

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**COLEGIO DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS**



**EVALUACIÓN DE MEMBRANAS A BASE DE QUITOSANO PARA LA  
PURIFICACIÓN DE PROTEÍNAS**

**TESIS PROFESIONAL**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**PRESENTA  
CELESTE SOLÍS MARTÍNEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:  
DR. JOSÉ ALBERTO GALICIA AGUILAR**

**CO-DIRECTOR:  
M. C. JUANA DEISY SANTAMARÍA JUÁREZ**

Noviembre 2015

---

## **Dedicatorias**

Dedico este trabajo a todos mis seres queridos que han estado conmigo a lo largo de mi vida que me han brindado su apoyo, cariño y comprensión,

A mi madre, por apoyarme y motivarme en todos los aspectos de mi vida, por su cariño, por su amor, y por su entrega como madre, por siempre enseñarme a ir hacia adelante y luchar por lo que quiero, por todo tu apoyo y sobre todo por los esfuerzos que has hecho para que salgamos adelante.

A mi padre, por todo su esfuerzo y trabajo que valoro con todo mi corazón, y sobre todo por enseñarme a ser una persona responsable.

A mi hermana, por ser un gran ejemplo en mi vida, por enseñarme a no darme por vencida, por cuidarme, y entenderme, por siempre ser una amiga en mi vida y darme buenos consejos, por guiarme y siempre querer lo mejor para mí, por todo eso y mucho más, ¡gracias!.

A Ricardo, por apoyarme, comprenderme, por cuidarme y preocuparte por mí, por toda tu paciencia en esos días difíciles, por todo el amor y cariño que me has dado durante todo este tiempo, por animarme, por no dejar de creer en mí, hasta en esos momentos en que ni yo misma creía en mí, porque sabes que somos un equipo y este logro no es solo mío sino de los dos.

A mis amigos Alejandro, Lola, Alexa y Oscar por hacer me pasar momentos de diversión y alegría, por animarme, y por mostrarme que lo más valioso de la vida son esos pequeños momentos de convivencia, porque más que mis amigos saben que son mi familia.

---

## **Agradecimientos**

- Dr. José Alberto Galicia Aguilar por permitirme ser parte de su equipo de trabajo, por ayudarme y asesorarme en la realización de este trabajo, por ampliar mis conocimientos en el ámbito de ingeniería y prepararme para ser una mejor persona en el ambiente profesional.
- M. C. Juana Deisy Santamaría Juárez, por sus aportaciones en la realización de este trabajo y por su apoyo para el uso de equipo necesario para las caracterizaciones.
- M.E.S. Maribel López Badillo, por leer, corregir, y brindar observaciones al trabajo realizado y sobre todo por su apoyo personal.
- M.E.S. Monserrat Gonzales Limón por sus aportaciones al revisar y leer esta tesis, y por su ayuda para el análisis realizado en el equipo lactoscan.
- A la Vicerrectoría de Estudios de Posgrado por el apoyo brindado mediante beca para la realización de este trabajo, como parte del proyecto VIEP/2015/ 00484: “Síntesis y evaluación de adsorbentes altamente reticulados”
- Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) por ser mi casa de estudios y formarme como profesionista.

---

## **Resumen**

Se sintetizaron una serie de membranas a base de quitosano adicionando glicerina al medio de homogenización. Las membranas fueron reticuladas mediante inmersión en una solución reticulante, y caracterizadas mediante diferentes técnicas, para determinar el efecto de la adición de la glicerina como plastificante. Las membranas mostraron una mayor maleabilidad cuando se usa el plastificante en el medio de homogenización. Experimentos de permeación de NaCl, sacarosa y un lactosuero, mostraron que la mayor concentración de plastificante permite incrementar la permeabilidad de las membranas. Las membranas presentan características estructurales heterogéneas, como resultado de la adición del plastificante y de la reticulación química, como se pudo determinar, mediante las mediciones de calorimetría diferencial de barrido.

---

## Índice

### Contenido

INTRODUCCIÓN .....	i
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	ii
JUSTIFICACIÓN .....	iii
OBJETIVO.....	iv
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	iv
HIPÓTESIS .....	iv
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Clasificación de las membranas .....	1
1.2 Membranas poliméricas .....	1
1.3 Métodos de preparación de membranas poliméricas .....	2
1.3.1 Método de inversión de fase .....	2
1.3.1.1. Precipitación por inversión.....	3
1.3.1.2. Precipitación por evaporación controlada .....	4
1.3.1.3. Precipitación térmica .....	4
1.4 Técnicas de caracterización de membranas .....	4
1.5 Separación por membranas .....	6
1.6 Aplicación de las membranas en la industria alimentaria .....	7
1.7 Quitosano .....	8
1.8 Membranas de quitosano.....	9
1.9 Modificación química por reticulación .....	10
1.10 ANTECEDENTES .....	11
CAPÍTULO II.....	15
Metodología Experimental .....	15
2.1 Reactivos y disolventes.....	15
2.2 Disolución del quitosano.....	15

---

2.3	Viscosidad de la solución.....	15
2.4	Formación de membranas .....	17
2.5	Reticulación química de las membranas .....	17
2.6	Caracterización de las membranas.....	17
2.7	Determinación de permeabilidad.....	18
2.8	Cálculo de la permeabilidad .....	19
2.9	Análisis de muestras .....	20
CAPÍTULO III .....		21
RESULTADOS .....		21
3.1	Viscosidad de la solución.....	21
3.2	Hinchamiento .....	22
3.3	Espectrofotometría de IR .....	23
3.4	Caracterización mediante análisis térmicos .....	25
3.5	Permeación con NaCl .....	28
3.5.1	Análisis cinético.....	29
3.5.2	Cálculo de la permeabilidad .....	32
3.6	Permeación con Sacarosa.....	34
3.7	Permeación con Lactosuero.....	35
Conclusiones.....		37
BIBLIOGRAFÍA .....		38

---

## INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de productos alimenticios de calidad hace que se desarrollen nuevas técnicas de separación de los intermediarios usados en la elaboración de productos finales. La tecnología de membranas puede ser usada en la separación de diferentes moléculas, garantizando la calidad de los productos. Lo anterior es posible dado que el principio de la separación en la tecnología de membranas es por exclusión del tamaño de los penetrantes, donde adicionalmente, la fuerza impulsora es un gradiente de presión o concentración, principalmente. Las membranas a base de quitosano presentan grandes ventajas frente a las membranas sintéticas, precisamente dado su carácter biodegradable.

Con objeto de reforzar la estructura de las membranas de quitosano, se han realizado diversas investigaciones para adicionar grupos funcionales, o reticular la estructura de las membranas. La reticulación química es una de las vías más prometedoras en cuanto al control de los parámetros estructurales de las membranas a base de quitosano. Por un lado refuerza la estructura de la membrana, y por otro lado, reduce el tamaño de los intersticios de las membranas permitiendo incrementar la selectividad de las mismas.

No obstante, determinar las condiciones de formación, modificación y las características de permeabilidad de las membranas a base de quitosano es un tema fundamental para el desarrollo de la tecnología. Muchas aplicaciones pueden visualizarse con este tipo de membranas, empero es necesario determinar las condiciones de operación y las características de la separación de diferentes penetrantes.

En este trabajo realizamos la síntesis de una serie de membranas a base de quitosano, agregando diferentes cantidades de glicerina en el medio de homogenización para incrementar la maleabilidad de las membranas. Las membranas fueron evaluadas en la permeación de NaCl, sacarosa y un lactosuero.

---

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La purificación de materias primas y productos en las industrias alimentarias es un tema prioritario, dado que se invierten muchos recursos en la modificación de propiedades fisicoquímicas y organolépticas, como el sabor, olor, apariencia, entre otras. Los productos alimentarios se ven sometidos a condiciones drásticas de presión, temperatura o ambas, durante el procesamiento, donde se deterioran principalmente las propiedades organolépticas. Por ejemplo, durante la pasteurización, las altas temperaturas a las que se somete el alimento, llegan a deteriorar las proteínas, así como modificar su sabor o su composición, afectando moléculas de gran tamaño, responsables de altos valores de turbidez y precipitados en el alimento.

Una alternativa viable para tratar materias primas usadas en ingeniería de alimentos es el uso de membranas poliméricas en los procesos de separación, un ejemplo son, las membranas a base de quitosano. Este tipo de membranas pueden formarse mediante el método de evaporación de la solución a temperatura controlada. No obstante, existen diversos parámetros que deben tomarse en cuenta para controlar las características físicas de la membrana formada, como son la cantidad de polímero que a su vez define el porcentaje en sólidos de la membrana. Otras variables son el pH de disolución, el peso molecular del quitosano, el grado de desacetilación del quitosano (DD), la temperatura de secado, principalmente.

En este trabajo realizamos la preparación de membranas a base de quitosano comercial, la modificación química y la evaluación en la permeabilidad en fase acuosa a NaCl, sacarosa y un lactosuero.

---

## JUSTIFICACIÓN

El quitosano es un polímero natural que presenta varias aplicaciones en el campo de la tecnología debido a sus características químicas y físicas. El quitosano posee propiedades únicas que lo hacen un compuesto ideal para el desarrollo de membranas que pueden ser usadas en aplicaciones de procesamiento de alimentos. El quitosano es un agente antimicrobiano, ya que presenta una baja toxicidad, con un DL 50 (abreviatura de Dosis Letal, 50%) =  $16 \text{ mL.kg}^{-1}$ , que lo sitúa en un nivel similar al azúcar y lo hace menos tóxico que la sal.

Las membranas con quitosano se caracterizan por su carácter hidrófobo, su biocompatibilidad con sistemas orgánicos, su biodegradabilidad, su afinidad a proteínas, así como su habilidad para la formación de películas de alta resistencia mecánica y permeabilidad molecular.

Las membranas de quitosano pueden ser usadas en la recuperación de trazas de proteínas que se encuentran en desechos alimenticios y que pueden ser usadas en la reformulación de nuevos complementos alimenticios. La separación de proteínas es un proceso altamente demandado en la industria de los alimentos, por lo que requiere del desarrollo de materiales y procedimientos que permitan obtener productos de alta calidad.

---

## **OBJETIVO**

Sintetizar y caracterizar membranas densas a base de quitosano, y evaluar su capacidad para separar moléculas de interés en la preparación/conserva de alimentos, mediante la permeación en fase líquida.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar las condiciones de preparación de membranas densas.

Realizar la modificación química de las membranas mediante reticulación química.

Caracterizar las membranas en cada una de las etapas de formación y modificación, mediante técnicas espectroscópicas y sus propiedades fisicoquímicas como densidad, viscosidad e hinchamiento.

Evaluar la permeabilidad de las membranas a base de quitosano a moléculas como NaCl, sacarosa y un lactosuero.

## **HIPÓTESIS**

La adición de un plastificante como la glicerina, modifica las características texturales de membranas a base de quitosano. Así, la permeabilidad a moléculas de diferente tamaño cambia con el incremento en la concentración de plastificante, como el factor de hinchamiento, la viscosidad de la solución precursora y la movilidad de las cadenas que se refleja en la temperatura de transición vítrea.

### CAPÍTULO I

#### MARCO TEÓRICO

El uso de membranas en la industria es una tecnología reciente y con poco campo de estudio. Aún hoy en día es difícil encontrar una definición concluyente de membrana que proporcione una idea clara de aquello a lo que nos referimos. Esto deriva de la gran variedad morfológica, estructural y de composición que presentan los distintos materiales o dispositivos agrupados bajo el nombre genérico de membrana. Una definición comúnmente aceptada describe a la membrana como un material que actúa de barrera entre dos fluidos y que restringe o favorece el movimiento de los componentes o fluidos a través de ella, como un complemento, se opta por ciertos criterios de clasificación relacionados con ámbito al cual se destina el uso de la membrana, denotando las características y propiedades. Las principales características que debe poseer una membrana son la eficiencia en la separación, alta permeabilidad, resistencia física y resistencia mecánica.

#### 1.1 Clasificación de las membranas

Las membranas pueden clasificarse según su naturaleza, estructura y el tipo de transporte que realizan; en este caso nos enfocaremos a la naturaleza que define la membrana, es decir, natural o sintética. Las membranas sintéticas se dividen en 4 clasificaciones, inorgánicas, poliméricas, líquidas y compuestas, en este caso nos centraremos únicamente a las membranas poliméricas.

#### 1.2 Membranas poliméricas

El estudio de las membranas poliméricas forma el campo más amplio y desarrollado de las membranas, desde el punto de vista de fabricación como en sus aplicaciones. Las membranas poliméricas han tenido un gran impacto por su variabilidad de aplicaciones en diversos ámbitos de la tecnología, esto debido a características como la facilidad de diseñar estructuras químicas con configuraciones moleculares específicas, lo cual incide en la permeabilidad y selectividad de las membranas; la fácil adaptación de diferentes formas

físicas y sobre todo la gran variedad de polímeros que existen para la elaboración de una membrana determinada [1].

En cuanto a su textura, las membranas pueden ser porosas y no porosas o densas. Así se puede decir que una membrana es porosa si su diámetro de poro es superior a 2 nanómetros, por el contrario, si el diámetro del poro no cumple con esta característica se considera una membrana densa o no porosa. En las membranas porosas, el transporte de masa está determinado por la estructura porosa que conforma el polímero, así como por el tamaño de los poros, su distribución y estructura [1].

### **1.3 Métodos de preparación de membranas poliméricas**

Los diferentes métodos de preparación de membranas permiten diseñar una gran variedad de formas con características variadas. El método usado se define por las características de las materias primas, la estructura deseada y la aplicación de la membrana. Para la formación de membranas se usan diferentes métodos experimentales, dado que el método elegido determina las condiciones de operación del material. Así, es posible ejercer cierto control sobre las configuraciones moleculares de los polímeros que constituyen la membrana, y de las características texturales de la misma. A continuación se citan las metodologías más usadas en la preparación de membranas a base de polímeros.

#### ***1.3.1 Método de inversión de fase***

El polímero se combina con un disolvente y un agente precipitante, dando lugar a una mezcla homogénea y viscosa, llamada pasta de moldeo. Esta se envía a la máquina de moldear o soporte para darle la forma adecuada, que en muchas ocasiones es en forma de película plana. Posteriormente, la membrana se somete a un proceso de templado y endurecimiento para hacerla maleable y dotarla de las características finales deseadas, como estabilidad térmica, química o mecánica. Esta última etapa es crucial, pues en ella se induce una pérdida parcial del disolvente, de modo que la pasta del moldeo se separa en dos fases líquidas entremezcladas; cuando la evaporación se completa, cada una de estas fases

da lugar a dos zonas bien diferenciadas en la futura membrana. Al inicio de la evaporación del disolvente, la interface disolución/ aire se enriquece en polímero más rápidamente que la disolución global; por ello en la zona superficial el polímero abandona la disolución y forma la llamada “piel” característica de las membranas simétricas y donde reside toda la capacidad selectiva. Eventualmente, el agente precipitante en la mezcla comienza a separarse, dando origen a una fase dispersa en el seno de una fase concentrada (polímero-disolvente). Como consecuencia de la progresiva evaporación del disolvente, el polímero tiende a agregarse y formar recubrimientos alrededor del precipitante; estos agregados recubrimientos entran en contacto y toman formas poliédricas de tamaño creciente. Así, el recubrimiento de polímero se hace cada vez más delgado hasta que se rompe, dejando una configuración de celdas que constituyen los huecos de la subestructura porosa.

Dependiendo del control ejercido sobre las etapas de evaporación y coagulación, se distinguen tres variantes del método de inversión de fase.

### *1.3.1.1. Precipitación por inversión*

También llamando proceso por vía húmeda. Consiste en moldear a baja temperatura una disolución polimérica de concentración moderada. Inicia con la evaporación parcial del disolvente, seguida de una inversión del sistema en agua con el fin de complementar la inversión de fase. Así, se forma la membrana por gelificación, el espesor típico suele estar entre 0.1 y 0.5  $\mu\text{m}$ . Un tratamiento térmico posterior da origen a la formación de una subcapa porosa que, en este caso, presenta huecos relativamente pequeños. Durante la formación de la superficie, el disolvente tiende a difundir hacia afuera mientras que el agua lo hace hacia adentro, pasando a ser un constituyente integral de la membrana. No obstante, desde el punto de vista práctico, el mantenimiento de las membranas húmedas puede ser un problema durante el almacenamiento y transporte de las mismas, además de hacerlas susceptibles al ataque microbiano.

### *1.3.1.2. Precipitación por evaporación controlada*

A partir de una disolución diluida de polímero, se lleva a cabo la evaporación total del disolvente en atmósfera controlada, formándose grandes huecos en las capas internas de la membrana (1-2  $\mu\text{m}$ ). Las membranas formadas mediante este método muestran permeabilidad y selectividad altas.

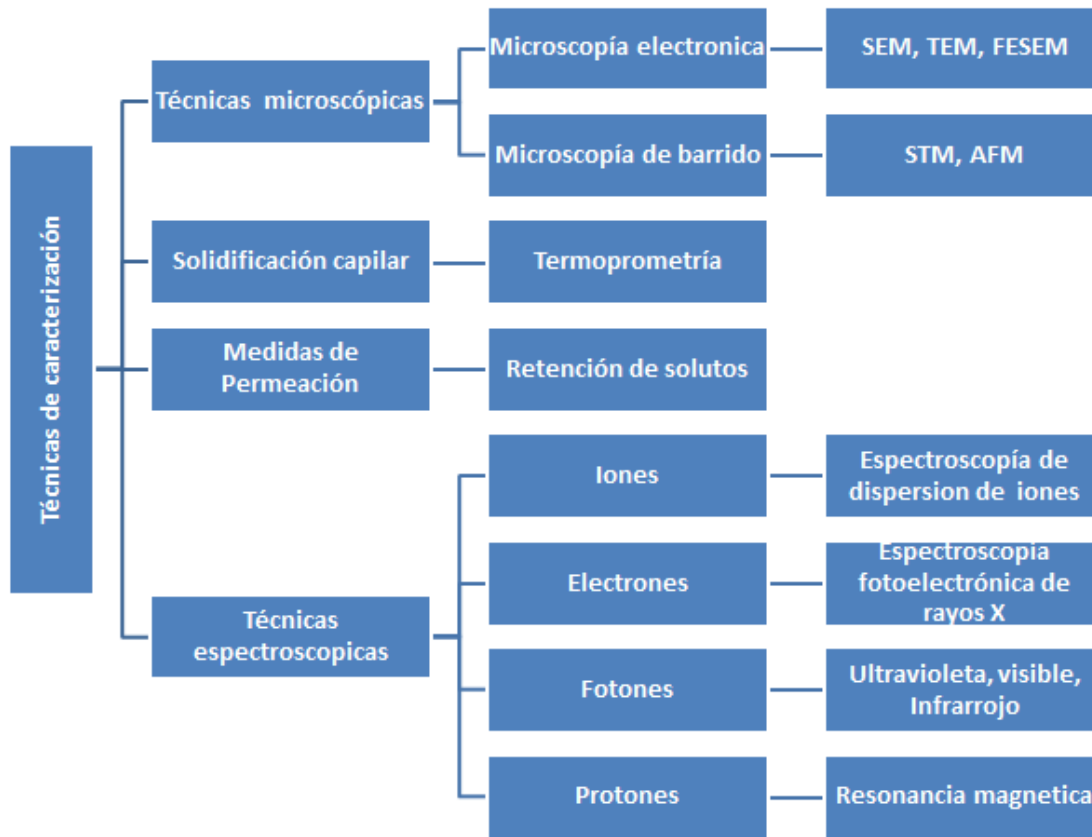
### *1.3.1.3. Precipitación térmica*

La membrana se forma mediante extrusión a través de una hilera una disolución polimérica más concentrada que en los casos anteriores; a la salida del extrusor y por efecto de la temperatura, el disolvente experimenta una evaporación súbita. El proceso concluye con un templado a temperaturas moderadas, que dota de consistencia mecánica a las fibras huecas preformadas.

La evaporación casi incontrolada del disolvente y la relativamente alta concentración de polímero empleada, hacen que el porcentaje de huecos sea relativamente bajo en estas fibras huecas, lo que explica que el flujo a través de ella sea inferior a otras membranas.

## **1.4 Técnicas de caracterización de membranas**

Mediante la caracterización fisicoquímica de las membranas, se puede conocer su constitución, estructura y comportamiento funcional. Se mencionó que el procedimiento de formación de una membrana influye en su estructura y que esta, a su vez determina la funcionalidad de una membrana como elemento separador. En la Figura 1 se resumen las técnicas más comúnmente usadas en la caracterización de membranas [2].



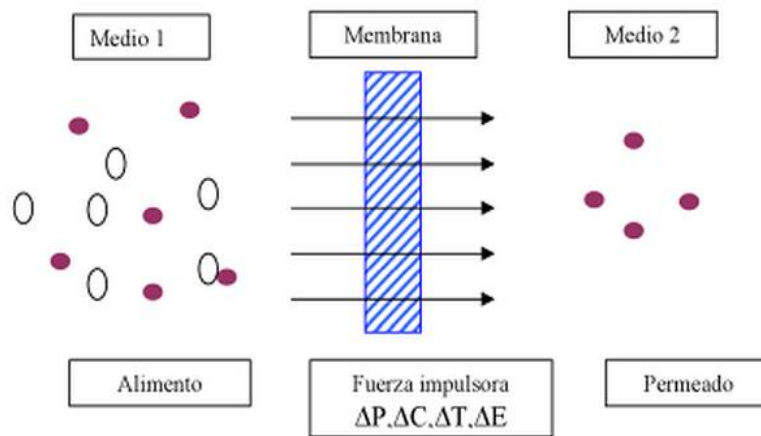
**Figura 1 Técnicas de caracterización en membranas.**

Una labor completa de caracterización debe incluir los aspectos funcionales tanto como los estructurales. La caracterización estructural supone fundamentalmente, la determinación experimental de los siguientes parámetros:

- Distribución estadística de tamaño de poro.
- Morfología de los poros.
- Densidad superficial de poros.
- Porosidad en volumen, o fracción del volumen total de membrana que está ocupada por los poros o huecos.

### 1.5 Separación por membranas

El transporte de componentes a través de las membranas se realiza siempre aplicando una fuerza impulsora (ver Figura 2). Esta fuerza impulsora puede ser un gradiente de concentración, de presión, de temperatura o de potencial eléctrico. La permeabilidad selectiva viene determinada por la medida de la partícula, la afinidad química con el material de la membrana y la movilidad de los componentes a través de la membrana [¡Error! Marcador no definido.].



**Figura 2. Representación de dos medios separados por una membrana** [¡Error! arcador no definido.].

Las membranas, para ser efectivas en los procesos de separación deben ser resistentes química, mecánica y térmicamente. No obstante, los parámetros que definen la efectividad de una membrana son la permeabilidad y la selectividad [¡Error! Marcador no definido.]. En efecto, la tecnología de membranas presenta muchas ventajas, comparada con otras técnicas de separación convencionales, entre ellas está la separación en condiciones térmicas ambientales, la operación en forma continua o discontinua y la fácil combinación con otros procesos. Una desventaja importante es el ensuciamiento de la membrana, que hace disminuir el flujo de permeado debido a la acumulación de sólidos, que incrementa el

tiempo de permeación y puede favorecer el crecimiento de microorganismos en la membrana.

### 1.6 Aplicación de las membranas en la industria alimentaria

Gracias al desarrollo de nuevos materiales para la formación de membranas, y al desempeño de la tecnología para desarrollar productos de alta calidad, la tecnología de membranas ha despertado un gran interés en la industria de alimentos [3]. Las técnicas de separación con membranas más aplicadas en la industria alimentaria son la microfiltración, ultra filtración (UF), nanofiltración (NF) y osmosis inversa (OI) [¡Error! Marcador no efínido.]. El uso de membranas en la industria es muy variado, tanto por las aplicaciones, como por los materiales con los que se elaboran las membranas. En la Tabla 1 se mencionan las principales aplicaciones de las membranas en la industria alimenticia.

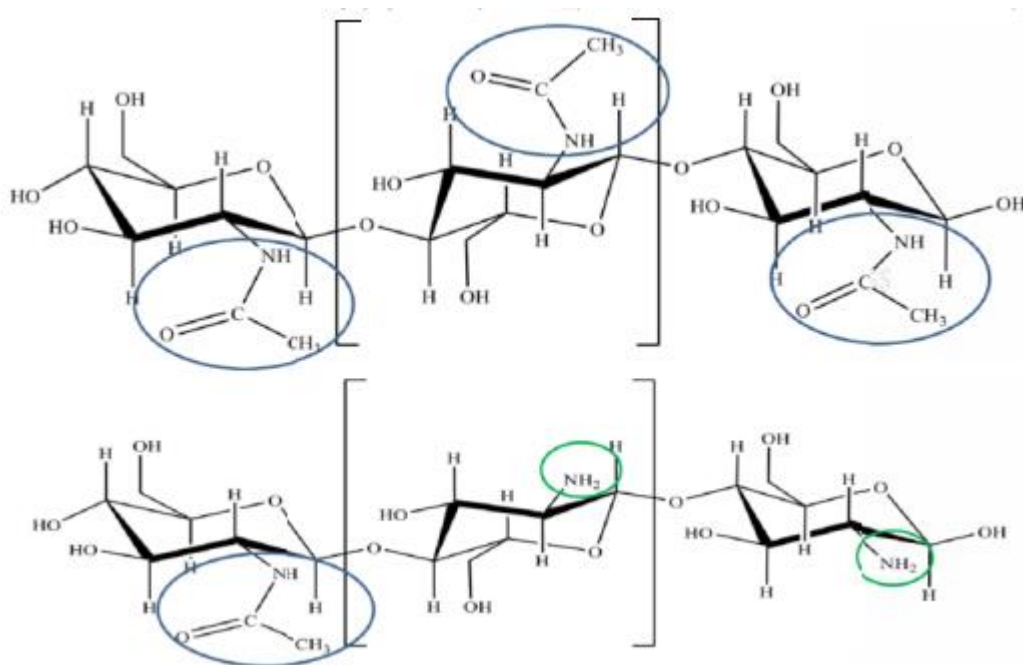
**Tabla 1 Aplicación de membranas en la industria de alimentos.**

<b>Alimento</b>	<b>Uso de membranas</b>
<b>Industria del azúcar</b>	Clarificar el jugo no procesado sin utilizar clarificadores primarios, eliminando así muchos problemas ambientales y mejorando la calidad y el rendimiento
<b>Procesamiento de leche</b>	Recuperación de nutrientes en suero (carbohidratos, vitaminas solubles y minerales).
<b>Vinos, bebidas, concentrados, jugos.</b>	Separación de solutos, clarificación, concentración, fraccionación (separación de componentes), desalación y purificación.

El proceso de separación se fundamenta principalmente en la permeabilidad selectiva de un fluido a través de la membrana debido a una fuerza motriz. En la industria alimentaria, la filtración por membrana es la tecnología más moderna para la clarificación, concentración, fraccionación, desalación y purificación de toda una serie de alimentos [3].

### 1.7 Quitosano

La quitina es extraída de los desperdicios de mariscos principalmente. Este compuesto es un biopolímero lineal, altamente insoluble en agua, lo que limita sus aplicaciones a pesar de ser una de las sustancias orgánicas más abundantes en la naturaleza, después de la celulosa. No obstante, se disuelve rápidamente en ácidos concentrados, en algunos fluoroalcoholes y soluciones al 5% de cloruro de litio, lo que la hace poco práctica para su aplicación. Otras propiedades relevantes de este biopolímero son su alto peso molecular y su estructura porosa la cual favorece una elevada absorción de agua. El quitosano es la forma desacetilada de la quitina (Figura 3), posee mejores propiedades de reactividad y solubilidad. Se obtiene al sustituir los grupos acetamido de la quitina por grupos amino [4]. Se ha descrito como un polímero catiónico lineal, biodegradable, de alto peso molecular y de fácil aplicación.



**Figura 3 (Arriba) estructura química de quitina, (abajo) estructura química de quitosano obtenido a partir de la desacetilación.**

El quitosano es insoluble en agua y tiene la propiedad de formar películas, a partir de soluciones diluidas en ácidos orgánicos [5], mediante variadas metodologías, siendo la más utilizada evaporación del disolvente y moldeado. El quitosano es un biopolímero natural que presenta importantes propiedades funcionales, que se citan en la Tabla 2.

**Tabla 2 Propiedades catiónicas, biológicas y químicas del quitosano.**

<b>Catiónicas</b>	<b>Biológicas</b>	<b>Químicas</b>
Interacción superficial	Biodegradable	Polimina lineal
Poliectrolito lineal	Biocompatible	Grupos amino reactivos
Alta densidad de carga positiva	Polímero natural	Grupos oxhidrilos reactivos
Complejos metal-ion	No tóxico	

### **1.8 Membranas de quitosano**

Durante el último siglo se han desarrollado muchos procesos de separación con diferentes tipos membranas, particular, usando quitosano. En efecto, el quitosano ofrece un conjunto único de características deseables para los procesos de separación en la industria de los alimentos, como: hidrofiliidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad, propiedades antibacterianas, notable afinidad a las proteínas, y formación de películas [4]. Adicionalmente, las membranas elaboradas con quitosano presentan una permeabilidad selectiva molecular [6]. Por ello, se ha utilizado para la separación molecular, como recubrimiento en el envasado de alimentos, formación de piel artificial, como sistemas de administración de fármacos, entre otras aplicaciones. Algunos estudios han mostrado que la concentración de quitosano es el factor que afecta de mayor manera el espesor de una membrana y la permeación. El espesor es gran importancia para el soporte, la resistencia y

la transferencia de masa. Por lo general las membranas de quitosano, son elaboradas mediante el método de evaporación de la solución.

### 1.9 Modificación química por reticulación

La modificación química por reticulación, es la unión de cadenas poliméricas mediante enlaces, los cuales pueden ser químicos o iónicos. La reticulación química de membranas a base de quitosano permite incrementar la eficiencia y la selectividad en la separación a nivel molecular. Las membranas reticuladas pueden hincharse en función del tipo de disolvente usado, lo cual amplía las opciones de aplicación.

En la reticulación iónica o física, se forman enlaces tipo van der Waals, entre las cadenas del polímero. Los reactivos químicos más reportados para este tipo de reticulación son el ácido sulfúrico y el tri-poli-fosfato. La reticulación química se lleva a cabo mediante el uso de agentes reticulantes, tales como dialdehído glutárico y éter diglicídico de etilenglicol. En este tipo de reticulación, el agente reticulante comparte un electrón de valencia con las cadenas del polímero, por lo tanto, no es posible revertir la reticulación, dado que se forman enlaces covalentes [7]. El mecanismo de reticulación del quitosano con ácido sulfúrico ha sido ampliamente reportado. En el mecanismo de reacción, los grupos amino del quitosano y los iones sulfato tienen interacciones Coulombianas. Así, reticulan las cadenas del quitosano como se muestra en la Figura 4.

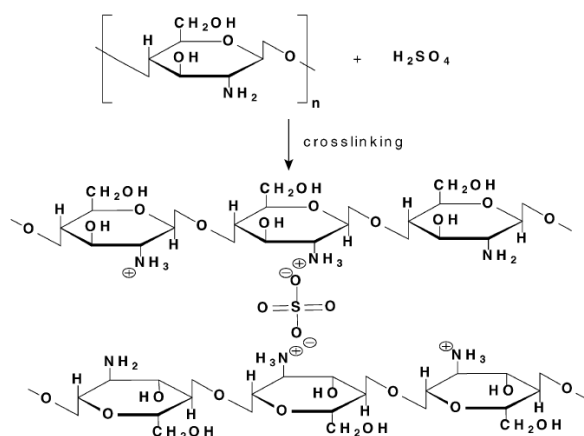


Figura 4 (Arriba) Estructura química de quitosano reticulado iónicamente [7].

### 1.10 Antecedentes

El uso de membranas poliméricas en la industria alimentaria, representa un campo de gran interés. Gracias al desarrollo de nuevos materiales poliméricos, las aplicaciones son cada vez mayores. Los polímeros naturales, como el quitosano, son particularmente buscados para separación de productos de alta calidad en la industria de los alimentos. La aplicación de quitosano se atribuye a su capacidad de formación de películas, resistencia mecánica, por su naturaleza biodegradable y características anti-bacterianas [8]. En ocasiones es necesario modificar la estructura química del material usado para formar membranas en función de las aplicaciones. Con este fin, se han realizado estudios para ahondar en el conocimiento de la reacción de reticulación iónica de las membranas de quitosano usando  $H_2SO_4$  como agente reticulante. Cui y colaboradores demostraron mediante FTIR que los iones sulfato ( $SO_4^{2-}$ ) interactúan fuertemente con los iones ( $NH_3^+$ ), propusieron un mecanismo de reticulación, donde la protonación del quitosano es el factor limitante en la velocidad de la reacción de reticulación. Con la información sobre el crecimiento de las bandas de vibración del ( $SO_4^{2-}$ ), proponen que la reticulación completa de membranas delgadas (10  $\mu m$ ) se lleva a cabo en 30 minutos [7].

En ocasiones debido al bajo peso molecular del quitosano, es necesario mejorar las propiedades físicas como elasticidad, elongación y fuerza de la membrana, lo cual puede lograrse mediante la adición de un plastificante. Mediante la reducción de las fuerzas intermoleculares, los plastificantes suavizan la rigidez de la estructura de la película y aumentan la movilidad de las cadenas biopoliméricas, mejorando sus propiedades mecánicas [9]. En trabajos reportados en la literatura, se ha comparado la acción de algunos plastificantes como glicerol, sorbitol y PEG en la elaboración de membranas a base de quitosano. Las membranas mezcladas con sorbitol y PEG mostraron alargamiento máximo. En tanto que las membranas mezcladas con glicerol, se reportan más flexibles en comparación con los otros plastificantes. Debido a que el quitosano posee una estructura molecular gigantesca y de estructura compleja es difícil identificar las interacciones que ocurren al ser combinado con glicerol, es por esto que los grupos funcionales asociados como un indicador de interacciones entre glicerol y quitosano son los grupos  $-CH$  y  $-OH$ .

Cuando la concentración de glicerol se incrementa, más grupos -OH están disponibles para las interacciones de quitosano-glicerol [10].

Por otra parte, el quitosano posee grupos funcionales amino y grupos reactivos hidroxilo que ofrecen varias posibilidades de derivación e inmovilización de especies biológicamente activas como proteínas o enzimas [11]. En el caso de algunas biomoléculas, se ha observado que el pH de la membrana puede llegar a influir en la permeabilidad, que depende de las propiedades moleculares de la especie penetrante. Así, las moléculas pequeñas se transportan fácilmente a través de las membranas, mientras que las grandes moléculas se mueven más lentamente o no puede ser transportadas [12].

Junfen Sun y colaboradores [13] formaron membranas de matriz mixta (MMM) a base de polietersulfona (PES, MW=58,000)/hidroxiapatita (HAP, d=40 nm) para la purificación de la proteína albumina de suero de bovino (BSA, MW=67,000). Las membranas se formaron por el método de inversión de fase variando la concentración de PES y polivinilpirrolidona (PVP) para posteriormente formar la MMM. Para la formación de la MMM se adicionó un 60% peso de HAP a la solución en relación a la cantidad de PES/PVP. Mediante micrografías obtenidas por MEB se observó la disminución del tamaño de poro de las MMM con respecto a las membranas densas y estas últimas no mostraron adsorción de la proteína BSA. Sin embargo la MMM PES/HAP mostró una alta adsorción de la proteína de 26 mg/g. Realizaron estudios de difusión de la proteína BSA con soluciones de alimentación de concentración de 2 mg/ml en membranas MMM PES/HAP logrando remover el 77.4% de la proteína después de 24 horas.

Guan Liu y colaboradores [14] formaron membranas híbridas zwitter-iónicas de quitosano-tetraetilortosilicato y alcohol polivinílico para la ultrafiltración de proteínas de albumina de suero de bovino (MW=66.4 kDa; pH=4.8) y lisozima (MW=14 kDa; pH=11). Las membranas se formaron en tres pasos. Primero, se formó la base de Schiff, después se llevó a cabo una reacción de reducción con  $\text{NaBH}_4$  y finalmente, mediante sulfonación con 1,3-Propanosulfona se reticuló la membrana. El estudio se llevó a cabo variando el potencial Z de un rango de 0 a 4 en función de la variación del pH (2 a 12). Observaron un incremento en el flujo debido a la porosidad generada por las características hidrófilas de las

membranas zwitter-iónicas. Sin embargo el flujo de la solución de BSA fue menor que el del agua y de la solución de lisozima, debido a la polarización de la concentración de las moléculas de BSA. Estudiaron el ensuciamiento de las membranas determinando el ángulo de contacto de las soluciones de ambas proteínas y la relación de recuperación del flujo. Los resultados obtenidos mostraron que las propiedades zwitter-iónicas de las membranas disminuyen el ensuciamiento de las membranas y lograron purificar hasta un 68.5% de la proteína BSA.

Pulko y colaboradores [15] prepararon películas de 25 cm<sup>2</sup> de poli(glicidil metacrilato-co-etilenglicol dimetacrilato-co-etilexilmetacrilato) con espesores de 285 y 565 µm utilizando la técnica de emulsión de fase interna (HIPE). Obtuvieron membranas con poros entre 3 y 10 µm con interconexiones de 1 y 3 µm. El objetivo del trabajo fue la purificación de la proteína albumina de suero de bovino (66 kDa) por lo que las membranas porosas fueron químicamente modificadas con dietilamina para producir membranas funcionalizadas con grupos de intercambio iónico. Las películas obtenidas adsorbieron hasta 45 mg/ml de la proteína.

Zhu y colaboradores [16] desarrollaron un nanocompósito de arcilla/polímero con alternativa para el diseño de membranas de matriz mixtas (MMM). Debido a su naturaleza hidrófila, alta resistencia mecánica, estabilidad térmica mejorada, etc. Diseñaron membranas para la nanofiltración a base quitosano-montmorillonita (CS-MMT) utilizando el método de inversión de fases. Los resultados de FT-IR, XRD y TEM mostraron la formación de nanoláminas CS-MMT. De acuerdo a los resultados las membranas fueron más hidrófilas y mejoraron sus propiedades anti-incrustantes y mecánicas a partir de 1 % peso de CS-MMT. Las membranas fueron utilizadas para la purificación de soluciones que contenían el colorante Negro 5 y rojo 49.

Sajjan y colaboradores [17] prepararon membranas a partir de cloruro de glicidiltrimetilamonio (GTMAC) y quitosano (CS) mediante la técnica de evaporación del disolvente para la separación de la mezcla isopropanol – agua. Se varió la composición de alimentación para determinar el rendimiento de pervaporación. Las membranas con 40 %

peso de GTMAC exhibieron alta selectividad de separación con un flujo de  $0.0692 \text{ kg/m}^2/\text{h}$  a  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  con una masa del 10 % de agua en la alimentación.

El uso del quitosano para la preparación de membranas que puedan usarse en la separación de productos alimenticios es un tema de actualidad. Los trabajos antes citados muestran la variedad de posibles aplicaciones y el desempeño de las membranas. Con estas ideas, en este trabajo realizamos la preparación de una serie de membranas a base de quitosano añadiendo crecientes concentraciones de glicerol al medio de homogeneización. Realizamos la caracterización de las membranas y las evaluados en la permeación de tres moléculas, NaCl, sacarosa y un lactosuero.

## CAPÍTULO II

### Metodología Experimental

#### 2.1 Reactivos y disolventes

Quitosano de bajo peso molecular (98%, ALDRICH), Ácido Acético glacial (98%, MEYER), Hidróxido de Sodio (98%, MEYER), Ácido Sulfúrico (98.4 % J.T. BAKER), Glicerina (99.59% QCA).

#### 2.2 Disolución del quitosano

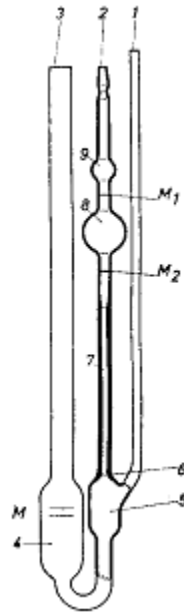
Previo a la preparación de las membranas, se llevó a cabo la disolución del quitosano en una solución de ácido acético 0.1M, a una relación 1% peso/volumen de quitosano ácido acético. La mezcla se mantuvo a temperatura constante de 90°C y agitación magnética vigorosa por espacio de 24 horas. Posteriormente, la solución se filtró y se agregaron diferentes cantidades de glicerol, a saber, 0.1, 0.3, 0.5 y 0.7 % peso / volumen y el sistema se mantuvo en agitación magnética vigorosa durante 4 horas a 90°C.

#### 2.3 Viscosidad de la solución

La viscosidad se determinó usando un viscosímetro tipo Ubbelohde a temperatura de 25 °C. Las muestras que se analizaron fueron disueltas ácido acético y glicerina, como se indicó en el paso anterior. Se introdujeron en el viscosímetro y se determinó el tiempo de flujo de la mezcla disolvente/quitosano, así como del disolvente puro, en este caso ácido acético.

En la Ilustración 7 se muestra el tipo de viscosímetro usado para las mediciones, el cual fue sumergido y fijado en posición vertical en un baño María a temperatura constante. La solución se introdujo por el tubo 3. Con una perilla, se succiona la solución por el tubo 2, mientras se cierra el tubo 3 hasta llegar al menisco M1. Finalmente, se abre el tubo 3 y se mide el tiempo que tarda la solución en pasar del punto M1 a M2. Las mediciones se

realizaron por triplicado, cargando el viscosímetro a partir de la misma disolución de quitosano.



**Ilustración 1. Viscosímetro de Ubbelohde.**

Se calculó la relación entre el tiempo de fluidización de la mezcla y el tiempo correspondiente al disolvente. La viscosidad relativa se expresa mediante la ecuación 1:

$$\rho_1 = \frac{m_1}{m_2} * \rho_2 \quad \text{Ecuación 1}$$

A partir de la viscosidad relativa, se calculó la viscosidad inherente, de acuerdo a la ecuación 2.

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} \quad \text{Ecuación 2}$$

#### 2.4 Formación de membranas

Las soluciones de quitosano en ácido acético con las diferentes cantidades de glicerol fueron depositadas en cajas Petri de plástico de 10 cm de diámetro. Se vertieron 20 ml de solución para formar una membrana. Posteriormente, se sometieron a evaporación del disolvente a temperatura ambiente por 24 horas, y a 60°C por 72 horas.

#### 2.5 Reticulación química de las membranas

Las membranas secas fueron depositadas en una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 M por 24 horas, para llevar a cabo la reticulación química. Posteriormente, las membranas fueron lavadas con agua destilada y neutralizadas sumergiéndolas en una solución de NaOH 2M por 5 minutos. Finalmente, las membranas fueron lavadas con agua destilada hasta alcanzar un pH de 7. El resumen de las muestras sintetizadas y sus características se presentan en la Tabla 3.

**Tabla 3. Composición nominal de las muestras sintetizadas.**

Clave	Concentración de Glicerina, % peso/volumen
M01	0.1
M02	0.3
M03	0.5
M04	0.7

\* Todas las membranas fueron sometidas a reticulación con 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

#### 2.6 Caracterización de las membranas

**Factor de hinchamiento.** Las membranas formadas fueron caracterizadas mediante su factor de hinchamiento en agua. Una cantidad de membrana seca se sumergió en un exceso de agua bidestilada y se mantuvo en dicho medio durante 24 horas, a temperatura ambiente. Posteriormente, se determinó el peso de la muestra húmeda y se secó a temperatura de 60°C durante 24 horas. Con los datos del peso húmedo y el peso seco, se determinó el factor de hinchamiento de acuerdo a la Ecuación 3. El factor de hinchamiento se determinó por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los datos.

$$H = \frac{\text{Peso húmedo} - \text{Peso seco}}{\text{Peso seco}} \quad \text{Ecuación 3}$$

Por otra parte, se determinó el espesor de las membranas secas con un micrómetro METROLOGY EM-9001N. Se realizaron mediciones en diversas zonas de las membranas, generando alrededor de 20 datos para cada una. El espesor reportado corresponde al promedio de las mediciones.

Asimismo, las membranas se caracterizaron mediante la identificación de sus grupos funcionales mediante espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR), en el intervalo de 650 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando un equipo Perkin Elmer FTIR Spectrometer. La estabilidad térmica de las membranas y la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) se determinó mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) en un equipo Mettler Toledo.Star system. Las condiciones experimentales fueron flujo de  $\text{N}_2$  de 30 mL/min y velocidad de calentamiento de 40  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . El primer calentamiento se realizó de 30 a 200  $^{\circ}\text{C}$  con un paso isotérmico de 10 minutos a 110  $^{\circ}\text{C}$ ; el segundo calentamiento fue de 30 a 200  $^{\circ}\text{C}$  sin paso isotérmico.

### 2.7 Determinación de permeabilidad

La permeabilidad de las membranas a las moléculas de interés, se determinó en un módulo de permeación para membranas densas en fase líquida, diseñado en el laboratorio de polímeros y membranas de la Facultad de Ingeniería Química. El permeador (Figura 5) consta de dos cámaras de vidrio con volumen de 30 ml, un soporte poroso de acero inoxidable de 2.5 cm para depositar las membranas y una brida para sellar ambas cámaras. Se prepararon soluciones de NaCl al 1% y de sacarosa al 1% peso/volumen. Asimismo, se permeó una proteína de suero al 1% v/v.

Las membranas fueron cortadas en círculos de 3 cm de diámetro y colocadas sobre el soporte poroso de acero inoxidable. Luego, fueron montadas en un lado del permeador. Se colocó el empaque sobre el borde de la unión del permeador junto con la membrana y

posteriormente se ensambló el otro lado del permeador. Las dos partes que componen el permeador se sujetaron con la brida.

Una vez armado el permeador, la cámara I se llenó con agua bidestilada, se puso en posición vertical y se verificó que el sistema se encuentre libre de filtraciones durante 15 minutos. Esta acción permite además comprobar que la membrana no sufrió algún daño al ser colocada en el módulo. Posteriormente, la cámara II se llenó con la solución penetrante. En ambas cámaras se colocó un agitador magnético cuidando que éste quede lejos de la superficie de la membrana. Finalmente, se cerraron ambas cámaras y el sistema de permeación se mantuvo a temperatura constante de 8 °C. El permeador se mantuvo en posición horizontal, con agitación magnética en ambas cámaras.



**Figura 5. Sistema de permeación utilizado.**

### 2.8 Cálculo de la permeabilidad

En el caso de la permeación de NaCl, se registraron los datos de conductividad a varios tiempos. Estos datos, permitieron calcular el valor de la permeabilidad de la membrana ( $P$ ), usando la técnica del tiempo característico de permeación (time – lag), tal como se indica en la Ecuación 4.

$$P = \frac{276 V L}{A T C_0} * \frac{dC}{dt} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde  $V$  es el volumen de la cámara ( $\text{cm}^3$ ),  $A$  es el área efectiva de la membrana ( $\text{cm}^2$ ),  $L$  es el espesor de la membrana (cm),  $C_0$  es la concentración inicial (mol/L), y  $T$  es la temperatura absoluta del sistema. El valor de la variación de la concentración en función del tiempo  $\left(\frac{dC}{dt}\right)$ , se determinó a partir de la pendiente de la gráfica en tiempos iniciales de permeación.

### 2.9 Análisis de muestras

Las muestras permear fueron la solución de NaCl, la de sacarosa y el lactosuero.

La solución de NaCl se colocó en la cámara II y sólo se muestreó al final del experimento, mediante la inmersión de un conductímetro marca Conductronic S.A.

La solución de sacarosa colocó en la cámara II y se cuantificó mediante polarimetría, con un polarímetro ATAGO POLAX-2L que mide el ángulo de rotación de substancias ópticamente activas. La solución es puesta en una celda tubular de vidrio, la cual se deposita en el polarímetro que dispara un láser y mide el cambio eléctrico de las ondas de luz cambia, el polarímetro lee el ángulo específico en el que se refracta la luz, este ángulo representa la concentración de la solución. Se cuantificó la concentración inicial de la solución, y posteriormente se muestrearon las soluciones de ambos lados del permeador a las 24, 48 y 72 horas.

Finalmente, los experimentos con el lactosuero se realizaron durante tres días, pero sólo se cuantificó la concentración inicial de la solución y la concentración de ambas cámaras del permeador al final del experimento. Los análisis se realizaron mediante un equipo lactoscan 90 LCD, que por medio de una manguera succiona una pequeña muestra de suero y se somete al paso de una onda de ultrasonido. Un microprocesador traduce los resultados midiendo los siguientes parámetros: Materia grasa, sólidos no grasos, proteína, densidad, punto de congelamiento y agua agregada.

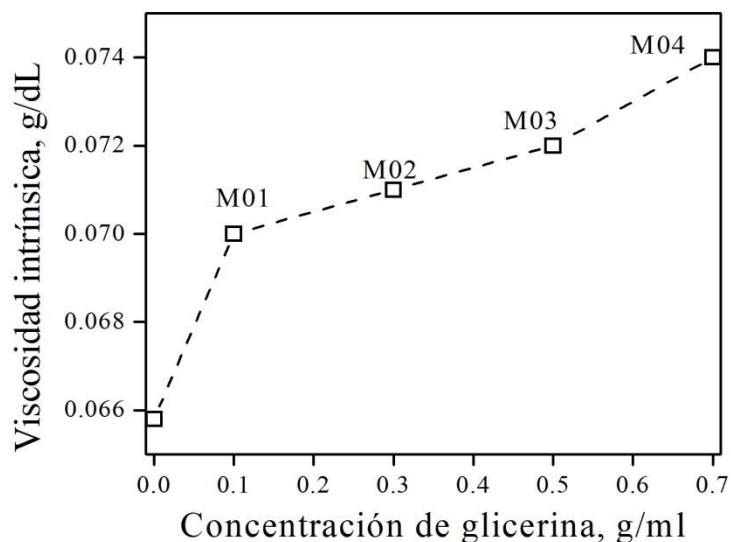
### CAPÍTULO III

#### RESULTADOS

Se formaron membranas de quitosano siguiendo la metodología expuesta en el capítulo II. Luego de la evaporación del disolvente, las membranas se despegaron de las cajas Petri. Éstas tuvieron un color amarillento semitransparente, eran de consistencia rígida, sin llegar a quebrarse. No obstante, las membranas se disolvían al ponerse en contacto con el agua. Una vez que las membranas se sometieron a la reacción de reticulación, ya no fueron solubles en agua. De igual manera, las membranas incrementaron su maleabilidad con la adición de glicerina, dado que las membranas sin la adición del agente plastificante, en este caso, la glicerina, son muy quebradizas.

#### 3.1 Viscosidad de la solución

Se determinó la viscosidad de las soluciones usadas en la formación de membranas. No es posible determinar la viscosidad de las membranas reticuladas debido a la insolubilidad de éstas en cualquier disolvente. Los datos de viscosidad son particularmente importantes dado que se asocian con el peso molecular del polímero formado. En la Figura 6 se muestra la variación de la viscosidad en función del contenido de glicerina en el medio de homogenización. La viscosidad de la solución aumenta al incrementar la concentración de glicerina en el medio de homogenización, y en todos los casos, es superior a la viscosidad de la solución de quitosano sin la adición de glicerina. Este resultado indica el incremento del peso molecular del polímero por el incremento en el tamaño de las cadenas poliméricas.



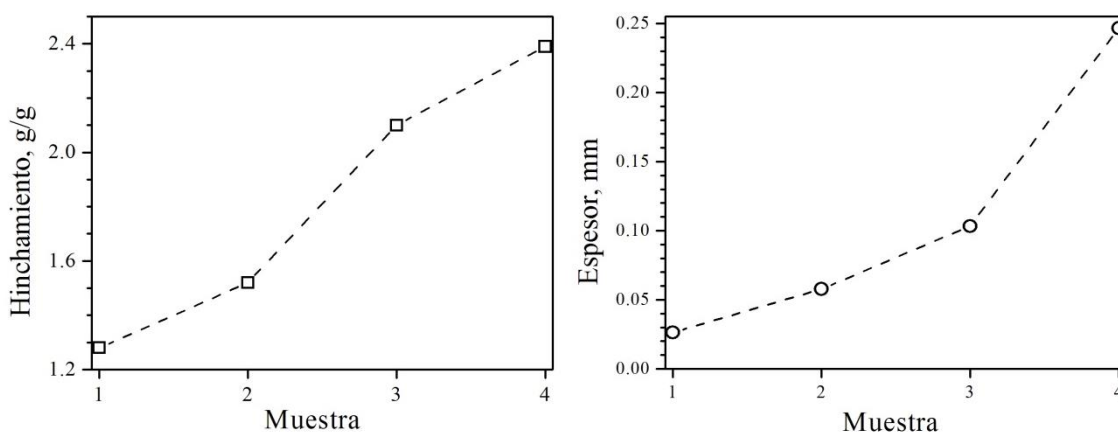
**Figura 6. Viscosidad de las soluciones de quitosano/glicerina.**

### 3.2 Hinchamiento

Se determinó el factor de hinchamiento en agua para todas las membranas, el cual se reporta en la Tabla 4. El factor de hinchamiento (gramos de agua / gramo de polímero) incrementa cuando incrementa la concentración de glicerina en la muestra. Los valores de la tabla indican que la membrana tiene afinidad hacia el agua al permitir el hinchamiento de su estructura. Es importante notar que los valores son relativamente bajos en relación a lo reportado cuando se forman mezclas con quitosano y otros polímeros, debido a la limitada capacidad de absorción de agua del quitosano [18]. En cuanto a la adición de la glicerina en el medio de polimerización, se ha reportado que la adición de un plastificante aumenta el carácter hidrófilo de los polímeros naturales a base de almidón [19]. Los valores del factor de hinchamiento indican que los intersticios en la red polimérica aumentan con el contenido de plastificante.

**Tabla 4. Datos de espesor y del factor de hinchamiento en agua de las membranas.**

Muestra	Hinchamiento, g/g	Espesor, mm
M01	1.28	0.02625
M02	1.52	0.05775
M03	2.10	0.10325
M04	2.39	0.2465



**Figura 7. Factor de hinchamiento y espesor de las membranas.**

### 3.3 Espectrofotometría de IR

Las muestras se caracterizaron mediante espectroscopia de FTIR para identificar la presencia de los grupos funcionales. Las muestras se secaron a 60 °C por 24 horas y se puso una masa de muestra pulverizada de 0.5 g en el equipo. La Figura 8 se muestra el espectro de FTIR de las membranas a base de quitosano, a las cuales se adicionaron diferentes concentraciones de glicerina en el medio de homogenización. Todas las muestras fueron sumergidas en la solución reticulante por espacio de 24 horas. En el espectro se identifican las vibraciones a 3282  $\text{cm}^{-1}$  asociadas al estiramiento de los grupos  $\text{OH}^-$ , a 2879  $\text{cm}^{-1}$  asociadas a la vibración del grupo CH. La vibración a 1653  $\text{cm}^{-1}$  se asocia al grupo amida. Estas vibraciones son características del quitosano y han sido reportadas

anteriormente para membranas a base de quitosano con otros tipos de plastificantes [20], pero sin el ensanchamiento de la banda alrededor de  $3200\text{ cm}^{-1}$ , posiblemente debido a la baja cantidad de plastificante añadida a la formulación de las membranas preparadas, que en este trabajo varía entre 0.1 y 0.7% w/w, lo cual es muy por debajo de lo usado en otros trabajos, que varía entre 2.5 – 10 % w/w [10].

Se identificó en el espectro de quitosano puro, la vibración a  $1565\text{ cm}^{-1}$ , asociada al grupo  $\text{NH}_2$ . Esta vibración disminuye gradualmente en los espectros de M01, M02, M03, M04, conforme aumenta la cantidad de glicerina usada en el medio de reacción. Es posible que la glicerina interactúe con el grupo glucosamina, el cual también interactúa con el  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Así, a mayor concentración de glicerina existen menos espacios disponibles para la reticulación, con la consecuente variación del grado de reticulación en las membranas. Las vibraciones de flexión de  $\text{NH}_3$  se presentaron en  $1528\text{ cm}^{-1}$ . Estos resultados sugieren que los grupos  $\text{NH}_2$  en las cadenas de quitosano fueron protonados por el ácido sulfúrico y son los sitios de reticulación en la membrana. La reticulación de la membrana ocurre cuando un anión  $\text{SO}_4^{2-}$  interactúa con dos grupos  $\text{NH}_3^+$  mediante enlace iónico. Un esquema de la estructura reticulada se muestra en la Figura 9, donde los grupos sulfoxi enlazan las cadenas del quitosano. Por otra parte, la reticulación de la membrana depende fuertemente del espesor. Los valores reportados en la Tabla 4 indican que nuestras membranas son gruesas en relación a películas delgadas reportadas en la literatura. Por ello, la reticulación requiere de un gran tiempo de inmersión, para que ocurra la difusión del reticulante al interior de las cadenas del polímero [7].

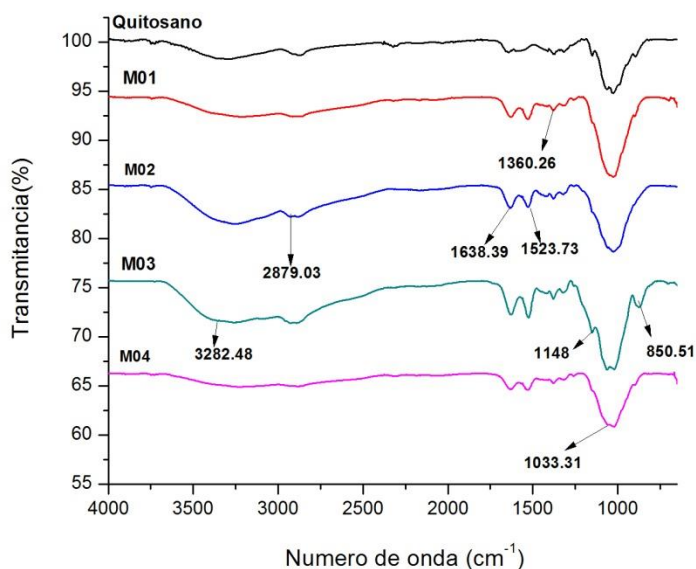


Figura 8 Espectro de FTIR de las membranas sintetizadas.

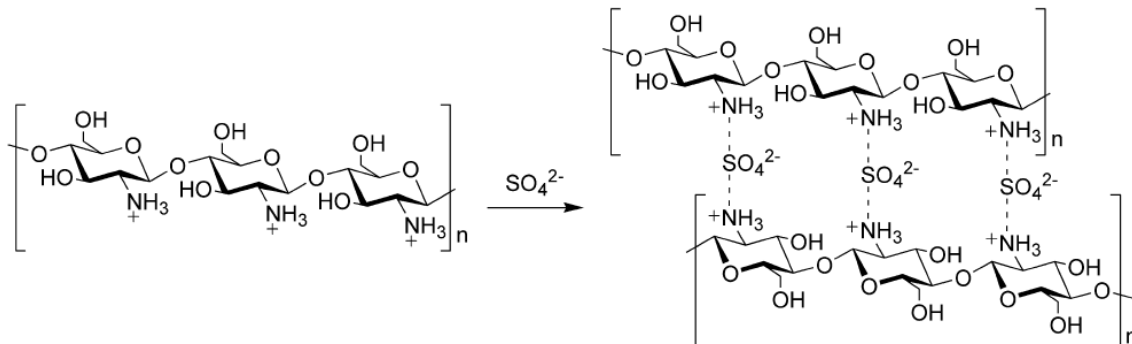
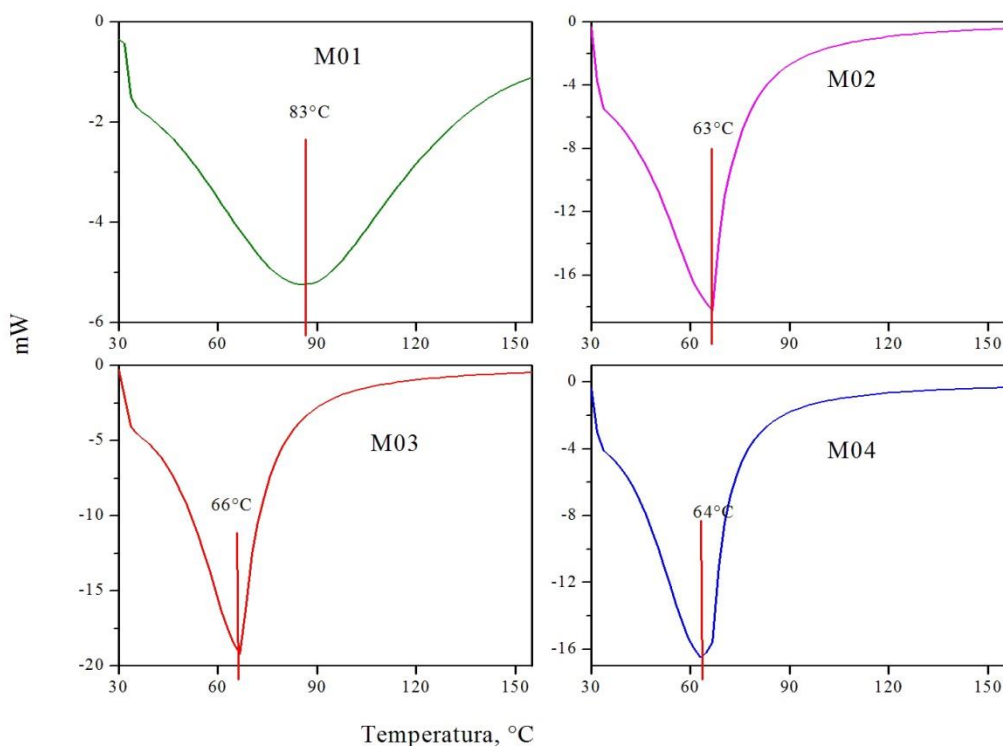


Figura 9. Esquema de reticulación de las membranas [7].

### 3.4 Caracterización mediante análisis térmicos

Las membranas fueron analizadas mediante calorimetría diferencial de barrido, para determinar la estabilidad térmica. Se realizó un calentamiento a la muestra fresca, a una velocidad de 10 °C/min hasta 200 °C. Este primer calentamiento sirvió para borrar el historial térmico de la muestra, en particular, los eventos de evaporación de disolventes de

bajo punto de ebullición, como se muestra en la Figura 10. Los termogramas muestran una amplia zona de absorción a baja temperatura, asociada a la pérdida de agua principalmente. Es importante notar, que la curva se mantiene constante al final de la absorción, indicando que la muestra no fue dañada estructuralmente durante el calentamiento. El pico endotérmico se asocia a la evaporación de agua de la membrana, lo cual indica que las membranas pueden hidratarse fácilmente.



**Figura 10. Primer calentamiento de las muestras en DSC.**

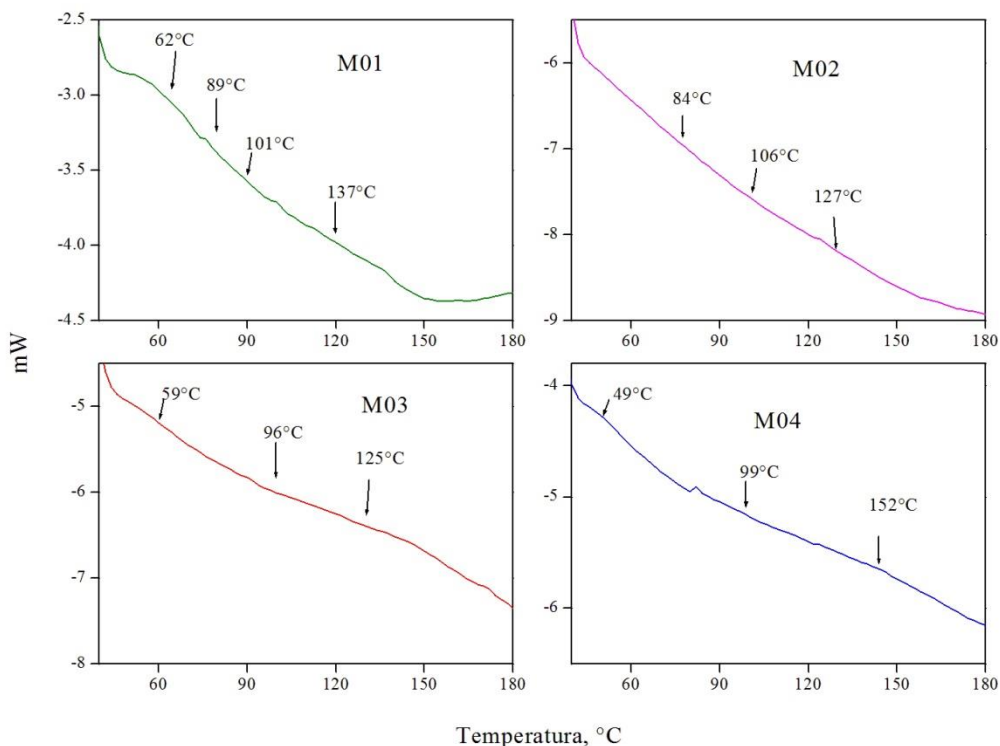
Posteriormente, se realizó un segundo calentamiento a las muestras a una velocidad de calentamiento de 40 °C/min hasta 200 °C. Este proceso permite identificar las transformaciones estructurales de la muestra en todo el intervalo de temperatura. De esta manera, se determinó la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de las muestras, sin sobrepasar la temperatura de 200 °C dado que la muestra podría descomponerse a

temperaturas más altas. Los resultados del análisis de DSC se resumen en la Tabla 5, donde la muestra de quitosano corresponde a una membrana sin glicerina, la cual fue reticulada durante 24 horas en la solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5M. Asimismo, la Figura 11 se muestra el termograma del segundo calentamiento, donde se identifican diferentes temperaturas de transición vítrea. Además se muestra la pérdida de peso ( $\Delta W_2$ , mg) durante el calentamiento, la cual es muy baja en todos los casos. Los valores de la Tg de las membranas son superiores a la muestra de quitosano. No fue posible establecer una relación entre la composición nominal de la membrana y la Tg. Sin embargo, las membranas muestran valores de la Tg en intervalos similares de temperatura, como se indica en la Figura 11. La presencia de varias temperaturas de transición vítrea se asocia a la heterogeneidad estructural de las membranas. Es posible que en la membrana existan zonas reticuladas, que impiden la transición vítrea. No obstante, estas zonas no son continuas, por lo que las cadenas incrementan sus movimientos de relajación al incrementar la temperatura. En la literatura se reportan diferentes valores de la Tg para quitosano, los cuales varían en función del peso molecular y del grado de desacetilación [21].

**Tabla 5.- Temperatura de transición vítrea.**

Muestra	$\Delta W_1$ , mg	Tg, °C				$\Delta W_2$ , mg
Quitosano reticulado	-	151.5	-	-	-	-
M01	0.74	62.1	89.3	101.8	137.6	0.06
M02	1		84.1	106.4	127.7	0.26
M03	1.25	59.2	96.7		125.3	0.21
M04	1.07	49.1		99.9	152.9	0.12

$\Delta W_1$  y  $\Delta W_2$  son las pérdidas de masa en el primer y segundo calentamiento respectivamente.

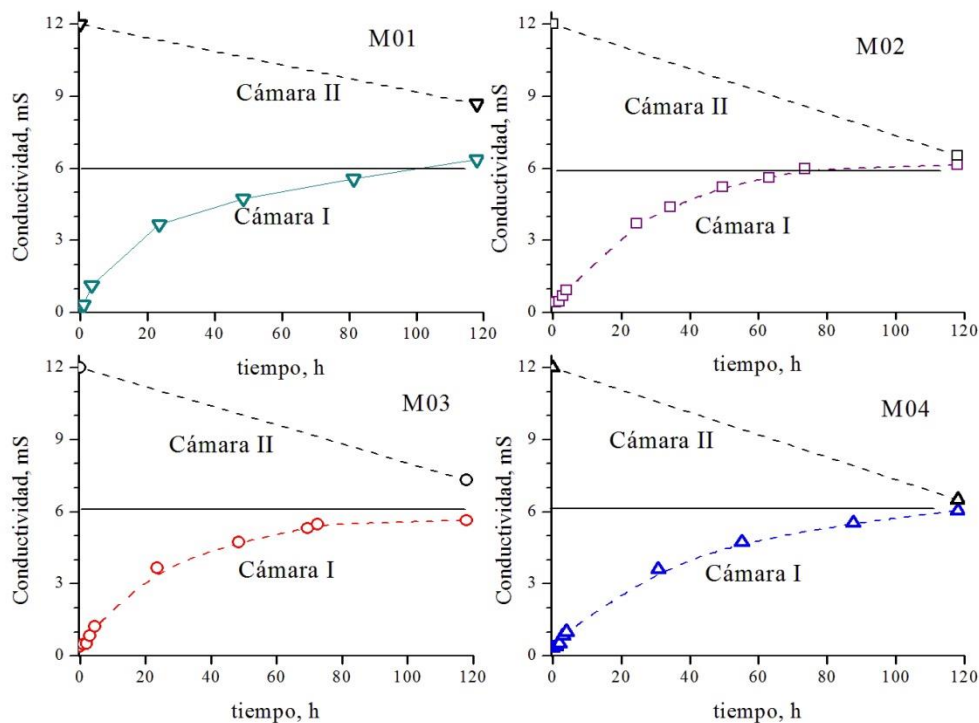


**Figura 11. Termograma de las muestras en el segundo calentamiento.**

### 3.5 Permeación con NaCl

La concentración de NaCl se determinó mediante conductividad. Se instaló el electrodo del conductímetro a la cámara I de permeación, que contiene agua destilada, con el fin de cuantificar el cambio de concentración en función del tiempo, por un periodo de 120 horas. Se tomaron lecturas de la conductividad cada hora y el sistema de permeación se mantuvo a temperatura constante de 8°C. Los datos de conductividad se muestran en la Figura 12, donde se observa el incremento de conductividad durante todo el tiempo del estudio en la cámara I. En las primeras 5 horas, se presentó un cambio de concentración rápido, posteriormente el cambio en la concentración fue más lento. En la cámara II, sólo fue posible registrar los datos de conductividad al inicio y al final del experimento, por lo que

se muestra una línea recta. La curva de conductividad en todos los casos se acerca al equilibrio entre las dos cámaras, siendo las muestras M02 y M04 las que más se acercan entre sí. Con objeto de profundizar en el análisis de la permeación, se determinó la cinética de paso a través de la membrana.



**Figura 12 Incremento de conductividad en la cámara I, con las membranas sintetizadas.**

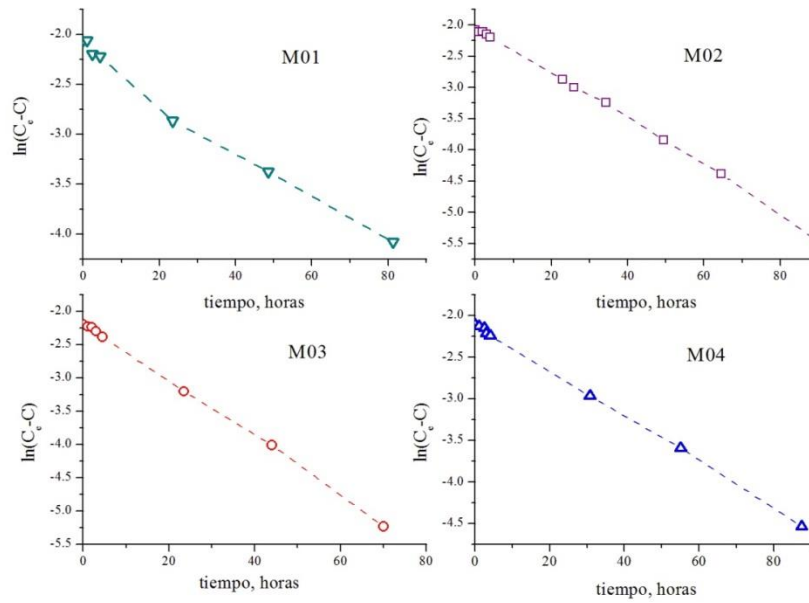
### 3.5.1 Análisis cinético

El análisis cinético de los datos se realizó usando el modelo de Lagergren de pseudo-primer orden y el modelo de Mckay de pseudo-segundo orden. La forma lineal de las ecuaciones de primer y segundo orden se muestran en las ecuaciones 2 y 3 respectivamente:

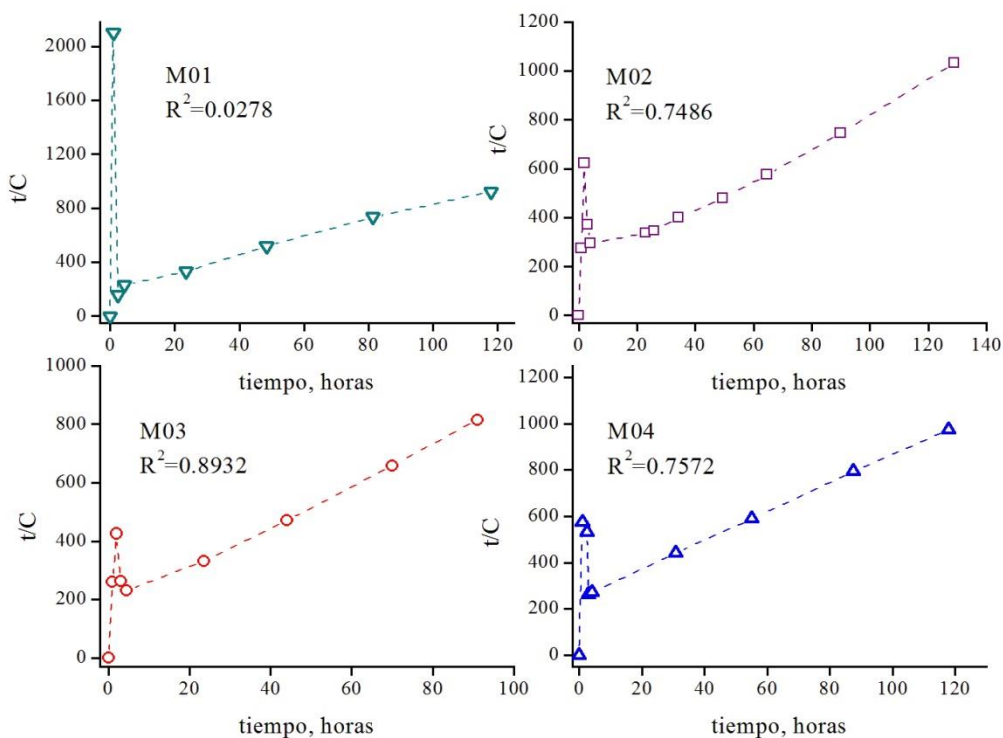
$$\ln(C_e - C) = \ln(C_e) - k_1 * t \quad \text{Ecuación 2}$$

$$\frac{t}{C} = \frac{1}{k_2 * C_2^{cal}} + \frac{1}{C_2^{cal}} * t \quad \text{Ecuación 3}$$

Así, un gráfico de  $\ln(C_e - C)$  para primer orden y  $\frac{t}{C}$  para segundo orden en función del tiempo, debe ajustarse a una línea recta.



**Figura 13 Ajuste de datos al modelo de primer orden.**



**Figura 14 Ajuste de datos experimentales al modelo de segundo orden.**

En la Tabla 6 se muestran los valores calculados para las constantes cinéticas del modelo de primer orden. Tanto el gráfico como el coeficiente de correlación ( $R^2$ ), indican que los datos experimentales pueden reproducirse con este modelo. Es importante destacar que el ajuste cinético de los datos de permeación no es frecuentemente reportado en la literatura. Desde el punto de vista cinético, el ajuste a un modelo de primer orden obedece a una baja resistencia del sólido por retener en su estructura un soluto. Si consideramos que parte del NaCl se está adsorbiendo sobre la membrana, podríamos considerar que el transporte cinético se está dando del medio hacia la membrana. En este caso, para el ajuste de los datos al modelo de primer orden es necesario conocer la concentración al equilibrio. Por esta razón, la mayoría de los datos reportados en la literatura para la adsorción de un adsorbato sobre un adsorbente ajustan al modelo de segundo orden [22]. En nuestro caso, el

tiempo de análisis para lograr el paso de la molécula de NaCl a través de la membrana es suficientemente grande para lograr el equilibrio en la concentración, por lo que la velocidad de paso a través de la membrana puede explicarse mediante el modelo de primer orden, donde la fuerza motriz es la diferencia de concentraciones para el paso de NaCl a través de la membrana.

**Tabla 6. Datos cinéticos del modelo de primer orden.**

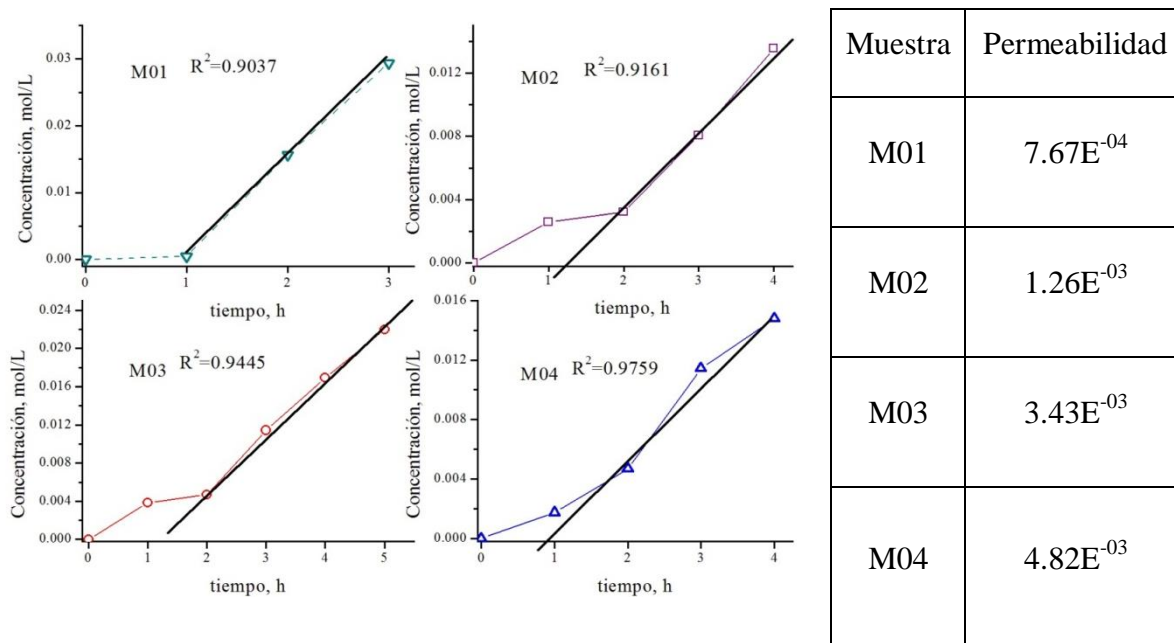
Membrana	Primer orden		
	$k_1$ (1/h)	$C_1^{cal}$ (mol/L)	$R^2$
M 01	0.0250	5.7190	0.9874
M 02	0.0378	5.9576	0.9982
M 03	0.0412	5.1360	0.9968
M 04	0.0274	5.7334	0.9995

La Figura 14 muestra el ajuste de datos a un modelo de segundo orden, donde claramente se observan un fuerte incremento de la relación  $t/C$  en los primeros tiempos del experimento. Los coeficientes de correlación son muy bajos, por lo que las constantes del modelo no tienen sentido. No obstante, se puede inducir que a cortos tiempos, la cinética de adsorción del NaCl sobre la membrana es rápida.

### 3.5.2 Cálculo de la permeabilidad

Los datos de concentración en los tiempos iniciales del experimento permitieron de calcular el valor de la permeabilidad, de acuerdo a lo indicado en la Ecuación 4. A tiempos de permeación, inferiores a 5 horas, se alcanza un estado estacionario que permite calcular la permeabilidad, extrapolando la pendiente de la recta para conocer el tiempo característico de permeación. En la Figura 15 se muestra la parte lineal del incremento de la concentración en función del tiempo para todas las membranas en estudio y los valores de la permeabilidad. El coeficiente de correlación en todos los casos fue cercano a uno. El proceso de permeación es lento, como lo indica el tiempo usado para alcanzar el estado

estacionario. Asimismo, la permeabilidad aumenta constantemente de acuerdo a la concentración nominal de glicerol usada durante la síntesis. Así, la membrana M04 muestra la más alta permeabilidad.



**Figura 15. Permeabilidad de las membranas a NaCl.**

El quitosano usado para la formación de las membranas está indicado de bajo peso molecular. Las viscosidades de las muestras se resumen en la Figura 6, donde se puede observar que éstas varían con la concentración de glicerol usado en la síntesis. De igual manera, el factor de hinchamiento incrementa cuando incrementa la concentración de glicerina usada en la síntesis. Así, es posible que el tamaño de las cavidades en las membranas esté aumentando, con el consecuente incremento de la permeabilidad.

Para determinar el efecto del incremento de los intersticios en la membrana, se realizaron experimentos de permeación con diferentes moléculas que se presentan en los siguientes párrafos.

### 3.6 Permeación con Sacarosa

La permeación de la sacarosa se realizó mediante la metodología mencionada en el capítulo II. La membrana fue puesta en el permeador por 48 horas a una temperatura de 8°C, se tomaron muestras cada 24 h y se cuantificó la concentración de sacarosa. En la Figura 16 se presenta la gráfica de la concentración de sacarosa en función del tiempo en ambos lados de la cámara de permeación. Es importante resaltar que no fue posible obtener más datos experimentales de la concentración de sacarosa, dado que se tenía que sacar una cantidad de muestra grande para introducirla en el polarímetro. No obstante, las gráficas muestran las tendencias de la concentración de sacarosa en el sistema de permeación. En las gráficas se observa que la concentración de sacarosa luego de dos días de experimentación sigue variando en ambas cámaras. Asimismo, la concentración final de sacarosa varía en función de la composición de la membrana, siendo las muestras M01 y M04 las que aparentemente muestran menores oscilaciones. Sin embargo, en la muestra M01 el punto de concentración final indica una fuerte disminución de la concentración de sacarosa en la cámara II, sin el consecuente incremento de la concentración de sacarosa en la cámara I. Este resultado podría asociarse a la adsorción de la sacarosa sobre la superficie de la membrana. Con la muestra M04 la tendencia es similar, pero la disminución de la concentración de sacarosa en la cámara II no es tan pronunciada como en la muestra M01. Adicionalmente, la concentración de sacarosa en la cámara I se incrementa más que con la muestra M01. Este resultado muestra que el tamaño de las cavidades en la membrana se incrementa con la adición de glicerina, permitiendo el paso de una molécula de mayor tamaño como lo es la sacarosa. Experimentos similares realizados con glucosa muestran que la permeabilidad de membranas a base de quitosano depende del peso molecular del quitosano [12]. Los valores de viscosidad obtenidos en este trabajo indican que la viscosidad incrementa al incrementar la concentración de glicerina en el medio de homogenización del quitosano.

Finalmente, la permeación de sacarosa es lenta, más que la permeación de NaCl mostrada en la sección anterior. Este resultado indica que la molécula de sacarosa tiene más dificultad para pasar a través de la membrana, posiblemente dado su tamaño cinético.

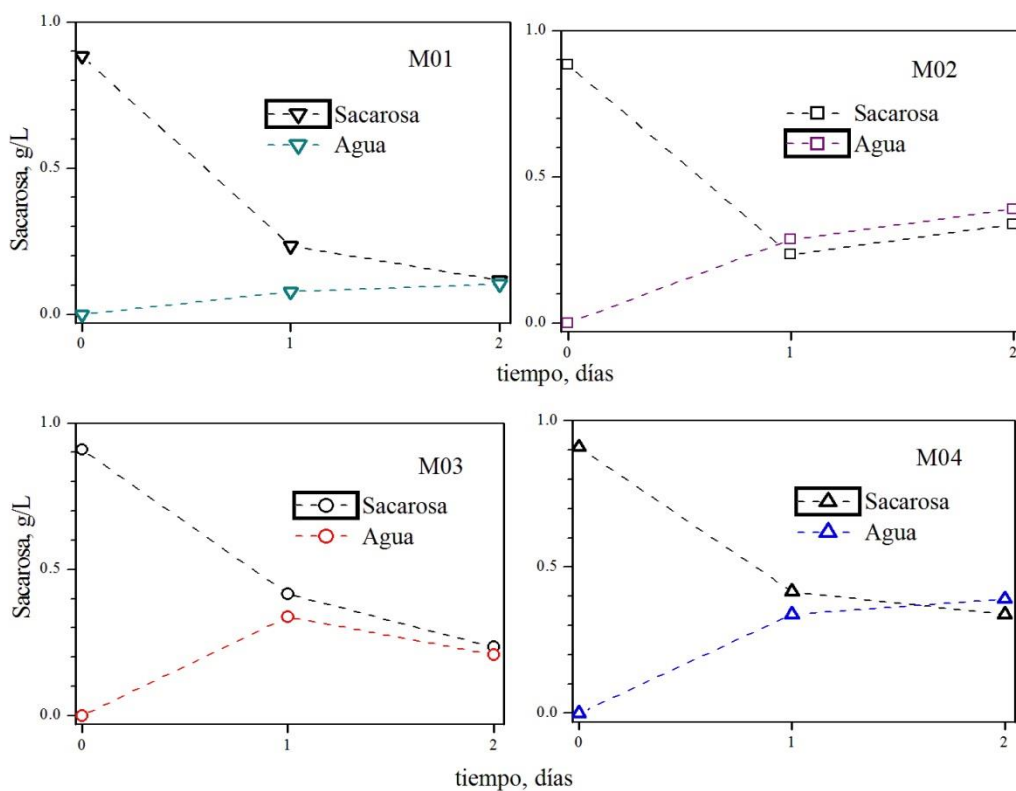


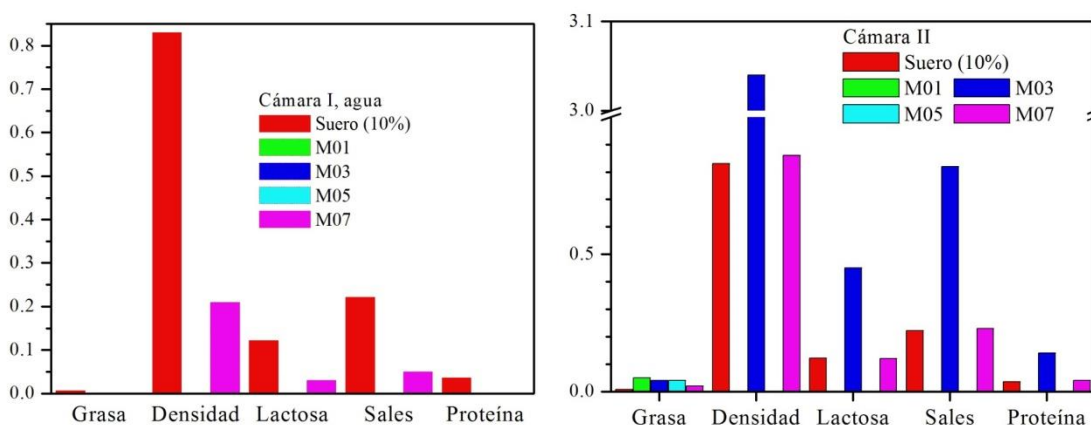
Figura 16. Permeación de la solución de sacarosa 1% w/v, a) M01, b) M02, c) M03 d)

**M04**

**3.7 Permeación con Lactosuero**

Para realizar la permeación con lactosuero se realizó, una solución al 10 % V/V a partir del suero, la solución fue depositada en la cámara II del permeador y la cámara I se llenó con agua destilada. El experimento se mantuvo por 72 horas, y no se realizó ninguna toma de muestra durante este tiempo. Al finalizar el experimento todas las muestras fueron medidas mediante lactoscan, para cuantificar la composición del permeado. La Figura 17 muestra el gráfico de la composición del lactosuero comparado con la composición de los elementos que analiza el equipo, para cada una de las membranas en estudio. La cámara I del sistema de permeación muestra que la composición del agua es inalterada en todos los casos excepto con la membrana M07. En ésta última, la densidad, el contenido de lactosa y sales se incrementa como resultado de la permeación. Por otra parte, la Figura 17b muestra la

composición de la cámara II, donde inicialmente estaba el lactosuero. Se observa que en todos los casos, la grasa disminuye en la cámara, indicando la reducción de ésta en la solución. De igual manera, solo las muestras M03 y M07 presentan incremento en los demás parámetros, siendo éstos superiores a los valores reportados para el lactosuero. Dado que en la cámara I no se detectó la presencia de éstos componentes, se piensa que el agua permea a través de la membrana, lo cual incrementa la concentración de los valores de referencia en la cámara II.



**Figura 17. Permeabilidad de las membranas a un lactosuero.**

Finalmente, la velocidad de permeación del lactosuero a través de la membrana es la más lenta de la serie de soluciones probada, Esto puede deberse a la complejidad en la composición del lactosuero, y al gran tamaño de los sólidos presentes en el mismo. Resultados similares han sido reportados para la permeación de albúmina de suero bovino, la cual se reporta como lenta en comparación con penetrantes de menor tamaño [**Error! arcador no definido.**].

### CONCLUSIONES

Se formaron una serie de membranas planas mediante el método de evaporación de la solución a temperatura constante. Las membranas fueron formadas a partir de quitosano con crecientes concentraciones de glicerina.

Las membranas fueron reticuladas bajo las mismas condiciones, y caracterizadas mediante el factor de hinchamiento en agua, espesor, FTIR, Tg.

Se analizaron los parámetros en estudio, donde se determinó que tanto el hinchamiento como la viscosidad se incrementan con el incremento de la concentración de glicerina.

El reticulante compite con la glicerina por los sitios de reticulación, lo cual modifica la homogeneidad estructural de las membranas. Esto se determinó mediante FTIR y DSC. En este último, se identificaron varios valores de la Tg, lo cual se asocia a la existencia de cadenas poliméricas de diferente tamaño.

Los experimentos de permeación a NaCl, sacarosa y un lactosuero, permitieron asociar dichas características a las velocidades de permeación de las membranas, siendo la muestra M07 la que aparentemente presenta intersticios de mayor tamaño.

### BIBLIOGRAFÍA

---

- [1] Hernández A., Tejerina F., Arribas J.I., Martínez L., *Procesos de transporte y separación de membranas*, Vol. IV, 1990.
- [2] Norman N., Anthony G., Fane S., *Membrane Technology and Applications*, Wiley, 2004, pp 1-7.
- [3] Scott K., *Handbook of Industrial Membranes*, Elsevier, 1995, pp 723-731.
- [4] Young I., Hong Kyoon N., Meyers S., Physicochemical characteristics and functional properties of various commercial chitin and chitosan products, *J. Agric. Food Chem.* 1998, pp 3839-3843.
- [5] Jolanta K., Mirko W., Czerwicka M., Kaczyński Z., Bychowska A., Brzozowski K., Thöming J., Stepnowski P., Influence of the Chemical Structure and Physicochemical Properties of Chitin- and Chitosan-Based Materials on Their Biomedical Activity.
- [6] Wang X., Shen Z., Zhang Q., A novel composite chitosan membrane for the separation of alcohol-water mixtures, *Journal Membranes Sci.*, 1996, 119, 191-198.
- [7] Cui Z., Xiang Y., Si Y., Yang M., Zhang Q., Zhang T., Ionic interaction between sulfuric acid and chitosan membranes, *Carbohydrate Polymers*, 73, 2008, pp. 111–116.
- [8] Shahidi F., Arachchi J., Jeon Y., Food applications of chitin and chitosans, *Trends Food Sci. Technol*, 1999, 10, pp 37-51.
- [9] Srinivasaa P.C., Rameshb M.N., Tharanathan R.N., Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films, *Food Hydrocolloids*, 21, 2007, pp 1113–1122.
- [10] Liu H.; Adhikari R.; Guo Q.; Adhikari B., Preparation and characterization of glycerol plasticized (high-amylose) starch–chitosan films, *Journal of Food Engineering*, 2013, 6, pp 588–597.
- [11] Feng Z., Shao Z., Yao J., Huang Y., Chen X., Protein adsorption and separation with chitosan-based amphoteric membranes. *Polymer*, 2009, 50, pp 1257–1263.
- [12] Chen X.G., Zheng L., Wang Z., Lee Y., Park H., Molecular Affinity and Permeability of Different Molecular Weight Chitosan Membranes, *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, pp. 5915-5918.

- [13] Sun J., Wu L., Polyether sulfone/hydroxyapatite mixed matrix membranes for protein purification, *Applied Surface Science*, 2014, 308, pp 155–160.
- [14] Liu G., Zhang L., Mao S., Rohani S., Ching C., Lu J., Zwitterionic chitosan-silica-PVA hybrid ultrafiltration membranes for protein separation, *Separation and purification technology*, 2015, 152, pp 55-63.
- [15] Pulko I., Smrekar V., Podgornik A., Krajnc P., Emulsion templated open porous membranes for protein purification, *Journal of Chromatography*, 2011, 1218, pp 2396–2401.
- [16] Zhu J., Tian M., Zhang Y., Zhang H., Liu J., Fabrication of a novel “loose” nanofiltration membrane by facile blending with Chitosan–Montmorillonite nanosheets for dyes purification, *Chemical Engineering Journal*, 2015, 265, pp 184–193.
- [17] Ashok M., Sajjan H., Mahadevappa Y., Synthesis and characterization of GTMAC grafted chitosan membranes for the dehydration of low water content isopropanol by pervaporation. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 25, 2015, pp 151–161.
- [18] Michel B., Rigñack C., Rivero J., Covas N., Síntesis y caracterización de hidrogeles biocompatibles interpenetrados de quitosana y poliacrilamida, *CENIC, Ciencias Químicas*, Vol. 39, 2, 2008, pp. 70-74.
- [19] Deeptangshu S., Benu P., Adhikari C., Kasapis S., Glass-transition behaviour of plasticized starch biopolymer system modified, *Food Hydrocolloids*, 25, 2011, pp. 114-121.
- [20] Martínez A.P., Cortez M.O., Ezquerro J.M., Graciano A.Z., Rodríguez F., Castillo M.M., Yépiz M.S., Plascencia M., Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal Properties, *Carbohydrate Polymers*, 2010, 82, pp 305–315.
- [21] Neto C., Giacometti J., Job A., Ferreira F., Fonseca J., Pereira M., Thermal Analysis of Chitosan Based Networks, *Carbohydrate Polymers*, 62, 2005, pp 97 - 103.
- [22] Ho Y., McKay G., A comparison of chemisorption kinetic models applied to pollutant removal on various sorbents, *Trans Chem.*, Vol. 76, Part B, 1998.