

MODIFICACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE SUPERFICIE EN MEMBRANAS DE POLIETERSULFONA EMPLEANDO RADIACIÓN ULTRAVIOLETA Y SU EFECTO EN LA PURIFICACIÓN DE “INMUNOGLOBULINA Y” POR ULTRAFILTRACIÓN

F. Javier Hernández Campos^{1*}, W. Netzy Hernández Díaz¹, Beatriz Torrestiana Sanchez², J. Pablo Pérez Orozco¹, L. Alberto Arau Roffiel, Alberto Alvarez Castillo¹

¹Instituto Tecnológico de Zacatepec, Calzada Tecnológico # 27, Col. Centro, Zacatepec, CP 62780, Mor., México. *Correo electrónico: javfco@yahoo.com

²Instituto Tecnológico de Veracruz, Av. M.A. de Quevedo #2779, CP 91860, Veracruz, Ver, México.

Recibido: Enero 2012; Aceptado: Julio 2012

RESUMEN

El uso de membranas poliméricas modificadas ha permitido mejorar la eficiencia de los procesos de separación y purificación mediante el empleo de la ultrafiltración. En el presente trabajo se evaluó el efecto que tiene la modificación superficial con radiación ultravioleta (RUV) sobre el desempeño de membranas de polietersulfona (PES) en la recuperación de inmunoglobulina Y (IgY) mediante la ultrafiltración de la fracción proteica hidrosoluble (FPH) de la yema de huevo a pH 6.7 y diferentes condiciones de fuerza iónica. Tanto en permeado como en retenido se cuantificó la concentración de IgY mediante inmudifusión radial y la proteína total mediante el método de Bradford. El efecto de la modificación en la membrana por RUV fue evaluado midiendo el ángulo de contacto mediante la técnica de la burbuja de aire y midiendo los flux de permeado en estado estacionario empleando agua deionizada. La modificación de la membrana permitió obtener incrementos en los valores de selectividad (Ψ) y factor de purificación (P) de 25,8 y 36,6%, respectivamente, así como disminuciones en el taponamiento de los poros con lo que se logró una mayor eficiencia en el proceso de lavado enzimático de las membranas.

Palabras claves: Membranas poliméricas, polietersulfona, ultrafiltración,

ABSTRACT

Modified polymeric membranes have improved the ultrafiltration separation and purification processes efficiencies. The present work evaluated the effect of the surface ultraviolet modification of the polyethersulfone membrane on the Immunoglobulin Y (IgY) recovery from egg yolks water soluble protein fraction during ultrafiltration at pH 6.7 and different ionic strength conditions. Permeated and Retented IgY's and total protein concentrations were evaluated by radial immunodiffusion and Bradford methods respectively. To determine the effect of the Ultraviolet radiation modification, the contact angle of the modified membrane was measured by the air bubble technique and the stationary permeated flux of deionized water was evaluated. The modified membranes showed an increment on the process selectivity (Ψ) and purification factors (P) (25.8 y 36.6%, respectively), and a reduction of the pore fouling, improving the efficiency of the membranes enzymatic wash.

Keywords: Polymeric membranes, Polyethersulfone, Ultrafiltration

1. INTRODUCCIÓN

La ultrafiltración es una operación que encuentra un lugar preponderante en el procesamiento de productos biotecnológicos (recuperación de proteínas, antibióticos, inmunoglobulinas, etc.). En general se utiliza para separar solutos en suspensión dentro de una solución, o bien para concentrar algún producto de interés, explotando en ambos casos las diferencia de tamaño entre los solutos

presentes, mediante el empleo de una membrana polimérica como medio filtrante [1]. En general, en los procesos de ultrafiltración, se encuentran diferentes factores (físicoquímicos y físicos) que influyen en las variables de separación del proceso (flux de permeado, selectividad, factor de purificación, etc.). Dichos factores son el pH y la fuerza iónica de la solución, la presión transmembrana y el diseño del módulo (hidrodinámica), así como las propiedades de superficie de la membrana.

En cuanto a su estructura las membranas pueden ser de tipo no poroso densas, poroso asimétricas, poroso isotrópicas y cargadas eléctricamente [2]. Las membranas cargadas eléctricamente son aquellas en las que se han fijado iones cargados eléctricamente (positivos o negativos) y pueden ser de tipo no poroso o poroso, siendo más efectivo su funcionamiento en el caso de las membranas de tipo poroso. En este tipo de membranas se busca que la separación no sea solo por diferencia de tamaño, sino que además, exista una exclusión de tipo electrostático misma que se logra mediante una modificación de la membrana [2]. La creación de membranas modificadas para su utilización en operaciones de separación se da a partir de la necesidad de incrementar la eficiencia en la separación de mezclas de solutos con pesos moleculares muy cercanos [3], así como minimizar las interacciones entre los solutos y la membrana causantes de los fenómenos de taponamiento y disminución del flux [4,5]. La modificación puede llevarse a cabo mediante dos formas diferentes: tratamiento químico, o bien por exposición a radiaciones. En ambos casos, lo que se busca es modificar la carga superficial de la membrana y de esta forma tener una selectividad, combinando la separación por tamaño y carga que permita hacer más eficiente la operación de purificación [6,7]. En el caso de la modificación por tratamiento químico se busca ligar un grupo funcional con carga neta positiva (aminas) o negativa (sulfatos) a la superficie de los poros de la membrana [3, 5, 6]. En la modificación por exposición a radiación, se busca activar (o liberar) radicales libres propios del material de manufactura de la membrana (poliamida, polisulfona, o polietersulfona), así como la conformación geométrica de los poros (ángulos de inclinación y/o tamaño) [4].

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la modificación superficial de membranas de polietersulfona mediante radiación ultravioleta en variables de eficiencia tales como selectividad (Ψ), factor de purificación (P), flux de permeado en estado estacionario (J_{SS}) y porcentaje de recuperación (%R) durante el proceso de separación de inmunoglobulina Y (IgY).

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Materiales

2.1.1. Especificaciones de los materiales empleados. Fracción proteica hidrosoluble (FPH), obtenida a partir de la yema de huevo mediante la técnica propuesta por Akita y Nakai en 1992 [8]. Agua deionizada (*Milli-Q Academic, Millipore Inc.*), ácido clorhídrico 0,1 N (HCl), Hidroxido de Sodio 0,1 N (NaOH), cloruro de sodio (NaCl), reactivo de *Bradford*, albumina de suero bovino (BSA), solución de agarosa tipo IV al 1% p/v en buffer de fosfatos 0,01 M (PBS), Antígeno anti-IgY incubado en conejo (concentración de proteína completa 2,5 mg/mL), inmunoglobulina Y pura (IgY), membranas de polietersulfona (PES) de corte molecular de 100 kDa (*Millipore*).

2.2. Métodos.

2.2.1. Ensayos analíticos.

2.2.1.1. Cuantificación de proteínas totales. La concentración de proteínas totales fue determinada por el método de *Bradford* [9]. Para la determinación se tomaron 0,05 mL de la muestra a analizar y se colocaron en un tubo de ensayo con 1,5 mL de reactivo de Bradford (*SIGMA B6916*). La mezcla se agitó durante 1 minuto empleando un vortex (*Mixer, modelo VM20*). La muestra se dejó incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se tomó lectura de absorbancia a una longitud de onda de 595 nm en un espectrofotómetro marca *Biorad (Smartspec 3000)*. Las unidades de absorbancia obtenidas se correlacionaron con una curva tipo previamente construida a fin de determinar la concentración de proteína presente en la muestra. La curva tipo se construyó utilizando soluciones de BSA (*SIGMA A7906*) a diferentes concentraciones (0,1 – 1,0 mg·mL⁻¹).

2.2.1.2. Cuantificación de IgY. La técnica empleada fue la desarrollada por *Mancini* [10] con una modificación realizada por *Polson* en 1980 [11], la cual consiste en suplir el gel de agar por uno de agarosa al 1,0% con el fin de evitar las posibles reacciones entre la agarpectina (del agar) y los residuos de lisozima presentes en las muestras no purificadas de IgY. Para la preparación del gel se tomaron alícuotas de 6 mL de agarosa y se les adicionaron 150 µL de antígeno (*SIGMA*) previamente diluido e incubado a 56°C en 1.850 µL de solución amortiguadora salina de fosfatos (PBS). Esta solución se mezcló perfectamente y se vació en los soportes de vidrio para permitir la gelificación cuidando que el grosor del gel fuera uniforme. Una vez formado el gel se perforaron pozos de 2 mm de diámetro en los cuales se inyectaron 2,5 µL de muestra. Una vez inyectadas las muestras, se incubó el gel durante 48 horas a 37°C para permitir que la reacción antígeno-anticuerpo se llevara a cabo. Después de la incubación se eliminó el exceso de proteína presente en el gel mediante múltiples lavados con una solución de NaCl al 1%. Finalmente, el gel se tiñó utilizando la misma metodología empleada en la tinción de los geles de electroforesis. Para cuantificar la IgY se midieron los halos de inmunoprecipitación, y se correlacionaron con una curva tipo de IgY pura (*SIGMA I4881*) construida en cada gel.

2.2.2. Métodos experimentales

2.2.2.1. Acondicionamiento de la FPH. Con el fin de acondicionar la solución de la Fracción Proteica Hidrosoluble (FPH) a cada una de las condiciones de fuerza iónica (1.500 mM, 150 mM y sin sal) evaluadas, se tomaron alícuotas de 150 mL de la solución de FPH y se les adiciono NaCl en las cantidades requeridas. Posterior a esto se ajusto el valor de pH de la FPH a 6,7, ya que a este valor la IgY en solución tiene una carga neta negativa. Cada una de las soluciones de FPH acondicionadas fueron ultrafiltradas utilizando las membranas de Polietersulfona sin modificar (PES) y modificada (MPES).

2.2.2.2. Modificación de la membrana de polietersulfona. Las membranas de polietersulfona fueron sometidas a una modificación mediante radiación ultravioleta (RUV) de acuerdo a la metodología propuesta por *Nyström y Järvinen* en 1991 [4]. Para lo que, una membrana nueva fue colocada en el interior de un cristizador con 100 mL de agua deionizada y sometida a agitación (≈ 50 ciclos por minuto) en el interior de una cámara oscura con lámpara de UV (254 nm) durante de 20 minutos. Una vez pasado este tiempo la membrana fue refrigerada a 4°C durante 12 horas y posterior a esto fue empleada en los experimentos de ultrafiltración.

2.2.2.3. Medición de ángulos de contacto. Los ángulos de contacto de la superficie de la membrana fueron medidos empleando la técnica de la burbuja de aire capturada descrita por *Zhang y Hallstrom* [12]. La superficie del lado filtrante de las membranas es colocada dentro de un recipiente cuadrado de vidrio con agua deionizada y mediante una micropipeta se colocan burbujas de aire sobre la superficie filtrante. El ángulo de contacto se midió empleando una cámara digital (*Sony Handycam* con lentes *Carl Zeiss*) conectada a un monitor. El valor final es el resultado de 15 mediciones de ángulo en diferentes burbujas colocadas en la superficie de la membrana.

2.2.2.4. Experimentos de ultrafiltración. En el proceso de ultrafiltración se busca que la mayor cantidad de las proteínas consideradas como contaminantes sean eliminadas en el permeado evitando al mismo tiempo tener un alto porcentaje de pérdida de la proteína de interés (IgY). Las pruebas de ultrafiltración en flujo pistón se realizaron en una celda *Amicon* 8.200 con las siguientes características: capacidad de la celda 180 mL, diámetro de la membrana 63,5 mm, área efectiva de la membrana 31,67 cm² y presión máxima de operación 75 psi (5,3 kg·cm⁻²). 70 mL de la solución de la FPH previamente acondicionada al valor de pH y fuerza iónica evaluados, fueron colocados en la celda de ultrafiltración y se realizó la determinación de flux de permeado (≈ 3 horas) empleando una presión transmembrana (ΔP_{TM}) de 12 psi. Una vez finalizada la ultrafiltración, se midió el volumen del retenido y del permeado y se tomaron muestras de cada uno de ellos para cuantificar la selectividad (Ψ) y el factor de purificación (P).

2.2.2.5. Determinación de flux de permeado. Tal como se muestra en la Figura 1, las

mediciones de flux se realizaron utilizando una balanza *Ohaus* (*PRECISION Standar*) con tarjeta de adquisición de datos SW32 y el programa *Winwedge 32*. Dicho programa exporta datos de peso a una hoja de Excel en donde los datos son convertidos a flux de permeado empleando los datos del área de la membrana, densidad del permeado y tiempo de muestreo. Los experimentos se realizaron sin agitación, a temperatura ambiente (25°C) y una ΔP_{TM} de 12 psi aplicada con nitrógeno comprimido.

2.2.2.6. Caracterización de las membranas. Antes de emplear las membranas en la ultrafiltración de la fracción proteica hidrosoluble, fue necesario caracterizarlas. Lo anterior con el fin de evaluar las pérdidas de flux debido al taponamiento, así como para evaluar si la membrana es capaz de recuperar su flux original a una determinada ΔP_{TM} y determinar si puede ser reutilizada o no. Una vez armado el equipo de ultrafiltración (Figura 5.5), se llenó con agua deionizada y se aplicó una ΔP_{TM} de 12 psi, permitiendo que toda el agua permee mientras se realiza la toma de datos por parte del programa. Lo anterior se repitió empleando ΔP_{TM} de 16 y 20 psi. De los datos obtenidos se seleccionaron los que corresponden a la región flux en estado estacionario.

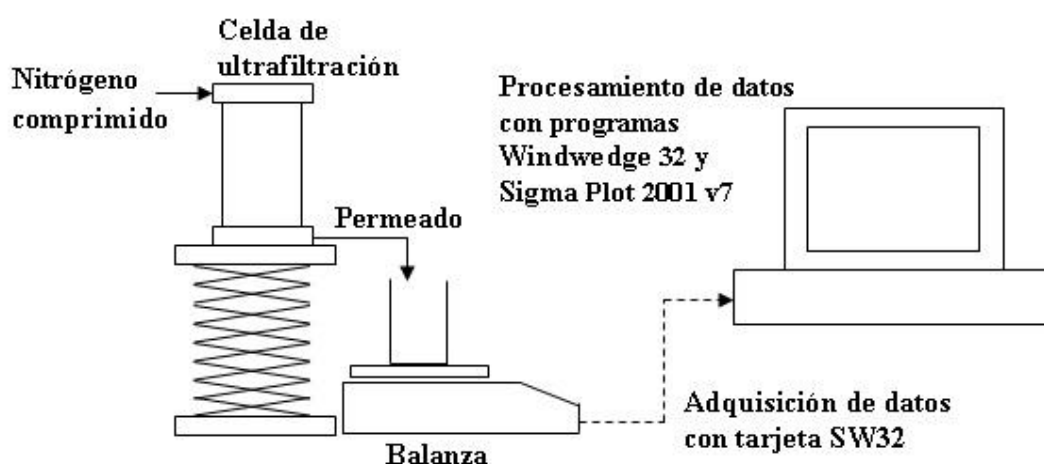


Figura 1. Sistema de ultrafiltración por flujo pistón.

2.2.2.7. Determinación de pérdida de flux de permeado. Una vez realizada la ultrafiltración de la FPH la membrana fue retirada de equipo y con el fin de eliminar la proteína depositada sobre la superficie de la misma se colocó en un cristalizador con 50 mL de agua deionizada y se sometió a agitación durante 10 minutos a 10 ciclos por segundo. Una vez pasado ese tiempo la membrana se escurrió y se colocó de nuevo en el equipo de ultrafiltración, mismo que se llenó con agua deionizada y se midieron los flux de permeado a ΔP_{TM} de 12, 16 y 20 psi. De los datos obtenidos se seleccionaron los que corresponden a la región de flux en estado estacionario y se compararon dichos resultados con los obtenidos en el punto 2.2.2.5.

2.2.2.8. Lavado enzimático de las membranas. Después de haber determinado la pérdida de flux, las membranas fueron colocadas en un cristizador con 400 mL de solución enzimática al 10% (*Tergazyme*) y se sometió a agitación (10 ciclos por segundo) con calentamiento (45°C) durante 10 minutos. Posterior a esto la membrana se colocó en el equipo de ultrafiltración y se hizo pasar el total del volumen de la solución enzimática a una presión de 8 psi, repitiendo este paso tres veces más, cuidando que la temperatura de la solución no disminuyera de los 40°C. Finalmente se hicieron pasar 500 mL de agua deionizada a 8 psi para eliminar los residuos de la solución enzimática.

2.2.3. Análisis de datos. La eficiencia de un proceso de ultrafiltración puede ser evaluada por medio de parámetros tales como la selectividad y el factor de purificación [13]. La selectividad (Ψ) es un valor adimensional definido por:

$$\Psi = \frac{S_1}{S_2} \quad (1)$$

En donde S_1 y S_2 son los coeficientes de separación observados para las proteínas contaminantes y la IgY respectivamente, mismos que se calculan mediante:

$$S_x = \left(\frac{C_f}{C_s} \right) \quad (2)$$

En donde C_f y C_s son las concentraciones de la proteína específica en el filtrado y la alimentación respectivamente. El factor de purificación (P) para la IgY en el retenido se define como:

$$P = \frac{(VC_2)_F / (VC_2)_i}{(VC_1)_F / (VC_1)_i} \quad (3)$$

En donde V es el volumen de trabajo, C_1 y C_2 son las concentraciones de las proteínas contaminantes y de IgY respectivamente, y los subíndices i y F . corresponden a inicial y final respectivamente.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Efecto de la modificación de la membrana sobre el ángulo de contacto estático y el flux de permeado. Después de la modificación por RUV, se pudo observar un decremento significativo ($\approx 28,5\%$) en el ángulo de contacto estático de la membrana de polietersulfona (PES), mientras que en las membranas de PES el ángulo de contacto fue de $56^\circ \pm 2$, en las membranas

modificadas (MPES) fue de $40^\circ \pm 3$. La disminución en el ángulo de contacto indica un incremento en la hidrofiliidad de la membrana, misma que se da por el incremento de grupos OH liberados en la superficie de la membrana debido a la exposición a la RUV. Resultados similares han sido reportados por *Pieracci y colaboradores* [14] y *Kilduff y colaboradores* [15] quienes modificaron membranas de polietersulfona de 10 kDa obteniendo disminuciones en los ángulos de contacto de entre 21 a 32%, respectivamente. Así mismo el incremento de grupos OH sobre la superficie de la membrana permite que dicha superficie adquiriera una carga neta negativa, lo que trae como consecuencia que el proceso de separación de solutos sea no solo por exclusión molecular, sino también por exclusión electrostática, fenómeno que ha sido descrito por *Eshani y Nyström* [7].

En la Figura 2 se muestra una comparación entre los fluxes de permeado en estado estacionario (J_{SS}) empleando agua deionizada (caracterización) antes y después del proceso de ultrafiltración de la FPH a pH 6,7 y diferentes condiciones de fuerza iónica obtenidos con las membranas de PES y MPES. Como se puede observar, el valor de J_{SS} obtenido en la caracterización (Línea en negro en Figura 2B) de la membrana MPES incremento en aproximadamente un 55% con respecto al obtenido con la membrana PES (Línea en negro en Figura 2A), siendo este resultado similar al obtenido por *Eshani y Nyström* [7] y *Pieracci y colaboradores* [16] con membranas de polietersulfona de 30 y 10 kDa sin modificar y modificadas por RUV. Los resultados en las mediciones de los valores de J_{SS} con agua obtenidos con la MPES, así como su decremento en el ángulo de contacto estático, confirman el incremento en la hidrofilia de dichas membranas (MPES), concordando con lo reportado por otros autores [7, 16–18].

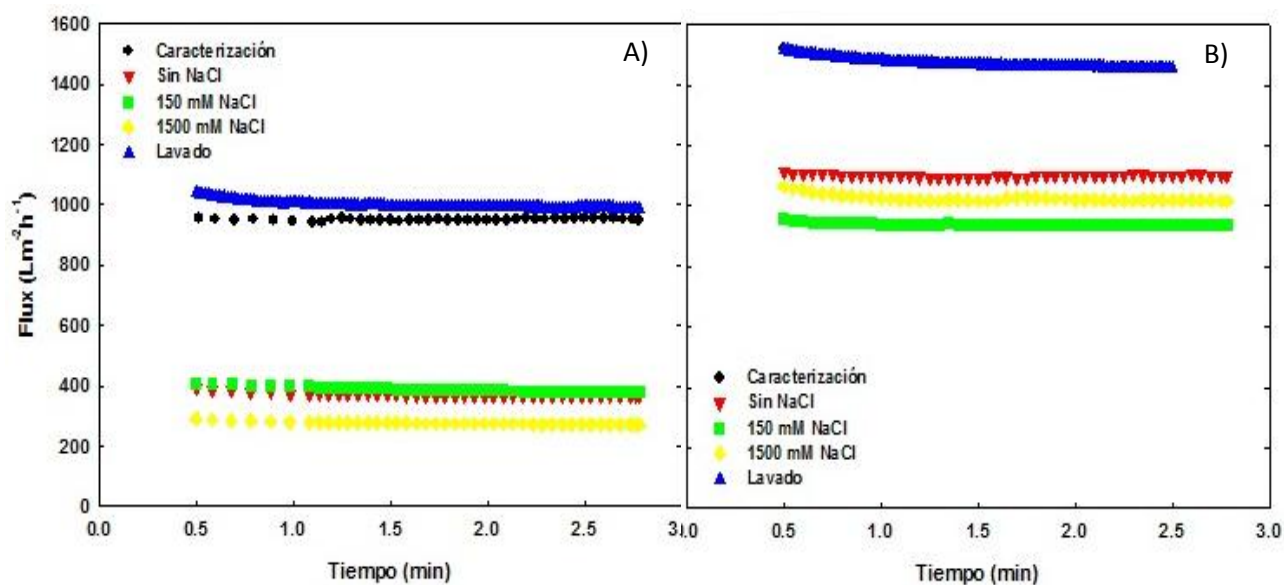


Figura 2. Comparación entre los fluxes de permeado en estado estacionario con agua antes (caracterización) y después de la ultrafiltración de la FPH a pH 6.7 a diferentes condiciones de fuerza iónica empleando membranas de PES (A) y MPES (B).

Con respecto a los valores de J_{SS} con agua deionizada obtenidos después del proceso de ultrafiltración de la FPH (antes del lavado enzimático), se observó que cuando se empleó la membrana MPES, en todas las condiciones de fuerza iónica evaluadas existieron incrementos de más del doble en los valores de flux que cuando se empleó la membrana de PES. Lo anterior es un indicativo de que las membranas de MPES sufrieron un menor taponamiento y por lo tanto se esperaría que el proceso de limpieza fuera más eficiente en estas membranas.

3.2. Efecto de la modificación de la membrana sobre la limpieza de la membrana. Al comparar los valores de J_{SS} para la caracterización y lavado de la membrana, obtenidos con las membranas de PES y MPES (Líneas en negro y azul en Figura 2 A y B, respectivamente), no se observan diferencias significativas. Esto significa que después de haber sido empleadas en los procesos de ultrafiltración, ambas membranas logran tener una recuperación en el flux de permeado del 100% con respecto al original, lo cual indica que no existe un efecto en la eficiencia de recuperación de la membrana debido a la modificación por RUV. Sin embargo, como se puede observar en la Tabla 1, si existe un efecto con respecto a las estrategias de lavado empleadas, ya que para la membrana MPES disminuyen el número de ciclos de lavado (uno menos), la cantidad de solución limpiadora empleada ($\approx 25\%$) y el tiempo de lavado ($\approx 25\%$). Lo anterior concuerda con los resultados reportados en la Figura 1 y lo explicado al final de la sección anterior.

Tabla 1. Condiciones de lavado enzimático empleadas para limpiar las membranas de PES y MPES después del proceso de ultrafiltrado de la FPH.

	<i>PES</i>	<i>MPES</i>
Cantidad de solución limpiadora empleada	400 mL	300 mL
Número de ciclos	4	3
Tiempo de lavado	40 Minutos	30 Minutos

3.3. Efecto de la modificación de la membrana sobre la selectividad (Ψ) y el factor de purificación (P). En la Tabla 2 se muestra el efecto de la modificación por RUV sobre la selectividad (Ψ) y el factor de purificación (P) a diferentes condiciones de fuerza iónica. De manera general se puede observar que los valores de Ψ y P mejoran de manera significativa cuando se emplea la membrana de MPES, efecto especialmente evidente en ausencia de NaCl, en donde existen incrementos de 25,8 y 36,6% en los valores de la Ψ y P respectivamente.

Tabla 2. Valores de selectividad (Ψ) y factor de purificación (P) obtenidos en la ultrafiltración de la FPH a pH de 6.7 a diferentes condiciones de fuerza iónica empleando membranas de PES y MPES.

	PES			MPES		
Fuerza iónica	0	150	1.500	0	150	1.500
Ψ	4,02±0,28	1,06 ±0,05	1,22 ±0,34	5,42 ±0,24	2,05 ±0,31	1,34 ±0,26
P	2,70±0,30	1,05 ±0,41	1,11 ±0,23	4,26 ±0,28	2,95 ±0,22	2,60 ±0,38

La mejora en dichos parámetros se debe a que a pH de 6,7 la IgY presenta una carga neta negativa, lo que provoca que la superficie de la membrana de MPES (cargada negativamente) la repela, permitiendo una mayor retención de la IgY debido a un efecto combinado de exclusión molecular y exclusión electrostática. Resultados similares han sido reportados por otros autores [7, 19] empleando soluciones modelo de BSA.

También se observa que la presencia de NaCl tiene un efecto negativo en el proceso de separación. Esto es más evidente a valores de NaCl de 1500 mM, en donde los valores de Ψ obtenidos para las membranas de PES y MPES no presentan una diferencia significativa. Una posible explicación a los resultados obtenidos puede ser que las proteínas cargadas tienden a formar agregados de gran tamaño mediante interacciones iónicas (utilizando los iones de la sal disuelta), evitando su permeado y disminuyendo los valores de Ψ . Resultados similares han sido reportados por Hernández-Campos y colaboradores [19], Saksena y Zydney [20], Ghosh y Cui [21], Eshani y colaboradores [22] y De Meulenaer y Huyghebaert [23] empleando diferentes soluciones modelo de proteínas.

Tabla 3. Valores de flux de permeado en estado estacionario (J_{SS}), porcentaje de IgY retenido ($\%R_{IgY}$) y porcentaje de proteína contaminante retenida ($\%R_{PC}$) obtenidos en la ultrafiltración de la FPH a pH de 6.7 a diferentes condiciones de fuerza iónica empleando membranas de PES y MPES.

	PES			MPES		
Fuerza iónica	0	150	1500	0	150	1500
$\%R_{IgY}$	93,70 ±5,4	66,03 ±4,5	78,22 ±11,0	90,01 ±6,6	70,12 ±11,5	83,15 ±14,1
$\%R_{PC}$	78,84 ±3,2	68,96 ±6,8	81,47 ±8,1	67,38 ±7,7	81,58 ±7,9	72,70 ±9,8
J_{SS}	2,71 ±0,30	3,04 ±0,25	2,65 ±0,41	2,79 ±0,40	3,13 ±0,28	2,69 ±0,15

En la Tabla 3 se muestran los datos de flux de permeado y los porcentajes de retención de IgY y proteína contaminante (PC) obtenidos durante el proceso de ultrafiltración de la FPH. Se puede

observar que al incrementar la concentración de NaCl la diferencia entre los valores de $\%R_{IgY}$ y $\%R_{PC}$ no es significativa, esto es un indicativo de que a las concentraciones de 150 y 1.500 mM de NaCl el proceso de separación no es eficiente. En ausencia de NaCl la diferencia entre estos parámetros si es significativa, indicando que el proceso de separación es considerablemente mejor. Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos en los valores de Ψ y P previamente presentados.

4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que la modificación de las membranas de Polietersulfona mediante radiación ultravioleta mejora el funcionamiento general de las mismas durante el proceso de separación de la IgY mediante la ultrafiltración de la fracción proteica hidrosoluble de la yema de huevo. Con respecto al flux de permeado en estado estacionario empleando agua, se observaron incrementos cercanos al 50% en comparación a los obtenidos con la membrana sin modificar, siendo esto resultado de una disminución en los ángulos de contacto de los poros de las membranas modificadas. También se observó una mejora en las condiciones de lavado de las membranas modificadas ya que se disminuyó la cantidad de solución limpiadora empleada, así como el tiempo y número de ciclos de lavado, lo anterior como una consecuencia en la disminución del taponamiento de los poros de las membranas modificadas. Finalmente la mejora en las variables de proceso Ψ y P , se debió básicamente a que en las membranas modificadas se presentó un efecto combinado de exclusión molecular con exclusión electrostática resultado de la repulsión electrostática entre las cargas negativas de la superficie de la membrana y la IgY, incrementando la diferencia en el porcentaje de retención de IgY con respecto al de las proteínas contaminantes.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Harrison RG, Todd P, Rudge SR, Petrides DP “Bioprocess design; Bioseparations science and engineering”, 1^a ed. Oxford University Press, **11**, 362 (2003)
- [2] Bøddeker KW “Liquid separations with membranes. An introduction to barrier interference”, Ed. Springer, **1**, 1 (2008)
- [3] Nakao S, Osada H, Kurata H, Tsuru T, Kimura S “Separation of protein by charged ultrafiltration membranes”, *Desal.*, **70**, 191 (1988)
- [4] Nyström M, Järvinen P “Modification of polysulfone ultrafiltration membranes with UV irradiation and hydrophilicity increasing agents”, *J. Membr. Sci.*, **60**, 275 (1991)
- [5] Düpütell D, Staude E, Wyszynski, A “Sorption of human and charged ultrafiltration membranes made from polysulfone and polyethersulfone”, *Desal.*, **95**, 75 (1994)
- [6] Miyama H, Tanaka K, Nosaka Y, Fujii N “Charge ultrafiltration membrane for permeation of proteins”, *J. App. Polymer Sci.*, **36**, 925 (1988)
- [7] Eshani N, Nyström M “Fractionation of BSA and myoglobin with modified and unmodified ultrafiltration membrane”, *Biosepar.*, **5**, 1 (1995)

- [8] Akita EM, Nakai S “Immunoglobulins from egg yolk: Isolation and purification”, *J. Food Sci.*, **57**(3), 629 (1992)
- [9] Bradford MM “A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding”, *Anal. Biochem.*, **72**, 248 (1976)
- [10] Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF “Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion”, *Immunochem.*, **2**, 235 (1965)
- [11] Polson A, Von Wechmar MB, Van Regenmortel MHV “Isolation of viral IgY antibodies from yolks of immunized hens”, *Immunol. Comm.*, **9**, 475 (1980)
- [12] Zhang W, Hallstrom B “Membrane characterization using the contact angle technique. I. Methodology of the captive bubble technique”, *Desal.*, **79**, 1 (1990)
- [13] Van Reis R, Zydney AL “A Bioprocess membrane technology”, *J. Membr. Sci.*, **297**, 16 (2007)
- [14] Pieracci J, Crivello J, Belfort G “Photochemical modification of 10 kDa polyethersulfone ultrafiltration membranes for reduction of biofouling”, *J. of Membr. Sci.*, **156**, 223 (1999)
- [15] Kilduff J, Mattaraj S, Pieracci J, Belfort G “Photochemical modification of poly(ether sulfone) and sulfonated poly(sulfone) nanofiltration membranes for control of fouling by natural organic matter”, *Desal.*, **132**, 133 (2000)
- [16] Pieracci J, Crivello J, Belfort G “Increasing membrane permeability of UV-modified poly(ether sulfone) ultrafiltration membranes”, *J. of Membr. Sci.*, **202**, 1 (2002)
- [17] Yamagishi H, Crivello J, Belfort G “Evaluation of photochemical modified poly(arylsulfone) ultrafiltration membranes”, *J. of Membr. Sci.*, **105**, 249 (1995)
- [18] Cho DL, Kim S, Huh YI, Kim D “Effects of surface modification of the membrane in ultrafiltration of waste water”, *Macromol. Res.*, **12**, 553 (2004)
- [19] Hernandez-Campos F, Brito-De la Fuente E, Torrestiana-Sánchez B “Purification of egg yolk immunoglobulin (IgY) by ultrafiltration: Effect of pH, ionic strength and membrane properties”, *J. Agric. and Food Chem.*, **58**, 187 (2010)
- [20] Saksena S, Zydney AL “Effect of solution pH and ionic strength on the separation of albumin from immunoglobulins (IgY) by selective filtration”, *Biotechnol. Bioeng.*, **43**, 960 (1994)
- [21] Ghosh R, Cui ZF “Fractionation of BSA and lysozyme using ultrafiltration: effect of pH and membrane pre-treatment”, *J. Membr. Sci.* **139**, 17 (1997)
- [22] Eshani N, Nyström M “Fractionation of natural model egg-white protein solutions with modified and unmodified polysulfone UF membranes”, *J. Membr. Sci.*, **123**, 105 (1997)
- [23] De Meulenaer B, Huyghebaert A “Isolation and purification of chicken egg yolk immunoglobulins: A review”, *Food Agric, Immunol.*, **13**, 275 (2001)