



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 333 594**

(51) Int. Cl.:
C12Q 1/04 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **03723796 .3**

(96) Fecha de presentación : **21.03.2003**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1539994**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **15.06.2005**

(54) Título: **Procedimiento para monitorizar las bioincrustaciones en sistemas de separación con membrana.**

(30) Prioridad: **23.07.2002 US 201088**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
24.02.2010

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
24.02.2010

(73) Titular/es: **Nalco Company**
1601 W. Diehl Road
Naperville, Illinois 60563-1198, US

(72) Inventor/es: **Ho, Bosco, P.;**
Zeiher, Kelle, E.H.;
Wu, May, W. y
Chattoraj, Mita

(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para monitorizar las bioincrustaciones en sistemas de separación con membrana.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere de forma general a la separación con membrana y, de forma más particular, a procedimientos para monitorizar y/o controlar las bioincrustaciones en los sistemas de separación con membrana.

10 **Antecedentes de la invención**

La separación con membrana, que usa una membrana selectiva, es una adición bastante reciente a la tecnología de separación industrial para procesar las corrientes líquidas, como por ejemplo la purificación del agua. En la separación con membrana, los constituyentes del influente habitualmente pasan a través de la membrana impulsados por fuerzas motrices en la corriente del efluente, dejando así atrás alguna porción de los constituyentes iniciales en una segunda corriente. Las separaciones con membrana que se usan habitualmente para la purificación del agua o para el procesamiento de otros líquidos incluyen microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF), ósmosis inversa (RO), electrodiálisis, electrodesionización, pervaporación, extracción con membrana, destilación con membrana, limpieza con membrana, aireación con membrana, y otros procedimientos. La fuerza motriz de la separación depende del tipo de la separación con membrana. La filtración con membrana impulsada por presión, también conocida como filtración con membrana, incluye microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración y ósmosis inversa, y emplea la presión como fuerza motriz, mientras que en la electrodiálisis y la electrodesionización se usa una fuerza motriz eléctrica. Históricamente, los procedimientos o sistemas de separación con membrana no se consideraban rentables para el tratamiento del agua debido a los impactos adversos que el ensuciamiento de las membrana, las incrustaciones de las membrana, la degradación de las membrana y similares tenían sobre la eficacia de la eliminación de solutos de las corrientes acuosas. Sin embargo, los avances en la tecnología han conseguido que ahora la separación con membrana sea una tecnología más viable comercialmente para tratar las corrientes acuosas y adecuadas para usar en los procedimientos industriales.

Además, los procedimientos de separación con membrana también son más prácticos para uso industrial, en particular para la purificación de agua natural o de aguas residuales. Esto se ha logrado mediante el uso de herramientas de diagnóstico o técnicas mejoradas para evaluar y monitorizar el rendimiento de la separación con membrana. El rendimiento de la separación con membrana, como por ejemplo la eficacia (por ejemplo flujo, permeabilidad de las membrana, recuperación del permeado, eficiencia energética, tiempo entre las limpiezas de las membrana o tiempo hasta realizar un ciclo de limpieza) y eficacia (por ejemplo, rechazo o selectividad) habitualmente se reducen debido a la incrustaciones en las membrana.

Los procedimientos de separación con membrana tienen tendencia a las incrustaciones con microbios, es decir bioincrustaciones. El desarrollo de microorganismos durante la separación con membrana es una preocupación constante en particular en corrientes acuosas que reúnen las condiciones óptimas para el desarrollo microbiano. Las bioincrustaciones son particularmente perjudiciales para los sistemas de separación con membrana debido a que, una vez ha comenzado, la velocidad de multiplicación se acelera y las bioincrustaciones pueden facilitar también otros tipos de incrustaciones. Por ejemplo, las sustancias exopoliméricas ("EPS") o capa mucilaginosa de la biomasa pueden atrapar y retener costras y otras partículas que de otro modo podrían ser extraídas del sistema de separación con membrana durante el funcionamiento. Además, una capa EPS gruesa también puede disminuir la turbulencia del flujo dentro de la membrana. Esto puede provocar un aumento en la concentración de la capa de polarización, que como es sabido contribuye a los fenómenos de ensuciamiento de las membrana.

El efecto inmediato y más obvio de las bioincrustaciones es disminuir el rendimiento de permeación de la membrana y/o elevar la caída de presión a través del elemento de la membrana en el lado de admisión y concentración de la membrana, que se denomina en el presente documento "presión diferencial". A presión constante, esto provoca una pérdida en la producción de permeado. Puede aumentarse la presión para mantener un flujo constante, pero esto aumenta el consumo de energía y acelera más la deposición de incrustaciones. Además, el funcionamiento continuado en estas condiciones (es decir, con pérdida de flujo de permeado, un aumento en la presión diferencial y un aumento en la fuerza motriz de presión) necesariamente requeriría un mayor número de limpiezas durante la vida útil de la membrana, disminuyendo así la vida de la membrana y potencialmente aumentando el coste del agua si se necesita una cantidad significativa de tiempo de parada debido a las limpiezas. Los efectos menos obvios incluyen menor rechazo de solutos, contaminación del permeado y deterioro de los módulos de las membrana, como por ejemplo biodegradación en las líneas de adhesión de las membrana. El artículo de revisión escrito por H.F. Ridgway & H. Fleming titulado "Membrane Biofouling" y que aparece en Water Treatment Membrane Processes, McGraw Hill, páginas 6,1 a 6,62, 1996, es relevante en este contexto.

En general, las bioincrustaciones se controlan usando biocidas y otros agentes de biocontrol, es decir, sustancias químicas que pueden inhibir el desarrollo microbiano al destruir la pared celular o los constituyentes celulares de los microorganismos. Los medios mecánicos y la radiación son otras posibilidades. Habitualmente se fomenta el uso intermitente de los biocidas dado que los biocidas pueden ser caros y tóxicos. Así, para evitar su derroche, es necesario una monitorización y análisis constantes del sistema de agua y de los parámetros de procesamiento de la membrana para determinar la cantidad adecuada de biocida para controlar el desarrollo microbiano.

Sin embargo, las técnicas de monitorización conocidas pueden no conseguir un nivel de sensibilidad, especificidad y/o exactitud adecuado con respecto a la monitorización de los efectos de las bioincrustaciones sobre la separación con membrana. Las técnicas de monitorización típicas incluyen mediciones de presión y flujo y toma de muestras puntuales para determinar la población microbiana. Con respecto a las mediciones de la presión, la monitorización generalmente se realiza evaluando los cambios en la presión diferencial por toda la longitud de la membrana. Con respecto a la medición del caudal, los medidores de caudal que generalmente se emplean en dichos sistemas adolecen de inexactitudes de calibrado, y por lo tanto necesitan un calibrado frecuente. Sin embargo, los cambios en la presión y el caudal no son necesariamente específicos de las bioincrustaciones, ya que pueden verse influidos por cualquier aumento adecuado de las costras, incrustaciones y/o constituyentes similares que pueden acumularse y permanecer en el sistema durante la separación con membrana. Como se ha descrito anteriormente, la capa de desarrollo microbiano puede potenciar otros tipos de incrustaciones dado que puede atrapar o retener las costras y otras partículas que en otras circunstancias serían extraídas del sistema durante la separación con membrana.

El documento US-A-6329165 describe un procedimiento para la monitorización tanto de las poblaciones de plancton como de microbios sésiles en un sistema de agua industrial mediante la adición de un compuesto de tinte fluorógeno mediante un procedimiento que supone añadir un tinte fluorógeno al sistema de agua y dejar que reaccione con los organismos planctónicos o microbios sésiles presentes, proporcionando medios para la medición de las señales fluorescentes del tinte fluorógeno presente en el sistema de agua, siendo la primera medición de la señal fluorescente la del tinte fluorógeno y siendo la segunda medición de la señal fluorescente la del tinte fluorógeno reaccionado, usando el medio de medición para cuantificar la señal fluorescente del tinte fluorógeno y la señal fluorescente del tinte fluorógeno reaccionado, calculando la proporción entre las señales respectivas del tinte reaccionado y el tinte, y monitorizando el cambio calculado para determinar el estado de las poblaciones de plancton y de microbios sésiles en el sistema de agua industrial. Sin embargo, el procedimiento reivindicado no se refiere a un sistema de separación con membrana que incluye una membrana capaz de separar una corriente de alimentación en al menos una primera corriente y una segunda corriente.

Para la toma de muestras puntuales, habitualmente se toman muestras de agua de la corriente de alimentación y de la corriente de salida. También pueden tomarse muestras de la corriente de permeado para determinar si hay contaminación en el permeado. Una técnica habitual supone extraer una muestra, diluir la muestra, y aplicar la muestra a la superficie de un medio de agar con nutrientes. Después de la incubación durante de 24 a 28 horas, se controla la muestra para determinar la presencia de microorganismos y, cuando sea apropiado, se cuentan los organismos por medios manuales o de video. Una variación de este procedimiento incluye extraer una muestra y cultivarla durante un tiempo predeterminado y después observar el medio de cultivo mediante nefelometría o turbidimetría. En otras palabras, la presencia de microorganismos se revela por la opacidad del medio de cultivo.

Un problema significativo asociado a la toma de muestras puntuales es el desfase entre la extracción de la muestra hasta que se completa el análisis para determinar el nivel de actividad microbiológica en la muestra. Sobre este punto, el desfase puede ser mayor cuando las muestras deben ser transportadas a otro emplazamiento para su análisis, lo que puede retrasar aún más la obtención de los resultados.

Otro problema asociado a la toma de muestras puntuales es que puede infraponderar la actividad microbiológica global en el sistema de agua industrial porque la toma de muestras puntuales sólo es suficiente para proporcionar una indicación de la actividad microbiológica planctónica, no la actividad sésil. Las poblaciones microbiológicas planctónicas están vivas y se mantienen suspendidas en el agua de un sistema de agua. Tal como se emplea en el presente documento, el término “sésil” se refiere a poblaciones de microorganismos que están vivos, pero inmóviles. Es posible obtener una medición aceptable en la industria de las poblaciones planctónicas mediante la toma de muestras puntuales dado que los microorganismos planctónicos están suspendidos en la muestra de agua que se extrae y se analiza para determinar las concentraciones de microorganismos. Por el contrario, las poblaciones sésiles están fuertemente adheridas a las estructuras del sistema y su presencia no puede medirse fácilmente extrayendo una muestra de agua y haciendo análisis de esta muestra para determinar los microorganismos. A este respecto, el nivel de células planctónicas puede no estar relacionado directamente con el de células sésiles del sistema de separación con membrana.

Por consiguiente, existe una necesidad de monitorizar y/o controlar las bioincrustaciones en los sistemas de separación con membrana en tiempo real donde las técnicas de monitorización convencionales son generalmente complejas y/o pueden adolecer de falta de sensibilidad, especificidad y/o exactitud necesarias para monitorizar de forma adecuada las bioincrustaciones de tal forma que pueda optimizarse el rendimiento de la separación con membrana.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona procedimientos para monitorizar y/o controlar las bioincrustaciones en sistemas de separación con membrana capaces de tratar corrientes de alimentación adecuadas para usar en los procedimientos industriales. A este respecto, puede utilizarse un agente fluorógeno para monitorizar el desarrollo de microorganismos durante la separación con membrana (es decir, para monitorizar las bioincrustaciones). Los presentes solicitantes han descubierto que la técnica de monitorización fluorescente de la presente invención puede realizarse con un alto grado de sensibilidad, especificidad y/o exactitud con respecto a la detección de bioincrustaciones, de tal forma que puede optimizarse el rendimiento y la eficacia de la separación con membrana.

Con esta finalidad, la presente invención proporciona un procedimiento de monitorización de bioincrustaciones en un sistema de separación con membrana que incluye una membrana capaz de separar una corriente de alimentación en al menos una primera corriente y una segunda corriente que comprende las etapas de:

- 5 proporcionar un agente fluorógeno;
añadir el agente fluorógeno a la corriente de alimentación;
proporcionar un fluorómetro para detectar la señal fluorescente del agente fluorógeno en al menos una de la primera
10 corriente y la segunda corriente;
hacer reaccionar el agente fluorógeno con al menos un microorganismo del sistema de separación con membrana;
formar un agente fluorógeno reaccionado;
15 usar el fluorómetro para medir la señal fluorescente de al menos uno del agente fluorógeno y del agente fluorógeno reaccionado en al menos una de la primera corriente y la segunda corriente; y
monitorizar las bioincrustaciones del sistema de separación con membrana en base al cambio en la señal del agente
20 fluorógeno, o del agente fluorógeno reaccionado o una combinación de ambas señales medidas.

Por lo tanto, una ventaja de la presente invención es proporcionar procedimientos que utilizan un agente fluorógeno para monitorizar y/o controlar las bioincrustaciones en los sistemas de separación con membrana. Otra ventaja de la
25 presente invención es proporcionar procedimientos que utilizan la monitorización de los agentes fluorógenos para mejorar el rendimiento de separación con membrana.

Otra ventaja de la presente invención es proporcionar procedimientos para monitorizar el desarrollo microbiano con selectividad, especificidad y/o exactitud en base a la monitorización del agente fluorógeno añadido al sistema de
30 separación con membrana.

Todavía otra ventaja de la presente invención es proporcionar una señal de control para añadir biocidas o agentes de biocontrol para reducir las bioincrustaciones de los sistemas de separación con membrana.

Todavía una ventaja adicional de la presente invención es proporcionar procedimientos para monitorizar la eficacia de los agentes de limpieza, biocidas y agentes de biocontrol para reducir el tiempo de limpieza y aumentar el tiempo
35 entre las limpiezas.

En la descripción de las realizaciones actualmente preferentes se describen, y se harán obvias características y
40 ventajas adicionales de la presente invención.

Descripción detallada de realizaciones actualmente preferidas

La presente invención proporciona procedimientos para monitorizar y/o controlar las bioincrustaciones en los
45 sistemas de separación con membrana que son capaces de eliminar solutos y/u otras impurezas de las corrientes de alimentación, como por ejemplo corrientes de alimentación acuosas, que son adecuadas para usar en numerosas aplicaciones industriales diferentes. Más específicamente, los procedimientos de la presente invención pueden monitorizar y/o controlar las bioincrustaciones en los sistemas de separación con membrana en base a la monitorización de la actividad de un agente(s) fluorógeno(s) que ha sido añadido a la corriente de alimentación. A este respecto, las bioin-
50 crustaciones debidas al desarrollo microbiano durante la separación con membrana pueden evaluarse con un alto grado de selectividad, especificidad y exactitud de tal forma que pueda optimizarse el rendimiento del sistema de separación con membrana de forma eficaz.

Los procedimientos de la presente invención pueden incluir una variedad de componentes diferentes y adecuados,
55 etapas de procedimiento, condiciones de funcionamiento y similares, para monitorizar y/o controlar las bioincrustaciones en los sistemas de separación con membrana. En una realización, el sistema de separación con membrana de la presente invención incluye sistemas de caudal tangencial y de caudal frontal. Durante los sistemas de separación con membrana de caudal tangencial, la corriente de alimentación puede tratarse en una dirección del flujo que es sustancialmente paralela a la membrana del sistema de separación. Con respecto a los sistemas de separación con membrana
60 de caudal frontal, la corriente de alimentación puede tratarse en una dirección del flujo que es sustancialmente perpendicular a la membrana del sistema de separación.

En general, los sistemas de separación con membrana de la presente invención pueden tratar o purificar las corrientes de alimentación dividiendo la corriente de alimentación en corrientes separadas. En una realización, la corriente de
65 alimentación se separa al menos en una corriente primera y segunda, como por ejemplo una corriente de permeado y una corriente de concentrado. La corriente de alimentación puede contener diversos solutos, como por ejemplo orgánicos disueltos, inorgánicos disueltos, sólidos disueltos, sólidos suspendidos, similares o sus combinaciones. Tras la separación de la corriente de alimentación en el permeado y el concentrado, en los filtros de membrana por ejemplo,

la corriente de permeado contiene esencialmente una concentración sustancialmente menor de solutos disueltos y/o suspendidos con respecto a la corriente de alimentación acuosa. Por otra parte, la corriente de concentrado tiene una mayor concentración de solutos disueltos y/o suspendidos con respecto a la corriente acuosa. En este aspecto, el permeado representa una corriente de alimentación purificada, como por ejemplo una corriente de alimentación acuosa purificada.

Debería entenderse que la presente invención puede utilizarse con respecto a numerosos tipos de sistemas de separación con membrana diferentes entre otros, por ejemplo, sistemas de caudal tangencial y sistemas de caudal frontal, ósmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración, microfiltración, electrodiálisis, electrodesionización, pervaporación, extracción con membrana, destilación con membrana, limpieza con membrana, aireación con membrana y similares o sus combinaciones. La ósmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración y microfiltración son los sistemas de separación con membrana preferentes.

En la ósmosis inversa, la corriente de alimentación habitualmente se procesa en condiciones de caudal tangencial. En este aspecto, la corriente de alimentación fluye sustancialmente paralelo a la superficie de la membrana de tal forma que sólo una porción de la corriente de alimentación se difunda a través de la membrana en forma de permeado. El caudal tangencial habitualmente es grande para proporcionar una acción de frotado que disminuya las incrustaciones sobre la superficie de la membrana. Esto también puede disminuir los efectos de polarización de la concentración (por ejemplo, concentración de solutos en la capa límite de turbulencia reducida en la superficie de la membrana, que puede aumentar la presión osmótica sobre la membrana y por lo tanto puede reducir el caudal del permeado). Los efectos de polarización de la concentración pueden inhibir el paso del agua de la corriente de alimentación a través de la membrana en forma de permeado, disminuyendo así la proporción de recuperación, por ejemplo, la proporción de permeado a la corriente de alimentación aplicada.

Los sistemas de ósmosis inversa pueden emplear una variedad de de diferentes tipos de membrana. Dichos tipos de elementos de membrana comerciales incluyen, sin limitación, elementos de membrana de fibra hueca, elementos de membrana tubulares, elementos de membrana de enrollado en espiral, elementos de membrana de placas y marcos y similares, algunos de los cuales se describen en más detalle en "The Nalco Water Handbook, segunda edición, Frank N. Kemmer ed., McGraw-Hill Book Company, Nueva York, N.Y., 1988, en particular el capítulo 15 titulado "Membrane Separation". Debería entenderse que puede usarse un único elemento de membrana en un sistema de filtración con membrana dado, pero también pueden usarse numerosos elementos de membrana dependiendo de la aplicación industrial.

Se describe un sistema de ósmosis inversa habitual como ejemplo de filtración con membrana y más generalmente de separación con membrana. La ósmosis inversa emplea principalmente elementos enrollados en espiral, que están formados por capas enrolladas de membrana semipermeables con espaciadores de la alimentación y portadores de agua de permeado alrededor de un tubo de recogida del permeado perforado central. Habitualmente, los módulos se sellan con una envoltura de cinta y/o fibra de vidrio. La construcción resultante tiene un canal que puede recibir un caudal de admisión. La corriente de admisión fluye longitudinalmente por toda la longitud del módulo de membrana y sale por el otro extremo en forma de corriente de concentrado. Dentro del módulo, el agua atraviesa la membrana semiporosa y queda atrapada en un canal de permeado que fluye a un tubo de recogida central. De este tubo fluye al exterior de un canal designado y es recogido.

En la práctica, los módulos de membrana están apilados unos sobre otros, de un extremo al otro, con interconectores que unen los tubos de permeado del primer módulo al tubo de permeado del segundo módulo, y así sucesivamente. Estas pilas de módulos de membrana se alojan en recipientes a presión. Dentro del recipiente a presión el agua alimentada pasa al primer módulo de la pila, que elimina una porción del agua en forma de agua de permeado. La corriente de concentrado de la primera membrana se convierte en la corriente de alimentación de la segunda membrana y así sucesivamente por la pila. Las corrientes de permeado de todas las membrana en la pila son recogidas en los tubos de permeado unidos.

Dentro de la mayoría de los sistemas de ósmosis inversa, los recipientes a presión están dispuestos en forma de "etapas" o "pases". En un sistema de membrana en etapas, las corrientes de concentrado combinadas de un banco de recipientes a presión se dirigen a un segundo banco de recipientes a presión donde se convierten en la corriente de alimentación para la segunda etapa. Habitualmente, los sistemas tienen de 2 a 3 etapas con cada vez menos recipientes a presión en cada etapa. Por ejemplo, un sistema puede contener 4 recipientes a presión en una primera etapa, cuyas corrientes de concentrado alimentan 2 recipientes a presión en una segunda etapa, cuyas corrientes de concentrado a su vez alimentan 1 recipiente a presión en la tercera etapa. Esto se denomina esquema "4:2:1". En una configuración de membrana en etapas, las corrientes de permeado combinadas de todos los recipientes a presión de todas las etapas se recogen y se usan sin posterior tratamiento de las membrana. Los sistemas de etapas múltiples se usan cuando son necesarios grandes volúmenes de agua purificada, por ejemplo para agua alimentada a una caldera. Las corrientes de permeado del sistema de membrana pueden purificarse además mediante intercambio iónico u otros medios.

En un sistema de pases múltiples, se recogen las corrientes de permeado de cada banco de recipientes a presión y se usan como alimentación para los posteriores bancos de recipientes a presión. Las corrientes de concentrado de todos los recipientes a presión se combinan sin ningún tratamiento posterior de cada corriente individual. Se usan sistemas de pases múltiples cuando se necesita agua de gran pureza, por ejemplo en la industria de microelectrónica o farmacéutica.

Por los ejemplos anteriores, debería quedar claro que la corriente de concentrado de una etapa de un sistema RO puede ser la corriente de alimentación de otra etapa. Del mismo modo, la corriente de permeado de un único pase de un sistema de pases múltiples puede ser la corriente de alimentación de un pase posterior. Un reto en los sistemas de monitorización como por ejemplo los ejemplos de ósmosis inversa que se citan anteriormente es que existe un número limitado de lugares en los que puede realizarse el muestreo y la monitorización, en concreto en las corrientes de alimentación, permeado y concentrado. En algunos sistemas, pero no en todos, los puntos de muestreo “entre etapas” permiten el muestreo/monitorización de la corriente del concentrado de la primera etapa/corriente de alimentación de la segunda etapa. Así mismo, puede haber puntos de muestreo similares disponibles entre pases en los sistemas de pases múltiples.

Al contrario que con los sistemas de separación con membrana mediante filtración de caudal tangencial, la filtración convencional de los sólidos suspendidos puede realizarse pasando un fluido de alimentación a través de un medio de filtración o una membrana en una dirección sustancialmente perpendicular. Esto de forma eficaz crea una corriente de salida durante el ciclo de mantenimiento. Periódicamente, se realiza un lavado a contracorriente haciendo pasar el líquido en una dirección opuesta a la de alimentación, generando un efluente de lavado contracorriente que contiene especies que han sido retenidas por el filtro. Así, la filtración convencional produce una corriente de alimentación, una corriente purificada y una corriente del lavado a contracorriente. Este tipo de separación con membrana habitualmente se denomina separación de caudal frontal y habitualmente se limita a la separación de partículas suspendidas con un tamaño mayor de aproximadamente un micrómetro.

Las técnicas de filtración de caudal tangencial, por otra parte, puede usarse para eliminar las partículas más pequeñas (generalmente de un tamaño de aproximadamente un micrómetro o menos), coloides y solutos disueltos. Dichos tipos de sistemas de separación con membrana de caudal tangencial pueden incluir, por ejemplo, ósmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración, microfiltración, electrodialisis o similares. La ósmosis inversa puede eliminar incluso las especies disueltas de bajo peso molecular que sean al menos de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 0,001 micrómetros de diámetro mínimo, entre otras, por ejemplo, especies iónicas y no iónicas, moléculas de bajo peso molecular, macromoléculas o polímeros solubles en agua, sólidos suspendidos, coloides, y sustancias tales como bacterias y virus.

En el procedimiento de caudal convencional de monitorización de las bioincrustaciones, el caudal real del permeado se lee directamente con un caudalímetro. Sin embargo, el caudal real del permeado puede variar con respecto a la temperatura de la corriente de alimentación, la fuerza motriz de la presión, los solutos de la corriente de alimentación y los sólidos suspendidos y, por supuesto, los diversos factores de que forman las incrustaciones entre otros las bioincrustaciones. El caudal de permeado normalizado habitualmente se considera que es un predictor más sensible de problemas en un sistema de separación con membrana. El caudal de permeado normalizado se determina mediante un simple cálculo que elimina el efecto de la temperatura real del sistema y las variaciones en la fuerza motriz y convierte las lecturas del caudal de permeado reales en las que deberían ser si el sistema estuviera funcionando a una presión estándar (“normal”) y en condiciones de presión y temperatura constantes, que habitualmente son la fuerza motriz de arranque y a una temperatura específica como por ejemplo 25°C. Los cálculos por lo tanto incluyen un factor de conversión de temperatura y un factor de conversión de la presión para una membrana dada, que habitualmente se determinan de forma empírica con una nueva membrana o las proporciona el fabricante de las membrana. Otro procedimiento, denominado el procedimiento de flujo de agua limpia se usa para medir el caudal de permeado real usando agua limpia en las condiciones estándar de presión y temperatura. Este procedimiento necesita para el aparato y hacer pasar agua limpia a través del sistema para determinar las incrustaciones y por lo tanto es muy inconveniente y lleva mucho tiempo.

En el procedimiento de monitorización de bioincrustaciones por presión diferencial convencional, se toma la diferencia entre dos mediciones de la presión en dos lugares de la corriente de alimentación/concentrado. La presión diferencial habitual será la diferencia entre la presión de alimentación y la presión del concentrado. Es una medición de las pérdidas en la presión hidráulica a través de la membrana-elementos de membrana de filtración en el lado de alimentación y concentrado de la membrana y los colectores asociados. En la ósmosis inversa, por ejemplo, otro procedimiento convencional preferido es medir la presión diferencial en un único recipiente a presión donde es más probable que se produzcan las bioincrustaciones, es decir, la membrana frontal donde entra el agua alimentada. Cuando los canales del caudal de alimentación/concentrado se taponan, la fuerza motriz aumenta. La presión diferencial también depende del caudal de la corriente de alimentación y de la recuperación porcentual. La comparación exacta entre las lecturas de presión diferencial tomadas en momentos diferentes requiere que la el sistema de filtración con membrana esté funcionando con la misma recuperación porcentual y caudal de alimentación en cada caso. En la práctica, la lectura de la presión diferencial se toma sobre algún parámetro de producción constante, como por ejemplo el caudal de permeado constante o la presión constante.

Otro procedimiento para la detección de las bioincrustaciones es el procedimiento destructivo de autopsia de la membrana. Este incluye, después de abrir una membrana retirada del aparato cortándola, inspección visual de su superficie, un análisis microbiológico de la superficie de la membrana frotando la superficie de la membrana, y análisis de la superficie para determinar los depósitos mediante SEM/EDS, IR, microscopía electrónica, ICP y técnicas similares de superficie análisis superficial. Al comparar la naturaleza y cantidades relativas de los diversos compuestos, elementos y organismos vivos, puede realizarse una determinación cuantitativa de las bioincrustaciones comparando con otros tipos de incrustaciones y suciedad.

Los sistemas de separación con membrana y su monitorización son únicos debido a las siguientes consideraciones.

1. Los sistemas se construyen con una flexibilidad limitada en lo que respecta a dónde puede realizarse la monitorización y/o dónde pueden recogerse las muestras. Además, los diferentes tipos de incrustaciones habitualmente están situados en segmentos específicos de la membrana. Por ejemplo, las bioincrustaciones habitualmente son predominantes en el extremo inicial del sistema de membrana.

2. Los sistemas de separación con membrana incluyen una capa de polarización de la concentración que se forma según el agua atraviesa la barrera. Esta no aparece en otros sistemas de tratamiento del agua, como por ejemplo los sistemas de refrigeración de agua.

3. Debido a que es esencial que la superficie de la membrana permanezca limpia, una cantidad relativamente pequeña de bioincrustaciones o un precipitado fino puede provocar una significativa pérdida de rendimiento. La pérdida de rendimiento en una membrana es, por lo tanto, más sensible que un tratamiento de refrigeración del agua. En este aspecto, la pérdida de rendimiento en una membrana puede producirse con un grosor de película apreciablemente inferior al necesario para que se produzca la pérdida de transferencia de calor en un sistema de agua de refrigeración. Además, debido a los canales de pequeño caudal, las incrustaciones, cuando no se controlan o se eliminar temprano, continuarán acelerándose y será más difícil, si no imposible, limpiar la membrana para que vuelva a tener su rendimiento inicial. Habitualmente esta tardanza en detectar las incrustaciones provoca una vida más corta de la membrana.

4. Las películas semipermeables finas (poliméricas, orgánicas o inorgánicas) son sensibles a la degradación por las especies químicas, entre otras las sustancias químicas que segrega el proceso de desarrollo celular y las sustancias químicas. Los productos que se ponen en contacto con las superficies de las membrana deben ser compatibles con la química de la membrana para evitar dañar la superficie y así un rendimiento peor.

5. Debe demostrarse que los tratamientos químicos que se usan en los sistemas de membrana son compatibles con el material de la membrana antes de usar. Los daños en las sustancias químicas incompatibles pueden provocar una pérdida de rendimiento inmediata y quizá la degradación de la superficie de la membrana. Dichos daños inmediatos e irreversibles de un tratamiento químico son muy poco habituales en los sistemas de refrigeración de agua.

6. En los sistemas de separación con membrana, hay una corriente de alimentación continua y al menos una corriente de descarga continua. El tiempo de retención de un sistema de separación con membrana es muy corto, es decir, del orden de unos pocos segundos a unos pocos minutos.

Basándose en estas diferencias, necesariamente debe tenerse en cuenta un mayor número de factores y consideraciones diferentes al desarrollar y/o poner en funcionamiento programas de monitorización y control de bioincrustaciones que con otros procedimientos de tratamiento del agua, como por ejemplo procedimientos de tratamiento del agua por refrigeración. Por ejemplo, para el uso eficaz en sistemas de membrana, se cree que el agente fluorógeno debe ser capaz de responder a una concentración mucho menor de organismos que en otros sistemas de agua industriales, entre otros los sistemas de refrigeración de agua. En este aspecto, son necesarios límites de detección desde aproximadamente 10^4 unidades formadoras de colonias por centímetro cuadrado (ufc/cm²) cuando se aplican a los sistemas de separación con membrana. Con unos límites tan bajos de detección, la exactitud y reproducibilidad del procedimiento son habitualmente muy bajas.

El corto tiempo de retención necesariamente requiere un agente fluorógeno que pueda reaccionar con velocidad y sensibilidad al procedimiento de desarrollo microbiano con el limitado tiempo de retención asociado a la separación con membrana comparado con otros sistemas de agua industriales, como por ejemplo sistemas de refrigeración de agua que tienen tiempos de retención habitualmente de horas.

Debido a la naturaleza de una corriente de alimentación continua con un corto tiempo de retención en el sistema de separación con membrana, la introducción del agente fluorógeno queda restringida a la corriente de alimentación y la medición del agente fluorógeno queda restringida a la corriente de salida ya que el agente fluorógeno sale del sistema unos minutos después de su introducción. Así, el sistema de separación con membrana proporciona una medición casi inmediata de las bioincrustaciones después de la introducción del agente fluorógeno. El agente fluorógeno no tiene que introducirse más hasta un momento posterior cuando se considere que la medición es necesaria de nuevo.

Como se ha descrito anteriormente, los procedimientos de la presente invención emplean agentes fluorógenos para monitorizar las bioincrustaciones provocadas por el desarrollo microbiano con un alto grado de selectividad, sensibilidad y/o exactitud de tal forma que pueda optimizarse el rendimiento de la separación con membrana. Los organismos microbianos que habitualmente se encuentran en los sistemas de agua industriales que han podido detectarse y que responden a los procedimientos de detección del presente procedimiento hasta ahora incluyen, pero sin limitación, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Sphaerotilus* y *Haliscomenobacter*.

Debería entenderse que el nivel de actividad microbiana durante la separación con membrana está en función de diferentes factores entre otros la población de organismos microbiológicos de la corriente de alimentación, la cantidad de oxígeno disuelto, temperatura, caudal del agua, presencia de nutrientes microbianos y la eliminación de residuos microbianos. Incluso en una única sección de biopelícula, la actividad microbiana sésil, por ejemplo, puede variar

ES 2 333 594 T3

5 a lo ancho y a lo largo de la sección transversal dependiendo de estos factores. Se cree que la respuesta del agente fluorógeno medida puede proporcionar una suma total de la respuesta de los organismos microbiológicos plantócnos y sésiles de todo el sistema que estén en contacto con la corriente de alimentación de la separación con membrana que contiene el agente fluorógeno. Por lo tanto, incluso si el nivel de actividad microbiana es inusualmente alto en una pequeña sección del sistema de separación con membrana, pero bajo en cualquier otro punto, la respuesta del agente fluorógeno puede ser baja. En este aspecto, se cree que el procedimiento de la presente invención puede detectar la media de los organismos microbiológicos del sistema.

10 En general, el agente fluorógeno añadido al sistema de membrana debe ser una molécula o especie que sufra un cambio en su señal fluorescente al interactuar con una amplia población de organismos microbiológicos. Los expertos en la técnica deberían apreciar que los factores ambientales, como por ejemplo el pH y la temperatura, pueden afectar a la señal fluorescente y deberían tenerse en cuenta y corregir en consecuencia. Los agentes fluorógenos adecuados, incluyen, pero sin limitación,

- 15 éster del ácido acético de ácido pireno-3,6,8-trisulfónico;
diacetato de carboxifluoresceína,
20 β -D-galactopiranosida de 3-carboxiumbeliferilo;
 β -D-glucuronida de 3-carboxiumbeliferilo;
D-glucuronida de 9H-(1,3-dicloro-9,0-dimetilacridin-2-on-7 -ilo);
25 9H-(1,3-dicloro-9,9-dimetilacridin-2-on-7-ilo);
 β -D-galactopiranosida de resorufina;
30 di- β -D-galactopiranosida de fluoresceína;
di- β -D-glucuronida de fluoresceína;
 β -D-glucuronida de resorufina;
35 difosfato de fluoresceína;
10-óxido de 7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-ona (en lo sucesivo “resazurina”);
40 10-óxido de 7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-ona, sal sódica (en lo sucesivo “resazurina, sal sódica”);
fosfato de 4-metilumbeliferilo (“4MUP”);
 β -D-glucuronida de 4-metilumbeliferilo;
45 fosfato de piranina;
1-fosfato del ácido piren-3,6,8-trisulfónico; y
50 sus combinaciones.

Los agentes fluorógenos preferidos incluyen resazurina, 4MUP, fosfato de piranina y sus combinaciones. El agente fluorógeno más preferido es resazurina.

55 Los expertos en la técnica deberían apreciar que los agentes fluorógenos o bien están disponibles comercialmente (por ejemplo, la resazurina, sal sódica está disponible en (ALDRIC® de Milwaukee, WI) o pueden sintetizarse usando procedimientos reseñados en la bibliografía (como por ejemplo, es el caso del fosfato de piranina).

60 El agente fluorógeno se añade a la corriente de alimentación en una cantidad que pueda determinar la actividad microbiana. En una realización, una cantidad eficaz de agente fluorógeno varía en el intervalo de aproximadamente 5 ppb a aproximadamente 500 ppm, preferentemente de aproximadamente 0,5 ppb a aproximadamente 5 ppm, y más preferentemente de aproximadamente 5 ppb a aproximadamente 500 ppb. Cuando se añade la forma salina del agente (por ejemplo, resazurina, sal sódica) al sistema de agua industrial, el cálculo de ppm se basa en la cantidad activa del agente fluorógeno presente.

65 En la práctica el coste del agente fluorógeno también supone un límite máximo de la cantidad de agente fluorógeno que se añade al sistema. Los factores adicionales que influyen la adición del agente fluorógeno al sistema incluyen el

ES 2 333 594 T3

tipo de agente fluorógeno, la cantidad de líquido que se pierde y se repone continuamente en el sistema de separación con membrana y el tipo de fluidos contenidos en el sistema de separación con membrana.

En una realización, se prefiere que el agente fluorógeno de la presente invención cumpla los siguientes criterios:

1. No ser absorbido por la membrana en ninguna cantidad apreciable;
2. No degradar la membrana ni perjudicar su rendimiento ni alterar su composición de otra forma;
3. Ser detectable de forma continua o semicontinua y poder realizar mediciones de la concentración que sean exactas, repetibles y que puedan realizarse en el agua de alimentación, el agua del concentrado, el agua del permeado u otros medios adecuados o sus combinaciones;
4. Ser sustancialmente distinto a las especies químicas que normalmente están presentes en el agua de los sistemas de separación con membrana en los que puedan emplearse los marcadores inertes;
5. Ser sustancialmente insensible a interferencias, o sesgos provocados por las especies químicas que normalmente están presentes en el agua de los sistemas de separación con membrana en los que puedan emplearse los marcadores inertes;
6. Ser sustancialmente insensible a cualquiera de sus propias pérdidas específicas o selectivas potenciales del agua de los sistemas de separación con membrana, entre otros permeación selectiva de la membrana;
7. Ser compatible con todos los agentes de tratamiento empleados en el agua de los sistemas de separación con membrana en los que pueden usarse marcadores inertes, y de ese modo no reducir su eficacia;
8. Ser compatible con todos los componentes de su formulación; y
9. Ser relativamente no tóxico y medioambientalmente seguro, no sólo en el entorno acuático ni en el sistema de separación con membrana en el que puede usarse, sino también al ser desechado.

Debería apreciarse que la presente invención sólo requiere que exista una única especie fluorógena al introducir el agente fluorógeno siempre que la especie reaccione y pueda medirse entre el punto de introducción y el punto de medición.

En una realización, los agentes fluorógenos adecuados para usar en el procedimiento reivindicado actualmente debe tener una señal fluorescente detectable antes de hacerlo reaccionar con los microorganismos y también debe tener una señal fluorescente diferente después de haber reaccionado con los microorganismos.

Se cree, sin pretender comprometerse con la teoría, que las enzimas sintetizadas por los organismos microbiológicos vivos en la separación con membrana pueden actuar sobre los agentes fluorógenos. Esta actividad provoca un cambio en la señal fluorescente del agente fluorógeno. Al monitorizar la señal fluorescente, puede monitorizarse la actividad microbiológica durante la separación con membrana. Como se ha descrito anteriormente, los procedimientos de la presente invención tienen capacidad para monitorizar la actividad microbiológica de las poblaciones planctónicas y sésiles, al contrario que los procedimientos conocidos en la técnica.

En una realización, el agente fluorógeno puede introducirse solo o combinado con otro agente para la separación con membrana, como por ejemplo un marcador fluorescente inerte, un agente de tratamiento, como por ejemplo inhibidores de la costra y la corrosión, agentes similares y sus combinaciones. Por “sustancias químicas y/o agentes de tratamiento” se quiere decir, sin limitación, sustancias químicas de tratamiento que mejoran el rendimiento del procedimiento de separación con membrana, desincrustantes que retardan/previene la deposición de costra en las membrana, antincrustaciones que retardan/previene las incrustaciones en las membrana, biodispersantes y agentes que inhiben el desarrollo microbiano, como por ejemplo biocidas y sustancias químicas de limpieza que eliminan los depósitos sobre las membrana.

Pueden medirse las señales del agente fluorógeno fluorescentes, el agente fluorógeno reaccionado y el material marcador fluorescente inerte de varias formas diferentes y adecuadas, como por ejemplo mediante fluorómetros disponibles comercialmente. Pueden usarse fluorómetros con filtros adecuados para medir la señal fluorescente o las señales derivadas del agente fluorógeno, el agente fluorógeno reaccionado y/o el marcador fluorescente inerte.

La medición de la señal fluorescente tanto del agente fluorógeno como del agente fluorógeno reaccionado es un procedimiento conocido por una persona de experiencia en la técnica de la fluorimetría. Por ejemplo, las propiedades fluorescentes del agente fluorógeno resazurina son notorias tanto en su estado sin reaccionar como en su estado reaccionado en forma de “resorufina”. En una realización preferida, se toman muestras del sistema de separación con membrana en lugares de tal forma que no sea necesario tomar muestras puntuales para las mediciones mediante los fluorómetros. Cuando los componentes de muestreo para los fluorómetros están localizados dentro del sistema de separación con membrana, este tipo de muestreo habitualmente se denomina medición en línea.

Una medición en línea es una que se toma sin interrumpir el caudal del sistema que se está midiendo. Debido a que los componentes de la muestra para el fluorómetro(s) están situados en línea cuando se realiza una medición en línea, la muestra que están monitorizando refleja de forma exacta todo el sistema de separación con membrana y, por lo tanto, la información obtenida al llevar a cabo este procedimiento refleja de forma exacta tanto las poblaciones de organismos microbiológicas planctónicas como sésiles. La medición en línea solventa los problemas asociados a la toma de muestras puntuales y la necesidad de extraer una muestra de la corriente acuosa para su posterior análisis. También, las formas reaccionadas y sin reaccionar de los agentes fluorógenos se analizan en tiempo real, donde una lectura casi instantánea de la fluorescencia de los dos agentes fluorógenos proporcionará una indicación de la actividad microbiana.

Independientemente del hecho de que la medición en línea sea la forma preferida de realizar el procedimiento de la invención actualmente reivindicada, es posible realizar el procedimiento de la invención actualmente reivindicada usando una técnica de toma de muestras puntuales adecuada para obtener muestras del sistema de agua industrial. Si se usa una técnica de toma de muestras puntuales, debería necesariamente proporcionarse un mecanismo para transportar la muestra puntual al fluorómetro en un periodo de tiempo de duración razonable de tal forma que los datos recibidos del fluorómetro reflejen de forma exacta el actual estado del desarrollo microbiano del sistema de separación con membrana.

Los ejemplos de fluorómetros que pueden usarse en la práctica de esta invención incluyen los fluorómetros TRASAR® 350 y TRASAR® 8000 (disponibles en Ondeo Nalco Company de Naperville, IL); el fluorómetro Hitachi F-4500 (disponible en Hitachi a través de Hitachi Instruments Inc. de San Jose, CA); el fluorómetro JOBIN YVON FluoroMax-3 "SPEX" (disponible en JOBIN YVON Inc. de Edison, NJ); y el espectrofotómetro Gilford Fluoro-IV o el SFM 25 (disponible en Bio-tech Kontron a través de Research Instruments International de San Diego, CA). Los expertos en la técnica deberían apreciar que la lista de fluorómetros no es exhaustiva y se pretende únicamente que muestre ejemplos de fluorómetros. En esta invención también pueden usarse otros fluorómetros disponibles comercialmente y sus modificaciones. En una realización, se usa una proporción entre las señales fluorescentes como indicador de la actividad microbiana y así una indicación de las bioincrustaciones durante la separación con membrana. Al calcular la proporción, en vez de simplemente medir un valor absoluto de señales fluorescentes, se obtiene una información que es independiente de la concentración del agente fluorógeno. En otra realización, la proporción puede aumentar la sensibilidad debido al hecho de que los organismos microbiológicos convierten el reactivo fluorógeno a agente fluorógeno reaccionado, donde el aumento de la proporción se debe tanto al descenso en la señal fluorescente del agente fluorógeno no reaccionado y al aumento en la señal fluorescente del agente fluorógeno reaccionado (por ejemplo, el producto). La proporción entre la señal fluorescente del agente fluorógeno y la señal fluorescente del agente fluorógeno reaccionado es:

$$\text{proporción} = \frac{\text{señal fluorescente del agente fluorógeno reaccionado}}{\text{señal fluorescente del agente fluorógeno}}$$

La proporción es un número sin unidades. La proporción puede calcularse manualmente o con una calculadora y programa de ordenador. Para mayor facilidad de uso, es preferible que la proporción se calcule usando un programa de ordenador apropiado de tal forma que puede calcularse de forma continua en intervalos dados. La velocidad de cambio de la proporción puede emplearse después para determinar la velocidad de aumento de las bioincrustaciones.

En una realización, el material marcador fluorescente inerte se usa para determinar la concentración del agente fluorógeno presente y al saber esa concentración, es posible manejar el sistema de forma que se introduzca un nivel deseado de agente fluorógeno de forma exacta. Véase las patentes de Estados Unidos n.º 4.783.314; 4.992.380 y 5.041.386.

El significado del término "inerte", tal como se emplea el presente documento, es que un marcador fluorescente inerte no se ve afectado de forma apreciable ni significativa por ninguna otra sustancia química del sistema, ni por los otros parámetros del sistema como por ejemplo actividad microbiológica, concentración de biocida y concentración del inhibidor de la costra. Para cuantificar lo que significa "no se ve afectado de forma apreciable ni significativa", esta frase quiere decir que un compuesto fluorescente inerte no presenta más de un 10% de cambio en su señal fluorescente, en las condiciones que normalmente se encuentran en los sistemas de agua industriales. Las condiciones que normalmente se encuentran en los sistemas de agua industriales son conocidas por las personas de experiencia ordinaria en la técnica de los sistemas de agua industriales.

Los materiales marcadores fluorescentes inertes adecuados para usar con los agentes fluorógenos que se usan en la invención actualmente reivindicada deben tener la propiedad de que su señal fluorescente especial sea detectablemente diferente de las señales fluorescentes del agente fluorógeno. Esto quiere decir que la señal fluorescente del agente fluorógeno y la señal fluorescente del agente fluorógeno reaccionado deben ser ambas detectablemente diferentes del material marcador fluorescente inerte.

Los materiales marcadores fluorescentes inertes adecuados son los mono-, di- y tri- sulfonatonaftalenos, entre otros sus sales solubles en agua; y los derivados sulfonados conocidos de pireno, como por ejemplo ácido 1,3,6,8-pirenotetrasulfónico, junto con las sales solubles en agua conocidas de todos estos materiales, y Acid Yellow 7 (Número del

ES 2 333 594 T3

Chemical Abstract Service Registry 2391-30-2, para ácido 1H-benz(de)isoquinolin-5-sulfónico, 6-amino-2,3-dihidro-1,3-dioxo-2-p-tolil-, sal monosódica (8Cl)).

En una realización, la presente invención incluye un controlador (no se muestra) para monitorizar y/o controlar las condiciones de operación o rendimiento del sistema de separación con membrana en base a la fluorescencia del agente fluorógeno, del agente fluorógeno reaccionado, y/o el marcador fluorescente inerte cuantificables. En este aspecto, las bioincrustaciones se controlan en el sistema de separación con membrana midiendo el cambio en la señal del agente fluorógeno o del agente fluorógeno reaccionado con respecto a la señal del marcador fluorescente inerte y después comparando la proporción resultante con la proporción correspondiente de la corriente de alimentación o la proporción correspondiente en tiempo cero, es decir, justo después de que se haya limpiado la membrana. El controlador puede configurarse y/o ajustarse en una variedad de formas diferentes y adecuadas.

Por ejemplo, el controlador puede ponerse en contacto con el dispositivo de detección (no se muestra) para procesar la detección señal (por ejemplo, filtro para el ruido de la señal) para mejorar la detección de la señal fluorescente(s) derivada del agente fluorógeno, del agente fluorógeno reaccionado y/o del marcador fluorescente inerte. Además, el controlador puede ajustarse para que se comunique con otros componentes del sistema de separación con membrana. La comunicación puede ser o bien mediante cables (por ejemplo, cable de comunicación eléctrico), o bien una comunicación inalámbrica (por ejemplo, interfaz RF inalámbrica), una interfaz neumática o similares.

En este aspecto, el controlador puede utilizarse para controlar el rendimiento de la separación con membrana determinando la cantidad óptima de tratamiento de biocontrol necesaria. El "tratamiento bioquímico" incluye biocidas, agentes de biocontrol, procedimientos de biocontrol y sus combinaciones. Por ejemplo, el controlador puede comunicarse con un dispositivo de alimentación (no se muestra) para controlar diversas sustancias químicas para el control de bioincrustaciones o dispositivos de control de bioincrustaciones o parámetros de procesamiento. En una realización, el controlador es capaz de ajustar la velocidad de alimentación del agente(s) de biocontrol que se añade a la corriente de alimentación durante la separación con membrana en base a la fluorescencia del agente fluorógeno y del agente fluorógeno reaccionado que se midan. En otra realización, la adición de agentes de biocontrol es controlada en base a la determinación de la proporción entre el agente fluorógeno reaccionado y el agente fluorógeno. En otra realización, la adición de biocidas se controla en base a la determinación de la velocidad de cambio de la proporción entre el agente fluorógeno reaccionado y el agente fluorógeno.

Una determinación de la fluorescencia del agente(s) fluorógeno(s) en tiempo real permite evaluar de forma inmediata la actividad microbiana así como la eficacia de la actual dosificación del agente de biocontrol y/o la necesidad de añadir más agente de biocontrol. La determinación en tiempo real de la actividad biológica permite al procedimiento añadir agentes de biocontrol según sea necesario. Cuando el estado de las bioincrustaciones se conoce en tiempo real se evita añadir un exceso de los agentes de biocontrol, superior a lo que es necesario para controlar la actividad microbiana. Por lo tanto, los agentes de biocontrol pueden administrarse a niveles eficaces determinados, lo que consigue que se use la cantidad correcta. Además, puede evaluarse la eficacia de una adición de agente de biocontrol en tiempo real y la dosis puede aumentarse o disminuirse dependiendo de la lectura en tiempo real.

Cuando el procedimiento de la invención actualmente reivindicada se realiza en presencia de agentes de biocontrol, deben realizarse ciertos ajustes. Las personas de experiencia ordinaria en la técnica saben qué biocidas se usan en los sistemas de separación con membrana. En una realización, los biocidas se añaden como respuesta a niveles inaceptables de actividad microbiana que incluyen biocidas oxidantes, biocidas no oxidantes y sus combinaciones.

Los biocidas oxidantes adecuados incluyen, pero sin limitación:

BCDMH (92,5%, 93,5%, 98%), que es o bien 1,3-dicloro-5,5-dimetilhidantoina y 1-bromo-3-cloro-5,5-dimetilhidantoina (N.º de registro CAS 16079-88-2) o una mezcla de los mismos;

lejías, entre otras las lejías estabilizadas;

bromo, entre otros bromo estabilizado;

hipoclorito cálcico (N.º de registro CAS 7778-54-3) "Cal Hypo" (68%);

cloro, entre otros cloro estabilizado (8,34%);

H₂O₂/PAA (21,7%/5,1%) que es peróxido de hidrógeno (N.º de registro CAS 7722-84-1)1 perácido acético (N.º de registro CAS 79-21-0);

hipobromito;

ácido hipobromoso;

yodo;

ES 2 333 594 T3

organobromos;

NaBr (42,8%, 43%, 46%) que es bromuro sódico;

5 NaOCl (10%, 12,5%) que es hipoclorito sódico (N.º de registro CAS 7681-52-9);

y sus mezclas.

10 Los biocidas no oxidantes adecuados incluyen, pero sin limitación, ADBAC Quat (10%, 40% (N.º de registro CAS 68391-0-5), 80%) cloruro de alquil dimetilbencil amonio, también conocido como “quat”;

ADBAC quat (15%)/TBTO (óxido de tributilestano 5%);

15 ADBAC (12,5%)/TBTO (2,5%), (ADBAC Quat/bis óxido de tributilestano) (N.º de registro CAS 56-35-9);

carbamatos (30%), de la fórmula T_2NCO_2H , donde T_2 es un grupo alquilo C_1-C_{10} ; sulfato de cobre (80%);

20 DBNPA (20%, 40%), que es 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamida (N.º de registro CAS 10222-01-2);

DDAC Quat (50%) que es cloruro de didecil dimetil amonio quat;

DPEEDBAC Quat (1%) que es (2-(2-p-(diisobutil)fenoxi)etoxi)etildimetilo, dimetilbencilo;

25 glutaraldehído (15%, 45%), N.º de registro CAS 111-30-8;

glutaraldehído (14%)/ADBAC quat (2,5%);

30 HHTHT -- hexahidro-1,3,5-tris (2-hidroxietil)-5-triazina (78,5%);

isotiazolonas (1,5%, 5,6%) - una mezcla de 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona (N.º de registro CAS 261 72-55-4) y 2-metil-4-isotiazolina-3-ona (N.º de registro CAS 2682-20-4);

35 MBT (10%)--bis tiocianato de metileno;

poliquat (20%, 60%), un compuesto cuaternario polimérico;

poliaminas y sus sales -- compuestos de amina poliméricos;

40 temutilazina (4%, 44,7%)--2-(terc-butilamino)-4-cloro-6-etilamino-5-triazina (N.º de registro CAS 5915-41-3);

TMTT (24%)-- disulfuro de tetrametiltiuram;

45 y sus mezclas.

50 Otros tipos de agentes de biocontrol incluyen biodispersantes, biodetergentes, agentes caotrópicos, tensioactivos, agentes quelantes, limpiadores enzimáticos y otras sustancias químicas que eliminan las bacterias o interfieren con los procesos de adhesión bacteriana y de EPS y de colonización bacteriana.

También pueden usarse procedimientos de biocontrol, como por ejemplo, los medios mecánicos para alterar la integridad de la biopelícula entre otros ultrasonidos, campos eléctricos, lavados a contracorriente con aire, etc.

55 Dado que los sistemas de membrana tienen tiempos de retención muy cortos, la interferencia de los agentes de biocontrol con el agente fluorógeno no supone ningún problema en la mayoría de las aplicaciones prácticas, simplemente no aplicando el agente de biocontrol durante la introducción del agente fluorógeno. En la práctica, el agente de biocontrol puede añadirse solo de forma intermitente.

60 Aunque a menudo se emplean sistemas de separación con membrana para la purificación del agua, o el procesamiento de las corrientes acuosas, los sistemas de la presente invención no se limitan al uso de un influente acuoso. En una realización, el influente puede ser otro fluido, o una combinación de agua y otro fluido. Los principios de funcionamiento de los sistemas de separación con membrana y los procedimientos de la presente invención no dependen tanto de la naturaleza del influente como para que la presente invención no pueda emplearse con influentes que sean adecuados para la purificación del agua en un sistema de separación con membrana dado. Las descripciones de la invención anteriores que se refieren a sistemas acuosos pueden aplicarse también a sistemas no acuosos y acuosos/no acuosos mixtos.

Las anteriores descripciones de la presente invención algunas veces se refieren específicamente a influentes y efluentes acuosos y al uso de un sistema acuoso para describir un sistema de filtración con membrana y el funcionamiento de la presente invención en ellos es ejemplar. Una persona de experiencia ordinaria en la técnica, con las descripciones de la presente memoria descriptiva, sabría cómo aplicar las descripciones anteriores a sistemas de filtración con membrana no acuosos.

Debería entenderse que la presente invención es aplicable a todas las industrias que puedan emplear los procedimientos de separación con membrana. Por ejemplo, los diferentes tipos de procedimientos industriales en los que puede aplicarse el procedimiento de la presente invención generalmente incluyen procedimientos de agua natural, procedimientos para aguas residuales, procedimientos para aguas industriales, tratamiento del agua municipal, procedimientos para alimentos y bebidas, procedimientos farmacéuticos, fabricación de aparatos electrónicos, operaciones para servicios públicos, procedimientos para pulpa y papel, procedimientos para minería y minerales, procedimientos relacionados con el transporte, procedimientos textiles, procedimientos de chapado y metalúrgicos, procedimientos de lavanderías y limpieza, procedimientos del cuero y encurtido y procedimientos para pinturas.

En particular, los procedimientos para alimentos y bebidas pueden incluir, por ejemplo, procedimientos para lácteos para la producción de crema, leche parcialmente desnatada, queso, productos lácteos de especialidad, aislados proteínicos, fabricación de lactosa, suero, caseína, separación de la grasa y recuperación de la salmuera del queso salado. Los usos relativos a la industria de bebidas incluyen, por ejemplo, aclaramiento, concentración o desacidificación de zumos de frutas, aclaramiento de bebidas alcohólicas, eliminación del alcohol para las bebidas con bajo contenido en alcohol, agua procesada; y los usos relativos al refinado de azúcar, procesamiento de proteínas vegetales, producción/procesamiento de aceite vegetal, molienda en húmedo del grano, procesamiento de animales (por ejemplo, carne roja, huevos, gelatina, pescado y pollo), recuperación de aguas de lavado, desechos del procesamiento de alimentos y similares.

Los ejemplos de usos de aguas industriales aplicados a la presente invención incluyen, por ejemplo, producción de agua de caldera, purificación y reciclaje/reutilización del agua de procesamiento, reblandecimiento de agua natural, tratamiento de agua de refrigeración, recuperación del agua en los procedimientos de fabricación de papel, desalinización de agua marina y salobre para uso industrial y municipal, purificación de aguas superficiales, naturales o potables entre otros, por ejemplo, uso de membranas para excluir microorganismos dañinos del agua potable, mejoramiento de agua reblandecida, biorreactores con membrana, aguas de procedimientos de minería y minerales.

Los ejemplos de aplicaciones para el tratamiento de aguas residuales con respecto a los procedimientos de monitorización del marcador inerte de la presente invención incluyen, por ejemplo, tratamiento de aguas residuales industriales, sistemas de tratamiento de residuos biológicos, eliminación de metales pesados contaminantes, mejoramiento de agua efluente terciaria, aguas residuales oleosas, procedimientos relacionados con el transporte (por ejemplo, agua de lavados de vagones cisterna), residuos textiles (por ejemplo, tinte, adhesivos, apresto, aceites para el desgrasado de lana, aceites para el acabado de tejidos), residuos de chapado y metalúrgicos, lavanderías, imprentas, cuero y encurtido, pulpa y papel (por ejemplo, eliminación del color, concentración de sulfito líquido diluido gastado, recuperación de lignano, recuperación de los recubrimientos para papel), sustancias químicas (por ejemplo, emulsiones, látex, pigmentos, pinturas, subproductos de reacciones químicas), y tratamiento de aguas residuales municipales (por ejemplo, alcantarillas, residuos industriales).

Otros ejemplos de aplicaciones industriales de la presente invención incluyen, por ejemplo, procedimientos con agua para enjuagado de semiconductores, producción de agua inyectable, agua farmacéutica que incluye agua que se usa en la producción/recuperación de enzimas y formulación de productos, y procesos de pinturas de electrorrecubrimiento.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se pretende que sean ilustrativos de la presente invención y que enseñen a una persona de experiencia ordinaria cómo realizar y usar la invención. Estos ejemplos no se pretende que limiten la invención ni su protección en modo alguno.

Ejemplo 1

Se usó un sistema de membranas de prueba para demostrar la monitorización del desarrollo de la biopelícula sobre una membrana de ósmosis inversa. El sistema era una unidad de prueba (cubeta de membranas SEPA CF) fabricada por Osmonics. La unidad incluía una lámina plana nueva (es decir, limpia) de membrana que medía 8,89 cm x 12,7 cm (3,5 pulgadas x 5 pulgadas). Se forzó agua alimentada a 2,48 MPa (360 psig) en el canal de alimentación del alojamiento de la membrana a una aproximadamente 150 mililitros por minuto (ml/min). Al ir atravesando el agua alimentada la membrana hacia el canal de salida del desecho, la presión forzaba las moléculas de agua a través de la membrana al canal de permeado a aproximadamente 15 ml/min. El agua de salida del canal de desecho era de aproximadamente 2,48 MPa (360 psig). La caída en la presión reseñada era la presión del canal de alimentación menos la presión en el canal de desecho.

ES 2 333 594 T3

El caudal del permeado en porcentaje del caudal de alimentación era del 10%, que es lo habitual para un elemento de membrana de ósmosis inversa. El agua alimentada tenía una conductividad de 3,9 miliSiemens/cm. El agua de permeado tenía una conductividad de 0,2 miliSiemens/cm. La temperatura de funcionamiento era de 25,6°C (78°F) y el pH era de 7.

En el sistema de membranas de prueba, se realizó un sembrado de bacterias y, así, las bioincrustaciones microbiana se iniciaron casi inmediatamente después de la siembra. El experimento se realizó durante un periodo de aproximadamente 90 a 170 horas después de la siembra. Se midieron las variables afectadas por las incrustaciones (por ejemplo, caudal de permeado, presión diferencial entre el canal de alimentación y el canal de desecho, y conductividad del permeado). La cuantificación microbiana superficial de la membrana se realizó al final de la prueba.

Para demostrar el uso del agente fluorógeno, se alimentó una solución de aproximadamente 2 ppm (partes por millón) de resazurina a 3 ml/min en la corriente de alimentación (que tenía un caudal de aproximadamente 150 ml/min) antes de que entrara en la membrana del canal de alimentación durante un periodo de aproximadamente cinco minutos. La concentración de resazurina después de mezclar con el agua alimentada era de aproximadamente 40 ppb (partes por billón).

La medición de la fluorescencia se realizó en la corriente de desecho con un fluorómetro en línea (Nalco TRASAR® 350) y con un fluorómetro de sobremesa (Jobin Yvon Spectrometer Fluoro-MAX 3). El tiempo de retención de la sustancia química resazurina en el sistema de membranas fue del orden de aproximadamente un minuto. La medición de la fluorescencia alcanzó un estado de equilibrio generalmente en aproximadamente tres minutos después de iniciar la alimentación de la resazurina. Periódicamente se repitió la alimentación feeding y medición del agente fluorógeno cada 5 minutos durante el transcurso del experimento.

TABLA 1

Tiempo (h)	TRASAR350 (proporción)	Caudal de permeado (ml/min)	Caída en la presión (cm agua) (pulgadas de agua)	Conductividad del permeado (miliSiemens/cm)	Cuantificación microbiana en la membrana ufc/cm ²
1	1,0	15	2,03 (0,8)	0,17	
28	1,4	13	2,03 (0,8)	0,13	--
54	1,9	10	2,29 (0,9)	0,16	--
72	2,0	7	2,29 (0,9)	0,20	--
144	2,3	3	4,32 (1,7)	0,29	4 x 10 ⁶
*No se encontró actividad microbiana sobre la superficie de la membrana al inicio del experimento.					

TABLA 2

		TRASAR350		Fluoro-MAX 3		
Tiempo (h)	Proporción	583 nm Rf	634 nm Rz	Proporción	583 nm Rf	634nm Rz
1	1,0	39	41	1,0	24300	23900
28	1,4	70	50	1,5	44100	29600
54	1,9	96	51	2,0	59600	29500
72	2,0	110	55	2,2	71600	33100
144	2,3	133	58	2,4	73200	30900

ES 2 333 594 T3

Como se muestra anteriormente en las Tablas 1 y 2, la proporción entre la fluorescencia del agente fluorógeno reaccionado (por ejemplo, resorufina (Rf) y la fluorescencia del agente fluorógeno (por ejemplo, resazurina (R)) aumentó con el desarrollo y la acumulación microbianos durante el transcurso del experimento. Debería entenderse que los valores para Rf y Rz en las Tablas 1 y 2 representan una intensidad de la señal de fluorescencia medida que corresponde a una cantidad del agente fluorógeno reaccionado y del agente fluorógeno. Además, las Tablas 1 y 2 demuestran la existencia de una relación directa entre la proporción y las variables del rendimiento de la separación con membrana medidas según el caudal de permeado, caída en la presión y conductividad del permeado.

Ejemplo 2

Se realizó una prueba en lotes para cuantificar la reacción entre la actividad microbiana y la resazurina, un agente fluorógeno. La prueba se realizó en una solución de medio mínimo que contenía 100 ppm de glicerol, 7 gramos/litro (g/l) de K_2HPO_4 , 0,1 g/l de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1 g/l $(NH_4)_2SO_4$ y 0,5 g/l de citrato sódico. Se inoculó un depósito de campo de una unidad de membranas de ósmosis inversa en el medio y se dejó desarrollar. La solución después se incubó a 30°C en un agitador de matraces a una velocidad de aproximadamente 200 revoluciones por minuto (rpm). Se recogieron alícuotas de muestra usando una pipeta estéril en diferentes intervalos de tiempo. Se analizaron las muestras recogidas en cada tiempo para determinar la densidad óptica, la cuantificación microbiana (a 8, 12 y 24 h) y se dejó que reaccionaran con resazurina. La densidad óptica se midió según la absorbancia a 600 nm usando un espectrofotómetro Cintra. La cuantificación microbiana se realizó con una extensión en placa sobre agar TGE después de ocho diluciones seriadas de 1:10 con una solución de tampón de fosfato estéril. En las pruebas de reacción con resazurina, se añadió a las muestras 50 ppb de resazurina. Se recuperaron alícuotas de una muestra de 3,5 ml a los tiempos de reacción de 1, 2, 3, 5, 10 minutos y después se filtraron a través de una jeringuilla estéril de 0,22 micrómetros para detener la reacción. Posteriormente se midió la fluorescencia de la resazurina y resorufina en estas muestras reaccionadas. La respuesta de la resazurina se determinó de acuerdo con la proporción de la fluorescencia entre resorufina y resazurina. Las mediciones de la fluorescencia se realizaron a una longitud de onda de excitación de 550 nm y unas longitudes de onda de emisión de 583 nm y 634 nm, usando un fluorómetro Horiba Jobin Yvon (modelo FluoroMax-3) con anchura de abertura de 2,5 nm (excitación) y 2,5 nm (emisión). La resazurina presentaba una fluorescencia máxima a 634 nm y la resorufina a 583 nm.

TABLA 3

Desarrollo microbiano en función del tiempo	Proporción de la fluorescencia entre resorufina y resaurina en cada tiempo de reacción para cada muestra (intensidad)					Densidad óptica (absorbancia)	Recuento de placas viables
(h)	t = 1 min	t = 2 min	t = 3 min	t = 5 min	t = 10 min	600 nm	ufc/ml
0	1,00	0,93	0,94	0,89	1,00	0,0001	
4	1,29	1,42	0,95	0,94	1,31		
6	1,03	1,27	0,96	1,20	0,97	0,0020	
8	1,17	1,14	1,17	1,18	1,29	0,0094	3,01E+06
10	1,25	1,20	1,30	1,33	1,29	0,0162	
12	1,55	1,52	1,61	1,58	1,79	0,0629	3,90E+07
24	2,81	3,11	3,22	3,50	3,75	0,4261	2,40E+09

Tal como se demuestra en la Tabla 3, la proporción de fluorescencia entre resorufina y resazurina aumentó al aumentar el desarrollo microbiano según indicaba la densidad óptica (absorbancia a 600 nm) y el recuento de células viables. La proporción también aumentó al aumentar el tiempo de reacción entre la muestra y resazurina, especialmente cuando la densidad microbiana fue de aproximadamente 10^6 ufc/ml o superior. Los resultados muestran que la resazurina responde al desarrollo microbiano de una biopelícula sobre la membrana.

Ejemplo 3

Se realizó una prueba en lotes para cuantificar la relación entre la concentración de la dosis de resazurina y su respuesta a diferentes niveles de densidades microbianas durante el desarrollo microbiano. La prueba se realizó en una solución de medio mínimo inoculada con un depósito de membrana de ósmosis inversa (RO) de campo como se describe en el Ejemplo 2. La solución se incubó a 30°C en un agitador de matraces a una velocidad de 200 rpm. Se recogieron alícuotas de muestra usando una pipeta estéril en diferentes intervalos de tiempo. Se analizaron las muestras recogidas en cada tiempo para determinar la densidad óptica, la cuantificación microbiana (excepto a tiempo 0 y a las 2 horas) y se dejó que reaccionaran con resazurina. La densidad óptica y la cuantificación microbiana se realizaron usando los mismos procedimientos que se describen en el Ejemplo 2. En la prueba de reacción con resazurina, las muestras añadidas fueron de 50 ppb, 500 ppb y 5000 ppb de resazurina. Se recuperaron alícuotas de muestras de 3,5 ml después de una reacción de 1 minuto. Posteriormente se midió la fluorescencia de la resazurina y resorufina en estas muestras reaccionadas. La respuesta de la resazurina se evaluó de acuerdo con la proporción de la fluorescencia entre resorufina y resazurina. El procedimiento de las mediciones de la fluorescencia se describe anteriormente en el Ejemplo 2.

TABLA 4

Tiempo de desarrollo microbiano (h)	Proporción de la fluorescencia entre resorufina y resaurina a cada concentración de la dosis			Cambio relativo en la proporción (Rf/Rzt-Rf/Rzo) 50 ppb	Densidad óptica (absorbancia) DO600	Recuento de placas viables ufc/ml
	0,05 ppm	0,05 ppm	0,05 ppm			
0	0,878	0,761	0,400		0,0013	
2	1,107	0,766	0,413	0,229	0,0013	
4	1,241	0,927	0,445	0,363	0,0013	1,40E+05
6	1,217	0,892	0,456	0,338	0,0112	2,10E+05
8	1,147	0,828	0,456	0,269	0,0029	4,70E+05
10	1,244	0,930	0,476	0,366	0,0052	2,30E+06
14	1,346	0,921	0,433	0,468	0,0223	1,90E+07
25	2,560	1,520	0,676	1,682	0,2185	2,50E+09

donde Rf = resorufina; Rz = resazurina; Rf/Rz = proporción entre resorufina y resazurina;

Rf/Rzt = proporción entre resorufina y resazurina en el tiempo t (t = 2, 4, 6, 8, 10, 14, 25 horas); y

Rf/Rzo = proporción entre resorufina y resazurina en el tiempo cero.

TABLA 5

Log de dosis de resazurina (ppb)	Dosis de Rz (ppb)	Proporción de la fluorescencia Rf/Rz con diferentes densidades de células microbianas		
		2,00E+06	2,00E+07 (CAU/ml)	3,00E+09
1,70	50	1,24	1,35	2,56
2,70	500	0,93	0,92	1,52
3,70	5000	0,48	0,43	0,68
Regresión lineal				
	Pendiente	-0,38	-0,46	-0,94
	Corte	1,92	2,13	4,13
	RSQ	0,9890449	0,99844	0,996395936

Como se indica en las Tablas 4 y 5, la proporción de la fluorescencia entre resorufina y resazurina aumentó al disminuir la dosis de resazurina a cada densidad de células microbianas. Además, la dosis de la concentración de resazurina presentaba una relación lineal logarítmica con respecto a la respuesta de la proporción de la fluorescencia en la muestra. El cambio en la proporción también indicaba que 50 ppb de resazurina eran más sensibles al desarrollo microbiano que 500 ppb y 5000 ppb de resazurina. La proporción de la fluorescencia entre resorufina y resazurina fue un orden de magnitud más sensible que la medición de la densidad óptica.

Ejemplo 4

Esta prueba evaluó la correlación entre la respuesta de fluorescencia de resazurina y la biopelícula (células sésiles) sobre una membrana de ósmosis inversa (RO). La prueba se realizó en un sistema de células de flujo en lotes de 350 ml. El sistema fue alimentado con medio mínimo y se inoculó con un depósito de membrana de ósmosis inversa (RO) de campo como se describe en el Ejemplo 2. La célula de flujo se hizo funcionar con un tiempo de retención hidráulico de aproximadamente 14 h. Una bomba de recirculación proporcionó el mezclado al sistema a 195 ml/min. Se sumergieron rectángulos de membrana de RO de 7,62 cm x 2,54 cm (3 pulgadas x 1 pulgada) en la célula de flujo.

Las muestras de membrana se extrajeron periódicamente para la cuantificación de los microbios sésiles y para la prueba de respuesta a la resazurina. Una muestra de la membrana se empapó en una solución de tampón de fosfato estéril (PBS) en un tubo de ensayo de 45 ml para someterla a ultrasonidos durante 5 minutos. Después una alícuota de la solución madre de la muestra sometida a ultrasonidos se diluyó con PBS en ocho diluciones seriadas de 1:10 antes de plaquear en una placa de agar de TGE. El recuento de las placas viables representaba la densidad de células sésiles de la membrana de RO. Se añadieron 40 ppb de resazurina sobre la muestra de membrana sonicada en PBS durante un minuto. Después se extrajo una alícuota de la muestra para comprobar la fluorescencia en las mismas condiciones que se describen en el Ejemplo 2. La proporción medida de la fluorescencia entre la resorufina y la resazurina de la muestra de membrana sonicada representaba la respuesta a los flóculos microbianos. Se extrajo otra muestra de membrana y se empapó en 45 ml de PBS en un tubo de ensayo. A la muestra se añadieron 40 ppb de resazurina durante un minuto. Después se tomó una alícuota de la muestra para medir la fluorescencia en las mismas condiciones que se describen en el Ejemplo 2. La proporción de la fluorescencia asociada a esta muestra representaba la respuesta a las biopelículas intactas sobre la membrana de RO.

TABLA 6

Tiempo transcurrido (h)	Log de densidad de células sésiles sobre la membrana de RO (ufc/cm ²)	Proporción entre resorufina y resazurina
1	3,76	0,824
24	7,41	
48	7,43	0,888
72	7,73	0,888
96	9,09	0,992
168	9,11	0,955
174	8,37	1,051

TABLA 7

Densidad de células sésiles sobre la membrana de RO	Proporción entre resorufina y resazurina	
Log (ufc/cm ₂)	Biopelícula	Flóculo
7,43	0,888	0,993
7,73	0,888	1,115
9,09	0,992	1,031

La Tabla 6 ilustra que la respuesta de la resazurina aumenta al aumentar la densidad de las células sésiles de la membrana de RO. La Tabla 7 demuestra además que la respuesta de la resazurina es mayor en los flóculos que en las biopelículas intactas.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de monitorización de bioincrustaciones en un sistema de separación con membrana que incluye una membrana capaz de separar una corriente de alimentación en al menos una primera corriente y una segunda corriente que comprende las etapas de:

proporcionar un agente fluorógeno;

añadir el agente fluorógeno a la corriente de alimentación;

proporcionar un fluorómetro para detectar la señal fluorescente del agente fluorógeno en al menos una de la primera corriente y la segunda corriente;

hacer reaccionar el agente fluorógeno con al menos un microorganismo del sistema de separación con membrana;

formar un agente fluorógeno reaccionado;

usar el fluorómetro para medir la señal fluorescente de al menos uno del agente fluorógeno y del agente fluorógeno reaccionado en al menos una de la primera corriente y la segunda corriente; y

monitorizar las bioincrustaciones del sistema de separación con membrana en base al cambio en la señal del agente fluorógeno, o del agente fluorógeno reaccionado o una combinación de ambas señales medidas.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el sistema de separación con membrana se selecciona a partir del grupo constituido por un sistema de separación con membrana de flujo tangencial y un sistema de separación con membrana de caudal frontal.

3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el sistema de separación con membrana se selecciona a partir del grupo constituido por ósmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración, microfiltración, electrodiálisis, electrodesionización, pervaporación, extracción con membrana, destilación con membrana, limpieza con membrana, aireación con membrana y sus combinaciones.

4. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el sistema de separación con membrana se selecciona a partir del grupo constituido por ósmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración y microfiltración.

5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el agente fluorógeno se selecciona a partir del grupo constituido por éster del ácido acético de ácido pireno-3,6,8-trisulfónico; diacetato de carboxifluoresceína, β -D-galactopiranosida de 3-carboxiumbeliferilo; β -D-glucuronida de 3-carboxiumbeliferilo; D-glucuronida de 9H-(1,3-dicloro-9,0-dimetilacridin-2-on-7-ilo); 9H-(1,3-dicloro-9,9-dimetilacridin-2-on-7-ilo); β -D-galactopiranosida de resorufina; di- β -D-galactopiranosida de fluoresceína; di- β -D-glucuronida de fluoresceína; β -D-glucuronida de resorufina; difosfato de fluoresceína; resazurina; resazurina, sal sódica; fosfato de 4-metilumbeliferilo; β -D-glucuronida de 4-metilumbeliferilo; fosfato de piranina; 1-fosfato del ácido piren-3,6,8-trisulfónico; y sus combinaciones.

6. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el agente fluorógeno se selecciona a partir del grupo constituido por resazurina, fosfato de 4-metilumbeliferilo, fosfato de piranina y sus combinaciones.

7. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el agente fluorógeno es resazurina.

8. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el agente fluorógeno se añade a la corriente de alimentación en una cantidad de aproximadamente 5 ppt a 500 ppm.

9. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el agente fluorógeno se añade a la corriente de alimentación en una cantidad de aproximadamente 0,5 ppb a 5 ppm.

10. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el agente fluorógeno se añade a la corriente de alimentación en una cantidad de aproximadamente 5 ppb a aproximadamente 500 ppb.

11. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que las bioincrustaciones se monitorizan determinando la proporción entre la señal fluorescente del agente fluorógeno reaccionado y la señal fluorescente del agente fluorógeno en al menos una de la primera corriente y la segunda corriente.

12. El procedimiento de la reivindicación 11, que además comprende determinar la velocidad del cambio de la proporción entre la señal fluorescente del agente fluorógeno reaccionado y la señal fluorescente del agente fluorógeno en al menos una de la primera corriente y la segunda corriente para monitorizar las bioincrustaciones.

ES 2 333 594 T3

13. El procedimiento de la reivindicación 1 que además comprende la etapa de:

determinar la cantidad óptima de tratamiento de biocontrol basándose en el cambio en la señal del agente fluorógeno, o del agente fluorógeno reaccionado o una combinación de ambas señales medidas; y

aplicar la cantidad óptima de tratamiento de biocontrol al sistema de separación con membrana.

14. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que el tratamiento de biocontrol se selecciona a partir del grupo constituido por biocidas, agentes de biocontrol, procedimientos de biocontrol y sus combinaciones.

15. El procedimiento de la reivindicación 14, en el que los biocidas se seleccionan a partir del grupo constituido por biocidas oxidantes, biocidas no oxidantes y sus combinaciones.

16. El procedimiento de la reivindicación 14, en el que los agentes de biocontrol se seleccionan a partir del grupo constituido por biodispersantes, biodetergentes, agentes caotrópicos, tensioactivos, agentes quelantes, limpiadores enzimáticos y sus combinaciones.

17. El procedimiento de la reivindicación 14, en el que los procedimientos de biocontrol se seleccionan a partir del grupo constituido por ultrasonidos, campos eléctricos y lavados a contracorriente con aire.

18. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que los microorganismos se seleccionan a partir del grupo constituido por microorganismos plantónicos, microorganismos sésiles y sus combinaciones.

19. El procedimiento de la reivindicación 1 que además comprende la adición de un marcador fluorescente inerte a la corriente de alimentación para monitorizar las bioincrustaciones en el sistema de separación con membrana en base al cambio en la señal del agente fluorógeno o del agente fluorógeno reaccionado con respecto a la señal del marcador fluorescente inerte.