



**UNIVERSIDAD
DE BURGOS**

***EXTRACCIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO
MEDIANTE TECNOLOGÍAS LIMPIAS***

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

**DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIA DE LOS
ALIMENTOS**

ÁREA DE INGENIERÍA QUÍMICA

ESTELA BELLO GAMBOA

Junio 2023

Tutor: José Manuel Benito Moreno



UNIVERSIDAD
DE BURGOS

Facultad de Ciencias

**VISTO BUENO PARA PRESENTACIÓN DE LA MEMORIA DEL
TRABAJO FIN DE GRADO** ⁽¹⁾

**GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS
CURSO: 2022/2023**

D. José Manuel Benito Moreno, Tutor Académico, informa de que la alumna Dña. Estela Bello Gamboa ha realizado el Trabajo Fin de Grado que lleva por título "Extracción de ácido cítrico mediante tecnologías limpias" bajo su tutela y considera que la memoria es adecuada para su presentación pública:

SI

NO *

(*) En caso negativo, indíquense los motivos:

OBSERVACIONES:

Burgos, a 31 de mayo de 2023

Fdo.: José Manuel Benito Moreno

(1) Las memorias presentadas deberán contar con el visto bueno de los tutores. A tal efecto, **se incluirá en la contraportada este documento con la firma de los mismos**. (Regulación del reglamento interno de la facultad de ciencias para la gestión de la asignatura "Trabajo Fin de Grado" de la Facultad de Ciencias, aprobada en Junta de Facultad de 11 de febrero de 2022)

Este Trabajo Fin de Grado ha sido realizado en el marco de los siguientes proyectos de investigación del grupo Biotecnología Industrial y Medioambiental (BIOIND) de la Universidad de Burgos:

PID2019-104950RB-I00 – Valorización de subproductos marinos mediante tecnologías de fluidos sub- y supercríticos para la obtención de biocompuestos valiosos, financiado por la Agencia Estatal de Investigación.

BU050P20 – Valorización de la fracción proteica de subproductos de la industria agroalimentaria de Castilla y León mediante tecnologías de fluidos presurizados, financiado por la Junta de Castilla y León y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).

PID2020-116716RJ-I00 – Tecnologías de fluidos presurizados para la valorización de subproductos de la industria agroalimentaria: recuperación de pectina y otros compuestos bioactivos de alto valor, financiado por la Agencia Estatal de Investigación.

TED2021-129311B-I00 – Tecnologías verdes basadas en el empleo de fluidos presurizados para valorizar biomasa lignocelulósica mediante la producción de furfural, financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación.

PDC2022-133443-I00 – Diseño de un prototipo para la extracción de bioproductos con agua subcrítica, financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación.

ÍNDICE

Resumen.....	1
Abstract.....	1
1. Introducción.....	2
2. Objectives.....	5
3. Materiales y métodos	5
3.1. Reactivos	5
3.2. Formulación de niosomas y medida de sus propiedades.....	6
3.3. Proceso de extracción de ácido cítrico en una etapa.....	8
3.3.1. <i>Subetapa de recirculación total</i>	9
3.3.2. <i>Subetapa de concentración</i>	10
3.4. Proceso de extracción de ácido cítrico en 2 etapas en serie	10
3.5. Protocolo de limpieza de la membrana	11
3.6. Determinación de la concentración de ácido cítrico mediante HPLC.....	11
4. Resultados y discusión	12
4.1. Extracción de ácido cítrico en una etapa.....	12
4.1.1. <i>Efecto de la concentración inicial de ácido cítrico sobre el grado de extracción</i>	13
4.1.2. <i>Variación de la densidad de flujo de permeado</i>	14
4.2. Extracción de ácido cítrico en 2 etapas en serie	15
5. Conclusiones.....	17
Bibliografía.....	17

Resumen

El ácido cítrico es uno de los ácidos orgánicos más utilizados en la industria alimentaria, ya que se considera un aditivo seguro. Generalmente se produce mediante procesos de fermentación, siendo necesarias varias etapas de postratamiento muy costosas para su recuperación y purificación. En los últimos años se está investigando el uso de tecnologías limpias como alternativas para la recuperación de ácido cítrico de una forma más económica y ambientalmente sostenible. Este trabajo tiene como objetivo principal evaluar la viabilidad técnica de un proceso combinado de extracción de ácido cítrico de disoluciones acuosas diluidas utilizando niosomas y la concentración de los mismos de forma simultánea mediante microfiltración, estando ambas consideradas como tecnologías limpias. Se formularon niosomas formados por los tensioactivos Span 80 (20 mM) y SDS (4 mM) mediante ultrasonificación y se utilizó una membrana cerámica tubular de TiO_2 de 0,2 μm de tamaño de poro para separar y concentrar mediante microfiltración los niosomas con el ácido cítrico extraído.

En primer lugar, se realizaron 3 experimentos de extracción en 1 etapa utilizando diferentes concentraciones de ácido cítrico (5, 10 y 20 mM) en la alimentación (400 mL) y el mismo volumen de fase dispersa de niosomas (30 mL), bajo las mismas condiciones de temperatura (20 °C) y presión transmembrana (0,3 bar). En todos los casos se alcanzó el equilibrio de extracción para tiempos comprendidos entre 22 y 30 minutos, con un buen ajuste de los datos experimentales al modelo teórico propuesto y buenas densidades de flujo de permeado ($J = 50\text{--}70 \text{ L/m}^2 \text{ h}$). Los mejores resultados, con un 20,03% de extracción de ácido cítrico, se obtuvieron para la alimentación con la mayor concentración inicial de ácido (20 mM). Finalmente se llevó a cabo un experimento de extracción de ácido cítrico en 2 etapas en serie, utilizando 400 mL de la disolución de ácido cítrico 20 mM como alimentación para la etapa 1, y el permeado de la etapa 1 como alimentación de la etapa 2, obteniendo un grado de extracción del 38,17% de ácido cítrico para el proceso global.

El desarrollo y uso de tecnologías limpias como las utilizadas en este trabajo contribuiría a lograr alguna de las metas de los objetivos de desarrollo sostenible (ODS), concretamente del ODS 9: Industria, innovación e infraestructuras, e indirectamente también del ODS 6: Agua limpia y saneamiento.

Palabras clave: Ácido cítrico, extracción, niosomas, microfiltración, tecnologías limpias

Abstract

Citric acid is one of the most widely used organic acids in the food industry, as it is considered a generally recognized as safe (GRAS) additive. It is generally produced by fermentation processes, requiring several and very expensive post-treatment stages for its recovery and purification. In recent years, the use of clean technologies has been investigated as alternatives for the recovery of citric acid in a more economical and environmentally sustainable way. The main objective of this work is to evaluate the technical feasibility of a combined process for the extraction of citric acid from dilute aqueous solutions using niosomes and their concentration simultaneously by microfiltration, both being considered as clean technologies. Niosomes of Span 80 (20 mM) and SDS (4 mM) surfactants were formulated by ultrasonication, and a 0.2 μm pore size TiO_2 tubular ceramic membrane was used to separate and concentrate the niosomes with the extracted citric acid by microfiltration.

Three 1-stage extraction experiments were first performed using different concentrations of citric acid (5, 10 and 20 mM) in the feed (400 mL) and the same volume of dispersed phase of

niosomes (30 mL), under the same temperature (20 °C) and transmembrane pressure (0.3 bar) operating conditions. Extraction equilibrium was reached for times between 22 and 30 minutes in all cases, with good adjustment of the experimental data to the proposed theoretical model and good permeate flux values ($J = 50\text{--}70 \text{ L/m}^2 \text{ h}$). Best results, with 20.03% citric acid extraction, were obtained for the feed with the highest initial acid concentration (20 mM). Finally, a 2-stage citric acid extraction experiment was performed, using 400 mL of the 20 mM citric acid solution as feed for stage 1, and the permeate from stage 1 as feed for stage 2, obtaining a citric acid extraction degree of 38.17% for the global process.

The development and use of clean technologies such as those tested in this work would contribute to achieving some of the objectives of the sustainable development goals (SDG), specifically SDG 9: Industry, innovation and infrastructure, and indirectly also SDG 6: Clean water and sanitation.

Keywords: Citric acid, extraction, niosomes, microfiltration, clean technologies

1. Introducción

El ácido cítrico, también conocido como ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico (Figura 1), es uno de los ácidos orgánicos que se encuentra en casi todos los tejidos animales y vegetales.¹⁻⁴ Físicamente tiene aspecto de polvo blanco cristalino, con un peso molecular de 192,14 g/mol y una alta solubilidad en agua (1,6 g/mL a 25 °C), siendo insoluble en disolventes orgánicos como el benceno y el cloroformo.

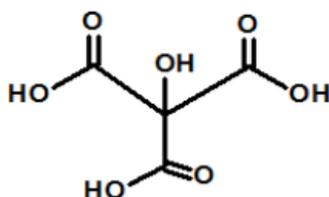


Figura 1. Estructura química del ácido cítrico.⁴

El ácido cítrico es un constituyente natural de muchas plantas, tejidos animales y fluidos fisiológicos, estando presente en cantidades traza en una gran variedad de frutas y verduras, pero en concentraciones más significativas en cítricos como el limón o la naranja. Está considerado como un aditivo alimentario seguro, biodegradable y fácilmente metabolizable por el cuerpo humano.^{2,4}

Es uno de los ácidos orgánicos más utilizados en las industrias química, cosmética, farmacéutica y alimentaria.^{2,4} Se producen unos 2 millones de toneladas de ácido cítrico anualmente, de las cuales el 70% se destina a la industria alimentaria, donde se usa como un agente acidulante para preservar y mejorar las características sensoriales de los alimentos y bebidas. Además, el ácido cítrico se utiliza en la producción de quesos y helados, debido a que sus propiedades antioxidantes y emulsionantes (aditivo E330) contribuyen a mejorar tanto la conservación como la calidad de dichos productos lácteos. Su fácil metabolización y eliminación por el cuerpo humano hace que sea también el ingrediente de muchos productos farmacéuticos (anticoagulante en el transporte y almacenamiento de plasma sanguíneo) y cosméticos (ingrediente de numerosas cremas y lociones). Su uso en la industria química como agente quelante de metales (hierro, cobre, cobalto, etc.) es muy importante.¹⁻⁴

Prácticamente toda la producción de este ácido a escala comercial se realiza mediante procesos de fermentación, teniendo como materia prima la melaza de caña de azúcar y como microorganismo fermentador el hongo *Aspergillus niger*, el cual realiza una fermentación aeróbica de la sacarosa.^{3,5}

A pesar de obtenerse en bajas concentraciones en caldos de fermentación (entre 1 y 8 g/L), su recuperación puede ser muy rentable. Para ello se utilizan principalmente métodos como precipitación, cristalización o extracción con disolventes orgánicos, teniendo un coste de operación elevado y, en el caso del uso de disolventes orgánicos, un alto impacto medioambiental. Para evitar estos inconvenientes, durante los últimos años se está investigando el uso de nuevas *tecnologías limpias* de separación como alternativas para la recuperación de ácido cítrico de forma más económica y sostenible medioambientalmente.

Una de las tecnologías limpias más innovadoras y respetuosas con el medio ambiente en este ámbito es la utilización de *tensioactivos* como agentes de extracción. Los tensioactivos son compuestos químicos anfipáticos constituidos por un grupo hidrofóbico y un grupo hidrofílico (Figura 2), el primero soluble en compuestos no polares y el segundo soluble en agua.⁶⁻⁸ Su clasificación depende de la naturaleza polar de la parte hidrofílica, pudiendo ser de cuatro tipos: aniónicos, no iónicos, catiónicos y anfóteros. Debido a su estructura, cuando los tensioactivos se añaden a una disolución acuosa en concentración superior a la concentración micelar crítica (CMC) se forman espontáneamente *micelas*, con forma generalmente esférica, en las que los grupos hidrofílicos de los tensioactivos están orientados hacia el agua y los hidrofóbicos hacia el interior de la micela.⁸ En este trabajo se emplean *niosomas* como agentes de extracción del ácido cítrico. Los niosomas son vesículas constituidas por una o varias bicapas de tensioactivo no iónico y poseen una cavidad acuosa en su interior (Figura 2). Su estructura hace que sea posible encapsular sustancias o compuestos hidrofóbicos entre las cadenas hidrofóbicas de los tensioactivos que forman la bicapa, e hidrofílicos en la cavidad acuosa interna. Del mismo modo, también son capaces de actuar como agentes de extracción de determinadas sustancias que puedan interactuar con las cabezas polares de los tensioactivos que forman la capa externa del niosoma.⁶⁻¹¹

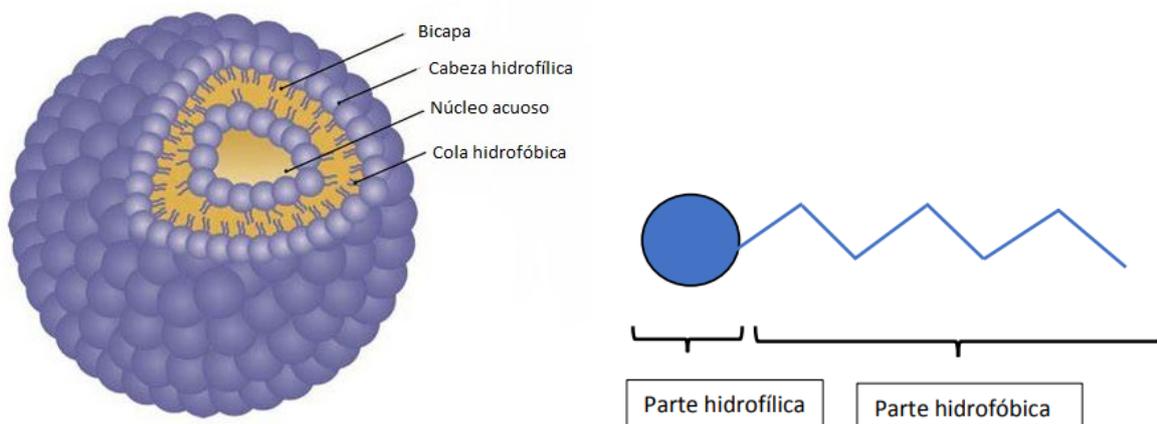


Figura 2. Estructura de un niosoma (izquierda)¹² y una molécula de tensioactivo (derecha).⁷

La estructura y forma de los niosomas guarda gran similitud con la de los liposomas (vesículas formadas por fosfolípidos). Sin embargo, los niosomas se caracterizan por tener una gran estabilidad química, alta pureza y fácil manipulación y almacenamiento. En los últimos años se ha observado un notable crecimiento en la producción industrial de los niosomas, debido al gran número de tensioactivos no iónicos de bajo coste y nula toxicidad disponibles para la

formulación de niosomas sin la utilización de disolventes orgánicos. Todas estas características hacen que los procesos de extracción y encapsulación con niosomas estén considerados como tecnologías limpias y respetuosas con el medio ambiente.⁶⁻¹¹

La estabilidad, la eficacia de la encapsulación o extracción de los compuestos y el tamaño de los niosomas dependerán de varios factores, como la naturaleza, el tamaño de la cabeza hidrófila y la longitud del grupo hidrófobo del tensioactivo que forma la bicapa, el método de preparación y el pH y la formulación del medio. Los niosomas, al contrario que las micelas, son termodinámicamente inestables, por lo que es necesario un aporte de energía para su formación. Este aporte de energía puede realizarse mediante diferentes métodos, dependiendo del tamaño y tipo de niosoma (bicapa o multicapa) que interese formular: inversión de fases, hidratación de película lipídica seca, ultrasonificación, microfluidización, homogeneización a alta presión, etc. La ultrasonificación ha sido el método seleccionado en el presente trabajo, ya que es rápido, sencillo y no implica el uso de disolventes orgánicos.^{6,11}

Una vez que los niosomas han extraído el ácido, es necesario separarlos de la disolución inicial, para lo cual se pueden utilizar procesos de separación con membranas. Una membrana es una estructura semipermeable de separación selectiva, la cual permite el paso de determinadas sustancias presentes en una corriente de alimentación, reteniendo otras. Se obtienen así dos corrientes de salida: un *permeado* formado por el disolvente y los solutos que han conseguido atravesar la membrana y un *retenido* o *concentrado* rico en solutos que no pueden atravesar la membrana (Figura 3). Para que parte de la alimentación pueda atravesar la membrana es necesaria una fuerza impulsora, que puede ser un gradiente de presión, concentración, campo eléctrico o temperatura. Los procesos de separación con membranas también están considerados como tecnologías limpias, teniendo varias ventajas con respecto a otros procesos de separación convencionales, como son la posibilidad de trabajar a temperatura ambiente, sin cambio de fase y en modo continuo o discontinuo, con una separación uniforme y selectiva, alto rendimiento de producción y bajo consumo de energía. El principal inconveniente es la disminución de la densidad de flujo de permeado debido a la polarización por concentración causada por la acumulación de solutos sobre la superficie de la membrana o en el interior de los poros, lo que conduce a su ensuciamiento. Estos fenómenos disminuyen el rendimiento del proceso y obligan a su detención para limpiar la membrana, reduciendo su vida útil.^{5,13,14}

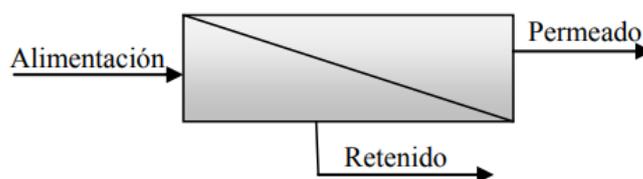


Figura 3. Esquema general de un proceso de separación con membranas.

Los procesos industriales de separación con membranas más utilizados son aquellos en los que la presión es la fuerza impulsora. Se utilizan principalmente para el tratamiento de corrientes líquidas con el fin de separar, purificar o fraccionar los solutos que contienen. También se utilizan en el tratamiento de aguas residuales o de aguas procedentes de la industria farmacéutica, química o alimentaria, así como en la separación de emulsiones.^{5,13} En este trabajo se utilizó la *microfiltración*, en la cual se opera a bajas presiones (0,1–2 bar) con membranas de diámetro de poro comprendido entre 0,1 y 10 μm ,^{5,13,14} minimizando así el consumo energético.³⁻⁵

El trabajo presentado en esta memoria se basa en los resultados obtenidos durante los últimos años por los miembros del grupo de investigación *Biología Industrial y Medioambiental* (BIOIND) de la Universidad de Burgos en el uso de tecnologías limpias para la recuperación de ácidos orgánicos, más económicas y respetuosas con el medio ambiente, evitando el uso de disolventes orgánicos.^{6-8,11,15} Se usaron niosomas como agentes de extracción del ácido cítrico presente en disoluciones acuosas diluidas y se procedió a la concentración simultánea de dichos niosomas mediante microfiltración. Se utilizaron dos tensioactivos para la formulación de los niosomas: un tensioactivo no iónico (Span 80, monooleato de sorbitano) y un tensioactivo aniónico (SDS, dodecil sulfato sódico), ambos de grado alimentario, no tóxicos y de bajo coste. Para la concentración y recuperación de los niosomas con el ácido cítrico extraído se utilizaron membranas tubulares cerámicas de óxido de titanio (TiO₂) con un tamaño de poro de 0,2 μm, trabajando a bajas presiones de operación (0,3 bar) para reducir el consumo energético, y haciendo que la alimentación circule con un flujo tangencial, paralelo a la superficie de la membrana, con el fin de minimizar el ensuciamiento y retener todos los niosomas presentes en la alimentación.

Es importante destacar que el desarrollo y uso de tecnologías limpias como las utilizadas en este trabajo es también un medio para lograr algunos de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). En este caso concreto estaría directamente relacionado con el ODS 9: Industria, innovación e infraestructuras, una de cuyas metas es la siguiente: “De aquí a 2030, modernizar la infraestructura y reconvertir las industrias para que sean sostenibles, utilizando los recursos con mayor eficacia y *promoviendo la adopción de tecnologías y procesos industriales limpios y ambientalmente racionales*, y logrando que todos los países tomen medidas de acuerdo con sus capacidades respectivas”.

2. Objectives

The main aim of this work has been to study the technical feasibility of the proposed process for citric acid recovery from dilute aqueous solutions: niosomes as extraction agents combined with microfiltration using tubular ceramic membranes to concentrate the niosomes with the extracted citric acid.

In order to achieve the main objective, the following specific objectives have been proposed:

- To study the effect of the initial feed citric acid concentration on the citric acid extraction degree over time.
- To study the variation of permeate flux with the volume concentration ratio (VCR) for the experiments performed in this work.
- To apply a theoretical model in order to obtain the citric acid extraction degree over time and to compare these results with the experimental ones.
- To perform a two-step citric acid extraction experiment and to study the permeate flux variation with VCR for both stages and the global citric acid extraction degree.

3. Materiales y métodos

3.1. Reactivos

Las alimentaciones se prepararon con ácido cítrico (C₅H₈O₇) suministrado por VWR Chemicals, con un peso molecular de 192,14 g/mol y una pureza del 99,9%.

Los tensioactivos utilizados para formular los niosomas (Figura 4) han sido los siguientes:

- Span 80 ($C_{24}H_{44}O_6$, monooleato de sorbitano). Tensioactivo no iónico con un peso molecular de 428,62 g/mol y una pureza mínima del 95%. Es un líquido viscoso de color amarillo-anaranjado suministrado por Sigma-Aldrich. Es de grado alimentario (aditivo E474), no tóxico y se suele utilizar con fines estabilizantes y emulsionantes, entre otros.⁸
- SDS ($C_{12}H_{25}NaO_4S$, dodecil sulfato sódico). Tensioactivo aniónico con un peso molecular de 288,38 g/mol, biodegradable, de grado alimentario (aditivo E487) y baja toxicidad. Es un sólido blanco pulverulento fácilmente soluble en agua, suministrado por Sigma-Aldrich con una pureza mínima del 99,0%. Actúa como modificador de la bicapa de los niosomas, aumentando su estabilidad al disminuir el valor del potencial zeta y el tamaño de los mismos.⁶⁻⁸

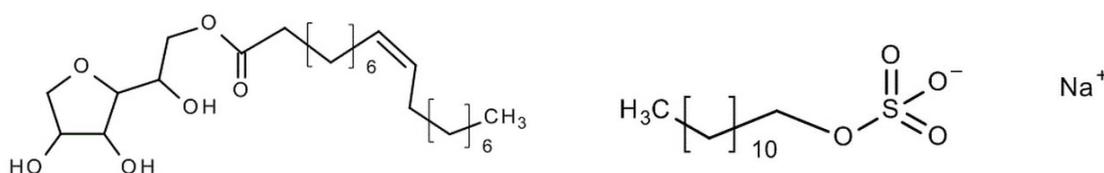


Figura 4. Estructura del Span 80 (izquierda) y del SDS (derecha).

Los reactivos utilizados para el análisis cromatográfico del ácido cítrico mediante HPLC se indican a continuación:

- Ácido fosfórico (H_3PO_4), con un peso molecular de 98 g/mol y una pureza mínima del 85%, suministrado por Sigma-Aldrich.
- Dihidrógenofosfato de potasio (KH_2PO_4). Polvo cristalino de color blanco con un peso molecular de 136,08 g/mol y una pureza de más del 99,0%, especial para análisis y suministrado por Emsure. Se utilizó, junto con el ácido fosfórico, para la preparación del tampón fosfato.
- Como patrón interno se utilizó el ácido maleico ($C_4H_4O_4$), con un peso molecular de 116,07 g/mol y una pureza mayor del 99,0%, suministrado por Fluka.
- Como eluyente de limpieza de la columna de HPLC se utilizó metanol (CH_4O), con un peso molecular de 32,04 g/mol y una pureza del 100%, suministrado por VWR Chemicals, especial para HPLC de grado isocrático.

Para la limpieza de la membrana se usó hidróxido de sodio (NaOH), con un peso molecular de 40 g/mol y una pureza del 98,0%, suministrado por Labkem.

Por último, cabe destacar que en todos los procedimientos y análisis se utilizó agua ultrapura de Tipo I Milli-Q (Merck-Millipore), obtenida a partir de agua destilada Tipo II gracias a un equipo de purificación Ecomatic 3L DP50L (Wasserlab).

3.2. Formulación de niosomas y medida de sus propiedades

Los niosomas se formularon mediante la mezcla de disoluciones acuosas de los tensioactivos Span 80 y SDS (Figura 5). Se pesaron las cantidades exactas de los tensioactivos en una balanza analítica Sartorius, con una precisión de $\pm 0,0001$ g, y posteriormente se adicionó agua desionizada (agua Milli-Q) hasta un volumen de 50 mL para preparar las disoluciones en matraces aforados.

- La disolución de Span 80 se realizó con una concentración de 0,04 mol/L (40 mM). Se preparó y se dejó en agitación durante 24 horas como mínimo antes de su uso, para su correcta disolución y con el fin de hidratar y relajar las cadenas carbonadas de su estructura molecular. Una vez preparada, se guardó en oscuridad para evitar su degradación con la luz.
- La disolución de SDS se realizó con una concentración de 0,008 mol/L (8 mM).



Figura 5. Disoluciones de Span 80 (izquierda) y de SDS (derecha).

Para todos los experimentos realizados se prepararon, con las disoluciones anteriores, en tubos Falcon de centrifuga, 3 muestras de 10 mL, conteniendo cada una de ellas 5 mL de la disolución de Span 80 y 5 mL de la de SDS. Se obtuvieron finalmente 30 mL de disolución con una concentración final de 20 mM de Span 80 y 4 mM de SDS, que son las concentraciones óptimas para una buena extracción de ácido determinadas en estudios previos.⁸

Para la formación de niosomas, las muestras anteriormente formuladas se sometieron a ultrasonidos utilizando un homogeneizador ultrasónico Vibra-cell VCX 500 (Sonics & Materials Inc.), equipado con una sonda bicilíndrica de aleación de titanio de 3 mm de diámetro (Figura 6). Para llevar a cabo este procedimiento, se sujetó con una pinza cada uno de los tubos Falcon conteniendo la muestra y se introdujo la sonda de ultrasonidos en la disolución a una altura de 1 cm sobre la base del tubo, centrada y sin tocar las paredes del mismo.



Figura 6. Homogeneizador ultrasónico Vibra-cell VCX 500.

Las condiciones en las que se aplicaron los ultrasonidos fueron las siguientes:

- Tiempo: 5 minutos en pulsos de 5 segundos, con una duración total de 10 minutos
- Amplitud de los ultrasonidos: 30%
- Potencia: 500 W

Una vez formulados los niosomas, se taparon los tubos y se introdujeron en una centrífuga (Eppendorf 5804) durante 45 minutos a 9000 rpm, con el fin de eliminar partículas metálicas que hayan podido desprenderse de la sonda.

Posteriormente, se recogió el sobrenadante obtenido después de la centrifugación y se utilizó un equipo Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments Ltd.) para medir las siguientes propiedades de los niosomas formulados:

- Tamaño de partícula. Mediante dispersión dinámica de luz láser (DLS) se obtiene la distribución de tamaño de partícula, el diámetro hidrodinámico y el índice de polidispersión (IPD). Se utiliza una cubeta de polipropileno en la cual se añaden 200 μL de muestra y 1800 μL de agua Milli-Q, realizándose esta medida por triplicado.
- Índice de polidispersión (IPD). Proporciona información sobre la anchura de la distribución del tamaño de partícula, obteniendo valores entre 0 y 1. Cuanto menor sea el valor, mayor uniformidad tendrá la muestra.
- Potencial zeta. Es un indicador de la estabilidad de una dispersión coloidal a partir de la fuerza repulsiva entre las partículas coloidales debido a su carga eléctrica superficial, determinándose a través del cálculo de la movilidad electroforética. Cuanto mayor sea el valor absoluto del potencial zeta (positivo o negativo), más estable será la muestra. Su medida se realiza en celdas capilares compuestas por dos electrodos de oro en los laterales, permitiendo así el paso de la corriente eléctrica a través de la muestra. La muestra es la misma que la utilizada para la medida de tamaño de partícula y el IPD, utilizando una jeringuilla para llenar la celda y realizando cada medida por sextuplicado.

Los niosomas formulados se consideran aptos para su uso en este trabajo cuando poseen un diámetro medio aproximado de 250–300 nm, un IPD menor de 0,3 y un potencial zeta (negativo en este caso) de al menos -30 mV.

3.3. Proceso de extracción de ácido cítrico en una etapa

En la Figura 7 se muestra el dispositivo experimental utilizado para realizar el proceso combinado de extracción del ácido cítrico con niosomas y microfiltración. Consta de un tanque de alimentación encamisado de 500 mL de capacidad, una bomba peristáltica (Masterflex I/s economy drive, Cole Parmer, CRS rotor EW-07518-00) encargada de impulsar la alimentación hacia el módulo de membrana, dos manómetros para medir la presión a la entrada y salida del módulo y determinar la presión transmembrana (PTM, siendo ésta la media de las dos medidas), una válvula de aguja en la conducción de la corriente del retenido para poder modificar la presión, y un depósito en el que se recoge el permeado.

Se usó una membrana cerámica tubular monocanal Filtanium (Tami Industries) de óxido de titanio (TiO_2), con 254 mm de longitud, 6 y 10 mm de diámetro interno y externo, respectivamente, un diámetro de poro de $0,2 \mu\text{m}$ y un área efectiva de 47 cm^2 .

En todos los experimentos se utilizó como alimentación 400 mL de una disolución acuosa de ácido cítrico de concentración conocida (5, 10 o 20 mM) y 30 mL de una fase dispersa que

contiene los niosomas formulados anteriormente (Span 80 (20 mM) + SDS (4 mM)). Las condiciones de operación fueron las siguientes: PTM = 0,3 bar, T = 20 °C y posición 4 del rotor de la bomba, que corresponde a un caudal de agua de 36 L/h.



Figura 7. Fotografía del equipo experimental utilizado.

Antes de cada experimento se limpió la membrana, comprobando que dicha limpieza se ha realizado correctamente. Para ello, se midió la densidad de flujo de permeado (J) con agua Milli-Q (Ecuación 1), debiendo dar un resultado de aproximadamente 130 L/m² h.

$$J = \frac{V_p}{t A} \quad (1)$$

Siendo V_p el volumen de permeado recogido en un tiempo t, y A el área efectiva de la membrana, que en este caso es 47 cm².

En todos los experimentos de extracción se han realizado dos subetapas consecutivas (Figura 8) que se describen a continuación.

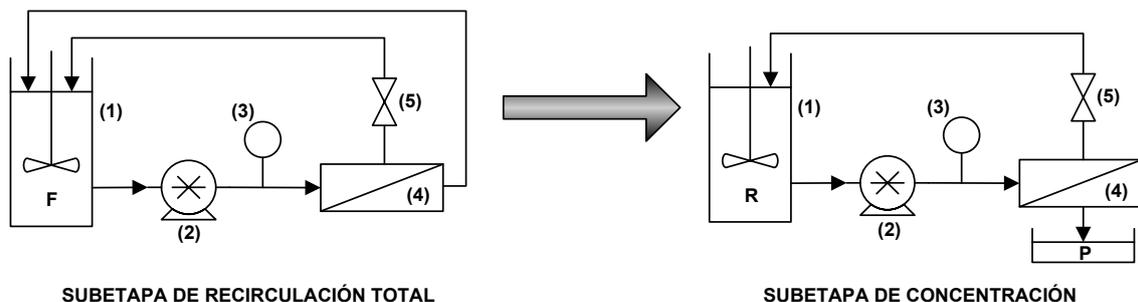


Figura 8. Esquema de las subetapas del proceso de extracción en una etapa. F: alimentación, P: permeado, R: retenido, 1: tanque de alimentación, 2: bomba peristáltica, 3: manómetro, 4: módulo de membranas, 5: válvula.

3.3.1. Subetapa de recirculación total

Antes de comenzar, el circuito debe de estar completamente vacío de líquido. Una vez vacío, se llena el tanque de alimentación con 400 mL de la disolución de ácido cítrico y se conecta la bomba en la posición 4. Sin aplicar presión y con la salida del permeado cerrada, se recircula el retenido al tanque durante 5 minutos, homogeneizando así todo el circuito. Transcurrido este tiempo, se abre la salida del permeado, se sube la presión a 0,3 bar y se mantiene en modo de recirculación total (tanto retenido como permeado se recirculan al

tanque de alimentación) durante 15 minutos. A los 10 minutos, se toma una muestra (3,5 mL) de la alimentación dentro del tanque.

A los 15 minutos de recirculación, se añaden al tanque de alimentación los 30 mL de la dispersión de niosomas, manteniendo las condiciones de operación anteriores. Se van tomando muestras (3,5 mL) del permeado, de manera que la primera de ellas se recoge justo en el momento de la adición de niosomas y después se van cogiendo muestras cada 3 minutos durante un tiempo total de 45 minutos.

3.3.2. Subetapa de concentración

Una vez finalizada la etapa anterior, al cabo de los 45 minutos, se retira la salida del permeado del tanque de alimentación y se sitúa en un recipiente situado sobre una balanza, trabajando así en modo concentración y recirculando sólo el retenido al tanque de alimentación.

Se va anotando el peso de permeado recogido a lo largo del tiempo cada minuto durante los 5 primeros minutos, luego cada 2 minutos hasta los 15 minutos y posteriormente cada 3 minutos hasta el final del experimento. Además, se recogen muestras de permeado a diferentes valores del factor de concentración en volumen (FCV), calculado según la Ecuación 2:

$$FCV = \frac{V_0}{V_R} = \frac{V_0}{V_0 - V_P} \quad (2)$$

Siendo V_0 el volumen de alimentación inicial, y V_R y V_P los volúmenes de retenido y permeado, respectivamente, en cada instante.

En el momento en que se obtiene un volumen de permeado de aproximadamente 300 mL se detiene el experimento, parando la bomba.

Se debe recoger además una muestra del permeado final en el recipiente sobre la balanza y del retenido final en el tanque de alimentación, midiendo el pH (pH-metro Crison GLP 22, con un electrodo tipo T2-02 para medios acuosos), tamaño y potencial zeta de ambas muestras.

Por último, se mide la concentración de ácido cítrico de todas las muestras recogidas a lo largo del experimento (en ambas subetapas) mediante HPLC.

3.4. Proceso de extracción de ácido cítrico en 2 etapas en serie

Finalmente se lleva a cabo un experimento de extracción de ácido cítrico en 2 etapas en serie (Figura 9), utilizando como alimentación 400 mL de la disolución de ácido cítrico para la que se haya logrado un mayor grado de extracción en los experimentos anteriores.

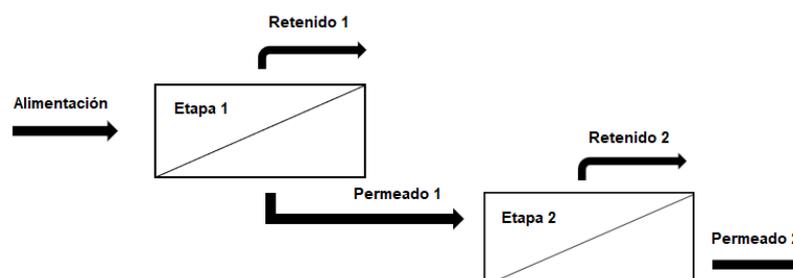


Figura 9. Esquema del proceso de extracción en dos etapas en serie.

Al igual que en el experimento de extracción explicado en la sección 3.3, tanto la etapa 1 como la 2 constan de una subetapa de recirculación total y otra de concentración. La diferencia es que en este caso la subetapa de recirculación total dura únicamente el tiempo necesario para que se alcance el equilibrio de extracción, determinado en los experimentos anteriores, y sin recoger muestras de permeado cada 3 minutos.

Por lo tanto, para ambas etapas se añade la alimentación al tanque, se recircula durante 5 minutos con la salida del permeado cerrada y sin aplicar presión; posteriormente se abre la salida del permeado, se sube la presión a 0,3 bar y se mantiene en modo de recirculación total durante 10 minutos, tomando en ese instante una muestra de la alimentación en el tanque. Una vez tomada esta muestra, en el caso de la etapa 1, se añaden los 30 mL de niosomas y se deja en modo de recirculación total el tiempo necesario para que se alcance el equilibrio de extracción. Pasado este tiempo, se retira la salida del permeado del tanque de alimentación y se entra en la subetapa de concentración, recogiendo las muestras de permeado según el valor del factor de concentración en volumen y anotando el peso de permeado recogido, de la misma manera que en los experimentos anteriores. Por último, se anota el peso del permeado total recogido y se toma una muestra del mismo y otra del retenido final en el tanque de alimentación para medir sus propiedades.

En el caso de la etapa 2, se utiliza como alimentación el volumen final de permeado recogido en la etapa 1, añadiendo en su momento un volumen de niosomas diferente, ya que el volumen de alimentación inicial será inferior, pero manteniendo la misma relación 3:40 (volumen de dispersión de niosomas:volumen de alimentación). Se realizan exactamente las mismas operaciones que en la etapa 1 hasta la finalización del experimento. Es importante destacar que debe limpiarse la membrana una vez finalizada la etapa 1 y antes de empezar la etapa 2.

3.5. Protocolo de limpieza de la membrana

Al finalizar cada experimento se limpió la membrana según el siguiente protocolo:

- a. Se vacía el circuito y se aclara con agua Milli-Q durante 3–5 minutos sin presión.
- b. En modo de recirculación total, se limpia la membrana durante 20 minutos a 0,2 bar con 500 mL de una disolución de NaOH 0,1 M.
- c. Se vacía nuevamente el circuito eliminando la disolución de NaOH y se vuelve a aclarar con agua Milli-Q en dos ocasiones.
- d. Se mide la densidad de flujo de permeado final utilizando agua Milli-Q, a una presión de 0,3 bar y comprobando que la bomba se encuentre en la posición 4. Si la densidad de flujo de permeado obtenida es menor que la inicial, se debe de repetir el proceso hasta conseguir una J similar.

3.6. Determinación de la concentración de ácido cítrico mediante HPLC

La concentración de ácido cítrico en las muestras se determinó mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) con un cromatógrafo Shimadzu. Este equipo está formado por diferentes módulos: un desgasificador modelo DGU-14, un controlador de bomba FCV AL VP, una bomba LC-10AD VP, un inyector automático SIL-10AD VP y un detector de diodo array (DAD) SPD-M20A.

Se utilizó una columna de fase reversa ACE 5C18 (ACE HPLC columns) con un diámetro interno de 4,6 mm y 250 mm de longitud, y una fase móvil con un flujo de 1,2 mL/min consistente en una disolución de tampón fosfato compuesta por 0,2% v/v de ácido fosfórico y 0,16% en peso de dihidrógenofosfato potásico. Se usó una longitud de onda de 216 nm.

Las muestras se prepararon con 1,5 mL de las muestras recogidas durante el experimento y 30 μL de una disolución de ácido maleico (500 ppm), utilizado como patrón interno. Se inyectó un volumen de muestra de 40 μL , el tiempo de medida de cada muestra fue de 10 minutos y se realizaron al menos 5 réplicas de cada una de ellas.

Previamente se realizó un calibrado con disoluciones de ácido cítrico de concentración conocida, entre 0,5 mM y 25 mM.

Cabe destacar que, después de finalizar cada análisis cromatográfico, se realizó una limpieza de la columna de HPLC inicialmente con agua Milli-Q durante al menos 1 hora con un flujo de 0,5 mL/min y, posteriormente, con metanol durante al menos 30 minutos con un flujo de 0,8 mL/min.

4. Resultados y discusión

4.1. Extracción de ácido cítrico en una etapa

Todos los niosomas formulados y utilizados en los experimentos mostrados en este trabajo tenían un diámetro de aproximadamente 250 nm (Figura 10), un PDI aproximado de 0,3 y un potencial zeta comprendido entre -50 y -70 mV. Estos parámetros se volvieron a medir en las corrientes de permeado y retenido obtenidas al finalizar cada uno de los experimentos de extracción, obteniendo valores muy similares en todos los retenidos. Sin embargo, en los permeados se constató la ausencia total de niosomas al ser retenidos por la membrana, debido a que su tamaño es similar al diámetro de poro de la membrana (0,2 μm), como también ocurrió en trabajos anteriores de extracción de diferentes ácidos orgánicos.^{6,8,15} El valor del pH de las disoluciones de ácido cítrico utilizadas como alimentación fue de 2.94 (5 mM), 2.72 (10 mM) y 2.37 (20 mM). No se obtuvo apenas variación en la medida del pH de las alimentaciones y los permeados.

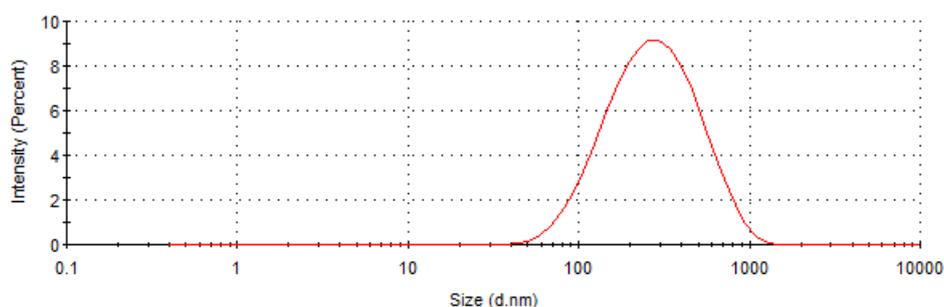


Figura 10. Distribución de tamaño de partícula de la dispersión de niosomas formulados.

Para obtener la concentración del ácido cítrico no encapsulado y tener una idea de la evolución del grado de extracción del mismo en los niosomas a lo largo del tiempo de operación, las muestras de permeado (3,5 mL) recogidas cada 3 minutos en la subetapa de recirculación total se analizaron mediante HPLC, utilizando posteriormente la Ecuación 3 para calcular el grado de extracción del ácido cítrico.^{6,15}

$$EE_{A,t} = \frac{C_{A(NS)}V_{(F)t}}{C_{A(W)}^0V_{(W)}^0} = \frac{C_{A(W)}^0V_{(W)}^0 - \sum C_{A(p)i}V_{(p)i} - C_{A(p)t}V_{(F)t-1}}{C_{A(W)}^0V_{(W)}^0} \quad (3)$$

Donde:

- $EE_{A,t}$ es el grado o eficacia de extracción de ácido cítrico en un instante determinado
- $C_{A(NS)t}$ es la concentración de ácido cítrico extraído en los niosomas a tiempo t
- $V_{(F)t}$ es el volumen de alimentación a tiempo t
- $C_{A(W)}^0$ es la concentración inicial de ácido cítrico en la alimentación
- $V_{(W)}^0$ es el volumen inicial de la alimentación
- $C_{A(p)i}^0$ es la concentración de ácido cítrico en cada muestra i de permeado, retirado para analizar por HPLC
- $V_{(p)i}$ es el volumen de muestra de permeado recogida para analizar (3,5 mL)
- $C_{A(p)t}$ es la concentración de ácido cítrico a tiempo t
- $V_{(F)t-1}$ es el volumen de alimentación a tiempo t-1

Para evaluar los resultados, se calculó la relación molar entre el ácido cítrico extraído en los niosomas y la cantidad del mismo presente en la disolución inicial. De esta manera, utilizando el balance de materia mostrado en la Ecuación 3, se asume un modelo de dos fases: dispersa (niosomas) y continua. Según este modelo, la concentración total de ácido cítrico en el volumen de alimentación ($V_{(F)}$) sería la suma de la fracción extraída por los niosomas ($C_{A(NS)t}$), los cuales son retenidos por la membrana, y del ácido cítrico que no es extraído y queda libre en la fase continua, el cual pasa a través de la membrana hacia el permeado.

En el estado estacionario la velocidad de extracción del ácido cítrico se puede describir mediante la velocidad de transferencia de materia entre fases (Ecuación 4), siendo posible calcular la concentración de ácido cítrico en la fase acuosa (Ecuación 5) si se conoce el valor del coeficiente volumétrico global de transferencia de materia ($K a$), pudiendo así obtener el valor de la eficacia de extracción teórica mediante la Ecuación 3 para poder compararlo con los datos experimentales.

$$-\frac{dC}{dt} = Ka (C - C^*) \quad (4)$$

$$C = C^* + (C_0 - C^*) e^{[(K a) t]} \quad (5)$$

Donde:

- C es la concentración calculada de ácido cítrico
- C^* es la concentración de ácido cítrico en condiciones de equilibrio
- C_0 es la concentración inicial de ácido cítrico
- K es el coeficiente global de transferencia de materia referido a la fase acuosa
- a es el área específica para la transferencia de materia (área de interfase/volumen)
- t es el tiempo

4.1.1. Efecto de la concentración inicial de ácido cítrico sobre el grado de extracción

La primera variable de estudio fue el efecto que sobre el grado de extracción de ácido cítrico tiene la concentración inicial del mismo (5, 10 y 20 mM) en la alimentación utilizada en cada experimento. En experimentos previos¹⁵ se comprobó que el grado de extracción es nulo cuando no se añaden niosomas, como cabría esperar, ya que la membrana no retiene el ácido cítrico presente en disolución acuosa, y que la extracción de ácido cítrico cuando se añadía a la alimentación un volumen de 30 mL de fase dispersa (niosomas) era mayor que al añadir un volumen de 10 mL, por lo que todos los experimentos se llevaron a cabo añadiendo 30 mL de fase dispersa.

En la Figura 11 se muestra el grado de extracción experimental y teórico, a lo largo del tiempo de duración de la subetapa de recirculación total, para las diferentes concentraciones iniciales de ácido cítrico en la alimentación. Se puede comprobar que la extracción de ácido cítrico aumenta para concentraciones iniciales crecientes del mismo, de 5 a 20 mM, en la alimentación. Para la alimentación de 20 mM se obtuvo un grado de extracción en el equilibrio casi un 13,5% superior al obtenido para la alimentación de 10 mM de ácido cítrico (20,03% frente a 17,65%, respectivamente), y un 25,5% superior al obtenido para la alimentación de 5 mM de ácido cítrico. En todos los experimentos se alcanzó el equilibrio de extracción para tiempos comprendidos entre 22 y 30 minutos, con un buen ajuste de los datos experimentales al modelo teórico propuesto.

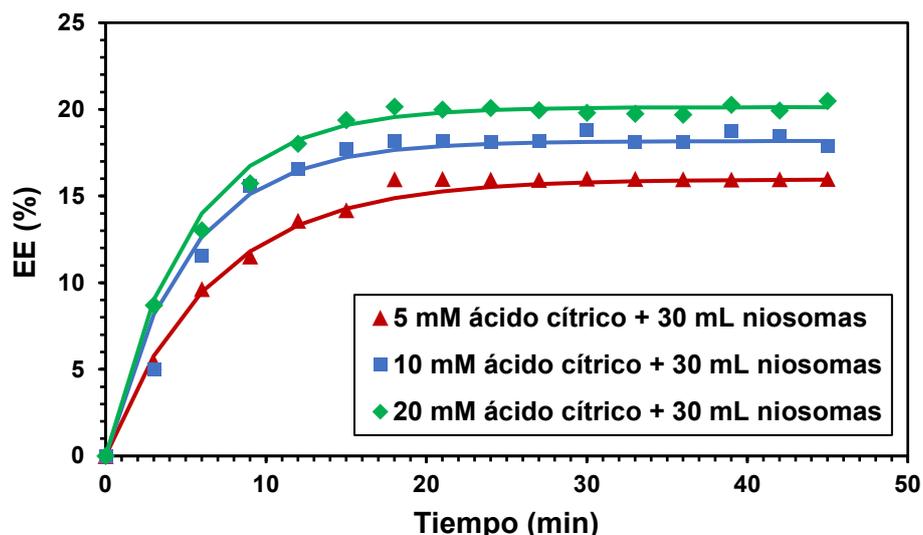


Figura 11. Efecto de la concentración inicial de ácido cítrico sobre el grado de extracción a lo largo del tiempo. (Los símbolos se refieren a los datos experimentales y las líneas a los datos teóricos).

En la Tabla 1 se muestran los valores del coeficiente volumétrico global de transferencia de materia (K_a), obtenido por ajuste de los valores experimentales a la Ecuación 5, y el grado de extracción en el equilibrio ($EE_{\text{equilibrio}}$, Ecuación 3) de los tres experimentos indicados en la Figura 11.

Tabla 1. Valores del coeficiente volumétrico global de transferencia de materia referido a la fase acuosa (K_a) y del grado de extracción del ácido cítrico en el equilibrio ($EE_{\text{equilibrio}}$), para los experimentos mostrados en la Figura 11.

Experimento	K_a (min^{-1})	$EE_{\text{equilibrio}}$ (%)
5 mM ácido cítrico + 30 mL niosomas	0,1473	15,96
10 mM ácido cítrico + 30 mL niosomas	0,1916	17,65
20 mM ácido cítrico + 30 mL niosomas	0,1952	20,03

4.1.2. Variación de la densidad de flujo de permeado

La segunda variable de estudio fue la variación de la densidad de flujo de permeado (J) frente al factor de concentración en volumen (FCV, definido en la Ecuación 2).

Como se puede observar en la Figura 12, la densidad de flujo de permeado tiene valores similares en los tres experimentos, oscilando entre 50 y 70 L/m² h, siendo el experimento de 20 mM el de menor J, y el de 10 mM el de mayor. Teóricamente, cuanto mayor sea la concentración de ácido cítrico en la alimentación menor debería ser el valor de J, pero la razón de que la densidad de flujo de permeado obtenida para el experimento con la disolución de 10 mM sea mayor que la obtenida para el de 5 mM se debe a que en el primer caso se realizaron varios ciclos de limpieza de la membrana antes de empezar el experimento.

Además, se puede observar también en la Figura 12 cómo, en general, inicialmente J va disminuyendo hasta llegar a un FCV de 2,5, debido a la polarización por concentración y al ensuciamiento de la membrana. Sin embargo, la noticia positiva es que posteriormente el valor de J se mantiene prácticamente constante con valores relativamente elevados, lo que es de gran importancia para un desarrollo futuro de este proceso a mayor escala. No ha sido posible alcanzar valores de FCV superiores a 5 debido al elevado volumen muerto del dispositivo experimental, que impide seguir con el experimento una vez obtenidos 300–310 mL de permeado debido a la entrada de aire al circuito. Se necesitó un tiempo comprendido entre 60 y 75 minutos para alcanzar un FCV = 5 en estos experimentos.

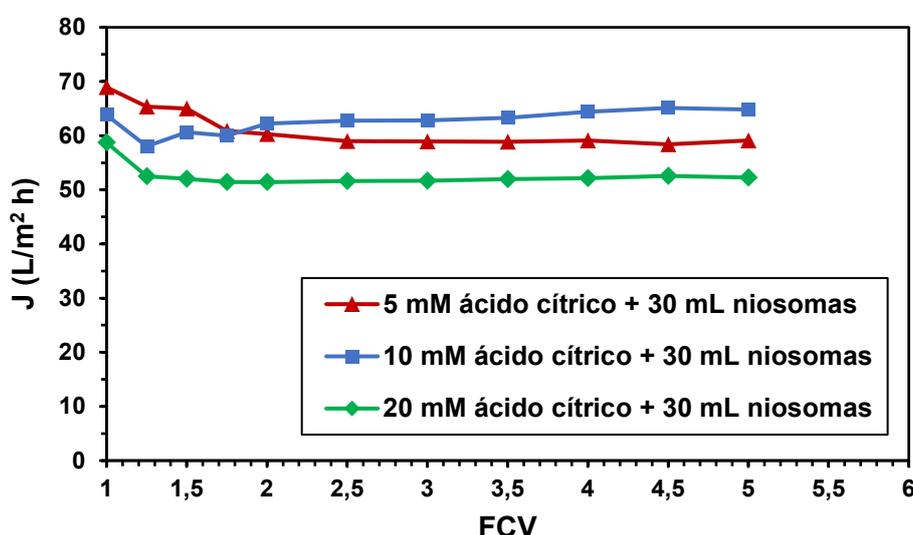


Figura 12. Variación de la densidad de flujo de permeado (J) frente al factor de concentración en volumen (FCV) en la subetapa de concentración.

4.2. Extracción de ácido cítrico en 2 etapas en serie

Como se ha indicado en el apartado 3.4, se llevó a cabo un experimento de extracción de ácido cítrico en 2 etapas en serie, utilizando 400 mL de la disolución de ácido cítrico 20 mM, como alimentación para la etapa 1, que es con la que se ha obtenido el mayor grado de extracción de ácido en los experimentos anteriores.

Ambas etapas (1 y 2) constan de una subetapa de recirculación total y otra de concentración. En este caso el tiempo de duración de la subetapa de recirculación total, después de añadir la suspensión de niosomas a la alimentación, fue de 30 minutos, que es el tiempo necesario para asegurarse de que se ha alcanzado el equilibrio de extracción, como se determinó en los experimentos mencionados en el apartado 4.1.1. Una vez transcurridos estos 30 minutos, se inició la subetapa de concentración.

La Figura 13 muestra la variación de la densidad de flujo de permeado (J) frente al factor de concentración en volumen (FCV) para ambas etapas de extracción. Se observa que la densidad de flujo de permeado de la etapa 1 es inferior a la de la etapa 2, aunque a partir de un valor de $FCV = 1,5$ se mantiene prácticamente constante ($59 \text{ L/m}^2 \text{ h}$) hasta un FCV final de 5. La diferencia entre los valores de J para ambas etapas se debe a que tanto la concentración de ácido cítrico (20 mM) como el volumen de la dispersión de niosomas añadido (30 mL) en la etapa 1 son mayores en el caso de la etapa 2, lo que provoca una mayor disminución de J debido a los fenómenos de polarización por concentración y ensuciamiento de la membrana.

La alimentación de la etapa 2 fue el permeado obtenido al final de la etapa 1 ($296,7 \text{ mL}$) con una concentración de ácido cítrico inferior a la de la primera etapa, ya que se ha extraído una parte del mismo en la etapa 1, a la que se añadieron $22,25 \text{ mL}$ de dispersión de niosomas para mantener constante la misma relación 3:40 (volumen de dispersión de niosomas:volumen de alimentación). La menor concentración de ácido cítrico en la alimentación y el menor volumen de niosomas añadidos hacen que la densidad de flujo de permeado de la etapa 2 ($80 \text{ L/m}^2 \text{ h}$) sea un $35,6\%$ superior a la de la etapa 1. Por el contrario, sólo fue posible alcanzar un FCV final de 3, debido al menor volumen inicial de alimentación. En esta segunda etapa se obtuvo un volumen de permeado final de 200 mL . El tiempo de duración de la subetapa de concentración fue de 72 minutos para la etapa 1 y de 34 minutos para la etapa 2.

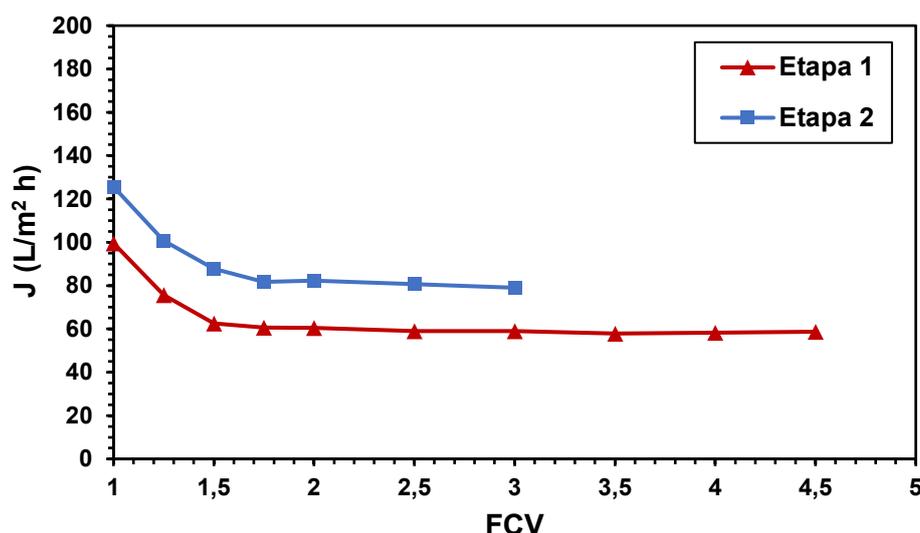


Figura 13. Densidad de flujo de permeado (J) frente al factor de concentración en volumen (FCV) para el experimento de extracción en 2 etapas en serie.

Finalmente se determinó el grado de extracción de ácido cítrico en este proceso de extracción en 2 etapas en serie (Tabla 2), siendo del $21,53\%$ para la etapa 1, ligeramente superior al de la etapa 2 ($21,21\%$). La eficacia de extracción de ácido cítrico para el proceso global fue del $38,17\%$, no muy inferior a la obtenida para la extracción de ácido láctico ($42,77\%$) utilizando un proceso similar.^{6,8}

Tabla 2. Grado de extracción de ácido cítrico para el proceso en 2 etapas en serie.

	Etapa 1	Etapa 2	Global
EE (%)	21,53	21,21	38,17

5. Conclusiones

Los resultados experimentales obtenidos en este trabajo demuestran que el proceso combinado (extracción con niosomas y microfiltración) propuesto para la extracción de ácido cítrico de disoluciones acuosas diluidas es técnicamente viable.

El mayor grado de extracción (20,03%) se obtuvo para una alimentación con una concentración inicial de 20 mM de ácido cítrico al añadir 30 mL de niosomas como fase dispersa. En general, para las condiciones estudiadas en este trabajo, se puede afirmar que el grado de extracción de ácido cítrico aumenta al aumentar su concentración inicial en la alimentación, alcanzándose el equilibrio de extracción para tiempos comprendidos entre 22 y 30 minutos, con un buen ajuste de los datos experimentales al modelo teórico propuesto.

En los tres experimentos de extracción en 1 etapa se obtuvieron valores similares de la densidad de flujo de permeado ($J = 50\text{--}70 \text{ L/m}^2 \text{ h}$), la cual decrece a lo largo del tiempo de operación debido a la polarización por concentración y el ensuciamiento de la membrana, logrando alcanzar un $\text{FCV} = 5$ para tiempos de operación de la subetapa de concentración comprendidos entre 60 y 75 minutos.

En el proceso de extracción en 2 etapas en serie, utilizando la disolución de 20 mM de ácido cítrico como alimentación de la primera etapa, se obtuvo una eficacia de extracción del 38,17% de ácido cítrico para el proceso global, con buenos valores de densidad de flujo de permeado ($J = 59\text{--}80 \text{ L/m}^2 \text{ h}$).

Los buenos resultados obtenidos en este trabajo pueden servir como punto de partida para una investigación futura utilizando membranas de diferente composición y/o tamaño de poro, siendo también necesario realizar experimentos de reextracción del ácido cítrico contenido en los niosomas presentes en las corrientes finales de retenido.

El desarrollo y uso de tecnologías limpias como las utilizadas en este trabajo contribuiría a lograr alguna de las metas del ODS 9: Industria, innovación e infraestructuras, e indirectamente también del ODS 6: Agua limpia y saneamiento.

Bibliografía

1. Apelblat, A. (2014). *Citric Acid* (1st ed.). Springer International Publishing, Dordrecht. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-11233-6>
2. Manzano Hernández, M.G. (2013). *Evaluación de tres tipos de acidificante (ácido cítrico, jugo de limón y vinagre) en la elaboración de requesón excelso*. Tesis de Maestría. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4085>
3. Mariano Torres, J.A. (2013). *Síntesis y caracterización de polímeros a base de ácido cítrico y glicerol: Su aplicación en polímeros no biodegradables*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional de Altamira, México. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/13181>
4. Muñoz-Villa, A., Sáenz-Galindo, A., López-López, L., Cantú-Sifuentes, L., Barajas-Bermúdez, L. (2014). Ácido cítrico: compuesto interesante. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila* 6(12), 18–23. Disponible en: <http://www.actaquimicamexicana.uadec.mx/articulos/12-4%20citricos.pdf>

5. Kubota, N., Hashimoto, T., Mori, Y. (2011). *Microfiltration and Ultrafiltration*. En: N.N. Li, A.G. Fane, W.S. Winston Ho, T. Matsuura (Eds.), *Advanced Membrane Technology and Applications*, John Wiley & Sons, Hoboken, pp. 101–129. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/9780470276280.ch5>
6. Roque, L., Escudero, I., Benito, J.M. (2015). Lactic acid recovery by microfiltration using niosomes as extraction agents. *Separation and Purification Technology* 151, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.07.018>
7. Roque, L., Escudero, I., Benito, J.M. (2017). Separation of sodium lactate from Span 80 and SDS surfactants by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology* 180, 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.02.048>
8. Roque Viadas, L. (2020). *Span 80: estudios de extracción y caracterización*. Tesis Doctoral. Universidad de Burgos. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10259/5587>
9. Bartelds, R., Nematollahi, M.H., Pols, T., Stuart, M.C.A., Pardakhty, A., Asadikaram, G., Poolman, B. (2018). Niosomes, an alternative for liposomal delivery. *PLoS ONE* 13(4), e0194179. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194179>
10. Bhardwaj, P., Tripathi, P., Gupta, R., Pandey, S. (2020). Niosomes: A review on niosomal research in the last decade. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 56, 101581. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101581>
11. Fraile, R., Geanta, R.M., Escudero, I., Benito, J.M., Ruiz, M.O. (2015). Formulation of Span 80 niosomes modified with SDS for lactic acid entrapment. *Desalination and Water Treatment* 56, 3463–3475. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.993726>
12. Ag Seleci, D., Seleci, M., Walter, J.-G., Stahl, F., Scheper, T. (2016). Niosomes as nanoparticulate drug carriers: Fundamentals and recent applications. *Journal of Nanomaterials* 2016, 7372306. <https://doi.org/10.1155/2016/7372306>
13. Roncancio Parra, D. (2015). *Estudio sobre la aplicación de las técnicas de filtración por membrana a los sistemas de tratamiento de aguas residuales*. Trabajo Fin de Grado. Universidad La Gran Colombia, Colombia. Disponible en: <http://hdl.handle.net/11396/3462>
14. Uragami, T. (2017). *Science and Technology of Separation Membranes*. John Wiley & Sons, Chichester, pp. 359–377. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/9781118932551>
15. Torres García, P. (2021). *Extracción de ácido cítrico de disoluciones acuosas diluidas utilizando niosomas y microfiltración con membranas cerámicas*. Trabajo Fin de Grado. Universidad de Burgos. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10259/6082>