



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA, BIOTECNOLOGÍA Y MATERIALES

ESTUDIO DE EFICIENCIA DE DESALINIZACIÓN Y CAPACIDAD ANTI-INCRUSTACIÓN DE MEMBRANAS
TFC-RO MODIFICADAS CON NANOPARTÍCULAS DE COBRE

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO CIVIL QUÍMICO

EDUARDO ENRIQUE BAHAMONDES QUIJADA

PROFESORA GUÍA:

MELANIE COLET LAGRILLE

PROFESORA CO-GUÍA:

ANDREINA GARCÍA GONZÁLEZ

COMISIÓN:

ÁLVARO OLIVERA NAPPA

SANTIAGO DE CHILE

2020

RESUMEN DE LA MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERO CIVIL QUÍMICO
POR: EDUARDO ENRIQUE BAHAMONDES QUIJADA.
FECHA: 06 DE MAYO DEL 2020
PROFESORA GUÍA: MELANIE COLET LAGRILLE.

ESTUDIO DE EFICIENCIA DE DESALINIZACIÓN Y CAPACIDAD ANTI-
INCRUSTACIÓN DE MEMBRANAS TFC-RO MODIFICADAS CON
NANOPARTÍCULAS DE COBRE

La desalinización de agua de mar mediante osmosis reversa (RO) es un proceso que ha destacado en los últimos años debido a su alta eficiencia. Dentro de los fenómenos que afecta en mayor medida a este proceso se encuentra la incrustación o *fouling* biológico, siendo ésta una de las principales limitantes en el desempeño de las membranas utilizadas en el proceso para purificar agua de mar. Actualmente, el Centro de Tecnología Avanzada para la Minería (AMTC) se encuentra estudiando la incorporación de nanopartículas (NPs) de cobre con efecto biocida en membranas de osmosis inversa de capa fina (TFC) (Proyecto PIA- ACM170003), dado que se ha demostrado que pueden mejorar la resistencia al *biofouling*. Dentro de estos estudios se considera como una variable importante la carga de NPs a incluir en la membrana.

Los objetivos del presente trabajo contemplan la fabricación y caracterización de membranas TFC-RO modificadas con distintas concentraciones de nanopartículas de óxido de cobre (CuO-NPs), incluyendo el análisis del desempeño de las membranas sintetizadas en el proceso de osmosis reversa y en su capacidad para resistir al *biofouling*. Además, se estudió el efecto de la incorporación de un soporte de poliéster con el fin de aumentar la resistencia mecánica de las membranas y poder operar a mayores presiones. Para ello se sintetizaron coloides con concentraciones de CuO NPs de 0,033% y 0,125% p/p por un método de reacción sonoquímico y, la síntesis de membranas modificadas se realizó añadiendo las NPs durante el proceso de polimerización interfacial. Estas membranas se caracterizaron mediante microscopía de barrido electrónico (SEM), espectroscopía de rayos X (EDX), microscopía de fuerza atómica (AFM), ángulo de contacto, y difracción de rayos X (XRD).

Los resultados de caracterización sobre las nanopartículas mostraron diferencias en el tamaño de éstas, con un radio hidrodinámico de 34,94 nm para las 0,033% CuO NPs y de 66,07 nm para las 0,125% CuO NPs. Por otro lado, las caracterizaciones sobre las membranas modificadas confirmaron la presencia de nanopartículas en su superficie, sin embargo, se observó que las membranas modificadas con ambas concentraciones poseen similares cantidades de cobre y morfología superficial. Las pruebas *antibiofouling* se realizaron con *E. coli*, demostrando un nivel de muerte entre el 95% y 100% de las bacterias que se encontraban en un medio junto con las membranas modificadas. Además, se observó una disminución de la adherencia de las bacterias de hasta un 92% de antiadhesión en comparación con las membranas sin modificar. Por otra parte, el rendimiento de las membranas modificadas en pruebas en planta obtuvo una capacidad de rechazo de sales de un 91% y un flux de permeado de $3,22 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$.

La incorporación de nanopartículas de óxido de cobre II en las membranas TFC mejora las capacidades *antibiofouling* sin afectar su rechazo de sales, sin embargo, también disminuye el rendimiento de la membrana en términos de la capacidad de flujo de permeado. A pesar de que se utilizaron distintas concentraciones de nanopartículas en la síntesis, las membranas modificadas son similares entre sí, tanto en morfología como en composición, lo cual se podría deber a un efecto de saturación de la cantidad de nanopartículas que son agregadas a la membrana. Finalmente, el soporte extra de poliéster demostró ser una manera efectiva para aumentar la resistencia mecánica de las membranas sintetizadas, ya que permitió operar hasta 950 psi sin que éstas presentaran rupturas.

Agradecimientos

Primero quiero agradecer a mi familia, especialmente a mis padres, Luis y Edith, quienes siempre me han apoyado y me han entregado todo el amor, comprensión, compañía y paciencia que un padre y una madre pueden dar. Han sido los pilares de mi formación como la persona que soy hoy y estaré agradecido de ustedes toda la vida.

También les quiero agradecer a mis amigos y amigas, partiendo por mis amigos del colegio, o “los de conti” quienes siempre han estado dispuestos para apoyarme en todo. Resalto el apoyo que el Luna me ha brindado en este trabajo, muchas gracias por tus diseños y por los consejos visuales, también quiero darle las gracias a Esteban por su apoyo incondicional. Además, quiero agradecer a mis amigos de la universidad, a los de plan común y a los de especialidad, muchas gracias a todos y todas por los buenos momentos, las risas y los descansos, y también gracias por la compañía en los momentos no tan buenos, cuando había que estudiar y/o trabajar mucho, y abundaba “la pera”.

Pasando al aspecto académico y profesional quiero agradecer a todos los profesores y funcionarios que conocí en la universidad, en especial a mi profesora guía, la cual me acompañó durante el final de este proceso, muchas gracias Melanie por el tiempo, la paciencia, y el apoyo que me brindaste. También agradezco al profe Francisco y al Inda por permitirme hacer el taller de cerveza artesanal, muchas gracias por darme la oportunidad de hacer algo que fue una parte muy importante de mi formación como persona y como profesional.

Quiero agradecer a la gente del AMTC por permitirme desarrollar este trabajo, apoyándome y brindándome las herramientas que fueron necesarias siempre con la mejor disposición, muchas gracias Rodrigo, Marcela y Andreina.

Y finalmente, pero no menos importante, le quiero dar las gracias a Andrea, quien me ha apoyado desde que nos conocimos cuando entré al departamento de ingeniería química, muchas gracias por tu compañía, por los buenos momentos que hemos tenido juntos y por alegrar mis días.

Tabla de contenido

1. Introducción	1
1.1 Antecedentes generales	1
1.2 Objetivos	3
1.3 Limitaciones.....	4
2. Marco Teórico	5
2.1 Métodos de síntesis de membranas.....	5
2.2 Problemas en la osmosis inversa.....	7
2.3 Nanopartículas como agentes biocidas	8
2.4 Membranas de osmosis inversa modificada	10
2.5 Técnicas utilizadas para la caracterización de nanopartículas.....	11
2.6 Técnicas utilizadas para la caracterización de membranas.....	13
3. Metodología	15
3.1 Síntesis de nanopartículas	15
3.2 Síntesis de membranas	15
3.3 Caracterización de nanopartículas	16
3.4 Caracterización de membranas	16
3.5 Pruebas <i>antibiofouling</i>	17
3.6 Pruebas de desempeño de desalinización en planta.....	18
4. Resultados y Discusiones	21
4.1 Caracterizaciones de nanopartículas	21
4.2 Análisis de las superficies y morfologías de las membranas sintetizadas	24
4.3 Pruebas biocidas y <i>antibiofouling</i>	30
4.4 Pruebas en planta	32
5. Conclusiones	35
6. Bibliografía.....	37
7. Anexos.....	43
Anexo A. Protocolo de síntesis de nanopartículas	43
Anexo B. Protocolo de síntesis de membranas	45
Anexo C. Detalle del conteo de células vivas y muertas en ensayo <i>antibiofouling</i>	47
Anexo D. Mediciones pruebas de desalinización en planta	49
Anexo E. Pruebas de permeabilidad en planta banco	50

1. Introducción

1.1 Antecedentes generales

La escasez de agua dulce es uno de los principales problemas que afectan el desarrollo social y económico de muchos países, incluyendo a Chile [1, 2]. Una manera de combatir a este problema es la obtención de agua dulce a partir de agua salada, dando origen a diversos procesos para realizar la desalinización del agua, tales como destilación flash multi-etapa, evaporación, congelamiento y osmosis inversa, siendo esta última la más utilizada debido a que su diseño e implementación son relativamente simples y, además, requiere de menos energía para su operación [3, 4]. Por ejemplo, al compararla con la destilación flash, que corresponde al segundo método más utilizado, se obtiene que este proceso requiere entre 2 y 3 veces más la cantidad de energía por metro cúbico desalinizado [5].

La osmosis es un fenómeno físico que consiste en el transporte de un disolvente desde una solución menos concentrada hacia una de mayor concentración cuando éstas están separadas mediante una membrana semipermeable [6]. Por otro lado, la presión osmótica se define como la presión a la que debe ser sometida la solución con mayor concentración para detener completamente el paso de disolvente a través de una membrana semipermeable [6].

La osmosis inversa es un proceso en el que, mediante un esfuerzo externo se logra superar a la presión osmótica, forzando a las moléculas de disolvente a viajar en dirección contraria al que iría en un proceso de osmosis directa, como se ejemplifica en la Figura 1. Para que esto ocurra es necesario que la presión aplicada sea mayor a la presión osmótica de la solución [7].

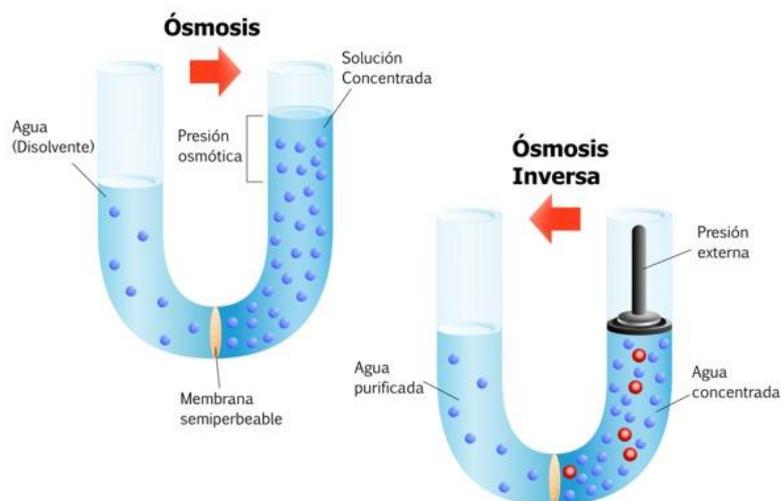


Figura 1: Esquema ilustrativo de osmosis y osmosis inversa .Obtenido de [8].

La incrustación o *fouling* en sistemas de osmosis inversa corresponde a la acumulación de compuestos orgánicos, inorgánicos y/o biológicos no deseados en la superficie de la membrana o dentro de sus poros, causando una disminución del flujo de permeado y rechazo de sales en el sistema. Esto representa una problemática, pues hasta el día de hoy no se ha podido mitigar completamente este fenómeno [9].

Existen distintos tipos de incrustaciones dependiendo de cuáles son las especies que se alojan en la membrana: se habla de *fouling* inorgánico cuando se forma una capa de sales inorgánicas solubles, orgánico cuando la incrustación se origina por la presencia de materia orgánica (tales como lípidos, polisacáridos, proteínas, etc.) y biológico, que corresponde a la acumulación de especies vivas [9].

Cuando el origen de la incrustación se debe a agentes biológicos se habla de bioincrustación o *biofouling*. Este tipo de ensuciamiento es importante, pues representa un obstáculo mayor en la industria, ya que es responsable de una importante disminución de los *flux* de las membranas utilizadas en desalinización de agua [9, 10].

Se suelen utilizar dos tipos de membranas en los sistemas de Osmosis Reversa, las membranas asimétricas de acetato de celulosa (AC) y las membranas compuestas de capa fina (TFC) [11]. Las membranas AC son resistentes al cloro, pero son propensas a hidrolizarse tanto en medios ácidos como básicos y pueden compactarse, disminuyendo su rendimiento cuando se trabajan con presiones altas, en cambio, las membranas TFC dominan el mercado actual debido a que poseen una alta selectividad de permeado, resistencia a compactarse y son estables químicamente [11, 12].

Las membranas TFC están compuestas por tres capas: una capa activa, la cual está en contacto directo con el flujo de alimentación cuando se utiliza en plantas de flujo cruzado y separa el agua de los contaminantes, y que comúnmente está compuesta de poliamida; una segunda capa que actúa como soporte para la capa activa, generalmente compuesta de polisulfona; y una tercera capa de refuerzo, que generalmente es de poliéster no tejido, y que aporta resistencia mecánica a la membrana [11, 13]. Se muestra un esquema de la composición de las membranas TFC en la Figura 2.

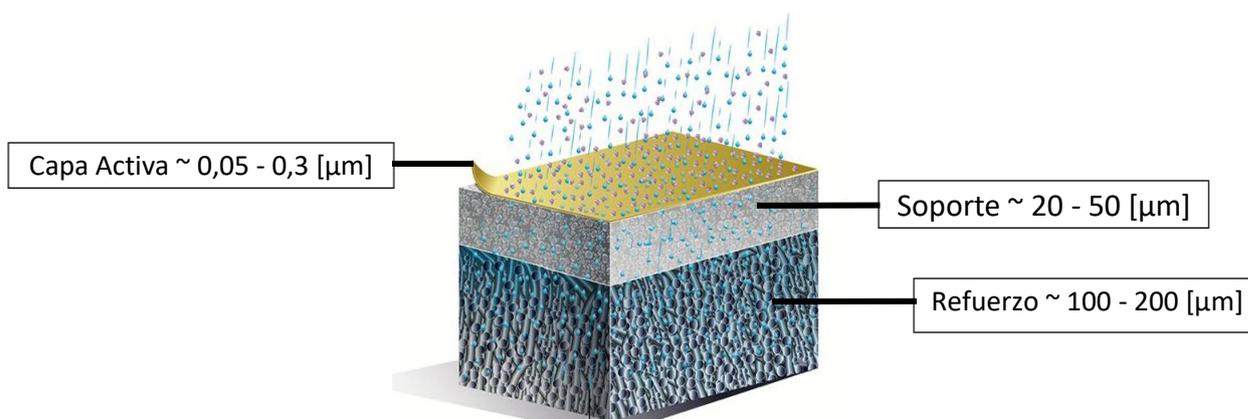


Figura 2: Esquema de una membrana TFC con los valores típicos de grosor de cada capa. Adaptado de [13].

Si bien las membranas TFC presentan ventajas frente a las de acetato de celulosa, mostrando un mejor desempeño selectivo y productividad [11, 14], son altamente sensibles a la formación de bio-películas en su superficie debido a que los microorganismos son capaces de adherirse a la capa activa de la membrana, disminuyendo su desempeño y vida útil [9]. Es debido a esto que nace la búsqueda de modificaciones en las membranas que permitan evitar la formación de las incrustaciones biológicas; de esta manera es que se origina el interés en la inclusión de nanopartículas (NPs) en las membranas [15].

Las nanopartículas son una familia de materiales de tamaño que va entre los 1 y 100 nm. Esto les confiere propiedades fisicoquímicas especiales, debido a que presentan una razón superficie-volumen más elevada que el común de los materiales gracias a su reducido tamaño, lo que se traduce en una reactividad superficial mayor [16]. Estas características han provocado que se haya aumentado el estudio y uso de nanopartículas en variadas áreas, como la biomedicina, electrónica y nanoquímica entre otras [16]. Una de las características de interés que poseen algunas nanopartículas es su capacidad de funcionar como agentes biocidas, y que se han mostrado efectivas cuando se utilizan en procesos industriales para reducir la carga microbiana.

Se ha reportado que la modificación de membranas TFC mediante la adición de nanopartículas metálicas con efecto biocida, como por ejemplo TiO_2 NPs y Ag NPs, entre otras,

mejoran sus propiedades *antibiofouling* [1, 5, 12, 17, 18]. Además, varios estudios han mostrado que las nanopartículas de plata, óxido de titanio y cobre exhiben buenas propiedades *antibiofouling* y pueden ser usadas para el desarrollo de membranas de osmosis reversa modificadas [1, 17–21].

Actualmente, el Centro de Tecnología Avanzada para la Minería de la Universidad de Chile (AMTC) se encuentra desarrollando membranas TFC modificadas con nanopartículas de óxido de cobre (CuO). Si bien se espera que las membranas modificadas posean un mejor desempeño frente a la incrustación biológica debido a la incorporación de las nanopartículas sin perder sus propiedades como membranas desalinizadoras [15, 22], se desconoce el impacto que tendrá la concentración de nanopartículas de óxido de cobre utilizado en la síntesis de las membranas modificadas, tanto en el rendimiento del flujo de permeado como en su capacidad anti *biofouling*. Es importante medir los efectos variando la concentración de cobre utilizada, pues se ha visto que mientras mayor sea la concentración de nanopartículas en la membrana, éstas exhiben un efecto biocida superior [23].

Por otro lado, las membranas sintetizadas por el AMTC están compuestas sólo por la capa activa de poliamida y la capa soporte de polisulfona, por lo que poseen una baja resistencia mecánica, generando rupturas en la membrana al superar los 500 psi de presión de operación. Es importante y necesario que las membranas sean capaces de soportar presiones de operación más altas, pues las condiciones de operación utilizadas en la industria para la desalinización de agua de mar llega hasta los 1000 psi [5].

Es por esto que además de sintetizar y evaluar el rendimiento de membranas que incluyan distintas concentraciones de nanopartículas de óxido de cobre, se espera adicionar una capa de alta resistencia mecánica basada en el uso de poliéster no tejido en la realización de pruebas de eficiencia de desalinización y de capacidad anti-incrustación biológica, pues se podría determinar el impacto de la inclusión de distintas concentraciones de nanopartículas en las membranas tanto en el rendimiento como membrana desalinizadora como en su capacidad anti-bioincrustación y, además, el adicionar una capa de refuerzo mecánico podría dar pie para que las membranas sintetizadas soporten mayores presiones de operación.

En primer lugar, se sintetizaron membranas TFC modificadas con dos concentraciones distintas de nanopartículas de óxido de cobre (CuO), para ser utilizadas tanto en pruebas de permeabilidad y desalinización como en pruebas anti *biofouling*. Para ello, se sintetizaron tanto las nanopartículas como la membrana TFC, compuesta de la capa de poliamida sobre el soporte de polisulfona.

Por otro lado, se realizaron pruebas bactericidas y anti-adhesión en laboratorio de forma batch y utilizando una bacteria modelo que se ha demostrado que es capaz de formar biopelículas.

Luego, se realizaron pruebas de permeabilidad y desalinización en planta piloto de desalinización a escala de laboratorio para medir el impacto que tiene la modificación con nanopartículas sobre el rendimiento de desalinización y la capacidad anti-bio, así como también los cambios en la resistencia con la capa de poliéster.

1.2 Objetivos

El objetivo general de este trabajo es sintetizar, caracterizar y evaluar el desempeño *anti-biofouling* y desalinización de membranas TFC-RO modificadas con la incorporación de distintas concentraciones de nanopartículas de óxido de cobre II.

Los objetivos específicos son:

- Estudiar el efecto de la concentración de nanopartículas de óxido de cobre en la composición y morfología de membranas TFC-RO modificadas.

- Determinar la efectividad de las membranas modificadas para combatir la formación de incrustaciones biológicas.
- Estudiar el efecto de las nanopartículas de óxido de cobre en el desempeño de las capacidades de permeado y desalinización de las membranas modificadas en planta banco.
- Estudiar el efecto de la inclusión de una capa de refuerzo en las membranas TFC-RO modificadas mediante la incorporación de un soporte de poliéster.

1.3 Limitaciones

Entre las limitaciones presentes en el trabajo se encuentran:

La síntesis de membranas no es automatizada, por lo que el error experimental puede ser alto. Es importante tener esto en consideración al momento de comparar los resultados obtenidos de las pruebas en planta, pues puede existir una variación asociada a la síntesis de las membranas y no a la modificación con nanopartículas. Es por ello que se tuvo un especial cuidado para comprobar la reproducibilidad de los resultados, comparando resultados de las pruebas en planta con las caracterizaciones realizadas a las membranas.

Se presentaron inconvenientes en el desempeño de la planta piloto de desalinización por fallas en la bomba de operación, lo que retrasó el trabajo y limitó el desarrollo de varios experimentos inicialmente contemplados.

Los efectos biocidas y anti-incrustaciones biológicas de las membranas serán medidos utilizando *E. coli* como microorganismo de prueba debido a su facilidad en manejo y cultivo, sumado a la disponibilidad para conseguir a este microorganismo. Debido a que este microorganismo se utilizó como bacteria modelo, y considerando que no es un organismo propio del agua de mar, los resultados obtenidos no podrían ser concluyente frente a condiciones reales.

2. Marco Teórico

2.1 Métodos de síntesis de membranas

Como se comentó en el capítulo 1, en los sistemas de osmosis inversa, las membranas compuestas de capa fina (*Thin film Composite* o TFC) corresponden a las más utilizadas, debido a que promueven un mejor *flux* y rechazo de sales comparadas con otros tipos de membranas, además, pueden operar en mayores rangos de temperatura, pH y presiones [11, 14]. Estas membranas típicamente se fabrican en 2 pasos: primero se prepara el soporte de polisulfona mediante inversión de fases utilizando pellets de polisulfona en una mezcla de dimetilformamida con N-metil-2-pirrolidona. La utilización de este método genera huecos en el soporte, haciendo que el material resultante sea poroso [24]. El segundo paso corresponde a la síntesis de la capa activa de poliamida, la cual se realiza generalmente mediante polimerización interfacial, este método genera la capa rápidamente mediante la reacción de condensación entre los grupos aminos de m-fenilendiamina (MPD) y carbonilos de tricloruro de mesoilo (TMC) [14]. Estos dos procesos se explican a continuación.

2.1.1 Inversión de fases

La inversión de fases es un proceso en el cual un polímero en solución se transforma en un complejo macromolecular tridimensional [25]. En el caso de la preparación de los soportes de polisulfona para las membranas, consiste en la disolución de pellets de polisulfona en una fase orgánica a temperaturas cercanas a los 50 °C [18], la cual se somete a un baño de coagulación con agua desionizada, en donde se solidifica la polisulfona y se separan las fases orgánicas y acuosas (ver Figura 3), formando macro poros transversales en el soporte, los cuales generan una región con forma de dedos (*o finger like region* en inglés), la cual se muestra en la Figura 4 [1, 18, 26].



Figura 3: Esquema de baño de coagulación utilizado para la preparación de soporte de polisulfona para membranas TFC mediante inversión de fases.

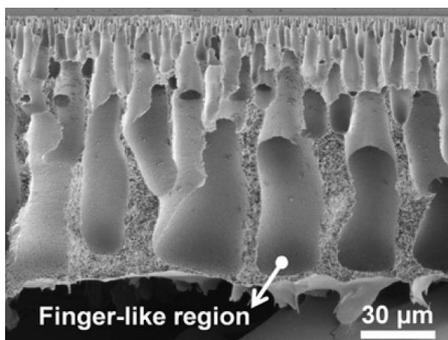


Figura 4: Imagen obtenida por SEM del corte transversal de la capa de polisulfona de una membrana TFC. Adaptado de [27]

2.1.2 Polimerización interfacial

La polimerización interfacial es un método de polimerización, el cual ocurre en la interface entre dos fases inmiscibles, resultando en un polímero que queda constreñido en ésta [28]. Existen distintos métodos de polimerización interfacial, que puede resultar en distintos tipos de polímeros, como nanocápsulas, nanofibras o películas ultradelgadas. Este último tipo es el que se utiliza para la confección de membranas TFC, y que se ejemplifica en la Figura 5.

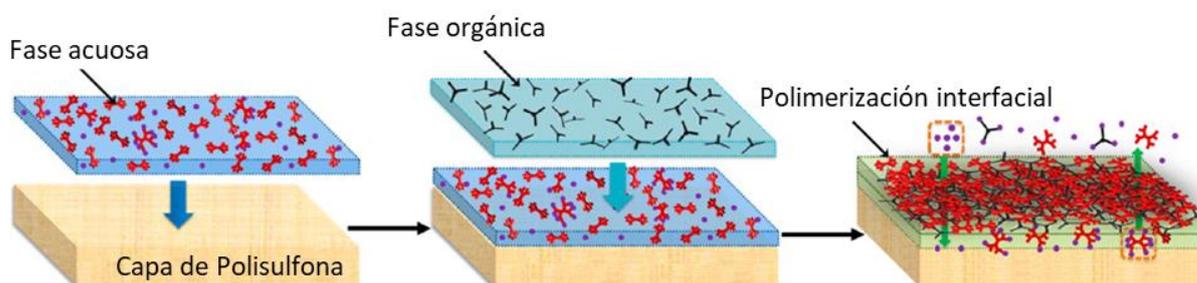


Figura 5: Esquema de una polimerización interfacial sobre una membrana de polisulfona. Adaptado de [29]

Como se mencionó anteriormente, la capa de poliamida de la membrana se genera haciendo reaccionar los grupos aminos de la 2,6-fenilendiamina (MPD) con los grupos carbonilos de tricloruro de mesoilo (TMC), generando una reacción en cadena. En la Figura 6, se muestra la reacción que ocurre entre el MPD y el TMC.

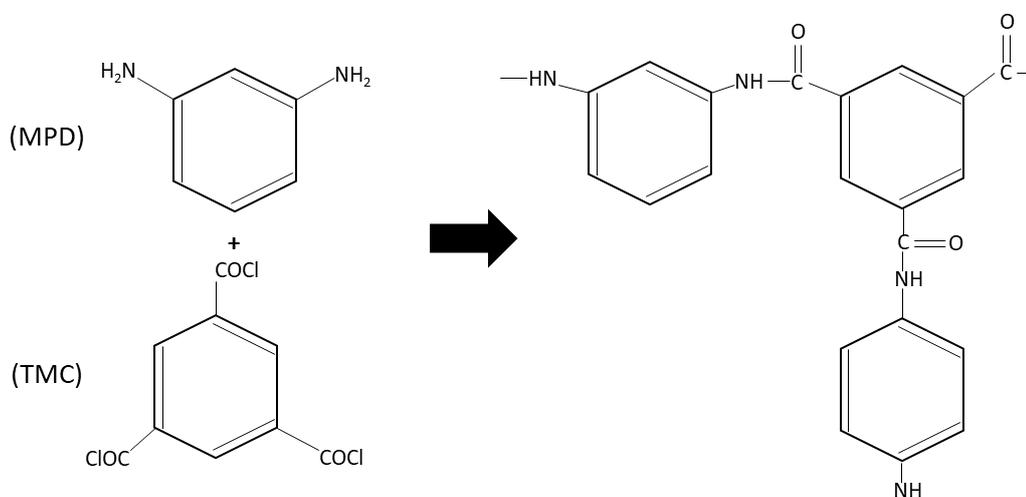


Figura 6: Esquema de la reacción en cadena de MPD con TMC para formar la capa de poliamida.

2.2 Problemas en la osmosis inversa

2.2.1 Incrustación o *fouling*

A pesar de que las membranas TFC tienen varias ventajas sobre otros tipos de membranas, siguen siendo afectadas por ensuciamiento mediante incrustaciones o *fouling*. Los tipos de *fouling* se clasifican según el tipo de material que causa la incrustación en la membrana, siendo estos de tipo inorgánico (capa de sales inorgánicas solubles), orgánico (capa de material orgánico presente en el agua que se trata) o biológico (capa de microorganismos vivos). En el presente trabajo se le pondrá énfasis a este último tipo de ensuciamiento, que se explica con mayor detalle a continuación.

De la misma manera en que se mencionó en la sección 1, la incrustación o *fouling* biológico corresponde a la indeseada acumulación y crecimiento de microorganismos en la membrana. La manera en que se genera el *biofouling* está compuesta por 3 pasos generales: adición inicial, formación de una biopelícula y, finalmente ocurre una caída de presión, flujo permeado y calidad del producto [30]. La adición inicial ocurre cuando los microorganismos y nutrientes que se encuentran en la solución de alimentación entran en contacto con la membrana. La formación de la biopelícula o *biofilm* se basa principalmente en bacterias y sustancias poliméricas extracelulares (EPS) que son producidas por los mismos microorganismos [9], esta etapa es crítica, pues genera resistencia en la incrustación, haciendo que perdure en el tiempo. En la Figura 7 se muestra un esquema de la formación de la biopelícula [30].



Figura 7: Esquema de la formación de biopelícula en membranas de osmosis reversa. Adaptado de [30].

El proceso de formación de la bio-película comienza con el contacto de los microorganismos (principalmente bacterias [31]) con la membrana, luego comienza un acondicionamiento de la membrana, en donde distintas moléculas del medio, como materia orgánica, se alojan sobre la membrana, generando la presencia de nutrientes para que los microorganismos se unan a la superficie [10], luego, las células bacterianas entran en contacto con la membrana, generando un anclaje. Después, las células comienzan a formar sustancias extracelulares poliméricas, produciendo una matriz extracelular que estabiliza al consorcio bacteriano, fortaleciendo y facilitando su adhesión a la superficie [30].

La matriz extracelular está compuesta principalmente de polisacáridos, glicoproteínas, lipoproteínas y otras macromoléculas de origen biológico, y puede variar tanto en sus propiedades físicas como químicas [30]. Las propiedades físicas del *biofilm* dependen fuertemente de las EPS y, por otro lado, las propiedades fisiológicas dependen de los tipos de microorganismos que lo componen. Dentro de los microorganismos más comunes que producen el *biofouling* se encuentran las *Pseudomonas*, *Mycobacterium* y *Flavobacterium* entre otros [30, 32].

Los efectos de la incrustación biológica incluyen un aumento en la presión del sistema y en la presión transmembrana, junto a una disminución en el rechazo de sales, lo cual genera aumentos en costos operacionales y energéticos para los sistemas de purificación [9, 10].

Existen distintas estrategias utilizadas para evitar el *biofouling* en membranas de osmosis inversa. Uno de ellos es el pretratamiento del agua de alimentación aplicando un sistema de filtrado, removiendo físicamente a las bacterias y otros componentes que puedan causar daños a la membrana mediante el uso de procesos de microfiltración o ultrafiltración estándar [9, 30, 31]. Otra estrategia corresponde al uso de agentes biocidas en el pretratamiento, este método se puede realizar en conjunto con los de filtración mencionados anteriormente. Dentro de los biocidas más comunes se encuentran la clorina, el ozono y la radiación UV [30].

Finalmente, el método que se ha masificado últimamente corresponde a la modificación de la superficie de las membranas para conferirle resistencia aumentada a los microorganismos, enfocado en atacar a los pasos críticos asociados a la incrustación biológica [33]. Las características que disminuyen la adhesión de bacterias son: una superficie más lisa, más hidrofílica y/o con carga negativa [34]. Recientemente se han probado modificaciones con materiales cuyo uso a nanoescala ha ido en crecimiento, como nanopartículas de cobre, titanio y plata [1, 18, 20, 35, 36].

2.2.2 Polarización de la concentración

Otro de los fenómenos que pueden afectar al rendimiento de desalinización en los sistemas de osmosis inversa corresponde a la polarización de la concentración, el cual consiste en la acumulación de las especies iónicas rechazadas en la superficie de la membrana. En la osmosis inversa, el flujo de alimentación lleva a la sal hacia la superficie de la membrana mediante convección, y como en esa zona la sal es rechazada, ésta última debe volver hacia el flujo que se está tratando mediante difusión. De esta manera, se van acumulando sales en la superficie de la membrana hasta que la concentración es mayor en la superficie que en el volumen que se está tratando, disminuyendo así el rendimiento del proceso de osmosis inversa tanto términos de flujo de permeado como en capacidad de rechazo de sales. En la Figura 8, se muestra un esquema de la polarización de la membrana [37].

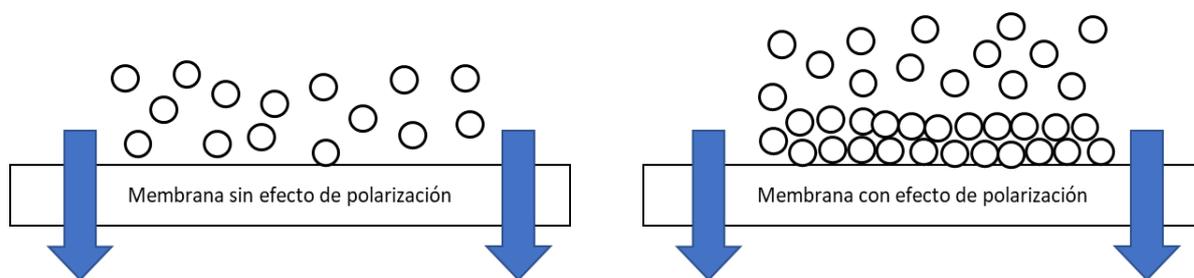


Figura 8: Esquema de la polarización de la concentración en membranas de osmosis inversa, a la izquierda se muestra una membrana sin efecto de la polarización de la concentración y a la derecha se muestra una membrana con el efecto. Las flechas representan la dirección del flujo de agua y los círculos a la concentración de sales.

Una diferencia importante con el *fouling* es que la polarización de la concentración es completamente reversible y temporal. Para tratar a las membranas que presenten este problema, bastará con realizar una limpieza con agua destilada para que su rendimiento se vuelva a normalizar [38].

2.3 Nanopartículas como agentes biocidas

Las nanopartículas (NPs) poseen algunos factores importantes que han demostrado tener influencia directa en el impacto que tienen en su capacidad biocida. Dentro de estos factores, los que se han identificado como los que tienen mayor importancia son el tamaño, las

características superficiales de la NP y la solubilidad [39], las cuales se describen a continuación.

2.3.1 Efecto del tamaño

Como ya se mencionó anteriormente, el tamaño es lo que confiere a las nanopartículas sus propiedades sobresalientes. Se ha demostrado que las partículas de tamaño nanométrico tienen mayor toxicidad que la misma especie de mayor tamaño [16, 39].

Las nanopartículas poseen un área específica excepcionalmente alta [40], la cual, entre otras cosas, permite una mayor acumulación e interacción de las nanopartículas con los microorganismos, explicando por qué el efecto de toxicidad es mayor [16, 39].

La primera interacción que ocurre al enfrentarse a los microorganismos (M.O.) con las NPs ocurrirá en la membrana citoplasmática del M.O. Se ha reportado que nanopartículas de un reducido tamaño (18 nm) son capaces de aumentar la densidad del empaquetamiento de los lípidos presentes en la membrana citoplasmática, haciendo que ésta se vuelva más rígida y tensa, provocando una disminución en la movilidad de la célula en un efecto que se describe como “congelante” [39, 41, 42]. Además, este incremento en la tensión de la membrana citoplasmática puede liberarse mediante fracturas en la membrana, generando microporos que brindan la oportunidad para que las nanopartículas difundan al interior de la célula [42].

Por otro lado, las células son capaces de endocitar a las nanopartículas de mayor tamaño (100 nm), evitando los efectos en la bicapa lipídica de la membrana citoplasmática [42–44]. Sin embargo, si la membrana se encuentra bajo el efecto de “congelación” que se describió anteriormente, al intentar endocitar las nanopartículas se formarán fracturas en la membrana, permitiendo que las nanopartículas entren a la célula [42].

2.3.2 Efecto de las características de superficie

Es importante recalcar que las características superficiales de las nanopartículas como la carga iónica y la forma corresponden a otro factor clave en su toxicidad hacia microorganismos. De estas características dependerá la forma en la que se produzca la interacción con la célula, por ejemplo, las proteínas y estructuras celulares de seres vivos poseen carga negativa en rangos de pH similares a los encontrados en ambientes marinos [21], de esta manera, una nanopartícula cuya carga sea positiva será absorbida más fácilmente por proteínas que se encuentren cargadas negativamente, aumentando su toxicidad. Por otro lado, las nanopartículas con carga superficial negativa también pueden ser absorbidas en las células al mediar con cationes presentes en el medio como el calcio (Ca^{2+}), aunque en menor medida [39, 45, 46].

Otro factor que tiene un rol importante en la interacción entre las células y las nanopartículas corresponde a la forma de estas últimas. Se ha reportado que las nanopartículas esféricas son más endocitadas que las cilíndricas de un tamaño similar, llegando hasta un 500% más para las esféricas [46]. Esto se debe a que la membrana envuelve a las nanopartículas, lo que toma más tiempo para nanopartículas de tamaño alargado.

Por otro lado, la composición química de las nanopartículas también cumple un rol clave. Se han realizado experimentos que comparan la toxicidad de distintos tipos de nanopartículas en células de hígado de ratón, obteniendo que tenían distintos efectos dependiendo del material en el que entraba en contacto la célula [47]. El hecho de que las nanopartículas con distinta composición interactúan con distintas moléculas y a distintos niveles puede explicar por qué existen casos de toxicidad aumentada con algunos tipos de materiales.

La última característica importante de las nanopartículas asociada a su superficie es su hidrofobicidad. Las nanopartículas pueden interactuar con especies que se encuentren en el medio, como proteínas, iones y/o moléculas orgánicas, haciendo que estos compuestos se

adheran a la superficie de las NPs, generando una “corona” alrededor de éstas. Esto trae como consecuencia que se altere la superficie química de las nanopartículas, haciendo que se aglomeren y se reduzca la adhesión con la membrana citoplasmática de los microorganismos, lo cual, como se mencionó anteriormente, es muy importante para que se inicien los efectos tóxicos de las nanopartículas en las células. Si se adhieren revestimientos hidrofóbicos en las NPs, se puede disminuir el efecto de la aglomeración, provocando una penetración celular más efectiva [48].

2.3.3 Efecto de la solubilidad

La liberación de iones metálicos en el medio es otro aspecto clave de la toxicidad de las nanopartículas, pues la solubilidad de estas últimas es más rápida que la de sus versiones de mayor tamaño debido a que poseen una mayor cantidad de área en contacto con el disolvente [16].

Los iones metálicos son necesarios para algunos procesos metabólicos celulares, sin embargo, si se encuentran en concentraciones superiores a un determinado umbral pueden interrumpir algunas rutas metabólicas de la célula, llegando a causar la muerte (lisis) [49]. Principalmente, la toxicidad de los iones está asociada al desplazamiento de los metales esenciales de sus sitios nativos y/o a la interacción por ligandos [50]. En general, los iones de metales no esenciales poseen mayor afinidad con los grupos que contengan tioles (RSH) y oxígeno, comparados con los iones de metales esenciales, generando el desplazamiento de estos últimos. Esto trae como consecuencia que se generen alteraciones en la estructura conformacional de algunas proteínas y ácidos nucleicos y, además, se altera al balance osmótico y fosforilación oxidativa dentro de la célula [47, 50].

Otro factor que influye en la toxicidad corresponde a las propiedades redox de los metales. Para el caso del cobre, el ciclo redox entre Cu^{2+} y Cu^+ cataliza la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales alteran el metabolismo completo de la célula, generando estrés oxidativo y provocando daño en lípidos, proteínas, ADN y otras biomoléculas [50].

2.4 Membranas de osmosis inversa modificada

La modificación de la membrana con nanopartículas de cobre utilizada en este trabajo ocurre en la formación de la capa de poliamida, durante la etapa de polimerización interfacial, en donde se agregan las NPs, quedando impregnadas dentro de esta capa densa [51], como se ejemplifica en la Figura 9.

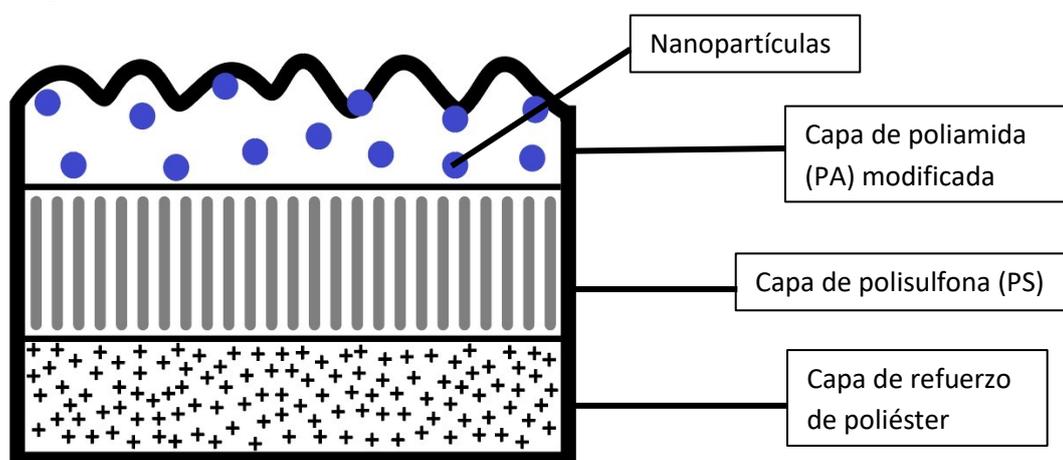


Figura 9: Esquema de membrana TFC modificada con nanopartículas de óxido de cobre. Adaptado de [15].

A la fecha, las membranas que han sido sintetizadas por el grupo de aguas del AMTC han incluido cobre elemental, óxido de cobre, dióxido de titanio y un oligómero de cobre generado

a partir de la agregación de una sal de cobre (CuCl_2). Las membranas modificadas fueron analizadas en su morfología, superficie, capacidad anti incrustación biológica y desempeño de desalinización, encontrando que todas las membranas modificadas presentan una mejora en sus características biocidas y antiadherentes con respecto a las no modificadas [20, 23, 52].

2.4.1 Propiedades superficiales relevantes en membranas de osmosis reversa

Como se mencionó anteriormente, existen ciertas características asociadas a las nanopartículas que son deseables para que presente una alta capacidad biocida, sin embargo, algunos de estos factores pueden llegar a afectar negativamente al rendimiento de la membrana de osmosis reversa, disminuyendo su flujo de permeado, rechazo de sales y/o su resistencia a agentes incrustantes, tanto biológicos como no biológicos.

Uno de los parámetros de importancia corresponde a la carga superficial de la membrana. Como se mencionó anteriormente, las nanopartículas que poseen una carga superficial positiva poseen mayor toxicidad debido a que pueden interactuar con las estructuras proteicas de carga negativa de los microorganismos [39]. Sin embargo, existen estudios que sugieren que es preferible que las membranas posean una carga superficial negativa, pues la mayoría de las partículas orgánicas que generan incrustaciones son de carga negativa, de esta manera, el poseer el mismo tipo de carga en la superficie de la membrana permite repeler a estas partículas, evitando la formación de incrustaciones [53, 54].

Otro factor importante corresponde a la hidrofiliidad. Se ha demostrado que modificaciones de membranas con nanopartículas hidrofílicas mejoran el rendimiento, aumentando el flujo de permeado debido a que permiten un mejor traspaso de agua a través de la membrana, manteniendo el rechazo de los iones presentes en la alimentación [55].

La última característica importante en las membranas corresponde a la rugosidad. Mientras más rugosa sea una membrana, mayor es su sensibilidad a la incrustación, debido a que una mayor rugosidad significa una mayor presencia y/o tamaño de hendiduras o “valles” en la superficie de la membrana, y a su vez, estas hendiduras dan lugar para que se alojen los agentes incrustantes en la superficie de la membrana. Esto es particularmente favorecedor para la etapa de fijación en la formación de incrustaciones biológicas [56]. Realizar modificaciones con nanopartículas en las membranas puede acentuar la formación de estos valles en la superficie, por lo cual el método de síntesis con la incorporación de las nanopartículas se vuelve fundamental para generar una membrana con la menor rugosidad posible [51].

2.5 Técnicas utilizadas para la caracterización de nanopartículas

2.5.1 Potencial Zeta

El análisis de potencial zeta permite determinar la carga superficial de nanopartículas en un coloide [57]. Las nanopartículas poseen una carga superficial que atrae a una capa fina de iones de carga opuesta hacia la superficie de la nanopartícula, como se observa en la Figura 10. Esta doble capa de iones viaja con la nanopartícula mientras esta difunde a través de la solución. El potencial eléctrico en el límite de la doble capa se conoce como el potencial Zeta de las nanopartículas y posee valores que generalmente varían entre los +100 mV hasta los -100 mV. La magnitud del potencial zeta es útil para predecir la estabilidad del coloide, nanopartículas con un valor de potencial zeta mayores a +25 mV o menores que -25 mV generalmente poseen altos niveles de estabilidad, debido a que las partículas cargadas se repelerán unas con otras, evitando que se aglomeren [57, 58]. Por otro lado, se define como *slipping plane* al plano en donde la partícula con su agua químicamente unida e iones se mueve en masa a través de la solución, considerado como la zona en donde el potencial zeta es válido [59], como se muestra en la Figura 10.

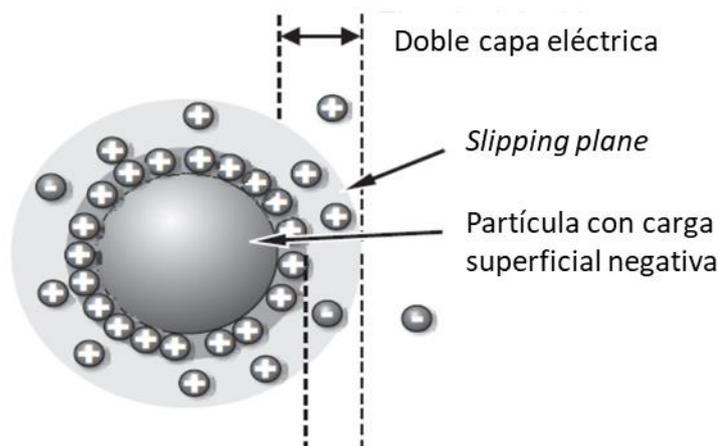


Figura 10: Esquema de una nanopartícula de carga negativa con iones de carga positiva rodeándola. Adaptado de [58].

2.5.2 Dispersión dinámica de luz

La dispersión dinámica de luz (o DLS por sus siglas en inglés) es una técnica que permite, entre otras cosas, la determinación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión. Esta medición se realiza enviando rayos de luz monocromática (usualmente mediante un láser) a la muestra, cuando la luz choca con las partículas, se dispersa en todas las direcciones. La luz que fue dispersada se detecta durante un cierto período de tiempo para determinar el tamaño de la partícula y el coeficiente de difusión [60, 61]. En la medida en que las partículas son más pequeñas, la velocidad a la que se mueven es mayor, haciendo que la dispersión de luz fluctúe más en el tiempo [60], como se ejemplifica en la Figura 11.

Por otro lado, junto con el tamaño de las partículas se obtiene el índice de polidispersidad (IPD, por sus siglas en inglés), el cual provee información sobre la distribución de tamaños de la muestra. Valores de IPD cercanos a 0 indican que la muestra es monodispersa (partículas de tamaños similares), y valores cercanos a 1 indican que la muestra presenta una gran variación en tamaños [62].

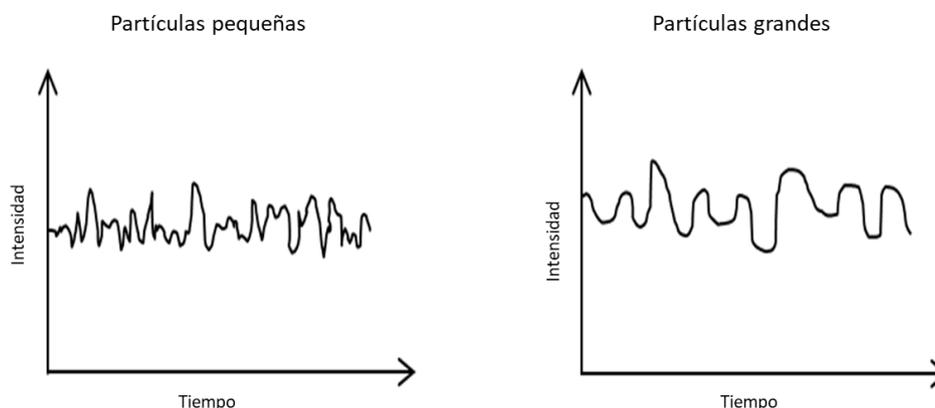


Figura 11: Diferencias en la medición de intensidad entre partículas grandes y pequeñas. Las partículas más pequeñas muestran fluctuaciones más rápidas en la medición del DLS [63]

2.5.3 Espectrofotometría UV-visible

La espectrofotometría UV-visible es una técnica física (óptico) de reconocimiento (diferenciación) de compuestos inorgánicos, generalmente en solución, que consiste en emitir luz a la muestra y realizar un análisis óptico, comparando la intensidad del haz de luz emitido antes y después de interactuar con la muestra. Esta técnica normalmente destruye la muestra, y

posee un bajo costo, motivo por el cual es el uno de los métodos más utilizados en investigaciones químicas y bioquímicas [64]. Existen reportes que indican que las nanopartículas de óxido de cobre (las cuales se estudian en este trabajo) poseen bandas de absorbancia a los 220 y 350 nm [65, 66].

2.5.4 Difracción de rayos X

La difracción de rayos X (DRX, o XRD por sus siglas en inglés) es un método que permite obtener información estructural cuantitativa de una muestra y, en muchos casos la estructura molecular completa [64]. Este procedimiento consiste en lanzar un haz de rayos X de una determinada longitud de onda sobre la muestra, donde la radiación al entrar en contacto con el material es dispersada en todas las direcciones, dando origen a interferencia constructiva en algunos ángulos de donde se dispersaron los rayos X. Luego, se distinguen los elementos que componen a la muestra debido a que cada uno posee su propio patrón de ángulos de reflexión [64].

2.6 Técnicas utilizadas para la caracterización de membranas

2.6.1 Microscopía de fuerza atómica

La microscopía de fuerza atómica o AFM por sus siglas en inglés, es una técnica que permite obtener imágenes tridimensionales de la superficie de los materiales utilizando una sonda compuesta por una viga voladiza que posee una punta afilada. En el AFM, los átomos en la punta de la sonda interactúan con los átomos de la superficie de la muestra a través de fuerzas intermoleculares (por ejemplo, fuerzas de van der Waals). La viga que sostiene a la sonda es impactado por un láser, cuyo reflejo es captado por el equipo, de esta manera se obtiene la imagen de la superficie de la muestra [64].

2.6.2 Ángulo de contacto

La medición del ángulo de contacto es uno de los métodos más comunes para medir la hidrofiliicidad de un sólido. Esta prueba consiste en dejar una gota en la superficie del sólido que se desea estudiar y medir el ángulo de contacto que se forma, como se muestra en la Figura 12. Mientras más grande sea la afinidad entre el sólido y el líquido, menor será el ángulo de contacto. Si el ángulo de contacto es menor a 90° , el líquido mojará la superficie del sólido, definiéndolo como hidrofílico, por el contrario, si el ángulo es mayor a 90° , el sólido se define como hidrofóbico [67].

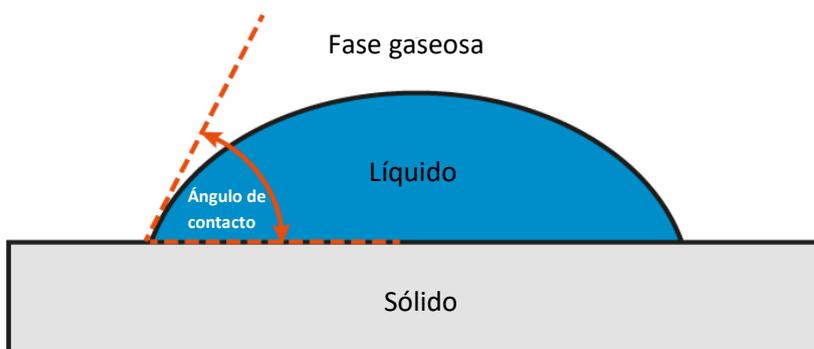


Figura 12: Esquema del ángulo de contacto producido entre un líquido y un sólido. Adaptado de [68]

2.6.3 Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido (*Scanning Electron Microscope* o SEM) es una técnica que permite tomar imágenes de la superficie de las muestras, funcionando de manera similar a un microscopio óptico convencional, sin embargo, la obtención de imágenes por SEM se realiza lanzando un haz de electrones hacia la muestra, y se detectan los electrones que son reflejados [64]. Debido a que el método utiliza electrones para generar la imagen, las muestras deben ser capaces de conducir la electricidad, y en el caso de que no sean conductivas, se deben cubrir con una fina capa de metal, usualmente oro o aluminio, para asegurar que la imagen no resulte borrosa [64].

2.6.4 Espectroscopía de rayos X

La espectroscopía de rayos X por energía dispersiva (*Energy dispersive X-ray Spectroscopy* o EDX) es una técnica de caracterización que permite determinar cuantitativamente y cualitativamente la presencia y cantidad de la mayoría de los elementos (generalmente aquellos cuyo número atómico es mayor a 8) presentes en la muestra. En la EDX, la muestra se bombardea con rayos X, expulsando a los electrones interiores de los átomos que la componen y, cuando los electrones más exteriores ocupan el lugar vacante de los electrones expulsados ocurre una emisión de rayos X en la muestra. Estos rayos X son característicos de cada elemento, por lo que es posible determinar cuáles son los compuestos que se encuentran en la muestra [64].

3. Metodología

3.1 Síntesis de nanopartículas

Nanopartículas de óxido de cobre (CuO NPs) fueron sintetizadas en una solución acuosa básica, utilizando bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) como agente estabilizador y borohidruro de sodio (NaBH₄) como agente reductor. Los reactivos usados fueron: sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄·5H₂O) (99,995%) SIGMA-ALDRICH, NaOH (98%) SIGMA-ALDRICH, CTAB (99%) SIGMA-ALDRICH y NaBH₄ (99,99%) SIGMA-ALDRICH.

La síntesis se produjo mediante una reducción química asistida por ultrasonido, utilizando un sonicador marca ISOLAB modelo 621.05.003 a una temperatura inicial de 30 °C. Para la síntesis de nanopartículas en suspensión con una concentración de 0,125% p/p de óxido de cobre (0,125% CuO NPs) las concentraciones utilizadas fueron las siguientes: NaOH (17 mM), CTAB (68 mM), CuSO₄·5H₂O (42 mM) y NaBH₄ (8,6 M) y, para las suspensiones de nanopartículas con una concentración de 0,033% p/p de óxido de cobre (0,033% CuO NPs) se utilizó: NaOH (4,4 mM), CTAB (16 mM), CuSO₄·5H₂O (0,4 mM) y NaBH₄ (2 M). En el Anexo A se encuentra el protocolo de síntesis de nanopartículas desarrollado por el AMTC [65] y utilizado en este trabajo.

Para referirse a los distintos coloides de nanopartículas en suspensión se utilizará la siguiente nomenclatura:

- 0,033% CuO NPs: Nanopartículas de óxido de cobre en suspensión con una concentración de 0,033% en masa.
- 0,125% CuO NPs: Nanopartículas de óxido de cobre en suspensión con una concentración de 0,125% en masa.

3.2 Síntesis de membranas

Para la síntesis del soporte de polisulfona se utilizaron los reactivos dimetilformamida (DMF) (99%) SIGMA-ALDRICH, metil-2-pirrolidona (NMP)(99%) SIGMA-ALDRICH y polisulfona (PS) (*Solvay Specialty Polymers*). Los equipos que se utilizaron incluyen un *casting knife* (BYK), campana extractora y un agitador magnético. El protocolo de la síntesis se encuentra en el Anexo B [51].

Por otro lado, para la síntesis de la capa activa de poliamida (PA) se utilizaron los reactivos 2,6-fenilendiamina (MPD) (99%) SIGMA-ALDRICH, carbonilos de tricloruro de mesoilo (TMC) (98%) SIGMA-ALDRICH, hidróxido de sodio (NaOH) (98%) SIGMA-ALDRICH, hexano (C₆H₁₄) (99,98%) WINKLER, agua destilada y las nanopartículas sintetizadas anteriormente. Los equipos involucrados incluyen campana extractiva, agitador magnético y horno. El protocolo de síntesis se encuentra en el Anexo B [51].

Para referirse a cada una de las membranas sintetizadas se utiliza la siguiente nomenclatura:

- PA/PS o membrana blanco: Membranas sin modificar con nanopartículas de cobre.
- (PA + 0,033 %CuO-NPs)/PS: Membranas modificadas con nanopartículas de óxido de cobre con una concentración de 0,033% p/p.
- (PA + 0,125 %CuO-NPs)/PS: Membranas modificadas con nanopartículas de óxido de cobre con una concentración de 0,125% p/p.

3.3 Caracterización de nanopartículas

Para determinar la carga superficial de las nanopartículas y su distribución de tamaños se realizaron los análisis de Potencial Zeta y DLS, para ello se almacenaron las muestras colocando 15 mL de las nanopartículas en suspensión en tubos falcon de 15 mL. Luego se realizó el análisis utilizando un *Zetasizer Nano ZS90* marca *Malvern*.

Para determinar la existencia de nanopartículas de óxido de cobre de manera rápida, se realizó un ensayo de espectrometría UV-visible en el laboratorio de calidad de agua del Departamento de Ingeniería Civil de la Universidad de Chile, con un espectrofotómetro marca *HACH* modelo DR 5000.

Finalmente, para obtener información sobre la estructura molecular de las nanopartículas sintetizadas se prepararon las muestras colocando 15 mL de las nanopartículas en suspensión en tubos falcon de 15 mL, para luego realizar el ensayo de DRX utilizando un difractómetro marca *Bruker*, modelo *D8 Advance* con radiación CuK.

3.4 Caracterización de membranas

Para comparar los resultados de las caracterizaciones se realizarán los ensayos en membranas blanco junto con las membranas modificadas con las distintas concentraciones de nanopartículas de óxido de cobre.

Microscopía de fuerza atómica

Para conocer la rugosidad de las membranas sintetizadas se realizaron ensayos de AFM, para ello se prepararon muestras cortando un trozo de 2 x 2 cm de cada uno de los distintos tipos de membranas y posteriormente se guardaron en placas de Petri, utilizando una placa de Petri por cada tipo de membrana. El ensayo se realizó utilizando un equipo de AFM *NanoWizard 3 BioScience*, marca *JPK Instruments*.

Ángulo de contacto

Para conocer la hidrofiliicidad que poseen las membranas sintetizadas se realizó un ensayo para medir el ángulo de contacto de la membrana con una gota de agua ultra pura, utilizando una cámara *Digi-Microscope JENOPTIK*. Al igual que para el ensayo de AFM, se cortó un trozo de 2x2 de cada uno de los tipos de membrana y se guardaron en placas de Petri para su traslado.

Microscopía electrónica de barrido

Para obtener imágenes de la superficie de las membranas sintetizadas se utilizó el método de microscopía electrónica de barrido (SEM). Para ello, las muestras se prepararon de la misma manera que se describió en los ensayos anteriores y se realizaron las mediciones utilizando un detector *Helix*, marca *Thermo Fisher Scientific*, a 5 kV. Como la superficie de las membranas no son conductoras de la electricidad, éstas fueron bañadas con una fina capa de oro para la realización de este ensayo.

Espectroscopía de rayos X

Se realizó un estudio de EDX para determinar los compuestos que conforman a las membranas. Se prepararon muestras de la misma manera que para las pruebas anteriores y se utilizó el equipo FEI Quante 250, marca *Thermo Fisher Scientific*.

Difracción de rayos X

Para complementar el estudio de la información estructural de las membranas se realizó un ensayo de DRX. Al igual que en los otros ensayos, se preparó una muestra de 2x2 cm de cada

membrana y se almacenaron en placas de Petri, para luego realizar el ensayo utilizando un difractor marca *Bruker*, modelo **D8 Advance** con radiación CuK.

Software utilizado

Finalmente, se utilizó el software ORIGIN 8 para tratar y graficar los datos obtenidos a partir de las caracterizaciones tanto de nanopartículas como de las membranas.

3.5 Pruebas antibiofouling

3.5.1 Pruebas bactericidas

Para contrastar la capacidad de toxicidad de las membranas modificadas con nanopartículas de cobre con las membranas que no fueron modificadas se realizó un ensayo de *Colony Forming Unit* (CFU), utilizando *Escherichia coli* (*E. coli*) K-12 como bacteria formadora de *biofilm*. Se decidió utilizar *E. coli* K-12 debido a que es una bacteria cuya cepa es conocida por formar *biofilm* [69]. El método CFU permite cuantificar la cantidad de bacterias vivas que son capaces de formar colonias a partir del conteo de colonias visibles en una placa de Petri, desde el cual se desprende el número de células vivas [70], de manera que mientras menor sea el CFU, mayor será la capacidad bactericida de las membranas modificadas.

En primer lugar, se preparó una solución de medio de cultivo de caldo de lisogenia (medio LB) con una concentración de 15 g L⁻¹, luego se descongeló un pre-inóculo de *E. coli* a partir de un vial de bacterias, y se insertó en un tubo de ensayo con 5 mL de medio LB, después se llevó a un *shaker*, en donde se incubó con una agitación de 200 rpm a 30 °C por una noche. Se decidió usar medio LB como medio de cultivo debido a la facilidad del acceso al insumo y dado a que es un medio que se ha comprobado que asegura el crecimiento normal de la *E. coli* [71].

Una vez terminado el cultivo, se mide la densidad óptica a 600 nm en el espectrofotómetro *HACH* (DR 5000) para estimar la densidad de células [72], luego se calcula el volumen necesario para preparar un tubo de 10 mL de bacteria con una concentración de 1 x 10⁷ células por mL utilizando buffer de fosfato salino (PBS) para completar el volumen. Se debe preparar un tubo por cada tipo de membrana a evaluar en el experimento.

Por otro lado, las muestras de las membranas se obtuvieron cortando un trozo de 2 x 2 cm de cada tipo (sin modificar, 0,033% CuO NPs y 0,125% CuO NPs), las que posteriormente se dejan en luz ultravioleta por 30 minutos para dejarlas estériles.

Posteriormente, cada una de las muestras ya estériles se dejaron en matraces separados y se les vertió 10 mL de la solución con bacterias preparadas anteriormente a cada uno de los tubos, luego se dejan incubando en el *shaker* a 200 RPM y 30°C por cuatro horas.

Una vez pasado el tiempo de incubación, se toma 1 mL de solución de cada uno de los frascos y se utiliza PBS para realizar diluciones seriadas hasta llegar a una dilución de 10⁻⁵, después se toman 50 µl de la dilución más baja y se esparce sobre una placa de Petri con LB-Agar, distribuyendo la muestra sobre el agar utilizando un rastrillo de vidrio estéril. Las placas se realizan por triplicado y se dejan en la incubadora a 37 °C por 24 horas, luego de ese tiempo se cuentan las colonias presentes en cada placa, y se realiza una estimación de las células viables mediante la ecuación (1) [70]:

$$\text{Células vivas} \left[\frac{\text{CFU}}{\text{mL}} \right] = (\text{promedio número de colonias}) \cdot \frac{1}{\text{Dilución}} \cdot \frac{1}{\text{Inóculo}} \quad (1)$$

3.5.2 Pruebas anti-adhesión

Para evaluar la capacidad anti-adhesión se realiza un análisis de las bacterias vivas y muertas que estén presentes en la superficie de las membranas, para ello se toman los trozos de membrana que se dejaron incubando junto con la bacteria (y son enjuagadas con agua destilada

utilizando una piseta). Luego se utiliza el kit de viabilidad bacterial LIVE/DEAD marca *Invitrogen*, el cual tiñe de rojo a las bacterias cuya pared celular esté destruida (las cuales se consideran muertas) y tiñe de color verde aquellas que estén intactas (consideradas como vivas). Para utilizar el kit se deben agregar 1,5 μL de cada uno de los reactivos presentes en el kit LIVE/DEAD en 1 mL de solución salina ($\text{H}_2\text{O} + \text{NaCl}$) al 0,85% p/p. Luego se agregan 6 μL sobre la superficie de la membrana, y se lleva a un microscopio *Axiolab* modelo HBO 50 para realizar el conteo de células vivas y muertas.

3.6 Pruebas de desempeño de desalinización en planta

Para desarrollar los experimentos de resistencia mecánica, capacidad de permeado y desalinización en las membranas sintetizadas se utilizó la planta piloto de osmosis inversa a escala de laboratorio ubicada en el Laboratorio de Hidráulica del Departamento de Ingeniería Civil de la Universidad de Chile operando como banco de pruebas. El sistema posee una bomba de desplazamiento positivo marca *Wanner*, modelo **D-03**, adicionalmente posee un amortiguador marca *Blacoh* modelo **H1120V-5**, para suavizar el flujo generado por la bomba, evitando irregularidades.

En la planta, la membrana es ubicada en una celda marca *Sterlitech* modelo CF042D, la cual es capaz de resistir hasta 1.000 psi y posee un área efectiva de 33 cm^2 .

Para realizar las pruebas de resistencia mecánica y permeabilidad se utilizó agua desionizada y, para las pruebas de desalinización se utilizó una solución salina a 1.000 ppm, que se obtuvo mezclando agua destilada con costra salina que fue extraída de agua de mar y posteriormente lavada.

3.6.1 Efecto del poliéster

Para evaluar el impacto que tiene el agregar una capa de poliéster no tejido sobre las membranas sintetizadas se realizó una prueba operando la planta con la membrana sin la capa de refuerzo de poliéster a 300 psi durante al menos cuatro horas, tomando datos del volumen de permeado y tiempo periódicamente, y luego se operó la planta utilizando la misma membrana, pero adicionando la capa de refuerzo y tomando las mediciones de tiempo y volumen de permeado. Para obtener la capa de poliéster desde una membrana TFC comercial se utilizó una membrana *FILMTEC BW30-4040*, cuyas capas fueron separadas manualmente.

Para las pruebas de permeabilidad a distintas presiones se operó la planta con la membrana utilizando la capa de refuerzo, al inicio de la prueba, se utilizó una presión de 300 psi, luego de dos horas de operación se subió la presión a 550 psi y, una vez pasadas dos horas más se volvió a subir la presión de operación a 950 psi, con el fin de evaluar el comportamiento de las membranas sintetizadas ante los cambios en la presión.

3.6.2 Pruebas desalinización

Para medir la capacidad de desalinización de las membranas sintetizadas se operó la planta durante un tiempo de pre-compactación utilizando agua destilada durante los primeros 30 minutos de operación (que se comienzan a contar desde que se alcanza la presión de operación), para permitir que la membrana se humedezca y compacte, con el fin de evitar problemas asociados al fenómeno de la compactación de las membranas, el cual puede afectar a los flujos de permeado y/o el rechazo de sales [73]. Luego de los 30 minutos de pre-compactación, se inicia la prueba dando paso al agua salada. En paralelo, se realizaron mediciones de tiempo de operación, volumen y concentración de sales en el flujo de permeado periódicamente.

Para la toma de datos durante la prueba se utilizó un cronómetro para medir el tiempo, una probeta para medir el volumen del permeado, y un conductímetro *OAKTON* modelo CON 2700 para medir la conductividad del agua de permeado. Además, las pruebas de desalinización se realizaron entre 4 y 7 horas, utilizando como criterio de término la aparición de un efecto de

polarización de las membranas en el flujo de permeado, o cuando se cumplen 8 horas de operación.

El flux de permeado se calculó mediante la ecuación (2):

$$J = \frac{V}{A \cdot \Delta t} \quad (2)$$

En donde J ($L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$) corresponde al flux de permeado, V (L) es el volumen de agua permeada, A (m^2) es el área efectiva de la membrana en la celda (33 cm^2) y Δt es el tiempo transcurrido.

Por otro lado, el porcentaje de rechazo de sales se calculó utilizando la ecuación (3), en donde C_f y C_p son las concentraciones de alimentación y permeado, respectivamente.

$$rechazo (\%) = \frac{C_f - C_p}{C_f} \cdot 100 \quad (3)$$

3.6.3 Descripción del equipo de testeo de las membranas

A continuación, se presenta una breve descripción del montaje experimental utilizado, acompañado de un esquema e imágenes.

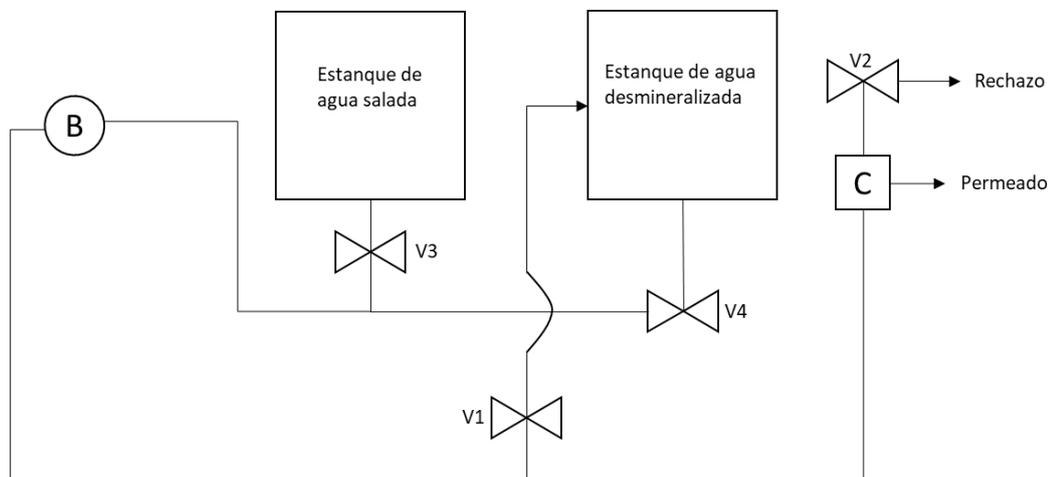


Figura 13: Esquema del montaje experimental. V1: Válvula reguladora de presión de operación. V2 Válvula reguladora de caudal de rechazo. V3: Válvula estanque agua salada. V4: Válvula estanque con agua desmineralizada. B: Bomba de desplazamiento positivo. C: Celda de prueba, lugar donde va ubicada la membrana.

En la Figura 13, se presenta un esquema de la planta en donde se llevaron a cabo los experimentos. La bomba impulsa el agua proveniente de los estanques en dirección a la celda en donde se encuentra la membrana. Para operar la planta utilizando agua desmineralizada se debe tener abierta la válvula 4 y cerrada la 3, por el contrario, si se desea utilizar agua salada se debe abrir la válvula 3 y cerrar la 4. La manguera de recirculación, que es regulada por la válvula 1, siempre debe encontrarse en el mismo estanque de agua que se está utilizando, de manera que, si se quiere pasar de usar agua desmineralizada a agua salada, se deben regular las válvulas y mover la manguera desde un estanque al otro.

Para regular la presión se utiliza la válvula 1, mientras más cerrada se encuentre esta válvula, mayor será la presión de operación. Cada vez que se comienza a operar la planta, la válvula 1 debe estar completamente abierta, y una vez que la bomba esté funcionando se debe regular la presión de operación.

En la Figura 14, se muestra una fotografía de la planta banco utilizada, y en la Figura 15 se muestra el detalle de las piezas que componen a la celda Sterlitech modelo CF042D.



Figura 14: Fotografía de la planta piloto utilizada para pruebas de osmosis reversa.

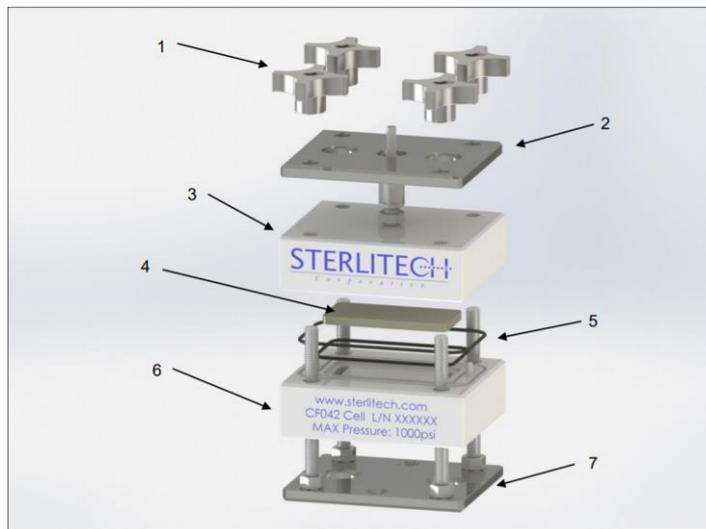


Figura 15: Esquema de la celda CF042D para sistemas de osmosis inversa. 1: Perillas de ajuste. 2: Plato superior. 3: Tapa superior de la celda. 4: Soporte metálico sinterizado (integrado en la tapa superior). 5: O-rings. 6: Parte inferior de la celda. 7: Plato inferior. Obtenido de [74].

4. Resultados y Discusiones

4.1 Caracterizaciones de nanopartículas

4.1.2 Espectrofotometría UV-Visible

A partir del resultado de la caracterización mediante espectroscopía por UV-Visible de las nanopartículas en suspensión (Figura 16) se observa que, para ambas muestras de nanopartículas en suspensión existe una banda de absorción cercano a los 350 nm, representado por un cambio en la tendencia de absorbancia, la cual disminuye en la medida que aumenta la longitud de onda. Existen reportes que indican que las nanopartículas de óxido de cobre poseen dos puntos de absorbancia, siendo éstos a los 220 y 350 nm [66], confirmando la presencia de nanopartículas de óxido de cobre en las muestras. Por otro lado, dado que las concentraciones de las nanopartículas sintetizadas son relativamente bajas es que la banda de absorción no resalta de manera prominente en el espectro.

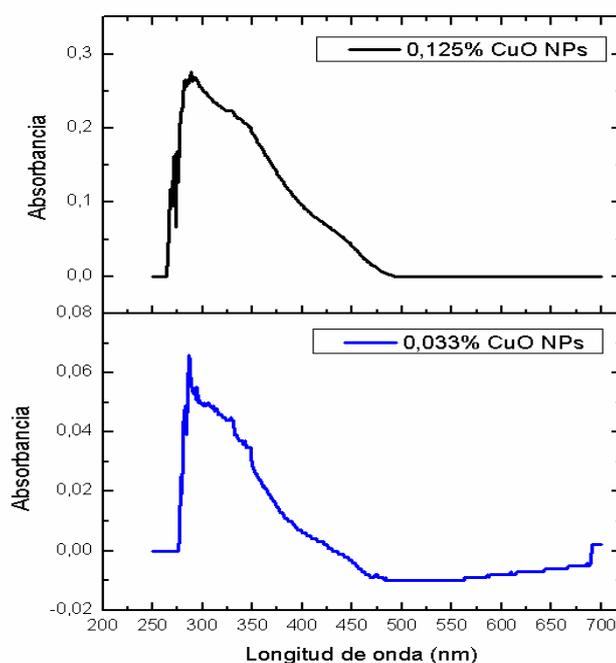


Figura 16: Espectrometría de UV-Visible de las nanopartículas en suspensión sintetizadas con concentración de 0,033% y 0,125% p/p

Al comparar las absorbancias de las 0,125%CuO NPs con las 0,033%CuO NPs se observa que el comportamiento general de la curva es similar, sin embargo, la escala a la que se encuentran los valores de la absorbancia es distinto, siendo un orden de magnitud mayor en el caso de las 0,125% CuO NPs. Es probable que esto se deba a que las concentraciones de los compuestos presentes en los coloides son distintos, siendo mayor en el caso de las 0,125% CuO NPs, provocando que exista un aumento en la absorbancia general.

4.1.2 Dispersión dinámica de luz y potencial Zeta

Los valores obtenidos a partir del análisis de dispersión dinámica de luz (DLS), polidispersidad (IPD) y potencial Zeta de las nanopartículas de óxido de cobre sintetizadas se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Diámetro hidrodinámico, índice de polidispersión y potencial zeta de las nanopartículas sintetizadas en distintas concentraciones

	0,033% CuO NPs	0,125% CuO NPs
Diámetro hidrodinámico (nm)	34,94 ± 9,57	66,07 ± 20,54
IPD	0,198	0,189
Potencial Z (mV)	54,64	112,1

A partir del análisis DLS se puede evidenciar que ambos coloides presentan nanopartículas con un tamaño inferior a 100 nanómetros, comprobando que las partículas de óxido de cobre sintetizadas efectivamente se encuentran en el rango de tamaño que corresponde a las nanopartículas [16]. Por otro lado, se evidencia que el tamaño de las 0,125% CuO NPs es de 66,07 nm, siendo este superior al tamaño de las 0,033% CuO NPs, que poseen un valor de 34,94. Los tamaños distintos observados por en el DLS se pueden deber a que el CTAB genera micelas de mayor radio dentro del coloide debido a que se encuentra en una mayor concentración, pues en la síntesis de 0,033% CuO NPs se utilizó CTAB con una concentración de 16 mM y en la síntesis de 0,125% CuO NPs la concentración utilizada fue de 68 mM. Es por esto que se debe tener en cuenta que los diámetros hidrodinámicos observados podrían no estar reflejando el tamaño de las nanopartículas mismas, sino que de las micelas presentes en el coloide. De esta manera, se recomendaría realizar una medición con un microscopio electrónico de transmisión (TEM) para corroborar los resultados obtenidos del tamaño de las nanopartículas sintetizadas.

El análisis de polidispersión muestra la distribución de los tamaños de nanopartículas, por lo que la diferencia obtenida de 4,5% en el análisis indica que ambas nanopartículas poseen una distribución similar de tamaños. Este resultado indica que el método utilizado en la síntesis de las nanopartículas de óxido de cobre es capaz de generar resultados similares en términos de la distribución de tamaños para las dos concentraciones de nanopartículas sintetizadas.

El potencial zeta de las 0,125% CuO NPs es cerca del doble de grande que el potencial de las 0,033% CuO NPs. Existen reportes que indican que el valor del potencial zeta en nanopartículas de óxido de cobre depende de la concentración de CTAB utilizado en la síntesis [65], lo cual se confirma con los resultados obtenidos. Por otro lado, si el potencial zeta de las nanopartículas presenta un valor superior a los 30 mV se considera que son estables en la solución [75], cuyo caso se presenta en ambas nanopartículas sintetizadas en este trabajo.

4.1.3 Difracción de rayos X

Con el propósito de comparar la composición de las nanopartículas en suspensión sintetizadas se utilizó un análisis DRX, además, los resultados obtenidos se contrastan con mediciones de CTAB sin nanopartículas, las cuales fueron proveídas por el AMTC. Los resultados se muestran en la Figura 17.

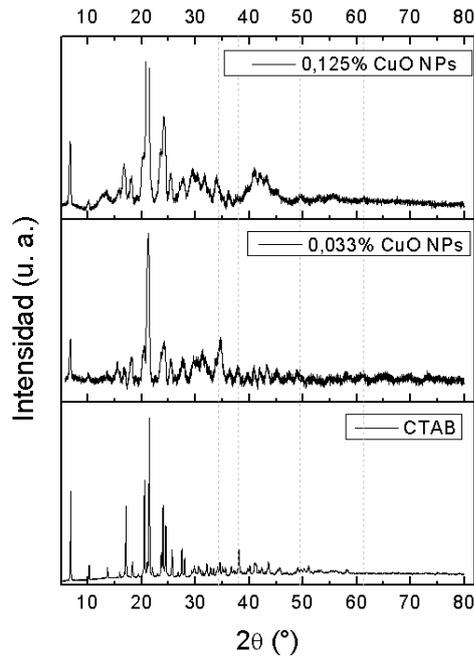


Figura 17: Patrones de difracción de rayos X de 0,033%CuO NPs, 0,125%CuO NPs y CTAB.

En la Figura 17 se observa que los *peaks* cercanos a los 21° corresponden a la presencia de CTAB, los cuales se aprecian tanto en las mediciones de los coloides sintetizados como en la muestra que contiene sólo CTAB. Por otro lado, cerca de los 35° , 38° , 49° y 61° (señalados en la Figura 17), se observan *peaks* en las mediciones de las 0,033% CuO NPs y 0,125% CuO NPs, los cuales corresponde a patrones de difracción del CuO [65, 76], además, éstos *peaks* no se observan en el DRX del CTAB, lo que confirma la presencia de nanopartículas de óxido de cobre en los coloides sintetizados. Por otro lado, ambos coloides presentan patrones similares entre sí, pues se utilizaron los mismos compuestos durante la síntesis, solamente cambiando su concentración, sin embargo, es posible observar el efecto de la concentración del CTAB al comparar las 0,033% CuO NPs con las 0,125%CuO NPs, pues en estas últimas los *peaks* que corresponden al CTAB resaltan más que en el coloide con menor concentración de cobre.

Para corroborar la información observada en este ensayo, se puede realizar un análisis de *selected area electron diffraction* (SAED) realizado por un microscopio electrónico de transmisión (*transmission electron microscopy* o TEM), pues este ensayo permite conocer, entre otras cosas, la composición de las nanopartículas, incluso si se encuentran en una baja concentración mediante un análisis de sus patrones de difracción [77].

4.2 Análisis de las superficies y morfologías de las membranas sintetizadas

4.2.1 Microscopía

Las imágenes obtenidas por SEM de la superficie de las membranas sintetizadas se muestran en la Figura 18.

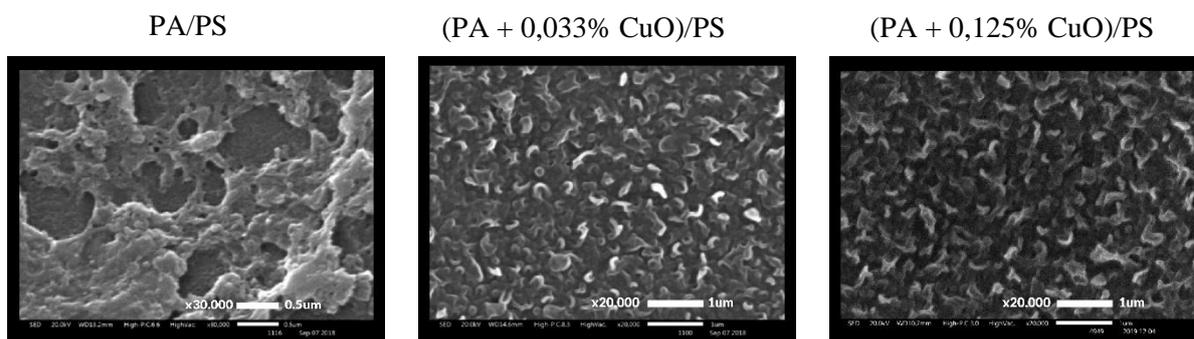


Figura 18: Imágenes obtenidas por Scanning Electron Microscopy (SEM) de la superficie de una membrana blanco (Izquierda), membrana modificada con 0,033% CuO NPs (Centro) y membrana modificada con 0,125% CuO NPs (Derecha).

En las imágenes obtenidas por SEM de los tres tipos de membrana se observan protuberancias definidas, las cuales son formadas por las hebras de polímeros que conforman la superficie de la membrana. Estas protuberancias siguen una estructura de crestas y valles, la cual es consistente con las características de membranas de poliamida sintetizadas por polimerización interfacial [78, 79].

Las imágenes de la superficie de las membranas (PA + 0,033% CuO NPs)/PS y (PA + 0,033% CuO NPs)/PS no muestran diferencias muy relevantes en su estructura. Se esperaría que la diferencia en los tamaños y concentración de los coloides utilizados para la modificación de las membranas mostrara una diferencia en cómo se ve el entrecruzamiento de las hebras de la superficie, sin embargo, no se evidencia un impacto significativo en ello a pesar de que utilizaron concentraciones distintas de nanopartículas en la síntesis. En cambio, sí es posible apreciar esta diferencia al comparar las membranas modificadas con respecto al blanco, lo que se corrobora con los resultados de rugosidad.

Dado que se utilizaron concentraciones distintas de nanopartículas durante la síntesis de las membranas modificadas, y con distinto tamaño según lo observado por el DLS, se esperaba encontrar alguna diferencia en la capa superficial de poliamida, sin embargo, este no fue el caso. Es posible que esto se deba al tamaño de las nanopartículas utilizadas en la síntesis, pues al ser más grandes en el caso de las 0,125% CuO NPs, se podría estar dificultando su agregado en la capa de poliamida de la membrana. Por otro lado, también es posible que exista algún efecto de saturación de nanopartículas en la capa de poliamida cuando se realiza la síntesis, pues como se verá en los resultados de composición, las cantidades de nanopartículas presentes en las membranas son similares e incluso ligeramente mayores para las membranas (PA + 0,033% CuO NPs)/PS.

4.2.2 Rugosidad

Para comparar la morfología superficial de las membranas sintetizadas, se realizó una espectrometría de fuerza atómica (AFM), cuyos resultados se presentan en la Figura 19, Figura 20, Figura 21 y Tabla 2.

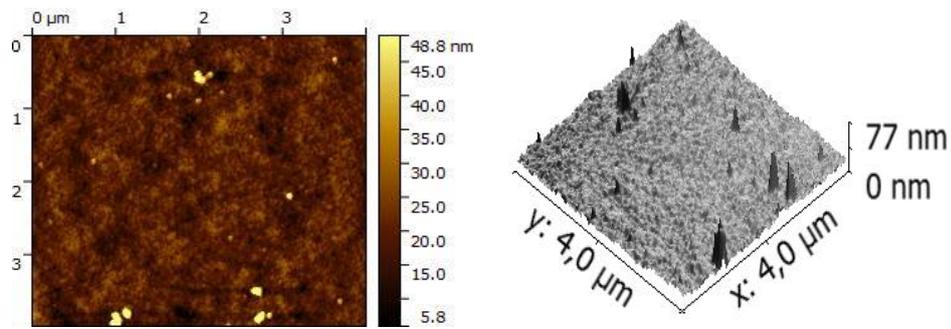


Figura 19: Imágenes obtenidas del análisis AFM de la membrana PA/PS.

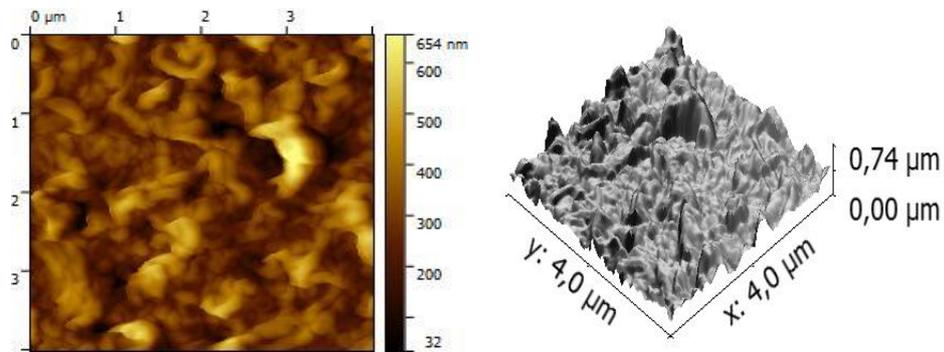


Figura 20: Imágenes obtenidas del análisis AFM de la membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS.

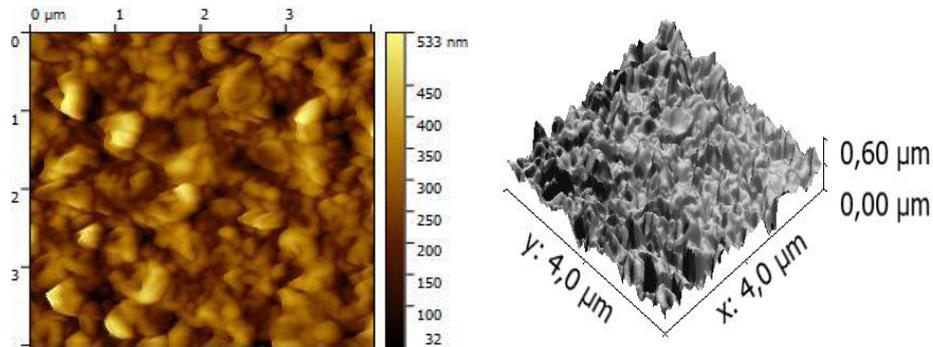


Figura 21: Imágenes obtenidas del análisis AFM de la membrana (PA + 0,125% CuO NPs)/PS.

A partir de las imágenes mostradas en la Figura 19, Figura 20 y Figura 21, se puede apreciar que las características de la superficie de las membranas sintetizadas se muestran consistentes con membranas de poliamida sintetizadas por polimerización interfacial, las cuales consisten en picos y valles [78, 79].

En la Tabla 2, se muestran las rugosidades promedio de las membranas:

Tabla 2: Rugosidades promedio obtenidas del análisis AFM de las membranas sintetizadas.

Membrana	Rugosidad /nm
PA/PS	$4,57 \pm 0,29$
(PA + 0,033% CuO NPs)/PS	$94,40 \pm 1,27$
(PA + 0,125% CuO NPs)/PS	$79,70 \pm 1,27$

Las rugosidades obtenidas indican que las membranas modificadas con nanopartículas de cobre poseen una rugosidad mucho mayor que la membrana blanco, siendo de hasta 20 veces superior en el caso de la membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS y de 17 veces mayor en las (PA + 0,125% CuO NPs)/PS. Como se mencionó en el capítulo 2, esta característica puede favorecer la formación de incrustaciones en la membrana, pues los agentes incrustantes se pueden alojar en las irregularidades presentes en la superficie de la membrana, las cuales son más prominentes cuando la rugosidad es mayor. El efecto del incremento en la rugosidad de las

membranas modificadas es atribuido a la presencia de nanopartículas en la superficie durante el proceso de polimerización, ya que al incluir las NPs, éstas alteran la distancia entre los picos y valles de la capa de poliamida, por lo que se esperaba un aumento en la rugosidad de las membranas modificadas.

Por otro lado, la rugosidad de la membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS es un 16% mayor que la de la membrana (PA + 0,125% CuO NPs)/PS, además, en la imagen de la membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS es posible notar un efecto de aglomeración de nanopartículas en ciertos sectores, lo que podría afectar al cálculo del promedio de la rugosidad, siendo éste el causante de que ésta membrana posea una rugosidad mayor. Es posible que las 0,033% CuO NPs sean más propensas a aglomerarse durante la síntesis de la membrana debido a que presentan un menor tamaño, pues como se verá en la sección de composición de las membranas modificadas, éstas poseen cantidades similares de cobre.

4.2.3 Ángulo de contacto

En la Tabla 3, se presentan los resultados obtenidos de la medición de ángulo de contacto de las membranas sintetizadas.

Tabla 3: Ángulos de contacto de las distintas membranas sintetizadas

Membrana	Ángulo de contacto
PA/PS	71,38 ± 7,66
(PA + 0,033% CuO) /PS	58,37 ± 4,87
(PA + 0,125% CuO) /PS	37,95 ± 8,44

Todas las membranas sintetizadas poseen un ángulo de contacto menor a 90°, además, se evidencia una disminución en el ángulo de contacto en las membranas modificadas con nanopartículas de cobre, llegando a un 18% menos en (PA + 0,033% CuO)/PS y un 46% de disminución en (PA + 0,125% CuO)/PS con respecto a la membrana sin modificación. Esta disminución en el ángulo de contacto se debe a que las nanopartículas de óxido de cobre son hidrofílicas [55], por lo que la presencia de éstas en las membranas les pudo haber otorgado una mayor hidrofiliidad, reforzando la presencia de nanopartículas de óxido de cobre en la membrana.

Por otro lado, el ángulo de contacto de la membrana modificada con 0,125% CuO NPs es un 34% menor comparado con la membrana modificada con 0,033% CuO NPs. Esto se puede deber a que, al ser de mayor tamaño las 0,125% CuO NPs, éstas le confieren una mayor hidrofiliidad a la membrana, pues como se verá en los análisis de composición, éstas poseen cantidades similares de cobre.

4.2.4 Difracción de rayos X

El patrón del análisis DRX realizado a las membranas PA/PS, (PA + 0,033% CuO NPs)/PS y (PA + 0,125% CuO NPs)/PS sintetizadas se muestra en la Figura 22. Los patrones de las dos membranas modificadas se muestran muy similares entre sí, no mostrando ningún cambio significativo, además, al compararlas con la membrana PA/PS se observa que los patrones poseen el mismo comportamiento, con dos picos prominentes ubicados entre los 10° y los 30°, lo cual es una característica típica de la estructura amorfa de la membrana [52], comprobando que la capa de poliamida se sintetizó de manera correcta en las membranas.

Por otro lado, la baja diferenciación entre las distintas membranas se puede deber a que la concentración existente de nanopartículas en la capa de poliamida es baja, dificultando que se pueda comprobar la existencia de nanopartículas de óxido de cobre en las membranas mediante este análisis.

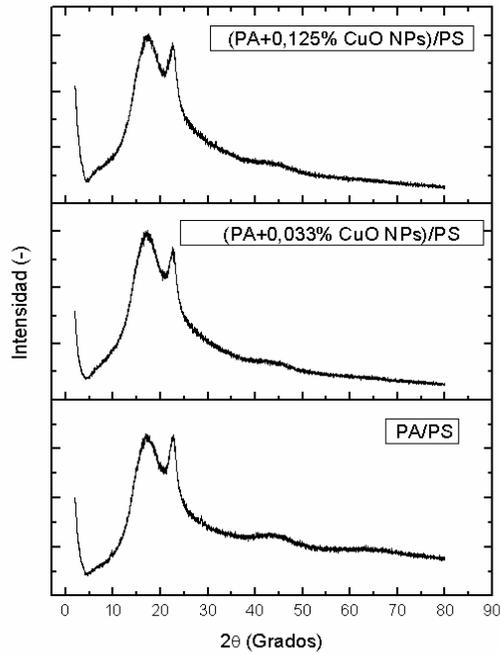


Figura 22: Patrones DRX comparativos de las membranas sintetizadas con distintas concentraciones de nanopartículas de óxido de cobre y membrana blanco.

4.2.5 Espectroscopía de rayos X

Se presentan los resultados del análisis composicional semicuantitativo mediante EDX de la membranas (PA + 0,033% CuO NPs)/PS y (PA + 0,125% CuO NPs)/PS en la Figura 23 y la Figura 24, respectivamente. En estos gráficos, el eje de las ordenadas indica la cantidad de veces que se contó un elemento y el eje de las abscisas indica el nivel de energía de ionización, el cual indica al elemento. En la Tabla 4 y la Tabla 5 se muestran las composiciones de la superficie de las membranas expresadas en porcentajes máxicos de cada elemento.

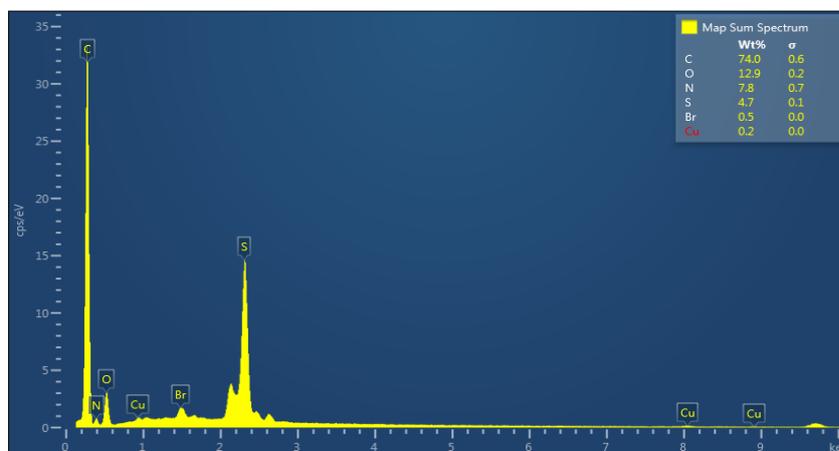


Figura 23: Análisis EDX de la membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS

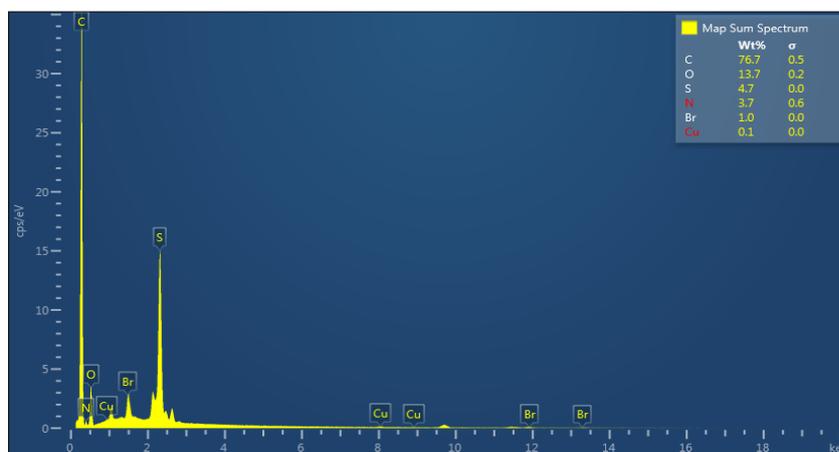


Figura 24: Análisis EDX de la membrana (PA + 0,125% CuO NPs)/PS

Tabla 4: Composición elemental de membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS obtenido por EDX.

Elemento	Porcentaje másico	Desviación porcentaje másico
C	73,96	0,58
N	7,77	0,68
O	12,87	0,23
S	4,71	0,05
Cu	0,19	0,03
Br	0,50	0,02
Total:	100,00	

Tabla 5: Composición elemental de membrana (PA + 0,125% CuO NPs)/PS obtenido por EDX.

Elemento	Porcentaje másico	Desviación porcentaje másico
C	76,71	0,50
N	3,74	0,58
O	13,72	0,20
S	4,70	0,04
Cu	0,12	0,02
Br	1,00	0,03
Total:	100,00	

A partir de los resultados del análisis por EDX, se observa que los elementos que componen principalmente a las membranas son C, O, S, N, Br y Cu, confirmando así la presencia de las nanopartículas de cobre en la capa de poliamida de la membrana. Por otro lado, todos los compuestos que componen a la capa superficial de la membrana provienen de los reactivos utilizados en la síntesis [51].

El porcentaje másico de cobre en la membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS es de 0,19% y en la membrana (PA + 0,125% CuO NPs)/PS es de 0,12%. Este resultado destaca debido a que se esperaba que la membrana modificada con una mayor concentración de nanopartículas de óxido de cobre poseyera una mayor cantidad relativa de cobre en la capa activa de poliamida, sin embargo, el resultado obtenido muestra que las membranas modificadas poseen niveles similares de nanopartículas de cobre, pues una diferencia de 0,07% de la masa total no es significativa para el método semicuantitativo utilizado. La existencia de niveles similares de cobre indica que no se están agregando todas las nanopartículas de óxido de cobre presente en el coloide sobre la superficie de la membrana durante la síntesis de ésta, por lo que podría existir una saturación de la concentración de cobre (o en este caso, de nanopartículas de cobre) que se le agrega a la membrana con el método utilizado.

Finalmente, en la Figura 25 se muestra la distribución de cobre en la superficie de las membranas sintetizadas con nanopartículas de cobre. A partir de estas imágenes se puede observar la presencia del cobre, confirmando nuevamente la existencia de nanopartículas en la superficie de la membrana. Por otro lado, al comparar ambas imágenes no se puede apreciar una diferencia significativa ni en la cantidad de cobre ni en su distribución sobre la superficie, reafirmando la posibilidad de que exista un efecto de saturación de NPs en la membrana.

La similitud en las cantidades de cobre entre ambas membranas se puede atribuir al método de síntesis de la capa activa de poliamida modificada con nanopartículas de óxido de cobre, pues se desconoce la efectividad que posee el método en asegurar que se agreguen una mayor cantidad de nanopartículas en la capa de poliamida cuando se utiliza un coloide con una mayor concentración de CuO NPs. Por otro lado, es posible que las nanopartículas, al tener distinto tamaño según lo mostrado por el análisis de DLS, se agreguen de diferente manera a la superficie de la membrana, pues si las 0,125% CuO NPs son de un tamaño mayor a las 0,033% CuO NPs, podrían generar un mayor efecto de saturación en la capa de poliamida mientras se realiza la síntesis, dando explicación a la cantidad relativa ligeramente menor de cobre observada en la membrana (PA + 0,125% CuO NPs)/PS.

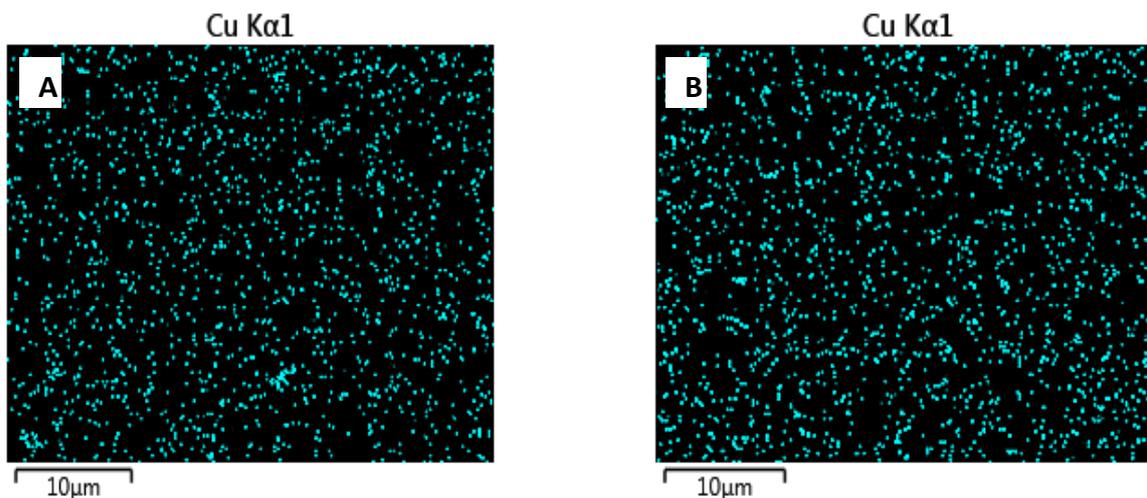


Figura 25: Imágenes obtenidas por EDX del cobre distribuido en la superficie de las membranas (PA + 0,033% CuO NPs)/PS (A) y (PA + 0,125% CuO NPs)/PS (B).

4.3 Pruebas biocidas y antibiofouling

Para medir la cantidad de *E. coli* viva presente en el medio de cultivo después de estar en contacto con las membranas modificadas con las dos concentraciones de nanopartículas de óxido de cobre, y con la membrana blanco, se utilizó el método de unidades formadoras de colonia (CFU), el cual se realizó en duplicado, y cuyos resultados se presentan en la Figura 26.

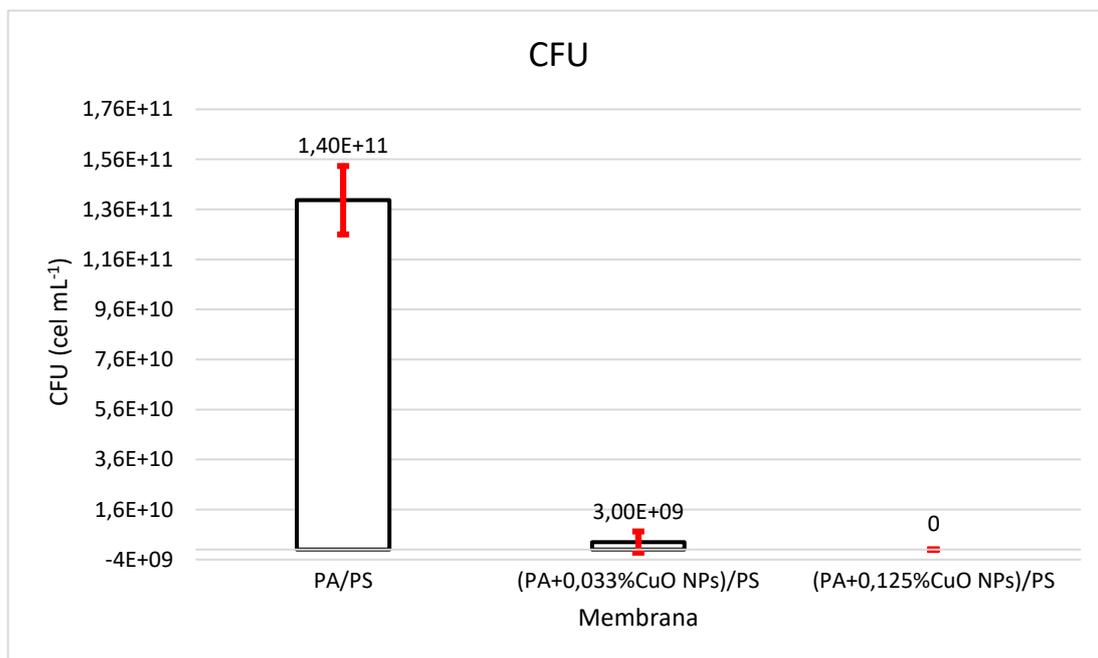


Figura 26: Conteo de unidades formadoras de colonias de *E. coli* después de estar en contacto con las membranas: PA/PS, (PA + 0,033%CuO NPs)/PS y (PA + 0,125%CuO NPs)/PS.

Al comparar los resultados de CFU entre las membranas PA/PS y las modificadas con nanopartículas de óxido de cobre, se observa que estas últimas presentan una fuerte capacidad biocida, disminuyendo drásticamente los valores del CFU. Esto se le atribuye a que las nanopartículas presentes en las membranas son capaces de matar a las bacterias dada a su alta capacidad biocida [21], demostrando que ambas concentraciones de nanopartículas utilizadas en las membranas modificadas es suficiente para matar a las bacterias presentes en el medio utilizado para el ensayo.

Al comparar la capacidad biocida de las membranas modificadas, se aprecia una leve diferencia, en donde la membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS provocó un 98% de disminución del CFU, y la membrana (PA + 0,125% CuO NPs)/PS lo redujo en su totalidad. Esta diferencia se le atribuye al error asociado al método de medición utilizado, pues los resultados de los análisis de composición arrojaron que las membranas tenían cantidades similares de cobre en la capa de poliamida, por lo que su capacidad biocida debiese ser parecida, lo cual se ve reflejado en el análisis de CFU.

Para visualizar la capacidad anti-incrustación de las membranas modificadas, se tomaron imágenes de la superficie de las membranas con un microscopio de fluorescencia, con las bacterias teñidas por un kit de viabilidad bacterial. Las bacterias vivas brillan bajo la luz verde y las muertas con la luz roja. Algunas de las imágenes obtenidas se muestran en la Figura 27, Figura 28 y Figura 29. Además, en la Tabla 6, se resume el conteo de las bacterias vivas y muertas. La tabla con el detalle del conteo celular se encuentra en el Anexo C.

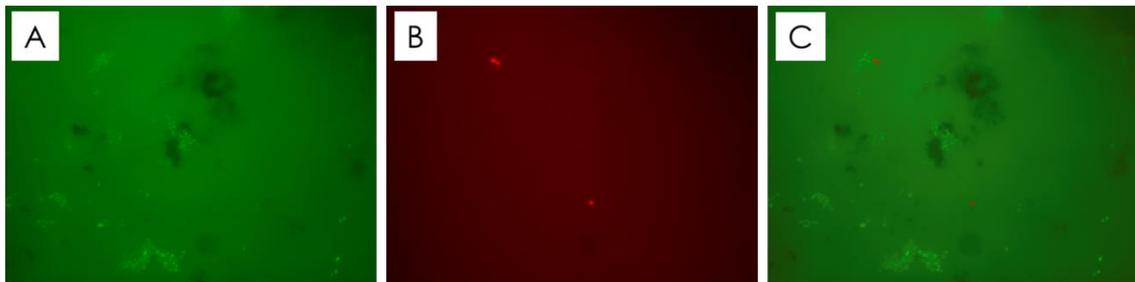


Figura 27: Imágenes obtenidas por microscopía de fluorescencia de la distribución de *E. coli* en la membrana PA/PS. A) Bacterias vivas (verdes), B) Bacterias muertas (rojo), C) Superposición de las imágenes A y B.

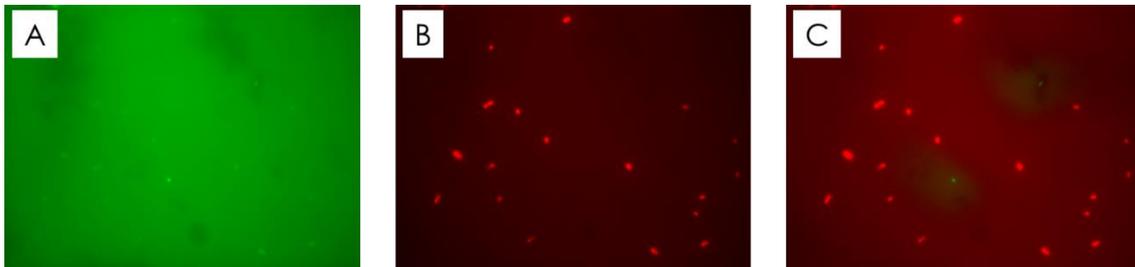


Figura 28: Imágenes obtenidas por microscopía de fluorescencia de la distribución de *E. coli* en la membrana (PA+0,033% CuO NPs)/PS. A) Bacterias vivas (verde), B) Bacterias muertas (rojo) C) Superposición de las imágenes A y B.

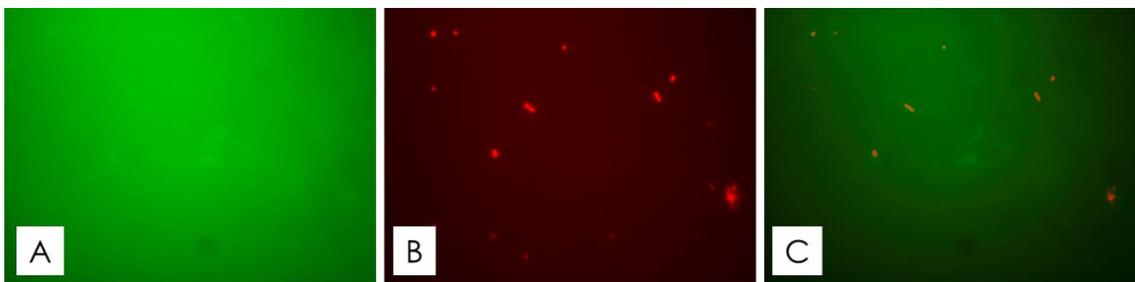


Figura 29: Imágenes obtenidas por microscopía de fluorescencia de la distribución de *E. coli* en la membrana (PA+0,125% CuO NPs)/PS. A) Bacterias vivas (verde), B) Bacterias muertas (rojo), C) Superposición de las imágenes A y B.

Tabla 6: Cuento de las bacterias vivas y muertas presentes en las imágenes de la superficie de las distintas membranas mediante microscopía de fluorescencia.

Membrana	Vivas / %	Muertas / %	Antiadhesión / %
PA/PS	93 ± 4,24	7 ± 4,24	-
(PA + 0,033% CuO NPs)/PS	13 ± 3,54	87 ± 3,54	76 ± 11
(PA + 0,125% CuO NPs)/PS	0 ± 0	100 ± 0	86 ± 5

A partir de los resultados obtenidos de la prueba antiadhesión, los cuales se resumen en la Tabla 6, se observa que las membranas modificadas poseen una menor cantidad de bacterias adheridas con respecto a la membrana blanco y, además, el mayor porcentaje de esas bacterias adheridas están muertas. Esto es una consecuencia de la capacidad biocida de las nanopartículas presentes en las membranas modificadas, lo cual se refuerza con los resultados obtenidos en las pruebas de CFU.

Por otro lado, se evidenció una diferencia en la capacidad de antiadhesión entre las membranas (PA + 0,033% CuO NPs)/PS y (PA + 0,125% CuO NPs)/PS, con un 76% y 86%, respectivamente. Es posible que esta diferencia se deba a que la rugosidad de la membrana (PA

+ 0,033% CuO NPs)/PS es mayor, pues, como se comentó anteriormente, una rugosidad más alta puede favorecer la formación de incrustaciones en la membrana.

Con respecto a la capacidad biocida de las membranas, se observa que la membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS posee un 87% de bacterias muertas, en contraste con un 100% de muerte en la (PA + 0,125% CuO NPs)/PS. Esto podría ser una consecuencia de la diferencia del tamaño de las nanopartículas utilizadas en la síntesis de las membranas, en donde las nanopartículas más grandes pueden estar causando un mayor efecto biocida sobre los microorganismos utilizados en el ensayo.

Finalmente, tanto las pruebas de CFU como las de antiadhesión mostraron que las (PA + 0,125% CuO NPs)/PS poseen una capacidad biocida levemente superior que las (PA + 0,033% CuO NPs)/PS, en donde las diferencias no son significativas al contrastarlo con la membrana blanco, lo que se refuerza con lo mostrado en las caracterizaciones de las membranas, en donde los dos tipos de membranas modificadas poseen cantidades similares de nanopartículas, pues de éstas depende la capacidad biocida de las membranas modificadas.

4.4 Pruebas en planta

4.4.1 Pruebas de desalinización

Los resultados de las pruebas de desalinización en planta se resumen en la Tabla 7, en donde se muestran los flux y rechazos de sales promedios de las pruebas realizadas. El detalle de las mediciones realizadas durante las pruebas se encuentra en el Anexo D.

Tabla 7: Flux y rechazo de sales obtenidos en prueba de desalinización utilizando agua con costra salina a una concentración de 1.000 ppm y a 300 psi. Utilizando las membranas PA/PS y (PA + 0,125% CuO NPs)/PS sin la adición de la capa de poliéster.

Membrana	Flux / $L h^{-1} m^{-2}$	Rechazo de sal (%)
PA/PS	$12,7 \pm 0,2$	$98 \pm 1,0$
(PA + 0,033% CuO NPs)/PS	$5,8 \pm 0,4$	$91 \pm 3,6$
(PA + 0,125% CuO NPs)/PS	-	-

A partir de los resultados de la Tabla 7, se observa una disminución del 54% del flux de permeado para la membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS comparado con la membrana sin modificación. Es posible que el aumento de la rugosidad asociado a la adición de nanopartículas a las membranas modificadas tenga un efecto de “taponamiento” sobre éstas, obstruyendo el paso de agua por los microporos de la membrana y así disminuya su flujo, pues como se vio anteriormente en este capítulo, las pruebas de hidrofiliidad de las membranas demostraron que las membranas modificadas con nanopartículas de óxido de cobre son más hidrófilas que su contraparte sin modificación.

Tanto la membrana PA/PS como la membrana (PA+ 0,033% CuO NPs)/PS se encuentran dentro del rango de desalinización, con un 98% y 91% de rechazo de sales, respectivamente. La diferencia en los niveles de desalinización se le atribuye a un error en la medición y no a la presencia de nanopartículas, pues como se observa en las pruebas de rendimiento con la adición de la capa de refuerzo, el nivel de rechazo de sales obtenido con las mismas membranas puede variar levemente entre las pruebas.

No se pudieron realizar las pruebas con la membrana (PA + 0,125% CuO NPs)/PS en el plazo establecido para este trabajo debido a que la bomba utilizada en la planta banco se descompuso. A pesar de esto, se esperaba que las membranas (PA + 0,125% CuO NPs)/PS posean un comportamiento similar al visto en las membranas (PA + 0,033% CuO NPs)/PS debido a que el efecto de “tapón” que ejercen las nanopartículas sobre los poros de la membrana debería ocurrir en las otras membranas modificadas. Por otro lado, como en la sección de caracterizaciones se

observó que la membrana (PA + 0,125%CuO NPs)/PS posee una rugosidad menor, se esperaba que los resultados de flujo de permeado fueran ligeramente superiores que los vistos en la membrana (PA + 0,033%CuO NPs)/PS.

4.4.2 Impacto del rendimiento con adición de la capa de refuerzo

En la Tabla 8 se muestran los flujos de permeado y rendimiento de desalinización de las membranas con y sin la capa de refuerzo de poliéster. A partir de estos resultados se puede observar que el poliéster tiene un efecto negativo en el flujo de permeado de las membranas, con una disminución del 13% para la membrana blanco y de 44% en la membrana (PA + 0,033%CuO NPs)/PS. Sin embargo, la disminución del flujo es poco relevante en comparación con la característica obtenida, pues las membranas lograron soportar presiones de operación de hasta 950 psi sin presentar daños de ningún tipo.

La capa de refuerzo presenta una resistencia adicional para el paso del agua a través de la membrana, por lo que se esperaba que existiera una disminución en el flujo de permeado al agregar esta capa. Por otro lado, se observa que los flujos disminuyen en distinta proporción al comparar las dos membranas utilizadas. Es posible que el impacto de la capa de refuerzo sea mayor cuando se suma al efecto de “taponamiento” de las membranas modificadas, pues la adición de la capa de refuerzo podría estar acentuando el efecto de ese fenómeno sobre el flujo de permeado. Sin embargo, se debe tener en cuenta que esta disminución en el flux puede provenir de un comportamiento no previsto en la membrana (PA + 0,033%CuO NPs)/PS, la cual presentó un cambio significativo en su nivel de flujo rechazo que no se vio reflejado en la membrana blanco.

Respecto al impacto de la adición de la capa de refuerzo en la capacidad desaladora de las membranas, no se evidencia una relación entre el rechazo de sales y la presencia de la capa de poliéster, pues en todas las pruebas las membranas mantienen un rendimiento similar en esta área. Esto se debe a que la separación de los iones del agua ocurre principalmente en la capa activa, por lo que la capa de refuerzo no afecta en este aspecto a las membranas.

Tabla 8: Comparación del flux y rechazo de sales frente a la presencia de la capa de refuerzo de poliéster en las membranas blanco y (PA + 0,033% CuO NPs)/PS

Membrana	Flux promedio / $L\ h^{-1}m^{-2}$	Rechazo de sal (%)
(PA+0,033%CuO)/PS Sin poliéster	$5,79 \pm 0,41$	$91 \pm 3,6$
(PA+0,033%CuO)/PS Con poliéster	$3,22 \pm 0,07$	94 ± 3
PA/PS Sin poliéster	$12,7 \pm 0,2$	98 ± 1
PA/PS Con poliéster	$11,07 \pm 0,74$	$93 \pm 0,6$

4.4.3 Prueba de permeabilidad

Para medir el comportamiento de las membranas sintetizadas frente a distintas presiones de operación se realizaron pruebas de permeabilidad con agua desionizada. Además, esta prueba se logró completar gracias a que la adición de la capa de refuerzo a las membranas permitió que éstas soportasen presiones de hasta 950 psi sin romperse, presión que corresponde a la máxima

en la que se puede operar la planta banco. Los resultados de las pruebas de permeabilidad se presentan en la Tabla 9, y el detalle de las mediciones se encuentra en el Anexo E.

Tabla 9: Flux promedio obtenido de las pruebas de permeabilidad de las membranas sintetizadas operando con agua destilada a distintas presiones.

	PA/PS	(PA + 0,033% CuO NPs)/PS	(PA + 0,125% CuO NPs)/PS
Presión / psi	Flux / $L h^{-1}m^{-2}$	Flux / $L h^{-1}m^{-2}$	Flux / $L h^{-1}m^{-2}$
300	10,73 ± 1,27	3,02 ± 0,2	3,79 ± 0
550	36,83 ± 6,32	4,56 ± 0,32	10,18 ± 3,4
950	63,46 ± 8,5	12,63 ± 3,57	21,91 ± 2,3

Nuevamente se observa que hay mayor flux de permeado en la membrana blanco con respecto a las modificadas con nanopartículas, por lo que se cree que esto es por el efecto del “taponamiento” de las nanopartículas en las membranas. Por otro lado, se observa que la membrana (PA + 0,125% CuO NPs)/PS posee un mayor flujo de permeado que las (PA + 0,033% CuO NPs)/PS. Esta diferencia coincide con lo mostrado en las caracterizaciones, pues la membrana 0,125% mostró poseer una rugosidad más baja y ser más hidrofílica, lo que se traduce como un flux más alto en las pruebas realizadas en planta.

Tanto la membrana PA/PS como la membrana (PA + 0,125% CuO NPs)/PS presentaron un comportamiento lineal en el aumento del flux con respecto al aumento en la presión de operación, corroborando que poseen una cualidad importante de las membranas de osmosis inversa, pues existen modelos que indican que el comportamiento del flujo de permeado depende linealmente de la presión de operación [80–83]. En el caso de la membrana (PA + 0,033% CuO NPs)/PS no se evidenció este comportamiento, pero es probable que este resultado sea parte del problema ocurrido durante la operación, pues durante esta prueba se descompuso la bomba de la planta.

5. Conclusiones

La inclusión de nanopartículas de óxido de cobre II durante la etapa de polimerización interfacial en la síntesis de membranas modificadas permitió añadir las nanopartículas a la capa activa de poliamida durante la etapa de polimerización interfacial. Por otro lado, las membranas (PA + 0,033% CuO NPs)/PS y (PA + 0,125% CuO NPs)/PS presentaron características similares, tanto en morfología superficial como en su composición, debido a una posible saturación de la cantidad de nanopartículas que se le agrega a la membrana con el método de síntesis utilizado. Por lo que se concluye que las membranas modificadas fabricadas son muy similares entre sí, independiente de la concentración de nanopartículas en suspensión que se utilizó para su síntesis.

Al modificar las membranas con nanopartículas, su rugosidad aumentó, sin embargo, a pesar de que este efecto puede aumentar la susceptibilidad de que se adhirieran bacterias a las membranas, se obtuvo que la adherencia de bacterias en las membranas modificadas era menor debido a las propiedades biocidas de las nanopartículas que se agregaron a las membranas. Además, las membranas modificadas fueron capaces de matar a las bacterias que se encontraban en un medio en contacto con ellas. A partir de lo anterior, se concluye que las membranas modificadas con nanopartículas de óxido de cobre poseen capacidades biocidas que pueden disminuir la formación de incrustaciones biológicas.

Las membranas modificadas sintetizadas poseen un rechazo de sales similares a las membranas sin modificación, sin embargo, el flux de permeado en las membranas modificadas es significativamente menor, decayendo cerca del 70% en comparación con las membranas sin nanopartículas. Por lo que se concluye que la modificación con nanopartículas de óxido de cobre no afecta al rechazo de sales que posee la membrana, pero si posee un efecto negativo sobre el rendimiento del flujo de permeado.

Respecto a la adición de la capa de refuerzo, se concluye que es una manera efectiva para aumentar la resistencia mecánica de las membranas sintetizadas, dado que permitió que éstas soportasen presiones de operación de hasta 950 psi. Sin embargo, la adición de esta capa de refuerzo provoca una disminución del flujo de permeado que debe ser más estudiada para las membranas modificadas.

El método sonoquímico utilizado permitió sintetizar nanopartículas de óxido de cobre II en suspensión en dos concentraciones distintas, sin embargo, en la caracterización de las 0,125% CuO NPs se observó un radio hidrodinámico mayor, por lo que la síntesis nanopartículas en una concentración mayor puede resultar en nanopartículas más grandes. No obstante, es necesario comprobar este resultado mediante un análisis TEM.

En base a los experimentos realizados y los resultados obtenidos, es posible plantear algunas recomendaciones para etapas futuras en el desarrollo de este proyecto, las que se plantean a continuación:

Con los resultados obtenidos no es posible determinar cuál de las dos concentraciones de nanopartículas utilizadas en la síntesis de las membranas modificadas es óptima, pues las 0,125% CuO NPs presentaron un desempeño ligeramente superior, sin embargo, existe una pérdida de nanopartículas durante la síntesis debido al efecto de saturación de las membranas, ya que la cantidad de cobre presente en éstas es similar para los dos colides utilizados en este trabajo. Es por ello que se requiere realizar un análisis TEM para conocer el tamaño de las nanopartículas en precisión. De comprobarse que las 0,125% CuO NPs poseen un tamaño superior, se propone intentar sintetizar nanopartículas en menor concentración con el tamaño que ha demostrado tener los resultados ligeramente superiores, por ejemplo, a través de una variación en la concentración de CTAB utilizado en la síntesis.

Para una siguiente etapa del proyecto, se recomienda disminuir el grosor de la capa de soporte de polisulfona en las membranas sintetizadas, pues al agregar la capa de poliéster aumenta la resistencia mecánica de las membranas, por lo que, al disminuir el grosor de la capa de poliamida se podría mejorar los flujos de permeado de las membranas sintetizadas, manteniendo la resistencia suficiente como para operar a presiones cercanas a los 1.000 psi.

Respecto a la vida útil de las membranas modificadas, se propone realizar ensayos de envejecimiento acelerado en planta y así poner a prueba la capacidad para combatir incrustaciones de las membranas y, por otro lado, evaluar si existe pérdida de nanopartículas durante la operación.

Finalmente, se propone realizar pruebas biológicas operando en la planta banco utilizando agua con carga biológica similar a la real, con la finalidad de comprobar si los resultados vistos en este trabajo se mantienen cuando las membranas están en operación en condiciones reales y así dar un paso más hacia la operación de las membranas modificadas con agua de mar.

6. Bibliografía

- [1] KANG, Guo dong y CAO, Yi ming. 2012. Development of antifouling reverse osmosis membranes for water treatment: A review. *Water Research* [en línea]. 46(3): 584–600. ISSN 00431354. 10.1016/j.watres.2011.11.041
- [2] FUNDACIÓN CHILE. 2019. *Transición Hídrica: El Futuro del Agua en Chile* [en línea]. ISBN 9789568200497. 10.2307/j.ctvkrkkrq.248
- [3] FRITZMANN, C., LÖWENBERG, J., WINTGENS, T. y MELIN, T. 2007. State-of-the-art of reverse osmosis desalination. *Desalination* [en línea]. 216(1–3): 1–76. ISSN 00119164. 10.1016/j.desal.2006.12.009
- [4] BBC NEWS MUNDO. ¿Puede la desalinización ser la solución para la crisis mundial del agua? [en línea]. <<https://www.bbc.com/mundo/noticias-39332148>> [consulta: 20 enero 2020].
- [5] BUONOMENNA, M. G. 2013. Nano-enhanced reverse osmosis membranes. *Desalination* [en línea]. 314: 73–88. ISSN 00119164. 10.1016/j.desal.2013.01.006
- [6] VOLET, Donald, VOLET, Judith y PRATT, Charlotte. 2016. *Fundamentals of Biochemistry: life at the molecular level*. ISBN 978-1-118-91840-1.
- [7] PANAGOPOULOS, Argyris, HARALAMBOUS, Katherine Joanne y LOIZIDOU, M. 2019. Desalination brine disposal methods and treatment technologies - A review. *Science of the Total Environment* [en línea]. ISSN 18791026. 10.1016/j.scitotenv.2019.07.351
- [8] CARBOTECNIA. ¿Qué es la ósmosis inversa? - Carbotecnia. Carbotecnia [en línea]. <<https://www.carbotecnia.info/encyclopedia/que-es-la-osmosis-inversa/>> 2014 [consulta: 16 abril 2019].
- [9] JIANG, Shanxue, LI, Yuening y LADEWIG, Bradley P. 2017. A review of reverse osmosis membrane fouling and control strategies. *Science of the Total Environment* [en línea]. 595: 567–583. ISSN 18791026. 10.1016/j.scitotenv.2017.03.235
- [10] POTTS, D, AHLERT, R y WANG, S. 1981. A CRITICAL REVIEW OF FOULING OF REVERSE OSMOSIS MEMBRANES.
- [11] WARSINGER, David M., CHAKRABORTY, Sudip, TOW, Emily W., PLUMLEE, Megan H., BELLONA, Christopher, LOUTATIDOU, Savvina, KARIMI, Leila, MIKELONIS, Anne M., ACHILLI, Andrea, GHASSEMI, Abbas, PADHYE, Lokesh P., SNYDER, Shane A., CURCIO, Stefano, VECITIS, Chad D., ARAFAT, Hassan A. y LIENHARD, John H. 2018. A review of polymeric membranes and processes for potable water reuse. *Progress in Polymer Science* [en línea]. 81(June): 209–237. ISSN 00796700. 10.1016/j.progpolymsci.2018.01.004
- [12] LI, Dan y WANG, Huanting. 2010. Recent developments in reverse osmosis desalination membranes. *Journal of Materials Chemistry* [en línea]. 20(22): 4551–4566. ISSN 09599428. 10.1039/b924553g
- [13] IDARRAGA-MORA, Jaime A., CHILDRESS, Anthony S., FRIEDEL, Parker S., LADNER, David A., RAO, Apparao M. y HUSSON, Scott M. 2018. Role of nanocomposite support stiffness on TFC membrane water permeance. *Membranes* [en línea]. ISSN 20770375. 10.3390/membranes8040111
- [14] ISMAIL, Ahmad Fauzi, RAHMAN, Mukhlis A., OTHMAN, Mohd Hafiz Dzarfan y MATSUURA, Takeshi. sin fecha. *Membrane separation principles and applications: from material selection to mechanisms and industrial uses* [en línea]. [consulta: 22 mayo 2019]. ISBN 9780128128169. <<https://books.google.cl/books?id=Pg9uDwAAQBAJ&pg=PA9&lpg=PA9&dq=tfc+backing+layer+material&source=bl&ots=0wUAI211BX&sig=ACfU3U35Ez8Y7dptS9vIJajaKPt6nfuCgA&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwj6-eXN3JfiAhVvK7kGHfPGAbgQ6AEwCnoECAEQAQ#v=onepage&q&f=false>>
- [15] SUNG HO KIM, SEUNG-YEOP KWAK, BYEONG-HYEOK SOHN y TAI HYUN

- PARK. 2003. Design of TiO₂ nanoparticle self-assembled aromatic polyamide thin-film-composite (TFC) membrane as an approach to solve biofouling problem. *Journal of Membrane Science* [en línea]. 211: 157–165. ISSN 0376-7388. 10.1016/S0376-7388(02)00418-0
- [16] LÁREZ, Cristóbal. 2015. Nanopartículas : fundamentos y aplicaciones.
- [17] KIM, Jeonghwan y VAN DER BRUGGEN, Bart. 2010. The use of nanoparticles in polymeric and ceramic membrane structures: Review of manufacturing procedures and performance improvement for water treatment. *Environmental Pollution* [en línea]. 158(7): 2335–2349. ISSN 02697491. 10.1016/j.envpol.2010.03.024
- [18] GARCÍA, Andreina, RODRÍGUEZ, B, OZTURK, D, ROSALES, M, PAREDES, C, CUADRA, F y MONTSERRAT, S. 2016. Desalination Performance of Antibiofouling Reverse Osmosis Membranes. *Modern Environmental Science and Engineering* [en línea]. 2(07): 481–489. ISSN 23332581. 10.15341/mese(2333-2581)/07.02.2016/007
- [19] KANGO, Sarita, KALIA, Susheel, CELLI, Annamaria, NJUGUNA, James, HABIBI, Youssef y KUMAR, Rajesh. 2013. Surface modification of inorganic nanoparticles for development of organic-inorganic nanocomposites - A review. *Progress in Polymer Science* [en línea]. 38(8): 1232–1261. ISSN 00796700. 10.1016/j.progpolymsci.2013.02.003
- [20] GARCÍA, A., QUINTERO, Y., VICENCIO, N., RODRÍGUEZ, B., OZTURK, D., MOSQUERA, E., CORRALES, T. P. y VOLKMANN, U. G. 2016. Influence of TiO₂ nanostructures on anti-adhesion and photoinduced bactericidal properties of thin film composite membranes. *RSC Advances* [en línea]. 6. ISSN 20462069. 10.1039/c6ra17999a
- [21] ARUOJA, Villem, DUBOURGUIER, Henri Charles, KASEMETS, Kaja y KAHRU, Anne. 2009. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of the Total Environment* [en línea]. 407(4): 1461–1468. ISSN 00489697. 10.1016/j.scitotenv.2008.10.053
- [22] VICENCIO, Natalia. 2015. Síntesis y caracterización de membranas para osmosis inversa con capacidad anti-bioincrustante, por incorporación de nano partículas de dióxido de titanio.
- [23] GARCÍA, Andreina, RODRÍGUEZ, B, OZTURK, D, ROSALES, M, PAREDES, C, CUADRA, F y MONTSERRAT, S. 2017. Desalination Performance of Antibiofouling Reverse Osmosis Membranes. *Modern Environmental Science and Engineering* [en línea]. 2(07): 481–489. ISSN 23332581. 10.15341/mese(2333-2581)/07.02.2016/007
- [24] GUTIERREZ, Yair, ÁVILA, Mario y HERNÁNDEZ, Liliana. sin fecha. Síntesis de membranas de polisulfona (psf) a partir del método inversión de fase en la eliminación de especies contaminantes de aguas residuales.
- [25] SCOTT, K. MEMBRANE MATERIALS, PREPARATION AND CHARACTERISATION. En: *Handbook of Industrial Membranes* [en línea]. Elsevier, 1995, p. 187–269. 10.1016/b978-185617233-2/50005-2
- [26] GARCIA, A, RODRIGUEZ, B y OZTURK, D. Membrana compuesta de capa fina (TFC) poliamida con oligómeros de cobre (Cu-PoliMPD) auto-ensamblados en la capa de poliamida con elevada resistencia a la bio-incrustación para aplicaciones en osmosis inversa, método de obtención de los oligómeros a parti [en línea]. [consulta: 28 enero 2020]. <https://investigadores.conicyt.cl/es/public_search/work?id=370077>
- [27] LEE, Jaewoo, YOON, Hongsik, YOO, Jae Hyun, CHOI, Dong Chan, NAHM, Chang H., LEE, Sang Hyun, CHAE, Hee Ro, KIM, Yong Hyup, LEE, Chung Hak y PARK, Pyung Kyu. 2018. Influence of the sublayer structure of thin-film composite reverse osmosis membranes on the overall water flux. *Environmental Science: Water Research and Technology* [en línea]. 4(12): 1912–1922. ISSN 20531419. 10.1039/c8ew00508g
- [28] SONG, Yongyang, FAN, Jun Bing y WANG, Shutao. 2017. Recent progress in interfacial polymerization. *Materials Chemistry Frontiers* [en línea]. 1(6): 1028–1040.

- ISSN 20521537. 10.1039/c6qm00325g
- [29] QIN, Jiayu, LIN, Saisai, SONG, Shuqin, ZHANG, Lin y CHEN, Huanlin. 2013. 4-Dimethylaminopyridine promoted interfacial polymerization between hyperbranched polyesteramide and trimesoyl chloride for preparing ultralow-pressure reverse osmosis composite membrane. *ACS Applied Materials and Interfaces* [en línea]. 5(14): 6649–6656. ISSN 19448244. 10.1021/am401345y
- [30] MATIN, Asif, KHAN, Z., ZAIDI, S. M.J. y BOYCE, M. C. 2011. Biofouling in reverse osmosis membranes for seawater desalination: Phenomena and prevention. *Desalination* [en línea]. 281(1): 1–16. ISSN 00119164. 10.1016/j.desal.2011.06.063
- [31] FLEMMING, Hans Curt. 1997. Reverse Osmosis Membrane Biofouling. *Experimental Thermal and Fluid Science* [en línea]. ISSN 08941777. 10.1016/S0894-1777(96)00140-9
- [32] SINGH, Rajindar y HANKINS, Nicholas. 2016. Emerging Membrane Technology for Sustainable Water Treatment [en línea]. Elsevier. 10.1016/b978-0-444-63312-5.01001-9
- [33] NGUYEN, Thang, RODDICK, Felicity A. y FAN, Linhua. 2012. Biofouling of water treatment membranes: A review of the underlying causes, monitoring techniques and control measures. *Membranes* [en línea]. 2(4): 804–840. ISSN 20770375. 10.3390/membranes2040804
- [34] KOCHKODAN, V. M., HILAL, N., GONCHARUK, V. V., AL-KHATIB, L. y LEVADNA, T. I. 2006. Effect of the surface modification of polymer membranes on their microbiological fouling. *Colloid Journal* [en línea]. 68(3): 267–273. ISSN 1061933X. 10.1134/S1061933X06030021
- [35] SURAPANENI, Meghana, KABRA, Prachi, CHAKRABORTY, Swati y NAGARAJAN, Padmavathy. 2012. Understanding the pathway of antibacterial activity of Copper Oxide Nanoparticles. *RCS Advanced* [en línea]. 10.1039/x0xx00000x
- [36] SONDI, Ivan y SALOPEK-SONDI, Branka. 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science* [en línea]. 275(1): 177–182. ISSN 00219797. 10.1016/j.jcis.2004.02.012
- [37] BRIAN, P. L.T. 1965. Concentration polarization in reverse osmosis desalination with variable flux and incomplete salt rejection. *Industrial and Engineering Chemistry Fundamentals* [en línea]. 4(4): 439–445. ISSN 01964313. 10.1021/i160016a014
- [38] SABLANI, Ss, GOOSEN, Mfa, AL-BELUSHI, R. y WILF, M. 2001. Concentration polarization in ultrafiltration and reverse osmosis: A critical review. *Desalination* [en línea]. 141(3): 269–289. ISSN 00119164. 10.1016/S0011-9164(01)85005-0
- [39] CHANG, Ya Nan, ZHANG, Mingyi, XIA, Lin, ZHANG, Jun y XING, Gengmei. 2012. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials* [en línea]. 5. ISSN 19961944. 10.3390/ma5122850
- [40] CHRISTIAN, P., VON DER KAMMER, F., BAALOUSHA, M. y HOFMANN, Th. 2008. Nanoparticles: Structure, properties, preparation and behaviour in environmental media. *Ecotoxicology* [en línea]. 17(5): 326–343. ISSN 09639292. 10.1007/s10646-008-0213-1
- [41] ZHANG, Wen, YAO, Ying, SULLIVAN, Nicole y CHEN, Yongsheng. 2011. Modeling the primary size effects of citrate-coated silver nanoparticles on their ion release kinetics. *Environmental Science and Technology* [en línea]. 45(10): 4422–4428. ISSN 0013936X. 10.1021/es104205a
- [42] ZHANG, Shengwen, NELSON, Andrew y BEALES, Paul A. 2012. Freezing or wrapping: The role of particle size in the mechanism of nanoparticle biomembrane interaction. *Langmuir* [en línea]. 28(35): 12831–12837. ISSN 07437463. 10.1021/la301771b
- [43] BEDDOES, Charlotte M., CASE, C. Patrick y BRISCOE, Wuge H. 2015. Understanding

- nanoparticle cellular entry: A physicochemical perspective. *Advances in Colloid and Interface Science* [en línea]. 218: 48–68. ISSN 00018686. 10.1016/j.cis.2015.01.007
- [44] ROITER, Yuri, ORNATSKA, Maryna, RAMMOHAN, Aravind R., BALAKRISHNAN, Jitendra, HEINE, David R. y MINKO, Sergiy. 2008. Interaction of Nanoparticles with Lipid Membrane.
- [45] FRÖHLICH, Eleonore. 2012. The role of surface charge in cellular uptake and cytotoxicity of medical nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine* [en línea]. 7: 5577–5591. ISSN 11769114. 10.2147/IJN.S36111
- [46] VERMA, Ayush y STELLACCI, Francesco. 2010. Effect of surface properties on nanoparticle-cell interactions. *Small* [en línea]. 6(1): 12–21. ISSN 16136810. 10.1002/sml.200901158
- [47] HUSSAIN, S.M., HESS, K.L., GEARHART, J.M., GEISS, K.T. y SCHLAGER, J.J. 2005. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicology in Vitro* [en línea]. 19(7): 975–983 [consulta: 4 julio 2019]. ISSN 0887-2333. 10.1016/J.TIV.2005.06.034
- [48] CHEN, Kai Loon y BOTHUN, Geoffrey D. 2014. Nanoparticles meet cell membranes: Probing nonspecific interactions using model membranes. *Environmental Science and Technology* [en línea]. 48(2): 873–880. ISSN 0013936X. 10.1021/es403864v
- [49] FERRER, Ana. 2003. Intoxicacion de metales [en línea]. 26(ext 3900): 153. ISSN 1098-6596. 10.1017/CBO9781107415324.004
- [50] BORKOW, Gadi y GABBAY, Jeffrey. 2005. Copper as a Biocidal Tool. *Current Medicinal Chemistry* [en línea]. 12(18): 2163–2175. ISSN 09298673. 10.2174/0929867054637617
- [51] GARCÍA, A., RODRÍGUEZ, B., OZTÜRK, D., ROSALES, M., DIAZ, D. I. y MAUTNER, A. 2018. Incorporation of CuO nanoparticles into thin-film composite reverse osmosis membranes (TFC-RO) for antibiofouling properties. *Polymer Bulletin* [en línea]. 75(5): 2053–2069. ISSN 01700839. 10.1007/s00289-017-2146-4
- [52] RODRÍGUEZ, B., OZTÜRK, D., ROSALES, M., FLORES, M. y GARCÍA, A. 2018. Antibiofouling thin-film composite membranes (TFC) by in situ formation of Cu-(m-phenylenediamine) oligomer complex. *Journal of Materials Science* [en línea]. 53(9): 6325–6338. ISSN 15734803. 10.1007/s10853-018-2039-4
- [53] ZHU, Xiaohua y ELIMELECH, Menachem. 1997. Colloidal fouling of reverse osmosis membranes: Measurements and fouling mechanisms. *Environmental Science and Technology* [en línea]. 31(12): 3654–3662. ISSN 0013936X. 10.1021/es970400v
- [54] LI, Qilin, XU, Zhihua y PINNAU, Ingo. 2007. Fouling of reverse osmosis membranes by biopolymers in wastewater secondary effluent: Role of membrane surface properties and initial permeate flux. *Journal of Membrane Science* [en línea]. 290(1–2): 173–181. ISSN 03767388. 10.1016/j.memsci.2006.12.027
- [55] BAGHBANZADEH, Mohammadali, RANA, Dipak, MATSUURA, Takeshi y LAN, Christopher Q. 2015. Effects of hydrophilic CuO nanoparticles on properties and performance of PVDF VMD membranes. *Desalination* [en línea]. 369: 75–84. ISSN 00119164. 10.1016/j.desal.2015.04.032
- [56] VRIJENHOEK, Eric M., HONG, Seungkwan y ELIMELECH, Menachem. 2001. Influence of membrane surface properties on initial rate of colloidal fouling of reverse osmosis and nanofiltration membranes. *Journal of Membrane Science* [en línea]. 188(1): 115–128. ISSN 03767388. 10.1016/S0376-7388(01)00376-3
- [57] BARBA, Anna Angela, BOCHICCHIO, Sabrina, DALMORO, Annalisa, CACCAVO, Diego, CASCONI, Sara y LAMBERTI, Gaetano. 2019. Polymeric and lipid-based systems for controlled drug release: an engineering point of view [en línea]. Elsevier Inc. 267–304 p. ISBN 9780128165058. 10.1016/b978-0-12-816505-8.00013-8
- [58] NANOCOMPOSIX. ZETA POTENTIAL ANALYSIS OF NANOPARTICLES. 2020.
- [59] BAJPAI, Pratima. *Colloid and Surface Chemistry*. En: Biermann's Handbook of Pulp

- and Paper [en línea]. Elsevier, 2018, p. 381–400. 10.1016/b978-0-12-814238-7.00019-2
- [60] XU, Renliang. 2015. Light scattering: A review of particle characterization applications. *Particuology* [en línea]. 18: 11–21. ISSN 16742001. 10.1016/j.partic.2014.05.002
- [61] STETEFELD, Jörg, MCKENNA, Sean A. y PATEL, Trushar R. *Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences* [en línea]. Springer Verlag. 1. diciembre 2016. ISSN 18672469. 10.1007/s12551-016-0218-6
- [62] LANCHEROS, Ruth J., BELEÑO, José Ángel, GUERRERO, Carlos Arturo y GODOY-SILVA, Rubén Darío. 2014. PLGA nanoparticles production by emulsion and evaporation to encapsulate N-acetylcysteine (NAC). *Universitas Scientiarum* [en línea]. 19(2): 161–168. ISSN 2027-1352. 10.11144/Javeriana.SC19-2.pnppm
- [63] ANTON PAAR. The principles of dynamic light scattering [en línea]. <<https://wiki.anton-paar.com/en/the-principles-of-dynamic-light-scattering/>> [consulta: 26 febrero 2020].
- [64] ATKINS, Peter, OVERTON, Tina, ROURKE, Jonathan, WELLER, Mark y ARMSTRONG, Fraser. 2009. *Shriver and Atkins' Inorganic Chemistry* [en línea]. : 864. <<http://www.amazon.co.uk/Shriver-Atkins-Inorganic-Chemistry-Peter/dp/0199236178>>
- [65] SILVA, Nataly, RAMÍREZ, Sara, DÍAZ, Isaac, GARCIA, Andreina y HASSAN, Natalia. 2019. Easy, quick, and reproducible sonochemical synthesis of CuO nanoparticles. *Materials* [en línea]. 12(5): 1–13. ISSN 19961944. 10.3390/MA12050804
- [66] DHINESHBABU, N. R., RAJENDRAN, V., NITHYAVATHY, N. y VETUMPERUMAL, R. 2016. Study of structural and optical properties of cupric oxide nanoparticles. *Applied Nanoscience (Switzerland)* [en línea]. 6(6): 933–939. ISSN 21905517. 10.1007/s13204-015-0499-2
- [67] KULKARNI, Vitthal S. y SHAW, Charles. 2016. *Surfactants, Lipids, and Surface Chemistry. Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages* [en línea]. : 5–19. 10.1016/b978-0-12-801024-2.00002-9
- [68] Angulo de contacto: Definición y equipos de medición [en línea]. <<https://www.linseis.com/es/propiedades/angulo-de-contacto/>> 2007 [consulta: 6 marzo 2020].
- [69] BELOIN, C., ROUX, A. y GHIGO, J. M. *Escherichia coli biofilms* [en línea]. Inserm. 2008. ISBN 9783540754176. 10.1007/978-3-540-75418-3_12
- [70] GOLDMAN, Emanuel y GREEN, Lorrence H. 2009. *Practical handbook of microbiology*. ISBN 9781466587397.
- [71] BERGEY, D. H. (David Hendricks), KRIEG, Noel R. y HOLT, John G. 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams & Wilkins.
- [72] WIDDEL, Friedrich. 2010. *Theory and Measurement of Bacterial Growth*.
- [73] KIM, Suhan y HOEK, Eric M.V. 2005. Modeling concentration polarization in reverse osmosis processes. *Desalination* [en línea]. 186(1–3): 111–128. ISSN 00119164. 10.1016/j.desal.2005.05.017
- [74] STERLITECH. CF042D Crossflow Cell Assembly and Operation Manual. sin fecha.
- [75] KHAN, Rizwan, INAM, Muhammad Ali, ZAM, Saba Zam, AKRAM, Muhammad, SHIN, Sookyo y YEOM, Ick Tae. 2019. Coagulation and dissolution of CuO nanoparticles in the presence of dissolved organic matter under different pH values. *Sustainability (Switzerland)* [en línea]. 11(10). ISSN 20711050. 10.3390/su11102825
- [76] URA, Laboratoire De Cristalochimie, RENNES, Universit De y LECLERC, Gdnral. 1991. *High-Resolution Powder Diffraction Studies of Copper(II) Oxide*. : 149–155.
- [77] EGERTON, R.F. 2005. *Physical Principles of Electron Microscopy* [en línea]. ISBN 2005924717. 10.1007/978-3-319-39877-8
- [78] PORTER, Mark C. 1990. *Handbook of industrial membrane technology*. Noyes Publications. ISBN 9780815512059.
- [79] KWAK, Seung-Yeop, JUNG, Soo Gyung, YOON, Young Seo y IHM, Dae Woo. 1999.

- Details of surface features in aromatic polyamide reverse osmosis membranes characterized by scanning electron and atomic force microscopy. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* [en línea]. ISSN 1099-0488. 10.1002/(SICI)1099-0488(19990701)37:13<1429::AID-POLB9>3.0.CO;2-B
- [80] HIDALGO, A. M., LEÓN, G., GÓMEZ, M., MURCIA, M. D., GÓMEZ, E. y GÓMEZ, J. L. 2013. Application of the Spiegler-Kedem-Kachalsky model to the removal of 4-chlorophenol by different nanofiltration membranes. *Desalination* [en línea]. 315(February 2016): 70–75. ISSN 00119164. 10.1016/j.desal.2012.10.008
- [81] HIDALGO, A. M., GÓMEZ, M., MURCIA, M. D., SERRANO, M. y OTÓN, J. 2013. Caracterización de la membrana NF-97 mediante disoluciones salinas. Aplicación del modelo de Spiegler-Kedem-Kachalsky. *Afinidad*. 70(561): 46–50. ISSN 00019704.
- [82] BHATTACHARYA, Amit y GHOSH, Pallab. 2004. Nanofiltration and reverse osmosis membranes: Theory and application in separation of electrolytes. *Reviews in Chemical Engineering* [en línea]. 20(1–2): 111–173. ISSN 01678299. 10.1515/REVCE.2004.20.1-2.111
- [83] MURTHY, Z. V.P. y GUPTA, Sharad K. 1997. Estimation of mass transfer coefficient using a combined nonlinear membrane transport and film theory model. *Desalination* [en línea]. 109(1): 39–49. ISSN 00119164. 10.1016/S0011-9164(97)00051-9

7. Anexos

Anexo A. Protocolo de síntesis de nanopartículas

A continuación, se presenta el protocolo utilizado para la síntesis de nanopartículas de óxido de cobre (CuO NPs) utilizado por el AMTC, basado en estudios anteriores por la misma organización [65]. La síntesis para las nanopartículas con una concentración de 0,033% y 0,125% p/p se realiza siguiendo el mismo procedimiento, sólo cambiando las cantidades y concentraciones de los reactivos.

Síntesis de nanopartículas de óxido de cobre al 0,033% p/p (0,033% CuO NPs)

Los reactivos necesarios con sus respectivas cantidades y concentraciones para la síntesis de 100 ml de 0,033% CuO NPs se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10: Cantidades y concentraciones de reactivos para preparar 0,033% CuO NPs

Reactivo	Cantidad	Unidad	Concentración	Unidad
Agua destilada	6	mL	-	-
Sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0,499	g	-	-
Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) disuelto en agua	49,5	mL	16	mM
Hidróxido de sodio (NaOH) disuelto en agua	49,5	mL	4,4	mM
Borohidruro de sodio (NaBH_4)	0,053	g	-	-

En primer lugar, se vierten 49,5 ml de la solución de CTAB al 16 mM, luego se vierten 49,5 ml de la solución de hidróxido de sodio al 4,4 mM en un frasco de vidrio de 200 ml.

Por otro lado, se preparan 5 ml de CuSO_4 en solución con una concentración de 0,4 M. Para ello se ponen 0,499 gr de sulfuro de cobre pentahidratado en un matraz de aforo de 5 mL y se utiliza agua destilada para completar el volumen, luego se agita y se traspasa la solución a un tubo falcon de 15 mL tapado y se cubre con papel aluminio.

Después se pesan 0,053 gramos de borohidruro sódico y se guardan en un tubo falcon de 15 ml tapado.

Luego se llena el sonicador con agua destilada y se ajusta su temperatura a 30 °C.

Una vez alcanzada la temperatura se introduce el frasco de vidrio con la solución de CTAB y NaOH en el sonicador, luego se enciende el sonicador y se deja funcionando por 1 minuto.

Pasado el minuto, se agregan 0,33 ml de la solución de sulfato de cobre al frasco de vidrio dentro del sonicador sin apagar y se deja por 5 minutos más.

Cuando queden 2 de los 5 minutos de espera, se agregan 0,7 mL de agua destilada fría (lo más cercana a 0 °C posible) al borohidruro y se agita en un vortex, la concentración de la solución debe ser de 2M. Para obtener el agua se descongela agua destilada que estaba previamente congelada en un tubo falcon de 50 ml con el calor de las manos.

Apenas pasan los 5 minutos de sonicación, se le agregan 0,66 ml de la solución de borohidruro al frasco de vidrio con los demás reactivos sin apagar el equipo de sonicación. Luego se deja sonicar por 15 minutos.

Finalmente, cuando terminan los 15 minutos, se apaga el equipo y se deja reposando la solución de nanopartículas 24 horas a 25 °C.

Síntesis de nanopartículas de óxido de cobre al 0,125% p/p (0,125% CuO NPs)

Los reactivos necesarios con sus respectivas cantidades y concentraciones para la síntesis de 100 ml de 0,125% CuO NPs se presentan en la Tabla 11.

Tabla 11: Cantidades y concentraciones de reactivos para preparar 0,125% CuO NPs

Reactivo	Cantidad	Unidad	Concentración	Unidad
Agua destilada	30	mL	-	-
Sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0,257	g	-	-
Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) disuelto en agua	43,86	mL	68	mM
Hidróxido de sodio (NaOH) disuelto en agua	43,86	mL	17	mM
Borohidruro de sodio (NaBH_4)	0,228	g	-	-

En primer lugar, se vierten 43,86 ml de la solución de CTAB al 68 mM, luego se vierten 43,86 ml de la solución de hidróxido de sodio al 17 mM en un frasco de vidrio de 200 ml.

Por otro lado, se preparan 25 ml de CuSO_4 en solución con una concentración de 42 mM. Para ello se ponen 0,257 gr de sulfuro de cobre pentahidratado en un matraz de aforo de 25 mL y se utiliza agua destilada para completar el volumen, luego se agita y se traspara la solución a un tubo falcon de 50 mL tapado y se cubre con papel aluminio.

Después se pesan 0,228 gramos de borohidruro sódico y se guardan en un tubo falcon de 15 ml tapado.

Luego se llena el sonicador con agua destilada y se ajusta su temperatura a 30 °C.

Una vez alcanzada la temperatura se introduce el frasco de vidrio con la solución de CTAB y NaOH en el sonicador, luego se enciende el sonicador y se deja funcionando por 1 minuto.

Pasado el minuto, se agregan 11,696 ml de la solución de sulfato de cobre al frasco de vidrio dentro del sonicador sin apagar y se deja por 5 minutos más.

Cuando queden 2 de los 5 minutos de espera, se agregan 0,7 ml de agua destilada fría (lo más cercana a 0 °C) al borohidruro y se agita en un vortex, la concentración de la solución debe ser de 8,6 M. Para obtener el agua se descongela agua destilada que estaba previamente congelada en un tubo falcon de 50 mL con el calor de las manos.

Apenas pasan los 5 minutos de sonicación, se le agregan 0,58 mL de la solución de borohidruro al frasco de vidrio con los demás reactivos sin apagar el equipo de sonicación. Luego se deja sonicar por 15 minutos.

Finalmente, cuando terminan los 15 minutos, se apaga el equipo y se deja reposando la solución de nanopartículas 24 horas a 25 °C.

Se recomienda preparar las soluciones de CTAB y NaOH antes de realizar la síntesis de nanopartículas y en mayores cantidades (0,5 o 1 litro), debido a que si se almacenan bien no se descomponen y permite ahorrar tiempo durante la síntesis de nanopartículas.

Anexo B. Protocolo de síntesis de membranas

A continuación, se presenta el protocolo utilizado para la confección de las membranas de osmosis reversa utilizadas en este proyecto. El protocolo se divide en dos partes: la confección del soporte de polisulfona (PS) y la preparación de la capa activa de poliamida (PA). Es en esta última etapa en donde se realiza la modificación agregando las nanopartículas de cobre.

Preparación de soportes de polisulfona (PS)

Para preparar 3 soportes de polisulfona se requieren los reactivos con sus respectivas cantidades presentados en la *Tabla 12*.

Tabla 12: Cantidades de reactivos para preparar 3 soportes de polisulfona.

Reactivo	Cantidad	Unidad
Dimetilformamida (DMF)	12,8	mL
Metil-2-pirrolidona (NMP)	3,2	mL
Polisulfona	3	g

En primer lugar, se añade DMF bajo campana a un vaso precipitado, el cual se mantiene agitado a una temperatura de 60 °C. Luego se agrega el NMP y la polisulfona y se deja tapado agitando por 2 horas. Una vez pasado ese período se debe apagar la agitación y se deja reposar la muestra por 10 minutos. Mientras la muestra está en reposo se preparan baños con agua destilada a 26°C y se limpia el equipo de *casting knife* con etanol.

Después de pasado el tiempo de reposo, se vierte en un tubo de vidrio rotulado la cantidad suficiente de la mezcla de polisulfona para cubrir la parte superior del cuchillo, e inmediatamente se vierte desde el tubo hacia el *casting knife* y se hace correr sobre un soporte de vidrio plano. Después se toma el vidrio y se sumerge en el baño por 1 minuto. Esta inmersión debe realizarse de la forma más homogénea posible para no dañar al soporte de polisulfona.

Una vez pasado el minuto, se retira la membrana del vidrio y se vuelve a colocar en el baño, dejándola sumergida con apoyo de vidrios de microscopio por 24 horas. Luego se saca la membrana del baño y se deja a secar a temperatura ambiente por 24 horas y después se almacena.

Confección de membranas modificadas

Para sintetizar una capa de PA modificada con nanopartículas de óxido de cobre se requieren las cantidades de reactivos mostrados en la *Tabla 13*.

Tabla 13: Reactivos y cantidades necesarias para la síntesis de la capa de poliamida modificada con nanopartículas de óxido de cobre para una membrana de osmosis inversa

Reactivo	Cantidad	Unidad
2,6-Fenilendiamida (MPD)	2	g
Hexano	100	mL
Tricloruro de mesoilo (TMC)	0,066	g
Solución de nanopartículas de cobre (CuO NPs)	100	mL

Inicialmente se agrega el MPD a la solución de nanopartículas de cobre y se deja en agitación, y luego se prepara una solución mezclando el hexano con el TMC bajo campana con las cantidades indicadas en la tabla.

Una vez listas ambas soluciones se fija la capa de polisulfona sobre un soporte plano de vidrio y se sumerge en la solución de MPD + CuO por dos horas, una vez pasado ese tiempo se

retira el exceso de solución y se sumerge en la solución de hexano + TMC por 1 minuto. Luego se deja en el horno a 75 °C por 15 minutos. Después se deja reposar a temperatura ambiente por 2 minutos y posteriormente se lava con agua destilada por 1 minuto. Finalmente, la membrana se deja reposando por 24 horas.

Por otro lado, para sintetizar la capa de poliamida sin nanopartículas de cobre se necesitan los materiales que se muestran en la Tabla 14:

Tabla 14: Reactivos y cantidades necesarias para la síntesis de la capa de poliamida sin modificar con CuO NPs

Reactivo	Cantidad	Unidad
H_2O	100	mL
2,6-Fenilendiamida (MPD)	2	g
NaOH	0,1	g
Hexano	100	mL
Tricloruro de mesoilo (TMC)	0,066	g

El procedimiento es ligeramente distinto con respecto a la síntesis de la capa de poliamida con CuO NPs. En primer lugar, se realiza la solución de MPD con agua destilada y NaOH en las cantidades que se muestran en la tabla, luego se prepara la solución de hexano con TMC y se ejecutan los siguientes pasos:

1. Sumergir la capa de polisulfona por 2 horas en la solución de MPD.
2. Retirar exceso de solución.
3. Sumergir por 1 minuto en solución hexano + TMC.
4. Dejar en horno a 75°C por 15 minutos.
5. Dejar reposar por 2 min a temperatura ambiente.
6. Lavar con agua destilada por 1 minuto.

Finalmente, las membranas se dejan reposar a temperatura ambiente por 24 horas y después se almacenan.

Anexo C. Detalle del conteo de células vivas y muertas en ensayo *antibiofouling*

En el presente anexo, se adjuntan las tablas con los conteos realizados en el ensayo de capacidad *antibiofouling* de las membranas.

Tabla 15: Detalle del conteo celular realizado en la prueba 1 de capacidad *antibiofouling* en las membranas PA/PS, (PA + 0,033% CuO NPs)/PS y (PA + 0,033% CuO NPs)/PS.

Membrana	Zona	Vivas	Muertas	Total	Porcentaje vivas	Porcentaje Muertas	Promedio Vivas	Promedio Muertas	Total
PA/PS	1	4	1	5	80%	20%	87%	13%	532
	2	3	0	3	100%	0%			
	3	16	0	16	100%	0%			
	4	100	5	105	95%	5%			
	5	42	12	54	78%	22%			
	6	17	8	25	68%	32%			
	7	15	4	19	79%	21%			
	8	300	5	305	98%	2%			
PA + 0,033% CuO	1	26	65	91	29%	71%	18%	82%	263
	2	1	9	10	10%	90%			
	3	0	12	12	0%	100%			
	4	4	9	13	31%	69%			
	5	3	17	20	15%	85%			
	6	0	6	6	0%	100%			
	7	2	13	15	13%	87%			
	8	0	36	36	0%	100%			
	9	7	17	24	29%	71%			
	10	18	18	36	50%	50%			
PA + 0,125% CuO	1	0	27	27	0%	100%	0	100%	137
	2	0	19	19	0%	100%			
	3	0	5	5	0%	100%			
	4	0	10	10	0%	100%			
	5	0	15	15	0%	100%			
	6	0	12	12	0%	100%			
	7	0	3	3	0%	100%			
	8	0	6	6	0%	100%			
	9	0	11	11	0%	100%			
	10	0	29	29	0%	100%			

Tabla 16: Detalle del conteo celular realizado en la prueba 2 de capacidad antibiofouling en las membranas PA/PS, (PA + 0,033% CuO NPs)/PS y (PA + 0,033% CuO NPs)/PS

Membrana	Zona	Vivas	Muertas	Total	Porcentaje vivas	Porcentaje Muertas	Promedio Vivas	Promedio Muertas	Total
PA/PS	1	314	3	317	99%	1%	99%	1%	1485
	2	199	0	199	100%	0%			
	3	95	0	95	100%	0%			
	4	201	1	202	100%	0%			
	5	371	0	371	100%	0%			
	6	175	1	176	99%	1%			
	7	122	3	125	98%	2%			
PA + 0,033% CuO	1	0	13	13	0%	100%	8%	92%	179
	2	0	22	22	0%	100%			
	3	10	8	18	56%	44%			
	4	0	15	15	0%	100%			
	5	0	17	17	0%	100%			
	6	2	20	22	9%	91%			
	7	0	30	30	0%	100%			
	8	2	21	23	9%	91%			
	9	0	19	19	0%	100%			
PA + 0,125% CuO	1	0	9	9	0%	100%	0%	100%	177
	2	0	18	18	0%	100%			
	3	0	22	22	0%	100%			
	4	0	17	17	0%	100%			
	5	0	9	9	0%	100%			
	6	0	13	13	0%	100%			
	7	0	19	19	0%	100%			
	8	0	19	19	0%	100%			
	9	0	19	19	0%	100%			
	10	0	19	19	0%	100%			
	11	0	13	13	0%	100%			

Anexo D. Mediciones pruebas de desalinización en planta

En el presente anexo se encuentra el detalle de las mediciones realizadas en las pruebas de desalinización en la planta banco.

Tabla 17: Mediciones realizadas durante la prueba de desalinización en membrana PA/PS con poliéster

Volumen / mL	Tiempo / min	Concentración / ppm	Flux / $L h^{-1} m^{-2}$	Rechazo de Sal
15	61	66,6	-	94%
20	70	65,3	10,10	93%
25	78	62,9	11,36	93%
30	87	65,6	10,10	93%
35	95	79,9	11,36	92%
45	110	418,9	12,12	57%
55	126	527,5	11,36	45%
Promedio			11,07	93%

Tabla 18: Mediciones realizadas durante prueba de desalinización (PA + 0,033%CuO NPs)/PS sin poliéster

Volumen / mL	Tiempo / min	Concentración / ppm	Flux / $L h^{-1} m^{-2}$	Rechazo de Sal
15	131	196,6		
20	147	177,5	5,68	82%
25	163	139,9	5,68	86%
30	179	122,4	5,68	87%
35	196	96,9	5,35	90%
45	224	55,0	6,49	94%
50	241	53,5	5,35	95%
60	270	51,6	6,27	95%
Promedio			5,79	91%

Tabla 19: Mediciones realizadas durante prueba de desalinización (PA + 0,033%CuO NPs)/PS con poliéster

Volumen / mL	Tiempo / min	Concentración / ppm	Flux / $L h^{-1} m^{-2}$	Rechazo de Sal
15	193	64,3	-	94%
20	227	55,4	2,67	95%
25	260	53,7	2,75	95%
30	293	59,3	2,75	94%
35	327	70,7	2,67	93%
Promedio	-	-	2,714	95%

Tabla 20: Mediciones realizadas durante repetición de prueba de desalinización (PA + 0,033%CuO NPs)/PS con poliéster

Volumen / mL	Tiempo / min	Concentración / ppm	Flux / $L h^{-1} m^{-2}$	Rechazo de Sal
15	193	-	-	-
20	218	72,9	3,64	93%
24	237	67,0	3,83	93%
Promedio			3,732	93%

Anexo E. Pruebas de permeabilidad en planta banco

En este anexo se presentan las tablas con las mediciones realizadas durante la prueba de permeabilidad de las membranas blanco, (PA + 0,033% CuO NPs)/PS y (PA + 0,033% CuO NPs)/PS.

Tabla 21: Mediciones realizadas durante la prueba de permeabilidad en membrana PA/PS

Presión / psi	Volumen / mL	Tiempo / min	Flux / $L\ h^{-1}m^{-2}$
300 psi	5	57	-
	10	66	10,10
	15	76	9,09
	20	84	11,36
	25	93	10,10
	30	101	11,36
	35	110	10,10
	40	117	12,99
550	10	12	15,15
	20	17	36,36
	30	23	30,30
	40	28	36,36
	50	33	36,36
	60	38	36,36
	80	47	40,40
	100	57	36,36
	120	66	40,40
	140	75	40,40
	160	85	36,36
	180	95	36,36
	200	105	36,36
220	115	36,36	
950	15	5	-
	40	11	75,76
	65	17	75,76
	90	23	75,76
	115	30	64,94
	140	37	64,94
	165	45	56,82
	190	53	56,82
	215	61	56,82
	240	69	56,82
	265	77	56,82
290	85	56,82	

Tabla 22: Mediciones realizadas durante la prueba de permeabilidad en membrana (PA + 0,033%CuO NPs)/PS

Presión / psi	Tiempo / min	Volumen / ml	Flux / $L h^{-1}m^{-2}$
300	195	5	3,03
	225	10	3,03
	258	15	2,75
	286	20	3,25
550	125	5	
	146	10	4,33
	165	15	4,78
950	292	5	15,15
	301	10	10,10

Tabla 23: Mediciones realizadas durante la prueba de permeabilidad en membrana (PA + 0,125%CuO NPs)/PS

Presión / psi	Tiempo / min	Volumen / ml	Flux / $L h^{-1}m^{-2}$
300	206	5	-
	230	10	3,79
550	240	15	9,09
	250	20	9,09
	260	25	9,09
	280	35	9,09
	297	45	10,70
	307	55	18,18
	335	65	6,49
	350	73	9,70
950	353	5	30,30
	357	10	22,73
	362	15	18,18
	366	20	22,73
	371	25	18,18
	379	35	22,73
	387	45	22,73
	396	55	20,20
	405	65	20,20
	413	75	22,73
	426	90	20,98
	433	100	25,97
	442	110	20,20
	450	120	22,73
460	130	18,18	