

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA PERMEACIÓN DE BIOMOLÉCULAS EN MEMBRANAS DE NANOFILTRACIÓN

Roy Pérez S^{1,2*}, Jordi Labanda²

1. Escuela de Química, Universidad Nacional, Costa Rica. Correo electrónico: roy.perez.salazar@una.cr

2. Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

Recibido Abril 2013; Aceptado: Agosto 2013

RESUMEN

En este trabajo se estudió la nanofiltración de soluciones de glicina y triglicina mediante dos membranas NF-90 y MPF36. Dentro de las actividades realizadas se discuten las interacciones ocurridas entre las variables que afectan el proceso de nanofiltración, esto con el fin de aplicar el ajuste a los datos experimentales del modelo *Spiegler-Kedem* e identificar los fenómenos ocurridos. Al final de la investigación se pudo demostrar la relación entre el rechazo de las biomoléculas anfóteras y su dependencia con el pH. También se identificó que un aumento de la fuerza iónica de la solución de alimentación, disminuye el rechazo máximo de las biomoléculas utilizadas.

Palabras claves: nanofiltración, biomoléculas, rechazo máximo, modelo de *Spiegler-Kedem*.

ABSTRACT

In this investigation was studied the nanofiltration of glycine and triglycine solutions with two membranes NF-90 and MPF36. The activities discussed are the interactions occurring between the variables that affect the process of nanofiltration, this in order to apply the experimental data fit the model *Spiegler-Kedem* and identify phenomena occurred. At the end of the investigation was able to demonstrate the relationship between the rejection of amphoteric biomolecules and their dependence on pH. We also identified that increase the ionic strength of the feed solution decreases the maximum rejection of the biomolecules

Keywords: nanofiltration, biomolecules, maximum rejection, *Spiegler-Kedem* model.

INTRODUCCIÓN

La nanofiltración (NF) es el proceso de membrana antes llamado “osmosis inversa de baja presión” o “*loose RO*” [1], nombradas así por el rango usual de trabajo, que oscila entre 3 – 20 bar mientras que las presiones de osmosis inversa varían de 10 a 100 bar. La NF es una técnica relativamente reciente que combina características de ultrafiltración y ósmosis inversa, ya que su mecanismo de separación se basa tanto en diferencias de tamaños, propio de la ultrafiltración, como en el proceso de disolución-difusión, como ocurre en la ósmosis inversa. La NF es una operación de media baja presión, que deja pasar sólo las moléculas de tamaño menores de 1 nm (10 Å), de aquí el término de NF. En la actualidad se diseñan para retener iones bivalentes (aniones y cationes) y moléculas grandes, dejando semipermeables a los iones polivalentes y moléculas de tamaño pequeño. Las membranas de NF operan en rangos más altos de corte de peso molecular (200 – 1.000 g·mol⁻¹), mientras que las membranas de OI son menos permeables. En el proceso de nanofiltración, la interacción entre la carga de la membrana y la del soluto juega un papel importante, haciendo efectiva la separación de iones de igual valencia.

Las membranas de NF han sido desarrolladas y comercializadas desde la pasada década,

primeramente fueron utilizadas en el tratamiento de efluentes con altas concentraciones de sulfato y de bicarbonatos de calcio y magnesio, para el ablandamiento de aguas ahora con más de 10 años de investigación son utilizadas para las separaciones gas-gas, gas-líquido, líquido-líquido o sólido-líquido. Entre las principales aplicaciones de la NF en la industria están: ablandamiento de agua [2], desalinización y purificación: [3, 4], agua potable [5-7], tratamiento de aguas residuales [8,9], industria alimentaria: en la producción de fruta y vegetales, clarificaciones de los jugos de frutas, clarificación de vinos [10], entre otras aplicaciones: separación de oxígeno y nitrógeno del aire para atmósferas modificadas, recuperación de aromas, concentración de extractos de café o té, recuperación de proteínas del plasma sanguíneo, recuperación de las proteínas del suero de la leche, pre-concentración de la leche, eliminación de tensioactivos y metales pesados, entre muchas aplicaciones más. Los procesos de membranas de NF han encontrado su camino en la industria en aplicaciones de diversos campos como alternativas viables a los procesos de separación de tradicionales como la extracción, intercambio iónico, evaporación y destilación. De allí la importancia de buscar en la NF una alternativa a los mecanismos de separación clásicos [11].

En cuanto a la separación de aminoácidos, la NF es una técnica muy reciente, el primer trabajo de investigación publicado es de 1994 de *Tsuru et al.* [1] fue el primer trabajo que empezó en encontrar la relación existente entre el punto isoeléctrico y al rechazo del aminoácido. *Timer et al.* [12] demostraron el efecto de la concentración de alimento en la NF. *Wang et al.*, simularon el proceso de concentración de NF y diafiltración con fenilalanina y ácido aspártico, basados en los datos retenciones obtenidas experimentalmente soluciones diluidas y concentradas. *Li et al.*, estudiaron la retención de glutamina y ácido glutámico en soluciones simples con la variación de la concentración del alimento, llevándolo al límite de solubilidad concluyendo que la retención de AA decrece con la concentración de alimento en la forma zwitterionica.

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio del comportamiento de la permeación de glicina y triglicina en membranas de nanofiltración, con el fin de aplicar y ajustar el modelo de *Splieger-Kedem* a los resultados experimentales y poder conocer mejor el proceso de filtración ocurrido.

MODELO MATEMÁTICO

Una parte del mecanismo de transferencia de materia en el proceso de NF se basa en el proceso de disolución-difusión, el cual está relacionado con el fenómeno de presión osmótica. Cuando es aplicada una fuerza impulsora a la corriente de entrada de un módulo de membranas, se producen dos corrientes, el permeado y el rechazo. El rechazo es aquella corriente que no atraviesa la membrana semipermeable, esta corriente posee una concentración mayor de soluto que el alimento. El factor de rechazo es utilizado como un índice de efectividad para la utilización de

membranas que define la medida del cambio de concentración del soluto retenido y el soluto que atraviesa la membrana:

$$R_{obs} = \frac{C_b - C_p}{C_b} \quad (1)$$

donde R_{obs} es el rechazo observado experimentalmente, C_b es la concentración de soluto en la corriente de rechazo y C_p es la concentración de soluto en la corriente de permeado. Un soluto será muy rechazado por una membrana cuando el factor de rechazo tiende a 1, y el soluto permeará totalmente la membrana cuando el rechazo tiende a 0.

El transporte de una solución binaria (formada por sal y agua) a través de membranas de NF puede ser descrito por el modelo fenomenológico de *Kedem* y *Katchalsky*, que se basa en la termodinámica de no equilibrio. El flujo de agua a través de una membrana, J_v , en función de la diferencia presión entre las dos caras de la membrana, ΔP , viene dado por la siguiente expresión

$$J_v = L_p \cdot (\Delta P - \sigma \cdot \Delta\pi) \quad (2)$$

donde L_p es la permeabilidad de disolvente en la membrana, $\Delta\pi$ es la diferencia la presión osmótica, σ es el coeficiente de reflexión, que es una medida del grado de la penetración de solutos a través de la membrana y se corresponde con el rechazo de soluto máximo. *Spiegler–Kedem* modificaron el modelo de *Kedem Katchalsky* por una forma diferencial de la ecuación (2) y tiene en cuenta el perfil de concentraciones en el interior de la membrana. El rechazo de soluto para una solución ideal fue deducido por *Spiegler–Kedem* mediante la integración de la ecuación diferencial del transporte de soluto y fue expresado en función del coeficiente de reflexión en las siguientes ecuaciones:

$$R = \frac{(1-F) \cdot \sigma}{1 - \sigma \cdot F} \quad (3)$$

con

$$F = \exp\left(-\frac{(1-\sigma) \cdot J_v}{R_g \cdot T \cdot L_s}\right) \quad (4)$$

donde R_g es la constante de los gases ideales y T la temperatura de permeación. Entonces, el proceso de separación NF se caracteriza mediante la determinación de L_p , L_s y σ .

PARTE EXPERIMENTAL

En los ensayos de NF se utilizó la glicina que la provee la casa comercial *VWR Prolabo*, y triglicina al 99% que la provee la casa comercial *Alfa Aesar*. Para ajustar el pH de las disoluciones anfotéricas se utiliza el $\text{HCl}_{(\text{ac})}$, H_2SO_4 y NaOH . La NF fue llevada a cabo mediante el módulo *Osmonics* (SEPA CF II Membrane Element Cell) que es una unidad a escala de laboratorio el cual permite realizar operaciones de filtración a flujo cruzado operando en un amplio rango de régimen de circulación, acompañado de los siguientes componentes: baño termostático (*Huber Polystat cc2*) y de refrigeración (*Haake CK20*), bomba de pistones (bomba CAT M/3CP 1121), regulador de velocidad (*Yaskawa, VS mini J7*), manómetros instalados a la entrada y salida del módulo de membranas y válvulas reguladoras de presión.



Figura 1. Fotografía del sistema de NF con las membranas NF 90 y MF 36.

La membrana se encuentra en el interior del módulo de *Osmonics*. En el depósito de alimentación se encuentra la disolución a filtrar, así como un medidor de pH, de conductividad eléctrica y de temperatura, opera en un régimen de circulación, posee un área de superficie efectiva de 140 cm^2 . La velocidad de circulación tangencial a la membrana fue $0,8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ que es el valor recomendado por el equipo de trabajo para evitar la polarización. Todos los experimentos se llevaron a cabo en $20 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Las membranas utilizadas fueron NF-90 y MPF 36, las características especiales se detallan en el Tabla 1.

Para la medición de glicina se utilizó la técnica del carbono orgánico total y el equipo utilizado es un *Shimadzu TOC-VCSH/CSN*, con catalizador de Pt (en cápsulas de alúmina) y para la cuantificación de la triglicina se utilizó la técnica de electroforesis capilar con las siguientes condiciones: diámetro interno $75 \mu\text{m}$, solución tampón de borax 20 mM (pH 9), potencial de separación $+25 \text{ kV}$, temperatura 25°C , $\lambda = 195 \text{ nm}$, con un pre-acondicionamiento de NaOH $0,1 \text{ M}$ durante 3 minutos, luego H_2O durante 3 minutos finalizando con borax durante 3 minutos.

Tabla 1. Características de las membranas utilizadas.

	<i>NF 90</i>	<i>MPF-36</i>
Marca	DOW TM FILTEC TM	Koch Membrane SeIRO®
Tipo de membrana	Poliamida "thin-film"	Acid/Base stable NF
Peso molecular de corte (g·mol ⁻¹)	200	1.000
Tamaño de poro (Å)	10	
Retención de glucosa	na	0,13–0,50
Condiciones de pH	3–10	0–13
Presión máx. (bar)	41	35
Presión mínima de gota (bar)	1	
Temperatura máx. (°C)	45	70
L_p (Lm ⁻² ·h ⁻¹ ·bar ⁻¹)		5,76
Punto Isoeléctrico		6–7

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La nanofiltración de todas las soluciones de glicina y triglicina se analizó a varias diferencias de presión trans-membrana. Se observó en todos los casos que el flujo de permeado aumentó linealmente con el aumento de la diferencia de presión trans-membrana. Así se pudo determinar con buena correlación la permeabilidad de la solución y el rechazo máximo (o coeficiente de reflexión) del soluto. La discusión de los resultados experimentales se fundamentará en la variación del rechazo máximo con el pH de la solución y la concentración de NaCl.

Membrana NF-90

NF de glicina 0,01M. La primera membrana utilizada fue la NF-90, que dispone de un peso molecular de corte de 200 g·mol⁻¹. Todas las soluciones analizadas mediante esta membrana mostraron esta relación lineal. Los valores de la permeabilidad, L_p , ajustados a los valores experimentales son los siguientes: (3,6 ± 0,1), (3,8 ± 0,2), y (4,3 ± 0,4) Lm⁻²·h⁻¹·bar⁻¹, para la especie positiva, neutra y negativa, respectivamente. Los valores son muy similares entre si, teniendo una ligera tendencia de incrementar el valor al aumentar el pH.

La Figura 1 muestra la evolución del rechazo máximo (o coeficiente de reflexión) de glicina en función del pH, desde 2,4 hasta 11,7. Se observa que el rechazo máximo es prácticamente

independiente del pH de la solución, tanto a pHs ácidos, neutro y básicos, siendo su valor promedio de $98\% \pm 2\%$. Este valor tan elevado significa que la glicina prácticamente no permea la membrana NF-90 fundamentalmente por impedimento estérico. Al modificar el pH de la solución se cambia la carga eléctrica de la glicina y esto podría dar lugar a pensar que la permeación de la glicina fuese diferente dependiendo de la carga molecular. Pero los resultados experimentales muestran que la interacción eléctrica entre las moléculas de glicina y la superficie de la membrana no es el mecanismo fundamental de la exclusión molecular observada. A pesar que el peso molecular de corte de esta membrana es de $200 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ y el peso molecular de la glicina es de $75 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, las moléculas de glicina no consiguen permear la membrana, debido a que el tamaño efectivo de las moléculas se incrementa considerablemente por la solvatación con las moléculas de agua que les rodean.

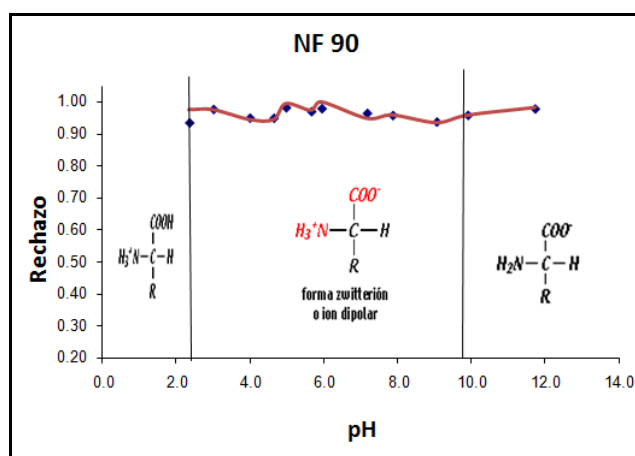


Figura 1. Variación del rechazo máximo de glicina 0,01M con en función del pH de la solución.

Membrana MPF-36

NF de glicina 0,01M. En la permeación de la molécula de glicina en la membrana MPF-36, se observó un comportamiento en la especie de glicina de ión diprótico (pH 6,6) con las especies cargadas (pH 2, 2,5, y 9,9) presentando un menor rechazo al aumentar el flujo de permeado y un mayor flujo de permeado al aumentar la presión del sistema. En la Figura 2 se muestra el rechazo máximo en función del pH de la solución tanto para la adición de HCl como la adición de H_2SO_4 . Se observa que el rechazo máximo es siempre inferior al 65%, alcanzando su valor mínimo (20%) a $\text{pH} = 6,6$ en presencia de HCl. En general, el rechazo máximo de glicina es inferior en presencia de HCl, aunque cuando el pH disminuye hasta valores inferiores a 3, el rechazo es prácticamente independiente del ácido adicionado. Por tanto, el rechazo máximo es superior con H_2SO_4 posiblemente debido a que el sulfato es un anión más grande y con más carga negativa que el anión cloruro, incrementando así la exclusión de la moléculas de glicina ya sea por factor estérico y/o eléctrico.

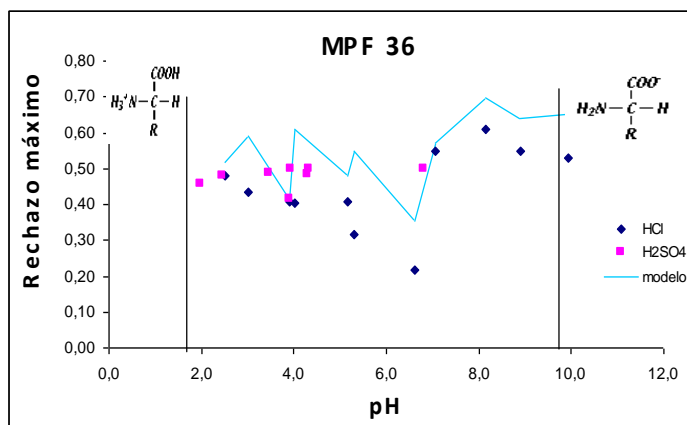


Figura 2. Variación del rechazo máximo de glicina 0,01 M en función del pH de la solución utilizando HCl y H₂SO₄.

NF de glicina 0,01 M y NaCl 0,1 M. El efecto de la fuerza iónica en la nanofiltración de glicina se analizó añadiendo una pequeña cantidad de NaCl. Así se estableció que la solución de alimento tendría la concentración inicial de 0,1 M de NaCl. La Figura 3 muestra el rechazo máximo de glicina en función del pH. No se observa una tendencia clara de los rechazos máximos, se podría decir que se sitúan alrededor del $30 \pm 5\%$. Este valor es sensiblemente diferente al obtenido en ausencia de NaCl (Fig. 2), donde los rechazos de glicina se situaban entre 30 y 50% a pH inferiores a 5. Además, se observa un descenso significativo del rechazo a pH básicos, del aproximadamente 50 al 25–30% en presencia de NaCl. Esta disminución observada en el rechazo de glicina en presencia de NaCl, puede ser debida al descenso de la interacción electrostática entre las moléculas de glicina y la superficie de la membrana. Así, se puede considerar que el NaCl produce un efecto apantallador de la carga superficial de la membrana, cambiando su estructura eléctrica, disminuyendo la repulsión de las moléculas de glicina y, por tanto, su rechazo. Este efecto es difícil de concretar su mecanismo de interacción, de hecho en la bibliografía no se ha encontrado artículos que concretasen las causas de la disminución en la interacción eléctrica. Algunos autores apuntan que el incremento de la fuerza iónica puede provocar una variación de la constante dieléctrica dentro de los poros de la membrana que podría facilitar la permeación de las moléculas de glicina [13]. La comprensión mecánica de este efecto se podría encontrar o deducir a partir del ajuste de los resultados experimentales mediante el modelo mecánico basado en la ecuación de *Nerst-Plank*, el efecto estérico, el efecto *Donnan* y la exclusión dieléctrica. En esta investigación no se ha trabajado con este modelo debido a su complejidad en la resolución de las ecuaciones diferenciales, tan sólo se ha intentado comentar los resultados con el modelo fenomenológico de *Spiegler-Kedem*.

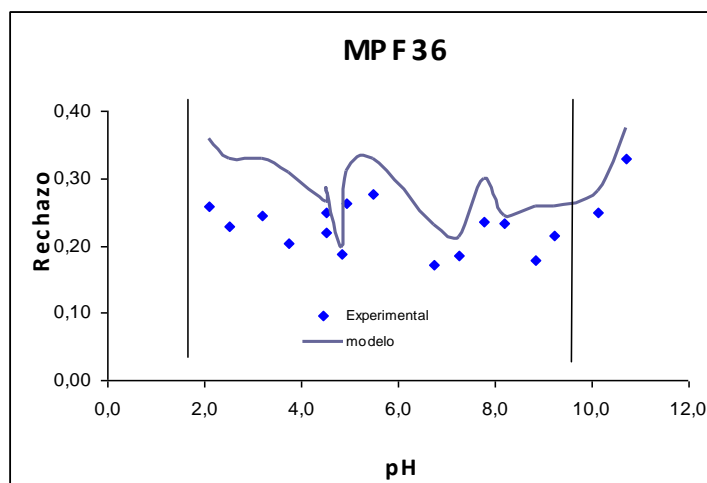


Figura 3. Variación del rechazo máximo de glicina en soluciones con 0,01 M y 0,1 M NaCl en función del pH de la solución.

NF de triglicina 0,003 M. La Figura 4 muestra el rechazo máximo de triglicina en función del pH. En esta figura se identifica con la línea rosada el rechazo máximo modelado obtenido con H_2SO_4 , con los puntos discontinuos los datos experimentales de HCl y con la línea celeste continua el rechazo máximo modelado con el HCl–NaOH. No se observan diferencias significativas al utilizar HCl y H_2SO_4 para reducir el pH de la solución. Existe poca variación entre los valores experimentales y los calculados, también poca variación en la utilización de diferentes ácidos para aumentar de tamaño la molécula de glicina y hacerla más susceptible a la retención con la membrana. Se observa que la variación del rechazo máximo de la triglicina en función del pH es en forma de U. El rechazo máximo es elevado a pH ácidos (superior al 80% si el pH es inferior a 2,5), disminuye al incrementar el pH alcanzando un valor mínimo del 40% a pH = 5, y vuelve a incrementar con el pH adquiriendo valores superiores al 80% a pH = 10.

Este comportamiento es debido principalmente a la interacción electrostática entre las moléculas de triglicina y la superficie de la membrana. Se ha de tener en cuenta que la carga superficial de la membrana también cambia con el pH de la solución. En concreto esta membrana MPF36 presenta un punto isoeléctrico alrededor de 7, es decir, a pH ácidos la carga de la membrana es negativa y valores superiores de pH la membrana presenta carga positiva [14]. A pHs ácidos, la molécula de triglicina presenta carga positiva por la protonación del grupo carboxílico y la carga superficial de la membrana también es positiva. Así, la repulsión entre cargas de igual signo minimiza la permeación de la molécula de triglicina y, en consecuencia, el rechazo máximo es muy elevado. A pHs básicos, el efecto es muy similar observándose valores de rechazo muy elevados. En este caso, tanto la carga de la molécula de triglicina como la carga superficial de la membrana son negativas y, por tanto, se produce una exclusión por la repulsión electrostática. A pHs intermedios, la molécula de triglicina incrementa su permeación a través de la membrana debido a

la disminución de la repulsión eléctrica. En el intervalo de pHs de 4 a 7, se sitúan los puntos isoeléctricos de la triglicina y de la membrana. Por tanto, la compensación de las cargas positivas y negativas reduce la repulsión electrostática, obteniéndose el valor del rechazo máximo más pequeño a pH aproximadamente 5.

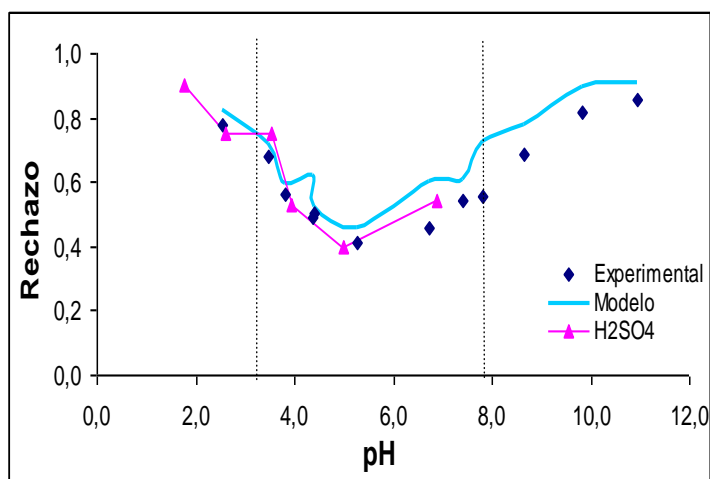


Figura 4. Variación del rechazo máximo de triglicina en solución con 0,003 M en función del pH de la solución, ajustándolo con ácido clorhídrico y ácido sulfúrico. La línea azul corresponde al cálculo del rechazo máximo mediante el modelo matemático.

NF de triglicina 0,01 M y NaCl 0,1 M. La Figura 5 muestra la variación del rechazo máximo de la molécula de triglicina en presencia de 0,1 M NaCl con el pH de la solución. Se observa que la forma de la gráfica ha cambiado significativamente respecto a la forma de U observada en ausencia de NaCl. Así, el rechazo máximo es prácticamente independiente del pH cuando el pH de la solución es inferior a 8. En este caso, el rechazo se sitúa entre el 30 y el 20%. Por tanto, la presencia de NaCl reduce significativamente el rechazo máximo de triglicina, especialmente cuando el pH es inferior a 4. Al igual que para la glicina, la presencia de NaCl produce un efecto de apantallamiento de la carga superficial de membrana incrementándose la permeación de la molécula de triglicina con carga positiva. Así, se ha observado un descenso superior al 65% en el rechazo máximo a pH = 2,5. Por otro lado, el descenso del rechazo máximo a pHs básicos es menor, siendo aproximadamente del 35% a pH = 11. En síntesis, podría concluirse que al aumentar la fuerza iónica de la solución de alimento, la membrana MPF36 cambia su condición eléctrica y, por tanto, para la NF del soluto, es otra membrana de composición eléctrica diferente, observándose un cambio significativo del coeficiente de reflexión (σ).

En la Tabla 2 se muestra un resumen de los valores de rechazo máximo de los valores extremos de pH en donde las cargas son más positivas/negativas. Se identifican los siguientes fenómenos: alta retención de glicina en la membrana NF-90; las especies cargadas tienen mayor retención que la molécula anfótera; el rechazo máximo no depende del ácido utilizado; la

disminución del rechazo máximo al aumentar la fuerza iónica del sistema

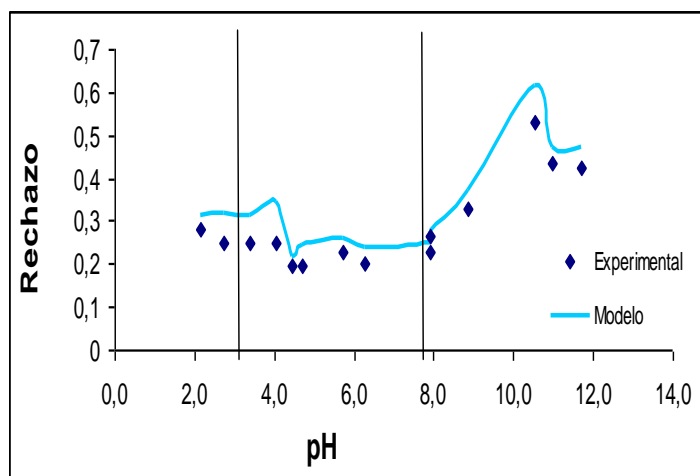


Figura 5. Variación del rechazo máximo de triglicina en solución con 0,003 M y 0,1 M NaCl en función del pH de la solución. La línea azul corresponde al cálculo del rechazo máximo mediante el modelo matemático

Tabla 2. Resumen de valores calculados del rechazo máximo (σ) obtenidos en las dos membranas de nanofiltración.

<i>Membrana (solutos)</i>	σ <i>carga</i> (+)	σ <i>carga</i> (0)	σ <i>carga</i> (-)
NF-90 (Gly-HCl-NaOH)	0,98	0,99	0,98
MPF36 (Gly-HCl-NaOH)	0,52	0,36	0,65
MPF36 (Gly-H ₂ SO ₄ -NaOH)	0,50	0,36	0,65
MPF36 (Gly- HCl-NaOH-NaCl)	0,36	0,23	0,38
MPF36 (GGG-HCl-NaOH)	0,86	0,46	0,91
MPF36 (GGG-H ₂ SO ₄ -NaOH)	0,90	0,46	0,91
MPF36 (GGG- HCl-NaOH- NaCl)	0,31	0,240	0,62

CONCLUSIONES

Las membranas de nanofiltración analizadas, NF-90 y MPF36, retienen tanto la glicina como la triglicina, a pesar de disponer de pesos moleculares de corte mayores (200 y 1.000 g·mol⁻¹) a los pesos moleculares de las sustancias (87 y 189 g·mol⁻¹). La membrana NF-90 retiene a las moléculas de glicina con un rechazo, a todos los pHs, superior al 98%. La exclusión estérica de la membrana al soluto es el mecanismo que representa el proceso de separación en la membrana.

El rechazo máximo de glicina en la membrana MPF36 depende del pH de la solución, siendo del 50–60% a pH ácido y básico (debajo/encima de su punto isoelectrico), y de 30% a pH 5–7 (cercano a su punto isoelectrico). El rechazo máximo de triglicina en la MPF36 depende del pH de la solución, siendo del 85–90% a pH ácido y básico (debajo/encima de su punto isoelectrico), y de 40% a pH 5–7 (cercano a su punto isoelectrico). La presencia de NaCl produce un efecto de apantallamiento de la carga eléctrica superficial de la membrana que produce un descenso significativo de soluto, respecto al rechazo observado en las soluciones sin NaCl.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tsuru T, Shutou T, Nakao S, Kimura S, *Sep. Sci. Technol.*, **29(8)**, 971 (1994)
2. García C “*Aplicación de la osmosis inversa y la nanofiltración en el acondicionamiento de aguas para calderas*”. Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo. España 2002.
3. Yu S, Gao C, Su H, Liu M, *Desalination*, **140**, 97 (2001)
4. Wang XL, C.H. Zhang. P.K. Ouyang. *J. Membr. Sci.*, **204**, 271 (2002)
5. García, F. D. Ciceron, A. Saboni, S. Alexandrova, *Sep. Sci. Technol.*, 52(1), 196 (2006)
6. Radjenović, J. M. Petrović, F. Ventura, D. Barceló. *Water Res.* 42 (14) 3601 (2008)
7. Réguillon FG, Lebizit D, Murat J, Foos C, Mansour, Draye M, *Water Res.*, **42(4–5)**, 1160 (2008)
8. Ducom G, Cabassud C, *Desalination*, **124**, 115 (1999)
9. Jiraratananon RA, Sungpet P, Luangsowan, *Desalination*, **130**, 177 (2000)
10. Butylina S, Luque S, Nyström M, *J. Membr. Sci.*, **280**, 418 (2006)
11. Kovács Z, Samhaber W, *Sep. Purif. Technol.*, **61**, 243 (2008)
12. Timmer J, Speelmans MPJ, van der Horst HC, *Sep. Purif. Technol.*, **14(1–3)**, 133 (1998)
13. Guastalli AR, Labanda J, Llorens J, *Desalination*, **243**, 218 (2009)
14. Sabaté J, Pujolà M, Labanda J, Llorens J, *Sep. Purif. Technol.*, **58**, 424 (2008)