



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

Elisabeth Aguilar Rodríguez

CARACTERITZACIÓ DE MEMBRANES DE FLUORUR DE POLIVINILIDÈ MODIFICADES I CONCENTRACIÓ DE POLIFENOLS MITJANÇANT NANOFILTRACIÓ

TREBALL DE FI DE GRAU

Dirigit pel Dr. Bartosz Tylkowski i Cristina Quintas Pérez

Tutoritzat per Rosa Maria Marcé Recasens

Grau de Química

Tarragona

2015-2016

RESUM

Membrane technology is presently an established part of several industrial processes. Nanofiltration membranes, with properties in between those of ultrafiltration and reverse osmosis, have come a long way since it was first introduced during the late 80's ¹. In literature, the determination of structural properties of a nanofiltration membrane based on its separation performance and its industrial applications are widely studied. For this reason, the goal of this Project is the characterization of some modified polyvinylidene fluoride membranes and the concentration of two different polyphenols, phenols and flavonoids, using the nanofiltration technique.

For the characterization of PVDF membranes different techniques have been evaluated. Based on the static techniques, which mainly give information on membrane morphology and structure as well as chemical and physical properties, Environmental Scanning Electron Microscopy and Contact Angle techniques have been used in order to study these different properties. As for dynamic techniques, Nanofiltration has been used for the purpose of performing permeability test of modified PVDF membranes by layer-by-layer deposition with ethanol and isopropanol as solvents.

Membrane technology is an option that allows to concentrate at low temperatures. That is why, this technique has been used for polyphenols due to it is a compound that degraded in high temperature. Thus, nanofiltration has been carried out with ethanolic and isopropanolic extracts. Each extract has been carried on through two distinct fractions: permeate and retentate. The capacity of the membrane to retain the compounds has been verified by spectrophotometric analysis.

These techniques used both for the characterization of PVDF membranes and the determination of the concentration of phenols and flavonoids have been accomplished. However, the result obtained during the experimental for concentrating polyphenols compounds has not been satisfactory.

ÍNDEX

1. Introducció	1
2. Objectius	3
3. Fonament teòric	4
3.1. Tecnologia de membranes: nanofiltració	4
3.2. Microscòpia electrònica de rastreig ambiental (ESEM)	5
3.3. Angle de contacte	6
3.4. Ultrasons	7
3.5. Espectrofotometria ultraviolada-visible	8
3.6. Microscòpia òptica	9
4. Part experimental	10
4.1. Reactius	10
4.2. Mostres	10
4.2.1. Membranes	10
4.2.2. Té de Mursalitsa i nyora	11
4.3. Caracterització de membranes	11
4.3.1. Nanofiltració	12
4.3.2. Microscòpia electrònica de rastreig ambiental (ESEM)	14
4.3.3. Angle de contacte	15
4.4. Concentració de polifenols del té de Mursalitsa i de la nyora	16
4.4.1. Extracció de polifenols del té de Mursalitsa i de la nyora.....	16
4.4.1.1. Extracció de fenols i flavonoides	16
4.4.2. Detecció i quantificació de polifenols	16
4.4.2.1. Contingut de fenols totals	16
4.4.2.2. Contingut de flavonoides totals	18
4.4.3. Concentració de polifenols mitjançant tecnologia de membranes	19
4.4.4. Quantificació de polifenols després de la concentració	19
4.4.5. Microscòpia òptica	20
4.4.6. Angle de contacte	20
5. Resultats i discussió	21
5.1. Caracterització de membranes	21

5.1.1. Nanofiltració de membranes	21
5.1.2. Microscòpia electrònica de rastreig ambiental (ESEM).....	25
5.1.3. Angle de contacte	31
5.2. Concentració de polifenols del té de Mursalitsa i de la nyora	32
5.2.1. Nanofiltració de membranes	33
5.2.2. Quantificació de polifenols abans i després de la concentració.....	33
5.2.2.1. Absorbància i quantificació de fenols	33
5.2.2.2. Absorbància i quantificació de flavonoides	35
5.2.3. Microscòpia òptica	37
5.2.4. Angle de contacte	38
6. Conclusions	39
7. Bibliografia	40

1. Introducció

Un dels desafiaments que enfronta actualment el món és recolzar el creixement industrial sostenible. Avui dia, l'aplicació de les tecnologies de membrana és una tecnologia emergent en diversos processos industrials. És ben coneguda la seva rellevància en la indústria alimentària, en la conservació i obtenció d'aliments i en la fabricació de productes làctics i begudes en general, ja que, segons els professionals del sector, millora la qualitat dels productes un 82%, redueix els costos de producció un 32%, augmenta el rendiment i l'automatització dels processos i dona solució als problemes mediambientals en un 29% ².

L'estalvi dels costos d'energia i la demanda de productes de major valor nutricional i de procediments de processament menys tòxics per al medi ambient són factors atractius per la utilització de les tecnologies de membrana per les indústries dels aliments. Però la tecnologia de la nanofiltració es troba encara en evolució, trobant cada vegada més aplicacions en el processament d'aliments i en altres indústries. S'està convertint en una gran alternativa a altres mètodes convencionals no només en la indústria alimentària, sinó també en processos com l'estovament de l'aigua, el tractament d'olis vegetals, begudes i la indústria del sucre.

Les membranes fan possible el subministrament d'aigua per a milions de persones en el món ja que la nanofiltració s'ha establert com el mètode de separació més eficient, reduint amb èxit les aigües residuals a baixes temperatures i amb menors etapes de processament, aconseguint així processos més econòmics ³.

Una membrana és una barrera o pel·lícula permeoselectiva entre dos medis fluids, que permet la transferència de determinats components d'un medi a l'altre a través d'ella i evita o restringeix el pas dels altres components. Es poden classificar per la seva naturalesa en biològiques (vives o no vives) o sintètiques (orgàniques o inorgàniques) i per la seva morfologia o estructura, la qual determina el mecanisme de separació i per tant, la seva aplicació, en simètriques, asimètriques i compostes ⁴. Per tal de ser efectives en els processos de separació i filtració, les membranes han de ser resistents químicament, mecànica i tèrmicament estables, i tenir una permeabilitat elevada i alta selectivitat ².

Durant aquest projecte s'utilitzen membranes de fluorur de polivinilidè, un fluoropolímer termoplàstic, altament hidrofòbic i flexible (té una T_g de $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$) que presenta elevada resistència i estabilitat química^{5, 6, 7}.

La tecnologia de membranes ha estat objecte d'un gran interès en els últims anys, gràcies sobre tot a la indústria química. Aquesta dedica un 80% del seu consum energètic a processos de separació i concentració de substàncies, la qual cosa ocasiona una elevada demanda de tècniques avançades que siguin netes, respectin el medi ambient i tinguin un gran estalvi energètic². A la naturalesa existeixen una gran varietat de compostos que presenten una estructura molecular caracteritzada per la presència d'un o diversos anells fenòlics anomenats polifenols. Aquestes substàncies presenten actualment un gran interès per la indústria degut, sobretot, a les seves propietats antioxidants, molt beneficioses per la salut humana en aspectes com la prevenció de càncer, de les malalties cardiovasculars o de malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer (fenols) i per la seva baixa toxicitat i per presentar nombrosos efectes biològics i activitats terapèutiques (polifenols)^{8, 9, 10}. És per aquest motiu que es busquen mètodes d'obtenció d'aquests components i la nanofiltració es presenta com una possible alternativa digna d'estudi.

2. Objectius

Els objectius que es volen aconseguir amb aquest Treball de Fi de Grau són els que s'exposen a continuació:

- Caracteritzar unes membranes de fluorur de polivinilidè de diferent pes molecular, modificades per deposició capa a capa, amb dos solvents per tal de comprovar la seva permeabilitat per la seva posterior utilització.
- Concentrar els polifenols de té de Mursalitsa i de la nyora mitjançant la nanofiltració de membranes per a la seva futura aplicació a la indústria.

3. Fonament teòric

3.1. Tecnologia de membranes: nanofiltració

Existeixen diferents tipus de processos de membrana de filtració relacionats amb la tecnologia de membranes. D'entre ells podem trobar la microfiltració (MF), ultrafiltració (UF), osmosi inversa (OI) i nanofiltració (NF). Aquest treball està centrat en l'últim procés anomenat: la nanofiltració.

La nanofiltració és una tècnica de separació amb característiques a cavall entre l'osmosi inversa i la ultrafiltració. El fenomen de separació en la OI es basa generalment en la difusió de la solució mentre que en UF es deu a l'efecte tamisat. La nanofiltració té en compte els dos efectes, amb un efecte addicional de càrrega, que és degut a les característiques de la superfície de la membrana de nanofiltració. El transport dins d'aquestes membranes es dona per la difusió, convecció i electromigració. Com a conseqüència de que la membrana de nanofiltració porta càrrega negativa a la seva superfície, els ions carregats positivament seran atrets i els de càrrega negativa seran repel·lits degut a l'efecte Donnan (equilibri que es produeix entre els ions que poden travessar la membrana i els que no són capaces de fer-ho. Les composicions en l'equilibri es veuen determinades tant per les concentracions dels ions com per les seves càrregues) ¹¹.

La grandària de porus de la nanofiltració es troba en l'interval de 0,5 a 1 nm. Aquesta tècnica concentra, fracciona o purifica solucions aquoses de soluts orgànics amb pes molecular entre 100 i 1000 Da i barreges de sals monovalents/multivalents i utilitza pressions entre 0.5 i 35 MPa ³.

La varietat d'aplicacions de les membranes en processos de separació és molt extensa i encara es troba en expansió. Actualment, les principals aplicacions es troben en el sector químic, en el tractament d'aigües residuals o en la producció d'aigua potable o aigua d'ús industrial ³. També s'utilitzen en camps de la indústria com:

- Processament d'aliments
- Indústria farmacèutica i biotecnològica
- Purificació de gasos

- Protecció del medi ambient
- Dessalinització
- Indústria del sucre
- Processament de l'oli vegetal
- Indústria tèxtil (retenció de colorants) ¹².

3.2. Microscòpia electrònica de rastreig ambiental (ESEM)

La microscòpia electrònica de rastreig ambiental (ESEM) o SEM ambiental és una tècnica que permet la observació i la caracterització tant de materials orgànics com inorgànics en una escala de nano i micròmetres.

L'àrea a examinar o el microvolum a analitzar s'irradia amb un feix d'electrons finament enfocat, que pot ser estàtic o amb escombratge a través de la superfície de la mostra ¹³. El canó d'electrons genera el feix amb el diàmetre de 50 µm, que ha de ser reduït abans d'arribar a la superfície. Per aconseguir això, es generen camps magnètics o elèctrics localitzats per lents electromagnètiques. A més, amb la finalitat d'evitar la ruptura elèctrica i per reduir la interacció entre el feix i molècules de l'aire, han de ser evacuats la columna i la càmera de mostra. Finalment, quan va a bombardejar la superfície amb els electrons energètics, part d'ells es retrodispersa i l'altra part provoca emissió d'electrons secundaris amb baix consum d'energia. Quan es detecta el nombre d'aquests últims, dona la informació sobre la topografia de la mostra.

Per generar la imatge, és necessària el senyal dels electrons secundaris des de múltiples punts de la superfície. El senyal es processa i, per tant, la imatge de la superfície es pot observar en el monitor ¹⁴.

Amb aquest equip, el qual podem observar a la **Figura 1**, es poden estudiar mostres conductores, no conductores i materials incompatibles amb buit elevat.



Figura 1. Equip ESEM de la URV.

Són moltes les prestacions que presenta aquesta tècnica, com per exemple:

- Estudis de morfologia i topografia en general (fins una resolució de 4 nm)
- Obtenció d'imatges de composició
- Microanàlisi elemental
- Anàlisi de partícules
- Contaminants
- Aplicacions forenses ¹⁵.

El ESEM és una de les principals innovacions i un avenç fonamental en el camp de la microscòpia electrònica.

3.3. Angle de contacte

L'angle de contacte és un mètode fiable per caracteritzar la interacció entre un líquid i una superfície. S'utilitza per caracteritzar les propietats d'hidrofilicitat, humectabilitat i biocompatibilitat dels materials. Es defineix com l'angle que forma una gota de líquid en entrar en contacte amb una superfície sòlida.

És una funció de la tensió superficial del líquid i de l'energia lliure superficial del substrat i pot avaluar-se mitjançant una gota d'un líquid pur disposada sobre un sòlid amb un equip com el que es mostra a la **Figura 2**.



Figura 2. Equip d'angle de contacte.

La mida de l'angle entre les substàncies líquida i sòlida depèn de la interacció química dels materials en la superfície. Com menor sigui la interacció, més gran serà l'angle de contacte. Així doncs, com major sigui l'angle de contacte (angle major de 90°, **Figura 3**), major serà la hidrofòbia entre líquid i sòlid, i llavors, més difícil serà mullar el sòlid, l'adhesivitat i l'energia superficial del sòlid seran baixes i més impermeable serà el material. En canvi, si la superfície és hidrofílica, s'observarà un angle de contacte menor a 90°, com el que es mostra a la **Figura 4**, l'adhesivitat i l'energia del sòlid seran elevades i la permeabilitat del material augmentarà ¹⁶.

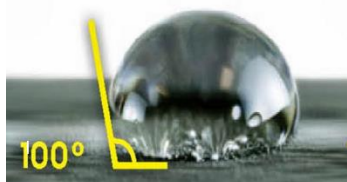


Figura 3. Hidrofòbia entre líquid i sòlid.

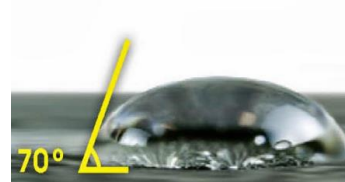


Figura 4. Hidrofília entre líquid i sòlid.

3.4. Ultrasons

El ultrasons és una tècnica senzilla emprada en moltes aplicacions tals com la homogeneïtzació, la desintegració, l'extracció, sonoquímica, desgasificació o neteja.

En aquest cas, la tècnica és utilitzada per fer una extracció. L'extracció per ultrasons és l'eliminació i recuperació d'analits orgànics a partir d'una matriu sòlida mitjançant un dissolvent que s'activa per l'energia del so a freqüències superiors a les audibles per l'oïda humana. L'energia pot ser introduïda a la mostra mitjançant una

sonda ultrasònica que s'insereix a la mostra o un bany de ultrasons com el de la **Figura 5**, en que es submergeix la mostra més el dissolvent. L'energia ultrasònica pot ser suficient per pertorbar i polvoritzar la matriu sòlida, augmentant així la capacitat d'extracció de l'analit. El generador ultrasònic pot generar calor que pot afectar al procés d'extracció, en canvi, els banys d'ultrasons proporcionen energia d'extracció menys intensa ¹⁷.



Figura 5. Bany d'ultrasons.

3.5. Espectrofotometria ultraviolada-visible

L'espectrofotometria UV-visible és una de les tècniques analítiques més utilitzades que permet determinar la concentració d'un compost en solució. Es basa en la relació que existeix entre l'absorció de llum per part d'un compost i la seva concentració.

En un espectrofotòmetre (**Figura 6**), quan es fa incidir llum monocromàtica (d'una única longitud d'ona) sobre un medi homogeni, una part de la llum incident és absorbida pel medi i una altra transmesa, com a conseqüència de la intensitat del feix de llum. Depenent del compost i del tipus d'absorció a mesurar, la mostra pot estar en fase líquida, sòlida o gasosa. En les regions visibles i ultraviolades de l'espectre electromagnètic, la mostra es troba generalment dissolta per formar una solució. Cada substància té el seu propi espectre d'absorció, el qual és una corba que mostra la quantitat d'energia radiant absorbida (Absorbància) per la substància en cada longitud d'ona de l'espectre electromagnètic. És a dir, a una determinada longitud d'ona de l'energia radiant, cada substància absorbeix una quantitat de radiació que és diferent a la que absorbeix un altre compost ¹⁸.



Figura 6. Espectrofotòmetre UV-visible.

3.6. Microscòpia òptica

Els microscopis són instruments dissenyats per produir imatges visuals o fotogràfiques ampliades de objectes petits. El microscopi ha de poder produir una imatge ampliada de la mostra, separar els detalls en la imatge i fer que les dades siguin visibles per l'ull humà o una càmera.

En el microscopi òptic, com el que es pot observar a la **Figura 7**, la formació d'imatges es produeix en el pla d'imatge intermedi a través de la interferència entre la llum directa que ha passat a través de la mostra sense alterar i la llum difractada per les característiques presents a la mostra. La imatge produïda per una lent d'objectiu és conjugada amb la mostra, el que significa que cada punt de la imatge es troba geomètricament relacionat amb un punt corresponent a la mostra. Això significa que cada punt a la mostra, per tant, es troba representat per un punt corresponent de la imatge ^{19, 20}.



Figura 7. Microscopi òptic.

Aquesta tècnica es pot utilitzar per obtenir imatges òptiques de seccions molt primes com cultius cel·lulars i teixits, líquids i sediments. S'empra per anàlisis de mostres extretes del còs humà amb finalitat informativa sobre estats fisiològics i patològics o anomalies congènites, o per la comprovació del caràcter inofensiu o la compatibilitat amb receptors potencials, com per a la supervisió de mesures terapèutiques ²¹.

4. Part experimental

4.1. Reactius

- Etanol, 96% v/v extra pur – Scharlau
- 2-propanol, 99,5% v/v – Scharlau
- Carbonat de sodi anhidre, 99,95%, extra pur – Sigma-Aldrich
- Reactiu Folin-Ciocalteu phenol – Sigma-Aldrich
- Aigua milli-Q
- Clorur d'alumini – Sigma-Aldrich

4.2. Mostres

4.2.1. Membranes

Les membranes utilitzades durant la realització d'aquest projecte van ser preparades, mitjançant el mètode d'inversió de fases, en el treball de fi de màster de Monika Hapońska, al Centre Tecnològic de la Química de Catalunya, Tarragona ¹⁴. Posteriorment, aquestes membranes va ser modificades mitjançant la tècnica de deposició capa a capa (*layer-by-layer deposition*) amb un assemblatge orgànic de 10 capes de poli (àcid acrílic)/bicapes de polietilenimina ramificada en cooperació amb el grup d'investigació del Prof. Giulio Malucelli a la Universitat Politècnica de Torí, Itàlia ²².

Es va disposar d'un total de nou membranes de PVDF modificades les quals es van formar mitjançant el mateix mètode però a diferents condicions. A la taula següent (**Taula 1**) es mostra quina temperatura del bany i quin polímer es va utilitzar en cada cas ¹⁴:

Taula 1. Polímer i temperatura del bany de coagulació utilitzats per la síntesi de cada membrana.

Codi membranes	Nom polímer	Pes molecular (Da)	Temperatura bany coagulació (°C)
M1	Solef 1015	570,000-600,000	20
M2			40
M3			60
M4	Solef 6010	300,000-320,000	20
M5			40
M6			60
M7	Solef 6020	670,000-700,000	20
M8			40
M9			60

La modificació per deposició capa a capa es va fer a totes les membranes per igual, consistent en 10 capes de poli (àcid acrílic)/bicapes de polietilenimina ramificada ²².

4.2.2. Té de Mursalitsa i nyora

En el cas de les mostres utilitzades a l'extracció de polifenols per la posterior concentració amb membranes, es va utilitzar el té de Mursalitsa provinent de Bulgària (**Figura 8**) i nyora de la marca Hacendado (**Figura 9**).



Figura 8. Té de Mursalitsa de Bulgària.



Figura 9. Nyora Hacendado.

4.3. Caracterització de membranes

Per tal de caracteritzar les membranes de PVDF modificades es van utilitzar diferents tècniques per estudiar la seva superfície, morfologia i permeabilitat. Les tècniques emprades van ser la nanofiltració, la microscòpia electrònica de rastreig ambiental (ESEM) i l'angle de contacte.

4.3.1. Nanofiltració

La nanofiltració es va duu a terme per tal de comprovar la permeabilitat de cadascuna de les nou membranes.

Es va utilitzar un aparell de nanofiltració d'acer inoxidable amb un mòdul de disc de membrana de 5 cm de diàmetre a nivell de laboratori, fabricat a l'Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Química (ETSEQ) de la Universitat Rovira i Virgili situada al Campus Sescelades de Tarragona, el qual es mostra a la **Figura 10**.

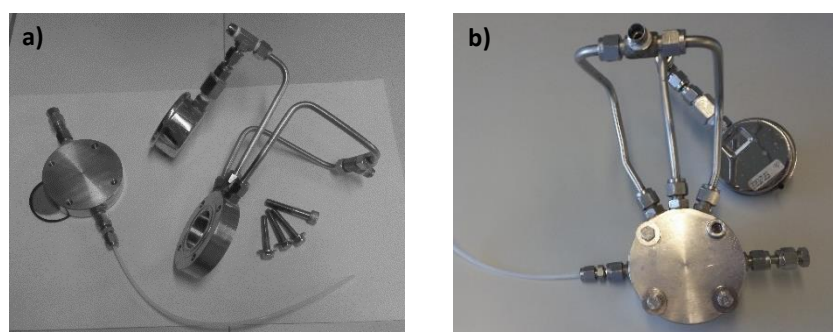


Figura 10. Mòdul de nanofiltració a) desmuntat i b) muntat.

El suport utilitzat per donar resistència a la membrana i evitar el seu trencament prematur va ser el suport Hollytex (**Figura 11**). El suport Hollytex és una làmina de fibres de polièster de filament continu, compactat per un procés que implica l'aplicació simultània de calor, pressió i tensió.



Figura 11. Suport Hollytex.

Els filaments disposats en una estructura a l'atzar i la seva compactació li donen una excepcional combinació de propietats físiques. Entre les propietats que presenta es troben una elevada resistència a la tracció i a l'esquinçament i una bona resistència química, especialment en àcids, agents oxidants i solvents ²³. Suporta temperatures fins

un 450 K i manté una bona estabilitat dimensional i resistència a la putrefacció i a la floridura. El suport Hollytex no conté resines, encolat o aglutinants ²⁴.

A la **Figura 12** es mostra el diagrama del muntatge utilitzat per la nanofiltració. En un principi, la solució del tanc d'alimentació (2) és transportada per la línia d'alimentació (3) fins a la cel·la de membrana (mòdul, 5) a través de la bomba de pistó (1) passant pel manòmetre 1 (4). El permeat, el qual creua la membrana, flueix fora de la cel·la per la línia de permeat (6) i la resta de la solució és transportada per la línia de rebuig (7) passant pel manòmetre 2 (8) per la línia de recirculació (10) fins al tanc d'alimentació. En la línia d'alimentació es disposa un dúmper (9), per esmorteir les fluctuacions de pressió.

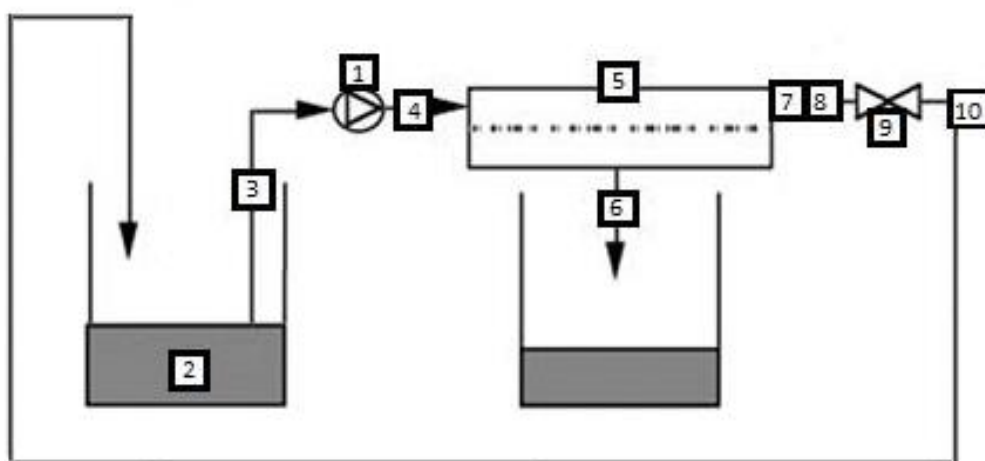


Figura 12. Diagrama del muntatge utilitzat per la nanofiltració.

Tots els tests de permeabilitat de les membranes modificades *layer-by-layer* ^{14, 22} es van realitzar amb el mateix procediment utilitzant etanol i isopropanol com a solvents ja que les membranes sense modificar havien estat caracteritzades amb aquests solvents. L'àrea de cadascuna de les membranes és de 0.02 m². Les condicions de treball, com la pressió i la temperatura dels líquids, van ser controlades durant tot el procés dels experiments.

- Les membranes es van col·locar a la cel·la del mòdul amb la part activa (**Figura 13**), la cara de la membrana a la qual s'havia fet la modificació, cap a l'alimentació. Es va utilitzar un tros de membrana pels dos solvents, ficant-los al tanc d'alimentació, respectivament.



Figura 13. Membrana col·locada al mòdul amb la part activa cap a l'alimentació.

- Per tal d'estabilitzar el sistema, el procés es fa fer funcionar durant 15 minuts sense pressió.
- Després d'aquest temps, el sistema es va fer funcionar amb una pressió de 5 bars fins arribar als 400 ml de permeat, anotant el temps cada 25 ml.
- Una vegada acabat el primer experiment amb etanol, la membrana es va deixar reposar al mòdul durant dues hores. Passat aquest temps i abans de començar l'experiment amb el nou solvent (isopropanol), el sistema es va netejar durant 5 minuts amb solvent nou.
- Després de cada experiment complet finalitzat (mateixa membrana amb els dos solvents), el mòdul va ser desmuntat i netejat abans d'utilitzar una nova membrana.
- El circuit es va netejar amb solvent nou cada vegada abans de començar un nou experiment.

4.3.2. Microscopi electrònic de rastreig ambiental (ESEM)

La superfície de les membranes va ser caracteritzada mitjançant la tècnica del ESEM. L'equip utilitzat va ser el microscopi electrònic de pressió variable i ambiental acoblat a la microanàlisi de Rx que es troba situat al Servei de Recursos Científics i Tècnics de la Universitat Rovira i Virgili al Campus Sescelades de Sant Pere i Sant Pau, Tarragona.

Per realitzar aquest anàlisi, es van tallar trossos petits, d'un centímetre aproximadament, de cadascuna de les membranes sense utilitzar i de les membranes que s'havien utilitzat a les nanofiltracions per fer els tests de permeabilitat amb etanol i isopropanol. Aquest trossos es van enganxar a uns suports amb una làmina de grafit i es van ficar al ESEM per analitzar la seva superfície. Allà, es van obtenir les imatges corresponents de cadascuna de les membranes.

A més, es va analitzar la secció de tall de les membranes al ESEM. També es van haver de tallar les membranes en trossos d'aproximadament un centímetre, però aquesta vegada el tall es va fer sota nitrogen líquid per aconseguir que la membrana estigués estàtica en el moment del tall. Els suports on s'havien de ficar les membranes també eren diferents, ja que aquesta vegada el que es volia observar no era la superfície sinó el tall.

4.3.3. Angle de contacte

Les membranes es van portar a l'angle de contacte per analitzar la seva tensió superficial. L'equip utilitzat va ser un OCA 15EC amb sistema de mesura automàtica de Neurtek Instruments, situat a l'Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Química (ETSEQ) de la Universitat Rovira i Virgili situada al Campus Sescelades de Tarragona.

Una vegada l'equip va estar preparat es va tallar un tros petit de cadascuna de les membranes i es van anar posant en portaobjectes per poder ficar-los sota l'agulla (**Figura 14**).

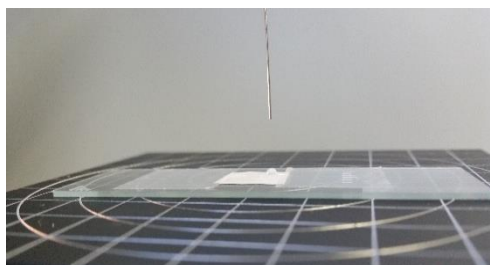


Figura 14. Membrana col·locada al portaobjectes sota l'agulla.

Es va fer caure una gota d'aigua milli-Q de 3 µm a cadascuna de les membranes per la part activa i per la part no activa. Cada experiment es va realitzar tres vegades. Es van enregistrar les imatges i es van anotar els angles de cada gota a cada experiment.

4.4. Concentració de polifenols del té de Mursalitsa i de la nyora

4.4.1. Extracció de polifenols del té de Mursalitsa i de la nyora

Per tal de poder concentrar els fenols i els flavonoides del té de Mursalitsa i de la nyora mitjançant la nanofiltració de membranes, primer es van haver d'extreure utilitzant un mètode estudiat i validat al laboratori del Centre Tecnològic de la Química de Catalunya, Tarragona.

4.4.1.1. Extracció de fenols i flavonoides

La tècnica utilitzada per l'extracció de fenols i flavonoides del té i la nyora va ser el bany d'ultrasons (Bany Ultrasons 1 Selecta).

Es van realitzar quatre extraccions amb una proporció 1:15 (mg/ml) ²⁵ amb etanol i isopropanol com a solvents per a la posterior nanofiltració del té de Mursalitsa i de la nyora. El té es va diluir 10 vegades i la nyora 8, per tal de que posteriorment les concentracions obtingudes no es sortissin de la recta de calibratge. Les extraccions es van fer al bany d'ultrasons durant 1 hora a temperatura ambient. Passat aquest temps, es van filtrar i es van emmagatzemar en recipients opacs per evitar el seu contacte amb la llum i un possible canvi en les seves propietats.

4.4.2. Detecció i quantificació de polifenols

4.4.2.1. Contingut de fenols totals

El contingut de fenols totals del té de Mursalitsa i de la nyora es va determinar mitjançant la tècnica de l'espectrofotometria, tan per les extraccions en etanol com en isopropanol. Es van posar 250 µl de mostra de l'extracció i 5 ml d'aigua milli-Q en un

vial i després, es van afegir 250 µl del reactiu Folin-Ciocalteu i es va agitar la solució. Passats 5 minuts, es van addicionar 4 ml d'una solució aquosa de Na₂CO₃ al 7,5 %.

Es va seguir el mateix procediment per les quatre extraccions, per les extraccions de fenols del té en etanol i isopropanol i per les de la nyora en tots dos solvents, també.

Les mostres preparades es van mantenir dues hores a la foscor i després es va mesurar la seva absorbància a 765 nm amb l'espectrofotòmetre Spectronic Genesys 5 de l'Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Química (ETSEQ) de la Universitat Rovira i Virgili situada al Campus Sescelades de Tarragona. Es van fer tres mesures de cadascuna de les mostres, utilitzant el solvent adequat en cada cas per fer el blanc, i els resultats es van calcular posteriorment com a equivalents d'àcid gàl·lic, utilitzant una recta de calibratge ²⁵.

La recta de calibratge utilitzada havia estat abans preparada al laboratori utilitzant solucions estàndard d'àcid gàl·lic amb concentracions entre 0.03 i 0.25 mg/ml. A la **Figura 15** es mostra la recta de calibratge que es va utilitzar i a la **Taula 2** es poden veure els valors de les dades d'aquesta recta.

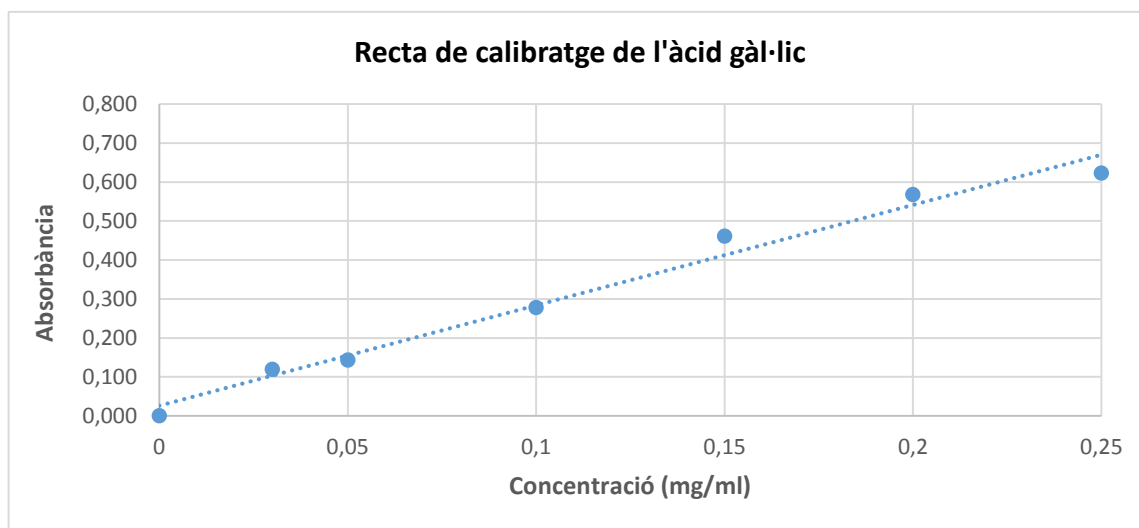


Figura 15. Recta de calibratge amb solucions estàndard d'àcid gàl·lic.

Taula 2. Dades de la recta de calibratge d'àcid gàl·lic.

Reactiu	Recta (y)	R ²
Àcid gàl·lic	2.5781x + 0.0258	0.9817

4.4.2.2. Contingut de flavonoides totals

El contingut de flavonoides totals del té de Mursalitsa i de la nyora també es va determinar mitjançant la tècnica de l'espectrofotometria, tan per les extraccions en etanol com en isopropanol.

El procediment per fer les extraccions va ser igual per a totes. Es van posar 2 ml de la mostra en un vial i es van addicionar 2 ml d'una solució de AlCl_3 al 2 % en etanol o isopropanol, depenent del solvent que s'havia utilitzat durant l'extracció ²⁵.

Les mostres preparades es van mantenir una hora a la foscor i després es va mesurar la seva absorbància a 420 nm amb l'espectrofotòmetre Spectronic Genesys 5 de l'Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Química (ETSEQ) de la Universitat Rovira i Virgili situada al Campus Sescelades de Tarragona. Es van fer dues mesures de cadascuna de les mostres, utilitzant el solvent adequat en cada cas per fer el blanc, i els resultats es van calcular posteriorment com a equivalents de quercetina, utilitzant una recta de calibratge ²⁵.

La recta de calibratge utilitzada havia estat abans preparada al laboratori utilitzant solucions estàndard de quercetina amb concentracions entre 0.005 i 0.1 mg/ml. A la **Figura 16** es mostra la recta de calibratge que es va utilitzar i a la **Taula 3** es poden veure els valors de les dades d'aquesta recta.

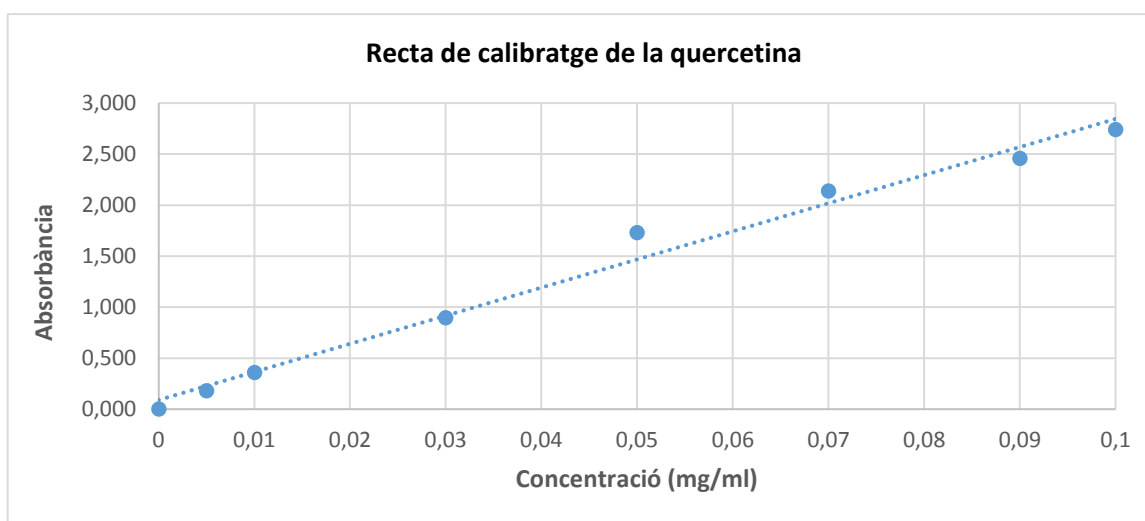


Figura 16. Recta de calibratge amb solucions estàndard de quercetina.

Taula 3. Dades de la recta de calibratge de quercetina.

Reactiu	Recta (y)	R ²
Quercetina	$27.555x + 0.089$	0.986

4.4.3. Concentració de polifenols mitjançant tecnologia de membranes

La tècnica utilitzada per concentrar fenols i flavonoides va ser la nanofiltració de membranes, emprant la membrana modificada que va donar millor resultats de permeabilitat.

El procediment a seguir va ser el mateix que es va duu a terme durant la caracterització de les membranes (apartat 4.3.1.), aquesta vegada només amb una de elles. L'objectiu era concentrar la solució de polifenols el doble, així que es va filtrar la meitat del volum (fins arribar a 250 ml de permeat), anotant el temps cada 10 ml. Es va utilitzar un tros de membrana per les dues extraccions del té (en etanol i isopropanol) i un altre per les de la nyora.

4.4.4. Quantificació de polifenols després de la concentració

Una vegada es van concentrar els polifenols presents en les extraccions del té i la nyora, es va quantificar la concentració de fenols i flavonoides de cada mostra i en els dos solvents.

El procediment que es va realitzar per la quantificació de fenols va ser igual que el que s'exposa a l'apartat 4.4.2.1. i es va duu a terme tant pel permeat com per la solució del tanc d'alimentació resultants de la nanofiltració.

De la mateixa manera, el procediment que es va realitzar per la quantificació de flavonoides va ser igual que el que s'exposa a l'apartat 4.4.2.2. i es va duu a terme tant pel permeat com per la solució del tanc d'alimentació resultants de la nanofiltració.

4.4.5. Microscòpia òptica

La membrana escollida per la nanofiltració va ser portada al microscopi òptic Leica DMS1000 situat al Servei de Recursos Científics i Tècnics de la Universitat Rovira i Virgili al Campus Sescelades de Sant Pere i Sant Pau (Tarragona) per obtenir imatges ampliades de la seva superfície.

Per aquest tipus de tècnica no es va necessitar fer cap pretractament de la mostra, així que es van col·locar les membranes sota l'objectiu del microscopi, es va escollir i enfocar la zona a visualitzar i es van enregistrar les imatges.

4.4.6. Angle de contacte

Després de fer la nanofiltració amb les extraccions del té i la nyora, també es va voler comprovar la tensió superficial que presentava la membrana 3 utilitzada per la concentració de polifenols. Així que, seguint el mateix procediment que s'indica a l'apartat 4.3.3., es va analitzar la cara activa de la membrana, abans i després d'utilitzar-la, però aquesta vegada amb els dos solvents emprats durant tots els experiments.

En aquest cas, també es van fer caure 3 μm de cadascun dels solvents i es van enregistrar les imatges.

5. Resultats i discussió

5.1. Caracterització de membranes

5.1.1. Nanofiltració de membranes

Els tests de permeabilitat es van portar a terme per les membranes modificades *layer-by-layer* utilitzant etanol i isopropanol com a solvents, respectivament. Es va estudiar la influència de la pressió i es va mesurar el temps per a volums definits de 25 ml, per tal de calcular el flux en cada cas.

A la **Figura 17** es mostren els resultats de permeabilitat de les membranes quan la nanofiltració es va fer amb etanol i a una pressió de 5 bars. Com es pot observar, al gràfic no apareixen les membranes 2, 4, 7, 8 i 9 i això es deu a que no va ser possible obtenir resultats ja que en augmentar la pressió a 5 bars, aquesta no pujava. Aquest fet pot ser degut a que el flux de permeat era ja molt elevat sense pressió i això no permetia un augment d'aquesta, evitant així que la nanofiltració es pogués duu a terme. Fent referència al gràfic, es veu clarament una diferència en quant a la permeabilitat de la membrana 3 amb la resta de membranes. Aquesta característica indica que la M3 és una membrana amb bones propietats per ser utilitzada per concentrar components amb la tècnica estudiada.

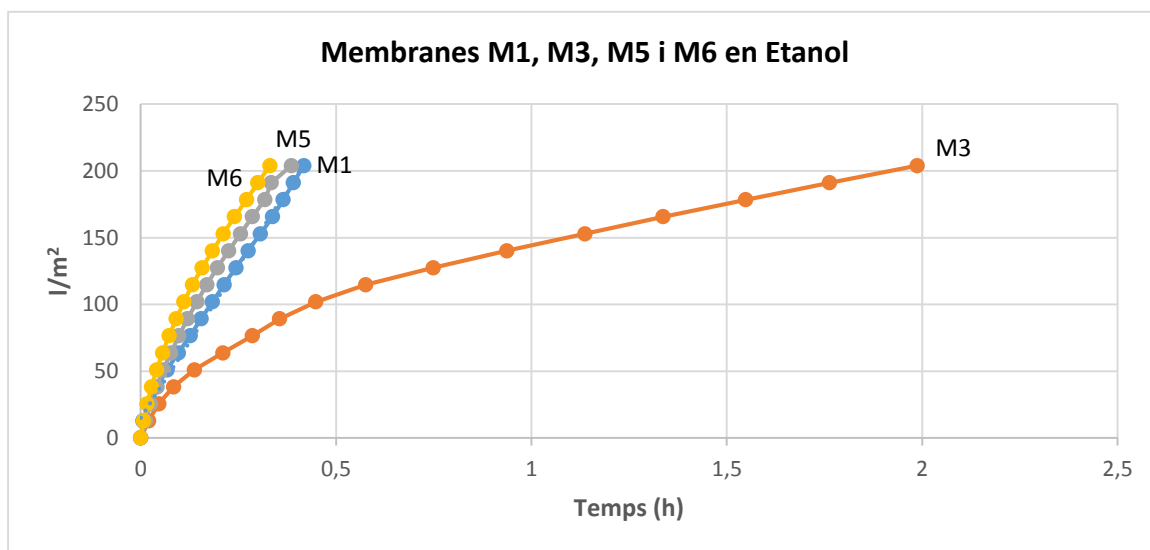


Figura 17. Permeabilitat de les membranes M1, M3, M5 i M6 en etanol.

Centrant-nos en les altres tres membranes, a la **Figura 18** veiem que la M1 presenta millors propietats de permeabilitat que la resta de membranes, ja que el temps d'obtenció del permeat és més elevat.

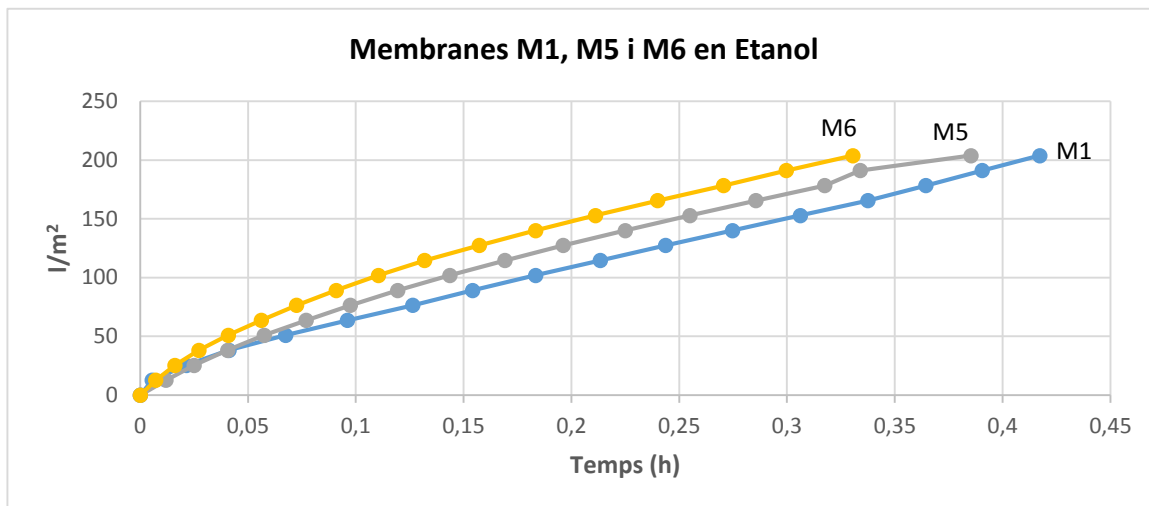


Figura 18. Permeabilitat de les membranes M1, M5 i M6 en etanol.

En el cas de les proves de permeabilitat amb isopropanol, podem observar els resultats de flux a una pressió de 5 bars a la **Figura 19**. Les membranes 2, 4 i 7 no apareixen al gràfic degut a la impossibilitat d'augmentar la pressió a 5 bars a conseqüència de l'elevat flux del permeat sense pressió. Fent referència al gràfic, també es verifica que la M3 amb isopropanol és una membrana que presenta unes bones propietats de retenció i possibilita el seu ús en tècniques de concentració.

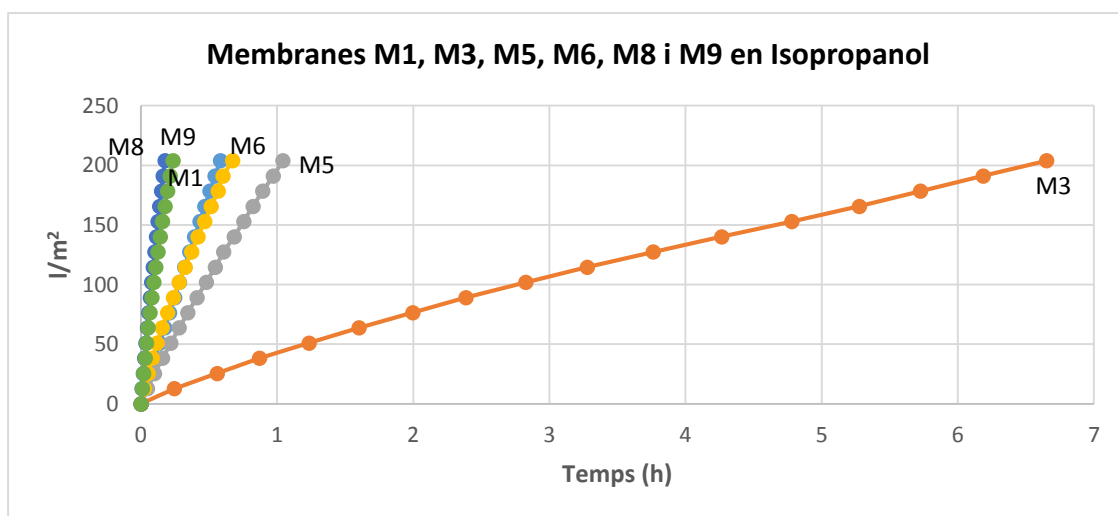


Figura 19. Permeabilitat de les membranes M1, M3, M5, M6, M8 i M9 en isopropanol.

Centrant-nos en les altres cinc membranes, a la **Figura 20** veiem que la M5 presenta una major permeabilitat que la resta de membranes.

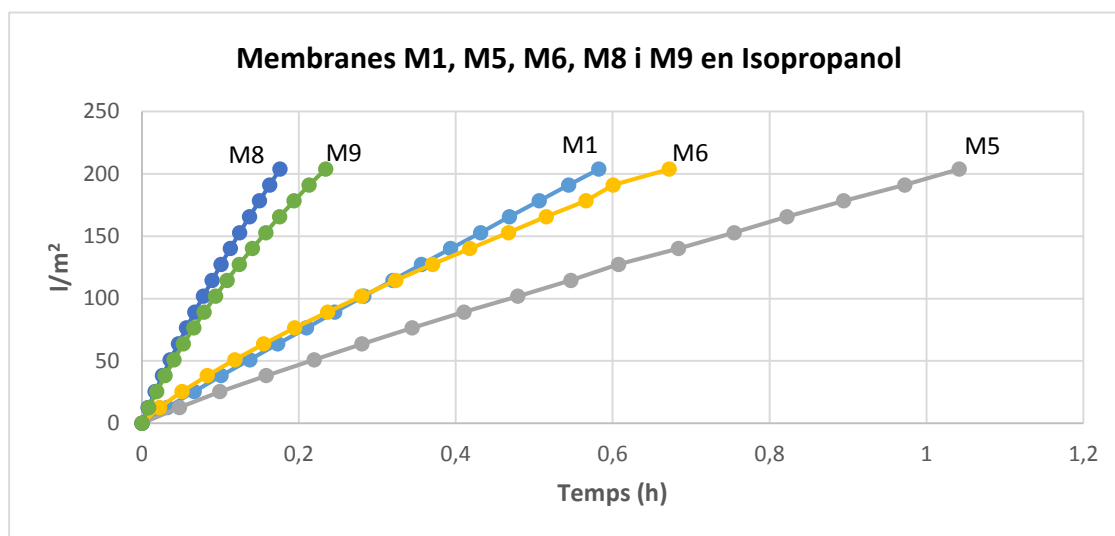


Figura 20. Permeabilitat de les membranes M1, M5, M6, M8 i M9 en isopropanol.

Per tal de comprovar si la tècnica de deposició capa a capa havia millorat les propietats de permeabilitat de les membranes s'han comparat els resultats obtinguts amb els obtinguts per les membranes no modificades ¹⁴.

La permeabilitat, mesurada com LMH, es va calcular per a cada experiment seguint l'equació següent:

$$J = V/A \cdot \Delta t$$

on V és el volum de permeat, A és l'àrea de la membrana i Δt és el temps de permeació.

A la **Taula 4**, es mostra com es van fer aquests càlculs per la membrana 6 posant el volum de permeat en litres, l'àrea de la membrana en m² i el temps de permeació en hores (LMH). Amb aquestes dades, va ser possible fer el càlcul de la intersecció de la recta i així obtenir els valors de permeabilitat.

Taula 4. Càlculs de permeabilitat (LMH) per la membrana 6.

Volum (ml)	Volum (l)	l/àrea	Temps (min)	Temps (s)	Temps (h)	LMH
0	0	0	0	0	0	0
25	0,025	12,74	0	26	0,00722	1764
50	0,05	25,48	0	58	0,01611	1581
75	0,075	38,22	1	38	0,02722	1404
100	0,1	50,96	2	27	0,04083	1248
125	0,125	63,69	3	22	0,05611	1135
150	0,15	76,43	4	21	0,07250	1054
175	0,175	89,17	5	27	0,09083	982
200	0,2	101,91	6	38	0,11055	922
225	0,225	114,65	7	55	0,13194	869
250	0,25	127,39	9	26	0,15722	810
275	0,275	140,13	11	0	0,18333	764
300	0,3	152,87	12	40	0,21110	724
325	0,325	165,61	14	24	0,24000	690
350	0,35	178,34	16	14	0,27055	659
375	0,375	191,08	17	59	0,29972	638
400	0,4	203,82	19	50	0,33055	617

Es va seguir el mateix procediment per calcular la permeabilitat de totes les membranes.

A la **Taula 5** es mostra la comparació sobre la permeabilitat de les membranes modificades i de les membranes no modificades amb els dos solvents ¹⁴.

Taula 5. Comparació de permeabilitat (LMH) de les membranes modificades i no modificades amb els dos

CODI	PERMEABILITAT EN ETANOL @ 5 BAR		PERMEABILITAT EN ISOPROPANOL @ 5 BAR	
	No modificades	Modificades	No modificades	Modificades
M1	371	436	131	303
M2	657	<i>Tested</i>	214	<i>Tested</i>
M3	10	124	24	32
M4	315	<i>Tested</i>	170	<i>Tested</i>
M5	86	593	42	203
M6	114	701	322	327
M7	56	<i>Tested</i>	52	<i>Tested</i>
M8	78	<i>Tested</i>	76	1216
M9	233	<i>Tested</i>	194	951

El terme *tested* vol dir que van ser provades però que no es van poder obtenir resultats per la impossibilitat d'augmentar la pressió a 5 bars. Tenint en compte aquests resultats, es pot observar que totes les membranes modificades han millorat la seva permeabilitat respecte a les no modificades i que utilitzant etanol com a solvent, la permeabilitat és més notable que amb isopropanol. També cal esmentar, que són les membranes 3 i 5 les que han patit una millora més notable, sent la 3 la més destacable.

5.1.2. Microscòpia electrònica de rastreig ambiental (ESEM)

La **Figura 21** mostra l'anàlisi de la superfície de les membranes 1, 2 i 3, sintetitzades amb el polímer Solef 1015, que es va realitzar per ESEM a 100x augments per les membranes modificades i després de la filtració i es compara amb les no modificades

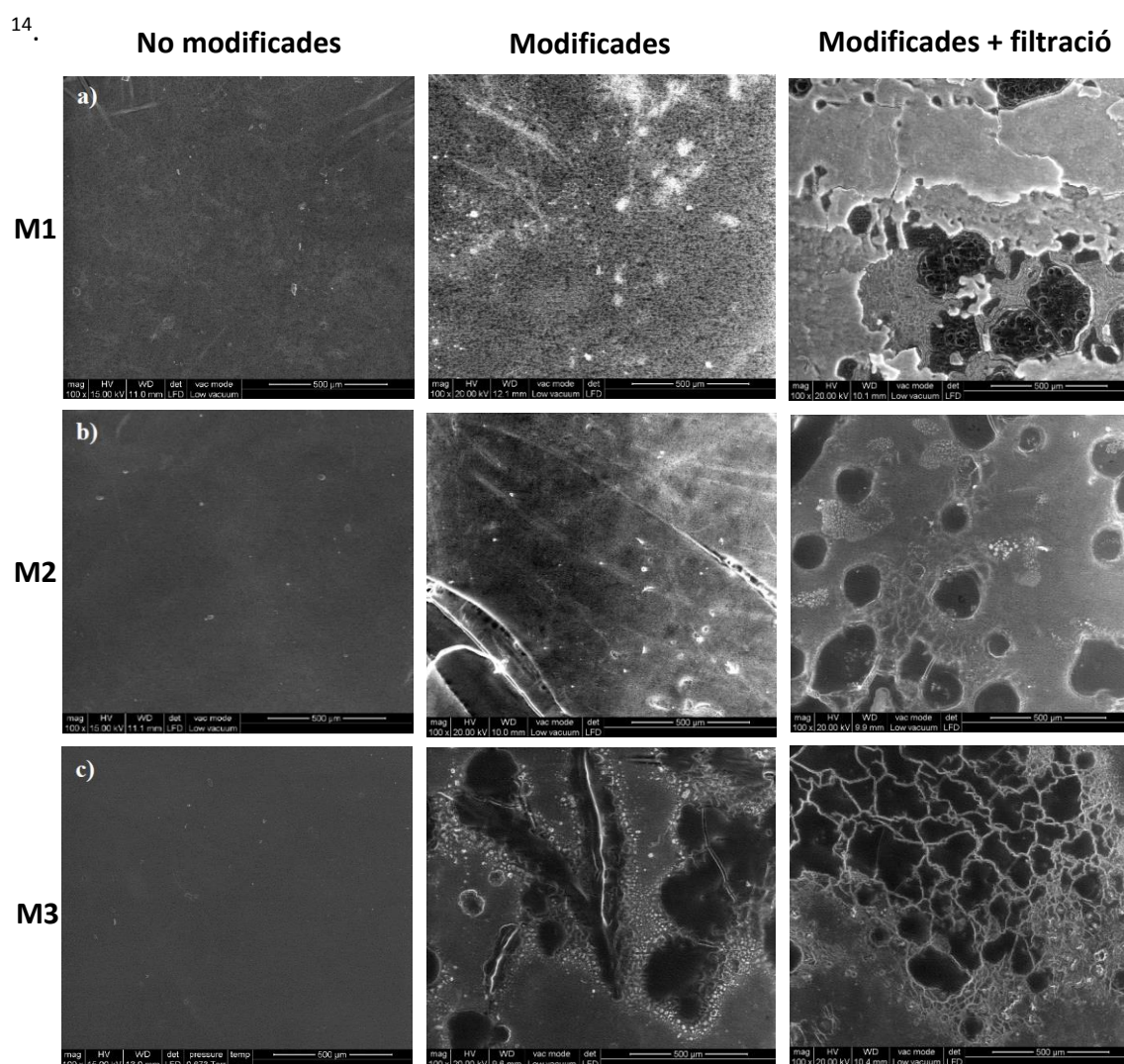


Figura 21. Comparació de la superfície de les membranes 1, 2 i 3 modificades i no modificades a), b), c) amb ESEM.

La **Figura 22** mostra l'anàlisi de la superfície de les membranes 4, 5 i 6, sintetitzades amb el polímer Solef 6010, que es va realitzar per ESEM a 100x augments per les membranes modificades i després de la filtració i es compara amb les no modificades 14.

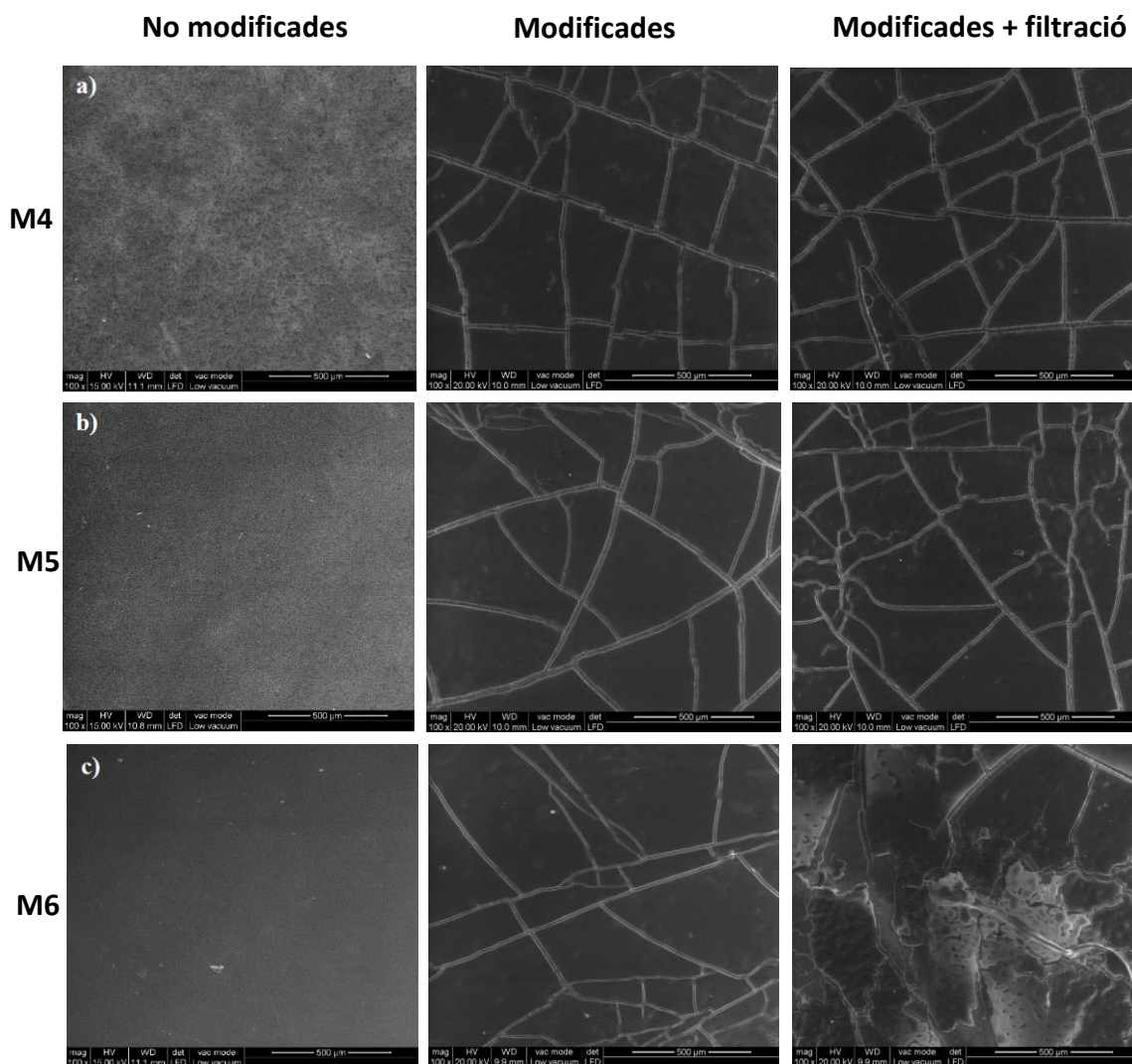


Figura 22. Comparació de la superfície de les membranes 4,5 i 6 modificades i no modificades a), b) i c) amb ESEM.

La **Figura 23** mostra l'anàlisi de la superfície de les membranes 7, 8 i 9, sintetitzades amb el polímer Solef 6020, que es va realitzar per ESEM a 100x augments per les membranes modificades i després de la filtració i es compara amb les no modificades 14.

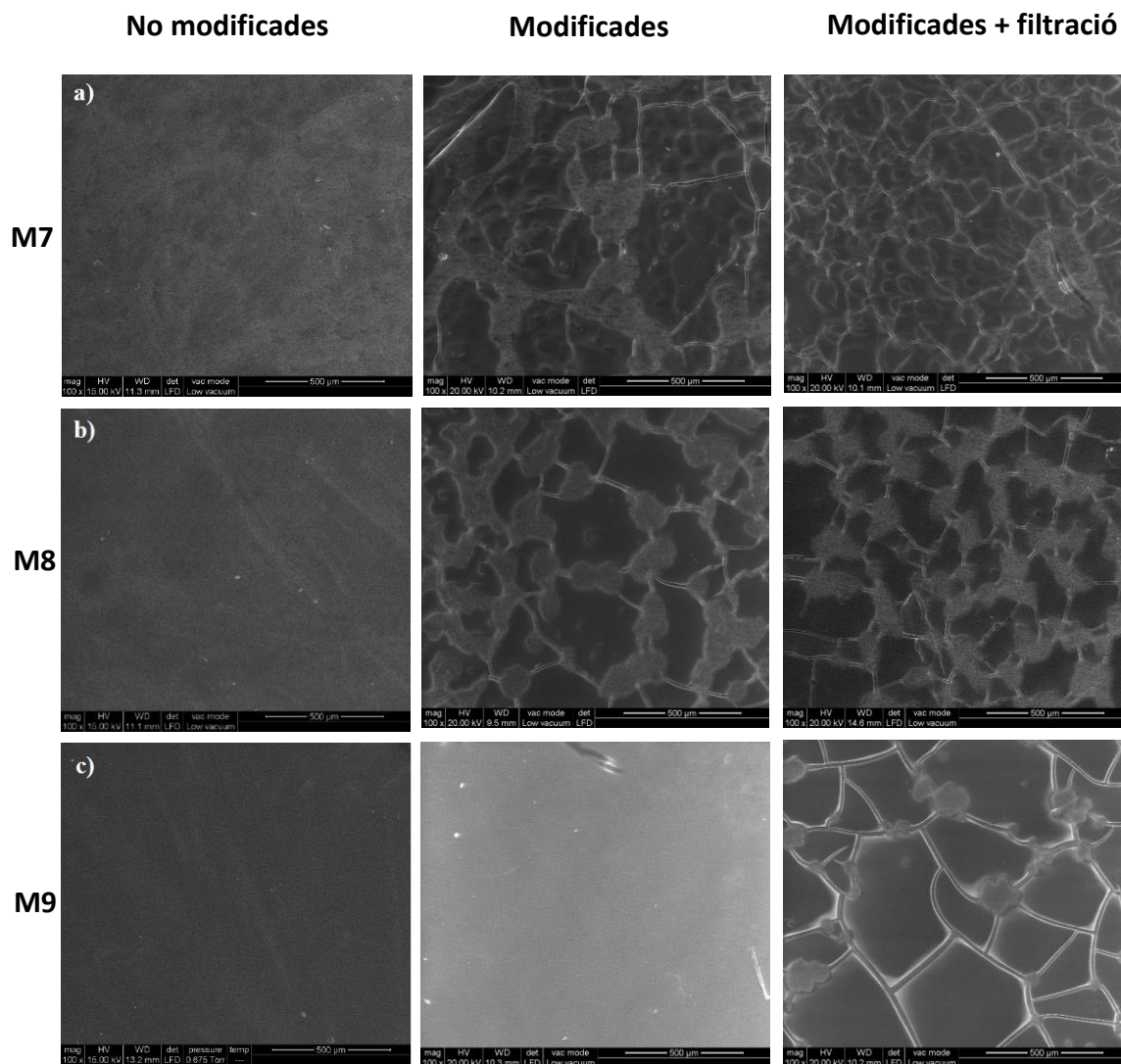


Figura 23. Comparació de la superfície de les membranes 7, 8 i 9 modificades i no modificades a), b) i c) amb ESEM.

Com es pot veure a les Figures 21, 22 i 23, la superfície de les membranes modificades és diferent de les no modificades degut a les capes de poli (àcid acrílic)/bicapes de polietilenimina ramificada que presenten les primeres. Amb l'ESEM també s'ha pogut comprovar que la superfície de les membranes varia quan es fa la nanofiltració amb diferents solvents. Com per exemple en el cas de les membranes 1, 2 i 3, on s'aprecia un augment en els seus porus. També es pot assumir, que algunes de les membranes no estaven en les condicions més òptimes ja que es veuen esquerdes a les micrografies (membrana 2, 4, 5 i 9) i per això no era possible pujar la pressió en alguna d'elles. S'observa que el porus de les modificades és major que el de les no modificades i això podria explicar l'augment de la permeabilitat.

També es va analitzar la superfície de tall de les membranes. A la **Figura 24**, **Figura 25** i **Figura 26** es mostren les micrografies obtingudes per cadascuna de les membranes modificades i es fa una comparació amb les no modificades ¹⁴. Les imatges es van realitzar a 500x augments.

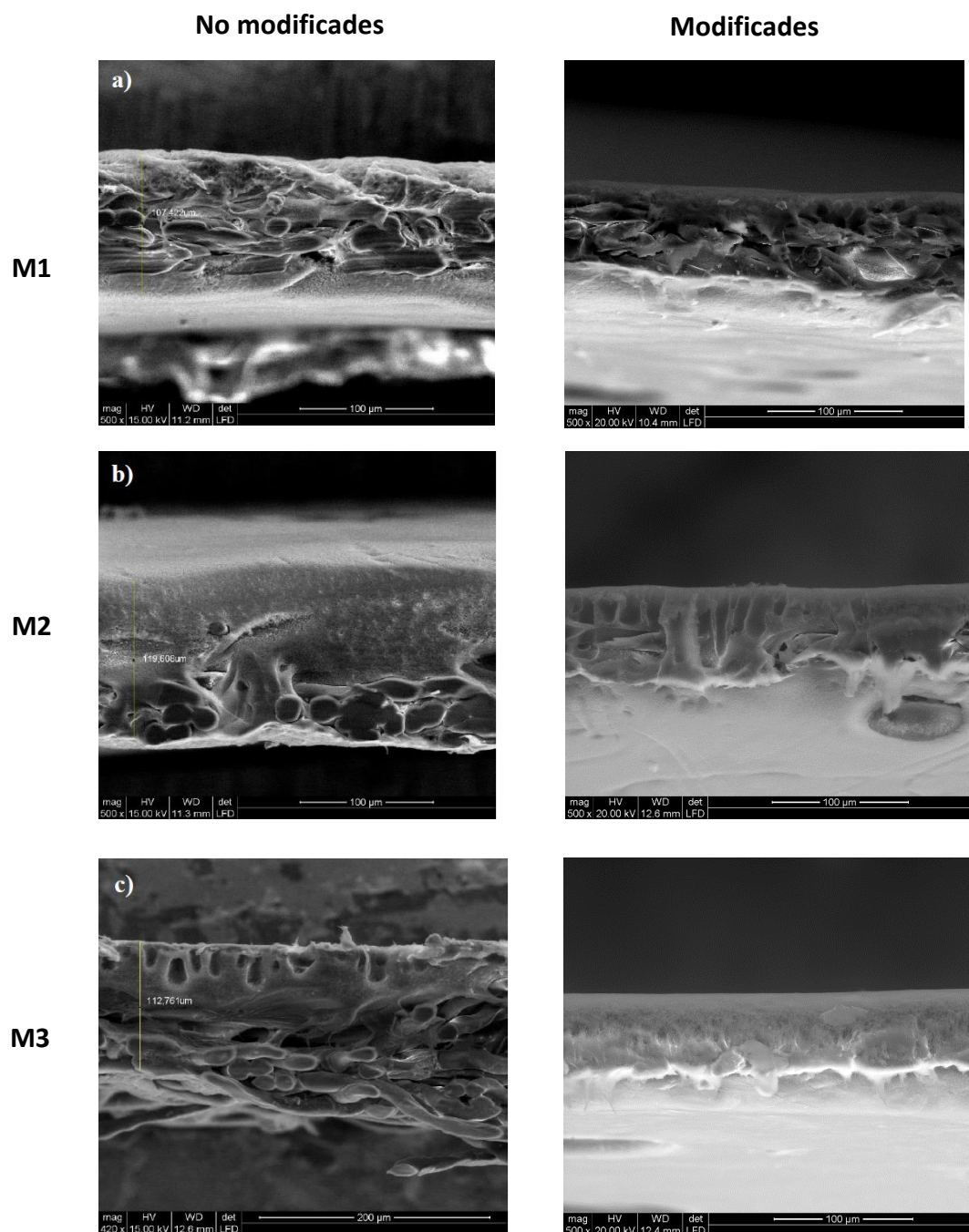


Figura 24. Comparació de la superfície de tall de les membranes 1, 2 i 3 modificades i no modificades a), b) i c) amb ESEM.

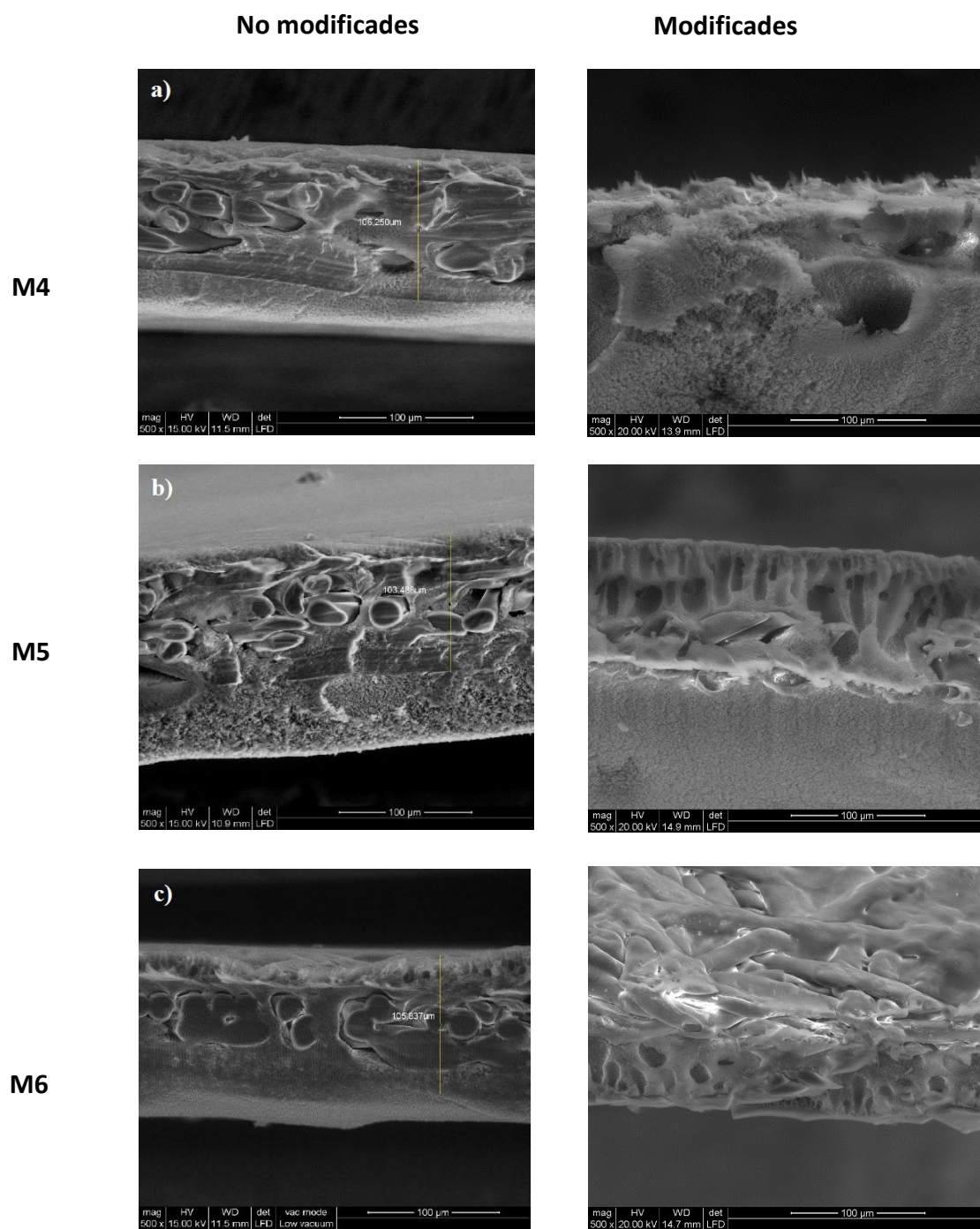


Figura 25. Comparació de la superfície de tall de les membranes 4, 5 i 6 modificades i no modificades a), b) i c) amb ESEM.

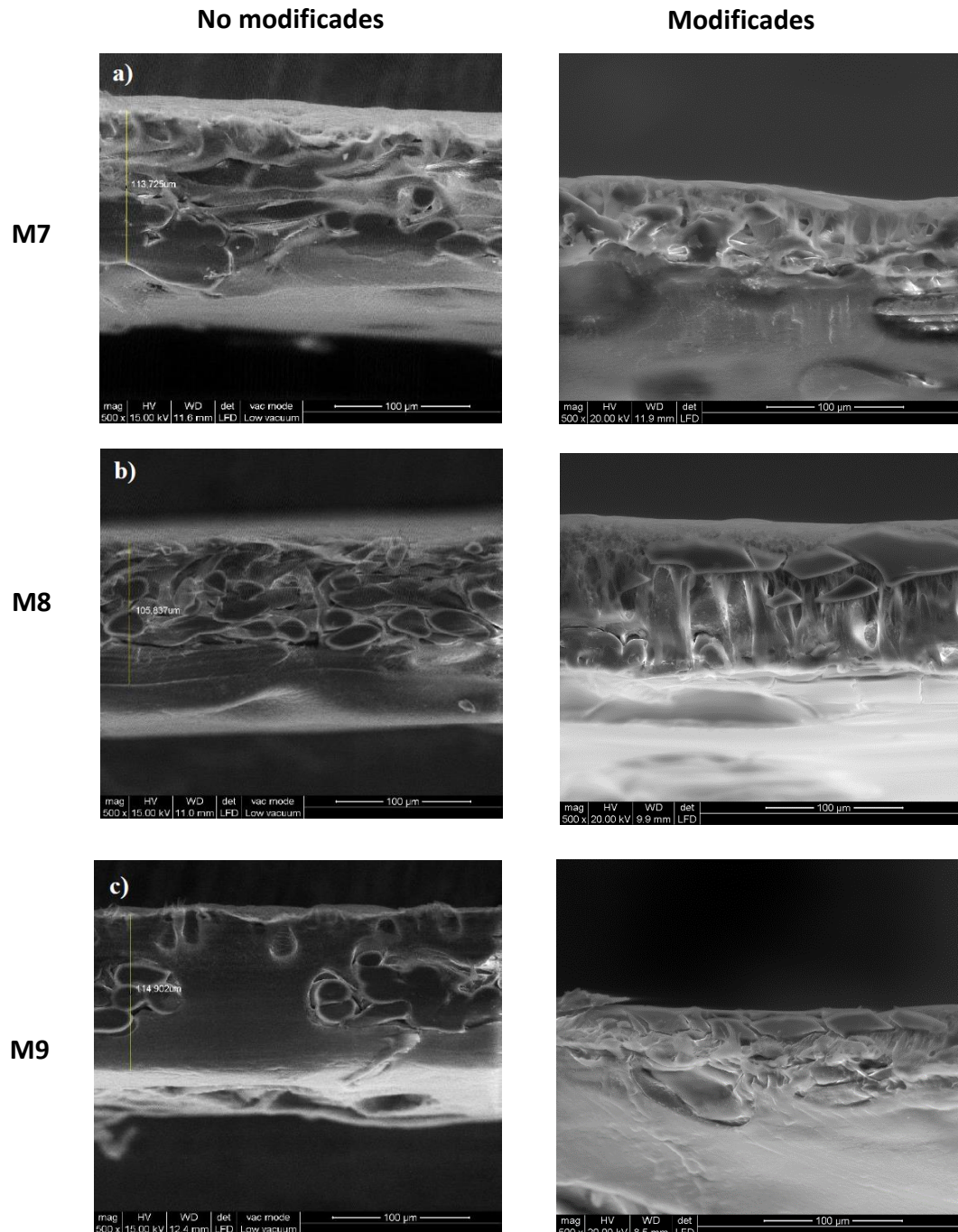


Figura 26. Comparació de la superfície de tall de les membranes 7, 8 i 9 modificades i no modificades a), b) i c) amb ESEM.

En aquestes tres figures (24, 25 i 26) es poden apreciar els porus de les membranes i en el cas de les modificades, és possible distingir la capa depositada per la tècnica de *layer-by-layer*. S'aprecia que la membrana 3 té un porus petit, el que podria significar ser útil per la concentració de components.

5.1.3. Angle de contacte

Es va analitzar la tensió superficial de cadascuna de les membranes. A la **Taula 6** es mostren els angles obtinguts tant per la cara activa com per la no activa.

Taula 6. Comparació de permeabilitat de les membranes modificades i no modificades amb els dos solvents.

	CARA NO ACTIVA		CARA ACTIVA	
	Esquerra (°)	Dreta (°)	Esquerra (°)	Dreta (°)
M1	132,8	132,3	57,1	59,2
	127,2	127,1	54,7	56,9
	124,6	124,9	64,6	67,2
	128,2 ± 4,2	128,1 ± 3,8	58,8 ± 5,2	61,1 ± 5,4
M2	110,6	113,6	56,5	53,9
	107,9	107,9	75,5	71,4
	104,6	102,4	72	70,7
	107,7 ± 3	108 ± 6	68 ± 10	65,3 ± 9,9
M3	63,6	68,9	67,9	64,2
	70,5	72,2	75,4	74,3
	101,3	100,1	69,4	69,3
	78,5 ± 20,1	80,4 ± 17,1	70,9 ± 4	69,3 ± 5,1
M4	107	107,3	64,2	67,6
	113	112,7	62,7	60
	117,7	118,7	59,6	57,8
	112,6 ± 5,4	112,9 ± 5,7	62,2 ± 2,3	61,8 ± 5,1
M5	119,4	120,1	63,9	63,4
	107,5	106,8	65,3	64,4
	138,1	138,1	42	44,8
	121,7 ± 15,4	121,7 ± 15,7	57,1 ± 13,1	57,5 ± 11,0
M6	40,6	42	70,7	72,8
	33,6	32,6	78,1	73,8
	36,2	36,2	77	75
	36,8 ± 3,6	36,9 ± 4,7	75,3 ± 4,0	73,9 ± 1,1
M7	97,5	97,5	70,2	68,9
	114,3	115,5		
	106,1	104,2	70,5	72,1
	106 ± 8	105,7 ± 9,1	70,4 ± 0,2	70,5 ± 2,3
M8	68,2	64,1	63,3	62,2
	78,4	74,7	61,8	59,7
	85,7	85,7	72,8	71,3
	77,4 ± 8,8	74,8 ± 10,8	66 ± 6	64,4 ± 6,1
M9	82,8	81	76,6	77
	95,1	93,5	85,3	86,1
	89,9	92,6	92,2	93,8
	89,3 ± 6,2	89,0 ± 6,2	84,7 ± 7,8	85,6 ± 8,4

Com es pot veure, la cara activa de totes les membranes presenta un angle més baix, el que significa que la modificació ha fet que les membranes siguin més hidrofíliques i que perdin hidrofòbia (són més permeables).

A la **Figura 27** es mostra amb imatges un exemple de la disminució de la hidrofòbia de les membranes després d'haver patit la modificació.

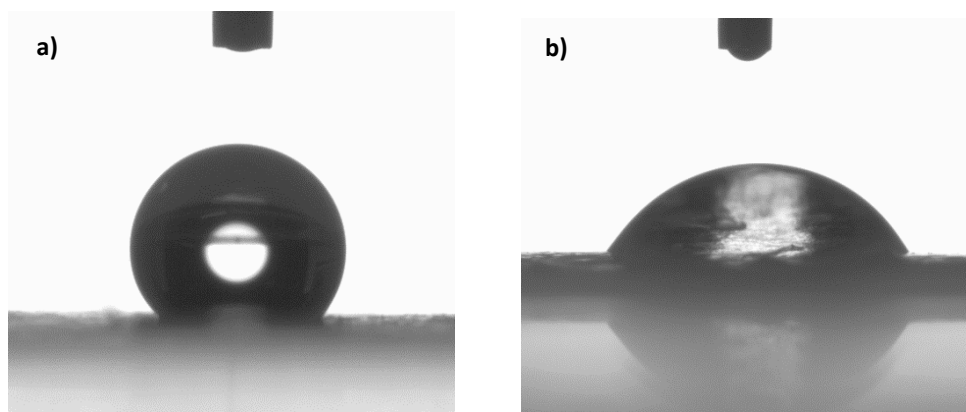


Figura 27. Comparació de la hidrofòbia de la a) cara no activa i de la b) cara activa de la membrana M1.

Així doncs, amb la tècnica de l'angle de contacte, s'ha pogut comprovar que la deposició de les capes de poli (àcid acrílic)/bicapes de polietilenimina ramificada fa que la hidrofòbia de les membranes disminueixi.

5.2. Concentració de polifenols del té de Mursalitsa i de la nyora

La membrana escollida per concentrar els polifenols del té Mursalitsa i de la nyora, va ser la membrana 3. Aquesta elecció es va fer tenint en compte els resultats obtinguts tant de les proves de permeabilitat i de l'angle de contacte, el temps de retenció va ser elevat i la hidrofília havia augmentat, com observant les imatges del ESEM, ja que es podien diferenciar bé les capes depositades, i va portar a pensar que seria una bona candidata per la retenció d'aquests components.

5.2.1. Nanofiltració de membranes

Els resultats de permeabilitat obtinguts de la nanofiltració amb la membrana 3 de l'extracció del té en etanol i isopropanol són els que es mostren a la **Taula 7**.

Taula 7. Dades de la permeabilitat de la M3 de l'extracció del té en etanol i isopropanol.

Extracció	Pendent	R ²
Té en etanol	306.35x	0.9758
Té en isopropanol	177.03x	0.9993

Els resultats de permeabilitat obtinguts de la nanofiltració de l'extracció de la nyora en etanol i isopropanol són els que es mostren a la **Taula 8**.

Taula 8. Dades de la permeabilitat de la M3 de l'extracció del nyora en etanol i isopropanol.

Extracció	Pendent	R ²
Nyora en etanol	533.18x	0.9619
Nyora en isopropanol	224.77x	0.9947

Observant aquestes taules, es pot veure que la permeabilitat (pendent) del té en etanol és inferior a la de la nyora al igual que en isopropanol. Això vol dir que l'extracció de nyora travessa molt més fàcilment la membrana que la del té.

5.2.2. Quantificació de polifenols abans i després de la concentració

El càlcul de les concentracions de polifenols del té i la nyora es va fer tant abans com després de la nanofiltració per tal de comprovar si la tècnica funcionava. Es van prendre mostres de les extraccions dels dos productes abans de la concentració i després, tant del permeat com de l'alimentació final.

5.2.2.1. Absorbància i quantificació de fenols

Les dades mitjanes d'absorbància obtingudes a l'espectrofotòmetre i les concentracions calculades del contingut de fenols en el té de Mursalitsa abans i després de la nanofiltració amb la membrana 3 i amb els dos solvents són les que es mostren a

la **Taula 9**. El càlcul de les concentracions, donat en mg de fenols en 1 g de té, es va fer utilitzant la recta de calibratge de l'àcid gàl·lic que es mostra a l'apartat 4.4.2.1. amb les absorbàncies reals. A la **Taula 10**, es mostren els mateixos resultats per la nyora.

Taula 9. Dades d'absorbància i concentració de fenols al té en etanol i isopropanol abans i després de la nanofiltració.

Extracció de té	Absorbància dilució	Absorbància real	Concentració (mg fenols/1 g té)
En etanol inicial	0.131 ± 0.001	1.313 ± 0.012	6.18 ± 0.07
En etanol permeat	0.124 ± 0.0006	1.24 ± 0.01	5.72 ± 0.03
En etanol alimentació final	0.138 ± 0.001	1.38 ± 0.01	6.53 ± 0.06
En isopropanol inicial	0.071 ± 0.001	0.707 ± 0.012	2.57 ± 0.07
En isopropanol permeat	0.053 ± 0.001	0.53 ± 0.01	1.58 ± 0.06
En isopropanol alimentació final	0.070 ± 0.001	0.70 ± 0.01	2.63 ± 0.07

S'observa un lleuger augment en la concentració dels fenols en el té, tant en etanol com en isopropanol, en la solució del tanc d'alimentació després de la nanofiltració. La concentració del permeat disminueix amb els dos solvents, el que indica que la concentració, encara que en una quantitat molt petita, s'està donant al tanc d'alimentació.

Taula 10. Dades d'absorbància i concentració de fenols a la nyora en etanol i isopropanol abans i després de la nanofiltració.

Extracció de nyora	Absorbància dilució	Absorbància real	Concentració (mg fenols/1 g nyora)
En etanol inicial	0.285 ± 0.002	0.571 ± 0.003	3.02 ± 0.02
En etanol permeat	0.293 ± 0.001	0.586 ± 0.002	3.11 ± 0.01
En etanol alimentació final	0.271 ± 0.002	0.543 ± 0.003	2.85 ± 0.02
En isopropanol inicial	0.144 ± 0.001	0.288 ± 0.002	1.38 ± 0.01
En isopropanol permeat	0.145 ± 0.002	0.290 ± 0.04	1.37 ± 0.02
En isopropanol alimentació final	0.155 ± 0.004	0.311 ± 0.007	1.50 ± 0.04

El mateix succeeix en el cas de la nyora, encara que en aquest cas, es produeix un petit augment en la concentració de fenols al permeat amb l'etanol i al tanc d'alimentació amb l'isopropanol.

5.2.2.2. Absorbància i quantificació de flavonoides

Les dades mitjanes d'absorbància obtingudes a l'espectrofotòmetre i les concentracions calculades del contingut de flavonoides en el té de Mursalitsa abans i després de la nanofiltració amb la membrana 3 i amb els dos solvents són les que es mostren a la **Taula 11**. El càlcul de les concentracions, donat en mg de flavonoides en 1 g de té, es va fer utilitzant la recta de calibratge de la quercetina que es mostra a l'apartat 4.4.2.2. amb les absorbàncies reals. A la **Taula 12**, es mostren els mateixos resultats per la nyora.

Taula 11. Dades d'absorbància i concentració de flavonoides al té en etanol i isopropanol abans i després de la nanofiltració.

Extracció de té	Absorbància dilució	Absorbància real	Concentració (mg flavonoides/1 g té)
En etanol inicial	0.458 ± 0.008	4.52 ± 0.08	2.01 ± 0.05
En etanol permeat	0.451 ± 0.002	4.51 ± 0.02	1.97 ± 0.01
En etanol alimentació final	0.451 ± 0.004	4.51 ± 0.04	1.97 ± 0.02
En isopropanol inicial	0.285 ± 0.002	2.85 ± 0.02	1.06 ± 0.01
En isopropanol permeat	0.280 ± 0.008	2.80 ± 0.08	1.04 ± 0.04
En isopropanol alimentació final	0.745 ± 0.001	2.73 ± 0.03	1.00 ± 0.02

S'observa que la concentració dels flavonoides del té no s'ha produït ni amb etanol ni amb isopropanol.

Taula 12. Dades d'absorbància i concentració de flavonoides a la nyora en etanol i isopropanol abans i després de la nanofiltració.

Extracció de nyora	Absorbància dilució	Absorbància real	Concentració (mg flavonoides/1 g nyora)
En etanol inicial	0.891 ± 0.002	7.12 ± 0.02	3.490 ± 0.009
En etanol permeat	0.871 ± 0.006	6.97 ± 0.02	3.41 ± 0.02
En etanol alimentació final	0.860 ± 0.003	4.51 ± 0.04	3.36 ± 0.01
En isopropanol inicial	0.796 ± 0.001	6.37 ± 0.01	3.079 ± 0.001
En isopropanol permeat	0.760 ± 0.002	2.80 ± 0.08	2.920 ± 0.009
En isopropanol alimentació final	0.745 ± 0.001	2.73 ± 0.03	2.857 ± 0.006

El mateix succeeix en el cas de la nyora, ja que es pot veure que no només no es produeix la concentració dels flavonoides sinó que les concentracions disminueixen, segurament degut a que part de la solució es va quedar pel sistema.

5.2.3. Microscòpia òptica

La superfície de la membrana 3 va variar després de fer la nanofiltració amb les extraccions de té de Mursalitsa i nyora. A la **Figura 28** i a la **Figura 29**, s'observa la seva aparença abans i després de ser utilitzada amb l'extracció de té i de nyora, respectivament.

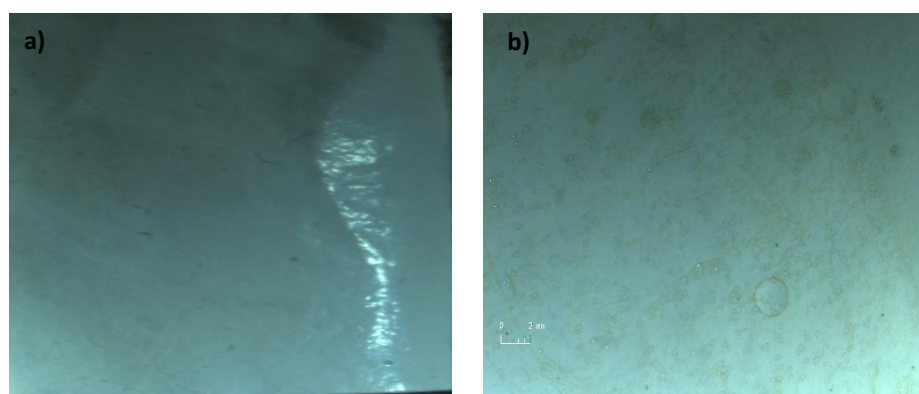


Figura 28. Imatge ampliada de la membrana 3 a) abans i b) després de la filtració amb l'extracció de té.

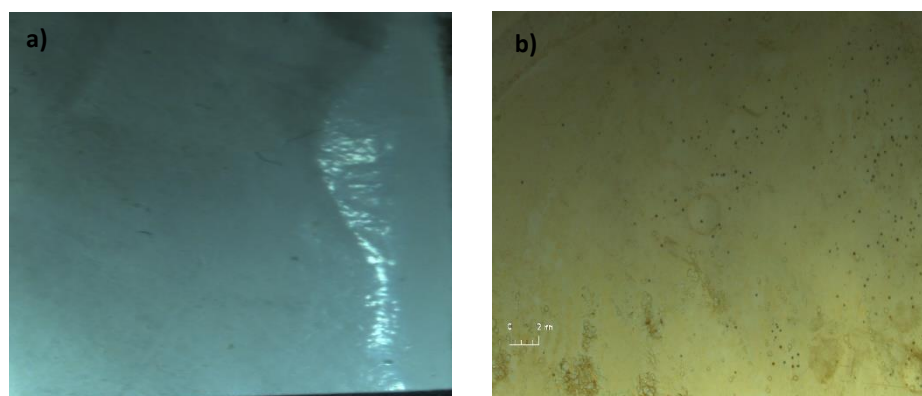


Figura 29. Imatge ampliada de la membrana 3 a) abans i b) després de la filtració amb l'extracció de nyora.

Es pot apreciar a que després de les dues filtracions la membrana ha quedat tacada i impregnada amb part de les solucions.

5.2.4. Angle de contacte

La tensió superficial de la membrana 3 també es va analitzar amb els dos solvents utilitzats durant tots els experiments. A la **Figura 30**, s'observa la forta propietat hidrofílica que presenta aquesta membrana tant per l'etanol com per l'isopropanol i explica la elevada permeabilitat en aquests dos solvents.

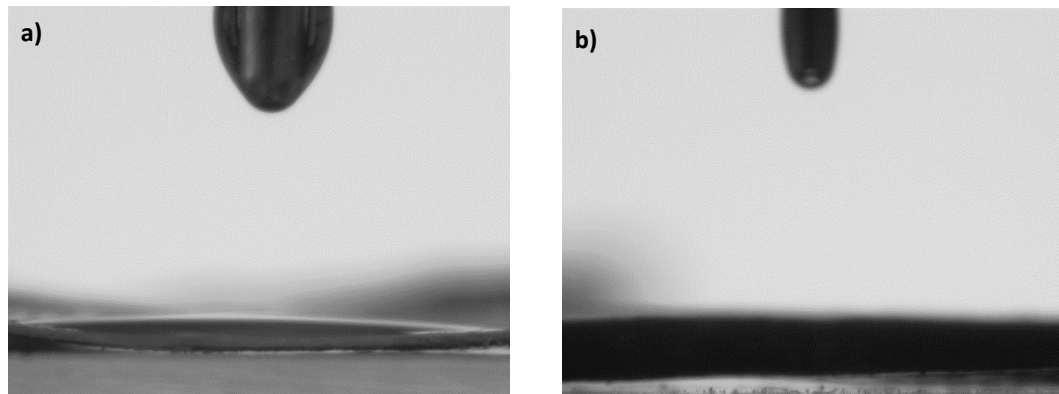


Figura 30. Imatge de la tensió superficial de la membrana 3 abans de la nanofiltració amb a) Etanol i b) Isopropanol.

6. Conclusions

- Layer-by-layer deposition technique has provided better hydrophilic properties to polyvinylidene fluoride membranes
- The permeability of these membranes is increased when ethanol is used as solvent
- The concentration of phenols Mursalitsa tea and spicy red pepper has been possible even in very small amounts of concentration. Instead, the concentration of flavonoids has not been successful, so far.

7. Bibliografia

- [1] Mohammad, A. W.; Teow, Y. H.; Ang, W. L.; Chung, Y. T.; Oatley-Radcliffe, D. L.; Hilal, N.; Nanofiltration membranes review: Recent advances and future prospects. *Desalination* [En línia] **2015**, 356, pp 226, DOI: 10.1016/j.desal.2014.10.043. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011916414005773> (data de consulta 24 de maig de 2016).
- [2] Raventós, M.; Duarte, S.; Docplayer, Tecnología de membranas. <http://docplayer.es/7225874-Tecnologia-de-membranas.html> (data de consulta 2 de maig de 2016).
- [3] Salehi, F.; Current and future applications for nanofiltration technology in the food processing. *Foods and Bioprod. Process.* **2014**, 92, pp 161-162. DOI: 10.1016/j.fbp.2013.09.005. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308513000965> (data de consulta 10 de maig de 2016).
- [4] Mulder, M. Introduction. En *Basic principles of membrane Technology: definition of a membrane*, 2; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht (The Netherlands), 1996; pp 12-14.
- [5] Mariano; Tecnología de los plásticos. <http://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2011/08/polifluoruro-de-vinilideno-pvdf.html> (data de consulta 2 de maig de 2016).
- [6] Presently available membranes for liquid separation. En *Membrane Technology in the chemical industry*, 2; Nunes, S. P.; Peinemann, K. Eds.; Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim (Germany), 2006; pp 26.
- [7] Ingraham, F.S.; Wooley, D. F.; Polyvinylidene fluoride. *Ind. Eng. Chem.* **1964**, 56 (9), pp 53-55, DOI: 10.1021/ie50657a007. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ie50657a007?journalCode=iechad> (data de consulta 2 de maig de 2016).

- [8] Quiñones, M.; Miguel, M.; Aleixandre, A.; Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp.* **2012**, *27*, 1, pp 76-89, DOI: 10.3305/nh.2012.27.1.5418.
- [9] Gimeno, E. C.; Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Elsevier: Offarm* [En línia] **2004**, *23*, 6, pp 81-82. <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508> (data de consulta 11 de maig de 2016).
- [10] Tabares, C. X. B.; *Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal*. Tesis doctoral. Universidad de la Laguna, Santa Cruz de Tenerife (España), 2007; pp 17.
- [11] Hussain, A. A.; Al-Rawajfeh, A. E.; Recent Patents of Nanofiltration Applications in Oil Processing, Desalination, Wastewater and Food Industries. *Recent Patents on Chemical Engineering* **2009**, *2*, pp 51. DOI: 10.2174/1874478810902010051.
- [12] *Nanofiltration: principles and applications*, 1; Schäfer, A. I.; Fane, A. G.; Waite, T. D., Eds.; Elsevier: Oxford (UK), 2005.
- [13] Goldstein, J.; Newbury, D. E.; Echlin, P.; Joy, D. C.; Romig Jr., D.; Lyman, C. E.; Fiori, C.; Lifshin, E.; *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis: a text for biologist, materials scientists, and geologists*, 2; Springer Science & Business Media: New York, 1996; pp 1.
- [14] Hapónska, M.; *Preparation and characterization of PVDF membranes*. Treball de Fi de Màster. Facultat de Química de la Universitat Adam Mickiewicz, Poznan (Polònia), 2014; pp 25-26.
- [15] Universitat Rovira i Virgili. Servei de Recursos Científics i Tècnics. Microscopi electrònic de rastreig ambiental (ESEM). <http://www.urv.cat/srct/serveis/esem.html> (data de consulta 3 de maig de 2016).
- [16] Díaz, C.; Evaluación de propiedades fisicoquímicas de sustratos. En *Adherencia y colonización de Pseudomonas fluorescens sobre sustratos sólidos: influencia de la topografía y composición química de la superficie*; Tesis doctoral. Universidad Nacional de la Plata: Facultad de Ciencias Exactas, Buenos Aires (Argentina), 2011; pp 88-89.

- [17] Webster, G. R. B.; Soxhlet and ultrasonic extraction of organics in solids. En *Encyclopedia of analytical chemistry: Applications, theory and instrumentation*, 1; Meyers, R. A. Eds; John Wiley & Sons: Canada, 2000; DOI: 10.1002/9780470027318.a0864.
- [18] Díaz, N. A.; Ruiz, A. B.; Reyes, E. F.; Cejudo, A. G.; Novo, J. J.; Peinado, J. P.; Meléndez-Valdés, F. T.; Fiñana, I. T.; *Espectrofotometría: espectres de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba.
- [19] Microscopy Resource Center. Olympus. Basic Concepts in Optical Microscopy. Section overview. <http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/anatomy.html> (data de consulta 18 de maig de 2016).
- [20] Microscopy Resource Center. Olympus. Image Formation. Section overview. <http://www.olympus-micro.com/primer/anatomy/imageformationhome.html> (data de consulta 18 de maig de 2016).
- [21] Leica Microsystems. Manual de instrucciones: Leica DMS1000. https://www.leica-microsystems.com/fileadmin/downloads/Leica%20DMS1000%20B/User%20Manuals/Instructions_Leica_DMS1000_B_ES.pdf. (data de consulta 18 de maig de 2016), pp 6.
- [22] Tylkowski, B.; Carosio, F.; Castañeda, J.; Alongi, J.; García-Valls, R.; Malucelli, G.; Giamberini, M.; Permeation behavior of polysulfone membranes modified by fully organic layer-by-layer assemblies. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2013**, 52, pp 16406-16413, DOI: 10.1021/ie402942g.
- [23] ConservationSupportSystems. Hollytex. <http://www.conservationsupportsystems.com/product/show/hollytex/liningfabrics> (data de consulta 15 de maig de 2016).
- [24] Barna Art. Lámina para conservación de papel Hollytex. <http://www.barna-art.com/lascaux-productos-de-conservacion/lamina-para-conservacion-de-papel-hollytex-rollo-de-25-m> (data de consulta 15 de maig de 2016).
- [25] Tsibranska, I.; Tylkowski, B.; Kochanov, R.; Alipieva, K.; Extraction of biologically active compounds from *Sideritis* ssp. L. *Food Bioprod Process* [En línia] **2011**, 89, pp 275, DOI: 10.1016/j.fbp.2010.10.004.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308510-001082> (data de consulta 20 de abril de 2016).