



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

KIMIKA ZIENTZIEK FAKULTATEA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea
Facultad de Ciencias Químicas / Kimika Zientzien Fakultatea

Grado en Química

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Monitorización del fouling en superficies poliméricas utilizando QCM-D y SPR

Autora: Iliane Rafaniello

Dirigido por: Juan J. Iruin y Thomas Schäfer

Donostia - San Sebastian, Julio de 2016

GIPUZKOAKO CAMPUSA
CAMPUS DE GIPUZKOA
Pº. Manuel de Lardizabal, 3
20018 DONOSTIA-SAN SEBASTIAN
GIPUZKOA

ÍNDICE

ÍNDICE	1
RESUMEN · ABSTRACT	3
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. <i>Procesos de purificación de agua con membranas</i>	7
1.1.1. Microfiltración	8
1.1.2. Ultrafiltración y nanofiltración.....	8
1.1.3. Ósmosis inversa	9
1.1.4. Otros procesos	10
1.2. <i>Potencial y límites del proceso de desalinización con membranas</i>	11
1.2.1. <i>Fouling</i> o colmatación de membrana.....	11
1.2.2. Biofouling y Scaling	14
1.3. <i>Prevención del fouling</i>	14
1.3.1. Membranas de superficie modificada	15
1.4. <i>Monitorización del fouling</i>	16
1.4.1. Observación directa a través de la membrana (DOTM)	16
1.4.2. Laser triangulometry.....	17
1.4.3. Espectroscopia de impedancia	18
1.5. <i>Métodos alternativos para monitorización</i>	19
1.5.1. Microbalanza de cristal de cuarzo con monitorización de la disipación (QCM-D)	19
1.5.2. Resonancia superficial de plasmones (SPR).....	22
2. PARTE EXPERIMENTAL	25
2.1. <i>Materiales y métodos</i>	25
2.1.1. Polímero utilizado	25
2.1.2. Procedimiento de limpieza de los sensores.....	26
2.1.3. Depositiones de los polímeros en los sensores por spin-coating.....	27
2.1.4. Medidas de QCM-D	28
2.1.5. Medidas de SPR.....	28
2.1.6. Medidas de ángulo de contacto	29
2.1.7. Medidas de microscopía de fuerzas atómicas (AFM).....	29
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
3.1. <i>Adsorciones de BSA en poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM mediante QCM-D</i>	31
3.2. <i>Adsorciones de BSA en poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM mediante SPR</i>	33
3.3. <i>Complementariedad entre QCM-D y SPR</i>	34
3.4. <i>Adsorciones de BSA en poliamidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH mediante QCM-D</i>	35
3.5. <i>Medidas de ángulo de contacto</i>	38
3.5.1. Poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM.....	38
3.5.2. Poliamidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH	39

3.6.	<i>Medidas de AFM</i>	41
3.6.1.	Poliámidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM.....	41
3.6.2.	Poliámidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH	45
3.7.	<i>Comparación con resultados de filtración</i>	47
4.	CONCLUSIONES · CONCLUSIONS	49
5.	BIBLIOGRAFIA	51

RESUMEN · ABSTRACT

RESUMEN

De acuerdo con un informe reciente de *UN water*, a mediados de siglo, gran parte de la población mundial sufrirá la escasez de agua. El agua potable se encuentra en un bajo porcentaje y está repartida de manera muy irregular. Por ello, debemos establecer nuevas tecnologías que permitan producir agua con la suficiente calidad para ser suministrada como agua potable. Una buena alternativa frente a procesos convencionales como la destilación es emplear membranas para procesos de purificación de agua.

A pesar de las ventajas que las membranas ofrecen, uno de los mayores retos es minimizar el *fouling* o la colmatación de la membrana. Esto sucede cuando las moléculas disueltas en agua interactúan con la superficie de la membrana, depositándose o incluso adsorbiéndose irreversiblemente. En consecuencia el flujo de agua filtrada disminuye y con ello la eficiencia del proceso.

Principalmente existen dos opciones para intentar disminuir el efecto del *fouling*: modificar químicamente la superficie de la membrana para minimizar la adsorción de moléculas o limpiar la membrana con reactivos agresivos periódicamente. Sin embargo, monitorizar a tiempo real ofrece la posibilidad de anticiparse al problema y optimizar así la limpieza de las membranas.

Las técnicas de monitorización actuales que se emplean no son muy sensibles para detectar las fases iniciales del *fouling*. Por ello, en este proyecto se han empleado la microbalanza de cristal de cuarzo con monitorización de la disipación (QCM-D) y la resonancia superficial de plasmones (SPR) como técnicas de monitorización altamente sensibles, empleando poliamidas modificadas a distintos porcentajes con polietilenglicol (PEG) para estudiar su propensión al *fouling*, utilizando la proteína BSA como modelo.

Los resultados obtenidos se han comparado con datos de filtración de membranas compuestas por los mismos polímeros, para averiguar si las técnicas empleadas pueden predecir la tendencia al *fouling* en procesos reales.

ABSTRACT

According to a recent report by UN Water, by the middle of this century most of the world population will suffer from water scarcity. The amount of fresh water in the world is limited and is distributed very irregularly. Thus, there is a strong need to develop new technologies that could supply water with high quality. A good alternative to conventional processes such as distillation is to use membranes for water purification processes.

Despite the advantages that membranes offer, one of the biggest challenges that research in this field encounters is membrane fouling. Fouling occurs when compounds present in the water interact with the membrane surface and deposit or adsorb irreversibly. As a consequence, the filtered water flux decreases which in turn affects the process efficiency.

There are mainly two options for dealing with this problem. First, chemical modification of the membrane surface to minimize adsorption of molecules; second, cleaning the membrane periodically using aggressive reagents. Since chemical modifications of the membrane surface have so far not been efficient for avoiding fouling, monitoring techniques are needed to provide information on when fouling reaches a level which requires cleaning. Therefore, monitoring offers the chance to anticipate and optimize the cleaning of membranes.

Unfortunately, current monitoring methods are not sensitive enough to provide an early-stage warning on the build-up of fouling layers. For this reason, in this project quartz crystal microbalance with dissipation monitoring (QCM-D) and surface plasmon resonance (SPR) have been used as highly sensitive monitoring techniques, employing polyamides modified at different degrees with polyethylenglicol to study their propensity to fouling using BSA protein as a foulant model.

The results were compared with filtration data using membranes composed by the same polymers and in order to see if the used techniques are capable of predicting the fouling tendency in the membrane filtration processes.

1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la *UN Water (The United Nations Inter-agency Mechanism on all freshwater related issues, including sanitation)*, en el año 2025, aproximadamente 1.8 mil millones de personas vivirán en países o regiones donde habrá escasez absoluta de agua, mientras que dos tercios de la población mundial podría encontrarse bajo condiciones de estrés (Figura 1). Además, a día de hoy más de un 40% de la población mundial se ve afectada por la escasez de agua [1]. Es por esto que, sin olvidar problemas como la escasez de combustible y de energía, nuestro planeta tendrá que hacer frente a la escasa disponibilidad de agua potable que tendremos, la cual alienta al desarrollo de nuevas tecnologías.

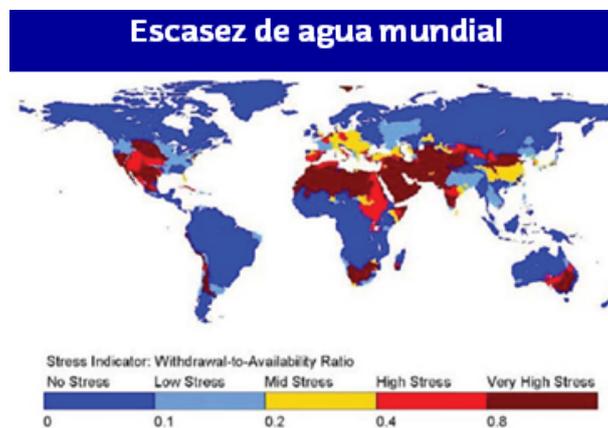


Figura 1. Situación mundial de escasez de agua en el año 2025 [2].

El agua potable es un recurso natural que puede ser renovable, pero a medida que aumenta el crecimiento y la densidad de la población, los suministros locales se ven con mayores dificultades para proporcionarnos el agua necesaria [3]. No solo hablamos de la cantidad de agua que se proporciona, sino también de la falta de calidad con la que ésta llega a los ciudadanos. Teniendo en cuenta que la población aumenta alrededor de 80 millones de personas al año, la demanda anual de agua potable asciende a 64 mil millones de metros cúbicos [4]. Podríamos considerar el agua como una de las moléculas más simples pero a la vez más importantes del planeta, por el hecho de que solamente el 2.5% del agua que existe en el mundo no es salada, y de ese porcentaje, más de dos tercios se encuentra atrapada en glaciares o en casquetes polares. Además, la disponibilidad de agua potable es muy irregular, ya que está repartida en un gran número de ríos y lagos en todo el mundo (Figura 2).

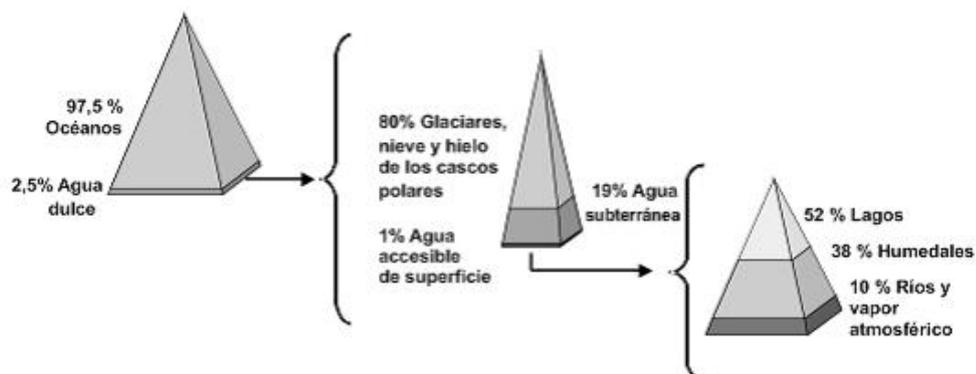


Figura 2. Distribución mundial de agua [5].

Los recursos de agua disponibles que el planeta nos ofrece no proporcionan muchas alternativas. Por ello, la solución más viable de la que disponemos es producir agua potable partiendo de agua salada del océano, ya que ésta constituye un gran porcentaje del agua total.

Entre los procesos que existen para purificar agua, la tecnología de membranas ha asumido una posición decisiva. Por ejemplo, actualmente se producen mediante ósmosis inversa $3.785.408 \text{ m}^3$ /día de agua potable [6]. Los países de Oriente Medio son, hoy en día, los que disponen de mayores plantas de desalinización de agua de mar. Además, en China, España y Australia, el gobierno ya ha aprobado proyectos a gran escala para desalinizar agua de mar. Otro campo de aplicación de procesos de membranas relacionado es el tratamiento del agua residual de los municipios y de la industria. En este ámbito, así como en la producción de agua potable, las membranas juegan un papel crucial, particularmente con tecnologías emergentes como los bioreactores de membranas [7]. Aunque los procesos con membranas son una excelente alternativa para desalinizar o purificar el agua frente a otros métodos más convencionales, como lo son los procesos térmicos, conllevan un gran problema: el llamado *fouling* o la colmatación de la membrana. Esto sucede cuando los compuestos que están presentes en el agua interactúan con la superficie de la membrana y se adsorben en ella irreversiblemente.

Durante décadas los investigadores han estudiado ampliamente el fenómeno del *fouling* para tratar de buscar soluciones prácticas para evitarlo, pero a día de hoy, sigue afectando a los procesos de separación con membranas [8]. En

consecuencia, se requiere de periodos de limpieza de las membranas, que por un lado significan un tiempo muerto en el proceso, y por el otro utilizan agentes dañinos para el ambiente, tal como hidróxido de sodio o hipoclorito de sodio a concentraciones entre 0.5-1% [9]. Por ello, ya que el *fouling* en sí hasta ahora no se puede eliminar del todo, hay una gran necesidad de por lo menos minimizar sus efectos negativos. Esto implica tener un método de detección, suficientemente sensible, que nos avise de que está sucediendo para facilitar optimizar los periodos de limpieza y minimizar de ese modo los tiempos muertos de la planta tanto como el uso de agentes dañinos para el ambiente.

En este contexto, este trabajo está dirigido al estudio del *fouling* empleando la microbalanza de cristal de cuarzo con monitorización de la disipación (QCM-D) y la resonancia superficial de plasmones (SPR), como técnicas para su monitorización y detección en etapas tempranas. El objetivo es estudiar si se pueden utilizar las técnicas mencionadas como métodos de monitorización y relacionar los resultados obtenidos con procesos de membranas.

1.1. Procesos de purificación de agua con membranas

Los procesos de filtración y/o purificación de agua con membranas se pueden clasificar mediante la fuerza impulsora del proceso. Si la fuerza impulsora para producir la separación es la presión estamos hablando de procesos de filtración basados en la exclusión por tamaño, tal como la microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración y la ósmosis inversa. En estos procesos, los componentes disueltos en el agua con un tamaño inferior al diámetro del poro de la membrana, pasarán a través de ella mientras los solutos más grandes quedarán retenidos. Así, la solución inicial se separa en un filtrado, el cual carece de partículas y moléculas a partir de un determinado tamaño (llamado el "molecular weight cut-off", MWCO), y en un retentado, donde quedan los componentes que se separan del filtrado.

Partiendo de la microfiltración hasta los demás procesos, el tamaño de las partículas o moléculas que se separan del agua va disminuyendo y en consecuencia, también lo hace el tamaño de poro de las membranas que se utilizan para cada caso. Esto implica que la resistencia de las membranas a la transferencia de masa aumenta y la fuerza impulsora que se aplica, es decir, la presión tiene que aumentar para conseguir el mismo flujo de agua.

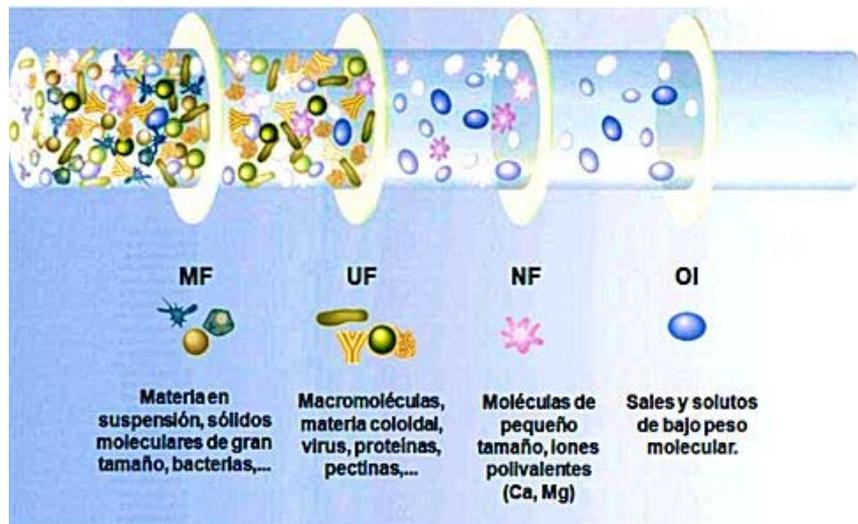


Figura 3. Procesos de filtración con membranas [10].

1.1.1. Microfiltración

La microfiltración es un proceso para purificar agua donde se consigue retirar partículas, bacterias y la turbiedad [11]. Las membranas que se emplean suelen ser membranas simétricas microporosas con un rango de tamaño de poro que varía entre 0.05-10 μm y un grosor que varía de 10 a 150 μm . La microfiltración se utiliza en muchas aplicaciones industriales cuando las partículas que se quieren separar tienen un diámetro de entre 0.1-10 μm . Existen dos maneras de llevar a cabo el proceso. Una se conoce como "dead-end", donde el flujo es perpendicular a la superficie de la membrana y las partículas retenidas se acumulan en ella formando una capa (*cake layer*). La otra, se conoce como filtración de flujo cruzado, o "crossflow filtration", donde el flujo de alimentación se extiende a lo largo de la superficie de la membrana de modo que solo una parte de los solutos retenidos se acumulan [7].

1.1.2. Ultrafiltración y nanofiltración

Las membranas para ultrafiltración tienen un tamaño de poro entre 1-100 nm y se utilizan para separar del agua sólidos en suspensión, coloides, bacterias pequeñas y los virus. Las membranas comerciales que se utilizan suelen prepararse partiendo de materiales poliméricos o inorgánicos [11].

Una diferencia con la microfiltración es que las membranas de ultrafiltración mayormente son asimétricas, para minimizar al máximo posible la resistencia a la transferencia de materia. De ese modo, la resistencia hidrodinámica de las membranas está determinada dentro de una pequeña parte del grosor total de la membrana, normalmente menos de 1 μm , mientras que en membranas de microfiltración, todo el grosor contribuye a la resistencia hidrodinámica. Normalmente la presión que se utiliza en ultrafiltración varía entre 2-10 bar, ya que la presión osmótica del flujo de alimentación es pequeña. Si bien es cierto que la ultrafiltración puede ser empleada en procesos de desalinización, las membranas que se emplean fueron originalmente diseñadas para aplicaciones como tratamientos de aguas residuales municipales y de la industria o purificación de aguas altamente contaminadas [7].

La nanofiltración ofrece la posibilidad de separar iones multivalentes del agua y las membranas que se emplean tienen un tamaño de poro similar al de las membranas que se utilizan en la ósmosis inversa, pero ligeramente más elevado [11].

1.1.3. Ósmosis inversa

La ósmosis inversa es el método principal para desalinizar el agua del mar con el fin de producir agua potable. Gracias a este proceso se consigue separar las especies iónicas normalmente monovalentes como lo son el Na^+ y el Cl^- del agua [11]. Las membranas que se utilizan suelen ser membranas densas, es decir, membranas no porosas donde el espacio que se utiliza para hacer pasar el agua es el volumen libre que las cadenas poliméricas ofrecen.

El concepto de la ósmosis inversa está basado en el hecho de que cuando dos líquidos, con distinta concentración de sales, están separados por una membrana semipermeable, se establece una diferencia de presión entre ambos lados de la membrana y dicha presión es función de la diferencia de las concentraciones de la sal en cada lado. Esta presión es la que conocemos como presión osmótica y en el proceso natural de ósmosis, hace pasar agua pura del lado donde hay menos concentración de sales, hacia el lado de mayor concentración, hasta que las dos concentraciones se igualan. Así, la solución concentrada será diluida hasta llegar al equilibrio entre las dos zonas y hasta que el flujo a través de las dos zonas sea nulo.

En cambio, la ósmosis inversa se produce cuando se aplica una determinada presión con el fin de superar la presión osmótica, y así obligar al agua a que pase a través de la membrana desde la disolución salina, mientras que los solutos quedan retenidos. De este modo, lo que se obtiene es un flujo de agua pura (Figura 4).

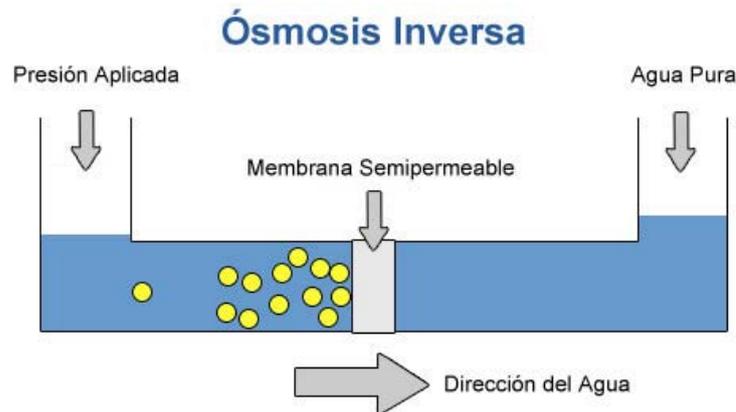


Figura 4. Proceso de ósmosis inversa [12].

Mientras el agua fluye a través de la membrana, las moléculas e iones tienden a acumularse a lo largo de la superficie, lo cual aumenta localmente la presión osmótica. Este fenómeno es el que se conoce como concentración de polarización y puede ser reversible pero afecta al proceso porque habrá que aplicar una presión más elevada, aunque la concentración de sales en el bulk no muestre esa necesidad. La ósmosis inversa está considerada universalmente como la tecnología más prometedora para purificación de aguas residuales y desalinización de agua de mar [13].

1.1.4. Otros procesos

En cambio existen otros métodos disponibles para purificación de agua que no utilizan presión como fuerza impulsora, tal como la ósmosis forzada [3], la destilación por membranas [3] y la electrodiálisis [11]. Estos procesos no se explican en más detalle en este proyecto, ya que el enfoque del trabajo ha sido el estudio de *fouling* sobre membranas utilizadas en procesos de filtración.

1.2. Potencial y límites del proceso de desalinización con membranas

La primera planta de desalinización de agua de mar para obtener agua potable se estableció en Freeport (Texas) en el año 1961 [7]. Por aquel entonces el proceso se basaba en evaporar agua de mar para separarla de la sal, es decir, los procesos que se realizaban eran procesos de destilación, procesos térmicos. Para poder llevar a cabo un proceso de purificación de agua mediante una destilación se necesita temperaturas altas y en consecuencia una gran cantidad de energía eléctrica. Por lo tanto, el gasto energético que requiere un proceso térmico de este tipo es muy elevado. Las membranas son una buena alternativa frente a este tipo de procesos convencionales, porque los procesos de membranas son más eficientes y realizan la misma operación ocupando un espacio mucho menor que la destilación, lo cual es muy interesante de cara a la industria. Además, los procesos de membranas ofrecen una mayor eficiencia energética en comparación con procesos térmicos [3]. Por lo tanto, los procesos con membranas son más sostenibles de cara al medio ambiente.

A pesar de que emplear membranas es una alternativa interesante para producir agua potable, todos los procesos de filtración utilizando membranas tienen en común el problema del *fouling* o colmatación de la membrana.

1.2.1. *Fouling* o colmatación de membrana

El *fouling* es un fenómeno asociado a procesos de filtración en membranas que contribuye a una disminución del flujo de agua pura que se obtiene. Esto ocurre debido a que los solutos que están disueltos en la corriente de alimentación interactúan con la superficie de la membrana quedando adheridos a ella, mediante procesos de adsorción. El *fouling* supone un gran problema en los costes operacionales de procesos de purificación de agua, debido a las limpiezas que hay que realizar para poder obtener de nuevo membranas operativas, ya que dichas limpiezas afectan al tiempo de vida de las membranas por la utilización de agentes químicos [14].

Los solutos que provocan el *fouling* tienen la siguiente naturaleza:

- Macromoléculas orgánicas

- Coloides
- Partículas
- Compuestos inorgánicos

Muchas veces el *fouling* se relaciona con una reducción del área activa de la membrana que como consecuencia conlleva a una pérdida de flujo, ya que los poros se encuentran parcialmente cerrados o bloqueados. En base a las interacciones que se establecen entre los solutos del agua y la superficie de la membrana, el *fouling* puede adoptar las siguientes formas [7]:

- **Adsorción:** Este proceso ocurre cuando existen interacciones favorables entre la superficie de la membrana y las partículas/solutos que están en la disolución. Es posible que se forme una capa de partículas o solutos incluso en ausencia del flujo de permeación, consiguiendo así una resistencia hidráulica adicional a la propia de la membrana.

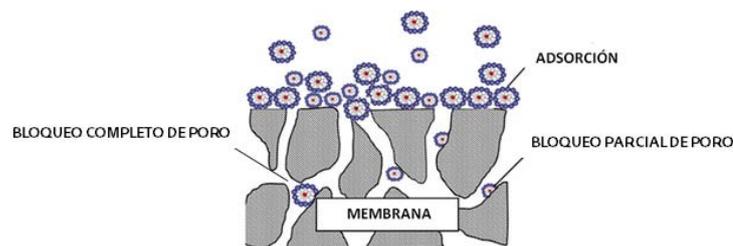


Figura 5. Distintas formas de fouling [15].

- **Poros obstruidos:** En membranas porosas y en un proceso de filtración los poros pueden taponarse dando lugar a una reducción del flujo debido a su cierre parcial o completo. Existen cuatro mecanismos por los que los poros de una membrana se obstruyen:
 - **Bloqueo completo de poro:** las partículas son más anchas que el poro y lo taponan al completo reduciendo así el área activa de la membrana. Depende de la velocidad de la corriente de alimentación.
 - **Bloqueo interno de poro:** las partículas son más pequeñas que el poro y cuando entran en él, se depositan en las paredes. En consecuencia, se restringe el flujo del permeato. La resistencia de la membrana aumenta

debido a la reducción del tamaño del poro. El proceso es independiente a la velocidad de la alimentación.

- **Bloqueo parcial de poro:** las partículas que llegan a la superficie pueden sellar el poro, bloquearlo parcialmente o adherirse a las regiones inactivas de la membrana. El efecto es similar al bloqueo de poro completo pero no es tan severo.
- **Cake filtration:** mediante este proceso, las partículas que se adhieren a la superficie no van a penetrar en los poros. La resistencia total de la membrana será la suma entre la resistencia de la capa de solutos y la de la propia membrana (la cual puede estar previamente colmatada por otros mecanismos).

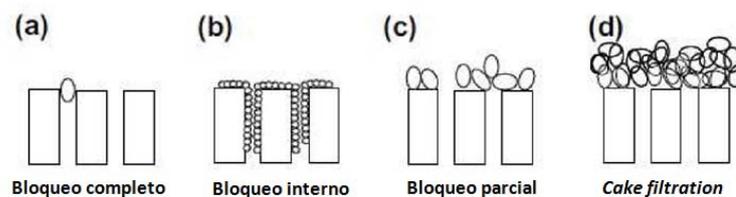


Figura 6. Mecanismos de obstrucción del poro [16].

- **Deposición:** Un depósito de partículas puede crecer capa tras capa en la superficie dando lugar a una mayor resistencia hidráulica. Esto es comúnmente conocido como *cake resistance*. La deposición es similar a la adsorción, pero se distinguen por que en este caso las partículas depositadas no establecen ninguna interacción con la superficie. Podríamos considerar la deposición como un caso de *fouling* reversible.
- **Formación de gel:** Para algunas macromoléculas, como en el caso de una disolución concentrada de proteínas, el nivel de concentración de polarización puede conllevar a la formación de gel en la superficie de la membrana. Un gel es una sustancia coloidal donde la fase continua es sólida y la dispersa es líquida. La densidad de un gel es parecida a la de un líquido pero la estructura se asemeja más a la de un sólido.

1.2.2. Biofouling y Scaling

Un caso particular del *fouling* es el fenómeno producido por diferentes microorganismos existentes en los efluentes de agua denominado *biofouling*. Muchas aguas superficiales y residuales contienen microorganismos como las bacterias, hongos, algas o los virus. Estos microorganismos se adhieren a la superficie de la membrana y son capaces de reproducirse utilizando como nutrientes otros compuestos que el agua tiene disueltos, formando así biofilmes que al igual que el *fouling*, conllevan a una disminución del flujo de agua limpia. Estos biofilmes crecen rápidamente debido a los altos niveles de nutrientes que los microorganismos encuentran en la corriente de alimentación, pudiendo llegar a alcanzar un grosor de 1000 μm [7]. Mayormente los compuestos que producen este problema son proteínas, polisacáridos, ácidos húmicos y moléculas de ADN [10]. Los compuestos que colmatan la membrana dando lugar a la producción de biofilmes normalmente proceden del metabolismo de los distintos microorganismos o de la lisis de células en la corriente de alimentación, así como los propios microorganismos que habitan en el agua. Éstos dependen del medio del efluente, es decir, de la temperatura o de la cantidad de oxígeno disuelto.

En el caso de la acumulación de sales en la capa límite de la membrana no se habla de *fouling*, sino de *scaling* o precipitación de minerales [7].

1.3. Prevención del *fouling*

En procesos de membranas, el *fouling* y como consecuencia la disminución del flujo son problemas que se han estudiado durante décadas y a pesar de los avances que se han logrado en este ámbito, todavía no se alcanza a entender completamente los mecanismos y procesos que están involucrados con estos fenómenos [17]. La disminución inicial del flujo de agua pura está relacionada con la concentración de polarización, pero cuando esta disminución se mantiene a lo largo del tiempo está relacionada con varios tipos de *fouling* [11], aunque el resultado es el mismo para los dos casos: un proceso de filtración de agua poco económico.

Existen dos posibilidades a la hora de prevenir o evitar el *fouling* para intentar obtener un flujo de agua rentable. Por un lado podemos utilizar membranas modificadas químicamente para conseguir disminuir las interacciones entre la

superficie y los compuestos que causan el problema. Por otro lado, lo que es más factible de cara a una mejor prevención, es monitorizar a tiempo real procesos de filtración. De este modo, podremos observar cómo van surgiendo las interacciones entre compuesto-membrana y efectuar una limpieza antes de que el flujo decaiga o el ensuciamiento de la membrana se agrave demasiado dificultando de ese modo la limpieza y requiriendo de agentes más agresivos. En otras palabras, monitorizar nos permite estar un paso por delante y así, optimizar la limpieza de las membranas aumentando de ese modo la rentabilidad del proceso.

1.3.1. Membranas de superficie modificada

El comportamiento de una membrana no depende solo del tipo de poros que tiene, sino también de las propiedades químico-físicas de su superficie. Es frecuente que los polímeros con mejores propiedades, como la resistencia a disolventes y con mejores estructuras de poro, sean altamente hidrófobos, lo cual es un problema de cara al *fouling*, ya que la mayoría de los compuestos que lo causan son hidrófobos [6]. Además, el agua debe mojar la membrana para poder penetrar en ella y siendo el material hidrófobo, es necesario superar la tensión superficial del agua, resultando en un aumento de energía aplicada.

Por lo tanto, la modificación de la superficie de la membrana por introducir grupos funcionales en la membrana que minimizan los procesos de adsorción parece ser una vía eficaz. Los métodos de modificación que se emplean habitualmente son los siguientes [6]:

- **Oxidación química:** permite aportar hidrofiliidad a la superficie de la membrana. Una de las técnicas más tempranas, consiste en exponer la membrana a agentes oxidantes como el ácido crómico, nítrico o permanganato potásico, para producir grupos carbonilos, hidroxilos y carboxilos en la superficie de membranas de PE, PP y poliéster. Los reactivos que se emplean son nocivos, por tanto no es un proceso muy limpio de cara al medio ambiente.

- **Polymer grafting:** es un proceso donde se injertan monómeros o polímeros mediante enlaces covalentes a la superficie de la membrana. Para iniciar el proceso, la superficie tiene que activarse mediante iniciadores químicos o irradiación con energía de tipo UV, plasma o gama, para crear puntos activos. Después, la membrana se contacta con monómeros específicos en base a la membrana que se quiera obtener para que se dé la polimerización. Las propiedades de la superficie de la membrana estarán determinadas por la capa polimérica que se ha creado encima de ella.
- **Revestimiento de la superficie:** consiste en un método físico simple que permite depositar una capa fina, por ejemplo de poliamida, encima de la superficie de la membrana con el objetivo de incrementar o reducir la energía de la superficie o de cambiar su rugosidad.
- **Tratamientos químicos clásicos:** dentro de este bloque podemos encontrar reacciones comúnmente conocidas como la sulfonación, nitración o reacciones de ácido-base por ejemplo, que sirven para estrechar o abrir el poro de la membrana según lo deseado. También permiten crear superficies más reactivas para tratamientos posteriores. En estudios previos, se han modificado membranas de poliamida para osmosis inversa utilizando ácidos próticos para hidrolizar los grupos carbonilos con el fin de abrir la estructura reticulada y aumentar el flujo de agua [11].

1.4. Monitorización del fouling

En vista de que en procesos industriales el *fouling* no se ha podido evitar, su monitorización juega un papel muy importante para por lo menos, minimizar sus efectos perjudiciales. Por ello, las medidas in situ y la observación de cómo se van desarrollando las capas, se ha explorado mediante distintas técnicas de observación [17,18].

1.4.1. Observación directa a través de la membrana (DOTM)

Uno de los métodos más sencillos para visualizar como se depositan partículas en la superficie es utilizar un microscopio óptico. La técnica consiste en colocar el objetivo del microscopio en el lado del permeato de una membrana transparente,

para poder visualizar a tiempo real como va formándose la capa de partículas por encima. Como ejemplo, se puede utilizar una membrana anodizada con aluminio y de alta porosidad. Cuando la membrana se moja es transparente y eso facilita la observación [19]. Las observaciones realizadas demuestran que el movimiento de las partículas cerca de la superficie de la membrana posterior a la deposición, depende de la velocidad del flujo, del tamaño de las partículas y de la distribución de tamaño. Esta técnica también aporta información sobre la distribución de tamaño de las partículas. Cuando se compara este factor en varias condiciones de operación se concluye que a velocidades de flujo altas, las partículas depositadas son más pequeñas que las que lo hacen a velocidades más bajas.

El método resulta más apto para estudiar el *fouling* en vez de para monitorizarlo en procesos de filtración. Además, la dificultad es elegir la membrana adecuada, ya que tiene que ser transparente.

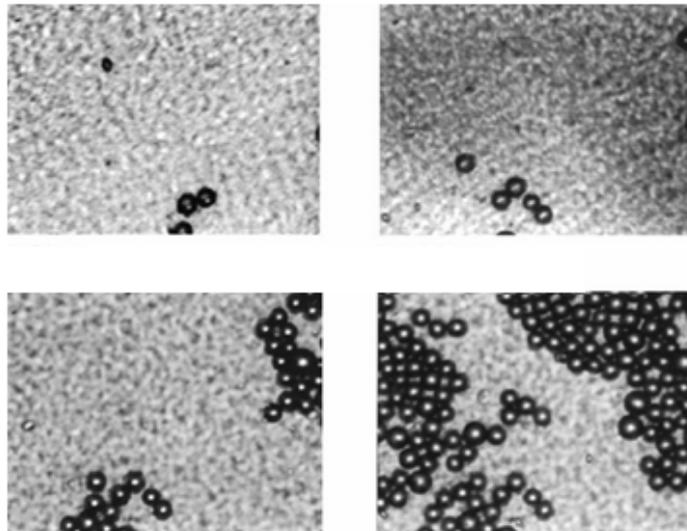


Figura 7. Imagen obtenida mediante la observación directa a través de la membrana [19].

1.4.2. Laser triangulometry

En esta técnica, se utiliza un haz de laser que se proyecta sobre la superficie de la membrana, mientras se está desarrollando la capa de partículas depositadas, y se detecta la reflexión del laser mediante una cámara CCD [17]. La base de la técnica consiste en reflejar el laser hacia la superficie de la membrana mediante una ventana en la parte de alimentación de un modulo de membrana de flujo cruzado (*cross-flow*). A medida que la capa depositada se va formando, la reflexión del laser va cambiando desde la posición central, es decir, la posición donde la

membrana está limpia. La distancia del desplazamiento de la luz reflejada en el plano de la imagen se puede utilizar para estimar el espesor de la capa depositada.

En un experimento de filtración este método puede emplearse para registrar el crecimiento de la capa de partículas y para medir su grosor. Una de las mayores limitaciones que el método tiene es que es muy sensible, lo cual dificulta su utilización.

1.4.3. Espectroscopia de impedancia

La espectroscopia de impedancia ha sido una técnica muy empleada en caracterización de membranas biológicas e interfaces [20] que recientemente también se utiliza para caracterizar las propiedades de membranas sintéticas y estudiar el *fouling*. A diferencia del método tradicional, donde la alimentación y el permeato requerían de electrodos, se aplica una corriente alterna directamente en la membrana a través de contactos eléctricos externos y se utiliza una capa metálica para mejorar las propiedades eléctricas y de conducción de la membrana. El flujo de la corriente a través de la superficie de la membrana conlleva a una dispersión de ésta en la solución *bulk* y en los poros. Esta dispersión se caracteriza mediante la capacitancia y conductividad de varios componentes del sistema, como los materiales que constituyen la membrana, la solución *bulk* o la posible capa formada debido al *fouling*. La dispersión de la corriente cambia a medida que los compuestos que producen el *fouling* se acumulan en la superficie dando lugar a una alteración en la capacitancia y conductividad de la membrana en la región interfacial. El medir cambios en la dispersión de la capacitancia del sistema se convierte en una manera de monitorizar in situ la acumulación de partículas que pueden colmatar la membrana.

Una de las principales limitaciones que encontramos en esta técnica es que la superficie de la membrana necesita recubrirse con una capa metálica, lo cual no solo nos aleja de su verdadera naturaleza, sino que también podría ocurrir que los poros se taponen parcialmente y alterar así los resultados. Por lo tanto, aunque la técnica tenga buen potencial de cara a estudiar el *fouling* en membranas, la realidad es que su aplicación para monitorizar in situ no es muy eficaz.

1.5. Métodos alternativos para monitorización

Si bien es cierto que las técnicas mencionadas proporcionan información válida sobre el *fouling*, una de las limitaciones principales es la escala en la que pueden medir. En el caso de los microscopios, es importante tener en cuenta cuál es el límite de detección, puesto que no podemos medir en escalas que estén por debajo de la longitud de onda de la luz visible. En consecuencia, no podríamos ver proteínas o moléculas de tamaño similar. Además, las técnicas explicadas se utilizan más de cara al estudio del fouling, no a monitorizarlo.

Es por esto que en este trabajo se han empleado otras dos técnicas muy distintas entre sí, que se basan en fenómenos diferentes, pero que son capaces de aportar buena información acerca de los procesos de adsorción que contribuyen a que la membrana se colmate.

1.5.1. Microbalanza de cristal de cuarzo con monitorización de la disipación (QCM-D)

La microbalanza de cristal de cuarzo es una técnica acústica donde el equipo aplica una corriente alterna y los sensores que se utilizan son unos discos muy finos de cuarzo que están recubiertos por cada lado con un electrodo. Normalmente los electrodos están hechos de oro y pueden ser recubiertos por una amplia variedad de materiales (Figura 8). Gracias al carácter piezoeléctrico del cuarzo, cuando se aplica la corriente alterna sobre el sensor, éste oscila a una determinada frecuencia de resonancia. La frecuencia de resonancia depende de la masa total que oscila, del sensor y también de las capas que se adhieren en la superficie de éste.

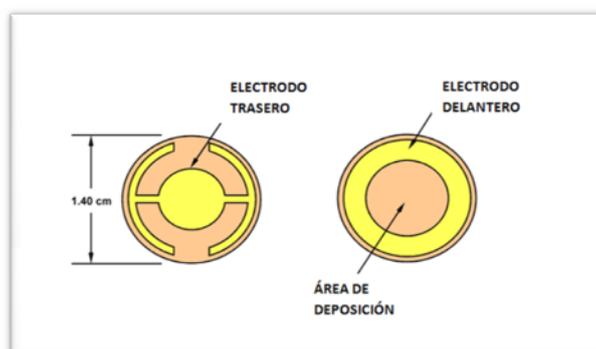


Figura 8. Sensor de cuarzo con recubrimiento de oro [21].

Durante un experimento con este equipo, se miden dos parámetros a tiempo real a medida que se va formando una capa en la superficie. Estos parámetros son la frecuencia y la disipación. El primer parámetro nos da información sobre el grosor del filme que se ha formado y sobre la cantidad de masa que se ha adsorbido en la superficie. En cambio, el segundo parámetro nos da una idea sobre la viscoelasticidad del filme, es decir, nos permite deducir la rigidez de dicho filme. Cuando algo se deposita sobre el sensor, la frecuencia disminuye (Figura 9).

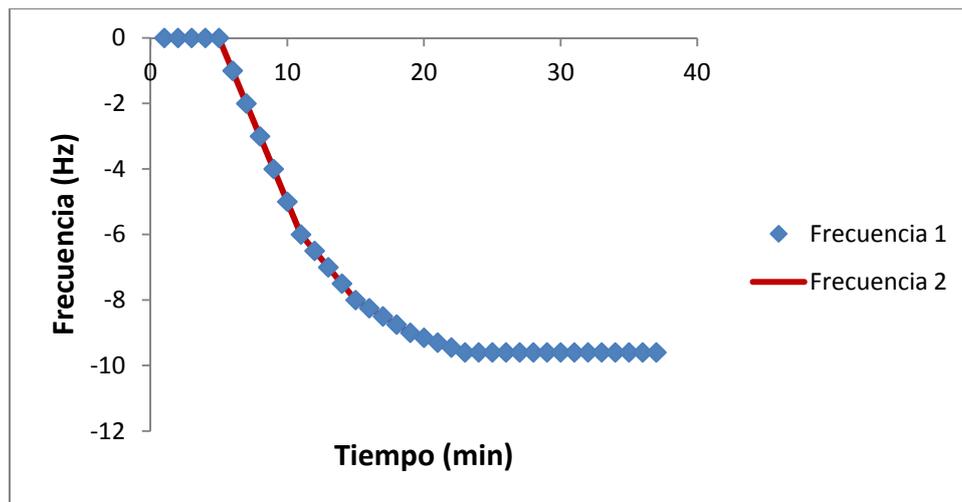


Figura 9. Cambio de la frecuencia en el QCM-D debido a la adsorción de moléculas en el sensor.

Si el filme es rígido y fino la disminución de la frecuencia es proporcional a la masa depositada según la ecuación *Sauerbrey* [22]:

$$\Delta f = -\frac{2f_0^2}{A\sqrt{\rho_q\mu_q}}\Delta m$$

Donde Δf es el cambio de frecuencia (Hz), Δm es el cambio en la masa adsorbida (Kg), f_0 es la frecuencia de resonancia del cristal (Hz) del sensor, A es el área piezoeléctricamente activa del cristal (m^2), ρ_q es la densidad (Kg/m^3) y μ_q es el módulo de elasticidad transversal.

La viscoelasticidad del filme depositado se mide a través de la disipación. La corriente alterna que el equipo aplica se detiene y el sensor continúa oscilando durante un determinado tiempo, en base a las moléculas que estén depositadas encima. La disipación varía en base a como se adsorbe el filme en el sensor (Figura 10).

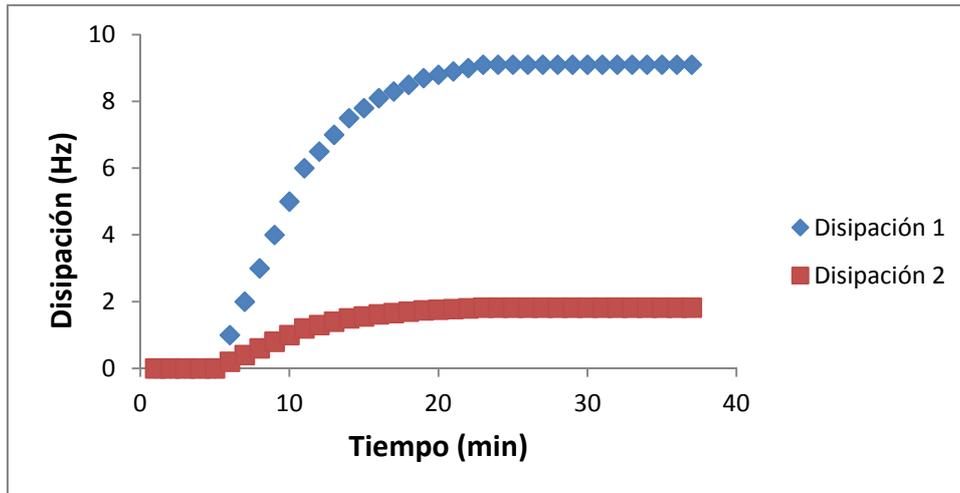


Figura 10. Cambio de la disipación en el QCM-D debido a la adsorción de moléculas en el sensor.

Si el filme depositado en el sensor se adsorbe de una manera blanda, la disipación es alta. Esto sucede porque el sensor apenas oscila cuando la corriente que el equipo aplica se detiene. En cambio, si el filme depositado es rígido, la disipación es baja, ya que en este caso el sensor oscila durante más tiempo cuando la corriente se detiene (Figura 11).

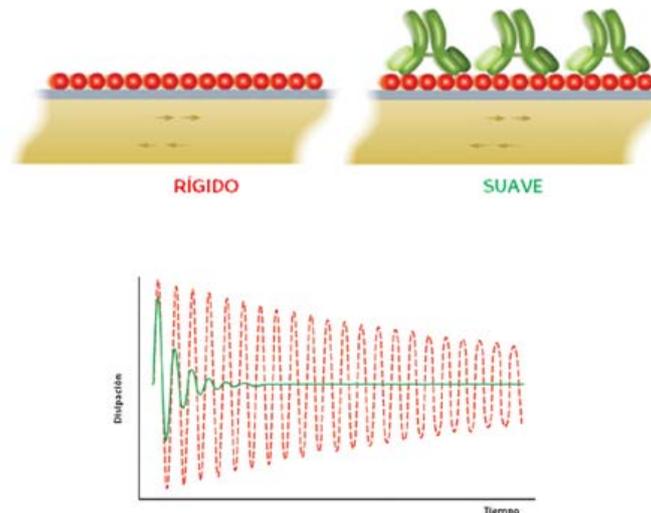


Figura 11. Filmes rígidos y blandos. Diferencias en la disipación [23].

La relación entre la disipación y la frecuencia ($\Delta D/\Delta F$) nos indica cuanto disipa la masa adsorbida por unidad adsorbida (Figura 12). Cuanto más alto sea este valor, las moléculas estarán adsorbidas a la superficie debido a una interacción débil y por lo tanto, más fácil resultara retirarlas mediante métodos de limpieza. Sin

embargo, cuando este valor es bajo significa que lo que está adsorbido en la superficie, lo está de manera muy rígida y en consecuencia será mucho más complicado retirarlo.

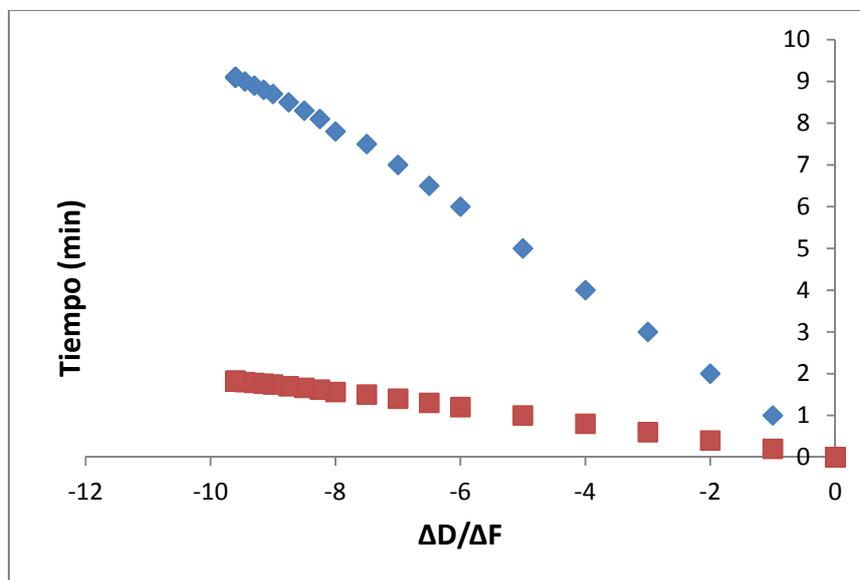


Figura 12. Relación $\Delta D/\Delta F$.

1.5.2. Resonancia superficial de plasmones (SPR)

El equipo dispone de un bloque de vidrio al cual llega un laser y sucede la reflexión total entre la interfaz de vidrio y oro del sensor. En ese punto se forma una onda evanescente que excita los plasmones en la superficie de oro. Cuando una molécula se adsorbe a la superficie del sensor la resonancia de los plasmones cambia. El SPR detecta y mide cambios en el índice de refracción del medio adyacente al lado de una superficie de metal, que a su vez produce un cambio en el ángulo de resonancia, donde la intensidad de la luz reflejada es mínima. Debido a que la señal de SPR o los cambios en las propiedades ópticas de resonancia definen el desplazamiento del ángulo de resonancia, la señal de SPR expresada en unidades de resonancia (RU) es una medida de la masa adsorbida en la superficie del sensor. La masa adsorbida por área de la superficie se puede calcular mediante los ángulos de resonancia determinados experimentalmente, utilizando la siguiente ecuación:

$$m_{SPR} = \frac{l_{decay}}{2} \cdot \frac{dc}{dn} \cdot k \cdot \Delta\theta = c_{SPR} \cdot \Delta\theta$$

Donde m_{SPR} es la masa adsorbida por área de superficie (ng/cm^2), l_{decay} es la longitud del campo evanescente (cm), dc/dn es la inversa del incremento del índice de refracción con el bulk de la concentración de masa (ng/cm^3), k es el factor de sensibilidad del sistema y $\Delta\theta$ es el desplazamiento del ángulo SPR.

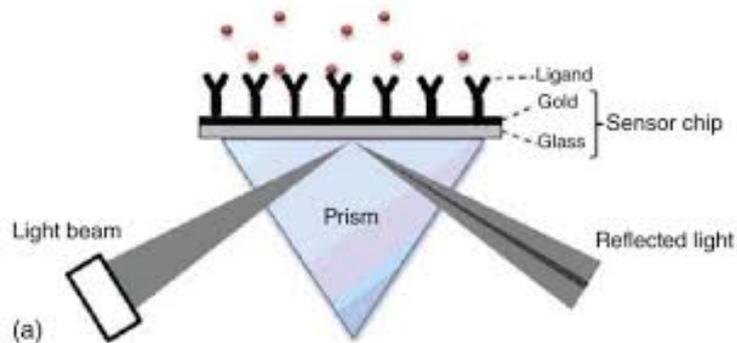


Figura 13. Esquema del funcionamiento del SPR [24].

La principal diferencia entre la información que se obtiene de un experimento de adsorción de proteína utilizando el SPR y el QCM-D es que en el caso del QCM-D, el equipo detecta tanto la masa de la proteína como la del agua asociada a ella, debido a la capa de solvatación que se crea para mantener la proteína en disolución mientras el SPR, como se basa en cambios en el índice de refracción y las moléculas de agua que vienen con la proteína tienen el mismo índice que el agua que viene de la corriente o del bulk, solo mide el índice de refracción de la proteína. En consecuencia, el SPR es más fiable a la hora de determinar solo la masa de la proteína adsorbida.

No obstante, la combinación de las dos técnicas puede proporcionarnos una idea sobre cuánto y cómo está adsorbiendo la proteína en la superficie polimérica que está depositada en el sensor.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Materiales y métodos

2.1.1. Polímero utilizado

Para la realización de cada experimento se ha utilizado como polímero una poliamida modificada con Polietilenglicol (PEG) a distintos porcentajes, desde 0% hasta 100%. Estas poliamidas han sido sintetizadas por Prof. Javier de Abajo, del *Institute of Polymer Science and Technology of CSIC (Madrid)*. Para ello, se ha sintetizado una poliamida de referencia, es decir, sin ningún porcentaje de PEG.

Para la preparación de los copolímeros se ha injertado en la poliamida base distintas proporciones controladas de PEG mediante una reacción de sustitución de alto rendimiento. De este modo se han sintetizado 4 copolímeros de poliamida-PEG de 25%, 50%, 75% y 100%. En la figura 14 se puede observar cuál ha sido la ruta de síntesis y cuál es la fórmula general de los copolímeros de poliamida-PEG.

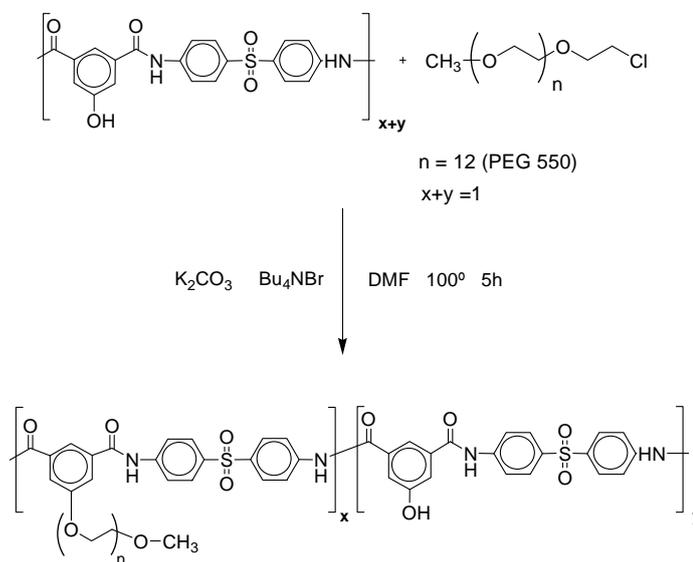


Figura 14. Síntesis de los copolímeros poliamida-PEG.

Para realizar la modificación de las poliamidas, se han injertado las cadenas de PEG directamente en el monómero. Después se ha realizado la reacción de

polimerización. De esta forma, cada monómero está modificado y el rendimiento del proceso aumenta.

La proteína que se ha utilizado como modelo ha sido BSA (*bovine serum albumin*, Sigma Aldrich) disuelta en un tampón PBS (Sigma Aldrich) a una concentración de 100 mg/L. El tampón PBS se encuentra a un pH de 8 para estar por encima del punto isoeléctrico de la BSA, porque si no, la carga total sería neutra y no se podrían establecer interacciones con el agua.

Los disolventes que se han empleado para disolver las poliamidas han sido Dimetilacetamida (DMAc, Sigma Aldrich), Diclorometano (DCM, Scharlab) y etanol (Scharlab). Primero, se han preparado 5 disoluciones de cada polímero a una concentración del 3% en DMAc. Debido a la imposibilidad de conseguir un filme polimérico homogéneo a la hora de realizar las deposiciones en los sensores, se les ha añadido a cada disolución dos partes de DCM, obteniendo así una mezcla de 1:2 de DMAc-DM.

Por otro lado, se han preparado otras 5 disoluciones más pero cambiando el DCM por etanol, obteniendo una mezcla 1:1 de DMAc-EtOH.

2.1.2. Procedimiento de limpieza de los sensores

Tanto al comenzar los experimentos de adsorción como al finalizarlos, los sensores se han limpiado para asegurarnos de que no hay ningún resto de suciedad o impurezas que puedan interferir en nuestros resultados. El proceso de limpieza se ha llevado a cabo eligiendo siempre el procedimiento más adecuado para cada caso. Para limpiar los sensores de oro siempre se han seguido los pasos que se explican a continuación:

- Los sensores se han sumergido en un vaso que contiene etanol y se han mantenido en el equipo de ultrasonido (Farfield Aries 101, Fisher) durante 15 minutos.
- Una vez fuera del ultrasonido, hemos pasado nitrógeno por las superficies de los sensores para secarlos y los hemos metido en el limpiador con ozono

durante 10 minutos. De este modo todo lo que esté por encima del chip se elimina debido a su oxidación por la presencia del ozono.

- Se ha preparado una disolución piraña que contiene agua oxigenada (30%), hidróxido de amonio (25%) y agua ultra pura en una proporción 1:1:5. Los sensores se han sumergido en la disolución durante 5 minutos a 75-80°C aproximadamente. Es de vital importancia respetar el tiempo mencionado, ya que el recubrimiento de oro podría verse dañado por la disolución.
- Por último, una vez sacados los sensores se han enjuagado con agua ultra pura y etanol, secado con nitrógeno y vuelto a meter en el limpiador con ozono durante 10 minutos.

Para los casos donde se observa que quedan rastros de polímero adherido a la superficie del sensor, antes de volver a repetir todo el procedimiento es necesario mantenerlos en el disolvente que se ha empleado para hacer la disolución, es decir, en DMAc, a una temperatura de 80°C durante dos horas. De este modo, nos aseguramos de que gran parte del polímero se disuelve en el disolvente y por lo tanto resulta más sencillo eliminar todo al repetir el procedimiento de limpieza.

2.1.3. Deposiciones de los polímeros en los sensores por spin-coating

Para poder realizar las medidas necesarias tanto con el QCM-D como con el SPR, los polímeros han sido depositados por *spin-coating*. Para ello, con la ayuda de una micropipeta se han depositado 2 µl de disolución en cada sensor. Gracias a la fuerza centrífuga que el equipo aplica, los sensores han quedado cubiertos por un filme muy fino y homogéneo de polímero, ya que el disolvente evapora.

Es importante tener en cuenta que cuanto más volátil sea el disolvente empleado, más favorable será su evaporación y el filme de polímero se creará más rápido. Cuando se han depositado las disoluciones poliméricas en DMAc, no se ha logrado un filme satisfactorio. Es por ello que se ha añadido un segundo disolvente como el DCM, que tiene una volatilidad mucho menor.

2.1.4. Medidas de QCM-D

Se ha realizado las medidas de QCM-D con un sistema E1 (Biolin, Suecia), como sistema modelo para estudiar el *fouling* debido a las interacciones entre las poliamidas y la proteína BSA. En cada experimento, se han realizado dos adsorciones con sus respectivas desorciones, aunque siempre la más significativa es la primera (Figura 15).

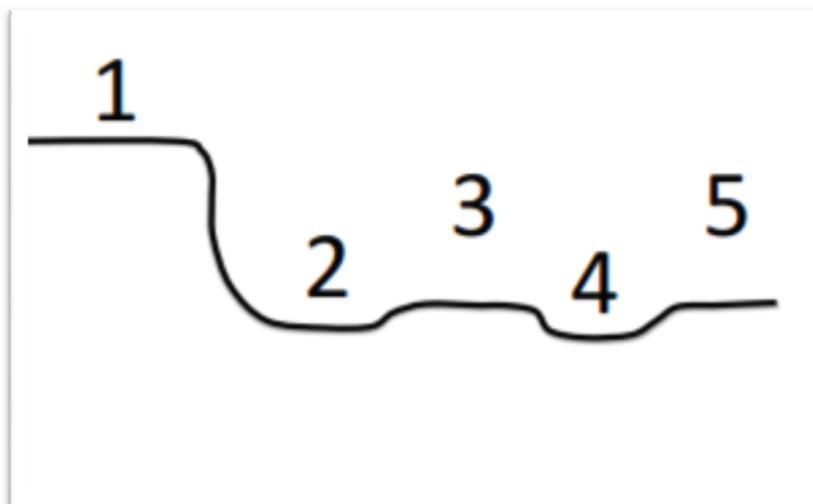


Figura 15. Medida QCM-D: línea de base (1), 1ª adsorción (2), 1ª desorción (3), 2ª adsorción (4), 2ª desorción (5).

Para pasar la disolución por encima del sensor se ha utilizado una bomba peristáltica (Ismatec) con un flujo de 150 $\mu\text{l}/\text{min}$. En cada paso, cuando la frecuencia se ha estabilizado, es decir, cuando no ha disminuido más, se ha avanzado al paso siguiente.

2.1.5. Medidas de SPR

Para realizar los experimentos de SPR (Bionavis) se han utilizado las mismas disoluciones que en el QCM-D. Las disoluciones de polímero se han depositado en los sensores de cristal recubiertos de oro por *spin-coating* utilizando las mismas condiciones que para el QCM-D.

En este caso el equipo dispone de dos canales por los cuales se ha hecho pasar la proteína BSA a la concentración de 100 mg/L , con la ayuda de una bomba peristáltica y con un flujo constante de 50 $\mu\text{l}/\text{min}$. Del mismo modo que en el QCM-D, se han realizado dos adsorciones con sus respectivas desorciones

utilizando el tampón PBS. Pero solo se han medido las poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM con esta técnica, por problemas surgidos con el equipo.

2.1.6. Medidas de ángulo de contacto

Para la preparación de las muestras se han utilizado los sensores de cuarzo recubiertos de oro del QCM-D. Se han depositado las poliamidas por *spin-coating* y para asegurarnos de que no quede ningún rastro de disolvente o de humedad, lo que podría afectar a los resultados, hemos mantenido los sensores en una cámara de vacío durante 12 horas.

El volumen de la gota de agua que se ha depositado encima de los sensores ha sido de 10 μL . Una vez que hemos realizado las primeras medidas se han vuelto a introducir en la cámara de vacío durante 12 horas más. Finalmente se han repetido los experimentos utilizando el mismo volumen de gota, para poder obtener una mayor fiabilidad en los resultados.

2.1.7. Medidas de microscopía de fuerzas atómicas (AFM)

Las muestras para realizar AFM (Nano Observer Solutions) se han preparado depositando las disoluciones de los polímeros por encima de los sensores de cuarzo recubiertos de oro. Del mismo modo que para el ángulo de contacto, los sensores se han mantenido en vacío durante 12 horas.

Para conseguir las imágenes las medidas se han realizado en 3 aumentos o escalas diferentes: 10, 5 y 2 μm respectivamente. Además, por cada sensor y aumento se han repetido las medidas en 4 puntos diferentes para tener un mejor entendimiento de cómo varía la morfología superficial. En algunos casos, como lo han sido las poliamidas 75% y 100%, el aumento a 10 μm no ha resultado muy reproducible. Con el objetivo de poder hacer un análisis visual de las diferencias en las rugosidades de los distintos polímeros hemos decidido realizar las medidas a una escala de 30 μm para estos casos.

Por otro lado, el software utilizado para el tratamiento de las imágenes obtenidas nos da la posibilidad de determinar cuál es la rugosidad para cada caso. Los parámetros que el software nos permite determinar son los siguientes:

1. Ra: media aritmética de la rugosidad
2. Rms: media cuadrática o valor cuadrático medio de la rugosidad

Para asegurarnos de que los valores que el software ofrece son fiables, se han seleccionado 10 puntos distintos de una imagen y se ha calculado una media de las rugosidades que se obtienen para poder comparar con el valor absoluto o total que el software nos da.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Adsorciones de BSA en poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM mediante QCM-D

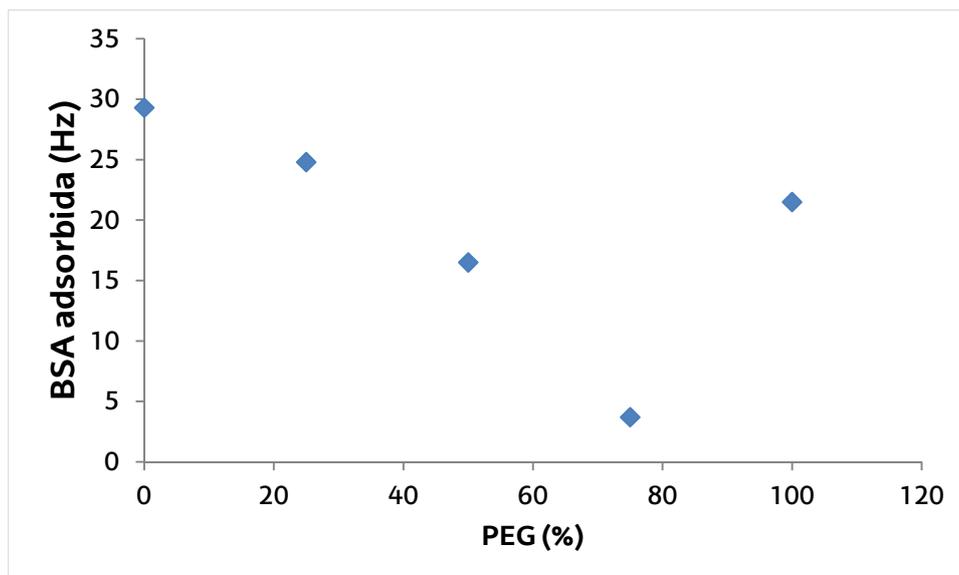
El plan experimental preveía primero realizar las adsorciones y después retirar la proteína BSA del sensor para realizar directamente nuevas medidas y estudiar la reproducibilidad. Por ello, se han realizado intentos de limpieza pasando por encima del sensor una disolución 0.5 M de sodio hidróxido o una disolución 1% de surfactante DMS. En ambos casos el proceso no ha sido eficiente: al utilizar sodio hidróxido no se ha podido remover la proteína, y el surfactante DMS se ha adsorbido a la superficie.

Como no se ha encontrado un método eficaz para retirar la proteína del sensor, cada experimento se ha realizado partiendo de un nuevo sensor. Como la variación de los datos no ha sido nunca mayor del 15% (excepto para la poliamida 75%, que se discutirá más adelante) se ha considerado que la reproducibilidad es aceptable. (Tabla 1).

Como podemos observar en la tabla 1 y en la gráfica 1 que se presentan a continuación, a medida que el porcentaje de PEG aumenta, la adsorción de BSA disminuye gradualmente hasta el caso de la poliamida modificada al 50%. Sin embargo, si observamos el caso de la poliamida 75%, vemos que la frecuencia disminuye considerablemente para después volver a recuperar los valores principales en el caso del porcentaje de PEG 100%.

% PEG	ΔF máx. (1ª ad) [Hz]			ΔD máx. (1ª ad) [Hz]		
	promedio	variación	% error	promedio	variación	% error
0	29,3	2,1	7,2	1,5	0,1	6,6
25	24,8	3,6	14,5	1,1	0,1	9,1
50	16,5	1,7	10,3	1,5	0,4	26,6
75	3,7	2,4	64,8	0,6	0,3	50,0
100	21,5	2,6	12,1	1,9	0,3	15,8

Tabla 1. Datos obtenidos para las poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM.



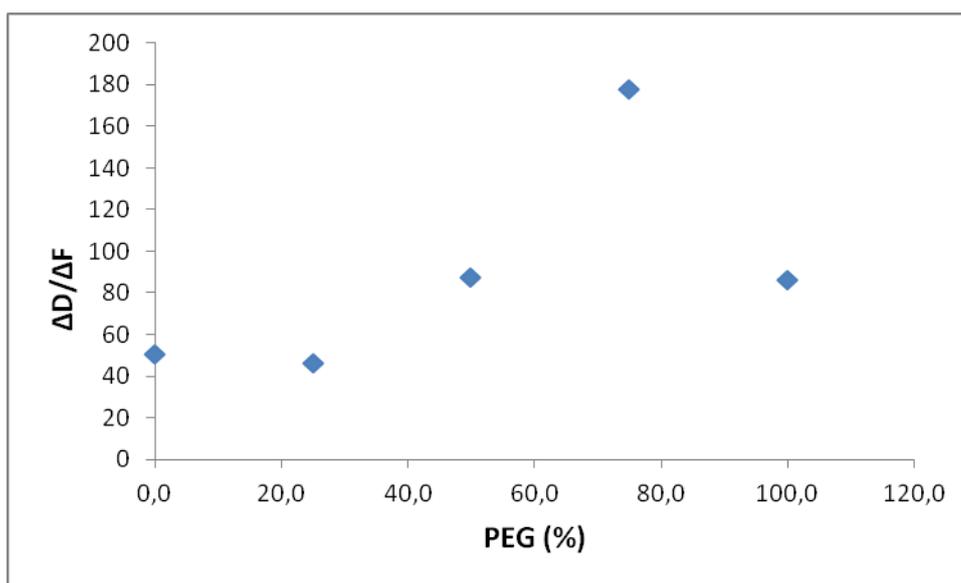
Grafica 1. BSA adsorbida en función de % PEG. No se muestran las barras de error por razones ilustrativas, pero están listados en la Tabla 1.

En primer lugar, estos resultados confirman que cuanto más PEG en la poliamida, menos adsorción de BSA, es decir, menos *fouling* sucede, hasta una concentración de PEG de 75%. En cambio, sorprende que a 100% de PEG la adsorción de BSA llegue de nuevo a un valor que correspondería a un porcentaje de PEG entre 25-50%. Sería de esperar que a más porcentaje de PEG en la poliamida, como la hace mas hidrofílica, la adsorción de la proteína BSA en ésta disminuya, dado a que más hidrofiliidad menos *fouling* se espera.

El QCM-D no mide solamente cuanta masa está siendo adsorbida en la superficie debido a los cambios de frecuencia que detecta, sino que también ofrece poder deducir cual es la viscoelasticidad de aquello que está siendo adsorbido (Figura 9), en nuestro caso la proteína BSA, gracias a que mide el parámetro de la disipación. Utilizando los valores de la disipación y la frecuencia es posible calcular la relación entre ellos ($\Delta D/\Delta F$). Cuanto más alto sea este valor, la proteína BSA estará adsorbida a la superficie de una manera suave o dicho de otra forma, debido a una interacción débil y por lo tanto, más fácil resultara retirarla mediante métodos de limpieza. Sin embargo, cuando este valor es bajo significa que lo que esta adsorbido en la superficie lo está de manera muy rígida y en consecuencia será mucho más complicado retirarlo de la superficie.

Si representamos la relación $\Delta D/\Delta F$ frente a la concentración de PEG de los polímeros (Gráfica 2), observamos claramente una relación casi inversa a la observada en Figura 1, donde ahora el valor más alto corresponde a la poliamida 75%. Esto quiere decir que no solo la poliamida modificada al 75% adsorbe menos proteína, sino que lo hace con un valor muy alto de disipación por masa de proteína adsorbida. Lo que significa que la proteína adsorbe en ese caso de una forma no muy rígida en comparación a otras con diferentes porcentajes de PEG. Esto podría significar que las membranas que estén sintetizadas basándose en este tipo de polímero son mucho más fáciles de limpiar que las otras, lo cual es muy interesante de cara a un proceso industrial de purificación de agua.

En cambio, de nuevo la poliamida 100% PEG tiene un valor de $\Delta D/\Delta F$ similar al de la poliamida 50% de PEG.



Gráfica 2. Relación $\Delta D/\Delta F$ vs % PEG.

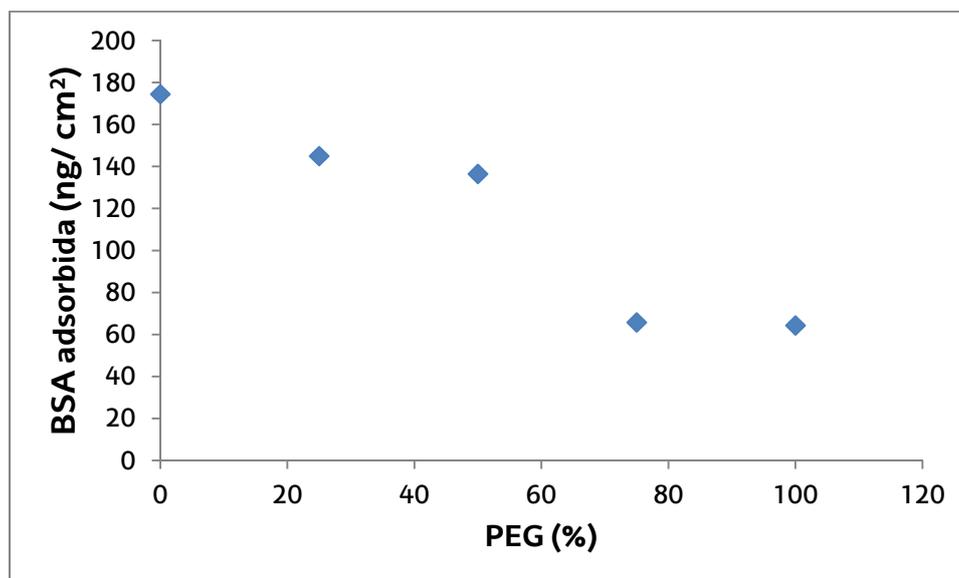
3.2. Adsorciones de BSA en poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM mediante SPR

Como método complementario se han hecho medidas de SPR para poder confirmar las medidas hechas con el QCM-D. En la siguiente tabla se recogen los valores de masa de BSA adsorbida en ng/cm^2 con sus respectivas variaciones para las distintas concentraciones de PEG en las poliamidas.

% PEG	Δm máx. (1ª ad) [ng/cm ²]		
	promedio	variación	% error
0	174,5	74,3	42,6
25	145	21,2	14,6
50	136,5	81,3	60,0
75	65,8	10,9	16,6
100	64,3	9,4	14,6

Tabla 2. Datos obtenidos mediante SPR para poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM

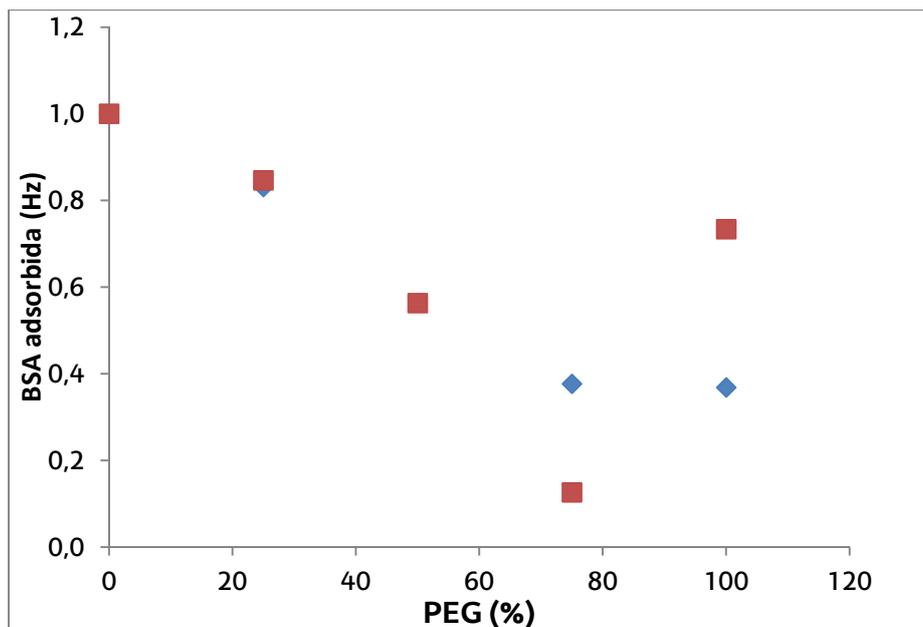
La tendencia vuelve a ser la misma que en el caso del QCM-D, es decir, la cantidad de proteína que se adsorbe va disminuyendo, aunque no tan evidentemente. Es interesante que en este caso tanto el polímero 75% como el 100% tienen unos valores muy similares (Gráfica 3).



Gráfica 3. BSA adsorbida (ng/cm²) en función de % PEG.

3.3. Complementariedad entre QCM-D y SPR

Para poder comparar los resultados obtenidos mediante las dos técnicas, se han normalizado los resultados al valor "1" suponiendo que la poliamida 0% es la que más adsorbe.



Gráfica 4. Valores normalizados de frecuencia en experimentos de adsorción de BSA en poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM. SPR: puntos azules. QCM-D: puntos rojos.

Como se puede ver en la Gráfica 4, hay una excelente concordancia entre los datos de adsorción de las dos técnicas hasta la poliamida modificada al 50%. Para la poliamida 75% el SPR da valores significativamente más altos que el QCM-D, y para la poliamida 100% más bajos.

La razón de que esto suceda podría ser que la proteína cambiara su conformación al depositarse sobre superficies con más contenido de PEG, como es el caso de la poliamida 100%. Si esto ocurriera la cantidad de moléculas de agua que la proteína tendría asociada sería diferente. Como los valores de masa que se obtienen mediante el QCM-D corresponden tanto a la proteína como al agua asociada, podría ser que la poliamida 100% de un valor más elevado mediante esta técnica.

3.4. Adsorciones de BSA en poliamidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH mediante QCM-D

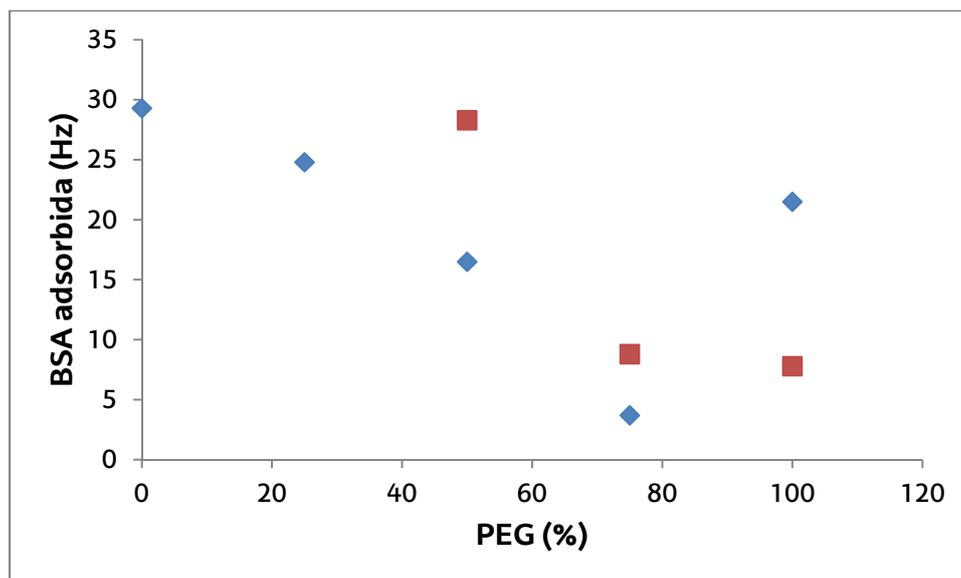
Con el objetivo de estudiar qué efecto tiene sobre la química de la superficie el añadir un disolvente distinto, las poliamidas se han disuelto en una mezcla 1:1 de DMAc y etanol para realizar experimentos idénticos a los de las poliamidas disueltas en 1:2 de DMAc-DCM mediante QCM-D. En las poliamidas 50-100% no ha ocurrido ninguna precipitación al añadir el etanol, lo que sí ha sucedido con las poliamidas 0% y 25%. Por ello, solo se han estudiado los polímeros 50-100%.

Como podemos observar en la tabla 3, la adición del etanol hace cambiar la manera y la cantidad en la que la proteína se adsorbe a la superficie del sensor de oro. Para las poliamidas 50% y 75% la frecuencia aumenta un poco, lo cual nos lleva a entender que se ha adsorbido más proteína en esos casos. En cambio, en el caso de la poliamida 100%, la frecuencia disminuye considerablemente.

% PEG	ΔF máx. (1ª ad)			ΔD máx. (1ª ad) [Hz]		
	promedio	variación	% error	promedio	variación	% error
50	28,3	6,3	22,3	1,7	0,1	6,0
75	8,8	5,8	66,0	1,5	0,4	26,6
100	7,8	2,5	32,0	0,8	0,2	25,0

Tabla 3. Datos obtenidos para las poliamidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH

Si representamos la cantidad de BSA adsorbida, tanto para las poliamidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH, como para las disueltas en 1:2 DMAc-DCM frente a la concentración de PEG (Gráfica 5).

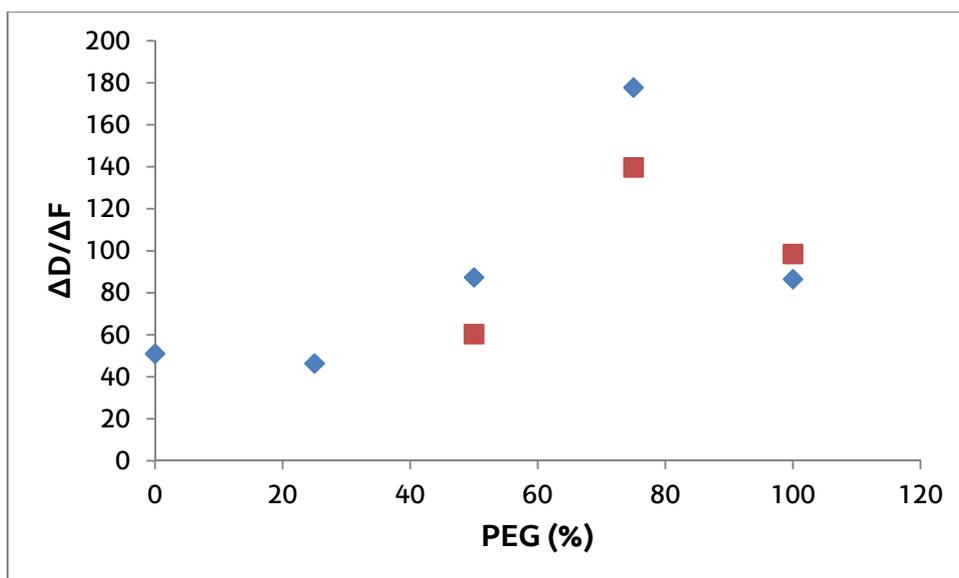


Gráfica 5. BSA adsorbida en poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM/ 1:1 DMAc-EtOH frente a % PEG. Puntos azules: 1:2 DMAc-DCM. Puntos rojos: 1:1 DMAc-EtOH.

Los valores de adsorción en DMAc-EtOH son más parecidos a los datos obtenidos con el SPR. Sin embargo, en el polímero 100% disminuye la cantidad de BSA adsorbida. Esto sugiere que con PEG a 100% posiblemente la propiedad físico-química de la superficie es distinta entre sensores de QCM-D y SPR, y también de acuerdo con el disolvente empleado. Sobre todo, el último aspecto se tendrá en

cuenta en futuros trabajos. A parte de ello, de acuerdo con la información dada por el Prof. J. de Abajo, la poliamida modificada con PEG al 100%, se puede disolver en el agua. En el caso de que esto suceda, la proteína podría adsorberse parcialmente a la superficie de oro. Para poder entender si esto ocurre o no, se ha realizado un experimento sin ninguna poliamida depositada por encima de la superficie del sensor, donde se ha determinado una frecuencia de 32 Hz, concluyendo así que la poliamida 100% no se ha disuelto, ya que observaríamos una frecuencia más elevada.

A pesar de las diferencias en la cantidad de BSA adsorbida, la tendencia que se observa en la relación $\Delta D/\Delta F$ frente a la concentración de PEG permanece más o menos igual. Por lo tanto, el efecto principal que causa añadir etanol como segundo disolvente es un cambio en la cantidad de proteína que se adsorbe, no en la manera en la que se adsorbe (Gráfica 6).



Gráfica 6. Relación $\Delta D/\Delta F$ frente a % PEG para las poliamidas disueltas en las dos mezclas de disolventes. Puntos azules: 1:2 DMAc-DCM. Puntos rojos: 1:1 DMAc-EtOH.

Como conclusión, observamos que el disolvente empleado juega un papel muy importante a la hora de formar filmes poliméricos dado a que aparentemente cambia la química o la morfología de la superficie del sensor, resultando en un comportamiento de adsorción de BSA distinto.

Para ver hasta qué punto cambia la morfología, se han realizado tanto medidas de AFM como de ángulo de contacto para poder caracterizar las distintas superficies poliméricas.

3.5. Medidas de ángulo de contacto

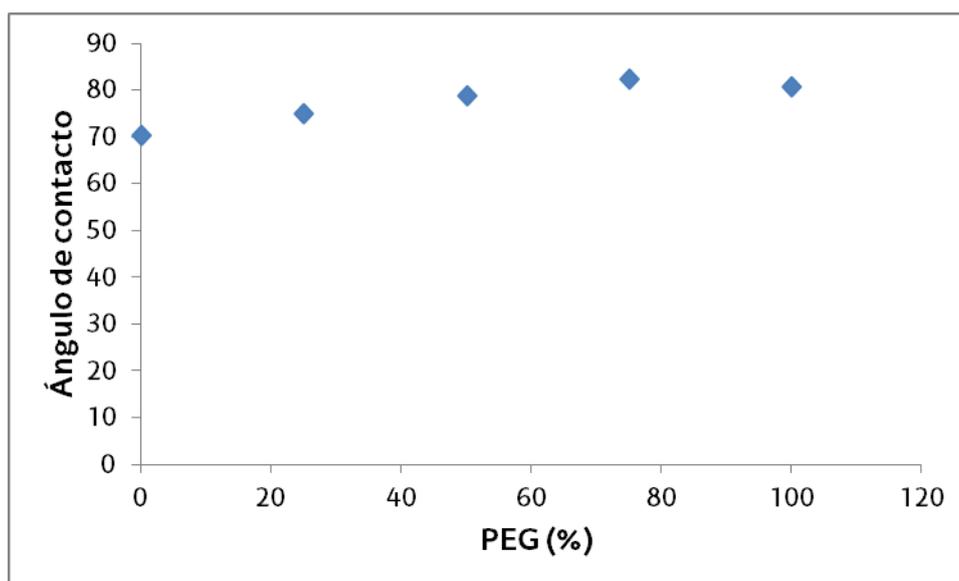
Para comprobar la hidrofiliidad de la superficie de las poliamidas modificadas con PEG, se han realizado medidas de ángulo de contacto. Los experimentos se han realizado dos veces por sensor.

3.5.1. Poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM

En el caso de las poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM, tanto en la tabla 4 como en la Gráfica 7, vemos que existe una tendencia donde los ángulos de contacto aumentan de valor a medida que la concentración de PEG aumenta. Este comportamiento es sorprendente, puesto que debería ser al contrario, es decir, cuanto más cantidad de PEG en la poliamida, más hidrofílica es y los ángulos deberían de disminuir.

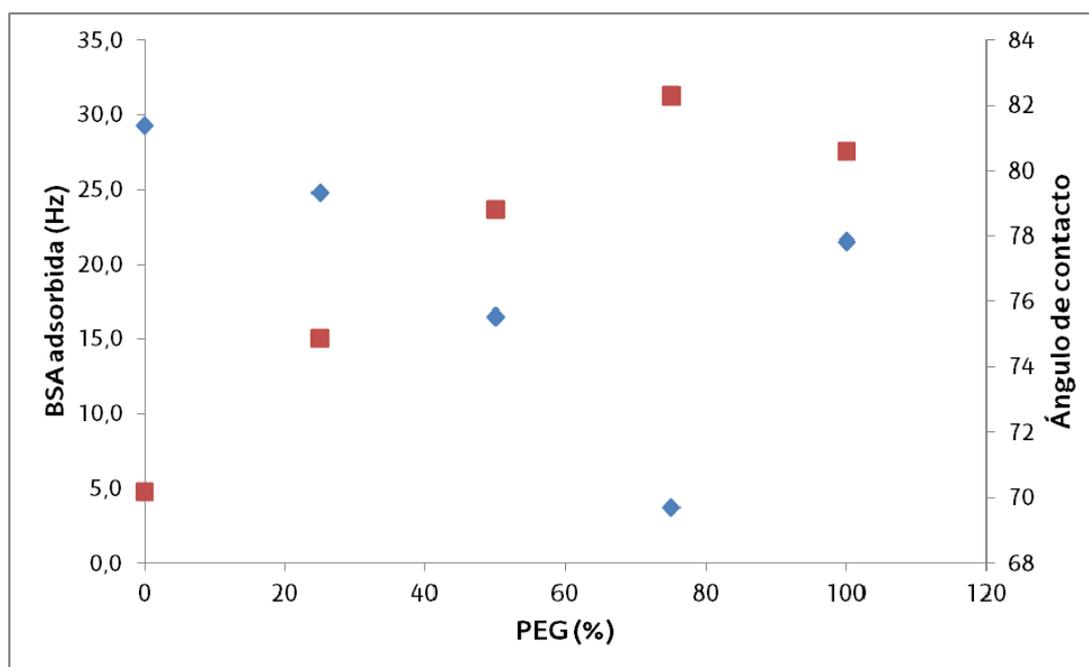
% PEG	Ángulo de contacto		
	promedio	variación	% error
0	70,2	0,2	0,3
25	74,9	0,2	0,3
50	78,8	1,1	1,4
75	82,3	0,9	1,1
100	80,6	0,9	1,1

Tabla 4. Ángulos de contacto para las poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DMC.



Gráfica 7. Ángulos de contacto en función al % PEG. Poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM.

Representando los ángulos de contacto y los valores de adsorción de BSA obtenidos frente a la concentración de PEG en las poliamidas (Gráfica 8) vemos que las tendencias son opuestas, es decir, cuanto más aumenta el ángulo de contacto la adsorción de BSA disminuye. Esto es una observación inesperada. Una posible explicación es que la topografía cambia de una manera que afecta la medida de ángulo de contacto más que la propiedad físico-química de la superficie.



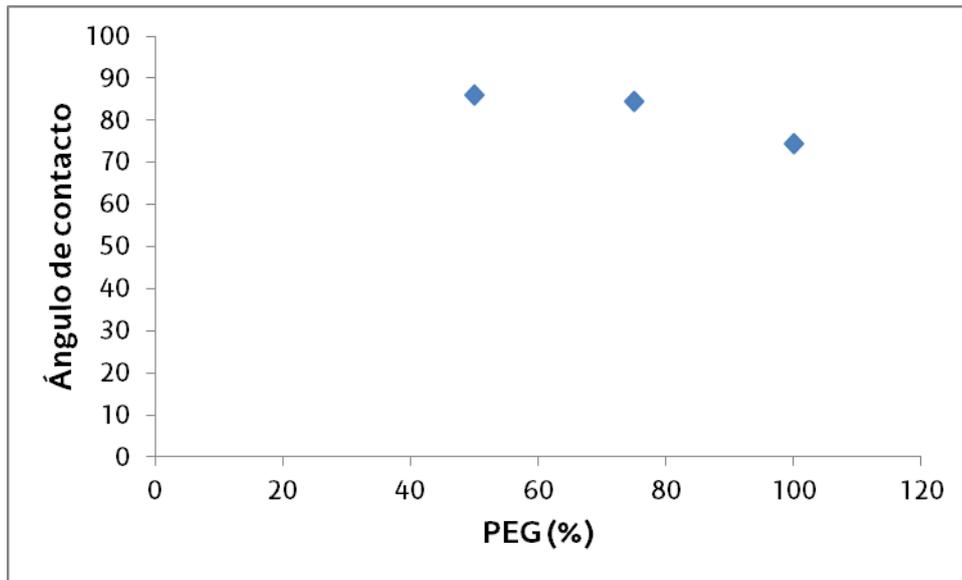
Gráfica 8. BSA adsorbida/ángulos de contacto frente a PEG (%). Puntos rojos: ángulos de contacto. Puntos azules: valores de adsorción.

3.5.2. Poliamidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH

Cuando se emplea etanol como disolvente, vemos que el comportamiento es el esperado. Los ángulos de contacto disminuyen a medida que el PEG aumenta en la poliamida, tabla 5 y Gráfica 9. Esto significa que la superficie cada vez es más hidrofílica.

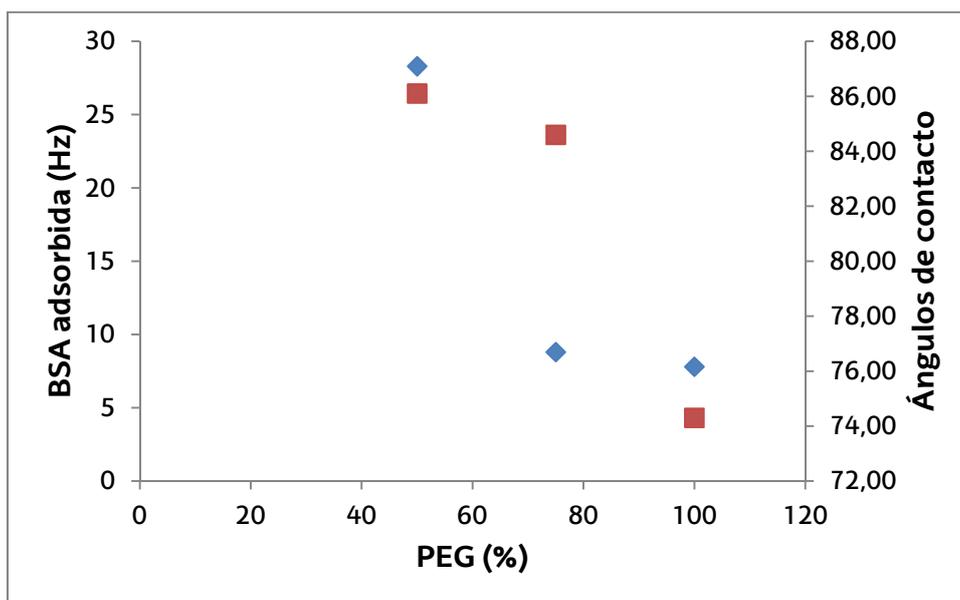
Ángulos de contacto			
% PEG	promedio	variación	% error
50	86,1	1,4	1,6
75	84,6	1,6	1,9
100	74,3	1,5	2,0

Tabla 5. Ángulos de contacto para las poliamidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH



Grafica 9. Ángulos de contacto frente a % PEG. Poliamidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH.

En este caso cuando los ángulos de contacto disminuyen, la adsorción de BSA en el sensor disminuye. Por lo tanto, esta observación es positiva, ya que a más hidrofiliidad en la superficie mayor resistencia al *fouling* y menor adsorción debe ocurrir. Como ha sucedido en el caso de las medidas con el QCM-D, la deposición hecha con etanol ha llevado a resultados aparentemente más consistentes, concluyendo que el papel del disolvente a la hora de formar filmes de polímero ultra-finos sobre sensores es extremadamente importante.



Grafica 10. BSA adsorbida/ángulos de contacto en función de PEG (%). Puntos rojos: ángulos de contacto. Puntos azules: valores de adsorción.

De cualquier modo, tras estudiar los resultados es evidente que las medidas de ángulo de contacto no proporcionan una información muy fiable sobre la hidrofiliidad de la superficie. Sabemos que tanto en las poliamidas disueltas en DMAc-DCM como en DMAc-EtOH, al aumentar el porcentaje de PEG, los ángulos de contacto deben disminuir hacia valores de superficies hidrofílicas, sobre todo de acuerdo con los resultados de adsorción realizados. Por ello, se han realizado medidas de AFM para comprobar si la topografía de la superficie influye tanto en los procesos de adsorción, como en las medidas de ángulo de contacto.

3.6. Medidas de AFM

Una vez realizadas las medidas tanto con los sensores que tienen depositadas las poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM, como los que tienen depositadas las disueltas en 1:1 DMAc-EtOH, el software que el equipo ofrece ha determinado los valores de rugosidad para cada caso.

3.6.1. Poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM

En la tabla 6 se representan los valores de rugosidad obtenidos para estos polímeros:

DMAc:DCM	Ra		Rms	
	% PEG	promedio	variación	promedio
0	0,7	0,1	1,2	0,4
25	1,7	0,7	12,8	5,2
50	1,5	0,1	4,2	2,5
75	20,5	7,2	36,3	21,9
100	6,6	1,3	8,6	1,4

Tabla 6. Valores de rugosidad para las poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM.

Si observamos la tabla de las rugosidades vemos claramente que el valor más alto corresponde a la poliamida 75%. Sorprende que esta poliamida haya sido la que menos adsorción de BSA haya presentado, ya que su rugosidad implica que la proteína encuentra más área de superficie para depositarse que en las demás.

Hay que tener en cuenta que la rugosidad que el software nos da es respecto al eje z y para saber la dificultad que una proteína encuentra a la hora de depositarse en la superficie del sensor, es imprescindible saber cuál es la distancia entre los "picos" de rugosidad y ver si esta en el orden de magnitud de una proteína.

Para poder tener una idea visual de cómo la rugosidad va variando a medida que cambia el porcentaje de PEG en la poliamida, se han realizado varias fotografías de la superficie. Como se puede ver en las Figuras 16-20, la rugosidad de la superficie va aumentando aunque la Tabla 6 no demuestre esa tendencia. Por lo tanto, el añadir PEG en la poliamida hace variar mucho la superficie.

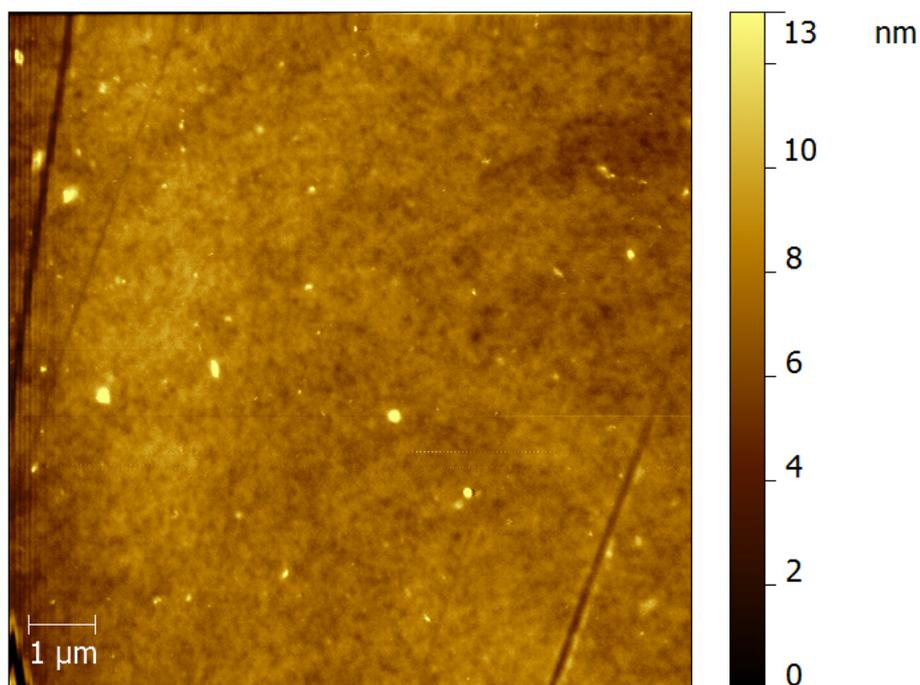


Figura 16. Poliamida 0% PEG en 1:2 DMAc-DCM.

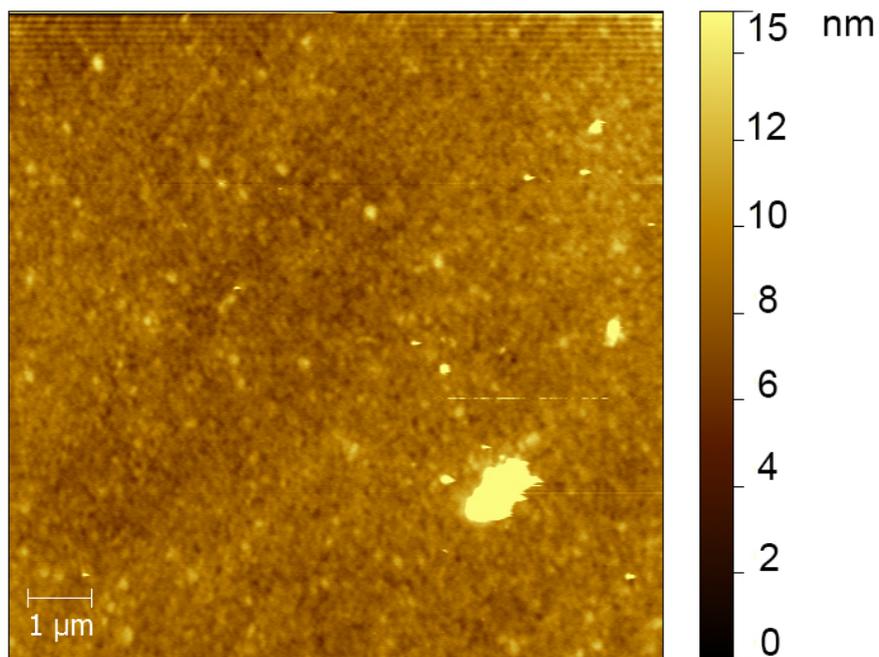


Figura 17. Poliamida 25% PEG en 1:2 DMAc-DCM.

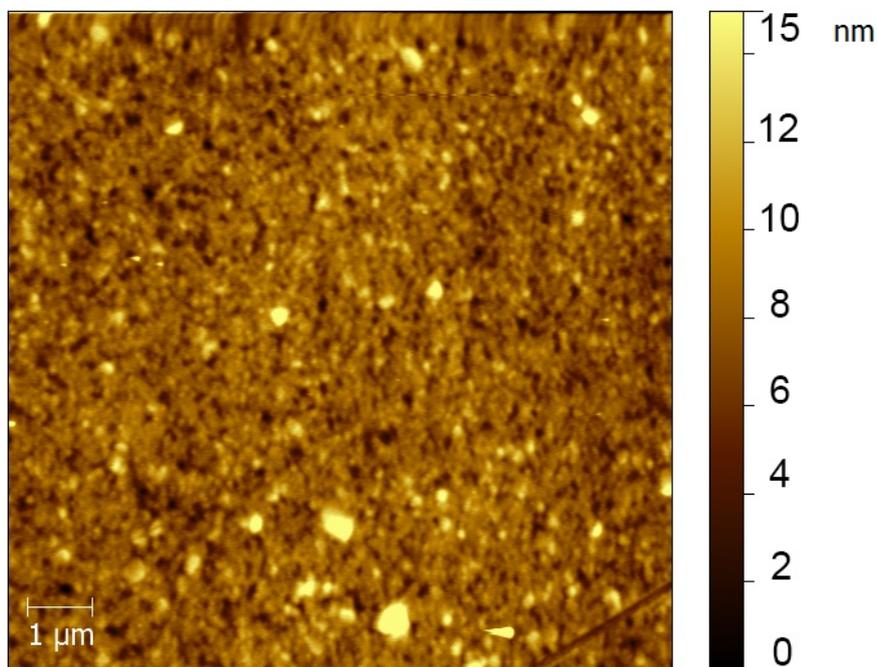


Figura 18. Poliamida 50% PEG en 1:2 DMAc-DCM.

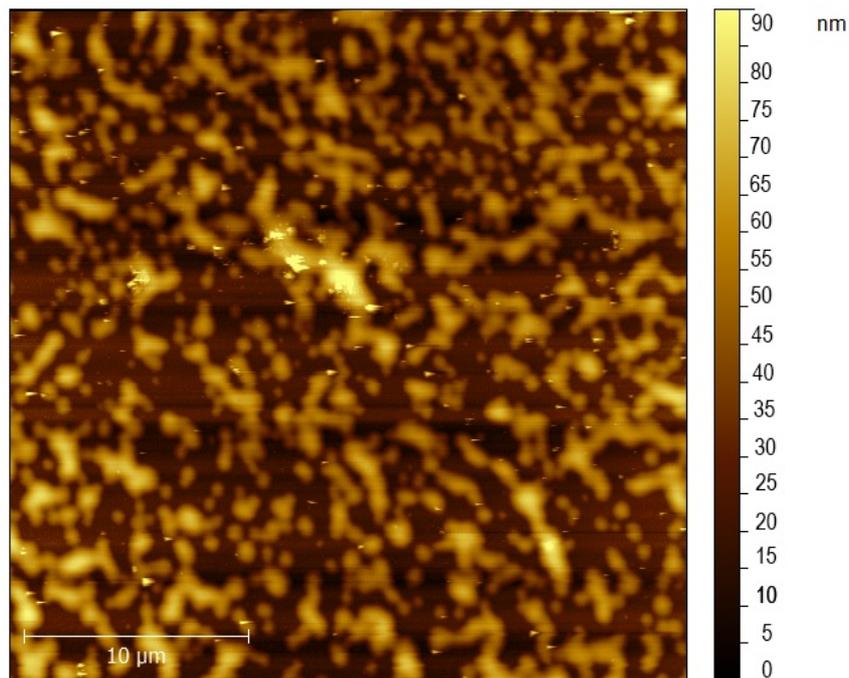


Figura 19. Poliamida 75% PEG en 1:2 DMAc-DCM.

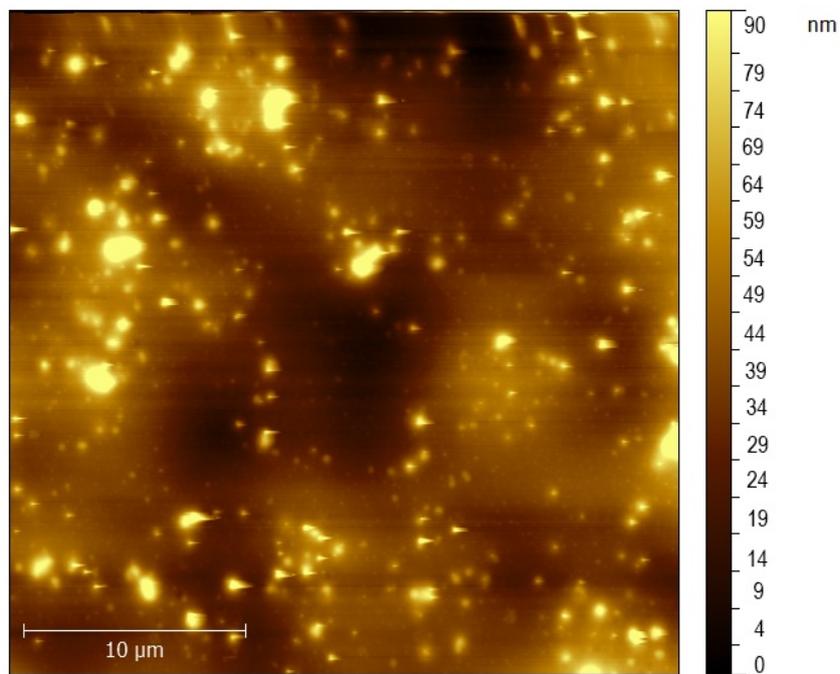


Figura 20. Poliamida 100% PEG en 1:2 DMAc-DCM

Las diferencias en la rugosidad empiezan a ser más notables a partir de la poliamida modificada al 50%, donde podemos ver como las superficies van siendo mucho más rugosas e irregulares a medida que aumenta el porcentaje de PEG. Podemos demostrar como la poliamida 75% es la que más rugosidad presenta y no solo eso, si no que parece que haya segregación en la superficie.

3.6.2. Poliamidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH

La Tabla 7 presenta los valores de rugosidad obtenidos para las poliamidas donde empleamos etanol como co-disolvente.

% PEG	Ra [nm]			Rms [nm]		
	promedio	variación	% error	promedio	variación	% error
50	19,1	5,8	30,4	25,9	6,3	24,3
75	15,3	5	32,7	16,9	2,5	14,8
100	13,8	4,9	35,5	19,1	5,5	28,8

Tabla 7. Valores de rugosidad para las poliamidas disueltas en 1:1 DMAc-EtOH.

Para estas poliamidas las imágenes se han realizado en 30 μm , ya que ha sido la manera más sencilla de poder compararlas:

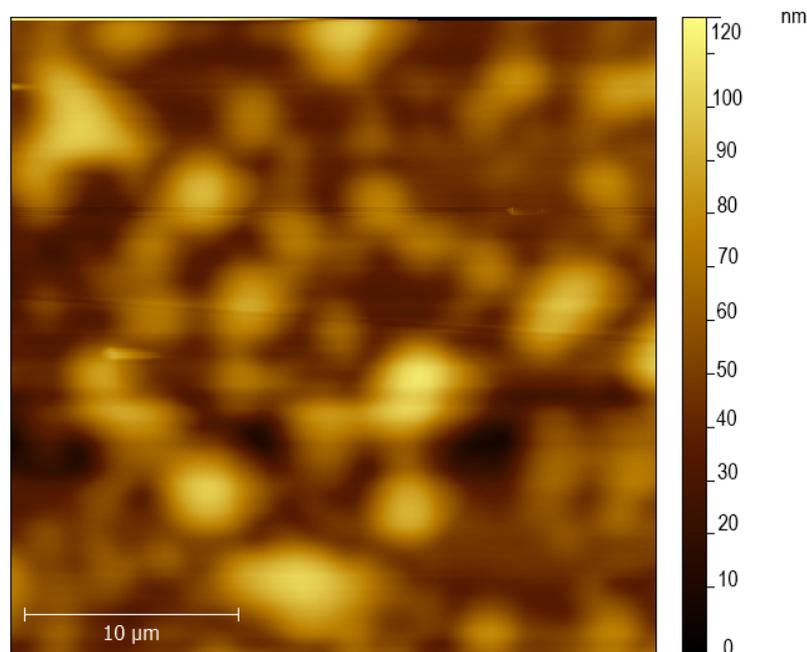


Figura 21. Poliamida 50% PEG en 1:1 DMAc-EtOH. Las líneas horizontales que se aprecian es el ruido del sistema.

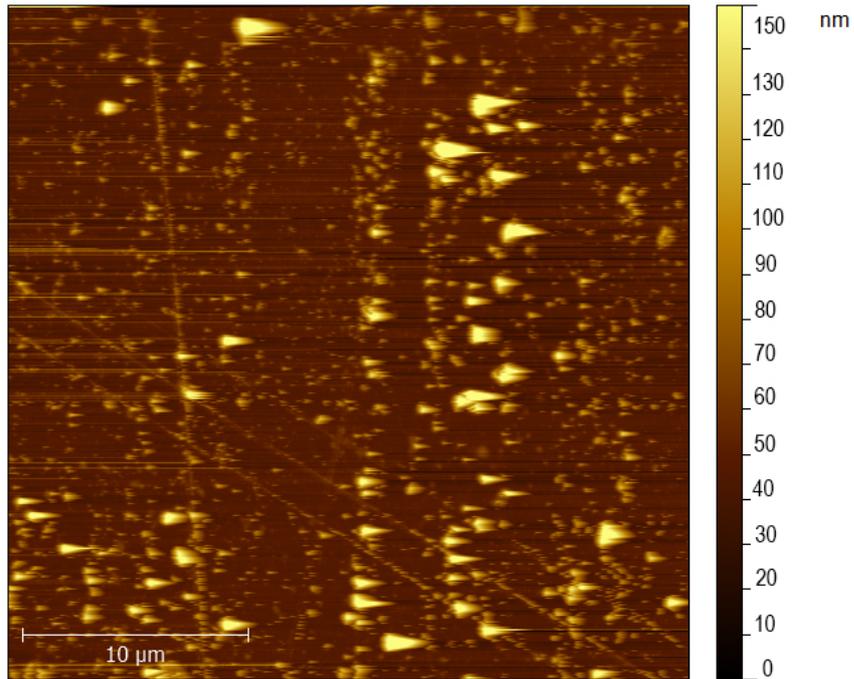


Figura 22. Poliamida 75% PEG en 1:1 DMAc-EtOH. Esta muestra dio muchos problemas a la hora de realizar las medidas, las líneas nuevamente son debido al ruido del propio sistema.

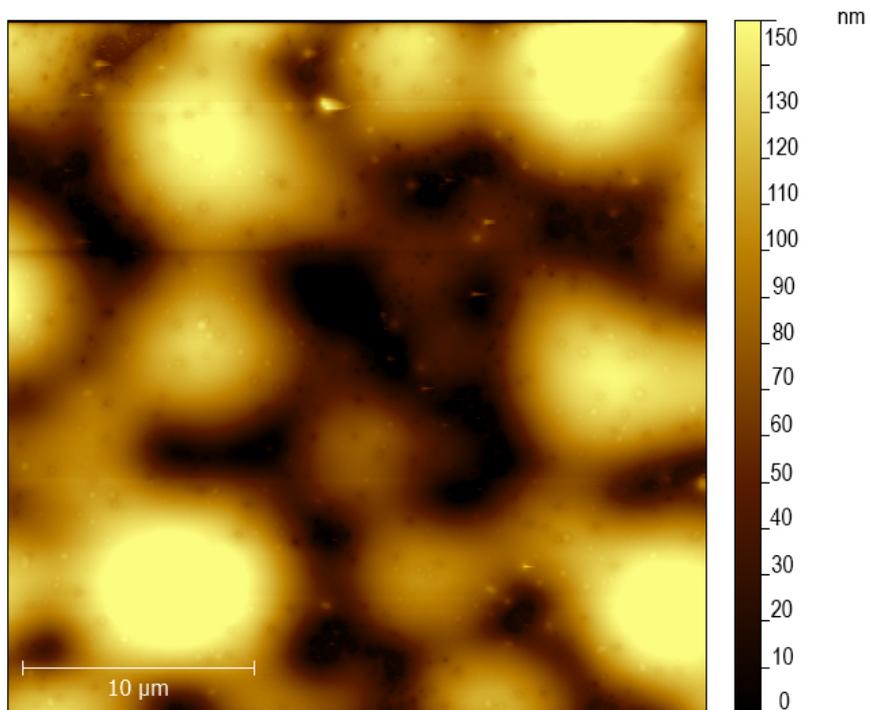


Figura 23. Poliamida 100% PEG en 1:1 DMAc-EtOH.

Visualmente parece que la poliamida 75% es la menos rugosa, aunque su valor de rugosidad está en medio (Tabla 7). Si comparamos las poliamidas 50% y 100%, vemos que tienen una rugosidad parecida pero la poliamida 100%, tiene mucha más área de superficie, ya que los gránulos que se ven son más grandes (Figura 23).

Las fotografías han sido muy malas, ha costado mucho obtener imágenes representativas mediante AFM en estos casos. Por ello, no podemos obtener conclusiones claras y estamos investigando que es lo que sucede.

3.7. Comparación con resultados de filtración

El Prof. Javier de Abajo ha investigado la naturaleza del proceso del fouling utilizando una disolución de proteína BSA como corriente de alimentación para el proceso de filtración [25]. Las condiciones del proceso han sido idénticas a las condiciones en las que se han realizado las medidas tanto de QCM-D (Figura 10) como de SPR.

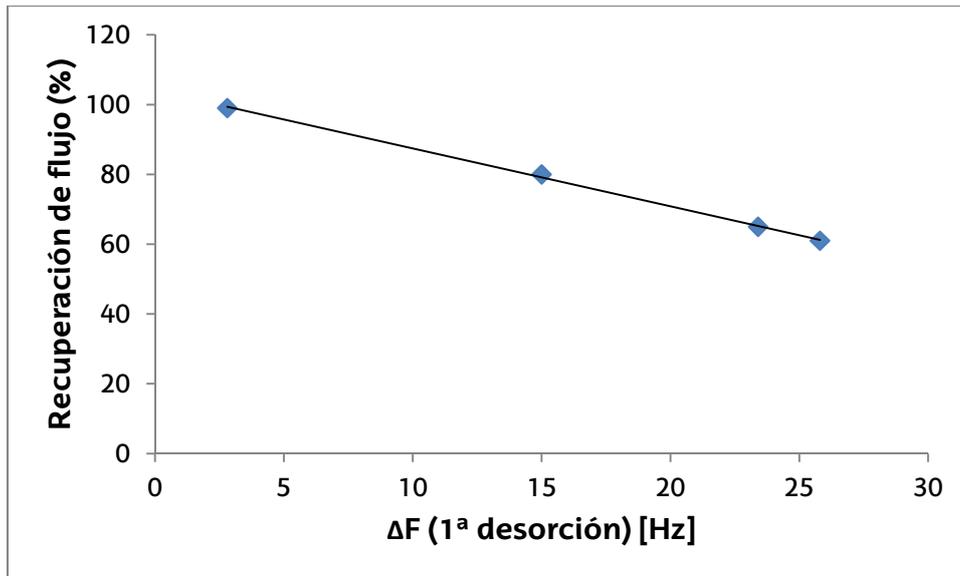
Una vez que se han realizado los experimentos de filtración, con las membranas modificadas al 25, 50 y 75%, las membranas se han limpiado haciendo pasar a través de ellas agua pura durante 15 minutos para lograr que ocurra la desorción de BSA. Después, se ha pasado agua destilada para poder calcular cuánto flujo se recupera comparando con el flujo inicial. La poliamida modificada al 75% es la que tiene el valor más alto de recuperación de flujo, cerca del 100%, por tanto es la que más flujo recupera (Tabla 8).

% PEG	Rec. Flujo
10	61
25	65
50	80
75	99

Tabla 8. Valores de recuperación de flujo en experimentos de filtración con membranas de poliamida.

Durante las medidas experimentales de filtración, no han utilizado las poliamidas de 0% y 100% de PEG. En cambio, han utilizado la de 10% de PEG, que nosotros no hemos estudiado. Por ello, se han interpolado los valores de frecuencia entre la

poliamida 0% y 25% de PEG para obtener este dato. Si representamos los valores de recuperación de flujo frente a los valores de frecuencia obtenidos en la desorción con el QCM-D (Gráfica 11), podremos ver que existe una relación lineal entre ambos datos. Esto significa que efectivamente podemos correlacionar experimentos de adsorción con los de filtración mediante las técnicas QCM-D y SPR.



Gráfica 11. Recuperación de flujo con membranas de poliamida vs ΔF (1ª desorción) [Hz].

En vista a nuestros resultados, podemos decir que la poliamida 75% es la que menos cantidad de proteína adsorbe, debido a los bajos cambios de frecuencia que se han observado en las medidas de QCM-D. Por lo tanto, tiene sentido que sean las membranas sintetizadas por este polímero las que más flujo recuperen, ya que son la que menos proteína tienen adherida a su superficie.

Además, podemos decir que la incorporación de cadenas de PEG en las poliamidas mejora la hidrofiliidad y la resistencia al *fouling*. Las poliamidas con mayor grado de modificación tienen un valor de recuperación de flujo mayor después del *fouling*, como es el caso de la poliamida 75%.

4. CONCLUSIONES · CONCLUSIONS

CONCLUSIONES

A medida que la concentración de PEG en las poliamidas disueltas en 1:2 DMAc-DCM aumenta, la cantidad de BSA adsorbida disminuye hasta la poliamida 75%, siendo ésta la que menos adsorción presenta. Además, debido a que el valor más alto de la relación $\Delta D/\Delta F$ corresponde a esta poliamida, se puede concluir que no solamente es la que menos adsorbe, sino que la adsorción sucede mediante una interacción débil entre la proteína y la superficie. Por lo tanto, las membranas sintetizadas por este polímero serán menos propensas a colmatarse y los procedimientos de limpieza serán más sencillos. Esto se ha podido correlacionar sin problema con los experimentos de filtración citados.

Debido a las diferencias que se han observado en las adsorciones en las poliamidas cuando se ha empleado etanol, se puede deducir que el disolvente empleado juega un papel importante. Estas diferencias también se han visto en las medidas de ángulo de contacto.

Al estudiar las fotografías obtenidas por AFM vemos que la magnitud de la rugosidad de la que se habla está muy por encima del tamaño de la proteína. En consecuencia, no se puede establecer una relación entre la adsorción de BSA y la rugosidad de la superficie, lo que nos lleva a entender que verdaderamente la topografía no influye. Esto es positivo, ya que es un factor que no podríamos controlar a la hora de realizar los experimentos y es mucho más favorable que la adsorción dependa de la química de la superficie.

CONCLUSIONS

As the concentration of PEG in polyamides dissolved in 1:2 DMAc-EtOH increases, the amount of BSA adsorbed decreases up to polyamide with 75% of PEG, which presents the least BSA adsorption. Moreover, because the highest value of the $\Delta D/\Delta F$ ratio corresponds to this polyamide it can be concluded that it is not only the polyamide which adsorbs least protein, but adsorption occurs by a weak interaction between the protein and the membrane surface. Therefore, membranes synthesized by this polymer will be less likely to suffer from fouling and cleaning procedures will be simpler. This has been correlated without any problems with filtration experiments mentioned above.

Resulting from the differences that have been observed during adsorption of BSA on polyamide surfaces deposited with ethanol as a co-solvent, we can deduce that the solvent used to deposit ultrathin polymer films plays a very important role. These differences have been also manifested in contact angle measurements.

By studying the images obtained by AFM, we observed that the magnitude of the roughness of the aforementioned polyamides is well above the size of the protein. Therefore, it was not possible to establish a correlation between the adsorption of BSA and the surface roughness, which leads us to conclude that in our experiments the topography did not affect the adsorption of BSA.

5. BIBLIOGRAFIA

- [1] <http://www.unwater.org/publications/publications-detail/en/c/204294/>
- [2] <http://h2osustainability-wstp.blogspot.com.es/>
- [3] A. Subramani, J.G. Jacangelo, Emerging desalination technologies for water treatment, *Water research* 75 (2015) 164-187.
- [4] <http://www.unwater.org/statistics/statistics-detail/en/c/211814/>
- [5] <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v11n3/fernandez.html>
- [6] S. P. Nunes, K.V. Peinemann, *Membrane technology in the chemical industry*, WILEY-VCH (2006).
- [7] S. P. Nunes, K.V. Peinemann, *Membranes for water treatment*, WILEY-VCH (2010).
- [8] N. Misdan, A.F. Ismail, N. Hilal, Recent advances in the development of (bio)fouling resistant thin film composite membranes for desalination, *Desalination* 380 (2016) 105-111.
- [9] Q. She, R. Wang, A.G. Fane, C.Y. Tang, Membrane fouling in osmotically driven membrane processes, *Journal of Membrane Science* 499 (2016) 201-233.
- [10] <http://www.aquatracta.com/Municipios.Membranas.NF.html>
- [11] A.G. Fane, R. Wang, M.X. Hu, Synthetic membranes for water purification: status and future, *Angewandte Reviews* 54 (2015) 3368-3386.
- [12] <http://www.aguabona.com/osmosis.jsp>
- [13] D.H. Furuwaka, A review of seawater reverse osmosis, *IDA Desalination Seminar* (1997).

[14] J. Cen, M. Vukas, G. Barton, J. Kavanagh, H.G.L. Coster, Real time fouling monitoring with electrical impedance spectroscopy, *Journal of Membrane Science* 484 (2015) 133-139.

[15] <http://www.shamskm.com/blogs/?p=17206>

[16] <http://forum.santabanta.com/showthread.htm?318015-Water-technologies-MBR-a-novel-waste-water-treatment-technology>

[17] J.C. Chen, Q. Li, M. Elimelech, In situ monitoring for concentration polarization and fouling phenomena in membrane filtration, *Advances in Colloid and Interface Science* 107 (2004) 83-108.

[18] V. Chen, H. Li, A.G. Fane, Non-invasive observation of synthetic membrane process- a review of methods, *Journal of Membrane Science* 241 (2004) 23-44.

[19] H. Li, A.G. Fane, H.G.L. Coster, S. Vigneswaran, Direct observation of particle deposition on the membrane surface during crossflow microfiltration, *Journal of Membrane Science* 149 (1998) 83-97.

[20] H.G.L. Coster, T.C. Chilcott, A.C.F. Coster, Impedance spectroscopy of interfaces, membranes and ultrastructures, *Bioelectrochem. Bioenerg.* 40 (2) (1996) 79-98.

[21] <http://large.stanford.edu/courses/2007/ph210/hellstrom2/>

[22] A.E. Contreras, Z. Steiner, J. Miao, R. Kasher, Q. Li, Studying the role of common membrane surface functionalities on adsorption and cleaning of organic foulants using QCM-D, *American Chemical Society* (2011) 6309-6315.

[23] <http://www.biolinscientific.com/q-sense/technologies/>

[24] <http://www.sbbmch.cl/wp-content/uploads/2015/07/Curso-de-postgrado-SPR-2015.pdf>

[25] S. Molina, P. Carretero, S.B. Teli, J.G. de la Campa, A.E. Lozano, J. de Abajo, Hydrophilic porous asymmetric ultrafiltration membranes of aramid-g-PEO copolymers, *Journal of Membrane Science* 454 (2014) 233-242.