# Métodos de detección y caracterización de precursores de *biofouling* en agua de mar. Alternativas de diseño y métodos de operación para minimizar su impacto sobre las membranas de ósmosis inversa

# Detection and characterization methods of *biofouling* precursors in seawater. Design alternatives and operation methods to minimize its impact on reverse osmosis membranes

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN HIDROLOGÍA**

**Y GESTIÓN DE RECURSOS HÍDRICOS**

**Presentado por:**

**Dª. ESTHER DE ACUÑA GONZÁLEZ**

**Dirigido por:**

**D. RAFAEL BUENDÍA CANDEL**

**Alcalá de Henares, a 08 de junio de 2020**

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Rafael Buendía Candel su asesoramiento y dirección para la realización de este Trabajo Fin de Máster y a Daniel Corregidor Luna por sus consejos, paciencia y apoyo.

# Índice

**Resumen** ..... 1

**1. Introducción** ..... 2

**1.1. Objetivos** ..... 7

**2. Metodología y fuentes de información** ..... 8

**3. Desarrollo del estudio** ..... 10

**3.1. *Biofouling* en membranas de ósmosis inversa** ..... 10

3.1.1.Breve caracterización de la biodiversidad de microorganismos precursores del *biofouling* en membranas de ósmosis inversa ..... 14

3.1.2.Métodos de detección del *biofouling* ..... 17

**3.2.Factores condicionantes de la formación de *biofouling*** ..... 20

3.2.1.Propiedades de la envoltura celular ..... 20

3.2.2.Propiedades condicionantes de la superficie de la membrana..... 21

3.2.3.Condiciones operacionales ..... 23

**3.3.Gestión del *biofouling* en las membranas de ósmosis inversa** ..... 25

3.3.1.Pretratamiento ..... 26

3.3.2.Otros métodos de gestión y control de *biofouling* ..... 31

**4. Conclusiones** ..... 37

**5. Bibliografia** ..... 38

## Índice de figuras

**Figura 1.** a) Proceso de ósmosis. El agua se mueve desde la solución más diluida a la más concentrada. b) Ósmosis inversa. Debido a la presión (ΔP) ejercida sobre la solución de mayor concentración, el agua se mueve hasta el lado de la solución más diluida..... 2

**Figura 2** Imagen de una sección transversal de una membrana compuesta de capa fina obtenida con microscopio electrónico de barrido. ..... 3

**Figura 3.** Movimiento del agua dentro de una membrana de capa fina compuesta en espiral..... 5

**Figura 4** Fases en la formación del *biofilm*. 1. Fase de inducción o adhesión al sustrato. 2. Fase de crecimiento y maduración. 3. Fase de desprendimiento...11

**Figura 5** Fases en la formación del *biofilm* Los polímeros orgánicos y los coloides (a) presentes en el medio se juntan con las partículas exopoliméricas transparentes (b) y el *protobiofilm* (c). Si además se unen bacterias planctónicas individuales (d) o comienzan a segregar sustancias extracelulares poliméricas (e), comenzará a generarse el *biofilm* (f)..... 13

**Figura 6**. Esquema simplificado con los órdenes más comunes en las fases de colonización y maduración del *biofilm*. En rosa, los órdenes dominantes de bacterias, en verde el orden perteneciente al Reino *Fungi* ..... 17

**Figura 7.** Imágenes tomadas con OCT (tomografía de coherencia óptica) en el mismo punto de la membrana, durante un periodo de 50 días, donde se aprecia la formación y evolución del *biofilm*..... 19

**Figura 8** Principales factores condicionantes en la formación de *biofilm*..... 25

**Figura 9** Clasificación de membranas de filtración según el tamaño de sus poros ..... 30

**Figura 10** Imágenes tomadas con microscopia confocal láser de barrido (CLSM) a) Membrana sin tratamiento con D-Tirosina b) Membrana tratada con D-Tirosina ..... 33

**Figura 11.** a) Geometrías de las celdas de los diferentes espaciadores. b) Imagen del espaciador comercial y muestras de los modelos impresos en 3D. c) Imágenes tomadas con microscopio electrónico de barrido (SEM)..... 34

**Figura 12** Principales técnicas de gestión y control de *biofouling*..... 36

## Índice de tabla

**Tabla 1** Valores de calidad de algunos de los parámetros monitorizados requeridos para el agua de alimentación previo al sistema de ósmosis inversa. ..... 27

**Resumen**

La demanda de agua es cada vez más alta y es inevitable el uso de tecnologías que puedan responder a tales necesidades. Un método para la obtención del agua que pueda ser utilizada para diferentes fines, es mediante la desalinización de agua de mar. La tecnología más extendida es mediante plantas de ósmosis inversa, donde se utilizan membranas de filtración.

Debido al continuo contacto con el agua, las membranas de ósmosis inversa terminan viéndose afectadas por los elementos disueltos en ella. Aunque existen tratamientos previos a la entrada del sistema de membranas, diversas sustancias de diferente naturaleza (sustancias inorgánicas, orgánicas, coloides, microorganismos) quedan atrapadas en las membranas. De esta forma se genera el ensuciamiento o *fouling.*

En este trabajo se tratará la problemática que produce la presencia de *biofouling* (ensuciamiento generado por la acumulación de microorganismos) en las membranas de ósmosis inversa de plantas desalinizadoras que trabajan con agua de mar. Para ello, se explican las diferentes etapas de su formación, se dan a conocer algunas de las especies encargadas de generarlo y se exponen diversos métodos de detección. A continuación, se abordan los factores que influyen en su desarrollo y la relación con las superficies de las membranas. Por último, se trata la gestión del *biofouling* en las membranas de ósmosis inversa, conociendo diversas técnicas de prevención y mantenimiento.

## 1. Introducción

En los últimos años, el mercado global de la desalinización ha experimentado un crecimiento muy significativo, sobre todo en la zona de Oriente Medio. En la actualidad, España se encuentra por detrás de Arabia Saudí, Estados Unidos y Emiratos Árabes Unidos, ocupando así el cuarto puesto en cuanto a capacidad instalada. En nuestro país, encontramos un total de 765 plantas desaladoras con producciones superiores a los 100 $m^3$/día**.** De ellas, 360 tratan agua de mar y 405 agua salobre (Asociación española de desalación y reutilización, 2019).

Una de las técnicas más utilizadas para realizar la desalinización es la ósmosis inversa. El agua tratada con esta técnica puede ser de origen marino, salobre e incluso residual. El proceso de ósmosis se produce cuando dos soluciones con diferentes concentraciones se encuentran en contacto mediante una barrera semipermeable, produciéndose una difusión simple. El agua se mueve desde la solución más diluida a la más concentrada sin gasto de energía. La diferencia de nivel producida entre las dos disoluciones es la presión osmótica ($\Delta\pi$) (Figura 1.a) En el proceso de ósmosis inversa, el agua se mueve desde la solución más concentrada a la más diluida. Este proceso se consigue aplicando una presión lo suficientemente alta en la disolución con mayor concentración para vencer la presión osmótica (Figura 1.b) (Sánchez et al., 2009).

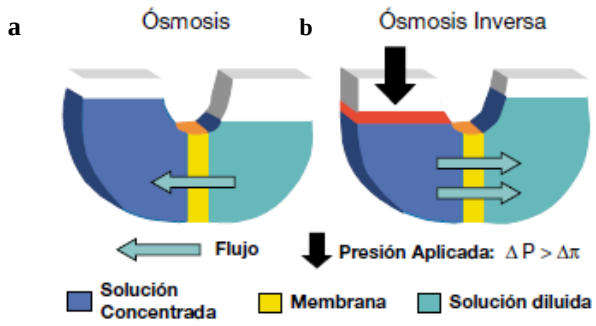


**Figura 1.** a) Proceso de ósmosis. El agua se mueve desde la solución más diluida a la más concentrada. b) Ósmosis inversa. Debido a la presión ($\Delta P$) ejercida sobre la solución de mayor concentración, el agua se mueve hasta el lado de la solución más diluida (Sánchez et al., 2009)

Para lograr que la concentración de solutos en el agua sea la menor posible, se hace pasar el agua a través de un sistema de membranas a altas presiones. De esta manera, las membranas permiten el paso del agua y bloquean el transporte de otras sustancias a través de ellas. Diferentes iones como el Boro, coloides, microorganismos, o la sal se verán interceptados en mayor o menor medida según el grado de permeabilidad que posean las membranas, que depende de las propiedades químicas del material del que están compuestas (Matin et al., 2011) En el mercado se pueden encontrar membranas de diferentes materiales como acetato de celulosa, triacetato de celusosa, aryl-alkyl poliamida o poliurea y poliamida aromática. Actualmente, el material más utilizado para las membranas empleadas en los procesos de ósmosis inversas es la poliamida aromática. Este tipo de membranas son conocidas como membranas compuestas de capa fina ("thin film composite"), y como vemos en la Figura 2 están estructuradas en tres capas (Eyvaz et al., 2018):

- La parte superior es de poliamida ultrafina, con un espesor de unas 0.2 micras. Esta parte es la que se encuentra en contacto con el agua, y la que sirve como barrera, generando el rechazo de la sal y otros elementos.
- La capa intermedia es de polisulfona microporosa y suele tener unas dimensiones entre 40 y 60 micras.
- La capa base, de mayor grosor, sirve como soporte reforzado y suele ser de poliéster no tejido. hasta 120 micras de espesor

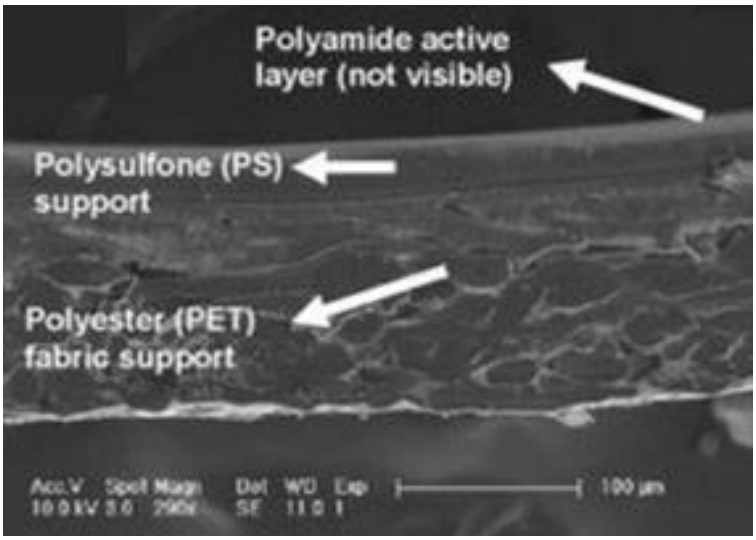


**Figura 2** Imagen de una sección transversal de una membrana compuesta de capa fina obtenida con microscopio electrónico de barrido (Eyvaz et al., 2018).

Además de la composición química de las membranas, otra característica muy importante es la compactación del material. En las instalaciones de desalinización se persigue conseguir el máximo rendimiento por lo que el material debe ser resistente a las altas presiones a las que está sometido, pero además ocupar poco espacio. Según la disposición de las membranas encontramos diferentes tipos de las mismas. Pueden ser planas, tubulares, de tipo plato-marco, de fibra hueca, o en espiral, siendo este último tipo las más utilizadas en las plantas de desalinización en la actualidad (Kucera, 2015).

Antes de entrar al sistema de membranas, el agua de alimentación sufre un proceso de pretratamiento mediante técnicas físicas (filtración, microfiltración, decantación, entre otros) (Bonnelye et al., 2004), técnicas químicas (uso de biocidas, desinfectantes), o técnicas físico-químicas como coagulación-floculación. Generalmente se suelen combinar los tratamientos para disminuir la carga de sólidos en suspensión que pueda contener el agua, y así no dañar las membranas a su paso por ellas, por ello este paso es importante (Kavitha et al., 2019), (Valavala et al., 2011).

Como ya hemos mencionado anteriormente, las membranas más utilizadas en ósmosis inversa son las de tipo compuestas de capa fina (TFC) con configuración en espiral. Para darles esa forma, la membrana es doblada y se introduce una red plástica en el pliegue formado, que funciona como un espaciador para el agua de alimentación, generando turbulencias en el agua y aportando el suficiente espacio libre para que pueda moverse. Se añade otra lámina, el espaciador del permeado, por el cual el agua permeada fluirá con movimientos en espiral hasta el tubo colector, sobre el cual se enrollan todas las capas. El agua de rechazo, el agua con los solutos que no han podido atravesar las membranas, circula paralelamente al tubo de permeado hasta la salida del concentrado. El permeado será conducido a la zona de postratamiento, que será diferente según el uso final del agua permeada. Todo el proceso descrito anteriormente se muestra en la Figura 3 (Sánchez et al., 2009).

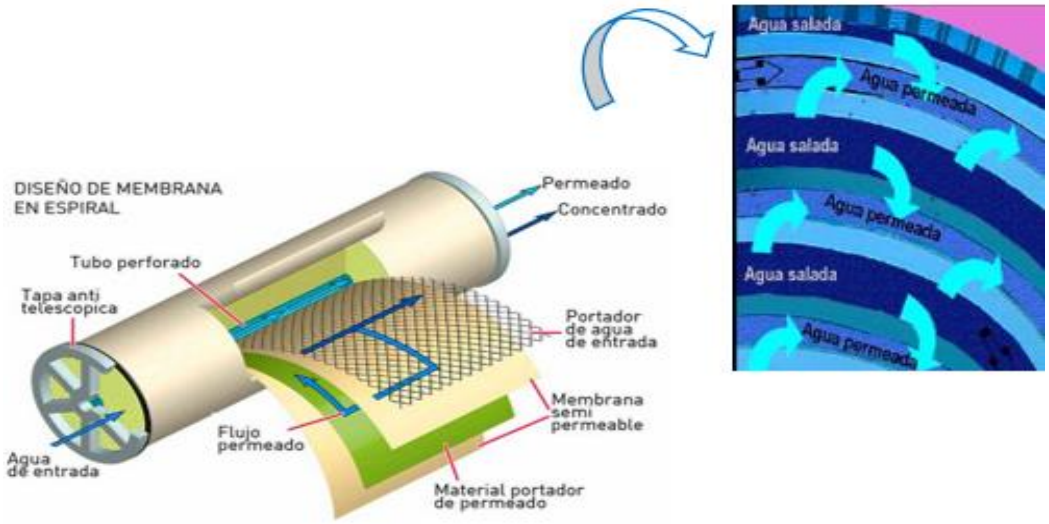


**Figura 3.** Movimiento del agua dentro de una membrana de composición delgada en espiral (Osmofilter S.L, 2020) .

Al estar en continuo contacto con el agua las membranas terminan viéndose afectadas por los solutos que esta contiene. El ensuciamiento será diferente según el origen y las características del agua de alimentación que se trate en la planta, al igual que la eficacia de los pretratamientos. Es importante el mantenimiento de las membranas mediante limpiezas químicas. Si no se lleva a cabo un control, las membranas se verán afectadas produciéndose una disminución en el flujo de permeado y en el de rechazo, que puede degenerar en una pérdida de eficiencia en el sistema. El mantenimiento evita el coste económico que supone el reemplazo de las membranas dañadas. Además, evita el incremento del gasto energético, pues para obtener igual caudal, en un sistema de membranas afectado por esta problemática se consumirá más energía que con unas membranas limpias. Finalmente, otra ventaja asociada al mantenimiento es el aumento de la vida útil de las membranas, reduciéndose de esta forma el impacto ambiental que supone la generación de vertidos cuando son reemplazadas (Byrne, 2018).

Debido a lo anterior, los fabricantes de membranas recomiendan realizar una limpieza química al menos una vez al año, cuando se observe una disminución entre el 10-15 % del flujo de permeado, cuando disminuya el de rechazo de sales entre 1-2 %, o cuando se produzca una diferencia de presión (Gutiérrez et al., 2016), (Sánchez et al., 2009).

Como ya se ha comentado, ciertos elementos no pueden atravesar las membranas y son rechazados. Sin embargo, en algunas ocasiones se quedan incrustados entre los poros de la membrana, o adheridos a su superficie. El acúmulo de materiales inorgánicos, sustancias orgánicas como aceites, o coloides es conocido como incrustación o "*fouling*". Cuando se concentran microorganismos, se le denomina bioincrustación, o "*biofouling*". Este proceso comienza cuando los microorganismos se adhieren a la superficie de la membrana y se produce una colonización, aprovechándose de las sustancias biodegradables disueltas en el agua como fuente de nutrientes. Debido a la alimentación constante, su reproducción y desarrollo son más rápidos y la asociación de colonias terminan formando biopelículas o *"biofilms"*. Cuanto más tiempo pase desde el asentamiento de las colonias, más complicada será su eliminación, pues se vuelven más resistentes a las limpiezas (Matin et al., 2011).

La formación de *biofilm* es inevitable, por lo que se debe tratar de encontrar el equilibrio en las plantas de desalinización que permita poder trabajar contando con su presencia. Para controlar su desarrollo y alargar al máximo el tiempo de formación de *biofouling*, hay que tener una buena gestión del sistema, basada en un buen pretratamiento para minimizar el crecimiento de microorganismos (Vrouwenvelder et al., 2011).

Actualmente, existen numerosas líneas de investigación abiertas sobre el estudio de la formación del *biofouling*, su prevención y control en las membranas. Muchas de las investigaciones están enfocadas a una mejor comprensión del ámbito microbiológico. Conociendo las características de las especies que los conforman se pueden proponer soluciones más específicas (Chee & Liu, 2007), (Khan et al., 2014), (Matin et al., 2011), (Maddah & Chogle, 2017). Otras líneas, aproximan el problema desde el uso de tecnologías de membranas, como la modificación de la superficie y características químicas de la misma, o el uso de nanotecnología (Jiang et al., 2017), (Kim et al., 2003), (Liu et al., 2019). También, mediante el uso de desinfectantes como la cloración, el uso de ultravioleta u Ozono (Al-Abri et al., 2019).

## 1.1. ***Objetivos***

El objetivo principal de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica para identificar los diferentes métodos de detección y caracterización de precursores de *biofouling* en agua de mar, y dar a conocer las alternativas de diseño y métodos de operación existentes actualmente, para minimizar su impacto sobre las membranas de ósmosis inversa. En base a este objetivo principal, se establecen los siguientes objetivos específicos:

- Exponer las fases de formación del *biofouling.*
- Determinar y estudiar las especies formadoras de *biofilm* más habituales en plantas donde el agua de alimentación procede del mar.
- Conocer los factores que condicionan la formación del *biofouling*.
- Presentar los diversos tratamientos y alternativas de diseño para prevenir y gestionar la formación de *biofouling.*

## 2. Metodología y fuentes de información

Para la realización de la presente revisión bibliográfica se han seguido los siguientes criterios:

**1.** Se ha realizado una primera búsqueda general sobre el proceso de ósmosis inversa y los tipos de membranas que se utilizan.

**2.** Al tratarse de una temática tan extensa, se han realizado búsquedas sobre varios temas más concretos para facilitar y focalizar la investigación:

- Se ha recopilado información sobre el proceso de formación de *biofouling* y *biofilms* de forma genérica. Y en base a este primer paso se realizaron nuevas búsquedas basadas en las palabras clave obtenidas en la primera fase.
- *Se* han consultado artículos relacionados con las especies que tienden a generar el *biofilms*, los impactos sobre las membranas y las consecuencias que tienen.
- La búsqueda de información sobre prevención y tratamientos frente al *biofouling* en membranas, se ha dividido en diferentes temáticas:

    - Pretratamientos en el agua de alimentación
    - Modificación de las superficies de las membranas
    - Utilización de biotecnología

**3.** La información utilizada en esta revisión se ha extraído de artículos científicos y libros. La plataforma digital principal ha sido *Science Direct*, pues dispone de una gran base de datos y se pueden encontrar un gran número de revistas científicas relacionadas con los sectores del agua o las tecnologías de membranas. También se han utilizado otros buscadores como el portal de

búsqueda de las editoriales *Taylor and Francis online*, *Nature, Springer*, o *Multidisciplinary Digital Publishing Institute* (MDPI).

**4.** Entre las revistas más utilizadas destacamos *Journal of Membrane Science, Desalination, Chemical Engineering Journal, Applied Surface Science, Biofouling, Desalination and Water Treatment, Water research* o *Environmental Technology & Innovation.* Todas estas revistas suelen encontrarse entre los cuartiles Q1 y Q2 según el portal *Scimago Journal & Country Rank* (SJR) (SCImago, s. f.)

**5.** Por último, se ha intentado que la información recopilada en esta revisión sea lo más actual posible, sobre todo en cuanto a tecnologías de membranas se refiere y a la investigación sobre los microorganismos formadores de *biofouling.*

## 3. Desarrollo del estudio

La adhesión y acumulación de microorganismos en la superficie de las membranas desencadena la formación del *biofilm.* Cuando el crecimiento del *biofilm* comienza a ser perjudicial para la eficiencia operativa del sistema, se considera que se puede hablar de *biofouling.* Este fenómeno afecta de forma negativa a las membranas, y el impacto que produce finalmente se traduce en pérdidas económicas para las plantas de desalinización con el paso del tiempo (Flemming et al., 1997), (Matin et al., 2011), (Maddah & Chogle, 2017).

Este capítulo se divide en tres apartados principales. En el apartado 3.1 se explican los procesos que dan lugar a la formación del *biofouling* en las membranas de ósmosis inversa y los microorganismos que lo generan, así como los inconvenientes que produce este fenómeno. A continuación, el apartado 3.2 expone los factores que influyen en la formación del *biofouling*. Por último, las diversas técnicas de gestión y prevención se explican en el apartado 3.3.

### 3.1. *Biofouling* en membranas de ósmosis inversa

La formación del *biofilm* consiste en las siguientes etapas (Figura 4) (Crouzet et al., 2014), (De Vries et al., 2020), (Flemming & Wingender, 2010), (Indranil & Samiran, 2019), (Maddah & Chogle, 2017), (Suckeveriene, 2019):

- Fase de inducción. Los microorganismos se depositan y se asientan en la superficie de la membrana mediante adhesión. El éxito en este paso va a depender de las características físicas y químicas propias de la membrana, las propiedades que posea el flujo de alimentación (temperatura, concentración de nutrientes, pH, entre otros) y de las características de la envoltura celular de los organismos. Esta fase es reversible.

- Fase de crecimiento y maduración. En esta fase, se acumulan más microorganismos que se unen a las especies adheridas previamente y comienzan a agregarse entre ellos. Seguidamente, se empieza a excretar la matriz extracelular polimérica, un conjunto de sustancias extracelulares poliméricas (EPS), cuya composición varía en función de las especies que lo forman y las necesidades a las que tengan que hacer frente. Por lo general, estas estructuras están compuestas de agua, proteínas, exopolisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos. Esta fase es irreversible.

- Fase de desprendimiento. En esta fase, las capas más externas de la matriz comienzan a desprenderse. En el caso de las bacterias, dejan de sintetizar sustancias extracelulares poliméricas e incrementan la expresión de genes responsables de la síntesis de estructuras celulares de motilidad, como flagelos, cilios o pilis. De esta forma se depositan en una superficie nueva y comienzan de nuevo el ciclo.

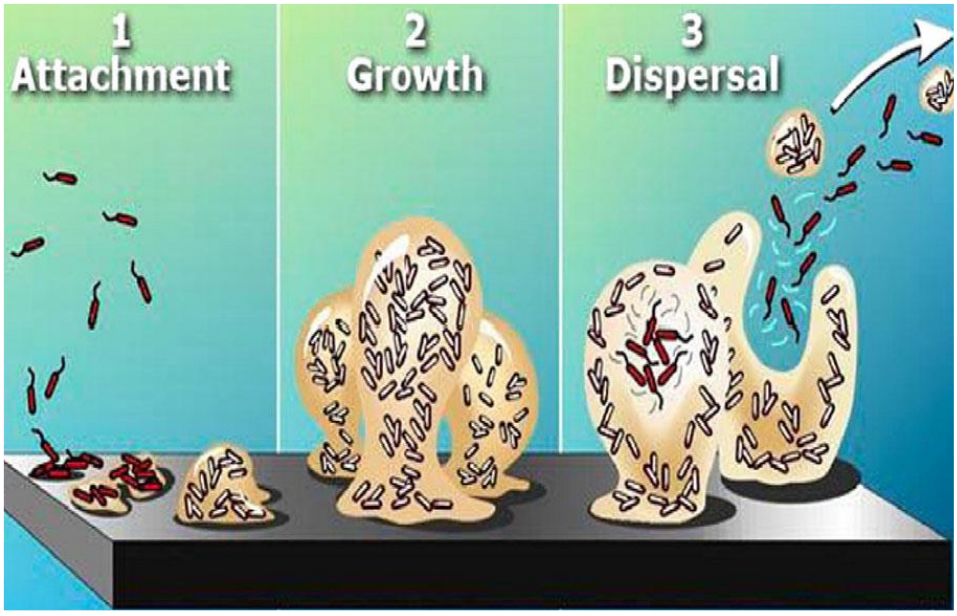


**Figura 4** Fases en la formación del *biofilm. 1.* Fase de inducción o adhesión al sustrato. 2. Fase de crecimiento y maduración. 3. Fase de desprendimiento (Maddah & Chogle, 2017).

La matriz extracelular polimérica la componen una comunidad diversa de multiespecies y tiene una alta variedad de funciones que hace que una vez que se llega al punto de su formación sea difícil su eliminación. Algunas de estas funciones son: servir como agregado para la unión de los microorganismos, actuar como almacenamiento para los nutrientes, o aportar estabilidad a la estructura y permitir la comunicación entre los microorganismos. Además, funciona como una barrera protectora, pues confiere resistencia y tolerancia a diversos compuestos como desinfectantes y antibióticos (De Beer & Stoodley, 2014), (Flemming & Wingender, 2010). El *biofilm* puede ser clasificado en función de las capas que se formen:

- Si se crea una única capa (monocapa), la interacción de los microorganismos con la superficie es más intensa que la interacción entre individuos.

- Si se generan más capas (multicapa), la interacción entre individuos es más relevante que la relación microorganismos-superficie. Al ser constituido por mayor número de individuos la conexión entre los mismos es fundamental para un buen funcionamiento de la estructura.

En el caso de las comunidades microbianas, o las comunidades de levaduras y hongos, adquiere una gran importancia el "*quorum sensing*", el cual es un mecanismo de comunicación que les permite valorar las condiciones del medio, como la presencia de desinfectantes, escasez de nutrientes, o evaluar las densidades celulares locales. Así, pueden generar una respuesta sincronizada y expresar el conjunto de genes más adecuado (De Vries et al., 2020), (Indranil & Samiran, 2019), (March & Eiros, 2013).

Además de la matriz extracelular polimérica, otro factor clave en la formación del *biofilm* son las partículas exopoliméricas transparentes (TEP). Estas partículas son microgeles orgánicos con un tamaño variable entre 0.4 y 200 µm, que se pueden encontrar en todos los ambientes acuáticos. No son partículas sésiles, sino que se encuentran flotando en la masa de agua. En "hot spots", con alta actividad de microorganismos (microalgas, protistas o bacterias), las partículas exopolímeras transparentes sirven como base para el crecimiento de los individuos que se adhieren a ellas y que posteriormente, realizan una colonización. Para describir a

este tipo de partículas exopoliméricas transparentes, se utiliza el término *protobiofilm* (Bar-Zeev et al., 2012).

Así, cuando polímeros orgánicos y diversos coloides existentes en el agua de mar se encuentran con partículas exopolímeras transparentes y *protobiofilm* presentes en el medio, comienzan a agregarse y adherirse a la superficie de la membrana. En este punto si los microorganismos empiezan a depositarse en ese medio, se daría por iniciada la fase de inducción del *biofilm* tal y como se muestra en la Figura ***5*** (Nagaraj et al., 2018).

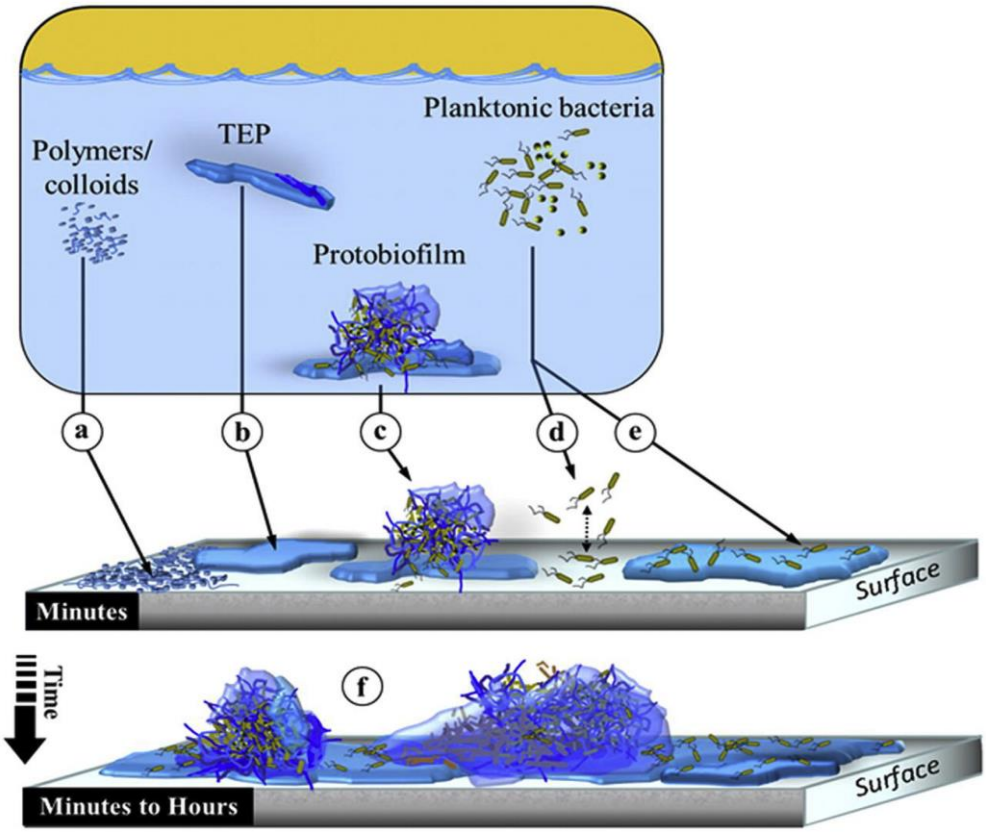


**Figura 5** Fases en la formación del *biofilm* Los polímeros orgánicos y los coloides (a) presentes en el medio se juntan con las partículas exopoliméricas transparentes (b) y el *protobiofilm* (c). Si además se unen bacterias planctónicas individuales (d) o comienzan a segregar sustancias extracelulares poliméricas (e), comenzará a generarse el *biofilm* (f) (Nagaraj et al., 2018).

### 3.1.1. Breve caracterización de la biodiversidad de microorganismos precursores del *biofouling* en membranas de ósmosis inversa

Según la naturaleza del agua que se vaya a tratar, si es agua de mar, salobre, o aguas residuales y la localización geográfica de la planta de desalinización, los organismos precursores de la formación del *biofouling* serán diferentes. Si el agua de alimentación es del mismo tipo, por ejemplo, agua de mar, encontraremos similitudes entre los ecosistemas microbiológicos de localidades diferentes (Maddah & Chogle, 2017). Si se conoce la composición básica de la comunidad y la ecología del *biofilm* formado en las membranas, se pueden plantear soluciones más específicas a este problema (Martínez-Campos et al., 2018), (Zhang et al., 2011).

Generalmente, el *biofilm* contiene entre $10^6$ y $10^8$ unidades formadoras de colonias de bacterias (CFU) por $cm^2$ de membrana (Maddah & Chogle, 2017). Según el tiempo de vida útil que tenga la membrana, y por lo tanto el tiempo de maduración del *biofilm*, su heterogeneidad y composición serán diferentes. Además, dependiendo de la zona de la membrana, las comunidades serán distintas, debido a la forma en que les afectan los diversos factores externos (fuerza de cizallamiento, concentración de sal, cambios de presión, etcétera) (Nagaraj et al., 2017).

Cuando se produce la invasión en un nuevo medio, hay organismos que, debido a determinadas características propias de su especie (rápida multiplicación, o secreción de ciertas moléculas como polisacáridos ricos en galactosa que proporcionan fuerzas de adhesión más fuertes comparadas con otros azúcares), son los más apropiados para comenzar la colonización (Nagaraj et al., 2018).
En estas primeras etapas de formación de *biofilm,* se han registrado diversas especies colonizadoras. A continuación, se detallan algunos de los grupos a los que pertenecen (Martínez-Campos et al., 2018), (Nagaraj et al., 2018) :

- Filo *Proteobacteria*. Clase *Alfaproteobacteria*.
  - Orden *Rhodobacterales*
  - Orden *Sphingomonadales*
  - Orden *Rhizobiales*

  Las especies pertenecientes a estos tres órdenes tienen la capacidad de degradar contaminantes orgánicos y secretar glicoesfingolípidos (moléculas que desempeñan un papel relevante en la colonización inicial).

- Filo *Bacteroidetes*. Clase *Flavobacteriia*.
  - Orden *Flavobacteriale*s

- Filo *Bacteroidetes*. Clase *Sphingobacteriia*
  - Orden *Sphingobacteriales*

- Filo *Firmicutes*. Clase *Bacilli.*
  - Orden *Bacillales.*

  Este grupo destaca por su capacidad de formación de esporas, su resistencia a los productos químicos y su rápida multiplicación.

Con el paso del tiempo, el ecosistema comienza a variar debido a la agregación de nuevas especies, el incremento y la disminución de otras, produciéndose una sucesión microbiana. Esto es un indicador de la maduración del *biofilm* (de Vries et al., 2020), (Nagaraj et al., 2018).

- Filo *Proteobacteria*. Clase *Gammaproteobacteria*
  - Orden *Xanthomonadales*
  - Orden *Pseudomonadales*

En la etapa de maduración existen gran variedad de especies. Algunas de ellas disponen de ciertas ventajas sobre los fenómenos adversos del medio, o sobre otras colonias, llegando a desplazarlas en el caso de darse competencias por espacio o alimento. Por ejemplo, en el orden *Pseudomonadales,* algunas especies del género *Pseudomonas,* son capaces de secretar polisacáridos como el alginato,

que favorece su adhesión. Otras del mismo género, pueden biodegradar ciertos productos antiincrustantes, reduciendo su eficacia e induciendo la precipitación de Sulfato cálcico mediante biomineralización. E incluso pueden tener propiedades antibióticas como en el caso de *Pseudoalteromonas ruthenica,* dentro del orden *Alteromonadales* (Ashfaq et al., 2020),(Harouaka et al., 2016), (Nagaraj et al., 2017). Entre las especies dominantes en esta etapa podemos encontrar:

- Filo *Proteobacteria*. Clase *Gammaproteobacteria*
  - Orden *Thiotrichales*
- Filo *Proteobacteria*. Clase *Alfaproteobacteria*
  - Orden *Rhizobiales*.

  Las especies pertenecientes al orden Rhizobiales pueden encontrarse en las zonas más profundas del *biofilm* (dentro de microcolonias) donde las condiciones son anóxicas. Que puedan asentarse en estas zonas, supone una clara ventaja frente al resto de colonias de otros órdenes (Chee & Liu, 2007), (Zhang et al., 2011).

Además de especies bacterianas, en los *biofilms* se han encontrado representantes del Reino *Fungi*, aunque su diversidad suele ser muy baja. Se destaca la presencia del siguiente orden (Martínez-Campos et al., 2018):

- Filo *Ascomycota*, Clase *Saccharomycotina*
  - Orden *Saccharomycetales*, siendo el género *Candida* el más representativo
  -

La clasificación que se acaba de exponer se recoge de forma gráfica en la Figura 6.

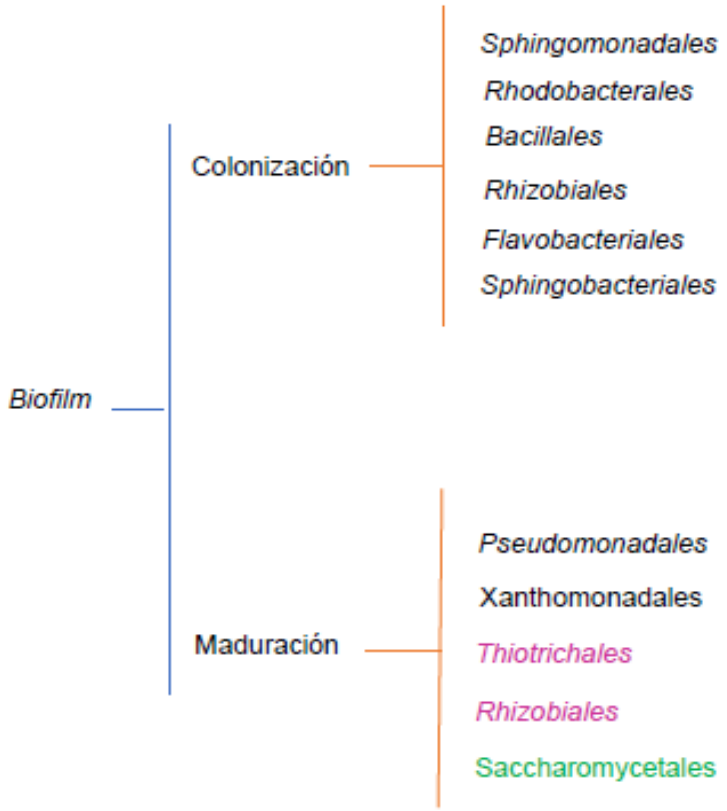


**Figura 6**. Esquema simplificado con los órdenes más comunes en las fases de colonización y maduración del *biofilm*. En rosa, los órdenes dominantes de bacterias, en verde el orden perteneciente al Reino *Fungi*

### *3.1.2. Métodos de detección del biofouling*

Se considera que existe *biofouling* al observarse una disminución del flujo de permeado entre el 10%-15%, cuando disminuye el de rechazo de sales entre 1-2%, o cuando se producen diferencias de presión. Cuando esto sucede, se pueden realizar diferentes métodos de análisis para confirmar su presencia en las membranas (Gutiérrez et al., 2016), (Sánchez et al., 2009).

El método más extendido es la realización de autopsias de membranas. Este método es invasivo y destructivo, ya que la membrana es extraída del módulo, abierta y diseccionada. Consiste en la toma de varias muestras en diferentes zonas y capas de la membrana para posteriormente analizarlas (Gaiker, 2020). Este método se apoya en diversas tecnologías que ayudan a la caracterización del

*biofouling*, como la instrumentación microscópica (microscopio electrónico de barrido (SEM), o la microscopía láser confocal de barrido (CLSM)), técnicas espectroscópticas (equipos de reflectancia total atenuada y espectroscopia de transmisión de infrarrojo con transformada de Fourier (ATR-FTIR)), análisis para determinar las sustancias extracelulares poliméricas (EPS) (Ashfaq et al., 2019), (Ashfaq et al., 2020), (González, 2012), (Peña et al., 2013), o métodos moleculares como la secuenciación de los genes 16S y 18S RNAr (de Vries et al., 2020), (Nagaraj et al., 2017).

Antes de llegar al punto de realizar autopsias y por lo tanto reemplazar las membranas, se pueden realizar seguimientos del estado de la membrana para comprobar el desarrollo del *biofilm*. Las tomografías de coherencia óptica (OCT), es un método no invasivo, ni destructivo, pero el principal inconveniente es que la membrana a estudiar debe estar en un módulo transparente. Con las imágenes tomadas mediante esta técnica se pueden detectar las sustancias extracelulares poliméricas producidas y la presencia de contaminantes orgánicos e inorgánicos en la superficie de la membrana. Además, permite supervisar *in situ* la formación del *biofilm* y estudiar su estructura y morfología (Figura 7). También se ha empleado para cuantificar el ensuciamiento del canal del espaciador de alimentación en los módulos de membrana (Park et al., 2017), (Vrouwenvelder et al., 2009).

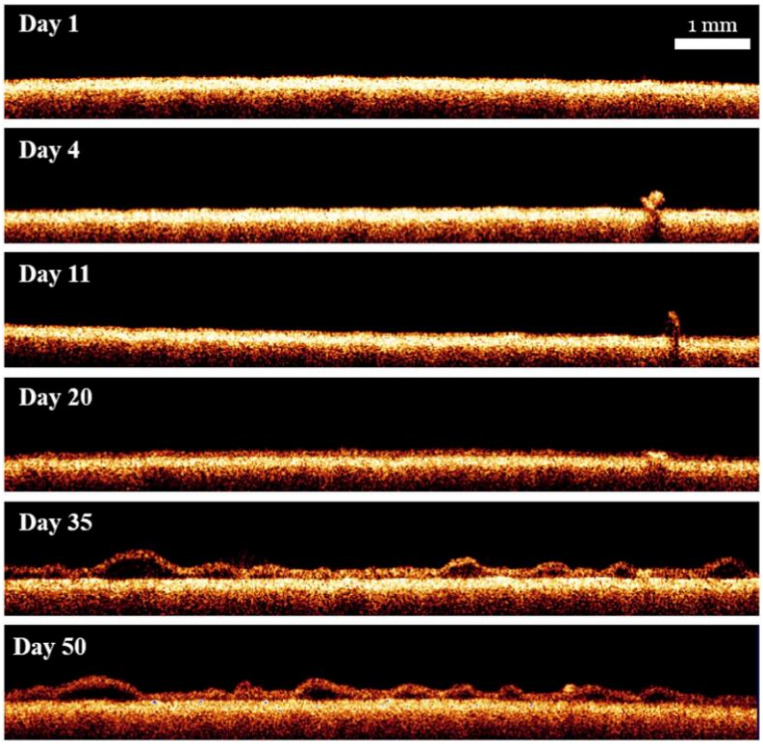


**Figura 7.** Imágenes tomadas con OCT (tomografía de coherencia óptica) en el mismo punto de la membrana, durante un periodo de 50 días, donde se aprecia la formación y evolución del *biofilm* (Park et al., 2017)

Otra técnica no invasiva, ni destructiva, es la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (NMR). Con este método se puede conocer la distribución espacial del *biofilm* en el módulo de membrana, su velocidad de formación, su evolución y su tasa de desprendimiento en condiciones adversas (Vrouwenvelder et al., 2011). Además, permite obtener información sobre las vías metabólicas, los fenómenos hidrodinámicos y movimientos de materia que se producen en el *biofilm*. Algunas de sus desventajas son el hecho de tener que sacar la membrana del módulo para poder tomar las imágenes, por lo que tiene que ser reemplaza por otra mientras se realiza el estudio, presenta una baja relación señal/ruido, se necesita mucho tiempo para obtener los datos y además, es un método caro (Al-Juboori & Yusaf, 2012).

### 3.2. Factores condicionantes de la formación de *biofouling*

La formación del *biofilm* está influenciado por diversos factores como las cualidades de la envoltura celular de los microorganismos, las propiedades de la superficie de las membranas y las condiciones operacionales del sistema (Jiang & Ladewig, 2017). A continuación, se explican cada uno estos condicionantes.

#### 3.2.1. Propiedades de la envoltura celular

Por tratarse del grupo más representativo en la formación del *biofilm*, se exponen las características físico-químicas de la envoltura celular de las bacterias. Dichas características influyen sobre la eficiencia de la adhesión de estos microorganismos a la superficie de la membrana. Cuando los niveles de adhesión son bajos la formación del *biofilm* será más lenta (Habimana et al., 2014).

- Hidrofobicidad en la envoltura celular. Las envolturas celulares bacterianas de entornos acuáticos suelen poseer grupos funcionales hidrofóbicos (repelen las moléculas de agua). En el caso de membranas de ósmosis inversa, el aumento de los niveles de adhesión bacteriana se correlaciona con el aumento de la hidrofobicidad de la superficie celular (Pang et al., 2005). El grado de hidrofobicidad de la envoltura celular depende en gran medida de la cantidad y la calidad de las sustancias extracelulares poliméricas (EPS) (Zhang et al., 2015). Se ha comprobado que dichas estructuras son susceptibles al estrés de cizallamiento disminuyendo la velocidad de formación de *biofilm* (Berk et al., 2012).

- Carga de la envoltura celular bacteriana. Las envolturas celulares de las bacterias generalmente tienen carga neta negativa a pH neutro. Si aumenta la electronegatividad, suele provocar una reducción en la eficiencia de adhesión bacteriana al sustrato (Subramani & Hoek, 2008). Cuando una colonia está compuesta por especies distintas, es heterogénea, puede presentar diferentes cargas superficiales. De esta forma, les permite adherirse a superficies con

diferentes cargas, aumentando así sus posibilidades de adhesión (Habimana et al., 2014).

- Estructura de la superficie bacteriana. La superficie de la envoltura celular bacteriana puede modificarse en respuesta a diversos estímulos, generando estructuras de motilidad, como cilios, o flagelos, o modificando la cantidad de sustancias extracelulares poliméricas que secreta. Estas modificaciones influyen en la bioadhesión (Habimana et al., 2014), (Kim & Vrouwenvelder, 2019).

### 3.2.2. Propiedades condicionantes de la superficie de la membrana

- Rugosidad. La rugosidad de la superficie de las membranas depende del tamaño, la forma, la frecuencia y distribución de las protuberancias de la superficie (Choudhury et al., 2018). Existen gran variedad de trabajos que estudian la posible relación entre la rugosidad de la superficie de las membranas y la bioadhesión. Según la bibliografía consultada, no se ha apreciado un consenso sobre este tema. Algunos estudios indican que el aumento de la superficie y las depresiones existentes en ella, son responsables de la mejora de adhesión, colonización y agregación para los microorganismos (Kim & Vrouwenvelder, 2019), (Maddah & Chogle, 2017), (Myint et al., 2010). Por el contrario, en otros estudios se concluye que dicha relación no está tan clara (Habimana et al., 2014) (Rana & Matsuura, 2010).

- Hidrofilidad. Las superficies de las membranas de ósmosis inversa están compuestas por polímeros que aumentan su hidrofilidad (tienen gran afinidad por las moléculas de agua). La mayoría de los microorganismos son hidrófobos, por lo que la adhesión microorganismos- superficie será menos eficaz (Bucs et al., 2018), (Maddah & Chogle, 2017), (Rana & Matsuura, 2010).

El carácter hidrofílico puede medirse con el ángulo de contacto que se genera cuando se posa un microorganismo en la superficie de la membrana. Si se toma como ejemplo una membrana hidrofílica, el ángulo de contacto que se genera entre un microorganismo y la superficie es alto, más de 90º. Este valor indica que el área

de contacto entre la envoltura celular del microorganismo, con carácter hidrófobo, y la superficie de la membrana es pequeña, afectando de esta manera a la adhesión. Si el ángulo de contacto es bajo, la molécula que llega a la superficie tiene carácter hidrofílico (Habimana et al., 2014), (Myint et al., 2010). Sin embargo, la hidrofilidad de la superficie de la membrana puede tener un efecto negativo, pues puede ser un buen sustrato donde se acumule materia orgánica o inorgánica, con carácter hidrofílico (Kang & Cao, 2012).

- Tamaño del poro. El tamaño de los poros influye en la morfología de la membrana y en sus propiedades selectivas. El grado de reticulación de la capa de poliamida es responsable del rechazo de la sal, a mayor grado de reticulación, mayor rechazo. Cuando lo poros tienen un tamaño pequeño, tienen mayor eficiencia en el rechazo de sal en comparación con los de tamaño de poro más grandes. Sin embargo, la probabilidad de generar mayor acumulación de sustancias es alta (Liu et al., 2019).

- Carga de la membrana. La mayoría de las membranas comerciales tienen cargas superficiales negativas, por lo que a los solutos o microorganismos con carga positiva les será más fácil el asentamiento en su superficie (Choudhury et al., 2018). Si los solutos o microorganismos tienen carga negativa, la adhesión es baja, pero tienen una mayor viabilidad. Por el contrario, cuando la superficie de la membrana tiene carga positiva, la adhesión de los microorganismos es muy alta, pero la viabilidad de las colonias disminuye. Esta situación puede volverse ventajosa para los microorganismos, pues pueden irse acumulando sobre los microorganismos dañados, aumentado así el *biofilm* (Habimana et al., 2014).

- Polarización por concentración Durante el proceso de filtración, los solutos presentes en el agua de alimentación que son rechazados por la membrana se van acumulando cerca de la superficie de esta. A dicha acumulación se le denomina polarización por concentración. Un ejemplo puede ser cuando la concentración de sal cerca de la superficie de la membrana supera la concentración de sal del agua de permeado (Maddah & Chogle, 2017). En presencia de sustancias extracelulares poliméricas (EPS), la polarización aumenta, pues estas sustancias atraen a otros elementos como iones inorgánicos (Mansouri et al., 2010). Cuando además la

concentración de solutos es muy alta suele generarse la denominada capa de gel. Esta nueva formación favorece la precipitación de algunos solutos cuando se alcanza su límite de solubilidad (Reverberi et al., 2014). Gracias a las turbulencias que se producen en los espaciadores de alimentación situados entre las membranas, se minimizan los efectos de este fenómeno, debido a que mejoran la mezcla del agua de alimentación. De esta forma, se reduce la polarización de concentración en las proximidades de la membrana, influyendo a su vez sobre la formación del *biofilm* (Bucs et al., 2018).

### 3.2.3. Condiciones operacionales

- Velocidad de permeado. El incremento de la velocidad del flujo de permeado incrementa la polarización en la superficie de la membrana. Este incremento resulta en una mayor deposición de nutrientes y microorganismos, lo que resulta en un desarrollo más rápido del *biofilm* (Habimana et al., 2014), (Saeki et al., 2017).

- Flujo de nutrientes en el agua de alimentación. La presencia de nutrientes no produce ningún impacto en las membranas, pero sirven como fuente de alimentación a los microorganismos (Kim & Vrouwenvelder, 2019). Si se disminuye la concentración de carbono orgánico total (TOC) en el agua de alimentación, la fase de crecimiento inicial de *biofilm* es más corta, y la cantidad producida de éste es menor (Maddah & Chogle, 2017).

- Presión transmembrana. Las células bacterianas adheridas a la superficie de la membrana impiden la redistribución de la sal cuando se encuentra cerca de la superficie, lo que da lugar a una elevada polarización y por consiguiente, a un aumento en la presión osmótica (Herzberg & Elimelech, 2007). Esta situación se realimenta, pues si aumenta la polarización de concentración por el incremento de concentración de solutos en la superficie de la membrana, el crecimiento bacteriano también lo hace. Esto conllevará un aumento en la presión (Saeki et al., 2017).

- Temperatura en el agua de trabajo. La temperatura del agua influye en el crecimiento bacteriano. Un cambio de temperatura puede producir modificaciones en la superficie de las envolturas bacterianas, dando como respuesta un cambio en la carga, o en la hidrofobicidad, afectando a la adhesión con la superficie. Así, este parámetro afecta a la estructura, cantidad y grosor de *biofilm*, por ejemplo, a temperaturas más altas, la acumulación de *biofilm* es más rápida (Farhat et al., 2016).

- pH. El pH del agua influye sobre las cargas de la superficie de la membrana y sobre la de los microorganismos. Así, los cambios de pH condicionan la bioadhesión. Sin embargo, el pH que puede afectar a las bacterias es diferente según las especies que conformen el *biofilm*. Además, poseen una gran facilidad para responder a los cambios de este parámetro, incluso pudiendo llegar a adaptarse. Se ha comprobado que las colonias embebidas en el *biofilm* son más resistentes a estos cambios que en estado libre (Baker & Dudley, 1998) También, hay que tener en cuenta el pH que toleran las membranas, ya que pueden dañarse si se trabaja a un pH demasiado ácido o demasiado básico. Por eso, es difícil establecer un valor determinado de pH por lo que se trabaja con rangos de valores (entre 4 y 11) (Voutchkov, 2010).

A modo de resumen, la Figura 8 presenta todos los factores que influyen en la formación del *biofilm* que se han expuesto en este apartado. Además, se han añadido los aspectos biológicos ya explicados en el apartado 3.1 con el objetivo de dar una visión completa. Como se puede observar en la figura, en azul se representan los parámetros operacionales, en amarillo las características condicionantes de las superficies de las membranas. En verde, las propiedades de la envoltura celular de los microorganismos y en color rojo las principales causas biológicas de la formación del *biofilm*.

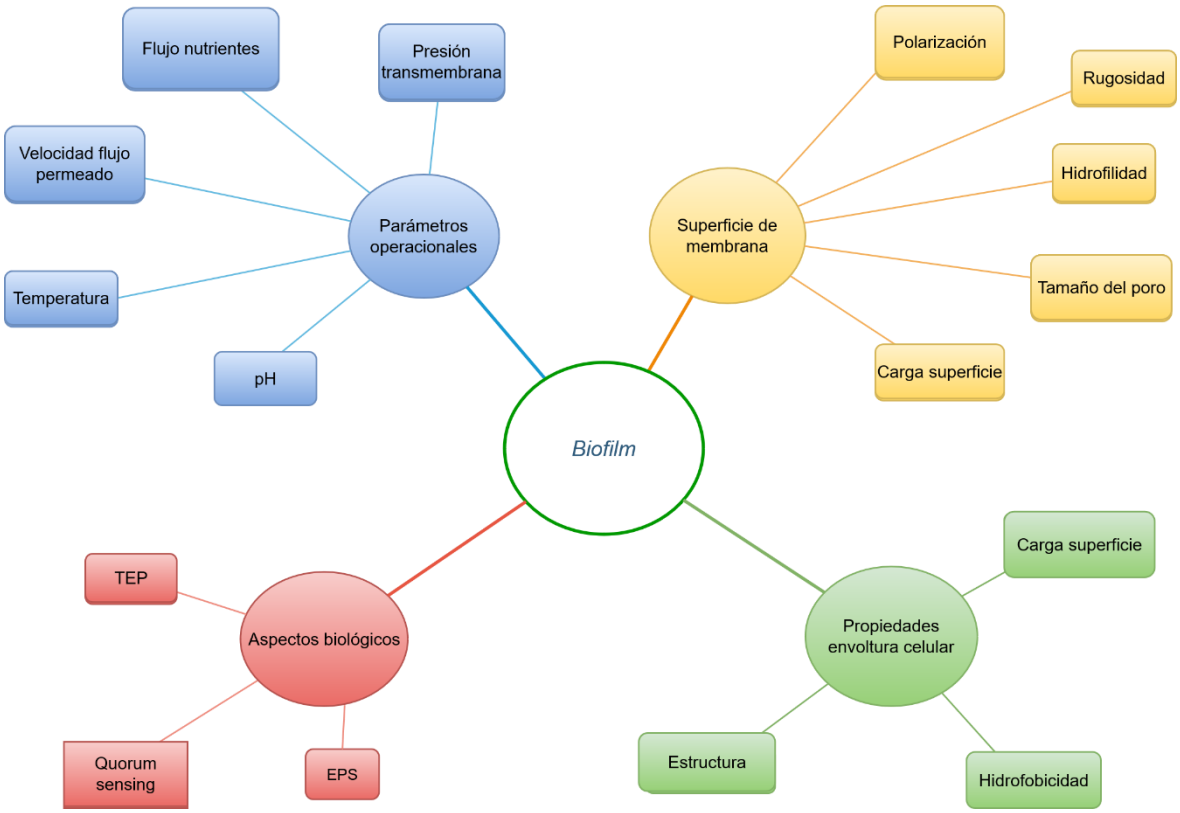


**Figura 8** Principales factores condicionantes en la formación de *biofilm*

### 3.3. Gestión del *biofouling* en las membranas de ósmosis inversa

Las superficies de las membranas pueden acumular elementos de diferente naturaleza como productos inorgánicos, orgánicos, coloides, o biológicos produciendo *fouling.* Los diferentes tipos de *fouling* pueden interaccionar entre ellos e incrementar los impactos negativos que generan sobre la membrana, afectando finalmente al sistema en general (Nguyen et al., 2012). El *biofouling* es el que supone un mayor reto al que hacerle frente, pues aun teniendo tratamientos que consiguen eliminar porcentajes muy altos de microorganismos, los pocos que quedan son suficientes para seguir creciendo y colonizando la superficie (Flemming et al., 1997). Por ello, actualmente, la clave de actuación frente a este fenómeno es la gestión. Se debe encontrar el equilibrio que permita que el sistema pueda seguir trabajando teniendo en cuenta la presencia de *biofilms* (Vrouwenvelder et al., 2011). Además, se debe apostar por las investigaciones que estudian la manera

de reducir su formación desde diferentes líneas de actuación (Anis et al., 2019). En los siguientes apartados se describen algunos de los procedimientos que se pueden realizar sobre la calidad del agua antes de entrar en el sistema de membranas, las posibles mejoras de diseño que se implementan en el proceso de fabricación de las membranas y las técnicas de limpieza que se aplican sobre la membrana en activo.

### 3.3.1. Pretratamiento

Para ralentizar el desarrollo de *biofilm* en las superficies de las membranas se debe tener una adecuada calidad en el agua de alimentación. Esto se consigue con una buena planificación de los tratamientos que necesita el agua bruta según sus características (Khan et al., 2014), (Vrouwenvelder et al., 2011).

La presencia de *biofilm* no es detectable directamente y cuando comienzan a darse las anomalías en el sistema (disminución de los flujos de permeado y de rechazo, o diferencia de presión), se considera que ya se ha generado *biofouling* (Kavitha et al., 2019). Las soluciones en ese punto generan un impacto negativo en las membranas, debido a la necesidad de su limpieza con productos químicos más agresivos, o a tomar la decisión de reemplazar la membrana por una nueva, con el gasto económico que suponen ambas alternativas, además del impacto ambiental que generan (Anis et al., 2019).

Para retrasar al máximo ese desenlace, se pueden tomar medidas preventivas como conocer las características del agua a tratar para realizar el tratamiento más adecuado. Para ello, como se ve en la Tabla 1, se lleva a cabo la monitorización de diferentes parámetros como pueden ser el pH, turbidez, temperatura, carbono orgánico total (TOC), productos orgánicos como aceites o grasas, cálculo de $SDI_{15}$, entre otros (Sánchez et al., 2009), (Kavitha et al., 2019), (Kim & Vrouwenvelder, 2019).

Por su simplicidad, el cálculo de los índices SDI (índice de atascamiento) y MFI (índice de atascamiento modificado) es muy utilizado. El primer índice mide la

rapidez a la que una membrana comienza a sufrir los efectos de los elementos inorgánicos u orgánicos que transporta el agua (la velocidad de atascamiento). De esta forma se comprueba la eficiencia de los procesos de pretratamiento. El segundo índice, tiene en cuenta el mecanismo de reducción de flujo que se da en los sistemas de membranas. Por lo tanto, representa mejor las condiciones de operación de las membranas que el SDI y puede utilizarse para medir un agua con un alto y bajo potencial de ensuciamiento. Las sustancias orgánicas en el agua sirven como sustrato y fuente de alimento a muchos microorganismos, por esto, se considera que estos indicadores son una buena forma de evaluar el riesgo de formación de *biofilm* (González, 2012), (Peña et al., 2013).

**Tabla 1** Valores de calidad de algunos de los parámetros monitorizados requeridos para el agua de alimentación previo al sistema de ósmosis inversa (Tabla modificada de (Kavitha et al., 2019) y (Voutchkov, 2010)).

| Parámetros de calidad | Valores paramétricos |
|---|---|
| Turbidez | < 0.1 mg/l |
| Carbono total orgánico (TOC) | < 0.5 mg/l (*Biofouling* poco probable)<br>> 2 mg/l (*Biofouling* muy probable) |
| SDI ($SDI_{15}$) | < 4 |
| Cloro | < 0.01 mg/l |
| Aceites y grasas | < 0.02 mg/l |
| Temperatura | 12 > T < 35 |
| pH | 4 > pH < 11 |

Existen diferentes métodos de pretratamiento que ayudan a mejorar la calidad del agua de alimentación antes de entrar en el sistema de membranas de ósmosis inversa y así atenuar los efectos del *biofouling.* Estos métodos pueden ser químicos, físicos y físico-químico. Las posibles combinaciones de los diferentes métodos dependerán de las necesidades de cada planta desalinizadora (Voutchkov, 2010). A continuación, se explican brevemente algunos de los métodos más influyentes en la prevención y control del *biofouling.*

- Tratamientos químicos

Para disminuir la carga microbiana en el agua de alimentación se pueden utilizar diversos productos químicos que actúan como desinfectantes, por ejemplo, el cloro, es el desinfectante más utilizado por ser un producto económico. Suele ser utilizado en forma de gas o en compuestos de hipoclorito sódico o cálcico (Baker & Dudley, 1998). El dióxido de cloro ha sido la alternativa más prometedora debido a su eficacia biocida, a la menor formación de subproductos nocivos y a su efecto relativamente leve en las estructuras de las membranas poliméricas (Nguyen et al.,2012). Además de los posibles subproductos nocivos, la cloración no es del todo efectiva, pues puede eliminar a las colonias superficiales, pero no elimina la matriz y depende de parámetros como el pH, o la temperatura del agua. También, termina generando resistencia en determinas bacterias. (Al-Abri et al.,2019). Antes de entrar al sistema de membranas, el agua debe ser declorada para no dañarlas por oxidación. El agente más común utilizado para la decloración es el bisulfito de sodio ($NaHSO_3$). Alternativamente, el carbón activado también se utiliza para reducir los niveles de cloro residual (Kavitha et al., 2019).

Otro producto muy utilizado es el ozono, que se empleó por primera vez para la desinfección del agua en 1886 por De Meritens (Al-Abri et al., 2019). Se descompone en radicales libres y en iones hidroxilo que son capaces de eliminar bacterias, protozoos, endosporas y otros microorganismos, sin producir subproductos, ni causar problemas de sabor y olor. Además, pueden combinarse para formar peróxido de hidrógeno ($H_2O_2$), que es otro poderoso producto químico oxidante, mejorando así el proceso de destrucción celular (Baker & Dudley, 1998). Alguno de los inconvenientes que tiene es que es muy corrosivo, es sensible a los cambios de temperatura y es muy inestable (Al-Abri et al., 2019).

También es común el uso de radiación ultravioleta (UV). Este tratamiento produce radicales hidroxilo que inhiben la reproducción bacteriana y reducen la concentración de carbono orgánico asimilable. Las principales ventajas de este tratamiento son su simplicidad, no se necesita añadir productos químicos, o la disminución de subproductos, entre otros. Sin embargo, tiene un coste elevado y controlar la dosis necesaria es complicado. Además, hay microorganismos capaces

de reparar los daños del ADN provocados por las radiaciones UV mediante fotorreactivación (Nguyen et al., 2012).

- Tratamiento físico-químico.

El tratamiento más habitual es la coagulación-floculación. Este tratamiento se aplica para reducir la turbidez en el agua. La turbidez es generada por partículas demasiado pequeñas para ser eliminadas por sedimentación. Se agrega un coagulante, que neutraliza la carga negativa de partículas y microorganismos. Este coagulante sirve para unir a varias partículas en una de mayor tamaño y facilitar así su eliminación por sedimentación o filtración (Anis et al., 2019), (Kavitha et al., 2019). Aunque mediante este tratamiento se eliminan indirectamente microorganismos, la carga microbiológica del agua tras ser tratada aún es muy alta (Nguyen et al., 2012).

- Tratamientos físicos basados en técnicas de filtración

Para el tratamiento de aguas existen diferentes tratamientos físicos para la separación de sólidos como la decantación, el desbaste o la sedimentación entre otras técnicas. Con frecuencia el pretratamiento convencional, si bien produce una disminución en las concentraciones de coloides y partículas en suspensión, no consigue alcanzar la calidad de agua necesaria para que pueda entrar en el sistema de membrana de ósmosis inversa (Voutchkov, 2010). Así, para minimizar la concentración de elementos como coloides, materia en suspensión y hasta cierto punto, de microorganismos, además de los métodos convencionales se utilizan otros tratamientos como la filtración por medio granular y la filtración mediante el uso de membranas.

La filtración por medio granular, se trata de un lecho en el que se encuentran capas formadas por filtros naturales como arenas, gravas, carbón activo, tierra de diatomeas, o antracita entre otros, que presentan diferentes granulometrías. Según las características del agua de mar a tratar (temperatura, contenido orgánico), la composición de los materiales del lecho y el espesor de las distintas capas, serán diferentes (Anis et al., 2019). Debido a que se dispone de una mayor superficie de contacto, por la suma de todos los granos de los materiales filtrantes, al generarse

*biofilm* y desprenderse, lo hace en un tamaño lo suficientemente grande para ser retenido por los filtros naturales (Voutchkov, 2010).

Otro método de filtración es mediante el uso de membranas con diferentes tamaños de poro (Figura 9), previas a las membranas de ósmosis inversa. Las más utilizadas son la microfiltración, donde los filtros tienen un tamaño de poro entre 10 µm y 0,1 µm, la ultrafiltración, con poros que se encuentran entre 0,01 µm - 0,1 µm, y la nanofiltración, cuyos poros suelen medir entre 0.01 µm y 0.001 µm (Vrouwenvelder et al., 2011). Algunas de las ventajas que presentan frente a otros tratamientos es la disminución de carga bacteriana e incluso la concentración de virus. Reducen el uso de desinfectantes y limpiezas en las membranas de ósmosis inversa, así como el reemplazo de éstas (Anis et al., 2019). Pero tienen algunas limitaciones como su sensibilidad a la oxidación, o que cada ciertas horas es necesario hacer contralavados en los que a veces se utilizan productos químicos para eliminar el *biofilm* que se haya generado en sus membranas, lo que acorta la vida útil de sus membranas (Kavitha et al., 2019), (Valavala et al., 2011), (Voutchkov, 2010).

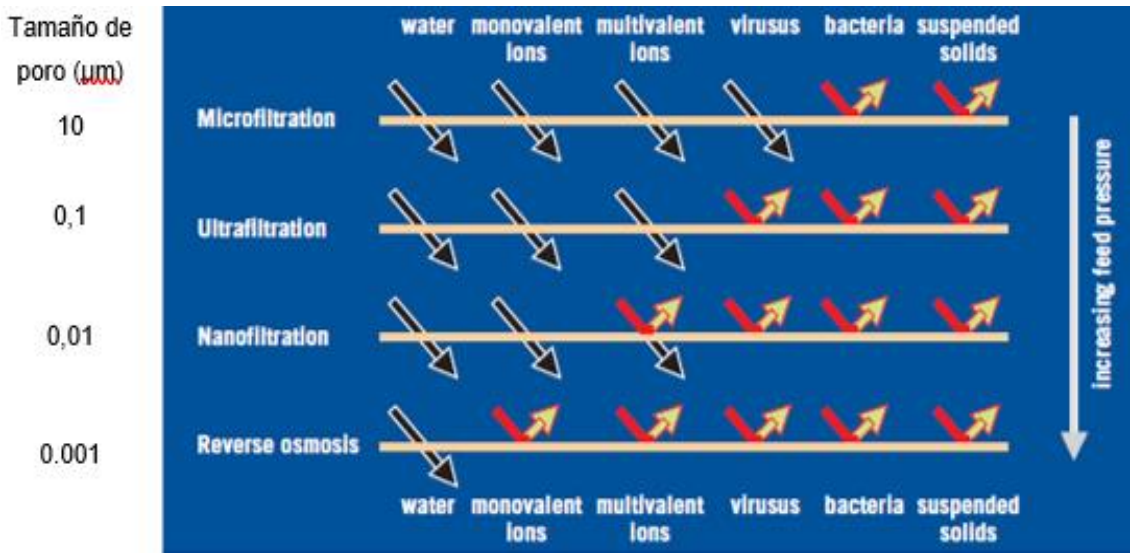


**Figura 9** Clasificación de membranas de filtración según el tamaño de sus poros (Imagen modificada de (Vrouwenvelder et al., 2011)

### *3.3.2.* Otros métodos de gestión y control de *biofouling*

- Control biológico

En el apartado 3.1, se introdujo el concepto de "*quorum sensing*", una comunicación bacteriana que ayuda a las colonias que componen el *biofilm* a responder ante una alteración del medio al unísono, generando estructuras de motilidad, más cantidad de sustancias extracelulares poliméricas (EPS), etcétera. La coordinación de esta comunicación se debe a la liberación y detección de unas moléculas de señalización conocidas como autoinductores (AIs). El 60% de las especies bacterianas presentes en membranas de ósmosis inversa, producen estas moléculas (Nguyen et al., 2012). Para eliminar la comunicación entre las bacterias y así influir en el desarrollo del *biofilm* se puede intervenir a tres niveles. Se puede producir la inhibición de la propia molécula autoinductora (AIs), bloqueando los receptores de señal, o inhibiendo al generador de señal (Rasmussen & Givskov, 2006). Existen diferentes compuestos que funcionan como inhibidores de la comunicación como el cinamaldehído (CNMA), o la vainilla. Ambos influyen sobre los autoinductores de bacterias con paredes Gram-negativa, pero el cinamaldehído además, inhibe la comunicación entre bacterias Gram-negativa y Gram-positiva. La principal ventaja de este método es que no influye en la permeabilidad de la membrana ni en el flujo de permeado o de rechazo, tiene repercusión directa sobre los microorganismos (Katebian et al., 2018). Y al contario que con tratamientos químicos, se necesitan bajas concentraciones de los componentes y es capaz de reducir el *biofilm* en estado irreversible (Kim et al., 2019).

Otro método biológico para controlar la formación de *biofilm* es mediante el uso de enzimas. Hay enzimas como las hidrolasas, liasas o proteasas que son capaces de romper las sustancias extracelulares poliméricas (EPS), reduciendo así el desarrollo del *biofilm*. Tienen varios inconvenientes, no son reutilizables, tienen un alto coste de producción, un tiempo de acción lento y en algunas ocasiones pueden servir como fuente de nutrientes en el desarrollo bacteriano (Al-Juboori & Yusaf, 2012), (Flemming & Wingender, 2010).

- Tecnología de membranas

Hoy en día, el tipo de membrana más utilizada es la membrana compuesta de capa fina, TFC. Este tipo de membrana presenta una serie de ventajas frente a otras, como una mayor estabilidad ante un ataque biológico, mejores respuestas de flujo de agua y de rechazo de sal, mejor resistencia frente a la compactación por presión, y unos mayores rangos de temperatura de funcionamiento y de pH. Sin embargo, como ya se ha mencionado, la formación de *biofouling* es inevitable (Kang & Cao, 2012). Así, para dificultar la adhesión de los microorganismos a la superficie de la membrana y minimizar el desarrollo del *biofilm,* muchas líneas de actuación van dirigidas a investigar cómo mejorar la calidad de las membranas mediante modificaciones estructurales, o mediante la adicción de compuestos que le aporten diferentes características.

Uno de los métodos para modificar las características de la membrana es mediante el uso de nanopartículas. Se pueden incorporar a la membrana, o aplicar mediante una solución sobre su superficie. Las nanopartículas pueden utilizarse como modificadores catalíticos, cambiando la morfología y el rendimiento de las membranas, pues entre otras cualidades genera un aumento en la hidrofilidad. Algunas de las nanopartículas utilizadas es el dióxido de titanio, $TiO_2$, en presencia o ausencia de radiación UV. Mediante esta combinación, la actividad de microorganismos se ve afectada, reduciéndose (Kim et al., 2003), (Mansourpanah & Habili, 2015).

Las nanopartículas pueden combinarse con otros compuestos como los polímeros. Por ejemplo, nanopartículas de nitrato de plata ($AgNO_3$) y la polidopamina (polímero). Las nanopartículas de sal quedan incrustadas en el polímero teniendo un efecto de hasta el 50% de reducción de adhesión con determinadas bacterias (Fleming et al., 2018). Además, controlan el crecimiento y la actividad de diversos microorganismos pero no son eficaces para erradicar el *biofilm* maduro (Nguyen et al., 2012). También se pueden utilizar solo polímeros como la polianilina (PANI), muy eficaz para evitar la deposición bacteriana y la colonización posterior (Suckeveriene, 2019). E incluso aminoácidos, como la D-Tirosina. Dicho aminoácido es capaz de inhibir la adhesión microbiana en las superficies de la

membrana, suprimiendo la síntesis del autoinductor AI-2 y de las sustancias extracelulares poliméricas (EPS), lo que genera el desprendimiento de *biofim,* como se puede ver en la Figura 10 (Xu & Liu, 2011).

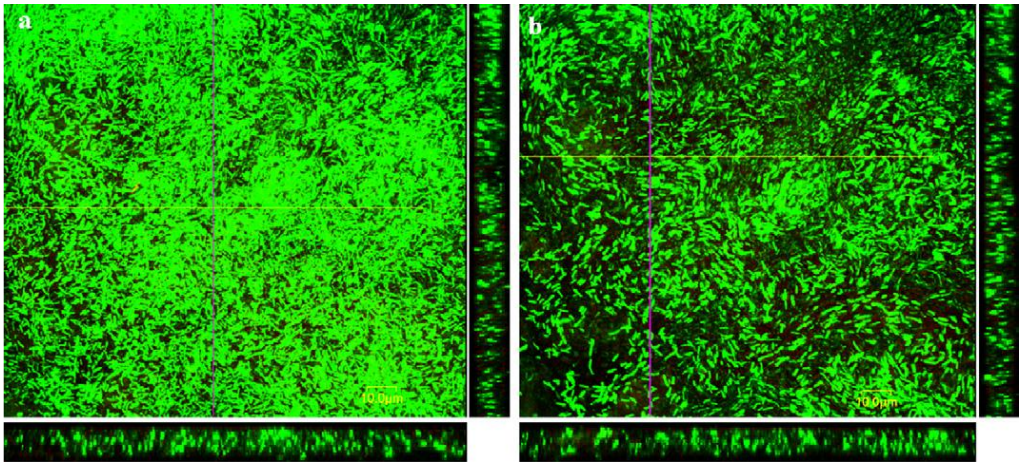


**Figura 10** Imágenes tomadas con microscopia confocal láser de barrido (CLSM) a) Membrana sin tratamiento con D-Tirosina b) Membrana tratada con D-Tirosina (Xu & Liu, 2011)

Para mejorar la calidad de la membrana no solo se realizan las modificaciones en las capas de poliamida o polisulfona. Las mejoras en otros elementos, como el espaciador, pueden incrementar el rendimiento y alargar la vida útil de las membranas, pues en las zonas muertas del espaciador, en la intersección de sus filamentos, se acumula materia orgánica e inorgánica que producen el aumento de la polarización de concentración, y se desarrolla *biofilm.* Estos procesos repercuten sobre el flujo, la presión transmembrana y el consumo del sistema (Bucs et al., 2018). Para minimizar su impacto, el equipo del profesor Arafat realizó diferentes modelos de espaciadores en 3D como se ve en la Figura 11. Las diversas geometrías están basadas en la superficie mínima triple periódica (TPMS). Al ser sometidas a diversas pruebas se puso de manifiesto que la polarización, la presión y el desarrollo de *biofilm* fueron menores que en los espaciadores comerciales (Sreedhar et al., 2018).

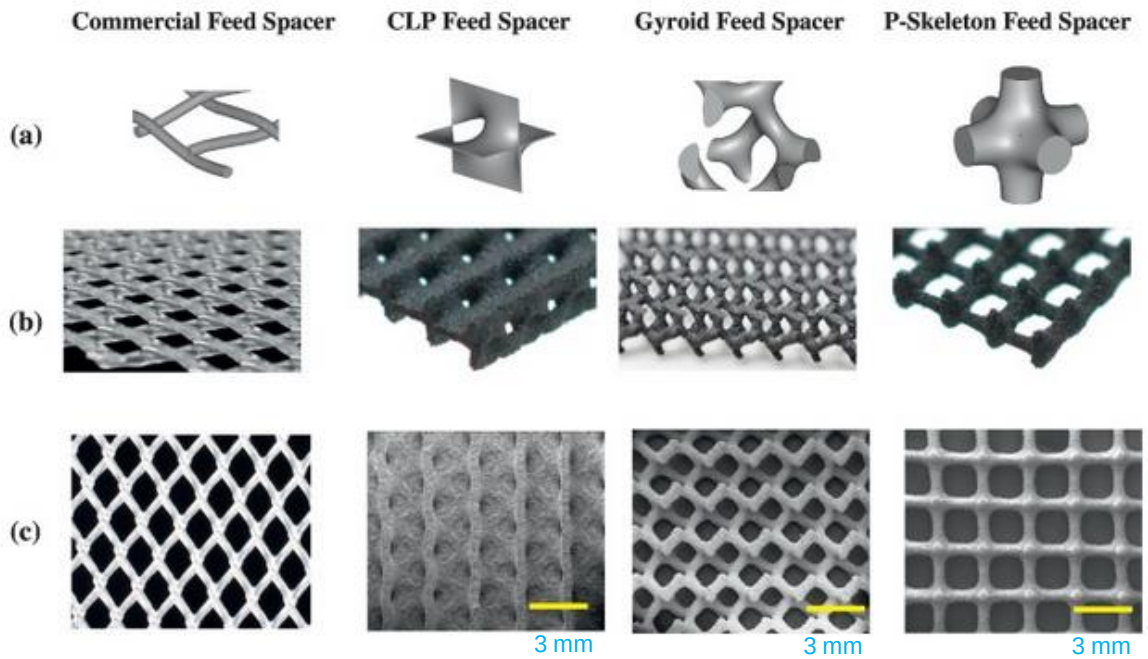


**Figura 11.** a) Geometrías de las celdas de los diferentes espaciadores. b) Imagen del espaciador comercial y muestras de los modelos impresos en 3D. c) Imágenes tomadas con microscopio electrónico de barrido (SEM) (Imagen modificada de (Sreedhar et al., 2018)).

- <u>Mantenimiento de membranas</u>

Para mantener en buen estado las membranas es recomendable realizar limpiezas preventivas al menos una vez al año. Los fabricantes de membranas suelen hacer especificaciones de mantenimiento según su producto y la calidad del agua con la que se vaya a trabajar. En el caso en el que se den anomalías en el sistema (disminución de los flujos de permeado y de rechazo, diferencia de presión o pérdida en la calidad del agua), es aún más recomendable la realización de una limpieza (Kavitha et al., 2019), (Sánchez et al., 2009). Los productos que se utilicen dependerán del tipo de *fouling* que se sospeche que pueda tener la membrana.

Las limpiezas pueden ser químicas, o físicas. En el primer caso los productos son muy variados, se pueden utilizar compuestos ácidos, ácido clorhídrico (HCl), ácido nítrico ($HNO_3$) y ácido sulfúrico ($H2SO_4$), muy efectivos para eliminar las precitaciones de sales e interrumpir las relaciones electroestáticas entre los microorganismos y la superficie de la membrana. También pueden utilizarse compuestos básicos como la sosa caustica, o hidróxido de sodio (NaOH), que hidrolizan y solubilizan proteínas y polisacáridos. Los agentes quelantes como el

EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) está más indicado para sustancias inorgánico. Por último, se pueden emplear surfactantes (SDS), que influyen en la hidrofobicidad de los microorganismos, afectando así a la adhesión de éstos con las membranas (Madaeni & Samieirad, 2010), (Nguyen et al., 2012).

Entre las limpiezas físicas podemos encontrar diferentes técnicas como la limpieza hidráulica mediante el lavado directo o a contracorriente. Se realiza en parte, mediante la fuerza mecánica del agua, pues se dirige un chorro de agua a las membranas por ambas caras. Si se hace de forma intermitente suele levantar as incrustaciones y minimiza la polarización de concentración (Nguyen et al., 2012). Otro método físico para limpiar las membranas es mediante la limpieza neumática, donde se mezcla aire y agua. El aire genera burbujas y turbulencias que van limpiando la superficie al rozarla. Además, se añade $CO_2$ disuelto que ayuda a la reducción de *biofouling* en la membrana (Bucs et al., 2018). El método de limpieza con ultrasonidos también ayuda a la disminución de *biofouling.* Al aplicar los ultrasonidos generan microburbujas y cuando se rompen dañan con la energía liberada a los microorganismos. La eficiencia de esta técnica depende de varios factores como las características del fluido, o las propias de los microorganismos. Por ejemplo, las bacterias Gram-negativas son más sensibles que las Gram-positivas, al igual que los microorganismos de mayor tamaño (Al-Juboori & Yusaf, 2012). Algunos de los inconvenientes que presenta es que es un método de limpieza caro y se puede llegar a dañar la membrana (Nguyen et al., 2012).

A modo de resumen, la Figura 12 representa las principales técnicas para el control y gestión del *biofouling* expuestas a lo largo de todo el presente apartado. Como se puede observar en la figura, en verde se exponen los pretratamientos aplicados al agua que servirá como alimentación en el sistema de mebranas para mejorar su calidad y evitar daños en las membranas. En morado, se resumen los métodos empleados para mejorar las membranas, modificando sus características, o estructuras, o dotándolas con cualidades que no tenían previamente. Los métodos que inhiben aspectos biológicos como la formación de sustancias extracelulares poliméricas (EPS), o la comunicación entre los microorganismos se resaltan en naranja. Por último, en azul se muestran los distintos tipos de limpieza que se

pueden llevar a cabo en las plantas de desalinización como mantenimiento de las membranas.

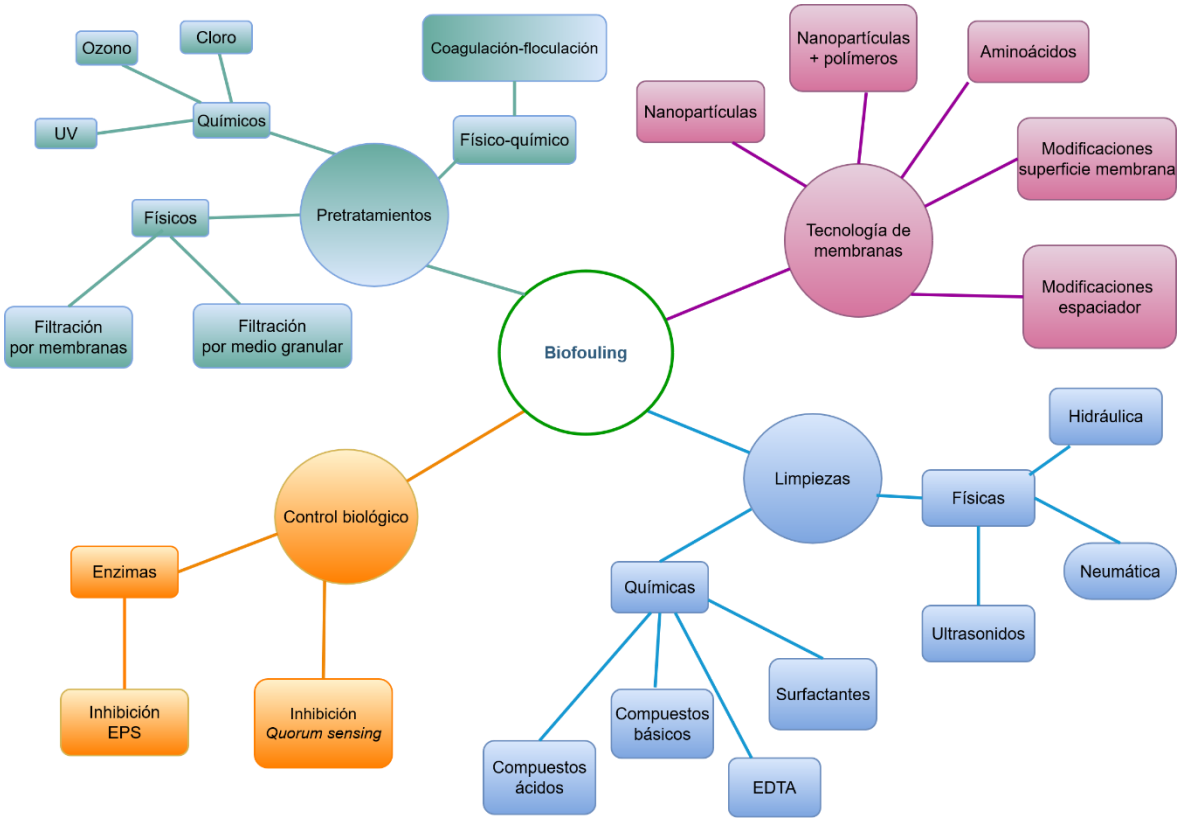


**Figura 12** Principales técnicas de gestión y control de *biofouling*

## 4. Conclusiones

A continuación, se exponen las conclusiones extraídas tras la revisión bibliográfica realizada en este trabajo:

- El *biofouling* producido en las membranas de ósmosis inversa de las plantas de desalinización, es un fenómeno inevitable y actualmente no existe ningún método que pueda evitar su formación, ni ningún tratamiento que consiga eliminarlo. El mejor plan para minimizar los daños que genera, entre los que se encuentran pérdidas económicas e impactos en el medio ambiente, es aprender a gestionarlo y centrarse en conseguir el mayor tiempo de retraso en la formación del *biofilm.*

- Para poder prevenir la formación de *biofilm* en las superficies de las membranas y mantenerlo bajo control se debe tener una buena calidad del agua de alimentación desde el principio, adecuando las técnicas de pretratamiento a la calidad del agua de captación para controlar parámetros claves como la concentración de nutrientes. De esta forma, se evita el abuso de los productos empleados en las limpiezas que terminan por acortar la vida útil de la membrana debido a su agresividad, además, de los impactos ambientales que derivan de su uso.

- Existen muchas líneas de actuación que investigan el *biofouling*. Algunas de ellas al ser aún recientes no pueden ser implementadas a gran escala y quedan a nivel de laboratorio, por lo que se debería invertir más en estas investigaciones para continuar desarrollándolas.

## 5. Bibliografia


Al-Abri, M., Al-Ghafri, B., Bora, T., Dobretsov, S., Dutta, J., Castelletto, S., Rosa, L., & Boretti, A. (2019). Chlorination disadvantages and alternative routes for biofouling control in reverse osmosis desalination. *npj Clean Water*, *2*(1). https://doi.org/10.1038/s41545-018-0024-8

Al-Juboori, R. A., & Yusaf, T. (2012). Biofouling in RO system: Mechanisms, monitoring and controlling. En *Desalination* (Vol. 302, pp. 1-23). Elsevier. https://doi.org/10.1016/j.desal.2012.06.016

Anis, S. F., Hashaikeh, R., & Hilal, N. (2019). Reverse osmosis pretreatment technologies and future trends: A comprehensive review. En *Desalination* (Vol. 452, pp. 159-195). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.desal.2018.11.006

Ashfaq, M.Y., Al-Ghouti, M. A., Qiblawey, H., & Zouari, N. (2019). Evaluating the effect of antiscalants on membrane biofouling using FTIR and multivariate analysis. *Biofouling*, *35*(1), 1-14. https://doi.org/10.1080/08927014.2018.1557637

Ashfaq, M.Y Al-Ghouti, M. A., Al Disi, Z. A., & Zouari, N. (2020). Interaction of seawater microorganisms with scalants and antiscalants in reverse osmosis systems. *Desalination*, *487*(May), 114480. https://doi.org/10.1016/j.desal.2020.114480

Asociación española de desalación y reutilización. (2019). *Cifras de desalación en España*. https://www.aedyr.com/es/cifras-desalacion-espana

Baker, J. S., & Dudley, L. Y. (1998). Biofouling in membrane systems - A review. *Desalination*, *118*, 81-90.

Bar-Zeev, E., Berman-Frank, I., Girshevitz, O., & Berman, T. (2012). Revised paradigm of aquatic biofilm formation facilitated by microgel transparent exopolymer particles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(23), 9119-9124. https://doi.org/10.1073/pnas.1203708109

Berk, V., Fong, J. C. N., Dempsey, G. T., Develioglu, O. N., Zhuang, X., Liphardt, J., Yildiz, F. H., & Chu, S. (2012). Molecular architecture and assembly principles of Vibrio cholerae biofilms. *Science*, *337*(6091), 236-239. https://doi.org/10.1126/science.1222981

Bonnelye, V., Sanz, M. A., Durand, J. P., Plasse, L., Gueguen, F., & Mazounie, P. (2004). Reverse osmosis on open intake seawater: Pre-treatment strategy. *Desalination*, *167*(1-3), 191-200. https://doi.org/10.1016/j.desal.2004.06.128

Bucs, S., Farhat, N., Kruithof, J. C., Picioreanu, C., van Loosdrecht, M. C. M., & Vrouwenvelder, J. S. (2018). Review on strategies for biofouling mitigation in spiral wound membrane systems. *Desalination*, *434*(September 2017), 189-197. https://doi.org/10.1016/j.desal.2018.01.023

Byrne, W. (2018). Design and care of reverse osmosis systems. *Power*, *162*(3). https://www.powermag.com/design-and-care-of-reverse-osmosis-systems/

Chee, M. P., & Liu, W. T. (2007). Community structure analysis of reverse osmosis membrane biofilms and the significance of Rhizobiales bacteria in biofouling. *Environmental Science and Technology*, *41*(13), 4728-4734. https://doi.org/10.1021/es0701614

Choudhury, R. R., Gohil, J. M., Mohanty, S., & Nayak, S. K. (2018). Antifouling, fouling release and antimicrobial materials for surface modification of reverse osmosis and nanofiltration membranes. *Journal of Materials Chemistry A*, *6*(2), 313-333. https://doi.org/10.1039/c7ta08627j

Crouzet, M., Le Senechal, C., Brözel, V. S., Costaglioli, P., Barthe, C., Bonneu, M., Garbay, B., & Vilain, S. (2014). Exploring early steps in biofilm formation: set-up of an experimental system for molecular studies. *BMC Microbiology*, *14*(1), 253. https://doi.org/10.1186/s12866-014-0253-z

De Beer, D., & Stoodley, P. (2014). Microbial biofilms. En *The Prokaryotes: Applied Bacteriology and Biotechnology* (pp. 343-372). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-31331-8_32

De Vries, H. J., Stams, A. J. M., & Plugge, C. M. (2020). Biodiversity and ecology of microorganisms in high pressure membrane filtration systems. *Water Research*, *172*, 115511. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115511

Eyvaz, M., Arslan, S., İmer, D., Yüksel, E., & Koyuncu, İ. (2018). Forward Osmosis Membranes – A Review: Part I. En *Osmotically Driven Membrane Processes - Approach, Development and Current Status* (p. 33). InTech. https://doi.org/10.5772/intechopen.72287

Farhat, N. M., Vrouwenvelder, J. S., Van Loosdrecht, M. C. M., Bucs, S. S., & Staal, M. (2016). Effect of water temperature on biofouling development in reverse osmosis membrane systems. *Water Research*, *103*, 149-159. https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.07.015

Fleming, M., Bouwer, E., & Chen, K. L. (2018). Biofouling response of laboratory-scale polysulfone membranes modified with bioinspired polydopamine and silver nanoparticles. *Environmental Engineering Science*, *36*(3), 335-343. https://doi.org/10.1089/ees.2018.0322

Flemming, H. C., Schaule, G., Griebe, T., Schmitt, J., & Tamachkiarowa, A. (1997). Biofouling - The Achilles heel of membrane processes. *Desalination*, *113*(2-3), 215-225. https://doi.org/10.1016/S0011-9164(97)00132-X

Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, *8*(9), 623-633. https://doi.org/10.1038/nrmicro2415

Gaiker, C. T. (2020). *Autopsias de membranas*. www.gaiker.es

González, P. M. (2012). *Desalación mediante Osmosis Inversa. Ingeniería Constructiva*. Lulu.com. https://books.google.es/books?id=GtqdAwAAQBAJ

Gutiérrez, S., Hassani M., & Quiroga J. M. (2016). Ensuciamiento y limpieza de membranas empleadas en la desalación de aguas. *TecnoAqua*, *17*, 104-117.

Habimana, O., Semião, A. J. C., & Casey, E. (2014). The role of cell-surface interactions in bacterial initial adhesion and consequent biofilm formation on nanofiltration/reverse osmosis membranes. En *Journal of Membrane Science* (Vol. 454, pp. 82-96). Elsevier. https://doi.org/10.1016/j.memsci.2013.11.043

Harouaka, K., Mansor, M., Macalady, J. L., & Fantle, M. S. (2016). Calcium isotopic fractionation in microbially mediated gypsum precipitates. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, *184*, 114-131. https://doi.org/10.1016/j.gca.2016.03.003

Herzberg, M., & Elimelech, M. (2007). Biofouling of reverse osmosis membranes: Role of biofilm-enhanced osmotic pressure. *Journal of Membrane Science*, *295*(1-2), 11-20. https://doi.org/10.1016/j.memsci.2007.02.024

Indranil, S., & Samiran, B. (2019). *Antimicrobial Resistance in Agriculture: Perspective, Policy and Mitigation - Indranil Samanta, Samiran Bandyopadhyay - Google Libros* (Academic Press (ed.)). https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=e_uxDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Antimicrobial+Resistance+in+Agriculture:+Perspective,+Policy+and+Mitigation&ots=peCEPzpSvs&sig=KSrdNvFa04YVgNhOz2Hy1Ffl4yk#v=onepage&q=Antimicrobial Resistance in Agriculture%3A Pers

Jiang, S., Li, Y., & Ladewig, B. P. (2017). A review of reverse osmosis membrane fouling and control strategies. *Science of the Total Environment*, *595*, 567-583. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.235

Kang, G. dong, & Cao, Y. ming. (2012). Development of antifouling reverse osmosis membranes for water treatment: A review. *Water Research*, *46*(3), 584-600. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.041

Katebian, L., Hoffmann, M. R., & Jiang, S. C. (2018). Incorporation of quorum sensing inhibitors onto reverse osmosis membranes for biofouling prevention in seawater desalination. *Environmental Engineering Science*, *35*(4), 261-269. https://doi.org/10.1089/ees.2017.0129

Kavitha, J., Rajalakshmi, M., Phani, A. R., & Padaki, M. (2019). Pretreatment processes for seawater reverse osmosis desalination systems—A review. *Journal of Water Process Engineering*, *32*(August), 100926. https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100926

Khan, M. T., Busch, M., Molina, V. G., Emwas, A. H., Aubry, C., & Croue, J. P. (2014). How different is the composition of the fouling layer of wastewater reuse and seawater desalination RO membranes? *Water Research*, *59*, 271-282. https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.04.020

Kim, L. H., & Vrouwenvelder, J. S. (2019). Insignificant impact of chemotactic responses of Pseudomonas aeruginosa on the bacterial attachment to organic

pre-conditioned RO membranes. *Membranes*, *9*(12). https://doi.org/10.3390/membranes9120162

Kim, Lee, J. Y., Ham, S. Y., Lee, J. H., Park, J. H., & Park, H. D. (2019). Effect of biofilm inhibitor on biofouling resistance in RO processes. *Fuel*, *253*, 823-832. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.05.062

Kim, S. H., Kwak, S. ., Sohn, B. H., & Park, T. . (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*, *211*(1), 157-165. https://doi.org/10.1016/S0376-7388(02)00418-0

Kucera, J. (2015). *Reverse Osmosis: Industrial Processes and Applications* (2.ª ed.). Wiley. https://books.google.es/books?id=UQWsCQAAQBAJ

Liu, C., Guo, Y., Zhang, J., Tian, B., Lin, O., Liu, Y., & Zhang, C. (2019). Tailor-made high-performance reverse osmosis membranes by surface fixation of hydrophilic macromolecules for wastewater treatment. *RSC Advances*, *9*(31), 17766-17777. https://doi.org/10.1039/c9ra02240f

Liu, F., Wang, L., Li, D., Liu, Q., & Deng, B. (2019). A review: The effect of the microporous support during interfacial polymerization on the morphology and performances of a thin film composite membrane for liquid purification. En *RSC Advances* (Vol. 9, Número 61, pp. 35417-35428). Royal Society of Chemistry. https://doi.org/10.1039/c9ra07114h

Madaeni, S. S., & Samieirad, S. (2010). Chemical cleaning of reverse osmosis membrane fouled by wastewater. *DES*, *257*(1-3), 80-86. https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.03.002

Maddah, H., & Chogle, A. (2017). Biofouling in reverse osmosis: phenomena, monitoring, controlling and remediation. *Applied Water Science*, *7*(6), 2637-2651. https://doi.org/10.1007/s13201-016-0493-1

Mansouri, J., Harrisson, S., & Chen, V. (2010). Strategies for controlling biofouling in membrane filtration systems: Challenges and opportunities. *Journal of Materials Chemistry*, *20*(22), 4567-4586. https://doi.org/10.1039/b926440j

Mansourpanah, Y., & Habili, E. M. (2015). Investigation and characterization of

TiO2-TFC nanocomposite membranes; membrane preparation and UV studies. *Journal of Membrane Science and Research*, *1*(1), 26-33. https://doi.org/10.22079/jmsr.2015.12303

March, G. A., & Eiros, J. M. (2013). Quorum sensing en bacterias y levaduras. En *Medicina Clinica* (Vol. 141, Número 8, pp. 353-357). Elsevier. https://doi.org/10.1016/j.medcli.2013.02.031

Martínez-Campos, S., Redondo-Nieto, M., Shang, J., Peña, N., Leganés, F., Rosal, R., & Fernandez-Piñas, F. (2018). Characterization of microbial colonization and diversity in reverse osmosis membrane autopsy. *Desalination and Water Treatment*, *131*, 9-29. https://doi.org/10.5004/dwt.2018.22949

Matin, A., Khan, Z., Zaidi, S. M. ., & Boyce, M. C. (2011). Biofouling in reverse osmosis membranes for seawater desalination: Phenomena and prevention. *Desalination*, *281*(1), 1-16. https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.06.063

Myint, A. A., Lee, W., Mun, S., Ahn, C. H., Lee, S., & Yoon, J. (2010). Influence of membrane surface properties on the behavior of initial bacterial adhesion and biofilm development onto nanofiltration membranes. *Biofouling*, *26*(3), 313-321. https://doi.org/10.1080/08927010903576389

Nagaraj, V., Skillman, L., Ho, G., Li, D., & Gofton, A. (2017). Characterisation and comparison of bacterial communities on reverse osmosis membranes of a full-scale desalination plant by bacterial 16S rRNA gene metabarcoding. *npj Biofilms and Microbiomes*, *3*(1), 1-14. https://doi.org/10.1038/s41522-017-0021-6

Nagaraj, V., Skillman, L., Li, D., & Ho, G. (2018). Review – Bacteria and their extracellular polymeric substances causing biofouling on seawater reverse osmosis desalination membranes. *Journal of Environmental Management*, *223*(June), 586-599. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.05.088

Nguyen, T., Roddick, F. A., & Fan, L. (2012). Biofouling of water treatment membranes: A review of the underlying causes, monitoring techniques and control measures. En *Membranes* (Vol. 2, Número 4, pp. 804-840). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/membranes2040804

Osmofilter S.L. (2020). *Osmofilter - Tratamiento integral del agua*.

http://www.osmofilter.com/es/industrial_membranas

Pang, C. M., Hong, P., Guo, H., & Liu, W. T. (2005). Biofilm formation characteristics of bacterial isolates retrieved from a reverse osmosis membrane. *Environmental Science and Technology*, *39*(19), 7541-7550. https://doi.org/10.1021/es050170h

Park, S., Nam, T., Park, J., Kim, S., Ahn, Y., Lee, S., Kim, Y. M., Jung, W., & Cho, K. H. (2017). Investigating the influence of organic matter composition on biofilm volumes in reverse osmosis using optical coherence tomography. *Desalination*, *419*(February), 125-132. https://doi.org/10.1016/j.desal.2017.06.002

Peña, N., Gallego, S., Vigo, F., & Chesters, S. P. (2013). Evaluating impact of fouling on reverse osmosis membranes performance. *Desalination and Water Treatment*, *51*, 958-968. https://doi.org/10.1080/19443994.2012.699509

Rana, D., & Matsuura, T. (2010). Surface modifications for antifouling membranes. *Chemical Reviews*, *110*(4), 2448-2471. https://doi.org/10.1021/cr800208y

Rasmussen, T. B., & Givskov, M. (2006). Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. *Microbiology*, *152*, 895-904. https://doi.org/10.1099/mic.0.28601-0

Reverberi, A. P., Fabiano, B., Cerrato, C., & Dov, V. G. (2014). Concentration polarization in reverse osmosis membranes: Effect of membrane splitting. *Chemical Engineering Transactions*, *39*(Special Issue), 763-768. https://doi.org/10.3303/CET1439128

Saeki, D., Minami, R., & Matsuyama, H. (2017). Effects of operating conditions on biofouling in crossflow ultrafiltration membrane processes. *Separation and Purification Technology*, *189*, 138-144. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.07.079

Sánchez, J. M., Casañas, A., García, M. R., Zarzo, A. J., Gonzalo, M., Gallego, S., Marcó, J., Benito, B., Monforte, L., Urgoiti, N., Pérez, M. R., Aznar, R., Luque, F., Guerrero, L., & Roset, J. (2009). Guia de Desalacion: aspectos Tecnicos y sanitarios en la produccion d agua de consumo humano. En MInisterío de Sanidad y política Social (Ed.), *Ministerio De Sanidad Y Política Social*.

SCImago, S. (s. f.). *Scimago Journal & Country Rank*. Recuperado 2 de mayo de 2020, de https://www.scimagojr.com/index.php

Sreedhar, N., Thomas, N., Al-Ketan, O., Rowshan, R., Hernandez, H., Abu Al-Rub, R. ., & Arafat, H. . (2018). 3D printed feed spacers based on triply periodic minimal surfaces for flux enhancement and biofouling mitigation in RO and UF. *Desalination*, *425*, 12-21. https://doi.org/10.1016/j.desal.2017.10.010

Subramani, A., & Hoek, E. M. V. (2008). Direct observation of initial microbial deposition onto reverse osmosis and nanofiltration membranes. *Journal of Membrane Science*, *319*(1-2), 111-125. https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.03.025

Suckeveriene, R. Y. (2019). Grafting of polyaniline by a dynamic inverse emulsion polymerization technique onto reverse osmosis membranes as an antibiofouling agent. *Polymers for Advanced Technologies*, *30*(7), 1759-1766. https://doi.org/10.1002/pat.4608

Valavala, R., Sohn, J., Han, J., Her, N., & Yoon, Y. (2011). Pretreatment in reverse osmosis seawater desalination: A short review. *Environmental Engineering Research*, *16*(4), 205-212. https://doi.org/10.4491/eer.2011.16.4.205

Voutchkov, N. (2010). Considerations for selection of seawater filtration pretreatment system. *Desalination*, *261*(3), 354-364. https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.07.002

Vrouwenvelder, J., Graf von der Schulenburg, D. A., Kruithof, J. C., Johns, M. L., & van Loosdrecht, M. C. M. (2009). Biofouling of spiral-wound nanofiltration and reverse osmosis membranes: A feed spacer problem. *Water Research*, *43*(3), 583-594. https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.11.019

Vrouwenvelder, J., Kruithof, J., & van Loosdrecht, M. (2011). Biofouling of spiral wound membrane systems. *Water Intelligence Online*, 356. https://doi.org/10.2166/9781780400990

Xu, H., & Liu, Y. (2011). D-Amino acid mitigated membrane biofouling and promoted biofilm detachment. *Journal of Membrane Science*, *376*(1-2), 266-274. https://doi.org/10.1016/j.memsci.2011.04.030

Zhang, M., Jiang, S., Tanuwidjaja, D., Voutchkov, N., Hoek, E. M. ., & Cai, B. (2011). Composition and variability of biofouling organisms in seawater reverse osmosis desalination plants. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(13), 4390-4398. https://doi.org/10.1128/AEM.00122-11

Zhang, M., Liao, B., Zhou, X., He, Y., Hong, H., Lin, H., & Chen, J. (2015). Effects of hydrophilicity/hydrophobicity of membrane on membrane fouling in a submerged membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, *175*, 59-67. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.058