



Universidad de Valladolid

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Física

DETERMINACIÓN DE CAMBIOS ESTRUCTURALES MEDIANTE MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA EN SUPERFICIES TRASTADAS CON PLASMA DE GASES

Autor: Arturo del Rey Ballesteros

Tutores: Laura Palacio Martínez y Antonio Hernández Giménez

DETERMINACIÓN DE CAMBIOS ESTRUCTURALES MEDIANTE MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA EN SUPERFICIES TRASTADAS CON PLASMA DE GASES

INDICE

1. Resumen/Abstract	4
2. Introducción	5
3. Membranas	8
3.1. Clasificación	8
3.2. Membrana empleada	11
3.3. Modificación de la membrana	12
4. Caracterización de membranas	13
4.1. Microscopía electrónica. SEM y TEM	14
4.2. Microscopía de sonda De Barrido. STM y AFM	17
4.2.1. Modos de empleo del AFM	20
A. Contacto	20
B. No contacto	22
C. Contacto intermitente	24
4.2.2. Fuerzas laterales	25
5. Equipo utilizado	27
6. Resultados	31
7. Conclusiones	36
8. Referencias	38

1 Resumen/Abstract

En este trabajo se han estudiado los cambios estructurales sufridos por una membrana de ultrafiltración como consecuencia de dos procesos de modificación, que han alterado su superficie. En una primera fase se depositó un polímero (PSS (poli-estirensulfonato de sodio)), mediante filtración, lo que produjo un aumento de la rugosidad superficial. A continuación, se introdujo la membrana en una cámara de plasma, buscando crear radicales libres, que favoreciesen la adhesión de sustancias en la membrana y que provocó al mismo tiempo una disminución de la rugosidad de la superficie.

Para realizar el estudio, se ha empleado un microscopio de fuerza atómica (AFM).

In this work we have studied the structural changes undergone by an ultrafiltration membrane as a consequence of two modification processes, which have altered its surface. In a first step, a polymer (PSS (sodium polystyrene sulfonate)) was deposited, by filtration, which produced an increase of the surface roughness. Then, the membrane was introduced into a plasma chamber, to create free radicals, for the sake of favoring the adhesion of substances in the membrane; this treatment, at the same time, caused a decrease in surface roughness.

To perform the study, an atomic force microscope (AFM) has been used.

2 INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad el ser humano ha empleado membranas para la separación de diversos materiales. Una de las primeras membranas eran los tamices, herramientas rudimentarias que se empleaban para separar materiales por tamaño. En Palabras de J. Aguilar [Aguilar, 1983]: “El poeta latino Lucrecio en su famoso poema “De natura rerum” (60 años A.C.) cuenta como el hombre aprendió primero a purificar el agua filtrándola a través de la tierra o la arena. Después y durante muchos siglos para separar las sustancias en suspensión de un líquido se utilizaron arcillas, gelatinas, resinas, pergaminos y membranas intestinales como la vejiga de cerdo. En 1688 La Hire [Sturdy, 1995] escribía que esta vejiga era más permeable al agua que al alcohol y en 1774 el Abate Nollet [Pierre C., 1994], utilizando membranas inorgánicas como barreras semipermeables, descubría los fenómenos osmóticos”.

En base a esto se puede definir una membrana como una barrera o película selectiva entre dos medios fluidos, que permite la transferencia de una serie de componentes de un medio al otro a través de ella, restringiendo el paso de otros componentes. A lo largo del tiempo, se han ido diseñando nuevos tipos de membranas para satisfacer diversas necesidades, a la par que se ha ido avanzando en la investigación de nuevos materiales, con propiedades más específicas. Es, sobre todo, a partir de 1960 [Strathman et al., 2006; Sánchez, 2007], cuando su uso se expande enormemente al lograr diseñar unas membranas con una capacidad de proporcionar elevados flujos de permeado, y a la vez ser dispositivos fácilmente intercambiables.

En la actualidad, el uso de las membranas está tan arraigado que podemos encontrarlas prácticamente en cualquier lugar. Por ejemplo, en la industria son de uso muy común para el tratamiento de aguas residuales, dentro de la industria alimenticia o para la separación de gases. También podemos encontrar membranas en el ámbito de la medicina, donde sirven para recrear órganos.

De estos ejemplos podemos deducir que cada aplicación precisa de un tipo de membrana específico; no hay una membrana genérica que sirva para

todos los usos de manera universal. Y aunque haya membranas del mismo material, éstas pueden modificarse de distintas maneras: tanto a la hora de crearlas, usando técnicas de mezclado de sus componentes básicos, con agentes modificadores, por ejemplo, nanopartículas, polímeros, etc.; como realizando modificaciones en su superficie, depositando polímeros, o aplicando tratamientos de plasma. Cualquiera de estas modificaciones las hará más específicas al tipo de aplicación que se les quiere dar.

En este trabajo, las membranas objeto de estudio, se pretenden usar en procesos de tratamiento de aguas para disminuir la concentración del nitrato derivado de actividades antropogénicas como la ganadería, el uso excesivo de fertilizantes en cultivos y los residuos industriales y domésticos se han utilizado diversas tecnologías en la eliminación del mismo. El interés particular por este ion es por su potencial efecto tóxico en la salud humana siendo precursor de compuestos cancerígenos en el estómago [WHO, 2011].

La separación del ion nitrato se puede lograr por medio de diversas técnicas resumido recientemente por Rezvani [Rezvani et al., 2017]. También se pueden utilizar técnicas de membrana como la Nanofiltración (NF), Ósmosis Inversa (OI) y Electrodiálisis (ED) que son capaces de separar microsolutos cargados (iones inorgánicos) [Hurtado et al. 2016; Mook et al. 2012]. Sin embargo, estas técnicas requieren de inversiones energéticas (presión o electricidad) grandes. Las membranas de Ultrafiltración (UF), en cambio, utilizan menor energía que los procesos de NF, OI y ED. Sin embargo, debido a su tamaño de poro no son capaces de separar especies pequeñas y típicamente se utilizan para separar macrosolutos en solución (proteínas, polisacáridos, etc.). Es por ello que se ha recurrido a la modificación de membranas de UF para su aplicación en la separación de especies de menor tamaño pero con una carga singular, en este caso negativa.

Una de las técnicas de modificación ampliamente utilizadas es el tratamiento superficial con plasma. Se usa para obtener la modificación de la estructura molecular superficial o la sustitución atómica, en ambos casos sin afectar el seno de la membrana [Zhao et al., 2013; Goddard y Hotchkiss, 2007; Nady et al., 2011]. El tratamiento con plasma puede realizarse por tratamiento

tradicional con plasma o co-polimerización por injerto con plasma [Vrlinic et al., 2007].

El objetivo de este trabajo será determinar, mediante microscopía de fuerza atómica (AFM), si se ha modificado satisfactoriamente la superficie de una membrana de ultrafiltración. Inicialmente se va a partir de unas membranas que están cargadas positivamente y se van a tratar con el polímero Poli(estirensulfonato) (PSS), mediante métodos de filtración, que aportará carga negativa.

Una vez verificado que el tratamiento ha sido homogéneo, estando toda la superficie cubierta por el polímero, se someterá a la membrana con PSS a un tratamiento con plasma de argón (mediante gases inorgánicos tales como aire, argón y dióxido de carbono), modificándola también en la superficie, desbastando ésta, y generando radicales libres, pues, se espera que el plasma rompa enlaces del polímero, apareciendo nuevos grupos funcionales, que se encargarían de atrapar los elementos suspendidos en los fluidos a filtrar.

3 MEMBRANAS

3.1 Clasificación

Existen muchos tipos de membranas, y su clasificación depende del criterio elegido. En la siguiente tabla, se presentan tres de los criterios de clasificación más usuales:

NATURALEZA	Biológicas	
	Sintéticas	Inorgánicas
		Orgánicas
		Mixtas
ESTRUCTURA	Estructura Microscópica	Porosidad
		Configuración
		Líquidas
	Estructura Macroscópica	Laminares
		Tubulares
		Fibras huecas
TRANSPORTE	Porosas	Flujo fase gaseosa
		De fase Líquida
		Difusión
	Densas	
	De cambio iónico	Catiónico
		Aniónico

Tabla 1.- Clasificaciones de las membranas.

Si atendemos a la fuerza impulsora, podemos decir que los procesos de separación de interés son aquellos que ofrecen un flujo significativo de material. Estos procesos son:

Diferencia de presión hidrostática

Si se aplica una presión sobre un fluido, que se encuentra separado de otro fluido por una membrana, se produce una diferencia de presión, en este caso hidrostática, que produce un flujo de volumen y una separación de especies químicas.

Los principales procesos atendiendo a esta diferencia de presión hidrostática, son la microfiltración (MF), la ultrafiltración (UF), la nanofiltración y la ósmosis inversa (OI).

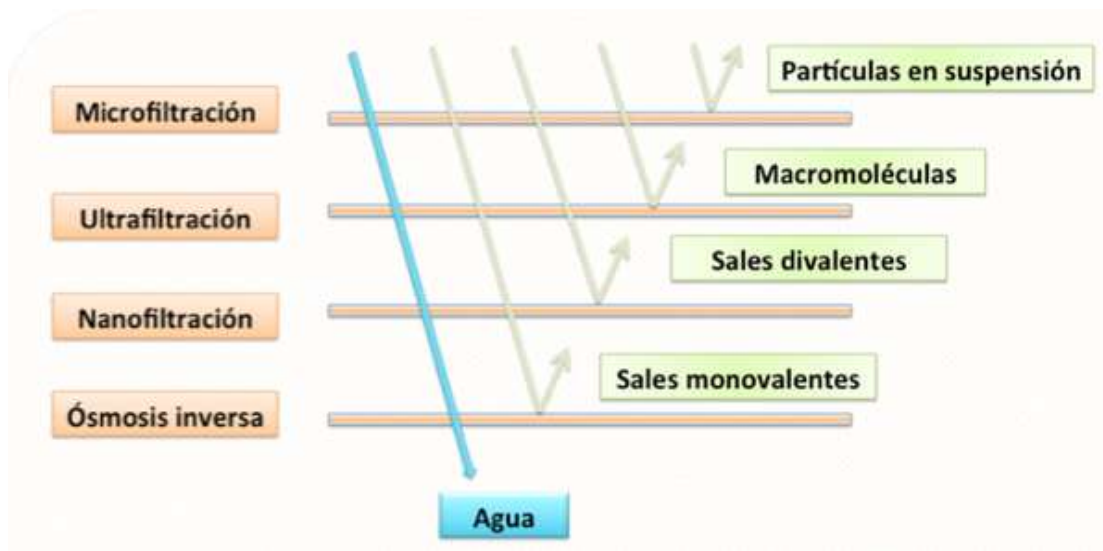


Fig. 1 . Procesos controlados por un gradiente de presión.

Los tres procesos primeros, básicamente se diferencian en el tamaño de poro de la membrana empleada, o lo que es lo mismo, el tamaño de las partículas que pueden separar, aunque en el caso de la nanofiltración además de los mecanismos de exclusión por tamaño, también juega un papel importante la carga propia de la membrana. En estos procesos, se sitúa el fluido en contacto con la membrana y se aplica una diferencia de presión, lo que hace que el fluido se filtre a través de la membrana, produciéndose la separación de elementos, quedando en un lado de la membrana los elementos con un tamaño mayor al del poro, y filtrándose aquellos con un tamaño menor.

Se habla de microfiltración cuando el tamaño de las partículas que se separan son del orden de 0,1-10 μm . La estructura de estas membranas es microporosa con un tamaño de poro situado lógicamente entre 0,1-10 μm . Las diferencias de presión en estas membranas se sitúan entre los 0,1 y los 2 bars.

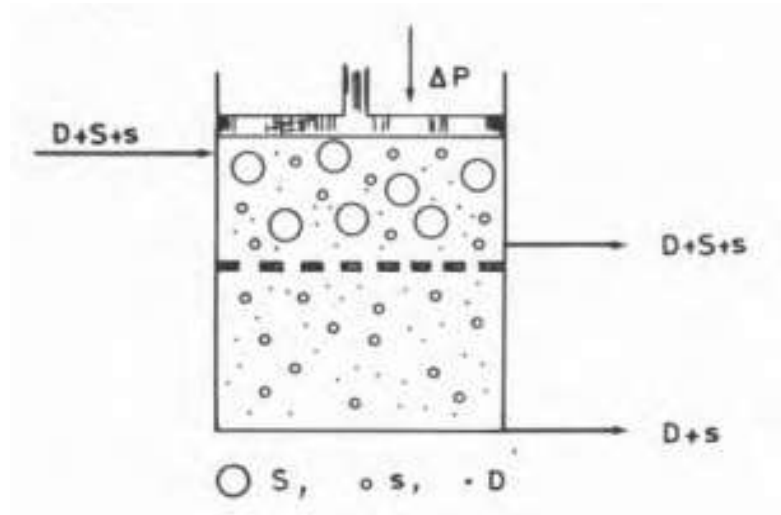


Fig. 2. Principios básicos de la microfiltración y la ultrafiltración [Aguilar, 1983].

Se trata de ultrafiltración cuando el tamaño de los materiales que se van a separar es inferior a los 0,3 μm . En este caso las presiones utilizadas son del orden de entre 1 y 5 bars.

En el caso de la nanofiltración, el tamaño de exclusión es del orden del nanómetro, encontrándose en un rango intermedio entre la ultrafiltración y la ósmosis inversa y siendo necesarias presiones entre 0.3 y 1.4 MPa.

Hablamos de ósmosis inversa cuando las partículas que se quieren separar son partículas con un bajo peso molecular, lo que produce que las disoluciones posean unas altas presiones osmóticas. Para vencer estas presiones, hace falta aplicar unas presiones hidrostáticas elevadas, que se pueden situar entre los 20 y los 100 bares.

Diferencia de concentración

Cuando se tienen dos disoluciones con una diferente concentración de un soluto, separadas por una membrana semipermeable, se produce la ósmosis *ordinaria*. Dependiendo de las concentraciones del soluto en las disoluciones (c), de las presiones hidrostáticas, (p), las presiones osmóticas (π) y los potenciales químicos (μ) a ambos lados de la membrana, se pueden producir situaciones de equilibrio total, ósmosis directa, equilibrio osmótico u ósmosis inversa [Aguilar, 1983].

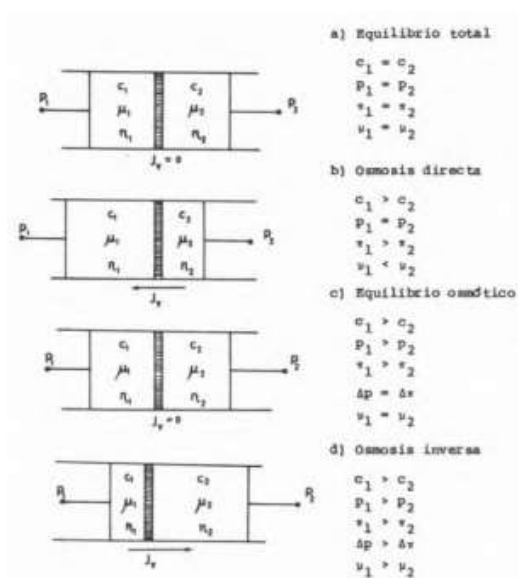


Fig. 3. Fenómenos osmóticos.

3.2 Membrana empleada

Se utilizaron membranas de ultrafiltración de PVDF con carga positiva de MWCO 100 kDa (HFM-183, Koch Membrane Systems, Wilmington, MA, USA). El poli (estirensulfonato de sodio) (PSS), utilizado en la modificación, fue comprado en disolución acuosa 30% wt ($M_w = 70,000$, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). Los demás reactivos empleados fueron grado analítico, dicromato de potasio, nitrato de sodio, fosfato diácido de sodio, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, glicerina, ácido sulfúrico, tartrato de antimonio y potasio, molibdato de amonio, ácido ascórbico (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). En todos los experimentos fue utilizada agua ultrapura ASTM I.

3.3 Modificación de la membrana.

Las membranas empleadas, de 50 mm de diámetro, estaban previamente cargadas electrostáticamente de forma positiva (esto facilita la adhesión de elementos en su superficie, siempre y cuando los elementos que se vayan a depositar, no contengan cargas positivas, pues serían repelidos). Estas membranas fueron previamente lavadas con agua.

Las membranas fueron sometidas a dos procesos de modificación: un primer proceso en el que se depositó polímero PSS en su superficie, mediante filtración en una celda para membranas planas de dead-end de acero inoxidable (HP4750, Sterlitech Co., WA, USA), de 20 mL de una disolución de concentración 20.8 g/L de PSS, se utilizó una presión de 8 bar (ver figura 4). Durante la filtración, no se utilizó agitación para obtener un recubrimiento uniforme de las membranas. Finalizado el tratamiento, las membranas se cubrieron con glicerol, se colocaron en la estufa a 35° C durante 2 horas.

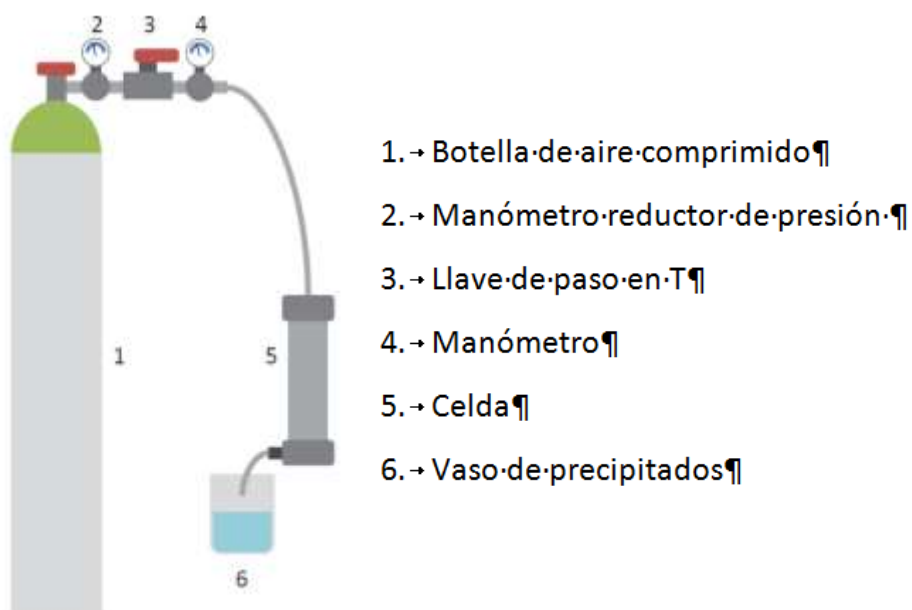


Fig. 4 .Dispositivo de filtración.

El segundo procedimiento empleado sobre la membrana fue un tratamiento con plasma durante 15 minutos. En este procedimiento se utilizó gas argón a la potencia 10.2 W. Se utilizó un flujo de gas de 0.308 cm³·mL/min, en condiciones normales.

El tratamiento con plasma se realizó en una cámara de plasma de radiofrecuencia (Expanded Plasma Cleaner PDC-001, Harrick Plasma, Ithaca, NY, USA) conectada a un mezclador de flujo (PlasmaFlo PDC-FMG, Harrick Plasma, Ithaca, NY, USA) y a una bomba de vacío (ver figura 5).



Fig. 5 .Dispositivo de tratamiento con plasma.

4 CARACTERIZACIÓN DE LAS MEMBRANAS

Para conocer los posibles comportamientos de una membrana en una determinada situación, debemos, primeramente, conocer las características y propiedades que posee. Para ellos hay una gran variedad de técnicas que nos permiten caracterizar las membranas.

De acuerdo con lo dicho, podemos definir el término caracterización de una membrana como el conocimiento de su constitución, estructura y comportamiento funcional, obtenido a través del empleo y técnicas adecuadas [Palacio, 1992].

Las técnicas microscópicas son las técnicas que proporciona un conocimiento de la estructura de una membrana de forma más inmediata, tanto de la superficie como de su interior si se aplican a cortes de las muestras,

[Wyart et al., 2008; Wang et al., 2012]. Dentro de estas técnicas podemos distinguir:

- Técnicas de microscopía óptica
- Técnicas de microscopía electrónica
- Técnicas de microscopía de sonda de barrido

Las técnicas de microscopía óptica dan una información macroscópica de la membrana (tienen una resolución máxima de $0,2\mu\text{m}$ [Zhou and Wang,2007]). Este límite se debe a la longitud de onda de la luz visible ($0.4\text{-}0.7\mu\text{m}$) [Tortora et al., 2007], pero esto no es suficiente para un total conocimiento de la misma. Son en verdad las técnicas no ópticas las que revelan la verdadera topografía de la membrana. Las más utilizadas son la microscopía electrónica de barrido (SEM), la microscopía electrónica de transmisión (TEM) y la microscopía de fuerza atómica (AFM).

4.1 Microscopía electrónica. SEM y TEM

El SEM es la técnica de microscopía electrónica más utilizada para el estudio de membranas. Sus principales ventajas son una elevada resolución (los microscopios electrónicos de barrido de emisión de campo pueden llegar hasta 0.4 nm) [Welsch et al. , 2008], tienen una amplia profundidad de campo (permite el estudio de muestra rugosas) y la posibilidad de combinación con técnicas de análisis espectroscópico, como rayos X. Hace unos años, era necesario que en la cámara se hiciese el vacío y que la muestra fuera conductora. Habitualmente se solía recurrir, entre otras técnicas, a un evaporador de oro, que recubre la muestra con una película muy fina de oro (pues si se depositaba un gran espesor de oro, modificaba completamente la superficie de la muestra que es justo lo que se pretende estudiar), que sí que transmite la corriente. Gracias a esta técnica se podían medir espesores de capa, tamaños de poro y de partícula.

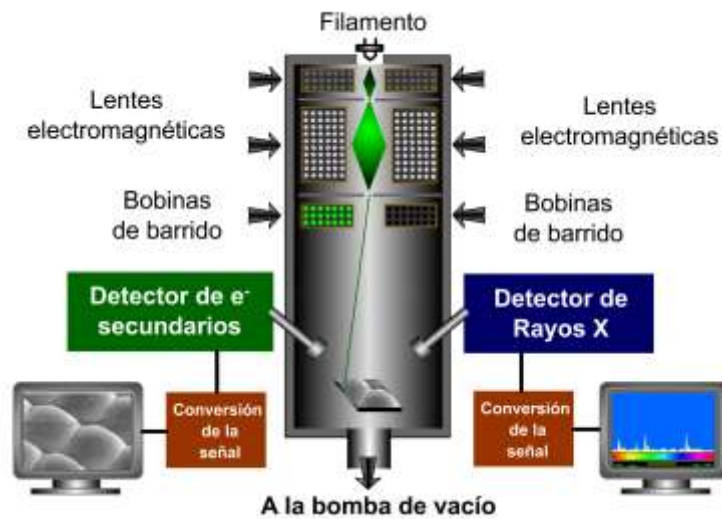


Fig. 6. Esquema del funcionamiento de un SEM.

En la actualidad ya no es necesario realizar esta operación, puesto que se han conseguido diseñar instrumentos, ESEM, que aparte de no tener la necesidad de trabajar en vacío, pueden incluso disponer de analizadores de gases incorporados. En lugar del vacío donde opera la SEM, puede utilizarse vapor de agua, aire, oxígeno, helio o nitrógeno, dependiendo de nuestras necesidades. Este microscopio también es capaz de operar con una temperatura hasta los 1400°C en la cámara. Además este microscopio, permite que se introduzcan elementos dentro de la cámara, para poder ejercer fuerzas mecánicas sobre la muestra, por lo que se puede estudiar cómo reacciona la muestra a esfuerzos mecánicos [Stokes, 2008].

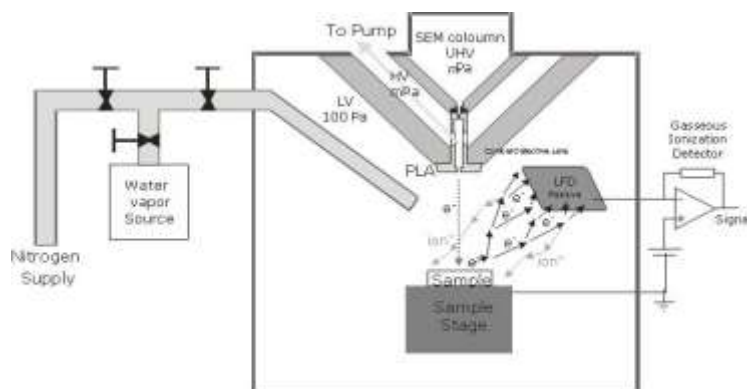


Fig. 7. Esquema del funcionamiento de ESEM.

Por otro lado, el uso del TEM es más limitado, porque aunque puede llegar a tener más alta resolución (0.1 nm) [Poole et al., 2007], se necesitan muestras muy delgadas y su preparación puede dañar la estructura. Un haz de electrones suficientemente acelerado colisiona con una muestra delgada convenientemente preparada. Cuando los electrones colisionan con la muestra, en función de su grosor y del tipo de átomos que la forman, parte de ellos son dispersados selectivamente, es decir, hay una gradación entre los electrones que la atraviesan directamente y los que son totalmente desviados. La información que se obtiene es una imagen con distintas intensidades de gris que se corresponden al grado de dispersión de los electrones incidentes. La imagen del TEM tal como se ha descrito ofrece información sobre la estructura de la muestra, tanto si ésta es amorfa o cristalina [Poole et al., 2007].

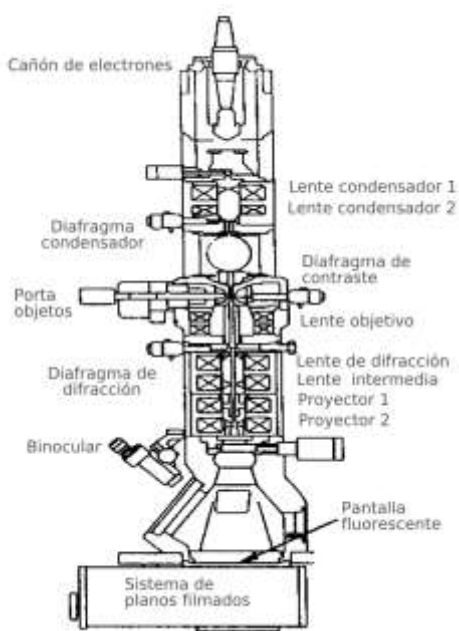


Fig. 8. Esquema de un Microscopio electrónico de Transmisión

Además, si la muestra es cristalina, es decir, hay una estructura de planos periódica, puede ocurrir que varias familias de esos planos cumplan la condición de Bragg y difracten de forma coherente la onda electrónica incidente. Esto da lugar a un diagrama de difracción, que es una imagen de

distintos puntos ordenados respecto a un punto central (electrones transmitidos no desviados) que nos aportan información sobre la orientación y estructura del/los cristales presentes [Poole et al., 2007].

4.2 Microscopía de sonda De Barrido. STM y AFM

Dentro de las técnicas de microscopía de sonda de barrido podemos distinguir:

- La Microscopía de Efecto Túnel (STM)
- La Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)

Es esta última la que se ha empleado en este trabajo, y que a continuación se explica de manera más detallada.

El microscopio de fuerza atómica, fue diseñado por los investigadores Gerd Binnig y Christoph Gerber en 1985, en California. Anteriormente, Gerd Binnig también había diseñado el Microscopio de Efecto Túnel (STM), la otra de las técnicas de microscopía de barrido citadas antes.

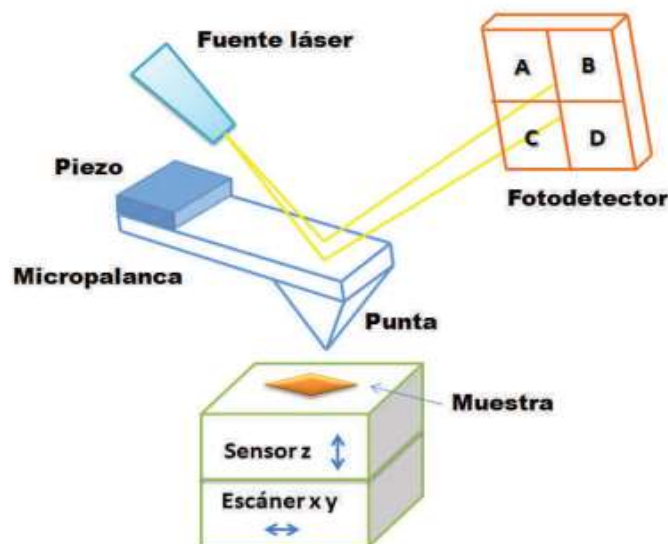


Fig. 9. Esquema del funcionamiento de un dispositivo de AFM.

El Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) es un instrumento mecano-óptico capaz de detectar fuerzas del orden de los nanonewton. Al analizar una muestra, la cual no necesita de una preparación previa, se registra continuamente la altura sobre la superficie de una sonda o punta cristalina de forma piramidal, llamada "tip". La sonda va acoplada a una viga en voladizo, que recibe el nombre de "cantiléver", el cual, es muy sensible al efecto de las fuerzas, y posee una longitud de apenas unos 200 μm . El movimiento de este cantiléver es posible percibirlo mediante un sistema óptico, el cual se utiliza de forma complementaria para posicionar el "tip". El registro del movimiento se realiza a través de un detector, el cual recibe una luz láser que se refleja en la superficie del cantiléver. Es esta señal la que nos permite obtener una imagen de la superficie de la muestra. Con este láser es posible medir flexiones en el rango de los 0.1 Angstroms hasta unos pocos micrómetros [Haugstad, 2012] (ver figura 9).

Además, el AFM se caracteriza por tener hasta tres modos de trabajo diferentes: Contacto, No Contacto y Contacto Intermitente. Dependiendo del tipo de muestra nos interesara más emplear uno u otro modo de trabajo.

Al igual que un ciego usa sus dedos para leer en lenguaje Braille, el AFM utiliza una punta muy afilada de un pequeño radio de curvatura que pasa sobre una superficie. El mecanismo por el cual el AFM adquiere una imagen de la topografía consigue mantener constante la interacción, entre la punta y la superficie, a medida que la muestra se mueve en la dirección X e Y. Este movimiento de la muestra se realiza mediante un tubo piezoeléctrico, que además del movimiento en los ejes X e Y, también permite un movimiento en el eje Z. A partir de estos datos, se puede generar una perspectiva tridimensional, donde se podrá visualizar la superficie de la muestra desde diferentes puntos de vista, a la vez que permite cuantificar parámetros como la rugosidad de la muestra.

El fotodiodo (o fotodetector) hay que calibrarlo, por lo que se hace cuando el cantiléver está en equilibrio, antes de poner la muestra. Se busca que el láser incida en la parte central del detector, así cuando el tip se mueva a través de la muestra, el láser, no se sale del detector, y de esta manera, no se

pierde la información del movimiento del tip, sea cual sea su movimiento. [Haugstad, 2012].

En la gráfica podemos observar la distribución del sistema, además de como el fotodiodo está segmentado en 4 partes. Dependiendo de cómo incida el haz láser en el foto diodo podremos saber si el cantiléver está sufriendo una flexión (sería el resultado de la señal de $(A+B)-(C+D)$), o si por el contrario es una torsión (en este caso tendríamos $(A+C)-(B+D)$) [Haugstad, 2012].

EL AFM puede trabajar hasta en tres modos diferentes, dependiendo de la separación que exista entre la punta de la sonda (Tip) y la superficie de la muestra, pues dependiendo de la distancia entre el Tip y la muestra actúan diferentes tipos de fuerzas. Dependiendo del tipo de muestra nos interesara más emplear uno u otro modo de trabajo.

Esta clasificación se hace atendiendo a la fuerza de interacción entre la punta y la muestra. El AFM es un instrumento de medida en el que se tiene contacto con la muestra, y esto lo convierte en una herramienta muy poderosa, pues, gracias a esto, además de poder obtener imágenes de las muestras, también podemos realizar medidas de las fuerzas de interacción. Esta característica es una de las principales que diferencia al AFM del resto de instrumentos similares de obtención de imágenes nanométricas. A este tipo de experimentos se le conoce como espectroscopia de fuerzas.

Al ser el tamaño de la punta de la sonda extremadamente pequeño, es sensible a varios tipos de fuerzas. Según se aproxima la punta a la muestra, la sonda percibe fuerzas de largo alcance, atribuidas principalmente a las fuerzas de Van de Waals. Según se va aproximando la sonda a la superficie de la muestra, comienzan a interactuar otro tipo de fuerzas, de corto alcance, hasta que la distancia llega a ser muy pequeña, donde comienzan a aparecer fuerzas de repulsión de Pauli, las cuales se explican a través del principio de exclusión de Pauli, que prohíbe que las nubes electrónicas de dos electrones que tiene los mismos números cuánticos se solapen, lo que origina una fuerte [Güntherodt et al., 2012]. Esta fuerza tiene mayor importancia cuando tratamos con el modo de trabajo de contacto, donde la sonda no se separa de la muestra, manteniendo el contacto con ella de forma continua.



Fig. 10. Fuerzas en AFM y modos de operación.

Una de las grandes ventajas del AFM hasta la aparición de los ESEM residía en que sirve para estudiar tanto materiales conductores, como aislantes, pues no precisa de la conducción de electrones para obtener una imagen, a diferencia por ejemplo de la Microscopia de Barrido Electrónico (SEM) donde, hasta hace poco era indispensable que el material fuera conductor. En esos casos, si se quería estudiar un material aislante, se necesitaba recubrir dicho material con una fina capa de algún material conductor (por ejemplo, un evaporador de oro), para poder obtener la imagen. Otra de sus ventajas es que sus medidas, son no-invasivas, es decir, la muestra no resulta dañada, por lo que después del estudio se puede recuperar dicha muestra.

4.2.1 Modos de empleo del AFM

A. Contacto

En este modo predominan las fuerzas repulsivas de corto alcance entre la punta del tip y la muestra. Según va desplazándose la punta sobre la superficie, el cantiléver en el que se sustenta el tip se va flexionando, con el fin de que la punta pueda adaptarse en todo momento a la superficie de la muestra.

En modo contacto se pueden hacer medidas de fuerza y de topografía. En las medidas de fuerza se pueden distinguir: las de fuerza vertical y lateral.

En las de fuerza vertical actúan las fuerzas de repulsión que ejerce la muestra sobre el cantiléver. Estas fuerzas pueden ser medidas ya que durante el barrido se mantiene la distancia "z" constante manteniendo contacto con la superficie. La fuerza de deflexión en el cantiléver está relacionada con la ley de Hooke, por lo que esta señal de deflexión es un parámetro para poder generar la imagen; las imágenes de fuerza se deben utilizar en superficies relativamente planas para de esta forma evitar cualquier choque directo con alguna irregularidad de la muestra que causaría la rotura de la punta y daño en la muestra [Meyer et al., 2004].

Las imágenes de fuerza lateral se pueden obtener debido a una deflexión lateral que causa torsión en el cantiléver. Esta puede ser causada tanto por una deformación topográfica en el barrido lateral como por la diferencia de fricción que hay en la superficie.

Este modo tiene la ventaja de que es más rápido que los otros (modo no contacto y modo de contacto intermitente o, "tapping mode"), es el que permite obtener imágenes con mayor resolución. El gran problema de este modo es que las muestras deben ser muy poco rugosas ya que hay muchas probabilidades de dañarlas a ellas o al tip al hacer el escaneo. Además de esto, aumenta la probabilidad de que en la punta queden "desechos" de la muestra y de esta manera afectar la imagen que se procesa [Meyer et al., 2004].

Las ventajas de este modo son, por tanto:

- Se puede realizar el barrido de la muestra a una gran velocidad.
- Se puede alcanzar una resolución atómica.
- Se detecta mejor los cambios bruscos en la topografía.

Por el contrario, las desventajas son:

- Se pueden presentar fuerzas laterales, lo que implica una distorsión de la imagen.
- Posible aparición de fuerzas normales fuertes.

- Se puede dar una combinación de estos dos tipos de fuerzas, lo que produciría una menor resolución espacial y, además, dañar las muestras blandas.
- -Posible aparición de fuerzas electrostáticas de repulsión entre la muestra y el tip.

B. No contacto

En este modo, la sonda no entra en contacto con la muestra, la configuración es la misma que en el modo contacto, pero en este caso la deflexión del cantiléver es generalmente (dependiendo, en realidad, del punto en que se sitúe el cantiléver en equilibrio “set point”) hacia abajo. En este modo, las fuerzas a tener en cuenta son las fuerzas atractivas de mayor alcance. El análisis en este modo es de manera dinámica, esto quiere decir que el cantiléver oscila con su frecuencia de resonancia.

Las imágenes que pueden ser obtenidas mediante este método pueden ser topográficas o de modo de imagen de las fuerzas de largo alcance. Como la distancia entre la sonda y la muestra es “grande” las principales fuerzas son, las fuerzas de Van der Waals, u otro tipo de fuerza de largo alcance que se extienden desde la superficie, actúan sobre la punta provocando cambios en la frecuencia de oscilación. Esta disminución es captada y se envía una señal desde el sistema de retroalimentación al piezoeléctrico de manera que la muestra se mueva en el eje z hasta que la frecuencia de oscilación vuelva a ser la inicial, y de esta manera se va creando la imagen topográfica. Por otra parte, si se quiere analizar las fuerzas de campo lejano mediante una imagen, la distancia “z” se debe mantener constante y de esta forma, al igual que en modo contacto, se mide la deflexión del cantiléver asociando el parámetro con la ley de Hooke ya sea debido a, por ejemplo, fuerzas eléctricas o magnéticas [West & Starostina, 2004].

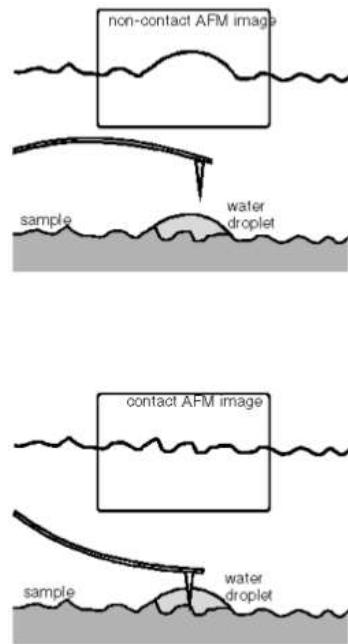


Fig. 11. Diferencias en las fuerzas según se mida en modo contacto o no contacto.

La gran ventaja de este método es que se pueden analizar muestras más rugosas que las que se pueden analizar en modo contacto, y utilizar puntas menos resistentes ya que prácticamente no hay posibilidades de daño al no haber contacto, además que se eliminan las posibilidades de que la punta se desgaste o queden "desechos" en esta, que causan errores en las imágenes. Pero debido a que no hay contacto hay también menos resolución de imagen de forma lateral. Además de ser el modo de escaneo más lento de los tres.

Si se analizan muestras que tienen en su superficie fluidos por adsorción. En el modo no contacto la imagen sobre estas superficies es distinta ya que escanea por sobre los fluidos, en cambio en modo contacto, se deben tener en cuenta las fuerzas de capilaridad [Güntherodt et al., 2012].

Las ventajas de este modo:

- Al no haber contacto, no se daña la muestra.

Las desventajas de este modo:

- Ofrece una menor resolución, ya que no hay un contacto directo con la membrana.

- Se reduce considerable de la velocidad de barrido.

Las fuerzas de capilaridad no pueden ser estudiadas en el modo no contacto, pero eso permite estudiar las capas adsorbidas y su topografía.

C. Contacto intermitente

Como se ha comentado, el modo contacto puede dañar la muestra, debido a que la punta del tip se arrastra continuamente sobre la superficie, y el modo no-contacto, al estar a una cierta distancia no tiene resolución suficiente. La solución encontrada a estos problemas fue una variación del modo de contacto, operando de forma similar al no contacto, de modo que presenta las mejores características de ambos métodos.

En este modo se hace oscilar al cantiléver en una frecuencia próxima a la de resonancia. Cuando el cantiléver llega a su máxima amplitud, la punta del tip, toca la muestra, pasando del modo de no contacto, al modo de contacto, obteniendo así, una señal alterna. Esta señal se analiza de tal manera que se pueden medir los cambios de fase de las oscilaciones provocados por las fuerzas de interacción que actúan sobre el cantiléver.

Al entrar, tan solo una vez por oscilación, en contacto con la muestra, hay muy pocas opciones de dañar tanto el tip como la muestra, por lo que se puede trabajar con muestras blandas, y además se puede trabajar con muestras que tengan fluidos de adsorción, pues como el Tip si entra en contacto con la muestra, podemos obtener la imagen topográfica y al hacerlo solo ocasionalmente la influencia de las fuerzas de capilaridad es mínima [West & Starostina, Pacific Nanotechnology, 2004].

Las ventajas de este modo son:

- Ofrece una mayor resolución puesto que si hay contacto directo con la superficie de la membrana, aunque este sea intermitente.
- Actúan fuerzas más débiles, lo que implica que la muestra sufre menores daños.

La principal desventaja:

- Se reduce considerablemente la velocidad de barrido.

4.2.2 Fuerzas laterales

Hemos mencionado a lo largo del apartado anterior una serie de fuerzas que aparecen cuando el tip interactúa con la muestra, entre ellas, las fuerzas laterales. Estas fuerzas hacen referencia a la torsión que sufre el cantiléver cuando el tip se desplaza sobre la muestra. El propio cantiléver posee una constante de torsión mayor que la constante de la fuerza de flexión, por lo que, para un mismo desplazamiento, la fuerza lateral es mayor que la normal.

En el modo de contacto del AFM estas fuerzas están presentes, y pueden hacer que el tip arrastre material de la muestra, llegando incluso a poder dañarla. Por eso se desarrollaron los modos de trabajo de tapping y de no contacto, para evitar en la medida de lo posible la aparición de este tipo de fuerzas. Sin embargo, es prácticamente imposible que desaparezcan del todo, puesto que al más mínimo contacto del tip con la muestra tendremos una fuerza lateral que se deriva de la fuerza normal.

También hay que tener en cuenta el ángulo formado entre el cantiléver y la superficie, algo que generalmente se puede despreciar, pero en determinados casos pueden generar unas fuerzas laterales de hasta un 10% de la fuerza normal. Estos valores normalmente podrían dar como resultado daños en la muestra.

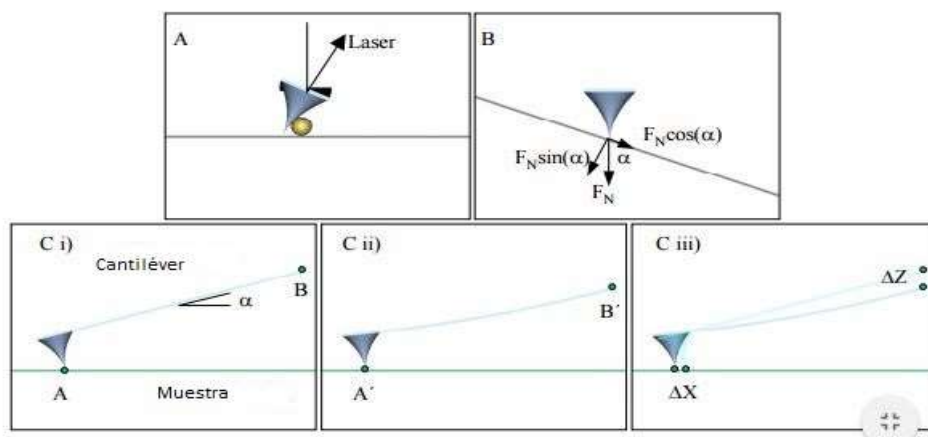


Fig. 12. Fuerzas laterales como resultado del desplazamiento del tip sobre la superficie de la muestra.

Aparte de las fuerzas laterales descritas en las figuras 1- A y 1-B, pueden aparecer otros tipos de fuerzas, que, aunque son mucho más débiles, están presentes cuando hay contacto entre el Tip y la muestra. Estas fuerzas se representan en la parte C. En primer lugar, el cantiléver incide con un determinado ángulo. Según se acerca la base del cantiléver a la superficie de la muestra (evolución del punto B) se produce un desplazamiento del punto A, lo que produce un esfuerzo de cizalla en la dirección del eje del cantiléver.

También podemos deducir que cuanto mayor sea la fuerza aplicada, mayores son las fuerzas laterales que aparecerán, por lo que cualquier método de medida que implique el contacto de la muestra con el Tip, conllevará la aparición de fuerzas laterales. De esto se deduce que, para poder minimizar estas fuerzas, debemos minimizar en lo posible la fuerza normal.

En resumen, una de las grandes ventajas del AFM hasta la aparición de los ESEM residía en que sirve para estudiar tanto materiales conductores, como aislantes, pues no precisa de la conducción de electrones para obtener una imagen, a diferencia por ejemplo de la Microscopia de Barrido Electrónico (SEM) donde, hasta hace poco era indispensable que el material fuera conductor. En esos casos, si se quería estudiar un material aislante, se necesitaba recubrir dicho material con una fina capa de algún material conductor (por ejemplo, un evaporador de oro), para poder obtener la imagen. Otra de sus ventajas es que sus medidas, son no-invasivas, es decir, la muestra no resulta dañada, por lo que después del estudio se puede recuperar dicha muestra.

5 EQUIPO UTILIZADO

En este trabajo se ha empleado el microscopio NanoScope Multimode™ IIIa, el cual está comercializado por Digital Instruments. Este microscopio, ofrece dos de los tres modos de trabajo anteriormente descritos (Modo de contacto y Contacto Intermitente, también conocido como Tapping). Además, en este microscopio se pueden emplear varios tipos de escáner, que se acoplan de manera vertical, lo que evita la aparición de movimientos laterales no deseados y permite una localización más fácil del tip en una zona determinada. Dependiendo del área de barrido que se desee se emplea un escáner u otro. En este caso, se ha optado por un escáner de clase “E”, cuya área máxima de barrido es de 15 µm x 15 µm.



Fig. 13. NanoScope Multimode™ IIIa

El equipo consta de dos partes, una encargada de la obtención de medidas (Multimode AFM), y otra encargada de la visualización de los datos (equipos de electrónica, ordenador, pantallas...).

En la parte encargada de **obtener los datos**, podemos distinguir varios componentes, pero hay uno que agrupa los instrumentos de medida, el SPM (Scanning Probe Microscope) (figura 13) que consta de los siguientes elementos:

En la cabeza, se encuentra el cantilever, donde se sitúa el tip, además se sitúa el láser, y los espejos encargados de dirigir el haz láser desde el cantiléver hacia el detector, y el propio detector. Además, podemos encontrar una serie de tornillos que permiten ajustar las posiciones de estos elementos.

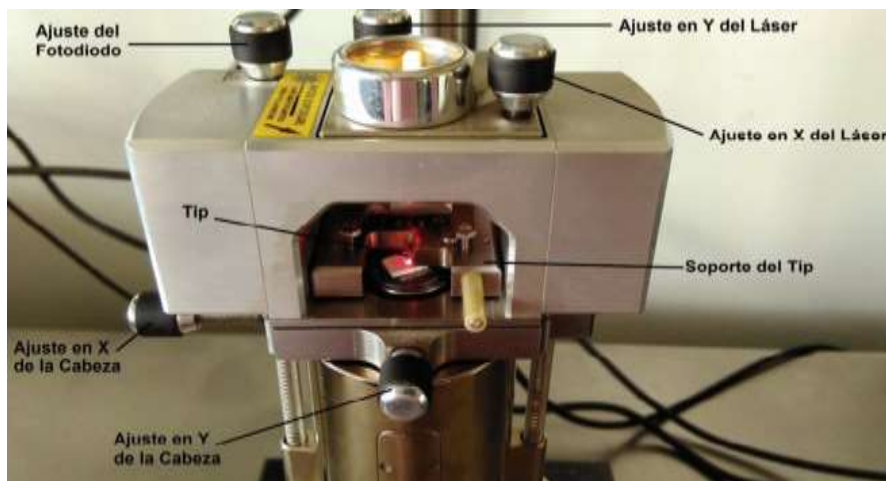


Fig. 14 Cabeza del AFM.

El escáner: Consta de un cilindro de un material piezoeléctrico que se contrae o dilata para controlar la altura z, y es el que se desplaza en X e Y para realizar el barrido. Se ha empleado el escáner de tipo "E", el cual se sitúa de forma vertical debajo de la cabeza. Como se comentó anteriormente, este escáner permite una zona de barrido de $15 \times 15 \mu\text{m}^2$. Cada tipo de escáner ofrece un área de barrido diferente, pero a mayor área de barrido, se obtiene una menor resolución vertical.



Fig. 15. Controlador

El controlador, es donde se encuentra toda la parte electrónica del microscopio. El módulo EXTENDER, es un módulo electrónico el cual puede recoger hasta tres señales diferentes.

En la parte encargada de la **recogida de datos**, podemos encontrar los siguientes elementos:

Ordenador: desde el ordenador, se controla la toma de medidas. En él se emplea un software específico para el AFM (Nanoscope V.5,30r,sr3), donde podemos regular diferentes parámetros, que afectan directamente al TIP, tales como la corriente y la intensidad. Que se relacionan con la amplitud de oscilación, y la frecuencia de este. Además, este software permite medir ciertos parámetros característicos de la superficie como la rugosidad, la curtosis, etc.



Fig. 16 Ordenador

Sistema Óptico (NanoScope OMV-PAL): se sitúa encima de la cabeza del AFM. Este sistema, nos permite, a través de una conexión con un monitor, observar el movimiento del propio tip sobre la superficie de la membrana, la incidencia del láser sobre el cantiléver o la elección del área de estudio.



Mesa Hidráulica: A fin de minimizar las posibles vibraciones que puedan afectar al tip y por tanto a la obtención de las imágenes, se sitúa el AFM sobre una mesa hidráulica, la cual es capaz de absorber tantas frecuencias acústicas, como no acústicas. Cuanto más pequeña sea el área de

Fig. 17. Microscopio óptico sobre AFM

barrido del tip, mayor importancia adquiere este sistema, pues se requiere una mayor precisión, la cual se ve afectada por estas vibraciones, por el ruido que introduce en la medida. La mesa empleada en este trabajo es del modelo MICRO- g fabricada por Technical Manufacturing Corporation. Consta con 4 patas neumáticas, a las cuales se les suministra aire comprimido de forma continua, con una frecuencia de corte menor a 1 Hz, que es suficiente para absorber la mayor parte de las vibraciones del edificio.

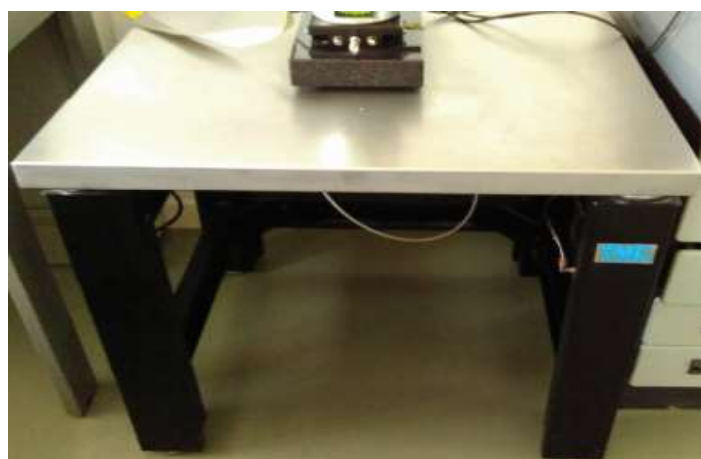


Fig. 18. Mesa Hidráulica

6 RESULTADOS

En este trabajo se han obtenido imágenes mediante el AFM, donde se ha podido ver cómo ha ido evolucionando la superficie de la membrana, tras las dos modificaciones realizadas: En primer lugar, la deposición del polímero PSS sobre la superficie de la membrana, y su posterior exposición al plasma de argón. Se ha analizado:

- Cómo ha cambiado directamente la topografía con cada uno de los tratamientos.
- A partir de los datos de topografía se ha medido la rugosidad de las membranas
- A partir de las imágenes de fase, la homogeneidad de los tratamientos y el cambio de las propiedades visco-elásticas.

La rugosidad se ha medido a través del parámetro R_q , Rugosidad Cuadrática Media, que es la media estadística de la muestra, que representa la desviación estándar entre la altura de cada punto considerado de la superficie con respecto a la media aritmética de alturas.

$$R_q = \frac{\sqrt{(\sum Z_i - Z_{avg})^2}}{N}$$

Z_i es el valor que adquiere la altura en cada punto, Z_{avg} es el promedio de los valores de la altura medidos en toda el área estudiada, y N es el número total de puntos considerados en el área estudiada [Mainsah et al., 2013]. El concepto se esquematiza en la Figura 19.

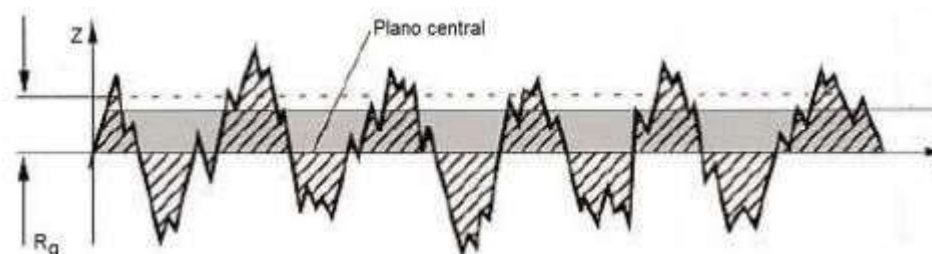


Fig. 19. Esquema de la diferencia de alturas para el cálculo de la rugosidad

Las medidas se realizaron usando el AFM en modo tapping. Las membranas fueron tratadas con etanol previamente, para eliminar el efecto de

interacción electrostática entre el tip y la muestra y cualquier efecto de fuerzas de capilaridad.

En la siguiente imagen (Figura 20), podemos observar la imagen topográfica de la membrana sin modificar, de un área de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$. En ella podemos observar que la imagen obtenida, es nítida, con una buena definición, gracias a la aplicación de etanol.

A la hora de obtener la imagen, se ha limitado la altura a 30 nanómetros, puesto que, si aumentáramos la escala, apenas se apreciaría la rugosidad propia de la membrana. Así más tarde podremos comparar mejor y ver como la incorporación del polímero, modifica drásticamente la superficie de la membrana.

Si nos fijamos en la imagen de la fase, se puede apreciar que no se registran diferencias de fase significativas en la superficie de la membrana. Esto quiere decir que material de la superficie de la membrana es homogéneo. Es lo lógico, pues es una membrana a la que aún no se le ha aplicado ningún tipo de modificación, ni en su estructura interna, ni en la superficie.

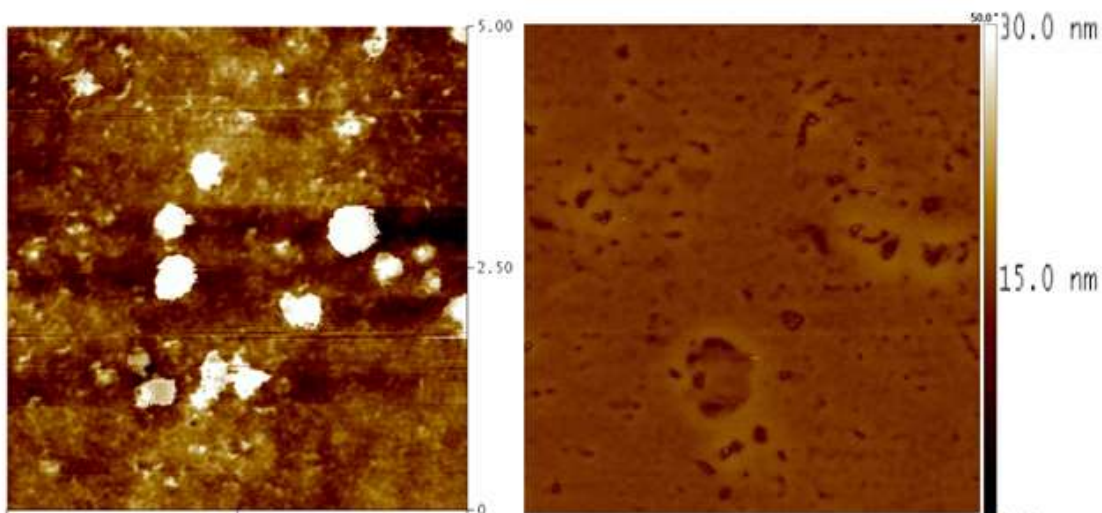


Fig. 20. Imágenes de AFM de la membrana sin modificar. Imagen topográfica (Izq.) e imagen de contraste de fase (drcha.)

En la siguiente imagen (Figura 21), ya se ha depositado el polímero PSS sobre la membrana. Se puede apreciar que ha habido un aumento de la diferencia de altura, pues ahora es necesario modificar la escala Z a 100 nm, para poder observar con perspectiva la superficie de la membrana. La imagen

topográfica, está acompañada de la imagen correspondiente a la fase de la misma sección de la membrana.

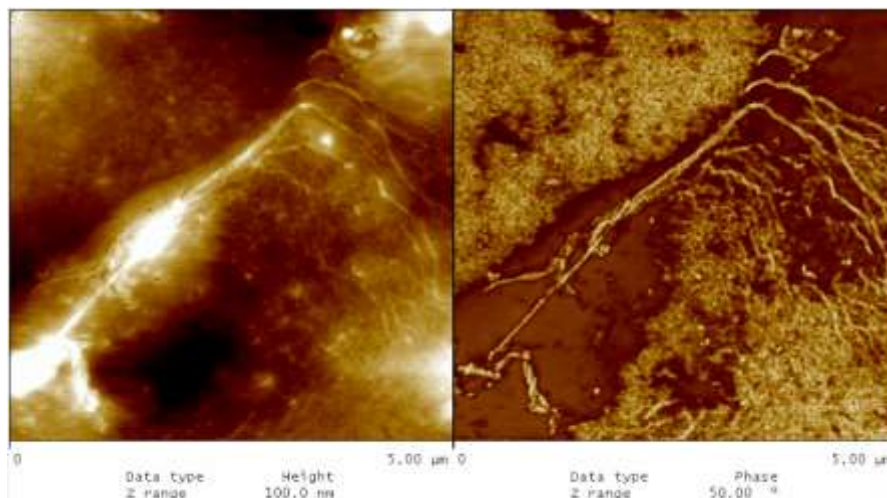


Fig. 21. Imágenes del AFM de la membrana modificada con polímero. Imagen topográfica (Izq.) e imagen de contraste de fase (drcha.)

La imagen de la fase, da cuenta de la variación de las propiedades termoelásticas del material. Se puede apreciar que donde hay una mayor diferencia de altura de la membrana, (mayor rugosidad) también se observa un cambio en la imagen de fase. Estas diferencias en la fase no corresponden a heterogeneidad en la distribución del polímero, sino a diferencias de alturas por una mayor acumulación de polímero en ciertas regiones.

A continuación se pueden ver las imágenes de la topografía y de fase de la superficie de la membrana, una vez se ha aplicado el plasma sobre la membrana (Figura 22). En la imagen topográfica, se puede apreciar que, a pesar de seguir habiendo algunas zonas con una mayor aglomeración de polímero pero no tan altas como en la figura 21. En esta imagen se puede ver que la distribución es más uniforme.

Atendiendo a la imagen de la fase, se puede ver que la distribución del polímero es muy homogénea, pues apenas se pueden ver cambios en la fase, Esto significa que las propiedades termoelásticas del material de la superficie, son las mismas y por tanto estamos hablando de un mismo material.

Tanto para el análisis topográfico como para el cálculo de la rugosidad, se ha elegido tomar muestras de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ para poder tener una muestra más representativa de la superficie de la membrana. Aunque se han estudiado áreas del tamaño de $1 \times 1 \mu\text{m}^2$, se ha visto que el tamaño de los depósitos de polímero o de las zonas planas es menor de $1 \mu\text{m}$, pudiendo elegirse zonas muy diferentes que no serían representativas de la superficie total. De su análisis habríamos podido obtener unas conclusiones erróneas. De esta manera, al analizar un área mayor, nos aseguramos de tener una superficie representativa de toda la muestra.

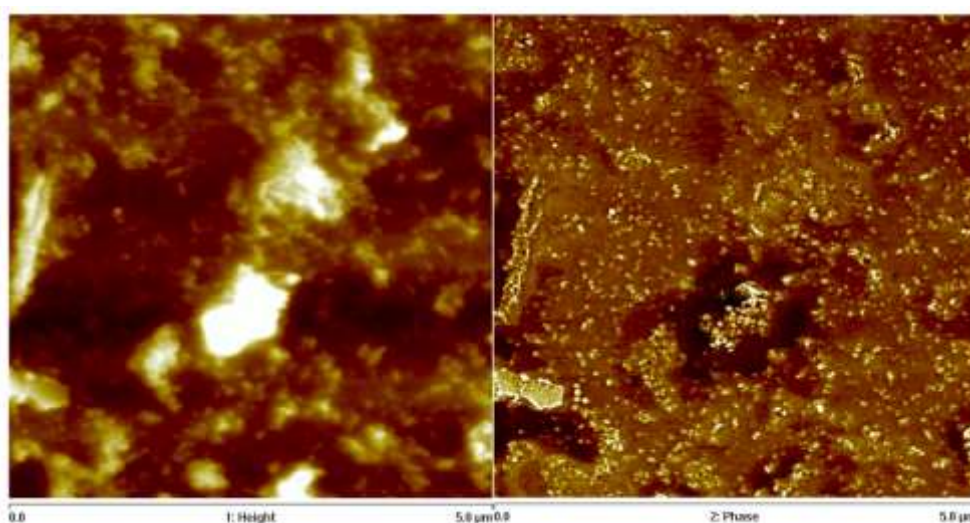


Fig. 22. Imágenes del AFM de la membrana modificada con polímero y plasma. Imagen topográfica (Izq.) e imagen de contraste de fase (dcha.)

Estudiando ahora la rugosidad (Figura 23), podremos observar como varía a lo largo de todo el proceso, siendo la etapa de la deposición del polímero PSS sobre la membrana, cuando más rugosidad presenta la membrana.

Si atendemos a las columnas referentes a los resultados de las imágenes de $1 \times 1 \mu\text{m}^2$, podemos ver que la tendencia en la rugosidad no es la misma, dado la localidad de estas imágenes. Estos resultados, no son representativos.

Fijándonos en los resultados de las imágenes de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$, podemos ver que, tras el proceso con plasma, la rugosidad cuadrática media, disminuye considerablemente.

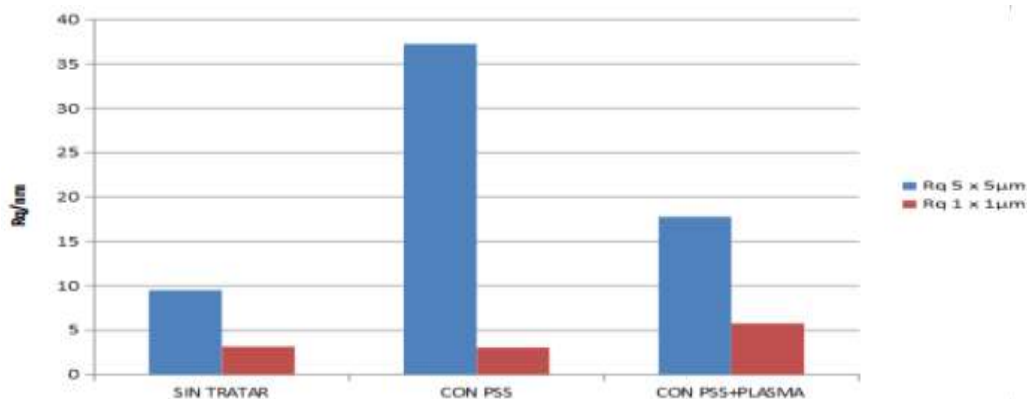


Fig. 23. Gráfica del estudio de rugosidades en membranas de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ y $1 \times 1 \mu\text{m}^2$

En las siguientes imágenes (Figura 24) podemos ver, en una comparativa en 3-Dimensiones, de cómo ha ido modificándose la rugosidad de las membranas tras pasar por cada proceso:

Tras la fijación del polímero, la rugosidad de la superficie aumentó considerablemente, de forma homogénea, aunque con ciertas regiones que presentan una mayor acumulación de polímero. Sin embargo, se aprecia, que, tras la aplicación del plasma, la superficie se desbastó considerablemente, consiguiendo que la rugosidad de ésta, disminuyese.

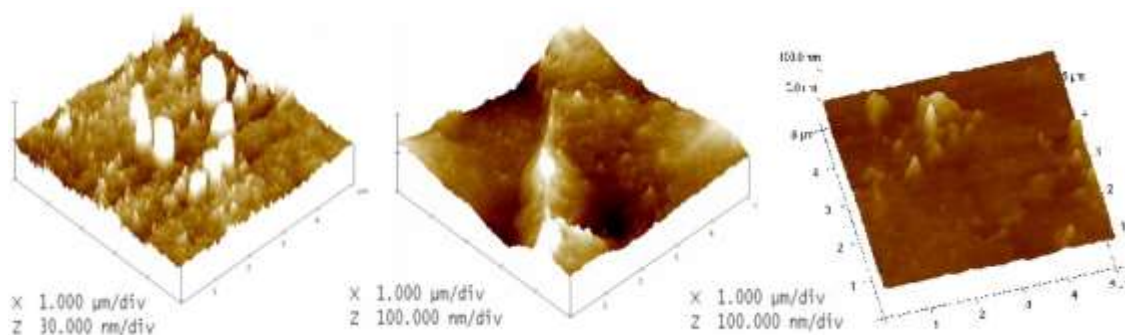


Fig. 24. Comparativa de la topografía de las membranas sin tratar (izda.), con polímero PSS (centro) y con polímero y plasma (drcha.) en 3-dimensiones

7 CONCLUSIONES

En este trabajo se ha modificado una membrana de ultrafiltración, buscando alterar las propiedades superficiales de la membrana. Para ello se ha recurrido al polímero PSS, con el que se ha recubierto dicha superficie. Tras los análisis realizados a través de Microscopia de Fuerza Atómica, se puede deducir que:

- La distribución del polímero sobre la membrana, es uniforme. Tras el estudio de las imágenes de la fase, se puede observar que no hay cambios drásticos en las propiedades termoelásticas en la superficie de la membrana, aunque si zonas donde ha habido una mayor aglomeración del polímero
- Se produce un aumento en la rugosidad en la superficie de la membrana. En las imágenes topográficas obtenidas del AFM, podemos ver como la escala de las alturas relativas de la superficie, pasan de un incremento de 30 nanómetros en la membrana sin modificar, (altura suficiente para poder apreciar la rugosidad de la membrana) a una variación de 100 nanómetros tras la fijación del polímero sobre la superficie de la membrana para poder observar de forma coherente la nueva superficie.

A la membrana recubierta de polímero se le sometió a tratamiento con plasma de Argon de forma que:

- La aplicación del plasma produjo una disminución de la rugosidad cuadrática media. Como se puede comprobar en la imagen (Gráfica) la R_q en las imágenes de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$, adquirió su mayor valor tras la fijación del polímero en la membrana. Esto se corrobora, al observar las imágenes tras el plasma, donde la superficie de la membrana es mucho más homogénea que cuando se aplicó el polímero. Con esto se deduce que el plasma desbasto la superficie de la membrana, dejando una superficie más uniforme.

Así se puede concluir que el AFM es un buen instrumento de análisis de superficies, pues es capaz de detectar cambios en éstas, no solo a través de imágenes topográficas, sino empleando también imágenes de contraste de fase, pudiendo así estudiar la variación de las propiedades termoelásticas de la superficie. En cuanto a las modificaciones de membrana que se han estudiado, parece claro que el procesado mediante plasma consigue consolidar y suavizar la superficie, lo cual tiene gran importancia por cuanto se reducen así los procesos de adsorción y ensuciamiento. La homogeneidad del recubrimiento polimérico tras el tratamiento con plasma asegura un reparto uniforme de las cargas negativas del PSS sugiriendo tanto una buena estabilidad de la membrana como un gran rendimiento en la separación de nitratos, y otros aniones divalentes o polivalentes. Por supuesto, estos aspectos funcionales de las membranas se han comprobado como parte de otras investigaciones realizadas en el grupo SMAP.

8 REFERENCIAS

1. Aguilar J., “*Fenomenos de Transporte a traves de Membranas*” Rev. Port. Quím., 25, 11 (1983)
2. Goddard J.M., Hotchkiss J.H. “*Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds.*” , 2007
3. Güntherodt H.J., Anselmetti D., Meyer E., “*Forces in Scanning Probe Methods*”, Springer, 2012
4. Haugstad G. “*Atomic Force Microscopy: Understanding Basic Modes and Advanced Applications*”, John Wiley & Sons, 4 sept. 2012
5. Hurtado, C.F, Cancino-Madariaga, B., Torrejón , C. Torrejón y Pinto V. , P. “*Separation of nitrite and nitrate from water in aquaculture by nanofiltration membrane*”, 2016
6. Meyer E., Hug H.J., Bennewitz R., “*Scanning Probe Microscopy*”, Springer, 2004
7. Mook, W.T., Chakrabarti , M.H., Aroua, M.K., Khan, G.M.A., Ali, B.S., Islam, M.S., Abu , M.A. “*Removal of total ammonia nitrogen (TAN), nitrate and total organic carbon (TOC) from aquaculture wastewater using electrochemical technology: A review, Desalination*”, 2012
8. Nady N., Franssen M.C.R., Zuilhof H., Eldin M.S.M., Boom R., Schroën K., “*Modification methods for poly(arylsulfone) membranes: A mini-review focusing on surface modification*”, 2011
9. *Palacio Martínez L., “Caracterización estructural y superficial de membranas microporosas”, Tesis Doctoral (1999) Universidad de Valladolid*
10. Pierre C. Jean; “*Las Instituciones Científicas y la Difusión de la Ciencia Durante la Ilustración*”, 1994
11. Poole C.P., Owens F.J., “*Introducción a la nanotecnología*”, Reverté, 2007
12. Rezvani F. , Sarrafzadeh M.H. , Ebrahimi S. , Oh HM, “*Nitrate removal from drinking water with a focus on biological methods: a review*”, 2017

13. Sánchez F. Francesc; “*Estudio y diseño de una planta de producción de membranas cerámicas de coste reducido*”, Universidad de Barcelona, 2007
14. Stokes D., “*Principles and Practice of Variable Pressure: Environmental Scanning Electron Microscopy (VP-ESEM)*”, John Wiley & Sons, 2008.
15. Strathmann Heiner, Giorno Lidietta, Drioli Enrico “*An Introduction to Membrane Science and Technology*”, Consiglio Nazionale Delle Ricerche Roma, 2006
16. Sturdy J. David; “*Science and Social Status: The Members of the Academie Des Sciences 1666-1750*”, 1995
17. Tortora G.J., Funke B. R., Case C.L., “*Introduccion a la microbiologia*”, Ed. Médica Panamericana, 2007
18. Vrlinic T., et al. Rapid surface functionalization of poly (ethersulfone) foils using a highly reactive oxygen-plasma treatment. *Surf. Inter. Anal.* 2007; 39: 476-481
19. Wang Y., Wei J., She Q., Pacheco F., Chuyang Y. “*Microscopic Characterization of FO/PRO Membranes – A Comparative Study of CLSM, TEM and SEM*”, 2012
20. Welsch U., Sobotta J., “*Histología*”, Ed. Med Panamericana, 2008
21. West P., Starostina N., “*A Guide to AFM Image Artifacts*”, Pacific Nanotechnology, 2004.
22. WHO (World Health Organization), “*Nitrate and Nitrite in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality*”, 2011
23. Wyart, Y., Georges, G., Deumié, C., Amra, C., Moulin, P. “*Membrane characterization by microscopic methods: multiscale structure*”, *J. Memb.* (2008)
24. Zhao Ch., Xue J., Ran F., Sun Sh. “*Modification of polyethersulfone membranes – A review of methods. J. Membrane*”, 2013
25. Zhou W., Wang Z.L., “*Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications*”, 2007