

25

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



RECUPERACION DE PROTEINA DEL SUERO
LACTEO POR ESPUMACION

T E S I S

MA. GRACIELA CHAVEZ GARCIA

INGENIERO QUIMICO

MEXICO, D. F.

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	pag.
INTRODUCCION	1
CAPITULO 1. ANTECEDENTES	2
CAPITULO 2. FISICOQUIMICA DE SUPERFICIES	8
<p>Tensión superficial. Tratamiento termodinámico de una superficie. Cantidades termodinámicas superficiales. Ecuación de Adsorción de Gibbs. Superficies curvas. Ec. de Young-Laplace. Tensoactivo. CMC.</p>	
CAPITULO 3. TEORIA SOBRE ESPUMAS	31
<p>Definición. Borde de Plateau. Estabilidad de la Espuma. Factores que determinan películas persistentes.</p>	
CAPITULO 4. FRACCIONACION DE ESPUMA COMO METODO DE SEPARACION	54
<p>Procesos de separación por adsorción en burbuja. Fraccionación de espuma. Modelos de operación. Aplicaciones.</p>	
CAPITULO 5. GENERALIDADES SOBRE EL SUERO LACTEO	69
<p>Definición y tipos de lactosuero. Principales componentes: lactosa y ácido láctico; proteínas, características y propiedades; sales y minerales.</p>	
CAPITULO 6. PROTOCOLO EXPERIMENTAL.	82
<p>Objetivos e Hipótesis. Descripción del equipo. Método y condiciones de operación.</p>	
CAPITULO 7. RESULTADOS Y ANALISIS DE DATOS	90
CONCLUSIONES	109
APENDICE	111
BIBLIOGRAFIA.....	116

I N T R O D U C C I O N

El suero lácteo, subproducto de la industria quesera, es una de las fuentes más importantes de proteína de alta calidad (comparable con la del huevo) y cuya recuperación es limitada debido a los altos costos que esto implica.

En este trabajo, un nuevo método de recuperación de proteína conocido como Fraccionación de Espuma es presentado. Este método está basado en las características anfipáticas que poseen las proteínas y por lo cual se comportan como tensoactivo o agente de superficie activa, adsorbiéndose en la superficie o intercara del sistema en que se encuentra, reduciendo la tensión superficial y con ello la energía libre superficial.

Una de las formas de crear superficie donde sea adsorbido el tensoactivo, es mediante la formación de burbujas que circulen a través del líquido de donde se desea separar el sustrato. Si el suero lácteo es sometido a este proceso, las burbujas formadas en su superficie, adsorberán las moléculas de proteína presentes en la solución, llevándolas hasta donde una columna de espuma es formada y en la cual se concentra el material adsorbido. Si esta espuma es separada, se estará separando el concentrado de proteína que las burbujas han adsorbido. Esta es la base del método Fraccionación de Espuma.

Esta técnica, presenta la ventaja de utilizar equipo muy simple de fácil manejo y de costo muy reducido siendo una buena alternativa para la recuperación de proteína del lactosuero.

CAPÍTULO I.

ANTECEDENTES

El suero de leche, es el subproducto líquido que resulta de la coagulación de ésta en el proceso de elaboración de queso. Debido a sus componentes, el suero presenta una alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO) del orden de 40 000 a 50 000 mg de oxígeno/litro, lo que lo hace un material extremadamente contaminante (1). Según F.J. Nieto(2), el vertido de un litro de suero en cuerpos acuíferos, supone la muerte por asfixia de todos los peces contenidos en 10 toneladas de agua.

Por otra parte, considerando que los componentes del suero en su mayoría, poseen valiosas características nutricionales como lo son: las proteínas hidrosolubles de alta calidad, comparables con las proteínas del huevo; la lactosa, indispensable en la alimentación de los lactantes y que no se encuentra en otras fuentes naturales; así como vitaminas y minerales, es comprensible el creciente interés en el aprovechamiento de este subproducto, especialmente en países como México que sufre graves problemas en la alimentación.

La producción mundial de lactosuero se ha ido incrementando en los últimos años (TABLA 1). Este aumento se debe fundamentalmente, a las restricciones legales cada vez más severas en contra de su descarga en ríos, lagos, etc., y al aumento de la producción quesera. Como consecuencia, en los países altamente industrializados, los fabricantes de queso se han visto obligados a encontrar alternativas para su utilización.

El uso más difundido del suero lácteo, es en forma directa como

alimento líquido para animales.

TABLA 1

(miles de toneladas)

PRODUCCION MUNDIAL DE LACTOSUERO					
PAIS	1969-1971	1977	1978	1979	1981
Prod. Mundial	56 539	76 078	78 619	80 757	
EUA	9 672	14 092	14 609	15 160	
URSS	7 374	10 657	11 144	10 963	
Francia	5 717	7 370	7 407	7 654	
R.F.A.	3 646	5 076	5 237	5 366	
Canada	890	1 189	1 231	1 372	
México(a)	648	734	705	739	779

* Considerando un rendimiento del 12%.

FUENTE: F.A.O. Production Yearbook. vol. 33 (1979).

(a) Según SARI. Instituto Nacional de la Leche.

Debido a que esta opción, no involucra ninguna transformación, esta ampliamente difundida en la alimentación de cerdos, ganado vacuno y pollos, aunque esta sujeto a la condición de que no se tenga que transportar a grandes distancias, ya que el suero líquido tiene gran proporción de agua (94%), lo que hace incosteable el transporte y reduce su capacidad de conservación.

Además hay que considerar que este uso es limitado debido a que los animales tienen una tolerancia relativamente baja al suero, ya que la lactosa se acumula en el aparato digestivo de los mamíferos adultos ante su incapacidad de hidrolizarla y asimilarla, provocando dis

turbios gastrointestinales severos. Existe además el inconveniente de que los nutrientes se encuentran muy diluídos, teniendo el animal que consumir grandes cantidades de agua para ingerir una cantidad significativa de ellos; por lo que generalmente se dá en proporciones bajas, mezclado en forrajes o sustituyendo el agua de bebida.

Otro uso que se le dá al suero sin transformación, es como fertilizante. En este caso se tiene la limitación de que sólo se requiere en determinadas épocas del año y el inconveniente de estar subutilizando compuestos de alto valor nutritivo (4). Ultimamente el suero líquido se ha utilizado para la elaboración de bebidas refrescantes mezclándolas con azúcar y jugos de frutas, las cuales pueden también fermentarse con la adición de microorganismos (4-7).

Por otra parte, el suero es un excelente medio de cultivo, por lo que se utiliza como substrato para la obtención de un gran número de productos obtenidos a través de fermentación.

El empleo de técnicas más sofisticadas, permite la utilización más completa del suero de queso. La más común a nivel industrial es el secado de suero por atomización. El suero en polvo se utiliza principalmente para sustituir a la leche descremada en polvo (8-10), en productos de panadería (5-11); galletas, confitería y botanas (8); helados y yoghurt (12,13); también se utiliza en la elaboración de leches maternizadas, ya que éstas requieren una mayor proporción de lactosa, lactoalbúminas y lactoglobulinas. Es también comercial la venta de suero condensado, cuya concentración es de 62-64% de sólidos totales (3).

Hasta aquí, se ha mencionado la utilización del suero entero en forma líquida, condensado o en polvo; sin embargo el desarrollo de nuevas técnicas de separación han permitido recuperar los principa

les componentes del suero: la lactosa y las proteínas; siendo de esta manera mejor aprovechados.

Los procesos tecnológicos de separación, se pueden dividir fundamentalmente en dos grupos: a) aquellos que mantienen las proteínas en estado nativo y b) aquellos que desnaturalizan las proteínas (1). De la primera categoría forman parte los procesos de membrana, que aún cuando se descubrieron en 1748 (cuando el Abete Nollet hizo sus primeros experimentos de ósmosis con vejigas de animales), son los métodos más empleados a escala industrial (14-16).

De interés directo para el aprovechamiento del suero, son los siguientes procesos de membrana:

La Ultrafiltración, la Osmosis Inversa y la Electrodiálisis.

La Ultrafiltración se efectúa con presiones del orden de 3 a 5 atm y retienen sustancias de alto peso molecular; es decir que en el caso del suero se obtendrá un concentrado proteico y un permeato que contiene la lactosa y sales minerales, lográndose eliminar del 70-90% de agua y reducir la DBO a 10-15%.

La Osmosis Inversa, se efectúa con membranas más cerradas y con presiones de 30-50 atm, reteniendo así sustancias de alto y mediano-peso molecular, lo que en el suero significa obtener un concentrado de suero desmineralizado rico en lactosa y proteína y un permeato de sales minerales, reduciendo al mínimo la DBO. Si se combinan en serie los dos procesos, gracias a la ultrafiltración se recuperan las proteínas y gracias a la ósmosis inversa, la lactosa.

La electrodiálisis, emplea membranas cargadas eléctricamente, que retienen o rechazan componentes, según su carga eléctrica.

Disponiendo en forma alternativa una serie de membranas aniónicas y catiónicas, se crean cámaras de concentración y cámaras de desmi

neralización del lactosuero.

Con estos procesos, la proteína separada, puede ser utilizada directamente en el enriquecimiento de otros alimentos, tales como bebidas dulces (17), pastas, harinas, tortillas (18), botanas (19), etc.; - mientras que el concentrado de lactosa o bien el suero desproteinizado y desmineralizado, puede utilizarse en la alimentación infantil, realizador de sabores (20,21); como medio de cultivo para hongos y levaduras (22,23); para la producción de biomasa, alcohol, ácido láctico, vinagre, vitaminas y enzimas (24-28), etc.

Todos estos procesos sin embargo, -incluyendo el de condensación y secado del suero entero-, aunque son muy eficientes, el costo del equipo es muy alto, por lo que su utilización queda restringido sólo a las grandes industrias.

El segundo tipo de separación de proteínas, se basa en la coagulación por calor o termocoagulación, donde ocurre una desnaturalización y agregación de las moléculas de proteína, las cuales son separadas mecánicamente (29). Esta técnica es quizá, uno de los procesos más antiguos de recuperación. En varios países se conocen quesos fabricados a partir de suero por este método, así en México encontramos el requesón; en los países escandinavos, el gjetost y el primost -- (con leche de cabra), etc.

En este trabajo se presenta un ensayo de una nueva técnica de recuperación de proteína, por medio del METODO DE FRACCIONACION DE ESPUMA. Las proteínas debido a su estructura, se comportan como tensoactivo o agente de superficie activa, el cual a bajas concentraciones, tiene la propiedad de adsorberse en la superficie o intercara del sistema en que se encuentra, reduciendo la tensión superficial y con ello, la energía libre superficial.

Una de las formas de crear superficie en donde sea adsorbido el tensoactivo de una solución, es mediante la formación de burbujas, las cuales se pueden producir cuando se introduce aire a través del líquido. Así si el suero lácteo es sometido a este proceso, las burbujas formadas, en su superficie adsorberán las moléculas de proteína presentes en la solución, llevándolas hasta donde se forma una columna de espuma y en la que se concentra el material adsorbido. Si esta espuma es separada, se estará separando el concentrado de proteína que las burbujas han adsorbido. Esta es la base del método de fraccionación de espuma.

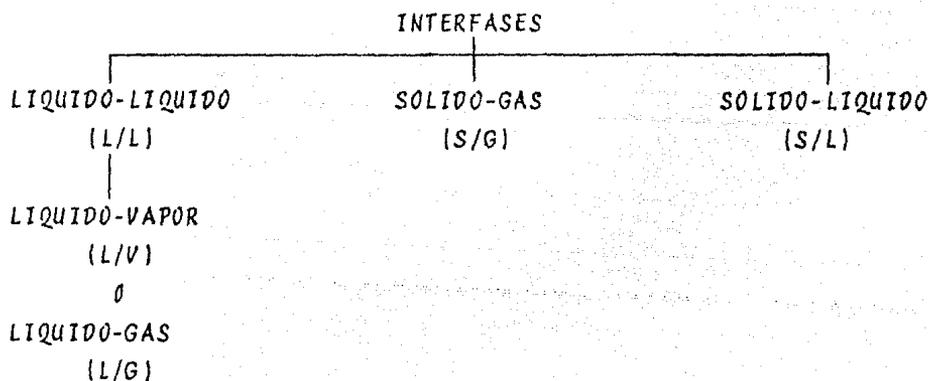
Una revisión de las bases fisicoquímicas de superficies y teoría sobre espumas junto con los métodos de operación de la Fraccionación de espuma, se hace necesario para su comprensión; la primera parte de este trabajo se refiere a ello. En segundo lugar, se presentan algunas características y propiedades del lactosuero lo que servirá para más adelante probar experimentalmente esta nueva alternativa de separación de proteína.

Este método presenta la ventaja de utilizar equipo muy simple de fácil manejo y de costo muy reducido, no requiriendo más que aire como materia prima, lo que lo hace accesible a cualquier fabricante de quesos, sobre todo a los pequeños y medianos productores, por lo que es una buena alternativa en este campo.

CAPITULO II .

FISICOQUIMICA DE SUPERFICIES.

La región que existe entre el seno de dos o más fases volumétricas en contacto, puede ser denominada como intercara o interfase. En ella se presentan propiedades físicas y características energéticas diferentes que en el interior de las fases. La Fisicoquímica de superficies, estudia los fenómenos que se producen en esta región. Existen diferentes clases de interfase, siendo la clasificación más general la siguiente(4):



La interfase en los sistemas L/V y L/G se le llama comunmente superficie, siendo aire generalmente el gas en el sistema L/G .

TENSION SUPERFICIAL.

Una propiedad común a todas las intercara, es la tensión interfacial (γ), o en el caso de sistemas L/V o L/G tensión superficial.

Consideremos una gota de líquido en equilibrio con su vapor y en ausencia de fuerzas externas, la gota espontaneamente asumirá la forma de una esfera, que corresponde al estado de mínima energía.

Para aumentar la superficie de dicha esfera, es necesario realizar un trabajo capaz de contrarrestar la fuerza que impide este aumento. Esta fuerza equivale a la tensión superficial.

El fenómeno puede ser en parte explicado por el hecho de que las moléculas superficiales tienen menos moléculas a su alrededor y en consecuencia menos interacción molecular que aquellas que se encuentran en el interior del líquido, como se puede ver en la figura 1:

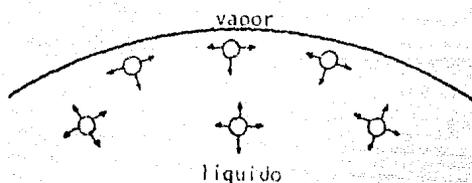


FIG. 1

Fuerzas de atracción entre moléculas, en la superficie y en el interior del líquido (5).

Estas fuerzas de atracción dan como resultado, una fuerza neta perpendicular a la superficie y dirigida hacia el seno del líquido, que en caso de una superficie plana corresponde a la tensión superficial. Cuando se trata de superficies curvas con radios de curvatura pequeños, la definición es similar aunque más compleja. Las unidades de la tensión superficial son expresadas en dinas/cm.

CONVENCION PARA EL TRATAMIENTO TERMODINAMICO DE UNA SUPERFICIE.

Para la descripción cuantitativa de este fenómeno, hay una incertidumbre en el hecho de no disponer de información precisa sobre el espesor de la interfase; es decir, es difícil saber donde se encuentra el límite entre el seno de las fases volumétricas y la interfase, ya que existe un cambio gradual de las propiedades a medida que se acerca a la interfase. Sin embargo se puede suponer que el estado característico de cada fase, se establece a muy poca distancia de la interfa

se, pudiéndose así distinguir entre las propiedades de las fases volumétricas y las propiedades de la interfase.

De acuerdo con esto, una forma para tratar una superficie es considerar a ésta como una fase, la cual está separada del seno de ambas fases y que además tiene un volumen y espesor finito. Esta fase puede ser tratada termodinámicamente como cualquier otra, excepto que el término relacionado con la tensión superficial debe ser incluido en la expresión termodinámica. La figura 2, interpreta este modelo. La región 1 y 2 son fases homogéneas bien definidas y separadas por una fase superficial plana S. La fase 1 es homogénea hasta el plano AA' y la fase 2 hasta el plano BB'. La fase superficial tiene un espesor arbitrario no menor al diámetro molecular.

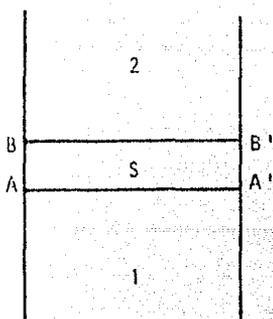


FIG. 2
CASO REAL

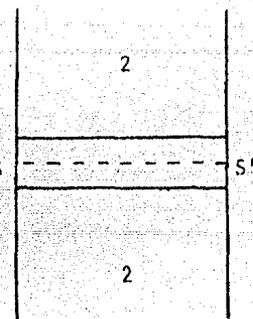


FIG. 3
CASO IDEAL

Por otra parte, Gibbs(6), sugirió otro modelo para formular la termodinámica de superficies. En su tratamiento la interfase está considerada únicamente como un plano matemático que separa las fases, en el cual cambian bruscamente las propiedades de una a otra fase.

(fig. 3). La superficie divisora está denotada como SS' y tiene por supuesto cero de espesor y volumen, encontrándose en alguna posición arbitraria. Para tener un significado más claro, podemos representar ambos modelos en un perfil de densidades; así considerando una columna que tiene una área transversal constante, la fase 1 ocupará el

espacio entre la altura $Z=0$ y Z_0 , y la fase 2 ocupará de Z_0 a Z .

La interfase estará localizada aproximadamente a Z_0 .

Si la densidad de la especie α se indica como una función de la posición, en la región cercana a Z_0 , la densidad cambiará ligeramente desde ρ_{α}^1 el valor en el seno de la fase 1 hasta ρ_{α}^2 el valor en el seno de la fase 2, tal como se muestra en la figura 4.a. Este perfil corresponde al modelo donde la interfase tiene un volumen y espesor finito. Sin embargo si se considera que el cambio de densidad no es gradual sino que bruscamente en Z_0 la densidad cambia de ρ_{α}^1 a ρ_{α}^2 , el perfil obtenido será el mostrado en la figura 4.b y que corresponde al modelo de Gibbs. (7)

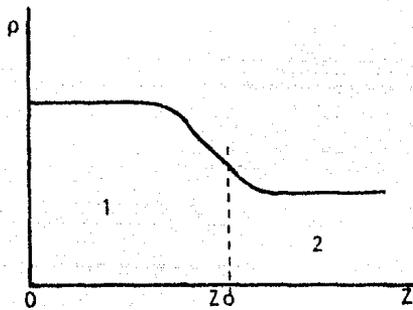


FIG. 4.a

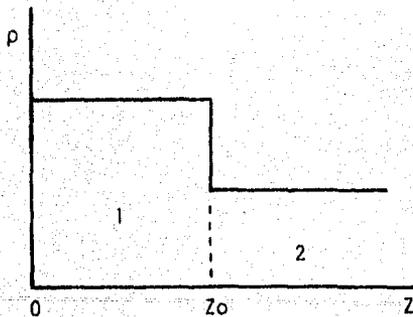


FIG. 4.b

PERFIL DE DENSIDADES

CANTIDADES TERMODINAMICAS SUPERFICIALES.

1. ENERGIA INTERNA.

Para un sistema cerrado homogéneo y en equilibrio, de una fase y un componente, la expresión de energía interna es (8):

$$dU = dQ_f + dW_f \quad \dots(1)$$

donde dQ_f y dW_f son respectivamente el calor y el trabajo intercambiado por el sistema y el subíndice f representa a cualquier fase.

Para un sistema en equilibrio, los cambios diferenciales son reversibles y si el trabajo está asociado totalmente con el cambio de volumen, entonces:

$$dQ_{f(\text{rev})} = TdS_f \quad \dots(2)$$

y

$$dW_f = -pdV_f \quad \dots(3)$$

donde V es el volumen, p es la presión, S la entropía y T la temperatura del sistema.

La ecuación (1) puede ser entonces escrita como:

$$dU_f = TdS_f - pdV_f \quad \dots(4)$$

En el caso especial de considerar la interfase, el trabajo efectuado modifica el área de la interfase, así como su volumen, por lo que:

$$dW_s = -pdV_s + \gamma dA \quad \dots(5)$$

donde γ es la tensión superficial, A es el área de la interfase y el subíndice s representa a la superficie.

Por lo tanto, si se considera un sistema heterogéneo cerrado formado por dos fases 1 y 2 y una interfase mutua en equilibrio, la expresión de energía interna para cada fase será:

para la fase 1:
$$dU_1 = TdS_1 - pdV_1 \quad \dots(6)$$

para la fase 2:
$$dU_2 = TdS_2 - pdV_2 \quad \dots (7)$$

para la interfase:
$$dU_s = TdS_s - dV_s + \gamma dA \quad \dots (8)$$

De donde la energía interna total será la suma de energías internas de cada fase, por lo que de (6), (7) y (8):

$$U = U_1 + U_2 + U_s \quad \dots (9)$$

y diferenciando:

$$dU = dU_1 + dU_2 + dU_s \quad \dots (10)$$

de donde finalmente:

$$dU = TdS - pdV + \gamma dA \quad \dots (11)$$

donde: $dS = dS_1 + dS_2 + dS_s$ y $dV = dV_1 + dV_2 + dV_s$.

La expresión (11) representa la energía interna total del sistema para un solo componente y dos fases de bulto.

En el caso de dos o más componentes, existirá transferencia de materia entre las fases, por lo que cada fase constituirá en realidad un sistema homogéneo abierto dentro del sistema total heterogéneo cerrado.

Aquí la energía interna no sólo es función de S , V y A , sino que también del número de moles de las diferentes especies presentes.

Por lo que para una fase volumétrica:

$$U_f = U_f(S, V, n_1, \dots, n_m)_f$$

De aquí, la variación de energía interna será:

$$dU_f = \left(\frac{\partial U}{\partial S}\right)_{V, n_j} dS_f + \left(\frac{\partial U}{\partial V}\right)_{S, n_j} dV_f + \sum_{i=1}^m \left(\frac{\partial U}{\partial n_i}\right)_{S, V, n_j} dn_i^f \quad \dots (12)$$

donde m es el número total de especies y n_j es el número de moles del componente j diferente de i .

Definiendo al potencial químico μ_i^\dagger como:

$$\mu_i = \left(\frac{\partial U}{\partial n_i} \right)_{S, V, n_j} \quad .(13)$$

Entonces, comparando (12) con (4), la expresión de energía interna puede escribirse como:

$$dU_f = TdS_f - pdV_f + \sum_{i=1}^m \mu_i^f dn_i^f \quad .(14)$$

Si la fase considerada es la interfase, la energía interna también dependerá de A por lo que:

$$U_s = U_s(S, V, A, n_1, \dots, n_m)_s$$

de donde, la variación de energía interna en la superficie será:

$$dU_s = \left(\frac{\partial U}{\partial S} \right)_{S_s, V_s, n_j^s} dS_s + \left(\frac{\partial U}{\partial V} \right)_{S_s, V_s, n_j^s} dV_s + \left(\frac{\partial U}{\partial A} \right)_{S_s, V_s, n_j^s} dA + \sum_{i=1}^m \left(\frac{\partial U}{\partial n_i} \right)_{S_s, V_s, A, n_j^s} dn_i^s \quad .(15)$$

Comparando (15) con (8), la ecuación anterior puede ser finalmente escrita como:

$$dU_s = TdS_s - pdV_s + \gamma dA + \sum_{i=1}^m \mu_i^s dn_i^s \quad .(16)$$

y de aquí se puede definir a la tensión superficial como:

$$\gamma = \left(\frac{\partial U_s}{\partial A} \right)_{S_s, V_s, n_i^s} \quad .(17)$$

Recordado de (10) que: $dU = dU_1 + dU_2 + dU_s$,

entonces, la expresión general de energía interna para un sistema heterogéneo cerrado para 2 o más componentes será:

† Esta es una de las formas en que puede ser definido el potencial químico μ_i , como una función de S, V y n_j , en el caso de no incluir los efectos superficiales.

$$dU = TdS - pdV + \gamma dA + \sum_{i=1}^m \mu_i dn_i \quad .(18)$$

de donde se puede definir la tensión superficial en términos de la energía interna total como:

$$\gamma = \left(\frac{\partial U}{\partial A} \right)_{S, V, n_i} \quad .(19)$$

2. ENERGIA LIBRE DE HELMHOLTZ.

Para un sistema homogéneo cerrado, la energía libre de Helmholtz está definida como:

$$A_f = U_f - TS_f \quad .(20)$$

que es la expresión que corresponde a cualquier fase con un componente. Diferenciando(20) se tiene:

$$dA_f = dU_f - TdS_f - S_f dT \quad .(21)$$

de donde sustituyendo la ecuación (4), finalmente:

$$dA_f = - S_f dT - pdV_f \quad .(22)$$

obteniendo la expresión de dA para cualquier fase.

En el caso especial de la interfase:

$$dA_s = - S_s dT - pdV_s + \gamma dA \quad .(23)$$

Por lo que si consideramos el sistema total heterogéneo cerrado para un solo componente:

$$dA = dA_1 + dA_2 + dA_s$$

de donde sustituyendo:

$$dA = - SdT - pdV + \gamma dA \quad .(24)$$

donde: $S = S_1 + S_2 + S_s$ y $dV = dV_1 + dV_2 + dV_s$.

o bien en un sistema heterogéneo cerrado para 2 o más componentes,

donde cada fase es un sistema homogéneo abierto, la expresión final de la energía libre de Helmholtz es:

$$dA = - SdT - pdV + \gamma dA + \sum_{i=1}^m \mu_i dn_i \quad (25)$$

definiendo así a la tensión superficial como:

$$\gamma = \left(\frac{\partial A}{\partial A} \right)_{T, V, n_i} \quad (26)$$

3. ENERGIA LIBRE DE GIBBS.

En forma similar que en los casos anteriores, la energía libre de Gibbs para un sistema homogéneo cerrado está definida como:

$$G_f = A_f + pV_f \quad (27)$$

diferenciando la ecuación anterior y sustituyendo en (21), se obtiene:

$$\begin{aligned} dG_f &= dU_f - TdS_f - S_f dT + pdV_f + V_f dp \\ &= - S_f dT + V_f dp \end{aligned} \quad (28)$$

que representa la expresión de dG para cualquier fase.

En el caso especial de la interfase:

$$dG_s = dU_s - TdS_s - S_s dT + pdV_s + V_s dp \quad (29)$$

de donde, combinando (8) con (29):

$$dG_s = - S_s dT + V_s dp + \gamma dA \quad (30)$$

Considerando ahora, a todo el sistema heterogéneo cerrado:

$$dG = dG_1 + dG_2 + dG_s \quad (31)$$

de donde sustituyendo:

$$dG = - SdT + Vdp + \gamma dA \quad (32)$$

que es la expresión de dG en todo el sistema si se tiene sólo un componente.

En el caso de un sistema heterogéneo cerrado con 2 o más componentes,

donde cada fase representa un sistema homogéneo abierto, la expresión de dG será:

$$dG = -SdT + Vdp + \gamma dA + \sum_{i=1}^m \mu_i dn_i \quad .(33)$$

Así de (33) se obtiene que:

$$\gamma = \left(\frac{\partial G}{\partial A} \right)_{T,p,n_i} \quad .(34)$$

que corresponde a la definición de tensión superficial en términos de la energía libre de Gibbs, así como: (sin contar los fenómenos superficiales):

$$\mu_i = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i} \right)_{T,p,n_j} \quad .(35)$$

siendo esta última expresión una definición equivalente de potencial químico, en donde G y μ_i dependen de las mismas variables naturales que son la presión y la temperatura.

Por otra parte, de las ecuaciones (19), (26) y (34) donde se define a la tensión superficial como una variación de la energía con respecto al área, se puede deducir que efectivamente para la gota de líquido considerada al principio, el estado de mínima energía corresponde cuando la gota asume la forma esférica, que equivale a la mínima área que la gota puede adoptar.

ECUACION DE ADSORCION DE GIBBS.

De la ecuación (23) para un sistema de varios componentes, sabemos que dA_s esta definida como:

$$dA_s = -S_s dT - p dV_s + \gamma dA + \sum_{i=1}^m \mu_i dn_i^s \quad (36)$$

Por el teorema de Euler y a temperatura, presión, μ_i y γ constantes, resulta que:

$$A_s = -pV_s + \gamma A + \sum_{i=1}^m \mu_i n_i^s \quad (37)$$

Si ésta ecuación es diferenciada, se tiene:

$$dA_s = -p dV_s - V_s dp + \gamma dA + A d\gamma + \sum_{i=1}^m \mu_i dn_i^s + \sum_{i=1}^m n_i^s d\mu_i \quad (38)$$

de donde comparando (38) con (36) necesariamente se llega a que:

$$-S_s dT - V_s dp + A d\gamma + \sum_{i=1}^m n_i^s d\mu_i = 0 \quad (39)$$

Si consideramos la convención de Gibbs, donde $V_s = 0$ y manteniendo la temperatura constante, entonces:

$$A d\gamma + \sum_{i=1}^m n_i^s d\mu_i = 0 \quad (40)$$

o bien, dividiendo entre el área:

$$d\gamma = - \sum_{i=1}^m \Gamma_i d\mu_i \quad (41)$$

donde:

$$\Gamma_i = \frac{n_i^s}{A} \quad (42)$$

que es la concentración superficial en exceso.

La ecuación (41) corresponde a la expresión general de la ecuación de Adsorción de Gibbs, la cual relaciona la concentración superficial en exceso con la tensión superficial, pudiendo haber sido definida igualmente a partir de las expresiones de energía interna o energía

libre de Gibbs.

Se observa por lo tanto, que la tensión superficial varía con la composición, a consecuencia de la adsorción de uno o más solutos en la superficie, (definiendo a la adsorción como el reparto de especies químicas entre el seno de las fases volumétricas y la interfase).

Para un sistema de dos componentes y dos fases, la ecuación de Adsorción de Gibbs adquiere la forma:

$$- d\gamma = \Gamma_1 d\mu_1 + \Gamma_2 d\mu_2 \quad (43)$$

donde los índices 1 y 2 se refieren a los componentes 1 y 2 de la mezcla.

Si la convención de Gibbs sobre superficies es usada, tal que $\Gamma_1 = 0$ y la concentración superficial de 2 bajo esta condición es escrita como Γ_2^1 , la cual puede ser nombrada como adsorción relativa, entonces:

$$- d\gamma = \Gamma_2^1 d\mu_2 \quad (44)$$

donde el componente 2 es el soluto y 1 es el solvente.

Si recordamos que: $\mu_2 = \mu_2^0 + RT \ln a_2$

entonces diferenciando:

$$d\mu_2 = RT d \ln a_2 \quad \text{a temperatura constante.}$$

donde μ_2^0 es el potencial químico estandar del componente 2 en la solución y a_2 es la actividad, por tanto, sustituyendo en (44):

$$\Gamma_2^1 = - \frac{1}{RT} \left(\frac{d\gamma}{d \ln a_2} \right)_T \quad (45)$$

ecuación que se conoce como isotérma de adsorción de Gibbs, la cual para soluciones diluidas en donde la concentración es aproximadamente igual a la actividad, la ecuación (45) puede escribirse como:

$$\Gamma_2^1 = - \frac{1}{RT} \left(\frac{d\gamma}{d \ln C_2} \right)_T \quad .(46)$$

o bien:

$$\Gamma_2^1 = - \frac{C_2}{RT} \left(\frac{d\gamma}{dC_2} \right)_T \quad .(47)$$

Por otro lado, si se considera que la interfase tiene un espesor finito, Γ_1 y Γ_2 serán las concentraciones totales de 1 y 2 en la superficie, por lo que ambas deben ser consideradas. En este caso, y por medio de la relación de Gibbs-Duhem para dos componentes a T y p constantes, se tiene:

$$x_1 d\mu_1 = - x_2 d\mu_2$$

para la fase líquida, donde x_1 y x_2 son las fracciones mol de los componentes 1 y 2; por lo tanto, la ecuación (43) puede ser escrita como:

$$- d\gamma = \left(\Gamma_2 - \frac{x_2}{x_1} \Gamma_1 \right) d\mu_2 \quad .(48)$$

de tal manera que:

$$\Gamma_2 - \frac{x_2}{x_1} \Gamma_1 = - \frac{1}{RT} \left(\frac{d\gamma}{d \ln a_2} \right)_T \quad .(49)$$

si comparamos (49) con (45) se llega a que:

$$\Gamma_2^1 = \Gamma_2 - \frac{x_2}{x_1} \Gamma_1$$

mostrando que Γ_2^1 representa una concentración superficial en exceso. Para soluciones diluidas con solutos fuertemente adsorbidos, sin embargo $\frac{x_2}{x_1}$ es pequeño, por lo que:

$$\Gamma_2^1 \approx \Gamma_2$$

por lo que la ecuación (47) queda representada en general, para cualquier soluto como:

$$\Gamma = - \frac{C}{RT} \left(\frac{d\gamma}{dC} \right)_T \quad .(50)$$

La ecuación de Gibbs, es una expresión termodinámica para determinar la cantidad de material adsorbido en la superficie (tales como los tensoactivos, de los que se hablará más adelante), para sistemas -- donde la tensión superficial es fácilmente medible como son los sistemas L/L y L/V . En otros sistemas donde la concentración superficial puede ser medida directamente pero no la tensión superficial, como es el sistema S/G , la ecuación de Adsorción de Gibbs puede ser también usada para evaluar la tensión superficial, que de otra manera no sería posible.

SUPERFICIES CURVAS.

Al inicio de este capítulo, se definieron las variaciones de energía interna para cada una de las fases así como la interfase: ecuación (6), (7) y (8). En esos casos se supuso sin embargo, que la presión en ambas fases es la misma debido a que la superficie es plana. En el caso de superficies curvas, las consideraciones son diferentes por lo que los cambios de energía interna serán:

$$\text{para la fase 1 :} \quad dU_1 = TdS_1 - p_1dV_1 \quad .(51)$$

$$\text{para la fase 2 :} \quad dU_2 = TdS_2 - p_2dV_2 \quad .(52)$$

$$\text{para la interfase:} \quad dU_s = TdS_s + \gamma dA \quad .(53)$$

esta última ecuación, considerando el modelo de Gibbs, donde $dV_s = 0$.

Con lo anterior y sabiendo que la energía total es: $dU = dU_1 + dU_2 + dU_s$, entonces:

$$dU = TdS - p_1dV_1 - p_2dV_2 + \gamma dA \quad .(54)$$

donde: $dS = dS_1 + dS_2 + dS_s$ y $dV = dV_1 + dV_2$ o $dV_1 = dV - dV_2$ por lo que la ecuación (54) puede escribirse finalmente como:

$$dU = TdS - p_1dV + (p_1 - p_2)dV_2 + \gamma dA \quad .(55)$$

Considerando por otra parte, una gota de radio R tal como se ilustra en la figura 5:

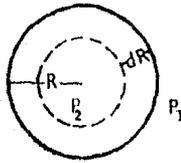


FIG. 5

donde p_1 es la presión externa y p_2 es la presión dentro de la gota.

Si la entropía total y el volumen externo permanecen constantes, $dS=dV_1=0$ y como en el equilibrio $dU=0$, entonces la ecuación (55) se reduce como:

$$(p_1 - p_2)dV_2 + \gamma dA = 0 \quad .(56)$$

Puesto que el área de una esfera es $A=4\pi R^2$ y el volumen: $V_2=\frac{4}{3}\pi R^3$ entonces, si el radio disminuyera en dR ; $dA=8\pi R dR$ y $dV_2=4\pi R^2 dR$, de donde sustituyendo en (56):

$$(p_1 - p_2)4\pi R^2 dR = - \gamma 8\pi R dR \quad .(57)$$

o bien:

$$p_2 = p_1 + \frac{2\gamma}{R} \quad .(58)$$

lo que significa que a medida que el radio de la gota disminuya, (o aumente la curvatura $1/R$), su presión será mayor en comparación con el exterior.

ECUACION DE YOUNG-LAPLACE.

La ecuación (58) es un caso particular de la ecuación general de Young-Laplace(1805) (12); donde es necesario considerar dos radios principales de curvatura para describir cualquier superficie curva. Una sección diferencial de una superficie arbitraria se muestra en

en la figura 6. En ella se indican los radio de curvatura R' y R'' .

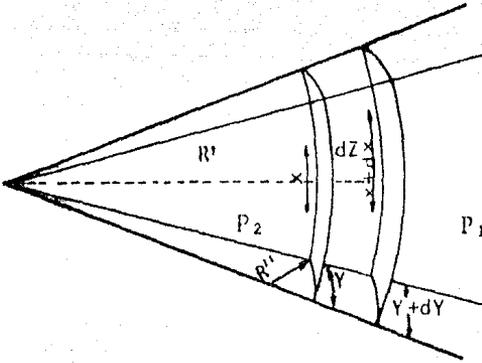


FIG. 6

El área de la superficie 1 como se aprecia en el esquema, corresponde a $A = xy$. Si la superficie es expandida, una distancia dZ , entonces el cambio de área será:

$$\Delta A = (x + \Delta x)(y + \Delta y) - xy = xdy + ydx \quad .(59)$$

mientras que el volumen será:

$$dV = xydZ \quad .(60)$$

Por comparación de triángulos similares se sigue que:

$$\frac{x + dx}{R' + dZ} = \frac{x}{R'} \quad \text{i.e.} \quad dx = \frac{xdZ}{R'}$$

y

$$\frac{y + dy}{R'' + dZ} = \frac{y}{R''} \quad \text{i.e.} \quad dy = \frac{ydZ}{R''}$$

sustituyendo entonces en la ecuación (56), obtenemos finalmente:

$$-(p_1 - p_2)xydZ = \gamma \left(\frac{1}{R''} + \frac{1}{R'} \right) xydZ$$

o lo que es lo mismo:

$$(p_2 - p_1) = \gamma \left(\frac{1}{R'} + \frac{1}{R''} \right) \quad (61)$$

que es la ecuación fundamental de capilaridad de Young-Laplace.

La ecuación anterior, describe el comportamiento de una superficie-curva tal como los meniscos y gotas formadas por líquidos en aire - o en otro líquido, así como en películas delgadas semejantes a las formadas entre las burbujas de una espuma.

Es de notar que en el caso de una esfera $R'' = R'$ por lo que la ecuación (61) se reduce a la ecuación (58); mientras que para una superficie plana $R \rightarrow \infty$; de donde $\Delta p = 0$, lo que significa que $p_1 = p_2$ tal como se consideró al principio de este capítulo.

TENSOACTIVO Y CONCENTRACION MICELAR CRITICA.

Un agente de actividad superficial o tensoactivo, es una sustancia que tiene la propiedad de adsorberse en la superficie o intercara del sistema en el que se encuentra, reduciendo la tensión superficial y el trabajo mínimo necesario para expandir una superficie (9).

En contraste, existen otros agentes que incrementan la tensión superficial del sistema, tendiendo a concentrarse en el seno de la solución.

Por lo anterior y de la ecuación (50), se puede observar que si la tensión superficial disminuye con el aumento de la concentración, entonces $d\gamma / dC$ es negativo y por lo tanto Γ es positivo, significando que hay un aumento de soluto en la intercara; este es el caso que presentan los materiales tensoactivos.

Si por el contrario, la tensión superficial aumenta con el incremento de la concentración $d\gamma / dC$ es positivo y Γ negativo, existiendo en este caso una disminución de soluto en la intercara o adsorción en exceso negativa. (figura 7)

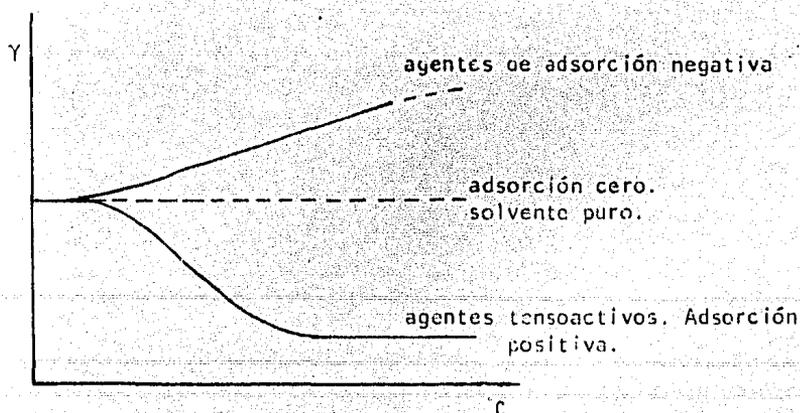


FIG 7. VARIACION DE Y CON RESPECTO A LA CONCENTRACION C

Algunos ejemplos de agentes que producen adsorción negativa en exceso negativo son: sales inorgánicas como hidróxido de sodio; cloruro de potasio, de sodio, de magnesio, de calcio; compuestos orgánicos como: sacarosa, glicerina, acetona en éter etílico, etc. [53].

ESTRUCTURA Y COMPORTAMIENTO DE UN TENSOACTIVO.

Los agentes tensoactivos tienen una estructura molecular característica, consistiendo de un grupo estructural que tiene muy poca atracción por el solvente conocido como grupo liofóbico, junto con un grupo que tiene fuerte atracción por el solvente llamado grupo liofílico. Este tipo de moléculas se llaman anfipáticas(9). Cuando un agente tensoactivo está disuelto en un solvente, por ejemplo agua; la presencia del grupo liofóbico (o hidrofóbico en este caso), estimula al tensoactivo a separarse del solvente, trayendo como resultado, la acumulación del tensoactivo en la superficie. Por otra parte, la presencia del grupo liofílico (o hidrofílico, si el solvente es agua), evita que el tensoactivo sea llevado fuera del solvente totalmente.

La estructura anfipática del tensoactivo, causa por lo tanto, no solamente la concentración de éste en la superficie y la reducción de tensión superficial, sino también la orientación de las moléculas en la superficie, con su extremo hidrofílico orientado hacia la fase acuosa y su extremo hidrofóbico dirigido fuera de ésta. figura 8.

La estructura liofílica o liofóbica varía con la naturaleza del solvente así como su uso. En un solvente altamente polar como el agua, el grupo liofóbico podría ser una larga cadena hidrocarbonada, mientras que un grupo altamente polar actuará como extremo liofílico; en cambio si el solvente es no polar, la cadena hidrocarbonada actuará como grupo liofílico mientras que el extremo polar, como grupo liofóbico.

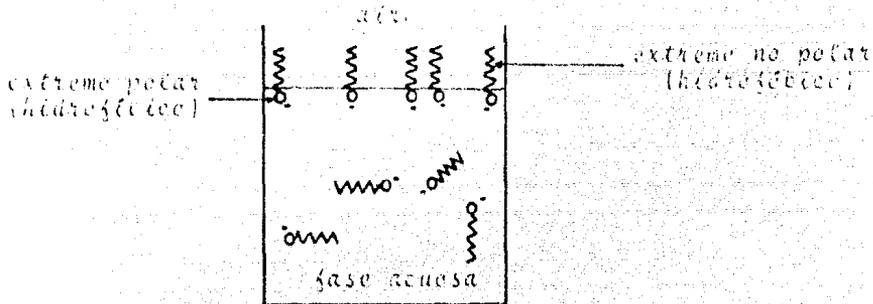


FIG. 8 Representación de la acumulación de tensoactivo en la superficie. Extremo polar, dirigido hacia la fase acuosa, extremo no polar dirigido hacia la fase gaseosa.

FORMACION DE MICELAS Y CONCENTRACION MICELAR CRITICA (CMC).

Una propiedad de los tensoactivos en solución que es tan significativa como el de adsorberse en la superficie, es la formación de micelas. Las micelas, son agregados moleculares de tensoactivo con sus grupos liofóbicos orientados hacia el interior de la agrupación y los grupos liofílicos, orientados hacia el solvente. figura 9.

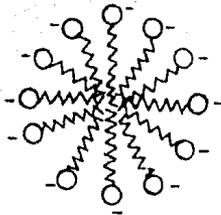


FIG. 9
Esquema de una micela.

La formación de micelas ocurre después de que la superficie está saturada de tensoactivo que ha sido adsorbido; así, si existe aumento de la concentración del tensoactivo en la solución, los grupos hidrofóbicos serán removidos del contacto directo del solvente por medio de la formación de micelas. Debido a que en este caso ya no existe adsorción en la superficie, la tensión superficial prácticamente no cambia, no obstante que la energía del sistema se minimiza.

Reproduciendo la figura 7, donde se presenta la curva de tensión superficial contra concentración para un tensoactivo, se observa lo siguiente: figura 10.

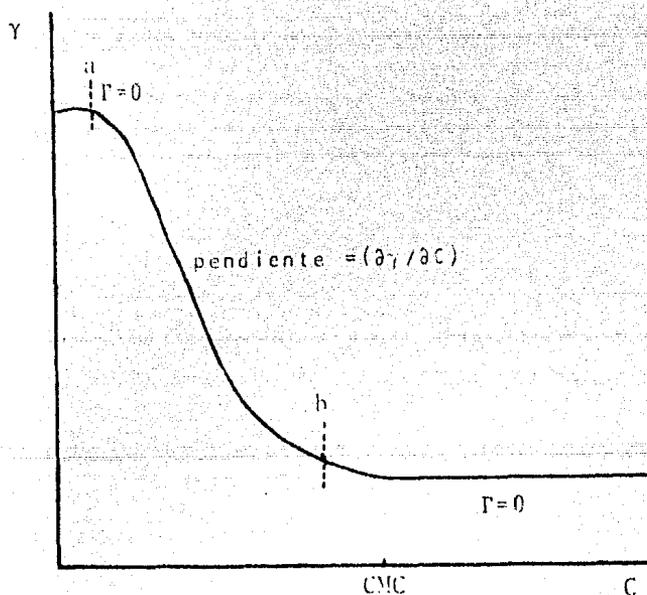


FIG.10 Variación de la tensión superficial con respecto a la concentración de tensoactivo, donde la pendiente = $d\gamma/dC$ y $\Gamma = C/RT (d\gamma/dC)$. (8)

A muy bajas concentraciones ($C < a$), poca adsorción ha ocurrido, por lo que la tensión superficial es prácticamente la del solvente. A concentraciones intermedias ($a < C < b$); se observa un cambio brusco en la

tensión superficial con respecto a la concentración ($d\gamma/dc$); por lo que, recordando la ecuación de adsorción de Gibbs (ecuación 47), existe adsorción. En la región por arriba de la concentración b , se ve que la pendiente tiende a cero. Es en esta región donde ocurre la formación de micelas. La concentración a la cual la formación de micelas es apreciable, se conoce como CONCENTRACION MICELAR CRITICA, CMC; y como se puede observar en la gráfica, es justamente a esta concentración en donde la tensión superficial alcanza un mínimo. (11)

ESTRUCIURA Y FORMA DE LA MICELA.

La forma y estructura de una micela es aún discutido; sin embargo, se ha propuesto que la estructura de la micela en medio acuoso y en concentraciones no muy arriba de CMC y en ausencia de aditivos que pueden ser solubilizados por la micela, puede adquirir la forma de una tosca esfera, conteniendo los grupos liofóbicos en el interior, rodeados por los grupos liofílicos hidratados en el exterior. (ver figura 9).

En micelas iónicas, la región interior está rodeada por grupos de cabezas iónicas.

Cambios en temperatura, concentración del tensoactivo, aditivos (orgánicos o iónicos) así como grupos en la estructura del tensoactivo, pueden cambiar el tamaño, forma y número de agregados en la micela. En soluciones concentradas diez veces mayores a la CMC, las micelas generalmente ya no son esféricas.

Por otra parte, las micelas han llegado a ser un tema de gran interés en la química orgánica y bioquímica debido a su semejanza con membranas biológicas y proteínas globulares.

CAPITULO III .

TEORIA SOBRE ESPUMAS.

ESPUMAS .-

Las espumas son sistemas coloidales; y dentro de esta clasificación puede considerarse la espuma, como un gas disperso en una fase líquida en relación tal, que su densidad es más cercana a la del gas que a la del líquido. (10)

La espuma es producida cuando aire o algún otro gas, es introducido por debajo de la superficie de un líquido, el cual se expande para cercar al gas con una película de líquido; (esta operación puede ser efectuada por medio de agitación; introduciendo directamente un flujo de gas; o bien, por una reacción química producida en el líquido y con desprendimiento de gas tal como en las fermentaciones).

La espuma puede ser también definida como una colonia o aglomeración de burbujas de gas, cuyas paredes están separadas entre sí, por una delgada película de líquido con aproximadamente lados paralelos planos y en cuyo interior tiene disuelto un tensoactivo soluble que -- estabiliza la espuma. A esta película líquida cuyos lados corresponden a las paredes de dos burbujas contiguas, se conoce como :

" lamella " de la espuma. Las características propias de la espuma tal como se verá más adelante, corresponden esencialmente a aquellas de la lamella , y el gas simplemente sirve para separar las paredes (13).

Dispersiones de gas en líquido, en las cuales el espesor de la pelí

cula líquida es al menos comparable con el diámetro de la burbuja, se conocen como "emulsiones de gas".

La diferencia entre espumas y emulsiones de gas no está cuantitativamente definida, sin embargo se puede decir que para 1cm^3 de espuma o emulsión de gas, que tiene $\xi\text{ cm}^3$ de líquido y $(1 - \xi)\text{cm}^3$ de gas, si $\xi < 0.1$ se dice que es una espuma, mientras que si $\xi > 0.9$, se hablará de una emulsión gas. La región intermedia se conoce como Zona gris. (14)

Por otra parte, la diferencia de presión a través de una interfase-curva debida a la tensión superficial de la solución está dada por la ecuación de Young-Laplace (ec. 61), la cual en el caso de superficies planas $R' = R'' = \infty$ y por lo tanto $\Delta P = 0$, mientras que en el caso de una esfera $R' = R'' = R$ y :

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{R}$$

De la ecuación anterior, se llega a la conclusión, que una burbuja muy pequeña tiene una presión interna mucho mayor que la presión exterior. Este resultado es facilmente verificado experimentalmente colocando dos burbujas de gas con una conexión de aire en común tal como se ilustra en la figura 11.

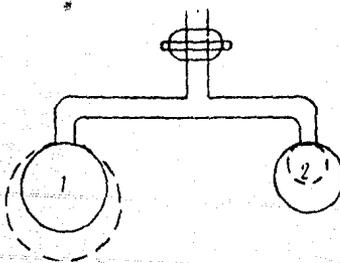


FIGURA 11

Como la presión externa es la misma en ambas burbujas y si las tensiones superficiales son las mismas, el radio debería de ser igual-

si la presión en ambas burbujas fuera la misma, como es requerido para un equilibrio mecánico; sin embargo, como la burbuja 2 es inicialmente más pequeña que la burbuja 1 como se observa en la figura 11, significa que la presión en 2 es mayor que en la burbuja 1, por lo que una pequeña cantidad de gas es transferida de la burbuja 2 hacia la 1; de esta manera la burbuja 1 crecerá, mientras que la burbuja 2 encogerá aún más, hasta desaparecer (15).

De lo anterior se explica porque en una espuma, que resulta del contacto de dos o más burbujas, se observa que burbujas de mayor radio crecen a costa de la disminución de burbujas de menor radio. figura 12.

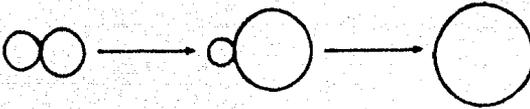


Fig.12 Desarrollo del crecimiento de burbuja, por el contacto de dos burbujas.

BORDE DE PLATEAU .-

Donde 3 o más burbujas se encuentran, las lamellas (o películas delgadas de líquido planas entre dos burbujas) se hacen curvas, con cavas hacia las celdas del gas, formando lo que se conoce como : Borde de Plateau o Triángulo de Gibbs, figura 13.

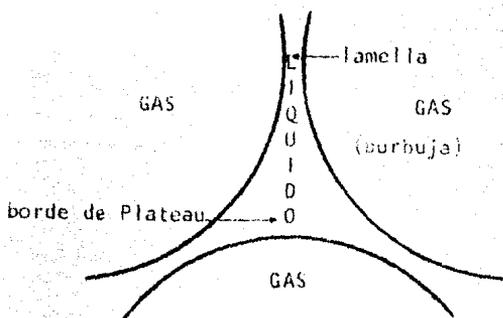


FIG. 15 Borde de Plateau

Como la curvatura de la lamella es mayor en el Borde de Plateau, existe una diferencia de presión a través de la interfase en esa -- región. Puesto que la presión del gas P_0 dentro de cada celda individual es en cualquier lugar del bulto la misma, la presión del líquido dentro del Borde de Plateau P_L , debe ser menor que en las regiones adyacentes, donde la curvatura es cero y por lo tanto la presión es igual a la del interior de las burbujas. figura 14.

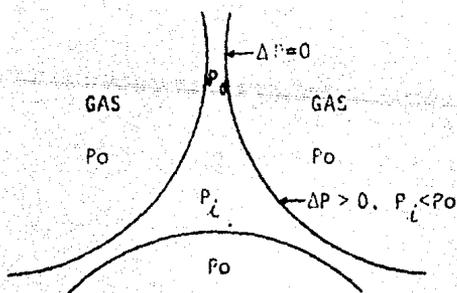


FIG. 14

Esta diferencia de presión en el borde de Plateau, causa drenaje de líquido de la lamella plana, hacia el borde de Plateau, produciendo como consecuencia un progresivo adelgazamiento de la lamella así como un aumento en el volumen de las burbujas.

Un esquema en el que muestra la evolución de la espuma, es el siguiente: figura 15.

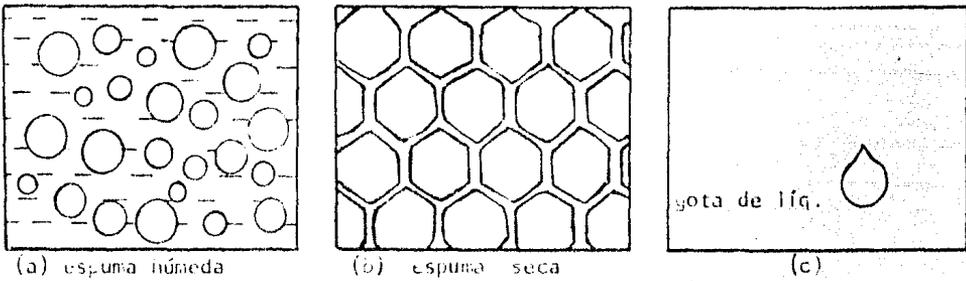


FIG. 15

Al principio, las burbujas son pequeñas y están separadas por una película líquida relativamente grande (fig. 15.a). A medida que el tiempo transcurre y debido al drenaje en los bordes de Plateau, dicha película líquida se va haciendo más delgada, creciendo al mismo tiempo el tamaño de las burbujas; de esta manera la espuma más vieja y mejor drenada, consiste de celdas polihédricas, separadas únicamente por una muy delgada *lamella* (fig. 15.b). Si la espuma no se estabiliza, llegará el momento que la alta energía superficial de la espuma la hagan termodinámicamente inestable (16), por lo que la espuma se reducirá finalmente a una gota de líquido, que es el área mínima que puede alcanzar y que corresponde al estado de mínima energía, tal como fue mencionado en la sección anterior (Fig. 15.c). A menudo para distinguir entre el tipo de espuma cuyas burbujas son pequeñas y su película líquida relativamente grande, de aquellas espumas bien drenadas; a las primeras se les llama comúnmente espumas húmedas, mientras que a las segundas espumas secas.

En ocasiones es conveniente incluir el efecto de la presión hidrostática (como en el caso de una columna de espuma), ya que líquido también drena debido a su influencia. Por lo que en una columna de espuma, las *lamellas* o películas líquidas, son más delgadas en la región superior de la columna y más gruesas en la parte inferior.

ESTABILIDAD DE LA ESPUMA.

INFLUENCIA DE LA TENSION SUPERFICIAL Y MODULO DE ELASTICIDAD DE GIBBS.

En el equilibrio cuando una masa esférica esta rodeada por una masa infinitamente grande de naturaleza diferente, la ecuación de Laplace debe cumplirse , por lo que regresando a la ecuación (58) se tiene:

$$2\gamma = R(p_2 - p_1) \quad \text{y} \quad \frac{dp}{dR} = 0$$

de donde para un estado de equilibrio que está sobre los límites de estabilidad e inestabilidad, es necesario que:

$$2d\gamma = (p_2 - p_1)dR + Rdp_2 \quad .(62)$$

sea cumplida, de donde $d\gamma$, dp_2 y dR están determinadas por ecuaciones fundamentales y sobre la suposición que la condición de equilibrio relativa a temperatura y viscosidad son satisfechas. Con lo anterior, Gibbs (6) establece, que el equilibrio es estable si:

$$\frac{Rdp_2}{dR} < \frac{2d\gamma}{dR} - (p_2 - p_1) \quad .(63)$$

ya que los cambios de presión con respecto al radio son muy lentos (semejante a jalar una liga lentamente, dando oportunidad a que se alargue sin romperse); mientras que si:

$$\frac{Rdp_2}{dR} > \frac{2d\gamma}{dR} - (p_2 - p_1) \quad .(64)$$

se dice que el equilibrio es inestable, lo que significa que los cambios de presión con respecto al radio, son muy rápidos y no permite la estabilidad del sistema. (semejante a la liga, que si es es-

tirada bruscamente, se rompe).

Ahmad (17), aunque basándose en los estudios de Gibbs, llega a otro criterio de estabilidad. El considerará que bajo condiciones de estabilidad:

$$\frac{dp}{dR} < 0$$

lo que corresponde a las deformaciones ordinarias, en que para todo incremento del radio, existe una disminución en la presión. Puesto que la diferencia de presión a través de una interfase curva como es una esfera, está dada por la ecuación (58): $p_2 - p_1 = 2\gamma/R$, esto significa que:

$$\frac{dp}{dR} = -\frac{2\gamma}{R^2} + \frac{2d\gamma}{RdR} < 0 \quad .(65)$$

donde $p = p_2$ que es la presión dentro de la burbuja.

Como en una esfera: $A = 4\pi R^2$ entonces: $dA = 8\pi R dR$, de donde sustituyendo se obtiene finalmente:

$$-\gamma + \frac{2d\gamma}{d\ln A} < 0 \quad .(66)$$

Definiendo el Módulo de Elasticidad de Gibbs ϵ como:

$$\epsilon = 2A(d\gamma / dA) = 2(d\gamma / d\ln A) \quad .(67)$$

entonces, la ecuación (66) se reduce finalmente:

$$\epsilon < \gamma \quad .(68)$$

de donde se llega que ϵ es una medida del cambio de tensión superficial con respecto a un cambio de área, y que una espuma estable existe, donde su película líquida tiene una tensión superficial tal, capaz de resistir o soportar variaciones locales. (10). Esto signifi

ca, que para que la espumación ocurra, se requiere la presencia de un soluto capaz de ser adsorbido en la interfase L/G tal como los tensoactivos, reduciendo la tensión superficial y provocando la formación de las *lameéllas* o películas líquidas entre las celdas delgadas de la espuma que han adsorbido al tensoactivo; lo que significa que líquidos puros no espuman, ($d\gamma/dA = 0$).

Sin embargo, una reducción de tensión superficial no es suficiente para producir espuma. La naturaleza de las películas adsorbidas es también importante, las cuales deben poseer una forma especial de elasticidad, tal que alguna fuerza aplicada que tienda a provocar adelgazamientos o alargamientos de la membrana líquida, sea rápidamente contrarrestada y balanceada por fuerzas restauradoras, las cuales deben aumentar con la cantidad de desplazamiento de la película. Esta plasticidad sólo es posible si el tensoactivo está presente.

Las teorías relacionadas al mecanismo de operación de esta elasticidad, dependen de 2 observaciones:

- 1) decremento de la tensión superficial con el aumento de la concentración del tensoactivo en concentraciones por debajo de CMC.
- 2) el tiempo requerido para obtener su estado de equilibrio. (El hecho de que el valor inicial de tensión superficial en una superficie nueva es siempre mayor que en el equilibrio).

La teoría basada en el primer efecto se conoce como Efecto de Gibbs mientras el segundo (variación de γ con respecto al tiempo) se conoce como Efecto Marangoni.

Ambas teorías postulan que la elasticidad es debida a la variación local de tensión superficial con la extensión o compresión de la película, debido a que cuando ésta es alargada, la concentración

superficial disminuye y por lo tanto la tensión superficial aumenta, de esta manera $d\gamma/dA = (+)$, figura 16.

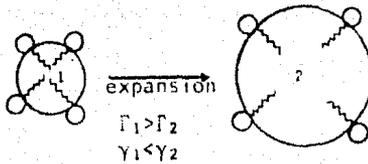


FIG. 16

La fuerza restauradora que contrarreste los alargamientos o adelgazamientos de las películas líquidas, será entonces el aumento de -- tensión superficial dado en la superficie expandida. Las teorías di fieren en que Marangoni explica este aumento sobre la base del valor instantáneo de tensión superficial, mientras que la teoría de Gibbs se basa en el valor de tensión superficial en equilibrio.

EFECTO MARANGONI.

Dupré(1869) y Rayleigh(1879) han señalado que la tensión superficial de una superficie recién formada, es mayor que la tensión superficial en el equilibrio. Los cambios de tensión superficial pueden ocurrir en fracciones de segundos o a veces hasta en días. Puesto que el -- valor de tensión superficial depende de la concentración de tensoac tivo que exista en la superficie, esto sugiere que algún mecanismo debe existir para que las moléculas de tensoactivo arriben con -- mayor o menor facilidad a la superficie y de esta manera varien la tensión superficial hasta llegar al equilibrio (18). En terminos ge nerales, se puede decir que el arribo de moléculas de tensoactivo a la superficie, ocurre en dos etapas:

- 1) Difusión de las moléculas desde el seno del líquido hasta el --
substrato (capa líquida inmediata a la superficie).
- 2) Adsorción de las moléculas que están en el substrato, en la super-
ficie.

En la medida que se completa este mecanismo, se presentará la dismi-
nución de tensión superficial, fenómeno conocido como envejecimien-
to o cinética de adsorción. El paso más lento sea la difusión o la-
adsorción, controlará la velocidad total del fenómeno.

Si suponemos que la difusión es el mecanismo limitante debido a que
como en principio la superficie se encuentra prácticamente limpia -
constituída casi en su totalidad de moléculas de solvente, de tal -
manera que una molécula de tensoactivo que arribe a la superficie,-
encontrará al inicio del fenómeno una gran cantidad de espacios va-
cíos para efectuar la adsorción, por lo que casi no hay resistencia
a que ocurra este fenómeno, entonces se puede considerar la superfi-
cie y el substrato prácticamente en equilibrio para cualquier tiem-
po.

Así, la difusión desde el seno del líquido a la superficie puede re-
presentarse con el modelo de la segunda Ley de Fick:

$$\frac{\partial C_2}{\partial t} = D_{2(1)} \frac{\partial^2 C_2}{\partial Z^2} \quad .(69)$$

donde $D_{2(1)}$ es el coeficiente de difusión del soluto 2 en el solven-
te 1, Z es la distancia normal a la superficie y t es el tiempo.

Las condiciones iniciales son:

$$\begin{aligned} \text{a } t = 0 \quad C_2 &= C_2^\infty & \text{si } Z > 0 \\ C_2 &= C_2^0 & \text{si } Z = 0 \quad (\text{en el substrato}) \end{aligned}$$

y $C_2 = 0$ si $z = 0$ (en la superficie)

es decir, que la superficie se encuentra limpia en el momento instantáneo de su formación.

C_2^{∞} se refiere a la concentración molar del soluto en el seno de la solución y C_2^0 es la concentración en el substrato.

Las condiciones a la frontera son:

$$\begin{aligned} \text{para todo } t : \quad C_2 &= C_2^0(t) & \text{si } z &= 0 \\ C_2 &= C_2^{\infty} & \text{si } z &> 0 \end{aligned}$$

lo que indica que la concentración en el substrato, es una función del tiempo y que la concentración en el seno del líquido permanece constante.

Resolviendo la ecuación (69) bajo las condiciones señaladas, en términos de la concentración superficial en exceso $\Gamma_{2(1)}$, se obtiene finalmente:

$$\Gamma_{2(1)} = \Gamma_{2(1)}^0 \Big|_{t=0} + z \left[\frac{D_{2(1)}}{\pi} \right]^{1/2} \left[C_2^{\infty} t^{1/2} - \int_0^{t^{1/2}} C_2^0(\theta) d(t-\theta)^{1/2} \right] \quad .(70)$$

donde θ representa los tiempos para toda $\theta \leq t$.

Para el caso de envejecimiento lento, es posible establecer que :

$\Gamma_{2(1)}^0 = 0$ considerando que al inicio se tiene una superficie limpia.

El término que contiene la integral, incluye la posibilidad de difusión desde el substrato hacia el seno del líquido es decir la "contradifusión". Si este fenómeno no ocurre, la expresión (70) queda reducida como:

$$\Gamma_{2(1)} = 2 C_2^\infty \left(\frac{D_{2(1)}}{\pi} \right)^{1/2} t^{1/2} \quad .(71)$$

de donde se observa que $\Gamma_{2(1)}$ seguirá un comportamiento lineal con respecto a la raíz cuadrada del tiempo.

De esta manera, en la medida que la difusión sea más lenta, el incremento de tensión superficial con respecto a un aumento de área será mayor y por lo tanto también la elasticidad.

Físicamente lo anterior puede ser explicado como sigue:

Debido al drenaje que ocurre entre las *lamellas*, estas películas líquidas, son adelgazadas y alargadas, provocando así un incremento en el área superficial entre las burbujas. Cuando esto ocurre, la concentración superficial disminuye y por lo tanto la tensión superficial aumenta.

Si la difusión de moléculas de tensoactivo a través de la solución (o en este caso a través de las *lamellas*) fuera demasiado rápida entonces, cuando una burbuja fuera expandida, moléculas de tensoactivo rápidamente fluiría hacia esta superficie para alcanzar así la tensión superficial al equilibrio, sin embargo esta superficie cuyas paredes ahora son más delgadas, no podrá resistir otra extensión, por lo que finalmente la burbuja colapsará.

Por otra parte, si la difusión es relativamente lenta, se presentará un incremento de tensión superficial en la región que ha sido expandida, antes de alcanzar la tensión superficial en equilibrio. Esta diferencia de tensión superficial (o fuerza restauradora) provocará flujo de la película líquida de las zonas de menor tensión superficial a aquellas de mayor tensión superficial y por lo tanto, existe una regeneración en el espesor de la película, lo que evita que la burbuja colapse para extensiones posteriores (14).

EFEECTO DE GIBBS.

La teoría de Gibbs de películas elásticas por otra parte, postula que para una expansión y adelgazamiento del área local de la lamella, el aumento de la tensión superficial es debido al agotamiento de soluto en el interior de la película líquida; es decir, si la película es muy delgada, la concentración de soluto en la solución de bajo de la superficie puede ser insuficiente para mantener la concentración superficial del tensoactivo en la película expandida y alcanzar la tensión superficial en equilibrio, por lo que la tensión superficial de esta sección tenderá a aumentar (6).

El efecto Marangoni junto con el efecto de Gibbs, se esperaría que operaran cuando la tensión superficial de la solución γ fuera mucho menor que la tensión superficial del solvente puro γ_0 , es decir donde la diferencia $\gamma_0 - \gamma$ sea grande, ya que así las variaciones de tensión superficial con respecto a la concentración y por lo tanto con respecto al área serán grandes. (ver figura 10). Esto significa que en soluciones muy diluidas donde $\gamma_0 = \gamma$, el cambio de tensión superficial con respecto al área es insuficiente para prevenir adelgazamientos o rupturas de películas. Esta condición es satisfecha para la mayoría de las soluciones acuosas de sustancias orgánicas.

Sin embargo, Quincke (citado en 14) que esperaba espumas más persistentes cuando la diferencia $\gamma_0 - \gamma$ fuera mayor, observó que soluciones saturadas, no espuman y que en cambio la estabilidad de la espuma tiene un máximo a concentraciones donde la cantidad $\gamma_0 - \gamma$ no tiene un valor extremo. Lo anterior se explica recordando que a concentraciones por arriba de la C M C, el cambio de la tensión-

superficial con respecto a la concentración y por lo tanto con el aumento de área de la película, es suficientemente pequeño como para prevenir el colapso de las burbujas.

Por lo anterior es de esperar, que habrá una concentración óptima por debajo de CMC donde se obtenga la espumación máxima en soluciones productoras de espuma.

Ross y Nishioka (19) encontrarón que en sistemas con miscibilidad limitada que presentan coexistencia líquido-líquido como fases separadas, no espuman; mientras que soluciones homogéneas constituidas por 2 o 3 componentes, exhiben un incremento en la espumación a concentraciones cercanas al punto crítico de solución y punto de pliege (plait point) respectivamente.

Estos resultados son observados en los diagramas de equilibrio de fases. Para el punto de consoluta, un ejemplo de un sistema de dos componentes es el disobutil-carbinol / agua; su diagrama de equilibrio de fases se muestra en la figura 17.

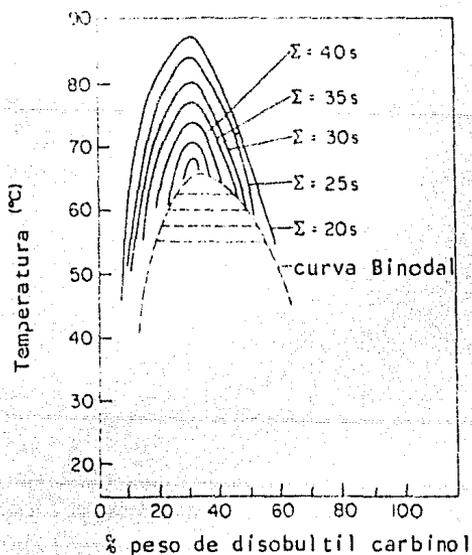


FIG. 17 Diagrama de fases y líneas isafróicas para el sistema disobutilcarbinol - agua.

Superpuestas a la curva binodal y líneas de unión, están reportadas líneas interpoladas de igual estabilidad de espuma, conocidas como CURVAS ISAFROICAS (del griego *αἴρος*: espuma). Dicha estabilidad fue evaluada en un medidor dinámico de espuma, el cual está constituido por una columna que contiene el líquido espumable y en cuyo fondo tiene un vidrio poroso que sirve para dispersar el gas que le es introducido, en pequeñas burbujas; para formar la espuma. figura 18.

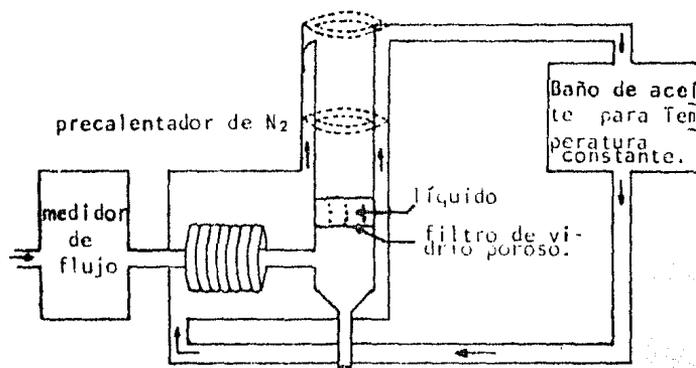


FIG. 18

Medidor dinámico de espuma.

A un cierto gasto V/t (cm^3/seg) del gas, la altura de espuma va creciendo hasta finalmente alcanzar una altura máxima constante h_0 o volumen permanente $v^0 = h_0 A$ donde A es la sección transversal de la columna.

La relación $v^0 t / V = \Sigma = \text{cte.}$ señala Ross, es independiente del flujo V/t para un cierto intervalo de velocidades del gas y cuando la altura del líquido espumable es suficientemente grande, por lo que Σ puede ser usado como una medida de espumación.

Bajo estas condiciones, se observa en la figura 17, que las líneas isafróicas presentan un máximo cerca del punto crítico de solución y disminuye a medida que se alejan de él. Soluciones cuya composición cae dentro de la región de 2 fases, no espuman.

Para sistemas de 3 componentes, los diagramas de equilibrio de fases que muestran curvas binodales, las líneas de unión junto con sus curvas isafróicas, son mostradas en la figura(19) y (20) para los sistemas benceno-etanol-agua y 1 butanol-etilenglicol-agua respectivamente. Para este estudio, se prepararon 80 soluciones de composición variada para cada sistema, midiendo la estabilidad de la espuma a 20°C.

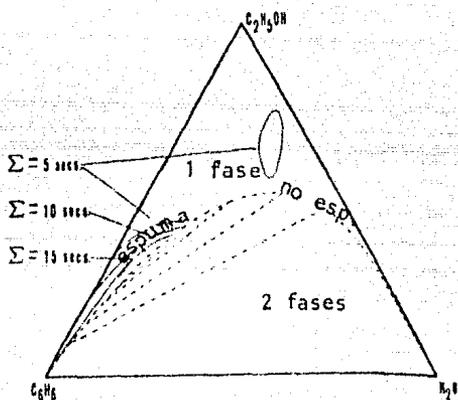


FIG. 19 Diagrama ternario para el sistema $C_6H_6-C_2H_5OH-H_2O$ a 20°C.

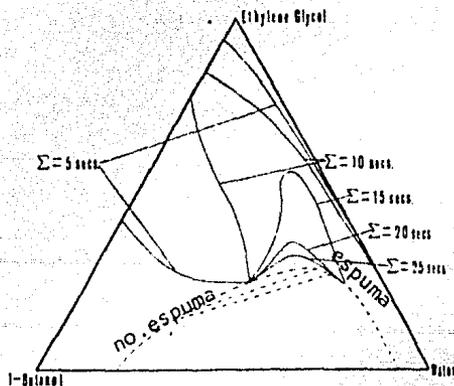


FIG. 20 Diagrama ternario para el sistema Etilenglicol-1 butanol-agua a 20°C.

De los resultados anteriores, se muestra un valor máximo de espumación en el punto de pliegue con un decremento gradual en espumación en la región de una fase al aumentar la distancia desde el punto de pliegue y con ausencia de espuma en la región de 2 fases. Además -- para cada sistema , soluciones sobre un lado de la curva binodal - espuman, mientras que del otro lado no. Así en el sistema etilenglicol-1 butanol-agua, las soluciones en el extremo acuoso de la línea de unión espuman, mientras que su solución conjugada en el extremo orgánico, no espuman. La adición de pequeñas porciones de la fase orgánica a la fase acuosa espumable, producen un sistema no espumable, mostrando que la fase orgánica actúa como desespumante sobre su conjugado acuoso. Estos resultados explican la ausencia de espuma entre la región de 2 fases donde las mezclas en esa región contienen una solución espumable junto con su inhibidor.

De esta manera, soluciones saturadas como son aquellas de tensoactivos arriba de la Concentración Micelar Crítica (CMC), son incapaces de mantener una espuma estable, por lo que una dilución de ellas con el solvente correspondiente puede mostrar estabilidad en la espumación.

FACTORES QUE DETERMINAN PELICULAS PERSISTENTES.

La existencia de elasticidad en la película, es una condición necesaria para la producción de espuma, pero no suficiente para la formación de espumas persistentes. Para que una espuma sea persistente, intervienen otros factores, los cuales retardan la pérdida de líquido y gas de la espuma y previenen así la ruptura de las lamellas.

Entre estos factores se pueden señalar los siguientes:

1.- DIFUSION DEL GAS.

Fue señalado que la elasticidad depende de la variación de tensión superficial en las laméllas de las burbujas y que esta diferencia - dependerá de la difusión de tensoactivo hacia la película expandida (Efecto Marangoni), o bien por que la cantidad de tensoactivo contenido en el líquido de las laméllas tan delgadas, es insuficiente para alcanzar rápidamente la tensión superficial en equilibrio (efecto de Gibbs) Un factor adicional que se presenta, es la difusión del gas. Una burbuja que pasa a través de una solución espumable, va adsorbiendo moléculas de tensoactivo, llevándoselas hasta donde la espuma es formada. A medida que el tiempo de residencia de las burbujas dentro de la solución sea mayor, más moléculas de tensoactivo serán adsorbidas en cada burbuja, hasta alcanzar el estado de equilibrio. Esto trae como consecuencia que la presión superficial $\Pi = \gamma_0 - \gamma$ o fuerza restauradora, sea más pronunciada, ayudando a que las películas sean más elásticas. El tiempo de residencia depende de la altura del líquido espumable por donde las burbujas circularán; de donde es recomendable contar con un gran volumen de líquido cuya altura sea suficiente para producir espuma estable.

Por otra parte, a medida que el flujo de gas aumenta, el número de burbujas producidas es mayor, por lo que la cantidad total de moléculas adsorbidas aumentará ayudando a la producción de espuma; sin embargo, si el gasto es extremadamente alto, aunque el número de burbujas es mayor, estas se unen entre si para dar burbujas más grandes cuyo tiempo de residencia es menor en la solución y no permite la estabilidad de la espuma.

2.- VISCOSIDAD.

La estabilidad de una espuma, puede modificarse por efectos de viscosidad.

Cuando la viscosidad de una solución espumable es alta, cualquier movimiento, incluyendo el necesario para la ruptura de las paredes de las burbujas es retardado. De igual manera, el tiempo de residencia de las burbujas en la solución espumante, es mayor por lo que la coalescencia de las burbujas disminuye.

Por otra parte, cuando líquido a una cierta temperatura es puesto en contacto con aire cuya temperatura es menor, entonces la temperatura de la capa superficial es más baja que la del seno del líquido, consecuentemente la viscosidad cerca de la superficie es mayor que lejos de ella. Así una burbuja formada en el líquido, subirá a una velocidad tan grande como la viscosidad de los alrededores sea pequeña; a medida que sea más viscosa la solución, la velocidad de difusión será menor y por lo tanto varias capas de burbujas podrán formarse encima del líquido antes de que ocurra alguna coalescencia -- significativa (14).

3.- VISCOSIDAD SUPERFICIAL.

Unido al factor anterior está la viscosidad superficial η_s la cual es similar a la viscosidad del seno de la solución η excepto que la viscosidad superficial es solo en dos dimensiones (g/seg). $\eta_s = \eta d$ donde d es el espesor de la superficie.

La función primordial de la viscosidad superficial, es reducir la pérdida de líquido de las películas delgadas o *lamellas*; sin embargo, la relación de estabilidad de espuma y viscosidad superficial -

ha sido muy discutida. Así por ejemplo, algunas soluciones de proteína, tienen alta viscosidad superficial con la cual dan rigidez a la superficie; sin embargo, la rigidez por si misma no necesariamente favorece la espumación debido a que una estructura rígida puede ser frágil y carecer de elasticidad (16). Otro caso es el del palmitato de etilo y hexadecanol, en las cuales a pesar de que sus viscosidades son semejantes, el tiempo de vida de las burbujas del alcohol, es 5 veces mayor que la del ester (14). Estos resultados sin embargo, pueden ser debidos a que las técnicas de medición de viscosidad superficial no han alcanzado la suficiente precisión, así como que las composiciones de las soluciones pueden estar cercanas o por arriba de CMC donde la espumación no ocurre.

Como quiera que sea, Plateau plantea que la estabilidad de la espuma aumenta con la relación η_s/γ , aunque esta idea no tiene una clara confirmación (14).

4.- REPULSION DE LA DOBLE CAPA ELECTRICA.

Otro factor que puede prevenir el adelgazamiento de películas, es la repulsión electrostática. Este factor ha sido sugerido por la existencia de espumas persistentes en casos donde las películas superficiales no tienen un alto valor de viscosidad superficial (9). Este efecto se puede decir, que es debido a que dos superficies opuestas correspondientes a las paredes que forman las *lamellas* entre las burbujas, no pueden acercarse debido a la repulsión eléctrica mutua que existe entre las moléculas adsorbidas y por lo tanto se evita la coalescencia.

5.- EFECTO DE LA TEMPERATURA.

Un parámetro importante que influye en la estabilidad de la espuma, es la temperatura. A altas temperaturas, la viscosidad junto con la viscosidad superficial disminuyen, así como que la difusión de las moléculas de tensoactivo hacia las superficies expandidas en la espuma aumenta, disminuyendo con esto el efecto Marangoni.

Además de la ecuación de Adsorción de Gibbs, ecuación (47); se observa que la concentración superficial en exceso Γ es inversamente proporcional a la temperatura, lo que significa que menos moléculas son adsorbidas en las burbujas y por lo tanto la variación de tensión superficial es menor. Con lo anterior, habría de esperarse que la estabilidad de la espuma disminuyera a medida que la temperatura aumenta. Sin embargo, otro factor muy importante que es necesario considerar, es la solubilidad.

Se ha dicho que cuando existe la presencia de dos fases o más, la espuma es inhibida. (Ross 19). En la mayoría de los casos, la solubilidad aumenta con la temperatura; por lo que podemos llegar a la conclusión, que la mayor estabilidad de la espuma será alcanzada en un cierto intervalo de temperaturas, donde los efectos sean balanceados o compensados.

6.- ADITIVOS.

La adición de 1 o más componentes (sin necesariamente tener actividad superficial), puede aumentar o inhibir la eficiencia de la espumación, a consecuencia de las variaciones en las propiedades del sistema tales como la viscosidad, viscosidad superficial, tensión superficial, solubilidad, CMC, así como la elasticidad, acompañada del efecto Marangoni y el efecto de Gibbs.

Dos mecanismos pueden operar con la introducción de un segundo com-

ponente. El primero ocurre cuando un aditivo cambia las propiedades del sistema pero sin adsorberse en la superficie; es decir, cuando el aditivo no es un tensoactivo. Este es el caso de la goma arábica, etil de celulosa y materiales similares de alto peso molecular, los cuales aumentan la persistencia de muchas espumas industriales siendo la causa de su influencia, un marcado aumento de la viscosidad - (14).

El segundo mecanismo toma lugar, cuando el aditivo se adsorbe en la superficie reemplazando al tensoactivo presente, dando propiedades diferentes a la superficie.

Para que este efecto ocurra, el aditivo debe tener una tensión superficial suficientemente baja, tal que éste pueda embarrarse y mojar espontáneamente la película existente. La medida de mojado, esta dada por el coeficiente de mojado S definido como:

$$S = \gamma_B - (\gamma_A + \gamma_{A/B}) \quad .(72)$$

donde γ_A es la tensión superficial del tensoactivo inicialmente presente en la solución; γ_B es la tensión superficial del aditivo y $\gamma_{A/B}$ es la tensión interfacial entre A y B.

Cuando S es (+), el aditivo B mojará espontáneamente la superficie, reemplazando al tensoactivo A.

6.1.- LOS ANTIESPUMANTES.

Los agentes antiespumantes son aditivos que actúan para romper o inhibir la espuma. Pueden operar siguiendo cualquiera de los dos mecanismos señalados o ambos.

Cuando el antiespumante es un rompedor de espuma, este puede actuar 1) reduciendo la tensión superficial en las áreas expandidas de las burbujas, disminuyendo con esto el efecto Marangoni y causando que

las películas líquidas entre las burbujas sean rápidamente adelgazadas y rotas posteriormente; 2) aumentando el drenaje del líquido contenido en la espuma, acortando el tiempo de vida de las burbujas. El tributíil-fosfato actúa de esta manera, reduciendo la viscosidad superficial (9).

Los inhibidores de espuma son materiales que preeven la formación de espuma, al producir una superficie con una tensión superficial constante cuando ocurre una expansión o compresión del área, disminuyendo o privando de elasticidad a la superficie, por lo que no se forma espuma.

Otros antiespumantes, pueden actuar disminuyendo la solubilidad del tensoactivo formador de la espuma, provocando variaciones en la CMC y un decremento de la espumación (19). Un ejemplo de este caso, es la adición de sales inorgánicas en soluciones de proteína espumables.

Dichas sales no solo ayudan a la precipitación de la proteína, sino que la sustituyen en la superficie, incrementando la tensión superficial y por lo tanto, inhibiendo la formación de espuma posteriormente (14).

Con la revisión de los factores anteriores, se puede observar que las espumas son sistemas cuyo comportamiento es difícil de predecir debido a que intervienen variables múltiples, siendo un tema poco entendido hasta la fecha.

CAPITULO IV.

FRACCIONACION DE ESPUMA COMO METODO DE SEPARACION

1. PROCESOS DE SEPARACION POR ADSORCION EN BURBUJA.

En los últimos años, ha surgido un gran interés en el uso de espuma como método de separación y purificación. Muchos trabajos son ya conocidos, como el proceso de flotación de minerales, en el cual la separación es el resultado de la diferencia de densidades de macromoléculas de mineral, separadas en la espuma. Sin embargo, es posible usar también las espumas para la separación o remoción de micro partículas de naturaleza coloidal, ya sea en su estado iónico o molecular. No obstante, algunas separaciones son posible de efectuarse sin el uso necesariamente de la espuma, lográndose únicamente con el paso de burbujas de gas a través de un líquido.

En ambos casos, el común denominador de los métodos, es el uso de la adsorción selectiva de uno o más solutos, en la superficie de las burbujas de gas producidas en el seno del líquido, por lo que en general, estos métodos son conocidos como **METODOS DE SEPARACION POR ADSORCION EN BURBUJA(11)**.

Una clasificación general de los diferentes métodos de separación por Adsorción en burbuja es mostrado en la figura 21.

En ésta clasificación se distinguen métodos en los cuales se involucra la espuma y se conocen como Separación con espuma, en ésta categoría se encuentra : la fraccionación o fraccionamiento de espuma (del que se hablará más adelante) y la flotación por espuma o simplemente flotación.

La flotación involucra varias subdivisiones, de las cuales la flota-

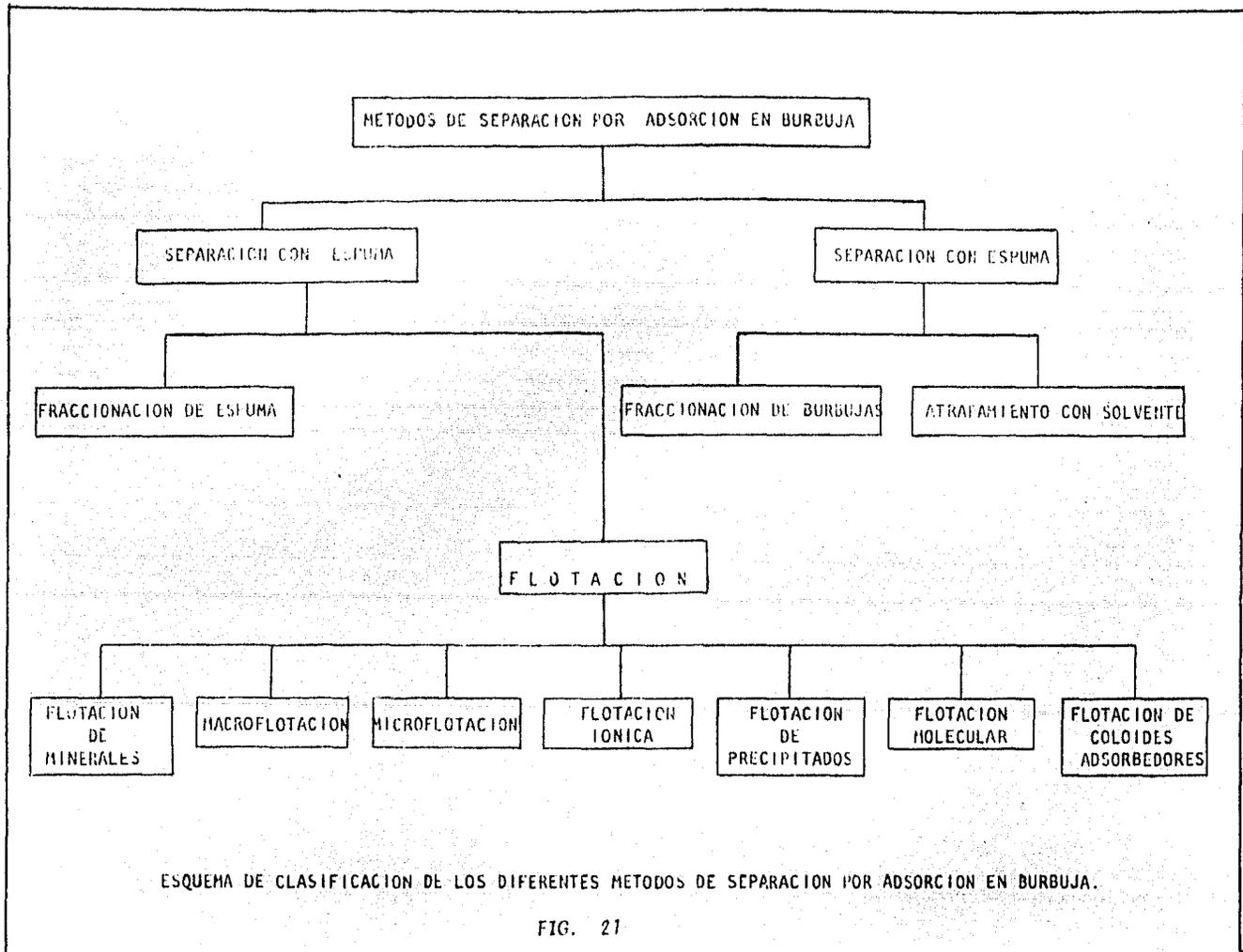


FIG. 21

ción de minerales, ocupa un lugar muy importante, siendo objeto de estudios especializados(21). Otras divisiones de la flotación incluye la macroflotación que remueve partículas macroscópicas; la microflotación, que remueve partículas microscópicas especialmente microorganismos o partículas coloidales; la flotación iónica, que remueve iones de superficie-inactiva a través del uso de tensoactivos, los cuales producen un producto insoluble; flotación de precipitados, en el cual un precipitado es removido, siendo el agente precipitante un tensoactivo y finalmente flotación de coloides adsorbidos. que remueve el material disuelto que primero es adsorbido en partículas coloidales.

En ausencia de espuma, el proceso de separación puede llevarse a cabo debido a la adsorción de material tensoactivo en la superficie de las burbujas que pasan a través de una columna vertical de solución que contiene tensoactivo. Las burbujas levantadas llevan entonces el material adsorbido en sus superficies hasta la parte superior de la columna, donde este es depositado a las burbujas que ahí se encuentran. El gradiente de concentración resultante representa una separación parcial. Este proceso es ilustrado en la fig. 22(a) para una operación batch y en la figura 22(b) para una operación en continuo. El método ha sido nombrado como Fraccionación de burbujas(22) y forma parte de la categoría de separación sin espuma.

El proceso anterior puede también ser usado en cascada, para elevar la concentración de otra mezcla, la cual puede ser también sometida a la misma operación, figura 22(c).

En la misma categoría de separación sin espuma, existe el método de atrapamiento con solvente, el cual es similar al de fraccionación de burbuja, solo que un líquido inmisible es usado encima del líquido en donde se encuentra el material que se va a separar; el líquido inmisible

FRACCIONACION DE BURBUJAS

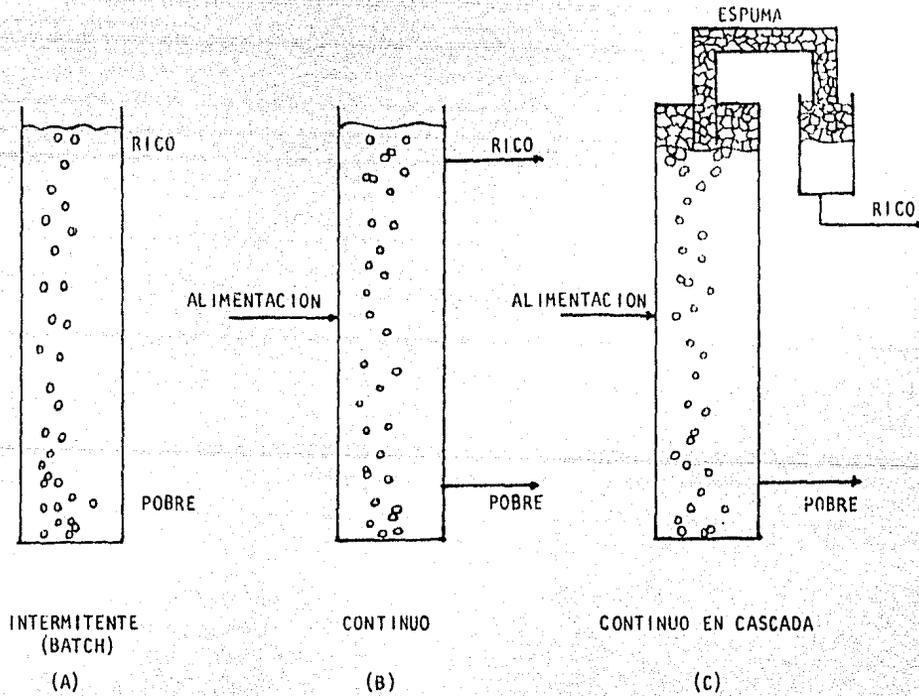


FIG. 22

sirve entonces para atrapar éste material, que está adsorbido en la superficie de las burbujas (23).

2. FRACCIONACION DE ESPUMA. (20).

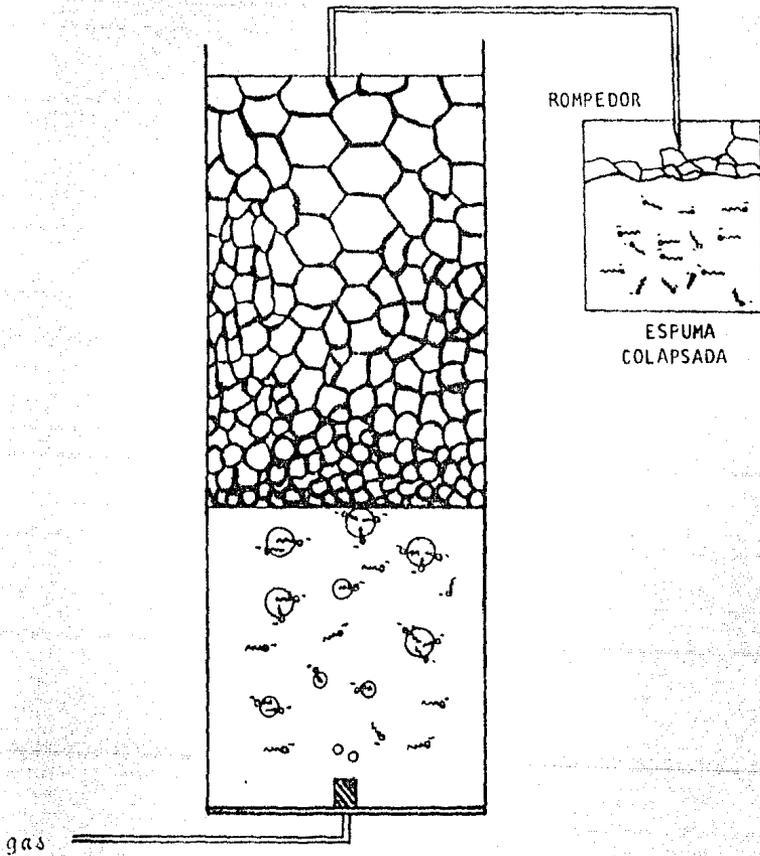
La fraccionación de espuma está basada en la adsorción selectiva de uno o más solutos tensoactivos, en la superficie de las burbujas de gas, las cuales se elevan a través de una solución. Hay burbujas que forman espuma encima del seno del líquido; esta espuma es relativamente rica en material adsorbido, de tal modo que cuando ésta es recuperada, se obtiene una separación parcial de los componentes.

Lo anterior es ilustrado en la figura 23 para una operación batch. La espuma que es separada, es circulada hasta un recipiente en donde las burbujas son rotas o colapsadas, obteniendo un líquido rico en el material tensoactivo separado.

Las burbujas son usualmente producidas deliberadamente, cuando gas es introducido a través de un vidrio poroso o algo similar, provocando que el gas sea disperso en forma de pequeñas burbujas. Sin embargo la fraccionación de espuma puede ocurrir incidentalmente; esto es, cuando una solución espumable es agitada o cuando las burbujas son formadas por la liberación de gas disuelto; pero, cualquiera que sea la forma de producción de espuma, siempre existirá alguna separación de componentes.

Por otra parte, recordando que una molécula de tensoactivo contiene un extremo polar hidrofílico y uno no polar hidrofóbico (en caso de que el solvente sea agua), en la interfase G/L, las moléculas de tensoactivo son adsorbidas de la solución y orientadas de tal forma que su extremo polar queda predominantemente en la fase líquida, mientras que su extremo no polar, en la fase gas.

FIG. 23



Adsorción de las moléculas de proteína en
la superficie de las burbujas.

OPERACIÓN: LATCH

0

INTERMITENTE

Cuando las burbujas son circuladas a través de una solución que contiene tensoactivo, éstas adsorben el material de actividad superficial en su propia superficie y lo llevan hasta donde la espuma es formada. figura 24.

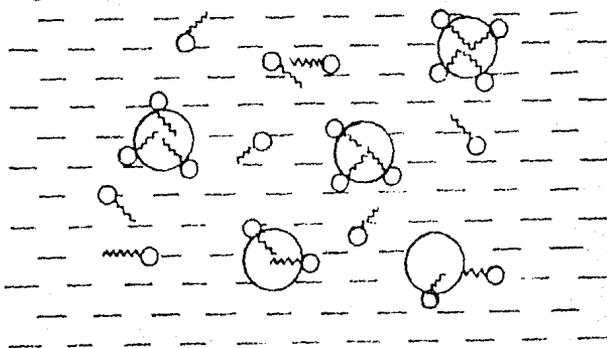


FIG. 24

Bajo las condiciones de equilibrio, la cantidad de material adsorbido, es calculada mediante la ecuación de adsorción de Gibbs (ec. 50), para soluciones diluídas:

$$\Gamma = - \frac{C}{RT} \left(\frac{d\gamma}{dC} \right)_T$$

donde γ es la tensión superficial, C la concentración del tensoactivo en el seno de la solución, R cte. de gas ideal, T temperatura absoluta y Γ la concentración superficial en exceso, cuyo valor positivo, indica la adsorción del tensoactivo en la superficie interfacial.

Sin embargo en la espuma, el tensoactivo no solo se encuentra adsorbido en la superficie, sino que también se encuentra distribuido entre las películas líquidas que rodean a las burbujas (*lamellas*) y borde de Plateau. De esta manera, la superficie de las burbujas se encuentra esencialmente en equilibrio con el líquido intersticial, cuya composición puede considerarse que es la misma que la del seno del líquido, si no hay coalescencia de burbujas en la espuma.

En estas circunstancias, la concentración superficial en exceso del tensoactivo en la espuma Γ es igual a Γ_w que es la concentración superficial en exceso que esta en equilibrio con C_w que es la concentración en el seno o bulto de la solución.

MODELOS DE OPERACION.

Existen varios modelos de operación que pueden ser utilizados dependiendo del problema que quiera ser resuelto:

OPERACION SIMPLE BATCH. (INTERMITENTE).

El modelo más simple por el que se puede operar, es un sistema Batch, donde una pequeña cantidad de líquido espumable se coloca en una columna, generando las burbujas en el fondo de ésta y recolectando la espuma producida en un recipiente colector. figura 25.

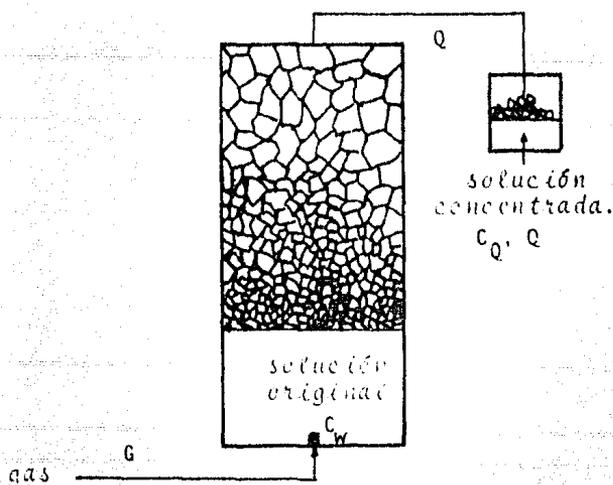


FIG. 25 OPERACION SIMPLE BATCH O INTERMITENTE.

De la figura, C_w = conc. del tensoactivo en el seno del líquido (gmol/cm³); C_Q = conc. del tensoactivo en el colapsado (gmol/cm³); G = flujo de gas (cm / seg) y Q : flujo volumétrico de la espuma (cm /seg).

En estas condiciones y considerando que $\Gamma = \Gamma_w$, el balance de materia estado como:

$$\Gamma_w G \frac{6}{d} + C_w Q = C_Q Q \quad .(73)$$

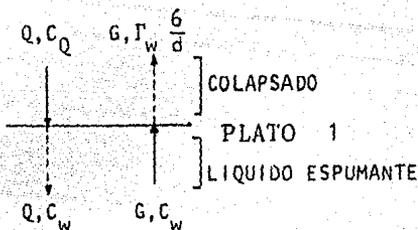
donde $6/d$ es la relación área superficial/volumen de una burbuja esférica, de diámetro d y considerando que las burbujas son de medida-uniforme: $V = \frac{4}{3} \pi R^3$ y $A = 4\pi R^2$, de donde $\frac{A}{V} = \frac{6}{d}$.

La ecuación (73) significa, que la cantidad de tensoactivo en la espuma colapsada, está distribuida entre la que se adsorbió en la su - perficie de las burbujas $\Gamma_w G \frac{6}{d}$ y lo que se encuentra en el líquido-intersticial o películas líquidas que rodean a las burbujas $C_w Q$.

Rearreglando la ecuación (73), se llega a:

$$\Gamma_w = \frac{(C_Q - C_w) Q}{G} \frac{d}{6} \quad .(74)$$

que es la ecuación con la que puede ser determinada la concentración superficial en exceso Γ_w , siempre y cuando la columna sea suficien - temente alta y actúe como un plato teórico; es decir, que se establezca un estado de equilibrio del componente o tensoactivo entre ambas - fases.



En caso de que exista liberación del material adsorbido en las burbujas, el cual fluye hacia abajo a través del líquido intersticial; se establecerá un reflujo interno, siendo necesario evaluar el número de unidades de transferencia NTU, para poder describir las condiciones internas de la columna (20, 25, 26).

El drenaje rico en material que actúa como reflujo, enriquece la espuma y aunque esta condición es muy útil cuando se trata de recuperar material, en el caso de evaluar Γ_w , es indeseable ya que entonces la ecuación (74) no se cumple, dando valores erróneos.

El reflujo interno puede minimizarse, empleando altas velocidades de flujo de gas; esto mantiene el líquido contenido en la espuma, evitando que fluya hacia la parte inferior de la columna (20).

Por otra parte, en el caso de burbujas no uniformes, existe una medida de superficie, la cual es empleada para una porción representativa de espuma. Así el diámetro d de esta porción está dado como:

$$d = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (75)$$

donde n = núm. de burbujas y d_i diámetro de la burbuja i , los cuales pueden ser medidos fotográficamente.

OPERACION SIMPLE CONTINUO.

A diferencia de la operación intermitente, en un sistema continuo, la alimentación del líquido espumable se efectúa a una velocidad de flujo constante F y composición C_f , al mismo tiempo que un cierto volumen es retirado de los fondos de la columna a un gasto F' y composición C_w , de tal manera que el sistema puede ser operado en continuo, sin necesidad de detener el proceso.

La figura 26 muestra este modelo:

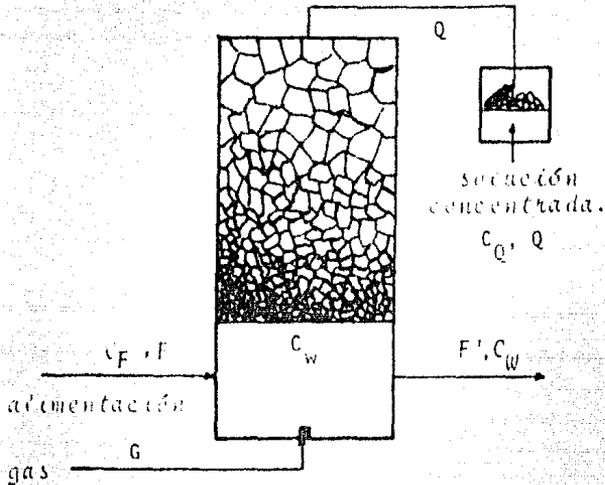


FIG. 26 MODELO SIMPLE CONTINUO.

Bajo las mismas condiciones de equilibrio que en el sistema anterior (sin reflujo), en este caso el balance de materia correspondiente es:

$$F C_F = F C_W + \Gamma_W G \frac{6}{d} \quad .(76)$$

o bien:

$$\Gamma_W = \frac{(C_F - C_W) F}{G} \frac{d}{6} \quad .(77)$$

La ecuación (77) evalúa, la concentración superficial en exceso, cuando el sistema opera en continuo. Cuando Γ_W es conocida, C y C_W pueden ser evaluadas mediante el rearrreglo de las ecuaciones (73) y (77) de donde:

$$C_Q = C_W + \frac{6}{d} \frac{G \Gamma_W}{Q} \quad .(78)$$

y

$$C_W = C_F - \frac{6}{d} \frac{G \Gamma_W}{F} \quad .(79)$$

OTRAS FORMAS DE OPERACION.

Así como en destilación o en extracción líquido-líquido etc., la operación de fraccionación de espuma, no está limitada al uso de un solo plato teórico.

A continuación se describen en forma general, varios modelos de operación, en los que se intenta enriquecer la espuma de material tensoactivo para lograr mejores separaciones:

1. FRACCIONACION DE ESPUMA EN CONTINUO CON ALIMENTACION SUPERIOR.

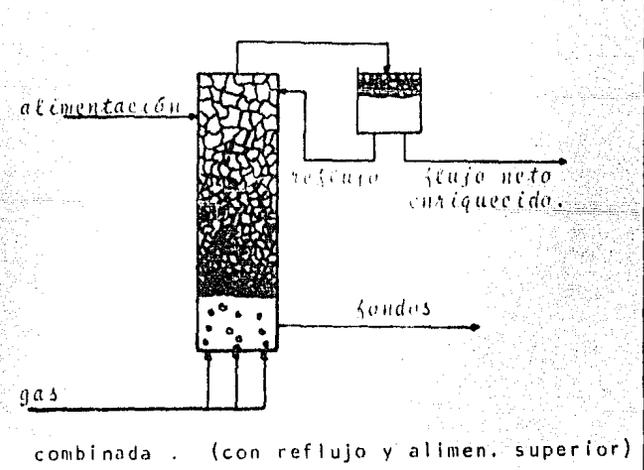
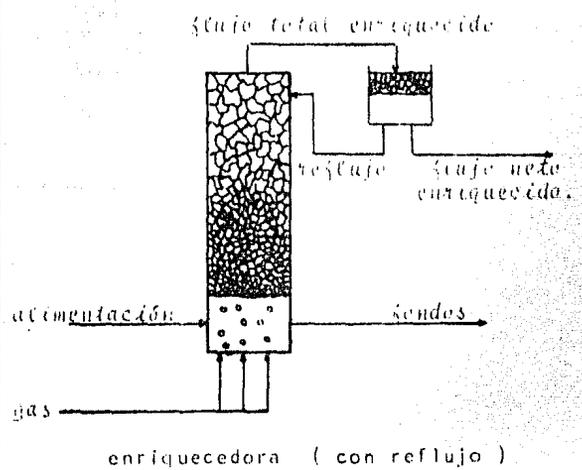
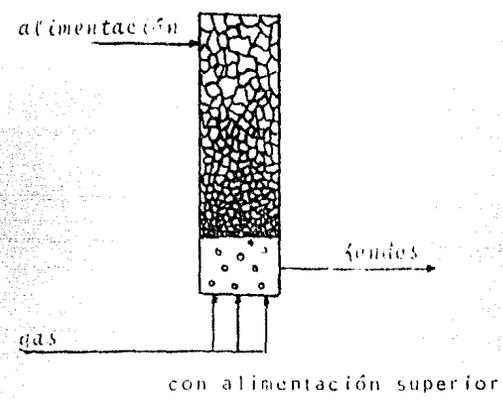
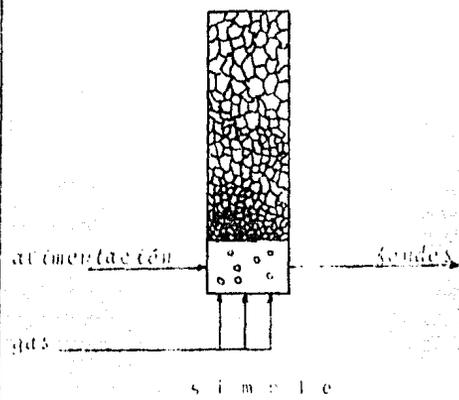
Aunque semejante a un simple sistema en continuo, en este modelo, la alimentación se efectúa a una distancia arriba de la alberca líquida, goteando hacia abajo a través de la espuma formada. En estas condiciones, la concentración del líquido intersticial que se encuentra alrededor de las burbujas, es reemplazado con líquido nuevo de la alimentación. Figura 27(b).

2. FRACCIONACION DE ESPUMA CON REFLUJO (ENRIQUECEDORA).

En este modelo, parte de la espuma rica en material, se usa para ser reflujada y drenada a través de la espuma formada. Este contacto a contracorriente, enriquece el líquido intersticial, incrementando la cantidad de material adsorbido y separado por las burbujas.

El reflujo puede ser externo tal como se muestra en la figura 27(c), o interno, provocado por la colapsación de las burbujas en el interior de la columna de espuma formada.

3. FRACCIONACION DE ESPUMA EN TORRE COMBINADA.



Una columna combinada, consiste de una sección enriquecedora; es decir con recirculación de la espuma colapsada, junto con una sección de alimentación superior. Figura 27(d).

Este sistema, ofrece la mayor oportunidad de intercambio de material entre las burbujas y el líquido intersticial, lograndose una separación efectiva.

La descripción total de los sistemas anteriores, puede definirse con balances de materia(20); sin embargo, si se quiere considerar el comportamiento interno de la columna, las ecuaciones prácticas deberán estar en términos de platos teóricos o unidades de transferencia; para este propósito, el uso de un diagrama de equilibrio es indispensable.(64)

A P L I C A C I O N E S .

Durante los últimos años. se han publicado varios trabajos donde se describe la separación de varias sustancias por espumación. Una recopilación aparece en 1962 (14,65), listando la separación de metales, colorantes, aniones orgánicos e inorgánicos, ácidos grasos, detergentes, proteínas y enzimas, la mayoría involucrados en soluciones acuosas. De los trabajos más importantes se encuentran aquellos destinados a la remoción de detergentes y tensoactivos en general en aguas de desecho. utilizándose como método de purificación(24,66,67).

Existen trabajos encaminados a la separación selectiva de colorantes (65) iones y aún materiales radioactivos que por otros métodos sería más difícil, especialmente si su concentración es muy baja.

Trabajos más específicos se han orientado a la concentración de hemoglobina, albúmina y globulinas de soluciones diluidas(68); recupera-

ción de proteína del jugo de tomate(69); separación de microorganismos con tensoactivos(70) y en general concentración de proteína por espumación(71); existiendo algunos estudios en donde se ha encontrado que la concentración de proteína por espumación es más efectiva en el pH isoeléctrico(65).

Se han estudiado también, la separación de enzimas tales como catalasa y amilasa(72) por fraccionación de espuma, en donde no se destruye su actividad biológica funcional.

Es evidente, que los métodos de adsorción por burbujas y más específicamente el de fraccionación de espuma, ofrecen grandes ventajas - para separar material(sea o no tensoactivo), que se encuentra relativamente en poca proporción en grandes cantidades de líquido. En estas condiciones los métodos de adsorción por burbujas son potencialmente competitivos con cualquier otra forma de separación, tales como filtración, adsorción en cama fija o intercambio iónico.

Los métodos de adsorción en burbujas, pueden también ser usados para separar componentes de ciertos sistemas que son difíciles de manejar por métodos convencionales.

La selección específica de los parámetros físicos y el control conveniente de las propiedades químicas involucradas, pueden hacer del método de fraccionación de espuma una técnica de separación de alta selectividad. Una gran porción de trabajos desarrollados en los últimos años, han sido dirigidos a este propósito.

C A P I T U L O V.

GENERALIDADES SOBRE EL SUERO LACTEO

DEFINICION Y TIPOS DE LACTOSUERO.

El suero lácteo es el líquido resultante de la coagulación de la leche durante la elaboración de queso, tras la separación de la caseína y de la grasa que constituye la leche (3). El suero compone aproximadamente el 90% del volumen de la leche y contiene la mayor parte del total de los componentes hidrosolubles de ésta. Presenta un color amarillo-verdoso y es un líquido pobre en extracto seco (de 50 a 75 g/l) que se altera rápidamente bajo la acción de diversos microorganismos.

Dependiendo del proceso tecnológico seguido en la fabricación de los quesos, el suero puede tener una composición variable.

Básicamente se distinguen tres clases de lactosuero según su acidez: (54).

- a) SUERO DULCE; con un pH mayor a 5.8
- b) SUERO MEDIO ACIDO, con pH entre 5.8 y 5.0
- c) SUERO ACIDO, con pH menor a 5.0.

SUERO DULCE.

Procede de la coagulación de leches no ácidas por acción del cuajo[†] sobre el fosfocaseinato de calcio (forma de caseína en forma coloidal, como se encuentra presente en la leche), formando la cuajada insoluble

[†] Enzima del tipo de las proteasas, llamada renina que se encuentra en la secreción gástrica de los animales mamíferos, conocida vulgarmente como Lab o cuajo. (55)

de fosfoparacaseinato de calcio. En este caso, no hay desmineralización del coágulo y el suero no arrastra las sales cálcicas.

La lactosa contenida en el suero, permanece intacta y no es transformada prácticamente a ácido láctico. Este tipo de lactosuero es el más utilizado en todas sus transformaciones.

SUERO ACIDO.

Procedente de la fabricación de quesos ácidos o bien por la fabricación de caseína láctica. La floculación de caseína es en este caso obtenida debido a un descenso del pH, hasta alcanzar el punto-isoelectrico de la proteína (el cual será descrito más adelante). Este descenso puede obtenerse por fermentación láctica o por adición de ácidos orgánicos o inorgánicos diluïdos (56). La acidificación de la leche provoca la destrucción de micelas de fosfocaseinato de calcio, cuya precipitación total ocurre a $\text{pH} = 4.6$. El fosfocaseinato de calcio experimenta una degradación al ocurrir una migración progresiva de calcio coloidal hacia la solución. La caseína isoelectrica insoluble esta exenta de calcio y no contiene más que fósforo protéico.

Esta desmineralización en favor del suero que se enriquece en minerales, es la característica principal de la caseína precipitada por acidificación en comparación con la precipitada por cuajo. El contenido de lactosa en este suero, se reduce debido a la fermentación láctica.

Por otra parte, no obstante la forma en que se coagule la caseína, ninguna de estas formas de coagulación se utiliza absolutamente aislado. En realidad todas las cuajadas en quesería se obtienen por acción simultánea del cuajo y del ácido láctico proveniente de la transformación de lactosa por las bacterias lácticas.

Sin embargo, siempre existe un predominio más o menos acusado de uno de los procesos, dando características especiales al suero producido.

SUERO MEDIO ACIDO.

Este suero proviene de quesos de cuajada mixta, en donde se presentan al mismo tiempo características de cuajada enzimática y láctica. Este suero puede ser también obtenido abandonando o acidificando suero dulce o bien neutralizando ligeramente el suero ácido.

En la tabla 2 se muestra la composición de diferentes tipos de lactosuero, en donde se refleja su origen:

TABLA 2			
COMPOSICION DE DIFERENTES TIPOS DE LACTOSUERO			
% MATERIA SECA.			
COMPONENTE	SUERO DULCE	SUERO MEDIO-ACIDO	SUERO ACIDO
Lactosa	78.76	75.76	69.71
Ac. láctico	0.49	3.32	11.64
Proteína bruta (N x 6.25)	13.75	13.56	11.75
N (no proteico)	0.56	0.62	0.83
Cenizas	7.98	8.77	11.30
Calcio	0.71	0.94	1.93
Fósforo	0.63	0.70	1.00
Potasio	2.21	2.22	2.29
Sodio	0.77	0.80	0.81
Cloruro	3.34	3.29	3.22
Indicios de materia grasa	?	?	?

- Según Février et Chauvel, 1977.

PRINCIPALES COMPONENTES DEL SUERO.

LACTOSA Y ACIDO LACTICO.

La lactosa es el componente soluble más abundante de la leche y cons

tituye la parte esencial del extracto seco del lactosuero. En la naturaleza, la lactosa sólo se encuentra en la leche, siendo un disacárido formado por la condensación de una molécula de galactosa y otra de glucosa a través de un enlace glucosídico α -(1 + 4); existe en dos formas isoméricas α y β en equilibrio en una mezcla de cristales α -lactosa hidratada y β -lactosa anhidra, $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$. (27). La lactosa presenta un poder rotatorio (índice de refracción) de 55° - neto a $15^\circ C$ y una solubilidad inicial de 7.3 g/100 ml de agua a $15^\circ C$, que se eleva tras agitación prolongada hasta 17 g/100 ml. Esta solubilidad aumenta en caliente y cristaliza al enfriar las soluciones concentradas, siendo esta la base de separación de la lactosa del suero.

La lactosa es el componente de la leche y lactosuero más lábil frente a la acción microbiana, por lo que estas sustancias se ven presas de bacterias de diversos tipos, que transforman la lactosa en ácido láctico y ácidos alifáticos, bióxido de carbono, acetyl-carbinol, etc. El ácido láctico, sólo existe como indicios en la leche fresca y es ante todo resultado de la fermentación láctica. Es este el proceso industrial utilizado para la producción de ácido láctico a partir de lactosuero, convirtiéndose en un importante compuesto químico dentro de la industria de alimentos, farmacéutica, textil, curtidos, materias plásticas, etc.

Normalmente la lactosa no es afectada por los tratamientos térmicos-empleados en la manufactura de la mayoría de los productos lácticos-y sólo en casos extremos de calentamiento, suceden cambios químicos-en su estructura, hasta llegar a la caramelización. La principal reacción en la que interviene la lactosa es el oscurecimiento no enzimático. Los calentamientos de la lactosa inducen sin embargo a su

degradación térmica, con la consecuente formación de algunos ácidos (fórmico, láctico, acético, pirúvico y propiónico), además de alcoholes y aldehídos. La formación de los ácidos en el curso del calentamiento, tienen la propiedad de activar el crecimiento de bacterias lácticas (58). La lactosa es obtenida industrialmente a partir del lactosuero desproteinizado, concentrando al vacío; teniendo aplicaciones como soporte y diluyente de diversas drogas farmacéuticas, productos dietéticos y como componente de los medios de cultivo de mohos y actinomicas en la industria de los antibióticos, etc.

PROTEINAS DEL SUERO.

El segundo componente más importante del lactosuero, son las proteínas (del 11.5% al 14% del total de la materia seca).

Las proteínas del suero son macromoléculas compactas, globulares con un peso molecular que varia entre 14 000 y 1 000 000 unidades de aminoácidos; son solubles en un intervalo de pH muy amplio y en estado nativo no se asocian con la caseína.

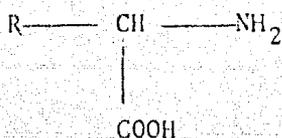
Estas proteínas constan de por lo menos ocho diferentes fracciones, entre las cuales, las más importantes son: la β -lactoglobulina (44% del total de proteína del suero), α -lactoalbúmina (19%), inmunoglobulinas (13%), albúmina bovina (o seroalbúminas) (5%) y las proteasas-peptonas (19%). (58)

CARACTERISTICAS Y PROPIEDADES DE LAS PROTEINAS.

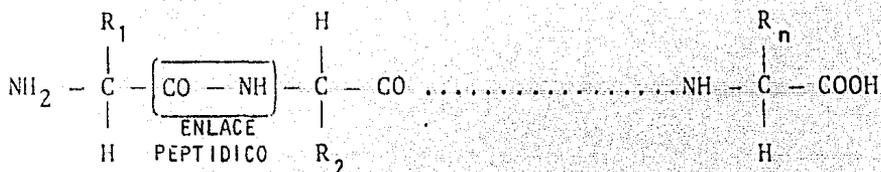
Antes de describir cada una de las proteínas del suero, se hace necesario una revisión general sobre las características y propiedades de las proteínas. Las proteínas son moléculas de alto peso molecular (biopolímeros), constituidas por aminoácidos, cuya concentración, y

distribución, determinan fundamentalmente las propiedades de cada proteína.

Exceptuando la hidroxiprolina y la prolina, los aminoácidos son ácidos α -amino carboxílicos, constituidos por una cadena hidrocarbonada que lleva una o dos funciones ácido (grupo carboxilo COOH -) y una o dos funciones básicas (grupo amina NH_2 -): (57)



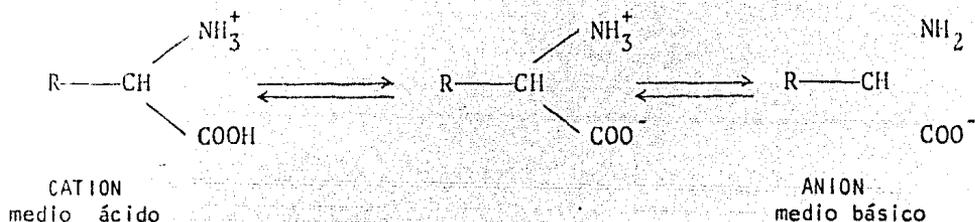
Esta estructura le confiere un conjunto de propiedades químicas y físicas especiales, entre la que destaca su capacidad para unirse entre sí por medio de un enlace $-\text{NH}_2$ de un aminoácido y el grupo $-\text{COOH}$ de otro, con eliminación de una molécula de agua (unión amídica) que se conoce como enlace péptido formando así grandes cadenas (58):



Dependiendo del número de unidades de aminoácido que constituya la molécula, convencionalmente se le llama dipéptido (2 aminoácidos), tripéptido, ... etc., hasta llegar a los polipéptidos, los que tienen pesos moleculares de hasta 5 000 (59), valor sobre el cual son considerados como proteínas.

Las proteínas lo mismo que los aminoácidos que las constituyen, debido a su función ácido COOH - y básico NH_2 - que poseen, son electro

litos anfóteros (zwitteriones), por lo que si se colocan dos electrodos, entre lo que se establezca una diferencia de potencial, en una solución de proteína o aminoácidos, esta migrará hacia el ánodo o cátodo según el pH de la solución.



El valor de pH en donde no existe migración neta ya que la concentración del anión es igual a la del catión, es llamado como PUNTO ISOELECTRICO, que corresponde al ión híbrido es decir, donde la molécula tiene una carga neta nula (58).

El punto isoelectrónico, es una característica particular para cada proteína ya que dependerá de la proporción de grupos ionizables que posea. Las proteínas tienen un alto grado de estructuración y orden conformacional que es necesario para que desarrollen adecuadamente su actividad biológica. Tal estructuración puede ser primaria, secundaria, terciaria o cuaternaria, dependiendo de los enlaces que existan entre los grupos funcionales de los aminoácidos y entre las cadenas péptidas que constituyen la proteína (puentes de hidrógeno, enlaces iónicos, interacciones hidrofóbicas y enlaces disulfuros, lo que dará rigidez y forma a la molécula (60).

Los grupos R de los aminoácidos que constituyen la proteína, desempeñan un papel adicional en la estructura final de la molécula, su disposición conduce a la estabilización de la conformación protéica.

La estructura de las proteínas puede modificarse bajo la acción de diversos tratamientos aplicados en el laboratorio e industria. Este fenómeno se conoce como desnaturalización de las proteínas, que por definición es la pérdida de las estructuras secundaria, terciaria y/o cuaternaria, sin que exista una hidrólisis del enlace péptido. Es decir, la desnaturalización es básicamente el rompimiento de algunos de los enlaces disulfuro inter o intramoleculares; de los puentes de hidrógeno, interacción hidrofóbica y enlaces iónicos. Este proceso puede realizarse por pasos bien definidos y a diferentes velocidades. Durante la desnaturalización, la proteína se desdobra adquiriendo una conformación al azar, que depende de la intensidad del tratamiento que se le aplique, por lo que en ciertos casos, el proceso puede ser reversible. Las proteínas desnaturalizadas presentan características diferentes a la proteína nativa.

Cada proteína tiene diferente sensibilidad a los agentes desnaturantes. Las operaciones más importantes para inducir este fenómeno son: el calentamiento, la presión, la irradiación, la congelación, los esfuerzos mecánicos, el pH y la presencia de sales (27).

La mayoría de las proteínas globulares se desnaturalizan cuando se calientan por encima de 60-70°C. Las proteínas altamente desnaturalizadas, tienden a la agregación y posterior precipitación.

β - LACTOGLOBULINA.

Es la principal proteína del lactosuero. Es insoluble en agua destilada, soluble en soluciones diluídas de sales y precipitable en solución al 50% de sulfato de magnesio o amonio.

Cerca del pH isoeléctrico (pH 5.1-5.6) y a pH normal de la leche (6.7), la β -lactoglobulina se presenta en forma de dímero. Por debajo de --

pH=3 y arriba de pH=8, el dímero se disocia, formando dos monómeros con peso molecular de 18 000. En el intervalo de pH 3.8 a 5.1, justamente debajo del punto isoeléctrico, la β -globulina tiende a asociarse en moléculas de ocho monómeros. Este fenómeno de octamerización es asociado a la ionización de los grupos carboxilo (61).

La β -lactoglobulina al igual que otras albúminas y globulinas de la leche por encontrarse como emulsiones genuinas, no precipitan por mera neutralización de su carga eléctrica como ocurre con la caseína a pH de 4.6, su punto isoeléctrico; siendo necesario reducir su hidratación, lo cual se puede conseguir por calentamiento o adicionando alcohol (32). La termodesnaturalización de la β -lactoglobulina ocurre a temperaturas por arriba de los 65°C.

La β -lactoglobulina contiene un grupo disulfuro intramolecular que le imparte la característica de estructura terciaria a la proteína y un sulhidrilo libre que se separa y modifica en el curso de la desnaturalización y que interviene en la formación del "sabor a cocido" de la leche calentada (58,27).

α - LACTOALBUMINA.

Es la segunda proteína del suero en importancia y tiene gran actividad biológica ya que es parte constitutiva del sistema enzimático requerido para la síntesis de la lactosa. No contiene grupos sulhidrilo libres, pero si cuatro grupos disulfuro provenientes de la cistina, lo que la hacen tener 2.5 veces más azufre que la caseína, elevando con ello su valor nutritivo. Algunas características de esta proteína son su bajo peso molecular 17 000 y su alto contenido de triptofano (7.2%).

Al igual que la β -lactoglobulina, la α -lactoalbúmina presenta una dependencia con la temperatura, desnaturalizandose por arriba de los 70°C.

SERO - ALBUMINA

Esta fracción parece ser idéntica a la albúmina del suero sanguíneo; mismo peso molecular 69 000, misma movilidad electroforética e iguales propiedades inmunológicas. En su estructura incluye un grupo sulhidrilo libre y 17 enlaces disulfuro. Su desnaturalización comienza a efectuarse desde los 65°C.

INMUNOGLOBULINAS

Son las mayores moléculas que se encuentran en la leche. Su peso molecular es cercano a 180 000; son similares a las de la sangre del animal que las produce, constan de moléculas de glucoproteínas con un alto contenido de grupos azufrados y con actividad biológica de anticuerpo. Originalmente se les llamó lactoglobulinas y posteriormente como euglobulinas y pseudoglobulinas; actualmente se les designa con las abreviaturas: IgM, IgA, IgG₁ y IgG₂. Las inmunoglobulinas son importantes componentes de la membrana de los glóbulos de grasa; son promotoras del fenómeno de cremado de la leche y contribuyen a las propiedades antibacterianas naturales de la leche y calostro especialmente (27).

Estas proteínas son más sensibles al calor y por lo tanto, las primeras en desnaturalizarse, ocurriendo desde los 62°C.

FRACCION PROTEASA - PEPTONA.

A diferencia de las demás lactoproteínas, las proteasas-peptonas se caracterizan por no precipitar por calentamiento, inclusive a 95°C por 20 minutos y subsecuente acidificación a pH=4.7, aunque en poca-

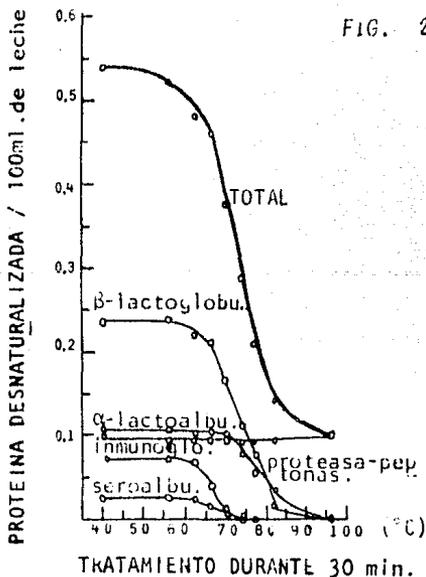
medida, precipitan en parte con el ácido tricloroacético al 12%. Las proteasas-peptonas forman entre 18-25% de las proteínas del suero y cerca del 4% del total de las de la leche.

Esta formada por tres componentes, conocidos como '3', '5', y '8', - distinguibles por su movilidad electroforética. El punto isoeléctrico del componente '3' (único conocido) es de 3.7 (63).

A excepción de la caseína-x, estos son los únicos componentes de la leche de vaca que contienen ácido siálico.

Dentro de la misma familia, existe un componente conocido como sigma-proteasa; sustancia precipitada por el sulfato de amonio a semisaturación en el lactosuero y que es la fracción nitrogenada de la leche que posee la mayor acción superficial o reducción de la tensión superficial (58).

Considerando cada una de las proteínas por separado, las velocidades de desnaturalización son diferentes. Las inmunoglobulinas, son las más sensibles al calentamiento; así a 70°C se desnaturaliza el 89% - mientras que a la misma temperatura la α -lactoalbúmina que es la más resistente, solo de desnaturaliza el 6%. figura 28.



SALES Y MINERALES.

El tercer grupo que constituye el suero lácteo, son las sales y minerales que suelen estar presentes en forma de cloruros, fosfatos y citratos de calcio, magnesio, sodio y potasio y que se encuentran en solución en el suero.

La relación de concentración que guardan estos componentes en la leche y el suero, desempeña un papel importante en la estabilidad de los productos lácteos; de tal forma que los iones calcio y magnesio, tienden a desestabilizar el sistema protéico mientras que los citratos y el fósforo, lo estabilizan (27).

Aproximadamente el 65% del calcio total de la leche existe en estado coloidal interaccionando con las caseínas, mientras que el resto se encuentra en forma iónica. Estas dos formas están en equilibrio, lo cual depende del pH y la temperatura a la que se encuentre el sistema. A pH ácido, hay un desplazamiento del calcio coloidal a soluble, incrementando la inestabilidad de las proteínas, mientras que a temperaturas elevadas, se favorece la formación del calcio coloidal.

La presencia de sales en el suero, influyen en sus propiedades, principalmente en lo que se refiere a la conductividad eléctrica y pH,-- así como en un ligero aumento de la tensión superficial.

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL SUERO LACTEO.

A continuación, en el siguiente cuadro se expone un resumen de algunas de las propiedades fisicoquímicas que presentan el lactosuero:

T A B L A 3

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL SUERO LACTEO

PROPIEDAD	VALOR	OBSERVACIONES	REF.												
Viscosidad.	0.67 - 2.96 cp	Depende de la composición de proteína e hidratación de las mismas, que se modifica por efecto de la temperatura sales y tratamiento térmico- previo.	(62)												
Tensión superficial.	52 - 55 dinas/cm (15°C)	La proteína, es el factor principal de reducción de la tensión superficial. La lactosa y la mayoría de las sales, aumentan ligeramente este valor. Los valores son relativos, ya que dependen del envejecimiento de la solución.	(62) (58)												
Capacidad térmica.	<table border="1"> <thead> <tr> <th>VALOR</th> <th>T</th> </tr> <tr> <th>(cal/g °C)</th> <th>(°C)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.980</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>0.976</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>0.974</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>0.970</td> <td>60</td> </tr> </tbody> </table>	VALOR	T	(cal/g °C)	(°C)	0.980	0	0.976	15	0.974	40	0.970	60		(58)
VALOR	T														
(cal/g °C)	(°C)														
0.980	0														
0.976	15														
0.974	40														
0.970	60														
Indice de refracción.	1.3427-1.3419 (20°C)	Valor pseudoconstante, que depende del contenido de lactosa.	(58)												
Conductividad eléctrica.	40-50 x 10 ⁻⁴ mhos. (25°C)	Considerando que esta propiedad da la presencia de electrolitos solubles en la leche, que en su mayoría pasan al suero. (aunque depende de su procedencia).	(58)												

C A P I T U L O VI.

P R O T O C O L O E X P E R I M E N T A L

OBJETIVOS:

Recuperar la proteína soluble del lactosuero mediante el método de FRACCIONACION DE ESPUMA, así como estudiar la influencia de algunos parámetros que afectan este proceso.

HIPOTESIS:

Las proteínas debido a su estructura anfipática que consiste en poseer un grupo liofóbico que tiene poca atracción por el disolvente junto con grupo liofílico que tiene fuerte atracción por el disolvente, se comporta como tensoactivo o agente con actividad superficial, el cual tiene la propiedad de adsorberse en la superficie o intercara del sistema en que se encuentra, reduciendo la tensión superficial y con ello la energía libre superficial.

Una de las formas de crear superficie en donde el tensoactivo de una solución sea adsorbido, es mediante la formación de burbujas, las cuales si presentan cierta elasticidad que es una medida de la estabilidad de las burbujas (y que depende del tensoactivo y condiciones del sistema en que se presente; capítulo 3), la solución puede espumar.

Así, si suero lácteo es sometido a este proceso, las burbu

Las burbujas formadas adsorberán en su superficie las moléculas de proteína presentes en la solución, llevándolas hasta donde una columna de espuma se forma y en la cual se concentra el material adsorbido.

Si esta espuma es separada, entonces se estará separando y recuperando la proteína que las burbujas han adsorbido. Esta es la base del método de separación por **FRACCIONACION DE ESPUMA**.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

De acuerdo con el método de separación por FRACCIONACION DE ESPUMA; Lemlich (20), existen varios modelos de operación. En este trabajo se utilizará un sistema Batch (intermitente), el cual es el modelo más simple por el que se puede operar y en donde una pequeña cantidad de líquido espumable se coloca en una columna, generando las burbujas en el fondo de ésta y recolectando la espuma formada en la parte superior. Basado en esto, el equipo utilizado es el mostrado en la figura 29.

DESCRIPCION DEL EQUIPO.

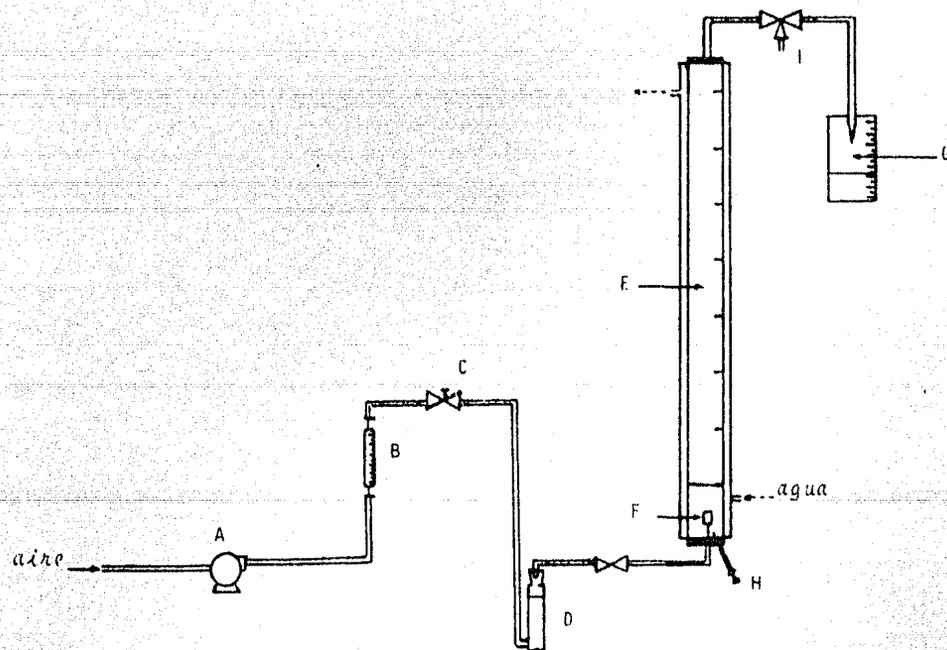
El sistema está constituido por: una bomba peristáltica (A) Cole-Parmer por medio de la cual, se succiona aire. El flujo de este, es medido por medio de un rotámetro (B) {Calibrated & Correlated Flowmeters. Roger Gilmont Ins. Inc. size 1(L-115) y 2(A-990)} y controlado por una válvula de aguja (C).

El aire es después circulado a un recipiente (D) de 30 cm de altura y 5 cm de diámetro que contiene agua, en donde el aire es saturado para evitar posteriores condensaciones. Dicho recipiente es sumergido en un baño a temperatura constante.

Finalmente el aire es introducido a través de un tubo de dispersión (F) {Tube gas dispersion cylindrical. Pyrex brand glass, fritted C; con diámetro de 12mm y long. de 22mm, acoplado a un tubo de vidrio de $d=8\text{mm}$ y long. de 25cm; Fisher Catalog}, en donde se forman las burbujas, a la columna graduada (E) en donde se encuentra la solución de suero. La columna es de acríli-

EQUIPO PARA FRACCIONACION DE ESPUMA.

SISTEMA BATCH.



(A) bomba; (B) rotámetro; (C) válvula de control; (D) saturador de aire; (E) columna; (F) vidrio poroso; (G) colapsador; (H) jeringa; (I) válvula de dos pasos.

co y enchaquetada para introducir agua por el exterior y poder controlar la temperatura. (Column K 50/100 pharmacía fine chemicals, Uppsala - Swrden; adaptada para espumación, con diámetro interior de 5cm, y exterior de 8cm así como longitud total de 100cm).

Si la espuma alcanza la altura máxima de la columna, entonces ésta es recibida en un recipiente (G) donde la espuma es colapsada, obteniendo así una solución concentrada de proteína. El equipo cuenta además con dos tomas de muestras: (H) en donde mediante una jeringa colocada en el fondo de la columna, se toma la muestra sin alterar prácticamente su volumen; (I) que es una válvula de dos pasos, en donde uno de los cuales sirve para retirar la muestra de concentrado.

METODO Y CONDICIONES DE OPERACION.

Para el experimento fueron utilizados en cada corrida 270 ml de suero ácido, elaborado en el laboratorio a partir de leche comercial Boreal (pasteurizada-extrapreferente), de tal forma que dispongamos de un control uniforme de la materia prima. A este respecto es importante hacer notar las dificultades que se presentaron en la reproducción de los resultados, al no contar con un suero que manifestara siempre las mismas características no obstante de utilizar siempre la misma marca comercial de leche.

Con el fin de evitar mayores variaciones, el proceso de elaboración de suero fué mediante la acidificación directa de leche con ácido acético hasta $\text{pH}=4.6$ (punto isoeléctrico de la caseína), donde la caseína precipita y es separada posteriormente por filtración al vacío, hasta obtener un suero con la menor cantidad de sólidos.

De no obtenerse un suero homogéneo, el suero residual es sometido a

calentamiento hasta 90°C, filtrándose posteriormente hasta obtener un suero cristalino.

Con el equipo descrito y suero preparado, son efectuadas varias pruebas:

1. CAPACIDAD DE ESPUMACION.

Con este nombre es descrito el método para evaluar la calidad espumante del suero. Esto se efectúa, midiendo la altura de espuma formada en la columna, así como la altura del líquido residual a diferentes tiempos durante el proceso de espumación; es decir, cuando una muestra de suero contenida en la columna y que no ha sido previamente trabajada a temperatura constante, se le hace fluir una corriente de aire (a la misma temperatura) a flujo constante.

En estas circunstancias, existen muestras cuya espuma alcanza la altura máxima de la columna, la cual es recogida y colapsada en el frasco colector (G), llamándose a esta muestra como CONCENTRADO mientras que el líquido que queda en la columna al final del proceso: FONDOS. De ambos casos son tomadas muestras (ver esquema 29, (H), (I)), y se evalúa la tensión superficial por medio del método del anillo con el tensiómetro de Dürouy (apéndice I) y concentración de proteína, por análisis espectrofotométrico (apéndice II).

2. EFECTO DEL GASTO DE AIRE.

Bajo las mismas condiciones anteriores, muestras de un mismo lote de suero son preparadas con la misma leche y sometidas a espumación a

temperatura constante, cambiando en esta prueba el flujo de aire inyectado para cada muestra.

3. EFECTO DE LA TEMPERATURA.

El efecto de la temperatura sobre la capacidad de espumación del suero se efectúa en forma similar que las pruebas anteriores sólo que en este caso, muestras de un mismo lote de suero son espumadas manteniendo el mismo flujo de aire pero cambiando la temperatura para cada una de ellas. Esto se efectúa variando la temperatura del agua que circula a través de la columna enchaquetada.

4. EFECTO DE DILUCION.

Este experimento intenta observar la influencia que tiene la concentración de proteína del suero del cual se intenta recuperar.

Para este efecto, se prepararon varias diluciones de una misma muestra de suero y fueron cada una ellas sometidas al proceso de espumación.

Esta prueba se hizo en un equipo similar al descrito en la figura 29 aunque en lugar de usar la columna, se utilizó un frasco de vidrio - 30cm de altura y 5cm de diámetro que tiene adaptado un tubo de dispersión con vidrio poroso para producir las burbujas, siendo más práctico su manejo. En este caso se uso una muestra de 100ml para cada dilución a temperatura y flujo de aire constante.

5. EFECTO DEL CLORURO DE CALCIO.

Como es sabido, el cloruro de calcio es una sal que se utiliza en que sería para precipitar una mayor cantidad de caseína, obteniendo así -

un mayor rendimiento. Esto significa que el suero residual tendrá - menos caseína dispersa y presentará propiedades diferentes (capítulo IV). Su influencia en la espumación del suero es estudiada en esta prueba.

Para tal efecto, el suero es preparado en forma rutinaria, solamente que en este caso, antes de acidificar la leche, se le agregó 0.1% de cloruro de calcio en solución a una de las muestras; el suero obtenido es espumado posteriormente a flujo y temperatura constantes. Otra muestra del mismo lote de leche pero sin cloruro de calcio es sometida también a espumación a las mismas condiciones para comparación.

Todas las muestras fueron trabajadas en un valor de pH de 4.6 - 5.0 ya que de acuerdo a los estudios realizados por Rubin y Gaden (65), en el caso de soluciones de proteína, las mejores separaciones se obtienen en su punto isoeléctrico.

CAPITULO 7. RESULTADOS Y ANALISIS DE DATOS.

A) CAPACIDAD DE LSUMACION.

Se trabajaron varias muestras de suero elaboradas con distintos lotes de leche cada una.

Los resultados de altura de espuma y altura del líquido de cada corrida son mostrados en las gráficas 1 y 2.

Las características de cada suero así como los valores de concentración y tensión superficial antes y después del proceso tanto de fondos como de concentrado, se encuentran reportados en la tabla 4.

Las muestras de fondos son obtenidas justo antes de detener el proceso es decir, con la espuma aún formada. En las observaciones se reportan las muestras que alcanzaron la altura máxima de la columna y que fluyeron hacia el frasco colector así como aquellas que no alcanzaron la altura máxima pero adquirieron una altura constante dentro de la columna. En estas últimas, no se reportan características de concentrado.

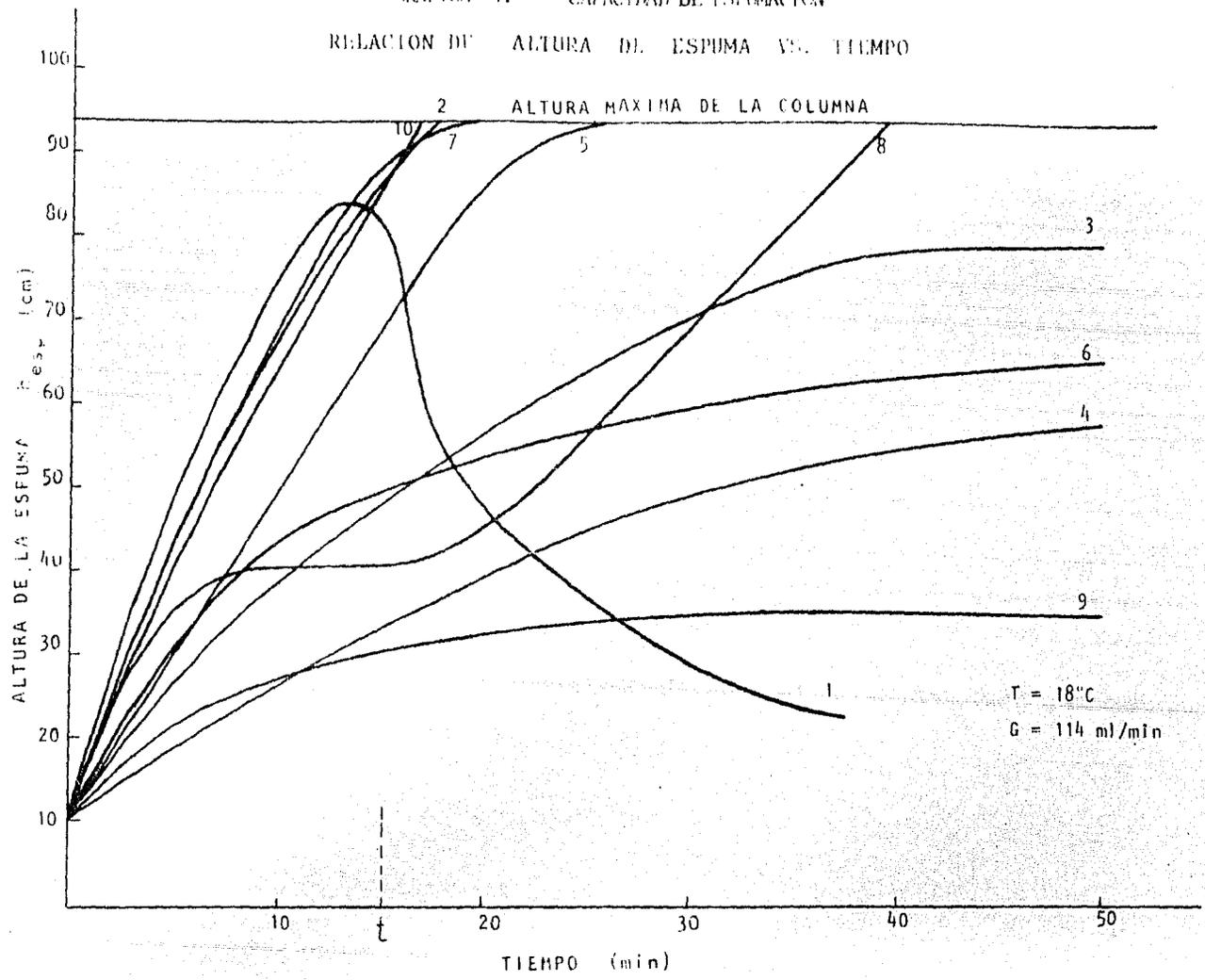
DISCUSION:

De los resultados obtenidos (grafica 1) se observa, que las muestras que alcanzaron la altura máxima de la columna - muestras 2,5,7,8 y 10- sus curvas de altura de espuma h_{esp} con respecto al tiempo t , adquieren entre 10 y 20 minutos un crecimiento constante, mientras que aquellas muestras que no alcanzaron la altura máxima a partir de ese tiempo, su pendiente tiende a cero.

Evaluando la diferencia de tensión superficial de los fondos antes y después del proceso $\gamma_f - \gamma_o$, así como la cantidad separada o %SEPARADO, -

GRAFICA 1. CAPACIDAD DE ESPUMACION

RELACION DE ALTURA DE ESPUMA VS. TIEMPO



GRAFICA 2. CAPACIDAD DE ESPUMACION.

RELACION DE ALTURA DE LIQUIDO vs. TIEMPO

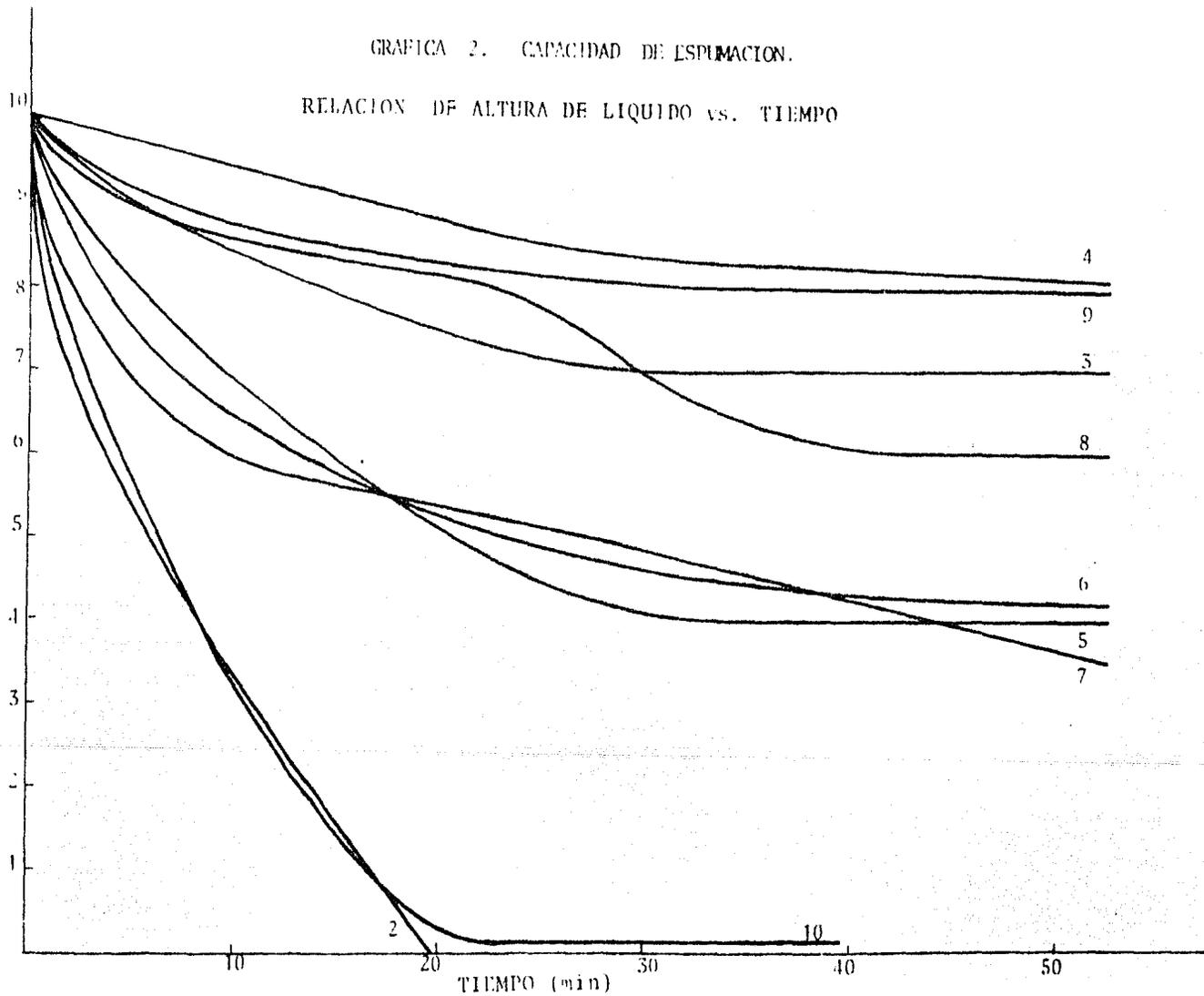


TABLA 4.

CAPACIDAD DE ESPUMACION
R E S U L T A D O S

MUESTRA	ORIGINAL		CONCENTRADO		FONDOS		TIEMPO TOTAL (min)	OBSERVACIONES
	Co (g/l)	γ_o (dinas/cm)	Cc (g/l)	γ_c (dinas/cm)	Cf (g/l)	γ_f (dinas/cm)		
1	-	50.00	-	-	-	53.18	30	Ligeramente cristallino.
2	2.985	51.50	1.222	51.5	1.443	53.83	49	Suero cristallino - alcanza altura máx de la columna.
3	4.086	53.47	-	-	2.936	52.73	60	Suero turbio; altura máx. alcanzada - 79.5 cm.
4	6.019	53.40	-	-	4.502	52.63	70	Suero turbio. altura máxima 60cm
5	4.796	-	6.142	-	3.841	-	70	Cristallino. alcanza altura máx de la columna.
6	2.544	53.73	-	-	1.663	-	65	Altura máx. 66 cm.
7	4.159	50.60	5.261	48.83	3.718	53.43	75	Turbio. Alcanza altura máx de la columna.
8.	5.848	49.70	8.369	46.93	5.554	52.77	60	Ligeramente cristallino. alcanza altura máx de la columna.
9.	4.893	49.80	-	-	4.306	50.90	60	Turbio. altura máx. 35 cm.
10.	4.200	51.00	3.642	-	3.343	-	50	Cristallino. alcanza altura máx de la columna. En este caso la corriente es de N ₂ .

el cual es igual a $(C_o - C_f)/C_o$ y el rendimiento $\%R=(C_c - C_o)100/ C_o$, se obtienen los siguientes resultados: TABLA 5.

MUESTRA	$\gamma_f - \gamma_o$ (dinas/cm)	%SEPARADO	RENDIMIENTO %
1	3.00	-	-
2	2.33	51.66	0.00
3	(-0.74)	28.14	-
4	(-0.77)	25.20	-
5	-	19.90	28.06
6	-	34.63	-
7	2.83	10.60	26.49
8	3.07	5.03	43.10
9	1.10	11.99	-
10	-	20.40	0.00

TABLA 5.

Analizando la tabla anterior, observamos que en todas aquellas muestras que alcanzaron la altura máxima de la columna, existe un aumento de tensión superficial en los fondos después del proceso, lo que significa que existe una separación de tensoactivo, acarreado por las burbujas hasta formar la espuma, mientras que en las muestras que no se alcanzó la altura máxima de la columna, la variación es inclusive negativa, indicando posiblemente la presencia de inhibidores u otros agentes que no permiten la adsorción del tensoactivo en la superficie de las burbujas. Por otro lado, al estudiar el %SEPARADO y el RENDIMIENTO de las muestras, notamos que aquellas cuyo %SEPARADO es muy

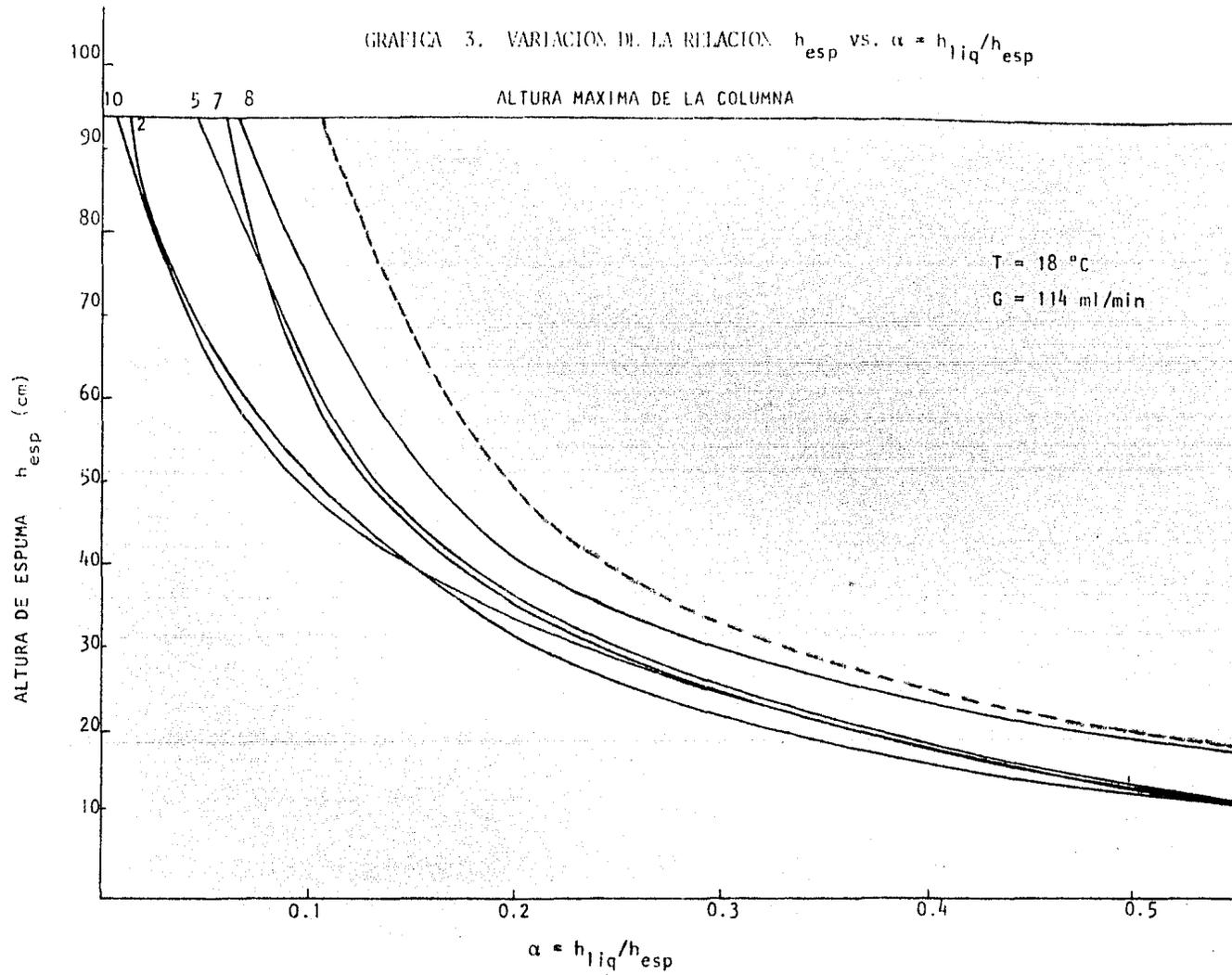
alto, -muestras 2 y 10- el rendimiento es cero, mientras que en la muestra 8 aunque el %SEPARADO es bajo, es el que tiene el mayor valor de RENDIMIENTO.

Este resultado puede explicarse al considerar que en las muestras - 2 y 10 la cantidad de líquido intersticial acarreado entre las burbujas es muy alto dando una espuma muy humeda; incrementando el valor de %SEPARADO pero no el RENDIMIENTO ya que no hay separación.

Lo anterior puede verificarse al graficar la altura de espuma h_{esp} con respecto a la relación $\alpha = h_{liq} / h_{esp}$ para las muestras que alcanzaron la altura máxima de la columna; grafica 3.

En esta gráfica aparece en primera instancia una curva ideal (línea naranja) donde se supone que la altura del líquido h_{liq} no cambia, caso que en realidad no puede existir ya que para que la espuma sea formada, es necesario que fluya líquido a través de las burbujas que la forman y por lo tanto necesariamente tiene que disminuir la h_{liq} ; sin embargo, es un buen parámetro para considerar una espuma seca, la cual tiene un alto grado de separación del componente tensoactivo.

En estas condiciones, al graficar los resultados experimentales se observa que todas las curvas caen por debajo de la curva ideal y que para una misma h_{esp} , la diferencia de $\alpha = h_{liq} / h_{esp}$ entre la curva ideal y la curva experimental, representa la cantidad de líquido arrastrado por la espuma y que a medida que esta diferencia sea menor, se obtendrá espuma seca. Al respecto, las curvas de las muestras 2 y 10 son las que aparecen más alejadas de la curva ideal, lo que significa que la espuma acarrió más líquido, por lo que no se logra la separación del componente; mientras que la curva de la muestra 8 es la más cercana a la curva ideal y en donde se obtiene mayor rendimiento.



La gráfica 3 es por lo tanto, un buen parámetro para evaluar la capacidad de espumación y recuperación de proteína, dependiendo del grado de humedad de la espuma.

Por otro lado, al analizar aquellas muestras que no alcanzaron la altura máxima de la columna pero si un valor constante dentro de ellas tales como la 3,4,9 y 6, encontramos que originalmente estas muestras presetan turbidez, lo que indica la presencia de dos fases.

Esta observación puede ser explicada, si recordamos del capítulo 2 -- fig. 10, que a concentraciones por arriba de la concentración micelar -- crítica CMC donde existe la formación de micelas, la tensión superficial con respecto a la concentración (dy / dC) es cero lo que trae como consecuencia que la concentración superficial en exceso (ec. de adsorción de Gibbs) y por lo tanto la cantidad de proteína adsorbida en las burbujas o reparto de tensoactivo entre las fases, sea cero; por lo que no existe formación de espuma. Es de esperar entonces, que existirá una concentración óptima por debajo de CMC donde se obtenga la espumación máxima, es decir donde se presente la mayor adsorción.

Estos resultados coinciden con los estudios realizados por Ross y Nishioka (19), en donde utilizando un diagrama de fases, observan que muestras de fases separadas, no espuman mientras que soluciones homogéneas constituidas por 2 o más componentes, exhiben un incremento en la espumación a concentraciones cercanas al punto crítico de la solución.

Un caso particular se presenta con la muestra 1 (gráfica 1) donde se observa que no obstante de tener una muestra ligeramente turbia (lo que significa la presencia de dos fases) y que al principio de la espumación, la velocidad de crecimiento de la espuma es muy alta (tal

y como ocurre con las muestras 2 y 10), no se logra alcanzar la altura máxima de la columna y después de 12-15 minutos, la espuma empieza a decrecer hasta alcanzar una altura constante de 20 cm.

Para explicar este comportamiento, según estudios realizados por Philip y Bell (73), se ha observado que el proceso de espumación, desnaturaliza y precipita parte de las proteínas en la interfase de las burbujas, por lo que aumenta la cantidad de sólidos, existiendo la presencia de dos fases y por lo tanto un decremento de la espumación.

ESTUDIO DEL EFECTO DE CIERTOS PARAMETROS SOBRE LA ESPUMACION.

VARIACION DEL FLUJO DE AIRE.

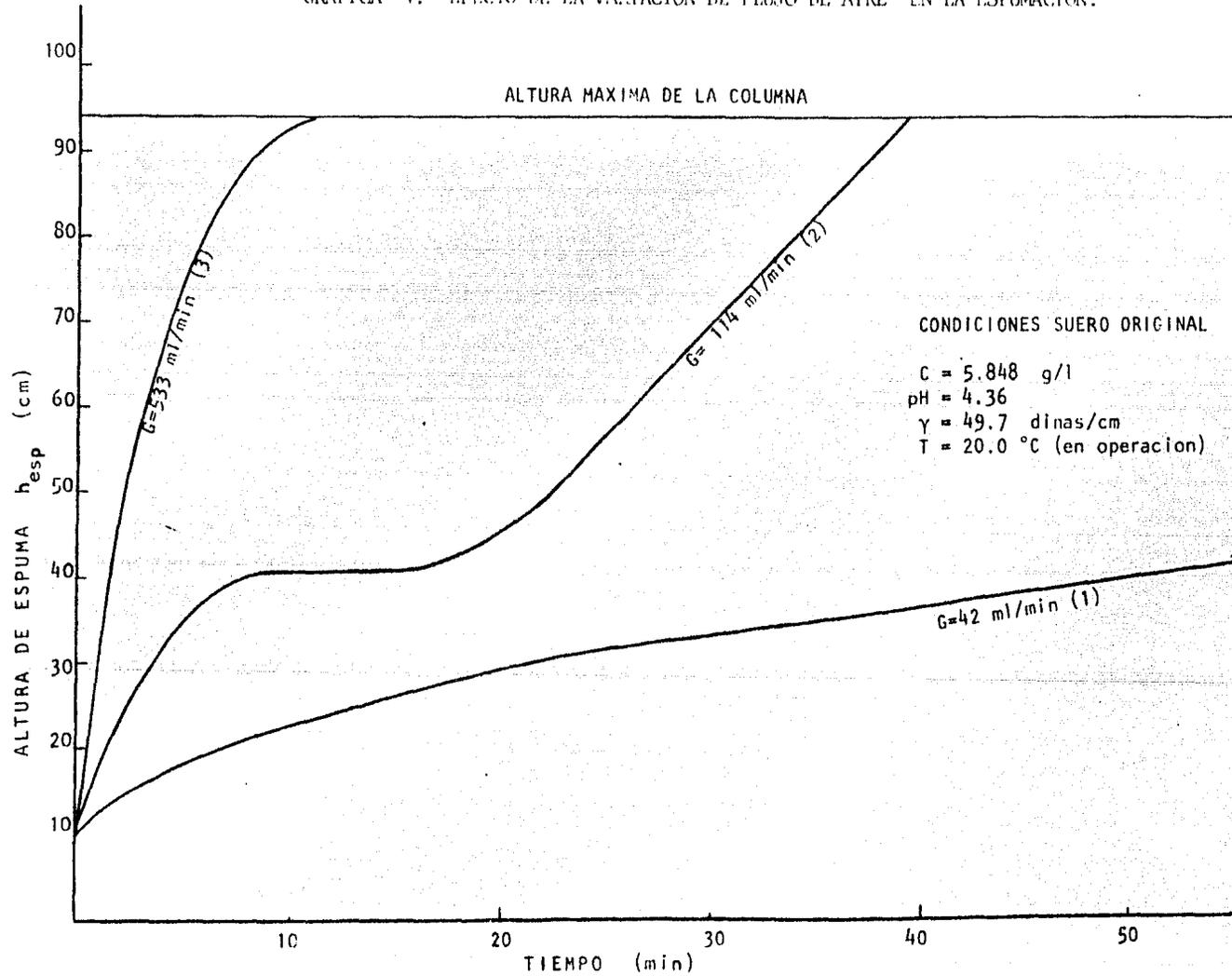
Se manejaron tres muestras de suero procedentes de un mismo lote, a diferentes flujos de aire: 42, 114 y 533 ml/min respectivamente, a 20°C de temperatura. Los resultados de h_{esp} vs. tiempo t , se encuentran reportados en la gráfica 4. Las características, valores de concentración y variación de tensión superficial antes y después del proceso, así como %SEPARADO y RENDIMIENTO, son mostrados en la tabla 6.

De la gráfica 4 podemos observar que a medida que el flujo de aire aumenta, la capacidad de espumación es mayor; es decir, muestras que a flujos bajos no espuman (muestra 1) pueden alcanzar la altura máxima de la columna a medida que el gasto de aire se incrementa.

Analizando la tabla 6, por otro lado; se observa que aunque a flujos altos (muestra 3) se obtiene rápidamente la altura máxima de la espuma en la columna con un alto valor de %SEPARADO, el RENDIMIENTO disminuye.

Este comportamiento puede explicarse al considerar que a medida que

GRAFICA 4. EFECTO DE LA VARIACION DE FLUJO DE AIRE EN LA ESPUMACION.



T A B L A 6.

MUESTRA	FLUJO DE AIRE (ml / min)	CONC. ORIGINAL (g/l)	CONC. FONDOS (g/l)	CONC. CONCENTRADO (g/l)	TENSION SUPERFICIAL (dinas/cm)	%SEPARACION ($C_0 - C_f$) / C_0	% RENDIMIENTO ($C_c - C_0$) / C_0
1 (a)	42	5.848	5.089	-	(-0.37)	12.980	-
2	114	5.848	5.554	8.369	3.07	5.027	45.10
3	533	5.848	3.988	5.505	1.23	31.805	0.00

OBSERVACIONES: El suero original presentaba turbidez.

(a) La muestra 1 no alcanza la altura máxima de la columna, por lo que no se reporta concentración de concentrado y por lo tanto tampoco rendimiento.

el flujo de aire aumenta, la cantidad de burbujas formadas es mayor y por lo tanto la superficie en donde se adsorbe el tensoactivo se incrementa también, formando mayor cantidad de espuma. Sin embargo aunque la adsorción de proteína es mayor también lo es la cantidad de líquido intersticial que se arrastra entre las burbujas de la es puma, lo que evita una buena separación.

En estas circunstancias, lo más conveniente es encontrar experimen talmente un gasto óptimo donde ambos efectos se compensen y se lo gre el mayor rendimiento posible, tal como se presenta en la mues tra 2.

EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA ESPUMACION.

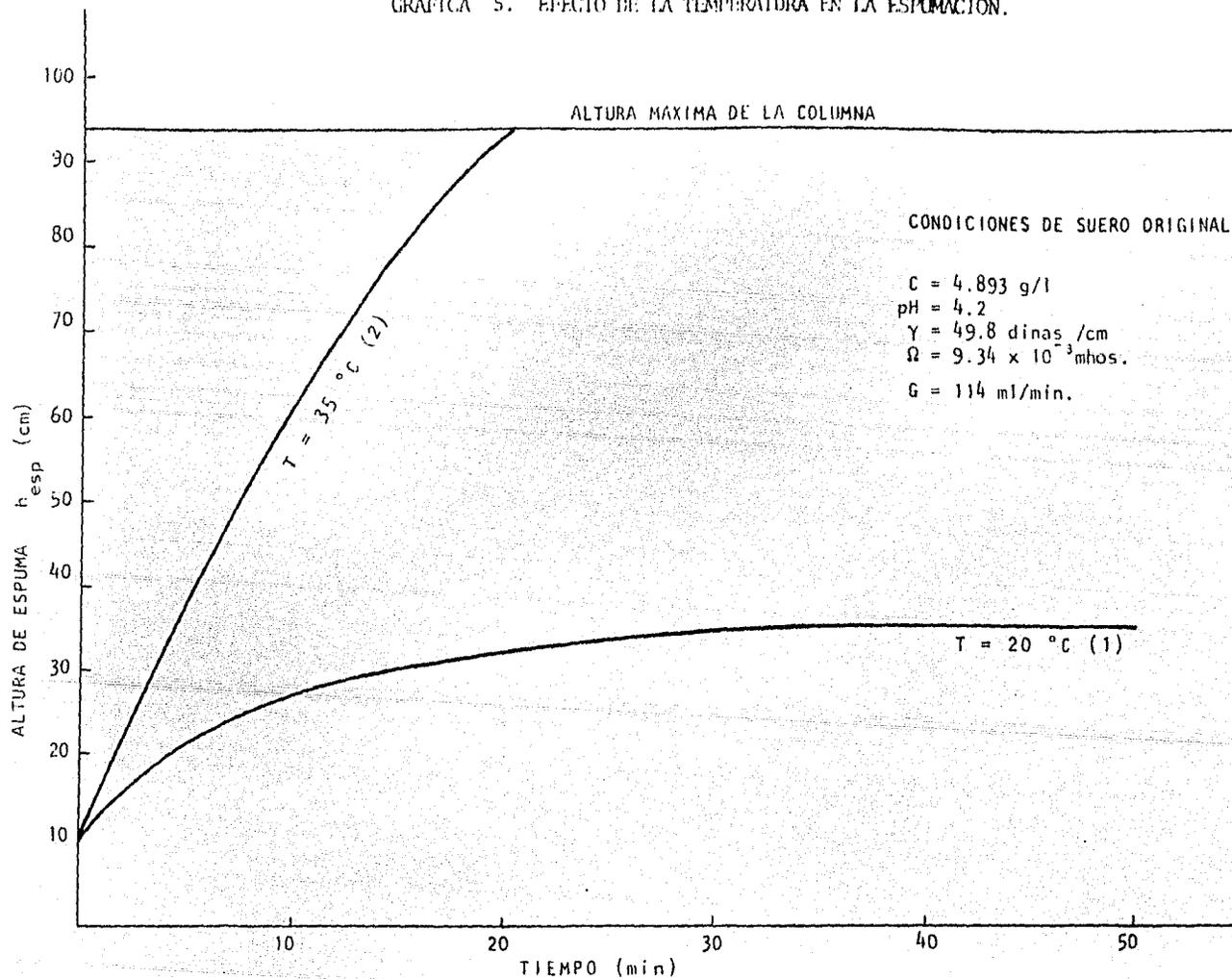
En este prueba sólo se trabajaron dos muestras debido a los inconvenien tes que presentaba el equipo al elevar la temperatura (fugas a tra vés de los empaques de la columna). Ambas muestras pertenecen a un mismo lote de suero y fueron trabajadas a 20°C y 35°C respectivamen te y a un flujo de aire de 114 ml/min en ambos casos.

Los resultados de capacidad de espumación (h_{esp} vs. tiempo t), con centración, variación de la tensión superficial de los fondos antes y despues del proceso, %SEPARADO y RENDIMIENTO, son reportados en la gráfica 5 tabla 7.

De acuerdo a los resultados reportados, se observa que a medida que la temperatura se incrementa, la capacidad de espumación también - aumenta, ofreciendo buenos resultados de %SEPARADO y RENDIMIENTO - aunque en menor cantidad.

Si comparamos estos resultados con los obtenidos en las pruebas ante riores, podemos suponer que aunque a 35°C se incrementó la espumación, la espuma producida esta húmeda y que por lo tanto se obtiene un ba

GRAFICA 5. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA ESPUMACION.



T A B L A 7.

MUESTRA	TEMPERATURA (°C)	CONC. ORIGINAL (g/l)	CONC. FONDOS (g/l)	CONC. CONCENTRADO (g/l)	TENSION SUPERFICIAL (dinas/cm)	%SEPARACION (Co-C _f)/ Co	% RENDIMIENTO (Cc-Co) / Co
1 (a)	20	4.893	4.306	-	1.13	11.996	-
2	35	4.893	3.886	5.065	1.10	20.980	3.515

OBSERVACIONES: El suero original presenta turbidez.

(a) la muestra 1, no alcanza la altura máxima de la columna.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA ESPUMACION.

jo rendimiento. Por lo que al igual que en el caso de la variación de flujo de aire, debe existir una temperatura óptima intermedia, - posiblemente entre 20 y 35 °C en donde se obtenga el mayor rendimiento posible.

Esta condición se encuentra apoyada al considerar por un lado, que el efecto de la temperatura sobre la espumación se debe al efecto - que tiene ésta sobre la solubilidad de las proteínas, la cual se incrementa al aumentar la temperatura y como se ha visto en pruebas - anteriores, aquellas muestras turbias en donde existe la presencia de dos fases, no espuman; por lo que, la elevación de la temperatura - evitará este problema.

Sin embargo, el incremento de la temperatura tiene que ser limitado en primer lugar por el efecto que tiene sobre la naturaleza de las proteínas (en caso de que en el proceso de elaboración de suero, no hubiese existido desnaturalización de las mismas), y después por el efecto que tiene sobre la adsorción de proteínas en la superficie - de las burbujas. Recordando la ec. de adsorción de Gibbs $\Gamma = \frac{C}{RT} \left(\frac{dy}{dC} \right)_T$, observamos que si la temperatura aumenta, la concentración superficial en exceso disminuye, siendo menor la cantidad de proteína adsorbida y por lo tanto separada por la espuma.

La temperatura óptima tiene que ser encontrada experimentalmente - para cada lote de suero, ya que depende de las propiedades y composición que esta posea.

EFFECTO DE DILUCION.

Para esta prueba, se estudiaron muestras de lotes diferentes de suero y en donde se prepararon varias diluciones de cada una de ellas, las cuales fueron sometidas a espumación a una temperatura constante

de 20°C y un flujo de aire de 114 ml/min.

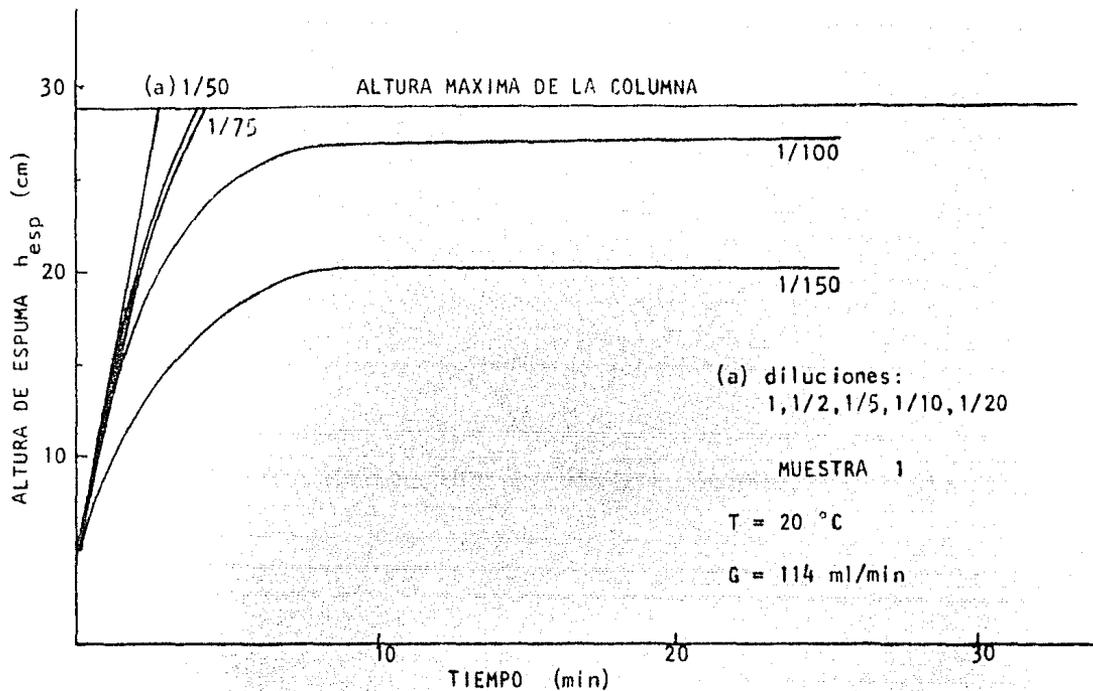
La variación de h_{esp} vs. tiempo t para cada muestra, se encuentra reportada en las gráficas 6 y 7 representando cada una, lotes diferentes de suero.

Analizando la muestra 1 (gráfica 6), se observa que la capacidad de espumación o facilidad para alcanzar la altura máxima de la columna, va disminuyendo a medida que aumenta la dilución hasta llegar al límite que ya no se alcance la altura máxima, manteniendo una altura constante dentro de la columna (muestras cuya dilución es mayor o igual a 1/100). Recordando sin embargo, que en aquellas muestras que a tiempos muy cortos alcanzan la altura máxima, se obtiene una espuma muy húmeda y por lo tanto un bajo valor de recuperación de proteína, entonces podemos decir que existe un valor óptimo de concentración de proteína del suero original en donde se obtiene el mayor rendimiento.

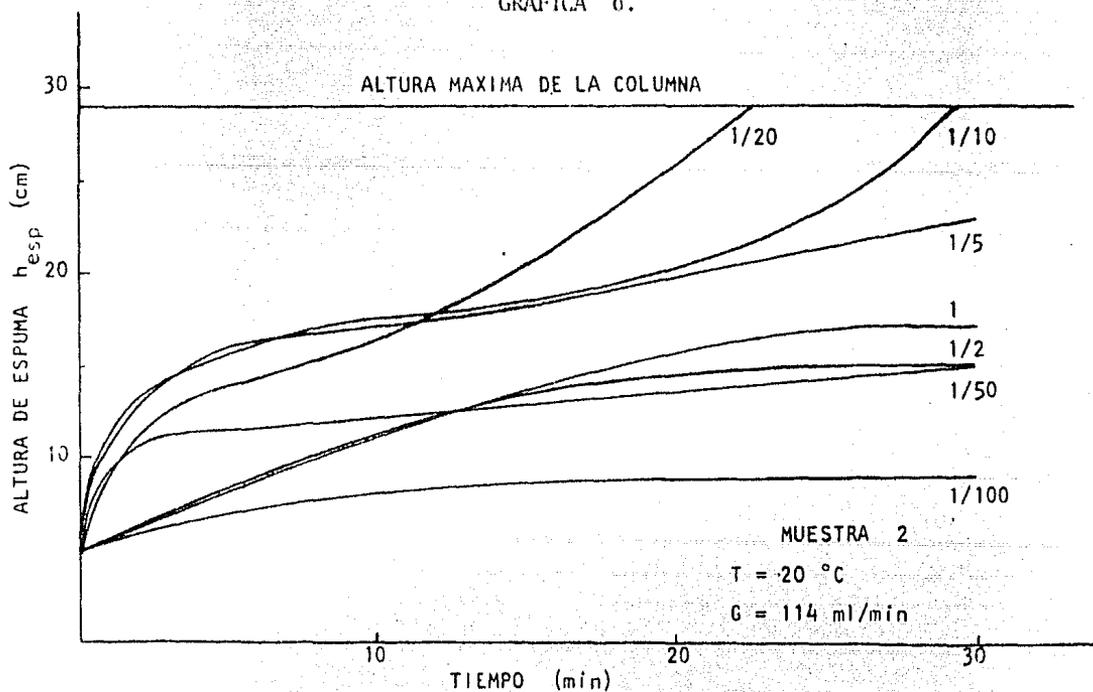
Para las condiciones anteriores este valor se presenta entre las diluciones de 1/75 y 1/100.

Al estudiar la gráfica 7, nos encontramos con un comportamiento diferente. En este caso tanto las muestras muy concentradas (1 y 1/2) así como muy diluídas (1/50 y 1/100), no alcanzan la altura máxima de la columna, lográndolo sólo las muestras con concentraciones intermedias: 1/20 y 1/10. No obstante, este resultado confirma el hecho de que existe una concentración óptima para la recuperación de proteína. Para este ejemplo, las muestras cuya concentración es elevada no alcanzaron la altura máxima debido a la presencia de dos fases ($C > CMC$) lo que impide la formación de espuma.

EFECTO DE DILUCION EN LA ESPUMACION



GRAFICA 6.



GRAFICA 7.

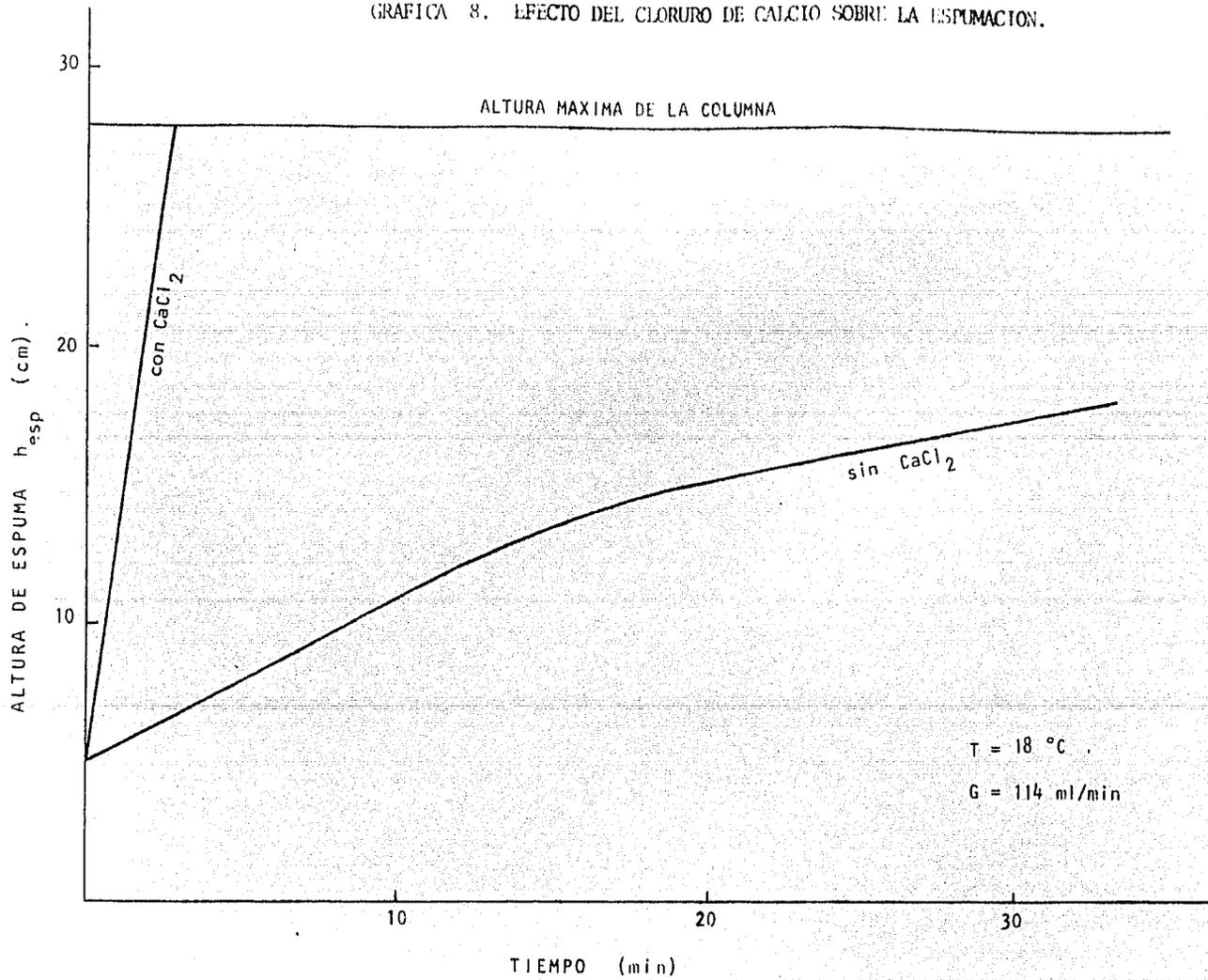
EFECTO DEL CLORURO DE CALCIO.

Se prepararon dos muestras de suero de un mismo lote de leche. La primera (muestra 1) se efectuó en la forma acostumbrada. La muestra 2 - antes de acidificar la leche, se adicionó 0.1% de cloruro de calcio. Ambas muestras fueron sometidas a espumación a una temperatura de 20°C y un gasto de aire de 114 ml/ min.

La variación de h_{esp} vs. tiempo t es el mostrado en la gráfica 8 en - donde se observa una mayor capacidad de espumación en la muestra 2. Este resultado puede atribuirse al hecho de que existe una mejor separación de caseína en presencia de la sal de calcio y por lo tanto se obtiene un suero menos turbio; es decir, evita la presencia de dos fases, alejándose de CNC y aumentando la adsorción de proteína en las burbujas.

Hay que considerar sin embargo, que el cloruro de calcio es un agente que aumenta la tensión superficial, lo cual es perjudicial en la -- fraccionación de espuma, ya que precisamente es el fenómeno contrario la propiedad que hace que una solución espume, por lo que no se puede hacer un uso indiscriminado de esta sal.

GRAFICA 8. EFECTO DEL CLORURO DE CALCIO SOBRE LA ESPUMACION.



C O N C L U S I O N E S

De acuerdo con las pruebas y resultados obtenidos, se puede afirmar, que es posible recuperar la proteína soluble del lactosuero mediante el método de FRACCIONACION DE ESPUMA, lograndose separaciones de hasta - 43% de rendimiento.

Todas las muestras presentan diferentes grados de espumación, lo cual depende de los constituyentes originales de la leche así como de las técnicas de separación de la cuajada en la fabricación de queso, ya que de no ser ésta bien efectuada, quedan grandes cantidades de material sólido dispeso en el suero, lo que inhibe la espumación. En estas condiciones, la concentración original de proteína del suero está por arriba de la concentración micelar crítica CMC en donde ya no hay adsorción.

Los resultados anteriores concuerdan con las observaciones hechas por Ross y Nishioka (19) donde sistemas compuestos por dos o más fases, no espuman.

Esto último fué el principal problema presentado en la separación de proteína del suero lácteo. Bajo estas circunstancias es necesario continuar el trabajo en la evaluación del grado de turbidez de cada una de las muestras, para saber a partir de que momento o en que condiciones, tales muestras no se ven afectadas por la presencia de dos fases.

La influencia del gasto de aire introducido, temperatura, concentración original de proteína y adición de cloruro de calcio, también fué estudiada; encontrando que existen valores óptimos de cada uno de estos parámetros en donde se evita la presencia de dos fases y espumas poco húmedas con alto grado de recuperación. Es por tanto necesario antes de procesar un suero, hacer un estudio de todos estos parámetros para operar en las mejores condiciones.

Es posible aumentar la eficiencia de la columna, utilizando otros modelos de operación tales como: sistema continuo, sistema con alimentación superior, con enriquecimiento o combinada (Cap. IV), en donde la espuma es enriquecida de proteína y se obtiene una mayor separación.

La ventaja principal de esta técnica es que, a diferencia de otros métodos que son útiles para separar material de soluciones concentradas, el método de FRACCIONACION DE ESPUMA, se utiliza y se obtienen mayores separaciones cuando las soluciones originales son muy diluídas.

El método de FRACCIONACION DE ESPUMA, presenta una buena alternativa de separación de proteína del suero lácteo ya que su operación es sencilla y su costo reducido puesto que solo se necesita una columna construida con material que no afecte al suero y aire; lo que hace que cualquier productor de quesos pueda recuperar la proteína del lactosuero y no sólo los grandes industriales que cuentan con los recursos para instalar equipos cuya eficiencia es mayor pero su costo también lo es.

A P E N D I C E I.

MEDIDA DE LA TENSION SUPERFICIAL MEDIANTE EL TENSIOMETRO DE DUNOÛY.

El tensiómetro de DuNoüy es un instrumento para medir la tensión superficial basado en el método del anillo.

Este método se basa en la determinación de la fuerza para separar un anillo de alambre de la superficie de un líquido.

Considerando en primera instancia que la fuerza de separación P está dada por la tensión superficial multiplicada por el perímetro de la superficie separada (tomando ambas caras), entonces:

$$P = Mg = 4\pi RY$$

o

$$Y = \frac{Mg}{4\pi R}$$

donde: M = peso del líquido separado.

g = cte. gravitacional.

R = radio del anillo y

Y = tensión superficial.

Harkins y Jordan (74) encuentran sin embargo, que esta ecuación presenta variaciones de hasta el 30% del valor real y hacen una corrección empírica, introduciendo el factor F el cual depende de dos relaciones dimensionales:

$$F = \left(\frac{R^3}{V}, \frac{R}{r} \right)$$

donde: r = radio del alambre del que está hecho el anillo.

y V = volumen del líquido separado al desprenderse el anillo.

En estas condiciones, la ecuación anterior resulta ser:

$$Y = \frac{Mg}{4\pi R} \left(\frac{R^3}{V}, \frac{R}{r} \right) = \frac{Mg}{4\pi R} F$$

Las relaciones de F en función de R^3/V y R/r han sido tabuladas y graficadas por los mismos autores (74). El valor de R y r son datos proporcionados por el fabricante y V es evaluado por la ecuación: $V = M/(D - d)$ donde M es el peso del líquido separado, D es la densidad del mismo y d es la densidad del aire saturado con -

el vapor del líquido.

El tensiómetro de DuNoüy, está constituido por un alambre delgado de torsión que proporciona la fuerza necesaria para desprender el anillo de platino-iridio de la superficie del líquido problema. El alambre de torsión esta sujeto a una pinza de tensión por un extremo y a una cabeza de torsión en el otro, la cual lleva un dial graduado con divisiones de 0-90 donde cada una corresponde a una dina; y un vernier, que permite leer la fuerza aplicada directamente hasta 0.1 dinas.

En el punto medio del alambre de torsión, se encuentra colgado un brazo de palanca en cuyo extremo opuesto es sujetado el anillo de alambre. El tensiómetro cuenta además con una plataforma para sostener el recipiente que contiene el líquido problema y en donde es introducido posteriormente el anillo.

La preparación y calibración del aparato así como la secuencia de trabajo para medir la tensión superficial se hicieron de acuerdo a los Métodos Standard de Prueba ASTM clave: D 1331-56 adaptación 1956.

El aparato utilizado es: CENCO DuNoüy Tensiometer.
cat. no. 70535
central scientific. Div. of Cenco Ins. Co.

A P E N D I C E II.

ANALISIS DE PROTEINA.

METODO COLORIMETRICO CON EL REACTIVO DE FOLIN - CIICALTEAU

La reacción de los grupos tirosina de las proteínas con el reactivo de folin-ciocalteau (1927), ha sido usado en los últimos años para la estimación de proteína total en solución.

El método es aplicable para soluciones que contengan entre 0-60 mg/l o 0-100 mg/l de proteína en solución, ya que la ley de Beer no se cumple para valores superiores. Las principales ventajas que presenta esta técnica es su alta sensibilidad y su poco efecto a la dispersión de la luz, aunque presenta el inconveniente de exigir gran velocidad en su manejo.

Aunque la absorción de color a 750 nm varía considerablemente de proteína a proteína, este parece el mejor valor de longitud de onda para trabajar.

PREPARACION DE REACTIVOS.

REACTIVO A : Se mezclan 2g de carbonato de sodio anhidro con 0.02 g de tartrato doble de sodio y potasio y se aforan hasta 100 ml con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 N. (duración 15 días).

REACTIVO B : 0.5 g de sulfato de cobre $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ más 1 o 2 gotas de ác. sulfúrico concentrado es aforado con 100ml de agua.

REACTIVO C : Reactivo de folin-ciocalteau es diluido en agua en proporción 1:1.

TECNICA .-

1 ml de la muestra problema es tomado y se mezcla con 3 ml de una solución que contenga 50 ml del reactivo A y 1 ml del reactivo B. Se agita y se deja reposar durante 10 min. Se agrega posteriormente 0.3 ml del reactivo C y se deja reposar durante 30 min. La lectura se hace a 750 nm.

La curva patrón para el análisis de proteína del suero, fue hecha con albúmina :
ALBUMIN BOVINE, fraction V Powder (96-99% albumin) Remainder mostly Globulins.
Stone Dessicated at 0-5°C.
Sigma Chemical Co; a diluciones de 20, 40, 60, 80 y 100 mg/ l.

Los resultados experimentales y gráfica, se encuentran reportados a continuación;
en donde se presentan el ajuste de curva por mínimos cuadrados y su ecuación res-
pectiva.

REF: Lowry, O.H. Rosenbrough, N.J. et al.

Protein Measurement with the folin phenol
reagent.

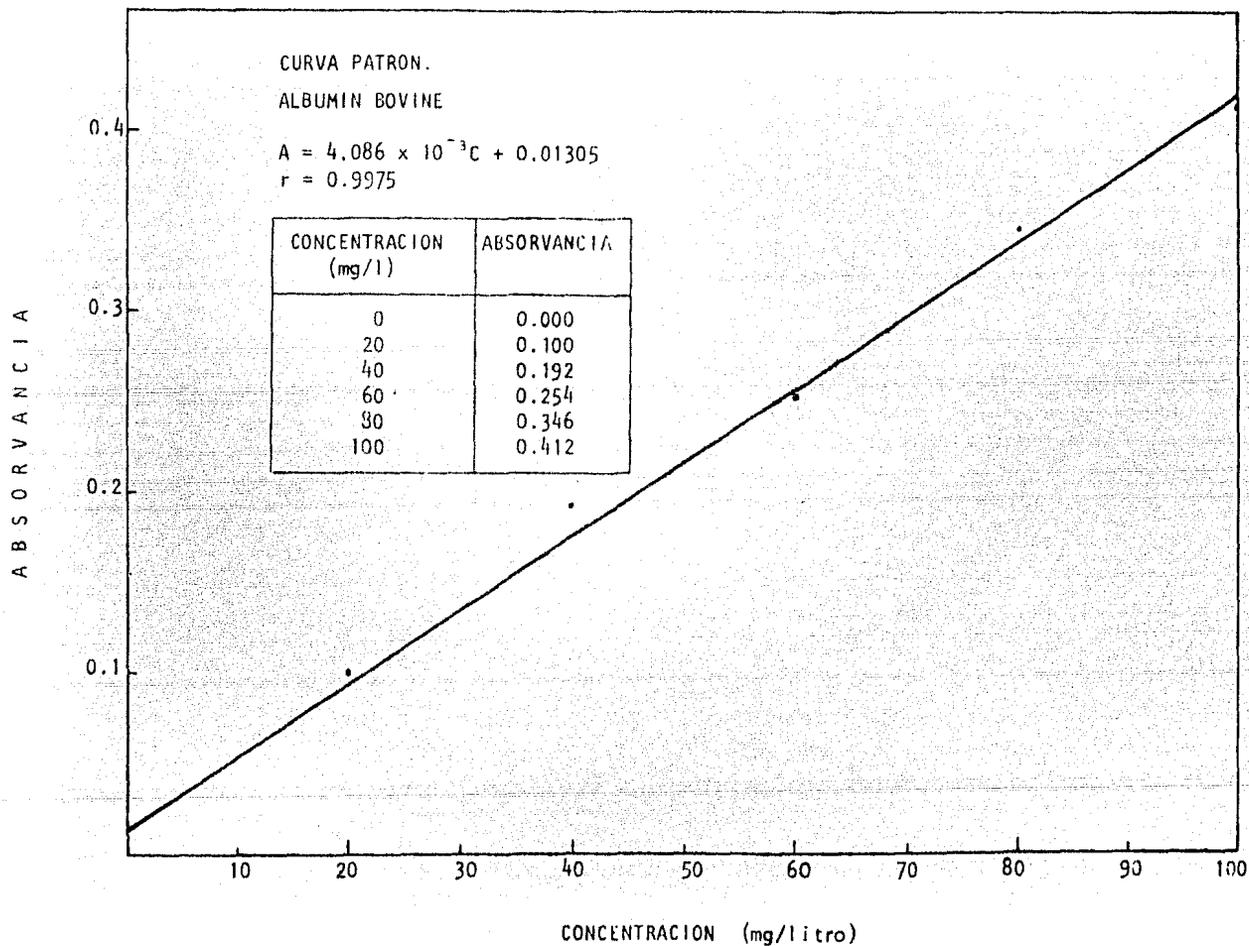
Journal Biol. Chem. 193, 265 (1951).

Mc. Kenzie, H.A.

Milk Proteins. Chemistry and molecular biology.
Academic Press. New York, 1970.

CURVA PATRON

ANALISIS DE PROTEINA



B I B L I O G R A F I A

1. Racotta Viorica.
Posibilidades para el aprovechamiento del suero lácteo.
Tecnología de alimentos. México, Nov-Dic, 6, (1979).
2. Nieto, F.J.
Sueros de quesería; Orientaciones sobre su aprovechamiento y revalorización.
Ind. Lácteas. EUA; 24, 57 (1973).
3. García, J.G.; Gomez, L.
Obtención de Biomasa y Endo-Poligalactourinasa de *Kluyveromyces fragilis*, a partir del suero de queso.
Tesis Profesional. México 1982.
Facultad de Química, UNAM.
4. Aveyard, R.; Haydon, D.A.
An Introduction to the principles of surface chemistry.
Cambridge, At the University Press; 1973.
5. Toral, M.T.
Fisicoquímica de superficies y sistemas dispersos.
1ª ed. Ediciones Urno. España 1973.
6. Gibbs, J.W.
The Scientific Papers. VOL. 1
Dover Publications, Inc. EUA
7. Castellan, Gilbert.
Fisicoquímica.
Fondo Educativo Interamericano, S.A. 1971.
8. Prausnitz, J.M.
Molecular Thermodynamics of fluid-phase equilibria.
cap. 2 Prentice-Hall Inc. EUA 1969.
9. Rosen, Milton J.
Surfactans and Interfacial Phenomena.
John Wiley & Sons. EUA 1978.
10. Kouloheris, A.P.
Foam Destruction and Inhibition.
Chemical Engineering. July 27, 143 (1970).
11. Karger, B.L. and DeVivo, D.G.
General Survey of Adsorptive bubble separation processes.
Separation Science. 3(5), 393 (1968).
12. Adamson, Arthur W.
Physical Chemistry of surfaces. cap 1.
Ed. John Wiley & Sons. Canada, 1976.

13. Sebba, Felix.
Biliquid Foams.
Journal of Colloid and Interface Science. 40(3), 468 (1972).
14. Bikerman, Jacob J.
Foams.
Springer-Verlag. EUA 1973.
15. Hansen, R.S.; et al.
Problems in foam origin, drainage and rupture. FOAMS.
Akers, R.J. Academic Press. London 1976.
16. Norris, J.R.; Ribbons, D.W.
Methods in Microbiology. cap. VII, Antifoams Agents.
Vol. 2; Academic Press Inc. 1972.
17. Ahmad, Jamil.
A two-dimensional Analog of foams.
Journal of Colloid and Interface Science. 72(3), 483 (1979).
18. Gracia Fadrique Jesús.
Cinética de Adsorción Superficial.
Tesis. (M. en C. Facultad de Química) UNAM. México, 1979.
19. Ross, S.; Nishioka, G.
Foaminess of Binary and Ternary solutions.
The Journal of Physical Chemistry. 79(15), 1561 (1975).
20. Lemlich, Robert.
Adsorptive Bubble Separation Methods.
Industrial and Engineering Chemistry, 60(10), 16 (1968).
21. Fuerstenau, D.W.
Froth Flotation. 50 th. Ann. 1962.
22. Dorman, D.C. and Lemlich, R.
Nature. 207, 145 (1965).
23. Sebba, Felix.
Ion Flotation.
Elsevier, New York. 1962.
24. Skomoroski, R.M.
Separation of surface active compounds by Foam Fractionation.
Journal of Chemical Education. 40(9), 470 (1963).
25. Treybal, Robert.
Operaciones de Transferencia de Masa.
Ed. Hispanoamericana S.A. Argentina.
26. Van Winkle, Matthew.
Distillation.
Mc. Graw-Hill Book. Co. Inc. USA, 1967.
27. Badui, Salvador.

- Propiedades y usos del suero de la leche.
Rev. Tecnología de alimentos. 12(1), 5 (1977), México.
28. Webb, B.H.; Whittier, E.
Byproducts from Milk.
2°ed. The AVI Pub. Co. 1970.
 29. Anderson, M.J. et al.
Feeding Liquid Whey to Dairy cattle.
J.Dairy Science. 57, 1206 (1974).
 30. Lenkob, N.T.
Beverages from Whey.
Chem Abs. 75, 75213h, (1971).
 31. Lewis, C.T.; Pate, C.C.
Recovered Ricotta cheese whey acceptable as snack Dip. Base.
Food Prod. Developm. 7, 72 (1973).
 32. Groco, S.
Whey become key ingredient in replacement formulas.
Food Engineering. 1, 38 (1976).
 33. Kraft makes 15 products from whey.
Food Processing. 37, 55 (1975).
 34. Bates, R.P. Murphy, B.
Use of animal blood and cheese whey in bread; Nutritive value and acceptance.
Journal Food Science. 39, 585 (1974).
 35. Lowenstein, M; Reddy, M.b. et al.
Using cottage cheese whey fractions or their derivatives in ice cream.
Food Prod, Develop. 9, 91 (1975).
 36. Jelen, P; Herbal, H.
Utilization of cottage cheese whey in yoghurt manufacture.
Journal Dairy Science. 57, 587 (1974).
 37. Nielsen, J.K.; et al.
Reverse Osmosis for milk and whey.
Process Biochem. 7, 17 (1972).
 38. Forbes, F.
Considerations in the optimization of ultrafiltration.
Chem. Ing. Lodon, 29 (1972).
 39. Muller; Hayes; Griffin.
Studies on whey processing by ultrafiltration.
Journal Dairy Technology. 28, 70 (1973).
 40. Racotta, V; Rodriguez, Z.A.
Recovery of rennet chesse wiley in from of children's food.
IV. Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 1974.
Rev. Tecnología de Alimentos. México, 10, 203 (1975).

41. Racotta, V; Bourges, H. et al.
Use of whey proteins for supplementing tortilla.
Journal Agric. Food Chem. 27(4), 668 (1979).
42. Jaynes, H.O; Chiang, C.T.
High Proteins snack utilizes whey protein concentrate.
Food Prod. Developm. 8, 32 (1974).
43. Wyeth.
Demineralyzed whey for baby feeding formula marks first comercial use of -
thechnique to process foods.
Chem. & Eng. News. 8, 44 (1962).
44. Yabumoto, K; Jennings, W.G.
Evaluation of lactosa as a transfer carrier for volatile compounds.
Journal food science. 40, 105 (1975).
45. Beshkov, M; Murgov, I.
Effect of buffer action on the medium on the biosynthesis of Biz by Penici-
llium shermani on a protein free whey base.
Chem. Abs. 77, 5989', 5989x (1972).
46. Bednarski, W; Jakubowski, J.
Production of bacterial mold biomass on whey medium.
Chem. Abs. 81, 134594c (1974).
47. Adrian, J.
A propos des poudres de lait et des lactoprotefnes levurées.
Ind. Alim. et Agric. Paris, 88, 1607 (1971).
48. Zalasskov, L.S; Oleskov, V.S.
Effect of mineral nutrients source for the growh and the biomass acumulation
by yeasts during culturing on whey.
Chem. Abs. 80, 15656' (1974).
49. Roland, J.F; Alm, W.L.
Wine fermentations using membrane processes hydrolyzed whey.
Biothechnology & Bioengineering. 17, 1443 (1975).
50. Brenington, C.R; Schwarts, D.P.
Simple Method for the isolation of riboflavine from whey.
Jorunal Dairy Science. 55, 263 (1972).
51. Nielsen, J.K; Bundgard, A.G; et al.
Reverse Osmosis for milk and whey.
Process Biochem. 7, 17 (1972).
52. Morr, C.V.
Symposium: Milk proteins in dairy and food processing chemistry of milk -
proteins in food processing.
Journal Dairy Science. 58, 977 (1974).
53. Handbook of Chemistry and Physics.
Ed. 54TH. CRC Press 1974.

54. Kosikowski, F.V.
Cheese and fermented milk foods.
E. Brothres Inc. Ann. Arbor. Michigan, 1970.
55. Lacorte, G.
Química Industrial. cap XV.
Ed. Ateneo 1951.
56. Apuntes de Lactología.
Instituto Nal. de la Leche. Centro Nal. de Lactología. SARH. 1982.
57. Veisseyre.
Lactología Técnica.
Ed. Acribia. Zaragoza, España. 1972.
58. Alais, Charles.
Ciencia de la Leche.
CECSA. México, 1980.
59. Allinger, N.L. et al.
Química Orgánica.
Ed. Reverte S.A. España, 1976.
60. Conn, E.E; Stumpf. P.K.
Bioquímica Fundamental.
Ed. Limusa. S.A. México 1977.
61. Brunner, J.R.
Milk Proteins. cap. 7
Food. Proteins.
62. Rosell, José.
Métodos analíticos de laboratorio lactológico y microbiología de las indus-
trias lácteas. TOMO I.
Ed. Labor S.A. 1952.
63. Brunner, R; et al.
Nomenclature of the proteins of cow's milk.
3^o ed. Journal Dairy Science. 53(1), 1 (1970).
64. Lemlich, Robert.
Principles of foam fractionation. cap. 1
Progress in separation and purification. VOL. I
Ed. Interscience. New York, 1968.
65. Rubin, E; Gaden, E.L.
Foam separation. cap. 5.
New Chemical Engineering separation techniques.
Ed. Interscience. New York, 1962.
66. Brunner, C.A; Lemlich, R.
Ind. Engineering Chemical Fundamentals. 2, 297 (1963).
67. Wood. R.K.
Can. Journal Chemical Eng. 44, 322 (1966).

68. Spurny, J; Jakoubek, B.
Konzentrierung Verdünnter Proteinlösungen durch Ausschäumen.
Tenside, 5(1) 1 (1968).
69. Weijenberg, D.C; et al.
The recovery of protein from potato juice waste water by foam separation.
Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev. 17(2), 209 (1978).
70. Grieves, R.B; Shing-Ling, W.
Foam separation of bacterias with a cationic surfactant.
Biotechnology and Bioengineering. IX. 187 (1967).
71. Lalchev; Exerowa.
Concentration of proteins by foaming.
Biotechnology and Bioengineering. XXIII, 669 (1981).
72. Charm, S.E. et al.
Anal. Biochem. 15, 498 (1966).
73. Philip N.P; Bell, R.W.
Normal and modified foaming properties of whey-protein and egg-albumin -
solutions.
Industrial and Engineering Chemistry. 22(10), 1124 (1930).
74. Harkins, W.L; Jordan, H.F.
A method for the determination of surface and interfacial tension from the
maximum pull on a ring.
J. Am. Chemical So. 52, 1751 (1930).