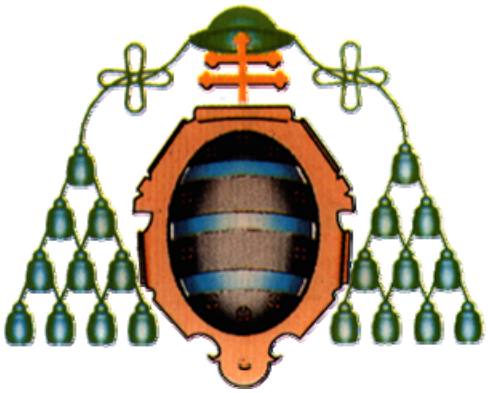


UNIVERSIDAD DE OVIEDO
PROGRAMA DE DOCTORADO EN INGENIERÍA
DE PROCESOS Y AMBIENTAL

PRODUCCIÓN DE LECHE DE LARGA DURACIÓN (ESL) MEDIANTE MEMBRANAS CERÁMICAS DE MICROFILTRACIÓN

Leticia Fernández García

Noviembre, 2012

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....I

RESUMEN.....II

ABSTRACT.....III

LISTA DE FIGURAS.....IV

LISTA DE TABLAS.....V

LISTA DE SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS.....VI

1. INTRODUCCIÓN.....

1.1. OBJETIVOS.....

2. PRINCIPIOS BÁSICOS.....

2.1. LA LECHE.....

2.1.1. Aspectos generales.....

2.1.2. Bacteriología de la leche.....

2.1.3. Tratamientos térmicos.....

2.1.4. Problemática de los tratamientos térmicos.....

2.2. LECHE ESL.....

2.2.1. Tecnologías de tratamiento ESL.....

2.2.2. Legislación.....

2.3. PROCESOS CON MEMBRANAS.....

2.3.1. Introducción y conceptos básicos.....

2.3.2. Aplicaciones de las membranas a la industria láctea.....

3. REDUCCIÓN DEL CONTENIDO BACTERIANO DE LA LECHE MEDIANTE MICROFILTRACIÓN.....

3.1. ANTECEDENTES.....

3.2. PROBLEMÁTICA DEL ENSUCIAMIENTO.....

3.2.1. Bactocatch.....

3.3. MEMBRANAS DE TERCERA GENERACIÓN.....

3.3.1. Gradiente de porosidad del soporte.....

3.3.2. Gradiente de espesor de la capa filtrante.....

3.4. SITUACIÓN ACTUAL.....

4. CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS PARAMÉTRICO DE LAS MEMBRANAS DE ÚLTIMA GENERACIÓN.....

4.1. ESTUDIO DEL EFECTO DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN.....

4.1.1. Introducción.....

4.1.2. Materiales y métodos.....

4.1.2.a. Alimentación.....

4.1.2.b. Membranas.....

4.1.2.c. Dispositivo experimental.....

4.1.2.d. Procedimiento experimental.....

4.1.2.e. Métodos de análisis.....

4.1.3. Resultados y discusión.....

4.1.3.a. Influencia de la velocidad y la temperatura sobre el rechazo de proteínas.....

4.1.3.b. Influencia del tipo de membrana sobre el rechazo de proteínas.....

4.1.3.c. Influencia del tipo de membrana sobre la retención bacteriana.....

4.1.3.d. Influencia del contenido bacteriano inicial sobre la vida útil.....

4.1.4. Resultados y discusión.....

4.2. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES HIDRODINÁMICAS CRÍTICAS (CHC).....

4.2.1. Introducción.....

4.2.2. Materiales y métodos.....

4.2.2.a. Alimentación.....

4.2.2.b. Membranas.....

4.2.2.c. Dispositivo experimental.....

4.2.2.d. Métodos de análisis.....

4.2.3. Resultados y discusión.....

4.2.3.a. Validación del método *Square Wave Barovelocimetry* (SWB).....

4.2.3.b. Influencia de la concentración de caseína sobre las CHC.....

4.2.3.c. Estudio de la presión osmótica en las CHC.....

4.2.4. Conclusiones.....

4.3. ESTUDIO DE PARÁMETROS CON LA COORDENADA LONGITUDINAL.....

4.3.1. Introducción.....

4.3.2. Materiales y métodos.....

4.3.2.a. Alimentación.....

4.3.2.b. Membranas.....

4.3.2.c. Dispositivo experimental.....

4.3.2.d. Procedimiento experimental.....

4.3.2.e. Métodos de análisis.....

4.3.3. Resultados y discusión.....

4.3.3.a. Estudio de la resistencia longitudinal.....

4.3.3.b. Estudio del tiempo de estabilización.....

4.3.3.c. Estudio de la permeabilidad longitudinal mediante emulsiones O/W.....

4.3.4. Conclusiones.....

5. COMBINACIÓN DE MICROFILTRACIÓN Y TRATAMIENTOS TÉRMICOS.....

5.1. INTRODUCCIÓN.....

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....

5.2.1. Alimentación.....

5.2.2. Membranas.....

5.2.3. Dispositivo experimental.....

5.2.4. Procedimiento experimental.....

5.2.5. Métodos de análisis.....

5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....

5.3.1. Combinación de MF con tratamiento térmico indirecto (TTI).....

5.3.1.a. Microfiltración combinada con TTI bajo (72-95ºC, 15 s).....

5.3.1.b. Microfiltración combinada con TTI alto (115-130ºC, 2 s).....

5.3.2. Combinación de MF con tratamiento térmico directo (TTD).....

5.3.2.a. Microfiltración combinada con TTD (115-130ºC, 6s).....

5.4. CONCLUSIONES.....

6. PROCESO INDUSTRIAL: BALANCE ECONÓMICO.....

6.1. INTRODUCCIÓN AL DISEÑO.....

6.2. DESCRIPCIÓN CUALITATIVA DEL PROCESO.....

6.3. DISEÑO DE EQUIPOS.....

6.4. EVALUACIÓN ECONÓMICA.....

6.4.1. Introducción.....

6.4.2. Estudio de caudales.....

6.4.3. Estudio de costes.....

6.4.4. Resumen y conclusiones.....

7. CONCLUSIONES GENERALES / GENERAL CONCLUSIONS.....

8. BIBLIOGRAFÍA.....

9. APÉNDICES.....

AGRADECIMIENTOS

A los Drs. Francisco Riera y Ricardo Álvarez del Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente de la Universidad de Oviedo, por darme la oportunidad de realizar la presente Tesis Doctoral en su Grupo y por su supervisión y consejo en el desarrollo del mismo.

A la Fundación para el Fomento en Asturias de la Investigación Científica Aplicada y la Tecnología (FICYT) por la aportación de la beca predoctoral.

A la empresa Corporación Alimentaria Peñasanta, S. A. CAPSA (Granda, Siero, Asturias), por su apoyo financiero y técnico y al personal del departamento de I + D por su colaboración en las tareas llevadas a cabo en sus instalaciones.

Al Laboratorio Interprofesional Lácteo y Agroalimentario de Asturias, y en especial a D. Juan Muñiz, por la ayuda en la realización de los análisis microbiológicos.

A la Universidad Politécnica de Valencia, por permitirme utilizar sus instalaciones y a todas las personas que trabajan en el Departamento de Ingeniería Química y Nuclear por su cálida acogida.

En general quisiera agradecer a todas y cada una de las personas que han vivido conmigo la realización de esta Tesis, con sus altos y bajos y que no necesito nombrar porque tanto ellas como yo sabemos que les agradezco profundamente el haberme brindado todo el apoyo, colaboración, ánimo y sobre todo cariño y amistad.

Esta Tesis Doctoral ha sido financiada por:

Ministerio de Educación y Ciencia, a través de fondos procedentes del Plan Nacional de I+D+i.

Principado de Asturias. Consejería de Educación y Ciencia. Fundación para el Fomento en Asturias de la Investigación Científica Aplicada y la Tecnología (FICYT), mediante la aportación de una beca predoctoral con cargo a fondos provenientes del Plan Regional de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación de Asturias, la cual incluyó, además las financiaciones de las estancias realizadas en el Institut Nationale du Reserche Agronomique (INRA) de Rennes (Francia) y en la Universidad de Lund (Suecia).

Corporación Alimentaria Peñasanta S.A. CAPSA (Granda, Siero, Asturias), la cual ha contribuído con apoyo financiero y técnico. Asímismo, esta Tesis Doctoral se ha desarrollado, en gran parte en las instalaciones que esta empresa tiene en Granda (Siero, Asturias).

RESUMEN

En la actualidad, el descenso en el consumo de leche y la demanda de productos con mayor vida útil y mejores características organolépticas por parte de los consumidores, hace necesario el desarrollo de nuevos procesos productivos. Entre estos procesos, la tecnología con membranas de microfiltración se presenta como una de las mejores herramientas para conseguir estos objetivos.

En la presente Tesis Doctoral, el proceso estudiado es la microfiltración de leche con membranas cerámicas de tercera generación, que presentan flujo de permeado constante. Este tipo de membranas, incluyen una modificación en su estructura que permite un mejor control de las condiciones de trabajo y una prolongación de los tiempos de operación.

En la primera parte de este trabajo se aborda el estudio de la influencia de las condiciones de operación y el comportamiento con la coordinada longitudinal de las membranas. Se han realizado ensayos con distintos tipos de membranas y en distintas condiciones para ver la influencia de estos parámetros sobre el rechazo de proteínas y la retención bacteriana. También se ha validado un método electroquímico, para la determinación de las Condiciones Hidrodinámicas Críticas, denominado Método *Square Wave Barovelocimetry*. Este método permite determinar cuáles son las condiciones de operación más favorables para trabajar con la membrana y el análisis detallado del tipo de ensuciamiento que tiene lugar cuando nos alejamos de estas condiciones.

La particularidad de las membranas empleadas, es que poseen un gradiente de porosidad o de espesor a lo largo de su estructura que les permite compensar la caída de presión natural que tiene lugar en las operaciones de filtración desde la entrada a la salida. Este gradiente longitudinal ocasiona que la densidad de flujo de permeado con la coordenada longitudinal sea prácticamente constante. Por este motivo, se han realizado experimentos para el estudio del comportamiento de estas membranas con un dispositivo diseñado específicamente para este fin.

De manera global, se busca optimizar un proceso de microfiltración para extender la vida útil de la leche pasteurizada comercial. Se ha realizado un estudio del comportamiento de dos marcas de leche en distintas condiciones de almacenamiento con el fin de establecer los límites de vida útil a superar mediante el proceso de microfiltración.

La combinación de la MF con tratamientos térmicos se ha estudiado con detalle para la determinación del mínimo tratamiento térmico posible que puede conseguir alcanzar los objetivos de vida útil marcados. Se ha realizado la combinación de la MF con un tratamiento térmico indirecto, en un intercambiador tubular, y varios pares temperatura-tiempo, al igual que en el caso del tratamiento térmico directo por inyección de vapor.

Por último, se ha realizado un análisis de los costes de inversión y de operación que conllevaría la implantación de este proceso a escala industrial. Debido a que el proceso de MF elimina gran parte la carga bacteriana, los tratamientos térmicos posteriores pueden ser a menor temperatura. Este hecho conlleva un ahorro energético que también ha sido estimado. La presente Tesis Doctoral ha sido completada con el estudio del tiempo de recuperación de la inversión y la rentabilidad del proyecto.

ABSTRACT

Nowadays, milk consumption is decreasing. Moreover, consumers demand products with extended shelf life and improved organoleptic characteristics. For these reasons, the development of new processes in dairy industry is required. Microfiltration membrane technology is considered a suitable option for achieving these targets.

In this PhD thesis, milk microfiltration performance with third generation membranes is studied. Such membranes show a change in their structure that allows better control of working conditions and prolonged periods of operation.

The first part of this work deals with the study of the influence of operating conditions and the behaviour along the length of the membranes. Experimental trials were conducted with different types of membranes and different conditions to see the influence of these parameters on the protein rejection and bacterial retention. It has also been validated an electrochemical method for the determination of the Critical Hydrodynamic Conditions (CHC), also called Square Wave Barovelocimetry Method. This method helps to determine the best operating conditions for the membrane and allows a more specific study of the fouling taking place.

Third generation membranes have a porosity or thickness gradient throughout its structure that compensates the pressure drop that occurs naturally in filtration operations from the input to the output. This longitudinal gradient allows a uniform permeate flux along the length. Therefore, experiments have been conducted to study the behaviour of these membranes with a device specifically designed for this purpose.

The main aim is to optimize a process of microfiltration for extending the shelf life of commercial pasteurized milk. A study of the behaviour of two different brands of milk was carried out. Different storage conditions were tested in order to establish the limits of shelf life to overcome using the microfiltration process.

The combination of MF and thermal treatments was studied for determining the minimum heat treatment that can achieve the desired shelf life of milk. Mf was combined with indirect

heat treatment in a tubular heat exchanger, at various temperature-time conditions, and with a direct heat treatment by steam injection.

Finally, investment and operating costs were studied to entail the introduction of this process at industrial scale. MF allows further heat treatments to be performed at a lower temperature due to the high retention of bacteria. This fact implies energy savings that were estimated too. This doctoral thesis has been completed with the study of the recovery time of investment and profitability.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2-1: Construcción y estabilización de una micela de caseína.....

FIGURA 2-2: Curvas tiempo/temperatura de destrucción de algunos microorganismos.....

FIGURA 2-3: Líneas límite para la destrucción de esporas y efectos sobre la leche.....

FIGURA 2-4: Temperatura *vs.* tiempo de los distintos tratamientos térmicos.....

FIGURA 2-5: Filtración tangencial y filtración frontal.....

FIGURA 2-6: Mecanismos (1-4) que causan el estrechamiento y bloqueo de poros.....

FIGURA 2-7: Efecto de la presión transmembranar (TMP) en el flujo crítico y limitante (J)....

FIGURA 3-1: Separación de los componentes de la leche mediante MF, UF, NF y OI.....

FIGURA 3-2: Distribución por tamaño de algunos componentes de la leche cruda.....

FIGURA 3-3: Esquema de comportamiento de una membrana tradicional.....

FIGURA 3-4: Esquema y perfil de presión de A: Microfiltración tradicional, B: Microfiltración con sistema UTP.....

FIGURA 3-5: Esquema del comportamiento de una membrana GP.....

FIGURA 3-6: Esquema del comportamiento de una membrana Isoflux.....

FIGURA 3-7: Fotografía de un microtamiz.....

FIGURA 3-8: Fotografía SEM de una membrana cerámica con Al_2O_3 depositado mediante ALD.....

FIGURA 4-1: Fotografía de membranas Sterilox GP.....

FIGURA 4-2: Fotografía de membranas Isoflux e Inside Ceram.....

FIGURA 4-3: Diagrama esquemático del equipo piloto de microfiltración.....

FIGURA 4-4: Diagrama esquemático del interferómetro FTIR.....

FIGURA 4-5: Flujo (L/h m^2) *vs.* tiempo (min) para experimentos con varios tipos de membranas a v=6 m/s y 21±1ºC/45±1ºC.....

FIGURA 4-6: Rechazo de proteínas a v=6-8 m/s y temperaturas 21±1ºC y 45±1ºC para la membrana Isoflux.....

FIGURA 4-7: Rechazo de proteínas a v=6m/s y T=21±1ºC para cada tipo de membrana.....

FIGURA 4-8: Rechazo de proteínas a v=6m/s y T=45±1ºC para cada tipo de membrana.....

FIGURA 4-9: Reducción decimal relativa a v=6m/s y T=21±1ºC para cada tipo de membrana.....

FIGURA 4-10: Esquema del Método Paso-a-Paso de determinación de las CHC.....

FIGURA 4-11: Principio del Método SWB; presión y flujo *vs.* tiempo.....

FIGURA 4-12: Esquema del Método SWB determinación de las CHC.....
FIGURA 4-13: Esquema del proceso de fabricación del fosfocaseinato nativo.....
FIGURA 4-14: Fotografía del dispositivo experimental para la determinación de las CHC.....
FIGURA 4-15: Esquema del dispositivo experimental para la determinación de las CHC.....
FIGURA 4-16: Ejemplo de la fase de concentración para FRV=1.63 con PTM=4 bar, Tw=120 Pa, Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-17: Ejemplo de la fase de determinación de las CHC por el método SWB para FRV=2.10 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-18: Ensayo con τ_w constante para FRV=1.60 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-19: Ensayo por método SWB para FRV=1.60 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-20: Resistencia irreversible con corrección del efecto de adsorción y boqueo de poros y sin ella, para FRV=1.60.....
FIGURA 4-21: Resistencia hidráulica para FRV=1.60 con CHC y sin CHC.....
FIGURA 4-22: Ensayo por método SWB para FRV=2.70 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-23: Ensayo por método SWB sin CHC para FRV=2.70 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-24: Resistencia hidráulica para método SWB sin CHC para FRV=2.70 con y sin CHC.....
FIGURA 4-25: Ensayo por método SWB para FRV=2 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-26: Ensayo por método SWB sin CHC para FRV=2 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-27: Resistencia hidráulica para método SWB para FRV=2 con y sin CHC.....
FIGURA 4-28: Resistencia hidráulica debida al ensuciamiento para método SWB para distintas FRV.....
FIGURA 4-29: Resistencia hidráulica debida al ensuciamiento reversible e irreversible para método SWB para FRV=2.....
FIGURA 4-30: Ensayo por método SWB con 30' en CHC para FRV=2 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-31: Ensayo por método SWB con 1 h en CHC para FRV=2 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-32: Resistencia hidráulica irreversible para SWB con 30' y 1 h en CHC con FRV=2 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....

FIGURA 4-33: Ensayo por método SWB con τ_{wcrit}=90 Pa para FRV=2.7 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-34: Ensayo por método SWB con τ_{wcrit}=95 Pa para FRV=2.7 con Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC.....
FIGURA 4-35: Esfuerzo cortante crítico para distintas concentraciones de caseína iniciales....
FIGURA 4-36: R_{if} y presión osmótica para cada etapa del método SWB a FRV=1.6.....
FIGURA 4-37: Presión osmótica *vs.* concentración de caseína.....
FIGURA 4-38: Estructura molecular del tensioactivo Tween 20.....
FIGURA 4-39: Fotografía del dispositivo experimental para el estudio de la permeabilidad longitudinal.....
FIGURA 4-40: Esquema del dispositivo experimental para la medición de la permeabilidad longitudinal.....
FIGURA 4-41: Fotografía del equipo de microfiltración empleado en los ensayos con emulsiones.....
FIGURA 4-42: Esquema del funcionamiento de un homogeneizador de alta presión.....
FIGURA 4-43: Fotografía del homogeneizador de alta presión utilizado en la preparación de emulsiones.....
FIGURA 4-44: Esquema de la configuración óptica inversa de Fourier del equipo Malvern Mastersizer S.....
FIGURA 4-45: Permeabilidad longitudinal Sterilox GP 0.8 μm v=3m/s y v=4m/s.....
FIGURA 4-46: Comparación de la permeabilidad longitudinal membrana Sterilox GP (v=3m/s) *vs.* membrana convencional.....
FIGURA 4-47: Densidad de flujo de permeado longitudinal de agua destilada 30ºC, v=3m/s.....
FIGURA 4-48: Flujo de permeado *vs.* ΔP para el compartimento 1.....
FIGURA 4-49: Resistencia de la membrana (m^{-1}) por compartimentos.....
FIGURA 4-50: Flujo de permeado para cada compartimento con el tiempo.....
FIGURA 4-51: Representación de las resistencias totales (m^{-1}) por compartimentos.....
FIGURA 4-52: Permeabilidad longitudinal (L/h m^2) por compartimentos tras el aclarado.....
FIGURA 4-53: Permeabilidad longitudinal (L/h m^2) por compartimentos tras el lavado alcalino.....
FIGURA 4-54: Permeabilidad longitudinal (L/h m^2) por compartimentos para cada etapa.....
FIGURA 4-55: Densidad de flujo de permeado con la coordenada longitudinal para distintas condiciones

FIGURA 4-56: Perfil de resistencias de la membrana Sterilox GP con la coordenada longitudinal.....
FIGURA 4-57: Distribución de tamaños de partícula para la emulsión de partida.....
FIGURA 4-58: Distribución de tamaños de partícula para la emulsión de partida y el permeado para $P_{entrada}$=0.5 bar P_{salida}=0.35 bar PTM=0.43l.....
FIGURA 4-59: Distribución de tamaños de partícula para la emulsión de partida y el permeado para $P_{entrada}$=0.7 bar P_{salida}=0.5 bar PTM=0.6.....
FIGURA 4-60: Distribución de tamaños de partícula para la emulsión de partida y el permeado para $P_{entrada}$=1 bar P_{salida}=0.7 bar PTM=0.85.....
FIGURA 4-61: Distribución de tamaños de partícula para la emulsión de partida y el permeado para $P_{entrada}$=2 bar P_{salida}=1.4 bar PTM=1.7.....
FIGURA 5-1: Fotografía del equipo piloto de calentamiento indirecto y esquema del intercambiador tubular.....
FIGURA 5-2: Diagrama de bloques del tratamiento UHT directo.....
FIGURA 5-3: Fotografía del equipo piloto de pasteurización/UHT directo.....
FIGURA 5-4: Vida útil analizada para diversas muestras con diferente recuento inicial de aerobios mesófilos.....
FIGURA 5-5: Vida útil a 4ºC *vs.* Contenido bacteriano inicial.....
FIGURA 5-6: Comparación de la vida útil de la leche sometida a TTI o a una combinación de MF+TTI.....
FIGURA 5-7: Comparación de la vida útil de la leche sometida a TTI o a una combinación de MF+TTI.....
FIGURA 5-8: Comparación de la vida útil de la leche sometida a TTI o a una combinación de MF+TTD.....
FIGURA 6-1: Diagrama de bloques del proceso UHT y de la combinación de MF con tratamientos térmicos.....
FIGURA 6-2: Esquema del modo de operación alimentación y purga.....

LISTA DE TABLAS

TABLA 2-1: Composición de la leche (por 100 g).....
TABLA 2-2: Clasificación de los principales microorganismos presentes en la leche.....
TABLA 2-3: Información de los microorganismos presentes en la leche.....
TABLA 2-4: Tamaño de algunos de los microorganismos presentes en la leche.....
TABLA 2-5: Principales categorías de los tratamientos térmicos en la industria láctea.....
TABLA 2-6: Criterios de calidad de la leche en el pago al ganadero.....
TABLA 3-1: Tamaños medios de los microorganismos termorresistentes que generan esporas presentes en la leche.....
TABLA 4-1: Características de las membranas empleadas.....
TABLA 4-2: Condiciones de operación de los ensayos realizados.....
TABLA 4-3: Resumen de ensayos a distinta concentración de caseína para la determinación de las CHC.....
TABLA 4-4: Ensayos relevantes de microfiltración con distintas membranas.....
TABLA 4-5: Valores de la constante de ajuste de Jp *vs.* ΔP para cada compartimento.....
TABLA 4-6: Resistencias por compartimentos de la membrana limpia.....
TABLA 4-7: Resistencias por compartimentos de la membrana tras el ensuciamiento.....
TABLA 4-8: Resistencias por compartimentos de la membrana tras el aclarado.....
TABLA 4-9: Resistencia debida al ensuciamiento reversible por compartimentos.....
TABLA 4-10: Resistencia debida al ensuciamiento irreversible por compartimentos.....
TABLA 4-11: Resistencia de la membrana tras el lavado alcalino por compartimentos.....
TABLA 5-1: Valores medios de las condiciones de los ensayos de microfiltración.....
TABLA 5-2: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación y en el permeado.....
TABLA 5-3: Valores de los recuentos de aerobios mesófilos tras los distintos tratamientos térmicos.....
TABLA 5-4: Valores medios de luminiscencia de las muestras incubadas a 36ºC durante 5 días.....
TABLA 5-5: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas.....
TABLA 5-6: Condiciones de operación de la etapa de microfiltración.....

TABLA 5-7: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación, el permeado y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas.....
TABLA 5-8: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas.....
TABLA 5-9: Valores medios de luminiscencia de las muestras incubadas a 36ºC durante 5 días (RLU<100).....
TABLA 5-10: Condiciones de operación de la etapa de microfiltración.....
TABLA 5-11: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación, el permeado y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas.....
TABLA 5-12: Valores medios de luminiscencia de las muestras incubadas a 36ºC durante 5 días (RLU<100).....
TABLA 5-13: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas.....
TABLA 5-14: Valores medios de luminiscencia de las muestras incubadas a 36ºC durante 5 días (RLU<100).....
TABLA 5-15: Condiciones de operación de la etapa de microfiltración.....
TABLA 5-16: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación, el permeado y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas.....
TABLA 5-17: Valores medios de luminiscencia de las muestras incubadas a 36ºC durante 5 días (RLU<100).....
TABLA 6-1: Datos de diseño de la PLANTA 1.....
TABLA 6-2: Datos de diseño PLANTA 2.....
TABLA 6-3: Costes de capital para PLANTA 1.....
TABLA 6-4: Costes de capital (€) para PLANTA 2.....
TABLA 6-5: Costes de operación para PLANTA 1.....
TABLA 6-6: Costes de operación para PLANTA 2.....
TABLA 6-7: Ahorro en vapor PLANTA 1.....
TABLA 6-8: Ahorro en vapor PLANTA 2.....
TABLA 6-9: Coste de producción de leche ESL.....
TABLA 6-10: Estudio de la rentabilidad de las dos plantas.....

LISTA DE SÍMBOLOS

c	Número de unidades de la muestra cuyo número de bacterias podrá situarse entre m y M.	
CLAS	Central Lechera Asturiana	
ESL	Vida Útil Extendida (*Extended Shelf Life*)	
HP	Elevada presión (*High Pressure*)	
GP	Gradiente de presión	
HTST	Elevada temperatura reducido tiempo (*High Temperature Short Time*)	
HHT	Tratamiento a alta temperatura (*High Heat Temperature*)	
J	Densidad de flujo de permeado	(L/m^2 h)
LILA	Laboratorio Interprofesional Lechero y Agroalimentario de Asturias	
m	Valor umbral del número de bacterias	
M	Valor límite del número de bacterias	
MF	Microfiltración	
n	Número de unidades de que se compone una muestra de leche	
N	Número de microorganismos presentes tras un tiempo t	(Ufc/mL)
N_0	Número de microorganismos originalmente presentes	(Ufc/mL)
NF	Nanofiltración	
NMP	Número más probable	
OI	Ósmosis inversa	
PEF	Campo eléctrico pulsante (*Pulsed Electric Field*)	
Q	Flujo volumétrico de alimentación	(m^3/s)
R_f	Resistencia por materiales colmatantes	(m^2/m^3)
R_i	Efectividad térmica	(Adim.)
R_m	Resistencia hidráulica de la membrana limpia	(m^2/m^3)
SCT	Sociedad de técnicas cerámicas (*Societé des Cerámiques Techniques*)	
t	Tiempo de tratamiento	(s)
UF	Ultrafiltración	
UFC	Unidades formadoras de colonias	
UHT	Ultra High Temperature	
UTP	Presión uniforme a través de la membrana (*Uniform Transmembrane Pressure*)	

UV	Radiación ultravioleta	
v	Velocidad superficial del fluido	(m/s)

Letras Griegas

ΔP	Caída de presión entre dos puntos	(Pa)
$\Delta \Pi$	Cambio de la presión osmótica a través de la membrana	(Pa)
ρ	Densidad del fluido impulsado	(kg/m^3)
η	Viscosidad absoluta	(kg/ms)
σ_k	Constante empírica	(Adim.)
μ	Viscosidad del fluido	(kg/m s)

1. INTRODUCCIÓN

1 INTRODUCCIÓN

La concentración del procesado de leche en un reducido número de grandes empresas, ha llevado a un alargamiento de la cadena de distribución. También se ha producido un cambio en los hábitos de los consumidores, con una cada vez más baja frecuencia de compra. Por otra parte, la leche debe competir en el mercado con productos más innovadores, muy publicitados y con vida útil estable como refrescos, bebidas isotónicas, zumos o aguas embotelladas.Estos hechos hacen necesario un aumento de la vida útil de la leche y una mejora de su calidad.

Un obstáculo importante en el proceso de alargamiento de la vida útil de la leche es la dificultad de encontrar un equilibrio entre la retirada o destrucción de los microorganismos degradantes y las esporas presentes, y la preservación del color y conservación de vitaminas y proteínas, así como de las propiedades organolépticas del producto.

La aparición de la leche ESL (*Extended Shelf Life*) o leche de vida útil extendida introduce en el mercado un producto con valor añadido que aumenta los márgenes de beneficio del fabricante, aumenta el volumen de producción, expande las fronteras del mercado y proporciona beneficios al consumidor que tiene un producto con un sabor más fresco durante más tiempo.

Uno de los procesos ESL con más aplicación en la actualidad es la microfiltración con membranas cerámicas. Esta técnica puede reducir la cantidad de bacterias y esporas en la leche sin afectar a sus características organolépticas y proporcionando una vida útil superior a la de la leche pasteurizada.

1.1. Objetivos

El objetivo general de la presente Tesis Doctoral es la optimización de un proceso de depuración bacteriana de leche mediante microfiltración y su combinación con tratamientos térmicos. Se busca obtener una leche pasteurizada con una vida útil superior a la comercializada en la actualidad y que conserve sus características organolépticas. También se busca encontrar la combinación con la qe se pueda obtener leche estéril.

2. PRINCIPIOS BÁSICOS

2. PRINCIPIOS BÁSICOS

2.1. La leche

Según el Código Alimentario Español, se define la leche como "*el producto integro, no alterado, ni adulterado y sin calostros (primera leche después del parto), del ordeño higiénico, regular y completo de las hembras mamíferas sanas y bien alimentadas"*. La vaca es el animal más extendido en el mundo en cuanto a la producción de leche. En el año 2006, se produjeron en todo el mundo 550 millones de leche de vaca, lo que supone el 87% de la producción total de leche en el mindo. Los principales productores son la Unión Europea, Asia (particularmente la India) y América del Norte. Según los países, se dan grandes variaciones en materia de rendimiento por vaca, con un rendimiento particularmente elevado en los países de América del Norte y de Europa, donde la ganadería es muy intensiva. Por el contrario, en África, que posee la cabaña mundial más numerosa, la producción total es poco importante. Los países donde el consumo de leche y sus productos derivados es el más importante son los de la Unión Europea y de América del Norte, y, en menor medida, Argentina,, Australia y Nueva Zelanda (www.dairyco.org.uk).

La leche es un fluido complejo con un elevado contenido proteico y que está expuesto a un elevado crecimiento microbiológico. La reducción del número de estos microorganismos debe ser conseguida de tal manera que no se vea afectada la funcionalidad de las proteínas lácteas cuando ésta vaya a ser empleada para la fabricación de queso (Guerra *et al*., 1998) y se altere en la menor medida posible sus características nutritivas y organolépticas.

2.1.1. Aspectos generales

La leche de los distintos animales está compuesta por agua (85%), hidratos de carbono, materia grasa, proteínas, vitaminas y minerales.

En la Tabla 2-1 se indica la composición de diferentes tipos de leche.

TABLA 2-1: Composición de la leche (por 100 g) (Amiot, 1991)

Especie	Materia grasa (g)	Lactosa (g)	Proteínas (g)	Minerales (g)	Calcio (mg)	Cenizas (g)
Mujer	3.5	6.5	1.4	0.25	32.2	0.2
Vaca	3.5	4.7	3.5	0.8	119	0.7
Oveja	7.5	4.5	6.0	0.95	193	1
Cabra	4.3	4.7	4.0	0.8	133	0.8

- *Proteínas:* La proteína más abundante en la leche es la caseína, seguida de las proteínas del lactosuero (lactoalbúminas y lactoglobulinas). En muy pequeñas cantidades se pueden encontrar otras como las que forman la pared de los glóbulos grasos, las fosfolipoproteínas. La caseína en su mayor proporción se encuentra constituyendo las denominadas submicelas, que pueden llegar a medir hasta 0.4 micras de diámetro y que pueden unirse, a su vez, mediante fosfato cálcico (el grupo hidroxilo del aminoácido se esterifica con ácido fosfórico que se une al calcio) formando micelas, que se encuentran en suspensión coloidal (Figura 2-1).

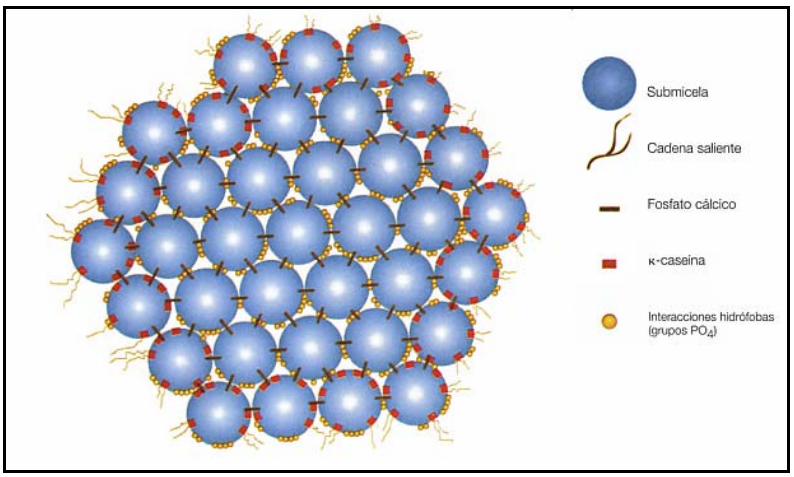


FIGURA 1-1: Construcción y estabilización de una micela de caseína (Bylund, 2003)

- *Materia grasa*: La materia grasa de la leche se encuentra en emulsión en la disolución acuosa que constituye la leche. Está compuesta, básicamente, por triglicéridos y contiene otras sustancias en cantidades menores entre las que se encuentran las vitaminas liposolubles (Vitaminas A, D, E y K).

- *Hidratos de carbono*: La lactosa es prácticamente el único carbohidrato presente en la leche, además es el único producto donde se puede encontrar este tipo de azúcar. Se trata de un disacárido formado por glucosa y galactosa. La lactosa es soluble en agua y, de esa forma se presenta en la leche. Para su digestión es necesaria la presencia de una enzima que catalice el proceso de hidrólisis, denominada lactasa. Algunos segmentos de la población presentan problemas de digestibilidad de la lactosa. Se ha comprobado que si bien el cuerpo de los bebés produce lactasa, enzima que permite la digestión de la lactosa de la leche de vaca, no es así en el caso de los adultos, y puden darse en una proporción elevada de la población adulta situaciones de intolerancia a la lactosa. La incidencia de esta intolerancia es mayor entre los pueblos asiáticos o africanos, menos frecuente en los centroeuropeos y todavía menor en los países del norte de Europa. (ref)

- *Sales minerales*: Los minerales más importantes que se encuentran presentes en la leche son el calcio, el potasio, el sodio, el magnesio y el fósforo. El primero de ellos se encuentra, en su mayoría, formando parte de las micelas de caseína. También hay trazas de hierro, cobre, yodo y otras sales.

- *Enzimas:* Las más importantes son las lipasas, galactasas y peroxidasas. También está presente en el medio la fosfatasa alcalina. Esta enzima sirve como indicador de pasteurización, ya que se desactiva térmicamente y es fácilmente medible (hidrólisis con fenilfosfato sódico, donde se mide la presencia del fenol liberado). De este modo, una leche en la que no se encuentra activa la fosfatasa alcalina es, a efectos legales, una leche sometida a tratamientos térmicos que permiten su comercialización.

- *Vitaminas hidrosolubles*: Se encuentran disueltas en el suero lácteo. Entre otras se pueden destacar la vitamina C (sensible a la temperatura), la B_2 o la B_{12}.

2.1.2. Bacteriología de la leche

En la leche cruda, se puede encontrar una amplia y variada población bacteriana (Mossel *et al.*, 2003) que será necesario eliminar, en la medida de lo posible, si se pretende alcanzar la seguridad alimentaria. En una primera clasificación, se pueden dividir estos microorganismos

en patógenos y no patógenos, como se indica en la Tabla 2-2 (Bylund, 2003). Ésta es una clasificación orientativa, ya que se encuentran muchas más especies bacterianas en la leche cruda.

TABLA 1-2: Clasificación de los principales microorganismos presentes en la leche

Patógenos	**No patógenos**
Bacillus cereus	*Streptococcus lactis*
Listeria monocytogenes	*Streptococcus cremoris*
Yersinia enterocolítica	*Lactobacillus casei*
Salmonella spp.	*Lactobacillus delbrueckii*
Escherichia coli O157:H7	*Escherichia coli*
Campylobacter jejuni	*Leuconostoc spp.*
Brucella abortus	*Pseudomonas fluorescens*
Mycobacterium tuberculosis	*Pseudomonas fragi*
Clostridium botulinum	
Coxiella burnetii	

Otro criterio de clasificación de bacterias (Prescott *et al.*, 2002) hace referencia a su compatibilidad con el oxígeno:

- **Bacterias aerobias**: son aquellas que necesitan oxígeno para su metabolismo.

- **Bacterias anaerobias**: son aquellas que no utilizan oxígeno molecular en su actividad biológica. La obtención de energía la realizan mediante catabolismo fermentativo. Se pueden distinguir dos grupos dentro de ellas:
  - *Bacterias anaerobias facultativas*: Pueden vivir en ambientes con oxígeno o sin él.
  - *Bacterias anaerobias estrictas*: sólo pueden sobrevivir en ambientes carentes de oxígeno.

Si se clasifican los microorganismos por su temperatura óptima de crecimiento (Madigan *et al.*, 2000) se pueden dividir en:

- **Bacterias psicrófilas**, que son aquellas cuya temperatura óptima de crecimiento está por debajo de los 20ºC
- **Bacterias mesófilas**, son aquellas que sus temperaturas óptimas de crecimiento se encuentran comprendidas entre 20 y 44ºC.
- **Bacterias termófilas**, que tienen temperaturas óptimas de crecimiento entre 45 y 60ºC.

En la Tabla 2-3 se muestra información de las bacterias más comunes con respecto a su temperatura óptima de crecimiento, su consumo de oxígeno y su capacidad de formación de esporas.

TABLA 2-3: Información de los microorganismos presentes en la leche (Bergey y Holt, 1994)

Microorganismos	Según T_{opt}	Según consumo de O_2	Formación de esporas
Bacillus cereus	mesófilo	anaerobio facultativo	sí
Brucella abortus	mesófilo	aerobio	no
Campylobacter jejuni	mesófilo	anaerobio	sí
Clostridium botulinum	mesófilo	anaerobio	sí
Escherichia coli	mesófilo	anaerobio facultativo	no
Escherichia coli O157:H7	mesófilo	anaerobio facultativo	no
Lactobacillus casei	mesófilo	anaerobio	no
Lactobacillus delbrueckii	mesófilo	anaerobio	no
Leuconostoc spp.	mesófilo	anaerobio facultativo	no
Listeria monocytogenes	mesófilo	anaerobio	no
Mycobacterium tuberculosis	mesófilo	aerobio	no
Pseudomonas fluorescens	mesófilo	aerobio	no
Pseudomonas fragi	mesófilo	aerobio	no
Salmonella spp.	mesófilo	anaerobio	no
Streptococcus cremoris	mesófilo	anaerobio facultativo	no
Streptococcus lactis	mesófilo	anaerobio facultativo	no
Yersinia enterocolitica	psicrófilo	anaerobio facultativo	no

En un tratamiento térmico interesa conocer la resistencia de estas especies bacterianas para así ajustar la temperatura del tratamiento y el tiempo de exposición (cinética de destrucción de

microorganismos). Para ello se emplean dos parámetros en función de la especie microbiana (Madigan *et al*., 2000):

- *Valor D*: Tiempo de reducción decimal, o tiempo necesario para destruir el 90 % de los microorganismos a una determinada temperatura. Éste valor es el tiempo necesario de tratamiento a una determinada temperatura para que la curva de supervivencia atraviese un ciclo logarítmico.
- *Valor Z o termorresistencia de un microorganismo*: Hace referencia al aumento de temperatura necesario para que la curva de destrucción térmica atraviese un ciclo logarítmico. Este valor permite calcular tratamientos térmicos equivalentes a diferentes temperaturas.

Los valores *D* y *Z* varían para cada microorganismo y para cada condición. Las esporas, por ejemplo, tienen valores *D* mucho más altos que las células vegetativas de los mismos microorganismos. Los microorganismos presentes en los alimentos, por otra parte, suelen tener valores *D* más altos que cuando se cultivan en condiciones de laboratorio.

En la práctica no se tienen en cuenta todos los microorganismos, sino que se toma uno de ellos como referencia, en este caso, el más resistente al tratamiento térmico. En la leche y productos lácteos, en general, el microorganismo tomado como referencia es el *Bacillus cereus* debido a su capacidad para formar esporas, que soportan elevadas temperaturas (del orden de 120 ºC durante 10 minutos).

En el caso de un tratamiento por microfiltración, se ha de tener en cuenta, principalmente, los tamaños de las principales bacterias contenidas en la leche a tratar, como se indica en la Tabla 2-4.

TABLA 2-4: Tamaños de algunos de los microorganismos presentes en la leche (Bergey y Holt, 1994)

Microorganismos	Largo (µm)	Ancho (µm)
Bacillus cereus	3 a 4	1
Brucella abortus	0.5 a 1.5	0.5
Campylobacter jejuni	0.5 a 5	0.2 a 0.5
Clostridium botulinum	3 a 8	0.5 a 0.8
Coxiella burnetii	0,5	0.5
Escherichia coli	1 a 3	0.5
Escherichia coli O157:H7	2 a 6	1.1 a 1.5
Lactobacillus casei	2 a 9	0.5 a 0.8
Lactobacillus delbrueckii	2 a 9	0.5 a 0.8
Leuconostoc spp.	0.5 a 1.5	0.5 a 1.5
Listeria monocytogenes	1 a 1.5	0.4
Mycobacterium tuberculosis	4	0.5
Pseudomonas fluorescens	> 2	0.25 a 1
Pseudomonas fragi	> 2	0.25 a 1
Salmonella spp.	1 a 3	0.5 a 0.7
Streptococcus cremoris	0.5 a 1.5	0.5 a 1.5
Streptococcus lactis	0.5 a 1.5	0.5 a 1.5
Yersinia enterocolitica	0.5	0.25 a 1

Una vez conocidos los tamaños de las bacterias más comunes en la leche se debe seleccionar una membrana con un tamaño de poro adecuado para retener la mayor parte de las bacterias patógenas presentes (aún a riesgo de la eliminación de otras deseadas), y teniendo en cuenta los tamaños de los diferentes componentes del producto (restos de grasa y caseínas principalmente) que no interesa separar con el retenido.

2.1.3. Tratamientos térmicos

El tratamiento térmico de la leche y de los productos lácteos es una de las operaciones más importantes en la industria láctea. Consiste en someter el producto a una temperatura elevada para minimizar o destruir la acción de los agentes causantes del deterioro y los problemas sanitarios presentes en la leche sin procesar, básicamente microorganismos y enzimas. Junto a estos efectos favorables del tratamiento de la leche con calor, se producen, simultáneamente,

otros indeseables, como cambios en el sabor, olor, textura o reducción de nutrientes, como puede observarse en la Figura 2-2.

En los últimos años, ha sido necesario desarrollar procesos con una combinación tiempo/temperatura adecuada, pues es el binomio que determina la intensidad del tratamiento térmico, de manera que ha de ser optimizado tanto desde el punto de vista microbiológico como desde el de la calidad.

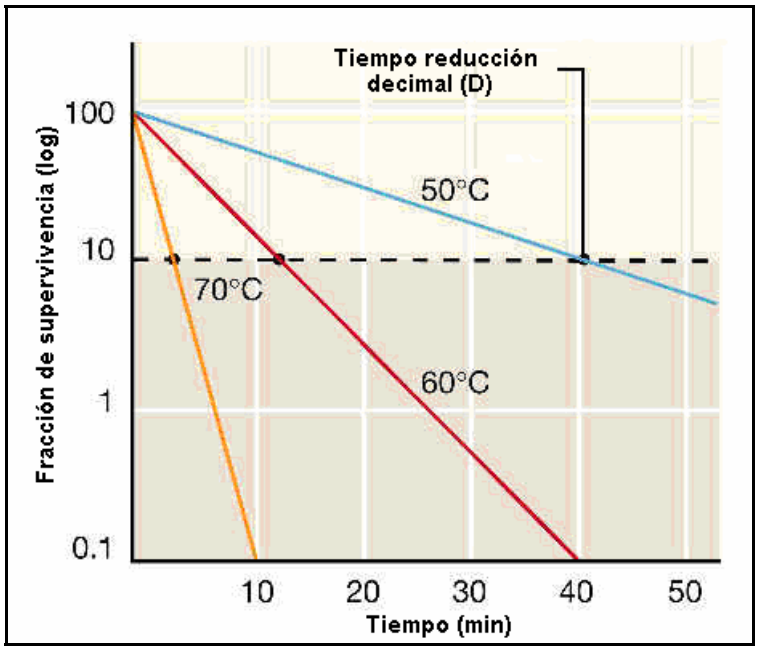


FIGURA 2-2: Curvas tiempo/temperatura de destrucción de algunos microorganismos (Bylund, 2003)

Las técnicas existentes para el tratamiento térmico de la leche se basan, preferentemente, en tiempos cortos de contacto a temperaturas elevadas, por dos razones fundamentales: en primer lugar, porque el producto se degrada más intensamente a causa de tiempos prolongados que debido a temperaturas elevadas y, en segundo lugar, porque tiempos cortos suponen una velocidad de producción mayor. En la Tabla 2-5 se indica un resumen de los tratamientos térmicos que se realizan en la industria en la actualidad.

TABLA 2-5: Principales categorías de los tratamientos térmicos en la industria láctea (Bylund, 2003)

Proceso	Temperatura	Tiempo
Termización	63-65ºC	15 s
Pasteurización LTLT	63ºC	30 min
Pasteurización HTST de la leche	72-75ºC	15 - 20 s
Pasteurización HTST de la nata, etc.	<80ºC	1 – 5 s
Ultra Pasteurización	125-138ºC	2 – 4 s
Esterilización UHT	135-140ºC	< 4 s
Esterilización en el envase	115-120ºC	20 – 30 min

Actualmente, los tratamientos térmicos que se usan con más frecuencia en la industria láctea son la pasteurización y el denominado proceso UHT (*Ultra High Temperature*).

Pasteurización

Actualmente, el proceso que se lleva a cabo es la denominada pasteurización HTST, del inglés *High Temperature Short Time* (temperatura elevada - tiempo reducido), el cual implica un calentamiento hasta 72-75ºC durante un tiempo de 15-20 s. La leche así obtenida ha de conservarse en frío a unos 5-7ºC, teniendo una vida útil de 8-10 días, si el envase no se abre. Se obtiene un producto con semejante valor nutritivo y características organolépticas de la leche sin tratar (Boor, 2001).

La conservación en frío es necesaria para retardar el desarrollo de microorganismos en estado esporulado, ya que mediante este tratamiento sólo se eliminan aquellos que se encuentran en su forma vegetativa. De igual forma es necesario protegerla de la luz tanto natural como artificial, pues esto también puede afectar negativamente a la calidad de la leche. También es necesario que la leche cruda inicial sea de buena calidad y que las condiciones de fabricación sean óptimas.

Esterilización

Se trata de un tratamiento térmico a temperaturas más elevadas que busca inactivar todos los microorganismos y sus formas esporuladas y la mayor parte de las enzimas resistentes al calor presentes en el producto. De esta forma el alimento puede almacenarse durante largos

períodos de tiempo sin estropearse y sin necesidad de refrigeración, manteniendo un elevado nivel de calidad. En la Figura 2-3 se pueden observar los efectos de los distintos tipos de tratamientos de esterilización sobre las esporas y enzimas de la leche.

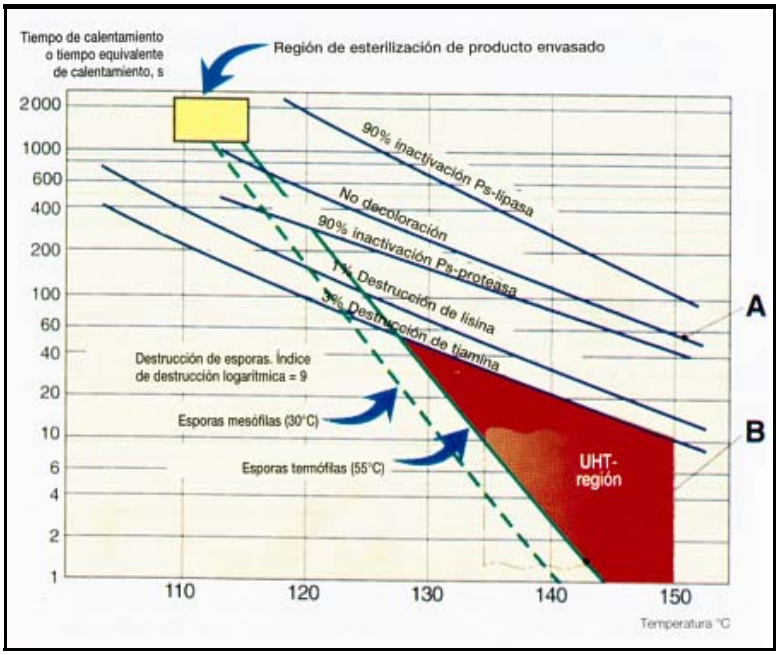


FIGURA 2-3: Líneas límite para la destrucción de esporas y efectos sobre la leche (Tetra Pak, 1995)

Ultra High Temperature (UHT)

Consiste en un calentamiento casi instantáneo de la leche a unos 135-150ºC durante un tiempo de unos 2-5 s. En este caso el producto puede llegar a durar de 3 a 6 meses a temperatura ambiente en un envase sin abrir, en caso contrario debe almacenarse en frío. (Bylund, 2003).

Aunque la leche UHT y la leche ultrapasteurizada están expuestas a tiempos similares de tratamiento y temperaturas, la leche UHT se envasa asépticamente y, por lo tanto, puede conservarse varios meses a temperatura ambiente mientras que la leche ultrapasteurizada no se envasa asépticamente y puede conservarse 2-3 meses en condiciones de refrigeración. (Boor, 2001).

A continuación de este procesado aséptico es necesario un envasado también en condiciones asépticas, para asegurar una conservación adecuada. Por tanto, cualquier almacenamiento intermedio entre tratamiento y envasado ha de realizarse en las mismas

condiciones. De esta forma se consigue que la vida útil de la leche sea de 3 a 6 meses a temperatura ambiente, siempre que no se abra el envase, en ese caso ha de almacenarse en frigorífico y ser consumida en los días siguientes, pues la contaminación puede desarrollarse muy rápidamente.

Los equipos que se emplean para llevar a cabo estos tratamientos a temperaturas elevadas pueden clasificarse en dos grupos fundamentales: *sistemas directos e indirectos*.

En los sistemas directos el calentamiento se consigue mezclando el producto con vapor a presión. Comparado con los sistemas indirectos, la transmisión de calor es mucho más rápida y el tiempo de residencia menor. En los sistemas indirectos, realizados con intercambiadores de calor, paredes sólidas separan el medio de transmisión de calor, normalmente agua o vapor y el producto lácteo (Grijspeerdt, 2003).

Esterilización en botella

En este caso, el calentamiento alcanza temperaturas comprendidas entre 105 - 140 ºC durante un tiempo de 15 - 20 minutos. Como el tiempo del tratamiento es muy elevado, en este caso aunque también se alcanza una duración del producto a temperatura ambiente de varios meses, las pérdidas nutritivas son importantes, pues se produce la pérdida de las vitaminas A, B_1, B_6 y C, además de la desnaturalización de proteínas de elevado valor biológico; por tanto, esta leche puede considerarse que tiene una calidad nutritiva menor con un cierto tono amarillento y ligero *sabor a cocido* (Bylund, 2003).

El proceso térmico, en este caso, se lleva a cabo con el producto envasado. Pudiendo tener lugar mediante:

- Proceso discontinuo en autoclave estático o rotatorio, estos últimos presentan mayor velocidad de transmisión de calor así como mayor uniformidad en la eliminación de microorganismos.
- Proceso continuo mediante esterilizadores verticales u horizontales.

En la Figura 2-4 se puede observar un esquema de los tratamientos descritos anteriormente.

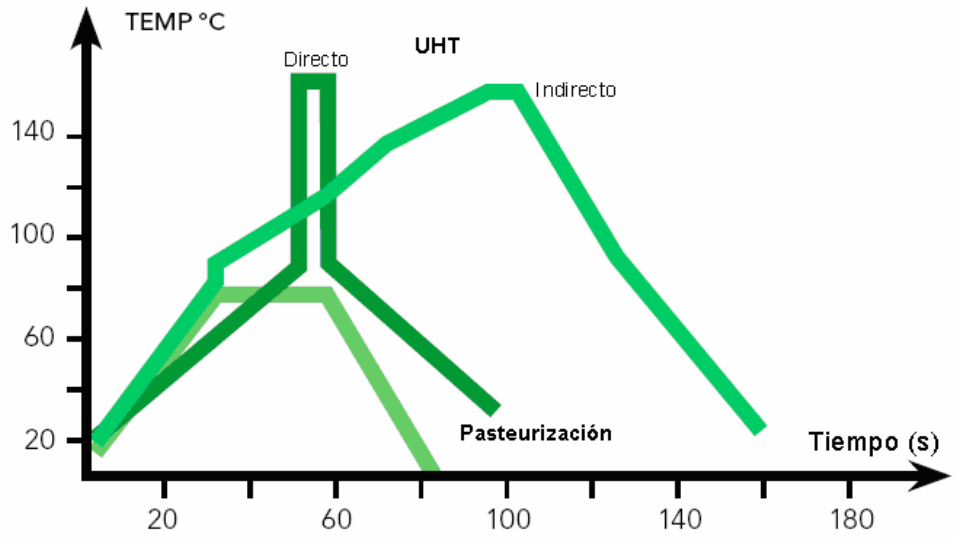


FIGURA 2-4: Temperatura *vs*. tiempo de los distintos tratamientos térmicos (www.tetrapak.com)

Por tanto, mientras que con la pasteurización se consigue un producto con calidad elevada pero con una vida útil reducida, con el proceso UHT se consigue un producto con vida más larga, incluso a temperatura ambiente, pero con una calidad inferior.

2.1.4. Problemática de los tratamientos térmicos

Cuando la leche se mantiene a una temperatura elevada durante mucho tiempo con la finalidad de destruir los microorganismos patógenos, se producen reacciones a nivel químico que pueden modificar las características organolépticas de la leche cruda (Contarini *et al*., 1997; Contarini y Povolo, 2002). Además, varios trabajos sobre leche tratada térmicamente han mostrado que las condiciones de almacenamiento pueden causar un aumento de algunos compuestos volátiles generalmente debido a actividad enzimática residual (Valero *et al*., 2001).

Por un lado, las reacciones químicas ocasionan una *alteración en el color* (Reacciones de Maillard), oscureciéndolo. Este proceso se conoce con el nombre de pardeamiento no enzimático, debido a la formación de pigmentos coloreados por reacción del grupo amino de las proteínas con el grupo carbonilo de los azúcares. Al mismo tiempo y también por efecto de la temperatura, se puede producir un *sabor a cocido*, debido a la liberación de compuestos que contienen azufre (entre ellos la proteína β-lactoglobulina) o *sabor a caramelo,* a causa de la

caramelización de los azúcares existentes en la leche, efecto aún más importante que el anterior (Alais, 2008).

Por otro lado, el hecho de someter a la leche a temperaturas elevadas, también tiene un efecto sobre los componentes nutritivos, pues se produce la *desnaturalización parcial de proteínas*, por la cual su estructura, a causa de la modificación de ciertos enlaces de la molécula, se ve alterada y pierden sus propiedades funcionales. Se ha de tener en cuenta que, en este caso, se ven mucho más afectadas las proteínas del lactosuero que la caseína, entre ellas aquellas que componen la membrana del glóbulo graso, lo que conlleva que los ácidos grasos puedan quedar liberados junto con compuestos que contienen azufre dando cierto sabor a rancio. Los enzimas, por ser un tipo de proteína, también se ven afectados, pues el tratamiento térmico inhibe parcial o totalmente su actividad.

Respecto a las vitaminas presentes en la leche sólo la vitamina C se ve afectada mediante tratamientos térmicos moderados, fundamentalmente por efecto de la esterilización en botella, ya que los tiempos reducidos del tratamiento UHT o las reducidas temperaturas de la pasteurización apenas afectan a ninguna de las que están presentes (Bylund, 2003).

Un efecto importante del tratamiento térmico a temperaturas superiores a las de pasteurización se produce sobre las sales minerales, fundamentalmente sobre el hidroxifosfato cálcico pues éste pierde solubilidad, modificando así las propiedades de la leche. Considerando que la leche es uno de los principales alimentos para el aporte de calcio en la dieta humana, parece interesante que el producto puesto en el mercado tenga este mineral lo menos alterado posible (la adición de calcio es, al fin, un método artificial de compensar las pérdidas de calcio en el proceso de fabricación).

2.2. Leche ESL

Desde hace algunos años, la leche fresca con vida útil extendida, denominada ESL (*Extended Shelf Life*) empieza a abrirse camino en varios países entre la leche pasteurizada tradicional, con sus escasos días de vida, y la leche UHT, con su caducidad, desde el punto de vista bacteriano, larga pero con significativas alteraciones de las propiedades organolépticas.

La leche ESL supone la posibilidad de alargar la vida útil de una gama de productos alimenticios que se pueden conservar en frío más allá de los tradicionales límites de conservación. Este tipo de leche se beneficia de una creciente aceptación porque une al sabor y la naturalidad de la leche pasteurizada las ventajas que posee la leche UHT cuya caducidad es más larga.

La calidad de la leche ESL no depende únicamente del proceso de fabricación. La suma de una serie de medidas asegura que puedan lograrse una caducidad prolongada de hasta 21 días y una calidad casi constante (Dyck, 2005). Estas medidas son las siguientes:

- Una buena calidad de leche cruda (<50 000 UFC/mL)
- Un calentamiento más suave
- Una desactivación de esporas termolábiles, sobretodo de las esporas psicrotróficas
- Una desaireación eficaz para eliminar los extraños olores estacionales de la leche
- Una preesterilización del equipo de calentamiento y de las posteriores vías de producto hasta la máquina envasadora
- Una permanente defensa contra una reinfección en el tramo "aguas abajo"
- Técnica de envasado según el estándar ESL, por ejemplo envasado con esterilización del envase
- Envasado sin aire
- Mantenimiento constante de la temperatura del producto a 6 ºC en el envase hasta el muelle de la fábrica
- Mantenimiento de una cadena de frío ininterrumpida a una temperatura máxima de 8ºC hasta la fecha de caducidad del producto

Son muchas las ventajas que proporcionan este tipo de productos, tanto para el productor como para el consumidor. Los productores pueden ampliar la distribución con posibilidad de exportación y obtienen una mayor confianza en los productos por parte de los clientes. Al aumentar la seguridad alimentaria se reduce el número de productos rechazados. Para los consumidores, una vida útil más larga permite reducir los ciclos de compra, desapareciendo los momentos de desabastecimiento en el hogar y en el comercio ocasionados por frecuentes rupturas de stock.

2.2.1. Tecnologías de tratamiento ESL

Se pueden obtener diferentes tipos de leche ESL en función del tratamiento efectuado, lo cual influirá sobre el frescor y el tiempo de caducidad de la misma durante su almacenamiento en la cadena de frío.

Alta presión hidrostática (HP)

Los procesos con elevadas presiones o HP (*High Pressure*) (100-1000 MPa) son uno de los métodos más prometedores en el tratamiento de alimentos y en la conservación a temperatura ambiente (Cheftel, 1992). Presiones entre 300 y 600 MPa han demostrado ser un método efectivo para inactivar microorganismos incluyendo los patógenos. Además de la destrucción bacteriana, se ha demostrado que mejora las propiedades de cuajado y coagulación ácida de la leche sin afectar a las características que denotan la calidad como el sabor, el aroma, las vitaminas y los nutrientes. Estas características ofrecen a la industria láctea numerosas aplicaciones prácticas para conseguir seguridad microbiológica, productos lácteos mínimamente procesados con comportamientos mejorados y el desarrollo de nuevos productos lácteos de elevado valor nutricional, calidad sensorial y vida útil prolongada (Trujillo *et al.*, 2002).

Muchos estudios sobre la inactivación de patógenos y microorganismos responsables del deterioro (presentes de forma natural o inoculados) por HP han demostrado que es posible obtener leche cruda presurizada 400-600 MPa con una calidad microbiológica comparable con la de la leche pasteurizada (72ºC, 15 s) dependiendo de la calidad microbiológica de la leche de partida (Kolakowski *et al.*, 1997; Mussa y Ramaswamy, 1997; Bufa *et al.*, 2001) pero no de la leche esterilizada debido a las esporas resistentes a las HP (Trujillo *et al.*, 2002).

La combinación de altas presiones con tratamientos térmicos suaves (30-50ºC) y la posibilidad de adición de bactericidas para la inhibición de bacterias y esporas endógenas, ha demostrado mejorar sustancialmente la eficacia del tratamiento de HP, incluso en ocasiones mostrando fenómenos sinérgicos en la inactivación entre los tratamientos de altas presiones y las sustancias antimicrobianas (García-Graells *et al.*, 1999; Alpas y Bozoglu, 2000; Morgan *et al.*, 2000). Además, no se produce ningún tipo de daño en la membrana de los glóbulos grasos de la leche y ha sido probada la ausencia de un aumento en la lipólisis (Gervilla *et al.,* 2001).

Los retos ingenieriles en la aplicación de las altas presiones en Ingeniería Alimentaria son, básicamente, la fabricación de cámaras de presión para el manejo de grandes volúmenes de alimentos y la resistencia a presiones elevadas. La cámara debe tener un tiempo de ciclo corto, ser fácil de limpiar y segura de operar para poder trabajar en procesos continuos.

Campos eléctricos pulsantes

El procesado de alimentos con campos eléctricos pulsantes o PEF (*Pulsed Electric Field*) es una nueva tecnología para la inactivación de microorganismos y de enzimas que se realiza a temperatura ambiente o bajo temperaturas de refrigeración, con la aplicación de una breve descarga de alto voltaje a alimentos situados entre dos electrodos. El campo eléctrico se aplica a fluidos en forma de pulsos cortos con una duración del pulso en el intervalo comprendido entre unos pocos microsegundos y algunos milisegundos. Como los alimentos se procesan en un reducido periodo de tiempo, el calentamiento del producto es mínimo (Barbosa – Cánovas *et al.*, 1999).

Los campos eléctricos pulsantes pueden inactivar microorganismos y enzimas. Para conseguirlo, es necesario exceder cierto valor crítico o umbral de intensidad (20–80kV/cm) al que tiene lugar la electroporación o formación de poros en la membrana. La inactivación de esporas se puede conseguir combinando la tecnología de campos eléctricos con métodos térmicos. El alimento tratado debe ser almacenado bajo temperaturas de refrigeración (entre 4-6ºC) para mantener una vida comercial larga (Barbosa – Cánovas *et al.*, 1999).

La calidad de la leche pasteurizada térmicamente, en términos de características de aspecto fresco natural, es pobre comparada con la leche pasteurizada eléctricamente. Este tipo de pasteurización no llegó a alcanzar desarrollo comercial por la dificultad para diseñar un equipo en el que se pueda controlar la temperatura y la necesidad de una capacidad adecuada para manejar grandes volúmenes de leche.

Conservación con CO_2

La leche es un buen medio de cultivo para los microorganismos. La refrigeración de la leche cruda reduce la tasa de crecimiento de las bacterias mesófilas pero favorece la

proliferación de los microorganismos psicrótrofos. Aunque estos últimos son inactivados por los tratamientos térmicos comunes pueden producir proteasas y lipasas termorresistentes exo-celulares que son capaces de degradar varios componentes de la leche (Kraft, 1992).

Un procedimiento para prevenir la proliferación de microorganismos es la adición de CO_2 a la leche cruda refrigerada (King y Mabbit, 1982; Espie y Madden, 1997). Éste es un método asequible para alargar la conservación en frío de la leche en la granja o en la planta de procesado. La acidificación a pH 6.2, con periódicos reajustes por burbujeo de gas, han probado ser eficientes para prolongar la conservación en frío en la leche cruda. La desgasificación anterior a la pasteurización proporciona una leche aceptable para su consumo (Amigo *et al.*, 1995; Ruas-Madiedo *et al.*, 1996).

En conclusión, la adición de CO_2 a la leche cruda inhibe el crecimiento de microorganismos sin afectar la estabilidad de las vitaminas liposolubles. La posterior desgasificación y pasteurización retira parte del CO_2 y la convierte en una leche apta para el consumo o procesado. El CO_2 residual no eliminado por la desgasificación alarga la vida útil de la leche pasteurizada por inhibición de los microorganismos supervivientes durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración (Ruas-Madiedo *et al*., 1998).

HTT (High Heat Treatment)

La ruta más obvia para obtener leche ESL sin sacrificar las características organolépticas de la leche pasteurizada es aplicar un tratamiento térmico que destruya más microorganismos que la pasteurización pero que no alcance la esterilidad comercial como el proceso UHT. Esto puede conseguirse calentando la leche a una temperatura relativamente elevada durante poco tiempo, seguido de un enfriamiento rápido. Varias tecnologías diferentes han sido desarrolladas para conseguir un proceso con estas características, tanto con métodos directos como con indirectos.

El calentamiento directo es el proceso más frecuentemente usado para la producción de leche ESL. Típicamente, la temperatura de la leche precalentada puede aumentarse de 70ºC a una temperatura entre 120-145ºC y ser mantenida durante 0.5-4.0 s. Se lleva a cabo un enfriamiento rápido a 70-80ºC para minimizar el daño al producto.

Los procesos de calentamiento directo más comunes son la *inyección* y la *infusión* de vapor. En los procesos de inyección de vapor, se inyecta vapor por aspersión en la leche en una cámara de mezclado, mientras que en la infusión de vapor se pulveriza leche por aspersión en un ambiente de vapor.

El calentamiento indirecto con cambiadores de calor puede ser empleado para procesos similares, 125ºC durante 2 segundos.

Mediante este tratamiento se obtiene una leche con una calidad nutricional semejante a la obtenida en la pasteurización, pues sólo una proporción pequeña de proteínas se ven afectadas, debido a que las temperaturas elevadas se mantienen durante un periodo de tiempo muy breve.

Bactofugación

Un método tradicional para la reducción del número de esporas es la bactofugación. Este proceso consiste en la separación mecánica y concentración de la carga bacteriana, utilizando una centrífuga especialmente diseñada para esta aplicación.

La bactofugación es especialmente efectiva contra las esporas por su relativamente elevada densidad (1.2-1.3 g/L). Cuanto mayor sea la temperatura de la leche, menor será la viscosidad y es más fácil separar de ella los microorganismos más densos. La temperatura ideal se encuentra entre 55 y 60ºC. Las células bacterianas comunes tienen una densidad mucho más baja y, por ello, son más complicadas de eliminar. Una máquina de este tipo trabajando a su capacidad nominal puede eliminar un 98 % de las esporas anaerobias, 95% de las esporas aerobias y reduce el recuento total alrededor de un 86 %. Todo este proceso tiene lugar sin separación de fases en un sistema cerrado, en ausencia de aire (Stack y Sillen, 1998).

El uso de la bactofugación en las leches de consumo permite al productor reducir la temperatura de pasteurización y, por lo tanto, mejorar la calidad del producto al elimiminar organismos termorresistentes. A la salida de la bactofugación la leche debe ser tratada cuidadosamente para evitar la contaminación del producto.

La doble bactofugación de la leche previa a la producción de queso con centrífugas modernas puede conseguir reducciones de más del 99% del número de esporas presentes originariamente. Esta reducción sería suficiente para producir queso sin ningún riesgo. La doble bactofugación requiere mayor inversión que una bactofugación simple (Waes y van Heddeghem, 1990).

La bactofugación tiene un requerimiento energético elevado y su efecto de reducción de esporas es relativamente limitado, lo que permite alargar la vida útil de la leche ligeramente (entre 3 y 5 días) (Guerra *et al.*, 1998).

Tecnología con membranas: Microfiltración

Los procesos de separación por microfiltración están basados en el uso de membranas. Una membrana es una barrera selectiva que permite el transporte de unos componentes e impide el de otros. Éstas contienen poros por los que pasan las especies en función del tamaño molecular de las mismas. La microfiltración puede reducir la cantidad de bacterias y esporas sin afectar al sabor de la leche y proporciona una vida útil mayor que la pasteurización, puesto que puede llevarse a cabo a bajas temperaturas o a temperatura ambiente.

La distribución de tamaños de las bacterias en la leche está comprendida entre 0.4 y 2 micras y solapan parcialmente con el tamaño de los glóbulos grasos (Brans *et al.*, 2004) por lo que las operaciones de microfiltración se realizan con leche desnatada para evitar el rápido ensuciamiento de la membrana.

Los procesos con membranas tienen el atractivo de su bajo consumo energético, su elevada eficacia de separación y la mejora en el producto final.

Los aspectos fundamentales de esta tecnología y la evolución de la misma en los últimos años, respecto a esta aplicación, se detallará más adelante en el apartado 2.3.

2.2.2. Legislación

En España, el marco legal que se encarga de regular las condiciones sanitarias para la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos

es el Real Decreto 1728/2006, de 21 de diciembre, por el que se establece la normativa básica de control que deben cumplir los operadores del sector lácteo.

Por un lado, el Reglamento (CE) 2597/97 del Consejo, de 18 de diciembre, establece las normas complementarias de la organización común de mercados en el sector de la leche. Se consideran leches aptas para el consumo, la leche cruda y las leches tratadas térmicamente, dentro de estas últimas se pueden diferenciar según su contenido en materia grasa (m/m): leche entera (mínimo 3.5 %), semidesnatada (entre 1.5 y 1.8 %) y desnatada (máximo 0.8 %).

Además la leche de consumo deberá cumplir los requisitos siguientes:

- Tener un punto de congelación cercano al punto de congelación medio de la leche cruda en la zona de recogida (igual o inferior a -0.52ºC). De esta forma se trata de detectar la presencia de fraudes por adición de agua.
- Tener una densidad superior o igual a 1028 g/L comprobado en leche entera a una temperatura de 20 ºC o el equivalente para leches con menor contenido de materia grasa (apartado 2.1.).
- Tener un mínimo comprobado de 2.9 % (m/m) de materias proteicas en leche entera o el equivalente para leches de menor contenido de materia grasa.
- Tener un extracto seco magro superior o igual a 8.5 % (m/m) comprobado en leche entera o el equivalente para leches con menor contenido de materia grasa.

Por otro lado, la Directiva 92/46/CEE, de 16 de junio, establece las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos, incorporada a nuestro derecho interno por Real Decreto 1679/1994, de 22 de julio. Además de los aspectos sanitarios, establece los tipos de leche de consumo tratada térmicamente y las normas para su producción que también afectan a los tratamientos y procesos tecnológicos que pueden utilizarse en su elaboración.

Según estas normas se puede definir:

- Leche cruda: *"Leche producida por la secreción de la glándula mamaria de una o más vacas, ovejas, cabras o búfalas y que no haya sido calentada a una temperatura superior a 40ºC ni sometida a un tratamiento térmico equivalente"*.

- Tratamiento térmico: *"Cualquier tratamiento por calentamiento que, inmediatamente después de su aplicación, tenga como consecuencia una reacción negativa a la prueba de la fosfatasa alcalina"*.

La determinación de la fosfatasa alcalina se encuentra recogida en el Reglamento (CE) No 1664/2006, de 6 de noviembre de 2006, que establece:

1. Para determinar la actividad de la fosfatasa alcalina debe aplicarse la norma ISO 11816-1 como método de referencia.

2. La actividad de la fosfatasa alcalina se expresa en miliunidades de actividad enzimática por litro (mU/L). Una unidad de actividad de fosfatasa alcalina es la cantidad de enzima de fosfatasa alcalina que cataliza la transformación de 1 micromol de sustrato por minuto.

3. Se considera que un ensayo de fosfatasa alcalina arroja resultados negativos si la actividad medida en la lecha de vaca es igual o inferior a 350 mU/L.

4. El uso de métodos de análisis alternativos es aceptable siempre y cuando los métodos se validen con respecto al método de referencia mencionado en el punto 1 de conformidad con protocolos aceptados internacionalmente.

La leche cruda contiene gran número de enzimas pero la destrucción térmica característica de la fosfatasa alcalina permite ser utilizada para comprobar que se ha alcanzado el correcto tratamiento tiempo/temperatura de pasteurización. La enzima puede ser identificada de forma rápida y barata y junto a la sensibilidad del *test* ha probado ser extremadamente útil durante muchas décadas. La fosfatasa alcalina es inactivada por las condiciones típicas de calentamiento de la pasteurización (60ºC 30 min o 72ºC 15s) por ello su ausencia en la leche tratada térmicamente ha sido empleada como un indicador válido de que se ha aplicado un tratamiento adecuado para destruir bacterias patógenas (Law y Goodenough, 1995).

Para conseguir dicha inactivación están permitidos 3 procesos: *Pasteurización*, a continuación de la cual es necesario mantener el producto a una temperatura máxima de 6ºC. *Proceso UHT*, mediante el cual se trata de destruir todos los microorganismos y sus esporas, de modo que después de 15 días a 30ºC no sea perceptible alteración alguna y *Esterilización*, con semejantes condiciones a la anterior.

Los criterios microbiológicos que ha de cumplir la leche de vaca tras su envasado según la Directiva 92/46/CEE, son los siguientes:

Leche cruda destinada al consumo directo:

- *El contenido de gérmenes a 30 ºC (por mL) ha de ser menor o igual a 50 000 ufc/mL (en media geométrica observada durante un período de dos meses, con dos muestras, por lo menos, al mes).*
- *Presencia de Staphylococcus aureus (por mL):* **n**=*5,* **m**=*100,* **c**=*2,* **M**=*500*
- *Presencia de Salmonella: ausente en 25 g,* **n**=*5,* **c**= *0.*

siendo:

n: número de unidades de que se compone la muestra.

m: valor umbral del número de bacterias; el resultado se considera satisfactorio si todas las unidades de que se compone la muestra tienen un número de bacterias igual o menor que m.

c: número de unidades de la muestra cuyo número de bacterias podrá situarse entre m y M, la muestra seguirá considerándose aceptable si las demás unidades de las que se compone tiene un número de bacterias igual o menor que m.

M: valor límite del número de bacterias; el resultado se considera no satisfactorio si una o varias unidades de las que componen la muestra tienen un número de bacterias igual o mayor que M.

Leche pasteurizada:

- *El contenido de gérmenes patógenos: ausentes en 25 g,* **n**=*5,***m**=*0,* **c**=*0,* **M**=*0*
- *Presencia de coliformes (por mL) :* **n**=*5,* **m**= *0,* **c**=*1,* **M**=*5*

- *Después de la incubación a 6 ºC durante 5 días ha de presentar un contenido de gérmenes a 21 ºC (por mL):* **n**=*5,* **c**=*1,* **m**=*5* 10^4, **M**=*5* 10^5.

Leche UHT y esterilizada:

- *El contenido de gérmenes a 30 ºC (por 0.1 mL): menor o igual a 10.*
- *Control organoléptico: normal*
- *Sustancias farmacológicamente activas: no deberán superar los límites establecidos en los anexos I y II del Reglamento (CEE) 2377/90.*

En cualquiera de ellas el total combinado de los residuos de todas las sustancias no podrá superar un valor fijado con arreglo al procedimiento previsto en el Reglamento (CEE) 2377/90.

El 14 de febrero de 2006, mediante la Orden PRE/406/2006, se derogaron las anteriores órdenes que establecían los requisitos respecto a la fecha de caducidad de la leche pasteurizada, hasta 7 días como máximo y la de la leche UHT y esterilizada.

Se suprime la fecha de caducidad de la leche pasteurizada establecida en la anterior normativa, por no estar contemplada en las nuevas directrices de la Unión Europea, que consideran que es el propio elaborador del producto el responsable del establecimiento de la fecha de duración mínima que figure en el etiquetado y quién garantice que el producto cumple con los requerimientos tanto sanitarios como de composición durante toda su vida útil. De esta forma se eliminan posibles obstáculos a la libre circulación en la Unión Europea de la leche pasteurizada con una fecha límite de consumo más amplia, como consecuencia de la aplicación de procedimientos tecnológicos autorizados.

La leche comercializada en Europa mediante un proceso de microfiltración sin incluir un tratamiento térmico se debe incluir dentro de las leches crudas y para la comercialización de la leche con la etiqueta de leche pasteurizada, debe combinarse con un tratamiento térmico en las condiciones, como mínimo, de la desactivación de la fosfatasa alcalina.

Programas de Mejora de la Calidad de Leche en España

La entrada en la C.E.E supuso un cambio importante, se empezó a regir la obtención de la leche cruda por Directivas comunitarias, Reales Decretos en los cuales dejaban muy claro cual debería ser la leche legal. El RD 1679/1994 es una transposición de la Directiva 92/46/CEE y establecía las condiciones sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos. El Anexo A contempla las condiciones de recepción de la leche cruda en los establecimientos de tratamiento y/o transformación. El capítulo I habla de las disposiciones de sanidad animal aplicables a la leche cruda, el capítulo II habla de la higiene de la explotación, el capítulo III habla de la higiene del ordeño, de la higiene de los locales de recogida, de la higiene del personal, de la higiene de la producción, el capítulo IV (el decisivo) dicta las normas que deberán respetarse en el momento de la recogida de la leche cruda en la explotación de producción o en el momento de recepción de la leche cruda en el establecimiento de tratamiento o transformación, quedando de esta manera: La leche cruda de vaca destinada a la producción de leche de consumo tratada térmicamente, de leche fermentada, gelificada o aromatizada y de natas, así como la de otros productos lácteos cumplirá con un contenido de gérmenes mesófilos a 30 (por ml) menor o igual a 100 000 (media geométrica observada en un periodo de 2 meses con 2 muestras por lo menos al mes) y un contenido en células somáticas menor o igual a 400 000 (media geométrica observada en un periodo de 3 meses con una muestra por lo menos al mes).

También cambió el sistema de pago de la leche, hasta la entrada en la C.E.E (campaña 1985-1986) los precios mínimos de compra de leche en origen y los criterios de pago se establecían por decreto. El ingreso en la C.E.E cambia la normativa, se establecen precios indicativos y normas en la que se especifican las condiciones sanitarias aplicables a la producción y comercialización de la leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos. Desde este momento los sistemas de pago por calidad no se reflejan en ninguna normativa oficial, serán a partir de entonces acuerdos interprofesionales los que fijarán los criterios de pago y con este acontecimiento nacen los Laboratorios Interprofesionales, que son los organismos arbitrales reconocidos por ambas partes (ganaderos e industriales) para desarrollar un sistema de pago por calidad con garantías de funcionamiento.

Los parámetros de pago que se utilizan actualmente son:

- Grasa
- Proteína
- Recuento de gérmenes totales
- Recuento de células somáticas
- Punto crioscópico
- Ausencia de inhibidores

En la Tabla 2-6 se puede ver cuáles son los criterios en la actualidad.

TABLA 2-6: Criterios de calidad de la leche en el pago al ganadero

	TIPO	PRIMA	PENALIZACIÓN
Materia grasa	3.7%	>3.7%	<3.7%
Proteína	3.2%	>3.2%	<3.2%
BACTERIOLOGÍA			
DOBLE A		≤ 50 000	PRIMA
Clase A		≤ 100 000	
Clase B		100 000 – 400 000	PENALIZACIÓN
Case C		>400 000	PENALIZACIÓN
RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS			
DOBLE A		≤250 000	PRIMA
Clase A		≤400 000	
Clase B		400 000 – 600 000	PENALIZACIÓN
Clase C		>600 000	PENALIZACIÓN

2.3. Procesos con membranas

2.3.1. Introducción y conceptos básicos

Las membranas pueden ser definidas como barreras semipermeables que separan en dos corrientes y restringen el paso de varias sustancias de forma específica.

La función primordial de la membrana es actuar como barrera selectiva, permitiendo el paso de determinados componentes y la retención de otros de una determinada alimentación. Su selectividad está relacionada con las dimensiones de la molécula o la partícula de interés (Cheryan, 1998).

Existe una amplia bibliografía que aborda aspectos generales de las técnicas con membranas, fabricación, comportamiento y aplicaciones en donde se puede encontrar información muy detallada. A continuación, solamente se indican algunos aspectos básicos relacionados con las técnicas (Ho y Sirkar, 1992).

Tipos de membranas

En general, las características más importantes de las membranas son: grosor, diámetro de poro, permeabilidad al disolvente y porosidad. Otros parámetros importantes son: densidad de flujo de permeado, resistencia térmica, química y mecánica (Ostergaard, 1989).

En relación a su **estructura,** las membranas pueden ser clasificadas en *simétricas* y *asimétricas*. La asimetría se considera con respecto a la estructura interna de las membranas. Las membranas simétricas contienen tamaños de poro uniformes en su sección transversal mientras que en las asimétricas los poros son más grandes cuanto más lejos están de la superficie filtrante (Cheryan, 1998).

Desde el punto de vista de la **morfología**, las membranas pueden dividirse en dos grandes grupos: *densas* y *porosas*. Las membranas son densas cuando el transporte de componentes conlleva una etapa de disolución y difusión a través del material que constituye la membrana. Por otro lado, la membrana se denomina porosa cuando el transporte del permeado tiene lugar en la fase líquida continua que rellena los poros de la membrana.

Según su **geometría** se pueden clasificar en:

Membranas tubulares

Están constituidas por tubos porosos en cuya superficie interior está fijada la capa filtrante.

Membranas de fibras huecas

Son como las membranas tubulares pero compuestas de tubos de pequeño diámetro. La diferencia con las tubulares radica en que en el caso de las fibras huecas, éstas están constituidas por la capa activa que hace también de soporte.

Membranas planas

Es la configuración más simple y más antigua. Puede presentarse en forma de placas unitarias o en forma de cartucho.

Membranas espirales

En este tipo de configuración, las membranas planas son arrolladas alrededor de un tubo perforado y hueco destinado a conducir el permeado.

Otras características particulares pueden encontrarse en numerosos artículos y libros especializados.

La membranas sintéticas comercializadas se elaboran con dos tipos distintos de materiales: polímeros de compuestos orgánicos, como: acetato de celulosa, poliamida y polisulfona, o materiales inorgánicos, como: metales y cerámica (Cuperus y Nijhuis, 1993) y pueden dividirse en tres clases según su evolución tecnológica:

Membranas de acetato de celulosa:

Estas membranas fueron empleadas originariamente para la desalinización de agua marina. Son sensibles al pH (3-8) y a la temperatura (máximo 50ºC) y también son sensibles a los microorganismos y a los agentes desinfectantes (Cheryan, 1998).

Segunda de polímeros sintéticos:

Membranas elaboradas con polímeros sintéticos, principalmente polisulfona o derivados del poliolefinas. Son resistentes a la hidrólisis (rotura de los enlaces internos del polímero), a ácidos y bases fuertes y a elevadas temperaturas, pero presentan moderada resistencia a la compactación mecánica (Porter, 1990) y en algunos casos a determinados agentes químicos (halógenos, etc.).

Membranas cerámicas:

En el proceso de elaboración de estas membranas se sintetiza y prensa silicato de aluminio, titanio, etc. granulado, arcilla y óxido de metal en polvo. A partir de ahí, se forma una estructura porosa áspera con una repartición relativamente amplia del tamaño de poro. El diámetro de un poro promedio se puede ajustar entre los 0.1 y 100 μm, esto se determina por el tamaño de los granos de polvo utilizado. Las capas cerámicas delgadas se pueden conseguir con el método sol-gel. El soporte se cubre con una suspensión de partículas finas de metal dispersas. El soporte más frecuente suele ser Al_2O_3 o carbono, mientras que la capa separadora puede ser de TiO_2, ZrO_2 o Al_2O_3.

Presentan elevada resistencia mecánica y soportan elevadas presiones. También toleran todo el intervalo de pH (0-14), temperaturas por encima de los 400ºC y son químicamente inertes, pero son caras y frágiles.

Tipos de operaciones con membranas

Algunos de los parámetros más importantes que influyen en las operaciones con membranas son la composición química, temperatura, presión, flujo de alimentación e interacciones entre los componentes en la corriente de alimentación y la superficie de la membrana.

El factor que distingue los procesos con membranas más comunes – microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF) y ósmosis inversa (OI) – es la aplicación de la presión como fuerza impulsora del transporte de materia (Cheryan, 1998).

Según la *dirección del flujo* respecto a la membrana, se pueden distinguir la ***filtración convencional o frontal (dead-end filtration)***, donde el flujo de fluido *es perpendicular* a la superficie de la membrana, de forma que los solutos se depositan en ella, requiriendo la

interrupción periódica de la operación para limpiar o sustituir el filtro. En la ***filtración tangencial (cross-flow filtration),*** la alimentación circula paralela a la superficie de la membrana y el soluto que tiende a acumularse en la superficie de la membrana es arrastrado debido a las elevadas velocidades, haciendo el proceso más eficiente como se puede ver en la Figura 2-5.

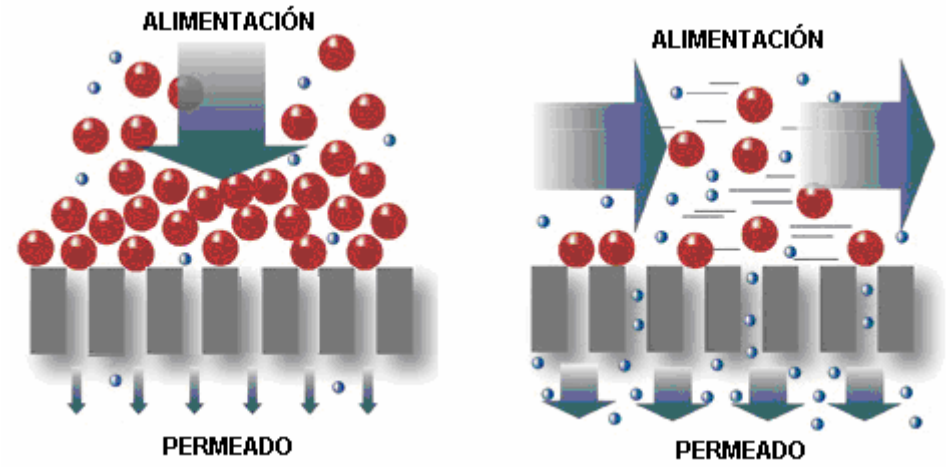


FIGURA 2-5: Filtración tangencial y filtración frontal (www.tetrapak.com)

Ensuciamiento de la membrana

El ensuciamiento de la membrana puede ser reversible o irreversible. El ensuciamiento reversible puede eliminarse tras la filtración mediante un aclarado. El ensuciamiento irreversible es más complicado de eliminar de la superficie de la membrana y de los poros mediante tratamientos de limpieza (Gésan-Guiziou *et al.*, 1999). El ensuciamiento de la membrana depende del flujo de permeado. Durante la filtración, la membrana retiene partículas de gran tamaño que no logran atravesarla, y estas partículas forman una capa adicional sobre la superficie. Esta capa reduce el flujo de permeado y aumenta la resistencia de la membrana (R_c). El flujo de permeado (J) y la concentración del retenido (C_b) definen la resistencia de la capa de polarización por concentración (Gésan *et al*., 1995). El movimiento de las partículas retenidas sobre la superficie de la membrana depende del flujo de permeado y de la concentración del retenido. En la superficie de la membrana las partículas se mueven en régimen laminar. La combinación del movimiento Browniano y los esfuerzos cortantes tienen gran influencia en las partículas con un tamaño superior a 100nm. El diámetro medio de las micelas de caseína se encuentra entre 100-220nm (de Kruif y Holt, 2003), lo que significa que el movimiento Browniano tiene mayor impacto sobre el movimiento de las micelas de caseína que los esfuerzos cortantes. Si el número de Reynolds es superior a 1500,

los esfuerzos cortantes tendrán un impacto predominante. La concentración de las micelas de caseína influye en el número de Reynolds: para mayores concentraciones o mayor viscosidad, mayor flujo tangencial debe ser empleado para alcanzar el mismo valor del número de Reynolds. Un aumento en la concentración también aumenta el espesor y la densidad de la capa adicional, afectando el movimiento de las partículas en la superficie de la membrana (Zeman y Zydney, 1996). El esfuerzo cortante (τ_w) es la fuerza que elimina las partículas de la superficie de la membrana y puede ser determinada utilizando la ecuación (2.1), donde L es la longitud de la membrana, d es el diámetro del canal y ΔP_1 es la caída de presión sobre la membrana (Gésan-Guiziou et al., 2000).

$$\tau_w = \frac{d\Delta P_1}{4L} \tag{2.1}$$

El flujo de permeado es principalmente el resultado del valor de τ_w, el tamaño de las partículas y la concentración (Vadi y Rizvi, 2001). El flujo de permeado (J), que es el factor más importante en la filtración con membranas, puede ser determinado con la ecuación (2.2). Esta ecuación está basada en la Ley de Darcy, en la que μ es la viscosidad dinámica, R es la resistencia hidráulica total (la suma de la membrana, el ensuciamiento y las resistencias de las capas de torta acumuladas) y ΔP_1 es la caída de presión sobre la membrana.

$$J = \frac{\Delta P_1}{\mu\ R} \tag{2.2}$$

La propia membrana, el ensuciamiento y la formación de capas adicionales actúan como resistencia al flujo de permeado. La resistencia de la membrana (R_m) depende de su espesor, el espesor del soporte, el tamaño medio de poro y el camino por el que circule el fluido a través de la membrana. La resistencia de la torta filtrante (R_c) es mayor cuanto mayor es la presión a la que se filtra y menor con mayores valores de R_m. La resistencia de la torta filtrante (R_c) puede ser calculada con la ecuación (2.3), en la que μ_p es la viscosidad dinámica del permeado y ΔP_{TM} es la presión a través de la membrana durante la filtración (Vadi y Rizvi, 2001).

En una filtración continua, se obtiene un flujo de permeado estable cuando la resistencia global de la membrana (R) no aumenta. Este hecho se produce cuando el ensuciamiento no es detectable y la torta filtrante no se comprime. La tasa de formación de capa adicional y su correspondiente eliminación es la misma (James *et al.*, 2003). De todas maneras, en el instante en que comienza la filtración, la reducción del flujo de permeado no se debe al ensuciamiento. En este momento se forma la torta. El estado estacionario de la filtración es el resultado de la permeabilidad de la capa de gel y si la PTM es mayor, la capa de gel es más gruesa y se compacta, aumentando el valor de la resistencia de la torta (R_c) (James *et al.*, 2003).

Si el flujo de permeado excede un valor crítico hay una deposición irreversible de sólidos en la superficie de la membrana, que no puede ser arrastrados durante los primeros instantes de la filtración (Howell, 1995). Los líquidos biológicos contienen proteínas desnaturalizadas y agregados que tienden a ensuciar la membrana (Zeman y Zydney, 1996; Makardij *et al.*, 1999). La tendencia al ensuciamiento puede reducirse utilizando elevados esfuerzos cortantes y bajas presiones a través de la membrana, disminuyendo el espesor de la torta hasta un determinado límite (Aubert *et al.*, 1993).

Cerca de la superficie de la membrana la velocidad tangencial es considerablemente menor lento que en el centro del canal de flujo. En el centro del canal el flujo es turbulento pero se reduce a laminar en las cercanías de la superficie de la membrana. El espesor de esta capa con flujo laminar es importante porque contiene partículas más pequeñas que en el resto de los casos. En la microfiltración de leche, las micelas de caseína son retenidas en este flujo laminar si la capa es mayor que las propias micelas.

El ensuciamiento de la membrana aumenta la resistencia hidráulica al flujo de permeado e induce impactos desfavorables a la eficiencia del proceso. En la superficie de la membrana, el ensuciamiento debido a las proteínas puede tener lugar por cuatro mecanismos distintos dependiendo de los parámetros del proceso, estructura de la membrana y comportamiento de las proteínas cerca de la superficie o en la capa adicional (Figura 2-6).

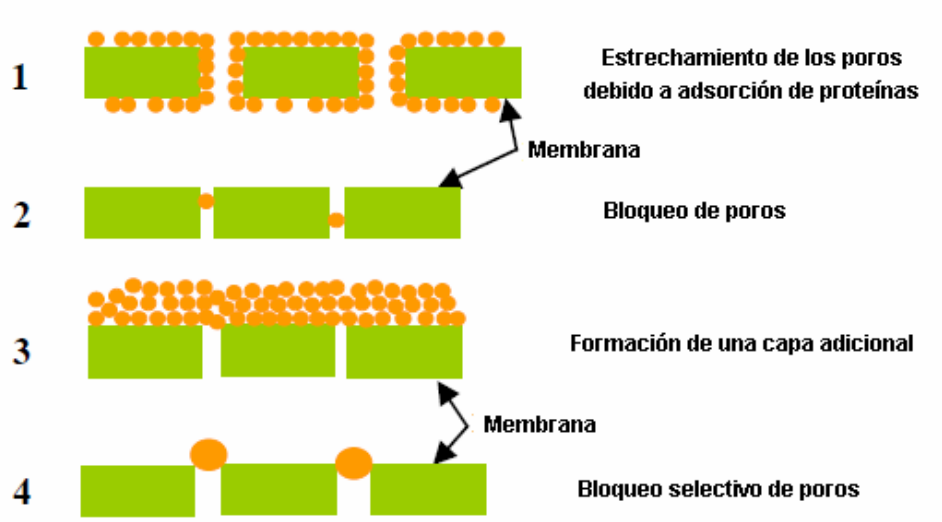


FIGURA 2-6: Mecanismos (1-4) que causan el estrechamiento y bloqueo de poros (Saxena *et al.*, 2009)

El estrechamiento de poros es el resultado de la adsorción de partículas a la superficie de la membrana debido a las propiedades electroestáticas del soluto y la membrana, especialmente si la diferencia de potencial zeta es cercano a cero (Martinez *et al.*, 2000). El bloqueo de poros es posible aunque el tamaño de poro sea superior al de las partículas, debido a la formación de agregados en la superficie o en el interior de la estructura de la membrana (Güel *et al.*, 1999). El ensuciamiento interno de la membrana reduce el flujo de permeado y la selectividad si la membrana tiene una estructura compleja (Saxena *et al.*, 2009). Han sido desarrollados muchos modelos teóricos acerca del bloqueo de poros y la formación de capas adicionales pero ninguno de ellos ha explicado completamente el fenómeno del ensuciamiento (Ho y Zydney, 2000).

Flujo crítico y flujo limitante en la microfiltración

El flujo de permeado (J) durante la filtración suele definir el comportamiento del sistema ya que representa el volumen (ΔV) de permeado que atraviesa una determinada área de membrana (A) en un tiempo determinado (Δt). Este valor suele calcularse con la ecuación (2.4) (Makardij et al., 1999).

$$J = \frac{\Delta V / \Delta t}{A} \qquad (2.4)$$

Durante la última década, se han realizado muchos estudios para examinar la teoría de flujo crítico y limitante en microfiltración (Howell, 1995; Field et al., 1995; Huisman and Trägårdh, 1999; Gésan-Guiziou et al.; 2000 Holdich et al., 2003). Hay, por lo menos, cuatro mecanismos que causan la erosión de la torta filtrante en la microfiltración: el movimiento inercial, el mecanismo de difusividad del esfuerzo cortante, la difusividad Browniana y el mecanismo de transporte de fluidos en la superficie de la membrana (Belfort et al., 1994). Utilizando estos mecanismos es posible predecir un flujo crítico (J_{crit}) para una membrana de microfiltración. El flujo crítico es el valor máximo de flujo de permeado, que se obtiene con un aumento lineal de la presión transmembranar hasta un valor determinado que se denominaa presión transmembranar crítica (P_{crit}) (Figura 8). Por debajo del valor crítico, el flujo de permeado aumenta linealmente con un aumento de la PTM como en el caso del agua, y de forma no lineal dependiendo de la composición del líquido y su viscosidad (Metsämuuronen y Nyström, 2005). La ecuación (2.5) describe las características generales de la reducción de flujo de permeado en términos de resistencias (Field et al., 1995).

$$J = \frac{PTM}{\mu\ (R_m + R_{ir} + R_r)} \tag{2.5}$$

donde R_{ir} es el ensuciamiento irreversible, μ la viscosidad de la alimentación, R_r el ensuciamiento reversible y el efecto de la polarización.

La selectividad de la membrana es mejor para valores inferiores al flujo crítico pero aumenta la necesidad de área de membrana. El flujo crítico depende del esfuerzo cortante, de la temperatura, las características de las partículas en el líquido y las características de la membrana como la morfología y el material del que está compuesta (Makardij, 1999; Gironés et al., 2006). Los valores de PTM por encima de la presión transmembranar crítica (P_{crit}) aumentan el flujo de permeado pero no linealmente como ocurre por debajo del valor del flujo crítico de permeado (J_{crit}). El flujo limitante (J_{lim}) es el máximo flujo de permeado que puede obtenerse con la presión transmembranar limitante (PTM_{lim}). Los valores de PTM por encima de la PTM limitante disminuyen el flujo de permeado, como puede verse en la Figura 2-7.

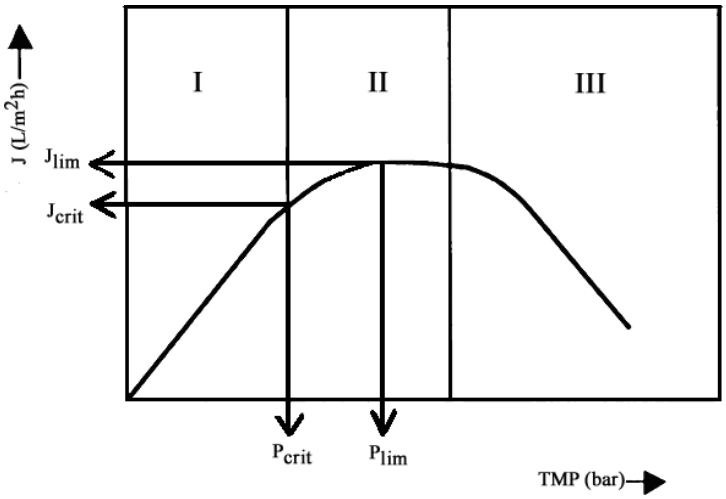


FIGURA 2-7: Efecto de la presión transmembranar (TMP) en el flujo crítico y limitante (J). Valores y zonas de filtración I-III. Pcrit = Presión transmembranar crítica, P_{lim} = Presión transmembranar limitante, J_{crit} = Flujo crítico de permeado, J_{lim}= Flujo limitante de permeado (Brans *et al.*, 2004)

En la Figura 2-7 se presentan las distintas áreas de filtración, en la que la zona I representa la zona de bajo flujo de permeado, bajo ensuciamiento y baja retención de componentes. La fracción de la leche en la zona II conlleva elevado flujo tangencial para reducir el ensuciamiento. Un aumento en el flujo tangencial produce un aumento en el consumo de energía y con un valor determinado de flujo tangencial se puede encontrar la situación óptima donde el flujo de permeado es mayor comparado con el consumo energético (Gésan-Guiziou et al., 1999[a]). En la zona III, el flujo de permeado y la permeación de componentes separados disminuye y por lo tanto la filtración se encuentra fuera del intervalo óptimo.

2.3.2. Aplicaciones de las membranas a la industria láctea

Durante los últimos 25 años, las membranas han sido una herramienta importante en los procesos de elaboración de alimentos y del procesado de subproductos. La industria alimentaria representa una parte significativa del volumen de negocio de la industria de fabricación de membranas en todo el mundo (si se deja de lado las aplicaciones relacionadas con la desalinización de agua).

Entre las numerosas aplicaciones a escala industrial, algunas de las separaciones principales que representan los últimos avances en el procesamiento de alimentos son la clarificación de zumos de frutas, vegetales y bebidas azucaradas por microfiltración o

ultrafiltración. Estos procesos permiten la simplificación de los diagramas de flujo y una mejora de la calidad del producto final.

En este campo, la ultrafiltración es el proceso más ampliamente utilizado en la industria láctea, con un área de membrana instalada en torno a 350 000 m^2. La nanofiltración (100 000 m^2) se ha desarrollado recientemente para la desmineralización de suero. El área de membrana de ósmosis inversa se ha estabilizado en (65 000 m^2) y la técnica de microfiltración se está desarrollando debido a su utilización para la retención de microorganismos o micelas de caseína (15 000 m^2 instalado) (Gesan-Guiziou, 2010).

Las aplicaciones más extendidas de las membranas dentro de la industria alimentaria tienen lugar en el sector lácteo, entre las que figuran las siguientes:

Separación y fraccionamiento de los glóbulos grasos

Aunque la separación de la grasa con membranas es técnicamente posible (A.B. Alfa Laval Pat., 1976), la industria, en general, utiliza la centrifugación. La nata resultante de la centrifugación contiene aproximadamente un 40% de grasa. Las posibles ventajas de separación con membranas son una reducción en el consumo de energía y un menor daño por cizallamiento en los componentes sensibles, como las membranas de los glóbulos grasos, resultando en una mayor estabilidad de la nata y una mejora sensorial en las propiedades de los productos de consumo.

El diámetro de los glóbulos de grasa en la leche cruda se encuentra entre 0.1 y 15 μm, con un promedio de alrededor de 3.4 μm. Para evitar la aglutinación de los glóbulos de grasa durante la separación, por lo general, la microfiltración se lleva a cabo alrededor de 50ºC. Goudedranche et al. (2000) han descrito el fraccionamiento de los glóbulos de grasa con una membrana cerámica de 2 μm de tamaño de poro.

Eliminación de bacterias y esporas en leche desnatada (pasteurización en frío)

La microfiltración (MF) puede reducir la cantidad de bacterias y esporas, sin afectar al sabor de la leche (al contrario de lo que ocurre en el proceso UHT) y proporciona una vida

útil más larga que la pasteurización. Los factores de reducción decimal de la MF son mayores que para la bactofugación (apartado 2.2.) (Stack y Sillen, 1998). Además, este proceso puede ser utilizado como tratamiento previo de la leche desnatada en la producción de queso a partir de leche cruda (Zoon y Hup Pat., 1991).

La distribución del tamaño de las bacterias en la leche se encuentra entre 0.2-4.0 μm y, por ello, en parte, tiene lugar una superposición de tamaños con los glóbulos de grasa, y por ello se requiere que la alimentación sea desnatada previamente. Saboya y Maubois (2000) han descrito el uso de membranas cerámicas con tamaño de poro 1.4 μm para esta aplicación.

Concentración de micelas de caseína

Las micelas de caseína concentradas pueden ser recombinadas con la nata para la producción de queso. Otras aplicaciones incluyen la estandarización de leche y la producción de caseína nativa en polvo para aplicaciones alimentarias. El permeado resultante del proceso de concentración puede ser utilizado como material de partida en la purificación de las proteínas séricas en el suero de queso. La leche entera contiene 2,6% en peso de caseína pero, en volumen, la fracción de micelas puede ser del 10%. Además de caseína, las micelas contienen calcio, fosfato y agua. El volumen másico de las micelas de caseína es de 4 ml/g.

La superficie de la micela está recubierta de κ-caseína. El glicomacropéptido causa impedimentos estéricos que previenen la agregación. El diámetro de las micelas se encuentra entre 20 y 300 nm con un promedio alrededor de 110 nm (Walstra *et al*., 1999) y pueden ser concentradas a partir de leche descremada con membranas cerámicas con tamaños de poro entre 0,05 y 0,2 μm (Pouliot *et al*., 1996; Vadi y Rizvi, 2001).

Recuperación de proteínas séricas del suero lácteo

El suero de quesería es una fuente nutritiva de proteínas, pero su aplicación en productos alimentarios sin desmineralizar es limitada. Hoy en día, el suero de leche se concentra por evaporación u ósmosis inversa (OI) y se desmineraliza por electrodiálisis o resinas de intercambio iónico (Greiter *et al.,* 2002). Una alternativa para reducir la cantidad de sales y concentrar las proteínas en un mismo paso es la nanofiltración (NF). Las proteínas del suero concentrado y posteriormente secado por pulverización se utilizan en aplicaciones de

alimentos o piensos. Dependiendo del contenido en proteína, estos productos se denominan concentrado de proteína de suero (WPC, 35-80% de proteína) o aislado de proteína de suero (WPI, 80-95% de proteína).

La concentración de proteínas en el suero es adecuada para aislar las proteínas individuales (α-lactoalbúmina, β-lactoglobulina, seroalbúmina (BSA), inmunoglobulinas, lactoferrina, transferrina, trazas de enzimas y algunas proteínas y péptidos más pequeños). La β-lactoglobulina tiene interesantes propiedades fisicoquímicas y puede ser utilizada en emulsificación, espumantes y gelificantes (Zydney, 1998). La lactoferrina y la α-lactoalbúmina tienen aplicaciones farmacéuticas (Daufin *et al*., 2001; Ulber *et al.*, 2001) y la lactoferrina puede ser utilizada en las fórmulas infantiles y como un conservante para la carne. Además, existe un creciente interés en los hidrolizados de proteínas para la producción de péptidos bioactivos (Korhonen, 2002).

3. REDUCCIÓN DEL CONTENIDO BACTERIANO DE LA LECHE MEDIANTE MICROFILTRACIÓN

3. REDUCCIÓN DEL CONTENIDO BACTERIANO DE LA LECHE MEDIANTE MICROFILTRACIÓN

3.1. Antecedentes

La MF es el paso de producto a presión relativamente baja (aproximadamente 1 bar) a través de una membrana semipermeable con tamaños de poros que van desde 0,2 a 5µm. La microfiltración de flujo cruzado es un proceso a temperatura más baja para la producción de productos lácteos con una vida en condiciones de almacenamiento prolongada. El apéndice 1 muestra las principales investigaciones relacionadas con la microfiltración leche. La tabla incluye: autor, materia prima, tecnología de membrana, las condiciones de operación y los principales resultados publicados.

La microfiltración es una operación que puede ser aplicada a la depuración bacteriana de leche porque, debido a los tamaños de poro que comprende (0.1 – 10 µm), permite la retención de bacterias como se puede observar en la Figura 3-1.

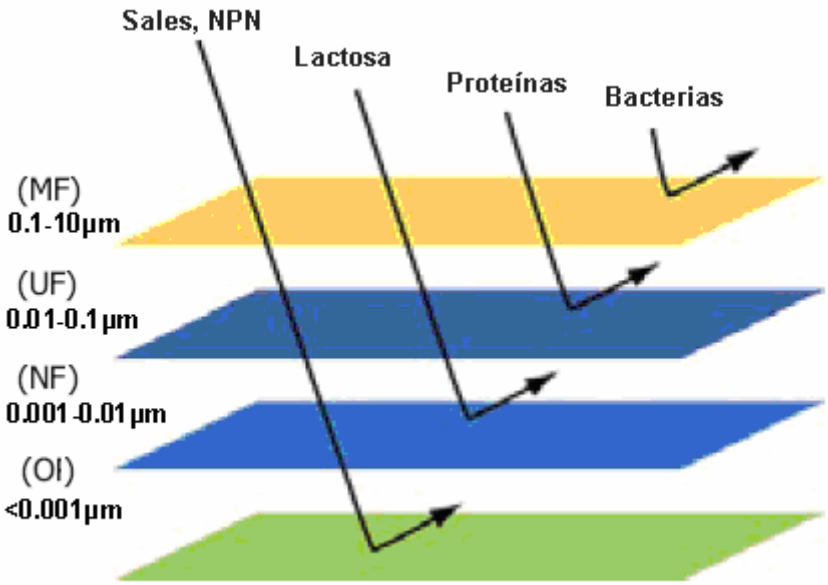


FIGURA 3-1: Separación de componentes de la leche mediante MF, UF,NF y OI (Binetti *et al*., 2004)

Para seleccionar el tamaño de poro se debe tener en cuenta que la leche cruda contiene componentes en suspensión con intervalos de distribución por tamaño relativamente bien

definidos que, en orden creciente, están representadas por células somáticas (6-15 µm), glóbulos grasos (0.2-15 µm), bacterias (0.2-6 µm) y micelas de caseína (0.03-0.3 µm).

En la Figura 3-2 se muestra la distribución por tamaños de los principales componentes de la leche.

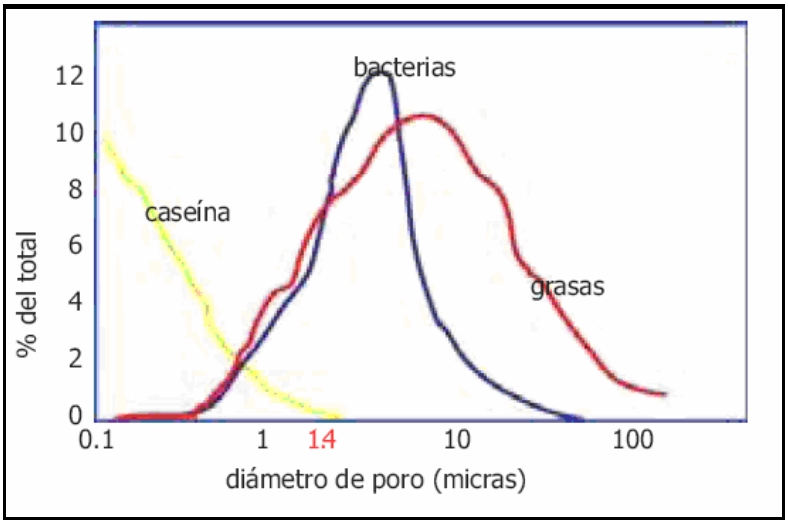


FIGURA 3-2: Distribución por tamaño de algunos componentes de la leche cruda (Binetti *et al*., 2004)

La mayoría de los glóbulos de grasa y algunas de las proteínas de la leche son de tamaño similar a las bacterias, lo cual da lugar a un ensuciamiento muy rápido de la membrana (Malmberg y Holm, 1988). Tiene lugar la deposición de una capa de glóbulos grasos sobre la superficie y la constricción de los poros que, por consiguiente, puede cambiar el rendimiento de la MF. Este hecho representa una limitación para el proceso a nivel industrial, haciéndolo aplicable solamente a leche desnatada (Jost y Jelen, 1997).

Por otro lado, puede observarse que en el intervalo comprendido entre 0.2 y 2 µm, una pequeña fracción de las micelas de caseína posee un diámetro similar al de las bacterias, hecho que plantea la necesidad de adoptar una solución de compromiso en el momento de elegir la membrana de microfiltración. Se deberá optar por aquella que minimice tanto la carga microbiana como la pérdida de sólidos, maximizando así la eficiencia del proceso, siendo, por esta razón, 1.4 µm un diámetro de poro muy conveniente. La reducción del contenido microbiano en la leche debe ser alcanzado de tal manera que la funcionalidad de sus proteínas no se vea afectada. En consecuencia, la microfiltración se realiza a temperaturas inferiores a 40-50ºC (Saboya y Maubois, 2000). Consecuentemente, un porcentaje minoritario

de microorganismos estará presente en el producto microfiltrado, por lo que se hace indispensable someterlo a un tratamiento térmico que asegure la ausencia de patógenos en el producto final. Esto se suma al hecho de que la legislación no permite llevar a cabo ningún proceso lácteo sin una pasteurización HTST o equivalente (Maubois, 2000).

Los microorganismos que se tienen como referencia en las operaciones de microfiltración son los termorresistentes. En la Tabla 11 se presentan los tamaños de los bacilos y sus esporas de las especies más comunes.

TABLA 3-1: Tamaños medios de los microorganismos termorresistentes presentes en la leche que generan esporas (Bergey y Holt, 1994)

Microorganismo	Bacilos		Esporas	
	Longitud (µm)	Grosor (µm)	Longitud (µm)	Grosor (µm)
Bacillus cereus	1-1.2	3-5	1.5	1
Bacillus stearothermophilus	0.6-1	2-5	1-1.2	1.5-2.2
Bacillus sporothermodurans	1	2	sin información	sin información

Debido a que el tamaño de poro de la membrana es de 1.4 µm estos microorganismos y sus esporas quedan retenidos en la superficie de la membrana y permiten que el tratamiento posterior sea más suave.

Las células somáticas son totalmente retenidas por la membrana y por consiguiente, la leche microfiltrada no será degradada por sus enzimas termodúricas (Olesen y Jensen, 1989).

Debido a la alta retención de *Listeria* y *Salmonella*, así como de la flora natural no patógena, el proceso se utiliza para la eliminación de bacterias antes de la producción de queso o el fraccionamiento de la leche.

Los primeros experimentos de MF se aplicaron a leche desnatada para la eliminación de la grasa. Glimenius *et al.,* (1979), describieron un método donde se separa la leche entera por microfiltración en nata y leche desnatada. La separación se realizaba en flujo cruzado a alta velocidad con una membrana polimérica con un tamaño de poro de 0.2 a 10µm. Piot *et al.* (1987) y Goudebranche *et al*. (2000) también estudiaron el desnatado de leche pero utilizando

membranas cerámicas, obteniéndose leche desnatada un 98% libre de grasa y con una textura más fina y mejor sabor.

Las aplicaciones de la MF en la industria láctea se realizan más comúnmente con membranas inorgánicas (principalmente membranas cerámicas). Se fabrican mediante la combinación de metales tales como aluminio, titanio o zirconio, con un no metal en forma de un óxido, nitruro o carburo que proporcionan una fuerte resistencia mecánica que permite el uso de velocidades de recirculación altos del retenido. También permiten la microfiltración de fluidos viscosos, una amplia tolerancia de pH (0 hasta 14), que permite su limpieza con sosa cáustica, ácido nítrico e hipoclorito sódico (Trouvé *et al.*, 1991) (Maubois, 1997) (Grangeon y Lescoche, 2000) (Saboya y Maubois, 2000). La mayoría de los trabajos sobre la microfiltración de leche se han publicado en los años 90 y 00s después del rápido desarrollo de las membranas inorgánicas. Las membranas orgánicas han sido menos estudiadas (Glimenius *et al.*, 1979) (Guerra *et al.*, 1998). A pesar de que las configuraciones en espiral son más baratas a escala industrial, las membranas cerámicas tienen una menor dispersión en el diámetro de poro y pueden ser esterilizadas con vapor de agua aumentando, de esta manera, la fiabilidad del proceso y la facilidad de automatización. Se han estudiado ampliamente los tamaños de poro comprendidos entre 0.8 y 1.4μm (Olesen y Jensen, 1989) (Madec *et al.*, 1992) (Pafylias *et al.*, 1996) (Malmberg y Holm, 1998) (Saboya y Maubois, 2000) (Daufin *et al.*, 2001) (Beolchini *et al.*, 2004) (Fritsch *et al.*, 2005) (Elwell y Barbano, 2006) (Hoffman *et al.*, 2006).

La alta eficacia de la microfiltración como proceso de esterilización para reducir los niveles de bacterias en la leche fue confirmada por Olesen y Jensen (1989). El contenido de esporas en la leche inicial tiene un efecto significativo sobre el contenido de esporas en la leche microfiltrada con reducción decimal de 4 en el recuento de flora total y de 2.3 a 3.7 en las esporas. Aunque es muy eficaz en la eliminación de bacterias y esporas, el proceso de MF no puede garantizar un 100% de eliminación de bacterias patógenas como se requiere en pasteurización de la leche. Otros autores han mostrado resultados de retención de bacterias y esporas (Kosikowski y Mistry, 1990) (Trouvé *et al*.., 1991) (Madec *et al.*, 1992) (Guerra *et al.*, 1998) (Giffel y van der Horst, 2004) (Elwell y Barbano, 2006).

Un desarrollo técnico posterior consistió en la esterilización de la nata y su combinación con la leche desnatada microfiltrada (Osterland, 1999). Primero se centrifugaba la leche

entera y la leche desnatada resultante era sometida al proceso de microfiltración siendo posteriormente mezclada con la nata estéril. La elevada tasa de destrucción e inactivación de las bacterias que ocasionan el deterioro (particularmente los organismos psicrófilos con sus proteasas asociadas y lipasas) por la exposición de una pequeña porción de la leche, como la nata o el retenido de la microfiltración, a alta temperatura aumenta sustancialmente la calidad de conservación de la mezcla sin crear un excesivo sabor a "cocido".

Este proceso se utiliza para producir leche con bajo contenido en bacterias con proteasas y lipasas sustancialmente reducidas, mejorando, así, la seguridad alimentaria.

Las membranas de MF con un tamaño de poro de aproximadamente 1.4μm pueden lograr el equilibrio adecuado entre el rechazo de las bacterias y un flujo de permeado aceptable a largo plazo, con poco o ningún rechazo de otros componentes de la leche, tales como proteínas, lactosa y cenizas. Los resultados experimentales en diferentes condiciones de operación se han mostrado en un gran número de publicaciones (Olesen y Jensen, 1989) (Van der Horst y Hanemaaijer, 1990) (Trouvé *et al.*, 1991) (Madec *et al.*, 1992) (Pafylias *et al.*, 1996) (Malmberg y Holm, 1998) (Russel, 1999) (Saboya y Maubois, 2000) (Brandsma y Rizvi, 2001) (Sadcheva *et al.*, 2001) (Daufin *et al.*, 2001) (Binetti *et al.,* 2004) (Beolchini *et al.*, 2004) (Fritsch *et al.,* 2005) (Elwell y Barbano, 2006) (Hoffman *et al.*, 2006).

El uso de un diámetro de poro efectivo más pequeño (0.5 μm), propuesto por Linquist (1998), mostró un aumento en la eliminación de bacterias en 2 o incluso 3 ciclos logarítmicos en comparación con las membranas de 1.4μm de diámetro. La disminución del tamaño de poro evidentemente conduce a una ligera disminución de la tasa de permeación de micelas de caseína, pero la depuración bacteriana de la leche desnatada es tan alta (el recuento final es inferior a 1 UFC L^{-1}) que un tratamiento térmico moderado (menos de 100ºC, 2s) es suficiente para obtener una leche con una larga vida útil a temperatura ambiente (Saboya y Maubois, 2000). Además de seleccionar la membrana adecuada, es importante operar el sistema bajo condiciones de presión transmembranar baja y alta velocidad de flujo cruzado, condiciones que deben mantenerse a lo largo de la longitud del módulo.

3.2. Problemática del ensuciamiento

El ensuciamiento que se produce durante la microfiltración de la leche es complejo, con deposición de solutos que se producen tanto en la superficie como dentro de los poros de la membrana, dando lugar a una disminución del flujo de permeado durante la operación. A medida que el producto fluye a través del elemento tubular, hay una caída de presión hidrodinámica natural desde la entrada hasta la salida del canal de flujo. La distribución desigual del flujo a lo largo de la longitud del canal puede ser muy importante debido al efecto de la concentración por polarización resultante, particularmente en la entrada con presión más alta, y disminuyendo hacia el extremo de salida.

En la Figura 3-3 se muestra un esquema del comportamiento de una membrana tradicional.

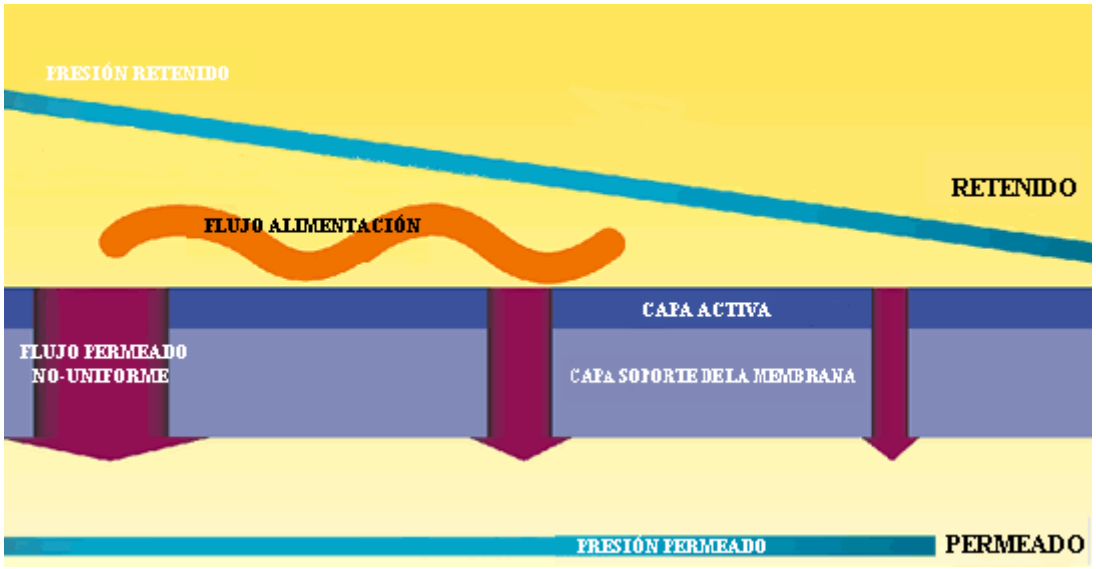


FIGURA 3-3: Esquema del comportamiento de una membrana convencional (Atkinson, 2005)

Esta heterogeneidad a lo largo de la membrana reduce la calidad de separación del proceso y acorta los ciclos de producción, con costes adicionales de limpieza.

Las condiciones hidrodinámicas como el flujo tangencial, el esfuerzo cortante y la presión a través de la membrana son los principales factores que afectan al comportamiento y al ensuciamiento de la membrana (Piry *et al.*, 2008). El ensuciamiento durante la microfiltración de leche comienza con la adsorción de α-lactoalbúmina y la β-lactoglobulina en la superficie de la membrana durante los primeros minutos de filtración. La seroalbúmina bovina (BSA)

también produce agregados en la superficie y un bloqueo de poros. Las proteínas nativas o no agregadas se unen químicamente a estas proteínas séricas (Kelly y Zydeney, 1997). Además, existen otros mecanismos de ensuciamiento causados por interacciones moleculares basadas en las fuerzas de van der Waals, interacciones hidrofóbicas, interacciones electroestáticas y puentes de hidrógeno (Marshall *et al.*, 2003). Los minerales presentes en la leche, como el fósforo o el calcio, también favorece la unión de la caseína con las proteínas séricas pudiendo llegar a formar una capa de ensuciamiento de un espesor importante (Vetier *et al.*, 1988).

3.2.1. Bactocatch

Una manera de minimizar la formación de la capa de ensuciamiento es crear un elevado esfuerzo cortante en la superficie de la membrana que retrase y/o minimice la deposición de partículas y desplace las partículas rechazadas en dirección axial. Esto puede conseguirse con elevadas velocidades de circulación en flujo cruzado (4-8 m/s) o técnicas de "backflushing" o "backpulsing". El uso de elevadas velocidades de flujo cruzado conlleva un alto consumo energético y una mayor caída de presión a lo largo de la membrana, lo que provoca el ensuciamiento rápido de la membrana.

Para vencer esta dificultad se desarrolló industrialmente el concepto introducido por Sandblom (1978) denominado proceso con presión a través de la membrana constante o UTP (*Uniform Transmembrane Pressure*) y comercializado por Alfa Laval como sistema "*Bactocatch*" (Holm *et al*., 1984). Para conseguir las condiciones óptimas, sobre todo el área filtrante, se recircula por el exterior de la membrana el permeado en el mismo sentido en que lo hace el concentrado por el interior de los canales del módulo. En el lado del permeado, se rellena el espacio vacío con bolas de material plástico inerte para regular la caída de presión. De este modo, se consigue que las caídas de presión a ambos lados de la membrana sean idénticas, logrando la utilización óptima de toda el área de la membrana. El resultado de la aplicación de este sistema es un caudal de permeación constante, con una presión a través de la membrana que permanece baja sin que se produzcan fenómenos de colmatación de la membrana importantes (Meershon, 1999) (Saboya y Maubois, 2000). Se puede ver un esquema del proceso en la Figura 3-4.

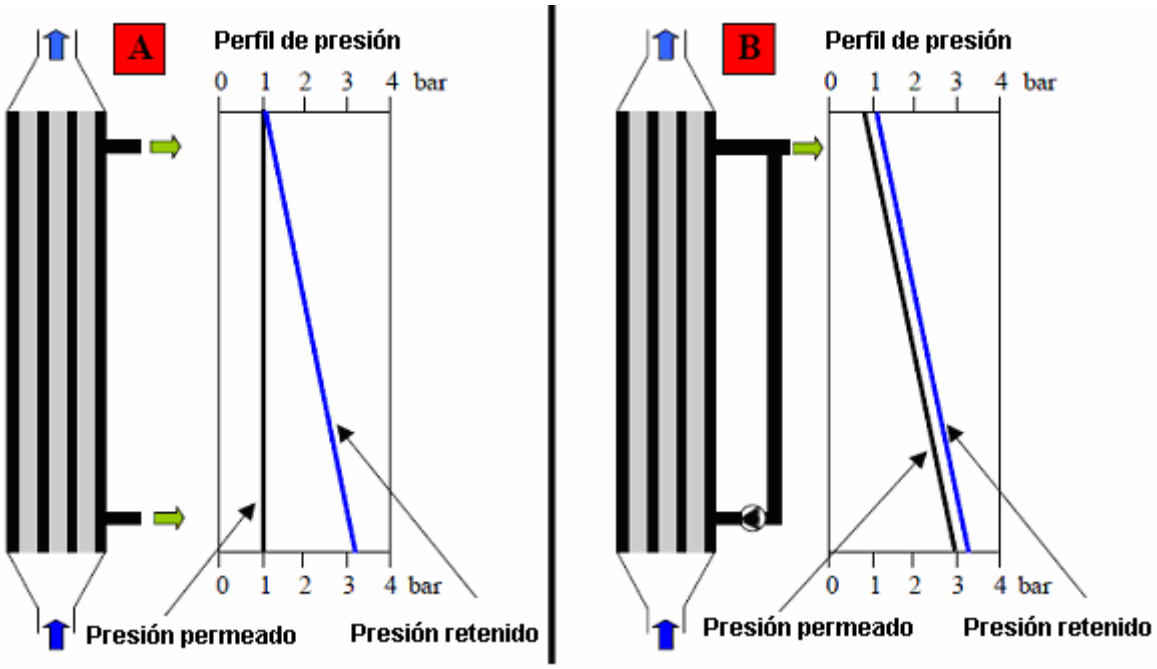


FIGURA 3-4: Esquema y perfil de presión de A: Microfiltracion tradicional, B: Microfiltración con sistema UTP (Kessler, 1997)

En el sistema "*Bactocatch*" se utiliza una elevada velocidad lineal (6-8 m/s) y se puede filtrar con una membrana cerámica de 1.4 µm durante al menos 6 horas a un flujo de permeado de 500 L/h m^2 con un factor de concentración de 10 (Olesen y Jensen, 1989). Se han realizado varios estudios sobre la retención de diversos tipos de microorganismos por el sistema *Bactocatch* y la compatibilidad de la leche tratada por este sistema y la posterior producción de queso (Malmberg y Holm, 1988; Trouvé *et al*., 1990; Madec *et al*., 1992; Olesen y Jensen, 1989; Eckner y Zottola, 1991; Trouvé *et al*., 1991).

En los primeros experimentos realizados con el sistema *Bactocatch* se utilizó una membrana Membralox™ con un tamaño de poro de 1.4 µm. En este caso la retención de esporas fue de 10^3. Los flujos de permeado oscilaron desde 500 hasta 700 L/h m^2 (Olesen y Jensen, 1989) (Madec *et al.*, 1992) (Pafylias *et al*., 1996) (Saboya y Maubois, 2000) (Solanki y Rizvi, 2001) con UTP=0.55 bar (Madec *et al*., 1992). El *factor de reducción* se define como la proporción entre el número de esporas o bacterias en la leche inicial y el número de esporas o bacterias en el permeado (Guerra *et al.*, 1998). Los recuentos totales de bacterias indicaron un factor de reducción de 4 y de 3.5 en el caso de bacterias formadoras de esporas.

Utilizando una membrana con un tamaño de poro de 1.4μm Sterilox^{TM} (una variación de las membranas Membralox, con el mismo tamaño de poro medio, pero con una distribución de tamaño de poro reducido) (Maubois, 1997) (Atkinson, 2005), fue posible conseguir factores de reducción entre 4 y 5. A una temperatura de 55°C, velocidad superficial de 7.2 m/s, la presión de transmembrana de 0,5 bar y un factor de reducción de volumen de 10, el flujo de permeado obtenido fue de 500 L/h m^2, con una permeación de proteínas de más del 99.5%. Esta leche microfiltrada puede llegar a tener una vida útil de 16 días bajo condiciones de refrigeración (Saboya y Maubois, 2000).

Los avances en la tecnología de membranas cerámicas han permitido la supresión del circuito de recirculación del permeado. De esta manera, se consigue una disminución en el coste de la inversión por m^2 de los equipos instalados, la energía consumida y de la posibilidad de contaminación del permeado (Guerra *et al.*, 1998).

Se han desarrollado otros enfoques para minimizar el ensuciamiento y deposición de partículas en microfiltración, aparte de una elevada velocidad de flujo cruzado y el concepto de UTP (Brans *et al.*, 2004). Muy pocos se pusieron a prueba a escala industrial. Algunos ejemplos son los promotores de turbulencia, el back-pulsing, los módulos vibratorios o los discos giratorios (Krstic *et al*., 2002) (Al-Akoum *et al*., 2002).

3.3. Membranas con estructura modificada

Como se ha descrito en el apartado anterior, debido a la elevada circulación de la alimentación en la membrana, la presión de la alimentación disminuye de la entrada a la salida de la membrana, resultando en un descenso de la presión a través de la membrana. Las consecuencias sobre el proceso son:

- Disminuye el flujo de permeado a lo largo de la membrana
- La capa de polarización sobre la superficie de la membrana y el ensuciamiento de la misma, se desarrollan irregularmente a lo largo de la membrana, de entrada a salida

Con el fin de mejorar los inconvenientes del proceso Bactocatch e impulsar los procesos de microfiltración de leche con el fin de avanzar tecnológicamente en la producción de leche

ESL se desarrollaron recientemente otros conceptos, como el gradiente de porosidad (GP®, Société des Céramiques et Tècniques, Francia) (Garcera y Toujas, 1998) e Isoflux® (Tami, Francia) (Grangeon *et al*., 2000). También se ha buscado reducir la necesidad de tuberías y bombas adicionales, disminuir el riesgo de recontaminación y el tiempo de residencia que afectan a la calidad del producto final.

Se han propuesto dos métodos:

3.3.1. Gradiente de porosidad del soporte o GP (porosity gradient)

La membrana GP ha sido desarrollada por SCT (Société des Céramiques Techniques, Francia). El efecto del gradiente de porosidad se consigue reduciendo el volumen de poros del soporte macroporoso y el tamaño de los mismos. De esta manera se aumenta la resistencia de la membrana proporcionalmente con la presión a la que es sometida para equilibrar los distintos flujos de permeado con la coordenada longitudinal, compensando así la caída de presión (Figura 3-5). Además una reducción en el ancho de la curva de distribución gaussiana del diámetro de poro mejora significativamente la selectividad de la membrana en comparación con las tradicionales (Garcera y Toujas, 1998) (Saboya y Maubois, 2000). Debido al gradiente de porosidad, la membrana tiene un único sentido de circulación.

Una membrana Sterilox GP® con un tamaño de poro medio de 1.4μm puede lograr permeabilidad de proteínas y sólidos totales superiores a 99-99.5%. El promedio de reducción decimal (DR) observado es superior a 3.5. Las bacterias formadoras de esporas, que representan las principales especies que sobreviven a la pasteurización, son retenidas en mayor proporción por la membrana de MF debido a su mayor volumen celular. La RD observada para las esporas es superior a 4.5. El valor del flujo de permeado esperado para este tipo de membrana es de Jp = 500 L/h m^2 (Maubois, 1997).

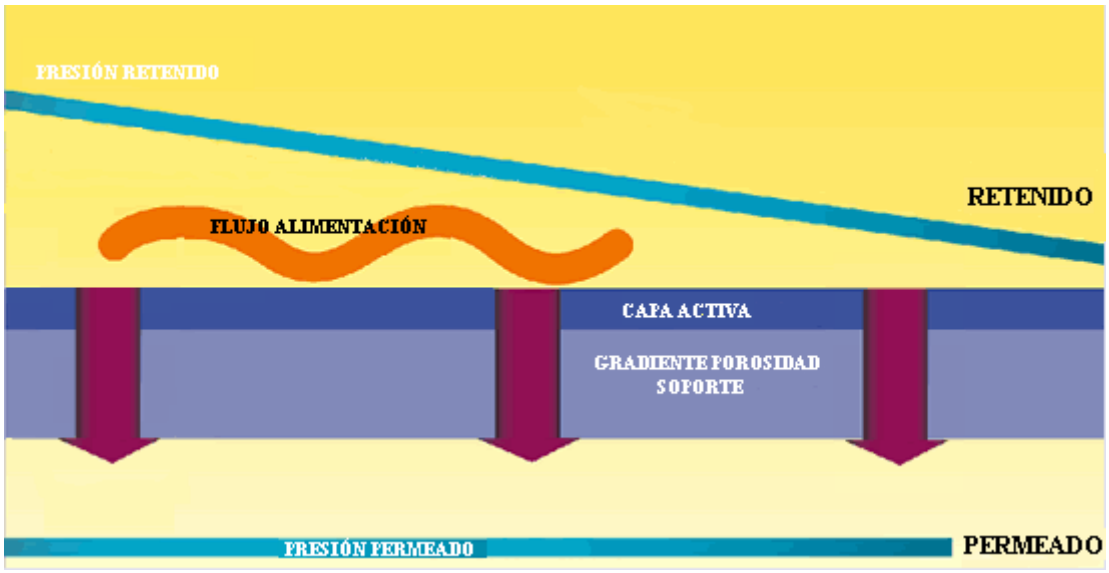


FIGURA 3-5: Esquema del comportamiento de una membrana GP (Atkinson, 2005)

Las membranas de última generación Sterilox™ GP, poseen un gradiente de porosidad en su estructura, y, además, han sido construidas con una doble capa de membrana sobre el soporte cerámico. Esto permite mantener el mismo tamaño de poro medio pero con una distribución del tamaño de poro mucho más estrecha. Este tipo de membrana con la doble capa sobre el soporte cerámico, permite una reducción decimal entre 4-5 (respecto a la de alrededor de 2.6 log que se considera para la actual membrana Membralox™) sin una reducción significativa de la eficiencia en los rendimientos.

3.3.2. Gradiente de espesor de la capa filtrante.

La membrana Isoflux® ha sido diseñada por TAMI Industries, Francia. El fundamento de esta membrana se basa en que compensa la caída de presión por un gradiente en el grosor de la capa filtrante a lo largo de toda la longitud de la membrana (Grangeon *et al*., 2000). Es decir, produce un gradiente en la resistencia de la membrana que compensa las diferencias en el flujo de permeado debido a la caída de presión. En la Figura 3-6 se presenta un esquema del comportamiento de este tipo de membrana.

El flujo de permeado es función de la proporción entre la presión a través de la membrana (TMP) y el grosor de la capa filtrante (z). El gradiente de grosor ha sido calculado para obtener una relación constante TMP/z y, de esta manera, conseguir un flujo de permeado constante.

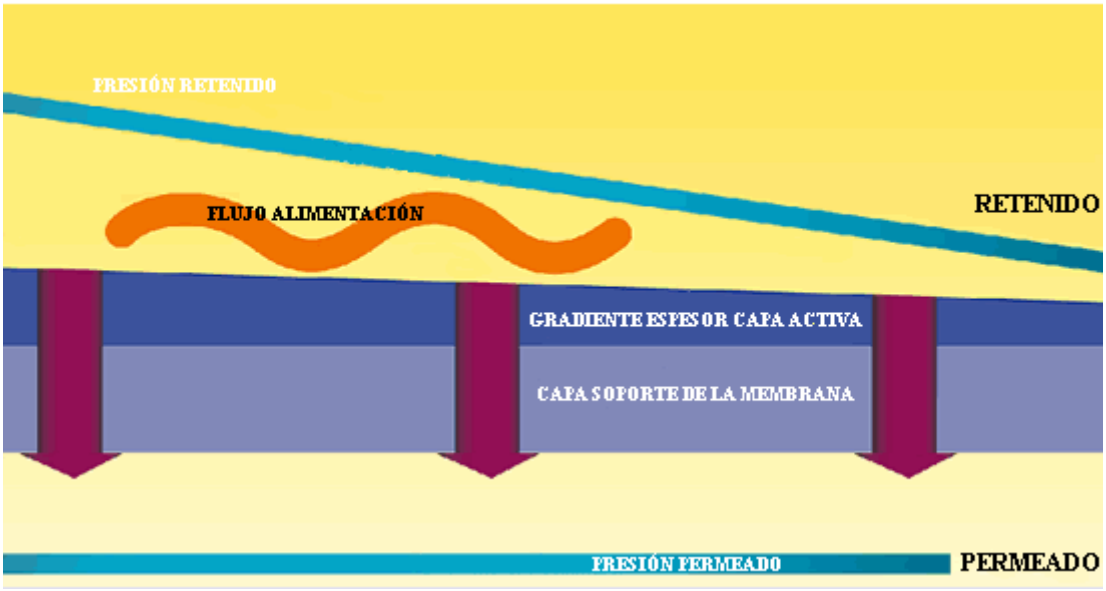


FIGURA 3-6: Esquema del comportamiento de una membrana Isoflux (Atkinson, 2005)

Tal diseño de membrana produce flujo casi constante a lo largo de la longitud del elemento. Esta característica conduce a un rendimiento mejorado de la membrana en términos de densidad de flujo con el tiempo y permite una mejor separación y homogeneidad. También el ensuciamiento de la membrana es similar a lo largo de toda la longitud del elemento de membrana, lo que simplifica y optimiza los sucesivos ciclos de limpieza química (Saboya y Maubois, 2000).

Experimentos llevados a cabo con este tipo de membranas ha alcanzado reducciones decimales de 4-4.5, reteniéndose menos del 4% de la caseína (Grangeon *et al.*, 2000).

Skrypek y Burger han mostrado experiencias prácticas en la industria, describiendo un proceso de microfiltración con membranas ISOFLUX añadido a un pasteurizador estándar. El comportamiento de la instalación, en términos de bacteriología, no mostró ningún cambio desde sus comienzos. Las reducciones decimales obtenidas se han encontrado entre 3.8 y 4.2 en el recuento total de bacterias y entre 1.6 y 2.3 en el recuento de esporas. Este nivel de calidad se ha podido mantener durante 20 horas sin ningún tipo de limpieza intermedia (Skrzypek y Burger, 2010).

Las membranas de tercera generación deben ser utilizadas para aplicaciones específicas y en condiciones de ΔP y caudales bien definidos, ya que los gradientes de espesor y porosidad se construyen para flujos y selectividad determinados.

3.4. Últimos desarrollos tecnológicos

Las investigaciones sobre nuevos diseños de membranas en el intervalo de la microfiltración continúan dado el elevado interés en aplicaciones de pasteurización fría de leche o leche ESL. Por ello, en lo últimos años se han desarrollado otros diseños de membranas para esta aplicación.

Un desarrollo reciente es el microtamizado "microsieve". La silicona es el material que se utiliza como base en la fabricación de estas membranas. Proporciona la posibilidad de crear estructuras tridimensionales y una elevada resistencia mecánica comparable a la del acero consiguiendo una estrecha distribución del tamaño de poro.

Los poros de la membrana se consiguen con equipos de litografía láser de interferencia. Se parte de una oblea redonda estándar de 150 mm de diámetro de silicona. La oblea se cubre con una capa de nitruro de silicio de 1 μm de grosor. Esta capa se expone a luz UV utilizando una plantilla con la distribución de poro deseado. La capa de nitruro es inerte a los agentes químicos por lo que se realiza un grabado con plasma para transferir los pequeños poros a la capa de nitruro de silicio. A continuación se elimina el nitruro de silicio expuesto al grabado con plasma (Brans *et al*., 2006).

Este tipo de membranas tienen una elevada permeabilidad, que ha probado ser más de 200 veces mayor que las membranas poliméricas o cerámicas tradicionales. Su resistencia hidrodinámica es muy reducida, permitiendo presiones a través de la membrana extremadamente bajas, lo que reduce significativamente la tendencia al ensuciamiento y reduce los costes de operación. La elevada porosidad de la membrana y la pequeña longitud del canal del poro, 1 μm, son los factores que contribuyen a la elevada permeabilidad. En la Figura 3-7 se puede observar una fotografía de una membrana de este tipo.

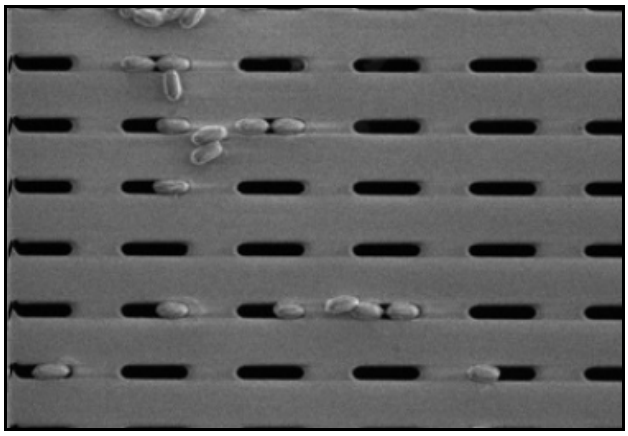


FIGURA 3-7: Fotografía de un microtamiz (www.fluxxion.com)

Van Rijn y Kromkamp han descrito el uso de microsieves (0.5 μm) para reducir la cantidad de bacterias en la leche, pudiendo alcanzarse reducciones bacterianas con un factor decimal de 6.6. Por lo tanto, el uso de microsieves parece muy prometedor (van Rijn y Kromkamp, 2001). De la Fuente *et al* (Brito-De la Fuente *et al*., 2010) mostraron los resultados experimentales de la combinación de microsieves de nitruro de silicio combinados con pulsos de alta frecuencia de vuelta, obteniendo flujos de permeado de 5000-27000 L/hm^2.

La aparición del microtamizado se presenta muy prometedora para el futuro de la esterilización en la industria alimentaria, tanto para la leche, como para la clarificación de otros tipos de bebidas. Este proceso se encuentra en fase de estudio en la actualidad.

Otro desarrollo reciente es la deposición de capas atómicas (ALD – *Atomic Layer Deposition*). Se aplica a la modificación estructural y la perforación a medida de membranas cerámicas. Se utilizan membranas cerámicas con un tamaño medio de poro de 50 nm como sustrato, sobre las que se deposita Al_2O_3 mediante ALD con el objetivo de hacer un poro con el tamaño deseado. El espesor de la capa de Al_2O_3 aumenta con el número de ciclos de ALD y, se confirma mediante microscopio electrónico que el tamaño de poro de la membrana cerámica disminuye con el número de ciclos de ALD hasta que los poros están completamente sellados. Se forma una ultradelgada capa selectiva con una estructura con gradiente de porosidad cuyo espesor puede controlarse variando la exposición al precursor. Con un aumento de los ciclos de ALD, la capa depositada de Al_2O_3 tiene un descenso en el flujo al agua y una mayor retención se seroalbúmina bovina. Una membrana sometida a 600 ALD tiene un flujo al agua reducido (de 1698 L/m^2 h bar a 118 L/m^2 h bar), mientras que la retención de BSA aumenta significativamente del 2.9% al 97.1% (Li *et al.*, 2012). En la

Figura 3-8 se puede observar una imagen de la superficie de la membrana tomada con miscroscopio electrónico para distintos ciclos de ALD.

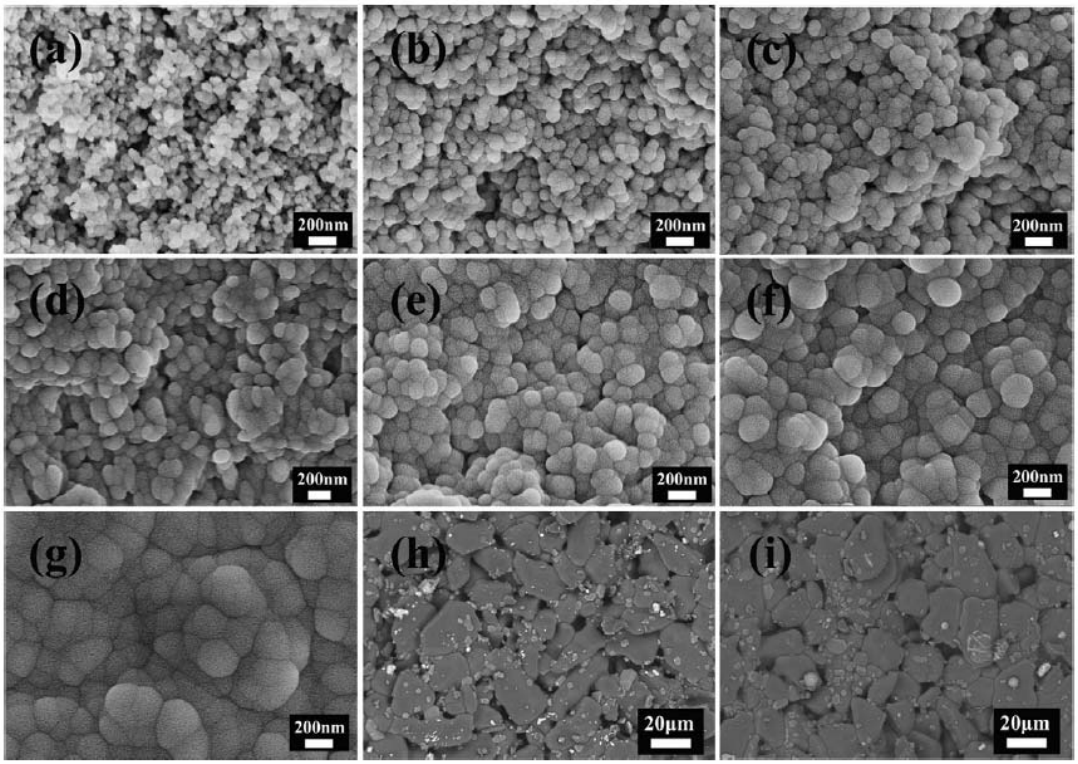


FIGURA 3-8: Fotografía SEM de una membrana cerámica con Al_2O_3 depositado mediante ALD en diversos ciclos: a–0 ciclos; b–100 ciclos; c-200 ciclos; d-300 ciclos; e-400 ciclos; f-600ciclos y g-1400 ciclos y comparación de la membrana original (h) con el resultado obtenido tras 1400 ALD (i) (Li *et al*., 2012)

Como se puede apreciar, ALD es una herramienta eficaz en la fabricación de membranas cerámicas con un tamaño de poro hecho a medida, que está siendo estudiado en la actualidad

4. CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS PARAMÉTRICO DE LAS MEMBRANAS DE ÚLTIMA GENERACIÓN

4. CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS PARAMÉTRICO DE LAS MEMBRANAS DE ÚLTIMA GENERACIÓN

4.1. Influencia de las condiciones de operación

4.1.1. Introducción

El buen conocimiento de cómo afectan las distintas variables que intervienen en el sistema es necesario para obtener el mejor rendimiento posible de la operación. En este caso, se ha realizado el estudio de la influencia del tipo de membrana empleado (tanto membrana convencional como membrana de tercera generación), las condiciones de velocidad superficial o la temperatura, en el rechazo de proteínas y en la reducción bacteriana.

4.1.2. Materiales y métodos

4.1.2.a. Alimentación

En los experimentos se ha utilizado leche cruda sometida a un tratamiento térmico suave de 50ºC. Esta leche ha sido recogida justo después del desnatado con una desnatadora (GEA Westfalia, Alemania) en CAPSA (Asturias, España) con un pH de 6.80 ± 0.04, materia grasa 0.03±0.01%, promedio de proteínas totales de 3.3 ± 1 %, 4.6±1% de lactosa y 8.3±1% de sólidos magros.

Para el precalentamiento del equipo a 50ºC antes del experimento, el aclarado después de la filtración y para preparar las disoluciones de limpieza, se ha utilizado agua de red de la industria.

La membrana se ha limpiado químicamente después de cada operación usando P-3 Ultrasil 25 alcalino 1% (v/v) (Henkel-Ecolab SNC, Issy les Moulineaux, Francia) a 75ºC, 15 min con la salida de permeado cerrada y 15 min con la salida abierta y con ácido nítrico (HNO_3, 58% de pureza) al 1% (v/v) (Brenntag, Sevilla, España) a 50ºC, 15 min con la salida de permeado cerrada y 15 min con ella abierta. Finalmente, el sistema se ha aclarado completamente con agua de red.

4.1.2.b. Membranas

En los ensayos de filtración se han empleado dos membranas con modificaciones en su estructura: membrana *Sterilox GP* (Pall, EEUU) (gradiente de porosidad en el soporte) y membrana *Isoflux* (Tami, Francia) (gradiente de espesor en la capa selectiva). También se ha estudiado el comportamiento de una membrana cerámica convencional (Inside Ceram, Tami, Francia) para ver el efecto comparado que tienen las estructuras modificadas frente a las estructuras convencionales en la operación de MF.

Las membranas Sterilox™ GP son membranas cerámicas multicanal con una sección con geometría hexagonal, y la sección de los canales de esta membrana son circulares. Este hecho facilita el cálculo de la sección de flujo. En la Figura 4-1 se puede observar una fotografía de este tipo de membranas.

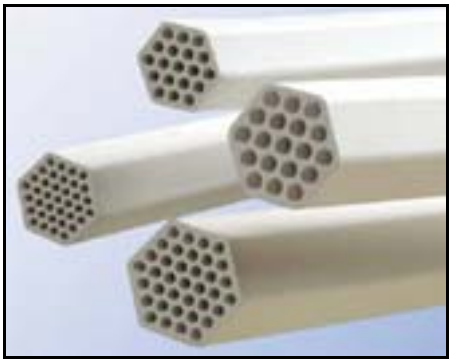


FIGURA 4-1: Fotografía de membranas Sterilox GP (SCT, Francia)

Las membranas fabricadas por Tami, Isoflux® y la membrana Inside Ceram (estructura convencional) son membranas cerámicas multicanal con sección circular, como se muestra en la Figura 14. En este caso, la sección de los distintos canales tiene una geometría irregular para favorecer la turbulencia. La Figura 4-2 muestra una fotografía de este tipo de membranas.

FIGURA 4-2: Fotografía de membranas Isoflux e Inside Ceram (Pall, EEUU)

Todas estas membranas están formadas por un soporte de óxidos de aluminio/titanio/zirconio y una capa activa de ZrO_2/TiO_2 con un diámetro medio de poro de 1.4 μm (medido por porosimetría) comunicado por el fabricante. Este tamaño se corresponde con el tamaño indicado en el apartado 2.3.1., 1.4 μm de diámetro, con el que se consigue un compromiso entre la retención de bacterias y la de caseína.

Las principales características de las membranas utilizadas en los experimentos de microfiltración figuran en la Tabla 4-1.

TABLA 4-1: Características de las membranas utilizadas

Membrana	Fabricante	Nº canales	$Ø_{ext\ canal}$ (mm)	L (m)	A (m^2)
Inside Ceram	Tami	23	3.5	1178	0.35
Isoflux	Tami	23	3.5	1178	0.35
Sterilox GP	Pall	37	3	1020	0.35

4.1.2.c. Dispositivo experimental

Para los experimentos se ha empleado un equipo a escala de planta piloto (Orelis Rhodia, Francia) que se muestra en la Figura 4-3. Esta planta se encuentra en las instalaciones de Corporación Alimentaria Peñasanta (C.A.P.S.A.) en Granda (Asturias). La capacidad del tanque de alimentación (E-1) es de 50 L y ha sido diseñado con un control automático del nivel de líquido con un sensor vibratorio de nivel (KROHNE, Romans CEDEX, France). La temperatura se controla por un encamisado con regulación automática de la circulación de los flujos de fluidos de enfriamiento o calentamiento para ajustarla al valor predeterminado (V-1). El flujo tangencial en los canales de la membrana es proporcionado por una bomba centrífuga

vertical multi-etapa con un regulador de frecuencia para el caudal (Grundfos, St Quentin-Fallavier, Francia) (E-2). La bomba proporciona un caudal máximo de 8 m^3 /h. El sistema también está equipado con un sistema automatizado de inertización que puede proteger utilizado para evitar la contaminación de la alimentación. La velocidad de flujo ha sido obtenida ajustando el caudal de flujo de la bomba de alimentación.

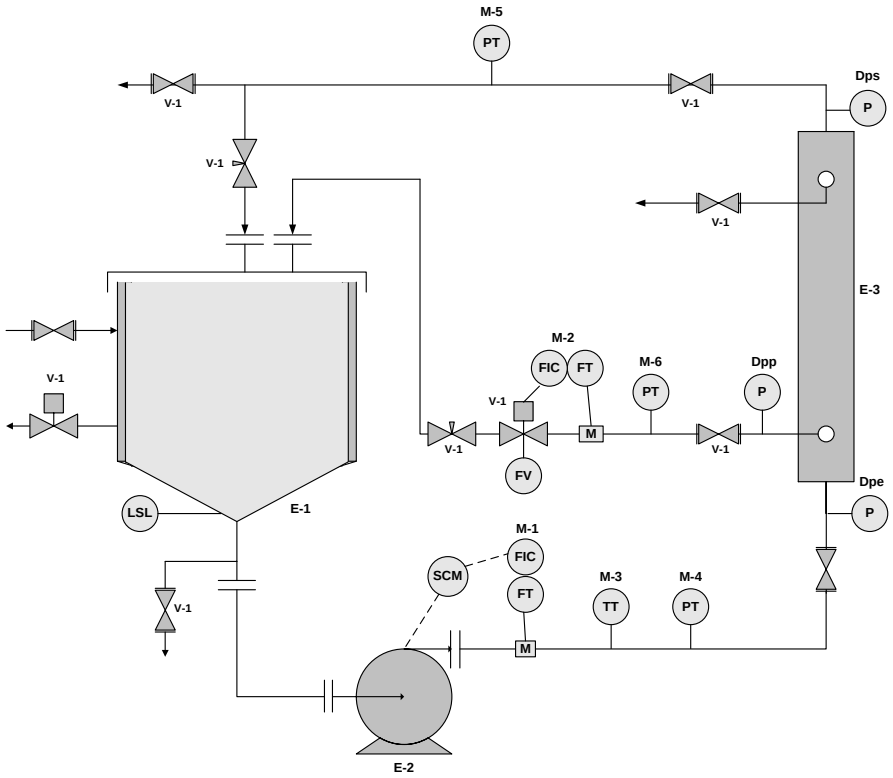


FIGURA 4-3: Diagrama esquemático del equipo piloto de microfiltración

Las medidas de datos experimentales se han realizado utilizando caudalímetros para retenido y permeado (Endress-Hausser Promass 60, Weil am Rhein, Alemania) (M-1, M-2), termómetro de proceso con resistencia de platino en cable con aislamiento mineral para la corriente de alimentación (Endress-Hausser, Weil am Rhein, Alemania) (M-3), transductores diferenciales de presión (Endress-Hausser, Weil am Rhein, Alemania) para la presión transmembranar de entrada y salida (M-4, M-5, M-6). Los transductores de presión no están situados cerca de la entrada y la salida de la membrana y pueden producir diferencias en la medición debido a pérdidas de presión causadas por la fricción a lo largo de las tuberías. Por ello, se han instalado tres manómetros (WIKA, Barcelona, España) a la entrada y salida de la membrana para asegurar la correcta medición de la presión transmembranar (D_{pe} and D_{ps} respectivamente) y la presión en el lado del permeado (D_{pp}). La presión transmembranar se ha calculado a partir de la siguiente ecuación, donde:

$$PTM = \left[\frac{\left(D_{pe} + D_{ps} \right)}{2} \right] - D_{pp} \qquad \text{(Ec. 4-1)}$$

Hay dos válvulas de aguja en las salidas de retenido y permeado para controlar la presión del sistema (V-2, V-3). El equipo experimental tiene un sistema de control automático para operar a caudal de permeado constante. Una válvula de control neumático (SAMSON, Vaulx en Velin CEDEX, France) (V-4) permite la variación de la presión en el lado del permeado.

La temperatura del proceso, las presiones de entrada y salida de la membrana y los flujos de permeado se han monitorizado para cada experimento. Se han tomado muestras de retenido y permeado a través de la válvula de salida del tanque de alimentación y del lado de permeado de la carcasa de la membrana, respectivamente.

4.1.2.d. Procedimiento experimental

El protocolo de limpieza se ha realizado antes de cada operación con una disolución alcalina y tras un aclarado se ha circulado la disolución ácida. Finalmente, se ha realizado un aclarado hasta neutralidad. Antes de los experimentos con leche, se ha medido el flujo al agua (clean water flux, CWF) de las membranas para asegurar que fuese aproximadamente el mismo de una operación a otra. Para ello se circula agua a 20°C y una velocidad de flujo cruzado (CFV) de 6 m/s. El CWF se ha calculado a partir de la siguiente ecuación: $CWF = Q_f \times \mu/(TMP \times A)$, donde Q_f es el caudal de agua permeada en L/h, μ es la viscosidad del agua (1.0 cP a 20°C), y A es el área de filtración de membrana (0.35 m^2 para todas las membranas). La medida del CWF se ha realizado por duplicado o hasta que se obtiene el CWF original. Si no se alcanza, se repite el procedimiento de limpieza. Después de cada operación, se extrae la leche del circuito y se llena con agua para comenzar el ciclo de aclarado durante unos 20 min antes de que se aplique el protocolo de limpieza. Si el CWF es un 10% menor que el CWF antes del experimento con la leche, el ciclo de limpieza se repite y se determina otra vez el pH y el CWF de las corrientes de permeado y retenido.

Después de cada limpieza, se vacía el sistema y se llena con 150 L de leche cruda desnatada. Antes de establecer los parámetros de operación, se aclara el circuito con 15 L de leche (se corresponden con el volumen muerto del compartimento de retenido) para eliminar

los posibles restos de agua de la limpieza. El equipo alcanza instantáneamente el 80% de la presión y la velocidad de flujo deseados, y necesita unos 3 min para alcanzar los valores finales.

Una vez iniciado el proceso, el retenido y el permeado se recirculan hasta el tanque de alimentación después de atravesar la membrana con el objetivo de trabajar a concentración constante durante 4 horas. Como el crecimiento bacteriano está aumentando en el sistema como consecuencia de la temperatura, se toman asépticamente muestras a la vez de la alimentación y del permeado en intervalos regulares durante la operación para obtener una medida más precisa de la reducción bacteriana.
Las condiciones experimentales de los distintos experimentos se reflejan en la Tabla 4-2 con la TMP de 0.5 - 0.8 bar para todos los ensayos.

TABLA 4-2: Condiciones de operación de los ensayos realizados

Membrana	v (m/s)	T (ºC)	Jp (L/h m^2) promedio
Isoflux	6	21	435
Isoflux	6	45	521
Isoflux	8	21	381
Isoflux	8	45	423
Sterilox GP	6	21	389
Sterilox GP	6	45	495
Inside Ceram	6	21	391
Inside Ceram	6	45	515

4.1.2.e. Métodos de análisis

Se han tomado muestras del permeado y la alimentación cada 30 min durante 4 h. Como la cantidad de muestras a analizar es elevado, los análisis no se realizan directamente tras la filtración. Las muestras se conservan a 4ºC y se analizan en las 3 h siguientes a la finalización del experimento.

Análisis físico-químicos

La medida del *pH* fue determinada con una precisión de ±0.05% mediante un instrumento convencional de medida pH-metro (CRISON OH25, España)

La *acidez total* se determina con una valoración con 0.1 M NaOH según el procedimiento descrito en ISI Handbook (1991).

Para determinar el *contenido de sólidos y proteínas totales, lactosa y el contenido en materia grasa* se ha empleado el analizador MilkoScan^{TM} FT 120. Este equipo se basa en las espectroscopía de onda corta en el infrarrojo cercano (NIR). El Milko-Scan mide la absorción de energía por los grupos funcionales específicos de las moléculas de materia grasa, proteína y lactosa. Se han seleccionado las siguientes longitudes de onda: 5.73 pm para grupos C=O (carbonilo), 9.60 km para grupos O-H (hydroxilo) o lactosa y 6.46 pm para los grupos amida de las proteínas.

El analizador emplea un interferómetro FTIR incorporado (Fourier Transform Infrared Spectroscopy). En la Figura 4-4 se muestra un esquema de los componentes del analizador.

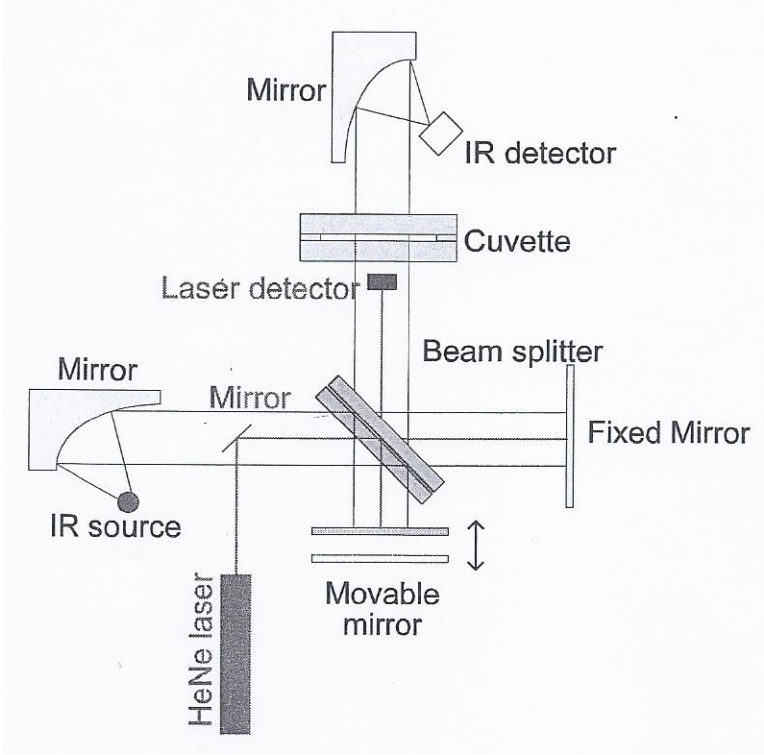


FIGURA 4-4: Diagrama esquemático del interferómetro FTIR

El rayo infrarrojo de la fuente IR cae en el separador de rayos que envía la mitad de los rayos a un espejo fijo y la otra mitad al espejo corredizo. Desde los espejos los rayos IR reflejan y se juntan antes de llegar al detector. Todas las frecuencias IR pasan por el interferómetro al

mismo tiempo, y pequeños movimientos rápidos del espejo hacen posible la generación simultánea de todo el espectro IR.

Con la interferometría se tratan todas las frecuencias de la fuente IR sin ninguna selección previa, lo cual permite recoger un espectro entero en menos de un segundo. Un interferómetro graba la intensidad de la luz captada por el detector como una función de la diferencia de trayectoria por el efecto de un espejo móvil. La medición de los movimientos por minuto del espejo se obtiene por medio de un rayo láser que sigue la misma trayectoria que rayo IR. El interferograma hace referencia a la posición del espejo móvil y no a la longitud de onda que es de interés.

Análisis bacteriológicos

Durante la microfiltración, se ha controlado la microflora bacteriana. Se realizó la siembra en placa de la leche cruda de partida y de las muestras de retenido y permeado tomadas cada 30 min.Para la siembra en placa se empleó un medio de agar para la determinación de la flora total (Total Bacterial Count, TBC). Se han sembrado en placa las diluciones adecuadas de las muestras por duplicado. Para realizar las diluciones se emplea la disolución Ringer (10 g de Triptona + 5 g NaCl + 1 L agua destilada). Esta disolución se neutraliza a pH 7.5 y se distribuye en tubos de ensayo a razón de 9 mL por tubo y se esteriliza en autoclave durante 15 min a 121ºC. Se añade 1 mL de la suspensión a examinar en un tubo ya enfriado, como mínimo durante 18 horas. Se agita la mezcla y se toma 1 mL que se añade al siguiente tubo de ensayo repitiendo la operación sucesivamente, obteniéndose de esta manera una serie de diluciones decimales. La exactitud de este método está fuertemente condicionada por que no se produzcan contaminaciones en la preparación de las muestras para su análisis, pudiéndose entonces cometer errores importantes.

Una vez sembradas, las placas se han incubado durante 48 h a 37ºC. El recuento de flora total (TBC) se ha determinado tras el periodo de incubación y utilizando el método de recuento directo (Direct Count Method, Chalmers, 1962) donde las colonias son contabilizadas como unidades formadoras de colonias por mL, con un límite de detección de 1 log10 CFU/mL. Los valores dados de contenido bacteriano son la media de las siembras realizadas por duplicado.

No se han realizado análisis para determinar la eliminación de células somáticas o microorganismos presentes habitualmente en la leche cruda porque estudios previos ya han confirmado su eliminación con los procesos de MF con membranas de 1.4 µm (Pafylias et al., 1996; Elwell y Barbano, 2006; Fritsch y Moraru, 2008).

4.1.3. Resultados y discusión

4.1.3.a. Influencia de la temperatura sobre el flujo de permeado

Para el estudio del efecto de la temperatura en la operación de MF, se han estudiado los tres tipos de membranas a v=6 m/s a diferentes temperaturas (45±1ºC y 21±1ºC). Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4-5.

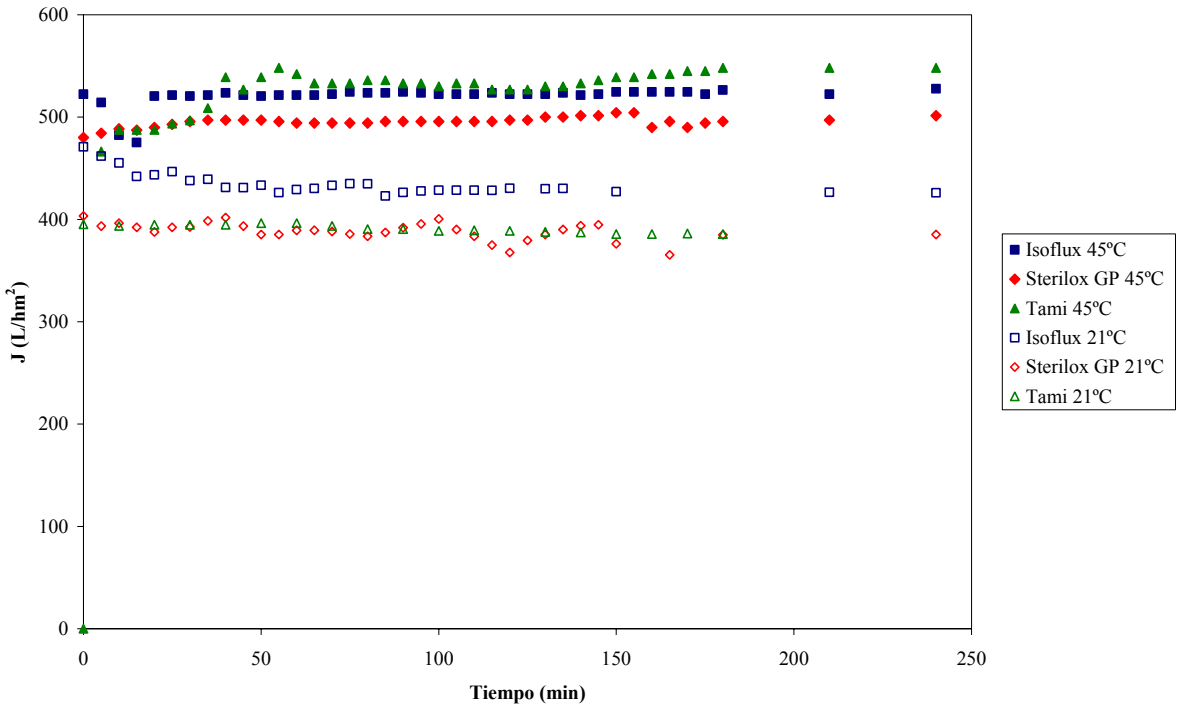


FIGURA 4-5: Flujo (L/h m^2) *vs.* tiempo (min) para experimentos con varios tipos de membranas a v=6m/s y 21±1ºC / 45±1ºC

Los estudios realizados a 45ºC muestran un aumento poco significativo de J de 5 L/h m^2 para la membrana Isoflux, aumentando J de 523 a 528 L/h m^2 (1%). El J en función del tiempo para las membranas Sterilox GP e Inside Ceram (Tami) muestran un descenso de 72 y 52 L/h m^2 respectivamente tras los primeros 30 min de operación, y después una segunda

fluctuación de 7 L/h m^2 tras 200 min desde el comienzo de la filtración. La disminución progresiva que tiene lugar al comienzo de los experimentos es característica de un sistema de estabilización del proceso que siempre produce la misma respuesta, en este caso, J, a un determinado valor establecido sin ningún ajuste adicional de los parámetros del proceso.

A una temperatura más baja (21ºC), las membranas Isoflux y Sterilox GP mostraron una disminución de 32 y 19 L/h m^2 respectivamente tras los primeros 30 min de operación, y después una segunda fluctuación de 7 L/h m^2 tras 200 min. La membrana convencional (Inside Ceram) mostró yb descenso total de 11 L/h m^2 tras 240 min, disminuyendo el valor de J de 395 a 384 L/h m^2 (2.8%). En este caso, la disminución progresiva puede deberse a la anteriormente citada estabilización.

En todos los casos, los valores del flujo de permeado sufrieron una fluctuación media del 1%. Este hecho indica que no hay un ensuciamiento significativo durante el tiempo de operación. Los valores de flujo de permeado obtenidos concuerdan con los mostrados por Daufin *et al.* (2000) y Saboya y Maubois (2000). Otra publicación indicó que no hay un ensuciamiento significante para tiempos de operación inferiores a h (Olesen y Jensen, 1989). El proceso puede trabajar a un buen nivel de calidad durante 20 h sin ningún proceso de limpieza intermedio (Skrzypek and Burger, 2010).
A 45ºC, los flujos de permeado fluctúan alrededor de 500 L/h m^2 y para los ensayos a temperatura más baja (21ºC), los flujos de permeado se encontraron entre 400L/h m^2 (Sterilox GP e InsideCeram) y 450 L/h m^2 (Isoflux). Una mayor temperatura lleva a una menos viscosidad que aumenta la permeabilidad.

Si se considera el efecto debido al tipo de membrana, a temperatura baja, sólo la membrana Isoflux mostró un valor de flujo de permeado ligeramente superior (1%) que los obtenidos para las membranas Sterilox GP e Inside Ceram al final del proceso. Este hecho puede deberse a un cambio en la composición de la alimentación causada por una dilución con restos de agua que podía permanecer en el interior del circuito antes de comenzar el experimento. Esta dilución puede conllevar una disminución en la viscosidad y por tanto mayores flujos de permeado.

También se ha podido apreciar que no hay diferencia significativa en las características del descenso del flujo de permeado.

4.1.3.b. Influencia de la velocidad y la temperatura sobre el rechazo de proteínas

En este caso, todos los experimentos se han realizado con el mismo tipo de membrana (Isoflux). Se han empleado dos velocidades superficiales distintas (6-8 m/s) y dos temperaturas (21±1ºC y 45±1ºC). El contenido en proteínas de las muestras se ha analizado con el Foss Milkoscan descrito en el apartado 4.1.2.e.

El rechazo de proteína observado (R) se ha calculado utilizando la concentración de proteína en la alimentación (Cf) y en el permeado (Cp).

$$R = \left(1 - \frac{C_p}{C_f}\right) \qquad \text{(Ec. 4-2)}$$

Los resultados se observan en la Figura 4-6.

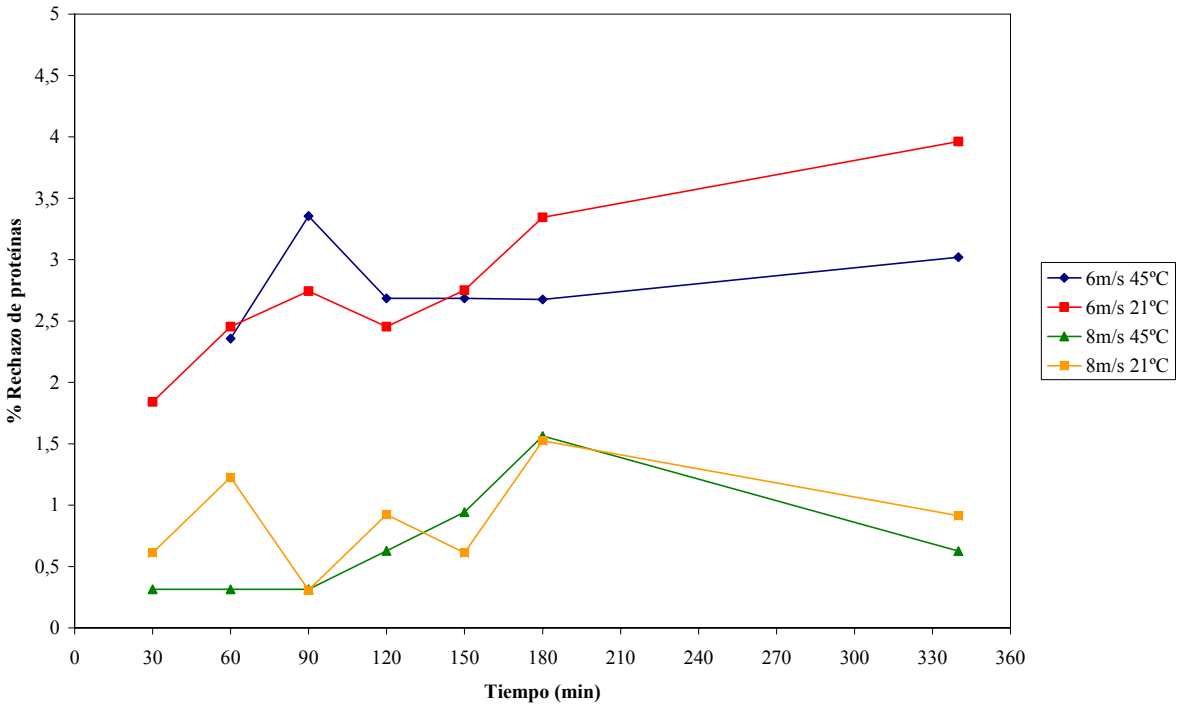


FIGURA 4-6: Rechazo de proteínas a v=6-8 m/s y temperaturas de 21±1ºC y 45±1ºC para la membrana Isoflux

Los experimentos llevados a cabo a v=6m/s, mostraron una distribución no uniforme del rechazo de proteínas con el tiempo para las dos temperaturas. A 45ºC, las fluctuaciones aumentaron el valor de rechazo de proteínas de 2.35% a 3%, alcanzándose una media de 2.7%

considerando el error experimental. A la temperatura más baja, se puede apreciar un aumento más acusado del rechazo de 1.8% a casi un 4%, con un valor medio de 2.9%.

A una mayor velocidad de circulación (8m/s), la retención de proteínas fue menor. Para los experimentos a 45ºC, el rechazo de proteínas aumentó de 0.3 a 1.5% en 240 min, con un valor medio de 1.8%. A 21ºC, el rechazo observado es más bajo, con un aumento desde 0.6% a 0.9% con un valor medio de 0.8% en rechazo de proteínas.

En todos los casos, se ha observado un aumento en el rechazo de proteínas con el tiempo. Pafylias et al. (1996), utilizaron una membrana con un tamaño de poro de 1.4 μm y operaron con la recirculación en paralelo del permeado, sugiriendo que este efecto puede ocurrir si se forma una capa secundaria en la membrana que rechaza las proteínas más grandes.

El efecto de la velocidad superficial resultó ser más importante que la temperatura. Velocidades más elevadas (8 m/s) mostraron un rechazo de proteínas un 10% menor para las dos temperaturas. Este hecho puede ser debido a la acumulación de bacterias, materia grasa y proteínas en la superficie de la capa filtrante. Esta acumulación se puede eliminar con una circulación a velocidad más elevada de la corriente de alimentación, mejorando la selectividad del proceso.

Los valores medios de rechazo de proteínas varían desde 0.8 a 2.9% que concuerdan con los resultados de van der Horst y Hanemaaijer (1990) de 3% en rechazo de caseína con una membrana de 1.4 μm y Pafylias *et al*. (1996) con valores superiores a 0.2%.

4.1.3.c. Influencia del tipo de membrana sobre el rechazo de proteínas

En esta parte del estudio, se han empleado las mismas condiciones de operación para los tres tipos de membranas (v=6m/s y T=21±1ºC). Los valores obtenidos en rechazo de proteínas se muestran a en la Figura 4-7.

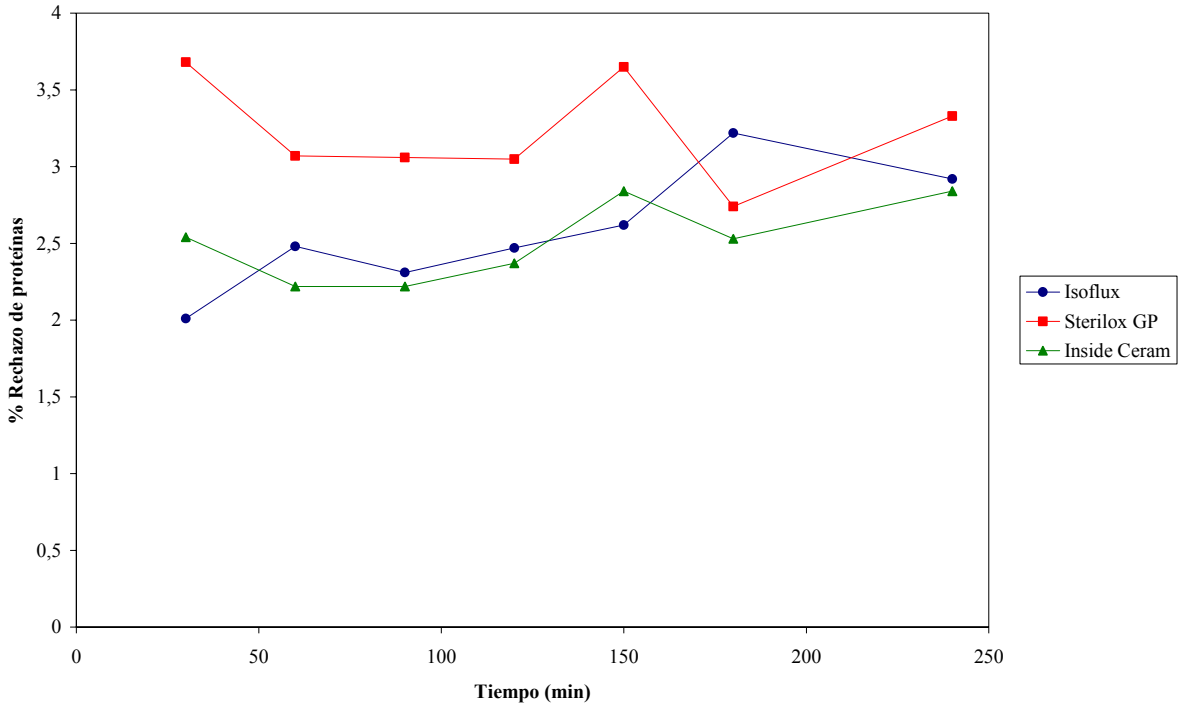


FIGURA 4-7: Rechazo de proteínas a v=6m/s y T= 21±1ºC para cada tipo de membrana

De acuerdo con la Figura 4-7, los valores de rechazo de proteínas son constantes con el tiempo para la membrana Sterilox GP (around 3.2 %). Isoflux e Inside Ceram tienen un rechazo de proteínas similar alrededor del 2.5%. Si consideramos el error experimental puede observarse una tendencia a la horizontalidad.

Se puede apreciar un comportamiento diferente para mayor temperatura, como se muestra en la Figura 4-8 donde Sterilox GP e Isoflux presentan una tendencia similar, manteniéndose relativamente estable con un valor medio de 2.8%. Inside Ceram mostró un acusado aumento del rechazo de proteínas con el tiempo, de 1.1 a 3.3% en 240 min, con un valor medio de 1.7%. Las membranas tradicionales proporcionan valores crecientes de rechazo de proteínas con el tiempo que pueden ser debidos a una acumulación irregular de sólidos en la superficie de la membrana (diferente al que tiene lugar en las membranas de última generación, que resulta ser más homogénea debido a que las modificaciones en su estructura compensan el gradiente de presión con la coordenada longitudinal).

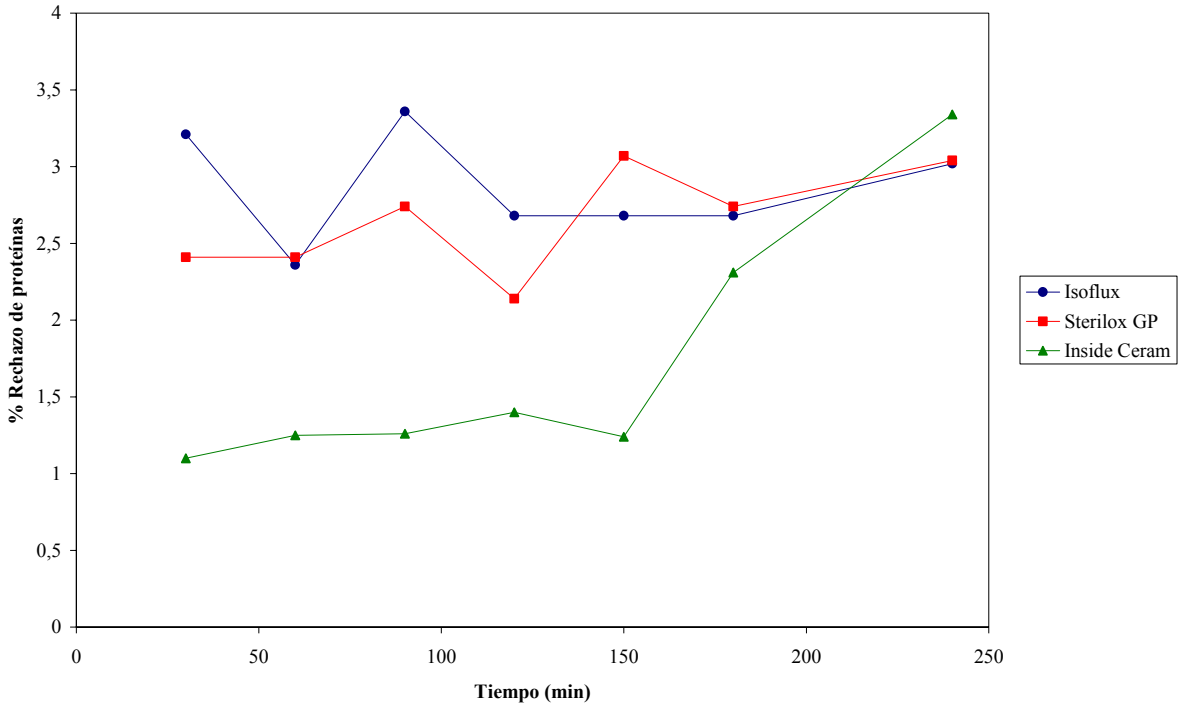


FIGURA 4-8: Rechazo de proteínas a v=6m/s y T= 45±1ºC para cada tipo de membrana

Es rechazo de proteínas fue mayor para temperaturas más bajas como se muestra en la comparación entre las figuras 4-7 y 4-8. Inside Ceram aumentó un 32% la retención de proteínas con la temperatura, mientras que Isoflux y Sterilox GP un 10 y 16% respectivamente.

En este caso, los valores medios de rechazo de proteínas variaron entre 1.7 y 3.2% de acuerdo con los resultados de van der Horst y Hanemaaijer (1990) y Pafylias *et al.* (1996) descritos en el apartado 3.2.

4.1.3.d. Influencia del tipo de membrana sobre la retención bacteriana

Tras la siembra en placa de las muestras de permeado y retenido, tomadas en las mismas condiciones en cada experimento, se han realizado los recuentos de bacterias pertinentes. Lo valores de reducción relativa, corregidos con el logaritmo del recuento del retenido en cada momento, se han representado frente al tiempo como se muestra en la Figura 4-9.

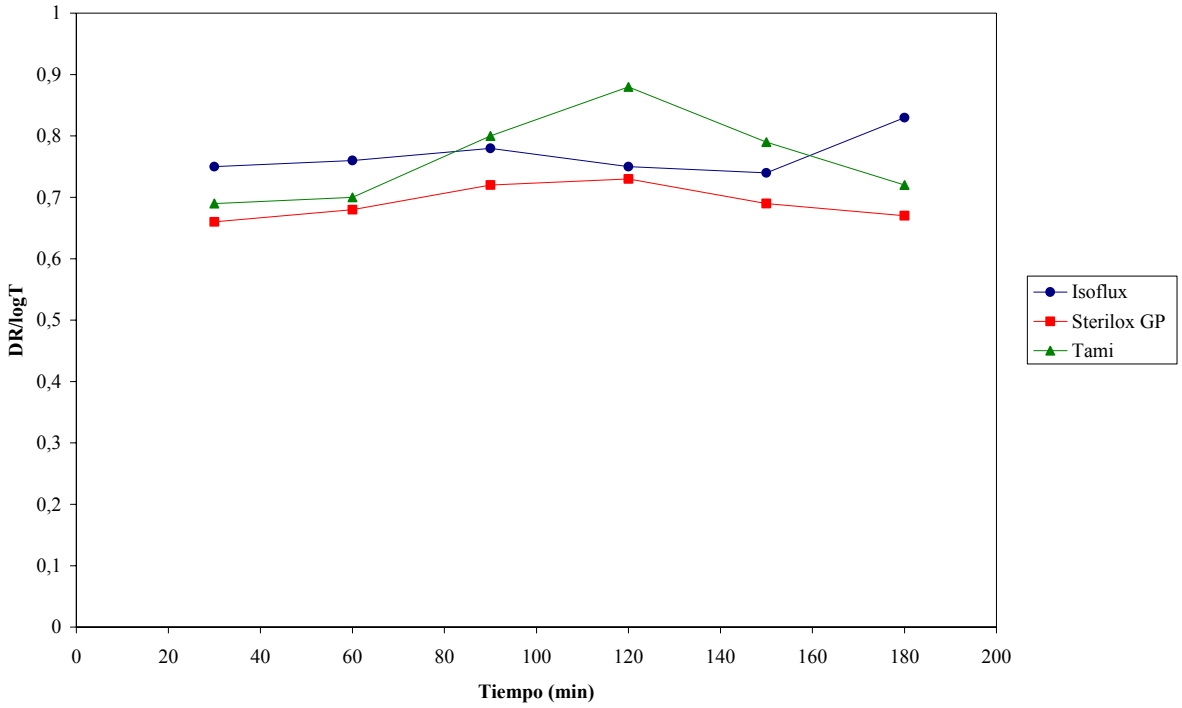


FIGURA 4-9: Reducción decimal relativa a v=6m/s y T=21±1ºC para cada tipo de membrana

Debido a que la leche empleada en estos ensayos no tiene una composición ni contenido bacteriano estándar (50000 – 100000 UFC/mL), se ha buscado la comparación de los distintos resultados teniendo en cuenta las distintas composiciones iniciales de la alimentación. El logaritmo decimal del cociente entre los contenidos de microorganismos inicial (N_0) y final (N_F) se denomina grado de reducción decimal [DR= log10 (N_0/N_F)]. Por este motivo, la reducción decimal observada se ha dividido entre el logaritmo de la carga bacteriana (en UFC/mL) de la alimentación.

La Figura 4-9 muestra una tendencia constante con niveles similares de eliminación de bacterias para todos los tipos de membranas. El contenido bacteriano de los permeados ja variado entre 10 y 100 UFC/mL Dando lugar a reducciones decimales entre 3.5 y 5.2 ciclos logarítmicos. Estos valores concuerdan con los indicados en la bibliografía como Daufin *et al.* (2001) con reducciones decimales en el recuento total de bacterias (TBC) desde 2.3 at 3.1 o Saboya y Maubois (2000) con una reducción decimal de 3.5 con una membrana de 1.4 µm. Trouvé *et al.* (1991), Pafylias *et al.* (1996) y Grangeon *et al.* (2000) obtuvieron reducciones decimales en TBC entre 4 y 5.

El comportamiento en cuanto a retención de bacterias ha sido similar para los tres tipos de membranas. Las membranas con una modificación en la estructura, como las estudiadas, mejoran la operación de MF en cuanto a flujo de permeado y mantenimiento de la selectividad se refiere. El gradiente longitudinal proporciona un ensuciamiento uniforme a lo largo de la membrana.

Aunque el proceso de MF es muy eficiente en cuanto a la eliminación de bacterias y esporas, no puede garantizar el 100% de la eliminación de los patógenos como tiene lugar en la pasteurización de la leche. Se requiere un tratamiento térmico para asegurar la seguridad y calidad del producto.

4.1.3. Conclusiones

La microfiltración en flujo cruzado utilizando tres tipos diferentes de membranas cerámicas con un tamaño de poro de 1.4 μm no ha mostrado evidencias de ensuciamiento para tiempos de operación de 4 horas. Los flujos de permeado han variado entre 400 y 530 L/h m^2, de acuerdo con los valores bibliográficos. Cuando los experimentos se realizaron a distintas velocidades superficiales (6-8 m/s), la microfiltración a 8 m/s consiguió un rechazo de proteínas con el tiempo un 10% menor que los experimentos llevados a cabo a 6 m/s. Se han obtenido valores de rechazo de proteínas entre 0.8 y 2.9%. La temperatura no ha mostrado un efecto significante. Los tres tipos de membranas cerámicas presentaron una reducción decimal similar en el recuento total de bacterias entre 3.5 y 5.2 dependiendo de la carga bacteriana inicial.

4.2. Determinación de las Condiciones Hidrodinámicas Críticas (CHC)

4.2.1. Introducción

Uno de los principales factores limitantes del proceso es la acumulación de materia en la superficie de la membrana. Este depósito de materia se transforma en ensuciamiento irreversible en las condiciones hidrodinámicas críticas (CHC) y altera la operación de filtración (permeabilidad, selectividad) y modifica la composición de las corrientes de retenido y permeado. Las micelas de caseína han demostrado ser los componentes de la leche responsables de la aparición de las condiciones hidrodinámicas críticas creando una deposición irreversible en la superficie de la membrana.

Las condiciones hidrodinámicas de filtración como la presión transmembranar (TMP), el flujo de permeado (J) y el esfuerzo cortante (τ_w) controlan la operación de filtración.

El concepto de flujo crítico en los procesos de filtración con membranas ha ganado más interés en los últimos años para controlar el ensuciamiento y conseguir condiciones de operación sostenibles. Si se trabaja en condiciones por debajo de las críticas se reduce la necesidad de limpieza y se mejora la transmisión macromolecular de la microfiltración.

Se utilizan varios métodos para determinar las condiciones hidrodinámicas críticas.

Uno de los métodos más simples es el Método paso-a-paso. En la Figura 4-10 se muestra un esquema de la operación.

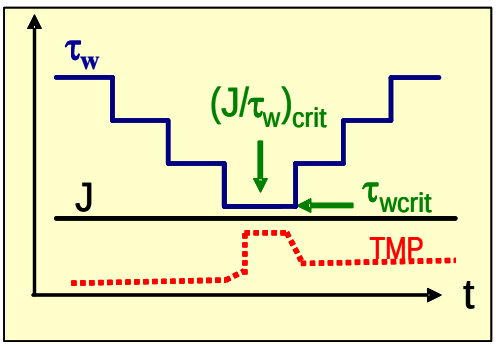


FIGURA 4-10: Esquema del Método Paso-a-paso de determinación de las CHC

En este método se varía el esfuerzo cortante en escalones, disminuyéndolo progresivamente, con el flujo de permeado constante y se sigue la evolución de la presión transmembranar. Cuando se alcanza el valor crítico de esfuerzo cortante, la presión transmembranar aumenta rápidamente. En la última parte del ensayo se aumenta de nuevo el τ_w de una manera equivalente al descenso que tuvo lugar antes de que se alcanzasen las CHC.

Al realizar el ensayo de esta manera, se pueden comparar etapas similares cuya única diferencia es el sistema haya estado sometido por un tiempo determinado en las CHC con lo que se podría determinar por diferencia la influencia de estas condiciones sobre la resistencia hidráulica. El inconveniente de este método es que sólo se puede realizar la determinación de la resistencia hidráulica debida al ensuciamiento total, tanto reversible como irreversible. No se puede realizar una distinción cuantitativa de qué proporción corresponde a cada tipo de ensuciamiento.

El desarrollo de nuevos métodos, permite un estudio más detallado del ensuciamiento. Éste es el caso de una metodología basada en el trabajo descrito por Espinasse (Espinasse *et al.*, 2008) denominado método "Square Wave Barovelocimetry" (SWB), basado en métodos electroquímicos. Permite el cálculo de la resistencia hidráulica debida al ensuciamiento reversible e irreversible por separado y con ello analizar los fenómenos que tienen lugar durante el tiempo de operación en las condiciones hidrodinámicas críticas. En la Figura 4-11 se muestra un esquema del Método SWB.

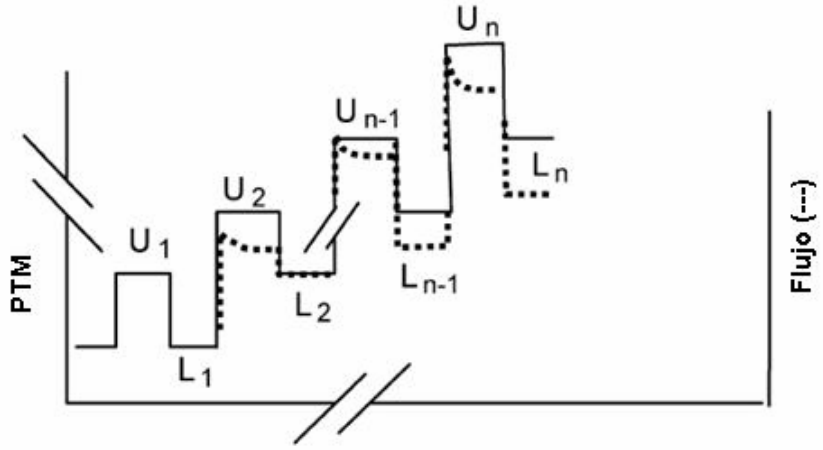


FIGURA 4-11: Principio del método SWB; presión y flujo *vs.* tiempo

El ensuciamiento reversible desaparece cuando se reduce la presión transmembranar (PTM), mientras que el ensuciamiento irreversible (con la formación de una capa de gel) se mantiene en la superficie de la membrana aunque se libere la presión. En el caso del ensuciamiento irreversible, el método para su eliminación es la limpieza mecánica o química. Para el cálculo de este tipo de ensuciamiento se emplearía la Ecuación 4-3. El ensuciamiento irreversible que genera una etapa de elevada PTM es la diferencia en la resistencia hidráulica entre las dos etapas con valor equivalente de PTM y que estén separadas por la etapa de alta PTM y otra de PTM menor que haya eliminado el ensuciamiento reversible.

$$\frac{r_{if,n}}{R_m} = \frac{R_f}{R_m}\bigg|_{L_n} - \frac{R_f}{R_m}\bigg|_{U_{n-1}} \qquad \text{(Ec. 4-3)}$$

La resistencia hidráulica debida ensuciamiento irreversible total (Ecuación 4-4) se calcula como el sumatorio de las resistencias irreversibles generadas en todas las etapas de alta TMP.

$$R_{if} = \sum_n r_{if,n} \qquad \text{(Ec. 4-4)}$$

El cálculo de la contribución que tiene el ensuciamiento reversible en la operación se determina como diferencia entre la resistencia hidráulica total y la irreversible como se muestra en la Ecuación 4-5.

$$\frac{R_{rf}}{R_m} = \frac{R_f}{R_m} - \frac{R_{if}}{R_m} \qquad \text{(Ec. 4-5)}$$

El esfuerzo cortante (τ_w), fue descrito previamente como un parámetro adecuado para caracterizar el transporte de flujo cruzado (Gésan-Guiziou *et al.*, 1999 b). En el experimento a J constante, la evolución de la presión transmembranar (TMP) se convierte en una variable dependiente directamente relacionada con el fenómeno de ensuciamiento. Los experimentos a flujo constante presentan ventajas interesantes: alta sensibilidad para determinar las condiciones hidrodinámicas críticas (CHC) y transporte convectivo de materia constante que limita los cambios en la reología y la solubilidad de la capa de gel. El empleo de flujo constante ayuda a comprender los mecanismos de ensuciamiento (Field *et al.*, 1995). Un esquema del estudio de las CHC variando τ_w en lugar de la PTM se puede ver en la Figura 4-12.

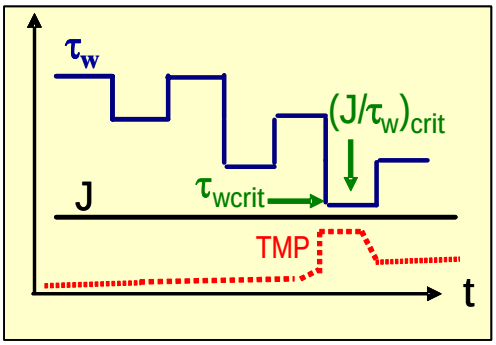


FIGURA 4-12: Esquema del Método SWB de determinación de las CHC

En este método, se combinan aumento y reducción del esfuerzo cortante y se hace un seguimiento de la evolución de la presión transmembranar, mientras el flujo de permeado se mantiene constante. El objetivo, al igual que en el caso comentado anteriormente en el que se varía la PTM, es comparar dos etapas en las mismas condiciones hidrodinámicas entre las cuales sólo tenga lugar una etapa intermedia con menor esfuerzo cortante en la que teóricamente sólo se produce ensuciamiento irreversible. La parte correspondiente al ensuciamiento reversible ha sido eliminada en otra etapa intermedia de mayor esfuerzo cortante donde la acumulación ha sido arrastrada. Los cálculos para determinar las correspondientes resistencias hidráulicas son equivalentes a las expresadas en las Ecuaciones 4-3, 4-4 y 4-5.

4.2.2. Materiales y métodos

4.2.2.a.Alimentación

La alimentación empleada en estos experimentos ha sido una suspensión de caseína nativa en polvo (PPCN, Promilk 872 B1 Ingredia, Francia) en una fase acuosa procedente de la ultrafiltración de la leche (ultrafiltrado, Uf) para su reconstitución, de manera que tenga la misma composición que la leche desnatada pero sin proteínas solubles. Para evitar el crecimiento bacteriano se han añadido 0.2 g L^{-1} de acida sódica como agente bacteriostático. El proceso para la preparación del fosfocaseinato nativo se muestra en la Figura 4-13.

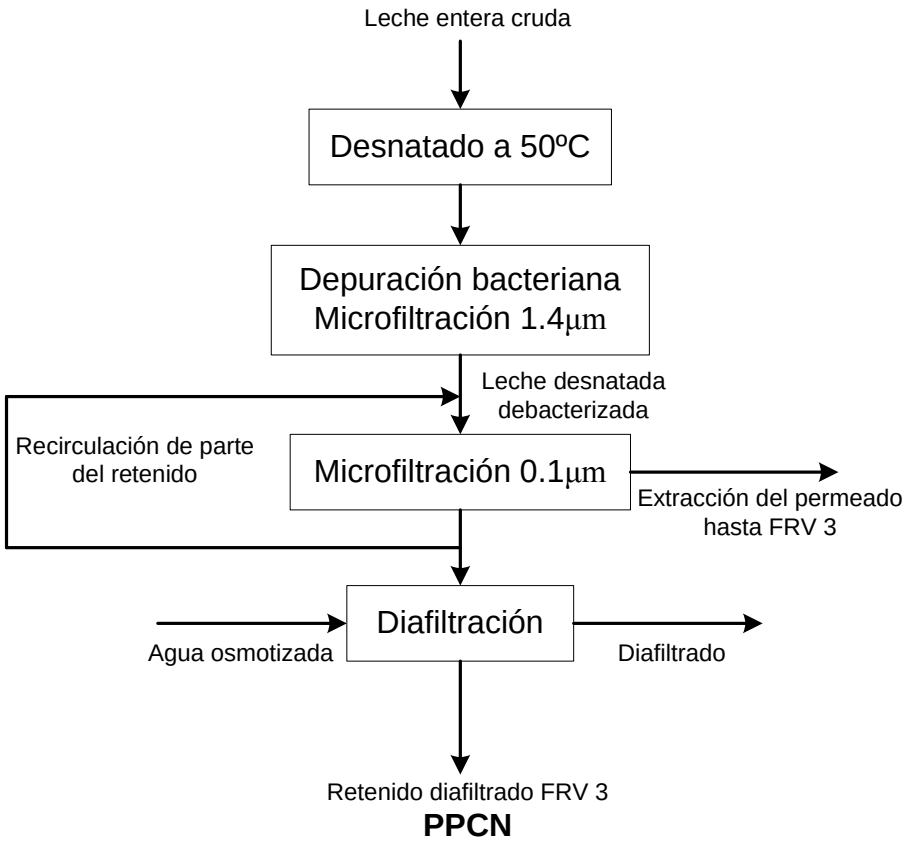


FIGURA 4-13: Esquema del proceso de fabricación del fosfocaseinato nativo

El ultrafiltrado (Uf) se ha obtenido por ultrafiltración de leche desnatada utilizando una membrana con un corte de 8 kg mol^{-1}. Para prevenir el crecimiento de microorganismos, se añadió 0.2 g L^{-1} de acida sódica.

El volumen de líquido preparado se precalentó a 50°C y se mantuvo a esta temperatura durante 30 min antes de llenar el circuito de filtración. Este proceso es necesario para que se alcance el equilibrio proteico y mineral entre las caseínas y la fase acuosa.

El sistema consigue duplicar de manera automatizada la concentración de caseína en la alimentación. Para obtener distintas factores de concentración de las disoluciones de PPCN se ha realizado la fase de concentración partiendo de distintas composiciones.

Agua

El agua empleada para precalentar la instalación a 50°C antes del experimento y para aclarar el equipo de filtración a su finalización se filtró en unos cartuchos en serie de 1.0 y 0.2 μm. La fase de aclarado siempre se realizó de la misma manera: 50 L de agua caliente (50°C) se emplearon para eliminar la leche del circuito con una velocidad superficial de $v_R = 2ms^{-1}$ y 10 L para aclarar el compartimento de permeado. Se recirculó el agua del circuito con una presión media en lado del retenido de PRM $=3\times10^5$ Pa y $v_R = 5$ m s^{-1} durante 5 min sin flujo de permeado, utilizando el sistema de presión transmembranar constante. Finalmente, se utilizaron 50 L de agua limpia y a 50°C para el aclarado final de la instalación (Jimenez-López *et al*., 2008).

Disoluciones de limpieza

La disolución alcalina consistió en un 1% (v/v) en Ultrasil 25 F (Henkel-Ecolab SNC, Issy les Moulineaux, Francia). La disolución ácida también tuvo una composición del 1% (v/v) de ácido nítrico (HNO_3) con una pureza del 58% (Langlois Chimie, St. Jacques de la Lande, Francia). La limpieza siempre se realizó de acuerdo al siguiente procedimiento: T=50°C, PRM $=3\times10^5$ Pa, $v_R = 5$ m s^{-1}, flujo de extracción del retenido= 3.4 L h^{-1} y J=0 L h^{-1} m^{-2}, durante los primeros 10 min, depues se abrió la válvula de permeado con un flujo de J=50 L h^{-1} m^{-2} durante 10 min más (Jimenez-López *et al*., 2008).

4.2.2.b.Membranas

La membrana empleada en los experimentos ha sido una membrana cerámica de 0.1 μm de tamaño de poro y 7 canales, Kerasep^{TM} (Novasep Process, Francia) con una capa activa de ZrO_2 +TiO_2, área de membrana (A) = 0.0744 m^2, diámetro interno del canal (d) = 4.13 ± 0.02 mm; longitud (L) = 0.856 m. La resistencia hidráulica de la membrana limpia se determinó de acuerdo a la ley de Darcy antes de cada experimento.

4.2.2.c. Dispositivo experimental

Para el análisis de las CHC en este proceso se ha empleado un equipo ubicado en la planta piloto de las instalaciones del Centro INRA (Ciencia y Tecnología de la leche y el huevo) en Rennes, Francia. La Figura 4-14 muestra una fotografía del equipo.

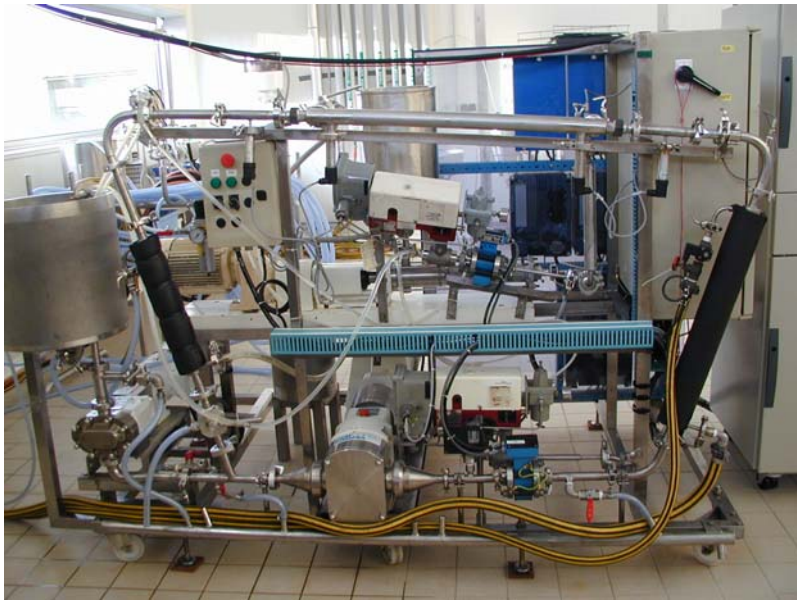


FIGURA 4-14: Fotografía del equipo de filtración

Este equipo ha sido descrito previamente (Gésan-Guiziou *et al*., 1999, a) y se han realizado varios cambios desde entonces descritos por Jimenez-Lopez (Jimenez-Lopez *et al.* 2008). El dispositivo experimental está equipado con un sistema de presión transmembranar uniforme (UTP) para crear una caída de presión en el permeado igual a la caída de presión en el lado del retenido para conseguir la misma presión transmembranar a lo largo de la membrana (Sandblom, 1974). Este sistema permite realizar los experimentos con elevado τw y baja TMP.

Un diagrama más detallado del dispositivo experimental se muestra en la Figura 4-15.

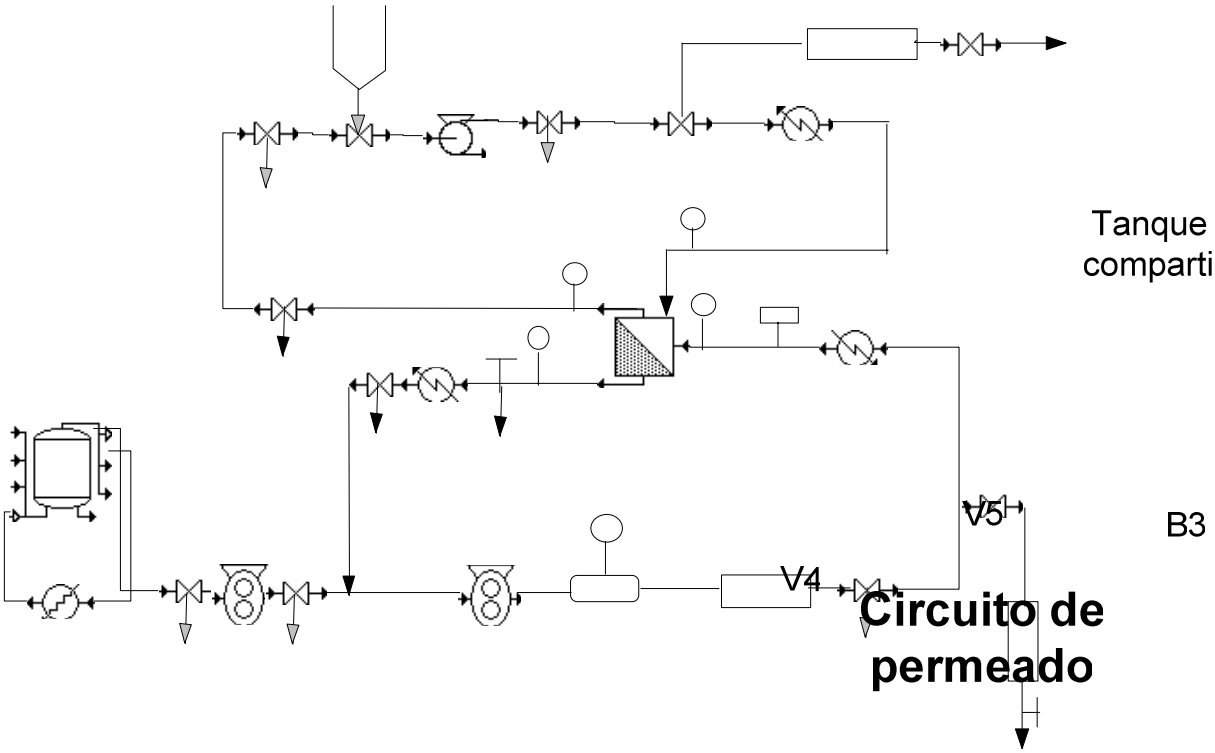


FIGURA 4-15: Esquema del dispositivo experiemental para la determinación de las CHC

El software de control ha sido desarrollado por LabVIEW 7.1 (National Instruments, EEUU). Los datos a tiempo real se monitorizaron y almacenaron en un ordenador con una tarjeta de memoria. La frecuencia de almacenamiento fue de un punto cada 10 s. Cada punto corresponde a las media de los últimos 10 puntos medidos (cada punto medido corresponde a la medida de un punto cada 10 ms) (Jimenez-Lopez *et al.* 2008).

4.2.2.d.Procedimiento experimental

Tras la preparación de la alimentación por el protocolo establecido y a con la concentración inicial de caseína específica para cada experimento, todos lo experimentos han sido realizados del mismo modo, pudiéndose distinguir dos fases en todos ellos.

Las condiciones de operación comunes en ambas fases son: Presión en el retenido es de 4 bar, densidad de flujo de permeado constante de 50 L/h m^2 y 50ºC de temperatura.

1º FASE DE CONCENTRACIÓN: Factor de reducción volumétrico (FRV)= 2

En esta primera fase, el dispositivo duplica de manera automática la concentración de micelas de caseína de la disolución inicial en el circuito, mediante la extracción controlada de retenido y permeado. Para realizar ensayos de microfiltración con distintas concentraciones de caseína micelar pero empleando los mismos tiempos de operación en ambas fases, se ha modificado la concentración de la disolución de partida. Al someter la disolución a la fase de concentración se obtiene la cantidad deseada de micelas de caseína. Un ejemplo de la evolución de los parámetros objeto de estudio se muestra en la Figura 4-16.

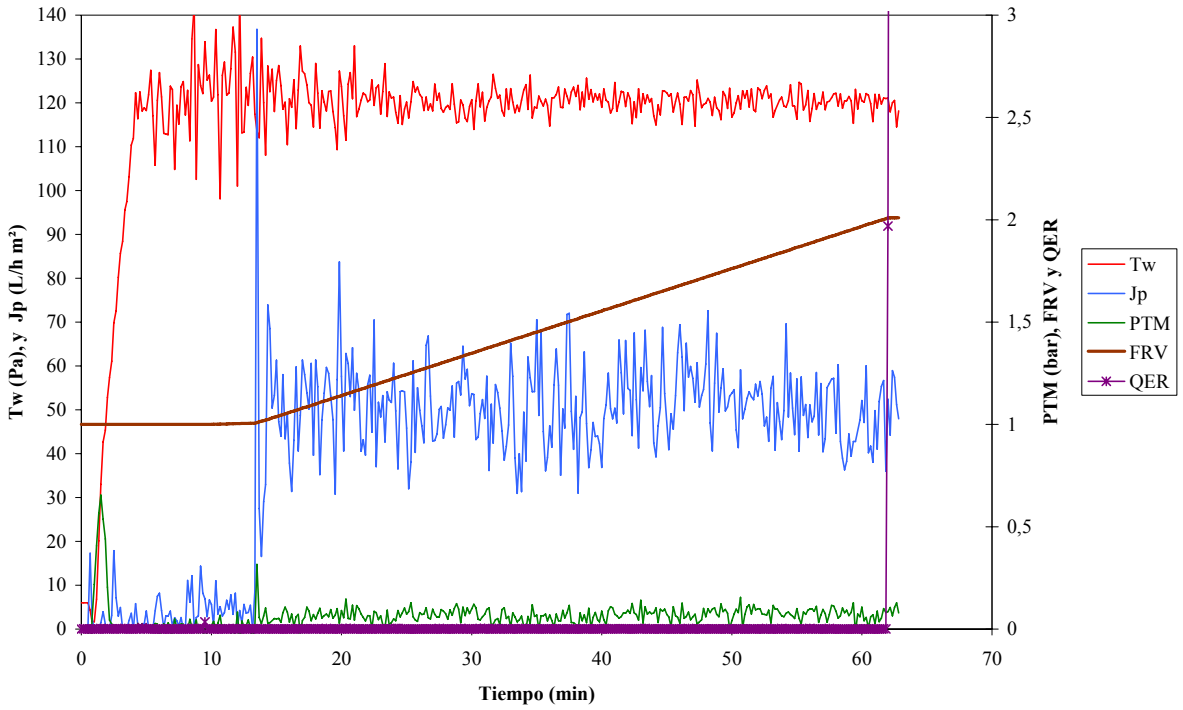


FIGURA 4-16: Ejemplo de la fase de concentración para FRV=1.63 con PTM=4 bar, Tw=120Pa, Jp=50 L/h m^2 y T=50ºC

La Figura 4-16 muestra la evolución del factor de concentración hasta el doble de la inicial. En este tiempo, τ_w se mantiene constante a 120Pa, que es valor muy alejado de las CHC esperadas para esta concentración, para que no se produzca ninguna acumulación de materia indeseada sobre la superficie de la membrana. El tiempo que tarda el sistema en alcanzar FRV=2 es el mismo para todos los ensayos. También se aprecia como el caudal de extracción del retenido (QER) es nulo hasta que se alcanza el valor de FRV deseado y en ese

momento se abre la válvula correspondiente y comienza a extraer el retenido en la misma proporción que el permeado para que la concentración en el circuito sea constante.

2º ESTUDIO PARAMÉTRICO

En esta segunda fase se aplicará en el sistema las etapas de τ_w en aumento o disminución, correspondientes con el método SWB. Estas etapas o escalones tienen aproximadamente la misma altura y una duración similar de 30 min manteniéndose J y PTM constantes.

En la Figura 4-17 se puede observar un ejemplo de cómo se ha realizado la determinación de las condiciones hidrodinámicas por el método SWB. τ_w comienza en un valor elevado y se disminuye en escalones de 10 Pa, realizando el descenso con más precaución cuando el sistema se encuentra próximos a las CHC, en las que se aprecia un aumento brusco de la PTM.

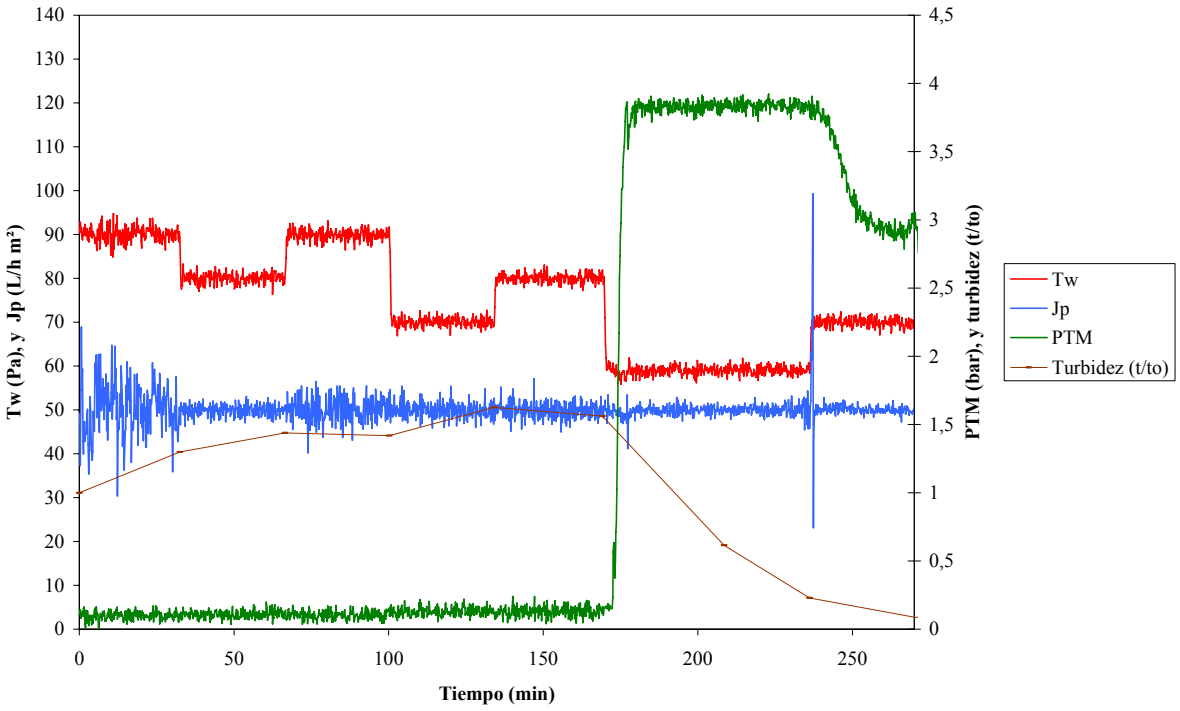


FIGURA 4-17: Ejemplo de la fase de determinación de las CHC por el método SWB para FRV=2.10 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

En todos los experimentos se ha realizado el flujo al agua Jw de la membrana limpia antes de comenzar el experimento para determinar la resistencia hidráulica de la membrana.

Antes de cada ensayo, se eliminaron las burbujas de gas que podían existir en el circuito, y 12 L de la leche empleada como alimentación (corresponde a tres veces el volumen del compartimento de retenido) para homogeneizar el circuito y eliminar posibles restos de agua.

También se ha realizado el aclarado del equipo tras el ensayo para eliminar el ensuciamiento reversible, y se realiza el flujo al agua de la membrana aclarada para determinar la resistencia hidráulica debida al ensuciamiento irreversible.

De las muestras tomadas a lo largo del experimento se ha determinado la turbidez del permeado y el nitrógeno total, nitrógeno no caseínico y el nitrógeno no protéico del retenido para determinar la concentración exacta de las micelas de caseína bajo las condiciones críticas.

4.2.2.e. Métodos de análisis

Análisis físico-químicos

Se ha determinado el nitrógeno total por el método Kjeldahl usando 6.38 como factor de conversión, con un error estimado del 2%. Las proteínas solubles totales se obtuvieron por diferencia con el nitrógeno no caseínico (NCN) y el nitrógeno no proteico (Aschaffenburg y Drewry, 1959). La concentración de las proteínas solubles en el retenido se determinó a partir del nitrógeno no caseínico de las disoluciones.

Turbidez

Para la medida de la turbidez en el permeado se ha empleado un turbidímetro Hach (2100AN IS, Hach, Namur, Bélgica). La turbidez se dividió por el valor obtenido para la primera muestra tomada a $\tau w = 120$ Pa para corregirlo y que los valores de los distintos experimentos fuesen comparables.

4.2.3. Resultados y discusión

4.2.3.a. Validación del Método Square Wave Barovelocimetry (SWB)

EFECTO DE LA ADSORCIÓN Y EL BLOQUEO DE POROS

En un primer lugar, se ha analizado el efecto que tienen la adsorción y el bloqueo de poros sobre la resistencia hidráulica. Para ello se ha realizado un ensayo con τ_w constante, y con un valor elevado alejado de las CHC, durante un tiempo equivalente a la duración de los experimentos realizados por el método SWB. La evolución de las variables objeto de estudio se muestra en la Figura 4-18.

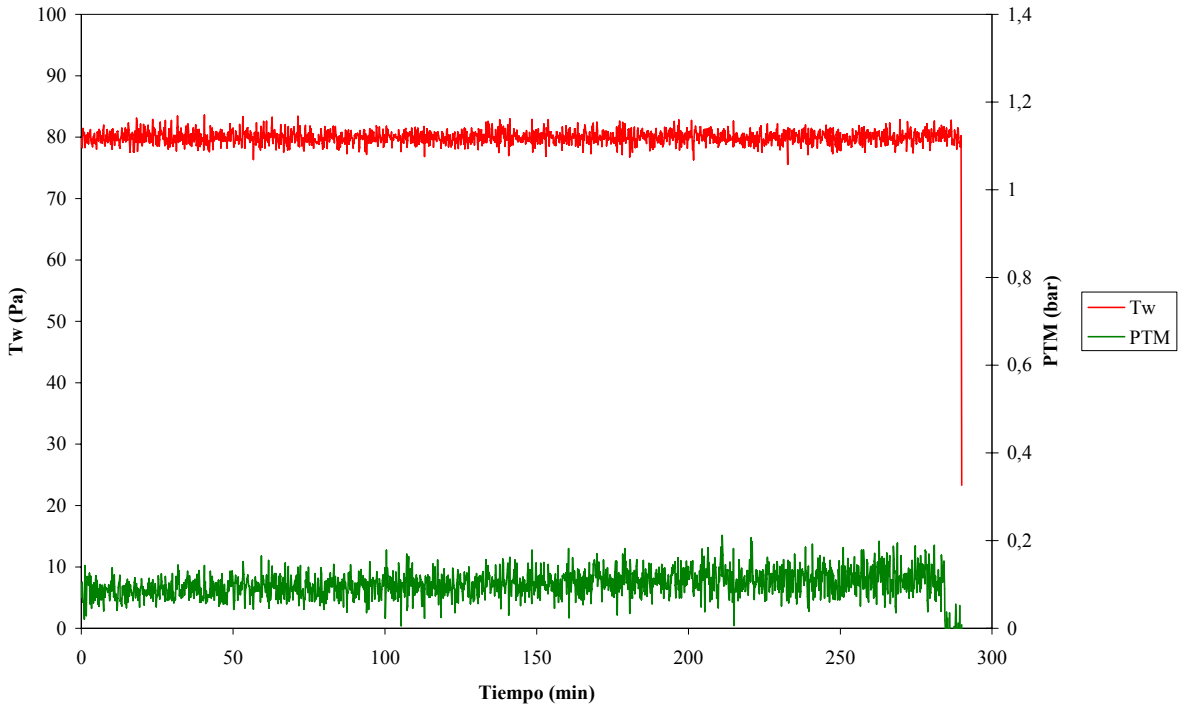


FIGURA 4-18: Ensayo con τ_w constante para FRV=1.60 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

En la figura se puede apreciar cómo la PTM presenta un ligero ascenso desde el inicio del experimento, comenzando con un valor aproximado de 0.1 bar y alcanzando al final valores cercanos a 0.15 bar. Esta evolución se ha ajustado a una ecuación lineal (Ecuación 4-6).

$$PTM = 2\ 10^{-4}\ t + 0.063 \qquad \text{(Ec. 4-6)}$$

De esta manera se puede determinar para cada tiempo dado el valor de la PTM correspondiente a un sistema alejado de las CHC en las que el único ensuciamiento que tendría lugar sería el correspondiente al efecto de la adsorción y al bloqueo de poros.

Para realizar la comparación con el que tiene lugar en el proceso de determinación de las CHC por el método SWB, se ha realizado un ensayo en las mismas condiciones de concentración de caseína, pero sometiendo a τ_w a las variaciones en forma de escalones. La evolución de τ_w y de la PTM con el tiempo se muestra en la Figura 4-19.

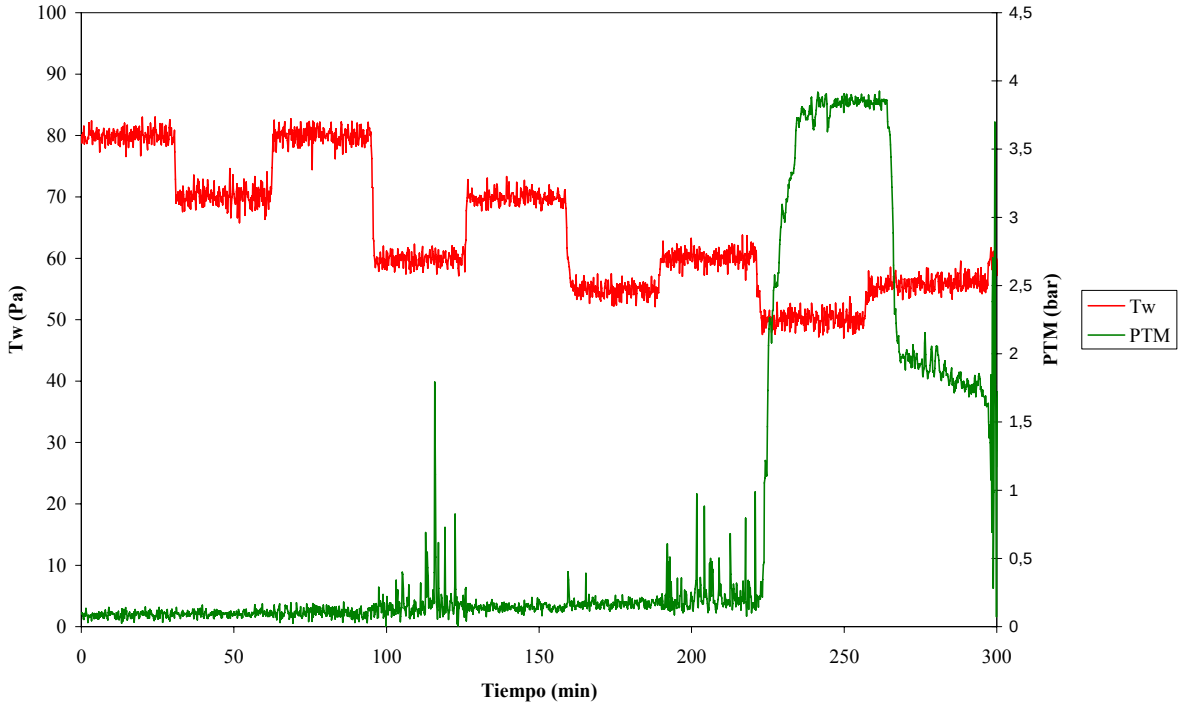


FIGURA 4-19: Ensayo por método SWB para FRV=1.60 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

El valor de τ_w comienza siendo elevado (80 Pa) y se mantiene durante 30 min que será la duración estándar de todas las etapas. Después se disminuye 10 Pa, de manera que el sistema se vaya acercando progresivamente a las CHC. La etapa que le sigue es un aumento hasta alcanzar el valor de τ_w inicial para eliminar la parte de acumulación de materia reversible que haya podido tener lugar con este descenso. La siguiente etapa de descenso llega hasta los 60 Pa y es seguida de otra etapa de aumento hasta 70 Pa con el mismo objetivo que la etapa ascendente anterior. A continuación, se desciende hasta los 55 Pa, reduciendo el tamaño del salto de τ_w ya que el punto crítico puede resultar cercano. Ésta etapa es seguida por otra de ascenso hasta 60 Pa finalmente se realiza la disminución de τ_w hasta que se comienza a apreciar un aumento brusco en la PTM. En ese momento se han alcanzado las CHC.

Una vez alcanzado el punto crítico, se mantiene el sistema en estas condiciones durante 30 minutos, tras los que se aumenta τ_w hasta 55 Pa que fue la etapa estable inmediatamente anterior.

Con los resultados obtenidos, se ha realizado el cálculo de las resistencias hidráulicas correspondientes al ensuciamiento irreversible de cada etapa de descenso por el método SWB. Estos valores han sido corregidos con los correspondientes para cada intervalo de tiempo que se obtuvieron para el ensayo sometido a τ_w constante como indica la Ecuación 4-7.

$$R_{if} = R_{ifp} - R_{if\ ads+bloq} \qquad \text{(Ec. 4-7)}$$

La Figura 4-20 muestra la resistencia hidráulica irreversible para cada etapa con distinto τ_w si se tiene en cuenta la corrección debida a la adsorción y el bloqueo de poros y el caso en que no se tenga en cuenta.

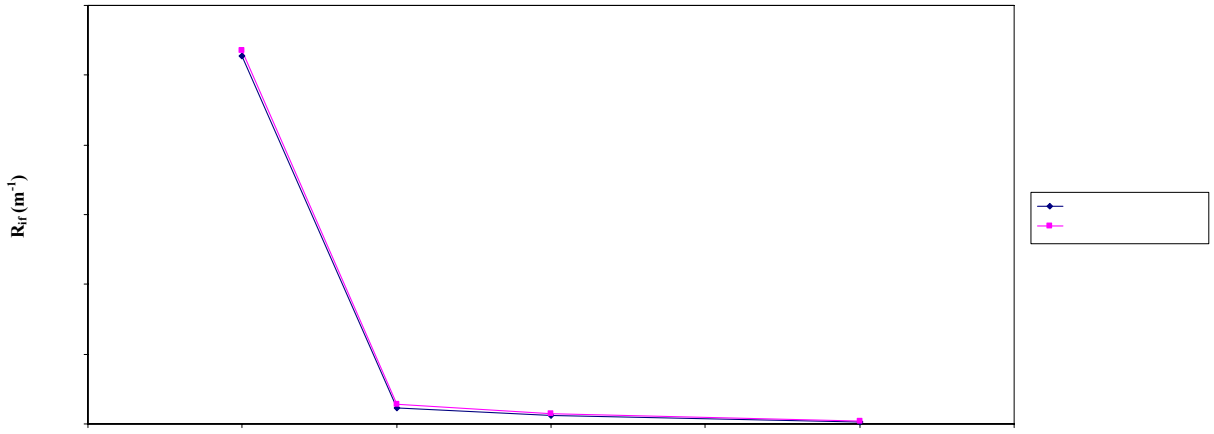


FIGURA 4-20: Resistencia irreversible con corrección del efecto de la adsorción y el bloqueo de poros y sin ella, para FRV=1.60

La gráfica muestra el brusco aumento del ensuciamiento irreversible una vez que se alcanzan las CHC (50 Pa). También se puede apreciar que el efecto de la adsorción y el bloqueo de poros es despreciable en comparación con la que tiene lugar al aplicar el método SWB. Ambas representaciones son prácticamente iguales.

Para esta pareja de experimentos con la misma concentración de caseína (FRV=1.6) se ha representado en la Figura 4-21 la resistencia hidráulica debida al ensuciamiento con el tiempo.

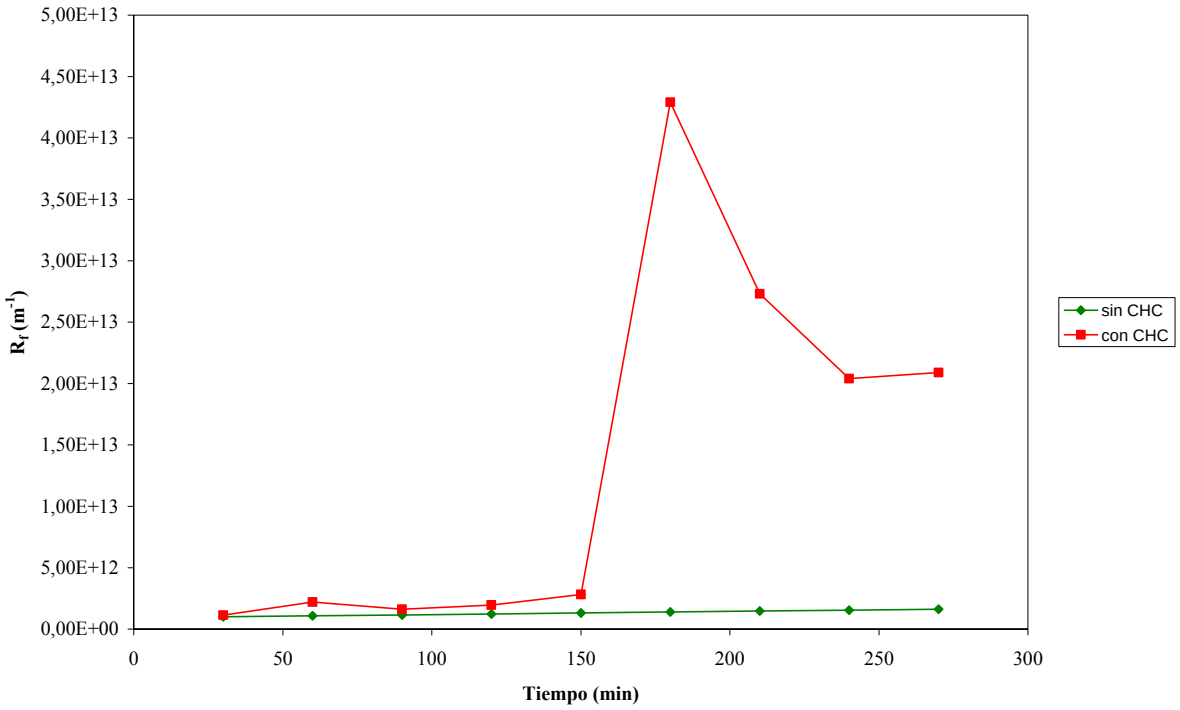


FIGURA 4-21: Resistencia hidráulica para FRV=1.60 con CHC y sin CHC

El aumento brusco que tiene lugar al alcanzarse los 150 min de ensayo se corresponde al momento en el que se alcanza el valor crítico de τ_w. Se puede apreciar como la resistencia aumenta un orden de magnitud. Una vez que se cesa la aplicación del τ_w crítico la resistencia hidráulica no vuelve a alcanzar los valores iniciales, sino que se mantiene en valores más elevados. Este hecho quiere decir que la diferencia con los valores anteriores al momento en condiciones críticas se corresponde con un ensuciamiento irreversible que no se elimina al someterse a valores elevados de τ_w.

EFECTO DE LAS CHC SOBRE EL LA RESISTENCIA HIDRÁULICA

Con el objetivo de estudiar el efecto de las CHC sobre la resistencia hidráulica, se han realizado ensayos equivalentes con la misma concentración de caseína y sometidos a los mismos escalones de variación de τ_w excepto a la hora de alcanzar las CHC. Unos ensayos se han realizado de la manera convencional (por el método SWB) pero en el momento en el que se alcanzarían las condiciones críticas se mantiene el esfuerzo cortante en un valor superior al crítico (el valor de τ_w de la etapa estable inmediatamente anterior) durante un tiempo equivalente.

Con las parejas de experimentos realizados con CHC y sin CHC se han realizado las comparaciones pertinentes para observar cómo afectan las condiciones críticas al ensuciamiento y el efecto de la variación de τ_w en forma de escalones.

La primera pareja de experimentos realizados se corresponde con un FRV de 2.70. La Figura 4-22 muestra la evolución de las variables estudiadas durante el tiempo de ensayo para la aplicacion del método SWB en la manera convencional.

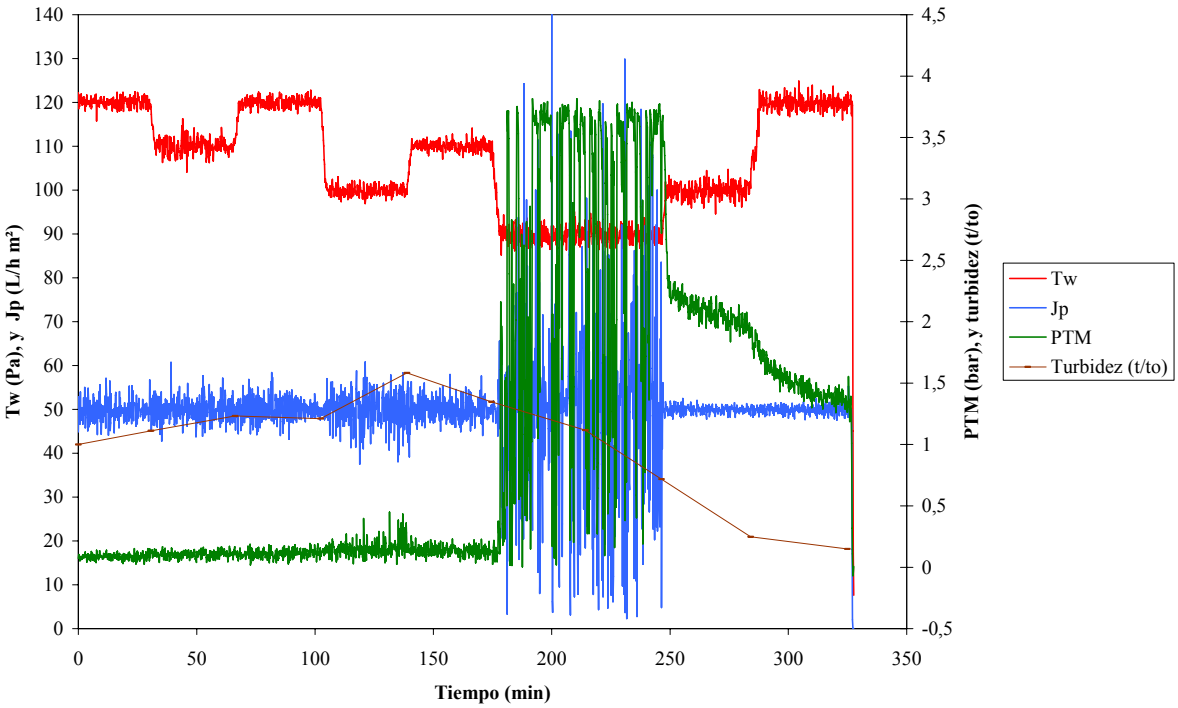


FIGURA 4-22: Ensayo por método SWB para FRV=2.70 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

Inicialmente, el valor de τ_w comienza siendo elevado (120 Pa) y se mantiene durante 30 min. Después se disminuye 10 Pa, de manera que el sistema se vaya acercando progresivamente a las CHC. La etapa que le sigue es un aumento hasta alcanzar el valor de τ_w inicial para eliminar la parte de acumulación de materia reversible que haya podido tener lugar con este descenso. La siguiente etapa de descenso llega hasta los 100 Pa y es seguida de otra etapa de aumento hasta 110 Pa con el mismo objetivo que la etapa ascendente anterior. A continuación, se desciende hasta los 90 Pa, donde se comienza a apreciar un aumento brusco en la PTM. En ese momento se han alcanzado las CHC. El sistema se mantiene en estas condiciones durante 1 hora. Tras este periodo, se aumenta τ_w hasta 100 Pa y finalmente se vuelva a los 120 Pa iniciales.

El ensayo equivalente pero que no está sometido a las CHC se puede apreciar en la Figura 4-23.

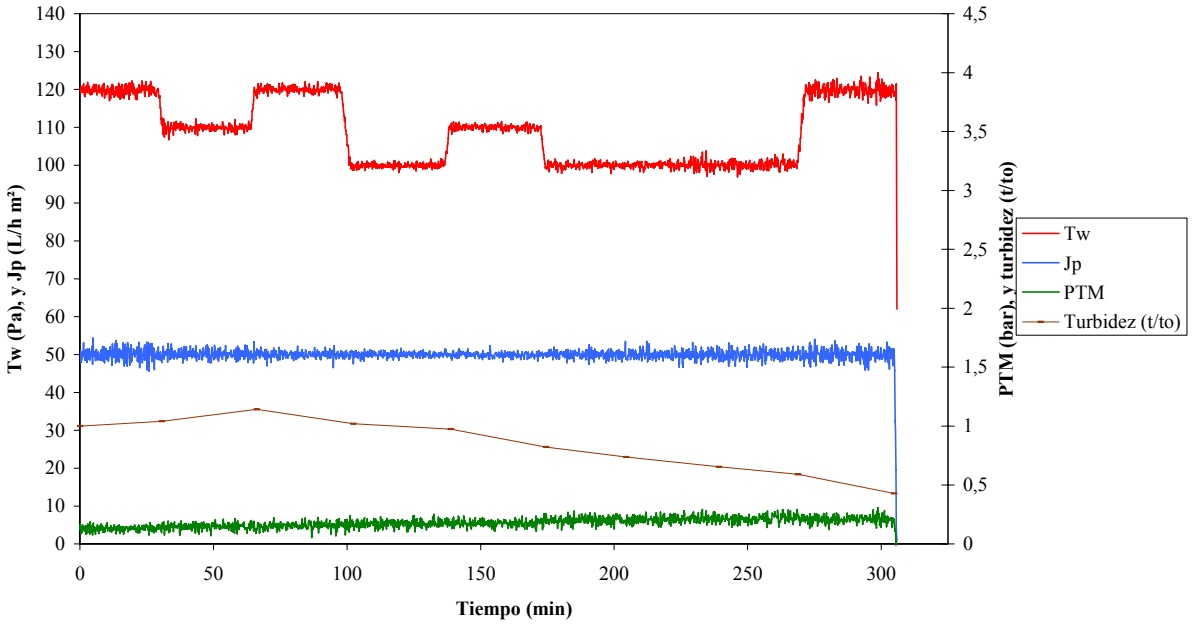


FIGURA 4-23: Ensayo por método SWB sin CHC para FRV=2.70 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

En este ensayo el procedimiento experimental es el mismo que para el ensayo mostrado en la Figura 4-22 pero tras la etapa con τ_w de 110 Pa, en lugar de alcanzar el punto crítico (90 Pa) se mantiene τ_w en el valor de la etapa estable inmediatamente anterior, que es 100 Pa, durante un tiempo equivalente. Este tiempo ha sido de 1 hora. Transcurrido ese tiempo, el valor de τ_w debería aumentarse hasta 110 Pa, pero en este caso simplemente se tiene que mantener en este valor durante 30 min adicionales. Finalmente, se alcanzan los 120 Pa para concluir el ensayo.

Si se compara la resistencia hidráulica total para ambos experimentos se obtiene la Figura 4-24.

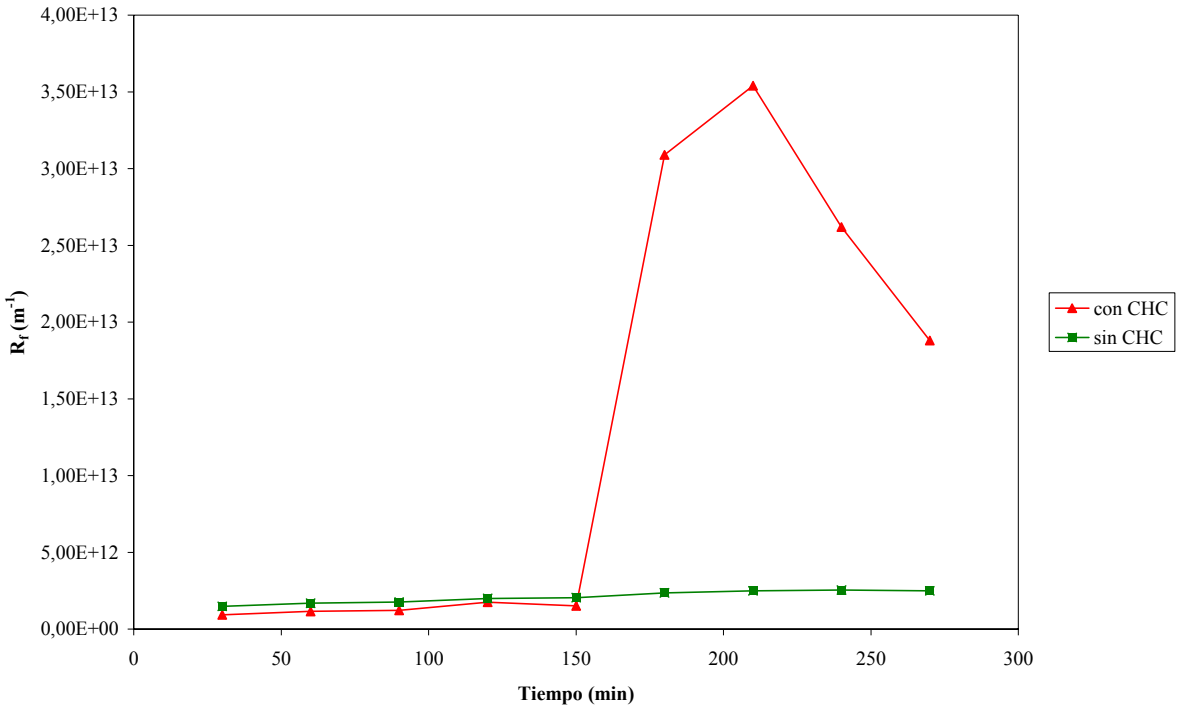


FIGURA 4-24: Resistencia hidráulica para método SWB con FRV=2.70 con CHC y sin CHC

A la vista de la figura, se aprecia que al alcanzarse los 150 minutos (momento de alcanzar las CHC) la resistencia aumenta bruscamente (hasta alcanzar resistencias del orden de 3.7 10^{13} m^{-1}) para el caso de ensayo realizado de manera convencional, mientras que el aumento es lineal y moderado para el caso del ensayo realizado en las mismas condiciones pero sin alcanzar las CHC. Una vez que se aumenta el valor del esfuerzo cortante, la resistencia hidráulica no vuelve a su valor inicial. Permanece en valores más elevados del orden de 2 10^{13} m^{-1}.

La segunda pareja de experimentos realizados se corresponde con un FRV de 2. La Figura 4-25 muestra la evolución de las variables estudiadas durante el tiempo de ensayo para la aplicacion del método SWB en la manera convencional.

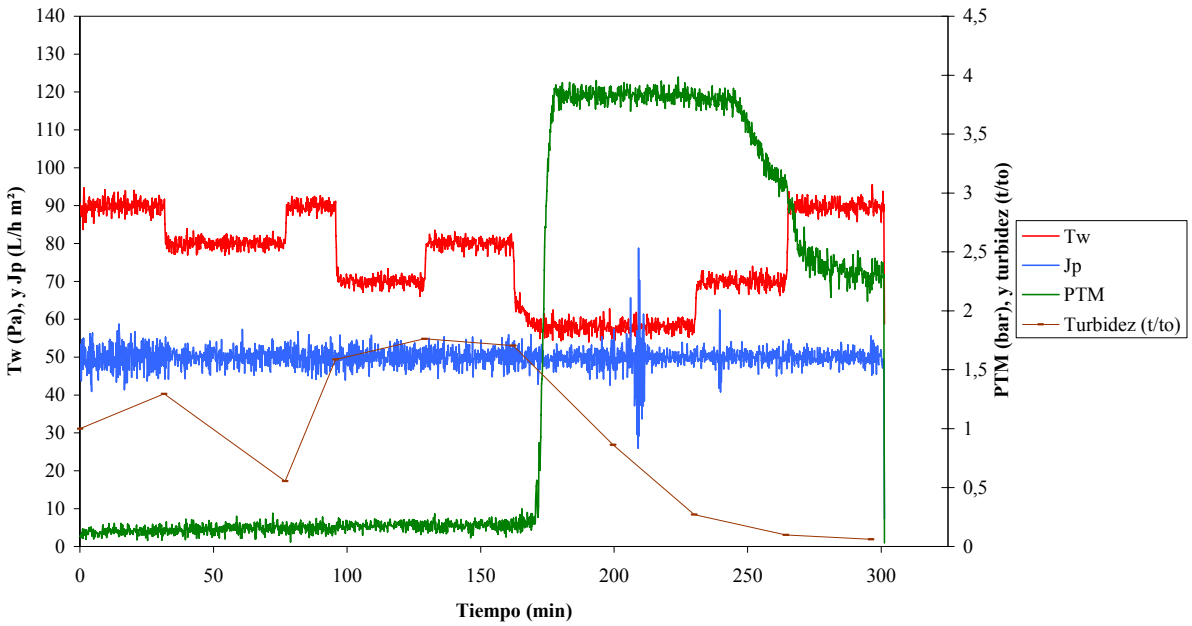


FIGURA 4-25: Ensayo por método SWB para FRV=2 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

Inicialmente, el valor de τ_w comienza siendo de 90 Pa y se mantiene durante 30 min. Después se disminuye 10 Pa, de manera que el sistema se vaya acercando progresivamente a las CHC. La etapa que le sigue es un aumento hasta alcanzar el valor de τ_w inicial para eliminar la parte de acumulación de materia reversible que haya podido tener lugar con este descenso. La siguiente etapa de descenso llega hasta los 70 Pa y es seguida de otra etapa de aumento hasta 80 Pa con el mismo objetivo que la etapa ascendente anterior. A continuación, se desciende cuidadosamente hasta los 58 Pa, donde se comienza a apreciar un aumento brusco en la PTM. En ese momento se han alcanzado las CHC. El sistema se mantiene en estas condiciones durante 1 hora. Tras este periodo, se aumenta τ_w hasta 70 Pa y finalmente se vuelva a los 90 Pa iniciales.

El ensayo equivalente pero que no está sometido a las CHC se puede apreciar en la Figura 4-26.

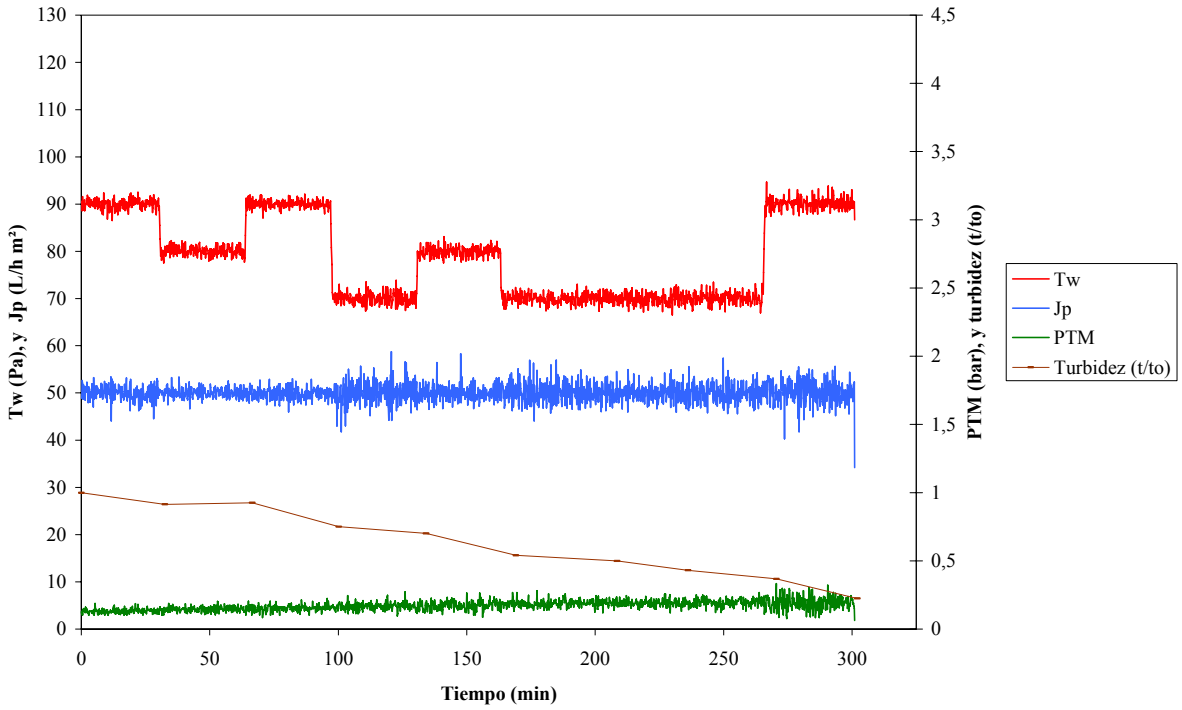


FIGURA 4-26: Ensayo por método SWB sin CHC para FRV=2 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

En este ensayo el procedimiento experimental es el mismo que para el ensayo mostrado en la Figura 4-25 pero tras la etapa con τ_w de 80 Pa, en lugar de alcanzar el punto crítico (58 Pa) se mantiene τ_w en el valor de la etapa estable inmediatamente anterior, que es 70 Pa, durante un tiempo equivalente. Este tiempo ha sido de 1 hora. Transcurrido ese tiempo, el valor de τ_w debería aumentarse hasta 70 Pa, pero en este caso simplemente se tiene que mantener en este valor durante 30 min adicionales. Finalmente, se alcanzan los 90 Pa para concluir el ensayo.

Si se compara la resistencia hidráulica total para ambos experimentos se obtiene la Figura 4-27.

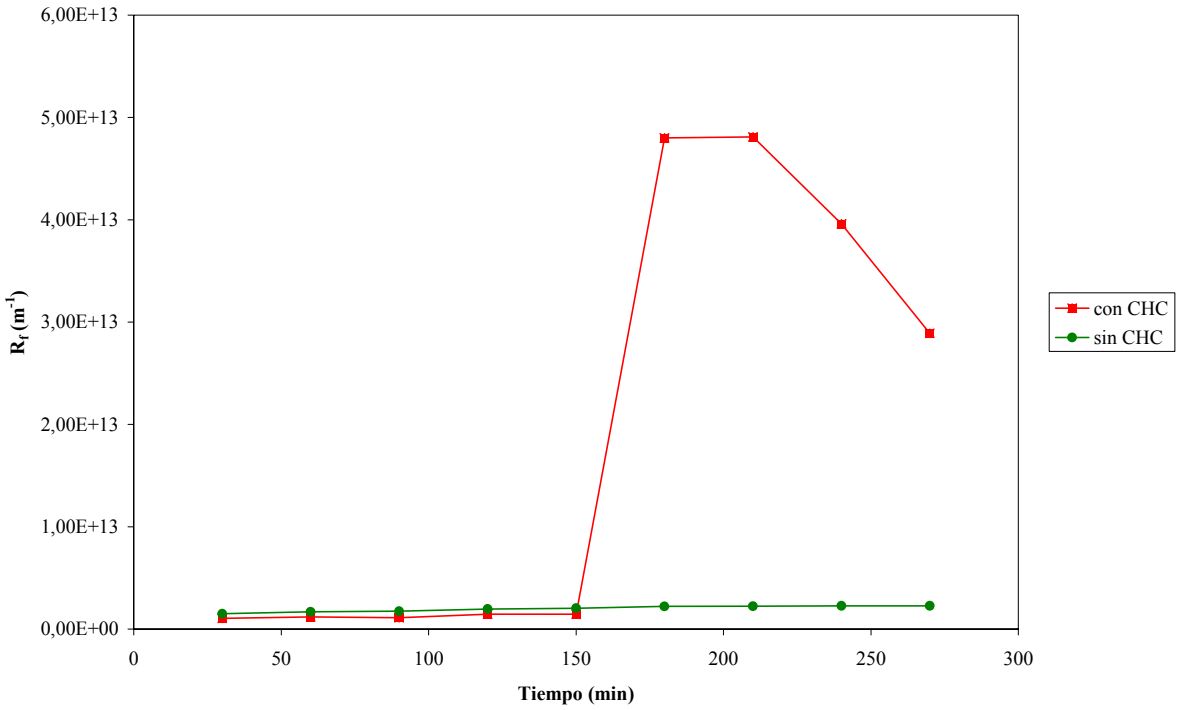


FIGURA 4-27: Resistencia hidráulica para método SWB con FRV=2 con CHC y sin CHC

A la vista de la figura, se aprecia que al alcanzarse los 150 minutos (momento de alcanzar las CHC) la resistencia aumenta bruscamente (hasta alcanzar resistencias del orden de 5 10^{13} m^{-1}) para el caso de ensayo realizado de manera convencional, mientras que el aumento es lineal y moderado para el caso del ensayo realizado en las mismas condiciones pero sin alcanzar las CHC. Una vez que se aumenta el valor del esfuerzo cortante, la resistencia hidráulica no vuelve a su valor inicial. Permanece en valores más elevados del orden de 3 10^{13} m^{-1}.

Si se observa la evolución de la resistencia hidráulica con el tiempo para diversos ensayos realizados a distintas concentraciones de caseína se obtiene la Figura 4-28.

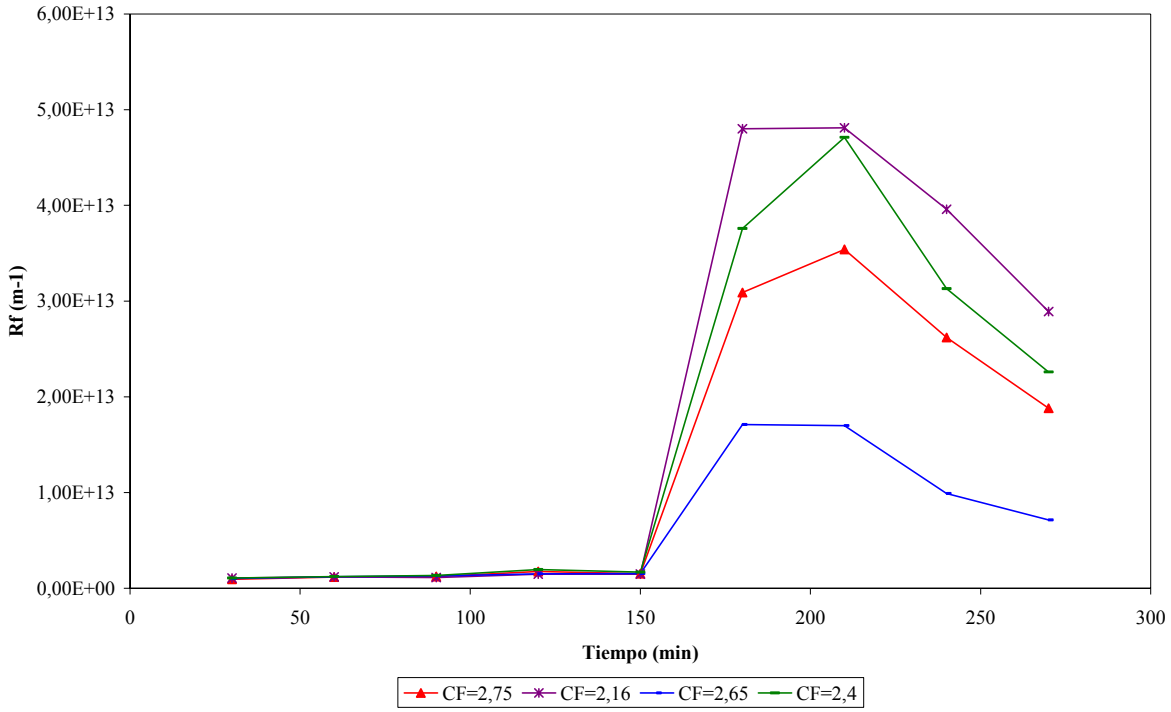


FIGURA 4-28: Resistencia hidráulica debida al ensuciamiento para método SWB para distintas FRV

En todos los casos tiene lugar el mismo aumento brusco en la resistencia hidráulica debida al ensuciamiento. La proporción en la que se produce este aumento puede ser debido a muchos factores, como la concentración en caseína de la alimentación, el tiempo que se permanece en las condiciones críticas, e incluso el grado de aproximación a las CHC.

EFECTO DE LAS CHC SOBRE EL ENSUCIAMIENTO REVERSIBLE E IRREVERSIBLE

Con el ensayo realizado con FRV=1.6 que se muestra en la Figura 4-19. Se ha realizado el cálculo desglosado de la proporción de resistencia hidráulica que se corresponde con el ensuciamiento reversible, que puede ser eliminado al aumentar el esfuerzo cortante, y la parte irreversible, que debe ser eliminada por métodos físicos o químicos. Los valores obtenidos para cada etapa se muestras en la Figura 4-29.

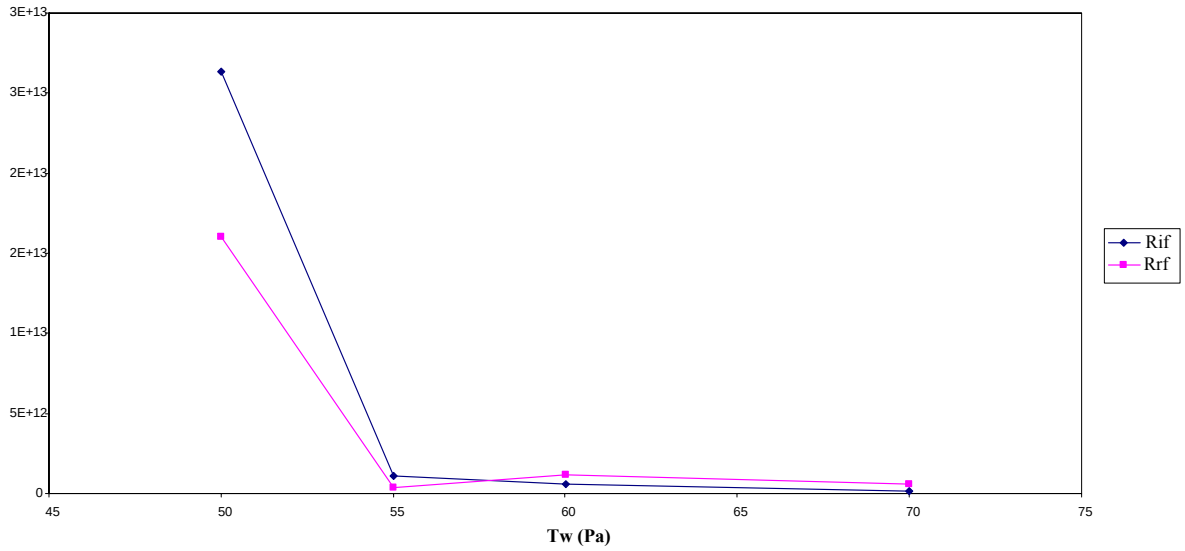


FIGURA 4-29: Resistencia hidráulica debida al ensuciamiento reversible e irreversible para método SWB con FRV=1.6

A la vista de los resultados obtenidos se puede concluir que, una vez alcanzadas las condiciones hidrodinámicas críticas, se produce un aumento muy acusado de la resistencia hidráulica. La mayor proporción de ensuciamiento (casi el doble) se corresponde con la deposición irreversible de sólidos en la superficie de la membrana. La parte reversible es menor, pese a que aumenta alcanzando valores en torno a 2 10^{13} m^{-1}. En estos casos, debería realizarse la limpieza del sistema hasta eliminar este ensuciamiento y recuperar los valores iniciales de resistencia hidráulica de la membrana para poder mantener los niveles adecuados de selectividad.

EFECTO DE LA DURACIÓN DE LA ETAPA CRÍTICA

Para estudiar el efecto del tiempo que el sistema se encuentra en condiciones críticas sobre el ensuciamiento, se han realizado ensayos equivalentes en los que sólo varía ese parámetro. La FRV seleccionada en este caso es de 2. La Figura 4-30 muestra la evolución de las variables en el ensayo en el que se ha mantenido el sistema durante 30 min en las CHC.

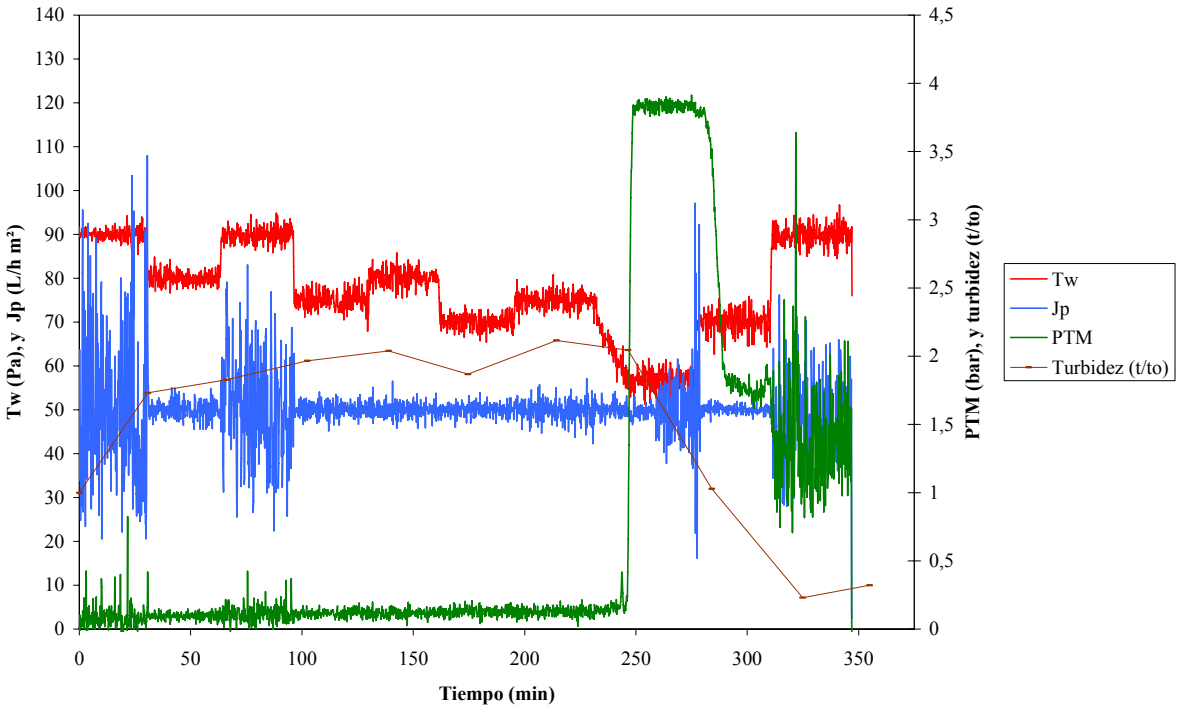


FIGURA 4-30: Ensayo por método SWB con 30' en CHC para FRV=2 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

El valor inicial de τ_w es de 90 Pa y se mantiene en este valor durante 30 min. Después se disminuye 10 Pa, de manera que el sistema se vaya acercando progresivamente a las CHC. La etapa que le sigue es un aumento hasta alcanzar el valor de τ_w inicial para eliminar la parte de acumulación de materia reversible que haya podido tener lugar con este descenso. La siguiente etapa de descenso llega hasta los 75 Pa y es seguida de otra etapa de aumento hasta 80 Pa con el mismo objetivo que la etapa ascendente anterior. A continuación, se desciende hasta 70 Pa con el correspondiente aumento hasta 75 Pa posterior. Un vez llegados a este punto, cuidadosamente se desciende hasta los 56 Pa, donde se comienza a apreciar un aumento brusco en la PTM. En ese momento se han alcanzado las CHC. El sistema se mantiene en estas condiciones durante 30 minutos. Tras este periodo, se aumenta τ_w hasta 70 Pa y finalmente se vuelva a los 90 Pa iniciales.

El ensayo equivalente pero que está sometido a las CHC durante 1 hora se puede apreciar en la Figura 4-31.

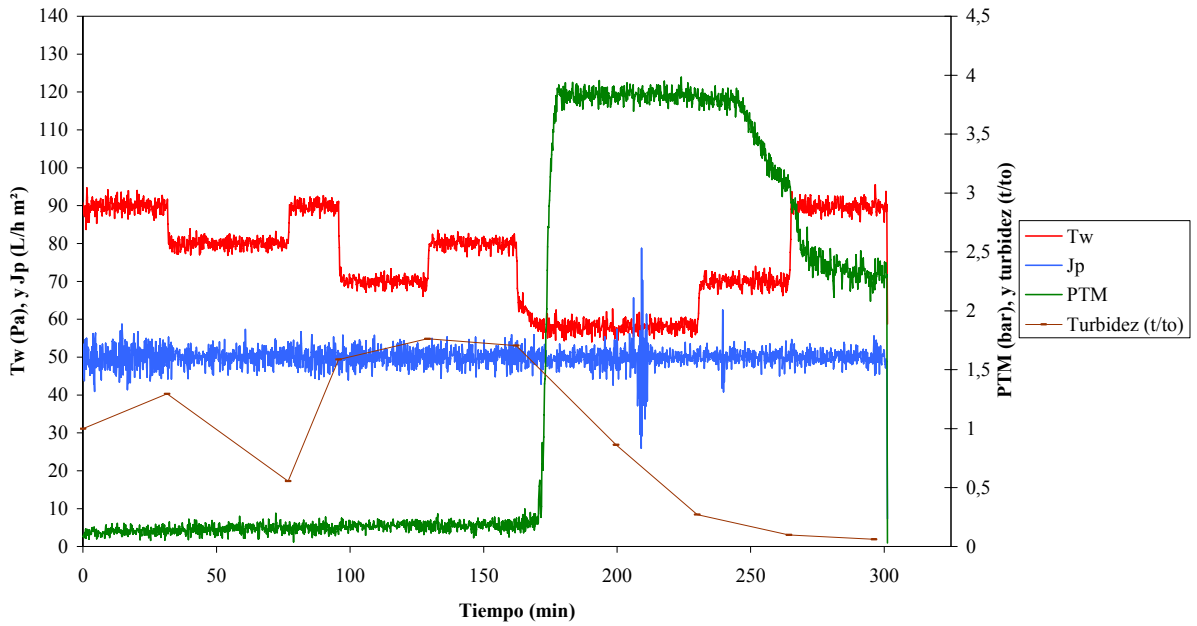


FIGURA 4-31: Ensayo por método SWB con 1 h en CHC para FRV=2 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

Por el mismo procedimiento experimental anterior se va variando τ_w. En este caso las CHC fueron alcanzadas a 58 Pa y el sistema se mantuvo en ellas durante 1 hora. Tras realizar el estudio de la resistencia hidráulica irreversible correspondiente a estos dos ensayos, para cada etapa, los resultados se muestran en la Figura 4-32.

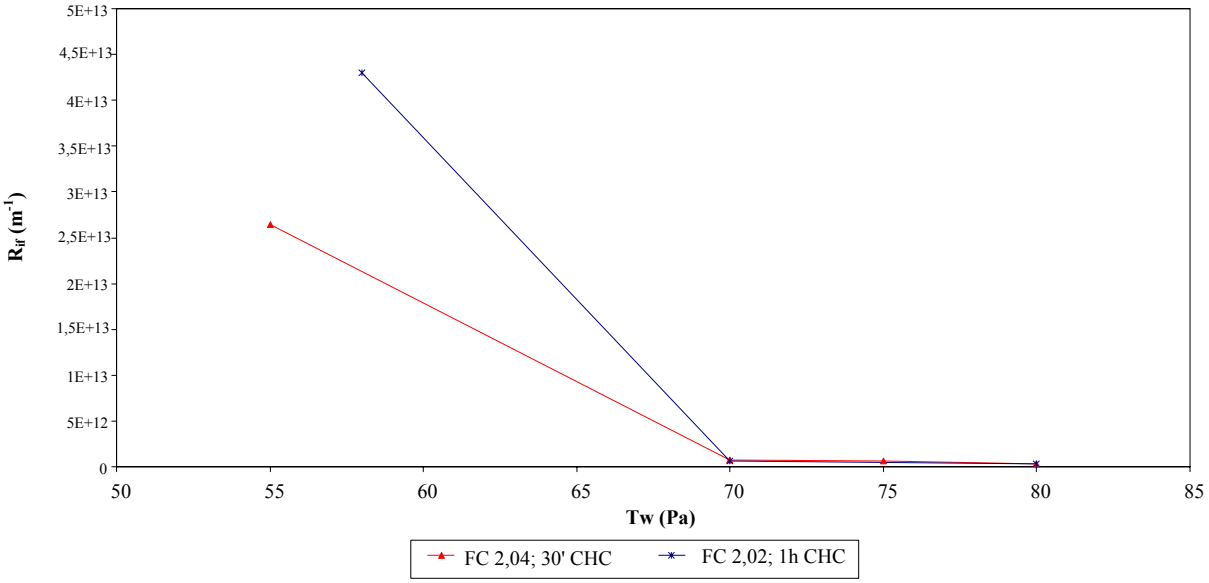


FIGURA 4-32: Resistencia hidráulica irreversible para SWB con 30' y 1 h en CHC para FRV=2 con Jp=50 L/hm^2 y T=50ºC

A la vista de los resultados, se puede concluir que el tiempo que se mantiene el sistema en las CHC es determinante a la hora de su influencia en el grado de ensuciamiento irreversible de la membrana. La resistencia hidráulica debida a una deposición irreversible de sólidos en la superficie de la membrana es el doble en el caso del ensayo en el que el sistema se mantuvo 1 hora en las CHC que el que se mantuvo 30'.Cuanto más tiempo transcurre desde que se alcanzaron las condiciones críticas, más aumenta el ensuciamiento irreversible

EFECTO DEL TIPO DE PUNTO CRÍTICO

Cuando en un sistema al que se le está aplicando el método SWB y llega el momento de alcanzar las CHC, dependiendo del descenso del valor de τ_w que se aplique puede alcanzarse un punto crítico más ligero o más brusco.

En la siguiente pareja de ensayos se puede apreciar este matiz en las variaciones en la PTM que tienen lugar una vez alcanzadas estas condiciones.

La Figura 4-33 muestra un punto crítico que ha sido alcanzado, posiblemente, por un descenso demasiado drástico de τ_w.

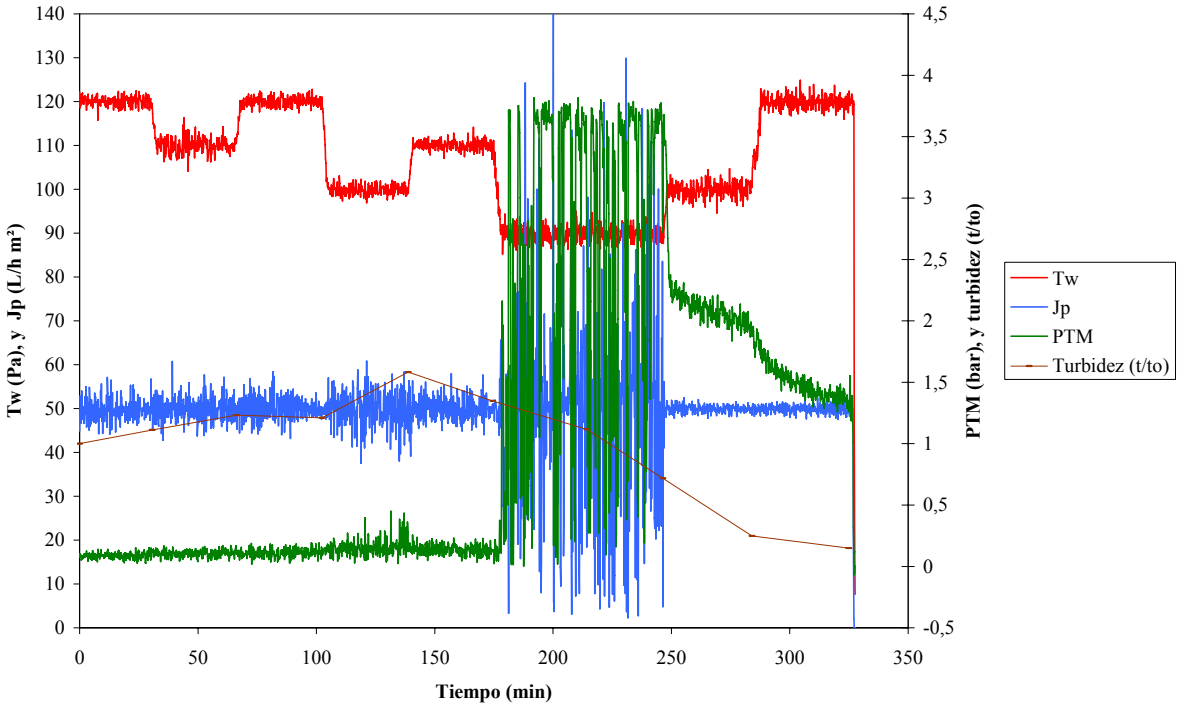


FIGURA 4-33: Ensayo por método SWB con τ_{wcrit}=90 Pa para FRV=2.7 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

En este caso las fluctuaciones que tienen lugar en la PTM son grandes. También se puede apreciar que al aumentar el valor del esfuerzo cortante tras la etapa crítica, la PTM sigue siendo mucho mayor (en torno a 1.5 bar) que en las etapas iniciales (en torno a 0.1 bar). Por ellos, se realizó un ensayo equivalente en el que a la hora de alcanzar la etapa crítica, ésta se estableció 5 Pa por encima del caso anterior (95 Pa). La evolución de las variables se representa en la Figura 4-34.

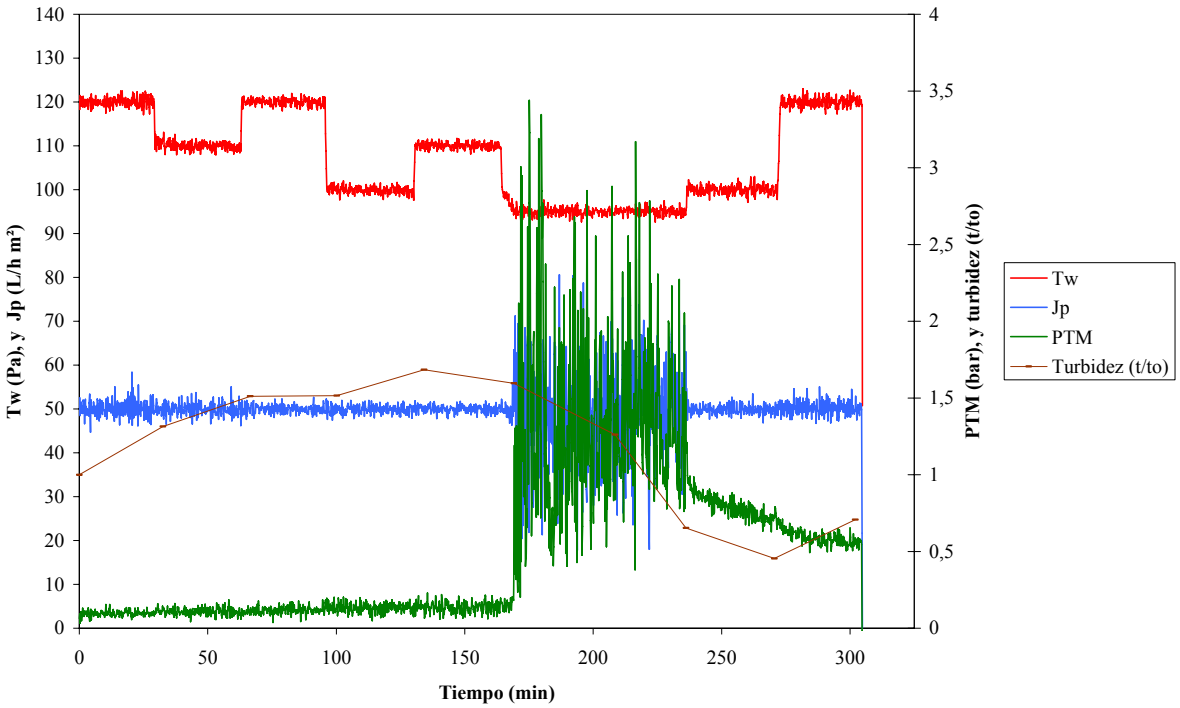


FIGURA 4-34: Ensayo por método SWB con τ_{wcrit}=95 Pa para FRV=2.7 con Jp=50 L/h m2 y T=50ºC

A la vista de la Figura 4-34, el tipo de punto crítico alcanzado en este caso es menos brusco que en el caso anterior. Los valores máximos de PTM alcanzados son también menores y la diferencia entre los niveles antes y después de las condiciones críticas no son tan diferentes. En las primeras etapas la PTM alcanzaba unos valores alrededor de 0.1 bar mientras que después de las CHC se encuentran alrededor de 0.5 bar.

Distintos tipos de condiciones críticas dan lugar a distintos grados de ensuciamiento. Sería conveniente el estudio de las fluctuaciones de la PTM (frecuencia, amplitud) para caracterizar los distintos tipos de CHC.

4.2.3.b.Influencia de la concentración de caseína sobre las CHC

El valor del esfuerzo cortante τ_w al que se alcanzan las CHC depende de manera importante de la concentración de caseína que contiene la alimentación. Para analizar esta relación, se ha aplicado el método SWB a varias concentraciones distintas en caseínas en la alimentación y se ha determinado cuál es su valor crítico de esfuerzo cortante. La Tabla 4-3 muestra un resumen de los ensayos realizados con sus correspondientes concentraciones, valor de esfuerzo cortante en el punto crítico y resistencia de la membrana.

TABLA 4-3: Resumen de ensayos a distintas concentraciones de caseína para la determinación de las CHC

Nº	Concentración caseína (g/L)		FRV		CC (Pa)	Etapa estable anterior (Pa)	R (m^{-1})	
	Antes CC	Después CC	Antes CC	Después CC			Mb limpia	Mb aclarada
1	31.94	32.55	1.23	1.25	36	45	$1.46\ 10^{11}$	$2.66\ 10^{12}$
2	41.70	-	1.60	-	45	60	$2.47\ 10^{11}$	-
3	42.50	44.84	1.63	1.72	50	55	$1.66\ 10^{11}$	$3.70\ 10^{12}$
4	52.41	54.73	2.02	2.11	58	70	$2.61\ 10^{11}$	$4.25\ 10^{12}$
5	52.95	56.49	2.04	2.17	56	70	$1.49\ 10^{11}$	$3.03\ 10^{12}$
6	54.69	56.28	2.10	2.16	58	70	$1.49\ 10^{11}$	$4.10\ 10^{12}$
7	61.85	63.42	2.38	2.44	66	90	$2.05\ 10^{11}$	$1.74\ 10^{12}$
8	62.29	64.99	2.40	2.50	75	90	$1.50\ 10^{11}$	$2.55\ 10^{12}$
9	68.84	70.28	2.65	2.70	95	100	$1.47\ 10^{11}$	$1.10\ 10^{12}$
10	71.41	73.83	2.75	2.84	90	100	$1.82\ 10^{11}$	$2.08\ 10^{12}$

Con todos los ensayos realizados se ha representado para cada concentración, el valor crítico de τ_w así como el que fue el valor de la última etapa estable (la de menor esfuerzo cortante) antes de alcanzarse la CHC. La última etapa estable se representa porque las CHC pueden encontrarse en ese intervalo. Es decir, el aumento brusco de la PTM puede tener lugar a valores de esfuerzo cortante entre estas dos etapas. La Figura 4-35 muestra los resultados obtenidos.

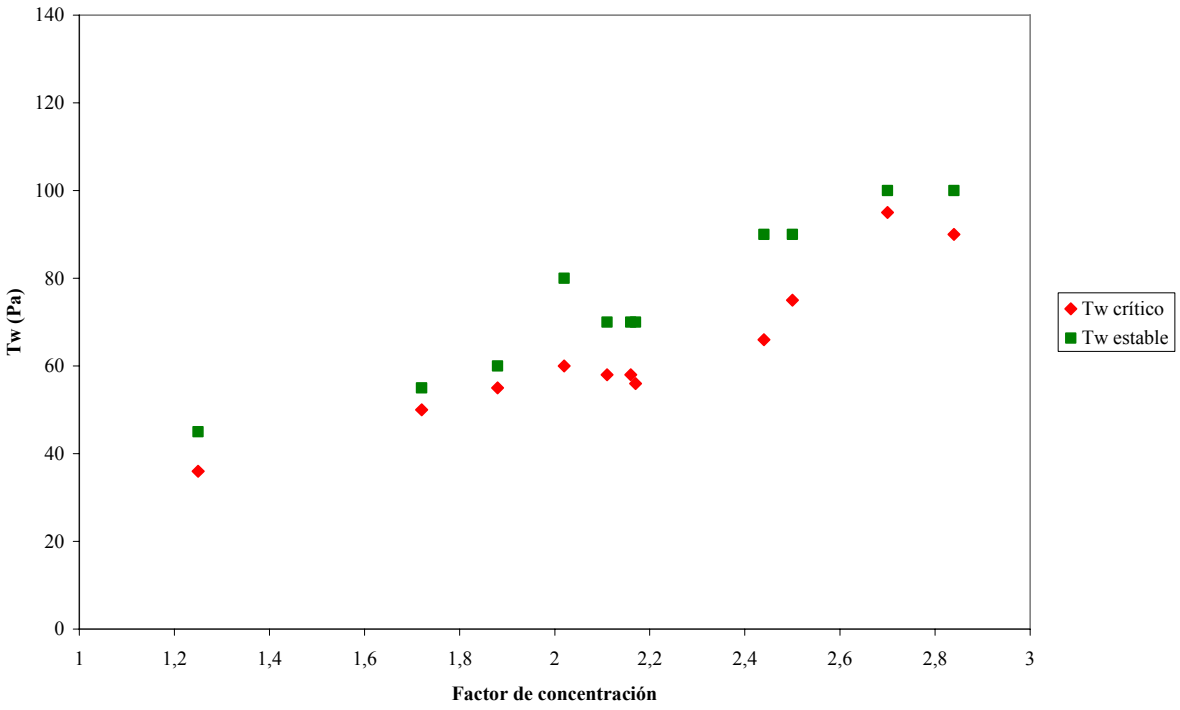


FIGURA 4-35: Esfuerzo cortante crítico para distintas concentraciones de caseína inicial

La tendencia que presentan los resultados es lineal y ascendente. Puede decirse que la concentración de caseína en la alimentación y el esfuerzo cortante crítico son proporcionales y su tendencia se corresponde con una ecuación del tipo de la mostrada en la Ecuación 4-8.

$$\frac{J\ C}{\tau_w} \qquad \text{(Ec. 4-8)}$$

Cuanto mayor sea la concentración de caseína en la alimentación, mayor será el valor de $\tau_{w\ crit}$.

4.2.3.c. Estudio de la presión osmótica crítica

A partir de los resultados experimentales obtenidos para el ensayo realizado a FRV=1.6, se ha calculado el valor de la presión osmótica mediante las siguientes ecuaciones.

$$J = \frac{\Delta P - \Delta\Pi}{\mu\left(R_m + R_{if}\right)} = \frac{\Delta P}{\mu\left(R_m + R_{if} + R_{rf}\right)} \qquad \text{(Ec. 4-9)}$$

$$\Delta\Pi = \Pi_m = \Delta P - J\mu R_m\left(1 + \frac{R_{if}}{R_m}\right) \qquad \text{(Ec.4-10)}$$

Para estos cálculos se ha tenido en cuenta el valor de R_{if} corregido con el efecto de la adsorción y el bloqueo de poros, porque lo que interesa en este caso es la resistencia hidráulica irreversible debida a la deposición. A partir de los resultados experimentales obtenidos para el ensayo realizado a FRV=1.6, se ha calculado el valor de la presión osmótica mediante las siguientes ecuaciones. En la Figura 4-36 se indican los valores de presión osmótica y de resistencia hidráulica irreversible corregida para las distintas etapas del ensayo.

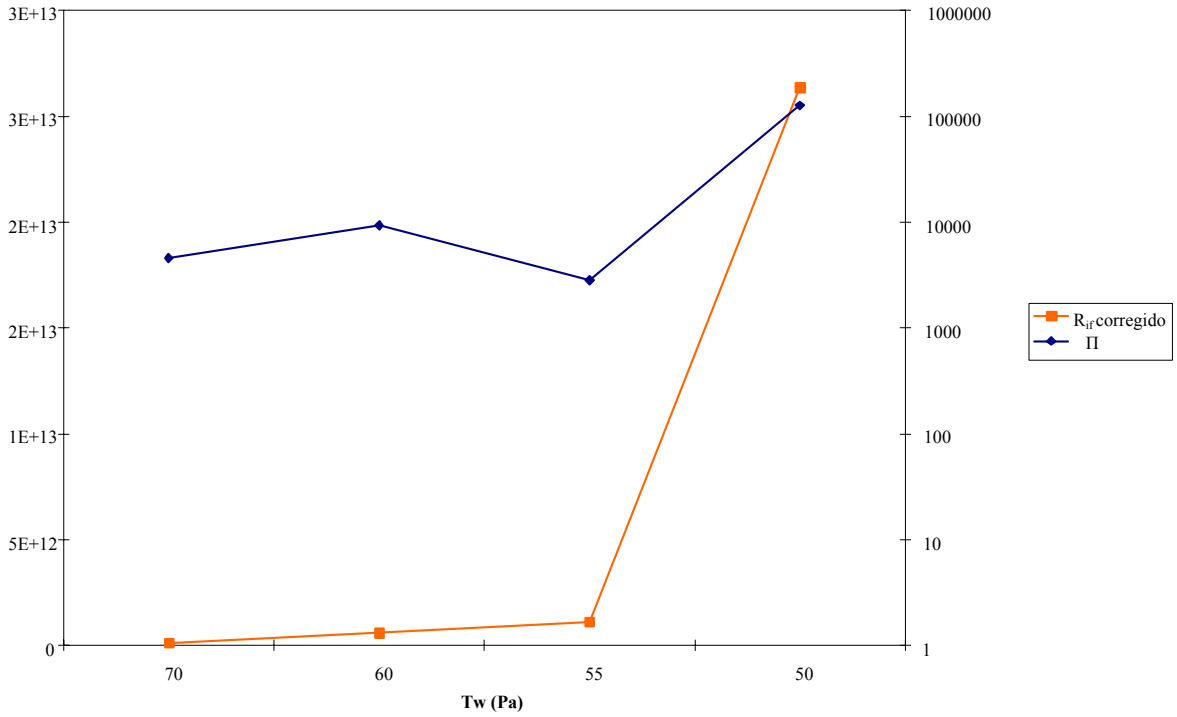


FIGURA 4-36: R_{if} y presión osmótica para cada etapa del método SWB a FRV=1.6

Una vez que se alcanzan las CHC, entre 50 y 55 Pa, los valores de la presión osmótica aumentan, al igual que los valores de la resistencia irreversible. La presión osmótica alcanza valores comprendidos entre 5000 y 100 000 Pa. Estos valores se han comparado con los presentes en la bibliografía para distintas concentraciones de caseína, como se muestran en la Figura 4-37.

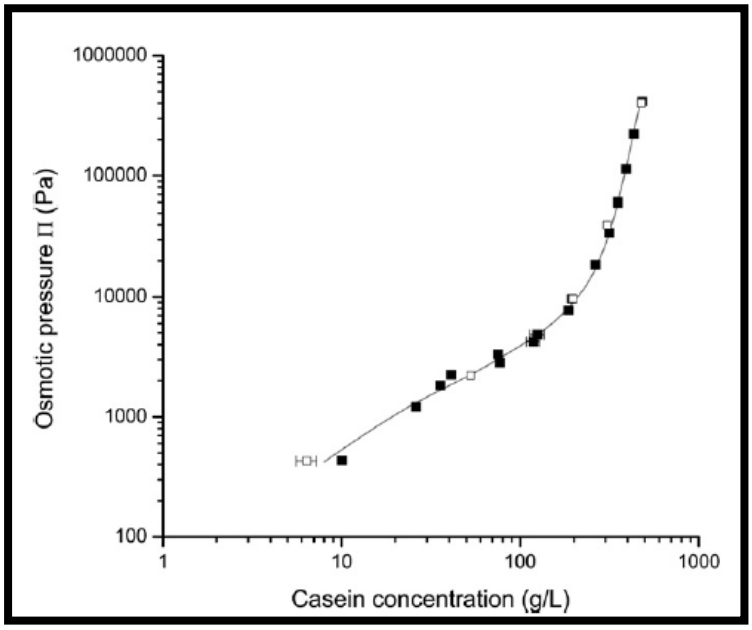


FIGURA 4-37: Presión osmótica *vs.* concentración de caseína

Para una concentración como la de este ensayo (41.6 g/L) los valores de la presión osmótica se encuentran alrededor de los 5000 Pa. Estos datos son similares a los obtenidos en los ensayos.

4.2.4. Conclusiones

Las conclusiones obtenidas en este apartado hacen referencia a tres aspectos distintos.

El primero de ellos es el *sistema*. Mediante la comparación del método SWB con un ensayo a τ_w constante se ha podido comprobar que el efecto de la adsorción y el bloqueo de poros es despreciable. También se ha comprobado que en el momento en el que se alcanzan las CHC se produce un aumento muy acusado de la resistencia hidráulica. La mayor parte de este aumento se corresponde con ensuciamiento irreversible, que sólo puede ser eliminado por métodos químicos o físicos.

El segundo de los aspectos es el referente al *método*. Los experimentos realizados por los métodos tradicionales de determinación de las CHC encajan en las tendencias observadas con el método SWB, aunque la duración de la etapa crítica, y las características del punto crítico alcanzado influyen en el ensuciamiento de la membrana.

Por último, se han obtenido conclusiones referentes a la influencia del factor de concentración de las micelas de caseína en la alimentación. Se ha podido apreciar que el valor del esfuerzo cortante en las CHC es proporcional al factor de concentración de caseína en la alimentación. Los valores obtenidos de presión osmótica se encuentran en los intervalos mostrados en la bibliografía aunque son difíciles de obtener con precisión.

4.3. Caracterización y estudio de la permeabilidad longitudinal de las membranas de tercera generación

4.3.1. Introducción

Una de las características más importantes de las membranas empleadas en el desarrollo de esta Tesis, es el gradiente longitudinal que presentan en su estructuta, bien en forma de gradiente de espesor en la capa filtrante, o bien un gradiente de porosidad en el soporte. Estos gradientes han sido diseñados para compensar la caída de presión a lo largo de la membrana durante la operación. Por este motivo, es importante conocer el comportamiento con la coordenada longitudinal de las mismas.

Para este estudio se ha diseñado un dispositivo que deja la membrana al aire y permite recoger el permeado por secciones para realizar el estudio de distintos parámetros. También se han empleado emulsiones con el objetivo de simular un fluído con una distribución de tamaños de partícula deseada y, de esta manera, estudiar las dimensiones y proporciones, respecto de la alimentación, que tienen las partículas que atraviesan la capa filtrante de la membrana.

4.3.2. Materiales y métodos

4.3.2.a. Alimentación

Para los experimentos de *caracterización* de la permeabilidad longitudinal se ha empleado en algunos casos egua destilada y agua desionizada o MiliQ a 30ºC.

En el caso de los experimentos de microfiltración para la *determinación de la resistencia longitudinal* de las membranas se ha empleado una disolución 20:80 (v/v) de leche y agua destilada. La leche empleada ha sido reconstituída a partir de leche desnatada en polvo de la marca Central Lechera Asturiana (CLAS). Se emplea leche diluída debido a cuestiones de simplicidad operacional, ya que el equipo requiere un gran volumen de alimentación (75 litros aproximadamente) y, de esta manera, el volumen de leche a manejar es menor. También, el

empleo de leche diluída favorece que el ensuciamiento de la membrana no sea muy acusado y las condiciones de operación sean más estables.

Para el análisis de las características de las partículas que atraviesan la membrana se han empleado *emulsiones*.

Las emulsiones son dispersiones de gotas de un líquido en un segundo líquido inmiscible con el primero, que presentan una cierta estabilidad respecto a la coalescencia. Estas dispersiones son termodinámicamente inestables, por lo que es necesaria la adición de sustancias que impidan la aproximación y coalescencia de las gotas. Estos compuestos, conocidos como emulsionantes, emulgentes o emulsificantes, son normalmente sustancias tensioactivas. En este caso, se han empleado *emulsiones aceite-en-agua (oil-in-water, O/W)* que son las más habituales en la industria y en ellas la fase dispersa es un aceite o una sustancia hidrófoba, incluída en una disolución acuosa con tensioactivos que puede contener otros aditivos.

En la formulación de la emusión se han empleado los siguientes compuestos:

- Tween 20®: se trata de un éster de sorbitán (monolaurato de polioxietilen sorbitán), formado por una cadena de ácido oleico (C_{18} mono insaturado) con un sorbitán de 20 grupos de óxido de etileno (Sigma-Aldrich, fórmula molecular $C_{58}H_{114}O_{26}$), que actúa como tensioactivo no inónico. Su estructura molecualr se puede ver en la Figura 4-38.

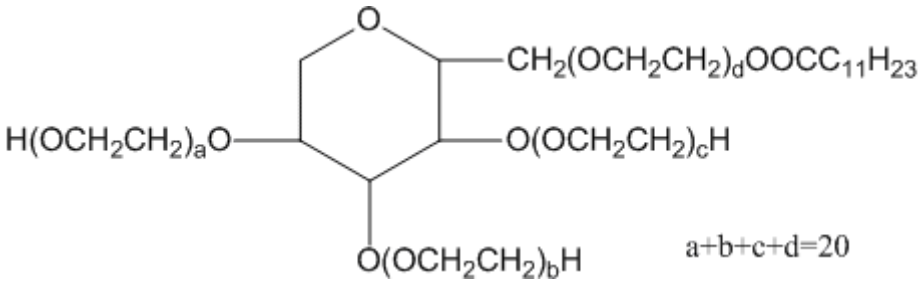


FIGURA 4-38: Estructura molecular del tensioactivo Tween 20

- Aceite de girasol. Producto de baja acidez. Se utiliza como fase dispersa.

En los experimentos, la fase continua está constituida por una disolución acuosa obtenida al disolver en agua destilada distintas proporciones de tensioactivo y estabilizante.

4.3.2.b.Membranas

En esta compilación de ensayos, las membranas utilizadas en todos los casos han sido las que presentan una modificación en su estructura. Un resumen de las membranas empleadas para el estudio se muestra en la Tabla 4-4.

TABLA 4-4: Ensayos relevantes de microfiltración con distintas membranas

Membrana	Tamaño de poro (µm)	L (m)
Isoflux	1.4	1.178
Sterilox GP	1.4	1.020
Sterilox GP	0.8	1.020

4.3.2.c.Dispositivo experimental

Uno de los objetivos de este trabajo ha sido diseñar un dispositivo experimental para el estudio de la permeabilidad longitudinal de las membranas. Este dispositivo consiste en una carcasa de acero inoxidable, diseñada específicamente para cada tipo de membrana, que deja al descubierto la misma permitiendo que el permeado fluya hacia el exterior y sea recogido en un colector externo (Figura 4-39). Las carcasas han sido diseñadas de tal forma que la mayor superficie posible de la membrana quede descubierta, para que la salida del permeado sea lo más libre posible.

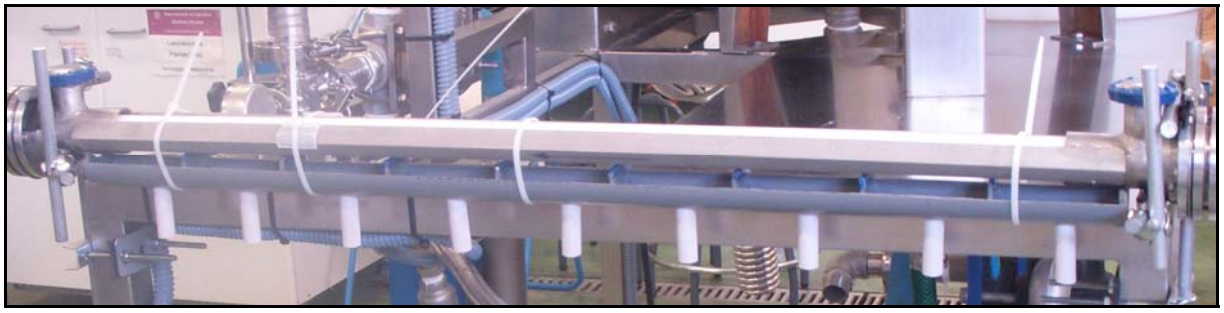


FIGURA 4-39: Fotografía del dispositivo experimental para el estudio de la permeabilidad longitudinal

Las carcasas descubiertas se han fabricado de manera que una misma carcasa pueda ser adaptada a membranas del mismo tipo pero de distintas longitudes. Los extremos de entrada y salida de la carcasa están roscados a una estructura simple que se fabrica con la longitud deseada para cada caso.

Además, se ha tenido en cuenta que para el estudio de la permeabilidad longitudinal de las membranas, es necesario que la carcasa y la membrana se monten horizontalmente. De esta manera, se intenta evitar que el flujo de permeado tome caminos preferenciales debido a la fuerza de la gravedad y no sea representativo el estudio en cada sección de la membrana. Para ello, se han diseñado unas conexiones de la carcasa que permiten fijar la membrana horizontalmente a la estructura del equipo.

El segundo dispositivo consiste en un colector semicilíndrico de PVC dividido en 9 compartimentos de igual longitud con una salida inferior para la toma de muestra de permeados. Cada compartimento recoge el permeado de una determinada longitud de la membrana.

Los ensayos para el análisis de las resistencias longitudinales, así como para la determinación del tiempo de estabilización se han realizado con un equipo lozalizado en la planta piloto del Departamente de Ingeniería Química y Nuclear de la Universidad Politécnica de Valencia (España). La Figura 4-40 muestra un esquema de este dispositivo.

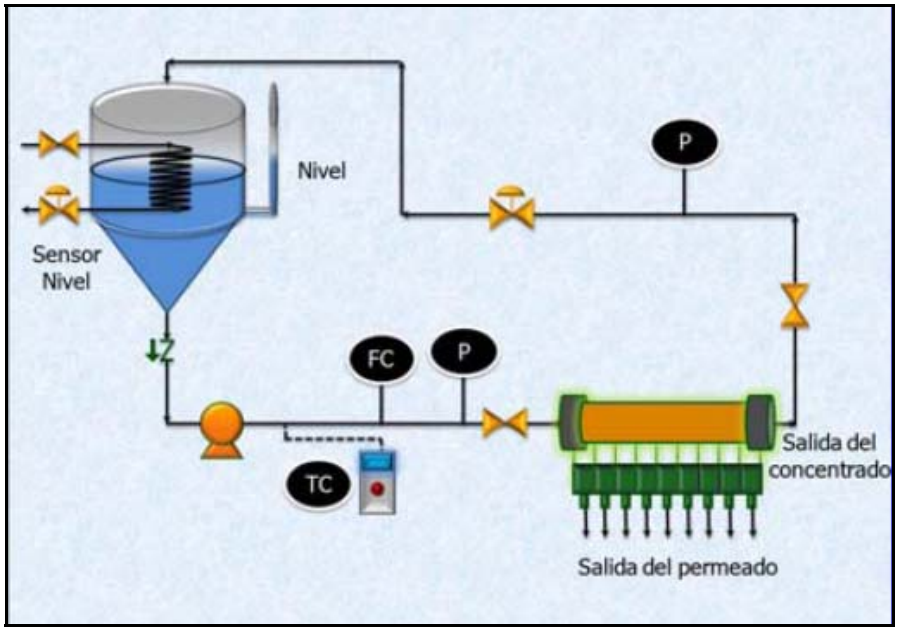


FIGURA 4-40: Esquema del dispositivo experimental para la medición de la permeabilidad longitudinal

En el caso de operación con recirculación del permeado, éste se ha recogido en un tanque con salida inferior que, posteriormente, ha sido impulsado de nuevo mediante una bomba peristáltica al tanque de alimentación.

Los ensayos realizados con emulsiones, como fluido de alimentación, han tenido lugar en el Departamento de Ingeniería de Alimentos (Kemicentrum, Livsmedelsteknik/Food Engineering) en la Universidad de Lund (Suecia). Este dispositivo tiene un esquema similar al anterior y se puede observar una fotografía del mismo en la Figura 4-41.

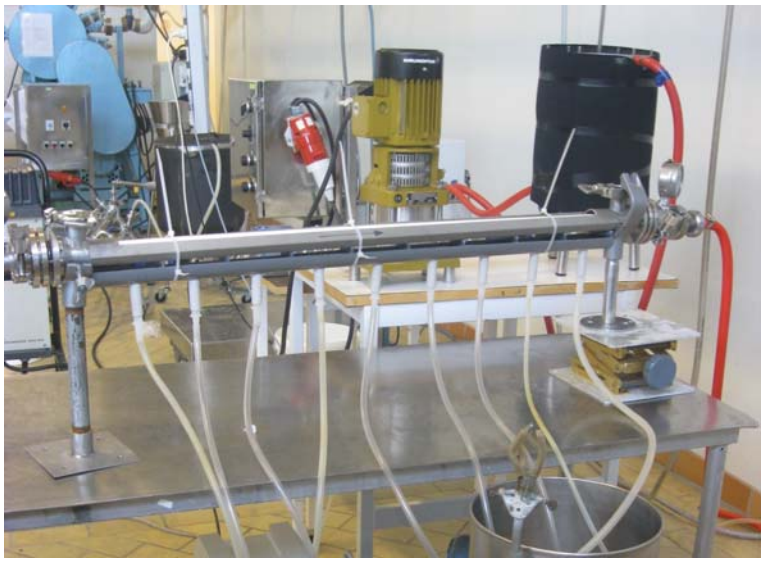


FIGURA 4-41: Fotografía del equipo de microfiltración empleado en los ensayos con emulsiones

4.3.2.d.Procedimiento experimental

Para el estudio de la permeabilidad longitudinal, así como de la resistencia hidráulica, el modo de operación ha sido de recirculación total. De esta manera, no se produce concentración de partículas neta, ya que tanto permeado como retenido se recirculan. es utilizado coúnmente en investigación para medir flujos de permeado en diferentes condiciones de operación. La concentración en el sistema es la misma en todo momento y se evita un elevado consumo de agua en el resto de los casos.

Ensayos con emulsiones

1. Preparación de la emulsión

La agitación mecánica es el método más simple para preparar emulsiones de diferentes tipos. El funcionamiento de estos dispositivos se basa en la aplicación de energía para aumentar el área interfacial entre los dos líquidos inmiscibles, lo que provoca, en primer lugar, la formación de gotas y, en segundo, la reducción de tamaño de las mismas. Algunos ejemplos son los agitadores de turbina, hélice, dientes de sierra, etc. Asimismo, se pueden encontrar otros sistemas de agitación mecánica, cuya finalidad es la reducción del tamaño de gota de una emulsión preparada previamente. En este grupo se incluyen homogeneizadores, molino coloidal y agitadores ultrasónicos.

En este caso se ha empleado un homogeneizador de alta presión. Los homogeneizadores permiten producir emulsiones a partir de dispersiones de gotas grandes. Como se aprecia en la Figura 4-42, la mezcla se comprime al pasar por una sección de área reducida, lo que en ocasiones se realiza con la ayuda de un pistón, de manera que, si se dispone de varios en paralelo, se puede incrementar la cantidad producida.

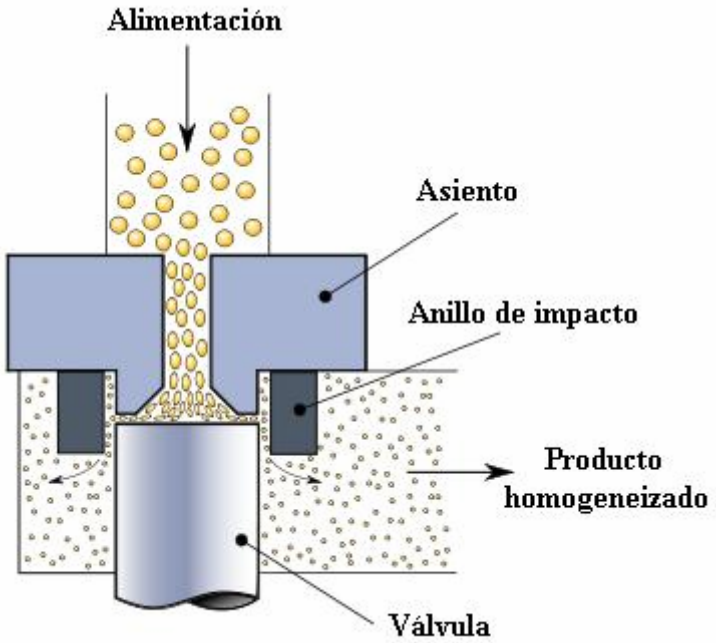


FIGURA 4-42: Esquema de funcionamiento de un homogeneizador de alta presión

El paso por el estrechamiento provoca un aumento de la velocidad del fluido y un elevado esfuerzo de cizallamiento que permite disminuir el tamaño de gota de la fase dispersa.

La Figura 4-43 muestra una fotografía del homogeneizador empleado para elaboral las emulsiones.

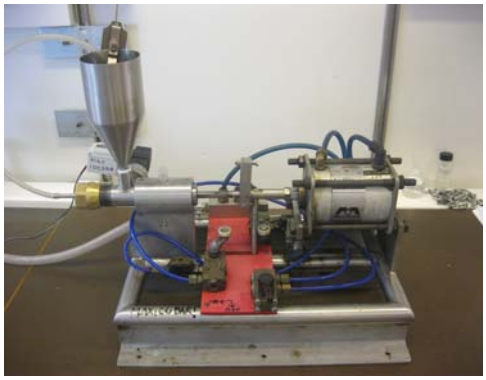


FIGURA 4-43: Fotografía del homogeneizador de alta presión utilizado en la preparación de emulsiones

Los homogeneizadores se utilizan para preparar emulsiones con una viscosidad no muy elevada y para emulsiones técnicas en la industria alimentaria, láctea y fitosanitaria.

Para la formulación de las emulsiones O/W con aceite de girasol como fase dispersa y disoluciones acuosas de tensioactivos se han se guido las siguientes fases:

1. Preparación de una dispersión de tamaño de gota grande. En un vaso de precipitados de 150 mL de forma alta se añade la fase continua (x mL) y se somete a agitación magnética. A continuación, se para la agitación y se adiciona lentamente la fase dispersa.
2. Reducción del tamaño de gota mediante agitación mecánica. La dispersión preparada en la etapa anterior, se agita mecánicamente durante 45 segundos, empleando un homogeneizador de alta presión a una presión de bar.

4.3.2.e.Métodos de análisis

Distribución de tamaños de gota (DTG)

El análisis de la distribución de tamaños de gota se ha realizado mediante difracción de radiación láser con un equipo Malvern Mastersizer S de banco largo (Malvern Instruments

Ltd, Reino Unido). El Mastersizer S emplea un algoritmo matemático para transformar las señales de radiación captadas en una distribución de tamaños de gota o partícula. Supone una serie de consideraciones:

a) La partícula es una esfera uniforme, homogénea ópticamente, cuyos índices de refracción real e imaginario (absorción) se conocen.
b) La partícula esférica se ilumina mediante una onda plana de extensión infinita y longitud de onda conocida.
c) Los índices de refracción real e imaginario del medio que la rodea también se conocen.

La configuración óptica del equipo, conocida como *configuración inversa de Fourier*, se muestra en la Figura 4-44. La fuente de luz procede de un tubo láser He-Ne que produce un haz de luz monocromática (de igual longitud de onda) y colimada (paralela) de un máximo de 18 mm de diámetro de sección. El haz se focaliza en un punto central del plano del detector. Al interaccionar con las partículas, se produce un campo de difracción a todos los ángulos que es captado por los detectores.

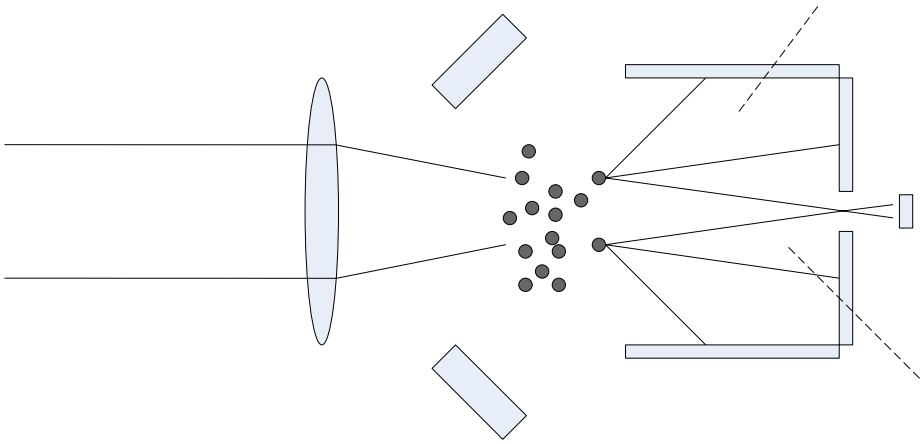


FIGURA 4-44: Esquema de la configuración óptica inversa de Fourier del equipo Malvern Mastersizer S

Cuanto menor es el tamaño de partícula o gota mayor es el ángulo del rayo difractado. Este equipo incorpora dos detectores "*backscatter*", que consiguen recoger la radiación difractada con ángulos de 120º y 135º. Esta disposición de los detectores permite medir partículas o gotas submicrónicas, de hasta 50 nm de diámetro.

Los resultados se expresan en forma de diámetro de esfera equivalente en volumen, es decir, el diámetro de la esfera con el mismo volumen que la partícula analizada. En el caso de las emulsiones, se puede suponer que las gotas presentan en su mayoría una forma esférica.

La muestra de emulsión se bombea desde la unidad de dispersión a una cámara situada junto a la lente. Un haz de radiación láser incide sobre la muestra y tiene lugar la difracción con un cierto ángulo, correspondiente a un tamaño de gota determinado. Tras varias medidas, el equipo cuantifica la cantidad de radiación difractada correspondiente a cada tamaño de gota y lo muestra como una DTG. Los datos se expresan en función de su distribución en volumen.

Densidad

La medida de la densidad se realiza con un densímetro portátil. Las muestras se introducen en un baño termostatizado a 25ºC para evitar fluctuaciones en los valores debidas a la temperatura. La densidad media de la leche puede variar entre 1.026 a 1.033 kg/m^3, dependiendo si se trata de leche entera, desnatada o semidesnatada.

Viscosidad

La viscosidad es la resistencia que opone un fluido a fluir. Esta resistencia se opone al movimiento de unas partículas del fluido sobre otras adyacentes a las mismas, y se considera el fruto del rozamiento interno de las moléculas.

Atendiendo a la determinación experimental de la viscosidad, pueden distinguirse dos tipos de viscosidad:

- ***Viscosidad absoluta o dinámica:*** Su unidad CGS es el poise, que es la viscosidad de un fluido tal, que para comunicar a una capa de 1 cm^2 de superficie una velocidad constante de 1 cm/s con respecto a otra capa separada 1 cm de la primera, es necesaria la aplicación de una fuerza de una dina. Matemáticamente se expresa por:

$$\mu = \frac{F \cdot I}{S \cdot v}$$

donde: F = fuerza en dinas

I = distancia en cm

S = superficie en cm^2

v = velocidad en cm/s

Como el poise es una unidad muy grande, se emplea el centipoise (cP), que equivale al milipascal por segundo (mPa s). En el Sistema Internacional la unidad de viscosidad es el Pa·s o kg/ m·s.

- ***Viscosidad relativa o cinemática:*** Es la relación entre la viscosidad absoluta y la densidad del fluido:

$$\upsilon = \frac{Viscosidad\ \ absoluta}{Densidad\ \ absoluta} = \frac{\mu}{\rho} = \frac{poise}{g/cm^3} = Stoke\ \ (St)$$

Como submúltiplo del Stoke se emplea normalmente el centistoke. En el Sistema Internacional la unidad de viscosidad dinámica es el m^2/s.

La viscosidad de las sustancias líquidas o gaseosas presenta gran variación con la temperatura, por lo que es necesaria una perfecta termostatización en las medidas si se desean resultados exactos y comparativos.

En este caso, se ha utilizado un viscosímetro capilar Cannon-Fenske que consiste en un tubo de vidrio con una geometría especial. En una de sus ramas posee un estrechamiento capilar con dos ensanchamientos en los extremos. Primero se calibra con agua destilada, midiendo el tiempo de descenso entre las dos marcas señaladas en el tubo y luego se ensaya con el líquido problema a temperatura controlada. Por aplicación de la ley de Poiseuille, que establece que el caudal que pasa por el capilar es función, entre otros factores, de la viscosidad cinemática, se determina ésta en centistokes (cSt).

4.3.3. Resultados y discusión

4.3.3.a. Estudio de la resistencia longitudinal

La característica fundamental de las membranas de tercera generación utilizadas en estos ensayos se basa en que proporcionan un flujo de permeado uniforme a lo largo de la membrana. Como se ha descrito en apartados anteriores, esto se consigue debido a que se compensa la caída de presión natural a lo largo de la membrana con una modificación en la resistencia de la misma, bien en la capa filtrante o en el soporte macroporoso.

Con el fin de comprobar este hecho se ha realizado un análisis cualitativo del comportamiento de estas membranas. Los primeros estudios se han realizado con una membrana Sterilox GP con tamaño de poro 0.8 µm.

Para llevar a cabo esta operación se ha utilizado la carcasa descubierta con el dispositivo de recogida del permeado.

Los experimentos reflejados en Figura 4-45 han sido realizados a T= 30 ºC, ΔP=0.5 bar y velocidades superficiales de 3 y 4 m/s.

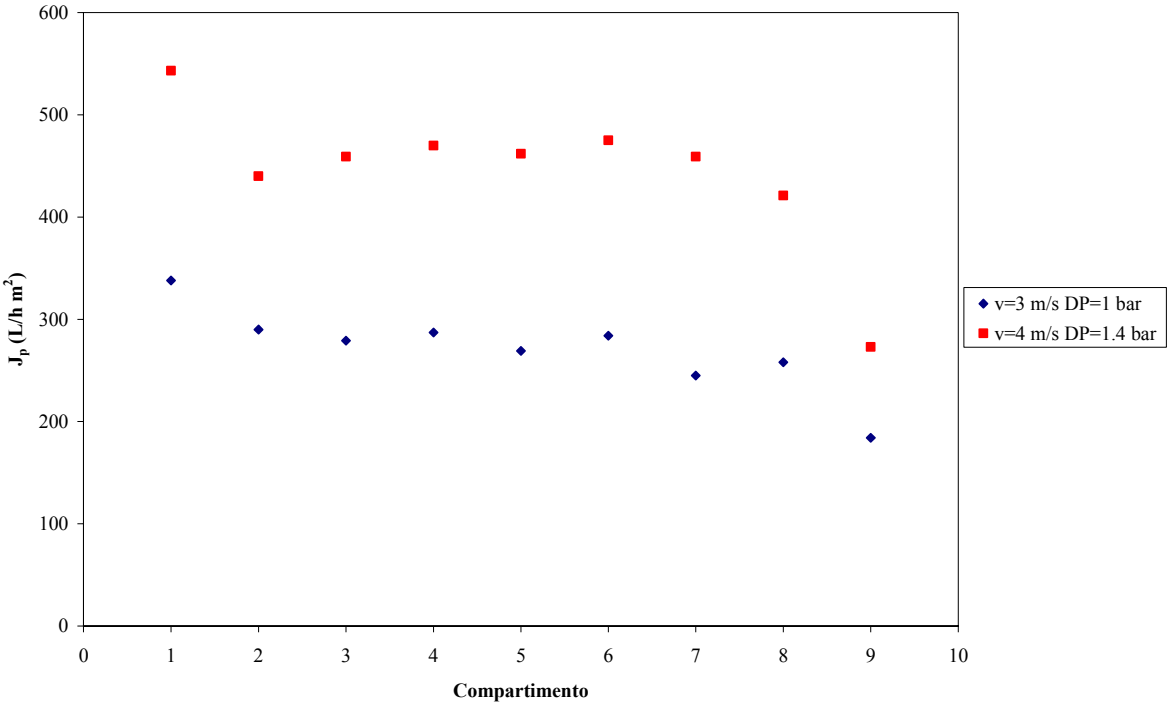


FIGURA 4-45: Permeabilidad longitudinal Sterilox GP 0.8 µm v=3m/s y v=4m/s

Como se puede apreciar en la Figura 4-45, el perfil del flujo de permeado es estable si exceptuamos los flujos de permeado del primer y último compartimento. Estos valores difieren de los esperados y pueden deberse a los efectos de entrada y salida a través de los accesorios de la carcasa o a la existencia de juntas en los extremos que pueden reducir el área efectiva de paso de la membrana. El flujo a una velocidad de 4m/s (3800 L/h) es superior a 3 m/s (3000 L/h) como es esperado al tratarse de un caudal de alimentación mayor.

En la Figura 4-46 se presenta la diferencia existente entre el comportamiento de una membrana de tercera generación frente al comportamiento teórico de una membrana tradicional. Los valores representados de la membrana GP se corresponden a las condiciones antes indicadas a v=3 m/s.

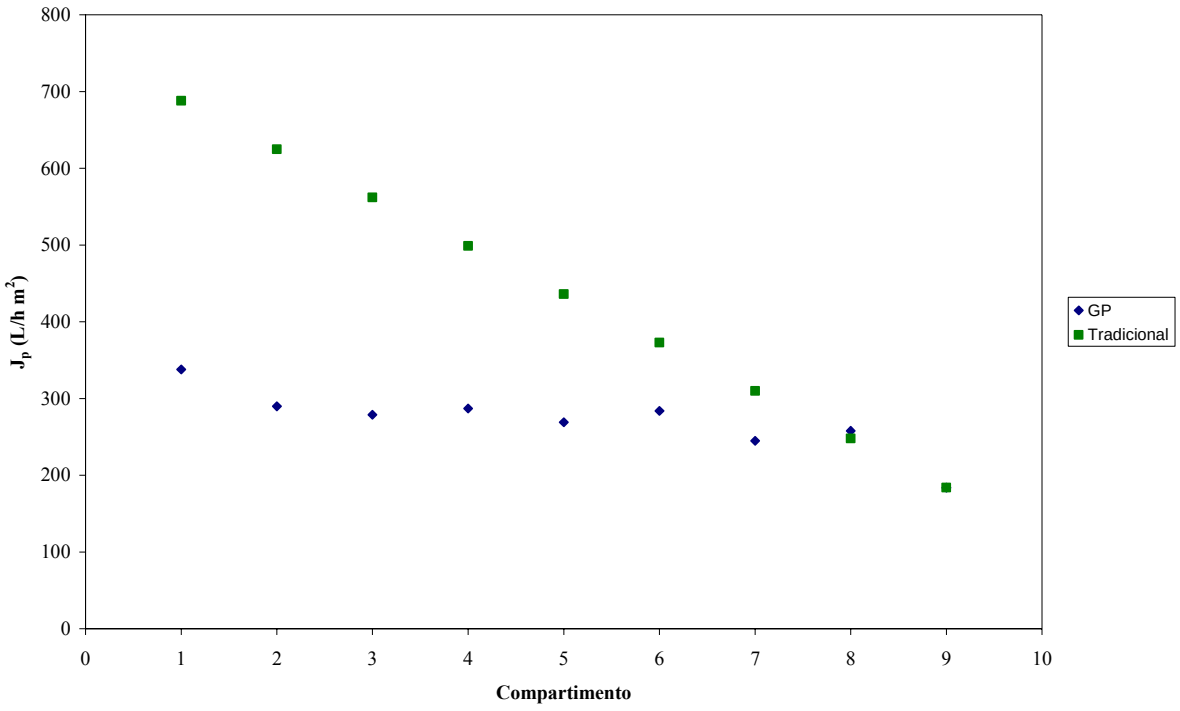


FIGURA 4-46: Comparación de la permeabilidad longitudinal membrana Sterilox GP (v=3m/s) *vs.* membrana convencional

El comportamiento de una membrana tradicional tendría un descenso del flujo de permeado mucho más acusado debido a la caída de presión. La caída del flujo de permeado desde la entrada a la salida es de un 70% en el caso de la membrana tradicional y de un 20%

en el caso de la membrana de tercera generación, excluyendo para el cálculo los valores a la entrada y a la salida.

Para el cálculo del comportamiento teórico de la membrana tradicional se ha empleado la ecuación de la ley de Darcy (Ec. 4-1):

$$J = \frac{\Delta P}{\mu \ (R_m + R_f)} \qquad \text{(Ec. 4-1)}$$

En este caso los experimentos han sido realizados con una membrana que posee una modificación en la porosidad del soporte. La resistencia va disminuyendo desde la entrada hasta la salida. Se ha supuesto que la resistencia en la longitud final de la membrana, correspondiente con el compartimento 9, es más similar a una membrana tradicional ya que el la modificación en el soporte sería mínimo. De esta manera, se calcula la resistencia en este compartimento, calculando también la ΔP correspondiente a este tramo. En el caso de las membranas tradicionales la resistencia a lo largo de la membrana es prácticamente constante con lo que sustituyendo las distintas ΔP para cada compartimento, ya que se ha calculado previamente la resistencia, se pueden determinar los flujos de permeado con la coordenada longitudinal.

Cálculo de la resistencia longitudinal de la membrana Sterilox GP 0.8 µm

Para el cálculo experimental de la resistencia longitudinal de las membranas se ha empleado la carcasa descubierta con el dispositivo de recogida de permeado y como fluido de estudio, agua destilada a 30ºC.

Los resultados representados en la Figuras 4-47 se ha realizado a 30ºC y v=3m/s (3000 L/h). Cada experimento ha sido realizado a una ΔP.

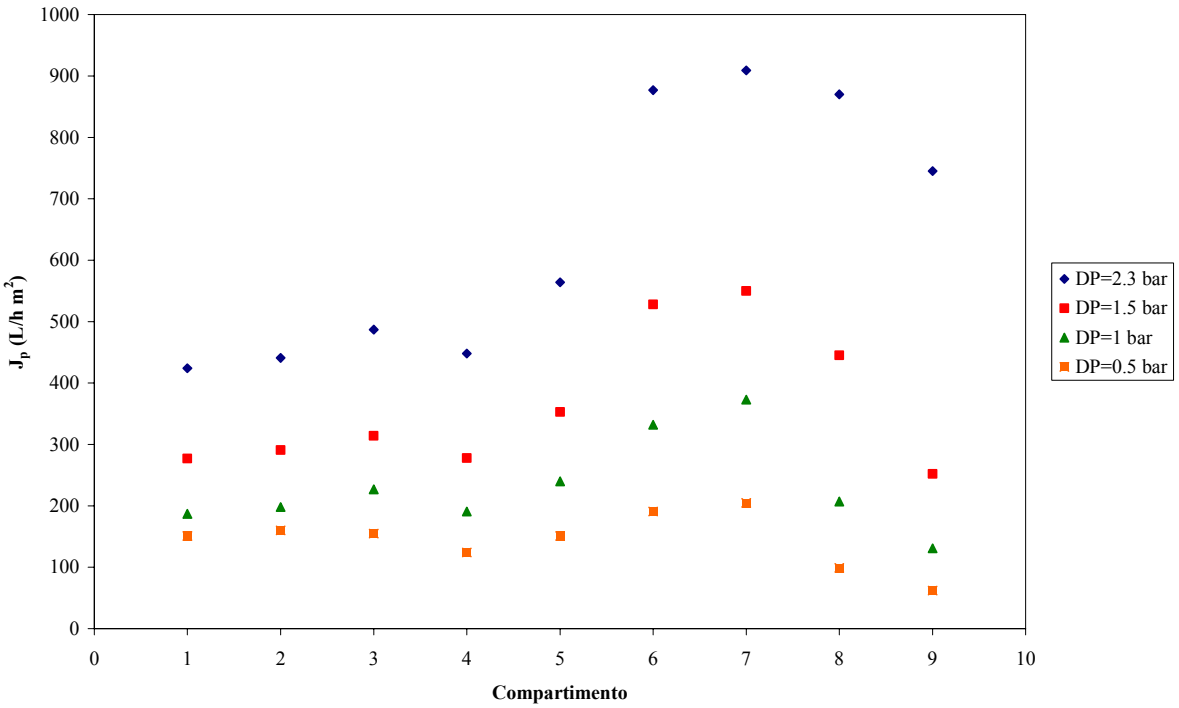


FIGURA 4-47: Densidad de flujo de permeado longitudinal de agua destilada 30ºC, v=3m/s

El comportamiento observado en cada condición es similar, siendo los flujos mayores cuanto mayor es la ΔP. Algunos puntos presentan valores que no concuerdan con la tendencia esperada. Este hecho puede ser debido a errores experimentales en la medida del flujo de permeado, a que no se han podido controlar con precisión las condiciones de operación en el momento de la medida o a que la colocación de la carcasa descubierta con la membrana no se haya realizado de la manera adecuada. Al no encontrarse de forma completamente horizontal puede que la gravedad favorezca el comportamiento irregular de algunos compartimentos.

Para una membrana limpia, es decir, que no tenga ningún tipo de material sobre su superficie o dentro de sus poros, la densidad de flujo de permeado J (m^3/m^2 s) viene dada por la ley de Darcy modificada:

$$J = \frac{\Delta P - \sigma_k \, \Delta\Pi}{\mu \, R_m}$$

donde:

ΔP: caída de presión a través de la membrana (Pa)

μ: viscosidad del agua (Pa s)

R_m: resistencia hidráulica de la membrana limpia (m^2/m^3)

σ_k: constante empírica (adimensional)

$\Delta\Pi$: cambio de presión osmótica a través de la membrana (Pa)

Dado que las membranas de MF rechazan especies macromoleculares y coloidales principalmente, la presión osmótica puede ser despreciable para estas membranas.

Teóricamente, la densidad de flujo de permeado crece proporcionalmente con la presión aplicada; sin embargo, en el momento en que se tratan líquidos con especies particuladas y/o disueltas, estas especies son retenidas por la membrana acumulándose cerca, sobre y en el interior de ésta, ensuciando la membrana. El efecto de esta acumulación de materiales es una reducción en la permeabilidad por la formación de capas que oponen resistencia adicional al paso de flujo, con lo que la ecuación [1] se transforma en:

$$J = \frac{\Delta P}{\mu\ (R_m + R_f)}$$

que incluye la suma de resistencias adicionales por materiales colmatantes (R_f) y la resistencia de la membrana (R_m). Como consecuencia de este fenómeno, el potencial de transporte neto aplicado para lograr la separación a través de la membrana disminuye y la densidad de flujo de permeado decrece con respecto al valor obtenido si la membrana estuviese limpia.

Este modelo es uno de los que mejor describe la evolución de la densidad de flujo de permeado con la presión, aunque también se utilizan otros modelos.

El ensuciamiento irreversible está ligado a las posibles interacciones que se producen entre los compuestos de la disolución y el material de la membrana, principalmente la adsorción de materiales a la superficie de los poros o a la superficie de la membrana así como incrustaciones de difícil eliminación. Estos fenómenos provocan que el diámetro de poro de la membrana se reduzca, disminuyendo la capacidad de producción del proceso.

La formación de la torta y el ensuciamiento por adsorción son las dos principales causas por las que la densidad de flujo de permeado disminuye con el tiempo en los procesos de MF. Para mantener la productividad en un sistema de membranas, se debe realizar una limpieza periódica. Varios mecanismos existen para este propósito, dentro de los que se encuentran los métodos mecánicos, los métodos químicos y los métodos enzimáticos. Los primeros tienen como objetivo eliminar los sólidos que provocan el ensuciamiento reversible. Estos mecanismos incluyen retrolavado (flujo en dirección inversa, a mayor presión) o aireación cerca de la membrana. Por otro lado, la limpieza química tiene como objetivo eliminar el ensuciamiento irreversible de la membrana. Los productos usados en este tipo de limpieza pueden ser ácidos, básicos o de desinfección (para la eliminación de microorganismos), dependiendo del tipo de material que quiera eliminarse. Asociado a cada uno de estos mecanismos de limpieza existe un grado de recuperación de flujo determinado.

Al representar los distintos flujos de permeado a las distintas ΔP para cada compartimento se obtiene una representación como la Figura 4-48 donde se pueden ajustar los puntos obtenidos a una recta.

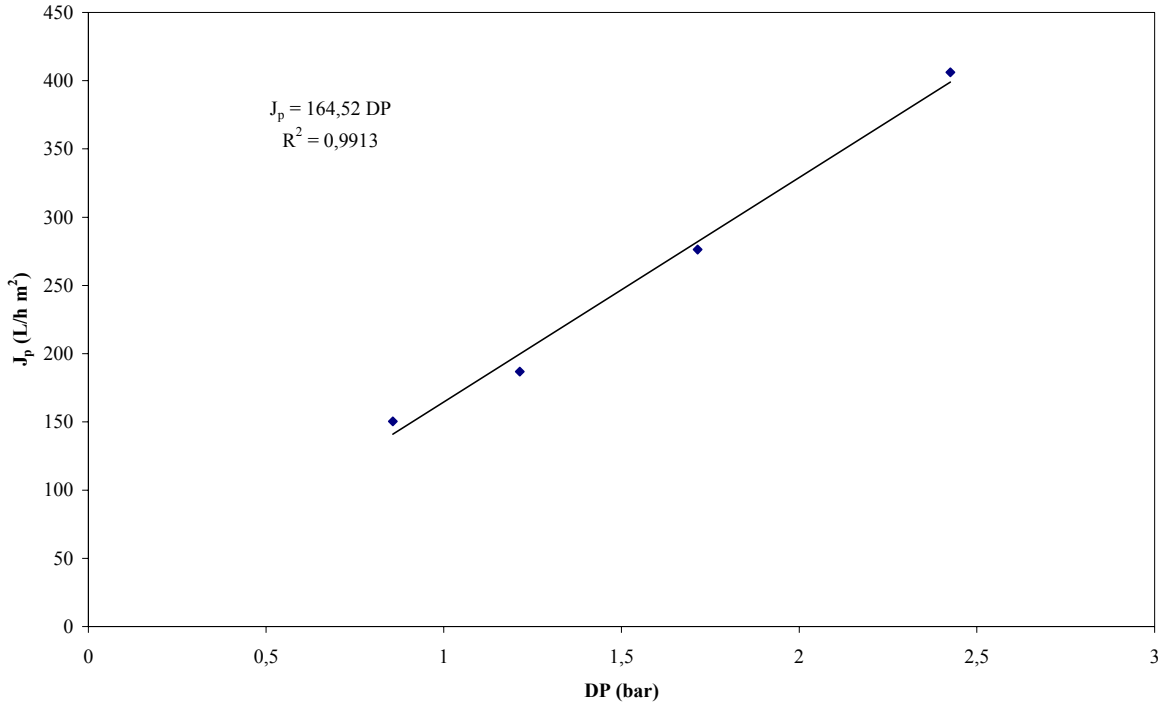


FIGURA 4-48: Flujo de permeado *vs.* ΔP para el compartimento 1

La ecuación de la recta que pasa por esos puntos tiene la forma de la Ecuación 4-3:

$$Jp = K\,\Delta P \qquad \text{(Ec. 4-3)}$$

En la Tabla 4-5 se recogen los valores de la constante K para cada compartimento.

TABLA 4-5: Valores de la constante de ajuste de Jp *vs.* ΔP para cada compartimento

Compartimento	K (cte)
1	311
2	309
3	363
4	314
5	395
6	569
7	561
8	854
9	487

Si se ajustan los valores a una recta que pase por el origen se puede determinar la resistencia de la membrana R_m. Tras realizar los cálculos pertinentes, los valores de la resistencia de la membrana son los que figuran en la Tabla 4-6.

TABLA 4-6: Resistencias por compartimentos de la membrana limpia

Compartimento	R_m (m^{-1})
1	$1.45\ 10^{12}$
2	$1.46\ 10^{12}$
3	$1.24\ 10^{12}$
4	$1.43\ 10^{12}$
5	$1.14\ 10^{12}$
6	$7.92\ 10^{11}$
7	$8.04\ 10^{11}$
8	$5.28\ 10^{11}$
9	$9.26\ 10^{11}$

Si se observan los resultados de manera gráfica, como en la Figura 43 se puede a preciar una tendencia descendente en la resistencia de la membrana desde la entrada hasta el final.

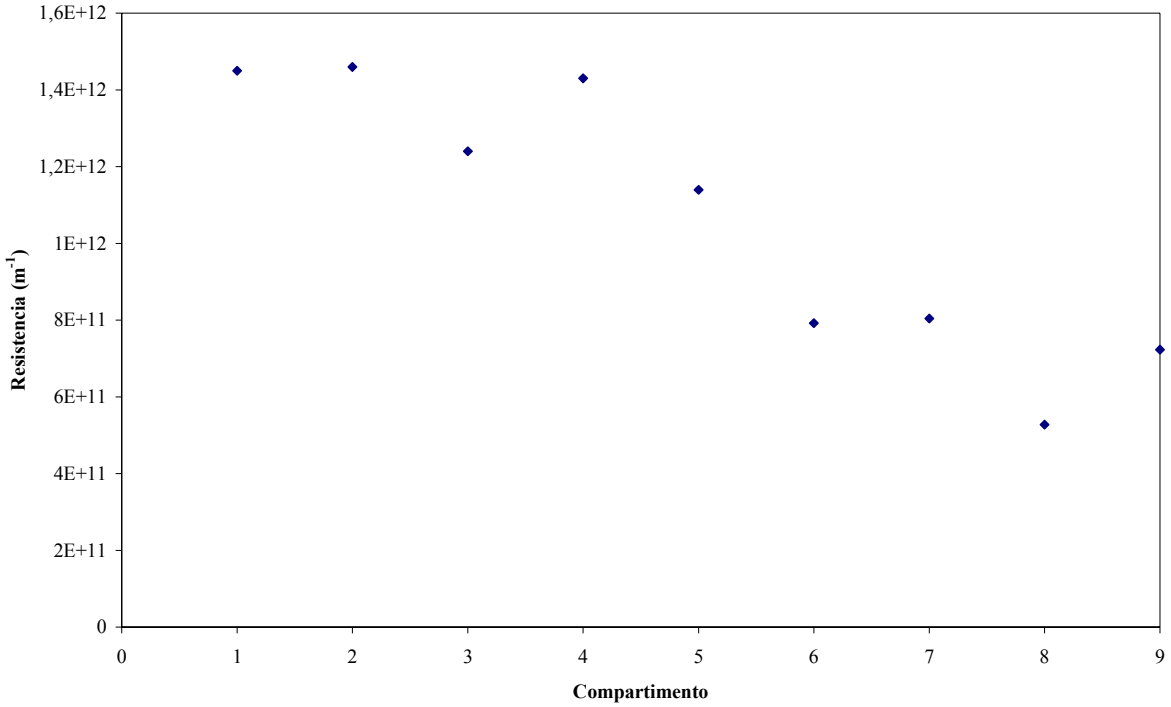


FIGURA 4-49: Resistencia de la membrana (m^{-1}) por compartimentos

Es el comportamiento esperado ya que, como se ha comentado anteriormente, la resistencia de este tipo de membranas es aumentada de manera proporcional a lo largo de la coordenada longitudinal para compensar la caída de presión. De esta manera, las zonas sometidas a una mayor presión tienen mayor resistencia al paso y de esta manera su flujo de permeado disminuye y se equilibra con los que se obtendrán en otros puntos.

El último punto, correspondiente tramo de salida tiene una resistencia mucho más elevada que puede ser debida a la existencia de una junta para evitar fugas que puede estar inutilizando parte del área efectiva de la membrana.

4.3.3.b.Estudio del tiempo de estabilización

Se ha realizado un experimento con una disolución de leche al 20% en agua a una velocidad superficial de 3m/s, y una ΔP de 0.6 bares y una temperatura de 30ºC, durante 2 horas. Se han medido los flujos de permeado obtenidos en cada compartimento, y el tiempo transcurrido desde el comienzo de la operación. Se pretende determinar el tiempo que tarda en estabilizarse el flujo de permeado.

Si se representa el flujo de permeado de cada compartimento frente al tiempo se obtienen las Figura 4-50.

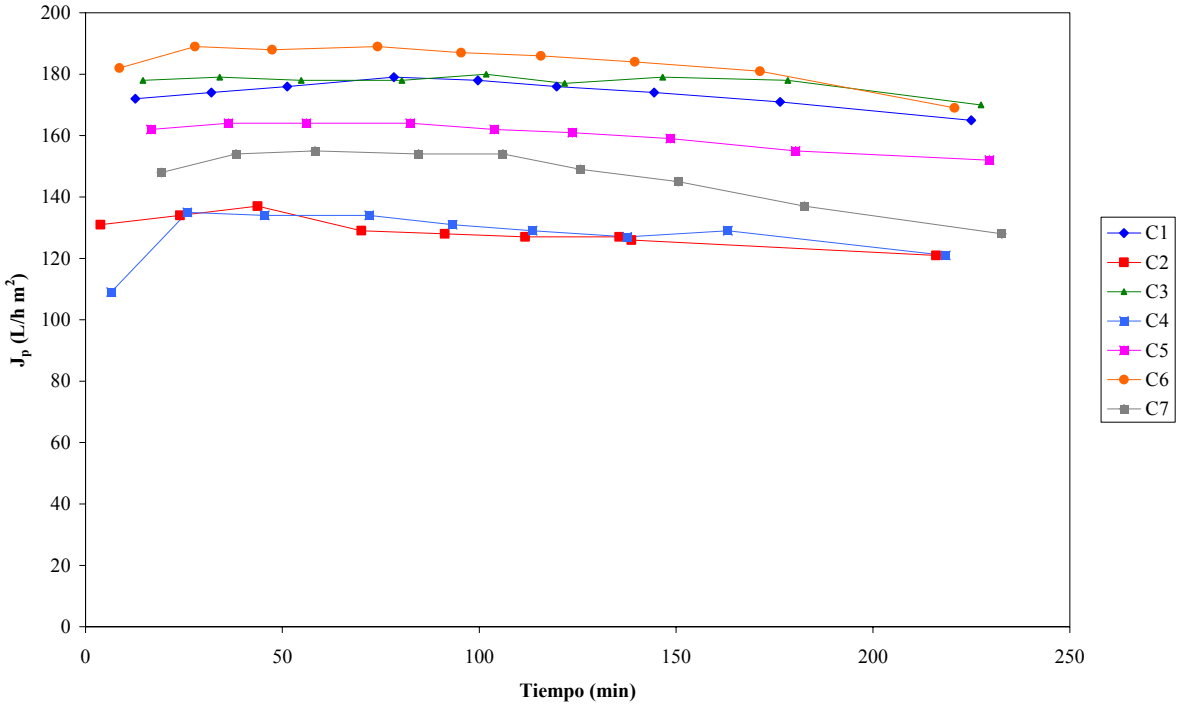


FIGURA 4-50: Flujo de permeado para cada compartimento con el tiempo

En esta figura se puede apreciar que los flujos de permeado son menores en los compartimentos más cercanos a la salida de la membrana esto puede ser debido, como se ha comentado anteriormente, a la orientación de la carcasa descubierta respecto a la horizontalidad, y puede ocurrir que la entrada de la membrana se encuentre por encima de la salida. También puede ser debido a que el ensuciamiento haya sido más acusado en la zona final.

Como se puede observar en la Figura 4-50, no se produce un descenso muy acusado del flujo de permeado, por lo que la gráfica que se obtiene es prácticamente horizontal. Al realizarse los experimentos con una disolución al 20% de leche no se produce prácticamente ensuciamiento. En este caso el ensayo se ha realizado a concentración constante, ya que el permeado recogido ha sido nuevamente retornado a la alimentación. En la bibliografía hay referencias que indican que se puede trabajar entre 12 y 20 horas sin que haya un descenso acusado del flujo de permeado.

Con los datos obtenidos en el ensayo anterior se calcula la resistencia total del medio filtrante con la Ecuación 4-4.

$$R_T = R_m + R_f = R_m + (R_{ir} + R_{rf}) \qquad \text{(Ec. 4-4)}$$

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4-7.

TABLA 4-7: Resistencias por compartimentos de la membrana tras el ensuciamiento

Compartimento	R_t (m^{-1})
1	$2.34\ 10^{12}$
2	$2.55\ 10^{12}$
3	$1.67\ 10^{12}$
4	$2.16\ 10^{12}$
5	$1.56\ 10^{12}$
6	$1.29\ 10^{12}$
7	$1.50\ 10^{12}$
8	$2.01\ 10^{12}$
9	$2.76\ 10^{12}$

Si se comparan estos valores con los obtenidos para la membrana limpia se observa que estas resistencias son más elevadas. Este hecho es lógico debido a que el ensuciamiento producido por la disolución de leche ha aumentado la resistencia del medio. En la Figura 4-51 se muestra gráficamente la evolución de las resistencias con la coordenada longitudinal.

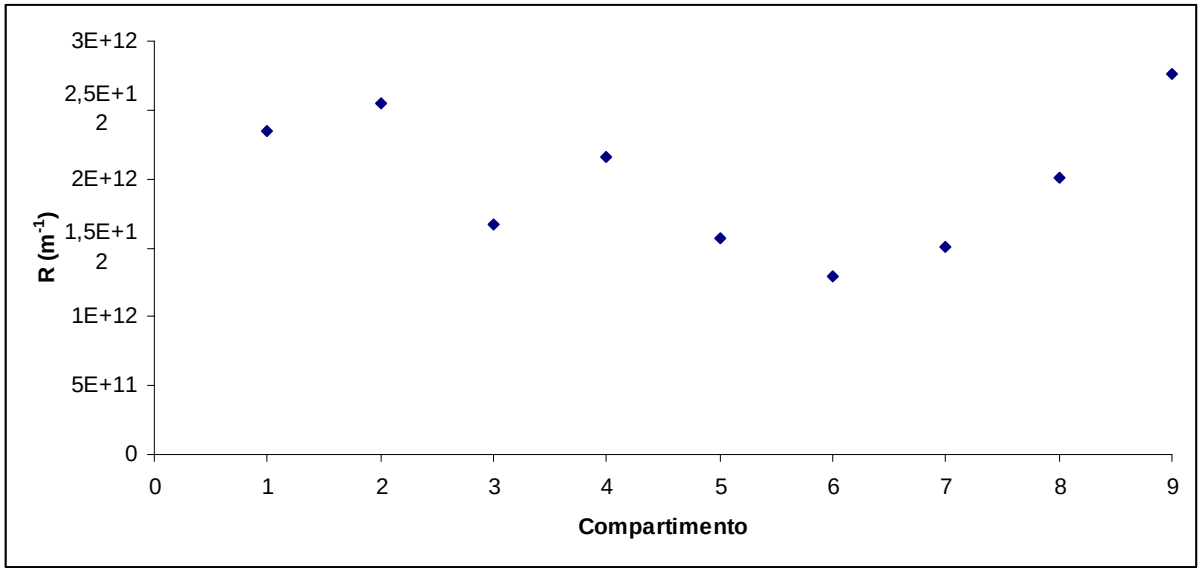


FIGURA 4-51: Representación de las resistencias totales (m^{-1}) por compartimentos

En esta figura se observa que en la primera mitad de la membrana la resistencia tiene una tendencia descendente mientras que en los últimos compartimentos aumenta. Este hecho concuerda con lo observad en la gráfica de J frente a los compartimentos en los que al final el flujo de permeado es muy bajo. Al existir una mayor resistencia disminuye el flujo.

Tras trabajar con la leche desnatada se realiza un aclarado con agua para determinar el ensuciamiento reversible, obteniéndose la Figura 4-52.

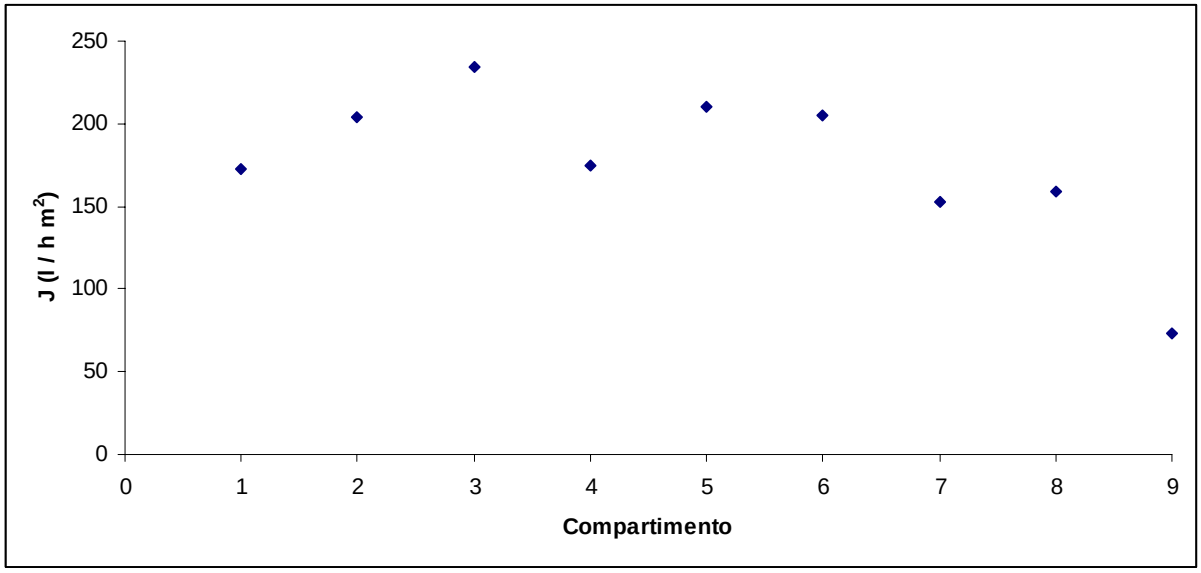


FIGURA 4-52: Permeabilidad longitudinal (L/h m^2) por compartimentos tras aclarado

Tras el aclarado el perfil de los flujos se suaviza y no es tan acusado como el observado en el experimento realizado con la disolución al 20% de leche.

Los valores de resistencia obtenidos se corresponden con:

$$R_h = R_m + R_{ir}$$

Siendo:

R_m : Resistencia de la membrana

R_{ir}: Resistencia irreversible debida al ensuciamiento

En la Tabla 4-8 se pueden ver los valores de las resistencias obtenidos para cada compartimento tras el aclarado.

TABLA 4-8: Resistencias por compartimentos de la membrana tras el aclarado

Compartimento	**R_h (m^{-1})**
1	$2.34\ 10^{12}$
2	$2.55\ 10^{12}$
3	$1.67\ 10^{12}$
4	$2.16\ 10^{12}$
5	$1.56\ 10^{12}$
6	$1.29\ 10^{12}$
7	$1.50\ 10^{12}$
8	$2.01\ 10^{12}$
9	$2.76\ 10^{12}$

Si se comparan estos valores con los obtenidos tras el experimento con leche se aprecia que son ligeramente inferiores. Esto se debe a que aclarar la membrana parte del ensuciamiento, correspondiente al ensuciamiento reversible, es eliminado. La resistencia que opone la membrana es menor.

Como se conoce la resistencia R_h (Tabla 4-8) y la resistencia de la membrana sucia, tras el experimento con la disolución de leche (Tabla 4-6), se puede determinar la resistencia debida al ensuciamiento reversible que aparece en la Tabla 4-9.

TABLA 4-9: Resistencia debida al ensuciamiento reversible por compartimentos

Compartimento	R_{rev} (m^{-1})
1	$1.08\ 10^{11}$
2	$8.13\ 10^{11}$
3	$2.78\ 10^{11}$
4	$4.45\ 10^{11}$
5	$2.65\ 10^{11}$
6	$8.38\ 10^{10}$
7	$6.00\ 10^{10}$
8	$7.92\ 10^{11}$
9	$5{,}90\ 10^{11}$

Los valores de la resistencia debidos al ensuciamiento reversible son del orden esperado.

Como se conoce la resistencia R_h (Tabla 4-8) y la resistencia de la membrana limpia (Tabla 4-5), se puede determinar la resistencia debida al ensuciamiento irreversible que aparece en la Tabla 4-10.

TABLA 4-10: Resistencia debida al ensuciamiento irreversible por compartimentos

Compartimento	R_{if} (m^{-1})
1	$7.84\ 10^{11}$
2	$2.73\ 10^{11}$
3	$1.55\ 10^{11}$
4	$2.81\ 10^{11}$
5	$1.59\ 10^{11}$
6	$4.11\ 10^{11}$
7	$6.37\ 10^{11}$
8	$6.92\ 10^{11}$
9	$1.24\ \ 10^{12}$

El valor de la resistencia en el último compartimento es mayor que en el resto. Como se ha observado en las gráficas anteriores la parte final de la membrana presentaba valores

menores de flujos de permeado y mayores valores de resistencia. Esto encaja con que el valor de la resistencia irreversible de la membrana sea alto.

Tras trabajar con la leche desnatada se realiza un lavado básico para eliminar el ensuciamiento irreversible y recuperar la R_m inicial. Los valores de J se muestran en la Figura 4-53.

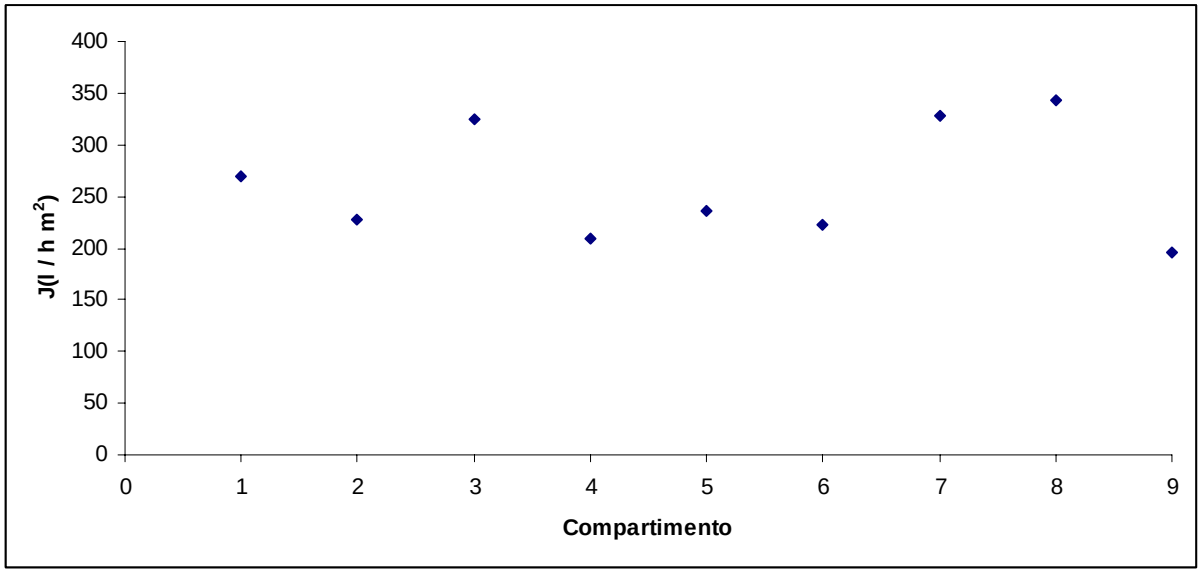


FIGURA 4-53: Permeabilidad longitudinal (L/h m^2) por compartimentos tras lavado alcalino

Mediante los cálculos pertinentes se calcula la resistencia de la membrana limpia. Los resultados se muestran en la Tabla 4-11.

TABLA 4-11: Resistencias de la membrana tras el lavado alcalino por compartimentos

Compartimento	Rm (m^{-1})
1	$1.44\ 10^{12}$
2	$1.56\ 10^{12}$
3	$1.01\ 10^{12}$
4	$1.43\ 10^{12}$
5	$1.16\ 10^{12}$
6	$1.11\ 10^{12}$
7	$6.72\ 10^{11}$
8	$5.65\ 10^{11}$
9	$8.08\ 10^{11}$

Si se compara la Tabla 4-11 con la Tabla 4-5 se puede apreciar que la resistencia de la membrana alcanza valores similares a los calculados para el caso de la membrana limpia. En algunos puntos a resistencia de la membrana obtenida tras el lavado es inferior a la de la membrana limpia calculada anteriormente. Esto puede ser debido a que al comienzo del experimento la membrana no estaba completamente limpia.

En la Figura 4-54 se muestran los valores de las resistencias al inicio, tras el experimento con leche, tras el aclarado y tras el lavado.

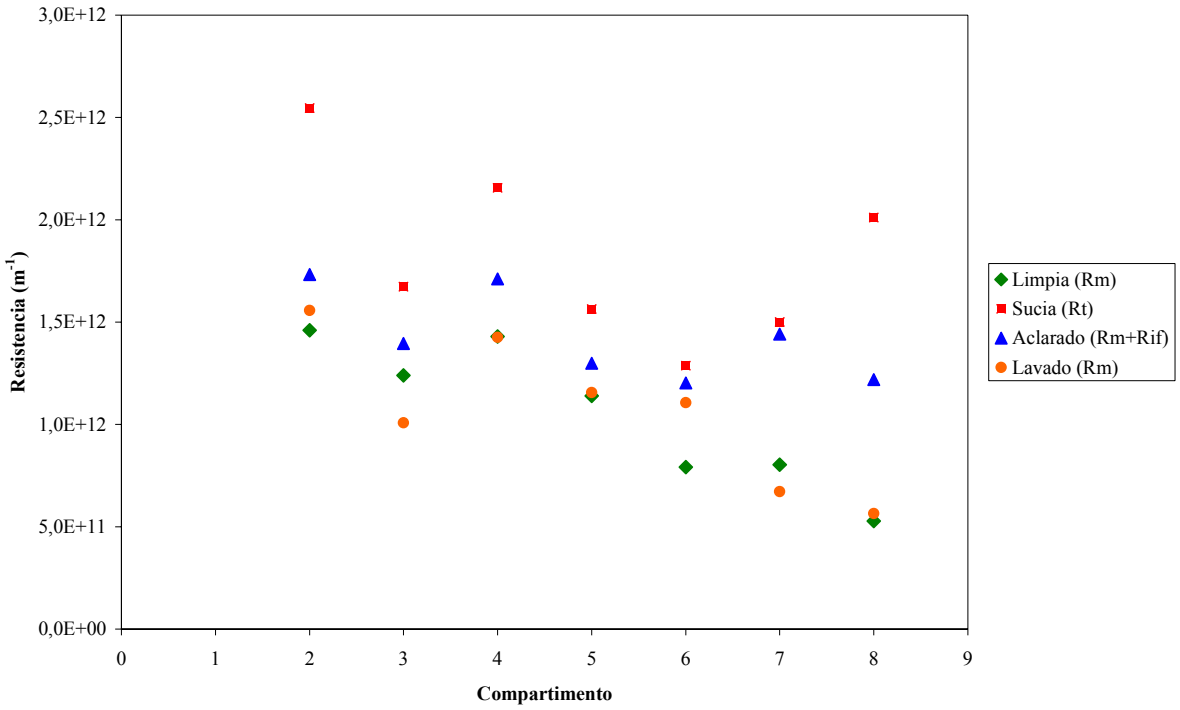


FIGURA 4-54: Permeabilidad longitudinal (L/h m^2) por compartimentos para cada etapa

Los resultados obtenidos se encuentran dentro del comportamiento esperado ya que, como se puede apreciar en la Figura 4-54, la resistencia de la membrana disminuye progresivamente tras el experimento de ensuciamiento. Tras el aclarado se produce una disminución de la resistencia que será más acusada tras el lavado alcalino.

4.3.3.c. Permeabilidad longitudinal mediante emulsiones de aceite en agua (O/W)

Los resultados más relevantes se han obtenido con Sterilox GP de 1.4 µm de diámetro de poro. Esta membrana ha presentado un perfil decreciente más marcado de la resistencia longitudinal de la membrana. Para ello se han realizado estudios de la permeabilidad de la membrana con agua MiliQ sin recirculación del retenido (válvula de retorno cerrada) a varias condiciones de presión transmembranar. Los valores obtenidos de densidad de flujo de permeado con la coordenada longitudinal a las distintas condiciones se muestran en la Figura 4-55.

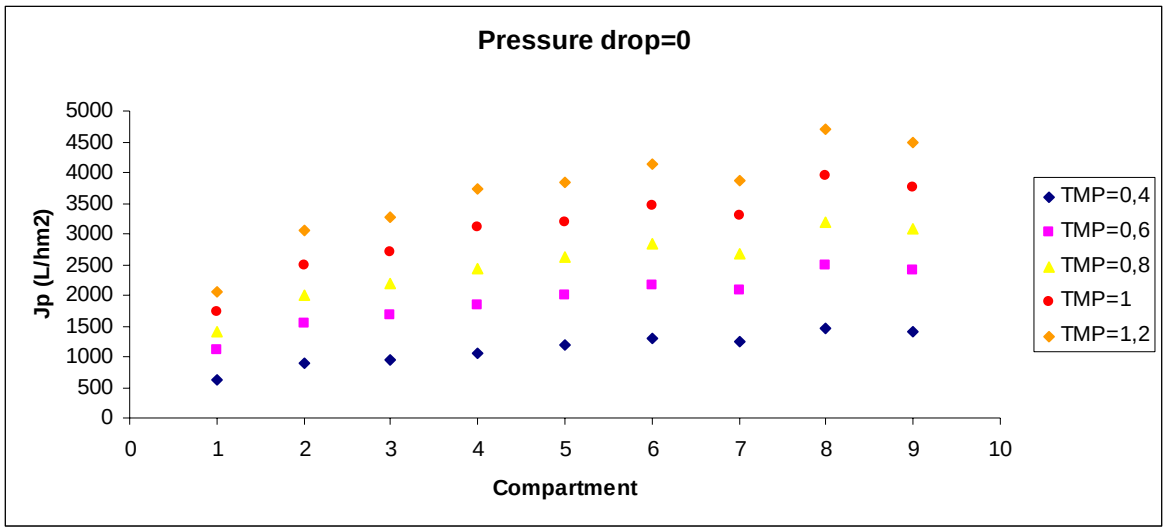


FIGURA 4-55: Densidad de flujo de permeado con la coordenada longitudinal para distintas condiciones

La Figura 4-55 muestra como los flujos de permeado han sido mayores en la parte final de la membrana, siendo este mayor cuanto mayor es la PTM aplicada. Como la caída de presión es nula, el flujo de permeado que se ve forzado a atravesar la membrana lo consigue debido a la permeabilidad natural de la misma.

El diseño de este tipo de membrana consiste en un gradiente de porosidad en el soporte, de manera que la resistencia de la membrana es decreciente con la coordenada longitudinal.

De los resultados obtenidos se han calculado la condición ideal para la realización de los ensayos, siendo ésta, una relación entre la presión de salida y la de entrada de 1.45.

De los resultados obtenidos se ha obtenido el valor de la resistencia longitudinal para cada sección de la membrana, mostrándose en la Figura 4-56.

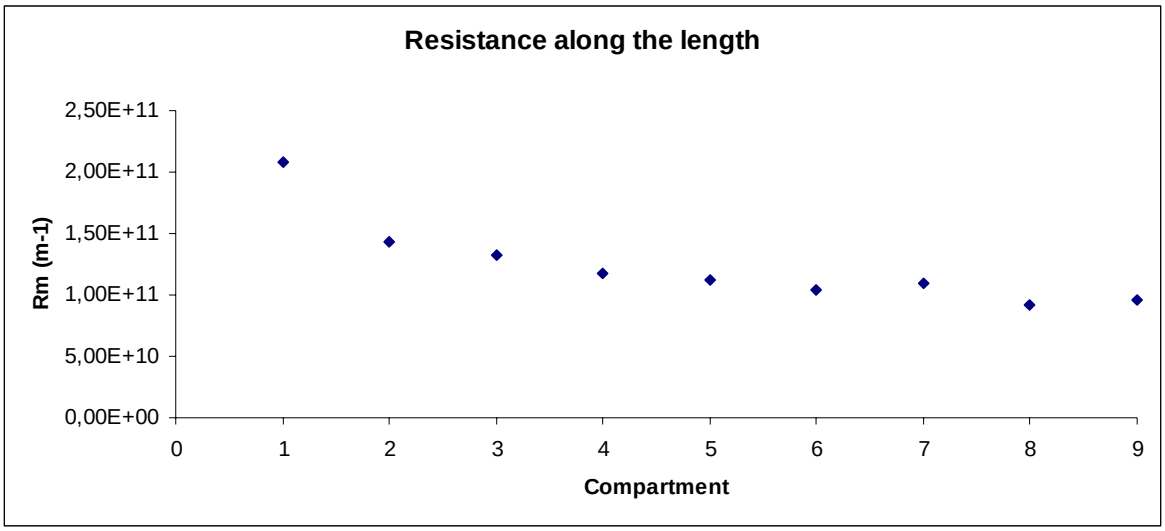


FIGURA 4-56: Perfil de resistencias de la membrana Sterilox GP con la coordenada longitudinal

A la vista de los resultados se comprueba la existencia de un perfil decreciente en la resistencia longitudinal de la membrana. Éste perfil está diseñado para compensar la caída de presión hidrodinámica que tiene lugar a lo largo de la membrana cuando se opera a las condiciones recomendadas por el fabricante. En este caso, al tratarse de ensayos realizados con una caída de presión nula, donde sólo ha influido la permeabilidad natural de la membrana, se ha podido observar su comportamiento sin tener en cuenta las condiciones de presión y velocidad recomendadas.

Para el estudio del efecto del tiempo en el cut-off de la membrana, se requería una emulsión que contuviese una fracción importante de gotas de aceite de un tamaño entre 1 y 10 micras. Para obtener una emulsión con la distribución de tamaños deseada se han combinado 3 emulsiones realizadas con el homogeneizador de alta presión (Figura 4-43) a 5, 20 y 80 bares, respectivamente

La distribución de tamaños de las gotas se ha analizado con un analizador de tamaños de partícula por difracción láser. En el caso de la emulsión de partida la distribución resultante ha sido la que se muestra en la Figura 4-57.

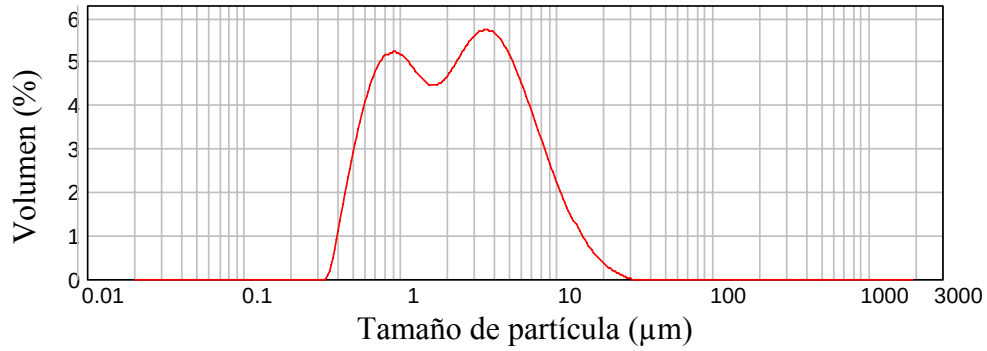


FIGURA 4-57: Distribución de tamaños de partícula para la emulsión de partida

En este ensayo se ha realizado un seguimiento de la distribución de tamaños de los permeados recogidos en tres de los nueve compartimentos del dispositivo longitudinal (2, 5 y 8) para cuatro condiciones ideales distintas. El modo de operación ha sido con recirculación total tanto de retenido como de permeado, para mantener la concentración de la alimentación constate. Las distribuciones comparativas obtenidas se muestran a continuación en las Figuras 4-58 a 4-61.

$P_{entrada}$=0.5 bar P_{salida}=0.35 bar PTM=0.43

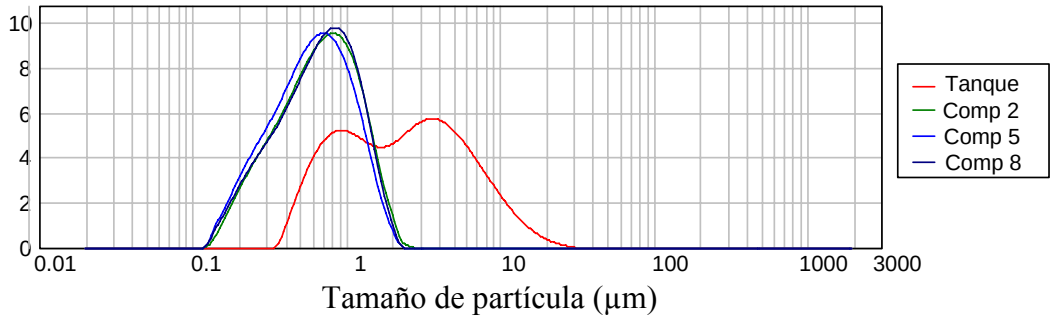


FIGURA 4-58: Distribución de tamaños de partícula para la emulsión de partida y el permeado para $P_{entrada}$=0.5 bar P_{salida}=0.35 bar PTM=0.431

$P_{entrada}$=0.7 bar P_{salida}=0.5 bar PTM=0.6

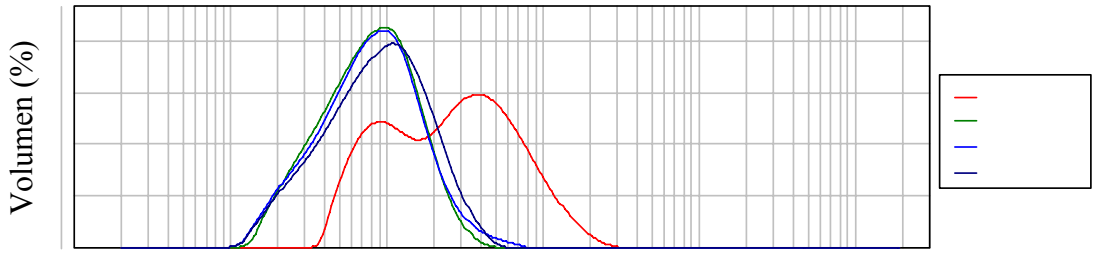


FIGURA 4-59: Distribución de tamaños de partícula para la emulsión de partida y el permeado para $P_{entrada}$=0.7 bar P_{salida}=0.5 bar PTM=0.6

$P_{entrada}$=1 bar P_{salida}=0.7 bar PTM=0.85

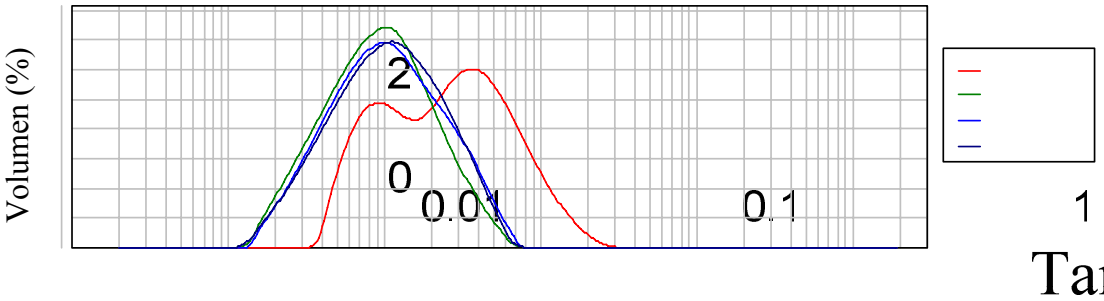


FIGURA 4-60: Distribución de tamaños de partícula para la emulsión de partida y el permeado para $P_{entrada}$=1 bar P_{salida}=0.7 bar PTM=0.85

$P_{entrada}$=2 bar P_{salida}=1.4 bar PTM=1.7

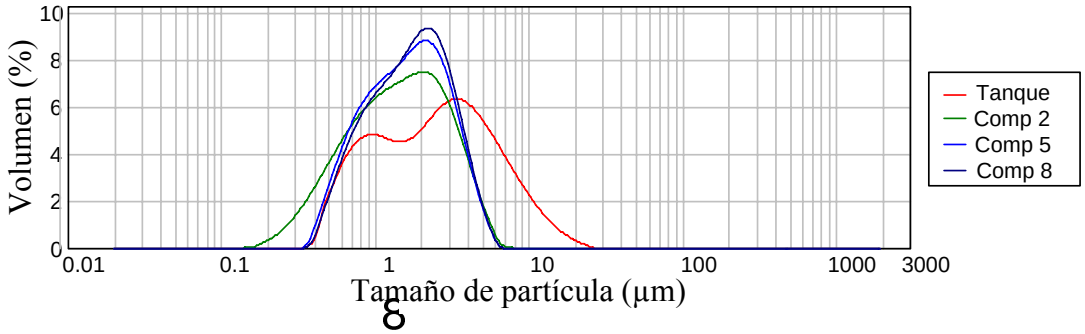


FIGURA 4-61: Distribución de tamaños de partícula para la emulsión de partida y el permeado para $P_{entrada}$=2 bar P_{salida}=1.4 bar PTM=1.7

4.3.4. Conclusiones

En el cálculo de la resistencia de las membranas de tercera generación se ha comprobado como la resistencia de la membrana disminuye con la coordenada longitudinal para compensar la caída de presión. El diseño de un sistema de recolección de permeados con la coordenada longitudinal de la membrana resultó adecuado para el estudio del comportamiento de la misma, siempre y cuando no sea necesaria una retropresión en el lado del permeado para compensar una excesiva presión en el lado de concentrado que supere los valores recomendados por la membrana comercial.

En el estudio del efecto del ensuciamiento sobre la resistencia de la membrana, se observa que, para los compartimentos de entrada y salida predomina el ensuciamiento irreversible mientras que, en la zona intermedia la tendencia varía. La primera mitad se ve afectada en mayor grado por un ensuciamiento reversible, en cambio, la segunda mitad presenta un mayor ensuciamiento irreversible.

En la membrana con gradiente de porosidad longitudinal (Sterilox GP) de 1.4 μm se ha comprobado la existencia de un perfil decrecinte, de manera lineal, de la resistencia de la membrana.

5. COMBINACIÓN DE MICROFILTRACIÓN Y TRATAMIENTOS TÉRMICOS

5. COMBINACIÓN DE MICROFILTRACIÓN CON TRATAMIENTOS TÉRMICOS

5.1. Introducción

La corta vida útil de la leche pasteurizada y su conservación en condiciones de refrigeración es un inconveniente en su distribución de los mercados. La vida útil de este producto es inferior al de otros productos lácteos dentro del mismo sistema de logística. Este hecho hace patente la necesidad de conseguir alargar la vida útil hasta unos niveles que permitan su distribución conjunta con otros productos. Para ellos han surgido muchas técnicas de producción de leche ESL (Extended Shelf Life) como se ha descrito en el capítulo 2.

En este caso el objeto de los ensayos ha sido encontrar la combinación de la operación de microfiltración con tratamientos térmicos más adecuada para este propósito.

Un estudio preliminar de la vida útil de la leche pasteurizada en la actualidad ha servido para establecer el punto de partida de nuestros objetivos. También se ha realizado un seguimiento de la vida útil de la leche con distintos recuentos bacterianos iniciales para ver su influencia en la duración y finalmente se han ensayado combinaciones de microfiltración con tratamientos térmicos directos e indirectos a varias temperaturas y con distintos tiempos de mantenimiento.

5.2. Materiales y métodos

5.2.1. Alimentación

Estudio preliminar de la vida útil de la leche pasteurizada comercial

Para la realización del estudio de la vida útil de la leche pasteurizada, se han seleccionado dos marcas de leche pasteurizada refrigerada comercial:

- Leche pasteurizada entera de la marca Central Lechera Asturiana (CLAS), que ha sido sometida a una pasteurización estándar.

- Leche desnatada de la marca Hacendado, distribuída por Mercadona, que actualmente es la única leche ESL que se comercializa en España. Ha sido fabricada mediante un proceso de alta pasteurización (HHT por infusión en vapor, descrito en el capítulo 2).

Para los experimentos de microfiltración se ha empleado leche cruda desnatada recogida directamente de la salida de la desnatadora en las instalaciones de Corporación Alimentaria Peñanasanta S:A: (CAPSA) en Granda (Asturias).

5.2.2. Membranas

Como ya se ha comprobado en el apartado 4.1., la retención bacteriana de los dos tipos de membranas de tercera generación es similar y presentan valores de reducción decimal entre .

Por ello, los ensayos para el estudio de la combinación con tratamiento térmicos se han realizado con las membranas Isoflux con un tamaño de poro de 1.4 μm, que presentan un montaje más sencillo.

5.2.3. Dispositivo experimental

En esta parte del estudio, se ha sometido a la leche cruda desnatada al proceso de microfiltración seguido de un tratamiento térmico con distintas combinaciones de tiempo y temperatura con el objetivo de determinar los valores mínimos de ambos parámetros para obtener leche estéril.

Los tratamiento térmicos han sido de dos tipos (directo e indirecto) y cada uno ha sido realizado con un dispositico distinto.

Tratamiento térmico indirecto

El dispositivo empleado se encuentra ubicado en las instalaciones de CAPSA. Se trata de un equipo piloto de tratamiento UHT (OMVE HT220, Holanda) cuya fotografía y esquema se puede observar en la Figura 5-1.

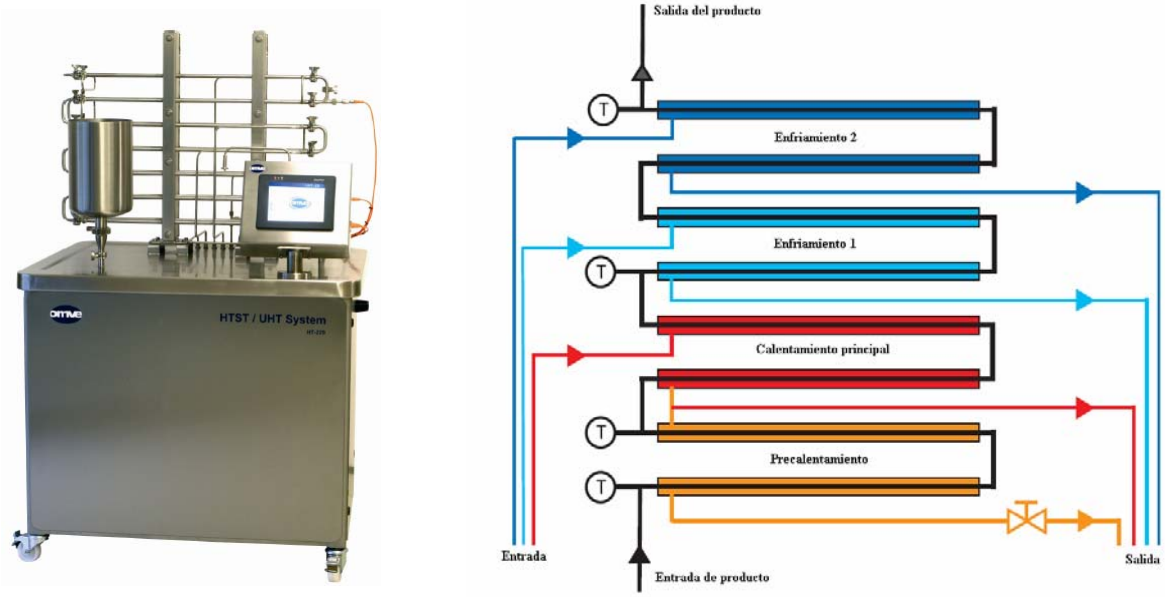


FIGURA 5-1: Fotografía del equipo piloto de calentamiento indirecto y esquema del intercambiador tubular

El sistema consta de un tanque de alimentación, una bomba un intercambiador de calor, sensores, un calderín de agua caliente y una pantalla táctil. El producto se bombea desde el tanque hasta el cambiador de calor donde el producto primero, se precalienta y despues pasa al calentamiento principal. Tras el tratamiento, el producto se enfría en las dos etapas de enfriamiento que encuentra a continuación. Una válvula de presión evita que el sistema alcance temperaturas superiores a los 100ºC. El sistema se ha diseñado para trabajar con un caudal de producto de 20 L/h.

Tratamiento térmico directo

Para la realización de los tratamientos térmicos directos se utilizó una planta piloto UHT. La planta piloto fue adquirida inicialmente a APV (Reino Unido) y, a partir de ese modelo inicial, se introdujeron diversas modificaciones con objeto de hacerla más versátil. Además de los elementos descritos más adelante tiene varias sondas de temperatura y de presión situadas en los puntos clave (entrada y salidas de cambiadores, inyección de vapor, salida de producto, alimentación, etc.). Es posible, también, la recirculación del producto que sale al tanque de recepción (útil en las etapas de limpieza).

El tratamiento UHT directo consta de los siguientes elementos:

- Tanque de recepción de leche con una capacidad de 200 L (acero inoxidable AISI 316L)
- Bomba de desplazamiento positivo con recirculación al tanque (y variador de valocidad manual). Esta bomba proporciona un caudal variable entre 100 y 1000 L/h y presiones que oscilan entre 2 y 10 bar.
- Rotámetro, permite la medida de flujos volumétricos hasta 1000 L/h.

Cambiador de calor de placas para precalentamiento de la mezcla. Este cambiador de placas tiene dos cuerpos. En el primero se calienta la leche con agua caliente. Este precalentamiento se realiza a 80ºC aunque existe un autómata que permite ajustar esa temperatura al valor que se desee. En este caso, se utiliza sóllo el primer cuerpo del cambiador de calor.

- Inyección de vapor, normalmente a 148-150ºC. De todas formas, esa temperatura se puede ajustar mediante una válvula de aguja que regula la inyección de vapor. El producto permanece a esta temperatura entre 3 y 5 segundos. Puede oscilar un poco según el caudal proporcionado por la bomba de desplazamiento positivo.
- Cámara de expansión (*Flash-cooler*). Se enfría a 80ºC (es decir, a la misma temperatura que había antes de la inyección de vapor para no aguar ni concentrar el producto). El vapor se extrae de la cámara de expansión mediante una bomba de vacío y el producto se extrae con una bomba centrífuga.
- Homogeneizador. La mayoría de los homogeneizadores necesitan una presión mínima a la entrada (2 bar en este caso, que son suministrados por la bomba centrífuga que extrae el producto de la cámara de expansión). Tiene un variador de frecuencia y dos cuerpos. En el primer cuerpo se regula la presión normalmente, a 150 bar, y, en el segundo se aportan los 50 bar restantes hasta alcanzar 200 bar. No obstante, se puede variar la presión suministrada por el homogeneizador en sus dos cuerpos. Habitualmente, se homogeneiza a temperatura elevada porque así la operación es más eficaz (>60ºC).

En este caso, es importante que el homogeneizador esté situado después del sistema de inyección de vapor porque la operación puede desestabilizar la mezcla y separar de nuevo la materia grasa.

- Enfriamiento con agua de red en un cambiador de calor de placas. También tiene dos cuerpos para lograr un ajuste más preciso de la temperatura de enfriamiento. Hay productos que se envasan en caliente y otros en frío.
- Finalmente, se dispone de una campana de flujo laminar para llevar a cabo el envasado de forma aséptica.

Este proceso se esquematiza en la Figura 5-2.

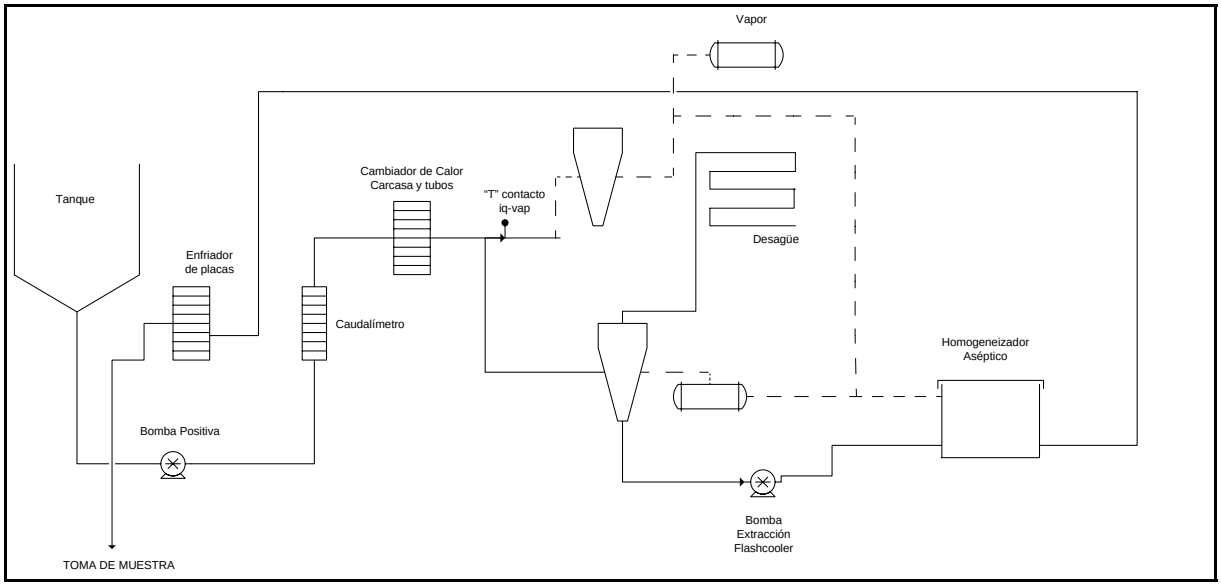


FIGURA 5-2: Diagrama de bloques del tratamiento UHT directo

Y en la Figura 5-3 se muestra una fotografía del equipo.

FIGURA 5-3: Fotografía del equipo piloto de pasteurización/UHT directo

Operación de microfiltración

El equipo empleado para la microfiltración es el descrito en el apartado 4.1.

5.2.4. Procedimiento experimental

La leche desnatada cruda fue recogida directamente a la salida de la desnatadora. Se prepara el volumen necesario para cada experimento (200 L aproximadamente) y se bombea hacia el equipo de microfiltración. El equipo de MF ha sido previamente sometido al proceso de limpieza estándar

5.2.5. Métodos de análisis

Mediante un estudio preliminar de la vida útil se han podido establecer duraciones orientativas de la conservación de cada tipo de leche y en cada condición. De esta manera, se han podido hacer seguimientos más detallados a las muestras que tienen un tiempo menor de degradación. Las muestras han sido tomadas en frascos estériles roscados EUROTUBO de 60 mL.

Los parámetros seleccionados para estudiar la degradación de la leche con el tiempo pueden dividirse en parámetros físico-químicos y microbiológicos.

Parámetros físico-químicos

Los parámetros seleccionados han sido el pH, la acidez, la densidad y la viscosidad. Los dos primeros son parámetros típicos en el análisis del estado de la leche y se ha analizado la densidad y la viscosidad de las muestras con el objetivo de intentar encontrar una relación entre la degradación bacteriana y la variación de estas propiedades.

Los materiales empleados para llevar a cabo los análisis han sido los siguientes:

pH

La determinación del pH se realiza por lectura directa introduciendo el electrodo del pHmetro, previamente calibrado con tampones de pH conocido 4.00, 7.00 y 9.00. Los valores normales para la leche se encuentran entre 6.6 y 6.8.

Acidez

La acidez titulable de la leche es el resultado de una valoración ácido-base en la que se lleva un volumen de leche al punto de viraje de un indicador de pH que suele ser la fenolftaleína (punto de viraje pH = 8,4). Para ello, se utiliza una disolución alcalina (hidróxido sódico), denominada sosa Dornic, 0.111 N. En la valoración de la acidez se determina la suma de la acidez natural de la leche (caseínas, sustancias minerales - ácidos orgánicos y fosfatos) y la acidez desarrollada (ácidos orgánicos generados a partir de la lactosa por crecimiento microbiano).

Para la medida de la acidez, se toman 10 mL de leche y se valoran con la disolución de hidróxido sódico citada en presencia de 5 gotas de la disolución de fenolftaleína hasta la aparición de una coloración rosa persistente durante unos segundos. Los resultados se expresan como gramos de ácido láctico por 100 mL de leche, dividiendo por 10 los mililitros de sosa empleados, o como grados Dornic multiplicando por 10 los mililitros de sosa. En este caso se expresará la acidez en grados Dornic (ºD).

Los valores de acidez normales para la leche se encuentran entre 13 y 18 ºDornic.

Parámetros microbiológicos

Los análisis microbiológicos han sido realizados con la ayuda del Laboratorio Interprofesional Lácteo Asturiano (LILA). La prueba seleccionada para el estudio de la degradación bacteriana ha sido el recuento de aerobios mesófilos, al ser la prueba que mejor puede indicar el estado de deterioro de la leche (Ma *et al*., 2000; Boor, 2001; Elwell y Barbano, 2006; De Noni *et al*., 2007).

Aerobios mesófilos

El recuento de microorganismos aerobios mesófilos por el método TEMPO se lleva a cabo en un frasco con un medio de cultivo y una tarjeta específica asociada. El medio de cultivo permite un rápido crecimiento: Cada medio contiene un indicador fluorescente basado en las fórmula de medios tradicionales. El medio de cultivo se inocula con la muestra a analizar y se transfiere a una tarjeta con un tubo de transferencia, que contiene 48 pocillos de tres volúmenes diferentes. La tarjeta contiene 3 grupos de 16 pocillos (pequeños, medianos y grandes) con un logaritmo de diferencia en volumen para cada grupo de pocillos. La tarjeta está diseñada para realizar el método del Número Más Probable (NMP) automatizado.

En el desarrollo del protocolo, se inocula el medio de cultivo con la muestra a analizar (dilución madre 10-1). El medio inoculado se transfiere de modo homogéneo mediante el uso de la unidad de llenado (TEMPO Filler) a la tarjeta. Además La unidad de llenado (TEMPO Filler) sella dicha tarjeta para evitar riesgos de contaminación durante las manipulaciones posteriores. La tarjeta se incuba en estufa convencional durante el tiempo indicado en la ficha técnica (para aerobios mesófilos son 40 h). Posteriormente se realiza la lectura en la unidad lectora (TEMPO READER), obteniéndose automáticamente un valor de recuento en ufc/g ó mL de muestra.

El fundamento de esta técnica se basa en que, durante la incubación, los microorganismos presentes en la tarjeta degradan el sustrato del medio de cultivo y causan la aparición /desaparición de una señal fluorescente que detecta el lector (TEMPO Reader). En función del número y el tamaño de los pocillos positivos, el sistema TEMPO calcula el número de

microorganismos presentes en la muestra original de acuerdo con un cálculo basado en el método del Número Más Probable (NMP).
Una vez que se haya completado la lectura, el ordenador analiza automáticamente los resultados y detecta los pocillos positivos. El número de pocillos positivos obtenidos, en relación con su volumen y la dilución de la muestra, indica el resultado de la enumeración en UFC por gramo o mililitro para la muestra original, mediante las tablas del método NMP.

Medida del adenosin trifosfato (ATP) por bioluminiscencia de muestra de permeado de la filtración. (Griffith et al., 1997)

El método consiste en poner en contacto la muestra con un kit de luciferina/luciferasa comercial, siendo la luz emitida directamente proporcional a la cantidad de ATP presente (procedente de restos orgánicos). La luz emitida (560 nm) se mide mediante un luminómetro (espectrofotómetro para emisiones reducidas de luz, BIOTRACE, Reino Unido) en unidades relativas de luminiscencia (RLU). En concreto, la reacción que ocurre es la siguiente:
ATP + Luciferina + O_2 -> Oxyluciferina + AM + Pirofosfato + CO_2 + Luz

Presenta la ventaja de ser un método rápido de determinación de la contaminación de una muestra. Como desventaja, la fuerte oscilación de valores observados para una misma muestra (+/- 50 RLU).

Método de recuento de colonias (Norma Internacional FIL-IDF 21:1962)

Es el método tradicional que implica el recuento de colonias después de haber puesto una muestra a incubar en un medio de cultivo apropiado. La medida se expresa en unidades formadoras de colonias (UFC) por unidad de volumen de disolución.

Para realizar este recuento se emplea la disolución de Ringer (10 g de Triptona + 5 g NaCl + 1 L agua destilada). Esta disolución se neutraliza a pH 7.5 y se distribuye en tubos de ensayo a razón de 9 mL por tubo y se esteriliza en autoclave durante 15 min a 121ºC. Se añade 1 mL de la suspensión a examinar en un tubo ya enfriado, como mínimo durante 18 horas. Se agita la mezcla y se toma 1 mL que se añade al siguiente tubo de ensayo repitiendo la operación sucesivamente, obteniéndose de esta manera una serie de diluciones decimales. La exactitud de este método está fuertemente condicionada por que no se produzcan contaminaciones en la

preparación de las muestras para su análisis, pudiéndose entonces cometer errores importantes.

Existe dificultad para correlacionar los valores de UFC/mL y RLU ya que dependen mucho del tipo de muestra.

Estracto seco, materia grasa, proteínas tortales y lactosa
Todos estos parámetros han sido determinados por el MilcoScan descrito en el apartado 4.1.

5.3. Resultados y discusión

5.3.1. Estudio de la vida útil de la leche pasteurizada comercial

Las muestras de ambos tipos de leche han sido almacenadas a tres temperaturas distintas y también con distinta exposición ambiental. En el caso de las muestras de la marca CLAS, al ser un tetrabrik clásico, las dos modalidades de almacenamiento fueron abierta (tipo A) y cerrada (tipo C). En el caso de las muestras de la marca Hacendado, al tratarse de un tetra brik con tapón, pudieron ser almacenadas, abiertas (tipo A), desprecintadas pero con el tapón puesto (tipo B) y cerradas, es decir, precintadas (tipo C).

El objetivo del estudio de la vida útil es establecer una referencia de la duración actual de la leche pasteurizada comercial ya que, mediante el proceso de microfiltración y/o combinación con tratamientos térmicos, se intentará alargar esta vida útil.

Para establecer el procedimiento de estudio de la vida útil, se han tomado como referencia experimentos preliminares de degradación de la leche pasteurizada a distintas temperaturas. De esta manera, se han podido precisar los parámetros objeto de estudio para hacer una mejor planificación de los análisis a realizar en ensayos posteriores (frecuencia en la toma de muestra, cantidad de muestras a almacenar, etc.) así como el control de las condiciones de almacenamiento.

Método de conservación

Para el almacenamiento de las muestras, como se ha indicado anteriormente, se han seleccionado tres temperaturas objeto de estudio.

En primer lugar, se ha considerado la temperatura ambiente, que estará próxima a los 20ºC. Se denominará temperatura 1 o T1. Representa la temperatura a la que está expuesta la leche cuando se produce una ruptura de la cadena de frío. Las muestras se han emplazado en un lugar apartado y seco para evitar una excesiva influencia del entorno en su degradación.

La segunda temperatura objeto de estudio es una simulación de la temperatura a la que está expuesta la leche durante su transporte y distribución, así como en los expositores refrigerados de los comercios. Es de aproximadamente 10 ºC y se denomina temperatura 2 o T2. En este caso, las muestras se han almacenado en una cámara frigorífica regulable a esa temperatura.

Por último, el resto de la leche ha sido almacenada a la que se considera temperatura estándar de refrigeración, entre 4 y 6 ºC. Se denomina temperatura 3 o T3. Para ello se ha empleado una cámara frigorífica con un sistema muy preciso de regulación de temperatura.

Las tres temperaturas objeto de estudio han sido registradas a lo largo de todo el experimento con unos dispositivos denominados Data Loggers TESTO. Los valores de temperatura han sido medidos y almacenados en la memoria del dispositivo cada 2 horas, previa configuración. Los resultados han sido finalmente descargados en un ordenador.

Los Data Loggers han sido ubicados en las cámaras y han tomado datos en cada una de las distintas condiciones objeto de estudio, T1, T2 y T3.

Los parámetros analizados en este estudio preliminar han sido: pH, acidez y microorganismos aerobios mesófilos. Para un buen estado de la leche, se considera que los valores de estos parámetros deben ser:

pH: entre 6.6 y 6.8
Acidez: <18 ºDornic

Aerobios mesófilos < 30 000 ufc/mL

Cuando las muestras no cumplen estos requisitos en alguno de los parámetros objeto de estudio se considera que ya no son aptas para el consumo.

Las conclusiones finales de este estudio han sido las siguientes:

- La vida útil de la leche pasteurizada convencional (pasteurización estándar) es de 7 días en condiciones de refrigeración (4-6 ºC).
- La leche tratada térmicamente por el proceso HHT por infusión de vapor presenta una vida útil de más de 14 días, debido a la inactivación de bacterias y esporas que se producen a las altas temperaturas alcanzadas en su tratamiento.
- El efecto de la contaminación externa ambiental a la que son expuestas las muestras abiertas influye claramente en su vida útil, acortándola.
- La temperatura de almacenamiento influye en la vida útil de la leche, siendo esta vida útil menor cuanto más elevada sea la temperatura de almacenamiento.
- La vida útil de la leche de la marca HACENDADO es superior a 14 días en las mejores condiciones estudiadas (envases cerrados, temperaturas de refrigeración). Este tiempo es inferior a 21 días. Puede considerarse por parte de la industria un objetivo mínimo de duración de la leche pasteurizada, con el fin de distribuírla dentro de la logística de productos lácteos frescos.

5.3.2. Estudio de la vida útil de la leche microfiltrada

Al margen de los estudios en materia de rechazos de proteínas y sólidos totales, así como de reducciones decimales, se ha realizado el estudio paralelo de la vida útil del permeado obtenido en los distintos ensayos. Se han almacenado a 4ºC diferentes muestras que han sido analizadas en el transcurso del tiempo para ver la evolución en recuentos bacterianos, pH y acidez.

En la Figura 5-4 se ha representado los días de vida útil observados para cada muestra frente al recuento inicial de cada una de ellas. El recuento inicial de las muestras es un factor importante a tener en cuenta en el estudio de la vida útil. En algunos casos el tipo de microorganismo predominante en las muestras será el que marque su deterioro (descenso de

pH y aumento de acidez) debido a su cinética de crecimiento y sus condiciones óptimas para ello.

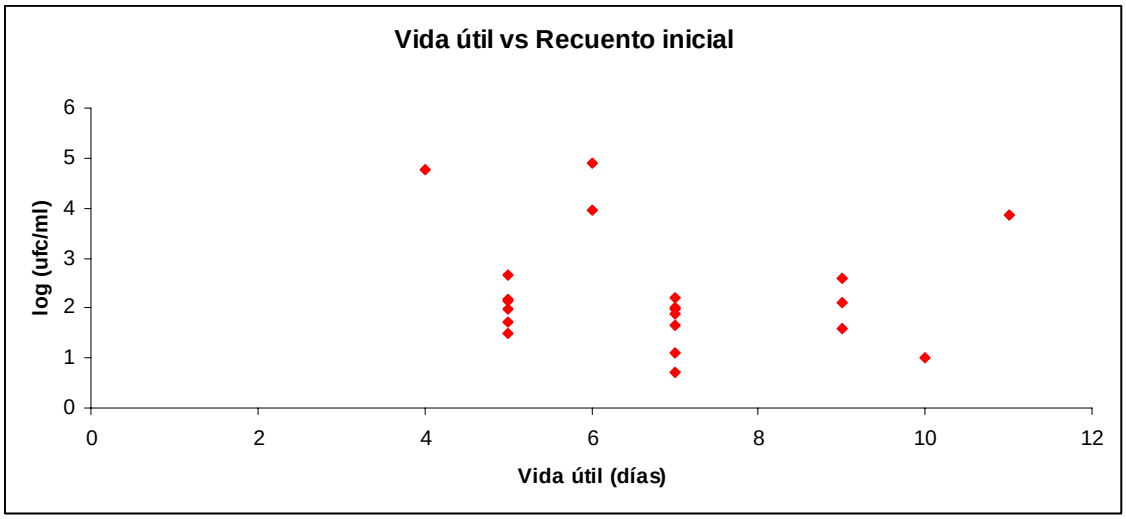


FIGURA 5-4: Vida útil analizada para diversas muestras con diferente recuento inicial de aerobios mesófilos

A la vista de la figura se puede apreciar que la mayor parte de las muestras han presentado una vida útil entre 5 y 7 días, que se corresponde con las muestras con recuentos iniciales inferiores a 1000 ufc/ml. Con esta representación de puede establecer el intervalo de vida útil de la leche desnatada microfiltrada sin tratamiento térmico posterior, en 5-7 días.

Almacenamiento de muestras y seguimiento de la vida útil

Se han extraído muestras del permeado (80 mL) de la unidad de microfiltración en periodos de 60 min en todos los experimentos en recipientes estériles y se han conservado a 4ºC para el estudio de su vida útil. Los resultados de la MF se presentan en forma de reducción logarítmica de TBC, que es el logaritmo de la diferencia entre el TBC en la alimentación y TBC en el permeado. Se ha realizado un seguimiento de la acidez titulable, el pH y el TBC. Durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración, se han tomado 3 muestras a intervalos determinados para el análisis – tres veces a la semana, en la primera etapa de almacenamiento, y diariamente cuando comienza a apreciarse la degradación de los parámetros de calidad estudiados. Las muestras se han analizado hasta que aparecen las primeras evidencias de coagulación o floculación.

Influencia del contenido bacteriano inicial sobre la vida útil

Se han tomado muestras del permeado de la microfiltración y conservado a 4ºC. Se ha realizado un seguimiento de su degradación con el tiempo para determinar la vida útil. La Figura 5-5 representa la vida útil media para diversas muestras con diferente contenido bacteriano inicial.

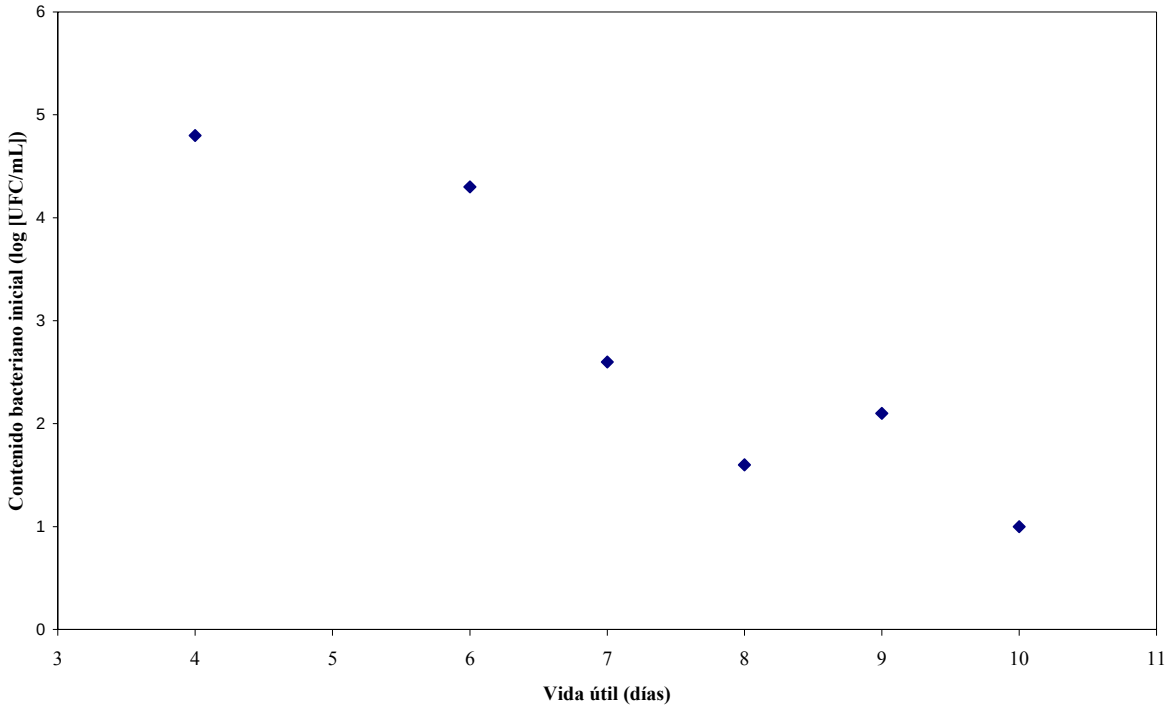


FIGURA 5-5: Vida útil a 4ºC *vs.* Contenido bacteriano inicial

La Figura 5-5 muestra una clara tendencia decreciente. Como era de esperar, cuanto menor sea el contenido bacteriano inicial, mayor es la vida útil. Las muestras con un recuento inicial de 1 UFC/mL al comienzo del estudio alcanzaron una vida útil de 10 días sin ningún tratamiento térmico. El objetivo del proceso de MF es obtener un permeado con el menor contenido bacteriano posible para alargar la vida útil y reducir la temperatura y el tiempo del tratamiento térmico posterior. Eino (1997) y Russel (1999) manifestaron que es posible obtener una leche con vida útil de 32 días en condiciones de refrigeración (4-6ºC) mediante un proceso combinado de microfiltración y un tratamiento térmico a 72ºC durante 15 s.

Los estudios de vida útil probaron que cuanto menor es la carga bacteriana inicial, mayor es la vida útil. Muestras con un recuento inicial inferior a 10 UFC/mL alcanzaron una vida útil de 10 días sin someterlas a ningún tratamiento térmico.

5.3.3. Combinación de MF con tratamiento térmico indirecto (TTI)

Los ensayos se han realizado con leche cruda desnatada y con la membrana ISOFLUX. Las condiciones de operación medias se presentan en la Tabla 5-1.

TABLA 5-1: Valores medios de las condiciones de los ensayos de microfiltración

Hz bomba	Qalim (m^3/h)	T (ºC)	Pe (bar)	Ps (bar)	Pp (bar)	PTM	Qp (L/h)	J (L/h m^2)
48	5.2	20	3.6	0.9	1.3	0.99	177	506

Las composiciones medias de la leche tanto de la alimentación como del permeado se presentan en la Tabla 5-2.

TABLA 5-2: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación y en el permeado

	M.G.	PROT	LACT	SNF	UFC/mL
TANQUE	0,03	3,28	5,08	9,05	53000
PERMEADO	0	3,23	5,08	9,02	29

RD= log 53000-log 29 = 3.3

Al permeado recogido se le somete a varias combinaciones de temperatura durante 2 segundos (diseño del tubo de mantenimiento del equipo) mediante método indirecto, obteniéndose los siguientes recuentos de aerobios mesófilos tras la siembra en placa de las distintas muestras, como se muestran en la Tabla 5-3:

TABLA 5-3: Valores de los recuentos de aerobios mesófilos tras los distintos tratamientos térmicos

	UFC/mL
140ºC	0
135ºC	0
130ºC	0
125ºC	0
120ºC	0
110ºC	0
100ºC	1 en 3 ml sembrados
90ºC	1

Al mismo tiempo, dos muestras del permeado de la microfiltración y dos muestras de cada uno de los tratamientos térmicos se incuban en una estufa a 36ºC, para tener una información preliminar de la esterilidad de los distintos productos tras los distintos procesos.

24h: Las muestras correspondientes al permeado están cortadas
48h: Las muestras correspondientes al tratamiento a 90ºC, 2s están cortadas
120h (5 días): Las muestras correspondientes al tratamiento a 100ºC, 2s están cortadas

Las muestras que aparentemente se encuentran en buen estado, se someten a un análisis en el luminómetro que determinará su esterilidad si los valores obtenidos en el análisis son inferiores a 100 RLU y se presentan en la Tabla 5-4.

TABLA 5-4: Valores medios de luminiscencia de las muestras incubadas a 36ºC durante 5 días

	M1 (RLU)	M2 (RLU)
140ºC	71	64
135ºC	59	37
130ºC	38	43
125ºC	254157	82
120ºC	28	46
110ºC	29	28

Tras el estudio preliminar se han realizado posteriores combinaciones de microfiltración con tratamientos térmicos directos a distintas temperaturas y tiempos y su correspondiente comparación con leche desnatada que simplemente ha sido sometida al tratamiento térmico equivalente.

5.3.2.a. Microfiltración combinada con TTI bajo (72-95ºC, 15 s)

Tratamiento Térmico Indirecto (t=15s)

En el caso de tratamiento térmico indirecto, el tubo de mantenimiento empleado en el intercambiador de tubos es de 15s. En la Tabla 5-5 se muestran los valores medios que se han obtenido en los análisis tanto bacteriológicos como físico-químicos para los tratamientos a distintas temperaturas durante 15s.

TABLA 5-5: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas

MUESTRA	UFC/mL Flora total	UFC/mL Psicrófilos	Grasa	Proteínas	Lactosa	Sólidos magros
L. cruda	70000	Incontables	0,02	3,43	5,31	9,14
90ºC	150	0				
80ºC	950	0	0,01	3,43	5,31	9,14
75ºC	4600	33				
73ºC	7300	364				

Se ha realizado un seguimiento de la vida útil de las muestras recogidas para cada tratamiento. Los parámetros analizados han sido; contenido bacteriano, pH, acidez y estabilidad al acohol, así como, un análisis organoléptico (color, olor y textura). Este seguimiento se ha realizado hasta que las muestras presentaban una cierta coagulación o los valores obtenidos en alguno de los parámetros resultaban alejados a los estándares empleados por la industria. La vida útil a 4ºC obtenida para este tipo de muestras se ha situado alrededor de 8-10 días.

MF (ISOFLUX 1.4 µm) +Tratamiento Térmico Indirecto (t=15s)

El tratamiento térmico indirecto con 15 s de mantenimineto a las distintas temperaturas explicado en el caso anterior ha sido combinado con una etapa previa de microfiltración. En este caso la membrana utilizada ha sido ISOFLUX con un tamaño de poro de 1.4µm. Las condiciones de operación empleadas en la operación de microfiltración se muestran en la Tabla 5-6.

TABLA 5-6: Condiciones de operación de la etapa de microfiltración

Qalim (m^3/h)	T (ºC)	Pe (bar)	Ps (bar)	Pp (bar)	Qp (L/h)	Jp (L/h m^2)	TMP (bar)
5,17	25	2,9	0,9	1,35	151	430	0,55

En la Tabla 10 se muestran los valores medios que se han obtenido en los análisis tanto bacteriológicos como físico-químicos para las muestras tomadas de la alimentación, del permeadoy de las muestras posteriores a los tratamientos térmicos.

TABLA 5-7: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación, el permeado y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas

MUESTRA	UFC/mL Flora total	UFC/mL Psicrófilos	Grasa	Proteínas	Lactosa	Sólidos magros
L. cruda	175000	Incontables	0,03	3,44	5,3	9,13
Permeado	40	8	0	3,37	5,3	9,05
90ºC	4	0				
80ºC	2	0	0	3,35	5,28	9,03
75ºC	1	0				
73ºC	0	0				

El seguimiento de la vida útil de las muestras recogidas se ha realizado de la misma manera que en al apartado anterior. En este caso, la leche estudiada ha mantenido las características organolépticas, así como los valores adecuados de los parámetros estudiados durante más tiempo que en el caso anterior. La vida útil a 4ºC obtenida ha sido entre 28-33 días.

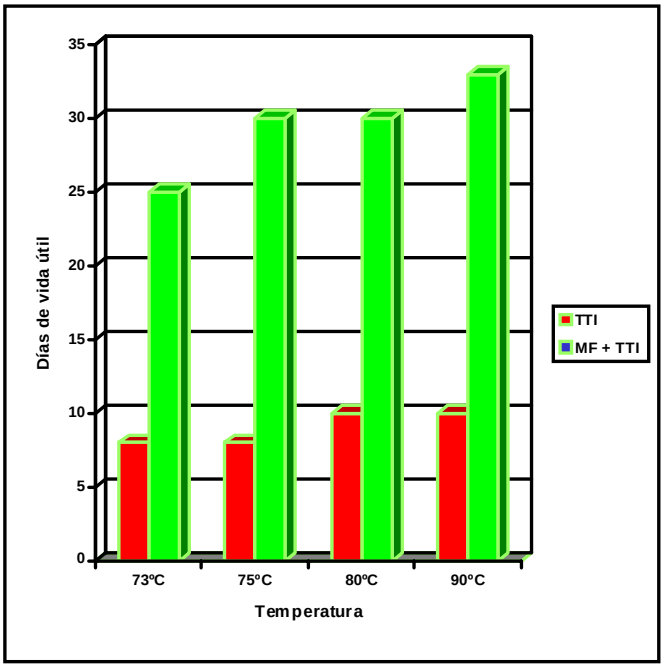


FIGURA 5-6: Comparación de la vida útil de la leche sometida a TTI o a una combinación de MF+TTI

5.3.2.b. Microfiltración combinada con TTI alto (115-130ºC, 2 s)

Tratamiento Térmico Indirecto (t=2s)

Para estudiar un tratamiento térmico similar al qe se realiza en la industria, se ha empleado un tubo de mantenimiento de 2 segundos y se ha buscado la combinación mínima que permite obtener leche estéril y de larga vida útil con este tiempo mínimo de tratamiento. En primer lugar se ha realizado el tratamiento térmico simple de la leche cruda desnatada. La Tabla 5-8 muestra los valores obtenidos de los análisis realizados antes y después de cada tratamiento.

TABLA 5-8: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas

MUESTRA	ufc/mL Flora total	ufc/mL Psicrófilos	Grasa	Proteínas	Lactosa	Sólidos magros
L. cruda	145000	Incontables	0,02	3,51	5,43	9,16
130ºC	0	0				
125ºC	0	1	0,01	3,5	5,42	9,11
120ºC	0	0				
115ºC	1	0				

Para el análisis de la esterilidad de las muestras, éstas se han incubado a 36ºC durante 5 días y posteriormente se han analizado mediante un método de luminiscencia para determinar la presencia de actividad biológica (luminómetro). Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 5-9, donde los valores inferiores a 100 equivalen a muestra estéril.

TABLA 5-9: Valores medios de luminiscencia de las muestras incubadas a 36ºC durante 5 días (RLU<100)

Muestra	RLU
130ºC	33
125ºC	28
120ºC	11237
115ºC	cortada 48 h

De los resultados se desprende que se han obtenido muestras estériles con un tratamiento mínimo de 120ºC durante 2s.

La vida útil de las muestras almacenadas a temperatura ambiente ha sido de 51 días

MF (ISOFLUX 1.4 µm) +Tratamiento Térmico Indirecto (t=2s)

Se ha realizado el mismo proceso que en el apartado anterior, pero incluyendo una etapa previa de microfiltración con una membrana ISOFLUX de 1.4µm de tamaño de poro y con las condiciones de operación que se muestran en la Tabla 5-10.

TABLA 5-10: Condiciones de operación de la etapa de microfiltración

Qalim (m^3/h)	T (ºC)	Pe (bar)	Ps (bar)	Pp (bar)	Qp (L/h)	Jp (L/h m^2)	TMP (bar)
5,17	27,3	3,66	0,8	1,3	146	420	0,93

En la Tabla 5-11 se muestran los valores medios obtenidos en los análisis de las muestras de la alimentación, el permeado y el producto obtenido tras los tratamientos a distintas temperaturas.

TABLA 5-11: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación, el permeado y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas

MUESTRA	ufc/mL Flora total	ufc/mL Psicrófilos	Grasa	Proteínas	Lactosa	Sólidos magros
L. cruda	170000	Incontables	0,03	3,44	5,32	9,02
Permeado	90	8	0	3,34	5,35	8.93
90ºC	0	0				
80ºC	0	0	0	3,33	5,32	8.91
75ºC	0	0				
73ºC	0	0				

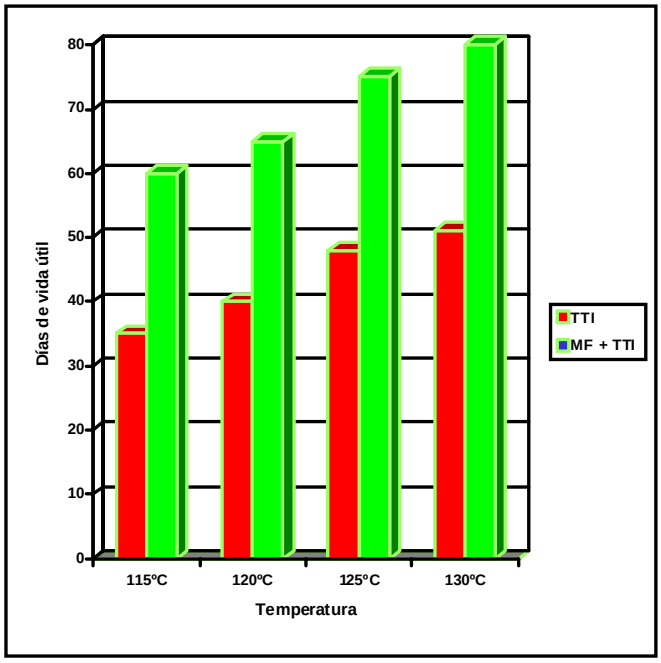
Como en el caso anterior, se han incubado muestras a 36ºC durante 5 días para su posterior análisis de esterilidad mediante bioluminiscencia. Los resultados obtenidos figuran en la Tabla 5-12.

TABLA 5-12: Valores medios de luminiscencia de las muestras incubadas a 36ºC durante 5 días (RLU<100)

Muestra	RLU
130ºC	22
125ºC	24
120ºC	13
115ºC	28

El seguimiento de la vida útil de las muestras recogidas se ha realizado de la misma manera que en los apartados anteriores. En este caso, la leche estudiada ha mantenido las características organolépticas, así como los valores adecuados de los parámetros estudiados durante más tiempo que en el caso del apartado anterior. La vida útil a temperatura ambiente obtenida ha sido superior a los 60 días.

FIGURA 5-7: Comparación de la vida útil de la leche sometida a TTI o a una combinación de MF+TTI



5.3.4. Combinación con MF con tratamiento térmico directo (TTD)

5.3.3.a. Microfiltración combinada con TTD (115-130ºC, 6s)

Tratamiento Térmico Directo (t=6s)

Para estudiar un tratamiento térmico similar al que se realiza en la industria, se ha empleado un tubo de mantenimiento de 6 segundos y se ha buscado la combinación mínima que permite obtener leche estéril y de larga vida útil con este tiempo mínimo de tratamiento. En primer lugar se ha realizado el tratamiento térmico simple de la leche cruda desnatada. La Tabla 5-13 muestra los valores obtenidos de los análisis realizados antes y después de cada tratamiento.

TABLA 5-13: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas

MUESTRA	ufc/mL Flora total	ufc/mL Psicrófilos	Grasa	Proteínas	Lactosa	Sólidos magros
L. cruda	153000	Incontables	0.03	3.25	5.20	8.95
130ºC	0	0				
125ºC	2	1	0.02	3.26	5.21	8.90
120ºC	7	0				
115ºC	8	0				

Para el análisis de la esterilidad de las muestras, éstas se han incubado a 36ºC durante 5 días y posteriormente se han analizado mediante un método de luminiscencia para determinar la presencia de actividad biológica (luminómetro). Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 5-14, donde los valores inferiores a 100 equivalen a muestra estéril.

TABLA 5-14: Valores medios de luminiscencia de las muestras incubadas a 36ºC durante 5 días (RLU<100)

Muestra	RLU
130ºC	81
125ºC	127
120ºC	19750
115ºC	cortada 48 h

De los resultados se desprende que se han obtenido muestras estériles con un tratamiento mínimo de 130ºC durante 6s.

La vida útil de las muestras almacenadas a temperatura ambiente ha sido de días

MF (ISOFLUX 1.4 µm) +Tratamiento Térmico Directo (t=6s)

Se ha realizado el mismo proceso que en el apartado anterior, pero incluyendo una etapa previa de microfiltración con una membrana ISOFLUX de 1.4µm de tamaño de poro y con las condiciones de operación que se muestran en la Tabla 5-15.

TABLA 5-15: Condiciones de operación de la etapa de microfiltración

Qalim (m^3/h)	T (ºC)	Pe (bar)	Ps (bar)	Pp (bar)	Qp (L/h)	Jp (L/h m^2)	TMP (bar)
5,17	50	2.6	1	1.4	146	420	0,93

En la Tabla 5-16 se muestran los valores medios obtenidos en los análisis de las muestras de la alimentación, el permeado y el producto obtenido tras los tratamientos a distintas temperaturas.

TABLA 5-16: Valores medios de la composición de la leche en la alimentación, el permeado y tras el tratamiento térmico a distintas temperaturas

MUESTRA	ufc/mL Flora total	ufc/mL Psicrófilos	Grasa	Proteínas	Lactosa	Sólidos magros
L. cruda	130000	Incontables	0,03	3,44	5,32	9,02
Permeado	40	8	0	3,34	5,35	8.93
130ºC	0	0				
120ºC	0	0	0	3,33	5,32	8.91
120ºC	0	0				
115ºC	0	0				

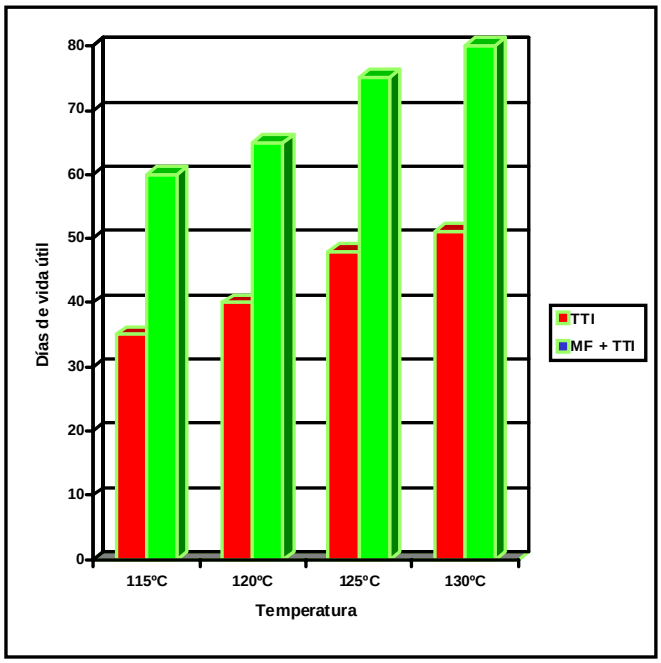
Como en el caso anterior, se han incubado muestras a 36ºC durante 5 días para su posterior análisis de esterilidad mediante bioluminiscencia. Los resultados obtenidos figuran en la Tabla 5-17.

TABLA 5-17: Valores medios de luminiscencia de las muestras incubadas a 36ºC durante 5 días (RLU<100)

Muestra	RLU
130ºC	15
125ºC	20
120ºC	13
115ºC	40

El seguimiento de la vida útil de las muestras recogidas se ha realizado de la misma manera que en los apartados anteriores. En este caso, la leche estudiada ha mantenido las características organolépticas, así como los valores adecuados de los parámetros estudiados durante más tiempo que en el caso del apartado anterior. La vida útil a temperatura ambiente obtenida ha sido superior a los 60 días.

FIGURA 5-8: Comparación de la vida útil de la leche sometida a TTI o a una combinación de MF+TTD



5.3.5. Conclusiones

Los resultados obtenidos demuestran que se puede obtener leche estéril con un tratamiento térmico mínimo de 115ºC durante 2s. Este hecho supondría un gran ahorro energético en el procesado de leche UHT ya que el tratamiento estándar es de 135-150ºC durante un tiempo inferior a 6s.

6. PROCESO INDUSTRIAL: BALANCE ECONÓMICO

6. PROCESO INDUSTRIAL: BALANCE ECONÓMICO

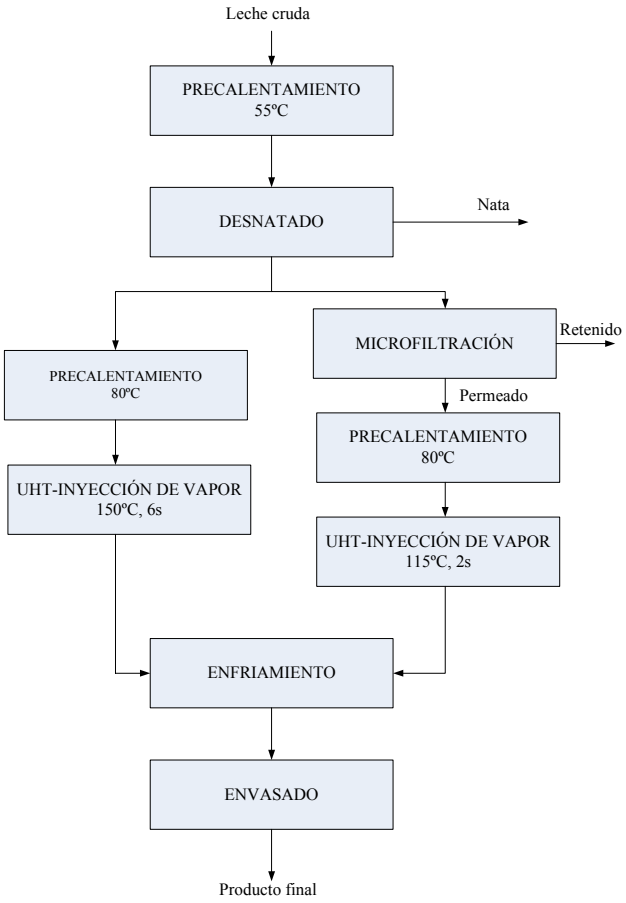
6.1. Introducción

En los capítulos anteriores se han estudiado distintos aspectos de la depuración bacteriana de leche desnatada mediante microfiltración con membranas cerámicas con un tamaño de poro de 1.4 μm. En este capítulo se toman los resultados obtenidos en la investigación realizada para hacer un diseño preliminar de un proceso industrial y la evaluación económica del proceso global de producción de leche estéril.

6.2.Descripción cualitativa del proceso

En la Figura 6-1 se muestra el diagrama de bloques del proceso propuesto en comparación con el existente en la actualidad.

FIGURA 6-1: Diagrama de bloques del proceso UHT y de la combinación de MF con tratamientos térmicos



6.3.Evaluación económica

6.3.1. Estudio de caudales

La materia prima utilizada es la leche procedente de las desnatadoras instaladas en la industria. El proceso que aquí se diseña sería una alternativa al proceso de calentamiento UHT.

Se ha realizado el diseño de dos plantas con distintos caudales de alimentación.

PLANTA 1: 10 m^3/h y **PLANTA 2:** 30 m^3/h

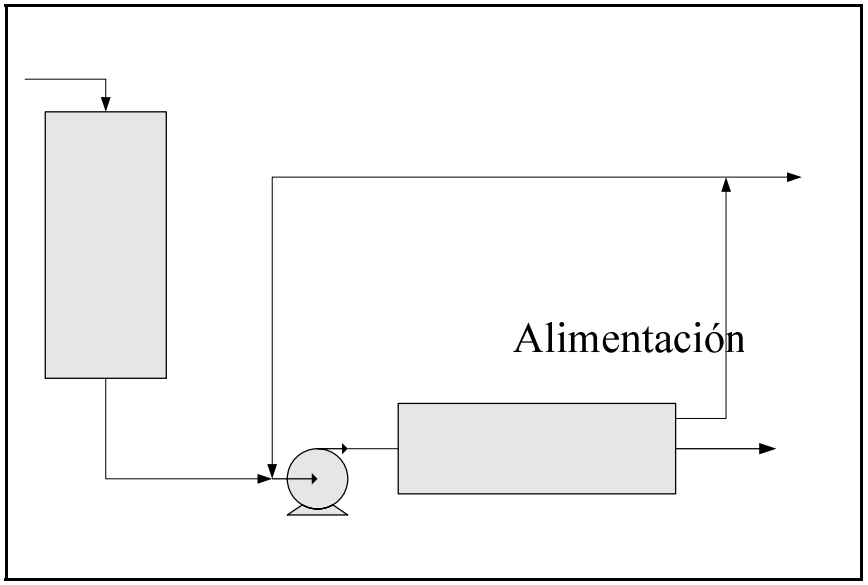
6.3.2. Diseño de equipos

A continuación, se describe el dimensionado de la etapa objeto de estudio. Los cálculos que se han hecho están basados en los resultados obtenidos en la planta piloto, así como en la experiencia industrial y en datos bibliográficos.

La microfiltración se ha diseñado para unos caudales de alimentación de 10 y 30 m^3/h respectivamente.

La planta de microfiltración operará en el modo de alimentación y purga que es el modo de operación más común a escala industrial y que se esquematiza en la Figura 6-2.

FIGURA 6-2: Esquema del modo de operación alimentación y purga



Después de unos segundos de estabilización de presiones y de flujos, el retenido (en este caso sería una corriente rica en bacterias y proteínas) se elimina del bucle de recirculación mediante purga. Según esta disposición, la planta opera con un factor de concentración igual al correspondiente al final del sistema discontinuo y la densidad de flujo de permeado para el diseño se toma como la densidad de flujo de permeado en estado estacionario del sistema discontinuo (Cheryan, 1998).

Las condiciones de operación son v=6 m/s, T=50ºC y presión de entrada de la alimentación al módulo P_e=3 bar. La densidad de flujo de permeado de diseño es de 500 L/h m^2.

El área total de la membrana es función de la capacidad de la planta diseñada y se ha determinado utilizando el valor de flujo de permeado medio obtenido en los ensayos. Esto supone un área total de 18 m^2 para la PLANTA 1 (10 m^3/h) y de 54 m^2 para la PLANTA 2 (30 m^3/h).

Los datos necesarios para los cálculos posteriores se presentan en la Tabla 6-1 para la PLANTA 1.

TABLA 6-1: Datos de diseño de la PLANTA 1

Capacidad de la planta, m^3/h	10
Flujo de permeado, L/m^2h	500
Área de membrana, m^2	18
Recuperación, decimal %	0,9
Presión alimentación, kPa	300
Temperatura alimentación, ºC	50
Vida de la membrana, años	10
Eficicacia de la bomba, decimal %	0,7

El área de membrana obtenida para la PLANTA 1 (18 m^2) se corresponde con los siguientes diseños de membranas comerciales:

Sterilox GP

Isoflux

Para la PLANTA 2 los datos se muestran en la Tabla 6-2.

TABLA 6-2: Datos de diseño PLANTA 2

Capacidad de la planta, m^3/h	30
Flujo de permeado, L/m^2h	500
Área de membrana, m^2	54
Recuperación, decimal %	0,9
Presión alimentación, kPa	300
Temperatura alimentación, ºC	50
Vida de la membrana, años	10
Eficicacia de la bomba, decimal %	0,7

El área de membrana obtenida para la PLANTA 2 (54 m^2) se corresponde con los siguientes diseños de membranas comerciales:

Sterilox GP

Isoflux

6.3.3. Estudio de costes

6.3.3.1. Costes de inmovilizado

El coste de la planta se calculó a partir del modelo obtenido por Sethi y Wiesner (Sethi y Wiesner, 2000) que permite calcular el coste de una planta completa de filtración con membranas a partir del coste total de cada módulo y del número de módulos necesarios.

Según los criterios señalados en el apartado anterior, se han calculado los costes relativos a la inversión inicial y los costes de operación de la etapa de microfiltración, como una ampliación de la planta de tratamiento térmico UHT existente en CAPSA (Granda, Asturias). No obstante, en cada caso se señala la referencia de los datos empleados en el cálculo.

El coste de las tuberías y las válvulas, instrumentación y control, tanques y estructuras y otros accesorios se han calculado en base al área. Para calcular el coste de la bomba de alimentación, teniendo en cuenta su presión de trabajo y el flujo, se ha utilizado una correlación de Perry y Chilton 1991 [38] Los valores del modelo de Sethi y Wiesner [25] se han proporcionado en US$ de 1996 que han sido convertidos a euros por el valor medio de conversión de ese año y actualizados hasta fecha actual con el Índice de coste de planta en Ingeniería Química.

El coste de las membranas y las carcasas ha sido proporcionado por el fabricante en €/m^2 de área de membrana. El coste de reemplazo de membrana es bajo debido a la larga vida útil de las membranas cerámicas.

Los costes de inmovilizado calculados para la PLANTA 1 se observan en la Tabla 6-3.

TABLA 6-3: Costes de capital para PLANTA 1

Tuberías y válvulas	25112
Instrumentación y control	12257
Tanques y estructuras	17745
Varios	51416
Bomba	11119
Membranas	41400
Carcasas	15000
Costes de capital totales (€)	**174049**

La inversión inicial en la PLANTA 1 de microfiltración incluyendo bombas, tuberías, instrumentación, membranas y la instalación auxiliar de limpieza asciende a 174 049 €.

Los costes de capital para la PLANTA 2 se encuentran en la Tabla 6-4.

TABLA 6-4: Costes de capital (€) para PLANTA 2

Tuberías y válvulas	39835
Instrumentación y control	25310
Tanques y estructuras	31766
Varios	96173
Bomba	17066
Membranas	124200
Carcasas	30000
Costes de capital totales (€)	**364350**

La inversión inicial en la PLANTA 2 de microfiltración incluyendo bombas, tuberías, instrumentación, membranas y la instalación auxiliar de limpieza asciende a 364 350 €.

En este caso, el principal coste de capital de la planta lo constituyen lasmembranas, con un 24% del coste total de la planta. Las membranas cerámicas resultan muy caras y proporcionan muy poca área por unidad de volumen, lo cual encarece la inversión inicial necesaria así como los costes anuales de la planta. No obstante, ofrecen la ventaja de tener una vida útil mucho mayor que las membrans orgánicas y ser resistentes en condiciones de operación y lavado extremas, además de permitir la esterilización con vapor en caso necesario.

6.3.3.2.Costes de operación

En operaciones con membranas hay que considerar los siguientes costes de operación: energía eléctrica, sustitución de membranas, agua y agentes de limpieza. Además hay que considerar la depreciación de la planta. El tiempo de vida de la planta se ha considerado de 20 años.

Para calcular la potencia requerida para el bombeo de la alimentación (P_Q) se puede calcular a partir de la siguiente expresión:

$$P_Q=\Delta P \cdot Q/\eta \qquad \text{(Ec. 5-1)}$$

Donde ΔP es la caída de presión en el módulo, Q es el caudal de bombeo y η es la eficacia de la bomba que suele tomar valores comprendidos entre 0.5 y 0.85 (Cheryan, 1998). Se ha tomado un valor de 0.7.

El consumo de productos de limpieza se calculó a partir del procedimiento de limpieza utilizado en los experimentos llevados a cabo en el laboratorio.

Los costes de operación se han expresado en coste por m^3 de leche tratada. Para el cálculo del coste de inversión anual se ha considerado un 7% de interés y una vida útil de la planta de 15 años. También se ha considerado como nulo el coste de los residuos de la operación ya que pueden ser procesados en otros lugares de la industria para producir piensos para animales u otras aplicaciones. Los costes energéticos sólo están basados en el requerimiento energético de la bomba de alimentación y son proporcionales a la presión y al flujo que proporciona..El coste energético es un parámetro de importante consideración para la industria. El coste de los productos químicos se ha basado en la limpieza básica y ácida diaria del sistema (cada 20 horas).con un precio de 0.369 €/kg y 0.330 €/kg para los detergentes alcalino y ácido respectivamente. Los costes de mantenimiento se han obtenido de Costa y de Pinho. En la Tabla 6-5 se muestran los costes de operación para la PLANTA 1.

TABLA 6-5: Costes de operación para PLANTA 1

Costes de operación (€/m^3)	
Amortización	0,221
Reemplazo de membrana	0,035
Energía	0,012
Maintenimiento	0,010
Productos químicos	0,205
Deshecho del concentrado	0,000
Costes de operación totales	**0,483**

El vertido de residuos es nulo en lo referente al permeado, porque al ser rico en proteínas, puede ser sometido a algún tipo de tratamiento y empleado en la proceso productivo de algún derivado lácteo.

Los resultados referentes al cálculo de los costes de operación para la PLANTA 2 se presentan en la Tabla 6-6.

TABLA 6-6: Costes de operación para PLANTA 2

Costes de operación (€/m^3)	
Amortización	0.154
Reemplazo de membrana	0.035
Energía	0.012
Maintenimiento	0,010
Productos químicos	0,227
Deshecho del concentrado	0,000
Costes de operación totales	**0.439**

Los resultados obtenidos muestran que cuanto mayor sea la capacidad de la planta, menor serán los costes totales, demostrándose la economía de escala

6.3.4. Estudio de la rentabilidad

6.3.4.1. Ahorro generado

Para el cálculo del ahorro que supone esta operación se ha tenido en cuenta que debido al pre-tratamiento de microfiltración, el tratamiento térmico posterior para la producción de leche estéril puede realizarse a 35ºC menos que el tratamiento tradicional. Se ha calculado el ahorro en vapor para el calentamiento teniendo en cuenta que se emplea vapor saturado a 18 bar y 210 ºC. La fórmula empleada para el cálculo es la siguiente.

$$Q_v = \frac{Q_f C_{p,leche} \rho_{leche} (T_2 - T_1)}{\Delta H_{vsat}} \qquad \text{(Ec. 6-2)}$$

Los cálculos del ahorro generado en vapor en comparación con el proceso de producción de leche estéril para la PLANTA 1 figura en la Tabla 6-7.

TABLA 6-7: Ahorro en vapor PLANTA 1

Capacidad de la planta, m^3/h	10
Capacidad de la planta, m^3/y	86400
Días de trabajo/año	360
Entalpís del vapor saturado (18 bar, 210 ºC), kJ/kg	2797
Densidad, kg/m^3	1020,00
C_p calor específico de la leche, kJ/kgºC	3,950
CAPSA coste vapor, €/T	25,5
Cantidad de vapor ahorrado, T/y	4356
Coste de capor ahorrado, €	111086
Total costs saved, €	**111086**

El ahorro anual en vapor para la PLANTA 1 supone 111 086€.

Los resultados para la PLANTA 2 se encuentran en la Tabla 6-8.

TABLA 6-8: Ahorro en vapor PLANTA 2

Capacidad de la planta, m^3/h	30
Capacidad de la planta, m^3/y	259200
Días de trabajo/año	360
Entalpís del vapor saturado (18 bar, 210 ºC), kJ/kg	2797
Densidad, kg/m^3	1020.00
C_p calor específico de la leche, kJ/kgºC	3.95
CAPSA coste vapor, €/T	25.5
Cantidad de vapor ahorrado, T/y	13068
Coste de capor ahorrado, €	333234
Total costs saved, €	**333234**

El ahorro anual en vapor para la PLANTA 2 supone 333 234€.

6.3.4.2. Aplicación industrial. VAN y TIR

Si se incorpora la planta de microfiltración a la línea de producción de leche UHT se realiza el estudio de lo que costaría la producción de leche ESL.

El VAN (Valor Actualizado Neto), el TIR (Tasa Interna de Rentabilidad) y el periodo de recuperación de la inversión se han estimado teniendo en cuenta los costes y ahorros calculados por m^3 y la capacidad de la planta diseñada.

Para el cálculo del coste del litro de leche ESL se ha desglosado en las distintas etapas. Excepto para el proceso de microfiltración, los valores estimados del coste han sido proporcionados por la industria.

TABLA 6-9: Coste de producción de leche ESL

Costes totales (€/L)	**PLANTA 1**	**PLANTA 2**
Leche cruda	0,35	0,35
Pretratamiento	0,02	0,02
Microfiltración	0,000483	0,000439
Inyección de vapor	0,08-0,00129	0,08-0,00129
Envasado	0,1	0,1
Distribución	0,1	0,1
TOTAL	0,649	0,649

En ambas plantas el coste total es el mismo porque la influencia de los costes de la operación de microfiltración es despreciable frente al coste del resto de las etapas. Si se toma el coste final de producción como 0.65 €/L (650 €/m^3) se debe establecer un precio de venta del producto.

El precio seleccionado ha sido de 1.20 €/L, (1200€/m^3) que es un precio medio que suelen tener los productos premium lácteos como las leches enriquecidas en fibra, calcio, sin lactosa, etc.

Para el cálculo del VAN se ha empleado la ecuación 6-3.

$$VAN = \sum_{t=1}^{n} \frac{Q_t}{(1+k)^t} - I_0 \qquad \text{(Ec. 6-3)}$$

Donde Q_t es el flujo de caja en cada periodo t, I_0 el desembolso inicial de la inversión y n el número de periodos considerados.
La tasa interna de rentabilidad TIR equivale al interes obtenido cuando el VAN es 0.

En la Tabla 6-10 se muestran los resultados obtenidos en el cálculo.

TABLA 6-10: Estudio de la rentabilidad de las dos plantas

	PLANTA 1	**PLANTA 2**
Capacidad de la planta, m3/h	10	30
Días de trabajo	360	360
Capacidad de la planta, m3/y	86400	259200
Total costes de operación, €/m^3	650	650
Total ingresos, €/m^3	1200	1200
Inversión inicial, €	174049	**364350**
Flujo de caja, €/y	47520000	142560000
Tasa de interés, decimal %	0,07	0.07
Periodo de amortización, años	15	15
VAN (Valor actualizado neto)	**432634025€**	**1298059871€**
TIR (Tasa interna de rentabilidad)	**27303%**	**39127%**
Periodo de recuperación, años	**3 meses**	**1 mes**

6.4. Conclusiones

La microfiltración da lugar a una elevada retención de bacterias y esporas en la leche cruda. Los bajos recuentos bacterianos permiten que el tretamiento térmico posterior sea más suave. Este hecho supone un gran ahorro energético en términos del vapor que se emplea en el proceso UHT. La inversión en una planta de estas características puede resultar algo elevada debida al coste de las membranas, pero sularga vida útil hace que sea rentable a medio plazo. Se ha realizado el cálculo teniendo en cuenta dos flujos distintos de alimentación (10 y 30 m^3/h) y se ha podido comprobar el efecto de la economía de escala. Cuanto mayor es el volumen a tratar, más se reducen los costes de operación.

Sin embargo, los costes de operación del proceso de filtración son insignificantes en comparación con el resto de los costes que intervienen en el precio final del producto. El estudio de la rentabilidad del proceso integrado de microfiltración en la línea del tratamiento térmico de la leche ha dado lugar a elevados valores de rentabilidad y muy cortos tiempos de recuperación.

7. CONCLUSIONES GENERALES

7. CONCLUSIONES GENERALES

La microfiltración en flujo cruzado utilizando tres tipos diferentes de membranas cerámicas con un tamaño de poro de 1.4 μm no ha mostrado evidencias de ensuciamiento para tiempos de operación de 4 horas. Los flujos de permeado han variado entre 400 y 530 L/h m^2, de acuerdo con los valores bibliográficos. Cuando los experimentos se realizaron a distintas velocidades superficiales (6-8 m/s), la microfiltración a 8 m/s consiguió un rechazo de proteínas con el tiempo un 10% menor que los experimentos llevados a cabo a 6 m/s. Se han obtenido valores de rechazo de proteínas entre 0.8 y 2.9%. La temperatura no ha mostrado un efecto significante. Los tres tipos de membranas cerámicas presentaron una reducción decimal similar en el recuento total de bacterias entre 3.5 y 5.2 dependiendo de la carga bacteriana inicial.

Las conclusiones referentes al Método SWB hacen referencia a tres aspectos distintos.

El primero de ellos es el *sistema*. Mediante la comparación del método SWB con un ensayo a τ_w constante se ha podido comprobar que el efecto de la adsorción y el bloqueo de poros es despreciable. También se ha comprobado que en el momento en el que se alcanzan las CHC se produce un aumento muy acusado de la resistencia hidráulica. La mayor parte de este aumento se corresponde con ensuciamiento irreversible, que sólo puede ser eliminado por métodos químicos o físicos.

El segundo de los aspectos es el referente al *método*. Los experimentos realizados por los métodos tradicionales de determinación de las CHC encajan en las tendencias observadas con el método SWB, aunque la duración de la etapa crítica, y las características del punto crítico alcanzado influyen en el ensuciamiento de la membrana.

Por último, se han obtenido conclusiones referentes a la influencia del factor de concentración de las micelas de caseína en la alimentación. Se ha podido apreciar que el valor

del esfuerzo cortante en las CHC es proporcional al factor de concentración de caseína en la alimentación. Los valores obtenidos de presión osmótica se encuentran en los intervalos mostrados en la bibliografía aunque son difíciles de obtener con precisión.
En el cálculo de la resistencia de las membranas de tercera generación se ha comprobado como la resistencia de la membrana disminuye con la coordenada longitudinal para compensar la caída de presión. El diseño de un sistema de recolección de permeados con la coordenada longitudinal de la membrana resultó adecuado para el estudio del comportamiento de la misma, siempre y cuando no sea necesaria una retropresión en el lado del permeado para compensar una excesiva presión en el lado de concentrado que supere los valores recomendados por la membrana comercial.

En el estudio del efecto del ensuciamiento sobre la resistencia de la membrana, se observa que, para los compartimentos de entrada y salida predomina el ensuciamiento irreversible mientras que, en la zona intermedia la tendencia varía. La primera mitad se ve afectada en mayor grado por un ensuciamiento reversible, en cambio, la segunda mitad presenta un mayor ensuciamiento irreversible.

En la membrana con gradiente de porosidad longitudinal (Sterilox GP) de 1.4 μm se ha comprobado la existencia de un perfil decrecinte, de manera lineal, de la resistencia de la membrana.

En cuanto al estudio de la vida útil de la leche pasteurizada comercial, la leche pasteurizada convencional (pasteurización estándar) presentó una vida útil de 7 días en condiciones de refrigeración (4-6 ºC). La leche tratada térmicamente por el proceso HHT por infusión de vapor presenta una vida útil de más de 14 días, debido a la inactivación de bacterias y esporas que se producen a las altas temperaturas alcanzadas en su tratamiento. Este tiempo es inferior a 21 días. Puede considerarse por parte de la industria un objetivo mínimo de duración de la leche pasteurizada, con el fin de distribuirla dentro de la logística de productos lácteos frescos.

Tras un seguimiento, la vida útil de la leche microfiltrada ha resultado encontrarse entre 5-7 días, sin ningún tratamiento térmico posterior.

Los resultados obtenidos a partir de la combinación de microfiltración con tratamientos térmicos demuestran que se puede obtener leche estéril con un tratamiento térmico mínimo de 115ºC durante 2s. Este hecho supondría un gran ahorro energético en el procesado de leche UHT ya que el tratamiento estándar es de 135-150ºC durante un tiempo inferior a 6s.

La microfiltración da lugar a una elevada retención de bacterias y esporas en la leche cruda. Los bajos recuentos bacterianos permiten que el tretamiento térmico posterior sea más suave. Este hecho supone un gran ahorro energético en términos del vapor que se emplea en el proceso UHT. La inversión en una planta de estas características puede resultar algo elevada debida al coste de las membranas, pero su larga vida útil hace que sea rentable a medio plazo. Se ha realizado el cálculo teniendo en cuenta dos flujos distintos de alimentación (10 y 30 m^3/h) y se ha podido comprobar el efecto de la economía de escala. Cuanto mayor es el volumen a tratar, más se reducen los costes de operación.

Sin embargo, los costes de operación del proceso de filtración son insignificantes en comparación con el resto de los costes que intervienen en el precio final del producto. El estudio de la rentabilidad del proceso integrado de microfiltración en la línea del tratamiento térmico de la leche ha dado lugar a elevados valores de rentabilidad y muy cortos tiempos de recuperación.

GENERAL CONCLUSIONS

Crossflow microfiltration using three different types of ceramic membranes with a pore size of 1.4 microns showed no evidence of fouling for operating times of 4 hours. Permeate fluxes have varied between 400 and 530 L / h m^2, in accordance with literature values. Experiments were carries out at different superficial velocities (6-8 m / s), microfiltration at 8 m / s achieved 10% less protein rejection than experiments performed at 6 m / s. Protein rejection values ranged between 0.8 and 2.9%. The temperature did not show a significant effect. The three types of ceramic membranes showed a similar decimal reduction in the total bacterial count between 3.5 and 5.2 depending on the initial bacterial load.

The findings regarding SWB method refer to three different aspects.

The first is the system. SWB method was performed at constant τw. The effect of the adsorption and blocking of pores was found to be negligible. It was also found that at the time are reached CHC is a very pronounced increase of the hydraulic resistance. Most of this increase corresponds to irreversible fouling, which can only be removed by chemical or physical methods.

The second aspect is the reference to the method. Experiments performed by traditional methods of determining the fit CHC trends with SWB method, although the duration of the critical stage, and the characteristics reached the critical point influencing membrane fouling.

Finally, we have obtained findings concerning the influence of the concentration factor of casein micelles in the feed. It has been seen that the shear value in the HCC is proportional to the casein concentration factor in feeding. The osmotic pressure values obtained are in the ranges shown in the literature but are difficult to obtain with accuracy.

In the calculation of the resistance of the third generation membranes has been shown as the resistance of the membrane decreases to compensate for the longitudinal coordinate of the pressure drop. The design of a collection system with the longitudinal coordinate permeated

the membrane was suitable for studying the behavior of the same, provided that no back pressure is needed in the permeate side to compensate for excessive pressure on the concentrate side that exceeds the recommended commercial membrane.

In studying the effect of fouling on the membrane resistance, it is observed that for the input and output compartments irreversible fouling predominates, while in the intermediate zone varies trend. The first half is affected to a greater extent by a reversible contamination, however, the second half has an increased irreversible fouling.

In the membrane with a porosity longitudinal gradient (GP Sterilox) of 1.4 microns are known to exist a profile decrecinte, linearly, the resistance of the membrane.

The final conclusions of this study were as follows:

- The life of conventional pasteurized milk (pasteurization standard) is 7 days under refrigeration (4-6 ° C).
- The heat treated milk by the infusion process by steam HHT has a useful life of more than 14 days, due to inactivation of spores and bacteria which occur at high temperatures reached in treatment. This time is shorter than 21 days. It was chosen as the target shelf life of pasteurized milk, in order to distribute within the logistics of fresh dairy products.

Microfiltered milk showed a shelf life from 5-7 days without any additional heat treatment.

In the combination between microfiltration and heat treatments, sterile milk was obtained with a minimum of heat treatment of 115 ° C for 2s. This will require significant energy savings in UHT milk, as the standard process is performed at 135-150 ° C for 6s.

Calculations were performed considering two different feed streams (10 and 30 m3 / h) and it has been proved the effect of the economy of scale. The larger the volume to be treated, the lower the operating costs. However, operating costs of the filtration process are negligible in

comparison with the rest of the costs involved in the final product price. The study of the performance of the microfiltration process integrated in the heat treatment milk line has shown very short recovery times.

8. BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

Alais, C.; Ciencia de la leche. Reverté, Barcelona; 2008.

Al-Akoum O., Ding L.H., & Jaffrin M.Y. Microfiltration and ultrafiltration of UHT skim milk with a vibrating membrane module. Sep. Purif. Technol. 2002; 28: 219-234.

Alpas, H.; Bozoglu, F.; The combined effect of high hydrostatic pressure, heat and bacteriocins on inactivation of foodborne pathogens in milk and orange juice. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 2000; 16: 387-392.

Amigo, L.; Olano, A.; Calvo, M.M.; Preservation of raw milk with CO_2. Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung. 1995; 200: 293-296.

Amiot, J.; Ciencia y tecnología de la leche. Acribia. Zaragoza; 1991.

Atkinson, S.; Isoflux membrane technology is efficient and economical. Membrane Technology. 2005; 9: 9-10.

Barbosa-Cánovas, G.V.; Palou, E.; Pothekemury, U.; Swamson, B.G.; Conservación no térmica de alimentos. Acribia, Zaragoza; 1991.

Beolchini F., Veglio F., Barba D.; Microfiltration of bovine and ovine milk for the reduction of microbial content in a tubular membrane: a preliminary investigation. Desalination. 2004; 161: 251-258.

Bergey, D.H.; Holt, J.G.; Bergey´s manual of determinative bacteriology. Williams & Wilkins. Baltimore; 1994.

Binetti A.G., Bailo N.B., Reinheimer J.A.; Aplicaciones de la microfiltración a la industria láctea. Mundo Lácteo y Cárnico. 2004; Sept/Oct: 10-14.

Boor, K.J.; Fluid dairy product quality and safety: Looking to the future. Journal of Dairy Science. 2001; 84: 1-11.

Brandsma R.L., & Rizvi S.S.H..; Manufacture of Mozarella cheese from highly-concentrated skim milk microfiltration retentate depleted of whey proteins. Int. J. Food Sci.Tech.. 2001; 36 (6): 611-624.

Brans G., Schroën C.G.P.H., van der Sman R.G.M. & Boom R.M.; Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. J. Membrane Sci.. 2004; 243: 263-272.

Brito-de la Fuente E., Torrestiana-Sánchez B., Martínez-González E.,Mainou-Sierra, J.M.; Microfiltration of whole milk with silicon microsieves: Effect of process variables. Chem. Eng. Res. Des. 2010; 88: 653-660.

Buffa, M.; Guamis, B.; Royo, C.; Trujillo, A.J.; Microbial changes throughout ripening of goat cheese made from raw, pasteurised and high-pressure treated milk. Food Microbiology. 2001; 18: 45-51.

Bylund, G.; Manual de industrias lácteas. Tetra Pak Hispania S.A.; 2003.

Cheftel, J.C.; Effects of high hydrostatic pressure on food constituents: an overview. High Pressure and Biotechnology. 1992; 195-209.

Cheryan M.; Ultrafiltration and microfiltration handbook. Chicago: Technomic Publishing Company, Inc. 1998.

Contarini, G.; Povolo, M.; Leardi, R.; Toppino, R.; Influence of heat treatment on the volatile compounds of milk. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1997; 45: 3171-3177.

Contarini, G.; Povolo, M.; Volatile fraction of milk: Comparisson between purge and trap and solid phase microextraction techniques. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002; 50: 7350-7355.

Daufin G., Escudier J.P., Carrere H., Berot S., Fillaudeau L., Decloux M.; Recent and emerging applications of membrane processes in the food and dairy industry. Trans. IchemE. 2001; 79, 89.

Dyck, B.; Un brindis por la leche pasteurizada. ILE. Industrias Lácteas Españolas. 2005 ; 313 : 33-36.

Eckner, K.J.; Zottola, E.A.; Potential for low-temperature pasteurisation of dairy fluids using membrane processing. Journal of Food Protection. 1991; 54: 793-797.

Elwell M.W., Barbano D.M.; Use of microfiltration to improve fluid milk quality. J. Dairy Sci. 2006; 89(1): 20-30.

Fritsch J.A., Beliciu C., Moraru C.I. Microbial retention and membrane fouling during low temperature microfiltration of skim milk using ceramic membranes. Proceesings of the 9th Conference of Food Engineering. 2005.

Garcera D., Toujas E.; (Societé des Céramiques Tachniques) Support macroporeaux à gradient de perméabilité et son procédé de fabrication. Demande de Brevet No. 97.04.359. 1998.

García Graells, C.; Masschalck, B.; Michiels, C.W.; Inactivation of Escherichia coli in milk by high hydrostatic pressure treatment in combination with antimicrobial peptides. Journal of Food Protection. 1999; 62: 1248-1254.

Gervilla, R.; Ferragut, V.; Guamis, B.; High hydrostatic pressure effects on colour and milk-fat globule of ewe´s milk. Journal of Food Science. 2001; 66: 880-885.

Gésan-Guiziou G.; Membrane Processes in the dairy industry. Proceedings of NanoMem Course EA3: Nano-structured materials and membranes in the food industry, 15-24 september, Cetraro and Rende, CS, Italy. 2010.

Glimenius A.R., Jansson G.T., Kemi K.W., Sandblom R.M.; Filtering method for separating skim milk from milk products. US Pat. No. 4.140.806. 1979.

Goudedranche H., Fauquant J., Maubois J.-L.; Fractionation of globular milk fat by membrane microfiltration. Lait. 2000; 80: 93.

Grangeon A., Lescoche P., Millares M.; ISOFLUX® Membrane: The microfiltration mastering. 6th ICIM. Montpellier, France. 2000.

Grangeon A., Lescoche P.; Flat ceramic membranes for the treatment of dairy products: comparison with tubular ceramic membranes. Lait. 2000; 80: 5-14.

Grijspeerdt, K.; Mortier, L.; De Block, J.; Van Renterhem, R.; Applications of modelling to optimise ultra high temperature milk heat exchangers with respect to fouling. Food Control. 2004; 15: 117-130.

Guerra A., Jonsson G., Rasmussen A., Waagner Nielsen E., Edelsten D.; Low cross-flow velocity microfiltration of skim milk for removal of bacterial spores. Int. Dairy J. 1998; 7: 849-861.

Ho, W.S.W.; Sirkar, K.K.; Membrane Handbook. Van Nostrand Reinhold; 1992.

Hoffman W., Kiesner C., Clawin-Rädecker I., Martin D., Einhoff K., Lorenzen P.C. *et al.*; Processing of extended shelf life milk using microfiltration. Int. J. Dairy Tech.. 2006; 59(4): 229-235.

Holm S., Malmberg R., Svensson K.; Method and plant for producing milk with low bacterial content. Eur. Pat. No. 0.194.286. 1984.

Jost, R.; Jelen, P.; Cross-flow microfiltration – an extension of membrane processing of milk and whey. Bulletin of the International Dairy Federation. 1997; 320: 9-15.

King, A.D.; Mabbit, L.A.; Preservation of raw milk by addition of carbon dioxide. Journal of Dairy Research. 1982; 49: 439-447.

Kolakowski, P.; Reps, A.; Babuchowski, A.; Characteristics of pressurised ripened cheeses. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 1998; 7: 473-782.

Kosikowski F.V., Mistry V.V.; Microfiltration, ultrafiltration and centrifugation separation and sterilization process for improving milk and cheese quality. J. Dairy Sci. 1990; 73: 1411-1419.

Kraft, A.A.; Psycrotrophic bacteria in foods. Disease and spoilage. CRC Press: Boca Ratón, Florida; 1992.

Krstić, D.M., Tekić, M.N., Carić, M.Đ., & Milanović, S.D.; The effect of turbulence promoter on cross-flow microfiltration of skim milk. J. Membrane Sci. 2002; 208: 303-314.

Law B.A., Goodenough P.W.; Enzymes in milk and cheese production. Tucker, G.A. Woods, L.F.J. eds. Enzymes in Food Processing, 2nd edition. Bishopbriggs. Blackie Academic & Professional. 1995; 114-143.

Lindquist, A. (1998). A method for the production of sterile skimmed milk, PCT Pat. WO No. 57549.

Madec M.N., Mejean S., Maubois J.L.; Retention of Listeria and Salmonella cells contaminating skim milk by tangential membrane microfiltration ("Bactocatch process"). Lait. 1992; 72: 327-332.

Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; Parker, J.; Brock, Biología de los microorganismos. Prentice Hall, Madrid; 2000.

Malmberg M., Holm S.; Low bacteria skim milk by microfiltration. N. Eur. Food Dairy J. 1998; 54: 75-78.

Maubois J.-L.; Current uses and future perspectives of MF technology in the dairy industry. B. Int. Dairy Fed. 1997; 320: 37-40.

Maubois, J.L.; Caudron, B. ; Daviau, C. ; Madec, M.N.; Pierre, A. ; Membrane technologies : tools for a total control of the cheesemaking process. IDF Banff Seminar; 2000.

Meershon, M.; Nitrate free cheese making with Bactocatch. North European Food and Dairy Journal. 1989; 55: 108-113.

Morgan, S.M.; Ross, R.P.; Beresford, T.P.; Hill, C.; Combination of hydrostatic pressure and lacticin 3147 causes increased killing of Staphilococcus and Listeria. Journal of Applied Microbiology. 2000; 88: 414-420.

Mossel, D.A.A.; Moreno, B.; Struijk, C.B.; Microbiología de los alimentos. Acribia. Zaragoza; 2003.

Mussa, D.M.; Ramaswamy, H.; Ultra high pressure pasteurisation of milk: kinetics of microbial destruction and changes in physico-chemical characteristics. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 1997; 30: 551-557.

Olesen N., Jensen F.; Microfiltration. The influence of operation parameters on the process. Milchwissenshaft. 1989; 44: 476-479.

Osterland N.; Removal of bacteria and spores from milk by microfiltration. In: Procedures INRA-International Dairy Federation Seminar, New applications of membrane technology in the dairy industry, Saint Malo, France, p18. 1999.

Pafylias I., Cheryan M., Mehaia M.A., Saglam N.; Microfiltration of milk with ceramic membranes. Food Res. Int. 1996; 29: 141-146.

Piot M., Vachot J.C., Veaux M., Maubois J.-L.; Brinkmaan, G.E., Écrémage et épuration bacteriénne du lait entier cru par microfiltration sur membrane en flux tangentiel. Technique Laitière Market, 1987; 1016: 42-46.

Piry A., Kühnl W., GreinT., Tolkach A., Ripperger S., Kulozik U.; Length dependency of flux and protein permeation in crossflow microfiltration of skimmed milk. J. Membrane Sci. 2008; 325: 887-894.

Prescott, L.M.; Harley, J.P.; Klein, D.A.; Microbiología. McGraw Hill. Madrid; 2002.

Ruas-Madiedo, P.; Bada-Gancedo, J.C.; Fernández-García, E.; González del Llano, D.; G. de los Reyes-Gavilán, C.; Aplicación en planta piloto de la inyección de dióxido de carbono para aumentar el periodo de conservación de la leche cruda refrigerada. Revista Española de Lechería. 1996; 74: 35-41.

Ruas-Madiedo, P.; Bascarán, V.; Braña, A.F.; Bada-Gancedo, J.C.; G. de los Reyes-Gavilán, C.; Influence of carbon dioxide addition to raw milk on microbial levels and some fat-soluble vitamin contents of raw and pasteurized milk. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1998; 46: 1552-1555.

Russel P.; A new fresh milk comes to Britain. European Dairy Magazine. 1999; 3: 25-27.

Saboya L.V., Maubois J.-L.; Current developments of microfiltration technology in the dairy industry. Lait. 2000; 80: 541-553.

Sadcheva S., Jain S., Ram J., Agarwal G.P.; Use of microfiltration to obtain long shelf life milk. Indian J. Dairy Sci. 2001; 54 (6): 297-303.

Sandblom R.M.; Filtering process, SW Pat. No. 74.16.257. 1974.

Skrzypek M., Burger M.; Isoflux® ceramic membranes – Practical experiences in dairy industry. Desalination. 2010; 250: 1095-1100.

Solanki G., Rizvi S.S.H.; Physico-chemical properties of skim milk retentates from microfiltration. J.Dairy Sci. 2001; 84: 2381-2391.

Stack, A.; Sillen, G.; Bactofugation of liquid milks. Nutrition and Food Science. 1998; 5: 280-282.

Trouvé E., Maubois J.-L., Piot M., Madec M.N., Fauquant J., Roualt A. *et al.*; Rétention de différentes espèces microbiennes lors de l'épuration du lait par microfiltration en flux tangentiel. Lait. 1991; 71: 1-13.

Trujillo, A.J.; Capellas, M.; Saldo, J.; Gervilla, R.; Guamis, B.; Applications of high-hydrostatic pressure on milk and dairy products: a review. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2002; 3: 295-307.

van der Horst H.C., Hanemaaijer J.H.; Cross-flow microfiltration in the food industry. State of the art. Desalination. 1990; 77: 235-258.

van Rijn C.J., Kromkamp J.; Method for filtering milk, WO Patent 0209527; 2001.

Zeman L. J., Zydney A.L.; Microfiltration and ultrafiltration principles and applications. New York, Marcel Dekker. ISBN 0-8247-9735-3; 1996.

www.dairyco.org.uk
www.fluxxion.com
www.tetrapak.com

9. APÉNDICES

9. APÉNDICES

9.1. Review paper accepted for publication at Journal of the Science of Food and Agriculture.

Microfiltration applied to dairy streams: Removal of bacteria. A review

L. Fernández García[1], S. Álvarez Blanco[2] and F. A. Riera Rodríguez[1]

[1]Chemical Engineering and Environmental Technology Department, Faculty of Chemistry, University of Oviedo. C/ Julián Clavería 8, 33006 Oviedo, Asturias (Spain).

[2]Chemical and Nuclear Engineering Department. Polytechnic University of Valencia. Camino de Vera s/n 46022 Valencia (Spain)

E-mail: leticiafernandeziq@gmail.com; far@uniovi.es

Abstract

Microfiltration applied to the dairy industry for the bacteria removal has been an important technology in order to extend the shelf life of milk while maintaining or even improving the organoleptic and nutritional conditions thereof. This study attends to present the evolution of this technique through the years and the advances taking place nowadays in this field. The reviewed literature indicates the strategies to overcome the main drawbacks that involve this type of operations, the most common operating conditions and the reduction degree of bacteria obtained.

Keywords

milk; membranes; microfiltration, ceramic

A. List of symbols

ΔP – Pressure drop $[P_{inlet} - P_{outlet}]$ (bar)

BP – Back pulse

CF – Concentration Factor

CF-MF – Cross-flow microfiltration

CPF – Co-current Permeate Flow

HHT – High Heat Treatment

HTST – High Temperature Short Time

J_p – Permeate flux (L h^{-1} m^{-2})

LTLT – Low Temperature Long Time

mb - Membrane

MF - Microfiltration

n – Reduction degree [$n=\log10(N_0/N_F)$]

N_0 – Initial amount of microorganisms (CFU mL^{-1})

N_F – Final amount of microorganisms (CFU mL^{-1})

NF - Nanofiltration

RO – Reverse Osmosis

SCC – Somatic Cell Count

t – time

T – Temperature (ºC)

TBC – Total Bacteria Count (CFU mL^{-1})

TMP – Transmembrane Pressure (bar)

UF – Ultrafiltration

UHT – Ultra High Temperature

UTP – Uniform Transmembrane Pressure (bar)

v – Tangential velocity (m s^{-1})

VRR – Volume Reduction Ratio

WPC – Whey Protein Concentrate

1. Introduction

Membrane processes have been major tools in food processing for more than 25 years. The food industry represents a significant part of the turnover of the membrane manufacturing industry world-wide.

The factor that distinguishes the most common membrane separation processes – ultrafiltration (UF), microfiltration (MF), nanofiltration (NF) and reverse osmosis (RO) – is the application of hydraulic pressure as the driving force for mass transport. Nevertheless the nature of the membrane controls which components will permeate and which will be retained, since they are selectively separated according to their molar masses or particle size [1]. Microfiltration uses pressures lower than 2 bar and separates molecules between 0.025–10 μm, ultrafiltration uses pressures greater than 1 bar and separates particles with molar masses between 1–300 kDa, nanofiltration uses pressures between 1–4 bar and separates particles with molar masses between 350–1000 Da, whilst reverse osmosis uses pressures between 4–10 bar and concentrates particles with molar masses below 350 Da.[2]

Among the very numerous applications on an industrial scale, a few of the main separations which represent the latest advances in food processing are the clarification of fruit, vegetable and sugar juices by microfiltration or ultrafiltration. This process allows the flow sheets to be simplified or the processes made cleaner and the final product quality improved.

Ultrafiltration is the most widely used process in the dairy industry, with an installed membrane area around 350 000 m^2. Nanofiltration (100 000 m^2) has recently been developed for whey demineralisation. The membrane area of reverse osmosis has stabilized (65 000 m^2) and microfiltration area is developing due to its capacity to retain microorganisms or casein micelles (15 000 m^2 installed) [3]. For example, *microfiltration for globular milk fractionation* yields more unctuous products and finer textural characteristics compared to products made from untreated or large globule cream [4]. *Microfiltration in cheese making* is used in an integrated protein extraction process for the manufacture of micellar casein products and whey proteins isolates, significantly improving rennet coagulability [5]. *Extraction of milk and whey proteins* has been developed in order to satisfy the increasing needs of different industrial sectors for tailor-made products. Cross-flow microfiltration (0.1 μm) makes it possible to achieve the separation of skimmed milk micellar casein and soluble proteins [4]. Another application of membranes in the dairy industry is the *treatment of dairy effluents and waste streams* which represent a high potential of pollution. Finally, cross-flow microfiltration for bacteria removal provides a lower temperature approach for the control of microbial growth producing extended shelf life products.

The purpose of this paper is to review the main technological advances that were made possible through membrane processing for the removal of bacteria from milk.

2. Disadvantages of traditional heat treatments

Milk is commonly regarded as an important dietary source of protein, minerals and vitamins. Table 1 shows the most important components of milk, their concentration and size.

As it provides a favourable media for spoilage microorganisms, pre-treatment as well as temperature-time parameters must be chosen in order to control microbial growth. Heat treatments are the most widely used processes for lowering the bacterial content of milk and milk products [8].

Nowadays, pasteurization and UHT process (Ultra High Temperature) are the most common heat treatments used in the dairy industry.

Pasteurization, however, can not avoid the survival of spores, some of which may affect the keeping quality of milk and the quality of cheese made from the milk. For example, *Bacillus cereus* spores which survive pasteurization can produce toxins which cause disease, and some strains are psychotropic, which could cause shelf life problems.

Other quality parameters may limit fluid product shelf life extension like the somatic cell count (SCC) [4]. According to Ma *et al*. [9], high SCC raw milk had more lipolysis and proteolysis than low SCC raw milk. During refrigerated storage at 5ºC of pasteurized, homogenized, 2% fat milks, the average rates of free fatty acid increase (i.e., lipolysis) and casein hydrolysis in high SCC milk were, respectively, three and two times faster than those in low SCC milk. Heat treatments are not capable to reduce the SCC.

Other problem limiting consumer acceptance of high temperature processed milk (traditional UHT and ultra pasteurized products) is the development of a distinct "cooked flavour". Other common limitations to UHT

product acceptability among consumers include oxidized and stale flavours, creaming or fat separation, gelatine or sediment formation and proteolytic or lipolytic deterioration from enzymes surviving the heat treatment [10].

Microfiltration (MF) is the passage of product under relatively low pressure (approximately 1 bar) through a semipermeable membrane with pore sizes ranging from 0.2 to 5 μm. As bacteria generally range from 0.4 to 2 μm, under some circumstances MF should be able to completely remove bacteria from the fluid permeate. MF might provide a lower temperature option, and thus, a less pronounced cooked flavour than UHT processing for extended shelf life dairy products. This operation also removes the dead cells remaining with their potentially active enzymes that can cause alterations of liquid milks during storage [4].

3. Extended shelf life (ESL) milk: Concept and available technologies

One significant barrier to extend the shelf lives of dairy products is the difficulty of balancing the removal or destruction of spoilage microorganisms and spores present in raw milk while limiting product colour changes, vitamin destruction and milk protein denaturation.

ESL milk involves the possibility of extending the shelf life of a range of products that can stay under refrigerated conditions beyond the traditional limits of conservation. This type of milk benefits from an increasing acceptance because it brings the flavour and natural taste of pasteurized milk with the UHT milk advantage of longer shelf life.

The quality of ESL milk is not affected only by the manufacturing process. The sum of a series of strategies ensures an extended shelf life can be achieved up to 21 days with a nearly constant quality. Some of the strategies can be employing good quality of raw milk (<50 000 CFU mL^{-1}), deactivation of thermolabile spores, especially of psychrotrophic ones, protecting the product against reinfection in the section "downstream", engineering ESL packaging according to the standard, for example sterilization container execution or maintaining an uninterrupted cold chain to a maximum temperature of 8ºC until the expiration date of the product.

Some of the main ESL technologies are the following.

3.1. Bactofugation

Bactofugation is a traditional method for reducing the number of spores, in which a specially designed centrifuge (bactofuge), separates microorganisms because of their significantly higher density than the milk. This process decreases the bacteria and spore content of milk before the heat treatment in order to improve the thermal impact. Bactofugation, however, is energy demanding and the spore reduction effect is rather limited. The decimal logarithm of the ratio between the initial (N_0) and final (N_F) amounts of microorganisms is called reduction degree [$n=\log10\ (N_0/N_F)$]. Bactofugation can achieve reduction degree values between 1.7–2.3 for anaerobic spores, and 2–5 days extension of shelf life [11].

3.2. High heat treatment (HHT)

Heat treatment of milk is one of the most important operations in the dairy industry. The effects of the heat treatment depend on both the temperature applied and the time during which the product is submitted to this temperature. The higher the temperature, the shorter the required time to obtain a sufficiently safe product.
The heat treatment equipment to obtain these high temperatures can be divided into two major types: direct and indirect systems.

In a direct heating process, the heating is achieved by mixing the product with steam under pressure. Compared to indirect systems, where solid walls are placed between the product and the heating medium, the heat transfer is much higher and the residence time very short. This is the reason why it is most commonly applied in high quality products like white milk because ensures minimum impact on taste, colour and nutritional value.

In both cases, temperatures typically range from 120ºC to 135ºC with holding times between 0.5 and 4 seconds. Which one to choose depends on product flow rate, physical properties of the liquid, required running time, cleaning requirements, etc. The temperature treatment has also an effect on the final product in terms of chemical, physical and organoleptic properties. The product quality is affected by heat-induced reactions [12].

3.3. Microfiltration (MF)

The reduction of the microbial content of milk must be achieved in such a way that the functionality of its proteins is not affected. Consequently microfiltration performed at temperatures lower than 40–50ºC is an interesting alternative or complement to thermal treatments aimed at milk debacterization, which might cause partial protein denaturation [4].

Microfiltration (MF) can reduce the amount of bacteria and spores without affecting the taste of the milk and provides longer shelf life than pasteurization. Somatic cells are totally retained by the MF membrane and consequently MF milk will not be degraded by their thermoduric enzymes [8].

Most fat globules and some of the proteins of milk are as large as bacteria (Table 1). This fact results in a very rapid fouling of the membrane due to the deposition of a layer on the membrane surface and to the constriction of pores that consequently change the MF performance. Microfiltration for microbial removal is only applied to skimmed milk at industrial scale [13].

Table 1: Average composition of cow milk: Main bacteria present in milk, concentration and size distribution [6, 7]

	Concentration in whole milk (g/L)	Size range and average (at weigh average)
Water	87.1	
Fat globules	4.0	0.1-15 µm, average 3.4 µm
Casein (in micelles)	2.6	20-300 nm, average 110 nm
Serum proteins	0.7	3-6 nm
	length (µm)	*width (µm)*
Bacillus cereus	3 - 4	1
Brucella abortus	0.5 - 1.5	0.5
Campylobacter jejuni	0.5 - 5	0.2 - 0.5
Clostridium botulinum	3 - 8	0.5 - 0.8
Escherichia coli	1 - 3	0.5
Lactobacillus casei	2 - 9	0.5 - 0.8
Leuconostoc spp.	0.5 - 1.5	0.5 - 1.5
Listeria monocytogenes	1 - 1.5	0.4
Mycobacterium tuberculosis	4	0.5
Pseudomonas fluorescens	> 2	0.25 - 1
Salmonella spp.	1 - 3	0.5 - 0.7
Streptococcus lactis	0.5 - 1.5	0.5 - 1.5
Yersinia enterocolitica	0.5	0.25 - 1

Other non-thermal processing techniques for pasteurization of milk such as pulsed electric fields and high pressure processing are being investigated but they are out of the scope of this review.

4. Cross-flow microfiltration for bacteria removal from milk

Cross-flow microfiltration provides a lower temperature approach for the production of dairy products with extended shelf lives. Table 2 shows main researches related with milk microfiltration. The table includes: author, raw material, membrane technologies, operation conditions and main published results.

Due to high retention of *Listeria* and *Salmonella* as well as natural non pathogenic flora, the process is used for bacteria removal from milk prior to transformation into cheese or milk fractionation [14].

First experiments were applied to skimmed milk for defatting. Glimenius *et al*. [15] described a method where whole milk was separated by microfiltration into cream and skimmed milk. Separation was accomplished by cross flow of milk at high speed over a fine polymeric filter with a pore size of 0.2 to 10 μm. Piot *et al*. [16] and Goudedranche *et al.* [17] also studied milk defatting but using a 2 μm ceramic membrane, achieving a skimmed milk 98% free of fat and with finer texture and better taste.

There is very little scientific literature regarding the use of polymeric membranes for this application [13, 15].
In the early 80s, researchers failed to use organic membranes (polysulfone and polycarbonate) for bacteria removal in dairy industry due to inefficiency in terms of flux and selectivity, mechanical heat and chemical stability [4]. Besides spiral wound polymeric membranes have also become available and provide a lower cost than ceramic membranes [18]. However, they require a frequent replacement of membrane. Most of the works about milk microfiltration are published in the 90s and 00s following the rapid development of inorganic membranes. MF applications in the dairy industry are more commonly performed with inorganic membranes (mainly ceramic membranes). They are manufactured by combining metals such as aluminium, titanium or zirconium, with a non-metal in the form of an oxide, nitride or carbide [4, 19-21]. They are considered the only ones that satisfy the demands of these type of applications in the dairy industry, such as long operational life, wide chemical and pH (0–14) compatibility and excellent thermal stability [4, 22].They also have low dispersion in pore diameter, can be back-pulsed, steam sterilized and chemically cleaned in-place with increased process reliability and ease of automation.

Ceramic membranes with pores between 0.8 and 1.4 μm are extensively studied [4, 5, 8, 14, 19, 20, 23-28]. The maintenance of this type of membranes involve avoiding the use of chemical agents at active chlorine concentration higher than 300 ppm for more than 30 minutes time at a temperature higher than 25ºC, thermal shock ($\Delta T \leq 60$ºC) and extreme treatment of liquid/gas mixtures, vibrations, water hammers or pump cavitation [29].

The high effectiveness of the microfiltration separation and sterilization process to reduce bacterial levels in milk was confirmed by Olesen and Jensen [8]. The content of spores in the initial milk has a significant effect on the content of spores in the microfiltered milk with reduction degree of 4 in total bacteria count and 2.3-3.7 in spores. Although very efficient in the removal of bacteria and spores MF processes cannot guarantee 100% removal of pathogenic bacteria as required in milk pasteurization. Results about bacteria and spore retention were also showed by other authors [5, 10, 11, 13, 14, 19, 23-25].

A technical development was carried out involving the sterilization of cream and recombination with microfiltered skimmed milk [30]. The whole milk is first centrifuged and the resulting skimmed milk is microfiltered and then blended with the sterile cream. The high rate of destruction and inactivation of spoilage bacteria (particularly psychrotrophs with their associated proteases and lipases) by exposure of a small portion of the milk as cream or retentate to high heat should extend the keeping quality of milk blends substantially without creating excessive cooked flavour. This process was used to produce low bacteria milk with substantially reduced protease and lipase content and, consequently, improved product quality and enhanced food safety.

MF membranes with a pore size of about 1.4 μm can achieve the right balance between rejection of the bacteria and long-term flux, with little or no rejection of other milk components, such as the protein, lactose and ash components. Experimental results at different operation conditions were showed in a large number of publications [4, 5, 8, 14, 19, 23-28, 31-35].

Use of smaller pore diameter (0.5 μm effective), proposed by Lindquist [36], showed a bacteria removal increased by 2 or even 3 log cycles compared to the 1.4 μm pore diameter. Decrease of pore size evidently leads to a slight decrease of casein micelles permeation rate but the bacterial depuration of the skimmed milk is so high (remaining count is less than 1 $CFU \cdot mL^{-1}$) that to obtain a fluid milk with a long shelf life at room temperature, a moderate heat treatment (less than 100ºC, 2s) is necessary [4]. In addition to selecting the adequate membrane, it is

important to operate the system under conditions of low transmembrane pressure and high cross-flow velocity, conditions which should be maintained throughout the length of the membrane module.

Microfiltration fouling is complex, with the deposition of solutes occurring both on the membrane surface and within the membrane pores, leading to permeate flux decline during operation. As the product flows down the tubular element, there is a natural hydrodynamic pressure drop from the inlet to the outlet of the flow channel. The uneven permeate flux distribution along the length of the flow channel can be very significant due to the resulting concentration polarisation effect particularly at the higher pressure inlet, and decreasing towards the outlet end. Biofilm fouling may be favoured by the fouling of the membrane [37] that can eventually block the membrane pores[38]. A mature biofilm on the membrane surface can also change the distribution of filtration and surface properties of the filter [39].

The biofilm formation is a fairly slow process and reaches a few milimeters thick in a matter of days depending on the culture conditions [40]. Generally, an effective cleaning and sanitation program, when included in the process from the very beginning, will inhibit both accumulation of particulates and bacterial cells on equipment surfaces and subsequent biofilm formation [41-44].

In the dairy industry, the membranes are cleaned and sanitised after each batch of processing, in order to increase the life span of the membrane, to ensure hygienic operation, maintain membrane performance and to reduce the frequency of membrane replacement. Therefore, membrane cleaning is an essential step in maintaining the membranes used for the separation process [45]. Chemical cleaning is the most used method for microfiltration and ultrafiltration systems. Standard procedures for cleaning membranes fouled with milk or whey proteins involve cycles of alkaline and acid solutions circulated through the system [46]. The main drawbacks of cleaning procedures are that they cut into operating time, consume reagents and in many cases degrade membranes and other system components [47-50].

The development of non-aggressive methods capable of increasing the lifetime of membranes and the goal of short cleaning cycles are among the main research objectives [51]. The use of enzymatic cleaners is of interest because of their capacity to develop their activity in mild conditions, which is a determining factor for their application in the cleaning of membranes that are sensitive to chemicals, pH and/or temperature [46, 52]. Enzymatic agents can improve cleaning efficiency, as well as reduce the amount of chemicals needed and energy costs by

working at a lower temperature. Moreover, they are biodegradable and the preparation of tailor-made cleaners is possible.

Enzymatic formulations were used by several authors to clean organic membranes [46, 52-54]. However, they reported low cleaning efficiencies and extended cleaning times. Argüello *et al* [55] showed that when enzyme-cleaned or enzyme-treated inorganic membranes were used for the ultrafiltration of WPC solutions, permeate flux was higher than that obtained with chemically conditioned membranes. The selectivity of the enzyme-treated membranes was very similar to that of chemically-treated membranes [55]. Very high hydraulic cleaning efficiencies (about 100%) were reached in short operating time (20 min) [56].

The cleaning efficiency may be quantified in several ways, the most common of which include: measurement of the resistances contributed by different fouling-related phenomena, and comparison of the membrane's clean and fouled water flux values. Visual observation of the fouling layer by means of microscopy is commonly used when membrane can not be reused (membrane autopsy).

Flux decline in membrane filtration is a result of the increase of the membrane resistance due to the development of these additional resistances. Pore blockage increases the membrane resistance, while cake formation creates an additional layer of resistance to permeate flow. Thus, pore blocking and cake formation can be considered as two mechanisms of membrane fouling. Other factors such as adsorption, particle deposition within the pores and changes to the cake layer, affect membrane fouling through modification of either or both of these two mechanisms [5].

This fouling interferes with the product transmission through the membrane, decreasing the quality of the separation, shortening running time, and increasing costs. However, high velocities require a high pressure drop, which would result in high inlet pressures that would rapidly foul the membrane.

To overcome this limitation, the co-current permeate flow (CPF) method has been developed based on a concept suggested by Sandblom [57] and marketed by Alfa-Laval as the UTP (uniform transmembrane pressure) process (Bactocatch) [58]. The UTP concept overcomes most of the heterogeneous fouling of the MF membrane which results from the high cross flow velocities (6-8 m s^{-1}) required for obtaining both high permeation fluxes and accurate selectivity. Filtration can have a permeate flux of 500 L h^{-1} m^{-2} for 6 hours at least and a concentration

factor of 10 [23]. In this method, the permeate side of the membrane module, filled with plastic balls, is also pressurized by permeate pumping in a closed loop parallel to the direction of flow of the retentate. The pressure drop (inlet pressure minus outlet pressure) on the permeate side of the loop is matched to the pressure drop on the feed/retentate side of the loop, thus resulting in a uniform transmembrane pressure along the entire length of the module [4].

The first experiments performed with the Bactocatch system used a 1.4µm pore size Membralox™ membrane. Permeate fluxes ranged from 500-700 L h^{-1} m^{-2} [4, 8, 14, 24, 59], with UTP=0.55 bar [14]. Total bacteria count had a reduction factor of 4 and spore forming bacteria of 3.5.

Using new generation 1.4µm Sterilox™ membranes, with the same average pore size but with a reduced pore size distribution [17], it was possible to achieve reduction factors between 4 and 5. At a temperature (t) of 55ºC, superficial velocity (v) of 7.2 m s^{-1}, transmembrane pressure (TMP) of 0.5 bar and a volume reduction factor (VRF) of 10, the permeate flux obtained (J_p) was of 500 L h^{-1} m^{-2}. Protein permeation rates achieved more than 99.5%. This microfiltered milk can reach a shelf life of 16 days under refrigerated conditions [4].

Developments in ceramic membrane technology have allowed the suppression of the MF permeate recirculation loop, and thus a decrease in the investment cost per m^2 of installed equipment and consumed energy due to the cost overhead of providing the extra pumping, control and regulation systems.

4.1. Third generation membranes

Other MF membrane concepts such as GP® (Société des Céramiques et Tecniques, France) [60] and Isoflux® (Tami, France) [21] were later developed to minimize membrane fouling resulting from excessive pressure drop to overcome the requirement for extra piping and pumps, an increased risk of contamination and a long residence time that affects the quality of the final product. These systems are simple and require no adaptation of existing equipment involving no additional energy costs.

.

The GP® effect is obtained reducing the porous volume and pore size of the support to compensate the effect of pressure drop. This pressure drop depends on a set of parameters such as, for example, the speed of the liquid to

be treated or purified in the channel, its viscosity, as well as the hydraulic diameter of the channel. This decreasing variation in fluid pressure along the channels modifies the transverse flow of the permeate passing through the filtering layer and then the macroporous body. The transmembrane pressure is defined so as to obtain filtering conditions that are compatible with the nature of the liquid, adapted to the speed at which the fluid circulates in the channels and to the viscosity and filtration throughput characteristics. Because of this porosity gradient, the membrane has a defined direction of circulation for the liquid to be treated. A restriction of the width of the Gaussian distribution curve of the pore diameter can improve significantly the selectivity of the traditional MF membrane [4, 60]. For example, substitution of a 1.4 µm pore size ceramic membrane by a 1.4 µm GP® membrane with the same average pore diameter increases the MF retention of milk bacteria by 2 log [21].

An Sterilox GP® membrane with an average pore size of 1.4 µm can achieve permeation rates of proteins and total solids higher than 99-99.5%. The average reduction degree (n) was found to be above 3.5. Spore forming bacteria which represent the main surviving species to pasteurization are better retained by MF membrane because of their large cellular volume. The observed n are higher than 4.5. The expected permeate flux value for this type of membrane is J_p=500 L h^{-1} m^{-2} [20].

ISOFLUX® membrane has been designed to compensate the pressure drop by a thickness gradient in the top layer along the membrane length [21]. The permeate flux is a function of the ratio between transmembrane pressure (TMP) and the top layer thickness. To obtain this result the thickness of the separating layer decreases from the inlet to the outlet in the way that the pressure to layer thickness ratio remains constant.

Such membrane design produces almost constant flux along the length of the membrane element. This feature leads to improved performance of the membrane in terms of long-term flux rates obtained with industrial feeds and allows better separation and homogeneity. Also the membrane fouling is similar along the full length of the membrane element, what results in easier chemical cleaning regime [4].

Experiments carried out with this type of membrane achieved a reduction factor of 4–5 in TBC [21].

Nowadays, there are more than ten milk microfiltration lines in Germany, Switzerland and Austria working with a microfiltration process after defatting. The skimmed milk stream is microfiltrated and the cream stream is

heated between 120°C and 135°C. The retentate can be added to the cream stream before heating or used separately. The rest of the process is a standard pasteurizing process.

Practical experiences in dairy industry were shown by Skrypek and Burger [61]. An inline microfiltration process with ISOFLUX membranes added on to a standard pasteuriser was described. Biological performances of the studied installations did not show any change since their starts, achieving reduction degrees between 4.2–3.78 on total bacteria count and 2.3–1.6 on spore count. This level of quality can be maintained for 20 h without any intermediate cleaning [61].

The typical cost of an ESL milk production unit is low compared to UHT unit. The investment for a 25 000 L h^{-1} microfiltration installation with a cream heater is about 600 000 €. A UHT ESL installation will be around 1 000 000 € for the same capacity. The maintenance costs are about 25 000 €/year and are comparable to the costs of UHT ESL installation. The running costs (energy, cleaning, etc.) are less than 0.1 ct L^{-1}. The same total costs of the milk treating are for microfiltration ESL installation around 0.15–0.4 ct L^{-1}, whereas the costs for a UHT ESL installation are 0.9–1.5 ct L^{-1} [61].

Third generation membranes must be used for well defined applications, the thickness and porosity gradients are built for precise flux and selectivity.

Apart from the high cross-flow velocity with UTP concept, other approaches, reviewed by Brans *et al*. [7], were developed to minimise fouling or particle deposition during MF but very few were tested at industrial scale. Turbulence promoters enhance back transport by micro-turbulences close to the membrane, back pulsing removes cake by reversing the transmembrane pressure, pulsating cross-flow create velocity fluctuations in the feed to promote back transport, air slugs, scouring particles, vibrating modules or rotating disks increase shear and mixing close to the membrane and finally, sonication promotes back transport of deposits by vibrations and cavitations [62, 63].

A recent development is the microsieve. They have a narrow pore size distribution and a smooth inert silicon nitride surface. Further their hydraulic resistance is very low, allowing extremely low transmembrane pressures. Transmembrane pressure can be two orders of magnitude lower compared to conventional membranes [7]. Van Rijn and Kromkamp [64] described the use of microsieves to reduce the amount of bacteria in milk. Bacterial

reduction of a decimal factor of 6.6 could be reached by filtering simulated milk ultrafiltrate, inoculated with *Bacillus subtilis* over a 0.5 μm microsieve in dead-end filtration. With microsieves, a high reduction of bacteria can be achieved at low transmembrane pressure, since these membranes have very high permeabilities. Hence, the use of microsieves seems very promising [64]. Brito-de la Fuente *et al*. [65] showed experimental results of the combination of silicon nitride microsieves combined with high frequency back pulsing, achieving fluxes from 5000–27 000 L h^{-1} m^{-2}.

5.Conclusions

Nowadays, the combination between microfiltration and pasteurization has shown to be the most efficient way to produce ESL milk. New ceramic membranes with 1.4 μm of pore size are the most studied tool to produce fresh milk of high microbiological quality, better taste and less production costs. UTP, Isoflux® or GP® concept seem to prove advantageous efficiency and performance in terms of permeate fluxes obtained. Silicon nitride microsieves are being introduced as a breakthrough technology due to their high flux and selectivity.

Acknowledgements

The authors acknowledge financial support from the Spanish Ministry of Science and Innovation (Project AGL2007-63998/ALI). We would also like to thank FICYT (Fundación para el fomento en Asturias de la Investigación Científica Aplicada y la Tecnología) for the grant for PhD studies of Leticia Fernández (BP 08-050) and C.A.P.S.A. (Coorporación Alimentaria Peñasanta) for its financial support.

References

1. Cheryan M.; Ultrafiltration and microfiltration handbook. Chicago: Technomic Publishing Company, Inc. 1998.

2. Nakao S.; Determination of pore size and pore size distribution 3. Filtration membranes. J. Membrane Sci. 1994; 96: 131-165.

3. Gésan-Guiziou G.; Membrane Processes in the dairy industry. Proceedings of NanoMem Course EA3: Nano-structured materials and membranes in the food industry, 15-24 september, Cetraro and Rende, CS, Italy. 2010.

4. Saboya L.V., Maubois J.-L.; Current developments of microfiltration technology in the dairy industry. Lait. 2000; 80: 541-553.

5. Elwell M.W., Barbano D.M.; Use of microfiltration to improve fluid milk quality. J. Dairy Sci. 2006; 89(1): 20-30.

6. Krieg N.R., Holt J.G.; Bergey's manual of systematic bacteriology Vol.1, Williams & Wilkins Co., Baltimore. 1984.

7. Brans G., Schroën C.G.P.H., van der Sman R.G.M. & Boom R.M.; Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. J. Membrane Sci.. 2004; 243: 263-272.

8. Olesen N., Jensen F.; Microfiltration. The influence of operation parameters on the process. Milchwissenshaft. 1989; 44: 476-479.

9. Ma Y., Ryan C., Barbano D.M., Galton D.M., Rudan M.A., Boor K.J.; Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. J. Dairy Sci.. 2000; Feb 83(2): 264-274.

10. Kosikowski F.V., Mistry V.V.; Microfiltration, ultrafiltration and centrifugation separation and sterilization process for improving milk and cheese quality. J. Dairy Sci. 1990; 73: 1411-1419.

11. Giffel M.C., van der Horst H.C.; Comparison between bactofugation and microfiltration regarding efficiency of somatic cell and bacteria removal. B. Int. Dairy Fed. 2004; 389: 49–53.

12. Fredsted L.B., Rysstad G., Eie T. Pure-Lac^{TM}: The new milk with protected freshness and extended shelf life. Heat Treatments & Alternatice Methods. IDF, 41, Square Vergote, B-1030 Brussels. 1996; 104-125.

13. Guerra A., Jonsson G., Rasmussen A., Waagner Nielsen E., Edelsten D.; Low cross-flow velocity microfiltration of skim milk for removal of bacterial spores. Int. Dairy J. 1998; 7: 849-861.

14. Madec M.N., Mejean S., Maubois J.L.; Retention of Listeria and Salmonella cells contaminating skim milk by tangential membrane microfiltration ("Bactocatch process"). Lait. 1992; 72: 327-332.

15. Glimenius A.R., Jansson G.T., Kemi K.W., Sandblom R.M.; Filtering method for separating skim milk from milk products. US Pat. No. 4.140.806. 1979.

16. Piot M., Vachot J.C., Veaux M., Maubois J.-L.; Brinkmaan, G.E., Écrémage et épuration bacteriénne du lait entier cru par microfiltration sur membrane en flux tangentiel. Technique Laitière Market, 1987; 1016: 42-46.

17. Goudedranche H., Fauquant J., Maubois J.-L.; Fractionation of globular milk fat by membrane microfiltration. Lait. 2000; 80: 93.

18. Zeman L. J., Zydney A.L.; Microfiltration and ultrafiltration principles and applications. New York, Marcel Dekker. ISBN 0-8247-9735-3; 1996.

19. Trouvé E., Maubois J.-L., Piot M., Madec M.N., Fauquant J., Roualt A. *et al.*; Rétention de différentes espèces microbiennes lors de l'épuration du lait par microfiltration en flux tangentiel. Lait. 1991; 71: 1-13.

20. Maubois J.-L.; Current uses and future perspectives of MF technology in the dairy industry. B. Int. Dairy Fed. 1997; 320: 37-40.

21. Grangeon A., Lescoche P., Millares M.; ISOFLUX® Membrane: The microfiltration mastering. 6th ICIM. Montpellier, France. 2000.

22. Baruah G. L., Nayak A., Belfort G.; Scale-up from laboratory microfiltration to a ceramic pilot plant: Design and performance. J. Membrane Sci. 2006; 274: 56-63.

23. Malmberg M., Holm S.; Low bacteria skim milk by microfiltration. N. Eur. Food Dairy J. 1998; 54: 75-78.

24. Pafylias I., Cheryan M., Mehaia M.A., Saglam N.; Microfiltration of milk with ceramic membranes. Food Res. Int. 1996; 29: 141-146.

25. Daufin G., Escudier J.P., Carrere H., Berot S., Fillaudeau L., Decloux M.; Recent and emerging applications of membrane processes in the food and dairy industry. Trans. IchemE. 2001; 79, 89.

26. Beolchini F., Veglio F., Barba D.; Microfiltration of bovine and ovine milk for the reduction of microbial content in a tubular membrane: a preliminary investigation. Desalination. 2004; 161: 251-258.

27. Fritsch J.A., Beliciu C., Moraru C.I. Microbial retention and membrane fouling during low temperature microfiltration of skim milk using ceramic membranes. Proceesings of the 9th Conference of Food Engineering. 2005.

28. Hoffman W., Kiesner C., Clawin-Rädecker I., Martin D., Einhoff K., Lorenzen P.C. *et al.*; Processing of extended shelf life milk using microfiltration. Int. J. Dairy Tech.. 2006; 59(4): 229-235.

29. Tami Industries. Technical directions for Inside Céram™ and Filtanium™ tubular ceramic membranes.

30. Osterland N.; Removal of bacteria and spores from milk by microfiltration. In: Procedures INRA-International Dairy Federation Seminar, New applications of membrane technology in the dairy industry, Saint Malo, France, p18. 1999.

31. van der Horst H.C., Hanemaaijer J.H.; Cross-flow microfiltration in the food industry. State of the art. Desalination. 1990; 77: 235-258.

32. Russel P.; A new fresh milk comes to Britain. European Dairy Magazine, 1999; 3: 25-27.

33. Brandsma R.L., & Rizvi S.S.H..; Manufacture of Mozarella cheese from highly-concentrated skim milk microfiltration retentate depleted of whey proteins. Int. J. Food Sci.Tech.. 2001; 36 (6): 611-624.

34. Binetti A.G., Bailo N.B., Reinheimer J.A.; Aplicaciones de la microfiltración a la industria láctea. Mundo Lácteo y Cárnico. 2004; Sept/Oct: 10-14.

35. Sadcheva S., Jain S., Ram J., Agarwal G.P.; Use of microfiltration to obtain long shelf life milk. Indian J. Dairy Sci. 2001; 54 (6): 297-303.

36. Lindquist, A. (1998). A method for the production of sterile skimmed milk, PCT Pat. WO No. 57549.

37. Kumar C.G., Anand S.K.; Significance of microbial biofilms in food industry: a review. Int. J. Food Microbiol. 1998; 42: 9-27.

38. Flint S.H., Bremer P.J., Brooks J.D.; Biofilms in dairy manufacturing plants – Description, current concerns and methods of control. Biofouling. 1997; 11(1): 81-97.

39. Cogan N.G., Chellam S.; Regularized Stokeslets solution for 2-D flow in dead-ed microfiltration: Application to bacterial deposition and fouling. J. Membrane Sci. 2008; 318(1-2): 379-386.

40. Melo L.F., Bottt T.R., Fletcher M., Capdeville B.; Biofilms: Science and technology. NATO Asi Series E, Kluver Academic Press, Dordreecht, The Netherlands. 1992.

41. Dunsmore D.G.; Bacteriological control of food equipment surfaces by cleaning systems. J. Food. Prot. 1981; 44: 15-20.

42. De Goederen G., Pritchard N.J., Hasting A.P.M.; Improved cleaning for the food industry. Kessler H.G., Lund D.B. (Eds.). Fouling and Cleaning in Food Processing. Druckerei Walch, Augsburg, FRG. pp 115-130.

43. Czechowski M.H., Banner M.; Control of biofilms in breweries through cleaning and sanitizing. Tech. Q. Masters Brew. Assoc. Am. 1990; 29: 86-88.

44. Hood S.K., Zottola F.A.; Biofilms in food processing. Food Control. 1995; 6: 9-18.

45. Barlett M., Bird M.R., Howell J.A.; An experimental study for the development of a qualitative membrane cleaning model. J.Membrane Sci. 1995; 105: 147-157.

46. Tragårdh G.; Membrane cleaning. Desalination. 1989; 71: 325-335.

47. Chong R., Jelen P., Wong W.; The effect of cleaning agents on a noncellulosic ultrafiltration membrane. Sep. Sci. Technol. 1985; 20: 325-335.

48. Kane D.R., Middlemass N.E.; Cleaning chemicals – State of the knowledge. D. Lund, E. Plett, C. Sandu (Eds.). Fouling and Cleaning in Food Processing. 1985; 312-335.

49. Smith K.E., Bradley R.L.; Ineffective cleaning of polysulfone ultrafiltration membrane systems and corrosion by bisulfate used as a sanitiser. J. Dairy Sci. 1986; 69: 1232-1240.

50. Bohner H.F., Bradley R.L.; Effective cleaning of polysulfone ultrafiltration systems. J. Dairy Sci. 1992; 75: 718-724.

51. Baker R.W., Cussler E.L., Eykamp W., Koros W.J., Riley R.L.; Membrane separation systems: Recent developments and future directions. Noyes Data Corporation, Park Ridge, NJ, 1991.

52. Smith K.E., Bradley R.L.; Activity of four enzyme based cleaners for ultrafiltration systems against proteins in skim milk and whey. J. Dairy Sci. 1987; 70: 243.

53. Bragulla S., Lintner K.; Basics of cleaning and disinfection for ultrafiltration, reverse osmosis and electrodialysis plants. Alimenta 1986, 5: 197-203.

54. Muñoz-Aguado M.J., Wiley D.E., Fane A.G.; Enzymatic and detergent cleaning of a polysulfone ultrafiltration membrane fouled with BSA and whey. J. Membrane Sci. 1996, 117(1-2): 175-187.

55. Argüello M.A., Álvarez S., Riera F.A., Álvarez R.; Enzymatic cleaning of inorganic ultrafiltration membranes used for whey protein fractionation. J. Membrane Sci. 2003, 216 (1-2):121-134.

56. Argüello M.A., Álvarez S., Riera F.A., Álvarez R.; Utilization of enzymatic detergents to clean inorganic membranes fouled by whey proteins. Sep. Purif. Technol. 2005, 41 (2):147-154.

57. Sandblom R.M.; Filtering process, SW Pat. No. 74.16.257. 1974.

58. Holm S., Malmberg R., Svensson K.; Method and plant for producing milk with low bacterial content. Eur. Pat. No. 0.194.286. 1984.

59. Solanki G., Rizvi S.S.H.; Physico-chemical properties of skim milk retentates from microfiltration. J.Dairy Sci. 2001; 84: 2381-2391.

60. Garcera D., Toujas E.; (Societé des Céramiques Tachniques) Support macroporeaux à gradient de perméabilité et son procédé de fabrication. Demande de Brevet No. 97.04.359. 1998.

61. Skrzypek M., Burger M.; Isoflux® ceramic membranes – Practical experiences in dairy industry. Desalination. 2010; 250: 1095-1100.

62. Krstić, D.M., Tekić, M.N., Carić, M.Đ., & Milanović, S.D.; The effect of turbulence promoter on cross-flow microfiltration of skim milk. J. Membrane Sci. 2002; 208: 303-314.

63. Al-Akoum O., Ding L.H., & Jaffrin M.Y. Microfiltration and ultrafiltration of UHT skim milk with a vibrating membrane module. Sep. Purif. Technol. 2002; 28: 219-234.

64. van Rijn C.J., Kromkamp J.; Method for filtering milk, WO Patent 0209527; 2001.

65. Brito-de la Fuente E., Torrestiana-Sánchez B., Martínez-González E.,Mainou-Sierra, J.M.; Microfiltration of whole milk with silicon microsieves: Effect of process variables. Chem. Eng. Res. Des. 2010; 88: 653-660.

66. Law B.A., Goodenough P.W.; Enzymes in milk and cheese production. Tucker, G.A. Woods, L.F.J. eds. Enzymes in Food Processing, 2nd edition. Bishopbriggs. Blackie Academic & Professional. 1995; 114-143.

67. Kjaerulff (2000) cited by Rysstad G., Kolstad J.; Extended shelf life milk – advances in technology. Int. J. Dairy Tech. 2006; 59: 85-96.

68. Eino M.F.; Lessons learned in commercialization of microfiltered milk. B. Int. Dairy Fed.. 1997; 320: 32-36.

69. Grangeon A., Lescoche P.; Flat ceramic membranes for the treatment of dairy products: comparison with tubular ceramic membranes. Lait. 2000; 80: 5-14.

70. Lawrence, N.D., Kentish, S.E., O'Connor, A.J., Barber, A.R., & Stevens, G.W. (2008). Microfiltration of skim milk using polymeric membranes for casein concentrate manufacture. Sep. Purif. Technol. 2008; 60: 237-244.

71. Piry A., Kühnl W., GreinT., Tolkach A., Ripperger S., Kulozik U.; Length dependency of flux and protein permeation in crossflow microfiltration of skimmed milk. J. Membrane Sci. 2008; 325: 887-894.