

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO

CENTRO DE INVESTIGACION SOBRE INGENIERIA GENETICA Y BIOTECNOLOGIA
UAC P Y P / C C H

DIFUSION DE SACAROSA EN SOLUCIONES DE GOMA XANTANA

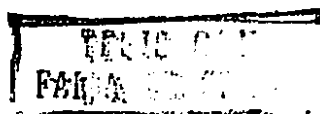
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MAESTRO EN BIOTECNOLOGIA

P R E S E N T A

BEATRIZ TORRESTIANA SANCHEZ





Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

DIFUSION DE SACAROSA EN SOLUCIONES DE GOMA XANTANA

INDICE GENERAL

CAPITULO

1. RESUMEN
2. INTRODUCCION
3. ANTECEDENTES
 - 3.1 Teoría del transporte de solutos pequeños en soluciones de polimeros
 - 3.1.1 Difusión de solutos pequeños en soluciones de polimeros
 - 3.2 Medición del coeficiente de difusión
 - 3.3 Teoría de la celda de diafragma
 - 3.4 Equilibrio en sistemas de macromoléculas-solutos pequeños
 - 3.4.1 Adsorción con interacciones entre sitios
 - 3.4.2 Adsorción sin interacciones entre sitios
 - 3.4.3 Medición experimental de la adsorción
 - 3.5 Propiedades de la goma xantana
 - 3.6 Propiedades de la sacarosa
4. OBJETIVOS
5. MATERIALES Y METODOS
 - 5.1 Materiales
 - 5.1.1 Reactivos
 - 5.1.2 Equipo
 - 5.1.2.1 Equipo utilizado en los estudios de difusión

5.1.2.2 Equipo utilizado en los estudios de adsorción

5.2 Métodos Experimentales

5.2.1 Preparación de soluciones

5.2.2 Procedimiento de la corrida de difusión

5.2.2.1 Calibración de la celda

5.2.2.2 Corrida experimental

5.2.3 Procedimiento de la corrida de adsorción

5.2.4 Determinación de viscosidad

5.3 Tecnicas analiticas

5.3.1 Análisis del cloruro de potasio

5.3.2 Análisis de la sacarosa

6 DATOS EXPERIMENTALES

6.1 Datos de calibración de la celda de diafragma

6.2 Datos de difusión en la celda de diafragma

6.3 Datos de adsorción

6.4 Datos de viscosidad

7 RESULTADOS Y DISCUSION

7.1 Difusión de sacarosa en soluciones de goma xantana

7.1.1 Dependencia de la difusividad de sacarosa en xantana a cambios en la concentración de goma en la solución.

7.1.2 Influencia de la variación en la concentración de sacarosa sobre su coeficiente difusional en una solución diluida de xantana

7.2 Interacción sacarosa xantana en el proceso de difusión

7.2.1 Influencia del pH en la interaccion sacarosa xantana

7.2.2 Influencia de la fuerza iónica en la interacción sacarosa

xantana

7.3 Predicción de la difusividad de sacarosa en soluciones de goma xantana.

7.3.1 Ecuaciones basadas en las propiedades moleculares del sistema

7.3.1.1 Modelo de Navari et. al. (1971)

7.3.1.2 Modelo de Geankoplis et. al. (1979)

7.3.2 Ecuaciones basadas en las propiedades de flujo del sistema

7.3.2.1 Relación difusividad-viscosidad

7.3.2.2 Modelo de Lohse et. al. (1981)

8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

9 NOMENCLATURA

10 BIBLIOGRAFIA

LISTA DE TABLAS

TABLA		PAGINA
3.1.1	Dependencia de la difusividad respecto a la viscosidad en varios sistemas experimentales	11
3.5.1	Diferentes estructuras reportadas para la molecula de xantana.	19
5.1.1	Compuestos quimicos usados	26
5.1.2	Equipo usado	27
6.1.1	Datos de calibración de la celda de diafragma empleando KCl 0.1 M	44
6.2.1	Datos de difusion de sacarosa (20 g/l) en soluciones de goma xantana	46
6.2.2	Datos de difusion de sacarosa (20 g/l) en soluciones de goma xantana	47
6.2.3	Difusión de diferentes concentraciones de sacarosa en una solución diluida de xantana (0.5 %)	48
6.3.1	Resultados experimentales de adsorción de sacarosa en xantana cuando las soluciones se prepararon con agua deionizada, pH = 6.00 + 0.3	50
6.3.2	Resultados experimentales de adsorción de sacarosa en xantana cuando las soluciones se ajustaron a pH = 7	51
6.3.3	Resultados experimentales de adsorción de sacarosa en xantana cuando se incrementa la fuerza iónica de la solución (adición de 1 % de KCl)	52
6.3.4	Resultados experimentales de adsorción de sacarosa en xantana cuando se disminuye la fuerza iónica de la solución (soluciones dializadas)	53
6.4.1	Viscosidades aparentes (μ_a) obtenidas para las soluciones de xantana a diferentes concentraciones y 15 g/l de sacarosa	54

TABLA		PAGINA
6.4.2	Viscosidades aparentes (μ_a) obtenidas para las soluciones de xantana y 20 ^a g/l de sacarosa	55
6.4.3	Valores de viscosidad extrapolados a una velocidad de deformación igual a cero	56
7.3.1	Correlaciones y datos obtenidos cuando se relaciona la difusividad de sacarosa ($\log D_{AP}$) y la viscosidad aparente ($\log \mu_a$), para 15 g/l de sacarosa inicial	75
7.3.2	Correlaciones y datos obtenidos cuando se relaciona la difusividad de sacarosa ($\log D_{AP}$) y la viscosidad aparente ($\log \mu_a$), para 20 g/l de sacarosa inicial	76
7.3.3	Correlaciones y datos obtenidos cuando se considera la relación de difusividades de sacarosa ($\log D_{AP}/D_{AW}$) y la viscosidad aparente en la ecuación 5 (para 15 g/l de sacarosa inicial)	82
7.3.4	Correlaciones y datos obtenidos cuando se considera la relación de difusividades de sacarosa ($\log D_{AP}/D_{AW}$) y la viscosidad aparente ($\log \mu_a$) en la ecuación 5 (para 20 g/l de sacarosa inicial)	83

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
3.5.1	Unidad estructural de la goma xantana	18
5.1.1	Celda de diafragma usada en los estudios de difusión	29
5.1.2	Sistema de agitación magnética	31
5.1.3	Membranas de ultrafiltración usadas para - separar solutos libres de los solutos ligados a la macromolécula	33
7.1.1	Dependencia de la relación de difusividades de sacarosa a cambios en la concentración de goma xantana	58
7.1.2	Influencia de la variación en la concentración de sacarosa sobre su difusividad en una solución diluida de xantana.	60
7.3.1	Estrategia empleada en el modelamiento	61
7.3.2	Influencia del valor del radio de la molecula en la predicción del modelo de Navari	65
7.3.3	Predicción del modelo de Navari comparada con los datos experimentales de difusividad de sacarosa y los datos reportados de difusividad de oxígeno	67
7.3.4	Predicción del modelo de Geankoplis comparada con los datos obtenidos de difusividad de sacarosa y los datos reportados de difusividad de difusividad de oxígeno en xantana	71
7.3.5	Relacion de difusividades de sacarosa y oxígeno como una funcion de	72
7.3.6	Comparación entre la predicción de la ecuación modificada de Geankoplis, los datos obtenidos de difusividad de sacarosa y los datos reportados de difusividad de oxígeno	73

FIGURA		PAGINA
7.3.7	Relación entre el coeficiente difusional de sacarosa (D_{AP}) y la viscosidad aparente (μ_a) de las soluciones, empleando la forma linearizada de la ecuación 5 (para 15 g/l de sacarosa inicial)	77
7.3.8	Relación entre el coeficiente difusional de sacarosa (D_{AP}) y la viscosidad aparente (μ_a) de las soluciones (para 20 g/l de sacarosa inicial)	78
7.3.9	Predicción de la ecuación 5, cuando se considera la relación de difusividades de sacarosa (D_{AP}/D_{AW}) y la viscosidad aparente (μ_a) de las soluciones (para 15 g/l de sacarosa inicial)	80
7.3.10	Predicción de la ecuación 5, cuando se considera la relación de difusividades de sacarosa (D_{AP}/D_{AW}) y la viscosidad aparente de las soluciones (para 20 g/l de sacarosa inicial)	81
7.3.11	Predicción de la ecuación 5 para los datos experimentales y reportados de difusividad considerando los valores de viscosidad extrapolados a cero velocidad de corte ($\mu_{\gamma=0}$)	85
7.3.12	Ajuste del modelo de Lohse a los datos experimentales y reportados de difusividad, considerando los valores de viscosidad extrapolados a cero velocidad de corte ($\mu_{\gamma=0}$)	86

1 RESUMEN

La difusión molecular de solutos tales como sacarosa u oxígeno, dentro de la fermentación para la producción de la goma xantana, es importante para el entendimiento de los complejos mecanismos de transporte, que se presentan durante éste proceso.

Las determinaciones de las difusividades de sacarosa en soluciones de goma xantana, se llevaron a cabo en una celda de diafragma hecha de vidrio. Las condiciones experimentales fueron similares a las que se tienen durante la fermentación $\text{pH} = 7$ y 29°C . Se utilizaron como diafragmas, filtros millipore tipo HA con una porosidad de 79% y un diámetro de poro de $0.45 \mu\text{m}$. Estas membranas fueron calibradas antes de cada corrida difundiendo $\text{KCl } 0.1 \text{ M}$. El error experimental obtenido en los balances de masa, tanto para las corridas de calibración como de difusión, no fué mayor del $\pm 3\%$.

Los resultados obtenidos mostraron que el coeficiente difusional de la sacarosa en soluciones de goma xantana disminuye significativamente con respecto a su valor de difusividad en agua, cuando se incrementa la concentración de goma en la solución, y que cambios en la concentración del azúcar no influyen de manera importante en el valor del coeficiente difusional.

La adsorción es un fenómeno que puede afectar el proceso difusional de un soluto. Se realizaron experimentos basados en la técnica de ultrafiltración-centrifugación para determinar si se presenta el fenómeno de adsorción en el sistema sacarosa-xantana. Para esto se emplearon membranas Centriflo de ultrafiltración tipo CF-25 de Amicon.

Los resultados demostraron que la molécula de xantana posee dos sitios que interactúan con la sacarosa y que ésta interacción es de tipo cooperativo. Por otro lado cambios en la fuerza iónica y pHs probados no afectan ni el número de sitios ni el tipo de interacción en el sistema.

Para predecir la difusividad de sacarosa en xantana se utilizaron diferentes modelos reportados para sistemas donde se difunde un soluto pequeño en una solución de macromoléculas.

Se probaron dos modelos que predicen la difusividad en función de las propiedades moleculares del sistema, la ecuación de Navari (1971) y la ecuación de Geankoplis et. al. (1979); y dos modelos de predicción de difusividad en función de las propiedades de flujo del sistema, la ecuación propuesta por Hiss y Cussler (1973) y la ecuación de Lohse et. al. (1981).

En la aplicación de los modelos de Navari y Geankoplis se tuvieron algunas dificultades, ya que varios de los parámetros moleculares requeridos para emplear las ecuaciones, tales como radio de la molécula, viscosidad intrínseca, etc. no han sido definidos claramente para la molécula de xantana.

Para el modelo de Hiss y Cussler (1973) se emplearon los valores experimentales de viscosidad aparente obtenidos a diferentes velocidades de corte en un viscosímetro Brookfield, así como valores de viscosidad extrapolados a velocidad de corte igual a cero ($\dot{\gamma}=0$), los cuales fueron similares a los reportados en la literatura (Jamieson et. al. 1982). Lo anterior fue para suplir la viscosidad newtoniana. Se observó un buen ajuste de este modelo a los resultados experimentales de difusi-

vidad en ambos casos.

El modelo de Lohse se probó usando también los valores de $\mu_{i=0}$, obteniéndose un buen ajuste del modelo a los resultados experimentales de difusividad.

2. INTRODUCCION.

En la actualidad la goma xantana es el polisacárido microbiano industrialmente más importante, debido principalmente a que posee propiedades funcionales sui-géneris. La obtención del polímero se realiza a través de una fermentación sumergida con la bacteria Xanthomonas campestris. Durante la fermentación se ha encontrado que el cultivo inicia como un fluido Newtoniano de baja viscosidad y finaliza como un fluido no-Newtoniano altamente viscoso, debido a la producción del polisacárido. Este fenómeno complica el proceso en términos de transferencia de masa, sobre todo en las últimas etapas de la fermentación. Se ha reportado (Moraine y Rogovin, 1973) que la velocidad de producción de la goma disminuye, cuando la viscosidad del caldo de cultivo se incrementa, debido en cierta medida a que se dificulta la disponibilidad de nutrientes dentro del tanque. En esta etapa del proceso la difusión de solutos tales como oxígeno y sacarosa adquiere gran importancia, sobre todo si se quiere lograr un entendimiento del comportamiento de los mecanismos de transferencia de masa que ocurren en el proceso. La importancia de entender este comportamiento puede reflejarse en el diseño eficiente del equipo y en el incremento de los rendimientos de la producción de goma.

En este trabajo se planteó estudiar la difusividad de la fuente de carbono, la sacarosa, en soluciones de goma xantana, a las concentraciones y condiciones que simulen las diferentes propiedades reológicas del caldo que se presentan durante la fermentación.

Uno de los fenómenos que afectan la difusividad de un soluto pequeño en una solución de macromoléculas es la adsorción. En este trabajo se propuso también determinar si existe adsorción entre las

moléculas de xantana y sacarosa.

La técnica utilizada para realizar las determinaciones de difusión fué el método de la celda de diafragma y para el estudio de adsorción se empleó una técnica de ultrafiltración-centrifugación.

Los resultados obtenidos fueron comparados con las predicciones de algunas teorías reportadas para difusión en sistemas poliméricos.

3. ANTECEDENTES.

3.1 Teoría del transporte de solutos pequeños en soluciones de polímeros.

En el estudio de la difusión de un soluto en soluciones, ya sea de proteínas o polímeros, existen aún discrepancias sobre la aplicación de una teoría general que describa los diferentes comportamientos encontrados hasta la fecha (Astarita y Maselkar, 1977)

Se ha encontrado que el comportamiento de estas macromoléculas depende de factores como : su tamaño, sus interacciones con el solvente, o entre ellas mismas y sus cargas eléctricas frecuentes, por lo que cuando se difunden solutos pequeños a través de una solución de macromoléculas aparecen algunas complicaciones, y la primera ley de Fick no puede ser aplicada directamente a estos sistemas.

Las macromoléculas tienen un volumen mucho mayor y un coeficiente de difusión mucho menor que los solutos pequeños. Lo anterior propicia que las macromoléculas bloqueen el paso difusional de la molécula pequeña, causando una reducción en su difusividad aparente. Este efecto ha sido llamado " Efecto de bloqueo ".

Por otro lado, la macromolécula siendo grande y compleja, puede interactuar con moléculas pequeñas. Muchas de estas interacciones involucran adsorción reversible de los ligandos pequeños a las macromoléculas, por lo que una parte de las moléculas pequeñas quedan pegadas a las macromoléculas, dejando menos moléculas de soluto disponibles para difundirse. Consecuentemente, la velocidad de difusión de los

solutos pequeños decrece y este efecto es conocido como el " Efecto de adsorción " .

La reducción en la difusividad de solutos debido a estos efectos, ha sido estudiada comunmente en soluciones de proteínas, (Wang, 1954; Navari, 1971; Colton, 1970; Jalan, 1972; Stroeve, 1975 y Geankoplis, 1978, 1979).

Por otro lado se han reportado sistemas (Secor, 1965; Zandi y Turner, 1970; Chester et. al., 1988), en los cuales se ha encontrado que el coeficiente difusional del soluto se incrementa respecto a su coeficiente difusional en agua, cuando se difunde en una solución de polímero. Sin embargo éste comportamiento no ha sido aclarado hasta la fecha (Astarita y Maselkar, 1977).

3.1.1 Difusión de solutos pequeños en soluciones de polímeros.

Se ha reportado (Li y Gainer, 1968; Osmers, 1969) que el transporte de un fluido a través de soluciones diluidas acuosas de polímeros es afectado de manera importante por la concentración del polímero en la solución. Estos trabajos sugieren que variaciones en la concentración del polímero, en pequeños rangos de concentración, pueden afectar significativamente la difusividad de un soluto debido a los incrementos de viscosidad.

Navari et. al. (1971), basados en las investigaciones anteriores y en estudios reportados para difusividad de solutos en sistemas de proteínas (Connor y Gainer, 1970; Navari, 1970 y Goldstick, 1966) desarrollaron un modelo para predecir la relación de la difusividad en solu-

ciones de polimeros o de proteínas a la difusividad en el solvente puro. Los autores establecen que esta relación es independiente del soluto que se está difundiendo, y la ecuación propuesta es:

$$\frac{D_{AP}}{D_{AW}} = \left(\frac{v_S}{v_B} \right)^{1/3} \left(\frac{M_S}{M_B} \right)^{1/2} \exp \frac{\Delta E}{RT} \quad (1)$$

donde ΔE es una energía de activación para la difusión, la cual es una función de la concentración del polímero, de la fuerza de los enlaces polímero-solvente y de características del polímero tales como radio de la molecula y viscosidad intrínseca.

Uno de los inconvenientes que presenta este modelo es la obtención de ΔE , ya que es necesario tener un amplio conocimiento de la estructura y propiedades de la molécula para su cálculo. Por otro lado es un modelo que no considera el posible fenómeno de adsorción en el sistema.

Geankoplis et al. (1978) basados en los estudios de Colton (1970); Goldstick y Fatt (1970) y de Navari (1971) reportaron un modelo, probado en sistemas de proteínas, el cual considera tanto el efecto del bloqueo como el de adsorción. La ecuación propuesta es la siguiente:

$$D_{AP} = \frac{[D_{AB} (1 - 1.2 \phi_P) + (D_P K_P)] / (1 - \phi_P)}{(1 + K_P) / (1 - \phi_P)} \quad (2)$$

La variable K_P cuantifica el efecto de la adsorción y está dado por:

$$K_P = \frac{C_B}{C_F} (1 - \phi_P) \quad (3)$$

El valor de ϕ_P es obtenido mediante la siguiente ecuación:

$$\phi_P = C_P (V_P + H_P / d_0) \quad (4)$$

Tanto el modelo de Navari como el de Geankoplis predicen la difusividad en función de propiedades moleculares de los componentes del sistema. Sin embargo se han desarrollado modelos semiempíricos que relacionan la difusividad de solutos en soluciones de polímeros, únicamente en función de propiedades macroscópicas, como la viscosidad de la solución.

Algunos de éstos modelos (Reid y Sherwood, 1958; Bird et al., 1969; Edward, 1970) basados en la teoría de velocidad absoluta de Eyring sugieren, que cuando se difunden solutos de moléculas grandes en bajas concentraciones en un solvente de moléculas pequeñas, la difusividad es inversamente proporcional a la viscosidad, a temperatura constante y proponen la siguiente ecuación:

$$D_{AP} \mu^E = A \quad (5)$$

donde $E = -1$ y A es una constante.

Para el caso de difusión de solutos de bajo peso molecular en una solución de macromoléculas se han reportado valores diferentes de E . Hiss y Cussler, (1973), reportaron para la difusión de naftaleno y hexano en diferentes hidrocarburos líquidos un valor de $E = -2/3$. Lohse

et al. (1981) reportaron valores de E que varían de 0.66 a 1.13, para diferentes sistemas con viscosidades que van de 0.5 a 5000 cp. Indicando que este valor puede cambiar dependiendo del soluto que se difunde y de las características de la solución en la cual se difunde (Tabla 3.1.1).

La ecuación 5 ha sido probada generalmente en sistemas en donde el solvente presenta un comportamiento Newtoniano sin embargo se ha considerado (Astarita y Maselkar, 1977) que esta relación, puede ser aplicada a sistemas no-Newtonianos, ya que el fenómeno de difusión es importante en ausencia de flujo convectivo y el coeficiente difusional se puede determinar en condiciones estáticas. Bajo estas últimas condiciones se puede asumir que un fluido no-Newtoniano presenta un comportamiento Newtoniano.

Otro de los modelos reportados en la literatura que relaciona la difusividad de un soluto con las propiedades de flujo de la solución es el modelo de Lohse et al. (1981). Estos investigadores propusieron que la difusividad de un soluto en una solución de macromoléculas depende de la razón de viscosidades, de la solución (μ) y del solvente (μ_0) de una manera similar a la ecuación 5. Adicionalmente, en la ecuación de Lohse, el valor del exponente al cual está elevada la razón de viscosidades es función de los pesos moleculares, del solvente (M_0) y de la macromolécula (M_p) de la siguiente manera:

$$\frac{D_{AP}}{D_{AW}} = \left(\frac{\mu}{\mu_0} \right)^{-B \sqrt{\frac{M_0}{M_p}}} \quad (6)$$

Lohse propone este modelo en base a un estudio realizado con

TABLA 3.1.1 DEPENDENCIA DE LA DIFUSIVIDAD RESPECTO A LA VISCOSIDAD EN
 VARIOS SISTEMAS EXPERIMENTALES (EC. 5)

AUTOR	SISTEMAS ESTUDIADOS	VISCOSIDAD	-E
Calderbank (1959)	CO ₂ /Glicol, Glicerol	1 - 20	0.74
Thomas and Adams(1984)	N ₂ O/Glicerol	1 - 2	0.94
Davies <u>et.al.</u> (1987)	CO ₂ /varios hidrocarburos	1.5-2.5	0.5
Hayduk <u>et.al.</u> (1973)	Propano/varias n-parafinas y Clorobenceno	0.5-5000	0.667
Sovova (1976)	CO ₂ , O ₂ /C ₂ -C ₃ , Alcoholes, Ciclohexano, C ₅ -C ₁₅ - parafinas	0.5 - 3	0.5
	CO ₂ , O ₂ /Aromáticos, derivados de acetona, metanol	0.5 - 3	1.15
Hikita y Asai(1978)	O ₂ /Sacarosa	2 - 31	0.667
Lohse <u>et.al.</u> (1981)	CO ₂ /Polivinil-alcohol,	2 - 15	0.043
	CO ₂ /Polietilenglicol		0.392
	CO ₂ /Sacarosa		0.7

diferentes soluciones diluidas de polimeros, donde encuentra que el valor del exponente ($B\sqrt{M_0/M_p}$) es una función lineal del peso molecular del polímero y sugiere un valor de $B = -3.7$ para los sistemas utilizados.

3.2. Medición del coeficiente de difusión.

Aunque la primera ley de Fick define el coeficiente de difusión en términos del flujo de soluto y su gradiente de concentración, no es posible obtener valores del coeficiente de difusión, midiendo directamente estos dos parámetros. Únicamente el gradiente de concentración puede ser medido directamente, el flujo de soluto no es susceptible de medición directa. La aproximación más cercana a una determinación directa del flujo es utilizando un método del estado estacionario, donde el flujo se obtiene midiendo los cambios de concentración que se producen en dos soluciones homogéneas. Los otros métodos utilizan formas integradas de la segunda ley de Fick por lo que son métodos en estado transiente.

Dentro de los métodos en estado transiente se encuentran el microinterferómetro, los métodos de interferencia de Gouy y Rayleigh y el tubo capilar.

El método del tubo capilar es usado principalmente para muestras pequeñas o solutos con limitada solubilidad. En la práctica se llenan uno o más capilares pequeños, cerrados por la base y abiertos por arriba, con un soluto radioactivo. Los capilares llenos se sumergen en un matraz bien agitado que contiene solvente no marcado. La concentración de soluto en la parte superior de cada capilar se mantiene casi en cero durante todo el experimento. Al final se mide la cantidad

de soluto marcado que se difunde al matraz agitado. Para macromoléculas marcadas tales como proteínas, se deben usar capilares mas cortos y tiempos mas largos. En situaciones favorables es posible obtener una exactitud de alrededor del 1% con el tubo capilar.

El principio del microinterferómetro involucra el cambio en el índice de refracción, del soluto que se está difundiendo debido a un cambio en su concentración. Se obtiene el perfil de concentración y se usa este perfil para calcular el coeficiente de difusión. Las principales ventajas de este método son: que los experimentos se realizan en cuestión de minutos y se necesitan cantidades pequeñas de solución, pero la exactitud es únicamente de +12% (Okos, 1972).

Los métodos de interferencia de Gouy y Rayleigh también se basan en mediciones ópticas del cambio en el índice de refracción.

En el difusiómetro de Gouy la óptica de interferencia es mas simple ya que el gradiente del índice de refracción en la frontera difusional sirve para partir el haz de luz monocromático. Las franjas de interferencia formadas por este sistema óptico permiten una determinación precisa de la forma de una curva gradiente del índice de refracción. Con éste método se pueden obtener exactitudes de +1% y mejores para sistemas de dos componentes (Gosting, 1956).

El principio del método de interferencia de Rayleigh es similar al método de Gouy, excepto que las franjas producidas tienen una forma directamente proporcional a la concentración en lugar del gradiente. El método de Rayleigh se usa principalmente en sistemas ternarios.

Dentro de los métodos en estado estacionario se encuentra la

técnica de la celda de diafragma, la cual ha sido ampliamente aceptada debido a su simplicidad y exactitud.

Mills (1968) ha reportado una revisión muy completa de la celda de diafragma; Gordon (1945) revisó críticamente los problemas involucrados en las mediciones en la celda de diafragma, tales como homogeneidad de las soluciones de entrada y salida, la suposición del estado estacionario en el diafragma, el mecanismo de transporte en el diafragma, la calibración de la celda de diafragma y otros problemas. Stokes (1950) diseñó una celda de diafragma con un mecanismo de agitación magnética que se ha vuelto esencialmente estandar. El diseño básico de la celda de diafragma de Stokes se siguió para construir la celda usada en este trabajo.

3.3. Teoría de la celda de diafragma.

La técnica de la celda de diafragma asume que un gradiente de concentración lineal ocurre a través del diafragma, que las cámaras están uniformemente mezcladas, y que las moléculas se difunden a través del diafragma.

La longitud de difusión efectiva es $K_1 \delta$, donde $K_1 > 1$ es una constante y corrige el hecho de que la ruta difusional es realmente mayor que δ , el espesor del diafragma. La longitud de difusión efectiva se obtiene calibrando el diafragma con un soluto de difusividad conocida tal como el cloruro de potasio.

Para derivar la ecuación, se asume un estado cuasi-estacionario en la membrana. Entonces:

$$N_A = \xi D_{AB} \frac{C_L - C_U}{K_1 \delta} \quad (7)$$

donde C_L es la concentración en la cámara de abajo en el tiempo t . C_U es la concentración en la cámara de arriba. ξ es la fracción de área de la membrana porosa que está abierta para la difusión y N_A es el flux de moléculas en una dirección, con respecto a coordenadas fijas.

Haciendo un balance del soluto A en la cámara de arriba, donde la velocidad de entrada = velocidad de salida + velocidad de acumulación, haciendo un balance similar en la cámara de abajo, usando el volumen $V_L = V_U$, y combinando e integrando, la ecuación final es:

$$\ln \frac{C_L^0 - C_U^0}{C_L - C_U} = \frac{2 \xi A}{K_1 \delta V} D_{AB} t \quad (8)$$

o en forma de log base 10:

$$D_{AB} = \frac{1}{\beta t} \log \frac{C_L^0 - C_U^0}{C_L - C_U} \quad (9)$$

donde

$$\beta = \frac{2 \xi A}{K_1 \delta V} \frac{1}{2.303} = \text{constante de la celda}$$

Los valores de C^0 y C son las concentraciones iniciales y finales respectivamente.

3.4 Equilibrio en sistemas de macromoléculas solutos pequeños

Ver artículo anexo.

3.4.1 a 3.4.3 idem

3.5 Propiedades de la goma xantana

La goma xantana es un exopolisacárido, producido por la bacteria Xanthomonas campestris, a través de la fermentación sumergida de un carbohidrato (Lilly et al., 1958). La estructura de la goma xantana está formada de unidades repetidas, compuestas por 5 azúcares, como se muestra en la figura 1 (McNeely et al., 1973). El peso molecular puede ser de 10^6 o mayor, dependiendo de la fuente microbiana y de las condiciones de fermentación (Margaritis y Pace, 1985).

La molécula de goma xantana (Lawson y Sutherland, 1978), presenta un esqueleto de celulosa (glucosas ligadas por enlaces β -1,4) con cadenas laterales formadas por dos residuos de manosa y uno de ácido glucurónico. A los residuos de manosa se encuentran unidos dos grupos sustituyentes, un acetilo y un piruvato, los cuales contienen cationes monovalentes, como lo muestra la figura 3.5.1.

Existe controversia en la literatura respecto a la forma y dimensiones de la molécula de goma xantana en solución. En la tabla 3.5.1 se agrupan diferentes estructuras propuestas por diferentes autores.

La densidad de soluciones acuosas de goma xantana, ha sido reportada (Schumpe y Deckwer, 1987) en un rango de 999 a $1004 \frac{\text{Kg}}{\text{M}^3}$ a -20°C , para diferentes concentraciones de goma. Estos autores reportaron también una difusividad de la xantana igual a $2.1 \times 10^{-9} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$, obtenida a 20°C cuando se difunde en glicerol

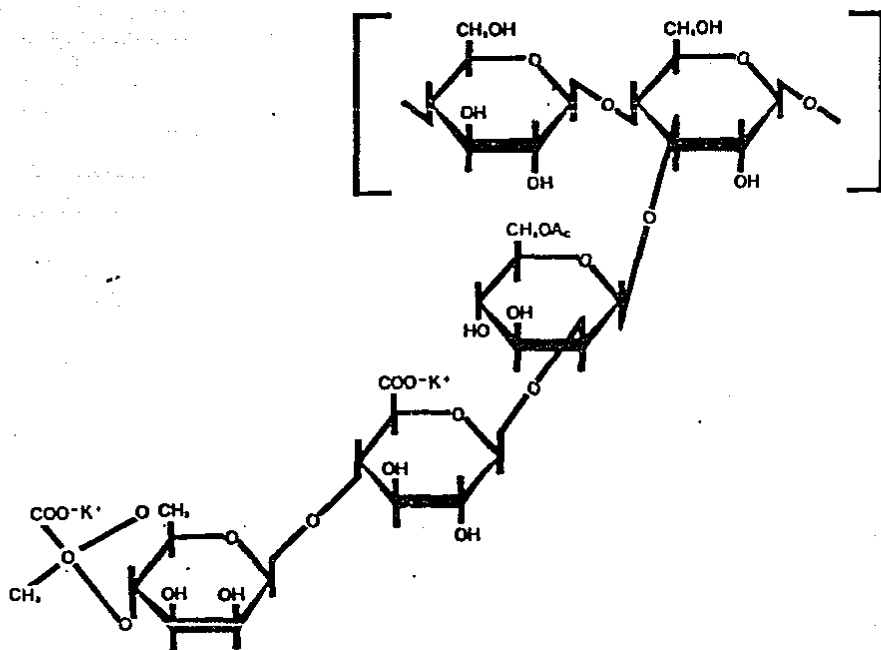


FIGURA 3.5.1 UNIDAD ESTRUCTURAL DE LA GOMA XANTANA

TABLA 3.5.1 DIFERENTES ESTRUCTURAS REPORTADAS PARA LA MOLECULA
DE GOMA XANTANA EN SOLUCION ACUOSA

FORMA	DIMENSIONES	REFERENCIA
Esfera	$R_h = 6000$	Rinaudo y Milas (1978)
Barra flexible	$L = 15,000; D = 19$	Whitcomb, P.J. (1978)
Hélice derecha de múltiples cadenas (40)	$L = 2,000 - 10,000$ Ancho = 10 (cada cadena)	Southwick, <u>et.al</u> (1979)
Barra	$L = 15,000; D = 20$ R_h 1005 H ₂ O (0.001M azida) 1226 NaCl (0.3 M) 1436 NaCl (1 M)	Jamieson <u>et.al.</u> (1982)
Barra semirigida	$L = 10,000; D = 20$	Lim <u>et.al.</u> (1984)

La reología de las soluciones de goma xantana está fuertemente influenciada, por fenómenos de agregación y asociación entre las mismas moléculas (Lim et al. 1984)

El fenómeno de asociación se presenta en un rango de concentración de 0.1 a 1 %. A concentraciones del 1 % o mas altas aparecen formaciones de estructuras cristalinas líquidas.

Estas estructuras de la goma xantana en solución pueden romperse a velocidades de deformación mayores que 0.1 s^{-1} . Por lo que no afectaría el consumo de potencia en un tanque, ya que éste está determinado por las regiones de alto corte. Sin embargo el transporte de nutrientes, en un caldo de fermentación de xantana concentrado, está determinado por los patrones de flujo secundario, los cuales serían fuertemente afectados por el comportamiento del caldo a bajas velocidades de deformación. Es aquí donde tendrían influencia los fenómenos de agregación y cristalinidad.

Por otro lado algunos autores (Charles, 1978; Solomon et al., 1981), han reportado que el cultivo conteniendo xantana y las soluciones de goma xantana, no únicamente exhiben una pronunciada pseudoplasticidad, sino también presentan un esfuerzo de cedencia. Sin embargo de manera interesante, el modelo de la Ley de la Potencia, proporciona una descripción adecuada de la pseudoplasticidad sobre el rango de velocidades de corte encontrado usualmente en los reactores (Whitcomb, 1978; Torrestiana, 1984)

Holwarth.(1978), reportó para la molécula de goma xantana una densidad de masa lineal igual a 2000 dalton/nm, y un volumen específico $v = 0.593 \text{ ml/g}$.

Southwick et al (1979), reportaron un coeficiente de difusión translacional extrapolado a cero concentración (D_T^0) de $1.66 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$ a 25°C , el cual corresponde a un radio hidrodinámico de 146 nm (Ec. de Einstein-Stokes). Posteriormente Jamieson et al. (1982), reportaron un $D_T^0 = 2.4 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$, calculado para una molécula de xantana elipsoide de semiejes $a = 15 \text{ 000 \AA}$ y $b = 10 \text{ \AA}$.

3.5.1 Propiedades reológicas

Una de las características más importantes de la goma xantana, es su capacidad para modificar las propiedades reológicas del agua. La goma xantana en solución provoca un incremento de viscosidad, proporciona propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes. Debido a esto es utilizada en una gran variedad de aplicaciones en la industria química, de alimentos, textil, etc. (Margaritis y Pace, 1985).

Las soluciones de goma xantana presentan propiedades altamente pseudoplásticas (Cottrell et al, 1980), es decir, muestran altas viscosidades a bajas velocidades de deformación y bajas viscosidades a altas velocidades de deformación. Se ha reportado también que poseen propiedades viscoelásticas y tixotropicas (Charles, 1974). Presentan además una gran estabilidad a cambios de temperatura y pH y una gran compatibilidad con una diversidad de sales (Jeans, 1973 y 1974; Whitcomb, 1978).

3.6 Propiedades de la sacarosa

La sacarosa es un disacárido compuesto de glucosa y fructosa. A diferencia de la mayoría de los disacáridos y oligosacáridos, la sacarosa no contiene átomos de carbono libres anoméricos; los átomos de carbono anoméricos de las dos hexosas están ligados el uno al otro. Por esta razón la sacarosa no presenta mutarrotación y no actúa como un azúcar reductor.

El peso molecular de la sacarosa es de 342.296 (Pigman y Horton, 1972). El diámetro molecular definido como el diámetro del cilindro más pequeño, a través del cual la molécula de sacarosa puede pasar sin distorsión, es de 1.11 nm (Beck y Sshultz, 1972).

El volumen molar aparente de la sacarosa es de 212 ml/mol (Akeley y Gosting, 1973). La densidad puede calcularse de la ecuación:

$$d \text{ (ml/g)} = N_0 \bar{V}^{\circ} + \sum_K N_K \bar{V}_K$$

donde, N_K es el número de moles de cada componente, \bar{V}° es el volumen molar aparente del solvente a 25 °C y \bar{V}_K es el volumen molar aparente del componente K.

La dependencia de la densidad, d , sobre la concentración de sacarosa, c , expresada en g/100 ml de solución fue representada por Gosting y Morris (1949), como:

$$d_{25 \text{ C}}^{\circ} = 0.99708 + 0.00384 C$$

para $C < 6$ g/100 ml.

La viscosidad de la sacarosa en solución (Gosting y Morris, 1949) se puede obtener a partir de la siguiente ecuación:

$$\eta/\eta_0 = 1 + 0.025 C + 0.00058 C^2$$

para $C < 6 \text{ g / 100 ml}$ a 25° C .

La difusividad de la sacarosa a 25° C extrapolada a cero concentración se ha reportado como $0.522 + 0.001 \times 10^{-5} C^2 \text{ cm}^2/\text{s}$ (Akeley y Gosting, 1953; Irami y Adamson, 1960; Beck y Shultz, 1972).

La difusividad de la sacarosa, a 25° C , medida con un interferómetro de Gouy fué propuesta por Gosting y Morris (1949) como:

$$D \text{ (cm}^2/\text{s)} = 0.5226 (1 - 0.0148 C) \times 10^{-5}$$

para $0.751 \leq C \leq 5.255$, donde C = concentración de sacarosa promedio (g/100 ml).

El valor de la difusividad de sacarosa utilizada en este trabajo fué obtenido a partir de la ecuación propuesta por Don Juan (1985):

$$D \times 10^5 \text{ (cm}^2/\text{s)} = 0.5858 - 0.03169 C$$

donde C es la concentración de sacarosa promedio en g/ 100 ml

Esta ecuación fué propuesta midiendo la difusividad de la sacarosa, en una celda de diafragma similar a la utilizada en este trabajo.

4. OBJETIVOS

Los objetivos planteados en éste trabajo fueron los siguientes:

- Determinar los coeficientes difusionales de sacarosa en soluciones de goma xantana probando concentraciones de sacarosa y xantana, similares a las que se manejan durante la fermentación.
- Establecer si existe interacción entre la molécula de sacarosa y xantana y relacionar éste fenomeno con la difusividad.
- Aplicar modelos de predicción de difusividad, reportados para sistemas poliméricos y de proteínas al sistema sacarosa-xantana para explicar los resultados experimentales.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 MATERIALES

5.1.1 Reactivos: Los compuestos químicos usados en este trabajo se listan en la tabla 5.1.1

5.1.2 Equipo: El equipo experimental usado se lista en la tabla 5.1.2. La descripción de este equipo será realizada en las secciones siguientes:

5.1.2.1 Equipo utilizado en los estudios de difusión.

1) Celda de diafragma.

Las celdas utilizadas en este trabajo fueron hechas en vidrio y en la figura 5.1.1 se muestra un esquema de éstas. Una de ellas la celda No. 1 tiene un volumen de trabajo de 31 ml en la cámara superior y de 31.1 ml en la cámara inferior. Ambos volúmenes fueron determinados con los agitadores dentro de las cámaras; el área de difusión fue de 4.5238 cm^2 .

La otra celda denominada celda No. 2 tiene un volumen de trabajo de 29.1 en la cámara superior y 29.2 en la cámara inferior, medidos con el agitador dentro de las cámaras. El área de difusión fue de 3.8013 cm^2 .

Como diafragma se utilizaron filtros Millipore tipo HA, hechos de una mezcla de acetato y nitrato de celulosa, con una porosidad de 79%, un tamaño de poro de 0.45 micras y una tolerancia a la temperatura de 75%. En ambas celdas las dos cámaras se unieron con un sistema de bridas de acrílico y se utilizó un empaque circular de corcho delgado.

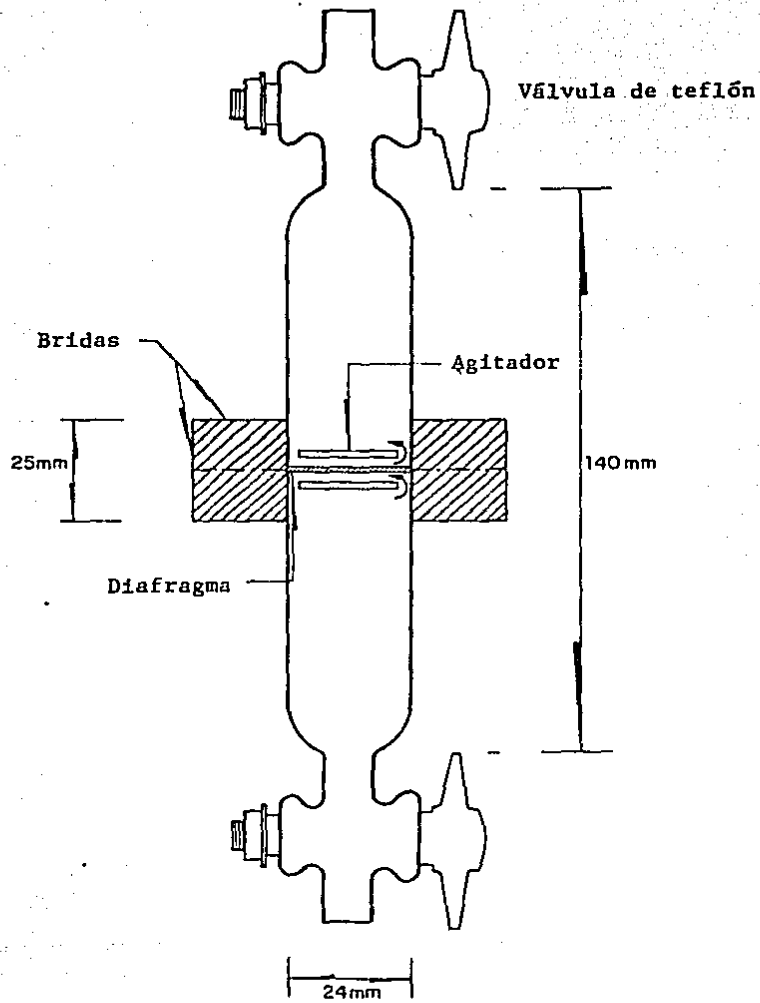
TABLA 5.1.1 COMPUESTOS QUIMICOS USADOS

COMPUESTO	GRADO	PROVEEDOR
Goma xantana(Keltrol)	Alimenticio	Kelco & Co.
Sacarosa	Reactivo	Merck, S.A.
β - Fructosidasa	Cristalizada Liofilizada	Boehringer A.C.
Acido dinitrosalicilico	Reactivo	Sigma
Tartrato de sodio y potasio	Reactivo	Baker analyzed
Hidróxido de sodio	Reactivo	Baker analyzed
Cloruro de potasio	Reactivo	Baker analyzed
Cromato de potasio	Reactivo	Sigma Chemical Co.
Nitrato de plata	Reactivo	Sigma Chemical Co.
Acido clorhidrico 0.1 N	Solución Valorada	Sigma Chemical Co.
Bicarbonato de sodio	Reactivo	Baker Analyzed
Acido Etilen-diamino-tetracético	Reactivo	Sigma Chemical Co.
Citrato de sodio	Reactivo	Baker Analyzed
Citrato de potasio	Reactivo	Baker Analyzed
Acido citrico	Reactivo	Baker Analyzed

TABLA 5.1.2 EQUIPO USADO

EQUIPO	DESCRIPCION	MANUFACTURA
Motor de agitación	Tipo AZ - R1	Caframo, S.A.
Motor de agitación	Ident. No. 809018	Mixing Equipment Co.
Reóstato	Tipo 2PF 1010	Estaco Energy Products Co.
Medidor controlador de temperatura	Modelo 1266-00	Cole Parmer Instrument Company
Baño de agua	49x28x25.5 cm	Dpto. de Alimentos, Fac. de Quim. UNAM.
Celda de difusión	FIG. 5.2.1	Taller de vidrio, Fac. de Quim. UNAM.
Filtro millipore	Tipo HA, diámetro de poro 0.45 m	Millipore Corporation
Espectrofotómetro	Modelo 35	Beckman
Agitador de tubos	Super Mixer 1290	Lab-Line Instruments Incorporation
Parrilla de agitación magnética	PC - 353	Corning
Agitador magnético	5/8" y 2 1/2"	Cole Parmer Inst. Co.
Bomba de vacío	Modelo FE-1400	Feli Welch S.A.
Balanza analítica	Modelo 2432	Sartorius
Viscosímetro	Modelo LVT	Brookfield Eng. Lab. Inc.
Membranas cónicas Centrifló de Amicon	Tipo CF - 25 cut-off 25,000 MW	Amicon Corp.
Centrífuga	Sorvall, RC - 5B	Dupont, Instruments.
Potenciómetro	pH meter 25	Corning

EQUIPO	DESCRIPCION	MANUFACTURA
Membranas de diálisis	Membranas de celulosa cut-off 12,000-14,000 MW	Spectrapor, Fisher Scientific, Co.
Micropipeta	Cap. 1000, 100 L	Eppendorf Inc.
Bureta de precisión	10 mL	Kimax
Cronómetro	60 min.	Haste



5.1.1 CELDA DE DIFRAGMA USADA EN LOS ESTUDIOS DE DIFUSION

forrado de cinta de teflón para asegurar la inexistencia de fugas. A la celda No. 1 se le adaptó un tapon de látex número 5 provisto de una válvula de teflón en cada extremo de las cámaras. A la celda No. 2 se le unió una válvula de vidrio a cada cámara para facilitar el llenado de las mismas.

2) Sistema de agitación magnética.

El sistema de agitación de la celda es similar al usado por Stokes (1950) y modificado por Brito (1982) el cual es mostrado en la figura 5.1.2. Cada una de las cámaras de la celda contiene un agitador cilíndrico compuesto por un alambre metálico forrado de polietileno de 2 mm de diámetro, y una longitud ligeramente inferior al diámetro de la cámara. Estos agitadores se diseñaron de tal manera que el que se deposita en la cámara superior se sumerge y el de la cámara inferior flota. Esto significa que ambos agitadores descansan sobre el diafragma con el fin de eliminar la película que se forma en la interfase. En esta posición los dos agitadores son acoplados a un mecanismo de agitación externa que consta de un imán en cada extremo. Los imanes se hacen girar por un motor de velocidad ajustable provocando el movimiento de los agitadores internos. Todo este conjunto se deposita en un baño de temperatura constante cuando se corre un experimento de difusión.

3) Aparato de temperatura constante.

La temperatura de la celda ^ofué controlada por inmersión en un baño de agua mantenida a 29 ± 0.05 °C. Para controlar la temperatura se usó un aparato medidor-controlador de temperatura.

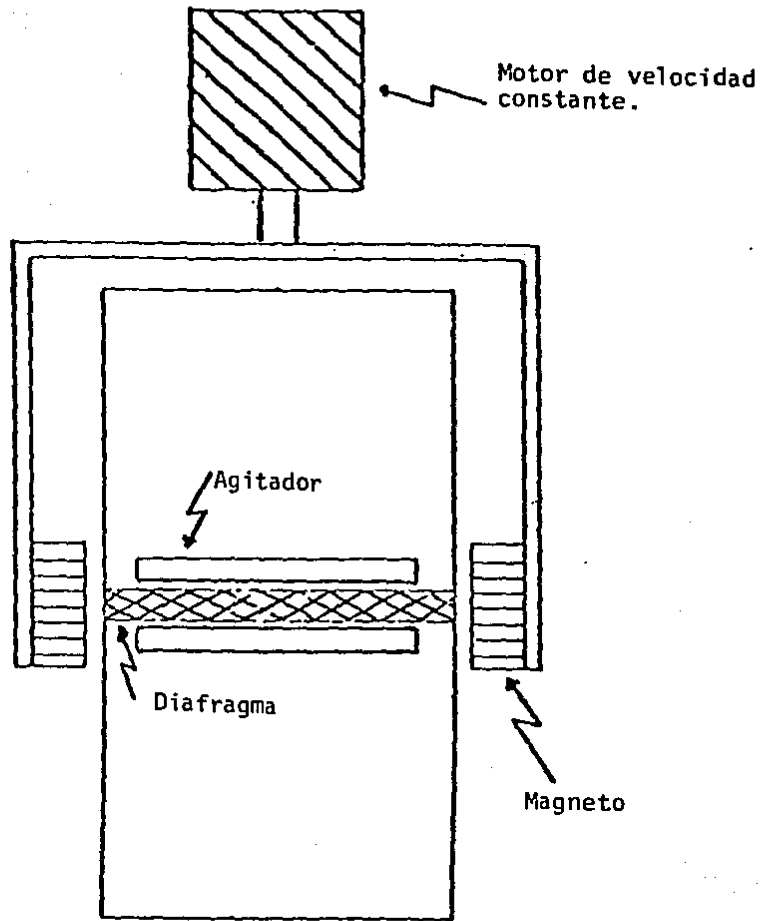


FIGURA 5.1.2 SISTEMA DE AGITACION MAGNETICA

4) Aparatos diversos.

Se utilizaron una bureta de 10 ml con escala de 0.05 ml y una plancha de agitación magnética para el análisis del cloruro de potasio. Para realizar el llenado de las cámaras y sacar las muestras al final de las corridas de difusión se usó una jeringa de plástico de 30 ml.

5.1.2.2 Equipo utilizado en los estudios de adsorción

En los estudios de adsorción se utilizaron membranas conicas centriflo de Amicon tipo CF-25. La técnica de ultrafiltración se ilustra esquemáticamente en la figura (5.1.3). La membrana de ultrafiltración permeable-selectiva permite libremente el paso de solutos libres y retiene a los solutos que están unidos a las macromoléculas, las cuales son substancialmente mas grandes que el tamaño del poro.

Las membranas centriflo son hechas de polimero no-celulósico inerte. Los conos del tipo CF-25 tienen una retención del 95% para moléculas globulares mas grandes que su CUT-OFF el cual es de 25,000 MW para el tipo CF-25.

5.2 Métodos experimentales.

5.2.1 Preparación de soluciones.

El cloruro de potasio 0.1 M, el nitrato de plata 0.05 N y el cromato de potasio al 2 % fueron preparados pesando los componentes en una balanza analítica. Cada uno de los componentes fueron puestos en su

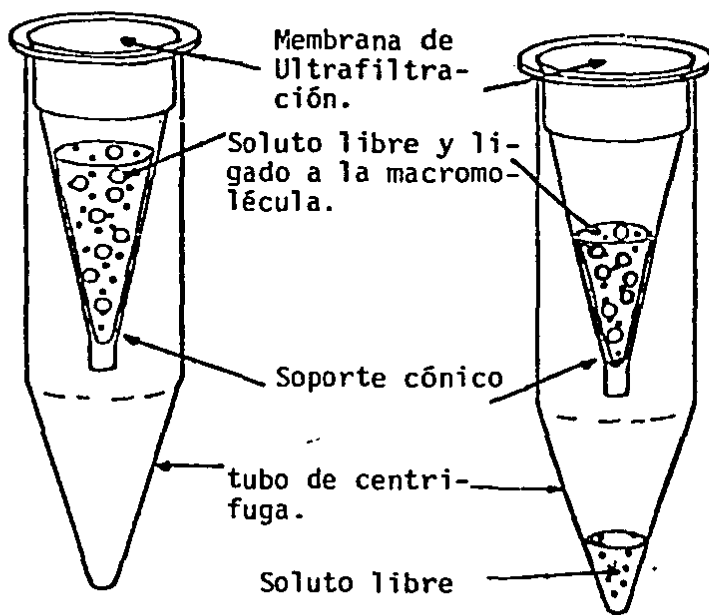


FIGURA 5.1.3 MEMBRANAS DE ULTRAFILTRACION, USADAS PARA SEPARAR SOLUTOS LIBRES DE LOS SOLUTOS LIGADOS A LA MACROMOLECULA.

respectivo matríz volumétrico y diluidos hasta la marca con agua bidestilada.

La goma xantana y la sacarosa se pesaron también en una balanza analítica. El peso de la xantana fué calculado considerando la humedad de la misma. La goma xantana se disolvió agitando la solución con un homogenizador, al cual se le aumenta la velocidad conforme se incrementa la viscosidad de la solución, hasta disolver totalmente la goma. De esta solución se toma la mitad y se disuelve la sacarosa para preparar la solución que va a ser colocada en la cámara inferior de la celda. Estas soluciones se dejaron reposar a 4^o C durante 24 horas, antes de iniciar los experimentos, para asegurar la homogeneidad y el equilibrio del sistema sacarosa-xantana. A partir de estas soluciones se van tomando las condiciones requeridas para realizar esa corrida de difusión con su duplicado o triplicado, si es necesario. Estas soluciones no fueron usadas después de dos semanas de haber sido preparadas. Las muestras que se utilizaron en la corrida de difusión fueron degasificadas antes de cada corrida, empleando una bomba de vacío para eliminar las burbujas de aire que quedan atrapadas en la solución.

Para los experimentos de adsorción las soluciones xantana-sacarosa se prepararon de la manera antes descrita. Cuando fué necesario cambiar el pH, el ajuste se hizo utilizando soluciones de HCl y NaOH 1N y 0.1 N de ambas. Cuando se prepararon las soluciones con alta fuerza iónica se agregó cloruro de potasio a la solución de xantana-sacarosa.

5.2.2 Procedimiento de las corridas de difusión.

5.2.2.1 Calibración de la celda.

La celda de diafragma fué calibrada para cada uno de los filtros antes de cada corrida difusional. En cada corrida se utilizó un nuevo filtro. Los filtros se sumergieron en agua deionizada por un periodo de al menos tres horas antes de cada corrida. La constante de la celda fué determinada por difusión de una solución de cloruro de potasio 0.1 M cuyo coeficiente de difusión se reporta como $1.87 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a 25°C (Geankoplis et al., 1979), el cual fué corregido por temperatura, obteniéndose $1.895 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a 29°C .

El procedimiento de llenado de la celda fué el siguiente : la cámara inferior fué llenada con KCl 0.1 M y la cámara superior con agua desionizada, ambas soluciones fueron previamente llevadas a la temperatura de 29°C utilizando una parrilla agitadora con calentamiento. El sistema se mantuvo a esta temperatura empleando un baño de agua. El tiempo de difusión fué de dos horas manteniendo una velocidad de agitación de 60 rpm. Una vez terminada la corrida de calibración los filtros se lavan repetidas veces en agua desionizada, antes de ser usados en la corrida experimental con goma xantana.

5.2.2.2 Corrida experimental.

El procedimiento usado para operar la celda de difusión en una corrida experimental fué el siguiente :

1. Se coloca un filtro Milipore en una caja petri conteniendo el solvente (la solución de xantana) a ser usado, por un periodo de al

menos tres horas con la finalidad de que los poros sean llenados con el solvente.

2. Llevar el baño de agua a la temperatura a la cual se efectuara la corrida difusional (29 ° C).

3. Llevar las soluciones a temperatura constante en el baño de agua preparado previamente.

4. Ensamblar la celda con el filtro húmedo y el agitador correspondiente, cerrando la cámara superior.

5. Invertir la celda y llenar la cámara inferior con la solución que contiene sacarosa. El llenado de la cámara se realizó utilizando una jeringa de 30 ml. de volumen, a la cual se le adaptó una manguera delgada para poder alimentar la solución por las paredes de la cámara sin provocar turbulencia y evitar la formación de burbujas de aire.

6. Reinvertir la celda en posición vertical. Abrir la cámara superior. Si aparece atrapamiento de burbujas o se pasaron gotas de la solución de la cámara inferior hacia la superior, se descarga la celda y se llena nuevamente.

7. Después que la cámara inferior ha sido llenada satisfactoriamente, se llena la cámara superior. Se coloca antes el agitador y se usa la misma técnica que en la cámara de abajo.

8. Una vez que ha sido llenada la celda, se coloca en el baño de agua y se acomoda verticalmente, de tal manera que los imanes del sistema de agitación puedan dar vueltas alrededor de la celda.

9. Se enciende el motor de agitación, previamente ajustado a la velocidad de 60 rpm y simultáneamente se toma el tiempo.

10. Durante la corrida se mantienen constantes la velocidad de agitación y la temperatura.

11. Al término de la corrida, se detiene la agitación y la cuenta del tiempo. Se anota el tiempo. Se retira la celda del baño de agua y se coloca en un soporte.

12. Se abre la cámara superior, y se descarga utilizando la jeringa, procurando que la succión no sea cercana al diafragma.

13. se cierra la cámara superior y se invierte la celda a fin de descargar la cámara inferior.

14. Se analizan las muestras empleando la enzima fructosidasa para romper la sacarosa y se detectan los monosacáridos por el método del Dinitrosalicílico (DNS; Summer and Howell, 1935).

5.2.3 Procedimiento de la corrida de adsorción.

Las membranas utilizadas en la técnica de ultrafiltración-centrifugación fueron membranas cónicas Centriflo de Amicon. Estas se utilizan con un soporte cónico de plástico que tiene un agujero en la base, el cual a su vez es colocado en un tubo de centrifuga. La velocidad centrifuga utilizada durante el experimento no debe exceder las 1000 G de fuerza centrifuga relativa (rcf). Una rcf excesiva puede romper el filtro y derramar la muestra.

El procedimiento detallado es el siguiente :

1. Empapar los conos en agua desionizada al menos durante una hora.
2. Colocar la membrana en el soporte, rotando éste en sentido contrario a las manecillas del reloj y empujando firmemente el cono hacia abajo, hasta que la extremidad salga totalmente a través del agujero de la base del soporte y el cono quede completamente ajustado en él.
3. Colocar el soporte en el tubo de centrifuga.
4. Centrifugar durante dos minutos a 2000 rpm para remover el exceso de agua. Tirar el agua filtrada y secar el tubo para usarlo en la corrida experimental.
5. Colocar 5 ml. de muestra en el cono.
6. Centrifugar a 2000 rpm el tiempo necesario para obtener alrededor de 1.5 ml. de muestra en el filtrado.
7. Determinar la concentracion de sacarosa en la solución original y en el filtrado

5.2.4 Determinación de la viscosidad.

Para obtener las viscosidades aparentes de las soluciones se tomaron lecturas de torque en todo el rango de velocidades de corte (0.3, 0.6, 1.5, 3, 6, 12, 30 y 60 rpm) que proporciona un viscosimetro Brookfield; modelo LVT.

El cálculo de las viscosidades aparentes se realizó utilizando ecuaciones que consideran, la geometría del viscosimetro, la aguja

seleccionada y el tipo de fluido. Estas ecuaciones se manejaron a través de un programa de computadora, escrito para tal fin y mostrado en el anexo A.

Procedimiento experimental :

1. Se coloca en el viscosímetro el guarda agujas y se selecciona la aguja adecuada para realizar las mediciones (en este caso se utilizaron ; la aguja 2 para las soluciones al 0.05 y 0.125 % de xantana y la aguja 4 para las soluciones 0.25, 0.5 y 1 % de xantana).

2. Se coloca la muestra en un vaso de precipitado de 250 ml.

3. Se sumerge la aguja dentro de la muestra, cuidando que el nivel de ésta coincida con un nivel que tiene marcado la aguja .

4. Se selecciona la velocidad de corte a la cual se va a realizar la determinación.

5. Se prende el viscosímetro con el clutch sostenido. Después de 5 segundos se suelta el clutch.

6. Se deja que la aguja del disco se estabilice en una lectura determinada.

7. Se sostiene el clutch nuevamente, para mantener la aguja en la lectura y se apaga el viscosímetro.

8. Se toma la lectura que indica la aguja y se suelta el clutch.

9. Se selecciona otra velocidad de corte y se repite el mismo

procedimiento.

5.3 Técnicas analíticas.

5.3.1 Análisis de KCl.

La concentración de KCl fué determinada por un análisis de iones cloruro usando el método de Mohr (Brito, 1982). El nitrato de plata fué usado para titular el cloruro de potasio, usando como indicador una solución al 2% de cromato de potasio. En el punto final el ión plata se combina con el ión cromato para formar una solución rojo-ladrillo de cromato de plata (Ag_2CrO_4) que es fácilmente reconocible. El procedimiento detallado es como sigue :

1. Se pipetea 4 ml. de la solución de KCl dentro de un matraz erlen meyer de 25 ml. agitados con una barra de agitación de 1/4" usando una plancha de agitación magnética.

2. Adicionar 2 gotas de la solución de cromato de potasio al 2 %.

3. Titular con solución 0.05 N de nitrato de plata.

Antes del punto final la solución se torna amarilla y el ión plata precipita como cloruro de plata, que es una sal blanca. Se prosigue la titulación hasta conseguir el cambio a color rojo-ladrillo.

4. Anotar el volumen de nitrato de plata usado.

5.3.2 Análisis de la sacarosa.

La técnica de fructosidasa-DNS combina la acción de la fructo-

sidasa sobre la sacarosa para producir glucosa y fructosa y la acción reductora de estos azúcares sobre el ácido dinitrosalicílico para formar un compuesto nitroaminado de color amarillo, cuya densidad óptica es proporcional a la concentración de grupos reductores, la intensidad del color se mide espectrofotométricamente a 540 nm.

El procedimiento detallado para la curva estandar es como sigue :

1. Se prepara una solución patrón de sacarosa de 1 mg/ml en un matraz aforado de 100 ml.

2. Se toman alicuotas de 1, 4, 8, 12, y 16 ml. y se aforan a 100 ml con agua destilada, para tener concentraciones de 0.1, 0.4, 0.8, 1.2, y 1.6 gr/lt respectivamente.

3. Se toman alicuotas por duplicado de 0.9 ml de cada una de las soluciones preparadas y se colocan en tubos de ensayo.

4. Se adicionan 0.1 ml de la solución de fructosidasa a cada uno de los tubos, se mezclan en un agitador de tubos y se esperan 5 min.

5. Se adiciona 1 ml del reactivo de DNS en cada uno de los tubos.

6. Se calientan los tubos en un baño de agua a ebullición durante 5 min.

7. Se enfrían los tubos en agua. Se adicionan 10 ml de agua destilada a cada tubo. Se mezclan y se leen en un espectrofotometro a 540 nm., contra un blanco preparado con agua destilada.

Análisis de las muestras :

Dependiendo de la concentración que se espera en las muestras se hacen diluciones para que al analizarlas estén en el rango de concentración de la curva (0.1 a 1.6 gr/lt) . Generalmente las muestras tanto de adsorción, como de las corridas de difusión se trabajaron a diluciones 1 : 10 y 1 : 25.

Se repiten los pasos del 3 al 7 del procedimiento de la curva estandar. Las muestras se leen contra un testigo que se prepara con un ml de la muestra y un ml de DNS.

6. Datos experimentales.

6.1 Datos de calibración de la celda de diafragma.

Los datos experimentales de calibración de la celda de diafragma obtenidos por difusión de cloruro de potasio, son mostrados en la tabla 6.1.1. Se utilizó una membrana por cada experimento realizado, debido a que después de la corrida de difusión, la cual generalmente es larga, las membranas pueden sufrir cierto deterioro en su estructura que pudiera afectar el experimento siguiente.

Los porcentajes de error obtenidos en el balance de masa, indican exactitud en el método de determinación experimental. Las variaciones encontradas en los valores de no fué mayor del 15 %.

El número asignado a la corrida indica en que celda se realizó el experimento: C1 y C2 para las celdas 1 y 2 respectivamente, el siguiente número y letra indica en cual experimento de difusión fué usada la membrana, ya que éste número es igual al que se le asigna en las corridas de difusión.

6.2 Datos de difusión en la celda de diafragma

En las tablas 6.2.1, 6.2.2 y 6.2.3 se muestran los datos de difusión obtenidos en las diferentes condiciones a las que fueron planteados los experimentos. Durante la realización de los experimentos fue necesario, incrementar el tiempo de difusión, para difundir al menos el 10 % de la sacarosa inicial.

Los porcentajes de error obtenidos en las corridas experimentales,

TABLA 6.1.1 DATOS DE CALIBRACION DE LA CELDA DE DIAFRAGMA EMPLEANDO KCl 0.1M.

No. de corrida	Concentración de KCl (moles/l)			Constante	% Error en el balance
	C ^o L	C U	C L		
C1-1A	0.0949	0.0260	0.0726	5.24	+ 3.64
C1-1B	0.0949	0.0240	0.0732	4.81	+2.25
C1-2A	0.0988	0.0298	0.0713	6.28	+2.15
C1-2B	0.0988	0.0342	0.0669	6.11	+2.12
C1-3A	0.1128	0.0304	0.0843	5.16	-0.26
C1-3B	0.1128	0.0315	0.0828	5.79	+1.94
C2-4A	0.1125	0.0334	0.0824	6.13	+3.20
C2-4B	0.1125	0.0303	0.0821	5.62	+1.61
C2-5A	0.1125	0.0365	0.0768	6.50	+1.11
C2-5B	0.1125	0.0332	0.0814	6.26	+2.17
C2-6A	0.0949	0.0251	0.0725	5.07	+2.72
C2-6B	0.0949	0.0242	0.0737	4.72	+2.76
C2-7A	0.0911	0.0247	0.0671	5.58	+0.75
C2-7B	0.0911	0.0259	0.0685	5.54	+3.40
C2-8A	0.0989	0.0268	0.0737	5.44	+1.61
C2-8B	0.0989	0.0268	0.0719	5.47	+1.46
C2-9A	0.0911	0.0274	0.0737	5.54	+2.22
C2-9B	0.0911	0.0262	0.0731	5.44	+0.38
C2-10A	0.0949	0.0288	0.0704	5.74	+2.09
C2-10B	0.0949	0.0245	0.0726	4.97	+2.21

No. de corrida	Concentración de KCl (moles/l)			Constante	% Error en el balance
	C ^o L	C U	C L		
C2-11A	0.0949	0.0224	0.0750	4.50	+2.56
C2-11B	0.0949	0.0245	0.0738	4.80	+3.56
C2-12A	0.0809	0.0214	0.0614	5.12	+2.34
C2-12B	0.0809	0.0205	0.0624	4.79	+2.47

TABLA 6.2.1. DATOS DE DIFUSION DE SACAROSA (15 g/l) EN SOLUCIONES DE GOMA
XANTANA

No de corrida	Conc. de xantana en la solución (g/l)	D AB (cm ² /s)x10 ⁻⁶	\bar{D} AB (cm ² /s)x10 ⁻⁶	% Error en el balance
C1-1A	0.50	2.5237		-2.96
C1-1B	0.50	2.5755	2.55	+0.36
C1-2A	1.25	1.3207		+2.48
C1-2B	1.25	0.9574	1.13	+4.00
C1-3A	2.50	0.8000		+3.00
C1-3B	2.50	0.8130	0.806	+2.60
C2-4A	5.00	0.2670		+2.72
C2-4B	5.00	0.3000	0.284	+2.82
C2-5A	10.00	0.0732		+0.66
C2-5B	10.00	0.0670	0.0701	+0.61

TABLA 6.2.2 DATOS DE DIFUSION DE SACAROSA (20 g/l) EN SOLUCIONES DE GOMA XANTANA

No de corrida	Conc.de xantana en la solución (g/l)	D AB (cm ² /s)x10 ⁻⁶	\bar{D} AB (cm ² /s)x10 ⁻⁶	% Error en el balance
C2-6A	0.50	2.8786		+0.54
C2-6B	0.50	2.6390	2.76	+1.89
C2-7A	1.25	2.0582		+0.18
C2-7B	1.25	2.1656	2.11	+1.51
C2-8A	2.50	1.0925		+1.29
C2-8B	2.50	0.9530	1.05	+0.79
C2-9A	5.00	0.3265		+0.58
C2-9B	5.00	0.3347	0.33	+2.22
C2-10A	10.00	0.1172		+1.31
C2-10B	10.00	0.1151	0.116	+0.31

TABLA 6.2.3. DIFUSION DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SACAROSA EN UNA SOLUCION DILUIDA DE XANTANA (0.5 %)

No de corrida	Conc. de sacarosa (g/l)	D AB (cm ² /s)x10 ⁻⁶	\bar{D} AB (cm ² /s)x10 ⁻⁶	% Error en el balance
C2-12A	7.5	2.3125	2.29	+2.35
C2-12B	7.5	2.2816		+1.82
C1-1A	15	2.5237	2.55	-2.96
C1-1B	15	2.5755		+0.36
C2-6A	20	2.8786	2.76	+0.54
C2-6B	20	2.6390		+1.89
C2-11A	30	2.6498	3.10	+3.95
C2-11B	30	3.2000		+1.47

fueron similares a los obtenidos en las corridas de calibración, lo cual corrobora la confiabilidad del método de la celda de diafragma.

La nomenclatura usada para las corridas experimentales fue similar a la empleada para las corridas de calibración de la celda.

6.3 Datos de adsorción

Los resultados de los experimentos de adsorción realizados en diferentes condiciones de pH y fuerza iónica se presentan en las tablas 6.3.1, 6.3.2, 6.3.3 y 6.3.4. El análisis de estos datos se realiza en el artículo anexo.

6.4 Datos de viscosidad

Las viscosidades aparentes de las soluciones de xantana a las diferentes concentraciones se muestran en las tablas 6.4.1 y 6.4.2. Estos datos fueron obtenidos introduciendo directamente las lecturas del viscosímetro Brookfield, al programa de computadora descrito en el anexo A.

En la tabla 6.4.3 se muestran los valores de viscosidad obtenidos realizando una extrapolación de los datos de viscosidad aparente a una velocidad de deformación muy pequeña (0.01 s^{-1}). Estos valores son muy similares a los reportados por Jamieson *et al.* (1982), como valores de viscosidad a cero velocidad de deformación ($\mu_{\dot{\gamma}=0}$), en un rango de concentración de xantana similar. Por lo que durante el trabajo se manejaron estos valores como iguales a $\mu_{\dot{\gamma}=0}$.

TABLA 6.3.1 RESULTADOS EXPERIMENTALES DE ADSORCION DE SACAROSA EN XANTANA CUANDO LAS
 SOLUCIONES SE PREPARAN CON AGUA DEIONIZADA; pH = 6.00 ± 0.3.

C_T Sacarosa Total (g/100ml)	A Sacarosa Libre (g/100ml)	C_B Sacarosa Unida (g/100ml)	C_P Xantana (g/100ml)	\bar{V} (C_B/C_P) <u>Sacarosa Unida</u> Xantana
2.37	2.24	0.13	0.10	1.30
2.15	1.97	0.18	0.15	1.20
1.80	1.67	0.13	0.20	0.65
1.48	1.35	0.13	0.25	0.52
1.02	0.83	0.19	0.50	0.38
0.51	0.47	0.04	1.00	0.04
0.10	0.09	0.01	1.50	0.0066

TABLA 6.3.2 RESULTADOS EXPERIMENTALES DE ADSORCION DE SACAROSA EN XANTANA
 CUANDO LAS SOLUCIONES SE AJUSTARON A pH = 7.

C_T Sacarosa Total (g/100ml)	A Sacarosa Libre (g/100ml)	C_B Sacarosa Unida (g/100ml)	C_P Xantana (g/100ml)	\bar{V} C_B/C_P <u>Sacarosa Unida</u> <u>Xantana</u>
2.28	2.17	0.11	0.10	1.11
1.51	1.35	0.16	0.25	0.64
0.51	0.45	0.06	1	0.06
0.138	0.103	0.034	1.5	0.022

TABLA 6.3.3 RESULTADOS EXPERIMENTALES DE ADSORCION DE SACAROSA EN XANTANA
 CUANDO SE INCREMENTA LA FUERZA IONICA DE LA SOLUCION (ADICION DE 1% DE KCl).

C_T Sacarosa Total (g/100ml)	A Sacarosa Libre (g/100ml)	C_B Sacarosa Unida (g/100ml)	C_P Xantana (g/100ml)	\bar{V} C_B/C_P <u>Sacarosa Unida</u> <u>Xantana</u>
2.43	2.19	0.24	0.10	2.4
1.52	1.36	0.16	0.25	0.64
0.51	0.43	0.08	1.0	0.08
0.089	0.09	0.	1.5	0.

TABLA 6.3.4 RESULTADOS EXPERIMENTALES DE ADSORCION DE SACAROSA EN XANTANA
 CUANDO SE DISMINUYE LA FUERZA IONICA DE LA SOLUCION (SOLUCIONES DIALIZADAS)

C_T Sacarosa Total (g/100ml)	A Sacarosa Libre (g/100ml)	C_B Sacarosa Unida (g/100ml)	C_P Xantana (g/100ml)	\bar{V} C_B/C_P <u>Sacarosa Unida</u> Xantana
3.32	2.79	0.53	0.119	4.45
1.55	1.29	0.26	0.238	1.09
0.41	1.29	0.12	0.729	0.16
0.096	0.069	0.027	1.19	0.02

TABLA 6.4.1 VISCOSIDADES APARENTES (μ_a) OBTENIDAS PARA LAS SOLUCIONES DE XANTANA A DIFERENTES CONCENTRACIONES Y 15 g/l DE SACAROSA

Concentración de xantana en la solución (g/l)

RPM	(0.50)	(1.25)	(2.50)	(5.00)	(10.00)
	*	*	+	+	+
0.30	-	869	2,968	4,689	10,274
0.60	163	595	1,827	2,737	5,799
1.50	111	361	962	1,343	2,723
3.00	83	248	592	784	1,537
6.00	62	170	365	457	867
12.00	46	116	224	267	489
30.00	31	70	118	131	230
60.00	24	48	73	76	129

* Obtenidas con la aguja 2

+ Obtenidas con la aguja 4

TABLA 6.4.2 VISCOSIDADES APARENTES (μ_a) OBTENIDAS PARA LAS SOLUCIONES DE XANTANA A DIFERENTES CONCENTRACIONES Y 20 g/l DE SACAROSA.

RPM	Concentración de xantana en la solución (g/l)				
	(0.50) [*]	(1.25) [*]	(2.50) ⁺	(5.00) ⁺	(10.00) ⁺
0.30	-	869	2,262	3,831	11,167
0.60	163	595	1,410	2,446	6,432
1.50	111	361	755	1,352	3,098
3.00	83	248	471	863	1,783
6.00	62	170	293	551	1,026
12.00	46	116	183	351	590
30.00	31	70	98	194	284
60.00	24	48	61	124	163

* Medidas con la aguja 2

+ Medidas con la aguja 4

TABLA 6.4.3 VALORES DE VISCOSIDAD EXTRAPOLADOS A UNA VELOCIDAD DE DEFORMACION IGUAL A CERO ($\mu_{\dot{\gamma}=0}$)

Concentración de xantana (g/l)	$\mu_{\dot{\gamma}=0}$ (cp)
0.50	169
1.25	1.034
2.50	3.598
5.00	22.216
10.00	156.766

7. RESULTADOS Y DISCUSION

7.1 Difusión de sacarosa en soluciones de goma xantana

7.1.1 Dependencia de la difusividad de sacarosa en xantana a cambios en la concentración de goma en la solución.

En la figura 7.1.1 se grafican los resultados obtenidos de difusividad de sacarosa en xantana, respecto a su difusividad en agua (D_{AP}/D_{AW}) como una función de la concentración de goma en la solución. Puede observarse que la difusividad de la sacarosa disminuye con el incremento en la concentración de xantana; y que esta disminución es importante aún a concentraciones muy bajas del polímero. Lo cual indica, que la presencia de la molécula del polímero en la solución, produce el esperado efecto del bloqueo en el transporte de la sacarosa.

Se probaron dos concentraciones de sacarosa (15 y 20 g/l) inicial, obteniéndose como se puede ver en la misma gráfica que ee incremento en la concentración de sacarosa, produce valores mas altos de coeficiente difusional; aunque esto es claro únicamente para concentraciones bajas del polímero.

Los resultados experimentales se comparan en la figura 7.1.1 con datos reportados de difusividad de oxígeno en xantana (Reuss et al., 1980), los cuales fueron corregidos a 29 ° C. Ambos comportamientos son congruentes con lo reportado en la literatura, sobre la disminución de la difusividad de un soluto gas o líquido en una solución de polímero.

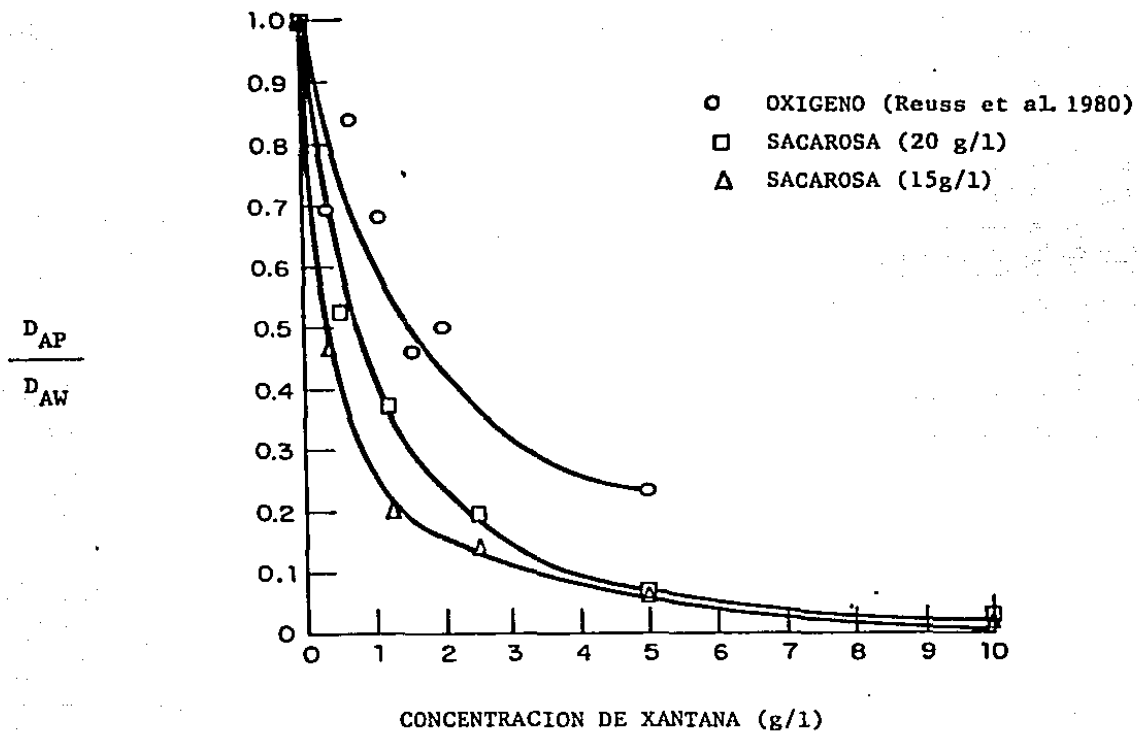


FIGURA 7.1.1 DEPENDENCIA DE LA RELACION DE DIFUSIVIDADES DE SACAROSA A CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE GOMA XANTANA.

7.1.2 Influencia de la variación en la concentración de sacarosa sobre su coeficiente difusional en una solución diluida de xantana.

Para conocer la dependencia de la difusividad a los cambios en la concentración del soluto a difundir, se probaron 4 niveles de sacarosa en una solución diluida de xantana (0.5 g/l); encontrándose como se muestra en la figura 7.1.2, que existe una dependencia lineal entre la difusividad y la concentración promedio de sacarosa presente, en el rango probado.

7.2 Interacción sacarosa-xantana en el sistema (ver artículo anexo)

7.2.1 y 7.2.2 Idem

7.3 Predicción de la difusividad de sacarosa en soluciones de goma xantana.

Para comparar los resultados con los datos esperados, aplicando modelos de predicción de difusividad, propuestos para sistemas poliméricos, se probaron algunos de los mas importantes (Figura 7.3.1).

se escogieron dos modelos que predicen la difusividad en función de las propiedades moleculares del sistema: el modelo de Navari et al. (1971) y el modelo de Geankoplis et al. (1979). La ecuación 5 y el modelo de Lohse et al. (1981), predicen la difusividad de un soluto en función de las propiedades de flujo de las soluciones.

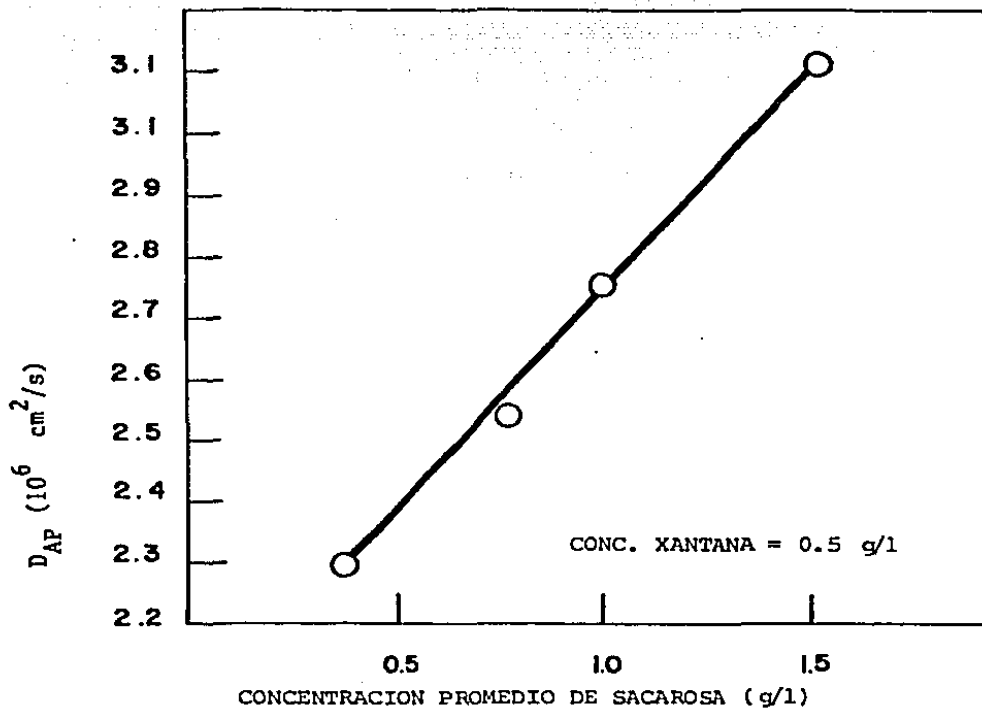


FIGURA 7.1.2 INFLUENCIA DE LA VARIACION EN LA CONCENTRACION DE SACAROSA SOBRE SU DIFUSIVIDAD, EN UNA SOLUCION DILUIDA DE XANTANA. COEFICIENTE DE CORRELACION =0.99

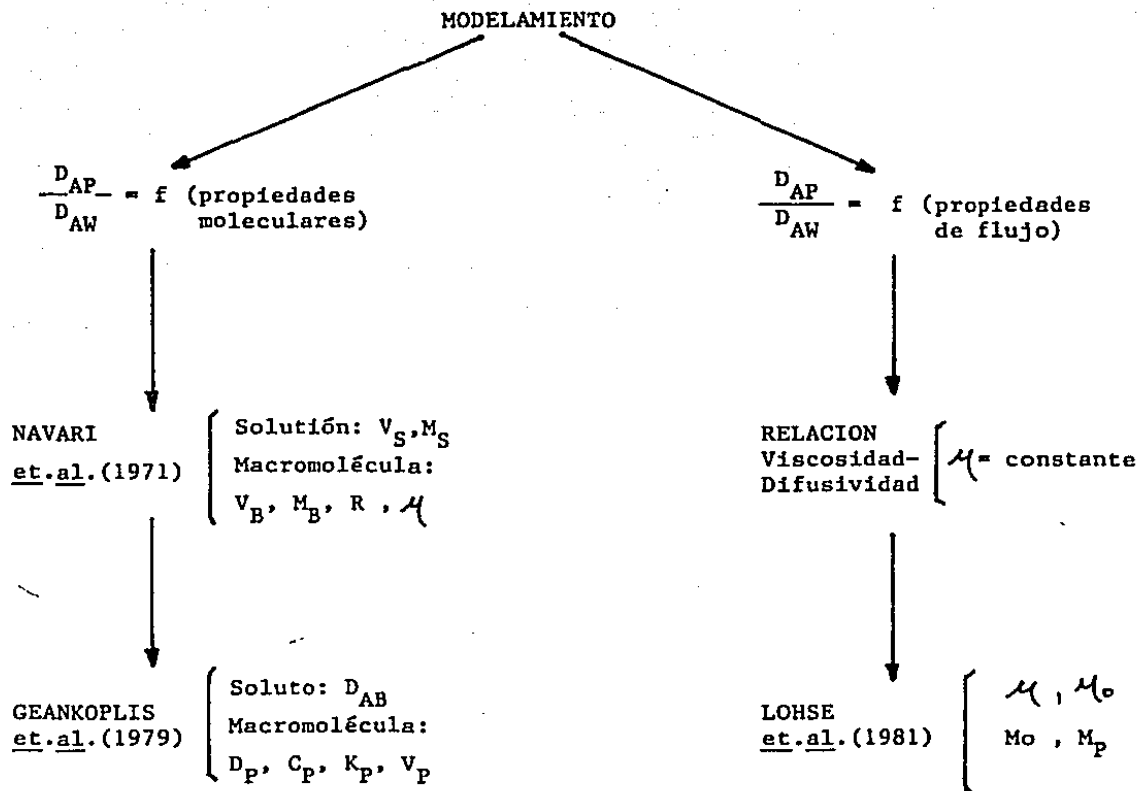


FIGURA 7.3.1 ESTRATEGIA EMPLEADA EN EL MODELAMIENTO

7.3.1 Ecuaciones basadas en las propiedades moleculares del sistema

7.3.1.1 Modelo de Navari et al (1971)

La aplicación del modelo de Navari (ecuación 1) requiere de un amplio conocimiento de las propiedades moleculares del sistema.

El valor de la diferencia de energías de activación para la difusión (ΔE), debe ser obtenida en función del radio molecular y de una función de incremento de viscosidad de la siguiente manera:

$$\Delta E = - \Delta E_M \exp(-k/c) \quad (1.a)$$

donde la diferencia de energía de activación máxima (ΔE_M) está dada por la relación siguiente :

$$\Delta E_M = - 2.335 \times 10^{-4} \left(\frac{R^2}{M_p} \right) + 1.57 \times 10^{-4} \quad (1.b)$$

donde R y M_p son el radio y el peso molecular del polimero respectivamente.

El valor de la constante K de la ecuación 1.a se obtiene a partir de la relación:

$$\ln k = - 1.1625 \ln \eta_r - 3.54 \quad (1.c)$$

La viscosidad relativa se obtiene aplicando una función de incremento de viscosidad:

$$\eta_r = 2 \eta / \eta_{oc} \quad 1 / \eta_0 \quad \frac{d\eta}{dc} \quad (1.d)$$

Es importante hacer notar que los autores establecieron que, cuando la viscosidad de la solución polimérica respecto a la viscosidad del

solvente puro (η/η_0) es muy grande el valor de la viscosidad relativa (η_r), tiende a ser el valor de la viscosidad intrínseca (η_i).

Cuando la ecuación 1.d fue aplicada al sistema estudiado, se obtuvieron valores de η_r muy altos, los cuales quedaron fuera del rango de viscosidad manejado en los sistemas probados por Navari. El modelo se vuelve insensible a las variaciones en los demás parámetros (R , M_p , C), produciendo a la concentración de xantana mas baja probada, un valor extremadamente pequeño de D_{AP}/D_{AW} y posteriormente no mostro ningun cambio en ese valor lo cual no coincide con los resultados experimentales.

Basados en el hecho de que las soluciones de goma xantana presentan viscosidades muy altas aún a bajas concentraciones, se decidió utilizar un valor de viscosidad intrínseca reportado en la literatura.

Sin embargo al igual que con el valor del radio molecular (tabla 3.5.1) existen discrepancias en los valores reportados de viscosidad intrínseca (η_i) (Whitcomb y Macosko, 1977; Jamieson et.al., 1982; Cuvelier y Launay, 1984).

Se seleccionaron dos de los valores de η_i reportados (5000 y 7000 cm^3/g) y se probaron en combinación con 4 valores de radio molecular ($R=1005, 1100, 1145$ y 1200 \AA).

En la figura 7.3.2 se muestra la influencia del valor del radio de la molecula, considerando un valor de $\eta_i = 7000 \text{ cm}^3/\text{g}$, en la predicción del modelo de Navari. Puede verse que en el rango de 1005 a 1145 A , el modelo predice tendencias similares en el valor de D_{AP}/D_{AW} sin embargo arriba de 1145 A , un cambio pequeño en el valor de R ,

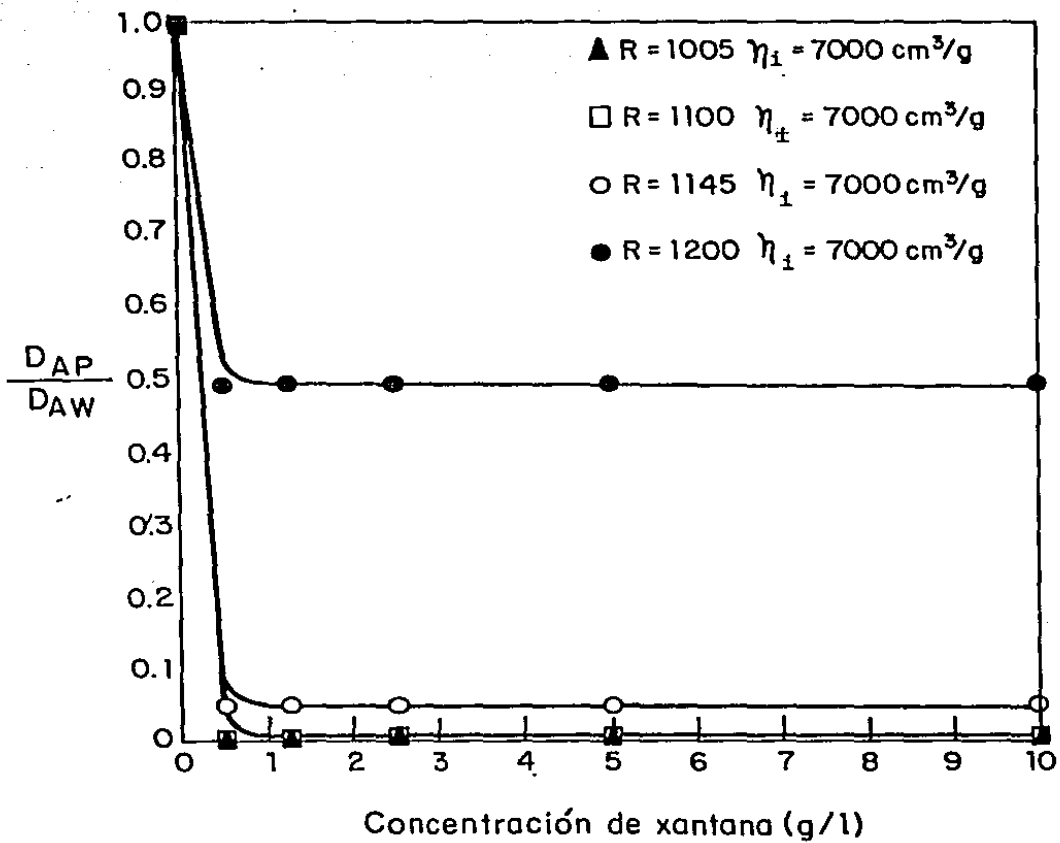


TABLA 7.3.2 INFLUENCIA DEL VALOR DEL RADIO DE LA MOLECULA EN LA PRE-DICCION DEL MODELO DEL MODELO DE NAVARI

produce una caída en el valor de D_{AP}/D_{AW} menos pronunciada, respecto al incremento en la concentración de xantana. La predicción del modelo de Navari fue muy similar cuando se probó el valor de $\eta_i = 5000 \text{ cm}^3/\text{g}$, con los mismos valores de radio molecular.

Los resultados demuestran la sensibilidad de la ecuación de Navari, al valor de R en cierto rango.

En la figura 7.3.3 se muestra la comparación entre los datos experimentales de difusividad de sacarosa, los datos reportados de difusividad de oxígeno y la predicción del modelo de Navari, considerando $R = 1145 \text{ \AA}$ y $\eta_i = 7000 \text{ cm}^3/\text{g}$, en función del incremento en la concentración de xantana. Puede verse que para estas condiciones el modelo predice con bastante aproximación los datos de sacarosa a concentraciones por arriba de 4 g/l, y la tendencia en la disminución de la difusividad, tanto de sacarosa como de oxígeno a concentraciones por debajo de 0.5 g/l.

Estos resultados sugieren que el uso de la función de incremento de viscosidad, no puede ser generalizado, y que puede utilizarse el valor de la viscosidad intrínseca en polímeros como la goma xantana, los cuales producen altas viscosidades en solución, aún a concentraciones muy bajas.

7.3.1.2 Modelo de Geankoplis et al. (1979)

El modelo de Geankoplis considera los efectos de bloqueo y adsorción en el sistema. Rearreglando la ecuación 2, ambos fenómenos se pueden evaluar por separado, de la siguiente manera:

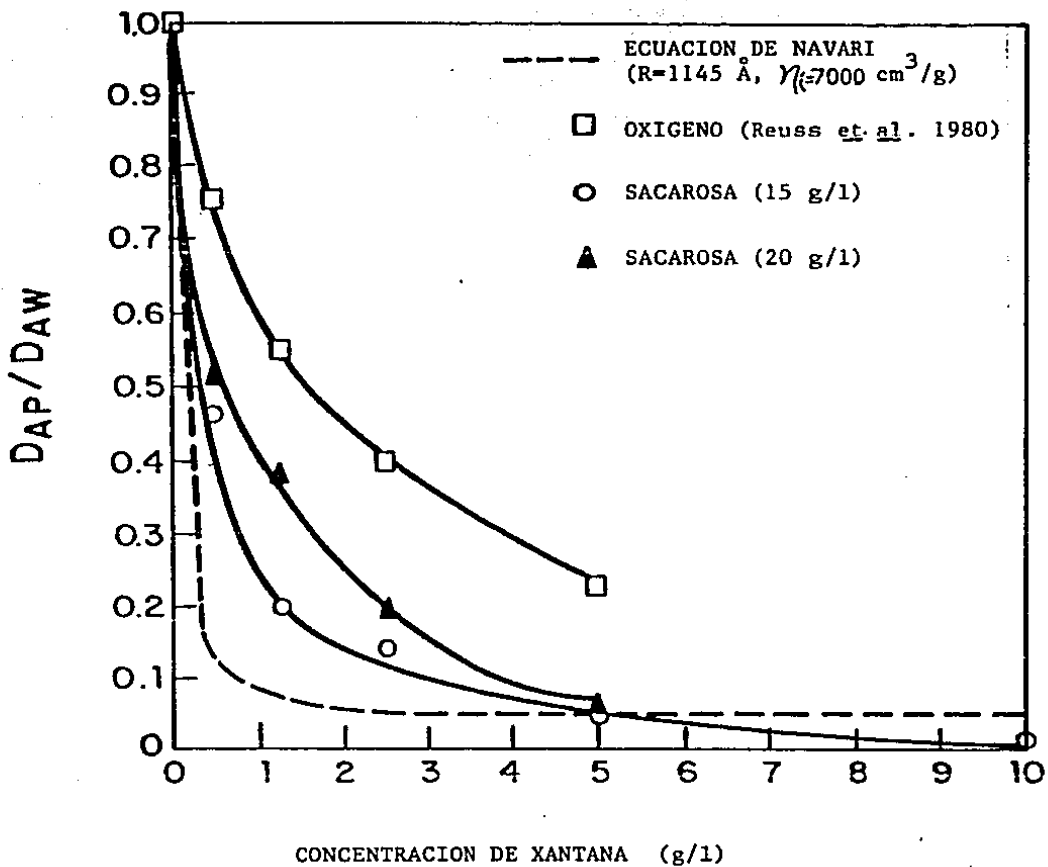


FIGURA 7.3.3 PREDICCIÓN DEL MODELO DE NAVARI COMPARADA CON LOS DATOS EXPERIMENTALES DE DIFUSIVIDAD DE SACAROSA Y LOS DATOS REPORTADOS DE DIFUSIVIDAD DE OXIGENO.

$$D_{AP} = D_{AB} (1 - 1.2 \alpha \phi_p) + \frac{D_p K_p}{1 + K_p} \quad (2.1)$$

En base a los resultados obtenidos en el estudio de adsorción se cuantificó éste efecto en el sistema, evaluando el segundo término de la ecuación 2.1, de la forma siguiente:

$$D_{AP} = \frac{D_p K_p}{1 + K_p} \quad (2.1.a)$$

El procedimiento de cálculo fue el siguiente: La evaluación del coeficiente de adsorción (K_p), se realizó empleando la siguiente igualdad:

$$K_p = C_p K' \quad (2.1.b)$$

donde

$$K' = \text{coeficiente de partición} = \bar{V} / C_F \quad (2.1.c)$$

El número de moléculas de sacarosa asociadas por cada molécula de xantana (\bar{V}), se obtuvo del modelo de adsorción cooperativa (artículo anexo), donde:

$$\bar{V} = \frac{n K (A)^n}{1 + K (A)^n} \quad \text{donde } (A) = C_F \quad (2.1.d)$$

Sustituyendo la ecuación 2.1.d en la ecuación 2.1.c se obtiene una relación para K' , la cual se sustituye en la ecuación 2.1.b, para dar la ecuación final de K_p

$$K_p = \frac{n K C_F^{n-1}}{1 + K C_F^n} C_p \quad (2.1.e)$$

donde n = número de sitios de adsorción y K es la constante de asociación de la interacción del sistema. El valor de K se obtiene linearizando la ecuación 2.1.d.

La evaluación de K_p se llevó a cabo introduciendo los valores experimentales de cada una de las variables, obtenidas en el estudio de adsorción. El valor de D_p considerado en la ecuación 2.1.a, fue igual a $2.4 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$ (Jamieson et al., 1982).

La evaluación del efecto del bloqueo se realizó utilizando el primer término de la ecuación 2.1

$$D_{AP} = D_{AB} (1 - 1.2 \phi_p) \quad (2.2)$$

La variable p se obtuvo de la ecuación 4

$$\phi_p = C_p (V_p + H_p/d_o)$$

de donde C_p = concentración del polímero; V_p = volumen específico aparente del polímero anhidro = 0.593 ml/g (Lim et al., 1984); d_o = densidad del agua y H_p = factor de hidratación del polímero en agua, el cual se supuso igual a 0.2.

El factor de forma se consideró igual a 1.5, este valor fue reportado por Li y Gainer (1978) para moléculas esféricas y de polímero.

Los valores de D_{AP} obtenidos evaluando el efecto del bloqueo fueron del orden de $10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$; por lo que sumando ambos efectos, la contribución del fenómeno de adsorción en el valor global de la difusividad fue menor del 0.2 %. Estos resultados indican que la adsorción de la sacarosa por la molécula de goma xantana, no afecta de

manera importante el mecanismo difusional de la sacarosa por lo que en cálculos posteriores no fué considerado.

Los resultados obtenidos mediante el procedimiento descrito se muestran en la figura 7.3.4.. Puede verse que el valor de D_{AP} / D_{AW} presenta un decremento poco importante con el incremento en la concentración de xantana; lo cual no concuerda con los datos experimentales. Sin embargo se sabe que el valor de 1.2 de la ecuación 2.2, fué encontrado en un sistema con albúmina y fué probado por los autores en otros sistemas de proteínas, por lo que éste valor o la función $D_{AP} = f(\alpha \phi_p)$, podrían ser diferentes para un sistema que presenta características reológicas totalmente diferentes a aquellas que presentan las proteínas. el factor de forma α se calculó considerando la molécula de goma xantana como una barra de dimensiones $L = 15,000 \text{ \AA}$ y $D = 20 \text{ \AA}$ (tabla 3.5.1). Por lo tanto si se define como longitud de la cadena/radio axial; $\alpha = 15,000/20 = 750$. Los valores de ϕ_p se obtuvieron utilizando la ecuación 4, como se describió anteriormente.

En la figura 7.3.5 se muestra la función encontrada entre la relación de difusividades de sacarosa y oxígeno y los valores de $\alpha \phi_p$ calculados. La ecuación que define la nueva función $D_{AP} / D_{AW} = f(\alpha \phi_p)$ es la siguiente:

$$D_{AP} / D_{AW} = 0.7812 - 0.4408 \alpha \phi_p + 0.0532 (\alpha \phi_p)^2 \quad (2.3)$$

Puede verse que la nueva ecuación sugiere que D_{AP} / D_{AW} no es una función lineal de $\alpha \phi_p$. En la figura 7.3.6 se grafica la ecuación modificada de Geankoplis, contra la concentración de xantana, observándose que predice con bastante aproximación la tendencia de los datos de difusividad de oxígeno reportados y los datos experimentales de

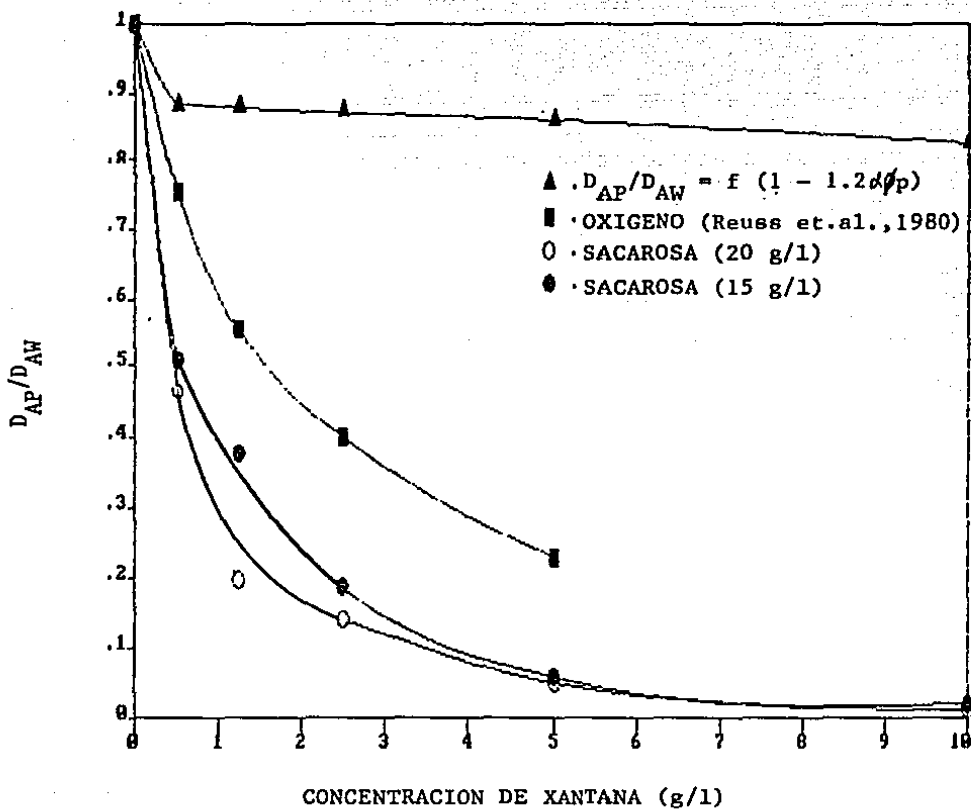


FIGURA 7.3.4 PREDICCIÓN DEL MODELO DE GEANKOPLIS COMPARADA CON LOS DATOS OBTENIDOS DE DIFUSIVIDAD DE SACAROSA Y LOS DATOS REPORTADOS DE DIFUSIVIDAD DE OXIGENO.

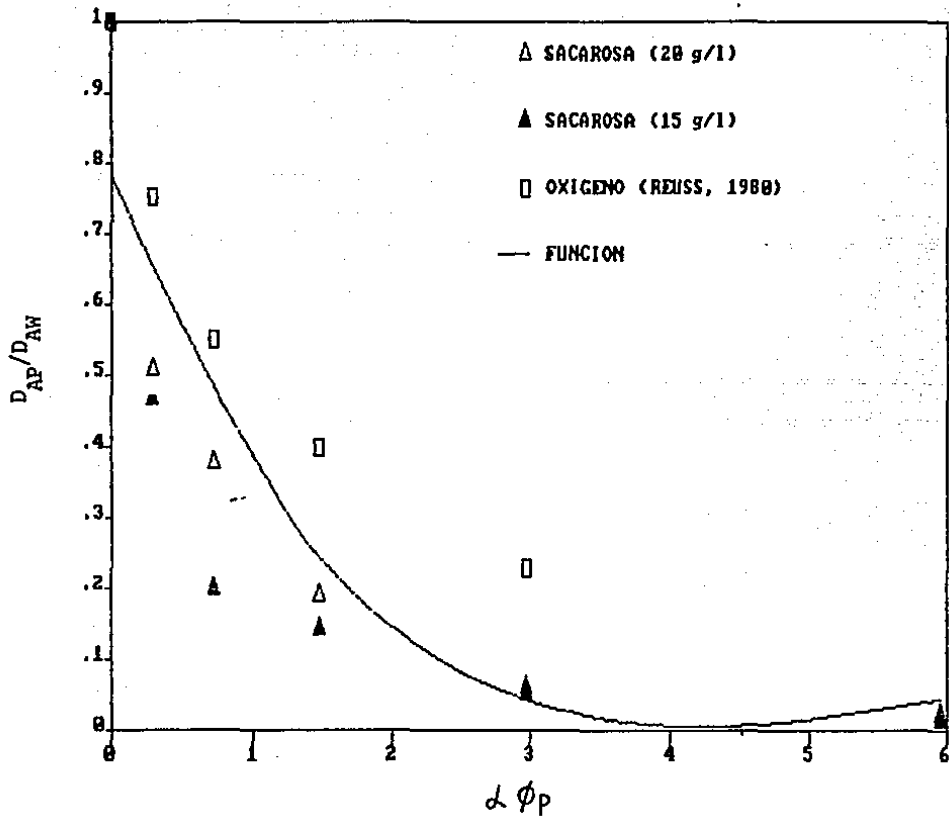


FIGURA 7.3.5 RELACION DE DIFUSIVIDADES DE SACAROSA Y OXIGENO COMO UNA FUNCION DE $\alpha \phi_p$

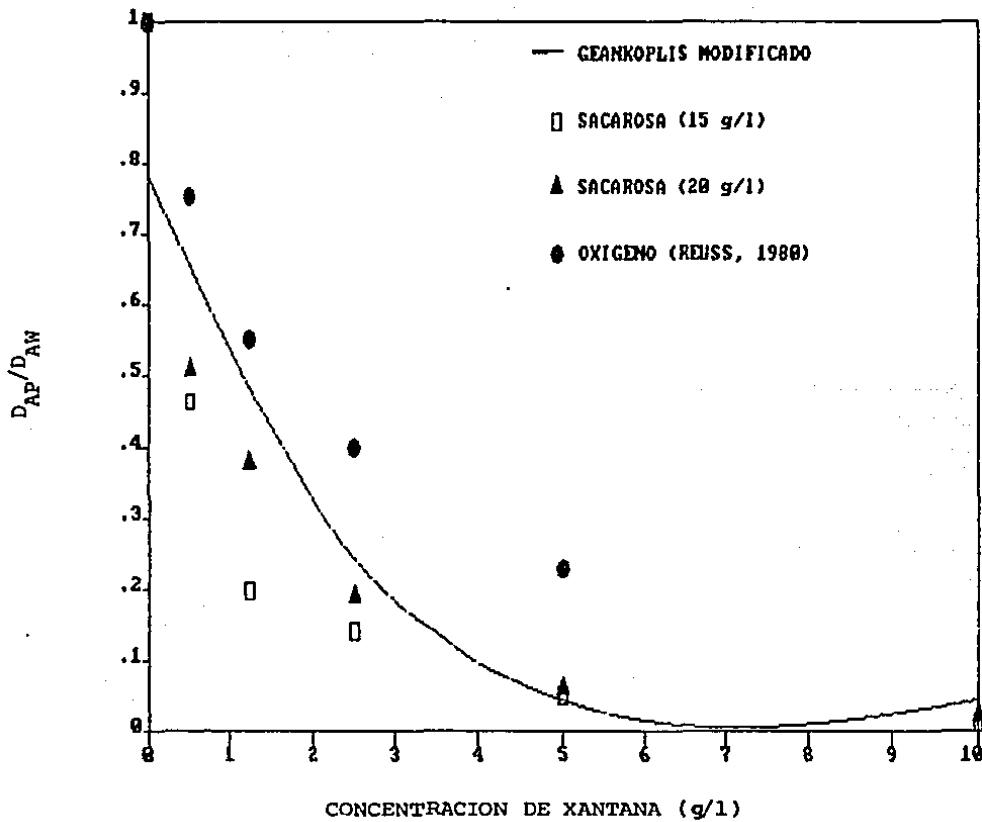


FIGURA 7.3.6 COMPARACION ENTRE LA PREDICCIÓN DE LA DIFUSIVIDAD OBTENIDA CON LA ECUACION DE GEANKOPLIS MODIFICADA, Y LOS DATOS DE DIFUSIVIDAD DE SACAROSA Y OXIGENO, EN FUNCION DEL INCREMENTO EN LA CONCENTRACION DE XANTANA.

sacarosa. Los de sacarosa los predice muy bien a concentraciones de 5 g/l en adelante.

Los resultados obtenidos confirman la importancia del efecto del bloqueo en sistemas en los cuales existe una gran diferencia de peso molecular entre el soluto que se difunde y la macromolécula.

7.3.2 Ecuaciones basadas en las propiedades de flujo del sistema

7.3.2.1 Relación difusividad viscosidad

La ecuación 5 es la relación más comúnmente reportada en la literatura para predecir en función de una propiedad fisicoquímica, fácilmente medible como es la viscosidad.

La aplicación de esta ecuación ha sido generalmente en sistemas newtonianos, sin embargo se ha reportado que puede ser usada en sistemas no-newtonianos, ya que el proceso de difusión molecular se lleva a cabo en ausencia de flujo o cero velocidad de deformación.

Si la ecuación 5 es linearizada se obtiene:

$$\text{Log } D_{AP} = -E \text{ Log } \mathcal{M} + \text{Log } A \quad (5.a)$$

de donde si se grafica el $\text{log } D_{AP}$ Versus $\text{log } \mathcal{M}$, la pendiente de la recta sería el valor del exponente E y la ordenada al origen sería $\text{log } A$. Graficando en esta forma los datos experimentales de difusividad y las viscosidades aparentes (\mathcal{M}_a), obtenidas a las diferentes velocidades de deformación, se obtuvo como se muestra en las figuras 7.3.7 y 7.3.8 que los datos oscilan entre 0.91 y 0.98 y valores de pendiente que van de -0.89 a -2.06 (tablas 7.3.1 y 7.3.2). Puede verse que la mayoría de los

TABLA 7.3.1 CORRELACIONES Y DATOS OBTENIDOS CUANDO SE RELACIONA LA DIFUSIVIDAD DE SACAROSA ($\text{LOG } D_{AP}$) Y LA VISCOSIDAD APARENTE ($\text{LOG } \mu_a$), PARA 15 G/L DE SACAROSA INICIAL

RPM	-r	-E	LOG A
0.3	0.92	1.10	5.81
0.6	0.92	0.92	3.42
1.5	0.92	1.02	3.35
3.0	0.92	1.14	3.25
6.0	0.92	1.26	3.17
12.0	0.92	1.41	3.08
30.0	0.92	1.68	2.92
60.0	0.91	1.96	2.76

TABLA 7.3.2 CORRELACIONES Y DATOS OBTENIDOS CUANDO SE RELACIONA LA DIFUSIVIDAD DE SACAROSA ($\text{LOG } D_{AP}$) Y LA VISCOSIDAD APARENTE ($\text{LOG } \mu_a$) PARA 20 g/l DE SACAROSA INICIAL

RPM	-r	-E	LOG A
0.3	0.98	1.17	4.99
0.6	0.93	0.89	3.38
1.5	0.94	0.98	3.36
3.0	0.95	1.07	3.30
6.0	0.95	1.16	3.27
12.0	0.95	1.27	3.24
30.0	0.95	1.45	3.19
60.0	0.95	1.61	3.17

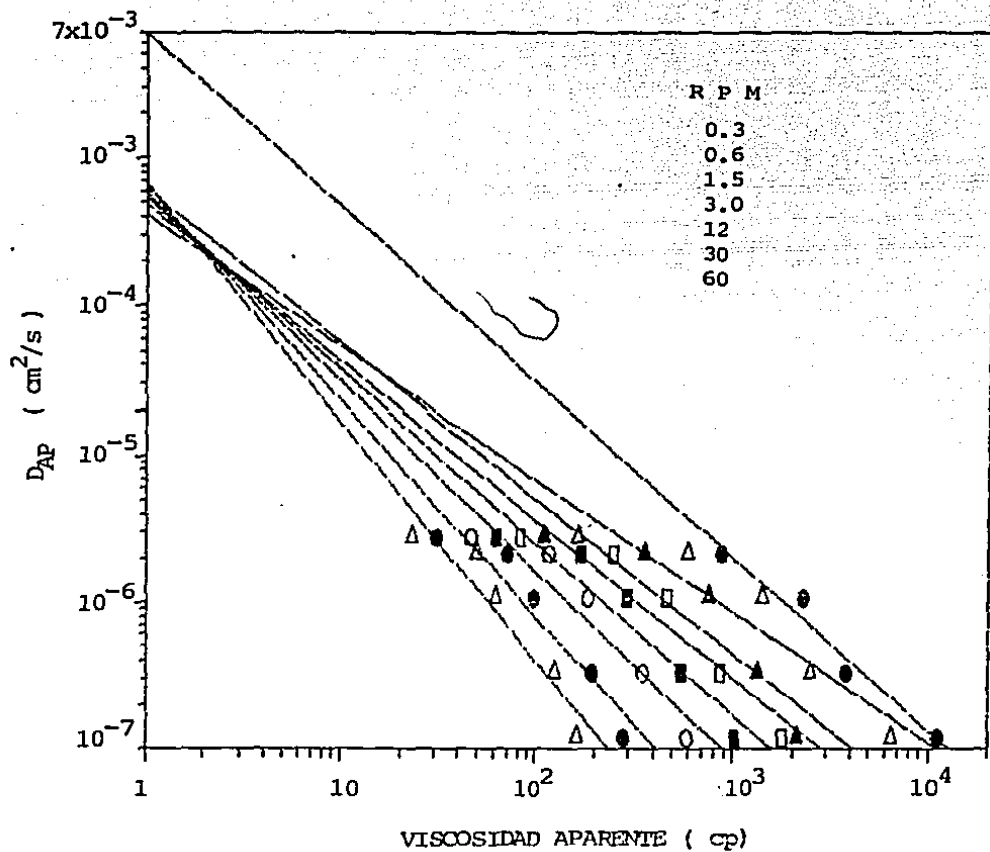


FIGURA 7.3.7 RELACION ENTRE EL COEFICIENTE DIFUSIONAL DE SACAROSA (D_{AP}) Y LA VISCOSIDAD APARENTE DE LAS SOLUCIONES (μ_a), EMPLEANDO LA FORMA LINEARIZADA DE LA ECUACION 5 (PARA 20 g/l DE SACAROSA INICIAL)

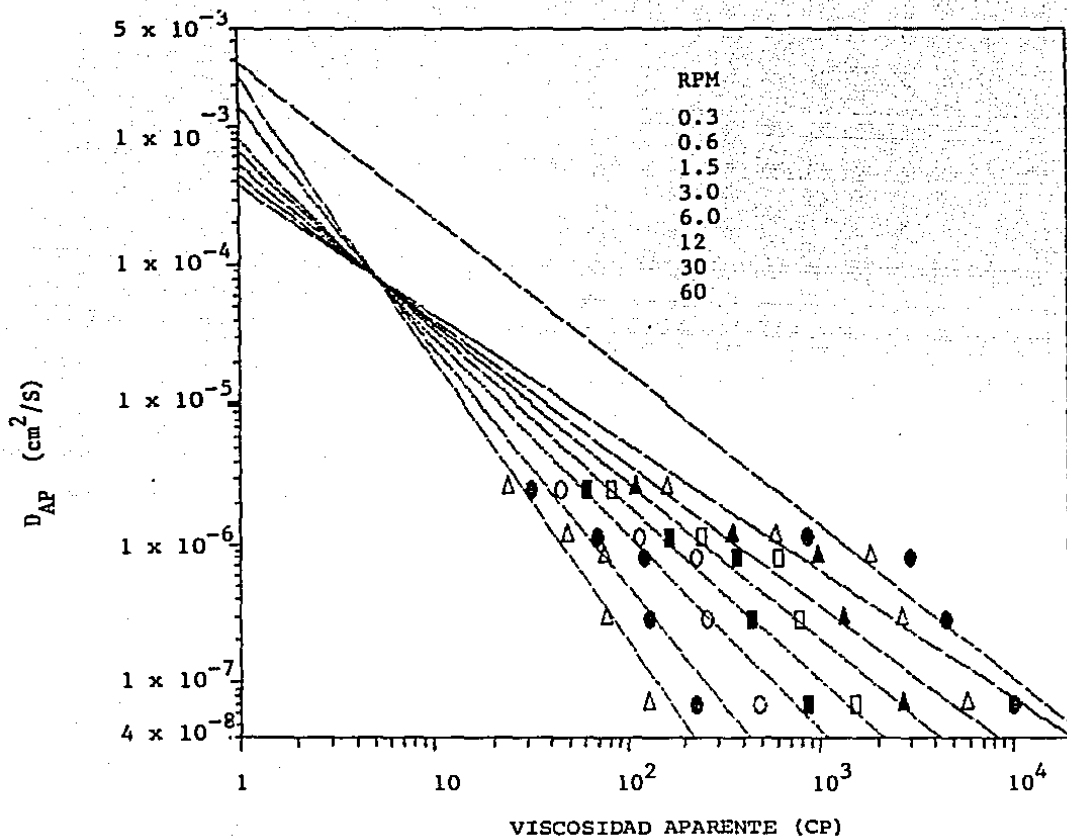


FIGURA 7.3.8 RELACION ENTRE EL COEFICIENTE DIFUSIONAL DE SACAROSA (D_{AP}) Y LA VISCOSIDAD APARENTE DE LAS SOLUCIONES (μ_a) EMPLEANDO LA FORMA LINEARIZADA DE ECUACION 5. (PARA 15 g/l DE SACAROSA INICIAL).

valores de E obtenidos para el sistema sacarosa - xantana caen dentro del rango o son muy cercanos a aquellos valores reportados por Lohse et al. (1981) para sistemas totalmente diferentes (tabla 3.1.1). En las figuras 7.3.7 y 7.3.8 se observa que el valor de E se incrementa con el aumento en la velocidad de deformación a la cual fue medida la viscosidad, y que el valor de la ordenada al origen oscila entre valores muy cercanos, lo cual indica que puede ser considerado como una constante. Es interesante notar en ambas figuras que los datos de viscosidad medidos a 0.3 RPM muestran una tendencia un poco diferente al conjunto de las otras gráficas, sin embargo es el juego de datos que presenta un factor de correlación mas alto. Esto probablemente se deba a que, ésta velocidad de deformación es tan baja que las viscosidades obtenidas en éste punto, son más cercanos al valor de viscosidad newtoniana.

Se grafico también la relación de difusividades ($\log D_{AP} / D_{AW}$) contra las viscosidades aparentes ($\log \mu_a$), siguiendo la forma linealizada de la ecuación 5, para ambas concentraciones de sacarosa (figuras 7.3.9 y 7.3.11). Los resultados obtenidos tanto de coeficiente de correlación como de valores de E son muy similares a los observados en el caso anterior (tablas 7.3.3 y 7.3.4). En la figura 7.3.9 se grafican además la tendencia de los sistemas, que presentan un valor de $E = -2/3$, cuando un soluto pequeño se difunde en una solución de macromoléculas y la tendencia de los sistemas que siguen la ecuación basada en la teoría de velocidad de reacción absoluta de Eyring, la cual predice un valor de $E = -1$ (Hiss y Cussler, 1973). Puede verse en las tablas 7.3.3 y 7.3.4, que los valores de E obtenidos para el sistema estudiado, son similares a los reportados aún cuando, los valores de

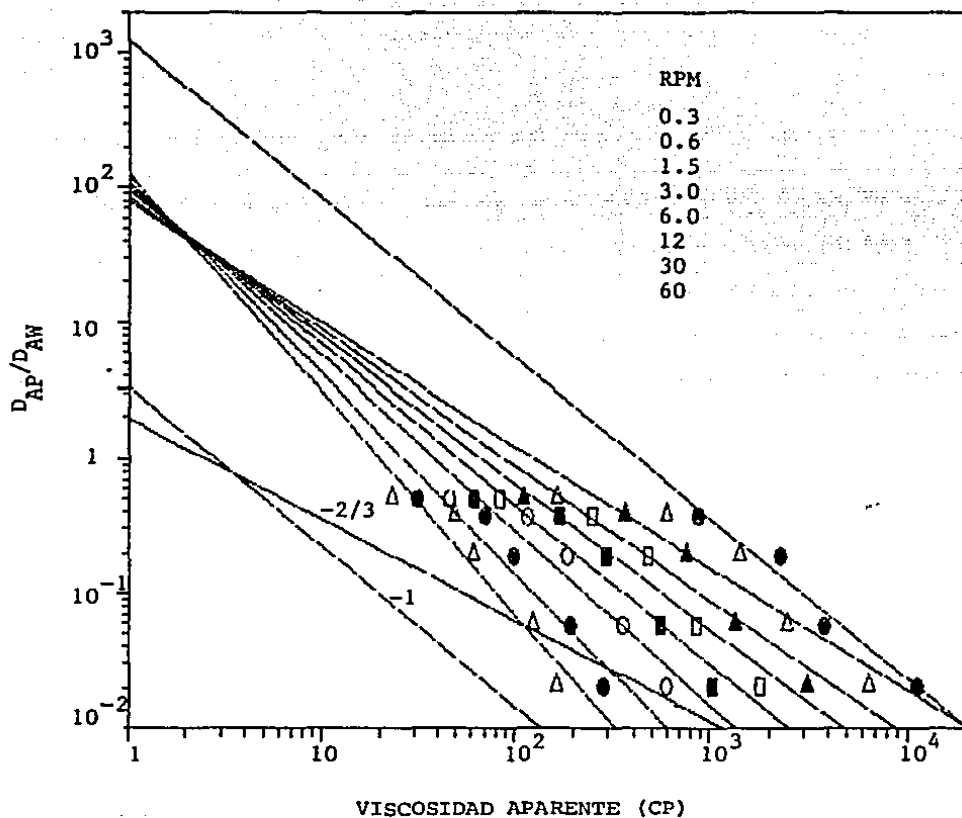


FIGURA 7.3.9 PREDICION DE LA ECUACION 5 CUANDO SE CONSIDERA LA RELACION DE DIFUSIVIDADES DE SACAROSA (D_{AP}/D_{AW}) Y LA VISCOSIDAD APARENTE DE LAS SOLUCIONES (μ_a). (PARA 20 g/l DE SACAROSA INICIAL).

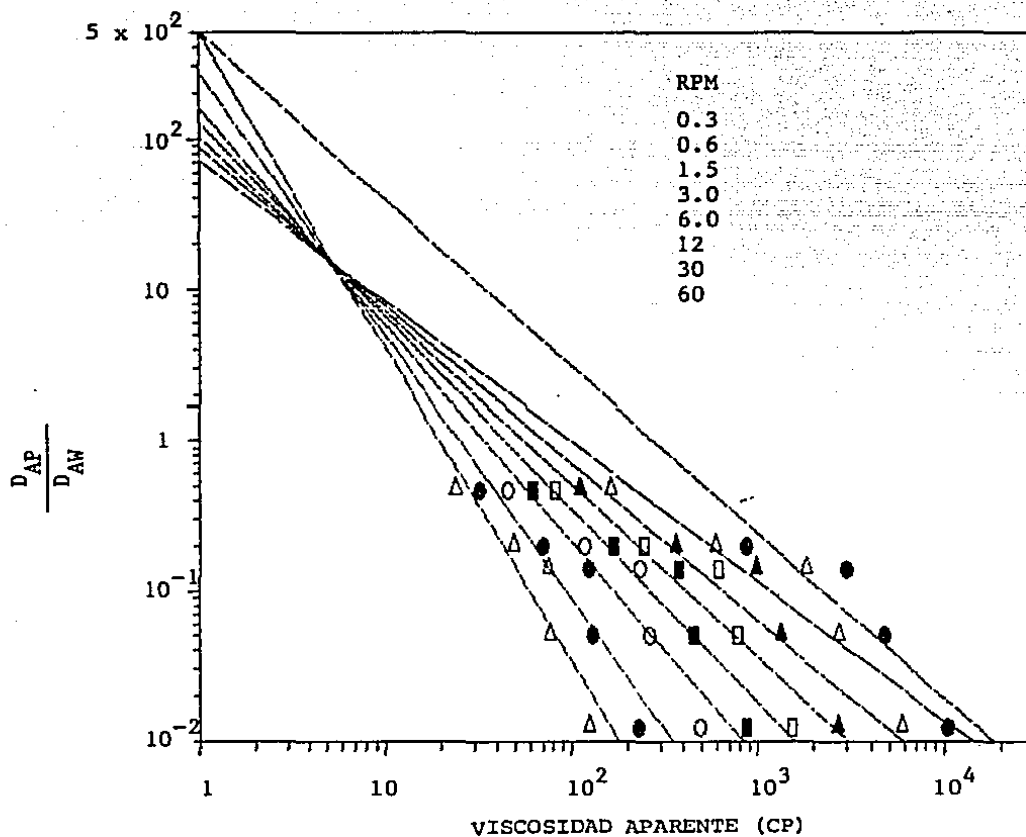


FIGURA 7.3.10 PREDICION DE LA ECUACION 5, CUANDO SE CONSIDERA LA RELACION DE DIFUSIVIDADES DE SACAROSA (D_{AP}/D_{AW}) Y LA VISCOSIDAD APARENTE DE LAS SOLUCIONES (μ_a). (PARA 15 g/l - DE SACAROSA INICIAL).

TABLA 7.3.3 CORRELACIONES Y DATOS OBTENIDOS CUANDO SE CONSIDERA LA RELACION DE DIFUSIVIDADES DE SACAROSA (D_{AP} / D_{AW}) Y LA VISCOSIDAD APARENTE ($\log \mu_a$) EN LA ECUACION 5. PARA 15 g/l DE SACAROSA INICIAL

RPM	-r	-E	LOG A
0.3	0.92	1.09	6.17
0.6	0.93	0.93	1.85
1.5	0.93	1.03	1.92
3.0	0.93	1.15	2.02
6.0	0.93	1.28	2.10
12.0	0.93	1.43	2.19
30.0	0.92	1.70	2.36
60.0	0.92	1.98	2.52

TABLA 7.3.4 CORRELACIONES Y DATOS OBTENIDOS CUANDO SE CONSIDERA LA RELACION DE DIFUSIVIDADES DE SACAROSA ($\text{LOG } D_{AP} / D_{AW}$) Y LA VISCOSIDAD APARENTE ($\text{LOG } \mu_a$) EN LA ECUACION 5 PARA 20 G/L DE SACAROSA INICIAL

RPM	-r	-E	LOG A.
0.3	0.98	1.17	7.09
0.6	0.94	0.91	1.90
1.5	0.95	0.98	1.91
3.0	0.95	1.05	1.96
6.0	0.95	1.17	1.99
12.0	0.95	1.28	2.02
30.0	0.95	1.46	2.08
60.0	0.95	1.63	2.09

viscosidad de las soluciones de xantana son mucho más altos:

Utilizando la ecuación 5 se relacionaron también los datos de difusividad de sacarosa obtenidos en este trabajo y los datos reportados de difusividad de oxígeno, con los valores de viscosidad extrapolados a cero velocidad de deformación ($\mu_{\dot{\gamma}=0}$). La figura 7.3.11 muestra que la ecuación 5 predice bastante bien los datos de ambos sistemas. Cabe observar que los datos de viscosidad extrapolados a cero velocidad de deformación, fueron similares a aquellos reportados por Jamieson et al. (1982).

7.3.2.2 Modelo de Lohse et al. (1981)

El modelo de Lohse establece que la dependencia de la difusividad a la viscosidad del sistema está fuertemente influenciada por el peso molecular del polímero.

Para la aplicación de este modelo se linealizó la ecuación 6, obteniéndose:

$$\log D_{AP} / D_{AW} = \log B \sqrt{\frac{M_0}{M_p}} \left(-\frac{\mu}{\mu_0} \right) \quad (6.a)$$

En donde se consideraron los valores de $\mu_{\dot{\gamma}=0}$ y un valor de peso molecular de la xantana (M_p) igual a 2.2×10^6 Å.

En la figura 7.3.12 puede verse que el modelo predice con bastante aproximación la tendencia que presentan los datos de difusividad de sacarosa y los datos reportados de difusividad de oxígeno.

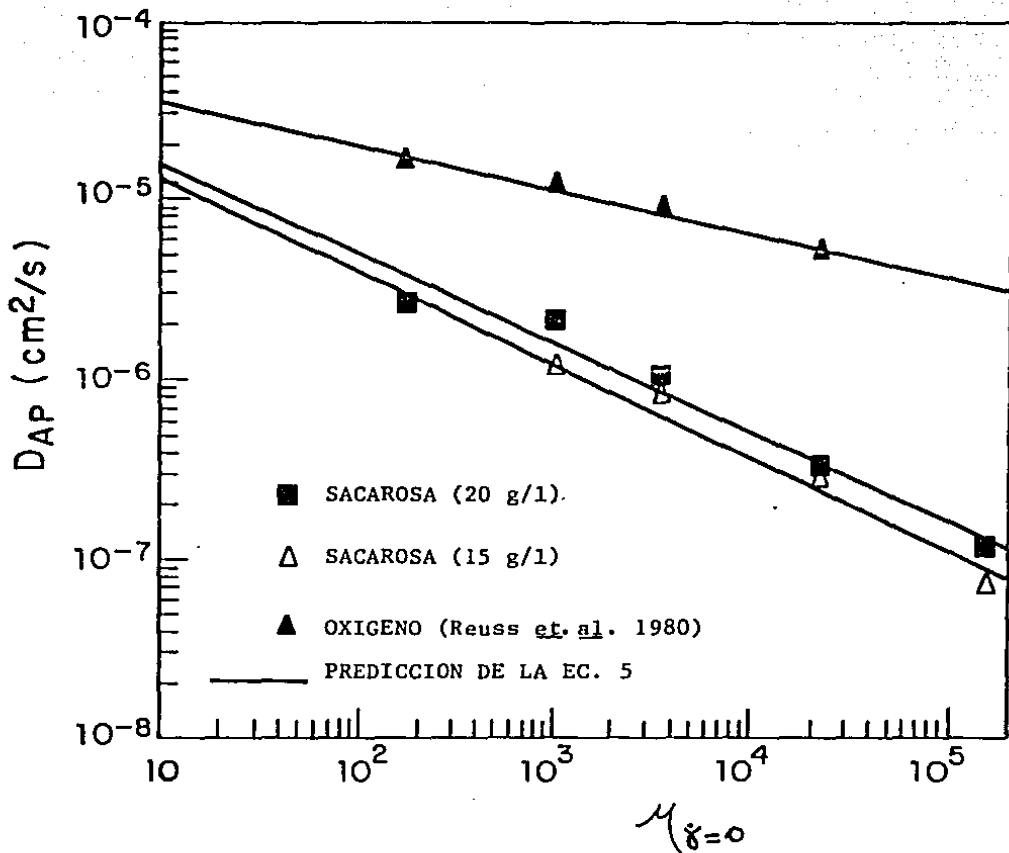


FIGURA 7.3.11 PREDICCIÓN DE LA ECUACION 5 PARA LOS DATOS EXPERIMENTALES Y REPORTADOS DE DIFUSIVIDAD, CONSIDERANDO LOS VALORES DE VISCOSIDAD EXTRAPOLADOS A CERO VELOCIDAD DE CORTE ($\mu_{\dot{\gamma}=0}$)

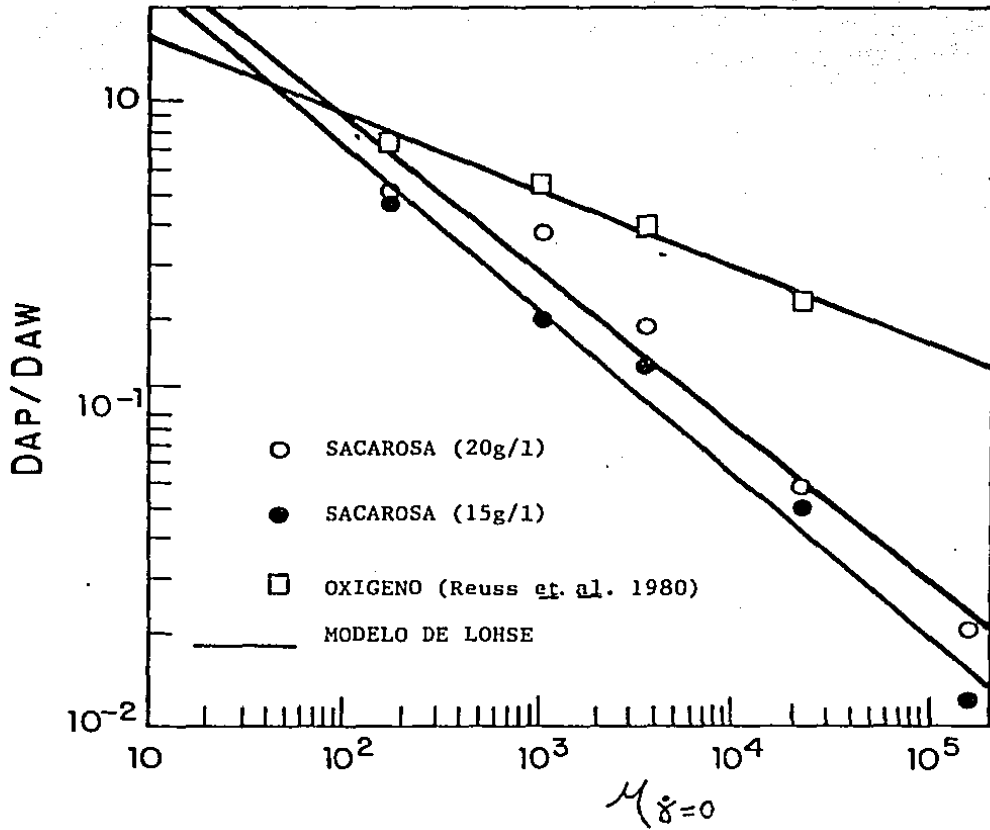


FIGURA 7.3.12 AJUSTE DEL MODELO DE LOHSE A LOS DATOS EXPERIMENTALES Y REPORTADOS DE DIFUSIVIDAD, CONSIDERANDO LOS VALORES DE VISCOSIDAD EXTRAPOLADOS A CERO VELOCIDAD DE CORTE ($\mu_{\dot{\gamma}=0}$)

8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

8.1 Conclusiones

Los resultados obtenidos demostraron que la difusividad de la sacarosa, disminuye en forma significativa, cuando la goma xantana está presente en la solución. Esta disminución es mayor conforme aumenta la concentración de xantana, en el rango probado (0.5 - 10 g/l de xantana).

La difusividad de sacarosa en una solución diluida de xantana, muestra una dependencia lineal al incremento en la concentración de sacarosa, en el rango probado (7.5 - 30 g/l de sacarosa).

El tipo de interacción que se observa en el sistema sacarosa xantana, sigue el modelo de adsorción cooperativa. Esta interacción y el número de sitios no presenta variaciones a cambios de pH y fuerza iónica en el rango probado.

Los resultados mostraron que el fenómeno de adsorción no influye en forma significativa en el mecanismo difusional de la sacarosa en xantana. Por lo que la disminución observada en la difusividad se debe principalmente al fenómeno de bloqueo presente en el sistema.

Los datos obtenidos en éste trabajo, apoyan los estudios reportados que afirman que el transporte difusional de un soluto pequeño en una solución de polímero es afectado por la presencia del polímero. Por otro lado estos resultados son congruentes con los datos de difusividad de oxígeno en xantana, reportados por Reuss et.al. (1980).

Los modelos probados para predecir la difusividad de un soluto en

soluciones poliméricas, tanto en función de las propiedades moleculares como en función de la viscosidad del sistema, de manera general predicen la tendencia observada por los datos experimentales.

La ecuación de Navari y colaboradores predijo con bastante aproximación, los resultados experimentales a concentraciones por debajo de 0.5 g/l y arriba de 4 g/l de xantana; cuando se consideró la viscosidad intrínseca en lugar de la función de incremento de viscosidad propuesta por los autores. El uso de la viscosidad intrínseca en el modelo de Navari, amplía la posibilidad de aplicación de éste modelo, a sistemas como las soluciones de goma xantana, los cuales presentan valores de viscosidad muy altos, aun a concentraciones muy bajas.

Evaluando por separado los términos de bloqueo y adsorción en la ecuación de Geankoplis, se encontró que el fenómeno de adsorción tiene un efecto insignificante en la predicción del modelo; por lo que se consideró únicamente el término de bloqueo.

La ecuación de Geankoplis representada por el término de bloqueo, fué modificada considerando valores de α y ϕ_p específicos para el sistema. La ecuación encontrada que define a la difusividad en función de $\alpha\phi_p$, predice con bastante aproximación los datos de difusividad de sacarosa y los datos reportados de difusividad de oxígeno.

La ecuación 5 fué aplicada al sistema sacarosa-xantana usando las viscosidades aparentes experimentales. Los valores de las constantes obtenidas, fueron similares a las reportadas en la literatura, para sistemas totalmente diferentes.

La ecuación 5 y el método de Lohse predicen bien, tanto los datos experimentales de difusividad de sacarosa como los datos reportados de difusividad de oxígeno, cuando se usaron los valores de viscosidad extrapolados a cero velocidad de deformación.

8.2 Recomendaciones

Para investigaciones futuras en donde se pretenda utilizar el método de la celda de diafragma, se recomienda considerar las siguientes precauciones:

El sistema de sellado de la celda debe vigilarse con mucha atención, ya que en corridas de difusión muy largas, puede ocurrir que después de cierto tiempo, la celda empiece a tener fugas, y esto afecte el experimento.

Debe evitarse la introducción de burbujas al sistema, ya que durante la corrida, éstas se colocan en la membrana y disminuyen el área disponible para la difusión, afectando la determinación experimental.

Si se va a trabajar con goma xantana u otro sistema viscoso que atrape burbujas; durante el proceso de degasificación de las soluciones se debe cuidar que el tiempo y las condiciones de vacío sean las mismas para las soluciones que van a ser colocadas en la cámara superior e inferior, ya que éste paso concentra la solución y puede provocar diferencias de concentración del polímero, lo cual introduciría una nueva variable al sistema. Debido a esto también es recomendable realizar las determinaciones reológicas de las soluciones después de la etapa de la degasificación.

Con respecto a las membranas de ultrafiltración, se recomienda su uso para estudios de adsorción. Si estas membranas quieren ser reutilizadas, se debe tener un especial cuidado en lavarlas y centrifugarlas, repetidas veces, inmediatamente después de ser usadas, ya que de lo contrario pueden taponarse parcialmente y afectar los resultados de los experimentos posteriores.

Durante los experimentos de adsorción debe considerarse, que la temperatura de la solución, sea la temperatura a la cual nos interesa obtener los resultados del estudio, ya que es posible que cambios en ésta variable, afecten el equilibrio de la solución.

9. NOMENCLATURA

- D_{AP} = Difusividad del soluto A en la solución de polímero
- D_{AW} = Difusividad del soluto A en agua
- D_{AB} = Difusividad del soluto A en el solvente sin la presencia de la macromolécula
- D_P = Difusividad de la macromolécula en el solvente
- V_S = Volumen molar de solución
- V_B = Volumen molar del solvente
- M_S = Peso molecular de la solución (polímero + solvente)
- M_B = Peso molecular del solvente
- M_P = Peso molecular del polímero
- ΔE = Diferencias de energías de activación para la difusión
- R = Constante general de los gases
- T = Temperatura absoluta
- α = Factor de forma de la macromolécula
- ϕ_p = Fracción volumen de la molécula hidratada
- K_p = Coeficiente de adsorción total
- C_p = Concentración del polímero
- C_B = Concentración del soluto unido
- C_F = Concentración de soluto libre
- V_P = Volumen específico aparente del polímero
- H_P = Factor de hidratación del polímero en agua
- d_0 = Densidad del agua
- μ_a = viscosidad aparente
- μ = Viscosidad de la solución
- μ_0 = Viscosidad del solvente

η_R = Viscosidad relativa

η_i = Viscosidad intrínseca

η_0 = Viscosidad del solvente

η = Viscosidad de la solución

cp = Centipoise

RPM = Revoluciones por minuto

10. BIBLIOGRAFIA

- Akeley, D.F. y L.J. Gosting; J. Am. Chem. Soc., 75, 5685 (1953)
- Astarita, G. y R.A. Maselkar; The Chem. Eng. 2 (1977)
- Beck, R.E. y J.S. Shultz; Biochem. and Biophys. Acta, 255, 273 (1972)
- Bird, R.B.; W.E. Steward y E.N. Lighfoot. Transport Phenomena. Ch.16, Wiley, New York, (1960).
- Brito, E.; M.Sci., Thesis, The Ohio State University (1982)
- Calderbank, P.H., Trans. Instn. Chem. Engrs., 37, 173 (1959)
- Chester, S.Ho; Lu Kwang Ju y Raymond F. Badour; Biotech. and Bioeng., 32,8 (1988)
- Charles.M.; Adv. in Biochem. Eng. 8,1 91978)
- Colton, C.K., K.A. Smith, E. Merrill y J.M. Reece, Chem. Eng. Prog. Symp. Ser., 66 (99), 85 (1970)
- Conner, G.D. y J.L. Gainer, Chem. Eng. Symp. Ser., 99, 72 (1970)
- Cuvelier, G. y Launay B. Proc. IX Intl. Congress on Rheology, México, 1984
- Davies, G.A., A.B. Ponter y K. Craine; Can. J. Chem. Eng. 45, 372 (1967)
- DonJuan, M.J.; Tesis Universidad Autónoma de San Luis Potosi, San Luis Potosi, 1985

- Edward, J.T., J. Chem. Ed., 47, 261 (1970)
- Geankoplis, C.J., M.R. Okos y E. Grulke; J.Chem. Eng. Data, 23, 40 (1978)
- Geankoplis, C.J., E. Grulke y M.R. Okos, Ind. Eng. Chem. Fundamentals, 18, 233 (1979)
- Goldstick, T.K., Ph.D. Dissertation, Univ. California Berkeley (1966)
- Goldstick, T.K. y J. Fatt, Chem. E.g. Prog. Symp. Ser., 66 (99), 101 (1970)
- Gordon, A.R., Ann. N.Y. Acad. Sci., 46, 235 (1945)
- Gosting, L.J. y M.S. Morris; J.Am. Chem. Soc. 71, 1998 (1949)
- Gosting, L.J., Advances in Protein Chemistry, Vol. II, Anson, Edsall, Bailey Eds., Academic Press N.Y. (1956)
- Hayduk, W.; R. Castañeda, H. Bromfield y R.R. Parras; AIChE, J., 19, 859 (1973)
- Hikita, H. y S. Asai, Cand. J. Chem. Eng., 56, 371 (1978)
- Hiss, G.T. y E.L. Cussler, AIChE J. 19 698 (1973)
- Holzworth G.: Carbohydrate Res., 66, 173 (1978)
- Irami, R. R. y A. W. Adamson ; J. Physic Chem. 64, 199 (1960)
- Jalan, V.M., M.K. Tham. y K.E. Gubbins, Can. J. Ch. E. 50, (1972)

- Jamieson, A.M., J.G. Southwick y J. Blackwell; J. of Pol. Sci. 20, 1513 (1982)
- Jeans, A. ; J. Polymer Sci.; Polym. Symp. 45, 209 (1974)
- Jeans, A., P. Rogovin, M.C. Cadmus, R.W. Silman y C.A. Knutson; Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture (1976)
- Li, S.N. y J.L. Gainer; Ind. Eng. Chem. Fundamentals 7, 433 (1978)
- Lim, T., Jonathan T. UHL y Robert K. Prud'Homme, J. of Rheology, 28 (4) 367 (1984)
- Lohsè, M., E. Alper, G. Quicker y W.D. Deckwer, A.I.Ch.E. J. 27, 626 (1981)
- Margaritis A. y G.W. Pace. Comprehensive Biotechnology, Moo-Young (Ed.) Vol. III Pergamon Press (1985)
- Mc Neely, W.H. y K.S. King : Industrial Gums; R.L. Whistler y J.N. BeMiller (Eds.) Academic, N.Y. (1973)
- Mills, R. y L.A. Woolf, The Diaphragm Cell, The Australian University Press (1968)
- Moraine, R.A. y P. Rogovin, Biotech. and Bioeng. XV, 225 (1973)
- Navari, R.M., Ph.D. Dissertation, Univ. Virginia, Charlottesville (1970)
- Navari, R.M., J.L. Gainer y K.R. Hall, A.I.Ch.E. J., 17, 1028 (1971)

Norton, J.T. y D.M. Goodall, J. Mol. Biol., 175, 371 (1984)

Okos, M.R., MSci. Thesis, The Ohio State University (1972)

Osmers, H.R., Ph.D. Dissertation, The Ohio State University (1972)

Reid, R.C. y T.K. Sherwood, Mc. Graw Hill, New York (1958)

Reuss, M., D. Debus y H. Nubilchutz, Colloque Soc. Fr. Microbiol.,
Tolouse, 1980

Rinaudo, M. y M. Milas, Biopolymers, 17, 2663 (1978)

Secor, R.M.; AICHE J., 11, 452 (1965)

Schumpe, A. y W.D. Deckwer Oldenburg. Bioprocess Engineering, 2, 79
(1987)

Solomon, J.; T.P. Elson ; A.W. Nienow y G.W. Pace; Chem. Eng.
Commun. 11, 143 (1981)

Southwick, J.G., M.E. McDonell, A.M. Jamieson y J. Blackwell.
American Chemical Society, 1979

Sovova, H. Coll. Czechoslov. Chem. Commun., 41, 3715 (1976)

Stokes, R.H., J. Am. Chem. Society, 72, 763, 2243 (1950)

Stroeve, P., Ind. Eng. Chem. Fundamentals, 14, 140 (1975)

Summer, J.B. y S.F. Howell, J. Biol. Chem., 108, 51 (1935)

Torrestiana, B. Tesis Profesional; Instituto Tecnológico de Tuxtla
Gutiérrez. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 1984.

Thomas, W.J. y M.J. Adams; Faraday Soc., 60, 668 (1984)

Wang, J.H., Journal Amer. Chem. Society, 76, 4755 (1954)

Whitcomb, P.J., B.J. EK y C.W. Macosko en: Sandford, P.A. y Laskin A. (Eds.) Extracellular Microbial Polysaccharides. A.C.S. Washington, D.C. 1977

Whitcomb, P.J. Journal of Rheology; 22(5), 493 (1978)

ANEXO A:

```

1157
5 HOME
6 DIM X(15)
10 PRINT "*****"
11 PRINT "*"
12 PRINT "*"
13 PRINT " *REOLOGIA DE FLUIDOS: LEY DE LA POTENCIA*"
14 PRINT "*"
15 PRINT "*****"
16 PRINT "***** EDUARDO TEJEO *****"
17 PRINT
18 PRINT
20 PRINT "ESTE PROGRAMA CALCULA LOS INDICES REOLOGICOS N Y K DE LA LEY DE LA PO
TENCIA UTILIZANDO LECTURAS DEL VISCOSIMETRO BROOKFIELD (V) Y VELOCIDADES ANGULARES
EE RPM (X)."
70 REM
75 PRINT

80 REM
81 PRINT
82 PRINT
83 PRINT "CON SU CONCIENCIA TRANQUILA, OPRIMA CUALQUIERA TECLA PARA CONTINUAR"
84 GET A$
85 HOME
100 REM
101 DIM L(15),V(15)
102 REM
110 REM
120 REM "EL NUMERO DE DATOS DEBE SER"
125 REM " MAYOR DE 2"
130 REM
140 REM
150 REM
160 REM "ALIMENTA LOS DATOS X,Y"
165 REM
170 PRINT "EL NIVEL DE CONFIANZA ALFA:"
175 REM
180 INPUT FA
185 REM
190 PRINT "EL VALOR T-ALFA/2:"
195 REM
200 INPUT TAL
205 REM
210 PRINT "LONGITUD EFECTIVA DEL EOB:"
215 REM
220 INPUT EL
225 REM
230 PRINT "EL RADIO DEL EOB:"
240 INPUT EF
245 REM
250 PRINT "CONSTANTE K DEL INSTRUMENTO:"
255 REM
260 INPUT IK
265 PRINT "NUMERO DE DATOS X,Y CONOCIDOS:"
268 INPUT N
282 IF N = 2 OR N < 2 THEN 995
286 REM
289 J3 = 0:J4 = 0:K3 = 0:K4 = 0:L2 = 0
290 REM
295 REM "LOOP PARA ALIMENTAR DATOS"
300 REM
310 FOR T = 1 TO N
320 PRINT "X,Y DEL PUNTO:"
330 INPUT X,Y
340 REM

```

```

345 REM ** IMPRESION DE RESULTADOS **
350 REM
360 J1 = LOG (X) / 2.50288509
370 J2 = J1 * 2
380 J3 = J1 + J2
390 J4 = J2 + J3
400 Y (1) = J1
410 X (1) = Y
420 V (1) = X
430 M1 = LOG (Y) / 7.30288509
440 M2 = M1 * 2
450 M3 = M1 + M2
460 M4 = M2 + M3
470 L1 = J1 + M1
480 L2 = L1 + L2
490 NEXT I
500 J5 = 0
510 FOR T = 1 TO N
520 J5 = X (T) + J5
530 NEXT T
540 J6 = J5 / N
550 J7 = 0
560 FOR T = 1 TO N
570 J7 = ((X (T) - J6) ^ 2) + J7
580 NEXT T
590 S1 = N * J4 - J3 ^ 2
600 S2 = N * M4 - M3 ^ 2
610 S3 = N * L2 - J3 * M3
620 S4 = (S1 * S2 - S3 ^ 2) / (N * S2 * (N - 2))
630 IW = S3 / N
640 OME = J3 / N
650 REM
660 REM ** CALCULA EL INDICE DE FLUJO **
670 F1 = S2 / S1
680 REM
690 REM
700 REM
710 REM **CALCULA EL INDICE DE CONSISTENCIA K**
720 IK = (15 * F1 / 3.1416) * F1 + 10 * (IW - F1 * OME)
730 CTE = 200 * 3.1416 * ER ^ 2 * BL / IK
740 CVI = IK / CTE
750 REM
760 REM
770 REM ** IMPRINE RESULTADOS **
780 REM
790 PRINT
800 PRINT "*** PARAMETROS LEY DE LA POTENCIA ***"
810 PRINT
820 PRINT "EL INDICE DE FLUJO II ="; F1
830 REM
840 REM
850 PRINT
860 PRINT "EL INDICE DE CONSISTENCIA K ="; IK
870 REM
880 PRINT
890 REM
900 PRINT "ESTOS RESULTADOS FUERON CALCULADOS PARA LOS SIGUIENTES VALORES DE L,
R Y K"
910 PRINT
920 PRINT "L="; BL: PRINT "R="; BR: PRINT "K="; BK
930 REM

```

```

716 PRINT
717 PRINT "TODOS ELLOS CARACTERISTICOS DE UNA "ESPINDLE" O "AGUJA"
718 PRINT
719 PRINT "¡¡¡HOLA!! DESFIEBRE !! NO SE DUELA ... ¡¡¡ OFRECE CUALQUIER TECNICA PARA
CONTINUAR, SALUDOS Y BUENA SUERTE !!!"
721 GET A$
722 HOME
723 PRINT "==== ANALISIS DE REGRESION: ===="
724 REM **CALCULA EL ANALISIS DE REGRESION
725 F1 = F3 + (L2 + J5 + I3 / H)
726 M = I2 + I3 + J2 / H
727 R2 = M - F1
728 R1 = R1 / M
729 PRINT
730 PRINT "EL COEFICIENTE DE DETERMINACION (R2)*100
731 PRINT "EL COEFICIENTE DE CORRELACION (R1)*100
732 PRINT "EL ERROR STD. DEL ESTIMADOR (R3 / (H - 2))
733 PRINT
734 REM
741 PRINT
745 REM **CALCULA INTERVALOS DE CONFIANZA**
746 REM ** PARA N **
747 A1 = SQR ((R3 / (H - 2)) / J2)
748 A2 = TAL + A1
749 REM ** PARA K**
750 A3 = (R3 / (H - 2)) * (1 + J6 + 2) / J2)
751 A4 = TAL * SQR (A3)
800 PRINT
810 PRINT "EL INTERVALO DE CONFIANZA PARA N" A2
820 PRINT
830 PRINT "EL INTERVALO DE CONFIANZA PARA K" A4
831 PRINT
832 PRINT
841 PRINT
842 PRINT "DESEAS CALCULAR EL REGRAMA PARA ESTOS DATOS ?(1=SI/0=NO)"
850 INPUT Z2
851 IF Z2 = 0 THEN 890
852 PRINT "***** REGRAMA *****"
853 PRINT
854 PRINT "L=ESFUERZO (DIII/CH*Z);V=VEL.DEFORMACION (SEG*-1);VI=VISCOSIDAD (CF)"
855 FOR T = 1 TO N
856 L(T) = L(I) * IF / (62E.5185 + PL + BF + IR)
857 V(T) = V(I) * 0.2064 / FI
858 VI = C(I) * (V(T) * (F) - 1)) * 100
861 PRINT
862 PRINT
863 PRINT "L=";L(T); TAB( 16);"V=";V(T); TAB( 25);"VI=";VI
870 NEXT T
880 PRINT
881 PRINT "DESEAS EFECTUAR MAS CALCULOS?(1=SI/0=NO)"
882 INPUT Z2
883 IF Z2 = 0 THEN 999
884 PRINT "DESEAS USAR LOS MISMOS VALORES DE L,R,K, ASI COMO LOS NIVELES DE CON
FIANZA ?"
885 PRINT "(1=SI/0=NO)"
886 INPUT Z2
887 IF Z2 = 0 THEN 170
888 IF Z2 = 1 THEN 280
970 PRINT "DESEAS USAR LOS MISMOS VALORES DE L, R, K, ASI COMO LOS NIVELES DE C
ONFIANZA"
980 PRINT "(1=SI/0=NO)"
990 INPUT Z2
991 IF Z2 = 0 THEN 999
992 IF Z2 = 1 THEN 280

```



A REPRINT FROM THE MARCH 1988 ISSUE OF

BIO TECHNOLOGY PROGRESS

COOPERATIVE BINDING OF SUCROSE IN XANTHAN GUM SOLUTIONS

Beatriz Torrestiana
and
Enrique Galindo

Centro de Investigaciones sobre
Ingeniería Genética y Biotecnología
Universidad Nacional Autónoma de México.
A.P. 510-3, Cuernavaca, Mor. 62270, México

Edmundo Brito

Departamento de Alimentos, Facultad de Química/
Universidad Nacional Autónoma de México.
Cd. Universitaria, México, D.F., 04510

Cooperative Binding of Sucrose in Xanthan Gum Solutions

Beatriz Torrestiana and Enrique Galindo

Centro de Investigaciones sobre Ingeniería Genética y Biotecnología Universidad Nacional Autónoma de México. A.P. 510-3, Cuernavaca, Mor. 62270, México

Edmundo Brito

Departamento de Alimentos, Facultad de Química/Universidad Nacional Autónoma de México. Cd. Universitaria, México, D.F., 04510

In the xanthan gum fermentation mass transfer mechanisms are complex due to the high viscosity of the broth. Diffusional mass transfer becomes very important in transport of solutes such as oxygen and sucrose in the polysaccharide solution. Nevertheless, this process can be affected by interactions between macromolecule and solute. The present study was designed to determine if xanthan gum interacts with sucrose. The data show that xanthan gum in solution possesses two interaction sites for sucrose. These interactions are adequately described by a cooperative binding model. Changes in ionic strength and pH did not affect either the number of sites or type of interaction.

Introduction

Microbially-produced biopolymers are rapidly emerging as important sources of new polymeric materials having novel and unique properties. Xanthan gum, an extracellular polysaccharide produced by bacteria of the genus *Xanthomonas*, is now being used in several industries and seems to have particular potential in tertiary oil recovery.

The rheological properties of the broth change markedly during *Xanthomonas* fermentations; at the start the cultures behave as a low viscosity Newtonian fluid but frequently end up as a highly viscous, non-Newtonian fluid. Xanthan gum solutions are pseudoplastic and even dilute solutions possess high apparent viscosities which are scarcely affected by changes in temperature, pH and electrolyte concentration [1, 2]. Dilute-solution hydrodynamic data for xanthan biopolymer in water suggest a rod like molecule of dimensions $15,000 \times 20 \text{ \AA}$, and molecular weight about $2.2 \times 10^6 \text{ g/mol}$ [3].

The high molecular weight of the polymer and the non-Newtonian behavior of the broth make the fermentation process very complicated in terms of mass transfer. Diffusional mass transfer must play an important role, especially in the high viscosity part of the fermentation. Diffusion of small molecules like sucrose and oxygen in a non-Newtonian polysaccharide solution takes place during the fermentation and it is necessary to understand this behavior in order to design efficient equipment and to improve the xanthan gum fermentation yield.

Diffusion of small solutes in macromolecular solutions, and the interaction between these molecules, play a significant role in a variety of biological phenomena besides the fermentation of xanthan gum. For example, the oxygen carrier role of hemoglobin and myoglobin, the extracorporeal ultrafiltration of blood associated with artificial kidneys, the binding

Correspondence concerning this paper should be addressed to Enrique Galindo

of drugs by plasma protein, and the formation of metallo-proteins [4]. Many equations such as the Wilke-Chang and other semiempirical ones are available to predict diffusion coefficients in aqueous solutions [5]. When the presence of other nonreacting dilute solutes has little effect on the diffusivity of the solute, then Fick's law can be used to predict the diffusion flux [6]. However, the diffusion of small molecules in macromolecular solutions is often complicated by interactions between the macromolecules and low molecular weight solutes; in such cases the use of ordinary Fickian type equations can be subject to errors.

Diffusion of a small molecule in a polymer solution may be suppressed for two reasons: firstly the obstruction or physical blockage by the polymer of the small molecule diffusion path and secondly the immobilization of the small molecule by specific interaction with the polymer [7, 8]. The presence of the macromolecule in solution reduces the effective area for the diffusing solute which must surround the macromolecule. On the other hand, when the solute interacts with the polymer, less solute is free to diffuse and the rate of diffusion can be substantially less than is the case with non-interacting solutes.

In the present work equilibrium binding measurements using the ultrafiltration-ultracentrifugation technique were made for the sucrose-xanthan system in order to understand the mass transfer behavior occurring in the xanthan gum fermentation process. The experimental data were compared with two theories for binding: binding without interactions between sites and cooperative binding. The Hill plots are presented and the number of binding sites on the xanthan molecule calculated.

Literature review and theory

A macromolecule, being large and complex, may have a

TABLE 1. SUCROSE/XANTHAN GUM RATIOS USED IN BINDING EXPERIMENTS.

Sucrose (g/L)	Xanthan gum (g/L)	g of sucrose	
		g of xanthan	
22	1.0	22.0	
20	1.5	13.33	
18	2.0	9.0	
15	2.5	6.0	
10	5.0	2.0	
5	10.0	0.5	
1	15.0	0.06	

number of sites for interaction with small molecules, and such interactions may involve reversible binding of small ligands to the macromolecule. When macromolecules combine reversibly with smaller molecules or ions the usual laws of equilibrium govern the reaction.

In a study of the combination of a macromolecule (P) with a smaller molecule or ion (A), it is usually possible to determine only the average number of molecules (A) associated with each macromolecule (P). This number is generally designated as \bar{V} and is measured as:

$$\bar{V} = \frac{\text{moles combined of } A}{\text{total moles of } P} = \frac{(A) \text{ Bound}}{(P) \text{ Total}} \quad (1)$$

The simplest mode of binding is an association of monomeric ligand with a discrete binding site on the polymer without interactions between sites. In other words, the n combining sites are identical and have no effect upon one another, and the n conventional equilibrium constants can all be related to a single equilibrium constant K . Then, in this case, equation 1 becomes:

$$\bar{V} = \frac{n K (A)}{1 + K (A)} \quad (2)$$

When the binding of a ligand on one site of a macromolecule activates other sites causing them to fill up, the binding is called cooperative or binding with interaction between sites. In this case, equation 1 is transformed to:

$$\bar{V} = \frac{n K (A)^n}{1 + K (A)^n} \quad (3)$$

The representation of equation 3 in logarithmical form is called the Hill plot. This equation is:

$$\frac{\bar{V}}{n - \bar{V}} = K (A)^n \quad (4)$$

More detailed reviews of binding of small molecules to macromolecules have been reported in the literature [4, 7, 9, 10, 11, 12].

Equilibrium measurements of binding can be made using various methods including equilibrium dialysis, ultrafiltration-ultracentrifugation, gel filtration, etc., [4]. The ultrafiltration-ultracentrifugation technique has been proved to be a reliable technique for measurements of equilibrium binding [13, 14, 15].

Few experimental data on the binding of sugars to polymers have been reported. Uemura *et al* [16] reported the binding of cyclodextrins to several polymers. Giles and McKay [17] reported no binding interaction between sucrose and casein in aqueous solutions. The latter worker tested several proteins and carbohydrates including sucrose; all the pentoses tested bond with each of the proteins tested. Frankel and Katchalsky [18] studied the interaction of aminoacids and peptides with sugars in aqueous solutions; glucose was found to interact with the aminoacids but sucrose did not. Brito [19] studied the binding of sucrose to bovine serum albumin using the ultrafiltration technique; sucrose showed no binding to albumin but glucose did and the experimental data were analyzed using the Langmuir and Freundlich adsorption models. No reports of the binding of sucrose to xanthan gum have been found in the literature.

TABLE 2. EXPERIMENTAL DATA OBTAINED OF SUCROSE-XANTHAN GUM SYSTEM IN DEIONIZED WATER WITH $pH = 6.80 \pm 0.3$

C_T total sucrose (g/100 mL)	A unbound sucrose (g/100 mL)	C_b bound sucrose (g/100 mL)	C_p xanthan (g/100 mL)	\bar{V} (C_b/C_T) bound sucrose xanthan
2.37	2.24	0.13	0.10	1.30
2.15	1.97	0.18	0.15	1.20
1.80	1.67	0.13	0.20	0.65
1.48	1.35	0.13	0.25	0.52
1.02	0.83	0.19	0.50	0.38
0.51	0.47	0.04	1.00	0.04
0.10	0.09	0.01	1.50	0.0066

Figure 1. Plot of \bar{V} against A . Solid line, theoretical data adjusted to equation 2, (\square) Experimental data.

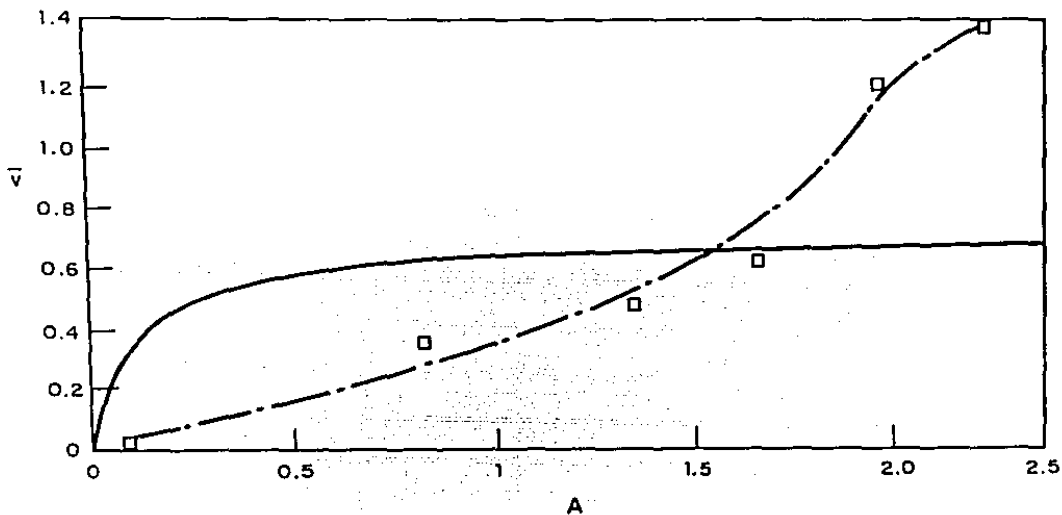


Figure 2. Fitting of experimental data to linearized form of equation 3, to solutions in deionized water with $\text{pH} = 6 \pm 0.3$, correlation coefficient = 0.97; slope = 1.70.

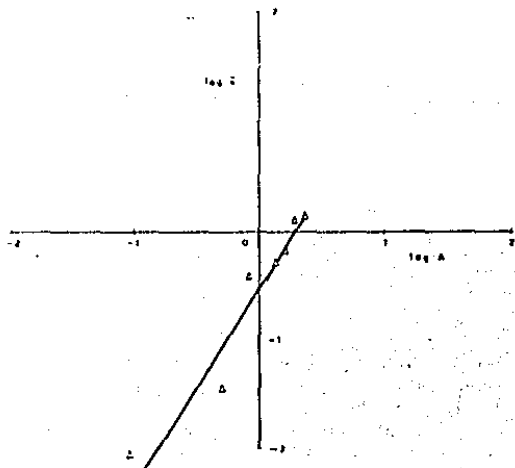


Figure 3. The Hill plot to solutions in deionized water with $n = 2$.

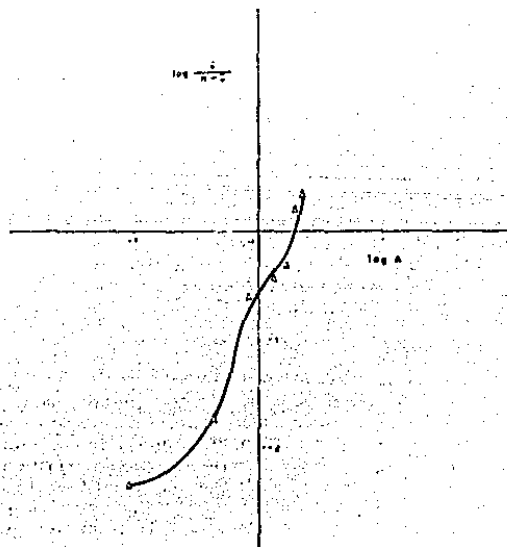


Figure 4. Fitting of experimental data to linearized form of equation 3; to different conditions of ionic strength; (Δ) deionized water; (\circ) dialyzed solutions; (\square) with 1% w/v KCl.

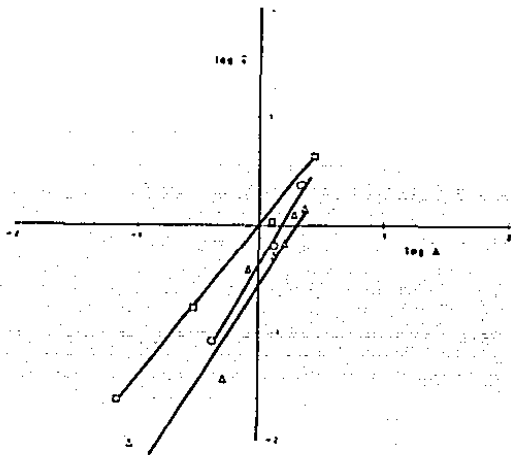
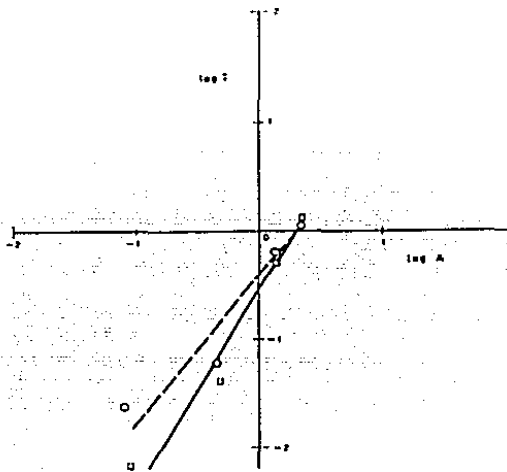


Figure 5. Fitting of experimental data to linearized form of equation (3); to different conditions of pH: (\circ) pH = 7; (\square) pH = 6.0 \pm 0.3.



Materials and methods

Reagents and its preparation

Food grade xanthan gum ("Keltrol", Kelco), reagent grade sucrose (Merck) KCl, and NaOH (J. T. Baker) were used in the experiments.

Cellulose membranes (Spectrapor; Fisher Scientific Co.) with cut-off 12,000-14,000 MW were used for dialysis. Prior to use they were boiled for 10 min. in a 2% (w/v) sodium bicarbonate solution containing 1 mol/L EDTA, then vigorously rinsed well with distilled water and finally boiled for 10 minutes in distilled water. Ultrafiltration membrane cones (Centriflo type CF-25, Amicon; mol. wt. cut-off 25,000-50,000 daltons) were used. These were previously soaked in deionized water for at least one hour and then centrifuged (2000 g 2 min.) to eliminate excess water.

Lyophilized Beta-fructosidase (Boehringer A. G.) was used for sucrose measurements. The enzyme was dissolved in citrate buffer (0.32 mol/L, pH 4.6) to a concentration of 5 mg/mL, stored at 4°C and used within a week.

Dinitrosalicylic reactive (DNS, J. T. Baker) was prepared according to Summer and Howell [20].

Binding studies

Binding studies were carried out by the ultrafiltration-centrifugation technique, using Centriflo membrane cones to separate free from bound sucrose from the sucrose xanthan gum solution. Sucrose/xanthan gum ratios (Table 1) were selected according to those occurring during a normal fermentation [21]. Preliminary experiments showed that the membrane completely retained xanthan while sucrose passed freely through the filter membranes. Solutions were held at

4°C for at least 24 hours to assure homogenization and equilibration (this temperature was selected to prevent any contamination). 5 mL of each solution was pipetted into at least 2 cones and then centrifuged at 2000 rpm, for sufficient time to obtain approximately 1.5 mL of filtrate. At this centrifugation speed solution equilibrium was not affected for periods from 5-15 min.

The binding ratio \bar{V} (g. bound sucrose/g. xanthan present in the solution) was estimated according to the equation:

$$\bar{V} = \frac{C_T - A}{C_P} \quad (5)$$

Where C_T = concentration of total bindable solute in the original solution (g/mL)

A = concentration of free solute in the filtrate (g/mL)

C_P = concentration of total polymer (g/mL)

Sucrose estimation

Sucrose was estimated inverting the sugar with Beta-fructosidase and then detecting monosaccharides as described by Summer and Howell [20]. Although xanthan gum does not interfere with this analysis, blank tests with xanthan only were performed for each analysis. Every analysis was repeated twice or more.

pH and ionic strength

Xanthan solutions prepared in deionized water normally had pH values of 6.0 \pm 0.3, but when required, the pH was adjusted to 7 with NaOH solutions.

Low ionic strength solutions were obtained by dialyzing xanthan gum solutions against deionized water, and the high

ionic strength solutions by addition of 1% (w/v) potassium chloride.

Results and discussion

Data for the binding of sucrose and xanthan gum in low ionic strength solutions are given in Table 2; binding ratios (\bar{V}) were calculated using equation (5). The values of \bar{V} and free-ligand concentration (A) were used to test the binding model without interactions between sites, [(equation (2))]. The model was tested in different ways as suggested by Scatchard *et al.* (22), and it was found, (Figure 1), that the experimental data do not follow the typical plots for noncooperative binding since all the linearized forms of equation (2), when tested with the experimental results, did not give a positive value for n . This fact is not in accordance with the theory (22) where n always has to be positive for non-cooperative binding.

The cooperative binding model was also tested using experimental data. In order to obtain the number of interaction sites in equation (3), it was necessary to linearize the model, which gave the following expression:

$$\log \bar{V} = \log (n - \bar{V}) + \log K + n \log (A) \quad (6)$$

where n , the number of sites, is the slope obtained in the graph of $\log \bar{V}$ vs. $\log A$. Figure 2 shows that experimental results give a straight line (correlation coefficient = 0.97) with slope of 1.70 suggesting that the cooperative binding model can be used to describe the binding phenomena of the sucrose-xanthan system. In this case, the value of n is positive and within the range of other n values reported in the literature [11, 12, 18].

If n is approximated to 2 and this value is used to plot $\log \bar{V}/(n - \bar{V})$ vs. $\log A$, then the Hill graph for sucrose-xanthan gum system is obtained (Figure 3), which resembles the typical curve of cooperative binding Hill plot. This type of binding has been reported for other systems, such as oxygen-hemoglobin [11], where $n = 3$ and cyclodextrins with some polymers [16] where n varies from 4 to 29. Halfman and Nishida [12] found for the dodecyl sulfate-bovine serum albumin system that values of n ranged from 3.8 ± 0.3 to 4.0 ± 0.4 . No binding data for the sucrose-xanthan gum system studied here have been reported previously.

The effects of ionic strength and pH on the binding phenomenon are shown in Figure 4 and Figure 5. No significant differences were observed at the three ionic strength levels tested (solutions prepared with deionized water, dialyzed and with 1% w/v KCl). The same was found for the pH values tested (7.0 and 6.0 ± 0.3). Similar phenomena have been described for systems involving small molecules and proteins [12], in which instance only the association constant K , was affected with changes in ionic strength and pH. The n values remained constant for the above system as was the case with the sucrose-xanthan gum system studied here.

It has been recognized [11] that the analysis of cooperative binding is difficult. A profound knowledge of the physicochemical characteristics of the components of the solution is needed, before further conclusions can be drawn. Nevertheless, the results obtained in this work could form the basis for a diffusional study of the sucrose-xanthan system, as an effort to understand the complexity of the mass transfer phenomena occurring during the fermentation of the biopolysaccharide.

The observed binding phenomenon can have implications

for mass transfer mechanisms during *Xanthomonas* fermentations; since the interactions between sucrose and xanthan must affect sucrose diffusivity which very probably would decrease availability of sucrose to the microorganism during fermentation development.

Literature Cited

1. Cottrell, I. W., K. S. Kang, and P. Kovacs. In: *Handbook of Water-Soluble Gums and Resins*, R. L. Davidson, Ed., McGraw Hill, New York (1980).
2. Galindo, E., In: *Prospectiva de Biotecnología en México*, R. Quintero, Ed., Fundación Barros Sierra-CONACYT, Mexico, D. F. (1985).
3. Jamieson, A. M., J. E. Southwick and J. Blackwell, *J. Polym. Sci.*, **20**, p. 1513 (1982).
4. Weber, G., In: *Molecular Biophysics*, B. Pulman and M. Weissbluth, Eds., Academic Press, N. Y. (1965).
5. Wilke, C. R. and P. Chang, *AIChE J.*, **1**, p. 264 (1955).
6. Gennakoplis, C. J., M. R. Okos, and E. Grulke, *J. Chem. Eng. Data*, **23**, p. 40 (1978).
7. Tandford, C., *Physical Chemistry of Macromolecules*, John Wiley, New York, N.Y. (1965).
8. Edsall, J. T. and J. Wyman, *Biophysical Chemistry*, Academic Press, New York, N.Y. (1958).
9. Steinhard, J. B., and J. A. Reynolds, *Multiple Equilibria in Proteins*, Academic Press (1969).
10. Fletcher, J. E., A. Spector and J. Ashbrook, *Biochemistry*, **9**, **23**, p. 4580 (1970).
11. Van Holde, K. E. *Physical Biochemistry*, Prentice Hall, New Jersey (1971).
12. Halfman, C. and T. Nishida, *Biochemistry*, **11**, **18**, p. 3493 (1972).
13. Faresse, G., M. Mayer, and W. F. Blatt, *Clin. Chem.*, **16**, p. 226 (1970).
14. Chakrabarti, S. K., R. Laliberte and J. Bruedeur, *Pharmacol.*, **25**, p. 2515 (1976).
15. Makino, S., (1979), *Adv. Biophys.*, **12**, p. 131 (1979).
16. Uemara, T., T. Moro, J. Kamiyama and T. Iijima, *Macromolecules*, **12**, **4**, p. 737 (1979).
17. Giles, C. H. and R. B. Mckay, *J. Biol. Chem.*, **237**, p. 3388 (1962).
18. Frankel, N. and A. Katchalsky, *Biochem. J.*, **31**, p. 1595 (1937).
19. Brito, E., *Diffusion of Sucrose and Glucose in Protein Solutions with Blockage and Binding Effects*, M.S. Thesis, The Ohio State University, Columbus, Ohio (1982).
20. Sumner, J. B. and S. F. Howell, *J. Biol. Chem.*, **108**, p. 51 (1935).
21. Torrestiana, B., *Aspectos del proceso de elaboración de goma xantana, un enfoque integral*. BSc Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. (1984).
22. Scatchard, G., I. H. Scheinberg and S. H. Armstrong, *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, p. 535 (1950).

Beatriz Torrestiana, Biochemical engineer, is assistant researcher in the Bioengineering Department of the Research Center for Genetic Engineering and Biotechnology of the National University of Mexico (UNAM). She has participated in the research described in this paper in partial fulfillment of her master degree in Biotechnology at the National University of Mexico.

Enrique Galindo received a B.S. degree in chemical engineer from the University of Puebla, Mexico. He also received an M.Sc. in biomedical research and Ph.D. in biotechnology from the National University of Mexico (UNAM). He is the Head of the Bioengineering Department of the Research Center for Genetic Engineering and Biotechnology of the UNAM. He is also a research fellow of the Minister of Education. His primary research interests are on microbial polysaccharide fermentations mainly on mixing and mass transfer aspects.

Edmundo Brito is Head of the Food Sciences Department, Chemistry Faculty, UNAM. His research has focused on diffusional studies on polymer-protein solutions and heat transfer in non-Newtonian fluid foods.
