

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 530 591**

21 Número de solicitud: 201331186

51 Int. Cl.:

**C02F 1/50** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**31.07.2013**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**03.03.2015**

56 Se remite a la solicitud internacional:

**PCT/ES2014/070563**

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.0%)  
AVDA. MARÍA LUISA, S/Nº - PALACIO  
PABELLÓN DE PERÚ  
41013 SEVILLA ES**

72 Inventor/es:

**UNDABEYTIA LÓPEZ, Tomás;  
NIR, Shiomo;  
SÁIZ JIMÉNEZ, Cesáreo;  
LÁIZ TROBAJO, Leonila y  
MORILLO GONZÁLEZ, Esmeralda**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

54 Título: **PROCEDIMIENTO PARA LA ELIMINACIÓN DE MICROORGANISMOS EN AGUAS POR FILTRACIÓN**

57 Resumen:

Procedimiento para la eliminación de microorganismos en aguas por filtración. El objeto de la presente invención es un procedimiento para el tratamiento y purificación de aguas, dirigido a la eliminación de microorganismos, especialmente bacterias, pero de utilidad también para virus o protozoos.

El procedimiento presenta ventajas frente a los métodos actualmente existentes ya que minimiza la aparición de efectos no deseados, tales como la formación de productos carcinógenos, por ejemplo los trihalometanos o ácidos haloacéticos que se generan en los tratamientos mediante cloración o las nitrosaminas en tratamientos por cloraminación. El procedimiento se basa en la filtración de agua a través de materiales complejos que comprenden polímeros catiónicos sobre láminas de minerales de arcilla.

ES 2 530 591 A1

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la eliminación de microorganismos en aguas por filtración

### SECTOR DE LA INVENCIÓN

5 Esta invención se inscribe en tratamientos de desinfección de aguas. En particular, hace referencia al uso de complejos polímeros-minerales de la arcilla en procesos de filtración con el fin de reducir la concentración de microorganismos presentes en el agua, evitando el uso de procesos de desinfección alternativos que pueden dar lugar a productos secundarios carcinógenos. El uso de estos complejos polímeros-arcilla en medios de filtración será también ventajoso para la reducción de formación de biopelículas en tratamientos de agua basados en  
10 tecnologías de membranas, mejorando por tanto su eficiencia y prolongando la vida útil de estas.

### ESTADO DE LA TÉCNICA

Los procesos de desinfección son cruciales en servicios de tratamientos de agua. La desinfección se realiza tradicionalmente en plantas de tratamiento de aguas mediante  
15 cloración, que reduce enormemente los patógenos presentes en el agua pero puede poseer un serio riesgo para la salud humana por la formación de bioproductos de desinfección (DBP). La presencia de una cantidad pequeñísima de materia orgánica natural en aguas cloradas puede inducir la formación de trihalometanos (THMs) y ácidos haloacéticos (HAAs), que son carcinógenos. Su concentración en aguas está estrictamente regulada ( $<100 \mu\text{g L}^{-1}$  para THMS en la Unión Europea, Drinking Water Directive 98/83/EC;  $<80$  y  $60 \mu\text{g L}^{-1}$  para THMS y HAAs, respectivamente, por la USEPA, EPA-HQ-OW-2002-0043). De aquí que el uso de desinfectantes alternativos reducirá la formación de dichos productos. El uso de cloraminación reduce la formación de THM y HAAs pero conduce a la formación de nitrosaminas. La especie más dominante es N-nitrosodimetilamina (NDMA). La OMS permite un nivel en aguas potables de  $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$  pero debido a su alta genotoxicidad, algunas legislaciones nacionales han  
20 establecido niveles inferiores:  $10 \text{ ng L}^{-1}$  en California,  $40 \text{ ng L}^{-1}$  en Canada. NDMA puede estar presente en aguas brutas a muy bajos niveles, pero su concentración aumenta enormemente tras cloraminación en los efluentes y sistemas de distribución de plantas de tratamiento de aguas (WTPs) (Charrois et al., Occurrence of N-nitrosamines in Alberta public drinking-water distribution systems. J. Environ. Eng. Sci. 6, 103-11; 2007). Se ha indicado que los precursores de nitrosaminas que deben ser eliminados durante el proceso de purificación de aguas son dimetilamina y otras aminas presentes en aguas naturales, que se oxidan durante el  
25 tratamiento del agua (Lee et al., Oxidative degradation of N-nitrosodimethylamine by conventional and the advanced oxidation process ozone/hydrogen peroxide. Water Res. 41, 581-590; 2007). Otros precursores son polímeros usados como floculantes y resinas de intercambio aniónicas basadas en aminas cuaternarias. Se ha reseñado también la formación de NDMA al usar cloración tras estos intercambios iónicos (Kemper et al., Nitrosamine, dimethylnitramine, and chloropicrin formation during strong base anion-exchange treatment. Environ. Sci. Technol. 43, 466-472; 2009). En general, se ha observado una correlación positiva entre nitrógeno orgánico disuelto (DON) y formación de nitrosaminas. Sin embargo, se han detectado muchos otros bioproductos nitrogenados (N-DBP) en los efluentes de plantas de  
30 tratamiento de aguas. Cerca de 70 DBPs se han detectado en los muestreos en WTP estadounidenses llevados a cabo por Krasner et al. Occurrence of a new generation of disinfection byproducts. Environ. Sci. Technol. 40, 7175-7185; 2006). Los N-DBPs detectados fueron haloacetanitrilos, halonitrometanos, haloacetamidas y haluros de cianógeno.  
35

El ozono es también un desinfectante muy potente capaz de eliminar un rango amplio de microorganismos incluyendo aquellos resistentes a otros medios oxidativos tales como la cloración. Sin embargo, es una molécula muy inestable que se descompone muy rápidamente. Algunos estudios han mostrado efectos no deseados tras ozonización, como formación de

nitrosaminas y haluros de cianógeno. Los procesos de oxidación avanzados (AOPs) basados en el ataque a moléculas dianas de radicales hidroxilos generados por irradiación UV en presencia de oxidantes como ozono, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> o TiO<sub>2</sub>, son capaces de degradar muy eficientemente numerosos contaminantes (Paspaltsis et al., Photocatalytic degradation of prions using the photo-Fenton reagent. J. Hospital Infection 71, 149-156; 2009).

Se puede reducir grandemente la formación de DBPs en el curso del tratamiento de agua mediante la eliminación de precursores. Una fuente importante son las múltiples moléculas bioactivas y grupos funcionales presentes en la materia orgánica natural (NOM): aminoácidos y aldehídos responsables de la formación de haloacetoneitrilos y haluros de cianógeno; aminas secundarias y terciarias de nitrosaminas; fenoles de cloro- y bromo-benzoquinonas, etc.. Otros precursores derivan de microcontaminantes orgánicos o los así llamados contaminantes emergentes (ECs) presentes en las fuentes de suministro de agua potable. Estos ECs comprenden una gran variedad de agentes químicos: materiales ignífugos, surfactantes, pesticidas y productos de su transformación, fármacos, productos de limpieza personal, etc.

La eliminación de precursores se realiza habitualmente mediante un paso previo de filtración. Generalmente se usa filtración empleando carbón activado granular (GAC) pero presenta el inconveniente de su baja eficiencia en la eliminación de pequeñas moléculas polares. Zwiener (Occurrence and analysis of pharmaceuticals and their transformation products in drinking water treatment. Anal. Bioanal. Chem. 387, 1159-1162;2007) observó una buena correlación entre el porcentaje de eliminación mediante carbono activado y el coeficiente de partición octanol/agua (Kow) para sustancias químicas con log Kow>3. Como resultado, se hace necesaria su combinación con otros tratamientos para adquirir una buena calidad de agua potable. La filtración por membranas, bien por nanofiltración o bien por ósmosis inversa, ha mostrado ser muy eficiente en la eliminación de ECs, y compuestos cargados negativamente. La retención de microcontaminantes por membranas es altamente dependiente de las propiedades físico-químicas de los contaminantes, que están influenciadas por la química de la solución. Así, por ejemplo, se ha mostrado una mayor retención para fármacos ionizables mientras que la forma neutra se adsorbía considerablemente en la membrana hidrofóbica. Esto tiene el riesgo de que la membrana actúe como un reservorio grande de ECs que pueden ser liberados durante variaciones erráticas de pH en el funcionamiento o limpieza de la misma membrana. Además, las membranas necesitan un alto y costoso servicio de mantenimiento para disminuir el bloqueo permanente de poros y ensuciamiento.

La regeneración de aguas debe hacer frente a altos contenidos de materia orgánica y ECs en la entrada de la planta causando una mayor formación de DBP. Esto explica la gran toxicidad observada en los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales que ha forzado la adopción de regulaciones más exigentes en numerosos países. Sirva de ejemplo que la OMS ha establecido valores inferiores para el indicador entérico patogénico *Escherichia coli* de 1000 unidades formadoras de colonias (UFC)/100 mL en riego de cultivos frente a valores de 100 UFC/100 mL en España o ninguna cantidad detectable en EEUU en cultivos alimentarios. Los niveles requeridos para los efluentes son función de la aplicación para un reuso específico: cultivos alimentarios procesados, embalses, recarga de acuíferos, piscifactorías, uso industrial, etc. La mayoría de los tratamientos son a nivel secundario antes de la desinfección (generalmente por cloración), y en ciertos usos un paso intermedio de filtración. La filtración ayuda a reducir la carga de gérmenes patógenos acuáticos por adsorción física o atrapamiento, además de eliminación de partículas a las que están asociados, y también de precursores. Los procesos de filtración por membrana son únicamente ventajosos para niveles de calidad de agua muy exigentes, lo que no es el caso general en regeneración de aguas, a causa de sus altos costes operacionales. La biofiltración es capaz de reducir grandemente los constituyentes biodegradables que son una fuente de formación de DBP (Kalkan et al., Evaluation of biological activated carbon (BAC) process in wastewater treatment secondary effluent for reclamation purposes. Desalination 265, 266-273; 2011).

Los procesos de desinfección mejoran enormemente al combinarlos con otros procesos de tratamiento. Las legislaciones nacionales proveen regulaciones sobre qué tipo de procesos deben ser aplicados basados en el tipo y calidad de agua deseada (potable, reuso). La filtración en lecho se encuentra incorporada en la gran mayoría de plantas de tratamiento de aguas. El material mayormente usado en filtración es carbón activo granulado (GAC). Este material tiene muy poca resolución en la eliminación de patógenos. De aquí que la investigación actual esté incidiendo en la modificación de GAC y la síntesis de nuevos materiales compuestos para su uso como medios en la eliminación de microorganismos: organoarcillas inmovilizadas en arena (Herrera et al., The efficacy of sand-immobilized organoclays as filtration bed materials for bacteria. *Food Microbiology* 21, 1-10; 2004); zeolita modificada con surfactantes y arena recubierta con óxido de hierro (Schulze-Makuch et al., Field evaluation of the effectiveness of surfactant modified zeolite and iron-oxide-coated sand for removing viruses and bacteria from groundwater. *Ground Water & Remediation* 23, 68-75 ;2003); arena recubierta de hidróxido de aluminio (Lukasik et al., Removal of microorganisms from wáter by columns containing sand coated with ferric and aluminum hydroxides. *Water Res.* 33, 769-777; 1999); GAC cargado con surfactante (Garoma y Kocher; Investigation of surfactant-modified activated carbon for recycled water disinfection. *Water Sci. & Technol.* 62, 1755-1766; 2010). Una alternativa es el uso de composites basados en polímeros debido a las propiedades antimicrobianas ejercidas por ciertos polímeros catiónicos. Se han descrito varios tipos de policationes con actividad bactericida: polímeros cuaternarios como cloruro de polivinilbencilamonio y polimetacrilato conteniendo grupos ramificados de biguanida, sales de poli(N-bencil-4-vinilpiridinio); polímeros con grupos funcionales de N-halamina, fosfonios y sulfonios, etc.

Se ha indicado que el sitio diana de los polímeros catiónicos es la membrana citoplasmática. La carga positiva del polication daña la pared celular cargada negativamente de las bacterias, y también la membrana externa en las bacterias Gram-negativas. Tras penetración a través de la pared celular, el polication es atraído hacia la membrana citoplasmática aumentando su permeabilidad y produciendo la rotura de las células. Es necesaria la presencia de segmentos hidrofóbicos en la estructura del polication para su enlace a la membrana citoplasmática.

Se han diseñado composites basados en polímeros mediante numerosas técnicas como injerto, deposición capa a capa y polimerización por plasma. Estos composites son de particular interés en el caso de polímeros solubles en agua. En estos casos, se necesita el anclaje a la superficie para la preparación de materiales que a su vez mantengan la actividad bactericida del polímero. Tashiro y col. (1993) prepararon polímeros basados en poliestireno soportados en gránulos de alúmina, que presentaban altas constantes de velocidad de adsorción para la eliminación de *E. coli*. Madkour y col. (2009) eliminaron *E. coli* y *Staphylococcus aureus* de aguas usando superficies de cristal injertadas con poli(butilmetacrilato)-co-poli(boc-aminoetil metacrilato). Tan y col. (Study of modified polypropylene nonwoven cloth. II. Antibacterial activity of modified polypropylene nonwoven cloths. *J. Appl. Polym. Sci.* 77, 1869-1876; 2000) usaron con éxito tejido no hilado recubierto con poli(4-vinilpiridina-co-estireno) cuaternizado para la eliminación de bacterias, levaduras y esporas de hongos.

Los composites polímero-arcilla se pueden diseñar por adsorción de polímeros catiónicos sobre las láminas de minerales de arcilla cargados negativamente. Las fuerzas motrices en la adsorción de polímeros son la ganancia en entropía traslacional debido a la eliminación de moléculas de agua y contraiones de la superficie de la arcilla, y a atracciones electrostáticas entre el polímero y la superficie de la arcilla. La adsorción de policationes en minerales de la arcilla se considera irreversible (Bolto y Gregory, Organic polyelectrolytes in water treatment. *Water Res.* 41, 2301-2324; 2007). No se ha estudiado el uso de composites polímero-arcilla en la eliminación de microorganismos por filtración, a diferencia de su uso en la eliminación de contaminantes orgánicos basados en la compatibilidad estructural y química de los monómeros y el contaminante orgánico. Los procesos implicados en la eliminación de microorganismos son

completamente diferentes y de mayor complejidad respecto a contaminantes orgánicos al tratarse de organismos vivos.

### EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

- 5 El objeto de la presente invención es un procedimiento para la eliminación de microorganismos en aguas por filtración, mediante el contacto de la solución acuosa conteniendo dichos microorganismos con un material complejo, comprendiendo dicho material complejo un polímero catiónico adsorbido sobre arcilla.
- 10 Dicho complejo polímero – arcilla puede utilizarse granulado o bien se mezcla con un material granular, en proporción complejo/material granular comprendida entre el 2% y el 10%. El material granular es un material inerte que se selecciona entre arena procedente de cuarzo, antracita y roca basáltica molida con un tamaño de los gránulos comprendido entre 0,2 y 2 mm.
- 15 El polímero catiónico se selecciona entre derivados de almidón, quitosán, compuestos poliméricos de dialilo de amonios, polímeros catiónicos que contengan estructuras heterocíclicas o aromáticas, policationes acrílicos y metacrílicos y policationes conteniendo grupos biguanida, fosfonio y sulfonio.
- En un modo de realización preferente, el polímero catiónico es un almidón catiónico con éteres de amonios cuaternarios.
- 20 La arcilla se selecciona entre ilita, mica, silicatos fibrosos y esmectita. En realizaciones preferentes de la invención el silicato fibroso es sepiolita y la esmectita es montmorillonita.
- La relación polímero – arcilla en el complejo está comprendida 0,7:1 y 1,72:1 (p/p), siendo 0,8:1 en un modo de realización preferente de la invención, presentando dicho complejo polímero – arcilla una configuración plana del polímero sobre la superficie de la arcilla y un potencial superficial positivo.
- 25 El contacto entre la solución acuosa conteniendo microorganismos con el complejo polímero – arcilla se lleva a cabo en al menos un filtro de columna haciendo pasar la solución acuosa en continuo a través del complejo polímero – arcilla lo que permite reducir simultáneamente microorganismos y sustancias orgánicas presentes en el agua a tratar y que pueden ser fuente de precursores de DBPs tales como materia orgánica o contaminantes emergentes.
- 30 El o los filtros se regeneran mediante tratamiento con HCl o con hipoclorito sódico.
- El comportamiento de los complejos polímero–arcillas en la eliminación de microorganismos es fuertemente dependiente de la conformación adoptada por el polication en la superficie de la arcilla, la densidad de carga del polication, y la relación usada durante el proceso de adsorción entre las concentraciones de arcilla y polímero.
- 35 La invención se basa en el hallazgo del efecto antimicrobiano ejercido por el sistema polímero–arcilla, que se debe a una combinación del potencial superficial positivo de los complejos y la concentración de monómeros catiónicos en la superficie de la arcilla que exceden la concentración necesaria para neutralización de la capacidad de intercambio catiónica de la arcilla (CEC).
- 40 La invención hace referencia a la mayor toxicidad frente a bacterias exhibida por el polímero al adsorberse sobre el mineral de la arcilla.
- 45 El procedimiento objeto de la invención mejora enormemente la eliminación de microorganismos frente a otros medios convencionales, tales como GAC. La modelización de los procesos de filtración permite optimizar el diseño de filtros y las condiciones experimentales para la purificación de grandes volúmenes de agua en períodos cortos de operación.

**DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

5 El procedimiento de la invención se basa en el hallazgo de que un composite formado por un mineral de la arcilla y un polímero catiónico posee actividad antimicrobiana. El complejo polímero-arcilla puede ser usado en una mezcla con material granular para adsorber y eliminar eficientemente microorganismos presentes en aguas contaminadas. El material granular está en exceso sobre el complejo.

10 De aquí, que la presente invención haga referencia a un método para obtener una solución acuosa substancialmente libre de microorganismos presentes en ella, mediante el contacto de la solución acuosa conteniendo dichos patógenos con un complejo preparado por adsorción de moléculas de polímeros catiónicos sobre arcillas con el fin de eliminar los microorganismos de la solución acuosa.

15 Dicho contacto se produce en un proceso de flujo continuo en el que el agua pasa a través de la mezcla anterior. Para tal propósito al menos una columna conteniendo dicha mezcla a través de la cual pasa el agua, se usa a una velocidad tal que permita a los microorganismos ser eliminados.

En líneas generales, la invención no se limita a la manera física en que el método se realiza.

20 El material granular hace referencia en particular a un material químicamente inerte, preferiblemente compuesto de partículas con un tamaño promedio desde 0.2 mm a 2 mm. En un modo de realización particular, el material granular utilizado es arena. La relación (p:p) usada entre el material granular y el complejo polímero-arcilla es 50:1 pero valores inferiores pueden ser usados. La función del material granular es permitir una conductividad hidráulica suficiente durante la filtración, que puede ser conseguida por otros medios tales como una granulación del mismo complejo polímero-arcilla.

25 La arcilla o mineral de arcilla hace referencia a minerales de filosilicatos. Se puede elegir entre illita, sepiolita, esmectita; si la elegida es de esmectita, preferiblemente montmorillonita o bentonita que contiene una gran cantidad de montmorillonita.

30 El polímero usado en en algunas de las realizaciones preferentes de la invención es un almidón catiónico con éteres de amonios cuaternarios, que se usa ampliamente como aditivo en la producción de papel y cartón para aumentar la fuerza del papel frente a su ruptura. Otros polimeros preferidos son quitosán, compuestos poliméricos de dialilo de amonios; polímeros catiónicos que contengan estructuras heterocíclicas o aromáticas; polimeros acrílicos y metacrílicos; polimeros conteniendo grupos biguanida, fosfonio y sulfonio.

35 La invención se dirige al uso de un complejo hecho de un polímero catiónico adsorbido sobre un mineral de la arcilla. Dicho complejo usado para la eliminación de microorganismos debe presentar un potencial superficial positivo. El polímero puede neutralizar la carga negativa del mineral de la arcilla y dar lugar a inversión de la carga.

40 En la optimización de la preparación de los complejos, la densidad de carga de las moléculas del polímero es un factor crítico, del cual depende la conformación adoptada por las moléculas de polímero sobre el mineral. En el complejo polímero-arcilla, se prefiere una conformación plana del polímero sobre la superficie de la arcilla para desarrollar actividad antimicrobiana mejor que una configuración en bucle-y-segmentos.

45 La actividad antimicrobiana ejercida por los anteriores complejos depende del potencial superficial (preferiblemente positivo) y de la concentración de monómeros catiónicos en el complejo que exceda la necesaria para la neutralización de la carga de la superficie de la arcilla. La relación de polímero:mineral de la arcilla en un modo de realización preferente del objeto de la invención está en el rango 0.7:1 a 1.72:1 (p/p), más preferible 0.8:1.

El uso de dichos complejos en la eliminación de microorganismos del agua es ventajoso frente al uso de moléculas de polímeros, ya que la toxicidad del polímero aumenta enormemente al estar adsorbido sobre el mineral.

5 El uso de los complejos anteriores en filtros mejora enormemente la retención de patógenos frente a filtros que contienen GAC.

10 En la actual invención, la capacidad del filtro depende fuertemente de sus dimensiones y condiciones de operación durante la filtración. Una modelización del análisis de la cinética de filtración tal como descrito en Nir et al. (Simulation of adsorption and flow of pollutants in a column filter: Application to micelle-montmorillonite mixtures with sand. Appl Clay Sci. 67-68, 134-140; 2012) mediante variación de las dimensiones de la columna y flujo facilitaba estimar las capacidades de los complejos polímero-arcilla para la adsorción de bacterias, alcanzando valores muy altos, desde  $5.6 \times 10^8$  a  $3.5 \times 10^9$  bacteria por gramo de complejo.

15 De acuerdo con la invención, el uso de filtros rellenos con mezcla de material granular con complejos polímero-arcilla es efectiva para la eliminación de microorganismos incluso en la presencia de polielectrolitos cargados, tales como ácidos húmicos, que se asemejan al carbono orgánico disuelto que es una fuente importante de precursores de DBPs en tratamientos de aguas. Los complejos polímero-arcilla son también efectivos en la eliminación de sustancias orgánicas tales como ácidos húmicos.

20 Mediante el procedimiento de la invención, el uso de filtros basados en polímero-arcilla purificará completamente y/o reducirá el número de microorganismos patógenos presentes en aguas, que serán apropiadas para riego, uso potable u otras aplicaciones. Dichos filtros pueden ser usados como parte de una secuencia de elementos en plantas de tratamiento de aguas, que puede ser ventajoso para aumentar la eficacia de eliminación y durabilidad de otros tratamientos, especialmente tratamientos basados en membrana.

## 25 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

**FIG. 1:** muestra las isothermas de adsorción de polímeros (símbolos abiertos) y potencial Z (símbolos rellenos) de los complejos formados tras adsorción en bentonita de P1 (a), P2 (b) y P3 (c).

30 **FIG. 2:** muestra la difracción de rayos X de la bentonita (a) y complejos polímero-arcilla preparados con 1.6 g/L de arcilla y 20 g/L de polímero P1 y P2 (b), y P3 (c).

**FIG. 3:** muestra la eliminación de *E. coli* por filtración de aguas con columnas de GAC y complejos polímero-arcilla mezclados con arena (1:50 p/p) (condiciones de funcionamiento: Experimento 1).

35 **FIG. 4:** muestra la eliminación de *E. coli* y su modelización en filtración con columnas con el complejo P1/10/4.25 mezclado con arena, y en presencia de HA (condiciones de funcionamiento: Experimentos 4, 5). En la modelización, los parámetros usados en los cálculos fueron:  $R_0 = 1.44 \times 10^{-12}$  M;  $C_1 = 1.5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ , and  $D_1 = 0.006 \text{ min}^{-1}$ . RMSE era 2.3 y  $R^2$  0.953.

## MODO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

### 40 Ejemplo 1. Preparación de composites basados en polímeros

Los polímeros son almidones catiónicos que se usan ampliamente en la industria del papel, en la textil y en cosmética. Los almidones catiónicos usados en esta patente se basan en la reacción de grupos hidroxilos de almidón puro con 3-cloro-2-hidroxipropiltrimetilamonio. Tres tipos de polímeros se estudiaron con diferente grado de sustitución (DS). Todos ellos son

comerciales: Topcat L-98 (DS=0.22) (denominado en lo sucesivo como P1); Topcat L-95 (DS=0.15) (denominado como P2) y Penbond 1000 (DS=0.05) (como P3).

Se llevaron a cabo las isotermas de adsorción de los polímeros en una bentonita comercial (Bentonil A de Süd-Chemie Spain; CEC: 0.8 mmol/g) mezclando 15 mL de soluciones de polímeros (0-40 g/L) con 24 mg de arcilla. La concentración de arcilla era 1.6 g/L. Tras agitación durante 24 h a 20°C, las suspensiones se centrifugaron a 12000 g durante 10 min y se descartaron los sobrenadantes. La cantidad de polímero adsorbido se determinó por análisis de C. Además, se midió el potencial zeta ( $\xi$ ) de los complejos polímero-arcilla obtenidos tras la sorción mediante redispersión a una concentración de 1.6 g/L. Se permitieron equilibrar las muestras durante 1 h y se midieron algunos mililitros de la dispersión usando un Zetasizer Nanosystem (Malvern Instruments, Southborough, MA). El valor de  $\xi$  se dedujo de la movilidad de las partículas usando la ecuación de Smoluchowski. Se midió también la difracción de rayos X (XRD) de muestras orientadas sobre portaobjetos usando un difractómetro Philips X'Pert (modelo Anton Paar HTK) a bajos ángulos y a mayores ángulos en un difractómetro Siemens (modelo D5000). Las muestras se prepararon de la pasta obtenida tras centrifugación de las suspensiones polímero-arcilla en los experimentos de adsorción.

La Figura 1 muestra las isotermas de adsorción de los polímeros y el potencial zeta de los composites formados. El comportamiento de la adsorción de los polímeros mostraba un aumento muy rápido como es de esperar de fuertes interacciones coulombicas con la superficie de la arcilla cargada negativamente. La posterior adsorción daba lugar a inversión de carga de la superficie de la arcilla con los mayores valores para P1 (sobre +30 mV), seguido de P2 (~+25 mV) y P3 (~+15 mV).

La determinación del potencial zeta con el recubrimiento del polímero sobre la arcilla daba lugar a valores positivos, que son indicación de inversión de carga en la capa externa, a cantidades adsorbidas de monómeros catiónicos inferiores que la correspondiente a la CEC.

Dependiendo del grado de sustitución, la densidad de carga (CD) calculada fue 1.19 meq/g de polímero para P1; 0.846 meq/g de polímero para P2 y 0.29 meq/g de polímero para P3. Se observa neutralización de la carga a un recubrimiento de 0.3 g de polímero/g arcilla para P1 y P2, y 0.8 g de polímero/g arcilla para P3, que corresponde a 0.36, 0.25 y 0.23 meq/g arcilla para P1, P2 y P3, respectivamente. Estos valores son inferiores que la CEC de la arcilla, lo que se puede explicar por el apantallamiento de la superficie de la arcilla por segmentos no cargados del polímero tras su sorción (Claesson y col., 2005).

La carga del polímero sobre la arcilla era mayor para P3 alcanzando un límite de capacidad de sorción de a 1.73 g polímero/g arcilla mientras que se observaron cantidades inferiores para P2 y P1. La carga del polímero sobre la arcilla se puede racionalizar sobre la base de CD, que determina la fuerza de las interacciones superficie-poliectrolitos. Para polielectrolitos de baja CD, tales como P3, la menor cantidad de interacciones electrostáticas con la superficie de la arcilla aumenta la importancia de la repulsión estérica de la porción no cargada de la estructura del polímero entre segmentos adyacentes cargados neutralizados por la superficie de la arcilla. Por lo tanto, estas porciones no cargadas se extienden en la solución en forma de bucles y colas; la superficie de la arcilla ocupada por una sola molécula de polímero es menor resultando en una capa adsorbida más gruesa y mayores recubrimientos. Por el contrario, las interacciones más fuertes con la superficie de la arcilla para polielectrolitos con alta CD como sería el caso de P1 y P2, resulta en una configuración plana de la molécula del polímero sobre la superficie de la arcilla, el área ocupada por una sola molécula es mayor dando lugar a cantidades adsorbidas menores.

Evidencia de estas conformaciones de las moléculas del polímero en la superficie de la arcilla fue respaldada por XRD (Figura 2). La propia arcilla mostraba la difracción típica de montmorillonita (M), pero también se detectaron impurezas debido a illita (I), caolinita (K), cuarzo (Q) y feldespatos (F). El pico a 1.37 nm es típico de montmorillonita en su forma sódica con dos capas de agua de hidratación. La adsorción de los polímeros P1 y P2 a altos recubrimientos mostraba en ambos casos un aumento del espaciado basal hasta 1.42 nm. Este

valor está de acuerdo con adsorción de polímeros formando una capa plana. El espesor de los polímeros de dextrano que son análogos a polímeros de almidón (constituidos principalmente por moléculas de glucopiranosas) es de 0.5 nm, que por adición del espesor de una lámina de arcilla (0.96 nm) da un espaciado basal sobre 1.46 nm. Similarmente, se han reseñado espaciados basales sobre 1.5 nm para otros polímeros adsorbidos sobre minerales de arcilla como capas planas.

Con P3, el análisis por rayos X de los complejos polímero-arcilla no mostraba ningún pico asociado a montmorillonita (Figura 2) incluso a bajos ángulos de difracción (no mostrado), indicando una configuración de bucles-y-segmentos sobre la superficie de la arcilla que da lugar a espaciados basales fuera del rango de detección por rayos X. Esto se toma también como evidencia de exfoliación de las partículas de arcilla tras interacción con las moléculas del polímero.

Los composites polímero-arcilla se prepararon también utilizando relaciones polímero/arcilla inferiores con el fin de aumentar la cantidad de polímero adsorbido. Se usó una concentración de arcilla de 4.25 g/L; las cantidades de polímeros añadidas fueron 10 g/L para P1 y P3, y 5 g/L para P2. Estas relaciones se eligieron en base a la ecuación de Langmuir-Scatchard como en Nir et al. (Optimization of adsorption of hydrophobic herbicides on montmorillonite preadsorbed by monovalent organic cations: Interactions between phenyl rings. Environ. Sci. Technol. 34, 1269-1274; 2000). Las cantidades adsorbidas estimadas para estas relaciones son bastante próximas para P2 y P1 (0.40 y 0.45 g polímero/g arcilla, respectivamente), y 1.12 g polímero/g arcilla para P3. Estos valores están de acuerdo con las predicciones de modelos de sorción teóricos en los que la cantidad total adsorbida de soluto debe aumentar al incrementarse la concentración de arcilla pero la cantidad adsorbida por lámina de arcilla disminuye (Nir et al., Specific adsorption of lithium, sodium, potassium, and strontium to montmorillonite: observations and predictions. Soil Sci. Soc. Am. J. 50, 40-45; 1986). Sin embargo, la adsorción de polímero aumenta de 0.57 a 0.80 g polímero/g arcilla para P1 y de 0.35 a 0.68 g polímero/g arcilla para P2. La cantidad total adsorbida para P3 disminuía ligeramente (1.72 desde 1.78 g polímero/g arcilla).

En ciertos casos, la auto-agregación de moléculas de soluto disminuye su cantidad disponible para la adsorción. Para solutos tales como polímeros con gran afinidad por la superficie de la arcilla, un aumento de los sitios de adsorción al incrementar la concentración de arcilla disminuye la fracción de polímero disponible para auto-agregación y mejora la adsorción del polímero sobre la arcilla. Una comprobación de esta posibilidad se llevó a cabo por medidas de turbidez. Si estaba ocurriendo auto-agregación, entonces la turbidez debía aumentar más de 10 veces al aumentar la concentración de las soluciones de polímero de 1 a 10 g/L. Se observaron factores de incremento más pequeños para los tres polímeros: 2.5 para P1, 4.0 para P2 y 7.0 para P3. Según lo notado, cuanto mayor es el carácter catiónico del polímero tanto mayor es la conformación desenrollada debido a interacciones electrostáticas repulsivas, y tanto menor la probabilidad de auto-agregación de las moléculas de polímero. Según lo revelado por turbidez, la auto-agregación de los polímeros en solución era un efecto menor que no puede explicar su mayor carga en la arcilla al aumentar la concentración de arcilla.

### **Ejemplo 2. Toxicidad de composites basados en arcilla**

*Escherichia coli* K12 fue obtenida de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT 433). La bacteria se incubó durante 24 h a 37°C en medio de cultivo Luria-Bertani (LB), y se preparó una suspensión bacteriana de concentración  $10^5$  CFU/mL. Los complejos polímero-arcilla se añadieron a la solución en tubos de centrifuga a una relación sólido:agua 1.5:100. Tras 1 h de incubación, se centrifugaron las suspensiones a 1000 rpm durante 10 min a 4°C, y 0.1 mL de las suspensiones se mezclaron con 0.9 mL de agua destilada estéril, de la que se prepararon luego diluciones sucesivas. De estas suspensiones y sus diluciones, se contaron las colonias bacterianas en medio de cultivo LB por el método de siembra en placas Petri y expresado como unidades formadoras de colonia (CFU) por mililitro de muestra. Las placas se incubaron a 37°C y se contaron después de 24 h. Se realizó el conteo en cuatro replicados cada vez.

5 Se prepararon varios complejos polímero-arcilla para investigar su actividad bactericida. La arcilla en forma de polvo se añadió a una solución de polímero; la suspensión se agitó durante 24 h y se centrifugó. El precipitado se liofilizó dando lugar al complejo polímero-arcilla. Se ha introducido una nomenclatura para los complejos polímero-arcilla (Tabla 1), en la que los primeros dos caracteres indican el tipo de polímero, el número siguiente la solución de polímero añadida y el último número la concentración de arcilla usada.

**Tabla1.** Complejos polímero-arcilla.

Polímero usado	Polímero añadido (g/L)	Conc. Arcilla usada (g/L)	Notación
P1	5	1.6	P1/5/1.6
	10	4.25	P1/10/4.25
P2	5	4.25	P2/5/4.25
	1.5	1.6	P2/1.5/1.6
P3	10	4.25	P3/10/1.6

10 Se examinó la toxicidad de los complejos polímero-arcilla en función de la cantidad de polímero adsorbida, la conformación del polímero sobre las láminas de arcilla, y las características de carga superficial del complejo (Tabla 2).

**Tabla 2.** Carga de polímero y propiedades de carga superficial de los complejos arcilla-polímero y su toxicidad frente a *E. coli* expresado como células bacterianas viables tras incubación. La concentración inicial de *E. coli* era  $10^5$  CFU/mL.

Complejo	Polímero adsorbido (g/g arcilla)	Inversión de carga (meq <sub>v</sub> /g arcilla)	Potencial-Z (mV)	Toxicidad, (CFU/mL)
P1/5/1.6	0.40±0.04	0.12	31.0±1.3	$6.4 \times 10^3$
P1/10/4.25	0.80±0.01	0.60	28.7±8.8	0
P2/5/4.25	0.68±0.01	0.32	26.7±7.1	0
P2/1.5/1.6	0.35±0.01	0.04	13.6±0.7	$2.8 \times 10^3$
P3/10/4.25	1.72±0.03	0.27	12.7±0.3	$1.4 \times 10^4$

15 No se observaron bacterias libres con los complejos P1/10/4.25 y P2/5/4.25. Esto no era solo función del potencial superficial positivo que es necesario para la adhesión de las bacterias, ya que la toxicidad del complejo P1/5/1.6 era muy pobre a pesar de potencial superficial idéntico. Claramente, un parámetro crítico era también la concentración de monómeros catiónicos que excedía la necesaria para la neutralización de la CEC. Su concentración en el complejo

20 P1/5/1.6 reducía dos órdenes de magnitud la cantidad de bacterias añadida, pero no alcanzaba la concentración crítica para la completa eliminación, mientras que un aumento en 2.6 veces en monómeros catiónicos como ocurría con P2/5/4.25 alcanzaba la concentración necesaria para la completa eliminación.

Se examinó también la influencia de la conformación adoptada por el polication sobre la actividad bactericida. La actividad del complejo P2/1.5/1.6 con una conformación plana del polication sobre la superficie de la arcilla, era un orden de magnitud mayor que la del complejo P3/10/4.25, en el que las moléculas del polímero tenían una conformación de bucles-y-segmentos. Ambos complejos poseían el mismo potencial Z, pero la cantidad de polímero adsorbido y la concentración de monómero excediendo la CEC fue varias veces mayor para el complejo P3/10/4.25. Sin embargo, su actividad bactericida era inferior, debido a que en una conformación en bucles-y-segmentos, las cargas positivas de segmentos de polímeros extendiéndose en la solución están parcialmente apantalladas por segmentos hidrofóbicos impidiendo una interacción más próxima de los grupos colgantes catiónicos que poseen actividad bactericida con la superficie de la célula.

Los resultados obtenidos apuntan a un efecto combinado del potencial superficial y la cantidad de monómeros catiónicos que exceden la requerida para neutralización de la carga negativa de la arcilla. Un potencial superficial positivo en el complejo es necesario para adherir la bacteria seguido de interacciones electrostáticas que originarían una segregación de fosfolípidos cargados negativamente de las membranas citoplasmáticas, y en el caso de bacterias Gram-negativas, también de la membrana externa.

Una concentración de monómeros catiónicos alta en la vecindad de bicapas fosfolípicas introducirá en una superficie muy pequeña un alto número de puntos de contacto perjudiciales en la continuidad de la bicapa por intercalación de grupos biocidas hidratados impidiendo su función aislante y posterior restauración dando lugar a rotura celular.

Los complejos polímero-arcilla son más bioactivos que los propios polímeros. En la Tabla 3 se muestra la toxicidad de soluciones de polímero equivalentes a las cantidades adsorbidas de polímeros en los complejos polímero-arcilla.

**Tabla 3.** Toxicidad de soluciones de polímeros equivalentes a la carga del polímero en complejos polímero-arcilla usados en la Tabla 2. La concentración añadida de *E. coli* era  $3.5 \times 10^5$  CFU/mL.

Polímero usado	Conc. equivalente al complejo	Toxicidad (CFU/mL)
P1	P1/5/1.6	$1.1 \times 10^5$
P1	P1/10/4.25	$7.7 \times 10^4$
P2	P2/5/4.25	$1.6 \times 10^5$
P2	P2/1/1.6	$2.8 \times 10^5$
P3	P3/10/1.6	$3.5 \times 10^5$

La baja toxicidad exhibida por las soluciones de polímero se explica en base al potencial superficial y la concentración de monómeros catiónicos. Para desarrollar toxicidad, debe alcanzarse un compromiso entre el potencial superficial que debe ser suficientemente positivo para adhesión de la bacteria y probable formación de pequeños poros en la membrana externa, y por otra parte, la concentración de monómeros catiónicos en estrecha vecindad de la superficie bacteriana tiene que ser relativamente alta.

El potencial superficial de las soluciones de polímero era positivo; sus valores similares a los registrados para los complejos a pesar de que se esperan mayores valores ya que parte de la carga de las moléculas de polímero en los complejos está contrarrestando la carga negativa de las láminas de arcilla, disminuyéndose por tanto la densidad de carga y potencial superficial

respecto a las soluciones de polímero libre. Esto puede ser debido a limitaciones experimentales en las medidas de potencial zeta. Sin embargo, como se mostró previamente, el factor más crítico era la concentración de monómeros catiónicos. En los complejos polímero-arcilla (Tabla 2), el polímero adsorbido estaba 6.6 veces más concentrado que el de las soluciones libres (Tabla 3). Aunque no todo el polímero adsorbido era bioactivo, solo los monómeros catiónicos excediendo la neutralización de la CEC, estos monómeros se encontraban concentrados en una superficie muy próxima alcanzando niveles letales y dando por tanto mayor toxicidad que las de las soluciones libres. En contraste, la mayoría de las soluciones de polímeros no alcanzaban la concentración mínima inhibitoria.

### 5 **Ejemplo 3. Toxicidad frente a varias cepas.**

Se ensayó la resistencia de varias cepas bacterianas frente al complejo P1/10/4.25. Se obtuvieron las cepas bacterianas de la CECT: *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* (CECT 356); *Micrococcus luteus* (CECT 5863); *Escherichia coli* (CECT 433); y *Chromobacterium violaceum* (CECT 494). Se prepararon suspensiones bacterianas desde  $10^2$  a  $10^5$  CFU/mL. Se añadieron 150 mg del complejo polímero-arcilla a 10 mL de las suspensiones, y se agitaron durante 1 h. Tras esto, se centrifugaron las suspensiones a 1000 rpm durante 10 min y a 4°C, y se determinaron las bacterias sobrevivientes en el sobrenadante mediante el método de siembra en placas Petri. Resultados preliminares mostraban que la bacteria no precipitaba bajo estas condiciones de centrifugación.

El complejo polímero-arcilla P1/10/4.25 era muy tóxico para las cuatro cepas, dos de las cuales eran Gram-negativas (*E. coli* y *C. violaceum*), y las otras dos restantes Gram-positivas (*M. luteus* y *B. subtilis*). No hubo bacterias supervivientes en el rango de concentraciones usado a pesar de la diferente estructura de las paredes bacterianas de Gram positivas y Gram negativas.

### 25 **Ejemplo 4. Eliminación de microorganismos por filtración**

Se realizaron experimentos de filtración en columnas (Experimentos 1, 2) con una mezcla 50/1 (p/p) de arena de cuarzo y complejos polímero-arcilla o GAC. Columnas de 21 cm de longitud y 2 cm de diámetro y con un plato poroso en el fondo se rellenaron con 73.5 g de arena de cuarzo fina mezclada con 1.5 g de complejos polímero-arcilla o GAC. El lecho adsorbente tenía 13 cm de longitud. Se colocó lana de vidrio (0.35 g) en ambos términos de la columna para evitar la salida de la arena de la columna. El volumen de poro de la columna era 12.9 mL. Se conectó la columna a una bomba peristáltica y se saturó a un flujo constante con una suspensión de *E. coli* en continua agitación. En el Experimento 2, se conectaron dos columnas en serie y se tomaron alícuotas a la salida de cada columna.

En otro conjunto de experimentos (Experimentos 4, 5), se usó una capa de 9 cm de lecho en columnas de 4.2 cm de diámetro y 24 cm de longitud. Se prepararon las columnas mezclando 186 g de arena de cuarzo fina con 4.1 g de complejo polímero-arcilla. El volumen de poro era 51.4 mL. Solo *E. coli* se pasó a través de la columna en el Experimento 4 mientras que en un experimento paralelo se usó una solución mixta de *E. coli* y 5 mg/L de ácido húmico (HA) (Experimento 5). Se midió la concentración de HA en los eluatos durante el curso del experimento por espectroscopía UV-Visible a una longitud de onda de 254 nm.

Los parámetros operacionales en los experimentos de filtración eran:

Experimento	Configuración	Concentración <i>E. coli</i> (CFU/mL)	Velocidad de flujo (mL/min)
1	Una columna	$1.2 \times 10^5$	7
2	Doble columna	$1.2 \times 10^5$	7
3	Una columna	$5.2 \times 10^5$	4
4	Una columna	$2.2 \times 10^6$	7

5	Una columna	$1.8 \times 10^6$	7
---	-------------	-------------------	---

Se realizó el análisis teórico de la cinética de filtración para su uso como una herramienta con carácter predictivo en el diseño y optimización de filtros.

5 En este análisis, los fenómenos de adsorción y convección que ocurren en el filtro se analizaron según el modelo propuesto por Nir et al. (2012).

10 La Figura 3 mostraba que la cantidad de bacteria retenida en el filtro conteniendo GAC era muy pobre en relación a los filtros basados en polímero-arcilla. Los filtros de GAC son comúnmente empleados en medios de filtración para eliminación de partículas, contaminantes emergentes y patógenos acuáticos. Tras 0.5 L, los filtros basados en GAC estaban completamente saturados mientras que no se obtuvo elución alguna al usar complejos polímero-arcilla. El uso del complejo P1/10/4.25 en el filtro mejoraba enormemente la retención de bacterias comparado con P2/5/4.25, lo que está de acuerdo con su mayor cantidad de monómeros catiónicos excediendo la CEC sobre la superficie de la arcilla tal como se demostró en experimentos en batch. La detección de cantidades pequeñísimas de bacterias no ocurría hasta la filtración de 3 L, esto es, 155 volúmenes de poro mayor que con el complejo P2/5/4.25. De aquí que los filtros basados en el complejo P1/10/4.25 sean considerados óptimos para la eliminación de microorganismos.

20 Se investigó y modelizó la resolución de los filtros bajo diferentes parámetros operacionales tales como la velocidad de flujo, concentración de bacterias añadida, etc. (Tablas 4, 5; Figura 4).

**Tabla 4.** Eliminación de *E. coli* (%) tras filtración usando complejo P1/10/4.25 (Experimento 2). Valores experimentales (Exp.) y calculados (Calc.).<sup>1,2</sup>

Volumen (L)	Eliminación (%)			
	Columna 1		Columna 2	
	Exp.	Calc.	Exp.	Calc.
0.42	100	99.5	100	100
0.84	100	99.2	100	100
2.52	100	97.1	100	99.9
2.94	99.7	96.4	100	99.9
3.36	98.2	95.3	100	99.8
4.2	95.6	93.5	100	99.7
5.46	94.7	89.8	100	99.5
6.3	85.5	86.9	100	99.4
7.14	85.7	83.6	100	99.2
8.4	72.7	78.1	100	98.7

25 1. Los parámetros usados fueron  $R_0 = 1.4 \times 10^{-12}$  M, en el que  $R_0$  indica la concentración molar total de sitios de enlace para la bacteria en el filtro.  $C_1 = 2.5 \times 10^{12}$  M<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>, donde  $C_1$  es la

constante de velocidad de adsorción de bacteria al composite polímero-arcilla, y  $D_1=0.0026 \text{ min}^{-1}$ , donde  $D_1$  es la constante de velocidad de disociación de las bacterias unidas.

2.El análisis estadístico de los resultados daba  $RMSE= 2.2$  y  $R^2= 0.881$ .

**Tabla 5.** Eliminación de *E. coli* (%) tras filtración usando complejo P1/10/4.25 (Experimento 3).  
5 Valores experimentales (Exp.) y calculados (Calc.).<sup>1</sup>

Volumen (L)	Exp.	Calc.
5.3	100	99.9
5.8	99.7	99.7
6.2	99.6	99.4
6.7	98.4	99.1
7.2	97.2	98.8
8.2	96.4	97.8
8.9	96.3	96.7
9.6	94.9	95.0
10.1	93.6	93.6
11.0	92.3	90.5
11.5	87.1	86.3
12.0	0	-

1. Los parámetros usados en los cálculos fueron  $R_0 = 1.4 \times 10^{-12} \text{ M}$ ;  $C_1 = 3 \times 10^{12} \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ , y  $D_1 = 0.0012 \text{ min}^{-1}$ . El  $RMSE$  era 1.0 y  $R^2$  era 0.925.

10 Una comparación de los resultados de la Tabla 4 (Experimento 2) con los de la Tabla 5 (Experimento 3) demuestra que un mayor volumen (5.28 L) podía ser purificado completamente de bacteria en el último caso que en el primero (2.52 L) a pesar del mayor número de bacterias por unidad de volumen (500.000 frente a 120.000 por mL) en el último caso, que corresponde a la condición en que la filtración se llevó a cabo a una velocidad de flujo más pequeña del Experimento 3.

15 El ajuste de la cinética de filtración al modelo de adsorción-convección era muy bueno; de aquí que los parámetros calculados puedan ser usados para predecir bajo otros parámetros operacionales. Una velocidad de flujo de 7 mL/min corresponde a una velocidad de flujo de 2.23 cm/min, o 1.34 m/h. Los cálculos teóricos indican que eligiendo un filtro más largo, por ej., 1.2 m daría lugar al menos a la misma capacidad por unidad de peso del complejo que en el Experimento 3, pero a una velocidad de flujo mayor de 10 m/h, que es de interés para  
20 purificación de una cantidad fija grande de agua en tiempos más cortos. Por otra parte, el segundo filtro en serie en el Experimento 2 capacita purificar el agua completamente de bacteria tras 10.92 L, es decir, un volumen 4 veces superior al del primer filtro solo.

25 La velocidad de flujo en el Experimento 4 (Fig. 4) era el mismo que en el Experimento 1 (Figura 3); el área transversal era 4.41 veces mayor, que corresponde proporcionalmente a una velocidad de flujo más pequeña, pero la desventaja en esta caso era la longitud más pequeña del filtro.

Los resultados experimentales indican que las capacidades de adsorción de bacteria determinadas por gramo de complejo P1/10/4.25 eran:  $5.6 \times 10^8$ ,  $3.5 \times 10^9$ , y  $2.4 \times 10^9$  CFU en los casos de Experimentos 1, 3 y 4, respectivamente.

5 Se realizó la eliminación de bacterias en presencia de 5 mg/L de HA como componente ubicuo en aguas superficiales, y un precursor importante de DBP en tratamientos de aguas. La concentración usada era simulando la concentración promedio de orgánico disuelto (DOC) encontrada en arroyos (Boggs et al., 1985). Se eligió esto como un peor escenario para filtración de bacterias, en realidad, los niveles de DOC se reducen ampliamente en WTPs mediante un paso previo de coagulación. Una comparación de los resultados de filtración de *E. coli* en presencia de HA cargado negativamente resulta en una menor eficacia en la eliminación de *E. coli* (Fig. 4). Este efecto es menor en los primeros volúmenes pasados de una solución que incluye bacterias y HA, hasta 2.52 L, donde la mayoría de los sitios de unión del complejo polímero-arcilla están aún desocupados, pero tras 4.2 L, el porcentaje de eliminación de bacteria de la solución mixta es menos del 15% en comparación con el 80% en ausencia de HA. Claramente, estos resultados demuestran la competencia de HA con las bacterias, pero es evidente que sobre una base molar, o una base en peso, la eliminación de bacteria por un filtro que incluye un composite polímero-arcilla es mucho más eficiente que la de HA.

En dicho experimento se obtuvo también que el filtro era capaz de eliminar completamente HA en los primeros volúmenes de agua pasados (hasta 2.52 L), demostrando su potencialidad en purificación de aguas para la eliminación de precursores si fuese necesario posteriores tratamientos de desinfección.

#### **Ejemplo 5. Regeneración del filtro.**

Tras saturación de las columnas en Experimento 1 al pasar una suspensión de *E. coli* de  $10^5$  CFU/mL, se ensayaron dos procedimientos para su regeneración: (i) 1L de una solución 0.1 M de HCl se pasó a través de la columna a una velocidad de flujo de 0.6 mL/min, y tratada después con 1 L de agua destilada; (ii) idem pero se usó en lugar del ácido una solución comercial de hipoclorito sódico (2% p:v). Posteriormente, se pasó una nueva suspensión de *E. coli* similar de  $10^5$  CFU/mL.

El conteo de las bacterias mediante el método de siembra en placas tomadas durante el curso del experimento mostró completa regeneración con ambos procedimientos.

**REIVINDICACIONES**

- 5 **1.-** Procedimiento para la eliminación de microorganismos en aguas por filtración, mediante el contacto de la solución acuosa conteniendo dichos microorganismos con un material complejo caracterizado porque dicho material complejo comprende un polímero catiónico adsorbido sobre arcilla.
- 2.-** Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el complejo polímero – arcilla se mezcla con un material granular, en proporción complejo/material granular comprendida entre el 2% y el 10%.
- 10 **3.-** Procedimiento según la reivindicación 2, caracterizado porque el material granular es un material inerte que se selecciona entre arena procedente de cuarzo, antracita y roca basáltica molida con un tamaño de los gránulos comprendido entre 0,2 y 2 mm.
- 15 **4.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque el polímero catiónico se selecciona entre derivados de almidón, quitosán, compuestos poliméricos de dialilo de amonios, polímeros catiónicos que contengan estructuras heterocíclicas o aromáticas, polimeros acrílicos y metacrílicos y polimeros conteniendo grupos biguanida, fosfonio y sulfonio.
- 5.-** Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque el polímero catiónico es un almidón catiónico con éteres de amonios cuaternarios.
- 20 **6.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque la arcilla se selecciona entre illita, mica, silicatos fibrosos y esmectita.
- 7.-** Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado porque el silicato fibroso es sepiolita.
- 8.-** Procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado porque la esmectita es montmorillonita.
- 25 **9.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque la relación polímero – arcilla en el complejo está comprendida 0,7:1 y 1,72:1 (p/p).
- 10.-** Procedimiento según la reivindicación 9, caracterizado porque la relación polímero – arcilla en el complejo es 0,8:1.
- 30 **11.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque el complejo polímero – arcilla presenta una configuración plana del polímero sobre la superficie de la arcilla y un potencial superficial positivo.
- 35 **12.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque el contacto entre la solución acuosa conteniendo microorganismos con el complejo polímero – arcilla se lleva a cabo en al menos un filtro de columna haciendo pasar la solución acuosa en continuo a través del complejo polímero – arcilla, lo que permite la eliminación simultánea de microorganismos y sustancias orgánicas presentes en el agua a tratar.
- 13.-** Procedimiento según la reivindicación 12, caracterizado porque el filtro se regenera mediante tratamiento con HCl.
- 14.-** Procedimiento según la reivindicación 12, caracterizado porque el filtro se regenera mediante tratamiento con hipoclorito sódico.

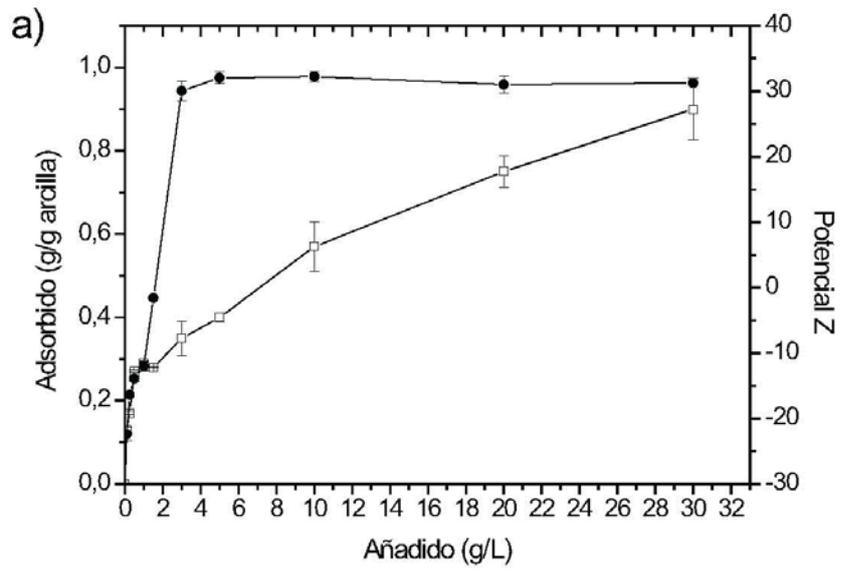


Fig. 1A

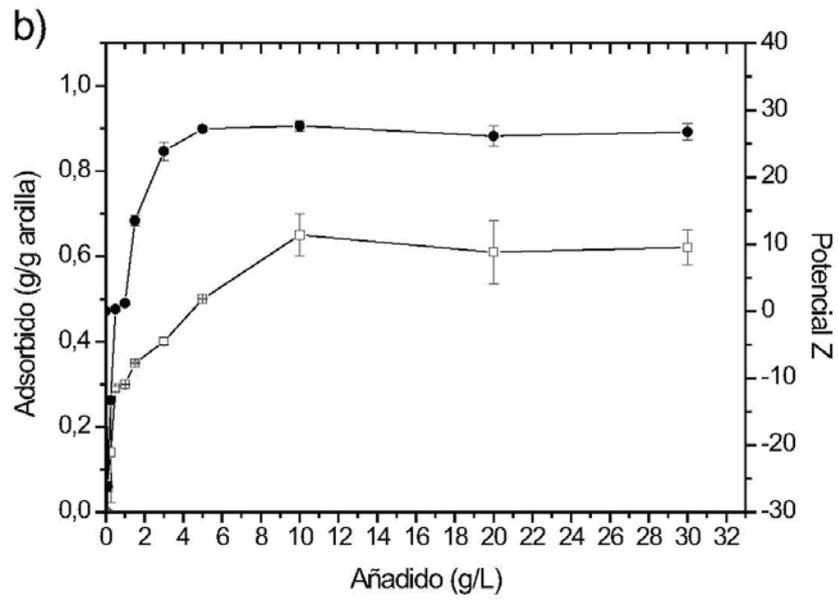


Fig. 1B

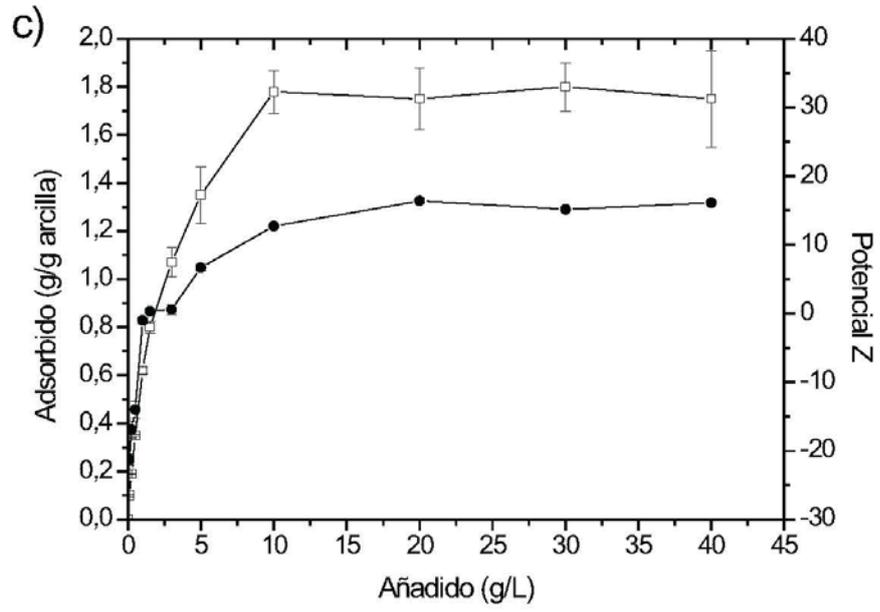


Fig. 1C

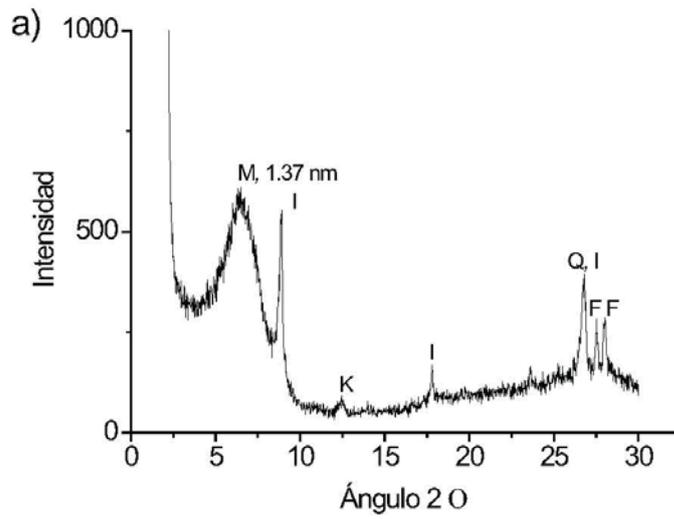


Fig. 2A

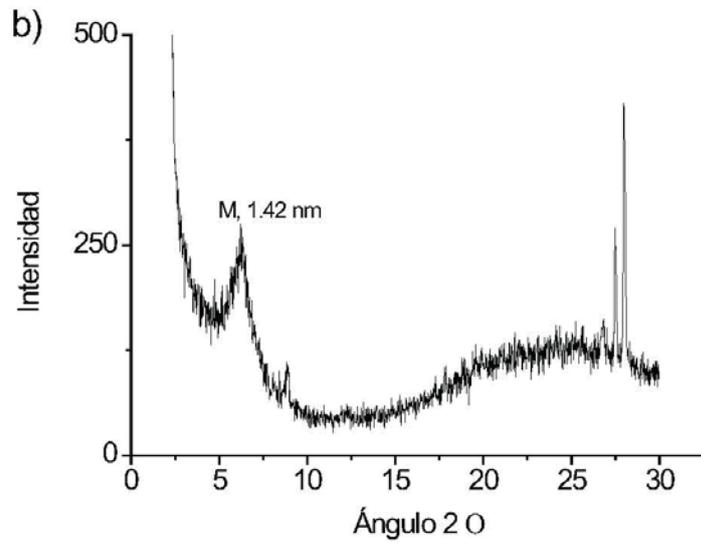


Fig. 2B

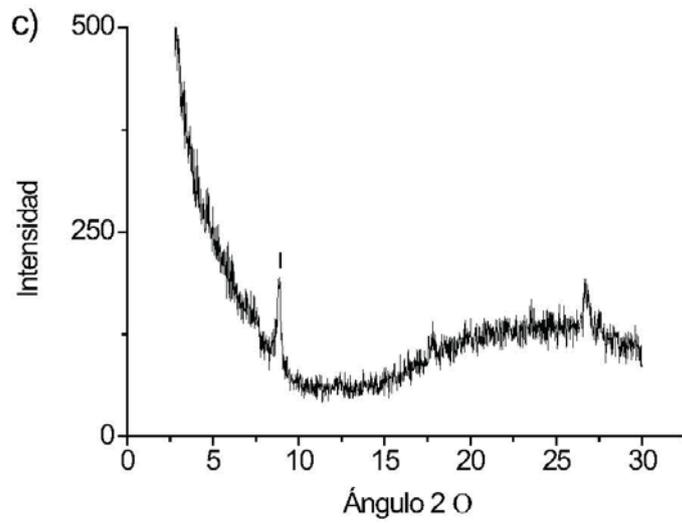


Fig. 2C

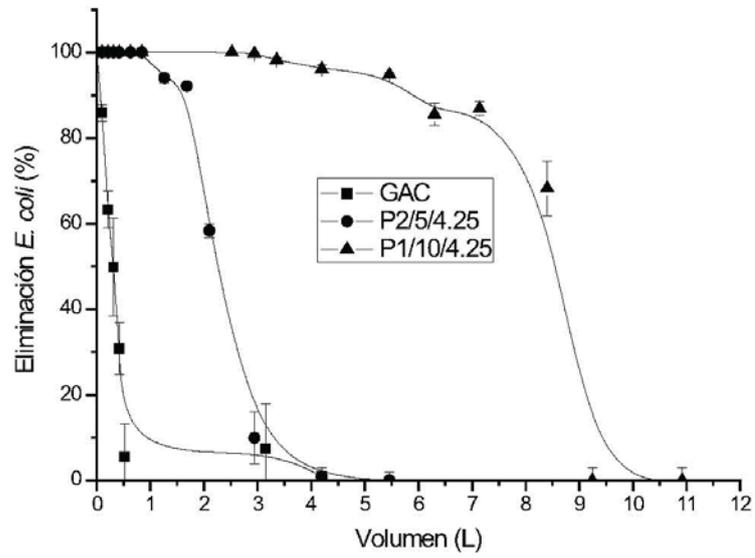


Fig. 3

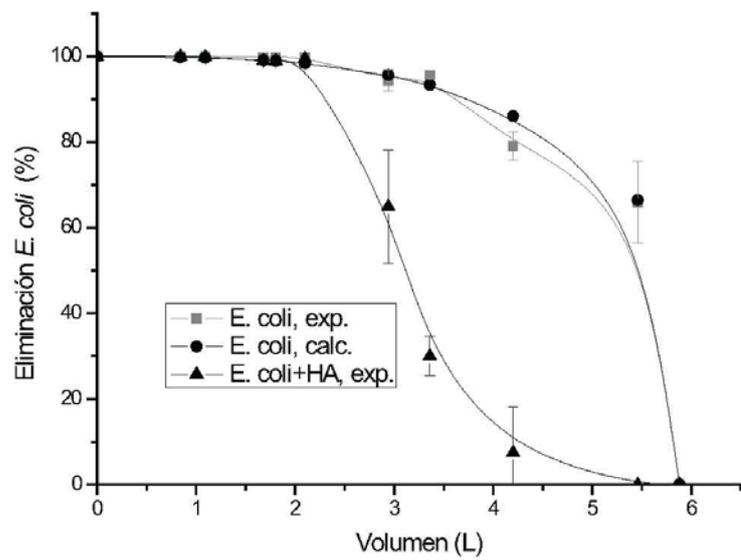


Fig. 4