación [3.6] es válida cuando $\delta_M/r_p \gg 1$. Para un soluto esférico en un poro cilíndrico en ausencia de interacciones la expresión para ϕ es:

$$\phi = (1-\lambda)^2, \text{ donde } \lambda = \frac{r_s}{r_p} \quad [3.7]$$

A partir de este modelo y asumiendo un estado casi-estacionario en el interior del poro, con un flujo de soluto independiente de la posición axial, se puede integrar la ecuación [3.5] a través de la membrana, obteniendo la ecuación [3.8]:

$$N_s = \phi K_c U_p \left[\frac{C_W \exp(\text{Pe}_M) - C_F}{\exp(\text{Pe}_M) - 1} \right] \quad [3.8]$$

donde Pe_M es el número de Peclet para la membrana, calculado como:

$$\text{Pe}_M = \left(\frac{U_p \delta_M}{D_s} \right) \left(\frac{\phi K_c}{\phi K_d} \right) = \left(\frac{J_f \delta_M}{D_s} \right) \left(\frac{\phi K_c}{\chi \phi K_d} \right) \quad [3.9]$$

Para altas velocidades de filtración, $\text{Pe}_M \rightarrow \infty$, con lo que el flujo está controlado por la convección y la ecuación [3.8] se reduce a:

$$N_s = \phi K_c U_p C_W \quad [3.10]$$

Cuando el proceso está controlado por la difusión, $\text{Pe}_M \rightarrow 0$, y por tanto el flujo se hace proporcional a la diferencia de concentración a través de la membrana, con lo que la ecuación [3.8] se reduce a:

$$N_s = \frac{\phi K_D D_s}{\delta_M} (C_W - C_F) \quad [3.11]$$

La transmisión (S) se define como la razón, en la capa límite, entre la concentración de soluto a la salida (C_F) y a la entrada del poro (C_W). De esta forma, a partir de las ecuaciones anteriores se llega a:

$$S = \frac{C_F}{C_W} = \frac{S_\infty \exp(\text{Pe}_M)}{S_\infty + \exp(\text{Pe}_M) - 1} \quad [3.12]$$

siendo S_∞ el valor asintótico al que llega S cuando $\text{Pe}_M \rightarrow \infty$: de acuerdo con la ecuación [3.12], será 1 para $\text{Pe}_M \rightarrow 0$.

Este modelo ha sido ampliamente estudiado por Deen (1987) y Anderson y Quinn (1974) y ha servido de base para muchos autores (Zeman y Zydney, 1996).

3.3.2. Modelo de capa de polarización

Durante la filtración a través de membranas, los sólidos de la alimentación son empujados hacia la superficie de la membrana mediante convección; si los solutos son rechazados en parte por la membrana, se origina una mayor concentración local de los solutos rechazados en la superficie de la membrana en comparación con la alimentación en contacto con la membrana, con independencia de que los solutos se rechacen parcial o totalmente, dando lugar a una capa de polarización.

Como se muestra en la Figura 3.2, el aumento de la concentración de soluto en la superficie de la membrana por convección, genera un flujo en sentido contrario por difusión. Esta corriente se debe a un gradiente de concentración. Finalmente se alcanza un equilibrio entre ambas corrientes, llegándose a un estado estacionario.

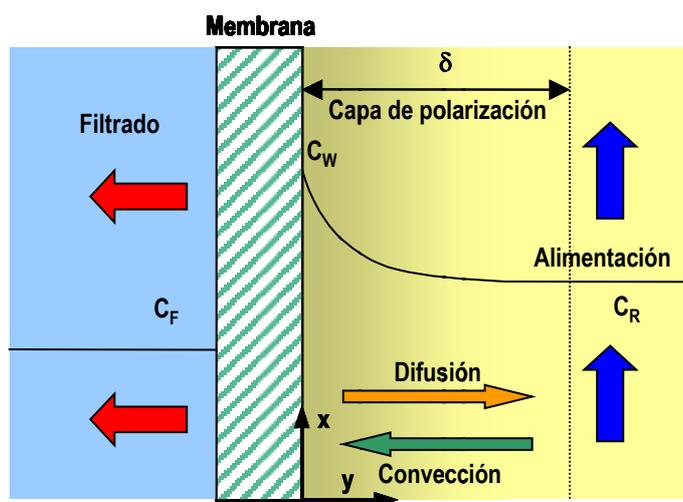


Figura 3.2 Representación de la capa de polarización

Modelo

El perfil de concentraciones se describe mediante las ecuaciones de conservación de materia:

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x}(U_{Px} C) + \frac{\partial}{\partial y}(U_{Py} C) = \frac{\partial}{\partial y} \left(D_s \frac{\partial C}{\partial y} \right) \quad [3.13]$$

donde U_{Px} y U_{Py} , son las velocidades del fluido en la dirección x (tangencial) e y (transmembrana), respectivamente y C la concentración local de soluto.

La influencia de la convección del soluto en la dirección x se considera despreciable, en comparación con la convección en la dirección tangencial. La ecuación [3.13] se resuelve mediante las siguientes condiciones límites en la superficie:

$$U_{Py} = -J_F \quad [3.14]$$

$$U_{Py} C_w - \left(D_s \frac{\partial C}{\partial y} \right)_w = -N_s \quad [3.15]$$

Los términos negativos del lado derecho de las ecuaciones [3.14] y [3.15] indican que la velocidad transmembrana U_{Py} se da en la dirección negativa de y , mientras que el flujo de filtrado J_F , y el flujo de soluto N_S , se consideran positivos.

A fin de simplificar este estudio, la mayoría de los autores han utilizado una solución aproximada basada en el concepto del coeficiente de transferencia de materia, k_L . Éste se define como la relación entre el flujo de soluto por difusión en la superficie de la membrana, y la diferencia de concentración entre la superficie de la membrana y el seno de la fase líquida en el retenido: C_W y C_R :

$$k_L = \frac{-\left(D_s \frac{\partial C}{\partial y}\right)_W}{C_W - C_R} \quad [3.16]$$

Sustituyendo la ecuación [3.16] en las condiciones límites en la superficie de la membrana, ecuaciones [3.14] y [3.15], se obtiene la siguiente expresión para el flujo de filtrado, en términos del gradiente de concentraciones:

$$J_F = k_L \left(\frac{C_W - C_R}{C_W - C_F} \right) \quad [3.17]$$

donde el flujo a través de la membrana se ha evaluado como:

$$N_S = J_F C_F \quad [3.18]$$

admitiendo que no se produce deposición en el interior de los poros, ya que en caso contrario C_F en la ecuación [3.17] debería ser la concentración de soluto en la entrada de los poros. Mediante integración de la ecuación [3.13], se puede llegar a obtener la ecuación clásica de la capa límite:

$$U_{Py} C - D_s \frac{\partial C}{\partial y} = -N_S \quad [3.19]$$

la cual es válida para capas relativamente delgadas. Usando las ecuaciones [3.14] y [3.18], y asumiendo que U_{Py} y N_S son independientes de y , e iguales a sus valores en la superficie de la

membrana ($U_{Py} = -J_F$ y $N_S = J_F C_F$), la ecuación [3.19] puede integrarse entre 0 e y , y entre C_W y C , resultando:

$$\frac{C - C_F}{C_W - C_F} = \exp\left(\frac{-J_F y}{D_S}\right) \quad [3.20]$$

Esta expresión sólo es válida en la capa límite, de $y = 0$ a $y = \delta$. Aplicando la condición límite de que $C = C_R$ para $y = \delta$, se obtiene la expresión del flujo de filtrado en función de las concentraciones de soluto, la difusividad del soluto y el espesor de la capa límite:

$$J_F = \frac{D_S}{\delta} \ln\left(\frac{C_W - C_F}{C_R - C_F}\right) \quad [3.21]$$

ecuación que puede ponerse en la forma:

$$J_F = \frac{D_S}{\delta} \ln\left(\frac{(C_W - C_R) + (C_R - C_F)}{C_R - C_F}\right) = \frac{D_S}{\delta} \ln\left(\frac{(C_W - C_R)}{C_R - C_F} + 1\right) \quad [3.22]$$

y desarrollando en serie de Taylor el logaritmo, cuando la polarización de concentración es muy pequeña $C_W \approx C_R$, y por tanto:

$$J_F = \frac{D_S}{\delta} \left(\frac{C_W - C_R}{C_W - C_F}\right) \quad [3.23]$$

con lo que, comparado con la ecuación [3.17]:

$$k_L = \frac{D_S}{\delta} \quad [3.24]$$

En este modelo no aparece ningún término de presión, por lo que sólo será válido en la región donde el flujo es independiente de la misma.

Determinación de los coeficientes de transferencia de materia

Para determinar los coeficientes de transferencia de materia se han utilizado tres aproximaciones:

- Expresiones teóricas, mediante la resolución de las ecuaciones de transferencia de materia.
- Correlaciones empíricas basadas en extrapolaciones de datos experimentales.
- Correlaciones empíricas basadas en el ajuste de la ecuación [3.17] a los datos experimentales de caudal de filtrado.

Cuando no existen datos a priori, puede utilizarse el análisis dimensional. Usando el teorema de π , o por analogía con la transferencia de calor, se puede obtener la siguiente correlación:

$$Sh = \Gamma (Re)^{\gamma_1} (Sc)^{\gamma_2} \left(\frac{d_H}{L_R} \right)^{\gamma_3} \quad [3.25]$$

donde

$$Sh = \text{número de Sherwood} = k_L d_H / D_S$$

$$Re = \text{número de Reynolds} = d_H U_R \rho / \mu$$

$$Sc = \text{número de Schmidt} = \mu / \rho D_S$$

$$d_H = \text{diámetro hidráulico} = 4 \frac{\text{área de la sección transversal que está llena con fluido}}{\text{longitud del perímetro mojado}}$$

$$L_R = \text{longitud de la cámara de retenido}$$

Los parámetros Γ , γ_1 , γ_2 y γ_3 dependen de la geometría específica del sistema y de las condiciones de flujo. La Tabla 3.1 (Zeman y Zydney, 1996) muestra un resumen de estos valores para flujos: laminar, de transición (lo que significa que los perfiles de concentración y velocidad

en la capa límite se están aún desarrollando) y turbulento. Por su parte, Gekas y Hallstrom (1987) han recopilado diversos parámetros, incluyendo datos para canales con espaciadores, reactores de membrana, y módulos cilíndricos rotatorios.

Tabla 3.1 Coeficientes de transferencia de material

Condiciones	γ_1	γ_2	γ_3	Γ	Aproximación	Correlación
Tubo laminar	0.33	0.33	0.33	1.62	Teórico	Leveque (1928)
Placa laminar	0.33	0.33	0.33	1.86	Teórico	Leveque (1928)
En desarrollo	0.50	0.33	0.50	0.664	Teórico	Grober et al. (1961)
Turbulento	0.80	0.33	-	0.023	Transporte de c. de movimiento, calor y materia	Chilton-Colburn (Bennett y Myers, 1982)
Turbulento	0.875	0.25	-	0.023	Teórico	Deissler (1961)
Espaciadores	0.50	0.33	0.50	0.664	Experimentos de flujo	Da Costa et al. (1994)
Reactor agitado	0.567	0.33	-	0.23	Transporte de materia	Smith et al. (1968)
Rotatorio	0.50	0.33	0.42	0.75	Experimentos de flujo	Holeschovsky y Cooney (1991)

Trasmisión observada

Mediante la ecuación [3.12], se evaluaba la expresión para el valor de la transmisión, que se definía como la razón entre la concentración, en la capa límite, de soluto a la salida (C_F) y a la entrada del poro (C_W). Sin embargo, en la práctica se suele tener el dato de la concentración en el retenido C_R en lugar de C_W , con lo que usualmente se calcula la denominada transmisión observada, (S_o):

$$S_o = \frac{C_F}{C_R} = \left(\frac{C_W}{C_R} \right) S \quad [3.26]$$

S puede ser muy distinto de S_o debido al incremento de C_W frente a C_R a causa de la concentración de polarización. La concentración en la superficie de la membrana (C_W) puede evaluarse mediante el modelo de la capa de polarización (ecuación [3.21]), obteniéndose la siguiente expresión:

$$S_o = \frac{S}{(1-S)\exp\left(-\frac{J_F}{k_L}\right) + S} \quad [3.27]$$

Para bajos valores de caudal de filtrado, la transmisión observada es igual a la transmisión real, dado que $C_W \approx C_R$. A medida que J_F aumenta, S_0 se hace mayor que S . Para valores muy altos del caudal de filtrado, y siempre que la membrana sea al menos parcialmente permeable al soluto de interés, S_0 tiende hacia 1 (puesto que $C_F \rightarrow C_R$).

3.3.3. Modelo de resistencias en serie

Este modelo describe el comportamiento observado en el caudal de filtrado en función de la presión de trabajo. En los procesos de filtración aparece una zona controlada por la presión para bajos valores de presión, y una zona independiente de la misma para altos valores de presión. Una aproximación a este fenómeno consiste en el uso de resistencias en serie, por analogía con la transferencia de calor.

Para una membrana y una disolución ideales, la ecuación [3.1] puede describirse a partir de la permeabilidad hidráulica de la membrana, sustituyendo H_M por $1/R_M$. El valor de R_M se corresponde con la resistencia intrínseca de la membrana, y se determina midiendo el caudal de filtrado que proporciona una alimentación con agua pura.

Para la filtración de una disolución real, la resistencia se incrementa por la colmatación de la membrana, debido a las interacciones membrana-soluto. Esto se tiene en cuenta mediante la adición de otro término (R_F) al modelo. No obstante, la colmatación se debe a interacciones fisicoquímicas y no dependerá solamente de los parámetros de operación, por lo que a veces R_M y R_F se engloban en una única resistencia denominada R_M' .

Finalmente aparece una última resistencia (R_G) debida a la capa de polarización creada en la superficie de la membrana. Esta capa resulta del equilibrio entre los flujos de convección y de difusión (Porter, 1972). La concentración en ella alcanza un máximo, en la cual no se pueden acomodar más moléculas de soluto debido al empaquetamiento existente. Si el valor es suficientemente alto se produce un depósito, colmatando la membrana, cuya permeabilidad disminuye al aumentar la presión, por lo que a partir de este punto el flujo de filtrado empieza a hacerse independiente de la presión aplicada. Esta capa es dinámica y reversible, a diferencia del "fouling" en el interior de los poros, con lo que desaparece cambiando las condiciones de operación.

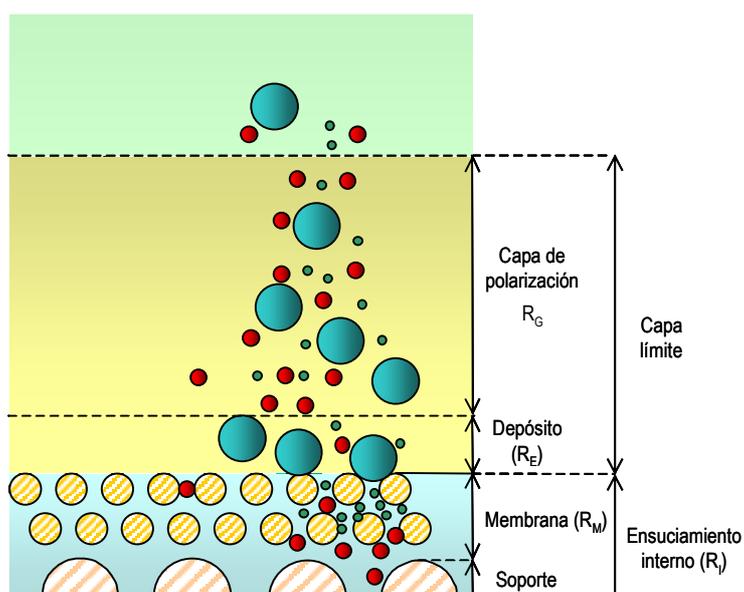


Figura 3.3 Resistencias hidráulicas en filtración tangencial

Todas estas resistencias en serie vienen reflejadas en la Figura 3.3 (Ousman y Bennasar, 1995), en la cual R_i es la resistencia de colmatación (“fouling”) interna y R_E la resistencia de colmatación externa, siendo su suma equivalente a R_F .

Como resultado, la expresión resultante a partir de [3.1] para definir el flujo de filtrado es:

$$J_F = \frac{(\Delta P)_m}{R_M + R_F + R_G} \quad [3.28]$$

Dado que R_G es función de los parámetros de operación y de las propiedades físicas, su valor es función de la permeabilidad y espesor de la capa de polarización, o lo que es lo mismo, de la presión aplicada:

$$R_G = \Phi(\Delta P)_m \quad [3.29]$$

por lo que la ecuación [3.28] puede escribirse como :

$$J_F = \frac{(\Delta P)_m}{R_M' + \Phi(\Delta P)_m} \quad [3.30]$$

La ecuación [3.30] responde perfectamente a los datos experimentales (Figura 3.4). Para bajas presiones, R_M' es mayor que $R_G(\Phi(\Delta P)_m)$ y el caudal es por tanto función de la presión. Por el contrario, a altos valores de presión el caudal es independiente de la presión y tiende a $1/\Phi$. El término Φ es función de las variables que afectan a la transferencia de materia. Para algunos autores (Cheryan, 1998; Singh, 1997), la presión óptima de trabajo es aquella en que interseccionan ambas zonas, lo que corresponde al punto en el que R_M' y R_G son iguales:

$$(\Delta P)_{m_{\text{óptimo}}} = \frac{R_M'}{\Phi} \quad [3.31]$$

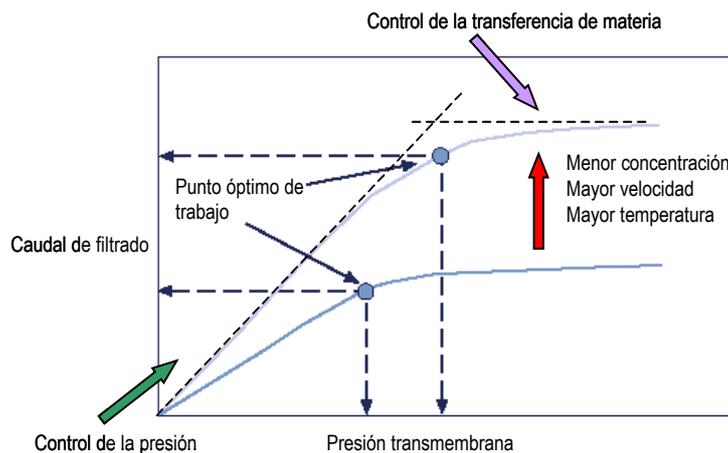


Figura 3.4 Variación del caudal de filtrado con la presión

3.3.4. Modelo de presión osmótica

Este modelo se puede entender como una modificación del modelo de capa de polarización. En él se asume que el caudal de filtrado está determinado por la presión transmembrana y la presión osmótica transmembrana debida a los solutos retenidos. Así mismo, se asume que la colmatación de la membrana y la resistencia debida a la formación de una capa de gel son despreciables.

En general, para una macromolécula la presión osmótica de la disolución viene dada por la ecuación de coeficientes del virial:

$$\Pi = B_1 C_M + B_2 C_M^2 + B_3 C_M^3 \quad [3.32]$$

donde B_1 , B_2 y B_3 son los coeficientes del virial y C_M la concentración de la macromolécula. Sin embargo, existen pocos datos de presión osmótica en bibliografía para poder usar el modelo (Vilker, 1981).

La presión osmótica es función de la carga del soluto y de la fuerza iónica, alcanzando un mínimo alrededor del punto isoeléctrico. Su valor aumenta tanto por encima como por debajo del mismo, debido al equilibrio Donan y a las fuerzas electrostáticas entre partículas cargadas. Por otra parte, la presión osmótica disminuye al aumentar la fuerza iónica, por el apantallamiento electrostático producido por las sales. De esta manera el flujo de filtrado viene dado por la resolución simultánea de la ecuaciones [3.21] y [3.33]:

$$J_F = H_M \left[(\Delta P)_m - \sigma_o (\Pi_W - \Pi_F) \right] \quad [3.33]$$

donde Π_W y Π_F son función de C_W y C_F respectivamente, según la ecuación [3.32], y σ_o (coeficiente de reflexión) se define como:

$$\sigma_o = \left(\frac{(\Delta P)_m}{\Delta \Pi} \right)_{J_F=0} \quad [3.34]$$

Las propiedades de la membrana: H_M (permeabilidad) y σ_o , se suponen conocidas.

3.3.5. Modelos de colmatación (fouling)

La caída de flujo por colmatación puede atribuirse a: la concentración de polarización, la adsorción de contaminantes en el interior de la membrana, el bloqueo de los poros y la formación de una capa de gel. Estos fenómenos se representan en la Figura 3.5 (Tansel et al., 2000).

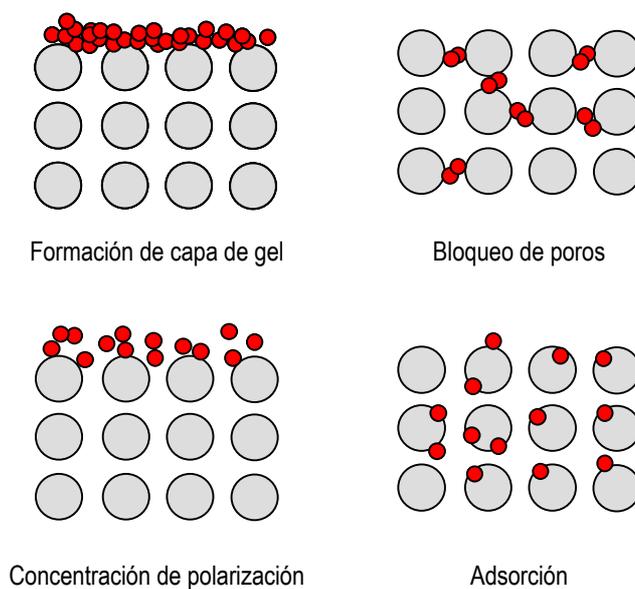


Figura 3.5 Mecanismos de colmatación

La mayoría de los modelos relacionan el flujo con el tiempo o el volumen filtrado, y generalmente adquieren la forma de una curva exponencial (Cheryan, 1998):

$$J_F = J_{F0} t^{-n} \quad [3.35]$$

$$J_F = J_{F0} e^{-nt} \quad [3.36]$$

$$J_F = J_{F0} V_F^{-n} \quad [3.37]$$

$$J_F = J_{SS} + j' e^{-nt} \quad [3.38]$$

donde J_{F0} es el flujo inicial, J_{SS} el flujo límite en estado estacionario, y V_F el volumen filtrado; las constantes j' y n son características del proceso. Dado que estos modelos son empíricos no explican el mecanismo en sí. De hecho, algunos predicen que el flujo a tiempo infinito es cero, lo cual no ocurre en la práctica.

Modelos de bloqueo de poros

Algunos modelos se han desarrollado sobre la base de un mecanismo de bloqueo de los poros (Hermia, 1982; Field, 1996; Jaffrin et al., 1997). Hermia, en concreto, define cuatro leyes de filtración cuya base es la ley de Darcy. Estos modelos de bloqueo de poros, que se representan en la Figura 3.6 (Bowen et al., 1995), asumen que la alimentación es homogénea, las partículas son esféricas y que los poros son cilíndricos, paralelos y homogéneos.

- Bloqueo completo. Todas las partículas individuales bloquean un poro sin superponerse unas sobre otras.
- Bloqueo estándar. Las partículas se depositan sobre el interior de los poros de la membrana.
- Bloqueo intermedio. Cada partícula bloquea un poro o se deposita sobre la superficie de la membrana (la superposición es posible).
- Torta de filtrado. Las partículas forman una capa sobre la superficie de la membrana.

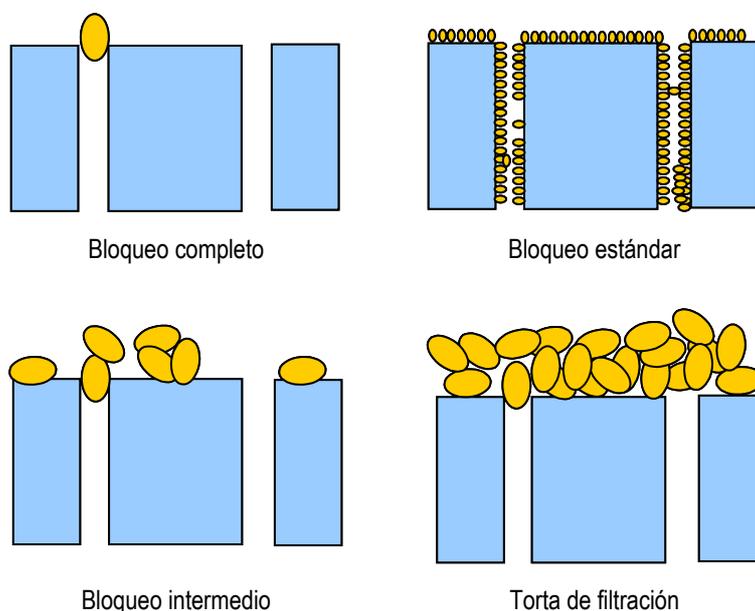


Figura 3.6 Bloqueo de poros

Todos los modelos que se desarrollan a continuación se basan en el modo de filtración clásica “dead-end”, o sea con la alimentación perpendicular a la membrana:

a) Bloqueo completo de los poros

Este modelo asume que cada partícula que llega a la membrana acaba bloqueando algún poro o poros, sin superposición con otras partículas. Además, el área de la membrana disminuye con el tiempo de manera proporcional al caudal de filtrado. En base a lo anterior, el caudal de filtrado viene dado por la ecuación [3.39]:

$$Q_F = Q_{F0} e^{-A_B t} \quad [3.39]$$

donde A_B es:

$$A_B = K_B U_{P0} \quad [3.40]$$

siendo K_B la superficie bloqueada por unidad de volumen filtrado a través de la membrana y U_{P0} la velocidad inicial de filtrado:

$$U_{P0} = \frac{Q_{F0}}{(A_p)_{t=0}} \quad [3.41]$$

con A_p el área de los poros de la membrana.

La evolución del volumen filtrado a lo largo del tiempo se expresa como:

$$V_F = \frac{Q_{F0}}{A_B} (1 - e^{-A_B t}) \quad [3.42]$$

estableciéndose la siguiente relación:

$$\frac{d^2 t}{dV_F^2} = A_B \left(\frac{dt}{dV_F} \right)^2 \quad [3.43]$$

ecuación característica del proceso del bloqueo completo de los poros.

b) Bloqueo estándar

Este modelo se caracteriza por el hecho de que cada partícula que llega a la membrana se deposita en el interior de los poros, lo que provoca una disminución en el volumen de poro. Si además se considera la membrana como un conjunto de poros cilíndricos iguales, se obtiene la siguiente expresión de la dependencia del caudal de filtrado con el tiempo:

$$Q_F = \frac{Q_{F0}}{(1 + A_S t)^2} \quad [3.44]$$

en la que A_S es:

$$A_S = K_S U_{P0} \quad [3.45]$$

y donde K_S es la disminución en el área transversal de los poros (debida a la adsorción en las paredes de los poros) por unidad de volumen total de filtrado.

La evolución del volumen filtrado con el tiempo se expresa como:

$$V_F = \frac{Q_{F0} t}{(1 + A_S t)^2} \quad [3.46]$$

siendo la expresión característica de este proceso:

$$\frac{d^2t}{dV_F^2} = \frac{2A_S}{\sqrt{Q_{F0}}} \left(\frac{dt}{dV_F} \right)^{3/2} \quad [3.47]$$

c) Bloqueo intermedio

En este modelo se presume que cada partícula que llega a la membrana puede bloquear los poros, bien directamente o bien mediante superposición sobre otras que ya se encuentran previamente sobre la misma. En este caso el caudal filtrado se expresa como:

$$Q_F = \frac{Q_{F0}}{(1 + A_B t)} \quad [3.48]$$

mientras que el volumen filtrado con el tiempo sería:

$$V_F = \frac{Q_{F0}}{A_B} \ln(1 + A_B t) \quad [3.49]$$

Para este caso la ecuación característica sería:

$$\frac{d^2 t}{dV_F^2} = \frac{A_B}{Q_{F0}} \left(\frac{dt}{dV_F} \right) \quad [3.50]$$

d) Torta de filtración

Finalmente, se puede admitir que cada partícula se dispone sobre otras que previamente han llegado a la membrana y que bloquean sus poros. De esta manera no hay posibilidad de obstruir más área de forma directa. Corresponde al caso de colmatación superficial de la membrana. La torta, una capa compactada de partículas, forma una resistencia adicional en serie con la de la membrana. En este caso la variación del caudal con el tiempo viene dada por:

$$Q_F = \frac{Q_{F0}}{\sqrt{1 + A_T t}} \quad [3.51]$$

donde A_T es

$$A_T = (2R_R)K_T U_{P0} \quad [3.52]$$

siendo $1/K_T$ el volumen filtrado por unidad de área de membrana (que coincide con el área de la torta depositada) y R_R la resistencia hidráulica de la torta dividida por la resistencia de la membrana inicial ($R_R = R_T/R_M$).

La evolución con el tiempo del volumen filtrado se expresa como:

$$V_F = \frac{2Q_{F0}}{A_T} (\sqrt{1 + A_T} - 1) \quad [3.53]$$

siendo la ecuación característica del proceso de bloqueo:

$$\frac{d^2t}{dV_F^2} = \frac{A_T}{2Q_{F0}^2} \left(\frac{dt}{dV_F} \right)^0 \quad [3.54]$$

En base a los cuatro modelos anteriores, las expresiones que definen los modelo de bloqueo de poros tienen una expresión común (Bowen et al., 1995) de la siguiente forma:

$$\frac{d^2t}{dV_F^2} = \alpha_{bloq} \left(\frac{dt}{dV_F} \right)^{\beta_{bloq}} \quad [3.55]$$

donde los valores de α_{bloq} y β_{bloq} vienen dados en la Tabla 3.2. El valor de β_{bloq} disminuye de 2 a 0, mientras que α_{bloq} es proporcional a potencias de U_{P0} (desde -1 a 1), y a potencias de $(A_p)_{t=0}$ (desde 0 a -2).

Tabla 3.2 Parámetros de las leyes de bloqueo de membrana

	α_{bloq}	β_{bloq}
Completo	$K_B U_{P0}$	2
Estándar	$(2K_S / (A_p)_{t=0}^{1/2}) U_{P0}^{1/2}$	3/2
Intermedio	$K_B / (A_p)_{t=0}$	1
Torta	$(R_R K_T / (A_p)_{t=0}^2) U_{P0}^{-1}$	0

Si se tiene en cuenta la definición del flujo de filtrado, la ecuación [3.55] puede expresarse (Velasco et al. 2003) como:

$$-\frac{dJ_F}{dt} = \alpha_{bloq} J_F^{3-\beta_{bloq}} \quad [3.56]$$

Como ya se indicó anteriormente, esta ecuación es propia de los procesos de filtración clásicos o dead-end. No obstante, muchos autores han utilizado esta ecuación característica en procesos de filtración tangencial con éxito (Blanpain y Lalande, 1997). Field et al. (1995), sin embargo, han modificado la expresión anterior para tener en cuenta el modo de filtración tangencial. Para ello se ha considerado un transporte constante de eliminación de soluto, desde la membrana hacia la

corriente de alimentación. De esta forma, la ecuación característica de bloqueo [3.56] se modificaría de la siguiente manera:

$$-\frac{dJ_F}{dt} J_F^{\beta_{\text{bloq}}-2} = \alpha_{\text{bloq}} (J_F - J_F^*) \quad [3.57]$$

Los valores de α_{bloq} y β_{bloq} serían los recogidos en la Tabla 3.2. En el caso de bloqueo estándar, al depositarse las partículas en el interior de los poros, la colmatación no se vería afectado por arrastre en dirección tangencial desde la superficie de la membrana, con lo que se utilizaría de nuevo la ecuación [3.56].

En cada caso el término J_F^* puede considerarse un valor crítico de flujo, por debajo del cual no se colmataría la membrana.

Modelo de resistencias en serie

Una aproximación empleada por algunos autores es usar el modelo de resistencias en serie (Figura 3.3). Bajo condiciones constantes de presión, caudal de alimentación, temperatura y concentración, R_M y R_G son constantes. Por tanto las disminuciones en el caudal de filtrado se corresponden a aumentos en el valor de R_F .

Los valores de la resistencia de colmatación pueden hallarse bien experimentalmente (Ousman y Bannasar, 1995; Jiratananon y Chanachai, 1996; Barba et al., 1997), o bien mediante distintos modelos (Timmer et al., 1994).

4. OBETIVO

Dada la importancia que para la industria alimentaria, farmacéutica y biotecnológica tiene la disponibilidad de técnicas efectivas y viables que permitan la purificación, concentración y fraccionamiento de proteínas y de acuerdo con las investigaciones realizadas en este campo, el objetivo de esta Tesis Doctoral fue el estudio de la influencia del ambiente químico en las interacciones proteína-membrana en el proceso de filtración.

Para ello se eligió una proteína ampliamente estudiada, seroalbúmina bovina (BSA), y se utilizaron membranas cerámicas por su mayor resistencia mecánica y química.

Se planificaron los siguientes objetivos específicos:

- Caracterización del flujo por la cámara de retenido y a través de la membrana.
- Análisis del efecto del pH en la evolución temporal del flujo de filtrado y transmisión de proteína.
- Análisis del efecto de la fuerza iónica en la evolución temporal del flujo de filtrado y transmisión de proteína.

Este estudio ha sido financiado por el Proyecto de Investigación *Fraccionamiento de proteínas mediante filtración tangencial de alta resolución* (PPQ2002-2235) del Plan Nacional I+D+i (2000-2003).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. PROTEÍNA MODELO

La proteína utilizada en esta investigación es seroalbúmina bovina, BSA (Sigma A4503, EE. UU.), de peso molecular 67.000 Da, punto isoeléctrico entre 4.7 y 4.9 y un radio de Stokes de 3.48 nm (Persson et al., 2003).

La BSA es una de las proteínas más ampliamente estudiadas. A continuación se sumarian algunos datos sobre su composición en aminoácidos, estructura y propiedades físico-químicas.

5.1.1. Estructura

La albúmina se caracteriza por un bajo contenido en triptófano y metionina. También posee un alto contenido en cisteína, así como en aminoácidos cargados (aspártico y ácidos glutámicos, lisina y arginina). Por su parte, el contenido en glicina e isoleucina es menor que en otras proteínas (Peters, 1985) En la Tabla 5.1 se puede apreciar su composición en aminoácidos (Brown, 1975; Patterson y Geller, 1977; McGillivray et al., 1979; Reed et al., 1980; Hirayama et al., 1990):

Tabla 5.1 Composición en aminoácidos de la BSA

Ala 48	Cys 35	Asp 41	Glu 58
Phe 30	Gly 17	His 16	Ile 15
Lys 60	Leu 65	Met 5	Asn 14
Pro 28	Gln 21	Arg 26	Ser 32
Thr 34	Val 38	Trp 3	Tyr 21

En la Figura 5.1 se muestra la secuencia de aminoácidos de la BSA. Esta molécula se halla formada por tres dominios homólogos (I, II, III), divididos en nueve espirales (L1-L9) por 17 enlaces disulfuro, formando cada una de ellas un triplete. Mediante cristalografía de rayos-X (Carter y Ho, 1994) se ha determinado que su estructura es predominantemente alfa-helicoidal (67 %). Cada dominio se divide en 10 segmentos helicoidales, del 1 al 6 correspondientes al subdominio A y del 7 al 10 al subdominio B. Por otra parte los dominios I y II y los dominios II y III están conectados por extensiones helicoidales de 10 (I)-1(II) y 10(II)-1(III), creando las dos hélices mayores en la albúmina.

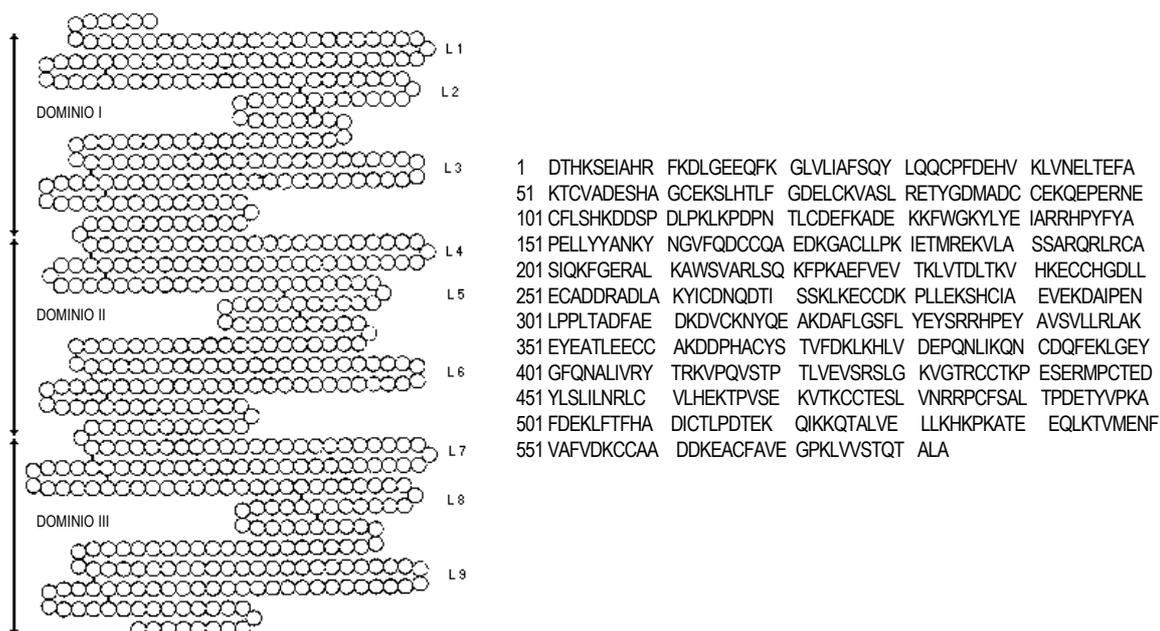


Figura 5.1 Secuencia de aminoácidos de BSA

Los enlaces disulfuro se encuentran en las siguientes posiciones: (1) 77-86, (2) 99-115, (3) 114-125, (4) 147-192, (5) 191-200, (6) 223-269, (7) 268-276, (8) 288-302, (9) 301-312, (10) 339-384, (11) 383-392, (12) 415-461, (13) 460-471, (14) 484-500, (15) 499-510, (16) 537-582, y (17) 581-590, estando localizados exclusivamente entre los segmentos helicoidales (Figura 5.2):

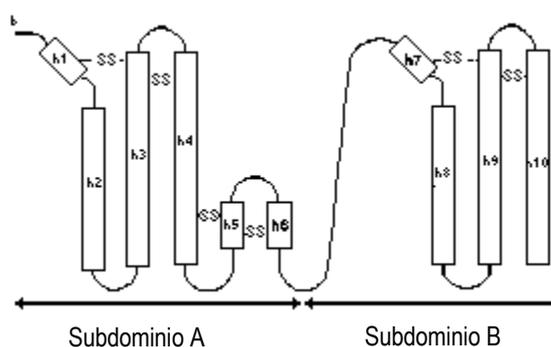


Figura 5.2 Localización de los enlaces disulfuro

Ninguno de estos enlaces es accesible para los agentes reductores en el rango de pH 5-7 (Katchalski et al., 1957). Están bien protegidos y no son accesibles para los disolventes.

5.1.2. Carga superficial

La molécula de albúmina no se encuentra uniformemente cargada dentro de la estructura primaria. A pH neutro Peters (1985), calculó una carga neta de -10 , -8 y 0 para los dominios I, II y III de la BSA. La distribución de carga superficial se muestra en la Figura 5.3 (Carter y Ho, 1994). Las zonas básicas aparecen en color azul, las ácidas en rojo, y las neutras en amarillo. A pesar de la asimétrica en la distribución de carga de su estructura primaria, la estructura terciaria parece ser uniforme.

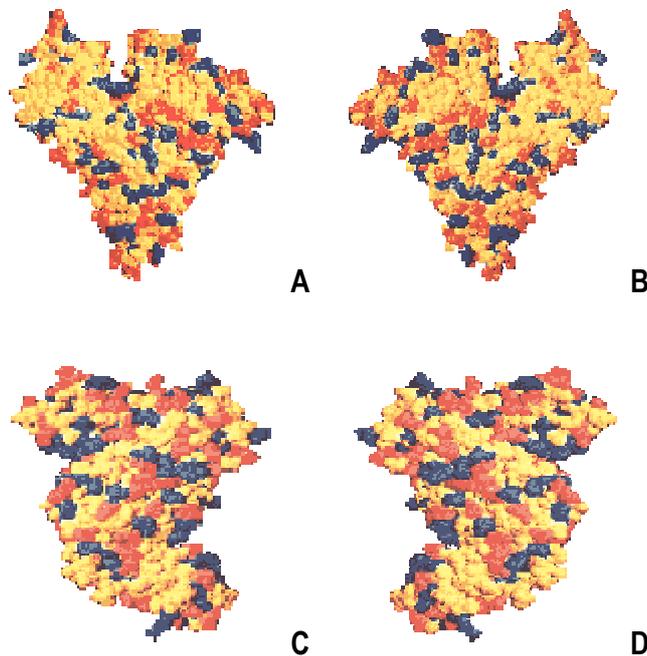


Figura 5.3 Modelo espacial de la molécula de seroalbúmina.
A Vista frontal. B Vista posterior . C Lado izquierdo. D Lado derecho

5.1.3. Efectos del pH

La seroalbúmina experimenta una isomerización reversible conformacional con los cambios del pH, según se expresa en la Figura 5.4 (Foster, 1977):

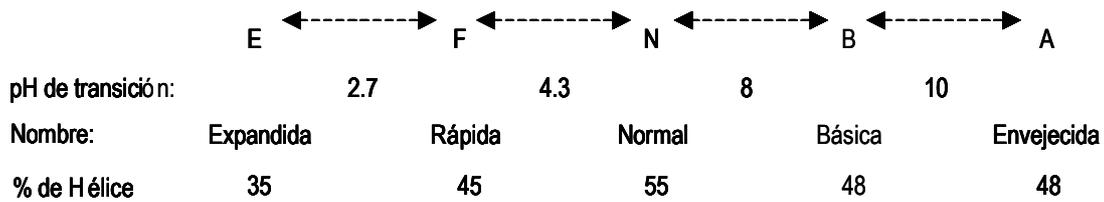


Figura 5.4 Formas isoméricas de la BSA

La transición N-F implica un desdoblamiento del dominio III (Geisow y Beaven, 1977; Khan, 1986). La forma F se caracteriza por un gran aumento de la viscosidad, menor solubilidad y pérdida de su contenido helicoidal (Foster, 1960). A pH menor de 4 la albúmina sufre otra expansión, que se conoce como forma (E), la cual tiene una gran viscosidad. A pH = 9, la conformación de la albúmina cambia a su forma básica (B). Si la solución se mantiene a pH = 9 y con baja fuerza iónica, a 3 °C y durante 3 ó 4 días aparece la forma isómera A.

Mediante estudios de presión osmótica se ha comprobado que a un pH entre 4 y 6, la molécula es compacta y forma agregados, de los cuales un 20 % aparecen en forma de dímeros (Kanal et al., 1994). Esto se debe a que las cargas presentes en la superficie de la proteína no son suficientes para provocar una fuerte repulsión electrostática entre las moléculas de BSA. Esta asociación de la BSA ha sido estudiada mediante la técnica de transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (FRET), habiendo determinado su constante de disociación (Levi y González Flecha, 2002).

Algunas de las propiedades macromoleculares de la BSA, con mayor influencia en el proceso de ultrafiltración, se recogen en la Tabla 5.2 (Fane et al., 1983), en función de la variación del pH y de la adición de iones:

Tabla 5.2 Variación de la propiedades de la BSA con el pH y los iones

	pH ácido		Punto isoeléctrico		pH básico	
		iones ^a		iones ^a		iones ^a
Tamaño	aumentado	↓	compacto	↑	aumentado	↓
Carga	+	↓	cero	↑	-	↓
Presión osmótica	aumento	↓	mínimo	n.e. ^b	aumento	↓
Difusión	disminución		-		disminución	↓
Viscosidad	n.e.		n.e.		n.e.	

^a ↓: los iones provocan un descenso; ↑: los iones provocan un aumento. ^b n.e.: sin efecto significativo

5.1.4. Efecto de la temperatura

El tratamiento con calor da lugar a dos estructuras diferentes. La primera es reversible y llega hasta los 65 °C (Wetzel et al., 1980), mientras que la segunda es irreversible, si bien no produce necesariamente una destrucción completa de la estructura ordenada de la proteína (Kuznetsow et al., 1975; Lin y Koenig, 1976; Oakes, 1976) y aparece a temperaturas superiores. Mediante escaneado de calorimetría diferencial (DSC) se ha determinado que el cambio en la conformación de la BSA aparece a los 58.1 °C (Poole et al., 1987). Por otro lado, se ha observado que la desnaturalización de la proteína comienza a los 62 °C (Ruegg et al., 1977); aunque esta última temperatura depende también del pH (Barone et al., 1992). A mayores temperaturas, en el rango de pH 6-8.5, la proteína precipita; si por el contrario el pH es menor de 5.5, la desnaturalización se solapa con un proceso de agregación.

5.2. MÓDULO DE FILTRACIÓN

En esta investigación se han utilizado membranas tubulares cerámicas, modelo *Céram Inside*[®] 25, suministradas por la casa TAMI (Nyons, Francia). El soporte es tubular, de 10 mm de diámetro y con tres canales de 3.6 mm de diámetro hidráulico, cuya longitud es de 250 mm, (Figura 5.5).



Figura 5.5 Módulo de filtración

Están constituidas por un soporte a base de óxidos de aluminio, titanio y circonio (ATZ), donde el óxido de titanio es el material de la capa activa. Cada membrana posee un área (A) de 0.0094 m².

Estas membranas operan hasta un máximo de 10 bar de presión, pudiendo trabajar hasta los 350 °C y en un rango de pH 0-14. En cuanto a las carcasas en las que se alojan, están fabricadas en acero inoxidable 316L, con juntas de silicona y conexiones clamp (DN 38 para el retenido y 4/6 mm para el filtrado). En este trabajo se ha empleado una membrana de 0.14 µm de tamaño de corte.

5.3. DISPOSITIVO EXPERIMENTAL

Para la realización de los experimentos se ha trabajado con un dispositivo como el que se esquematiza en la Figura 5.6.

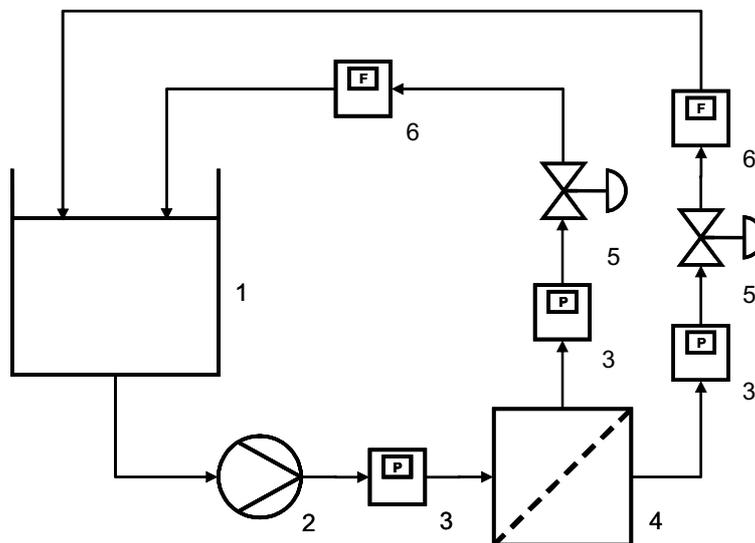


Figura 5.6 Dispositivo experimental 1 Tanque de alimentación. 2 Bomba de desplazamiento positivo. 3 Manómetro. 4 Módulo de membrana. 5 Válvula. 6 Medidor de caudal.

Este montaje se compone de un tanque de alimentación (Afora, España), con agitación y control de temperatura. Mediante una bomba de desplazamiento positivo (motor Cole Parmer 7116-16, EE. UU. y cabezal Procon Series 3, EE. UU.) de velocidad variable, se envía la alimentación al módulo de membrana. Tanto el retenido como el filtrado son recirculados al tanque de alimentación.

El dispositivo cuenta con manómetros analógicos (Wika, 1-60 psi, EE. UU.) en las corrientes de alimentación, retenido y filtrado, y medidores de caudal en retenido y filtrado. El medidor de la

corriente de retenido es un caudalímetro volumétrico (Badger-Meter Type Food Primo V11, Alemania). En la corriente de filtrado se utilizan una probeta y una balanza electrónica (Mettler Toledo PB 1502-S, Suiza).

La medida y control de temperatura se realizan mediante un termómetro digital (Hanna Instrument HI 98509, EE. UU.) y un baño termostatzado (Clifton NE4, Reino Unido).

La medición de pH se realiza mediante un equipo (Metrohm 718 STAT Titrino, Suiza) provisto de sonda de pH (Metrohm 6.1103.040, Suiza) y de temperatura (Metrohm 6.0233.100, Suiza).

En todos los experimentos el modo de operación fue el siguiente:

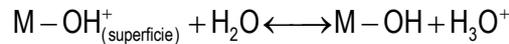
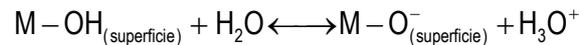
Una vez enjuagada la membrana con agua Mili-Q, se recirculaba una disolución de agua Mili-Q (en las condiciones de pH y temperatura de trabajo) durante 10 minutos. A continuación se hacía pasar la disolución de BSA en las condiciones establecidas durante una hora. Se registraron los valores de presión transmembrana (a partir de las presiones a la entrada y a la salida del módulo de membrana) y el caudal de filtrado. A intervalos fijados (0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos) se tomaban muestras de 1 mL de retenido y de filtrado para su análisis.

Terminada la filtración se procedía a la limpieza de la membrana.

5.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

5.4.1. Determinación del punto de carga cero de la membrana

Las membranas inorgánicas poseen una capa filtrante compuesta de óxidos, con puntos en su superficie que pueden ionizarse en disolución acuosa. Esto les proporciona un comportamiento anfótero. Las reacciones involucradas en la creación de cargas superficiales en función del pH son las siguientes (Abrabri et al., 1998; Ricq et al., 1996):



siendo las constantes de equilibrio:

$$K_{A1} = \frac{[M-O^-]_{(superficie)} [H_3O^+]}{[M-OH]_{(superficie)}} \quad [5.1]$$

$$K_{A2} = \frac{[M-OH]_{(superficie)} [H_3O^+]}{[M-OH_2^+]_{(superficie)}} \quad [5.2]$$

El resultado de estas reacciones es el exceso de cargas positivas o negativas en la superficie de la membrana, las cuales pueden interactuar con las especies cargadas de la disolución y dar una carga neta a la membrana. Se forma así una doble capa eléctrica compuesta por una capa compacta y otra difusa (Hunter, 1981). Las cargas de solutos y membrana determinan la intensidad de las interacciones electrostáticas, añadiéndose a los efectos estéricos. Estas interacciones de atracción y rechazo modifican la aproximación de soluto a la interfase, así como la retención y formación de capas de colmatación o “fouling” en la membrana.

La condición de carga cero es un parámetro electroquímico importante que nos informa sobre la naturaleza ácida o alcalina del material y que viene dado por dos valores. El primero es el punto isoeléctrico de la membrana (pI), que corresponde a un potencial electrocinético igual a cero (carga nula de la capa difusa móvil). El segundo es el punto de carga cero (pzc), que corresponde a una densidad de carga superficial cero (igualdad entre cargas positivas y negativas). Si no se dan fenómenos de adsorción ambos valores coinciden.

El punto isoeléctrico se determina por métodos electrocinéticos (electroósmosis, corriente de potencial, microelectroforesis). El punto de carga cero puede hallarse bien experimentalmente (titraciones potenciométricas, métodos de adición de polvo o sal), o bien a partir de la composición del material, siendo su valor teórico:

$$pzc = \frac{1}{2}(pK_{A1} + pK_{A2}) \quad [5.3]$$

En este trabajo el punto de carga cero se ha determinado según el método propuesto por Mullet et al. (1999). Para ello se recircula a través de la membrana una disolución con agua Mili-Q a un pH determinado y se registra la variación de pH, desde su valor inicial hasta alcanzar un valor constante. Para valores de pH inferiores al pzc de la membrana ($\Delta pH > 0$) los grupos hidroxilos de la superficie se hallan protonados, y por tanto, positivamente cargados. Por el contrario para valores superiores de pH ($\Delta pH < 0$) dichos grupos se encuentran desprotonados, y por tanto, negativamente cargados.

La representación del ΔpH experimentado frente al pH inicial de la disolución permite el cálculo del pzc, ya que éste será el pH de la disolución al que el ΔpH sea 0 (corte de la curva con el eje de abscisas).

En esta investigación se filtraron soluciones de pH 5, 6.4, 7.5 y 8.3. Las condiciones de filtración establecidas fueron: temperatura de 30 °C, presión transmembrana 1 bar y velocidad de recirculación 200 L/h.

5.4.2. Determinación de la influencia del pH de la fuerza iónica

Para ello se realizaron dos series de experimentos. En la primera serie, manteniendo constante temperatura, velocidad de recirculación y presión transmembrana, se hizo pasar a través del módulo de membrana disoluciones de BSA de 0.25 g/L a distintos valores de pH. El rango de pH estudiado fue 2, 3, 4, 4.9, 6, 7, 8 y 9. El ajuste se hizo mediante la adición de HCl (Panreac, España) o NaOH (Panreac, España).

En la segunda serie, manteniendo constante temperatura, velocidad de recirculación y presión transmembrana, se filtraron disoluciones de BSA de 0.25 g/L al pH correspondiente al punto isoeléctrico de la BSA, pH 4.9. En este caso se modificó la fuerza iónica mediante la adición de NaCl. Se utilizó esta sal ya que Mullet et al. (1999) habían comprobado que la adición de NaCl no modificaba el punto de carga cero de la membrana, a diferencia de otros iones (Ca^{+2} , SO_4^{-2}),

lo que se debe a la ausencia de adsorción de los iones Na^+ y Cl^- . Los valores ensayados fueron 1, 2, 3, 5, 10 y 25 mM.

5.5. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA

La concentración de BSA en retenido y filtrado se realizó mediante cromatografía líquida de exclusión en gel según el procedimiento descrito por Richter et al. (1983) y Knights (1985).

En esta técnica se utilizaron dos columnas en serie TSKgel G2000SW (Toso Hass, Alemania) y disolución fosfato a pH 7 (13.8 g/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 14.2 g/L Na_2SO_4 , 0.5 g/L NaN_3 , Panreac España) como fase móvil, a una velocidad de 1 mL/min. El efluente de la columna se detectaba mediante lectura de absorbancia a una longitud de onda de 280 nm. El equipo utilizado ha sido un cromatógrafo líquido (Pharmacia modelo LKB 512 Bromma, Suiza).

Se realizó la curva de absorción cromatográfica-concentración de BSA.

5.6. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

La microscopía electrónica permite la obtención de imágenes de superficie. En el material de membrana esta técnica proporciona imágenes tanto de la topografía de la superficie, como de secciones transversales; se consigue así un primer análisis visual de la estructura superficial de la membrana ayudando, por tanto, a la caracterización posterior del material poroso.

Dichas imágenes se obtienen bombardeando el sólido con electrones altamente energéticos. Esto produce una gran cantidad de interacciones entre el material y el rayo electrónico, las cuales permiten identificar los materiales presentes en la muestra así como una caracterización física de los poros.

Entre los modos de operación más usados está la microscopía electrónica de barrido (SEM). Para estas imágenes se utilizan los electrones secundarios resultantes de las interacciones de un haz de electrones con la muestra; este haz tiene una energía que oscila entre 5 y 50 keV. Los equipos SEM pueden conseguir aumentos desde 20X hasta 10^5X , dando imágenes con una gran

profundidad de campo, de modo que proporcionan una valiosa información sobre la textura de las partículas. Otro método empleado es la microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), usado para observar las superficies de los poros en las membranas de ultrafiltración. Hoy en día se han conseguido muy altas resoluciones (0.7 nm) incluso con haces poco energéticos.

El estudio de las imágenes de microscopía muchas veces se puede completar con un tratamiento estadístico, ya que las imágenes se pueden digitalizar y el mapa de datos resultante se puede analizar con un soporte informático adecuado.

En esta investigación, para la toma de imágenes de la superficie de la membrana, se ha usado un microscopio electrónico de barrido de alta resolución por emisión de campo, GEMINI 1530, de Carl Zeiss (Alemania). Las muestras fueron metalizadas con un evaporador de carbono Hitachi (Japón). La observación fue realizada a 5kv y WD (distancias de trabajo) de 5 mm, con un detector de electrones secundarios del tipo "In Lens".

6. RESULTADOS EXPERIMENTALES

En la Tabla 6.1 se indican las condiciones de operación de los experimentos realizados para el estudio del efecto del pH y la fuerza iónica en la filtración de BSA.

Tabla 6.1 Condiciones Experimentales

pH	I,mM	Experimento
2.0	0	2-0
3.0	0	3-0
4.0	0	4-0
4.9	0	4.9-0
4.9	1	4.9-1
4.9	2	4.9-2
4.9	3	4.9-3
4.9	5	4.9-5
4.9	10	4.9-10
4.9	25	4.9-25
6.0	0	6-0
7.0	0	7-0
8.0	0	8-0
9.0	0	9-0

Temperatura:30 C;Masa de BSA: 0.25 g;Volumen inicial:1 L;Q_R:400 L/h;(ΔP)_m:1 bar

En todos los casos los datos primarios medidos experimentalmente fueron: el caudal de filtrado y las concentraciones de BSA en las corrientes de retenido y filtrado, en función del tiempo.

Debido a que el fenómeno de colmatación de la membrana es fundamentalmente consecuencia del volumen de filtrado que ha pasado a través de ella, los resultados obtenidos de evolución del caudal de filtrado pueden completarse, para cada experimento, con los datos del volumen de filtrado. Este volumen puede calcularse mediante integración numérica de los datos del caudal:

$$V_F = \int_0^t Q_F dt \quad [6.1]$$

Dado que en ocasiones se utiliza la variable volumen de filtrado, en vez del tiempo, para analizar la evolución del proceso, el volumen de filtrado se calculará para cada dato experimental mediante integraciones parciales. Para este cálculo se presenta el problema del caudal inicial a considerar, es decir, qué caudal de filtrado tomar a tiempo cero: si el caudal que presenta la membrana limpia con agua (medido al final del proceso de lavado) o el extrapolado a partir de

los resultados del experimento a tiempo cero por algún método. En la mayor parte de los experimentos, estos dos datos de caudal inicial son muy diferentes. Esto pone de manifiesto un fenómeno rápido de colmatación de la membrana, el cual se desarrolla por completo en unos 2 minutos, y cuya influencia sobre el caudal es más importante que toda la evolución posterior. Puesto que se pretende tratar de interpretar también este fenómeno rápido, se utilizará como caudal inicial, Q_{F0} , el caudal de agua pura, medido al final del proceso de lavado de la membrana previo a cada filtración, a 30 °C y 1 bar de presión transmembrana. Para los experimentos realizados fue de 173.17 mL/min. Se calculan así los caudales ó flujos relativos en cada instante:

$$\frac{Q_F}{Q_{F0}} = \frac{J_F}{J_{F0}} \quad [6.2]$$

Por otro lado, se van a determinar también los valores relativos de caudales o flujos, utilizando como caudal de referencia, Q_{F0ext} , el valor obtenido por extrapolación a tiempo cero de los datos de caudal de $t \geq 2$ min. Esto nos permitirá hacer un estudio independiente del proceso lento de disminución del caudal durante la filtración:

$$\frac{Q_F}{Q_{F0ext}} = \frac{J_F}{J_{F0ext}} \quad [6.3]$$

En este caso, los valores de Q_{F0ext} se han obtenido por regresión polinomial, utilizando todos los datos cuando la variación del caudal de filtrado es suave, ó los primeros 5 ó 6 datos cuando esta variación es más brusca.

Los resultados primarios de evolución de caudal y los calculados mediante las ecuaciones indicadas: [6.1], [6.2] y [6.3], para todos los experimentos realizados se indican en las Tablas 6.2 a 6.15.

Resultados

Tabla 6.2 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 2-0

$Q_{F0} = 173.17 \text{ mL/minuto}, Q_{F0ext} = 54.47 \text{ mL/minuto}$				
t, minutos	$Q_F, \text{mL/minuto}$	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1	3.0130
2	55.8	229.0	0.3223	0.9711
4	51.4	336.2	0.2970	0.8948
6	51.4	439.1	0.2970	0.8948
8	50.0	540.5	0.2887	0.8700
10	51.4	641.9	0.2970	0.8948
12	48.6	742.0	0.2809	0.8465
14	48.6	839.3	0.2809	0.8465
16	48.6	936.6	0.2809	0.8465
18	48.6	1033.9	0.2809	0.8465
20	48.6	1131.2	0.2809	0.8465
25	47.4	1371.2	0.2735	0.8242
30	46.2	1605.1	0.2665	0.8030
35	46.2	1835.8	0.2665	0.8030
40	46.2	2066.6	0.2665	0.8030
45	45.0	2294.5	0.2599	0.7830
50	46.2	2522.4	0.2665	0.8030
55	46.2	2753.1	0.2665	0.8030
60	46.2	2983.9	0.2665	0.8030

Tabla 6.3 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 3-0

$Q_{F0} = 173.17 \text{ mL/minuto}, Q_{F0ext} = 82.03 \text{ mL/minuto}$				
t, minutos	$Q_F, \text{mL/minuto}$	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	2.1111
2	81.1	254.3	0.4682	0.9885
4	80.0	415.3	0.4620	0.9753
6	82.8	578.1	0.4779	1.0089
8	81.1	741.9	0.4682	0.9885
10	81.1	904.1	0.4682	0.9885
12	81.1	1066.3	0.4682	0.9885
14	76.9	1224.3	0.4442	0.9378
16	78.9	1380.1	0.4559	0.9624
18	78.9	1538.0	0.4559	0.9624
20	78.9	1695.9	0.4559	0.9624
25	76.9	2085.6	0.4442	0.9378
30	76.9	2470.2	0.4442	0.9378
35	76.9	2854.8	0.4442	0.9378
40	76.9	3239.4	0.4442	0.9378
45	75.0	3619.2	0.4331	0.9143
50	75.0	3994.2	0.4331	0.9143
55	75.0	4369.2	0.4331	0.9143
60	75.0	4744.2	0.4331	0.9143

Resultados

Tabla 6.4 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 4-0

$Q_{F0} = 173.17 \text{ mL/minuto}, Q_{F0ext} = 56.72 \text{ mL/minuto}$				
t, minutos	$Q_F, \text{mL/minuto}$	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	3.0530
2	53.6	226.7	0.3094	0.9445
4	50.0	330.3	0.2887	0.8815
6	49.0	429.3	0.2828	0.8635
8	46.2	524.4	0.2665	0.8137
10	45.3	615.9	0.2615	0.7983
12	46.2	707.3	0.2665	0.8137
14	45.0	798.5	0.2599	0.7933
16	43.6	887.1	0.2520	0.7693
18	42.9	973.6	0.2475	0.7556
20	42.9	1059.3	0.2475	0.7556
25	42.1	1271.7	0.2431	0.7423
30	41.4	1480.4	0.2390	0.7295
35	40.7	1685.6	0.2349	0.7171
40	40.0	1887.3	0.2310	0.7052
45	39.3	2085.6	0.2272	0.6936
50	37.5	2277.7	0.2166	0.6611
55	36.9	2463.8	0.2132	0.6509
60	36.9	2648.4	0.2132	0.6509

Tabla 6.5 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-0

$Q_{F0} = 173.17 \text{ mL/minuto}, Q_{F0ext} = 25.56 \text{ mL/minuto}$				
t, minutos	$Q_F, \text{mL/minuto}$	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	6.7764
2	23.7	196.9	0.1368	0.9268
4	20.9	241.5	0.1209	0.8190
6	20.0	282.4	0.1155	0.7826
8	19.1	321.5	0.1106	0.7493
10	17.0	357.7	0.0981	0.6645
12	16.7	391.3	0.0962	0.6522
14	16.2	424.1	0.0933	0.6321
16	15.8	456.1	0.0912	0.6179
18	15.5	487.4	0.0896	0.6072
20	15.3	518.2	0.0881	0.5969
25	15.0	593.8	0.0866	0.5870
30	14.5	667.6	0.0838	0.5680
35	14.3	739.6	0.0825	0.5590
40	14.1	810.5	0.0812	0.5503
45	13.8	880.2	0.0800	0.5418
50	13.6	948.9	0.0787	0.5336
55	13.6	1017.1	0.0787	0.5336
60	13.3	1084.6	0.0770	0.5218

Resultados

Tabla 6.6 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-1

$Q_{F0} = 173.17 \text{ mL/minuto}, Q_{F0ext} = 34.44 \text{ mL/minuto}$				
t, minutos	$Q_F, \text{mL/minuto}$	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	5.0284
2	31.0	204.2	0.1792	0.9012
4	27.9	263.1	0.1612	0.8103
6	26.1	317.1	0.1506	0.7575
8	24.0	367.2	0.1386	0.6969
10	23.1	414.3	0.1333	0.6701
12	21.4	458.8	0.1237	0.6222
14	20.9	501.2	0.1209	0.6078
16	19.4	541.5	0.1118	0.5620
18	20.0	580.8	0.1155	0.5807
20	18.8	619.6	0.1083	0.5444
25	17.9	711.2	0.1034	0.5201
30	16.9	798.2	0.0976	0.4908
35	16.1	880.7	0.0928	0.4667
40	15.5	959.6	0.0896	0.4506
45	15.0	1035.9	0.0866	0.4356
50	14.3	1109.1	0.0825	0.4148
55	15.0	1182.4	0.0866	0.4356
60	13.4	1253.4	0.0776	0.3901

Tabla 6.7 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-2

$Q_{F0} = 173.17 \text{ mL/minuto}, Q_{F0ext} = 34.47 \text{ mL/minuto}$				
t, minutos	$Q_F, \text{mL/minuto}$	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	5.0241
2	30.0	203.2	0.1732	0.8704
4	25.0	258.2	0.1444	0.7253
6	23.7	306.9	0.1368	0.6871
8	21.4	352.0	0.1237	0.6217
10	20.5	393.9	0.1181	0.5934
12	19.1	433.5	0.1106	0.5556
14	18.4	471.0	0.1061	0.5329
16	18.0	507.3	0.1039	0.5222
18	17.3	542.6	0.0999	0.5021
20	17.0	576.9	0.0981	0.4927
25	15.8	658.9	0.0912	0.4581
30	15.3	736.5	0.0881	0.4426
35	14.1	809.8	0.0812	0.4080
40	13.4	878.5	0.0776	0.3897
45	13.0	944.7	0.0753	0.3784
50	12.5	1008.5	0.0722	0.3627
55	12.2	1070.2	0.0702	0.3529
60	11.7	1129.8	0.0675	0.3391

Resultados

Tabla 6.8 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-3

$Q_{F0} = 173.17 \text{ mL/minuto}, Q_{F0ext} = 36.50 \text{ mL/minuto}$				
t, minutos	$Q_F, \text{mL/minuto}$	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	4.7450
2	31.6	204.7	0.1824	0.8653
4	27.3	263.6	0.1575	0.7473
6	24.5	315.4	0.1414	0.6710
8	23.1	362.9	0.1333	0.6323
10	21.8	407.8	0.1260	0.5978
12	21.1	450.7	0.1216	0.5769
14	20.5	492.2	0.1181	0.5605
16	19.1	531.8	0.1106	0.5247
18	18.8	569.7	0.1083	0.5138
20	18.0	606.5	0.1039	0.4932
25	17.0	693.9	0.0981	0.4653
30	16.2	776.9	0.0936	0.4443
35	15.5	856.2	0.0896	0.4252
40	15.0	932.5	0.0866	0.4110
45	13.8	1004.6	0.0800	0.3794
50	13.2	1072.3	0.0764	0.3627
55	12.9	1137.6	0.0742	0.3523
60	12.4	1200.8	0.0717	0.3402

Tabla 6.9 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-5

$Q_{F0} = 173.17 \text{ mL/minuto}, Q_{F0ext} = 38.29 \text{ mL/minuto}$				
t, minutos	$Q_F, \text{mL/minuto}$	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	4.5222
2	33.3	206.5	0.1925	0.8705
3	29.3	237.8	0.1690	0.7643
6	25.0	319.2	0.1444	0.6529
8	23.5	367.7	0.1359	0.6145
10	22.0	413.2	0.1268	0.5732
12	20.9	456.1	0.1209	0.5466
14	18.7	495.7	0.1078	0.4875
16	17.6	532.0	0.1019	0.4608
18	17.0	566.6	0.0981	0.4435
20	16.4	600.0	0.0945	0.4273
25	15.5	679.7	0.0896	0.4052
30	14.3	754.2	0.0825	0.3731
35	13.8	824.3	0.0795	0.3596
40	13.1	891.6	0.0758	0.3428
45	12.5	955.7	0.0724	0.3274
50	12.0	1017.1	0.0693	0.3134
55	11.8	1076.5	0.0679	0.3072
60	10.3	1131.8	0.0597	0.2701

Resultados

Tabla 6.10 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-10

$Q_{F0} = 173.17$ mL/minuto, $Q_{F0ext} = 41.07$ mL/minuto				
t, minutos	Q_F, mL/minuto	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	4.2161
2	46.2	219.3	0.2665	1.1237
4	28.1	293.6	0.1624	0.6847
6	25.0	346.7	0.1444	0.6087
8	24.3	396.1	0.1405	0.5922
10	22.5	442.9	0.1299	0.5478
12	20.9	486.3	0.1209	0.5096
14	20.0	527.2	0.1155	0.4869
16	19.6	566.8	0.1130	0.4763
18	18.4	604.7	0.1061	0.4472
20	18.0	641.1	0.1039	0.4382
25	16.7	727.8	0.0962	0.4058
30	15.5	808.2	0.0896	0.3778
35	14.5	883.3	0.0838	0.3534
40	13.8	954.2	0.0800	0.3371
45	13.1	1021.5	0.0755	0.3184
50	12.5	1085.5	0.0722	0.3043
55	12.0	1146.7	0.0693	0.2922
60	11.3	1205.0	0.0654	0.2756

Tabla 6.11 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-25

$Q_{F0} = 173.17$ mL/minuto, $Q_{F0ext} = 42.21$ mL/minuto				
t, minutos	Q_F, mL/minuto	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	4.1026
2	36.4	209.5	0.2100	0.8615
4	30.8	276.7	0.1777	0.7290
6	27.9	335.3	0.1612	0.6611
8	25.5	388.8	0.1474	0.6049
10	24.0	438.3	0.1386	0.5686
12	22.6	485.0	0.1307	0.5364
14	21.5	529.1	0.1244	0.5103
16	20.3	571.0	0.1175	0.4819
18	19.7	611.0	0.1136	0.4661
20	19.0	649.7	0.1100	0.4513
25	17.6	741.5	0.1019	0.4181
30	16.4	826.5	0.0945	0.3877
35	15.5	906.2	0.0896	0.3676
40	15.0	982.5	0.0866	0.3554
45	13.8	1054.6	0.0800	0.3280
50	13.2	1122.3	0.0764	0.3136
55	12.9	1187.6	0.0742	0.3046
60	12.3	1250.5	0.0712	0.2921

Resultados

Tabla 6.12 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 6-0

$Q_{F0} = 173.17$ mL/minuto, $Q_{F0ext} = 111.21$ mL/minuto

t, minutos	Q_F , mL/minuto	V_F , mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	1.5572
2	103.4	276.6	0.5974	0.9302
4	96.8	476.8	0.5588	0.8702
6	93.8	667.4	0.5414	0.8430
8	93.3	854.4	0.5390	0.8393
10	93.3	1041.1	0.5390	0.8393
12	93.3	1227.8	0.5390	0.8393
14	91.3	1412.4	0.5273	0.8210
16	91.3	1595.0	0.5273	0.8210
18	85.7	1772.0	0.4950	0.7708
20	85.7	1943.5	0.4950	0.7708
25	85.7	2372.0	0.4950	0.7708
30	82.4	2792.2	0.4756	0.7405
35	80.8	3200.0	0.4664	0.7263
40	80.8	3603.9	0.4664	0.7263
45	76.4	3996.7	0.4410	0.6867
50	76.4	4378.5	0.4410	0.6867
55	73.7	4753.6	0.4255	0.6626
60	71.2	5115.8	0.4111	0.6401

Tabla 6.13 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 7-0

$Q_{F0} = 173.17$ mL/minuto, $Q_{F0ext} = 91.25$ mL/minuto

t, minutos	Q_F , mL/minuto	V_F , mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	1.8979
2	85.7	258.9	0.4950	0.9394
4	80.0	424.6	0.4620	0.8768
6	77.8	582.4	0.4491	0.8524
8	76.4	736.5	0.4410	0.8369
10	75.0	887.9	0.4331	0.8220
12	73.7	1036.6	0.4255	0.8075
14	72.7	1183.0	0.4200	0.7971
16	71.2	1326.9	0.4111	0.7802
18	68.9	1466.9	0.3976	0.7546
20	68.9	1604.6	0.3976	0.7546
25	67.7	1946.1	0.3912	0.7424
30	64.6	2277.0	0.3731	0.7082
35	64.3	2599.3	0.3712	0.7045
40	60.0	2910.0	0.3465	0.6576
45	59.0	3207.5	0.3408	0.6468
50	59.0	3502.6	0.3408	0.6468
55	58.1	3795.3	0.3353	0.6364
60	57.1	4083.3	0.3300	0.6263

Resultados

Tabla 6.14 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 8-0

$Q_{F0} = 173.17 \text{ mL/minuto}, Q_{F0ext} = 77.46 \text{ mL/minuto}$				
t, minutos	$Q_F, \text{mL/minuto}$	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	2.2356
4	75.0	496.3	0.4331	0.9682
6	75.0	646.3	0.4331	0.9682
8	73.7	795.0	0.4255	0.9513
10	73.5	942.2	0.4243	0.9485
12	72.0	1087.6	0.4158	0.9295
14	72.7	1232.4	0.4200	0.9389
16	69.2	1374.3	0.3998	0.8938
18	70.6	1514.2	0.4076	0.9113
20	67.9	1652.7	0.3922	0.8769
25	67.9	1992.3	0.3922	0.8769
30	67.9	2331.9	0.3922	0.8769
35	64.3	2662.4	0.3712	0.8299
40	63.2	2981.0	0.3647	0.8154
45	63.2	3296.8	0.3647	0.8154
50	61.8	3609.1	0.3567	0.7974
55	60.0	3913.6	0.3465	0.7746
60	59.0	4211.1	0.3408	0.7619

Tabla 6.15 Evolución del caudal de filtrado y del volumen filtrado con el tiempo para el experimento 9-0

$Q_{F0} = 173.17 \text{ mL/minuto}, Q_{F0ext} = 97.83 \text{ mL/minuto}$				
t, minutos	$Q_F, \text{mL/minuto}$	V_F, mL	Q_F/Q_{F0}	Q_F/Q_{F0ext}
0	173.17	0	1.0000	1.7700
2	94.7	267.9	0.5471	0.9683
4	85.7	448.4	0.4950	0.8761
6	85.7	619.8	0.4950	0.8761
8	87.5	793.0	0.5053	0.8944
10	84.0	964.5	0.4851	0.8586
12	84.0	1132.5	0.4851	0.8586
14	85.7	1302.2	0.4950	0.8761
16	85.7	1473.6	0.4950	0.8761
18	85.7	1645.1	0.4950	0.8761
20	85.7	1816.5	0.4950	0.8761
25	87.5	2249.5	0.5053	0.8944
30	87.5	2687.0	0.5053	0.8944
35	82.4	3111.7	0.4756	0.8418
40	80.8	3519.5	0.4664	0.8256
45	81.8	3925.9	0.4725	0.8363
50	80.8	4332.4	0.4664	0.8256
55	80.8	4736.3	0.4664	0.8256
60	79.2	5136.3	0.4576	0.8100

En cuanto a las concentraciones de BSA medidas experimentalmente en la corriente de filtrado (C_{FA}), concentración de filtrado aparente, hay que hacer notar que corresponden a las concentraciones medidas a la salida de la cámara de filtrado (que están afectadas por la dilución que provoca el contenido inicial en agua de la cámara), lo que determina que no correspondan a la concentración del filtrado que abandona la membrana en cada instante (C_F), sobre todo al inicio del proceso.

Para corregir este efecto, provocado por el método experimental utilizado, puede admitirse mezcla perfecta en la cámara de filtrado (cuyo volumen es V_{CF}) y utilizar la función E de distribución de edades en la salida. Esta función para mezcla perfecta es:

$$E = \exp(-\theta) = \exp\left(-\frac{V_F}{V_{CF}}\right) \quad [6.4]$$

y por tanto, la fracción de la corriente de salida de la cámara más joven que θ , será la que aporte la proteína a la corriente de salida:

$$\int_0^{\theta} E d\theta = \int_0^{\theta} \exp(-\theta) d\theta = 1 - \exp(-\theta) = 1 - \exp\left(-\frac{V_F}{V_{CF}}\right) \quad [6.5]$$

de manera que puede considerarse que la concentración de BSA de salida es el resultado de la mezcla de esta fracción (con la concentración buscada, C_F) con el resto de agua:

$$C_F = \frac{C_{FA}}{1 - \exp\left(-\frac{V_F}{V_{CF}}\right)} \quad [6.6]$$

siendo C_{FA} la concentración medida por análisis y $V_{CF} = 28.3$ mL en nuestro dispositivo experimental. Esta corrección se hace despreciable a tiempos grandes.

Finalmente se calcula la transmisión como:

$$S_o = \frac{C_F}{C_R} \quad [6.7]$$

Resultados

utilizando los valores puntuales de C_F y C_R .

En las Tablas 6.16 a 6.29 se indican, para todos los experimentos realizados, los datos primarios de concentraciones de proteína en las corrientes de filtrado y retenido, así como los datos corregidos de concentración en filtrado y de transmisión. Puesto que en ocasiones los tiempos de toma de muestra para la determinación de la concentración de BSA en el retenido y en el filtrado no coinciden con los mismos tiempos de medida del caudal de filtrado, los datos de caudal y volumen de filtrado correspondientes se han obtenido por interpolación lineal en las Tablas 6.2 a 6.15.

Tabla 6.16 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 2-0

t, minutos	$C_R, g/L$	$C_{FA}, g/L$	$Q_F, mL/min$	V_F, mL	$C_F, g/L$	S_o
0	0.183	0.000	173.2	0	0	0
1	0.171	0.061	114.5	114.5	0.062	0.362
2	0.123	0.138	55.8	229.0	0.138	1.118
3	0.157	0.117	53.6	282.6	0.117	0.747
4	0.141	0.081	51.4	336.2	0.081	0.577
5	0.138	0.083	51.4	387.7	0.083	0.600
10	0.143	0.020	51.4	641.9	0.020	0.142
15	0.118	0.008	48.6	888.0	0.008	0.065
30	0.095	0.000	46.2	1605.1	0.000	0.000
45	0.075	0.000	45.0	2294.5	0.000	0.000
60	0.079	0.000	46.2	2983.9	0.000	0.000

Tabla 6.17 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 3-0

t, minutos	$C_R, g/L$	$C_{FA}, g/L$	$Q_F, mL/min$	V_F, mL	$C_F, g/L$	S_o
0	0.234	0	173.2	0	0	0
1	0.237	0.120	127.1	127.13	0.121	0.511
2	0.243	0.074	81.1	254.25	0.074	0.305
3	0.230	0.072	80.5	334.79	0.072	0.311
4	0.225	0.059	80.0	415.33	0.059	0.263
5	0.245	0.059	81.4	496.71	0.059	0.243
10	0.252	0.033	81.1	904.09	0.033	0.132
15	0.232	0.025	77.9	1302.19	0.025	0.107
30	0.224	0.024	76.9	2470.21	0.024	0.106
45	0.240	0.011	75.0	3619.25	0.011	0.044
60	0.230	0.013	75.0	4744.25	0.013	0.059

Resultados

Tabla 6.18 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 4-0

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.218	0	173.2	0	0	0
1	0.218	0.024	113.4	113.4	0.025	0.113
2	0.227	0.033	53.6	226.7	0.033	0.145
3	0.236	0.033	51.8	278.5	0.033	0.141
4	0.194	0.026	50.0	330.3	0.026	0.135
5	0.219	0.028	49.5	377.9	0.028	0.129
10	0.235	0.021	45.3	615.9	0.021	0.087
15	0.225	0.023	44.3	832.0	0.023	0.100
30	0.221	0.020	41.4	1480.4	0.020	0.090
45	0.233	0.017	39.3	2085.6	0.017	0.071
60	0.230	0.020	36.9	2648.4	0.020	0.086

Tabla 6.19 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-0

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.243	0	173.2	0	0	0
1	0.236	0.000	98.4	98.4	0.000	0.000
2	0.218	0.071	23.7	196.9	0.071	0.324
3	0.229	0.128	22.3	219.2	0.128	0.561
4	0.225	0.138	20.9	241.5	0.138	0.614
5	0.208	0.136	20.5	260.8	0.136	0.654
10	0.220	0.123	17.0	357.7	0.123	0.561
15	0.207	0.087	16.0	435.2	0.087	0.420
30	0.212	0.039	14.5	667.6	0.039	0.182
45	0.206	0.025	13.8	880.2	0.025	0.120
60	0.203	0.009	13.3	1084.6	0.009	0.044

Tabla 6.20 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-1

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.234	0	173.2	0	0	0
1	0.214	0.000	102.1	102.1	0.000	0.000
2	0.216	0.000	31.0	204.2	0.000	0.000
3	0.207	0.123	29.5	233.7	0.123	0.592
4	0.206	0.191	27.9	263.1	0.192	0.929
5	0.192	0.179	27.0	290.1	0.179	0.934
10	0.195	0.171	23.1	414.3	0.171	0.875
15	0.193	0.184	20.1	521.3	0.184	0.955
30	0.186	0.146	16.9	798.2	0.146	0.785
45	0.167	0.155	15.0	1035.9	0.155	0.932
60	0.175	0.145	13.4	1253.4	0.145	0.826

Resultados

Tabla 6.21 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-2

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.214	0	173.2	0	0	0
1	0.216	0.000	101.6	101.6	0.000	0.000
2	0.218	0.000	30.0	203.2	0.000	0.000
3	0.204	0.084	27.5	230.7	0.084	0.410
4	0.196	0.178	25.0	258.2	0.178	0.909
5	0.203	0.192	24.3	282.5	0.192	0.949
10	0.199	0.194	20.5	393.9	0.194	0.974
15	0.198	0.183	18.2	489.2	0.183	0.924
30	0.180	0.166	15.3	736.5	0.166	0.920
45	0.198	0.126	13.0	944.7	0.126	0.637
60	0.169	0.122	11.7	1129.8	0.122	0.722

Tabla 6.22 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-3

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.230	0	173.2	0	0	0
1	0.225	0.000	102.4	102.4	0.000	0.000
2	0.190	0.007	31.6	204.7	0.007	0.038
3	0.205	0.101	29.4	234.2	0.101	0.493
4	0.210	0.176	27.3	263.6	0.176	0.839
5	0.214	0.174	25.9	289.5	0.174	0.815
10	0.175	0.178	21.8	407.8	0.178	1.018
15	0.180	0.192	19.8	512.0	0.192	1.070
30	0.187	0.140	16.2	776.9	0.140	0.751
45	0.173	0.111	13.8	1004.6	0.111	0.639
60	0.187	0.086	12.4	1200.8	0.086	0.457

Tabla 6.23 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-5

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.225	0	173.2	0	0	0
1	0.209	0.000	103.3	103.3	0.000	0.000
2	0.216	0.000	33.3	206.5	0.000	0.000
3	0.190	0.114	29.3	237.8	0.114	0.599
4	0.186	0.175	27.8	264.9	0.175	0.942
5	0.188	0.189	26.4	292.1	0.189	1.006
10	0.172	0.177	22.0	413.2	0.177	1.028
15	0.193	0.156	18.2	513.9	0.156	0.812
30	0.182	0.159	14.3	754.2	0.159	0.876
45	0.182	0.132	12.5	955.7	0.132	0.726
60	0.172	0.106	10.3	1131.8	0.106	0.612

Resultados

Tabla 6.24 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-10

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.227	0	173.2	0	0	0
1	0.215	0.000	109.7	109.7	0.000	0.000
2	0.204	0.000	46.2	219.3	0.000	0.000
3	0.226	0.160	37.1	256.5	0.160	0.710
4	0.183	0.189	28.1	293.6	0.189	1.033
5	0.188	0.185	26.6	320.2	0.185	0.983
10	0.191	0.189	22.5	442.9	0.189	0.988
15	0.186	0.185	19.8	547.0	0.185	0.997
30	0.227	0.158	15.5	808.2	0.158	0.695
45	0.164	0.137	13.1	1021.5	0.137	0.834
60	0.163	0.128	11.3	1205.0	0.128	0.785

Tabla 6.25 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 4.9-25

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.235	0	173.2	0	0	0
1	0.202	0.000	104.8	104.8	0.000	0.000
2	0.212	0.049	36.4	209.5	0.049	0.232
3	0.210	0.166	33.6	243.1	0.166	0.791
4	0.214	0.193	30.8	276.7	0.193	0.901
5	0.199	0.190	29.3	306.0	0.190	0.957
10	0.196	0.195	24.0	438.3	0.195	0.995
15	0.180	0.179	20.9	550.1	0.179	0.997
30	0.167	0.147	16.4	826.5	0.147	0.882
45	0.181	0.112	13.8	1054.6	0.112	0.619
60	0.175	0.089	12.3	1250.5	0.089	0.508

Tabla 6.26 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 6-0

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.257	0	173.2	0	0	0
1	0.245	0.000	138.3	138.3	0.000	0.000
2	0.248	0.000	103.4	276.6	0.000	0.000
3	0.231	0.000	100.1	376.7	0.000	0.000
4	0.239	0.000	96.8	476.8	0.000	0.000
5	0.237	0.000	95.3	572.1	0.000	0.000
10	0.244	0.000	93.3	1041.1	0.000	0.000
15	0.244	0.000	91.3	1503.7	0.000	0.000
30	0.240	0.000	82.4	2792.2	0.000	0.000
45	0.241	0.000	76.4	3996.7	0.000	0.000
60	0.249	0.000	71.2	5115.8	0.000	0.000

Resultados

Tabla 6.27 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 7-0

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.254	0	173.2	0	0	0
1	0.241	0.021	129.4	129.4	0.021	0.087
2	0.245	0.012	85.7	258.9	0.012	0.047
3	0.238	0.007	82.9	341.7	0.007	0.031
4	0.241	0.000	80.0	424.6	0.000	0.000
5	0.242	0.005	78.9	503.5	0.005	0.022
10	0.262	0.000	75.0	887.9	0.000	0.000
15	0.237	0.007	72.0	1254.9	0.007	0.031
30	0.245	0.005	64.6	2277.0	0.005	0.019
45	0.236	0.000	59.0	3207.5	0.000	0.000
60	0.235	0.000	57.1	4083.3	0.000	0.000

Tabla 6.28 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 8-0

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.257	0	173.2	0	0	0
1	0.228	0.023	148.6	124.1	0.024	0.104
2	0.240	0.012	124.1	248.2	0.012	0.049
3	0.241	0.007	99.5	372.3	0.007	0.029
4	0.242	0.000	75.0	496.3	0.000	0.000
5	0.251	0.000	75.0	571.3	0.000	0.000
10	0.243	0.000	73.5	942.2	0.000	0.000
15	0.243	0.000	71.0	1303.4	0.000	0.000
30	0.250	0.000	67.9	2331.9	0.000	0.000
45	0.242	0.000	63.2	3296.8	0.000	0.000
60	0.236	0.000	59.0	4211.1	0.000	0.000

Tabla 6.29 Evolución de la concentración de BSA en retenido y filtrado con el tiempo para el experimento 9-0

t, minutos	C_R, g/L	C_{FA}, g/L	Q_F, mL/min	V_F, mL	C_F, g/L	S_o
0	0.249	0	173.2	0	0	0
1	0.237	0.000	134.0	134.0	0.000	0.000
2	0.237	0.000	94.7	267.9	0.000	0.000
3	0.236	0.000	90.2	358.1	0.000	0.000
4	0.244	0.000	85.7	448.4	0.000	0.000
5	0.231	0.000	85.7	534.1	0.000	0.000
10	0.227	0.000	84.0	964.5	0.000	0.000
15	0.218	0.000	85.7	1387.9	0.000	0.000
30	0.218	0.000	87.5	2687.0	0.000	0.000
45	0.241	0.000	81.8	3925.9	0.000	0.000
60	0.232	0.000	79.2	5136.3	0.000	0.000

A continuación, para cada experimento, se va a determinar la masa total de proteína depositada en la membrana en cada instante (M_m). Para estimarla, bastaría conocer la masa inicial de BSA puesta en cada experimento (M_0), restarle la masa de las muestras extraídas hasta ese instante, así como la masa contenida en los volúmenes de los circuitos de retenido y permeado. Para el dispositivo experimental empleado, la masa de soluto depositada en la membrana en cada instante será:

$$M_m = M - V_R C_R - V_P C_{FA} \quad [6.8]$$

donde V_R es el volumen retenido en cada instante, V_P el volumen de permeado y M la masa del soluto en el sistema en cada instante, la cual puede determinarse mediante la expresión:

$$M = M_0 - 0.001 C_0 - 0.001 \sum C_R - 0.001 \sum C_{FA} \quad [6.9]$$

El dispositivo experimental utilizado (Figura 5.6), está constituido por un tanque agitado desde el que se alimenta la disolución, con un volumen inicial de 1 L. Dicha disolución, después de pasar por la membrana, sale a la cámara de filtrado (V_{CF}), que es la región anular que queda entre la membrana y la carcasa que la contiene, y cuyo volumen es de 28.3 mL. Tras dicha cámara, el permeado sale a través de un capilar, cuyo volumen es de 11 mL, siendo posteriormente conducido al tanque de alimentación, de modo que el sistema trabaje en recirculación.

Teniendo en cuenta lo anterior, los valores de V_R y V_P se calcularían de la siguiente manera:

$$\text{Volumen inicial total} = (1000 + 28.3) \text{ mL} = 1.0283 \text{ L}$$

$$V_P = \text{Volumen de permeado} = \text{constante} = (28.3 + 11) \text{ mL} = 0.0393 \text{ L}$$

$$V_R = \text{Volumen retenido en cada instante} = 1.0283 - 0.0393 - n.m./1000 = 0.989 - n.m./1000$$

siendo n.m. el número de muestras tomadas.

Por otra parte, la masa de soluto que ha pasado por la membrana en cada instante (M_{SF}) puede calcularse a partir del caudal y de la concentración de BSA medida en el filtrado:

Resultados

$$M_{SF} = \int_0^t Q_F C_F dt \quad [6.10]$$

Estos cálculos para los experimentos en que se produce transmisión apreciable, $pH < 6$, se indican en las Tablas 6.30 a 6.39.

Tabla 6.30 Balances de soluto en el proceso para el experimento 2-0

t,minutos	V_{R,L}	M,g	M_{m,g}	M_{SF,g}
0	0.988	0.2412	0.0603	0
1	0.986	0.2409	0.0698	0.0035
2	0.984	0.2407	0.1142	0.0108
3	0.982	0.2404	0.0817	0.0178
4	0.980	0.2402	0.0992	0.0230
5	0.978	0.2400	0.1014	0.0272
10	0.976	0.2398	0.0991	0.0405
15	0.974	0.2397	0.1243	0.0441
30	0.972	0.2396	0.1476	0.0469
45	0.970	0.2395	0.1669	0.0469
60	0.968	0.2394	0.1626	0.0469

Tabla 6.31 Balances de soluto en el proceso para el experimento 3-0

t,minutos	V_{R,L}	M,g	M_{m,g}	M_{SF,g}
0	0.988	0.2407	0.0096	0
1	0.986	0.2404	0.0022	0.0076
2	0.984	0.2401	-0.0015	0.0182
3	0.982	0.2398	0.0110	0.0241
4	0.980	0.2395	0.0169	0.0293
5	0.978	0.2392	-0.0023	0.0341
10	0.976	0.2389	-0.0083	0.0529
15	0.974	0.2386	0.0121	0.0645
30	0.972	0.2384	0.0192	0.0927
45	0.970	0.2381	0.0045	0.1124
60	0.968	0.2379	0.0147	0.1260

Resultados

Tabla 6.32 Balances de soluto en el proceso para el experimento 4-0

t, minutos	V_{R,L}	M, g	M_{m,g}	M_{SF,g}
0	0.988	0.2399	0.0240	0
1	0.986	0.2396	0.0238	0.0014
2	0.984	0.2394	0.0150	0.0036
3	0.982	0.2391	0.0063	0.0054
4	0.980	0.2389	0.0478	0.0069
5	0.978	0.2386	0.0235	0.0082
10	0.976	0.2384	0.0079	0.0141
15	0.974	0.2381	0.0178	0.0189
30	0.972	0.2379	0.0225	0.0326
45	0.970	0.2376	0.0110	0.0437
60	0.968	0.2374	0.0143	0.0541

Tabla 6.33 Balances de soluto en el proceso para el experimento 4.9-0

t, minutos	V_{R,L}	M, g	M_{m,g}	M_{SF,g}
0	0.988	0.2403	0.0002	0
1	0.986	0.2401	0.0071	0.0000
2	0.984	0.2398	0.0228	0.0008
3	0.982	0.2395	0.0098	0.0031
4	0.980	0.2391	0.0127	0.0060
5	0.978	0.2387	0.0300	0.0088
10	0.976	0.2384	0.0192	0.0210
15	0.974	0.2381	0.0335	0.0297
30	0.972	0.2379	0.0303	0.0443
45	0.970	0.2376	0.0367	0.0511
60	0.968	0.2374	0.0401	0.0545

Tabla 6.34 Balances de soluto en el proceso para el experimento 4.9-1

t, minutos	V_{R,L}	M, g	M_{m,g}	M_{SF,g}
0	0.988	0.2401	0.0089	0
1	0.986	0.2399	0.0286	0.0000
2	0.984	0.2397	0.0275	0.0000
3	0.982	0.2394	0.0308	0.0018
4	0.980	0.2390	0.0294	0.0063
5	0.978	0.2386	0.0442	0.0114
10	0.976	0.2383	0.0410	0.0333
15	0.974	0.2379	0.0431	0.0524
30	0.972	0.2375	0.0506	0.0988
45	0.970	0.2372	0.0696	0.1348
60	0.968	0.2369	0.0616	0.1668

Resultados

Tabla 6.35 Balances de soluto en el proceso para el experimento 4.9-2

t,minutos	V_{R,L}	M,g	M_{m,g}	M_{SF,g}
0	0.988	0.2409	0.0293	0
1	0.986	0.2407	0.0276	0.0000
2	0.984	0.2405	0.0257	0.0000
3	0.982	0.2402	0.0363	0.0012
4	0.980	0.2398	0.0411	0.0045
5	0.978	0.2394	0.0337	0.0091
10	0.976	0.2391	0.0375	0.0307
15	0.974	0.2387	0.0391	0.0489
30	0.972	0.2383	0.0569	0.0928
45	0.970	0.2380	0.0413	0.1240
60	0.968	0.2377	0.0689	0.1471

Tabla 6.36 Balances de soluto en el proceso para el experimento 4.9-3

t,minutos	V_{R,L}	M,g	M_{m,g}	M_{SF,g}
0	0.988	0.2409	0.0140	0
1	0.986	0.2407	0.0186	0.0000
2	0.984	0.2405	0.0530	0.0001
3	0.982	0.2402	0.0347	0.0017
4	0.980	0.2398	0.0270	0.0056
5	0.978	0.2394	0.0234	0.0103
10	0.976	0.2391	0.0612	0.0313
15	0.974	0.2387	0.0560	0.0505
30	0.972	0.2384	0.0511	0.0961
45	0.970	0.2381	0.0656	0.1247
60	0.968	0.2378	0.0532	0.1442

Tabla 6.37 Balances de soluto en el proceso para el experimento 4.9-5

t,minutos	V_{R,L}	M,g	M_{m,g}	M_{SF,g}
0	0.988	0.2406	0.0180	0
1	0.986	0.2404	0.0346	0.0000
2	0.984	0.2402	0.0277	0.0000
3	0.982	0.2399	0.0486	0.0017
4	0.980	0.2395	0.0508	0.0058
5	0.978	0.2392	0.0477	0.0107
10	0.976	0.2388	0.0637	0.0329
15	0.974	0.2385	0.0445	0.0497
30	0.972	0.2381	0.0552	0.0881
45	0.970	0.2378	0.0562	0.1176
60	0.968	0.2375	0.0665	0.1382

Resultados

Tabla 6.38 Balances de soluto en el proceso para el experimento 4.9-10

t,minutos	V_{R,L}	M,g	M_{m,g}	M_{SF,g}
0	0.988	0.2405	0.0164	0
1	0.986	0.2403	0.0279	0.0000
2	0.984	0.2401	0.0398	0.0000
3	0.982	0.2397	0.0115	0.0030
4	0.980	0.2394	0.0530	0.0086
5	0.978	0.2390	0.0482	0.0137
10	0.976	0.2386	0.0443	0.0366
15	0.974	0.2382	0.0500	0.0564
30	0.972	0.2379	0.0110	0.1022
45	0.970	0.2376	0.0728	0.1341
60	0.968	0.2373	0.0746	0.1583

Tabla 6.39 Balances de soluto en el proceso para el experimento 4.9-25

t,minutos	V_{R,L}	M,g	M_{m,g}	M_{SF,g}
0	0.988	0.2406	0.0081	0
1	0.986	0.2404	0.0411	0.0000
2	0.984	0.2402	0.0297	0.0009
3	0.982	0.2398	0.0273	0.0046
4	0.980	0.2394	0.0219	0.0103
5	0.978	0.2390	0.0368	0.0161
10	0.976	0.2386	0.0396	0.0418
15	0.974	0.2382	0.0560	0.0629
30	0.972	0.2379	0.0696	0.1091
45	0.970	0.2376	0.0576	0.1389
60	0.968	0.2374	0.0648	0.1587

7. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. CARACTERÍSTICAS DEL MÓDULO DE FILTRACIÓN

Para poder interpretar los resultados obtenidos es necesario caracterizar el medio que determina estos resultados, es decir, el módulo de filtración.

Como se ha indicado en Materiales y Métodos, el módulo de filtración utilizado consiste en un cilindro de 10 mm de diámetro y 250 mm de longitud, con tres canales de sección elíptica de diámetro hidráulico de 3.6 mm (Figura 7.1). De acuerdo con las indicaciones del fabricante las características de la capa activa interna son: diámetro medio de poro = 0.14μ y área = 0.0094 m^2 . Por su parte la carcasa que contiene a la membrana está fabricada en acero inoxidable 316L, con juntas de silicona y conexiones clamp. Dicha carcasa se halla conectada a la alimentación, mediante una conducción de 2 cm de diámetro.

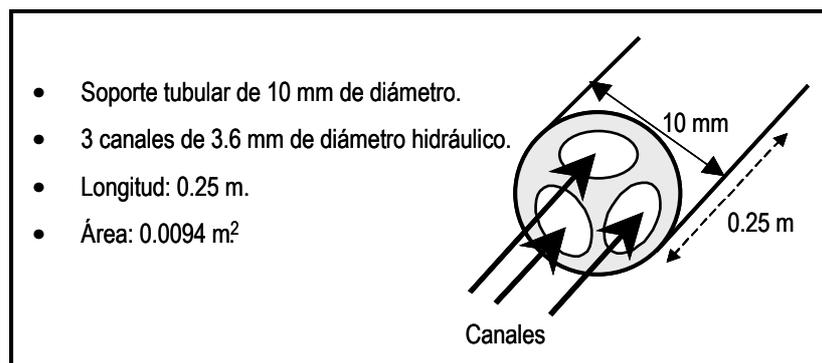


Figura 7.1 Módulo de membrana

7.1.1. Circulación por la cámara de retenido

Para caracterizar la circulación por la cámara de retenido se hace pasar a través de la misma agua a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, a diferentes caudales de circulación, y se mide la caída de presión, obteniendo:

Tabla 7.1 Caída de presión en la cámara de retenido

ΔP , psi	1.75	2.25	2.5	3.75	4	5
Q_R , L/h	277	300	360	396	440	514

A partir de estos datos puede determinarse la velocidad de circulación por la cámara, U_R . Para ello se precisa conocer la sección de paso de los tres canales, que puede hallarse a partir del diámetro hidráulico (d_H):

$$\text{diámetro hidráulico} = 4 \frac{\text{Sección}}{\text{Perímetro mojado}} \quad [7.1]$$

ecuación en la que se conoce el perímetro mojado, a partir de la superficie interna del módulo, 0.0094 m^2 , y de la longitud de los canales de retenido, 0.25 m :

$$\text{Perímetro mojado de los tres canales} = 0.0094/0.25 = 0.0376 \text{ m}$$

con lo que:

$$\text{Sección de los tres canales} = (0.0036)(0.0376)/4 = 3.38 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2$$

La velocidad de circulación y el número de Reynolds vendrán dados por:

$$U_R = \frac{Q_R}{\text{Sección de paso}} \quad [7.2]$$

$$\text{Re} = \frac{U_R d_H \rho}{\mu} \quad [7.3]$$

siendo $\mu = 0.80 \text{ cp}$ y $\rho = 0.996 \text{ g/cm}^3$, la viscosidad y la densidad del agua a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente.

El coeficiente de fricción de Fanning puede calcularse mediante las analogías de transporte. Para ello se estima la caída de presión en la entrada y salida del módulo, ΔP_{ES} , que para régimen turbulento vienen dadas por (Perry y Green, 1997):

$$\Delta P_{ES} = \Delta P_E + \Delta P_S \quad [7.4]$$

$$\Delta P_E = \frac{\rho U_R^2}{2} + 0.5 \left(1 - \frac{S_R}{S_M} \right) \frac{\rho U_R^2}{2} \quad [7.5]$$

$$\Delta P_S = \left(1 - \frac{S_R}{S_M} \right)^2 \frac{\rho U_R^2}{2} \quad [7.6]$$

$$\Delta P_{ES} = \left(1 + 0.5 \left(1 - \frac{S_R}{S_M} \right) + \left(1 - \frac{S_R}{S_M} \right)^2 \right) \frac{\rho U_R^2}{2} \quad [7.7]$$

donde S_R es la sección ya calculada de los tres canales, $3.38 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2$, y S_M la sección del tubo de alimentación al módulo (que tiene 2 cm de diámetro), $S_M = (\pi/4)(2 \cdot 10^{-2})^2 = 3.14 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$, por tanto:

$$\Delta P_{ES} = 2.24 \frac{\rho U_R^2}{2}$$

La caída de presión en los canales de retenido será:

$$\Delta P_R = \Delta P - \Delta P_{ES} \quad [7.8]$$

y el coeficiente de fricción de Fanning vendrá dado por:

$$f = \frac{\Delta P_R}{2\rho U_R^2 \frac{L_R}{d_R}} = \frac{\Delta P_R}{2(996)U_R^2 \frac{0.25}{0.0036}} = 7.23 \cdot 10^{-6} \frac{\Delta P_R}{U_R^2} \quad [7.9]$$

En la Tabla 7.2 se resumen la caída de presión y los valores de f y Re , en función del caudal de retenido:

Tabla 7.2 Caracterización de la cámara de retenido

ΔP , psi	ΔP , Pa	Q_R , L/h	U_R , m/s	ΔP_{ES} , Pa	ΔP_R , Pa	f	Re
1.75	12066	276	2.2758	5778	6288	0.00878	10200
2.25	15513	300	2.4655	6781	8732	0.01039	11050
2.5	17237	360	2.9586	9765	7473	0.00617	13260
3.75	25856	396	3.2544	11815	14041	0.00959	14586
4	27579	440	3.616	14586	12993	0.00718	16207
5	34474	514	4.2266	19928	14546	0.00589	18944

Puede observarse que para régimen claramente turbulento, $Re > 10000$, el coeficiente de fricción oscila alrededor de un valor medio: $f = 0.0080$, un 10 % superior que el correspondiente a tubos lisos:

$$f = \frac{0.079}{Re^{0.25}} \quad [7.10]$$

En los experimentos de filtración, el caudal de retenido utilizado ha sido de 400 L/h $\therefore 1.11 \cdot 10^{-4}$ m³/s, por tanto:

$$U_R = \frac{1.11 \cdot 10^{-4}}{3.38 \cdot 10^{-5}} = 3.28 \frac{m}{s}$$

$$Re = \frac{(3.28)(0.0036)(996)}{0.80 \cdot 10^{-3}} = 14700$$

Utilizando la ecuación de Churchill, (Perry y Green, 1997) aplicable a tubos rugosos, se puede determinar la rugosidad de la superficie:

$$\frac{1}{\sqrt{f}} = -4 \log_{10} \left(\frac{0.27\varepsilon}{d_R} + \left(\frac{7}{Re} \right)^{0.9} \right) \quad Re > 4000 \quad [7.11]$$

$$\frac{\varepsilon}{d_R} = 0.0021 \quad \varepsilon = 0.0000077 \text{ m}$$

donde ε representa la rugosidad de la superficie interna del modulo, y ε/d_R la rugosidad relativa, altura media de las crestas superficiales partido por el diámetro hidráulico.

7.1.2. Estimación del coeficiente de transferencia de materia: superficie-retenido

Mediante la ecuación de Young, Carroad y Bell (Young et al., 1980), puede estimarse el coeficiente de difusión de la molécula de BSA, considerando su peso molecular, PM, de 67000 Da:

$$D_s = 8.34 \cdot 10^{-12} \left(\frac{T}{\mu(\text{PM})^{1/3}} \right) = 7.8 \cdot 10^{-11} \frac{\text{m}^2}{\text{s}} \quad [7.12]$$

y por tanto el número adimensional de Schmidt será:

$$Sc = \frac{\mu}{\rho D_s} = 10300 \quad [7.13]$$

Para este valor del número de Schmidt y flujo turbulento en tubos (Perry y Green, 1997), se aconseja utilizar la siguiente ecuación para estimar el coeficiente de transferencia de materia superficie de la membrana-retenido:

$$Sh = 0.0096 Re^{0.913} Sc^{0.346} = 1500 \quad [7.14]$$

donde el número adimensional de Sherwood se define como:

$$Sh = \frac{k_L d_H}{D_s} \quad [7.15]$$

lo que da un valor de $k_L = 1500 (7.8 \cdot 10^{-11})/0.0036 = 3.25 \cdot 10^{-5} \text{ m/s}$.

En estas condiciones también se puede emplear la ecuación:

$$Sh = 0.0149 Re^{0.88} Sc^{1/3} = 1510 \quad [7.16]$$

con la que se obtiene $k_L = 1510 (7.8 \cdot 10^{-11})/0.0036 = 3.27 \cdot 10^{-5} \text{ m/s}$.

Por tanto, para los experimentos realizados con caudal de retenido de 400 L/h el valor estimado de k_L es: $3.26 \cdot 10^{-5} \text{ m/s}$.

Estos valores son apreciablemente superiores a los obtenidos mediante otras ecuaciones, como son:

la ecuación de Chilton-Colburn:

$$Sh = 0.023 Re^{0.80} Sc^{0.33} = 1047 \quad [7.17]$$

con $k_L = 1047 (7.8 \cdot 10^{-11})/0.0036 = 2.3 \cdot 10^{-5}$ m/s.

o la ecuación de Deissler:

$$Sh = 0.023 Re^{0.875} Sc^{0.25} = 1027 \quad [7.18]$$

con $k_L = 1027 (7.8 \cdot 10^{-11})/0.0036 = 2.2 \cdot 10^{-5}$ m/s.

propuestas por Zeman y Zydney (1996), lo cual es lógico dado que estas ecuaciones son aplicables para números de Schmidt considerablemente más bajos, del orden de 1.

7.1.3. Circulación a través de la membrana

Con objeto de poder caracterizar la membrana se realizaron una serie de microfotografías de la capa activa mediante microscopía electrónica (Figuras 7.2 a 7.5).

En ellas puede apreciarse las distintas capas que configuran la membrana. Por una parte se encuentra un soporte macroporoso (de mayor diámetro de poro) que proporciona la fuerza mecánica al sistema. A continuación se halla una capa intermedia que reduce los defectos de la capa anterior, separándola de la capa superior, la cual realmente determina el tamaño de corte del conjunto (Benito et al., 2005).

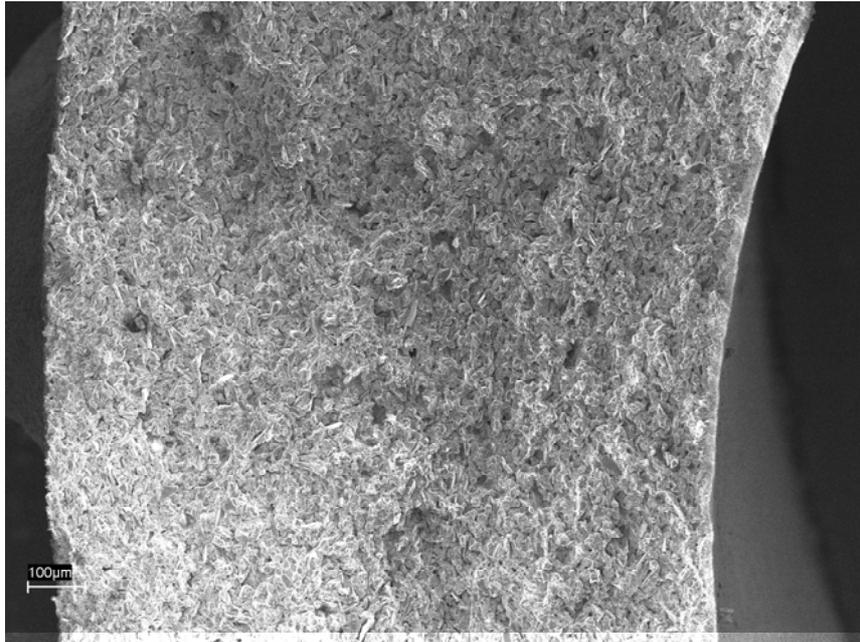


Figura 7.2 Corte en la dirección del flujo: cámara de permeado-cámara de retenido

En la zona interior de la Figura 7.2 se aprecia la capa activa como una delgada película más densa que el resto, del orden de 30 μm.

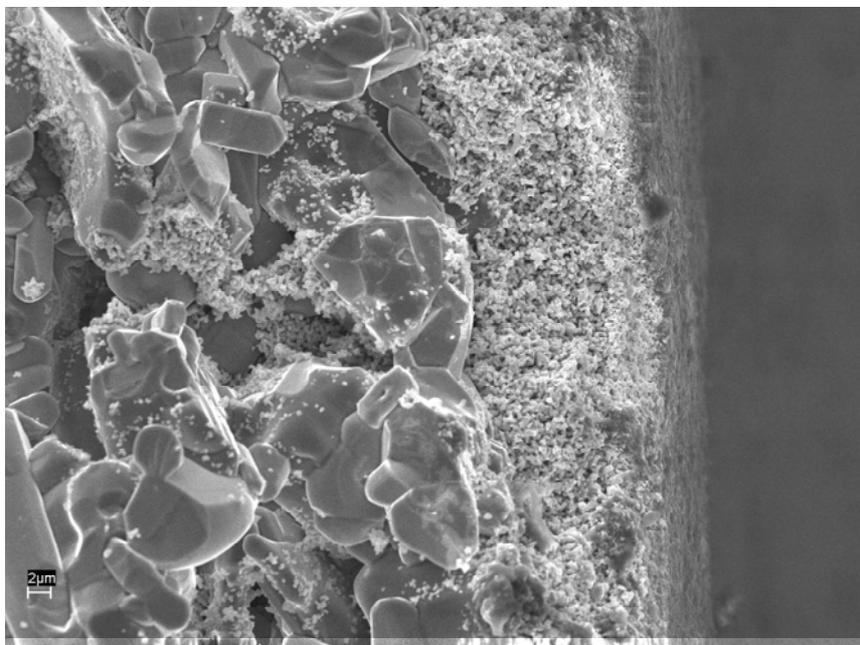


Figura 7.3 Vista de la capa activa y de la capa soporte

En la Figura 7.3 se observa claramente la estructura macroporosa de la capa soporte y la microporosa de la capa activa. También se observa que el espesor de la capa activa no es uniforme.

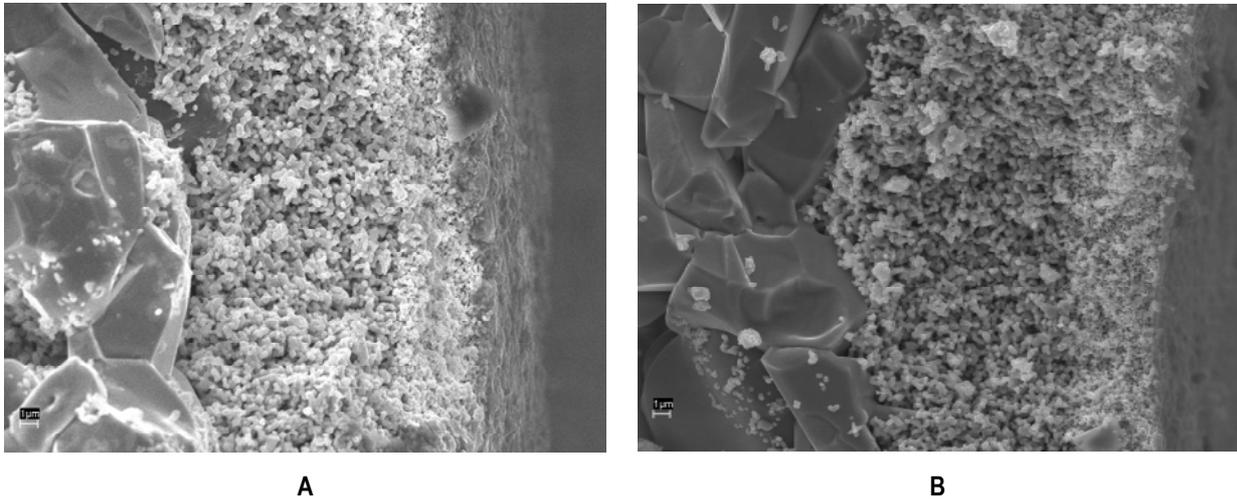


Figura 7.4 Ampliaciones de la capa activa

El tamaño de grano de la capa activa (Figura 7.4) es del orden de décimas de μm , con un espesor de 20 a 30 μm . Dentro de ella se aprecia una zona superficial más densa y de menor tamaño de poro, de unos 5 μm .

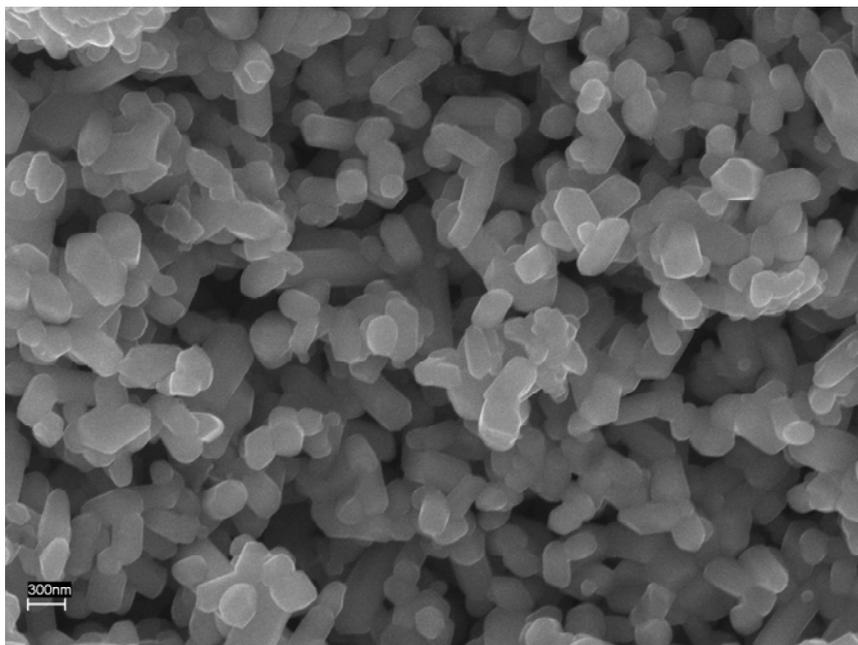


Figura 7.5 Detalle de un corte de la capa activa

En el corte de la Figura 7.5 se muestra la gran variación del tamaño de poro, entre 50 y 500 nm.

La porosidad de la capa activa ha sido medida por Palacio (1999), mediante penetración de helio, resultando un valor del 37.7 % para este tipo de membranas. A partir de esta información:

$$\text{Superficie libre de la capa activa} = (0.377)(0.0094) = 0.00354 \text{ m}^2$$

$$\text{Sección poro medio} = (\pi/4)(0.14 \cdot 10^{-6})^2 = 1.54 \cdot 10^{-14} \text{ m}^2$$

$$\text{Número de poros medios} = 0.00354 / 1.54 \cdot 10^{-14} = 2.30 \cdot 10^{11}$$

Por otro lado, con objeto de caracterizar el flujo a través de la membrana antes de iniciar cada experimento y después de aplicar el protocolo de lavado, se midió el caudal de agua a 30 °C ($\mu = 0.80 \text{ cp}$, $\rho = 0.996 \text{ g/cm}^3$) filtrado a través del módulo en función de la presión transmembrana media.

Tabla 7.3 Caudal de filtrado de agua frente a la presión transmembrana. T = 30 °C

$(\Delta P)_m, \text{bar}$	0.24	0.84	1.16	1.53	1.83	2.21
$Q_F, \text{mL/min}$	31.58	136.36	194.59	272.73	315.79	387.10

El caudal es linealmente dependiente de la presión, y se relaciona mediante la ecuación [3.28]:

$$Q_F (\text{mL/min}) = 173.17 (\Delta P)_m (\text{bar})$$

$$Q_F (\text{m}^3/\text{s}) = 2.89 \cdot 10^{-11} (\Delta P)_m (\text{Pa})$$

por tanto, la velocidad de circulación por los poros para una presión transmembrana media de 1 bar, que es la que se ha utilizado en todos los experimentos realizados en el estudio, será:

$$U_p = \frac{2.89 \cdot 10^{-6}}{0.00354} = 8.16 \cdot 10^{-4} \frac{\text{m}}{\text{s}}$$

y el número de Reynolds:

$$Re_p = \frac{(8.16 \cdot 10^{-4})(0.14 \cdot 10^{-6})(996)}{0.80 \cdot 10^{-3}} = 1.42 \cdot 10^{-4}$$

Lo que indica un régimen claramente laminar (como es usual en estos procesos). Dado que se utilizó una disolución de BSA muy diluida, en todos estos cálculos hidrodinámicos se han empleado las propiedades físicas correspondientes al agua a la temperatura de trabajo de 30 °C.

Aplicando la ecuación de Hagen-Poiseuille:

$$Q_F = N_p \frac{\pi(\Delta P)_m d_p^4}{128\mu L_{ep}} \quad [7.19]$$

se obtiene:

$$\frac{\pi}{128\mu} \left(N_p \frac{d_p^4}{L_{ep}} \right)_0 = 2.89 \cdot 10^{-11}$$

$$\left(N_p \frac{d_p^4}{L_{ep}} \right)_0 = 9.42 \cdot 10^{-13} \text{ m}^3 \quad L_{ep} = 9.38 \cdot 10^{-5} \text{ m} \therefore 93.8 \mu\text{m}$$

por lo que puede considerarse que la capa activa contiene $2.30 \cdot 10^{11}$ poros, de diámetro medio $0.14 \mu\text{m}$, y una longitud efectiva de $93.8 \mu\text{m}$. Si se considera un factor de tortuosidad del orden de 3, teórico para poros orientados al azar, el espesor de la capa activa debería ser del orden de $30 \mu\text{m}$, valor que está en concordancia con el espesor observado en las fotografías de microscopía electrónica.

Así, puede estimarse que la superficie interna de estos poros es:

$$S_p = N_p \pi d_p L_{ep} = (2.3 \cdot 10^{11}) \pi (0.14 \cdot 10^{-6}) (93.8 \cdot 10^{-6}) = 9.5 \text{ m}^2$$

y por tanto, del orden de 1000 veces mayor que la superficie interna de los canales del módulo (0.0094 m^2). Ésta debe ser la principal razón de que sólo en los experimentos en que hay transmisión del soluto se aprecie claramente una disminución continua del contenido en soluto

del líquido trabajando en recirculación, que tiene que ser provocada por la adsorción o deposición del soluto sobre la superficie de la membrana.

7.1.4. Determinación del punto de carga cero

En la determinación del punto de carga cero de la membrana se ha empleado el método de Mullet et al. (1999) descrito en el apartado 5.4.1 de la sección de Materiales y Métodos. Los resultados obtenidos para disoluciones de pH inicial 5, 6.4, 7.5 y 8.3 a través de membranas cerámicas de 0.14 μm se representan en la Figura 7.6:

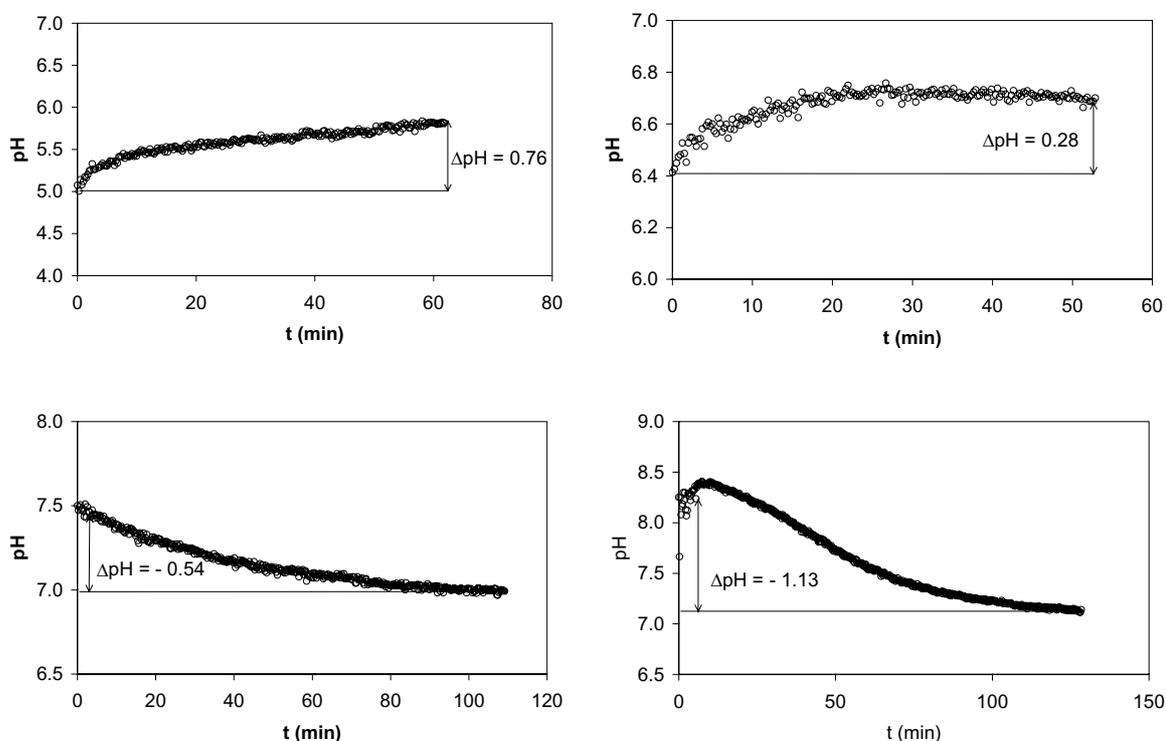


Figura 7.6 Variación de pH con el tiempo

A partir de los resultados obtenidos, se construye la representación del incremento de pH (en condiciones estacionarias) frente al pH inicial de la disolución:

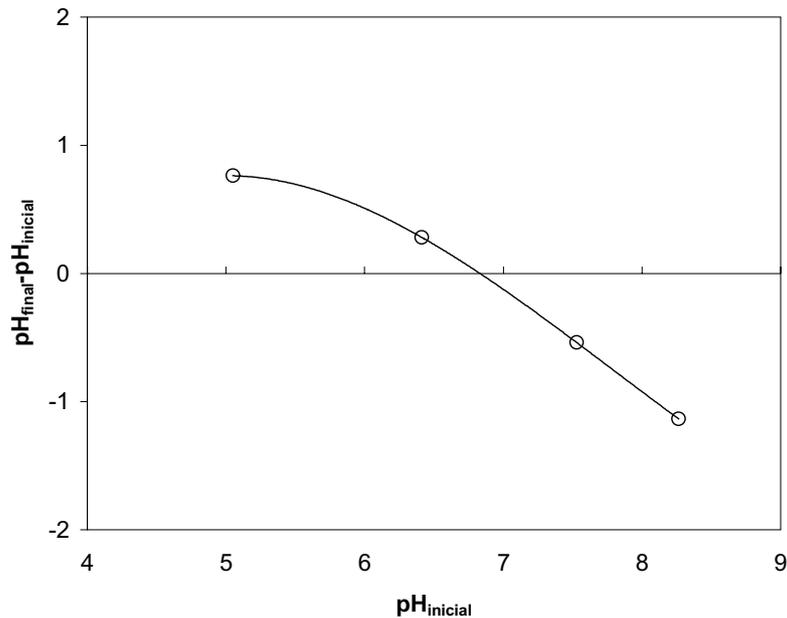


Figura 7.7 Determinación del punto de carga cero

lo que determina un pzc en torno a 7. Por tanto, a valores de $\text{pH} < 7$ la membrana tendrá carga positiva, y estará cargada negativamente a $\text{pH} > 7$.

7.2. EVOLUCIÓN DEL CAUDAL DE FILTRADO CON EL TIEMPO

Los resultados experimentales ponen de manifiesto una disminución rápida del caudal en los primeros minutos, seguida de un proceso más lento de disminución del caudal con el tiempo. En cualquier caso, la disminución del caudal de filtración con el tiempo, tiene que ser debida a la formación de una torta sobre la superficie de la membrana en contacto con el retenido, al bloqueo de los poros por las partículas, a la disminución de la sección libre de los poros por la unión de las partículas a su superficie interna, o a cualquier combinación de estos tres fenómenos. Sin embargo, el fenómeno rápido de los primeros minutos ocurre prácticamente sin pérdida importante de partículas sólidas, como indican los valores de C_R mostrados en las Tablas 6.16 a 6.29. Sólo en el experimento a $\text{pH} = 2$ el valor de C_R baja apreciablemente en los primeros instantes, por lo que en este experimento podría haberse formado una torta apreciable desde el principio, pero en el resto de los experimentos realizados, la disminución rápida del

caudal debe ser provocada por el bloqueo de poros, bien en la superficie de la membrana, es decir, en la boca de los poros, o en su interior en un punto estrecho de los mismos.

Supóngase la membrana formada por N_0 poros iguales, aunque no necesariamente uniformes en todo su recorrido, y que el caudal que circula por cada uno de ellos en las condiciones de operación es q_0 , de manera que el caudal inicial total será:

$$Q_{F0} = N_0 q_0 \quad [7.20]$$

Si las partículas contenidas en la alimentación quedan retenidas en un punto estrecho de los poros, bloqueándolos e impidiendo la circulación del fluido, el caudal total en cada instante será:

$$Q_F = N_L q_0 \quad [7.21]$$

siendo N_L los poros libres, no bloqueados, que disminuyen continuamente con el tiempo en la forma:

$$\begin{aligned} -\frac{dN_L}{dt} &= Q_F C_P \\ t = 0 \quad N_L &= N_0 \end{aligned} \quad [7.22]$$

donde C_P es la concentración de partículas en el fluido que circula por los poros. Sustituyendo [7.21] en [7.22] e integrando:

$$N_L = N_0 \exp(-q_0 C_P t) \quad [7.23]$$

$$Q_F = Q_{F0} \exp(-q_0 C_P t) \quad [7.24]$$

y el volumen de filtrado que atraviesa la membrana en función del tiempo será:

$$V_F = \int_0^t Q_{F0} \exp(-q_0 C_P t) dt = \frac{Q_{F0}}{q_0 C_P} (1 - \exp(-q_0 C_P t)) \quad [7.25]$$

para $t = \infty$:

$$V_F = \frac{Q_{F0}}{q_0 C_P} = \frac{N_0}{C_P} \quad V_F C_P = N_0 \quad [7.26]$$

que lógicamente indica que la membrana se habrá bloqueado por completo cuando la haya atravesado un volumen de filtrado que contuviera tantas partículas como poros había en la membrana.

Si todos los poros no son iguales, y sólo hay una fracción α del caudal que circula por poros con puntos suficientemente estrechos para ser bloqueados por las partículas, la ecuación anterior puede generalizarse en la forma:

$$Q_F = \alpha Q_{F0} \exp(-q_{0B} C_P t) + (1-\alpha) Q_{F0} = \alpha Q_{F0} \exp(-k_1 t) + (1-\alpha) Q_{F0} \quad [7.27]$$

donde, igual que anteriormente, k_1 será proporcional al caudal que circula por los poros bloqueables, q_{0B} , y a la concentración de partículas. El volumen de filtrado que atraviesa la membrana en función del tiempo será:

$$V_F = \int_0^t (\alpha Q_{F0} \exp(-k_1 t) + (1-\alpha) Q_{F0}) dt = \frac{\alpha Q_{F0}}{k_1} (1 - \exp(-k_1 t)) + (1-\alpha) Q_{F0} t \quad [7.28]$$

para tiempos grandes:

$$V_F = \frac{\alpha Q_{F0}}{k_1} + (1-\alpha) Q_{F0} t \quad [7.29]$$

El término constante de la expresión de V_F para tiempos grandes, corresponderá ahora al volumen de filtrado necesario para bloquear por completo la fracción de poros bloqueables:

$$\frac{\alpha Q_{F0}}{k_1} = \frac{N_{0B} q_{0B}}{q_{0B} C_P} = \frac{N_{0B}}{C_P} \quad \frac{\alpha Q_{F0}}{k_1} C_P = N_{0B} \quad [7.30]$$

Supóngase ahora que las partículas contenidas en la alimentación son lo suficientemente pequeñas para pasar por los puntos más estrechos de los poros, pero se unen a la superficie de

los mismos disminuyendo la sección libre para la circulación del fluido, por lo que el caudal total en cada instante será:

$$Q_F = N_0 q \quad [7.31]$$

por tanto:

$$\frac{Q_F}{Q_{F0}} = \frac{q}{q_0} = \left(\frac{d_p}{d_{p0}} \right)^4 \quad [7.32]$$

ya que la circulación por los poros será en régimen laminar, y de acuerdo con la ecuación de Hagen-Poiseuille, el caudal será proporcional a la cuarta potencia del diámetro hidráulico del poro. Si se admite que la velocidad de deposición de sólidos sobre la superficie interna del poro es proporcional a la masa de éstos que en cada instante entra en los mismos:

$$-\frac{d}{dt} \left(N_0 \frac{\pi}{4} d_p^2 L_{ep} \right) = k' Q_F C_P \quad [7.33]$$

$t = 0 \quad d_p = d_{p0}$

que puede ponerse en la forma:

$$-d_p \frac{dd_p}{dt} = k'' d_p^4 C_P \quad [7.34]$$

$t = 0 \quad d_p = d_{p0}$

Separando variables e integrando:

$$\frac{1}{d_p^2} - \frac{1}{d_{p0}^2} = k''' C_P t \quad [7.35]$$

$$\frac{d_p}{d_{p0}} = \frac{1}{\sqrt{1 + k''' d_{p0}^2 C_P t}}$$

Con lo que sustituyendo en [7.32]:

$$Q_F = \frac{Q_{F0}}{(1+k_2 t Q_{F0}^{0.5})^2} \quad [7.36]$$

donde k_2 será proporcional a la concentración de partículas en el fluido que circula por el interior de los poros.

Si todos los poros no son iguales, y hay una fracción α del caudal que circula por poros con puntos suficientemente estrechos para ser bloqueados por las partículas, y todos los poros no bloqueados experimentan una disminución continua de su sección libre, las ecuaciones [7.27] y [7.36] pueden combinarse en la forma:

$$Q_F = \alpha Q_{F0} \exp(-k_1 t) + \frac{(1-\alpha)Q_{F0}}{(1+k_2 t ((1-\alpha)Q_{F0})^{0.5})^2} \quad [7.37]$$

si bien, como la disminución exponencial del caudal ha resultado mucho más rápida que la provocada por el denominador, y el parámetro $(1-\alpha)$ puede incluirse en k_2 , la ecuación [7.37] resulta prácticamente equivalente a la forma más compacta:

$$Q_F = \frac{\alpha Q_{F0} \exp(-k_1 t) + (1-\alpha)Q_{F0}}{(1+k_2 t Q_{F0}^{0.5})^2} \quad [7.38]$$

$$\frac{Q_F}{Q_{F0}} = \frac{1-\alpha + \alpha \exp(-k_1 t)}{(1+k_2 t Q_{F0}^{0.5})^2}$$

En las ecuaciones [7.37] ó [7.38] los parámetros k_1 y k_2 deben ser proporcionales a la concentración de partículas. Utilizando la primera forma de la ecuación [7.38] se han ajustado los resultados experimentales indicados en las Tablas 6.2 a 6.15 por regresión no lineal, considerando α , k_1 , y k_2 como parámetros ajustables, con buenos resultados para los experimentos realizados, tal y como se observa en las Figuras 7.8 a 7.21.

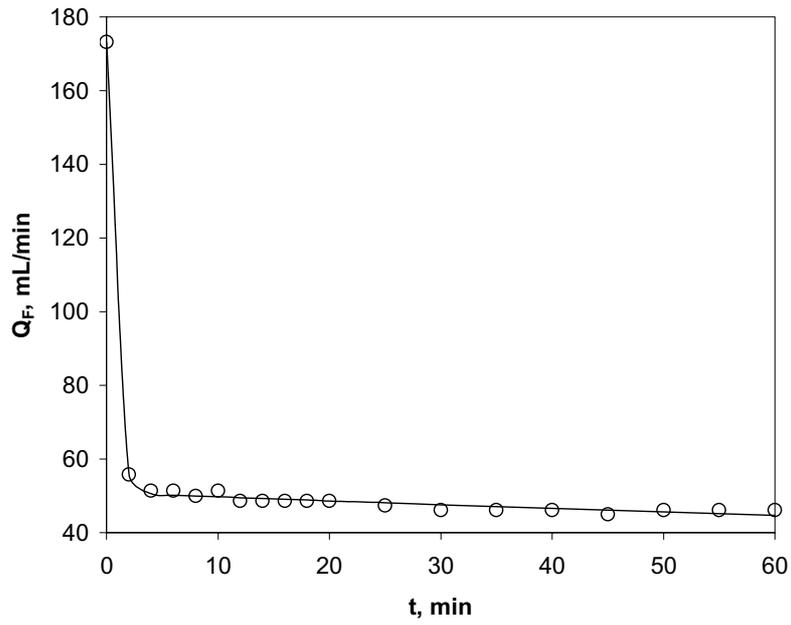


Figura 7.8 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 2-0

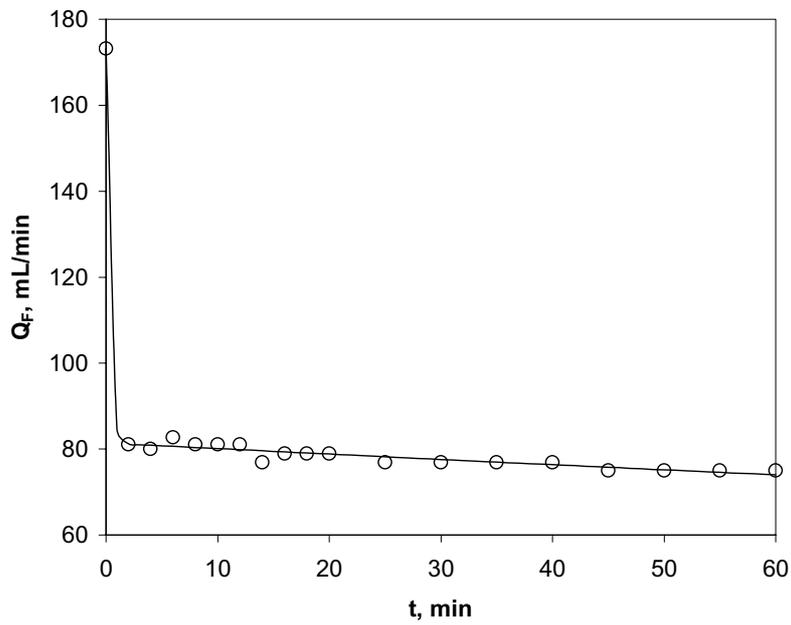


Figura 7.9 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 3-0

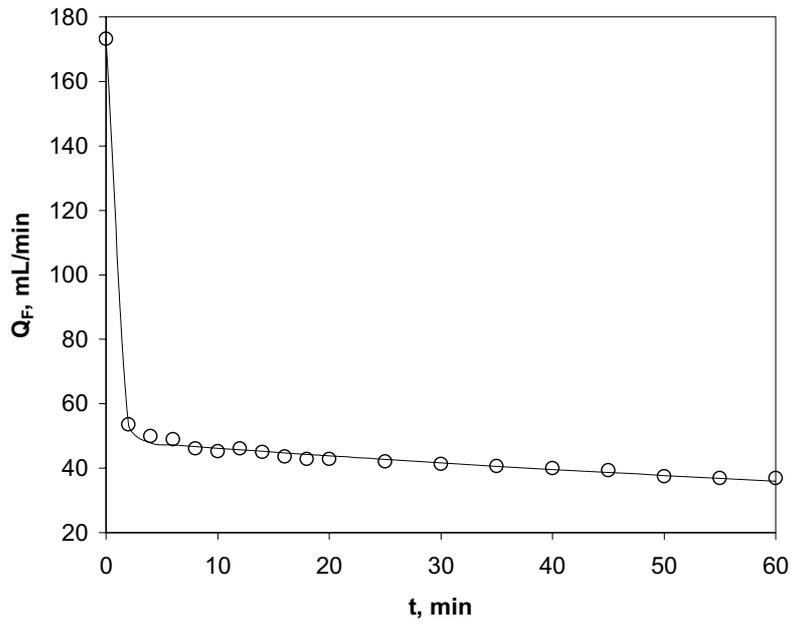


Figura 7.10 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 4-0

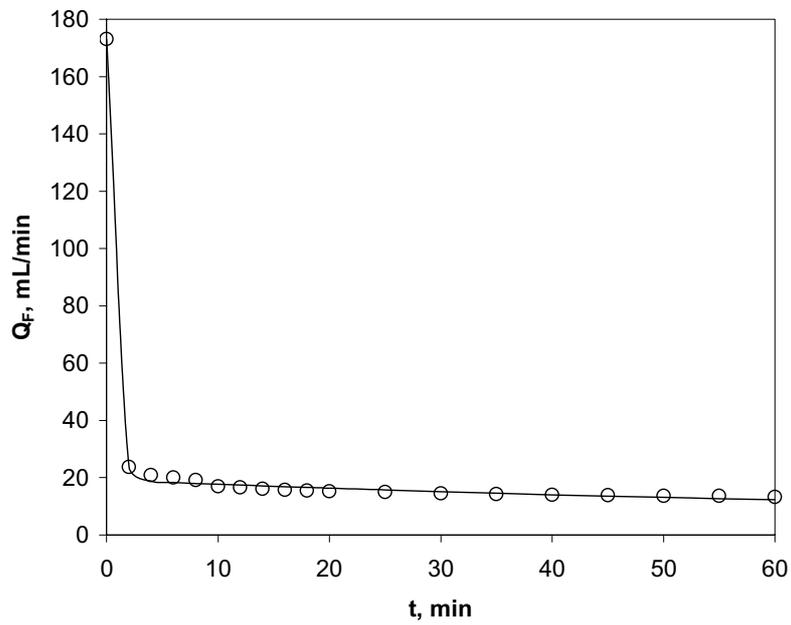


Figura 7.11 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 4.9-0

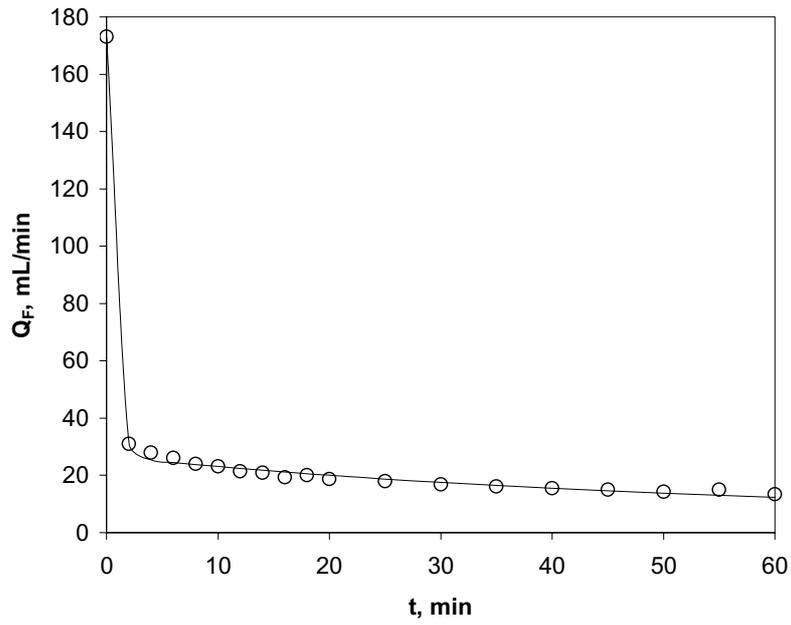


Figura 7.12 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 4.9-1

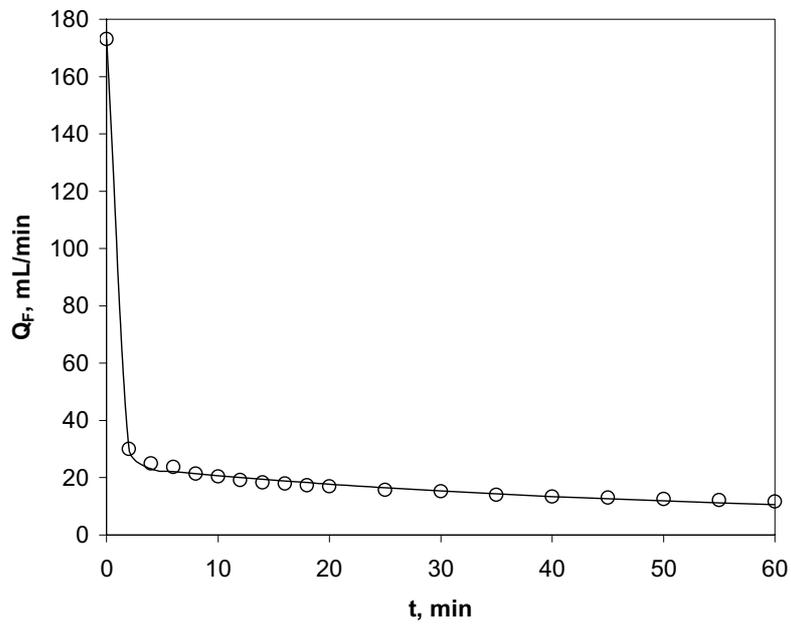


Figura 7.13 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 4.9-2

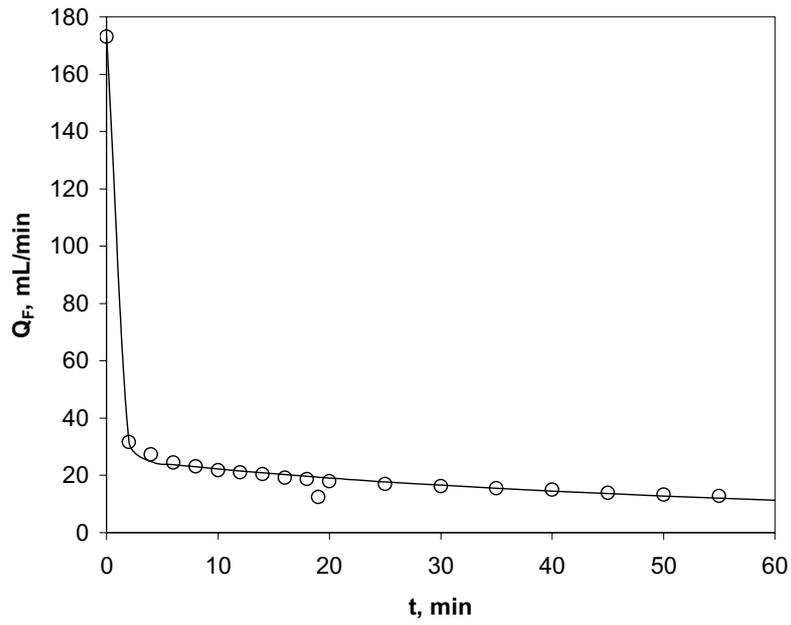


Figura 7.14 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 4.9-3

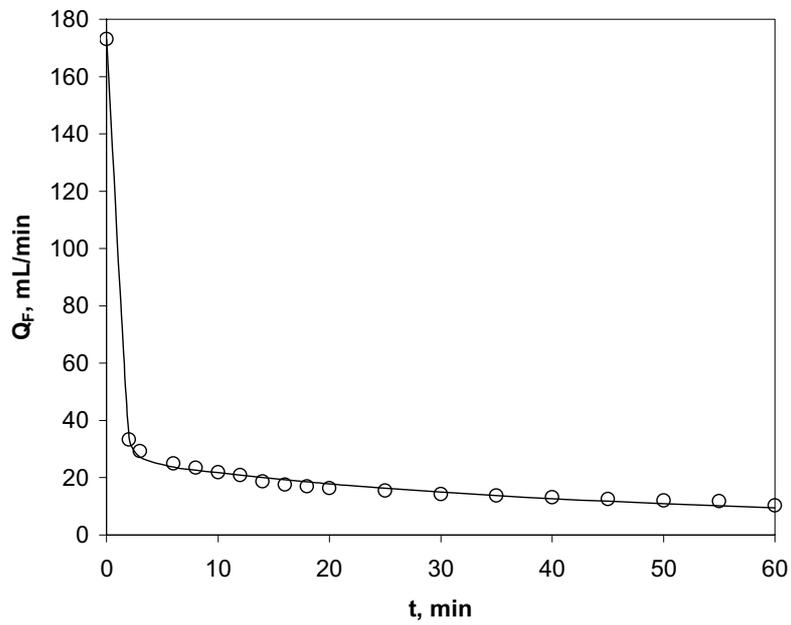


Figura 7.15 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 4.9-5

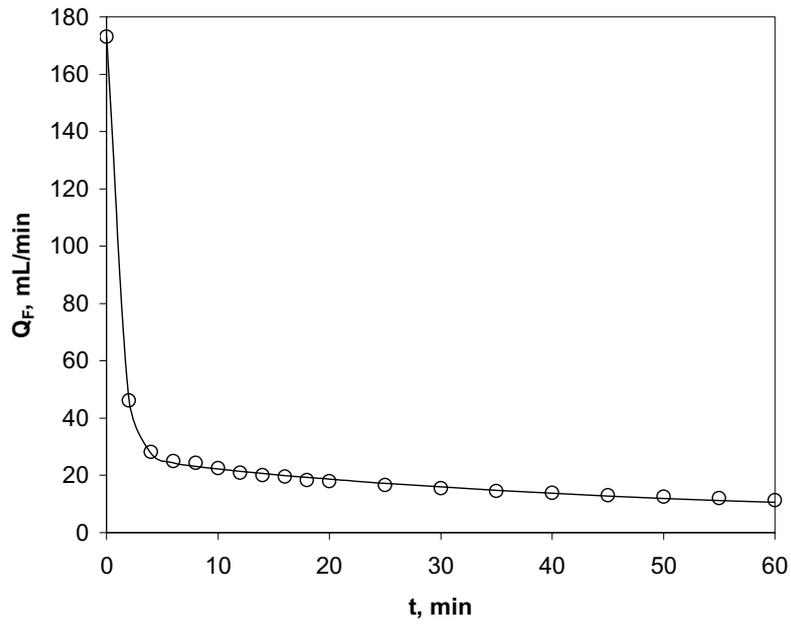


Figura 7.16 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 4.9-10

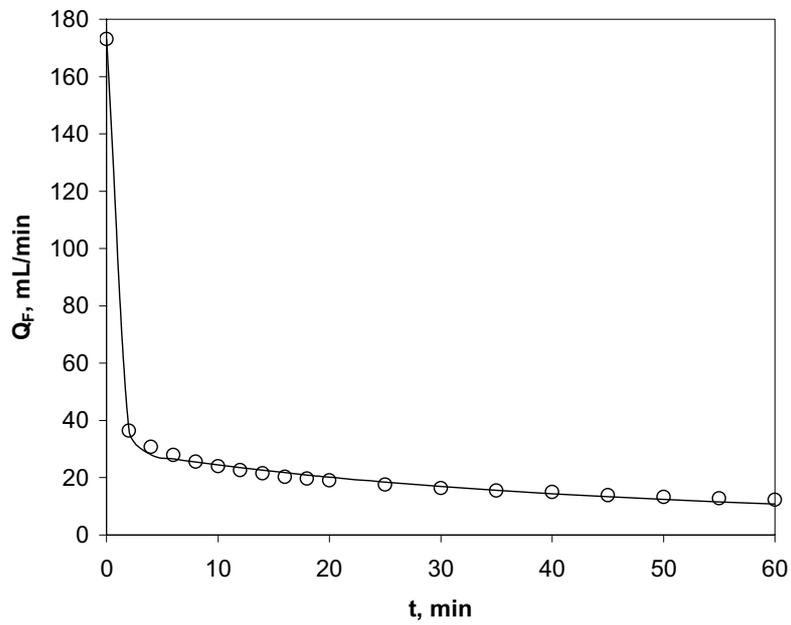


Figura 7.17 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 4.9-25

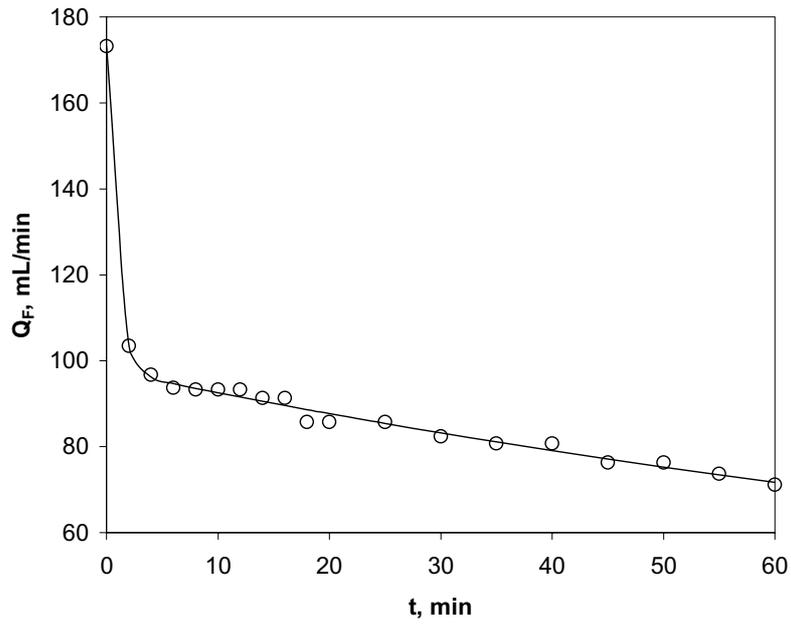


Figura 7.18 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 6-0

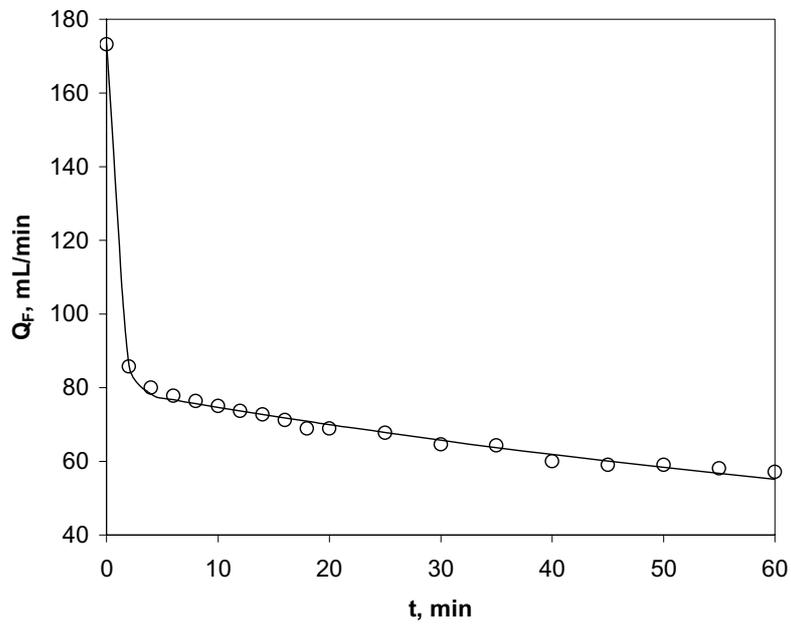


Figura 7.19 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 7-0

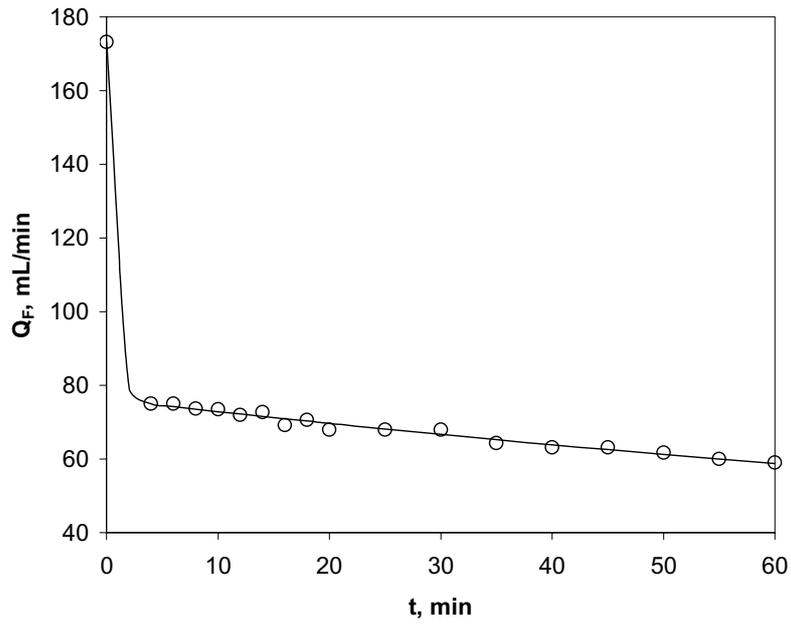


Figura 7.20 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 8-0

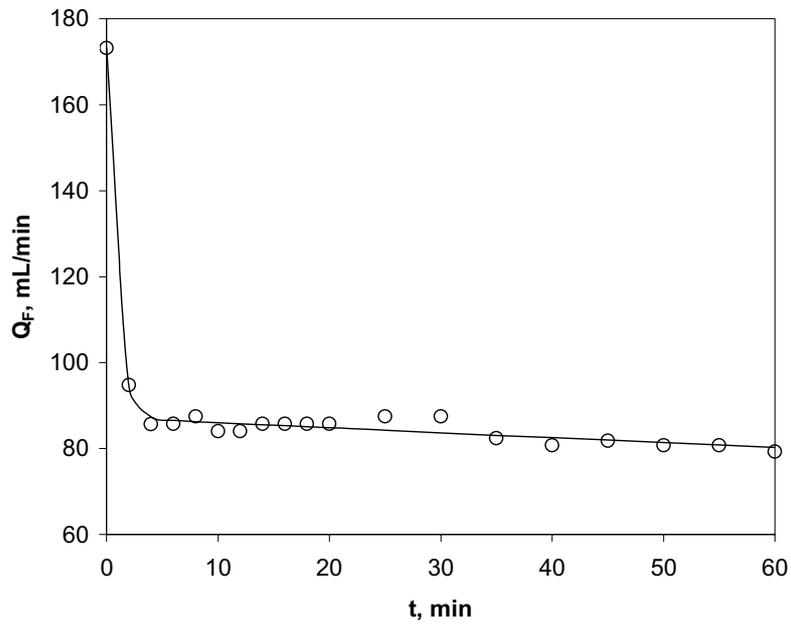


Figura 7.21 Disminución del caudal con el tiempo. Experimento 9-0

Los parámetros de ajuste obtenidos para todos los experimentos realizados se indican en la Tabla 7.4:

Tabla 7.4 Ajuste de los resultados a la ecuación [7.38], tres parámetros

Experimento	pH	I, mM	α	k_1, min^{-1}	$k_2, \text{min}^{-0.5}\text{mL}^{-0.5}$
2-0	2.0	0	0.706	1.57	0.0000850
3-0	3.0	0	0.530	3.38	0.0000619
4-0	4.0	0	0.719	1.55	0.000207
4.9-0	4.9	0	0.889	1.72	0.000322
4.9-1	4.9	1	0.845	1.66	0.000604
4.9-2	4.9	2	0.859	1.54	0.000660
4.9-3	4.9	3	0.848	1.55	0.000660
4.9-5	4.9	5	0.844	1.42	0.000873
4.9-10	4.9	10	0.845	0.96	0.000754
4.9-25	4.9	25	0.826	1.43	0.000849
6-0	6.0	0	0.435	1.20	0.000213
7-0	7.0	0	0.539	1.27	0.000258
8-0	8.0	0	0.559	1.60	0.000176
9-0	9.0	0	0.496	1.23	0.0000537

La observación de los valores indicados en esta Tabla pone de manifiesto que el parámetro k_1 oscila alrededor de 1.5 min^{-1} , sin ninguna tendencia clara con el pH ó la fuerza iónica, por lo que se han promediado los valores correspondientes al módulo, obteniéndose el siguiente resultado:

$$k_1 = 1.5 \pm 0.2 \text{ min}^{-1}$$

Este valor indica que en los dos primeros minutos de filtración, $\exp(-1.5 \cdot 2) = 0.05$, se han bloqueado el 95 % de los poros susceptibles de ello, como ya se comentó e indican los resultados obtenidos. Imponiendo este valor de k_1 se recalculan por regresión no lineal a la ecuación [7.38] los otros dos parámetros, sin cambiar prácticamente la bondad del ajuste de todos los experimentos. Los valores obtenidos de estos parámetros se indican en la Tabla 7.5.

Es interesante destacar que la ecuación [7.38] puede ponerse en forma adimensional introduciendo la nueva variable:

$$\tau = k_2 Q_{F0}^{0.5} t \quad [7.39]$$

$$\frac{Q_F}{Q_{F0}} = \frac{\alpha \exp(-\beta\tau) + (1-\alpha)}{(1+\tau)^2} \quad [7.40]$$

donde $\beta = \frac{k_1}{k_2 Q_{F0}^{0.5}}$

Esta ecuación se representa en la Figura 7.22 para $\alpha = 0.5$ y diferentes valores de β , con objeto de poner de manifiesto los tipos de descenso del caudal con el tiempo que pueden ser ajustados por ella, los cuales implican las diferentes combinaciones de los dos procesos de colmatación de la membrana considerados: reducción del diámetro de los poros por deposición interna y obstrucción de los poros.

Tabla 7.5 Ajuste de los resultados a la ecuación [7.38], dos parámetros

Experimento	pH	l, mM	α	$k_2, \text{min}^{-0.5}\text{mL}^{-0.5}$	α'
2-0	2.0	0	0.707	0.0000820	0.668
3-0	3.0	0	0.534	0.0000524	0.526
4-0	4.0	0	0.719	0.000204	0.672
4.9-0	4.9	0	0.892	0.000282	0.852
4.9-1	4.9	1	0.848	0.000571	0.801
4.9-2	4.9	2	0.860	0.000648	0.801
4.9-3	4.9	3	0.849	0.000647	0.789
4.9-5	4.9	5	0.841	0.000912	0.779
4.9-10	4.9	10	0.814	0.00113	0.763
4.9-25	4.9	25	0.824	0.000870	0.756
6-0	6.0	0	0.431	0.000221	0.358
7-0	7.0	0	0.536	0.000267	0.473
8-0	8.0	0	0.560	0.000176	0.553
9-0	9.0	0	0.493	0.0000604	0.435

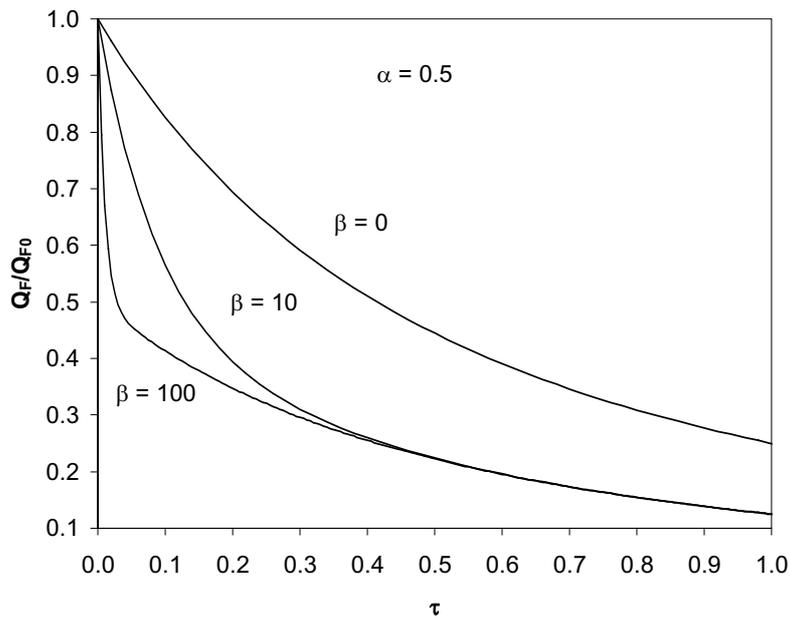


Figura 7.22 Simulación de la ecuación [7.40]

Se observa en esta Figura que a partir de $\beta = 100$ se distinguen claramente dos fases en la disminución del caudal: una inicial rápida, en la que se produce la obstrucción de todos los poros bloqueables hasta que el caudal relativo desciende hasta el valor de $(1-\alpha)$, y a continuación una disminución más lenta, debida a la reducción continua de la sección libre de los poros no bloqueados por deposición interna de los sólidos. En los experimentos realizados en esta investigación los valores de β oscilan en el intervalo:

$$k_2 = 0.00005 \text{ a } 0.001$$

$$k_1 = 1.5 \quad Q_{F0} = 173.17$$

$$\beta = \frac{k_1}{k_2 Q_{F0}^{0.5}} = 100 \text{ a } 2000$$

por lo que ambas etapas se aprecian claramente. Por tanto, la fracción del caudal que pasa por poros bloqueables, α , debería coincidir con la calculada a partir de los valores de Q_{F0} y Q_{F0ext} determinados en el apartado de Resultados:

$$\alpha' = 1 - \frac{Q_{F0ext}}{Q_{F0}} \quad [7.41]$$

cuyos valores se indican también en la Tabla 7.5, en la que puede apreciarse que son próximos en todos los casos y cambian de igual forma con las variables de operación: pH e I.

7.2.1. Análisis de la influencia del pH sobre el caudal de filtrado

En la Figura 7.23 se muestra la influencia del pH sobre la fracción del caudal que circula por poros bloqueables (α). Se observa en ella que esta fracción es máxima, cerca del 90 %, en el punto isoeléctrico de la proteína; en el rango alcalino, pH > 4.9, la fracción del caudal que circula por poros bloqueables es mínima, alrededor del 50 %, mientras que en el rango ácido, pH < 4.9, es intermedia alrededor del 60-70 %.

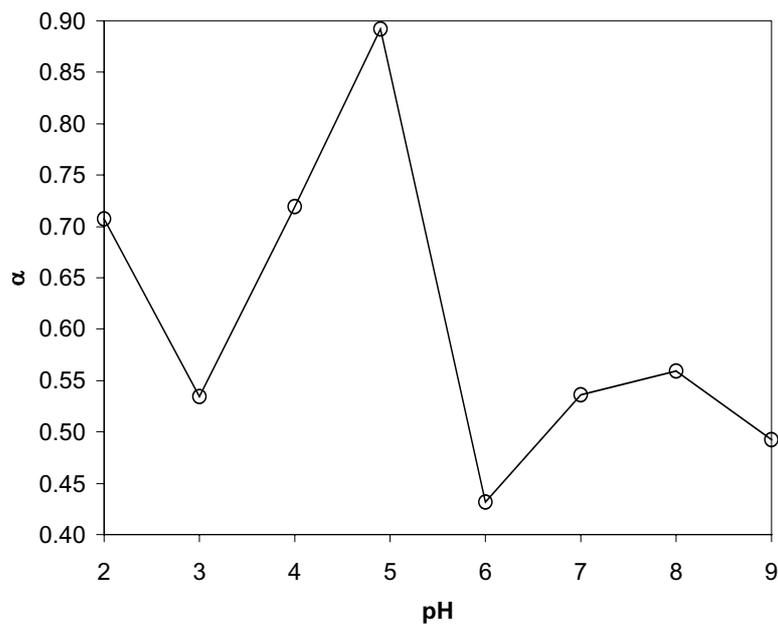


Figura 7.23 Influencia del pH en la fracción de poros bloqueables

Estos resultados son aparentemente sorprendentes ya que en el punto isoeléctrico las partículas de BSA no tienen carga y la transmisión es máxima. A pH superior al punto isoeléctrico, las partículas están cargadas negativamente y no hay transmisión; además la carga superficial del BSA monómero es superior para pH ácido que para alcalino, a igual distancia del punto

isoeléctrico. Así según Smith y Deen (1980), que miden también los valores de la densidad de carga superficial de la proteína (BSA monómero), σ_s , en función del pH:

$$\text{pH} \leq 4.9 \quad \sigma_s = 0.0145(4.9 - \text{pH}) \frac{\text{A s}}{\text{m}^2} \quad [7.42]$$

$$\text{pH} \geq 4.9 \quad \sigma_s = 0.0060(4.9 - \text{pH}) \frac{\text{A s}}{\text{m}^2} \quad [7.43]$$

y lógicamente al aumentar la carga superficial, aumenta la repulsión entre las moléculas de BSA y debe disminuir el tamaño medio de los agregados formados. Sin embargo, la fuerza iónica debida al ácido o a la base utilizado para el ajuste del pH en los intervalos considerados es muy diferente: mientras en el intervalo $\text{pH} = 7-9$ es de 10^{-7} a 10^{-5} M de OH^- , en el intervalo $\text{pH} = 4-2$ es de 10^{-4} a 10^{-2} M de H^+ , lo que determina que en este último caso la formación de la doble capa eléctrica disminuirá la carga neta de las partículas facilitando su agregación.

Así, una partícula cargada se rodea de una doble capa de iones cuyo espesor característico viene dado por la longitud de Debye, κ^{-1} , ecuación [2.1]:

$$\kappa^{-1} = \left(\frac{\epsilon_r \epsilon_0 RT}{F^2 \sum C_i z_i^2} \right)^{1/2}$$

Teniendo en cuenta que las constantes dieléctricas relativa del agua a 30 °C y del vacío son:

$$\epsilon_r = 76.60 \quad \epsilon_0 = 8.854 \cdot 10^{-12} \frac{\text{s}^4 \text{A}^2}{\text{m}^3 \text{kg}}$$

la constante de los gases y de Faraday:

$$R = 8.314 \frac{\text{m}^2 \text{kg}}{\text{s}^2 \text{mol K}} \quad F = 96485 \frac{\text{s A}}{\text{mol}}$$

y que se utiliza una sal monovalente para el ajuste del pH (HCl o NaOH):

$$\kappa^{-1} = \frac{3.03 \cdot 10^{-10}}{\sqrt{C_{\text{sal}}}} \text{ m} \quad \therefore \quad \kappa^{-1} = \frac{0.303}{\sqrt{C_{\text{sal}}}} \text{ nm} \quad [7.44]$$

expresión semejante a la utilizada por Magueijo et al. (2005). Aplicando esta ecuación a los experimentos realizados, y teniendo en cuenta solo el ácido o base necesario para ajustar el pH, se obtienen los siguientes datos:

Tabla 7.6 Variación de la longitud de Debye con el pH

pH	2	3	4	4.9	6	7	8	9
κ^{-1} , nm	3.0	9.6	30.4	85.5	303.5	959.9	303.5	96.0

Los elevados valores de la longitud de Debye en el rango más alcalino del punto isoelectrico podrían justificar que el soluto prácticamente no entre en los poros. En estos experimentos casi no hay transmisión, y por tanto no los bloquea y la disminución del caudal es mucho menos importante. Por el contrario, en el rango más ácido las longitudes de Debye son más pequeñas, sobre todo a pH = 2, en que la fracción de poros bloqueados es importante, 70 %, pero además también hay transmisión importante, lo que indica que el soluto está entrando en los poros. El valor a pH = 4.9 no es aplicable puesto que las partículas no están cargadas. Pujar y Zydney (1998) han desarrollado un modelo aproximado para describir los efectos de las interacciones electrostáticas sobre la partición de proteínas, tanto para la cromatografía de exclusión por tamaños como para la ultrafiltración a través de membranas, el cual conduce a una expresión del radio efectivo de la proteína cargada, r_{eff} , equivalente al radio de una esfera no cargada con el mismo coeficiente de partición:

$$r_{\text{eff}} = r_s + \frac{4 r_s^3 \sigma_s^2}{\epsilon_r \epsilon_0 k T} \lambda (1 - \lambda) \kappa^{-1} \quad [7.45]$$

Teniendo en cuenta que la constante de Boltzmann es: $k = 1.381 \cdot 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg}/(\text{s}^2 \text{ K})$, utilizando un valor del radio (radio de Stokes) para el monómero de BSA de 3.5 nm y las expresiones de Smith y Deen, ecuaciones [7.42] y [7.43], se obtiene:

$$\text{pH} \leq 4.9 \quad r_{\text{eff}} = 3.5 \cdot 10^{-9} + 12.7 (4.9 - \text{pH})^2 \lambda (1 - \lambda) \kappa^{-1} \text{ m} \quad [7.46]$$

$$\text{pH} \geq 4.9 \quad r_{\text{eff}} = 3.5 \cdot 10^{-9} + 2.175(4.9 - \text{pH})^2 \lambda(1-\lambda) \kappa^{-1} \text{ m} \quad [7.47]$$

La única influencia del tamaño de poro en esta expresión es $\lambda(1-\lambda)$, donde $\lambda = r_s/r_p$. Tomando el radio nominal de la membrana:

$$r_p = 70 \text{ nm} \quad \lambda = 0.05 \quad \lambda(1-\lambda) = 0.0475$$

$$\text{pH} \leq 4.9 \quad r_{\text{eff}} = 3.5 + 0.603(4.9 - \text{pH})^2 \kappa^{-1} \text{ nm} \quad [7.48]$$

$$\text{pH} \geq 4.9 \quad r_{\text{eff}} = 3.5 + 0.103(4.9 - \text{pH})^2 \kappa^{-1} \text{ nm} \quad [7.49]$$

El coeficiente de partición para una partícula no cargada, sólo por efectos estéricos, es:

$$\phi = \frac{\pi(r_p - r_{\text{eff}})^2}{\pi r_p^2} = \left(1 - \frac{r_{\text{eff}}}{r_p}\right)^2 = (1-\lambda)^2 \quad [7.50]$$

que aplicadas a los experimentos realizados conduce a:

Tabla 7.7 Variación del radio efectivo y del coeficiente de partición con el pH

pH	2	3	4	4.9	6	7	8	9
r_{eff} , nm	18.9	24.4	18.3	3.5	41.5	440.9	304.9	170.2
ϕ	0.533	0.424	0.545	0.903	0.166	0.000	0.000	0.000

Se observa en estos resultados que a partir de $\text{pH} = 7$, en el rango alcalino, el radio efectivo de la proteína es superior al radio de poro; por eso en estos experimentos no se produce transmisión y el valor de α debe corresponder al bloqueo superficial, es decir, a los poros que son bloqueados en su entrada, o a la disminución de caudal equivalente provocada por la formación de la torta superficial o capa de gel, alrededor del 50 % del caudal. Para los pH ácidos, el valor de α se ajusta a una función lineal de r_{eff} , como se observa en la Figura 7.24:

$$\alpha = 0.926 - 0.0126 r_{\text{eff}} \quad [7.51]$$

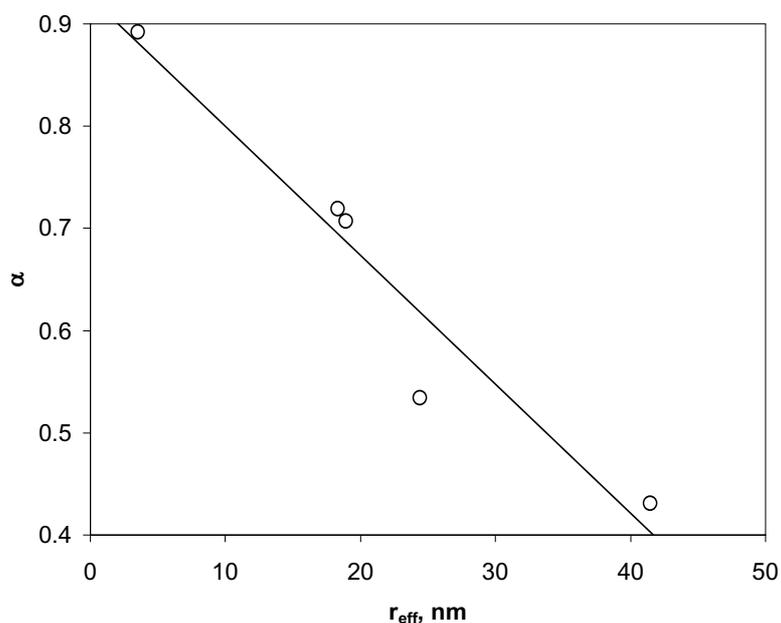


Figura 7.24 Influencia del radio efectivo en la fracción de poros bloqueables

En el punto isoelectrico de la proteína, $\text{pH} = 4.9$, el valor del radio utilizado corresponde al radio de Stokes. Esta dependencia lineal parece indicar que cuanto más pequeñas son las partículas mayor es la disminución del caudal que se produce en los primeros instantes; es decir, cuanto más pequeñas sean las partículas, mayor número de poros serán capaces de bloquear, ya que podrían entrar en poros de bocas más pequeñas y quedarse ocluidas en sus puntos estrechos interiores.

En su recorrido por el interior del poro, las partículas deben experimentar un retraso importante por choques con las paredes, lo que dará lugar a un aumento de su concentración a lo largo del poro. Esto, unido al hecho de la irregularidad y tortuosidad de los poros, con continuos ensanchamientos, estrechamientos y cambios de dirección (como sugiere la microfotografía de la Figura 7.5) aumentará la posibilidad de choques entre partículas, y en el caso de carga nula o débil, posibilitará su agregación (Kanal et al., 1994; Persson et al., 2003). Serían estos agregados los responsables de la obstrucción de los poros.

En la Figura 7.25 se representan los valores de la fracción de caudal perdido en los primeros instantes frente al coeficiente de partición estimado, los cuales se ajustan a la relación lineal:

$$\alpha = 0.321 + 0.653 \phi \quad [7.52]$$

No obstante, el valor de α residual (para $\phi = 0$) que indican los resultados de los experimentos a pH = 7, 8 y 9 (que no se han utilizado en el ajuste) es algo superior, del orden de 0.50.

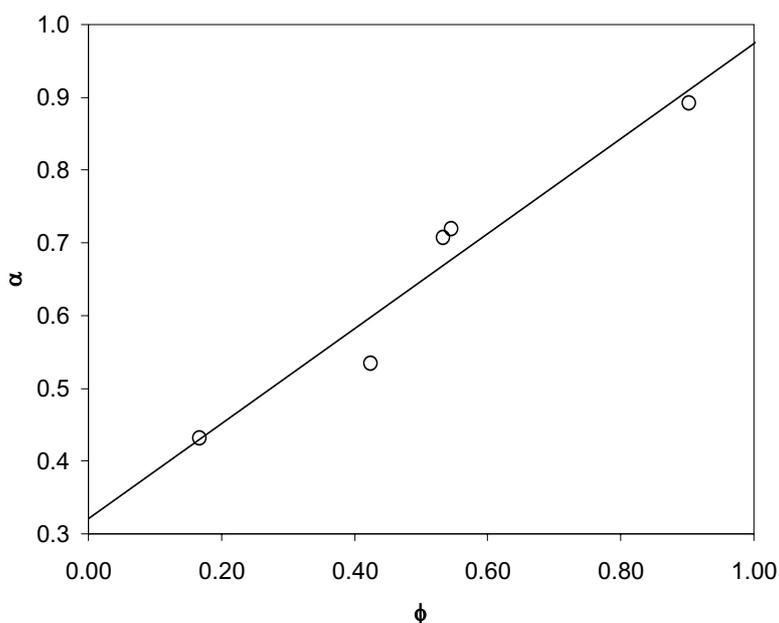


Figura 7.25 Relación entre el coeficiente de partición y la fracción de poros bloqueables

En la Figura 7.26 se observa que la velocidad de deposición interna es máxima entre los puntos de carga cero de la proteína y de la membrana, pH = 4.9-7, y disminuye de forma semejante para valores más ácidos o alcalinos. Estos resultados son lógicos ya que en el intervalo indicado partículas y membrana, o no tienen cargas o tienen cargas de signos opuestos, mientras que fuera de ese intervalo ambas tienen la misma carga y tanto más grande cuanto mayor sea la distancia a los límites del intervalo. El comportamiento de pH = 2 debe ser también provocado por la mayor fuerza iónica existente en este experimento que hace un efecto de pantalla, doble capa eléctrica, tanto sobre la membrana como sobre las partículas. Las variaciones de k_2 en el intervalo 4.9-7 dependen también de la concentración de partículas en el interior de los poros.

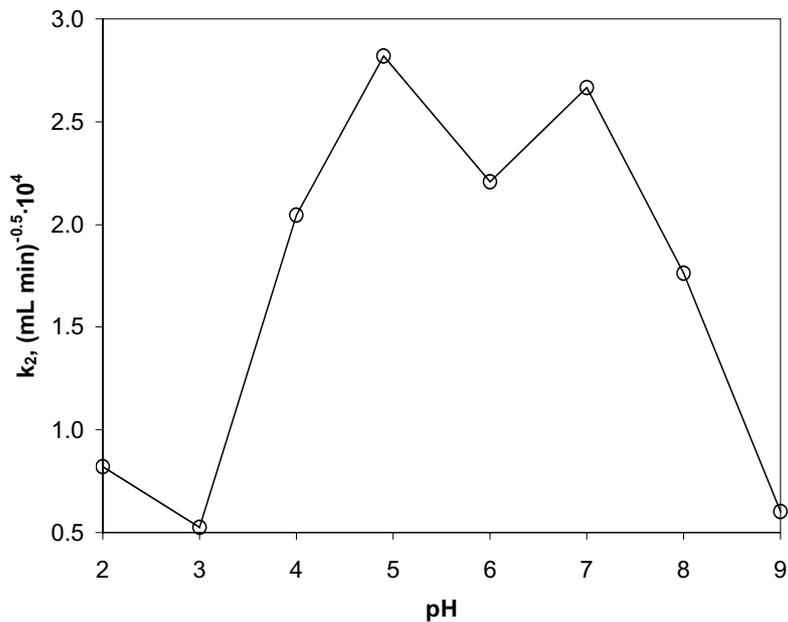


Figura 7.26 Influencia del pH sobre la deposición interna

7.2.2. Análisis de la influencia de la fuerza iónica sobre el caudal de filtrado

De igual forma que en el apartado anterior, en las Figuras 7.27 y 7.28 se muestra la influencia de la fuerza iónica sobre la fracción del caudal que pasa por poros bloqueables, y sobre la deposición interna en los poros. Se observa en la Figura 7.27 que la fracción del caudal que pasa por poros bloqueables disminuye al aumentar la fuerza iónica. Esta disminución se ajusta bien a una ecuación de tipo exponencial de la raíz cuadrada de la fuerza iónica, semejante a la influencia de la fuerza iónica sobre los coeficientes de actividad iónicos medios de acuerdo con la ecuación de Debye-Huckel para disoluciones iónicas diluidas. De esta manera el valor de α pasa de 0.89 a 0.82, lo que de acuerdo con la ecuación [7.52] indicaría una disminución del coeficiente de partición.

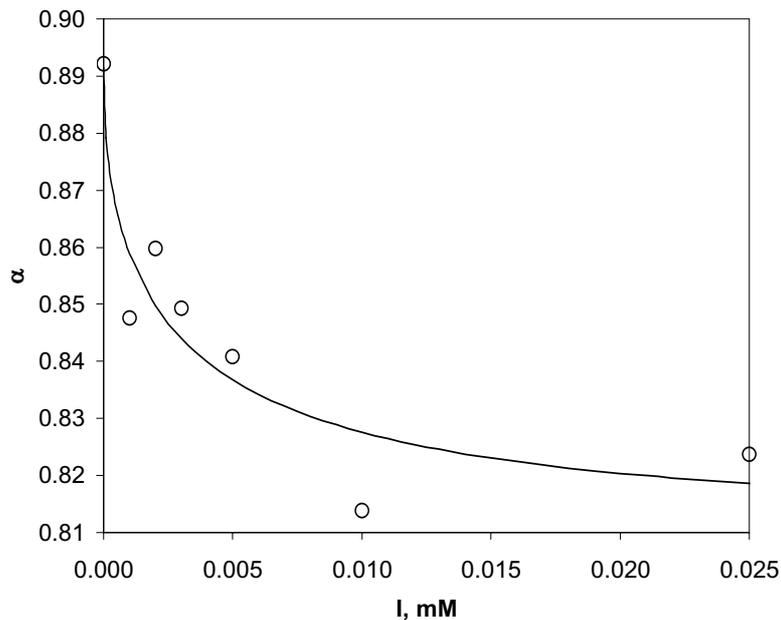


Figura 7.27 Influencia de la fuerza iónica en la fracción de poros bloqueables

$$\alpha = 0.813 + 0.078 \exp(-17.0\sqrt{I})$$

Por el contrario, en la Figura 7.28 se observa que la velocidad de deposición interna aumenta al aumentar la fuerza iónica. Este aumento se ajusta también a una ecuación de tipo exponencial, pasando el valor de k_2 de 0.000200 a 0.001000, probablemente debido al aumento de la transmisión y por tanto de la concentración de soluto en el interior de los poros.

En el caso estudiado, $pH = pI$, la adición de sal dará lugar a un aumento de tamaño de las partículas de BSA (el correspondiente a la pantalla de iones que la rodea) y a la aparición de diferenciales de carga. Esta pérdida de neutralidad, potenciará la adsorción de proteína sobre la superficie interna de la membrana (aumento de k_2) y dificultará la formación de agregados (disminución de α) favoreciendo cuantitativamente la transmisión de BSA a lo largo del proceso de filtración.

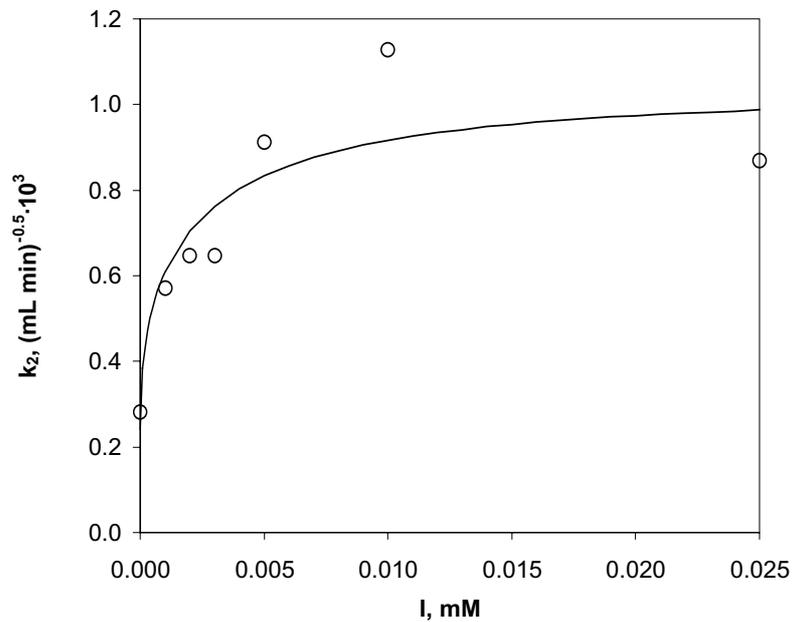


Figura 7.28 Influencia de la fuerza iónica en la velocidad de deposición interna

$$k_2 = 0.00102 - 0.00078 \exp(-20.3\sqrt{I})$$

7.3. TRANSPORTE DE SOLUTO A TRAVÉS DE LA MEMBRANA

En las Tablas 6.30 a 6.39 se han indicado los valores calculados para la masa de soluto que ha pasado a través de la membrana arrastrada por el filtrado, M_{SF} . Dada la forma en que M_{SF} varía con el tiempo de filtración, se ha tratado de ajustar estos resultados a una ecuación hiperbólica:

$$M_{SF} = \frac{a_1 t}{b_1 + t} \quad [7.53]$$

Así, para el experimento a pH = 2:

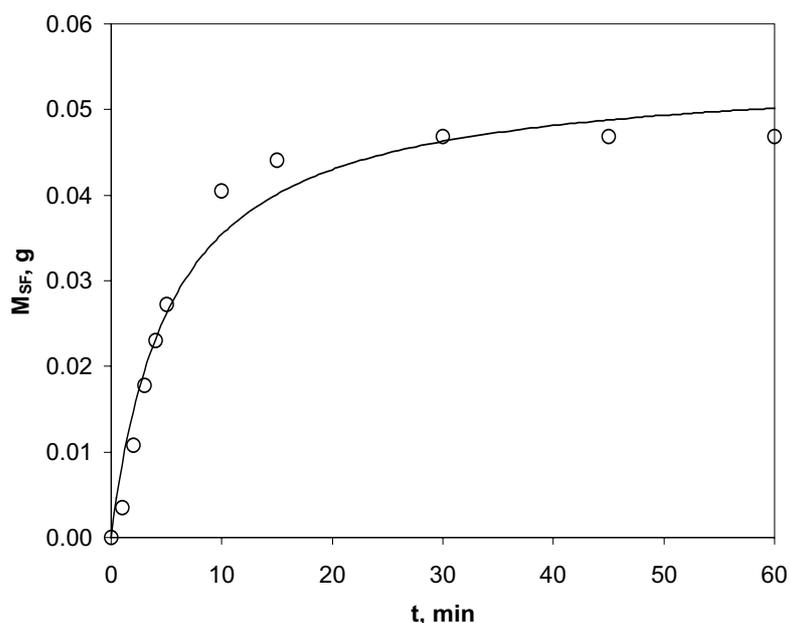


Figura 7.29 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste hiperbólico. Experimento 2-0

$$M_{SF} = \frac{0.0547 t}{5.45 + t}$$

aunque la forma realmente sigmoideal que se observa en todos los experimentos en que se produce transmisión importante del soluto, sugiere que debe obtenerse un mejor ajuste con la ecuación:

$$M_{SF} = \frac{a_2 t^2}{b_2 + t^2} \quad [7.54]$$

ya que esta última forma determina una derivada nula en el origen:

$$\frac{dM_{SF}}{dt} = \frac{2a_2 t(b_2 + t^2) - 2t a_2 t^2}{(b_2 + t^2)^2} = \frac{2a_2 b_2 t}{(b_2 + t^2)^2} \quad \left[\frac{dM_{SF}}{dt} \right]_{t=0} = 0$$

y conduce a un ajuste mucho mejor, como se observa al comparar la Figura 7.29 y la Figura 7.30:

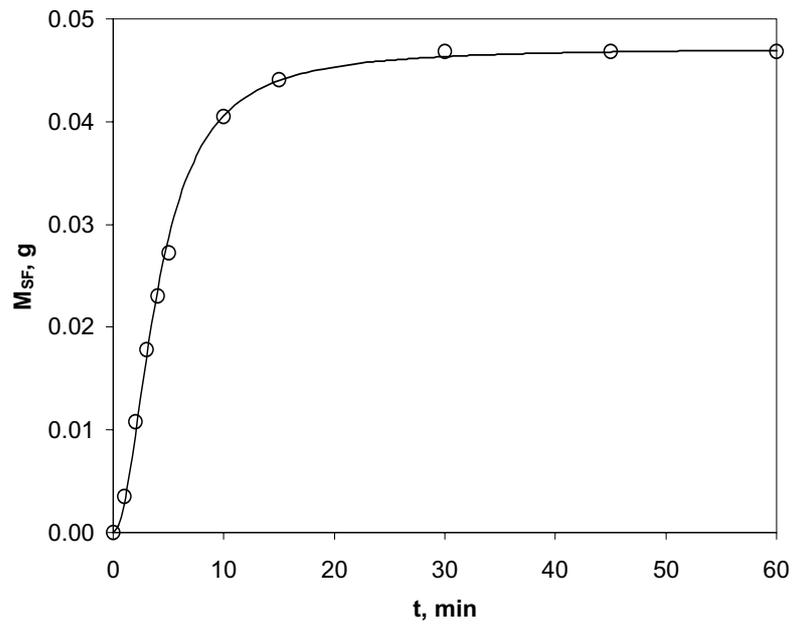


Figura 7.30 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste sigmoide. Experimento 2-0

$$M_{SF} = \frac{0.0472 t^2}{16.14 + t^2}$$

La velocidad de transporte de soluto a través de la membrana, vendrá dada en cada instante por:

$$\frac{dM_{SF}}{dt} = \frac{1.522 t}{(16.14 + t^2)^2} = Q_F C_F$$

que también puede compararse con los resultados experimentales:

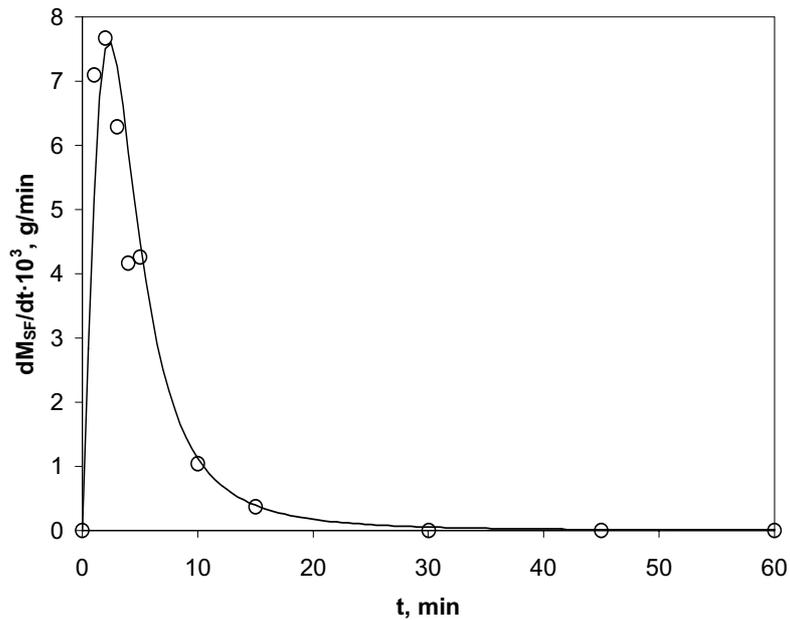


Figura 7.31 Variación de la derivada de M_{SF} con el tiempo. Experimento 2-0

Las coordenadas del máximo vendrán dadas por:

$$\frac{d^2M_{SF}}{dt^2} = \frac{2a_2b_2(b_2 + t^2)^2 - 8a_2b_2t^2(b_2 + t^2)}{(b_2 + t^2)^4} = \frac{2a_2b_2^2 + 2a_2b_2t^2 - 8a_2b_2t^2}{(b_2 + t^2)^3} = 0$$

$$b_2 - 3t^2 = 0 \quad t_{\max} = \sqrt{\frac{b_2}{3}} \quad \left(\frac{dM_{SF}}{dt}\right)_{\max} = (Q_F C_F)_{\max} = 0.650 \frac{a_2}{\sqrt{b_2}}$$

que aplicada a este pH conduce a: $t_{\max} = 2.32$ minutos $(dM_{SF}/dt)_{\max} = 0.0076$ g/minuto

Es interesante considerar que en este experimento, a los 2 minutos la transmisión puntual supera la unidad para después descender y hacerse cero a los 30 minutos, y que el valor de $Q_F C_F$ a los 2 minutos es 0.0077 g/minuto.

Un resultado semejante se obtiene con los experimentos realizados en el punto isoeléctrico, pH = 4.9, en los que también se produce una transmisión importante. En las Figuras 7.32 a 7.39 se resumen los datos obtenidos a este pH y distintos valores de fuerza iónica:

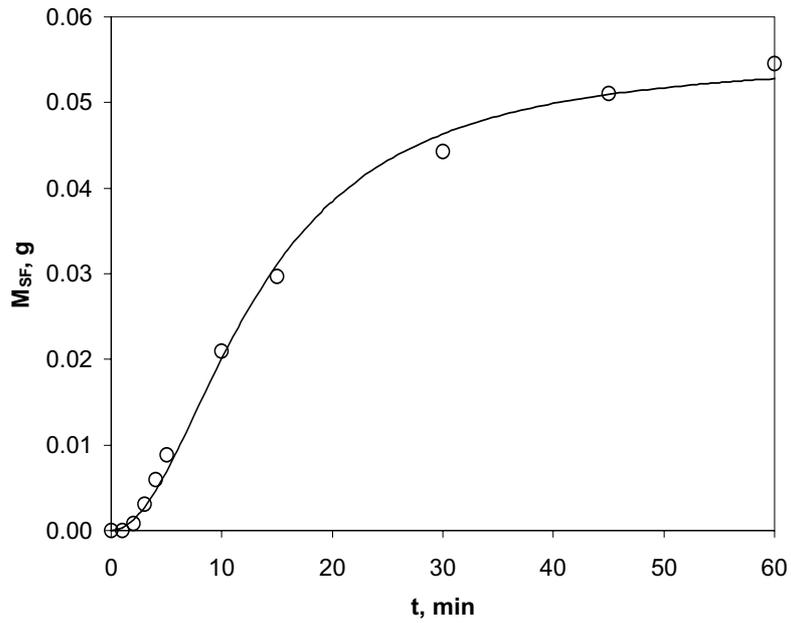


Figura 7.32 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste sigmoial. Experimento 4.9-0

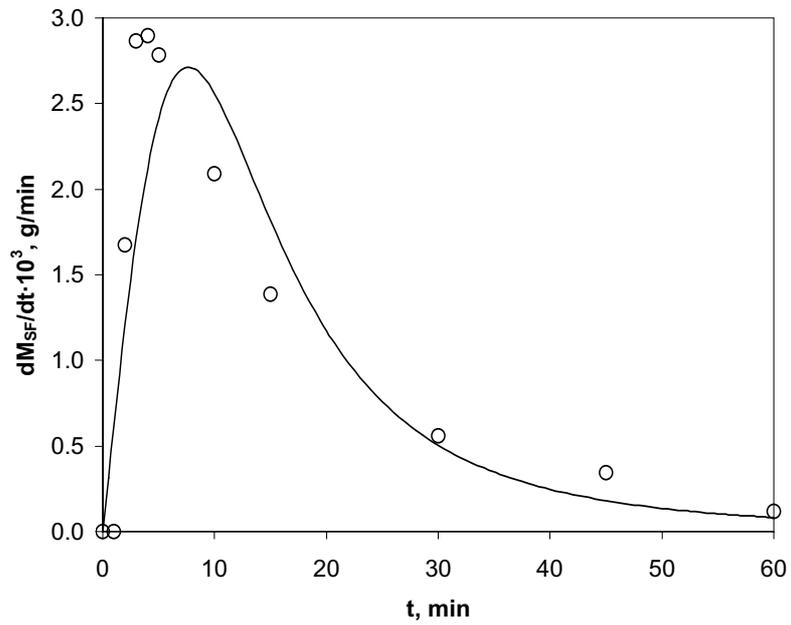


Figura 7.33 Variación de la derivada de M_{SF} con el tiempo. Experimento 4.9-0

$$M_{SF} = \frac{0.0554 t^2}{175.6 + t^2}$$

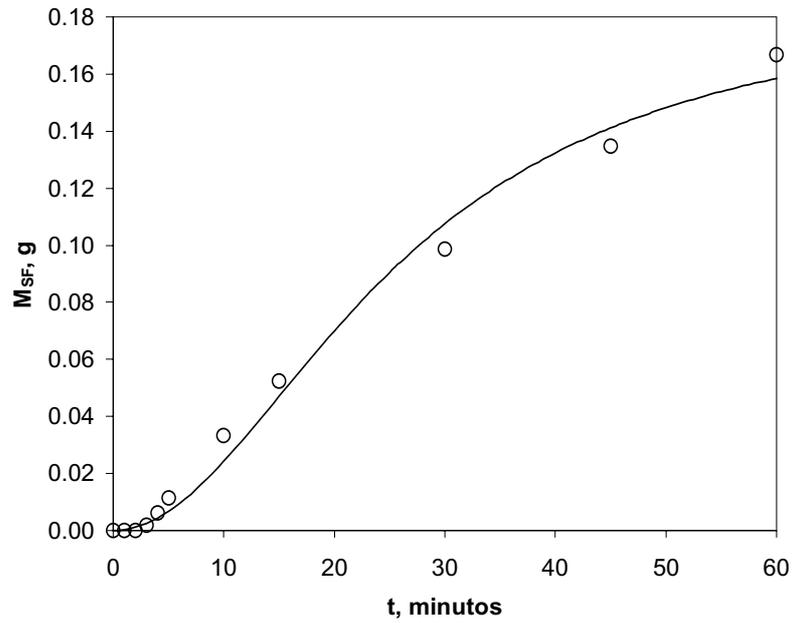


Figura 7.34 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste sigmoial. Experimento 4.9-1

$$M_{SF} = \frac{0.188 t^2}{675.5 + t^2}$$

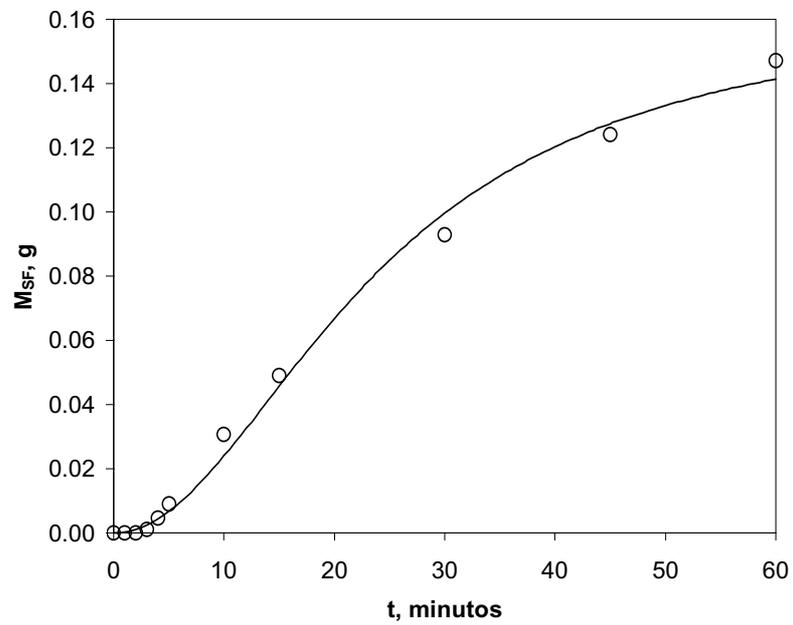


Figura 7.35 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste sigmoial. Experimento 4.9-2

$$M_{SF} = \frac{0.164 t^2}{584.8 + t^2}$$

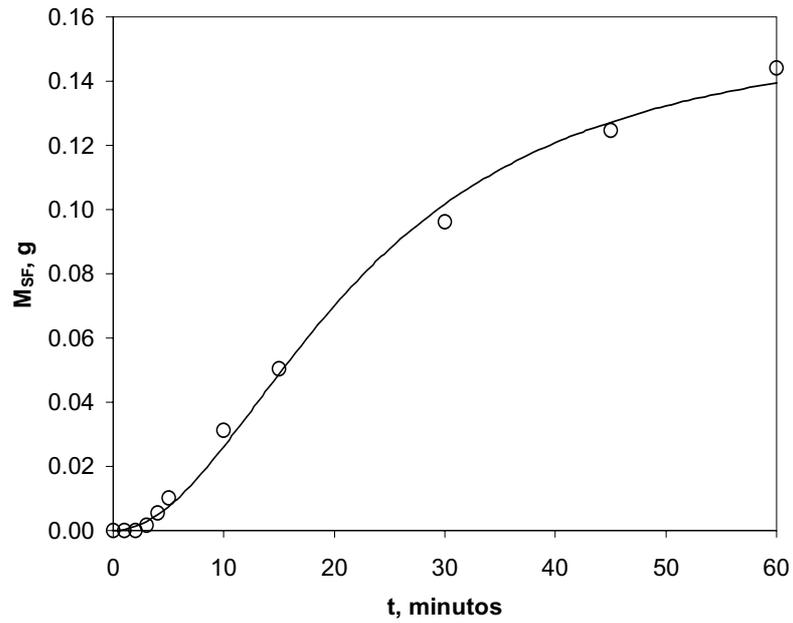


Figura 7.36 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste sigmoial. Experimento 4.9-3

$$M_{SF} = \frac{0.159 t^2}{509.2 + t^2}$$

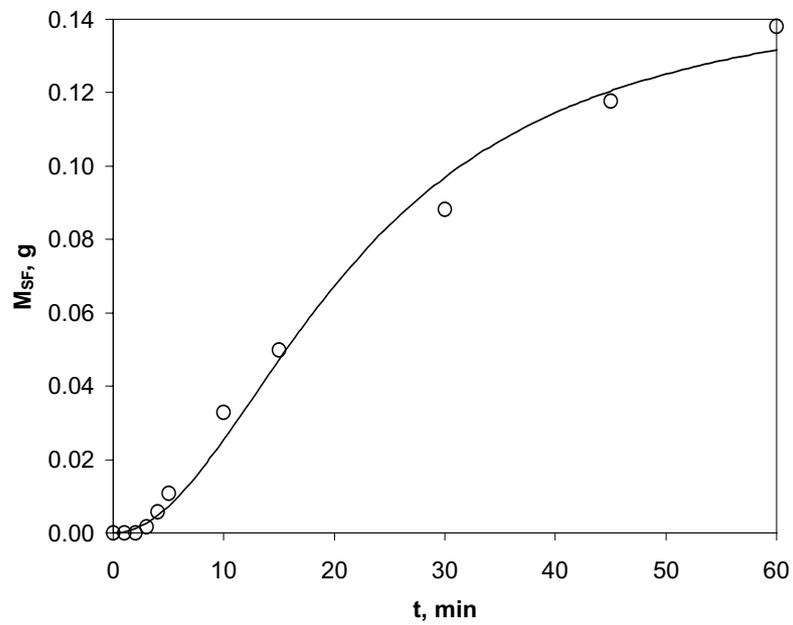


Figura 7.37 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste sigmoial. Experimento 4.9-5

$$M_{SF} = \frac{0.150 t^2}{488.3 + t^2}$$

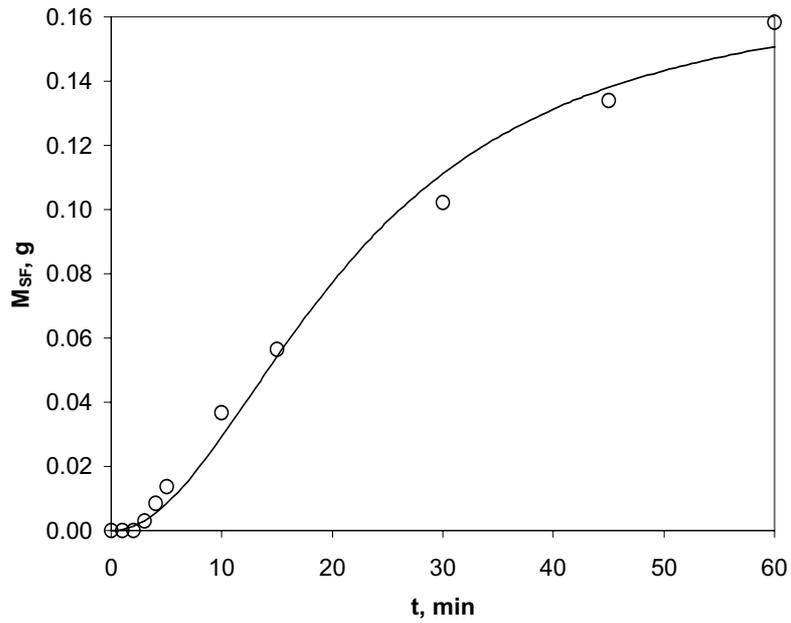


Figura 7.38 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste sigmoidal. Experimento 4.9-10

$$M_{SF} = \frac{0.171t^2}{485.3 + t^2}$$

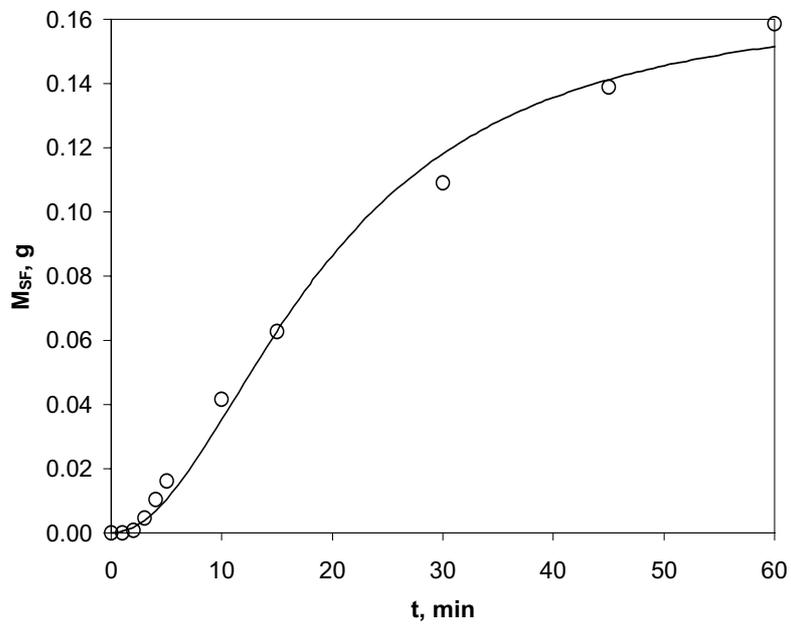


Figura 7.39 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste sigmoidal. Experimento 4.9-25

$$M_{SF} = \frac{0.167t^2}{374.5 + t^2}$$

Sin embargo, los experimentos realizados a pH = 3 y pH = 4, se ajustan mejor a la ecuación hiperbólica:

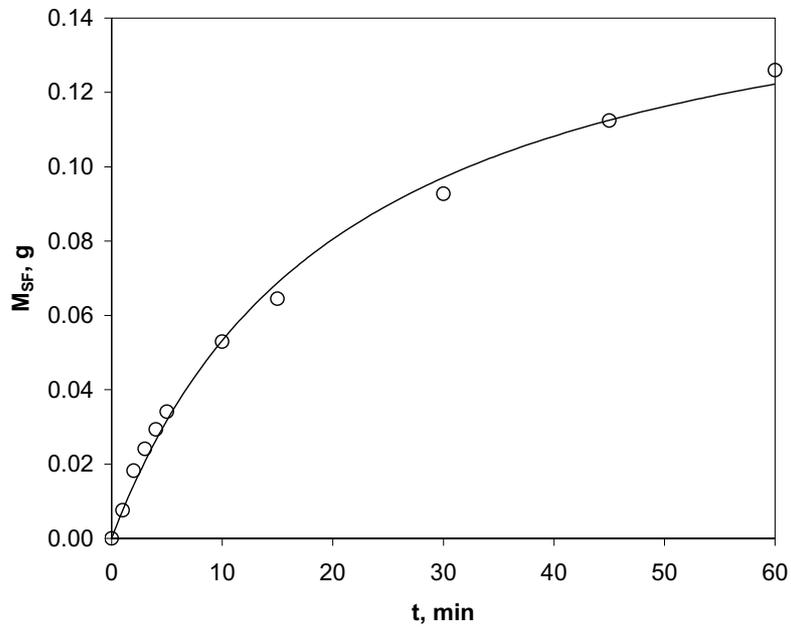


Figura 7.40 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste sigmoide. Experimento 3-0

$$M_{SF} = \frac{0.165 t}{21.0 + t}$$

donde:

$$\frac{dM_{SF}}{dt} = \frac{a_1 b_1}{(b_1 + t)^2}$$

De hecho en este experimento la transmisión más alta es la primera medida.

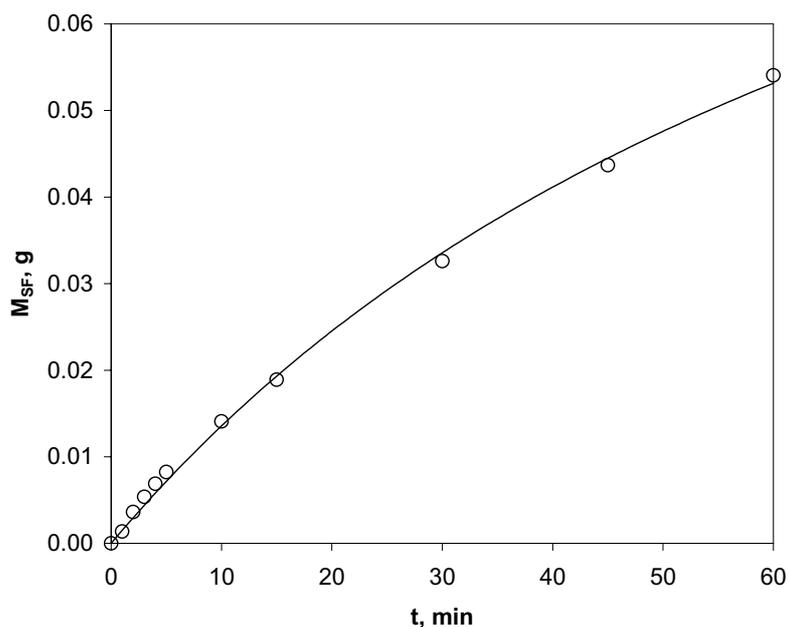


Figura 7.41 Variación de la masa de soluto a través de la membrana. Ajuste sigmoide. Experimento 4-0

$$M_{SF} = \frac{0.128 t}{84.1 + t}$$

En las Tablas 7.8 y 7.9 se recogen los ajustes obtenidos para las ecuaciones [7.54] y [7.53], los tiempos a los que se da el máximo de M_{SF} , el valor máximo de su velocidad de variación, así como su valor al cabo de 1 hora de filtración.

Tabla 7.8 Ajuste sigmoide de los valores de M_{SF} . Ecuación [7.54]

pH	I, mM	a ₂ , g	b ₂ , min ²	t _{max} , minutos	(dM _{SF} /dt) _{max} , g/minuto	M _{SF} a 1 hora, g
2.0	0	0.0472	16.14	2.32	0.0076	0.047
4.9	0	0.0554	175.6	7.65	0.0027	0.053
4.9	1	0.188	675.5	15.01	0.0047	0.158
4.9	2	0.164	584.8	13.96	0.0044	0.141
4.9	3	0.159	509.2	13.03	0.0046	0.140
4.9	5	0.150	488.3	12.76	0.0044	0.132
4.9	10	0.171	485.3	12.72	0.0050	0.151
4.9	25	0.167	374.5	11.17	0.0056	0.152

Tabla 7.9 Ajuste hiperbólico de los valores de M_{SF} . Ecuación [7.53]

pH	I, mM	a_1 , g	b_1 , min	t_{max} , minutos	$(dM_{SF}/dt)_{max}$, g/minuto	M_{SF} a 1 hora, g
3.0	0	0.165	21.0	0	0.0079	0.122
4.0	0	0.128	84.1	0	0.0015	0.053

Se observa en la Tabla 7.8 que a pH = 2 el transporte de soluto a través de la membrana alcanza su velocidad máxima a los 2.3 minutos, casi al acabar la disminución rápida del caudal, con un valor alto de 0.0076 g/minuto, pero a los 30 minutos la transmisión ha terminado por completo, habiendo pasado a través de la membrana 0.047 g de BSA. En cambio en el punto isoeléctrico, el transporte de soluto a través de la membrana alcanza su máximo entre 7 y 8 minutos, con un valor mucho más pequeño 0.0027 g/minuto, aunque la transmisión no se anula hasta la hora y la cantidad total que ha pasado a través de la membrana es superior, 0.053 g de BSA. En presencia de fuerza iónica, los resultados son muy semejantes en todo el intervalo investigado, 1-25 mM; la máxima velocidad de transporte se produce entre 12 y 15 minutos, con un valor intermedio del orden de 0.0050 g/minuto; la transmisión sigue siendo importante al cabo de la hora y en este intervalo la cantidad total de soluto que ha pasado a través de la membrana es muy superior del orden de 0.150 g de BSA.

En la Tabla 7.9 se observa que a pH = 3 el transporte de soluto es máximo en el instante inicial, con un valor alto 0.0079 g/minuto, próximo al correspondiente a pH = 2, y que en 1 hora la cantidad total que ha pasado a través de la membrana es 0.122 g. Para pH = 4, la velocidad de transporte es también máxima en el instante inicial aunque con el valor mínimo observado 0.0015 g/minuto; además la cantidad total de soluto que pasa a través de la membrana en 1 hora es 0.053 g.

La existencia del máximo en los experimentos realizados a pH = 2 y en el punto isoeléctrico, pH = 4.9, puede explicarse si la adsorción sobre la superficie libre de los poros para formar la monocapa es importante, ya que en el primer instante el filtrado se encuentra con toda la superficie interna de los poros libre y la velocidad de adsorción es máxima. A medida que esta superficie se va cubriendo disminuirá la velocidad de adsorción y por tanto irá aumentando la concentración de salida en el permeado.

Como ya se ha indicado, la adición de fuerza iónica da lugar a la aparición de diferenciales de carga favoreciendo la adsorción y evitando la agregación. Esto podría explicar los resultados obtenidos en los ensayos en los que se añade sal. Es decir, el aumento de la capacidad de adsorción sobre la membrana explicaría la aparición del máximo de transferencia de proteína a tiempos superiores a los experimentos realizados sin aumento de fuerza iónica. Además, estos diferenciales de carga darían lugar a fuerzas repulsivas que evitarían la agregación, estabilizando por tanto la transmisión.

En los experimentos a pH = 3 y pH = 4, tanto la carga de la superficie de la membrana como la carga de las partículas es positiva, por lo que se produce poca adsorción y la velocidad máxima de transporte de soluto se da en el momento inicial. En el experimento a pH = 2 las cargas positivas son aún más grandes, aunque la fuerza iónica apreciable las apantalla mediante la doble capa iónica; la adsorción es más importante apareciendo un máximo, aunque muy próximo al instante inicial.

7.4. ADSORCIÓN DE SOLUTO EN LA MEMBRANA

Puesto que se trabaja en recirculación, la disminución del contenido en soluto del líquido tiene que ser provocada por la adsorción del mismo sobre la superficie de la membrana, bien sea en su superficie en contacto con la cámara de retenido, masa de la torta formada, bien en la superficie interna de los poros. Aunque una pequeña cantidad de soluto es eliminada del sistema por las muestras extraídas, aparte de una pequeña cantidad que se encuentra también en el circuito de permeado, la mayor parte del soluto se encuentra en cada instante en el depósito y en el circuito de retenido, con un volumen prácticamente constante de un litro.

Dada la forma en que C_R cambia con el tiempo se han ajustado sus valores a una ecuación del tipo:

$$C_R = C_{RR} + M_A \exp(-ct) \quad [7.55]$$

donde C_{RR} representa la concentración residual (o masa ya que se trabaja con un volumen de 1 L que se supone constante) que queda en la fase líquida y M_A la masa de soluto adsorbida sobre

la superficie interior de los poros de la membrana, Bowen y Gan (1991). Puesto que inicialmente se ha dispuesto una masa inicial de soluto M_0 de BSA en el sistema, la diferencia:

$$M_T = M_0 - C_{R0} = M_0 - (C_{RR} + M_A) \quad \text{g} \quad [7.56]$$

será la masa de soluto adsorbida o depositada sobre la superficie de la membrana en contacto con la cámara de retenido, es decir, la masa de la torta formada sobre la superficie filtrante que debe formarse en los primeros instantes con su espesor definitivo, dado el continuo flujo tangencial del retenido.

Sin embargo, el error experimental en los valores de C_R es grande, por lo que una vez realizado el primer ajuste, se han eliminado los puntos que se desvían más de la desviación estándar estimada y se ha vuelto a realizar el ajuste. Así, para el experimento a $\text{pH} = 2.0$ se obtiene:

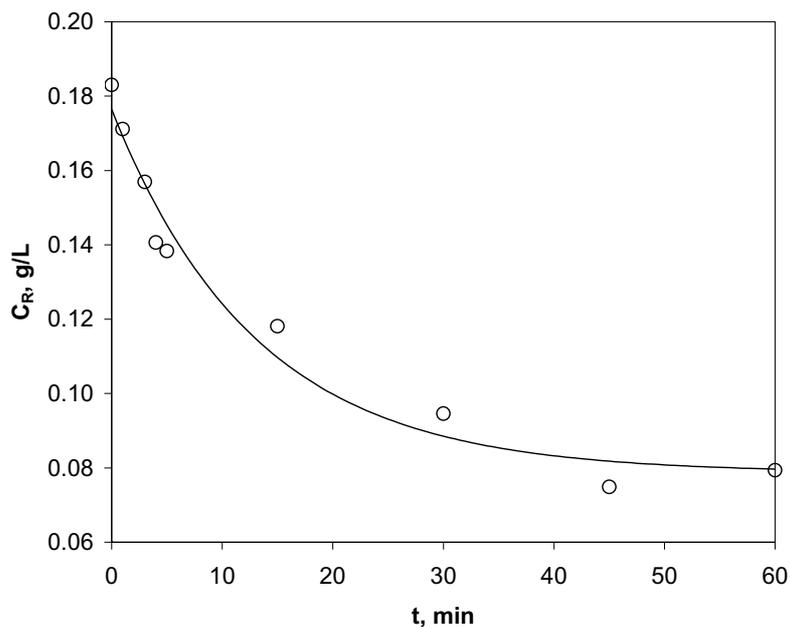


Figura 7.42 Variación de la concentración de retenido con el tiempo. Experimento 2-0

$$C_R = 0.0787 + 0.0978 \exp(-0.0769 t) \quad \text{g/L} \quad M_T = 0.0649 \quad \text{g}$$

Obsérvese la apreciable masa de soluto de la torta formada sobre la superficie de la membrana en contacto con la cámara de retenido, como ya se había comentado en este experimento.

Este resultado indica que la masa de soluto total depositada sobre la membrana varía con el tiempo en la forma:

$$M_m = M_T + M_A (1 - \exp(-ct)) = 0.1627 - 0.0978 \exp(-0.0769t) \quad [7.57]$$

Los valores de M_m se han calculado en el Capítulo 6 de Resultados, teniendo en cuenta la masa de soluto extraída en las muestras y el volumen del circuito de permeado. Estos valores se representan en la Figura 7.43 junto con la ecuación [7.57]:

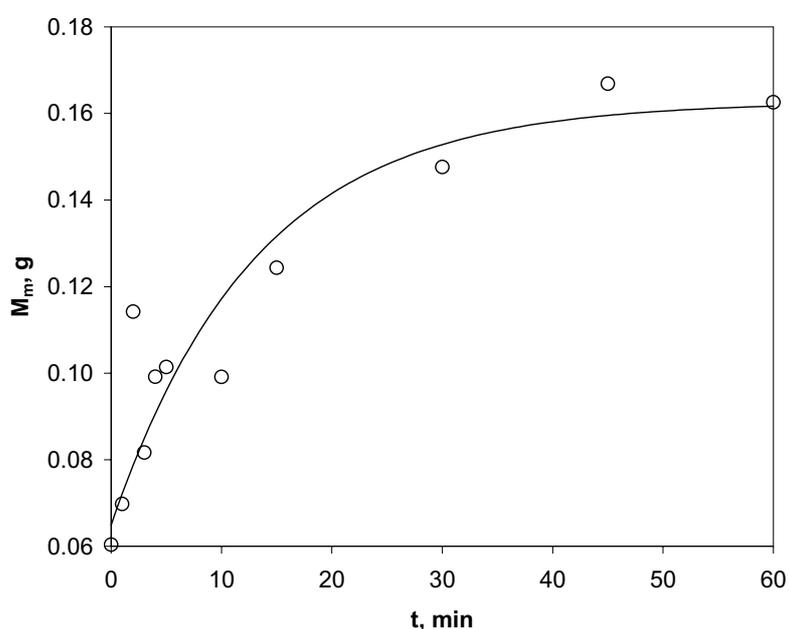


Figura 7.43 Evolución dinámica de la masa depositada en la membrana. Experimento 2-0

En esta Figura se aprecia que aun teniendo en cuenta la gran dispersión de los valores de C_R , la ecuación [7.57] representa bien la variación de los valores de M_m . Un cálculo semejante se ha realizado con los datos obtenidos en los experimentos a $\text{pH} = 4.9$. Estos experimentos se muestran en las Figuras 7.44 a 7.50:

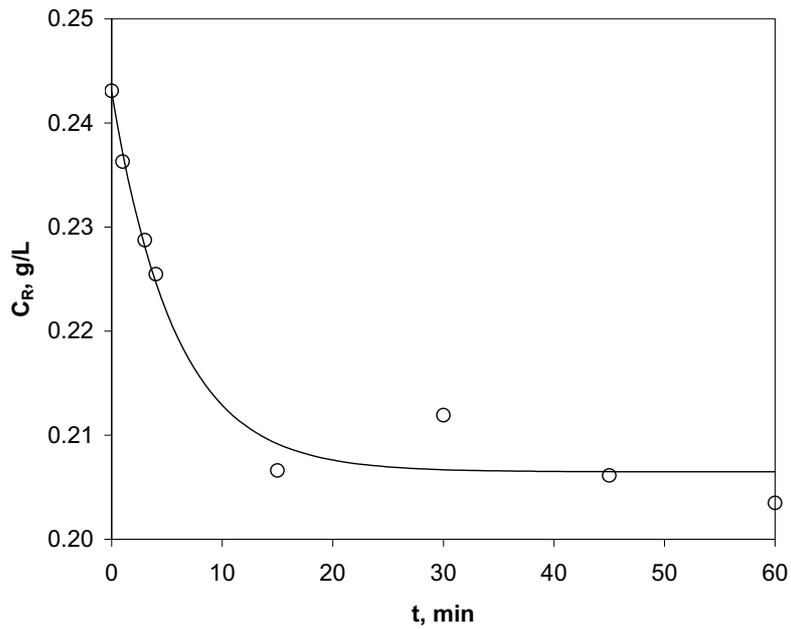


Figura 7.44 Variación de la concentración de retenido con el tiempo. Experimento 4.9-0

$$C_R = 0.2065 + 0.0365 \exp(-0.1741 t) \text{ g/L} \quad M_T = -0.0024 \text{ g}$$

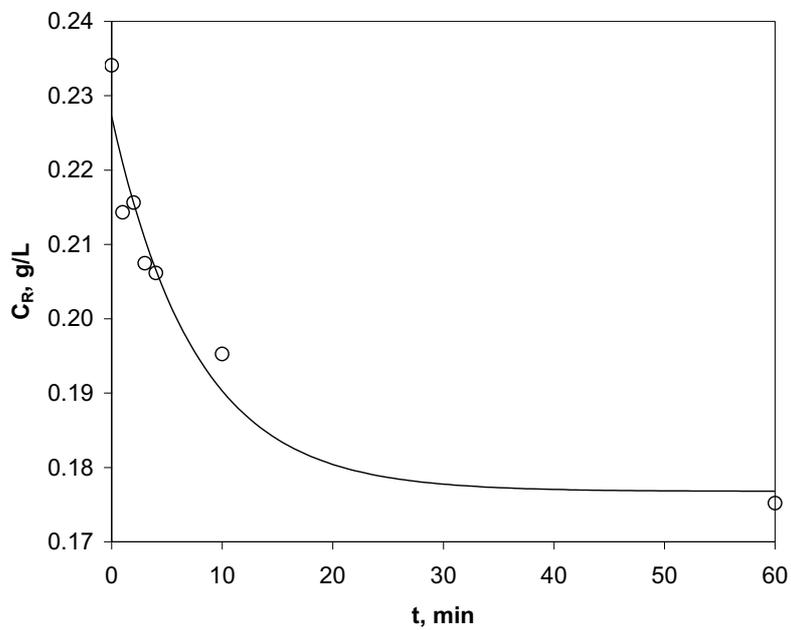


Figura 7.45 Variación de la concentración de retenido con el tiempo. Experimento 4.9-1

$$C_R = 0.1768 + 0.0504 \exp(-0.1316 t) \text{ g/L} \quad M_T = 0.0132 \text{ g}$$

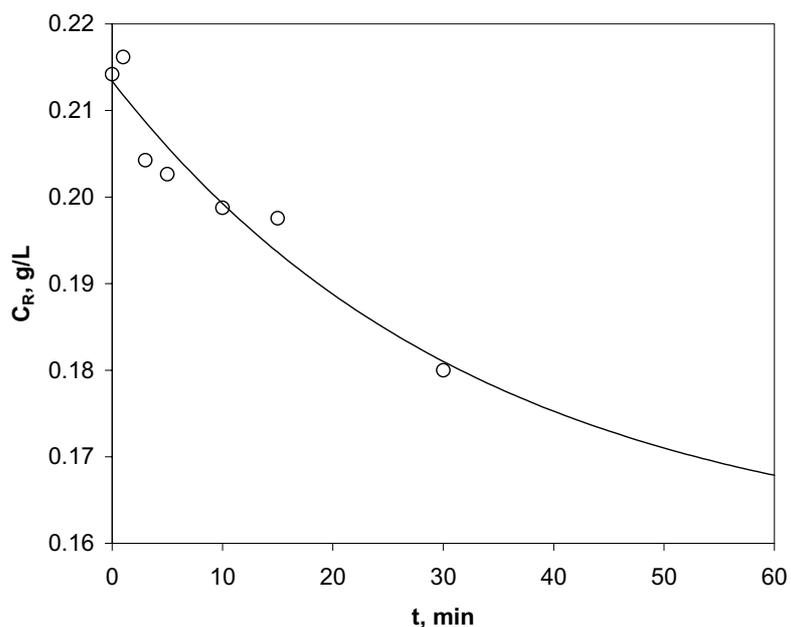


Figura 7.46 Variación de la concentración de retenido con el tiempo. Experimento 4.9-2

$$C_R = 0.1589 + 0.0545 \exp(-0.0300 t) \text{ g/L} \quad M_T = 0.0278 \text{ g}$$

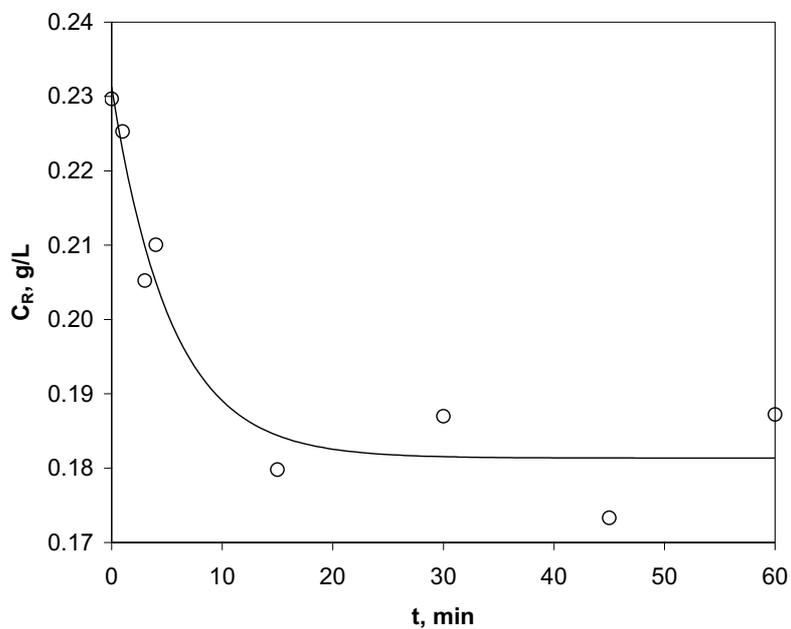


Figura 7.47 Variación de la concentración de retenido con el tiempo. Experimento 4.9-3

$$C_R = 0.1814 + 0.0499 \exp(-0.1866 t) \text{ g/L} \quad M_T = 0.0099 \text{ g}$$

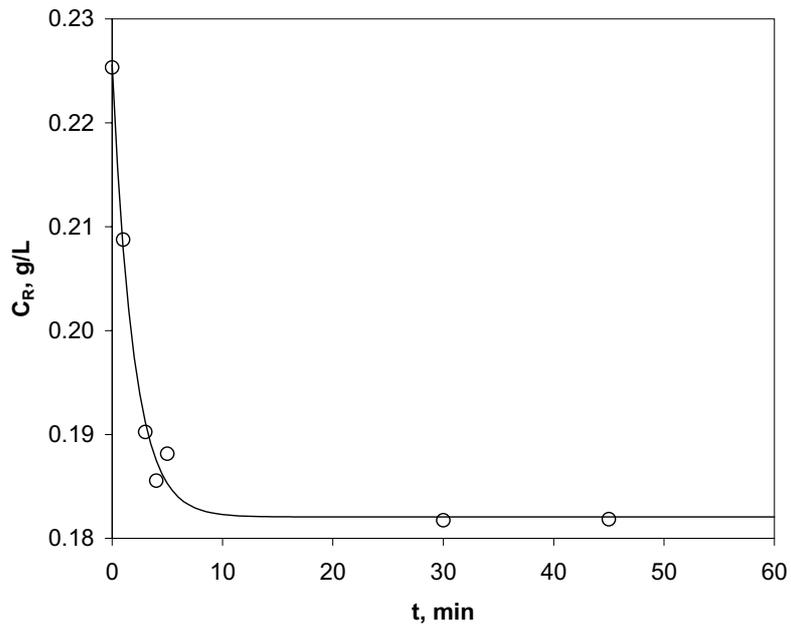


Figura 7.48 Variación de la concentración de retenido con el tiempo. Experimento 4.9-5

$$C_R = 0.1821 + 0.0435 \exp(-0.5209 t) \text{ g/L} \quad M_T = 0.0153 \text{ g}$$

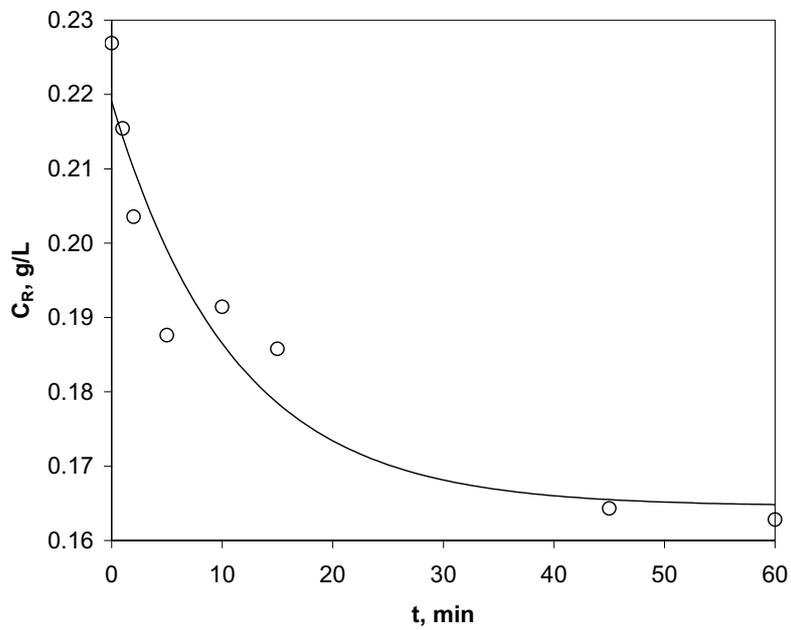


Figura 7.49 Variación de la concentración de retenido con el tiempo. Experimento 4.9-10

$$C_R = 0.1646 + 0.0545 \exp(-0.0910 t) \text{ g/L} \quad M_T = 0.0217 \text{ g}$$

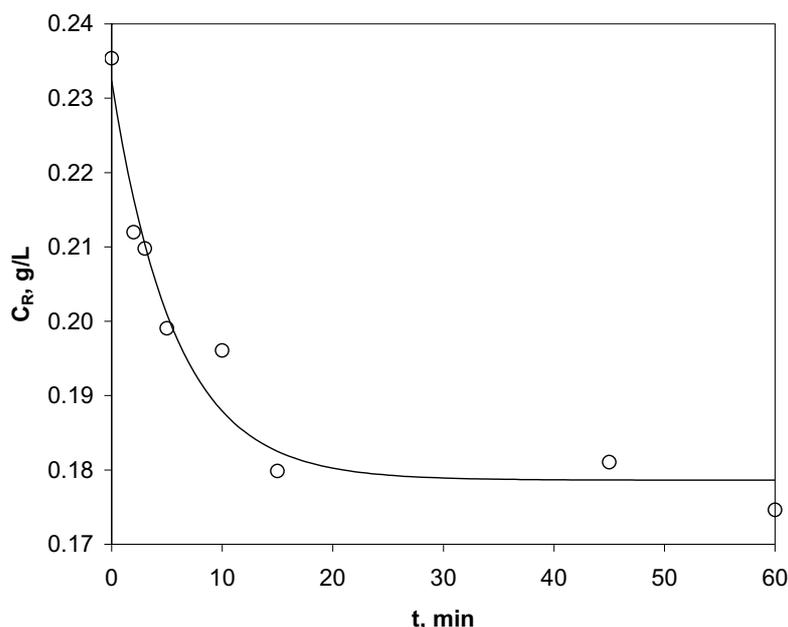


Figura 7.50 Variación de la concentración de retenido con el tiempo. Experimento 4.9-25

$$C_R = 0.1786 + 0.0537 \exp(-0.1754 t) \text{ g/L} \quad M_T = 0.0085 \text{ g}$$

Tabla 7.10 Ajuste de los resultados a la ecuación [7.55] tres parámetros

pH	I, mM	M _T , g	M _A , g	C _{RR} , g/L	c, min ⁻¹	C _{RR} /M _A
2.0	0	0.0649	0.0978	0.0787	0.0765	0.80
4.9	0	-0.0024	0.0365	0.2065	0.1741	5.66
4.9	1	0.0132	0.0504	0.1768	0.1316	3.51
4.9	2	0.0278	0.0545	0.1589	0.0300	2.91
4.9	3	0.0099	0.0499	0.1814	0.1866	3.64
4.9	5	0.0153	0.0435	0.1821	0.5209	4.18
4.9	10	0.0217	0.0545	0.1646	0.0910	3.02
4.9	25	0.0085	0.0537	0.1786	0.1754	3.33

En la Tabla 7.10 se resumen los resultados obtenidos. Se aprecia una disminución continua del soluto disuelto en la fase líquida con el tiempo. En los experimentos de mayor transmisión, pH = 4.9 y I = 1-25 mM, la masa de soluto adsorbida sobre la membrana alcanza valores en torno a 0.05 g/módulo, manteniéndose constante a partir de los 15 minutos de filtración. En la última columna de la Tabla 7.10 se ha calculado el cociente C_{RR}/M_A, que debe estar relacionado con la constante de equilibrio de adsorción de la proteína sobre la superficie interna de los poros y debería depender exclusivamente de las condiciones de operación (pH y fuerza iónica).

7.5. POLARIZACIÓN DE CONCENTRACIÓN Y COEFICIENTE DE PARTICIÓN

En cada instante la disminución total de soluto disuelto en la fase líquida viene dada, de acuerdo con lo visto en el apartado anterior, por:

$$\frac{d}{dt}(V_L C_R) = -cM_A \exp(-ct) \quad \frac{g}{\text{min}} \quad [7.58]$$

ya que el volumen de fase líquida se considera constante e igual a 1 L. Este soluto perdido por la fase líquida debe entrar en los poros y adsorberse sobre la superficie interna de los mismos, por tanto:

$$Q_F C_E = cM_A \exp(-ct) + Q_F C_F \quad \frac{g}{\text{min}} \quad [7.59]$$

y la concentración de entrada en los poros vendría dada por:

$$C_E = \frac{cM_A \exp(-ct)}{Q_F} + C_F \quad \frac{g}{L} \quad [7.60]$$

Ecuación que permite el cálculo de C_E en cada uno de los experimentos realizados. Un análisis simplificado de la polarización de concentración, aplicando el modelo de la película, utilizando el coeficiente de transferencia de materia y considerando que el movimiento tangencial del fluido aporta la misma masa de soluto que arrastra, conduce a:

$$J_F = k_L \left(\frac{C_W - C_R}{C_W - C_E} \right) \quad [7.61]$$

Expresión que permite el cálculo de la concentración de soluto en la superficie interna de la membrana, C_W :

$$C_W = \frac{(J_F / k_L) C_E - C_R}{(J_F / k_L) - 1} \quad [7.62]$$

teniendo en cuenta que:

$$J_F = \frac{Q_F}{(60)(10^6)(0.0094)} \frac{m}{s} \quad [7.63]$$

y que el coeficiente de transferencia de materia, estimado en el apartado 6.3 para este caudal de retenido es: $k_L = 3.26 \cdot 10^{-5} \text{ m/s}$.

Calculados estos valores, la influencia de la polarización de concentración vendrá dada por el aumento de la concentración de soluto en la superficie de la membrana con respecto a su concentración en el seno del retenido, C_W/C_R . Por su parte, el coeficiente de partición aparente vendrá dado por la relación entre la concentración de soluto en el líquido que entra en los poros y la que existe en la superficie de la membrana:

$$\phi_{ap} = \frac{C_E}{C_W} \quad [7.64]$$

Estos cálculos se han realizado para los experimentos en que la transmisión es más importante: pH = 4.9 y fuerza iónica apreciable $I = 1, 3 \text{ y } 25 \text{ mM}$, y para tiempos en los que había desaparecido el fenómeno rápido de disminución del caudal: $t \geq 2 \text{ minutos}$:

Tabla 7.11 Polarización de concentración y coeficiente de partición para el experimento 4.9-1

t, minutos	$J_F \cdot 10^5, \text{ m/s}$	$C_E, \text{ g/L}$	$C_W, \text{ g/L}$	C_W/C_R	ϕ_{ap}
3	5.23	0.275	0.386	1.86	0.71
4	4.95	0.332	0.575	2.79	0.58
5	4.79	0.306	0.551	2.87	0.56
10	4.09	0.248	0.454	2.33	0.55
15	3.57	0.230	0.619	3.21	0.37
30	3.00	0.154	0.555	2.98	0.28
45	2.66	0.156	0.211	1.27	0.74
60	2.38	0.145	0.258	1.47	0.56

Tabla 7.12 Polarización de concentración y coeficiente de partición para el experimento 4.9-3

t, minutos	$J_F 10^5, \text{ m/s}$	$C_E, \text{ g/L}$	$C_W, \text{ g/L}$	C_W/C_R	ϕ_{ap}
2	5.60	0.210	0.238	1.25	0.88
3	5.22	0.282	0.410	2.00	0.69
4	4.84	0.338	0.603	2.87	0.56
5	4.59	0.316	0.566	2.65	0.56
10	3.87	0.244	0.615	3.51	0.40
15	3.51	0.221	0.755	4.20	0.29
30	2.88	0.142	0.519	2.78	0.27
45	2.45	0.111	0.364	2.10	0.31
60	2.20	0.086	0.398	2.13	0.22

Tabla 7.13 Polarización de concentración y coeficiente de partición para el experimento 4.9-25

t, minutos	$J_F 10^5, \text{ m/s}$	$C_E, \text{ g/L}$	$C_W, \text{ g/L}$	C_W/C_R	ϕ_{ap}
2	6.45	0.231	0.251	1.19	0.92
3	5.95	0.332	0.479	2.29	0.69
4	5.46	0.345	0.538	2.51	0.64
5	5.20	0.324	0.534	2.68	0.61
10	4.26	0.263	0.482	2.46	0.55
15	3.71	0.212	0.442	2.46	0.48
30	2.90	0.150	0.303	1.81	0.50
45	2.45	0.112	0.391	2.16	0.29
60	2.19	0.089	0.350	2.00	0.25

Se observa que la influencia de la polarización de concentración es importante durante todo el proceso, aunque naturalmente ésta es provocada por el coeficiente de partición que disminuye continuamente a lo largo del proceso; esto indica que como consecuencia de la adsorción o deposición interna, el radio efectivo del poro va disminuyendo.

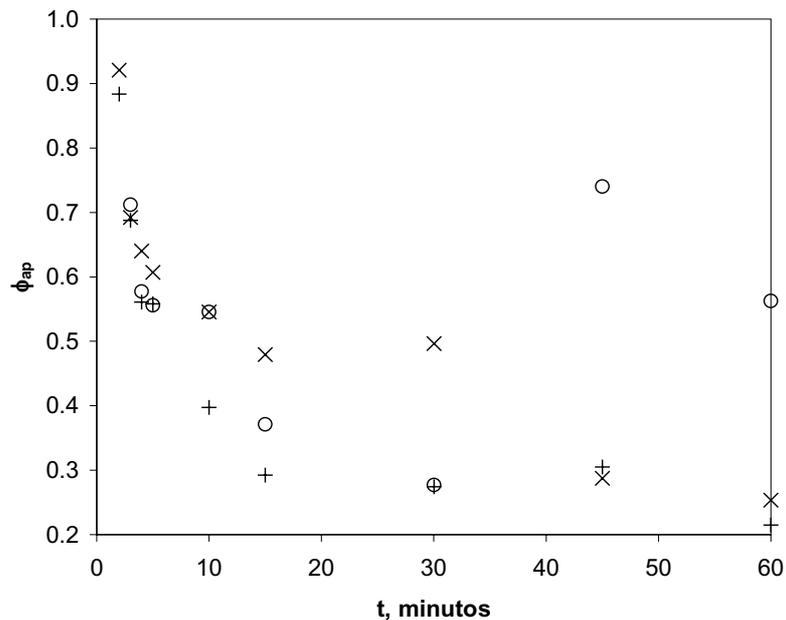


Figura 7.51 Variación del coeficiente de partición con el tiempo. Experimentos a pH 4.9, 400 L/h y 1 bar. (○) 1 mM de NaCl (+) 3 mM de NaCl (×) 25 mM de NaCl

Puesto que los experimentos considerados corresponden a un pH igual al punto isoeléctrico del soluto y por tanto sus moléculas no tienen carga neta, puede aceptarse que el coeficiente de partición es provocado solamente por factores estéricos. Aproximando a esferas de diámetro d_s la forma de las moléculas de soluto que tratan de entrar en un poro de sección circular, de diámetro d_p , sólo serían rechazadas por los bordes del poro las moléculas que se encuentren en una corona circular de diámetro externo d_p , y diámetro interno $d_p - d_s$. Por tanto, la fracción de moléculas que penetran en el poro será:

$$\phi = \frac{\frac{\pi}{4}(d_p - d_s)^2}{\frac{\pi}{4}d_p^2} = \left(1 - \frac{d_s}{d_p}\right)^2 = (1 - \lambda)^2 \quad [7.65]$$

ecuación que permite el cálculo de la relación de diámetros: λ . Los valores calculados ponen claramente de manifiesto que hay un rápido ensuciamiento de las bocas de los poros, el cual determina a partir de los dos minutos un valor de λ del orden de 0.05. Posteriormente, a partir de los cinco minutos, se produce un continuo estrechamiento de la boca del poro a medida que

progresar el tiempo de filtración y la transmisión desciende continuamente hasta los 60 minutos, donde el valor de λ es ya cercano a 0.5.

8. CONCLUSIONES

1. En todos los experimentos realizados se observan dos etapas en la disminución del caudal de filtrado con el tiempo: un fenómeno rápido que ocurre en los primeros minutos (2-3) con una disminución brusca y muy importante del caudal, seguido de un fenómeno lento que se prolonga durante toda la duración del experimento con una disminución suave del mismo.
2. Los resultados obtenidos se explican bien con un modelo de flujo en el que el fenómeno rápido es debido al bloqueo de los poros por partículas que quedan retenidas en puntos estrechos de los mismos, y el fenómeno lento es debido a la reducción del diámetro de los poros por deposición interna:

$$\frac{Q_F}{Q_{F0}} = \frac{1 - \alpha + \alpha \exp(-1.5t)}{(1 + k_2 t Q_{F0}^{0.5})^2}$$

donde α es la fracción del caudal que circula por poros bloqueables y k_2 un parámetro cinético de deposición de la proteína en la superficie interna de los poros.

3. La fracción del caudal que circula por poros bloqueables es máxima, cerca del 90 %, en el punto isoelectrico de la proteína; en el rango alcalino, $\text{pH} > 4.9$, esta fracción es mínima, alrededor del 50 %, mientras que en el rango ácido, $\text{pH} < 4.9$, es intermedia: 50–70 %.
4. Utilizando el concepto de radio efectivo de las partículas, r_{eff} , introducido por Pujar y Zydny, que combina los efectos del tamaño de las partículas y las interacciones eléctricas partícula-poro, se han explicado los resultados de la influencia del pH sobre α indicados en la conclusión 3, obteniéndose una relación lineal entre α y r_{eff} :

$$\alpha = 0.926 - 0.0126 r_{\text{eff}} \quad \text{con } r_{\text{eff}} \text{ en nm}$$

en el rango ácido, de manera que la fracción del caudal que pasa por poros bloqueables aumenta hasta 0.926 al disminuir el radio efectivo de las partículas, ya que éstas pueden introducirse al disminuir r_{eff} en poros cada vez más estrechos y bloquearlos. Por el

contrario, en el rango alcalino los elevados valores de $r_{\text{eff}} > 50$ nm determinan que las partículas no entran en los poros, no se observa transmisión, y el bloqueo sólo puede producirse en la boca de los poros del lado del retenido, que equivale aproximadamente al 50 % del caudal.

Parece difícil comprender que cuando las partículas son más pequeñas, en su punto isoeléctrico, sea cuando bloquean la mayor cantidad de poros, pero es lo que indican los resultados obtenidos, ya que la disminución rápida del caudal es máxima en este punto. La explicación de este resultado aparentemente sorprendente puede ser debida a la agregación de las partículas, que es máxima en este punto ya que las partículas no tienen carga; no obstante, esta agregación debe producirse fundamentalmente en el interior de los poros, cuando las partículas muy pequeñas ya han penetrado en la mayor parte de ellos.

Es indudable que en su camino por el interior de los poros las partículas deben experimentar un retraso importante debido a sus choques con las paredes, lo que tenderá a aumentar su concentración a lo largo del poro; esta circunstancia, junto con el hecho de encontrarse en un ambiente confinado con frecuentes estrechamientos y cambios de dirección, facilitará mucho los choques entre partículas y por tanto sus posibilidades de agregación, por lo que muy probablemente los poros sean bloqueados por agregados de BSA; la presión ejercida por la fase líquida, que en el interior de los poros avanza en dirección axial, contribuye a estabilizar estos agregados.

Por el contrario, las partículas muy grandes que no puedan penetrar en los poros, solo bloquearán aquellos cuya entrada en la cámara de retenido permita alojarlas y resguardalas de la importante velocidad tangencial de la fase líquida en esta zona.

5. Los resultados indicados en las conclusiones 3 y 4 ponen de manifiesto que la estructura porosa de las membranas TAMI es muy irregular, con poros que presentan a lo largo de su recorrido puntos estrechos fácilmente bloqueables. Los valores obtenidos para el parámetro cinético de deposición interna, k_2 , son máximos entre los puntos de carga cero de la proteína y de la membrana, $\text{pH} = 4.9-7$, y disminuyen de forma semejante

para valores más ácidos o más alcalinos. Resultado lógico, ya que en el intervalo indicado, partículas y membranas o no tienen carga o tienen carga de signo opuesto, lo que favorece la deposición; por el contrario, fuera de este intervalo partículas y membrana tienen cargas del mismo signo, y tanto mayores cuanto más lejos de los límites de este intervalo.

6. El aumento de la fuerza iónica provoca una disminución de la fracción del caudal que pasa por poros bloqueables, α , si bien la mayor parte de esta disminución se produce en el intervalo 0-5 mM, probablemente debido en parte al ligero incremento del tamaño de las partículas por la formación de la doble capa eléctrica, que impide que puedan entrar en los poros más pequeños; pero también y sobre todo al hecho de que esta doble capa iónica dificulta la agregación en el interior de los poros.
7. El aumento de la fuerza iónica provoca un aumento del parámetro cinético de deposición interno, k_2 ; este aumento también se produce en el intervalo 0-5 mM, aunque en este caso es probablemente debido al aumento de la concentración de partículas en el interior de los poros al aumentar la transmisión.
8. En la mayor parte de los experimentos realizados la masa de soluto que ha pasado por la membrana arrastrada por el filtrado, M_{SF} , se ajusta bien a la siguiente expresión en función del tiempo:

$$M_{SF} = \frac{a_2 t^2}{b_2 + t^2}$$

que implica un caudal de soluto, dM_{SF}/dt , que primero aumenta con el tiempo pasa por un valor máximo y a continuación descende. Estos resultados sugieren que la deposición sobre la superficie limpia de la membrana es mucho más intensa que sobre la monocapa formada inicialmente, lo que determinaría la aparición de este máximo en el caudal de soluto. El retraso del soluto con respecto al líquido en el interior de los poros, debido a los choques con las paredes ya comentado, también contribuye a la aparición de este máximo, pudiendo determinar la aparición de valores puntuales de la

transmisión superiores a la unidad, como en ocasiones se observa. En presencia de fuerza iónica los resultados son muy semejantes en todo el intervalo investigado: 1-25 mM: se alcanza el máximo caudal de transporte de sólido entre 12 y 15 minutos, con un valor del orden de 0.0050 g/min, y a continuación desciende lentamente siendo la transmisión todavía importante al cabo de la hora.

9. Los resultados obtenidos en los experimentos con transmisión apreciable, $\text{pH} = 4.9$ y $I = 1\text{-}25$ mM, indican que la masa de soluto adsorbida sobre la membrana alcanza un valor constante a partir de los 15 minutos de 0.05 g/módulo, con una constante de equilibrio de adsorción:

$$\frac{\text{Concentración de soluto en disolución g/L}}{\text{Concentración de soluto adsorbido g/módulo}}$$

del orden de 3, lo que está de acuerdo con la conclusión 8.

10. La estimación de la concentración de soluto en la capa de polarización, C_W , pone de manifiesto la influencia de este fenómeno en el proceso ya que la relación C_W/C_R es del orden de 2.
11. Los valores obtenidos para el coeficiente de partición aparente indican que disminuye continuamente desde 0.90, una vez terminado el periodo de disminución rápida del caudal, hasta valores próximos a 0.2 al cabo de 1 hora, lo que indica una variación de la relación diámetro de partícula/diámetro de poro, λ , de 0.05 a 0.5, en el mismo periodo de tiempo. El primer valor es consistente con el tamaño nominal de poro: $7/140 = 0.05$ y el segundo indica una importante disminución del tamaño de poro debida a la deposición o adsorción en su superficie interna.
12. Los resultados obtenidos a $\text{pH} = 2$, aunque se ajustan muy bien al modelo de flujo de líquido desarrollado y a la ecuación propuesta para el transporte de soluto a través de los poros, presentan características especiales que sugieren una interacción especialmente intensa entre la superficie de la membrana y las partículas, a pesar de la apreciable carga positiva de ambas. Así, los resultados ponen de manifiesto que se

Conclusiones

produce una intensa adsorción de las partículas sobre la superficie externa de membrana en la cámara de retenido, prácticamente instantánea, que no se ha observado en ningún otro experimento, y se produce un máximo muy destacado en el transporte de soluto a través de los poros que se alcanza a un tiempo apreciablemente inferior que en los restantes experimentos, lo que también indica una adsorción rápida e intensa sobre la superficie interna de los poros.

Estos resultados sugieren que a la elevada concentración de protones que determina este pH, 0.01 M, se debe haber producido algún cambio en la proteína que facilita su unión a la superficie de la membrana.

9. NOMENCLATURA

NOMENCLATURA

a_1	Constante en la ecuación de variación de M_{SF} con el tiempo. Ajuste hiperbólico. Ecuación [7.53]
a_2	Constante en la ecuación de variación de M_{SF} con el tiempo. Ajuste sigmoidal. Ecuación [7.54]
A	Área de la membrana
A_B	Constante para el cálculo del caudal de filtrado mediante bloqueo completo e intermedio de los poros de membrana (ecuaciones [3.39] y [3.48])
A_p	Área de los poros de la membrana
A_s	Constante para el cálculo del caudal de filtrado mediante bloqueo estándar de los poros de membrana. Ecuación [3.44]
A_T	Constante para el cálculo del caudal de filtrado, mediante formación de una torta. Ecuación [3.51]
b	Parámetro de la función de la densidad de probabilidad $f(r)$ en función de r y σ . Ecuación [3.4]
b_1	Constante en la ecuación de variación de M_{SF} con el tiempo. Ajuste hiperbólico. Ecuación [7.53]
b_2	Constante en la ecuación de variación de M_{SF} con el tiempo. Ajuste sigmoidal. Ecuación [7.54]
B_1, B_2 y B_3	Coefficientes del virial para la presión osmótica. Ecuación [3.32]
c	Constante en la ecuación [7.55] de variación de C_R con el tiempo

Nomenclatura

C	Concentración local de soluto
C_E	Concentración de soluto de entrada en los poros de la membrana
C_F	Concentración de soluto en el filtrado a la salida de la membrana
C_{FA}	Concentración de soluto en el filtrado a la salida de la cámara de filtrado
C_i	Concentración del ión i del electrolito
C_M	Concentración de macromolécula en disolución
C_P	Concentración de partículas en el fluido que circula por los poros
C_R	Concentración de soluto en el retenido
C_{RR}	Concentración residual de soluto en el retenido
C_{R0}	Concentración de soluto en el retenido a tiempo inicial
C_S	Concentración de soluto en el interior del poro, promediada para el radio
C_{sal}	Concentración de sal añadida a la disolución
C_W	Concentración de soluto en la superficie interna de la membrana
C_0	Concentración inicial de soluto en la disolución
d_H	Diámetro hidráulico de la membrana
d_p	Diámetro de poro de la membrana
d_{p0}	Diámetro de poro de la membrana a tiempo inicial

Nomenclatura

d_R	Diámetro del canal de retenido
D_S	Coefficiente de difusión binario del soluto
E	Función de distribución de edades
f	Coefficiente de fricción de Fanning
$f(r)$	Densidad de probabilidad o fracción de poros de tamaño r
F	Constante de Faraday
H_M	Permeabilidad hidráulica de la membrana
I	Fuerza iónica
j'	Parámetro de la ecuación [3.38] de flujo de filtrado en los modelos de fouling
J_F	Flujo de filtrado
J_F^*	Flujo crítico de ensuciamiento
J_{F0}	Flujo inicial de filtrado
J_{F0ext}	Caudal inicial de filtrado extrapolado a tiempo cero
J_{SS}	Flujo de filtrado límite en estado estacionario
k	Constante de Boltzmann
k'	Relación entre la velocidad de deposición de los sólidos en la superficie interna del poro y la masa que entra en éstos en cada instante. Ecuación [7.33]

Nomenclatura

k''	Constante que relaciona la disminución del diámetro de poro en la ecuación [7.34]
k'''	Constante para la ecuación [7.35]
k_L	Coefficiente de transferencia de materia.
k_1	Constante proporcional a la cantidad de partículas que pasan por los poros bloqueables, por unidad de tiempo. Ecuación [7.27]
k_2	Constante proporcional a la concentración de partículas en el fluido que circula por el interior de los poros. Ecuación [7.36]
K_{A1}	Constante de equilibrio entre la membrana neutra y la membrana cargada negativamente. Ecuación [5.1]
K_{A2}	Constante de equilibrio entre la membrana cargada positivamente y la membrana neutra. Ecuación [5.2]
K_B	Superficie bloqueada del área de membrana por unidad de volumen filtrado. Ecuación [3.40]
K_C	Factor de impedimento para el transporte por convección del soluto a través de la membrana
K_D	Factor de impedimento para el transporte por difusión del soluto a través de la membrana
K_S	Disminución en el área transversal de los poros por unidad de volumen filtrado, debida a la adsorción de las partículas. Ecuación [3.45]
K_T	Área de torta por unidad de volumen filtrado en la ecuación [3.52]

Nomenclatura

L_{ep}	Longitud efectiva de poro de la membrana
L_R	Longitud de la cámara de retenido
M	Masa de soluto en el sistema
M_A	Masa de soluto adsorbida sobre la superficie interior de los poros
M_m	Masa de soluto depositada en la membrana
M_{SF}	Masa de soluto que pasa por la membrana
M_T	Masa de torta de soluto formada sobre la superficie filtrante
M_0	Masa inicial de BSA puesta en cada experimento
n	Parámetro de las ecuaciones [3.35], [3.36], [3.37] y [3.38] de flujo de filtrado en los modelos de fouling
N_L	Número de poros libres de la membrana a tiempo > 0
N_p	Número de poros en la membrana
$N_p(r)$	Número de poros de radio r
N_S	Flujo de soluto por el interior de la membrana
N_0	Número inicial de poros libres de la membrana
N_{0B}	Número inicial de poros libres bloqueables de la membrana
P	Presión
$(\Delta P)_m$	Presión transmembrana media

Nomenclatura

ΔP_E	Caída de presión en la entrada de la cámara del retenido
ΔP_{ES}	Caída de presión en la entrada y la salida de la cámara del retenido
ΔP_R	Caída de presión en los canales de retenido
ΔP_S	Caída de presión en la salida de la cámara de retenido
Pe_M	Número de Peclet para la membrana
q	Caudal de filtrado que pasa por cada poro en cada instante
q_0	Caudal inicial de filtrado que pasa por cada poro libre de la membrana
q_{0B}	Caudal inicial de filtrado que pasa por cada poro bloqueable de la membrana
Q_F	Caudal de filtrado
Q_{F0}	Caudal inicial de filtrado
Q_{F0ext}	Caudal inicial de filtrado extrapolado a tiempo cero
Q_R	Caudal de retenido
r	Radio de poro de la membrana
r_{eff}	Radio efectivo de la proteína (soluto) cargada
r_p	Radio medio del poro de la membrana
r_s	Radio del soluto

Nomenclatura

R	Constante de los gases perfectos
R_E	Resistencia de ensuciamiento externo
R_F	Resistencia de ensuciamiento o "fouling"
R_G	Resistencia debida a la capa de polarización
R_I	Resistencia de ensuciamiento interno
R_M	Resistencia intrínseca de la membrana
R_M'	Resistencia global de la membrana
R_R	Relación entre la resistencia de la torta y la resistencia intrínseca de la membrana
R_T	Resistencia hidráulica de la torta formada sobre la membrana
Re	Número de Reynolds en la cámara de retenido
Re_p	Número de Reynolds en la cámara de permeado
S	Transmisión de la membrana
S_M	Sección del tubo de alimentación al módulo
S_O	Transmisión observada de la membrana
S_p	Superficie interna de los poros de la membrana
S_R	Sección del canal de retenido
S_∞	Valor asintótico de la transmisión real para Peclet infinito

Nomenclatura

Sc	Número de Schmidt
Sh	Número de Sherwood
t	tiempo de filtración
t_{max}	tiempo al que se alcanza un máximo en la variación de M_{SF} con el tiempo, según el ajuste sigmoideal
T	Temperatura
U_P	Velocidad de circulación del filtrado
\overline{U}_P	Velocidad media de circulación del filtrado
U_{P0}	Velocidad de circulación del filtrado a tiempo inicial
U_R	Velocidad de circulación del retenido por la cámara
V_{CF}	Volumen de la cámara de filtrado
V_F	Volumen filtrado por la membrana
V_L	Volumen de la fase líquida
V_P	Volumen del circuito de permeado
V_R	Volumen del circuito de retenido
z	Carga superficial de la proteína
z_i	Valencia del ión i del electrolito

Letras griegas

α	Fracción de poros susceptibles de ser bloqueados
α'	Fracción de poros susceptible de ser bloqueados calculada a partir de la relación entre Q_{F0} y Q_{F0ext}
α_{bloq}	Parámetro de la ecuación característica de bloqueo. Ecuación [3.55]
β	Relación adimensional de constantes para la ecuación [7.40]
β_{bloq}	Parámetro de la ecuación característica de bloqueo. Ecuación [3.55]
$\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \Gamma$	Parámetros de la ecuación [3.25] para obtención de los coeficientes de transferencia de materia
δ	Espesor de la capa de polarización
δ_M	Espesor de membrana
Δ	Variación
ε	Rugosidad de la superficie interna del módulo de retenido
ε_r	Permitividad relativa
ε_0	Permitividad del vacío
θ	Tiempo adimensional para la función de distribución de edades
κ^{-1}	Longitud de Debye
λ	Relación entre el radio del soluto y el del poro de membrana

Nomenclatura

μ	Viscosidad del disolvente
μ_i	Movilidad electroforética del soluto cargado
Π	Presión osmótica
Π_F	Presión osmótica para C_F
Π_W	Presión osmótica para C_W
ρ	Densidad
σ	Desviación estándar
σ_o	Coefficiente de reflexión
σ_s	Densidad de carga superficial en la proteína
τ	Variable adimensional para el tiempo en la ecuación [7.39]
ϕ	Coefficiente de partición
ϕ_{ap}	Coefficiente de partición aparente
Φ	Relación entre la resistencia de la capa de polarización y la presión transmembrana. Ecuación [3.29]
χ	Porosidad de la membrana
ψ_z	Potencial zeta de la membrana
Ω	Velocidad angular de giro

ABREVIATURAS

ATZ	Aluminio, titanio y circonio
BSA	Seroalbúmina bovina
CA	Acetato de celulosa
CFC	Clorofluorocarbono
CTA	Triacetato de celulosa
DLH	DL-Histidina
DN	Diámetro nominal
DSC	Escaneado de calorimetría diferencial
EDTA	Etilendiaminotetra-acético
FESEM	Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo
FRET	Técnica de transferencia de energía de resonancia de fluorescencia
HlgG	Inmunoglobulina G humana
HPTFF	Filtración tangencial de alta resolución
HSA	Sero albúmina humana
IgG	Inmunoglobulina G
MF	Microfiltración
n.e.	Sin efecto significativo

Nomenclatura

NF	Nanofiltración
n.m.	Número de muestras tomadas
PA	Poliamida aromática
PAN	Poliacrilonitrilo
PBI	Polibencimidazol
PBW	Limpieza invertida periódica
PEI	Poliéterimida
PES	Poliétersulfona
pl	Punto isoeléctrico
PI	Poliimida
PM	Peso molecular
PP	Polipropileno
PS	Polisulfona
PTFE	Politetrafluoretileno
PVA	Alcohol polivinílico
PVC	Policlorovinilo
PVDF	Polifluoruro de vinilideno
PVP	Polivinil-pirrolidona

Nomenclatura

pzc	Punto de carga cero
RC	Celulosa regenerada
RO	Ósmosis inversa
rpm	Revoluciones por minuto
SDS	Sodio dodecil sulfato
SEC	Cromatografía de exclusión por tamaño
SEM	Microscopía electrónica de barrido
TFF	Filtración tangencial
UF	Ultrafiltración

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abrabri M, Larbot A, Persia M, Sarrazin J, Rafia M y Cot L (1998). Potassium titanyl phosphate membranes: surface properties and application to ionic solution filtration. *J. Membrane Sci.* 139, 275-283.
- Aimar P, Baklouti S y Sánchez V (1986). Membrane-solute interactions: influence on pure solvent transfer during ultrafiltration. *J. Membrane Sci.* 29, 207-224.
- Al-Bakeri F y El-Hares H (1993). Experimental optimization of sponge ball clearing system operation in Umm Al Nar MSF desalination plants. *Desalination* 94, 133-150.
- Anderson J L y Quinn J A (1974). Restricted transport in small pores: a model for steric exclusion and hindered particle motion. *Biophys. J.* 14, 130-150.
- Atkins P W (1991). Fisicoquímica. Addison-Wesley Iberoamericana. Wilmington, EE. UU.
- Babu P R y Gaikar V G (2001). Membrane characteristics as determinant in fouling of UF membranes. *Sep. Purif. Technol.* 24, 23-34.
- Barba D, Evangelista F, Wang H y Spera D (1997). The effects of osmotic pressure and fouling during a concentration process of BSA solutions by ultrafiltration. *Desalination* 114, 183-188.
- Barone G, Giancola C y Verdoliva A (1992). DSC studies on the denaturation and aggregation of serum albumins. *Thermochimica Acta* 199, 197-205.
- Bellara S R y Cui Z F (1998). A Maxwell-Stefan approach to modelling the cross-flow ultrafiltration of protein solutions in tubular membranes. *Chem. Eng. Sci.* 12, 2153-2166.
- Benavente J y Jonson G (1998). Effect of adsorbed protein on the hydraulic permeability, membrane and streaming potential values measured across a microporous membrane. *Colloid Surface A* 138, 255-264.
- Benito J M, Conesa A, Rubio F y Rodríguez M A (2005). Preparation and characterization of tubular ceramic membranes for treatment of oil emulsions. *J. Eur. Ceram. Soc.* 25, 1895-1903.

- Bennett C y Myers J (1982). Momentum heat and mass transfer, pp. 560-587. McGraw-Hill. New York, EE. UU.
- Blanpain P y Lalande M (1997). Investigation of fouling mechanisms governing permeate flux in the crossflow microfiltration of beer. *Filtr. Separat.* 34, 1065-1069.
- Bowen W R y Hughes D T (1990). Properties of microfiltration membranes. Part 2. Adsorption of bovine serum albumin at aluminium oxide membranes. *J. Membrane Sci.* 51, 189-200.
- Bowen W R y Gan Q (1991). Properties of microfiltration membranes: flux loss during constant pressure permeation of bovine serum albumin. *Biotechnol. Bioeng.* 38, 689-696.
- Bowen W R, Calvo J I y Hernández A (1995). Steps of membrane blocking in flux decline during protein microfiltration. *J. Membrane Sci.* 101, 153-165.
- Brown J R (1975). Structure of bovine serum albumin. *Fed. Proc.* 34, 591-591.
- Bungay P M y Brenner H (1973). The motion of a closely fitting sphere in a fluid-filled tube. *Int. J. Multiphas. Flow* 1, 25-56.
- Burns D G y Zydney A L (1999). Effect of solution pH on protein transport through ultrafiltration membranes. *Biotechnol. Bioeng.* 64, 27-37.
- Burns D G y Zydney A L (2001). Contributions to electrostatic interactions on protein transport in membrane systems. *AIChE J.* 47, 1101-114.
- Cabero M L, Riera F A y Álvarez R (1999). Rinsing of ultrafiltration ceramic membranes fouled with whey proteins: effects on cleaning procedures. *J. Membrane Sci.* 154, 239-250.
- Carter D C y Ho J X. (1994). Structure of serum albumin. *Adv. Protein Chem.* 45, 153-203.
- Causerrand C, Nyström M y Aimar P (1994). Study of streaming potentials of clean and fouled ultrafiltration membranes. *J. Membrane Sci.* 88, 211-222.

- Cheang B y Zydney A L (2003). Separation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin using membrane ultrafiltration. *Biotechnol. Bioeng.* 83, 201-209.
- Cherkasov A N y Polotsky A E (1996). The resolving power of ultrafiltration. *J. Membrane Sci.* 110, 79-82.
- Cheryan M (1998). Ultrafiltration and microfiltration handbook. Technomic Publishing. Lancaster, EE. UU.
- Chilukuri V V S, Marshall A D, Munro P A y Singh H (2001). Effect of sodium dodecyl sulphate and cross-flow velocity on membrane fouling during cross-flow microfiltration of lactoferrin solutions. *Chem. Eng. Process.* 40, 321-328.
- Christy C, Adams G, Kuriyel R, Bolton G y Seilly A (2002). High-performance tangential flow filtration: a highly selective membrane separation process. *Desalination* 144, 133-136.
- Da Costa A R, Fane A G y Wiley D E (1994). Spacer characterization and pressure drop modelling in spacer-filled channels for ultrafiltration. *J. Membrane Sci.* 87, 79-98.
- Deen W M (1987). Hindered transport of large molecules in liquid-filled pores. *AIChE J.* 33, 1409-1425.
- Deissler R (1961). Analysis of turbulent heat transfer, mass transfer and friction in smooth tubes at high Prandtl and Schmidt numbers. En *Advances in heat and mass transfer*. Harnett J P, (Ed.). McGraw-Hill. New York, EE. UU.
- Fane A G, Fell C J D y Suki A (1983). The effect of pH and ionic environment on the ultrafiltration of protein solutions with retentive membranes. *J. Membrane Sci.* 16, 195-210.
- Field R W, Wu D, Howell J A y Gupta B B (1995). Critical flux concept for microfiltration fouling. *J. Membrane Sci.* 100, 259-272.
- Field R W (1996). *Industrial membrane separation technology*. Scott K y Hughes R (Ed.). Blackie Academic. London, Reino Unido.

- Filipe C D M y Ghosh R (2005). Effects of protein–protein interaction in ultrafiltration based fractionation processes. *Biotechnol. Bioeng.* 91, 678-687.
- Foster J F (1960). En *The plasma proteins* (Vol. 1, pp. 179-239). Putnam F W (Ed.). Academic Press. New York, EE. UU.
- Foster J F (1977). En *Albumin structure, function and uses* (53-84). Rosenoer V M, Oratz M y Rothschild M A (Ed.). Pergamon. Oxford, Reino Unido.
- Franklin C J, Martínez F, Borroto J, López L y Sánchez R (1989). Patente CU 22269 A1. Recobrado de uranilo de agua de mar y las salmueras.
- Geisow M J y Beaven G H (1977). Physical and binding properties of large fragments of human serum albumin. *Biochem J.* 163, 477-484.
- Gekas V y Hallstrom B (1987). Mass transfer in the membrane concentration polarization layer under turbulent cross flow : I. Critical literature review and adaptation of existing Sherwood correlations to membrane operations. *J. Membrane Sci.* 30, 153-170.
- Ghosh R y Cui Z F (1998). Fractionation of BSA and lysozyme using ultrafiltration: effect of pH and membrane pretreatment. *J. Membrane Sci.* 139, 17-28.
- Ghosh R y Cui Z F (2000). Analysis of protein transport and polarization through membranes using pulsed sample injection technique. *J. Membrane Sci.* 175, 75-84.
- Ghosh R (2003). *Protein bioseparation using ultrafiltration: theory, applications and new developments*. Imperial College Press/World Scientific Publishing Pte Ltd. London, Reino Unido.
- Ghosh R, Wan Y, Cui Z F y Hale G (2003). Parameter scanning ultrafiltration. Rapid optimisation of protein separation. *Biotechnol. Bioeng.* 81, 673-682.

- Ghosh R (2004). Separation of human albumin and IgG by a membrane-based integrated bioseparation technique involving simultaneous precipitation, microfiltration and membrane adsorption. *J. Membrane Sci.* 237, 109–117.
- Grober H, Erk S y Grigoll V (1961). Fundamentals of heat transfer. McGraw-Hill. New York, EE. UU.
- Hallstrom B y López-Levia M (1978). Description of a rotating ultrafiltration module. *Desalination* 24, 273-279.
- Hanemaaijer J H, Robbertsen T, Van den Boomgaard T y Gunnik J W (1989). Fouling of ultrafiltration membranes. The role of protein adsorption and salt precipitation. *J. Membrane Sci.* 40, 199-217.
- Hermia J (1982). Constant pressure blocking filtration laws -application to power-law non-Newtonian fluids. *Trans. Inst. Chem. Eng.* 60, 183-187.
- Herrero C, Prádanos P, Calvo J I, Tejerina F y Hernández A (1997). Flux decline in protein microfiltration: influence of operative parameters. *J. Colloid Interf. Sci.* 187, 344-351.
- Hildebrandt J R (1991). Chromatographic and membrane processes in biotechnology. Costa C A y Cabral J S (Ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht , Holanda.
- Hirayama K, Akashi S, Furuya M y Fukuhara K I (1990). Rapid confirmation and revision of the primary structure of bovine serum albumin by ESIMS and FRIT-FAB LC/MS. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 173, 639-646.
- Ho C C y Zydney A L (1999). Effect of membrane morphology on the initial rate of protein fouling during microfiltration. *J. Membrane Sci.* 155, 261-275.
- Holeschovsky U B y Cooney C L (1991). Quantitative description of ultrafiltration in a rotating filtration device. *AICHE J.* 37, 1219-1226.

- Howell J A, Wu D y Field R W (1999). Transmission of bovine serum albumin under controlled flux-ultrafiltration. *J. Membrane Sci.* 152, 117-127.
- Huisman I H, Prádanos P y Hernández A (2000). The effect of protein-protein and protein-membrane interactions on membrane fouling in ultrafiltration. *J. Membrane Sci.* 179, 79-90.
- Hunter R J (1981). Zeta-potential in colloid science. Principles and applications. Academic Press. New York, EE. UU.
- Iritani E, Tachi S y Murase T (1994). Influence of protein adsorption on flow resistance of microfiltration membrane. *Colloid Surface A* 89, 15-22.
- Iritani E, Mukai Y y Murase T (1997). Separation of binary protein mixtures by ultrafiltration. *Filtr. Separat.* 34, 967-973.
- Jaffrin M Y, Ding L H, Couvreur C y Khari P (1997). Effect of ethanol on ultrafiltration of bovine albumin solutions with organic membranes. *J. Membrane Sci.* 124, 233-241.
- Jiraratananon R y Chanachai A (1996). A study of fouling in the ultrafiltration of passion fruit juice. *J. Membrane Sci.* 111, 39-48.
- Jones K L y O'Melia C R (2000). Protein and humic acid adsorption onto hydrophilic membrane surfaces: effects of pH and ionic strength. *J. Membrane Sci.* 165, 31-46.
- Jones K L y O'Melia C R (2001). Ultrafiltration of protein and humic substances: effect of solution chemistry on fouling and flux decline. *J. Membrane Sci.* 193, 163-173.
- Judkins R R y Bischoff B L (2003). Development of porous inorganic membranes for gas separations. *17th Annual Conference on Fossil Energy Materials*. Baltimore, EE. UU.
- Kanal K M, Fullerton G D y Cameron I L (1994). A study of the molecular sources of non-ideal osmotic pressure of bovine serum albumin solutions as a function of pH. *Biophysical Journal* 66, 153-160.

- Kanani D M, Ghosh R y Filipe C D M (2004). A novel approach for high-resolution protein–protein separation by ultrafiltration using a dual-facilitating agent. *J. Membrane Sci.* 243, 223-228.
- Katchalski E, Benjamin G S y Gross V (1957). The availability of the disulfide bonds of human and bovine serum albumin and of bovine gamma-globulin to reduction by thioglycolic acid. *J. Am. Chem. Soc.* 79, 4096-4099.
- Kedem O y Katchalsky A (1958) Thermodynamic analysis of permeability of biological membranes to non-electrolytes. *Biochim. Biophys. Acta* 27, 229-246.
- Kelley B D (2001). Biochemical engineering. Bioprocessing of therapeutic proteins. *Curr. Opin. Biotech.* 12, 173-174.
- Kelly S T y Zydney A L (1995). Mechanisms for BSA fouling during microfiltration. *J. Membrane Sci.* 107, 115-127.
- Kelly S T y Zydney A L (1997). Protein fouling during microfiltration: comparative behavior of different model proteins. *Biotechnol. Bioeng.* 55, 91-100.
- Khan M Y (1986). Direct evidence for the involvement of domain III in the N-F transition of bovine serum albumin. *Biochem. J.* 236, 307-310.
- Knights R J (1985). Processing and evaluation of the antigenicity of protein hydrolysates. En Nutrition for station needs in infance protein hydrolsates (Cap. 8, pp. 105-115). Lisshlpz F (Ed.)
- Kuberkar V T y Davis R H (1999). Effects of added yeast on protein transmission and flux in cross-flow membrane filtration. *Biotechnol. Progr.* 15, 472-479.
- Kuznetsow A N, Ebert B, Lassmann G, y Shapiro A B (1975). Adsorption of small molecules to bovine serum albumin studied by the spin-probe method. *Biochim. Biophys. Acta* 379, 139-146.

- Larive C K, Lunte S M, Zhong M, Perkins M D, Wilson G S, Gokulrangan G, Williams T, Afroz F, Schöneich C, Derrick T S, Middaugh C R y Bogdanowich-Knipp S (1999). Separation and analysis of peptides and proteins. *Anal. Chem.* 71, 389R-423R.
- Le Berre O y Daufin G (1998). Microfiltration (0.1 μm) of milk: effect of protein size and charge. *J. Dairy Research* 65, 443-455.
- Leveque M D (1928). Les lois de la transmission de chaleur par convection. *Ann. Mines* 13, 201-299.
- Levi V y González Flecha F L (2002). Reversible fast-dimerization of bovine serum albumin detected by fluorescence resonance energy transfer. *Biochim. Biophys. Acta* 1599, 141-148.
- Lin V J C y Koenig J L (1976). Raman studies of bovine serum albumin. *Biopolymers* 15, 203-218.
- Lucas D, Rabiller-Baudry M, Michel F y Chaufer B (1998). Role of physico-chemical environment on ultrafiltration of lysozyme with modified inorganic membrane. *Colloid Surface A* 136, 109-122.
- Magueijo V, Semião V y de Pinho M N (2005). Fluid flow and mass transfer modelling in lysozyme ultrafiltration. *Int. J. Heat Mass Transfer* 48, 1716-1726.
- Marchese J, Ponce M, Ochoa N A, Prádanos P, Palacio L y Hernández A (2003). Fouling behaviour of polyethersulfone UF membranes made with different PVP. *J. Membrane Sci.* 211, 1-11.
- Marshall A D, Munro P A y Tragardh G (1993). The effect of protein fouling in microfiltration and ultrafiltration on permeate flux, protein retention and selectivity: a literature review. *Desalination* 91, 65-108.
- Marshall A D, Munro P A y Tragardh G (1997). Influence of permeate flux on fouling during the microfiltration of β -lactoglobulin solutions under cross-flow conditions. *J. Membrane Sci.* 130, 23-30.

- McGillivray R T A, Chung D W y Davie E W (1979). Biosynthesis of bovine plasma proteins in a cell-free system. Amino-terminal sequence of prealbumin. *Eur. J. Biochem.* 98, 477-485.
- Mehra R K y Donnelly W J (1993). Fractionation of whey protein components through a large pore size, hydrophilic, cellulosic membrane. *J. Dairy Sci.* 60, 89-97.
- Mehta A y Zydney A L (2006). Effect of membrane charge on flow and protein transport during ultrafiltration. *Biotechnol. Progr.* 22, 484-492.
- Menon M y Zydney A L (1999). Effect of ion binding on protein transport through ultrafiltration membranes. *Biotechnol. Bioeng.* 63, 298-307.
- Millesime L, Dulieu J y Chaufer B (1995). Protein retention with modified and unmodified inorganic ultrafiltration membranes: model of ionic strength controlled retention. *J. Membrane Sci.* 108, 143-159.
- Mochizuki S y Zydney A L (1993). Sieving characteristics of albumin deposits formed during microfiltration. *J. Colloid. Interf. Sci.* 158, 136-145.
- Möckel D, Staude E y Guiver M D (1999). Static protein adsorption, ultrafiltration behavior and cleanability of hydrophilized polysulfone membranes. *J. Membrane Sci.* 158, 63-75.
- Mulder M (1991). *Basic Principles of Membrane Technology*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Holanda.
- Mullet M, Fievet P, Szymczyk A, Foissy A, Reggiani J C y Pagetti J (1999). A simple and accurate determination of the point of zero charge of ceramic membranes. *Desalination* 121, 41-48.
- Musale D A y Kulkarni S S (1996). Fouling reduction in poly(acrylonitrile-co-acrylamide) ultrafiltration membranes. *J. Membrane Sci.* 111, 49-56.
- Musale D A y Kulkarni S S (1997). Relative rates of protein transmission through poly(acrylonitrile) based ultrafiltration membranes. *J. Membrane Sci.* 136, 13-23.

- Nakanishi K y Kessler K G (1985). Rinsing behaviour of deposited layers formed on membranes in ultrafiltration. *J. Food Sci.* 50, 1726-1731.
- Nakao S, Osada H, Kurata H, Tsuru T y Kimura S (1988). Separation of proteins by charged ultrafiltration membranes. *Desalination* 70, 191-205.
- Nakatsuka S y Michaels A S (1992). Transport and separation of proteins by ultrafiltration through sorptive and non-sorptive membranes. *J. Membrane Sci.* 69, 189-211.
- Noordman T R, Ketelaar T H, Donkers T H y Wesselingh J A (2002). Concentration and desalination of protein solutions by ultrafiltration. *Chem. Eng. Sci.* 57, 693-703.
- Nyström M (1989). Fouling of unmodified and modified polysulfone ultrafiltration membranes by ovoalbumin. *J. Membrane Sci.* 44, 183-196.
- Nyström M, Pihlajamäki A y Ehsani N (1994). Characterization of ultrafiltration membranes by simultaneous streaming potential and flux measurements. *J. Membrane Sci.* 87, 245-256.
- Nyström M, Aimar P, Luque S, Kulovaara M y Metsämuuronen S (1998). Fractionation of model proteins using their physicochemical properties. *Colloids Surf., A* 138, 185-205.
- Oakes J (1976). Thermally denatured proteins. *J. Chem. Soc. Faraday I* 72, 228-237.
- Opong W S y Zydney A L (1991). Hydraulic permeability of protein layers deposited during ultrafiltration. *J. Colloid. Interf. Sci.* 142, 41-60.
- Oppenheim S F, Phillips C B y Rodgers V G J (1996). Analysis of initial protein surface coverage on fouled ultrafiltration membranes. *J. Colloid Interf. Sci.* 184, 639-651.
- Ousman M y Bennasar M (1995). Determination of various hydraulic resistances during cross-flow filtration of starch grain suspension through inorganic membranes. *J. Membrane Sci.* 105, 1-21.
- Pafylas I, Cheryan M, Mehiaia M A y Saglam N (1996). Microfiltration of milk with ceramic membranes. *Food Research Int.* 29, 141-146.

- Palacio L (1999). Caracterización estructural y superficial de membranas microporosas. Tesis doctoral. Universidad de Valladolid.
- Palacio L, Ho C C y Zydney A L (2002). Application of a pore-blockage - cake-filtration model to protein fouling during microfiltration. *Biotechnol. Bioeng.* 79, 260-270.
- Palecek S P y Zydney A L (1994a). Hydraulic permeability of protein deposits formed during microfiltration: effect of pH and ionic strength. *J. Membrane Sci.* 95, 71-81.
- Palecek S P y Zydney A L (1994b). Intermolecular electrostatic interactions and their effect on flux and protein deposition during protein filtration. *Biotechnol. Progr.* 10, 207-213.
- Patterson J E, y Geller D M (1977). Bovine microsomal albumin: amino terminal sequence of bovine proalbumin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 74, 1220-1226.
- Persson A, Jönsson A S y Zacchi G (2003). Transmisión de BSA durante cross-flow microfiltration: influencia de pH y concentración de sal. *J. Membrane Sci.* 223, 11-21.
- Peters T (1985). Serum albumin. *Adv. Protein Chem.* 37, 161-245.
- Perry R H y Green D W (1997). Perry's Chemical Engineering Handbook (7th Edition). Mc Graw-Hill. New York, EE. UU.
- Poole S, West S I y Fry J C (1987). Efectos de proteínas básicas en la denaturación y coagulación de proteínas ácidas. *Food Hydrocolloids* 1, 301-316.
- Porter M C (1972). Concentration polarization with membrana filtración. *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Develop.* 11, 235-248.
- Pujar N S y Zydney A L (1994). Interacciones electrostáticas y electrocinéticas durante el transporte de proteínas a través de membranas de poros estrechos. *Ind. Eng. Chem. Res.* 33, 2473-2482.
- Pujar N S y Zydney A L (1998). Efectos electrostáticos en la partición de proteínas en cromatografía de exclusión por tamaño y ultrafiltración de membrana. *J. Chromatogr. A* 796, 229-238.

- Punidades P y Rizvi S S H (1998). Separation of milk proteins into fractions rich in casein or whey proteins by cross flow filtration. *Food Res. Int.* 31, 265-272.
- Rabiller-Baudry M, Chaufer B, Aimar P, Bariou B y Lucas D (2000). Application of a convection-diffusion-electrophoretic migration model to ultrafiltration of lysozyme at different pH values and ionic strengths. *J. Membrane Sci.* 179, 163-174.
- Rabiller-Baudry M, Chaufer B, Lucas D y Michel F (2001). Ultrafiltration of mixed protein solutions of lysozyme and lactoferrin: role of modified inorganic membranes and ionic strength on the selectivity. *J. Membrane Sci.* 184, 137-148.
- Rao S y Zydney A L (2005). Controlling protein transport in ultrafiltration using small charged ligands. *Biotechnol. Bioeng.* 91, 733-742.
- Reed R G, Putnam F W y Peters T Jr (1980). Sequence of residues 400-403 of bovine serum albumin. *Biochem. J.* 191, 867-868.
- Richter W V, Jacob B y Schwandt P (1983). Molecular weight determination of peptides by high performance gel chromatography. *Anal. Biochem.* 133, 265-272.
- Ricq L, Pierre A, Reggiani J C, Zaragoza-Piqueras S, Pagetti J y Daufin G (1996). Effects of proteins on electrokinetic properties of inorganic membranes during ultra- and micro-filtration. *J. Membrane Sci.* 114, 27-38.
- Ricq L, Narçon S, Reggiani J C y Pagetti J (1999). Streaming potential and protein transmission ultrafiltration of single proteins and proteins in mixture: β -lactoglobulin and lysozyme. *J. Membrane Sci.* 156, 81-96.
- Robertson G H, Olieman J J y Farkas D F (1982). *AIChE Symp. Ser.* 78 (218), 132.
- Ruegg M, Moor U y Blanc B (1977). A calorimetric study of the thermal denaturation of whey proteins in simulated milk ultrafiltrate. *J. Dairy Res.* 44, 509-520.

- Russotti G y Göklen K E (2001). Crossflow membrane filtration of fermentation broth. En *Membrane separations in biotechnology*. Marcel Dekker, Inc. New York, EE. UU.
- Saksena S y Zydney A L (1994). Effect of solution pH and ionic strength on the separation of albumin from immunoglobulins (IgG) by selective filtration. *Biotechnol. Bioeng.* 43, 960-968.
- Salgin S, Takaç S, y Özdamar T H (2005). A parametric study on protein-membrane-ionic environment interactions for membrane fouling. *Separ. Sci. Technol.* 40, 1191–1212.
- Shao J y Zydney A L (2004). Retention of small charged impurities during ultrafiltration. *Biotechnol. Bioeng.* 87, 7-13.
- Shukla R, Balakrishnan M y Agarwal G P (2000). Bovine serum albumin-hemoglobin fractionation: significance of ultrafiltration system and feed solution characteristics. *Bioseparation* 9, 7-19.
- Singh N (1997). Microfiltration of corn hydrolysate using ceramic membranes. Tesis doctoral. University of Illinois at Urbana-Champaign, EE. UU.
- Sirkar K K (2001). Application of membrane technologies in the pharmaceutical industry. *Innovation in pharmaceutical manufacturing: a symposium honouring Dr. Ed Pau*. Nevada, EE. UU.
- Smith K A, Colton C K, Merrill E W y Evans L B (1968). Convective transport in batch dialyzer: determination of the true membrane permeability from a single measurement. *AIChE Symp. Ser.* 64, 45-.
- Smith F G y Deen W M (1980). Electrostatic double-layer interactions for spherical colloids in cylindrical pores. *J. Coll. Interf. Sci.* 78, 444–465.
- Su T J, Lu J R, Cui Z F, Bellhouse B J, Thomas R K y Heenan R K (1999). Identification of the location of protein fouling on ceramic membranes under dynamic filtration conditions. *J. Membrane Sci.* 163, 265-275.

- Su T J, Lu J R, Cui Z F y Thomas R K (2000). Fouling of ceramic membranes by albumins under dynamic filtration conditions. *J. Membrane Sci.* 173, 167-178.
- Tansel B, Bao W Y y Tansel I N (2000). Characterization of fouling kinetics in ultrafiltration systems by resistances in series model. *Desalination* 129, 7-14.
- Thiel S W y Lloyd D R (1988). Application of the Stefan-Maxwell equations to the pressure-driven membrane separation of dilute multicomponent solutions of non electrolytes. *J. Membrane Sci.* 37, 233-249.
- Thomassen J K, Faraday D B F, Underwood B O y Cleaver J A S (2005). The effect of varying transmembrane pressure and crossflow velocity on the microfiltration fouling of a model beer. *Sep. Purif. Technol.* 41, 91-100.
- Timmer J M K, Kromkamp J y Robbertsen T (1994). Lactic acid separation from fermentation broths by reverse osmosis and nanofiltration. *J. Membrane Sci.* 92, 185-197.
- Van Eijndhoven R H C M, Saksena S y Zydney A L (1995). Protein fractionation using electrostatic interactions in membrane filtration. *Biotechnol. Bioeng.* 48, 406-414.
- Van Reis R, Gadam S, Frautschy L N, Orlando S, Goodrich E M, Saksena S, Kuriyel R, Simpson C M, Pearl S y Zydney A L (1997). High performance tangential flow filtration. *Biotechnol. Bioeng.* 56, 71-82.
- Van Reis R, Brake J M, Charkoudian J, Burns D B y Zydney A L (1999). High-performance tangential flow filtration using charged membranes. *J. Membrane Sci.* 159, 133-142.
- Van Reis R y Zydney A L (2001). Membrane separations in biotechnology. *Curr. Opin. Biotech.* 12, 208-211.
- Velasco C, Ouammou M, Calvo J I y Hernández A (2003). Protein fouling in microfiltration: deposition mechanism as a function of pressure for different pH. *J. Colloid Interf. Sci.* 266, 148-152.

- Vilker V L , Colton C K y Smith A (1981). The osmotic pressure of concentrated protein solutions: effect of concentration and pH in saline solutions of bovine serum albumin. *J. Colloid Interf. Sci.* 79, 548-566.
- Wan Y, Ghosh R, Hale G y Cui Z F (2005). Fractionation of bovine serum albumin and monoclonal antibody alemtuzumab using carrier phase ultrafiltration. *Biotechnol. Bioeng.* 90, 303-315.
- Wetzel R, Becker M, Behlke J, Billwitz H, Bohm S, Ebert B, Hamann H, Krumbiegel J y Lasmann G (1980). Temperature behaviour of human serum albumin. *Eur. J. Biochem.* 104, 469-478.
- Young M E, Carroad P A y Bell R L (1980). Estimation of diffusion coefficients of proteins. *Biotech. Bioeng.* 22, 947-955.
- Zeman L J y Zydney A L (1996). Microfiltration and ultrafiltration. Marcel Dekker, Inc. New York, EE. UU.
- Zydney A L, Aimar P, Meireles M, Pimbley J M y Belfort G (1994). Use of the log-normal probability density function to analyse membrane pore size distributions: functional foams and discrepancies. *J. Membrane Sci.* 91, 293-298.
- Zydney A L (1998). Proteins separations using membrane filtration: new opportunities for whey fractionation. *Int. Dairy J.* 8 , 243-250.

