



Universidad de Valladolid
Campus de Palencia

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIERÍAS AGRARIAS

Titulación de Grado en Enología

**Estudio del sistema de diálisis para la
desalcoholización parcial de vinos blancos.**

Sergio de Huerta Merino

Tutor: José Ignacio Calvo Diez

Cotutor: Encarnación Fernández Fernández



Copia para el tutor/a

Junio de 2019

1.- Resumen.....	3
2.- Introducción.....	3
2.1.- Diálisis por membrana	5
3.- Objetivos.....	7
4.- Materiales y método.....	8
4.1.- Sistema de diálisis.....	8
4.2.- Membranas.....	8
4.3.- Vino.....	9
4.3.1.- Vino sintético.....	10
4.4.- Análisis	10
4.4.1.- Análisis in situ del contenido en alcohol del permeado.....	10
4.4.2.- Métodos de análisis en laboratorio.....	11
5.- Resultados.....	14
5.1- Pruebas preliminares.....	14
5.2.- Diálisis con vino real.....	15
5.3.- Resultados de los análisis químicos del vino.....	17
6.- Conclusiones	18
7.- Referencias.....	19

1.-Resumen:

El cambio climático es algo palpable y en gran medida influencia, igual que a otros cultivos muy necesarios, al cultivo de la vid. Uno de sus efectos es el desequilibrio de la maduración de las plantas haciendo que el contenido en azúcar de la uva aumente y consecuentemente, lo haga el grado alcohólico del producto final. Este problema de traspasa a los gustos actuales de las personas que prefieren vinos con menos grados. Este trabajo se basa en el estudio de varias membranas seleccionadas por el Grupo de Superficies y Materiales Porosos de la Uva (SMAP) para reducir el alcohol del vino mediante diálisis y analizar el impacto de este proceso sobre el vino. Tras seleccionar 3 membranas con diferentes grados de selectividad llegamos a la conclusión que la membrana de 2500 Da, aunque con menos selectividad que otras, es capaz de eliminar una mayor cantidad de alcohol, consiguiendo que químicamente el vino no sufra alteraciones en su composición que pueden resultar perjudiciales para el consumidor final.

2.- Introducción:

Las proyecciones climáticas disponibles actualmente indican que, si las emisiones de gases de efecto invernadero continúan al ritmo actual, podría darse en la península ibérica un notable aumento de las temperaturas medias y un descenso de las precipitaciones, unido también a un aumento de fenómenos climáticos extremos como sequías u olas de calor (Tonietto et al., 2012).

En conjunto, tanto el impacto que estas previsiones tendrán sobre los cultivos agrícolas, como el desafío que presenta la producción de vinos de calidad sujetos a los nuevos condicionantes relacionados con el cambio climático y con las alteraciones climatológicas en la época de cosecha se notarán, mayoritariamente, en el rápido crecimiento de la planta y en el desequilibrio de maduración (Duchêne et al., 2005).

A pesar de los reconocidos beneficios para la salud del vino (especialmente el vino tinto ha demostrado influencia en el retardo del envejecimiento o en la disminución del colesterol, entre otros efectos saludables) y de su amplia e histórica aceptación social, las bebidas alcohólicas han visto reducido su consumo debido a restricciones sociales (accidentes automovilísticos, comportamiento social más aceptable,...) y también por razones de salud, derivadas de los riesgos asociados a un consumo excesivo de bebidas con alcohol. En los últimos años, hay un cambio en las preferencias de los consumidores hacia los vinos ligeros y afrutados. Algunos estudios informaron que la eliminación parcial del alcohol del vino no altera sus propiedades beneficiosas para la salud, especialmente sus efectos antioxidantes y de protección cardiovascular, mientras que permite seguir disfrutando del placer asociado al vino de calidad. Consecuentemente, la industria del vino ha realizado considerables esfuerzos para reducir el contenido de alcohol en el vino y minimizar los efectos en las propiedades sensoriales del vino. Sin embargo, una calidad inferior percibida y un perfil sensorial son los principales impulsores que, según se informa, limitan el consumo de vinos con bajo contenido de alcohol (Saliba et al., 2013).

Para paliar los efectos comentados se pueden emplear técnicas de extracción de alcohol, de manera que se elimine del producto final parte del contenido alcohólico del vino resultante, acercándolo a los gustos y exigencias del mercado. De acuerdo con el

Reglamento CE 606/2009, la desalcoholización parcial de vinos tiene por objeto la obtención de un vino parcialmente desalcoholizado, mediante la eliminación de una parte del alcohol (etanol) del vino gracias a técnicas físicas separativas. Para realizar la desalcoholización se deben cumplir los siguientes requisitos:

- Los vinos tratados no deben presentar defectos organolépticos y deben ser aptos para el consumo humano directo.
- No se puede proceder a la eliminación del alcohol del vino, si se ha llevado a cabo una de las operaciones de aumento del grado alcohólico en uno de los productos vitivinícolas utilizados en la elaboración del vino considerado.
- La disminución del grado alcohólico volumétrico adquirido, no puede ser superior al 2 % vol y el grado alcohólico volumétrico adquirido del producto final se debe ajustar a la definición de vino

Posteriormente, la Organización Internacional del Vino (OIV) amplió estas resoluciones en el año 2010 basándose en estos objetivos:

- Permitir la elaboración de un vino con características organolépticas más equilibradas.
- Compensar los efectos de condiciones climáticas adversas, los efectos del cambio climático y remediar algunos defectos organolépticos.
- Ampliar el número de técnicas disponibles para elaborar productos más adaptados a las expectativas del consumidor.

Para cumplir estos objetivos se autorizan las siguientes técnicas, de entre las existentes basadas en procesos de membrana: microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración, contactores de membrana, ósmosis inversa y electromembranas (OIV, 2019).

La tecnología de membrana se ha utilizado ampliamente en diversos sectores industriales desde mediados del siglo XX (aunque nació como alternativa a procesos de separación convencionales a principios del siglo pasado) y poco a poco ha ido reemplazando en muchos casos de interés industrial a los procesos de separación convencionales debido a características interesantes como el bajo consumo de energía, la alta eficiencia y selectividad de la separación, el costo relativamente bajo, la facilidad de escalado (configuración en lotes más amplios para permitir el tratamiento de grandes cantidades de producto) y el menor tamaño comparativamente de las instalaciones necesarias (Ariono et al., 2017; Himma et al., 2016)

Es bien sabido que una membrana es una hoja delgada de material natural o sintético que cubre una superficie y es permeable a un cierto componente (o componentes) en la alimentación de partida. Esta definición tan ambigua, incluye muchas posibilidades, tanto en fase líquida como gaseosa, muchas de ellas se han ido desarrollando y encontrando aplicaciones emergentes en las últimas décadas del s. XX, continuando su pujante desarrollo en este siglo. Algunas de las principales tecnologías de separación de membrana incluyen la microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), ósmosis inversa (OI) y la nanofiltración (NF), entre las que se utilizan un gradiente de presión como fuerza impulsora. Pero además procesos basados en diferencias de potencial eléctrico, como la electrodiálisis (ED) o en potencial químico y presión de vapor, como la pervaporación (PV) (Wee et al., 2008).

Si nos ceñimos al mundo enológico, muchos son los procesos de membrana que se han aplicado en vinificación desde hace bastantes años. Algunos ejemplos son UF y MF en la clarificación de mosto de uva blanca, la concentración del contenido de azúcar en mostos mediante la NF (Campo et al., 2008) y OI (Rektor et al., 2006).

Relacionado con el objetivo de este trabajo se ha utilizado asimismo la NF en la reducción de contenido de azúcar en mostos, previamente a la fermentación, de forma que se obtengan vinos con menor contenido en alcohol. Este proceso ha sido ampliamente estudiado, (García et al., 2009; García et al., 2011; Salgado et al., 2014; Salgado et al., 2015) en el Grupo de Superficies y Materiales Porosos de la Universidad de Valladolid (SMAP) , en el seno del cual se ha realizado el trabajo experimental contenido en esta memoria.

Trabajos posteriores en esta línea, asimismo del SMAP, se orientaron a utilizar técnicas de separación por membranas para reducir el alcohol en vinos ya elaborados. En esta línea se inscriben varios Trabajos de Fin de Grado realizados en la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de Palencia (ETSIIAA), en colaboración con el SMAP, en los que se utilizó PV en combinación con NF (Sainz, 2017) o PV únicamente (Asensio, 2018) para lograr este objetivo.

2.1.- Diálisis por Membrana:

Sin embargo, en este estudio, nos hemos propuesto estudiar la aplicabilidad a la desalcoholización de una técnica de membrana distinta, como es la diálisis. La diálisis es una forma de filtración molecular. Es un proceso que separa moléculas de acuerdo con su tamaño, mediante el empleo de membranas semipermeables que contienen poros de dimensiones inferiores a las macromoleculares. Estos poros permiten que moléculas pequeñas, tales como las de los disolventes, sales y metabolitos pequeños, se difundan a través de la membrana, pero bloqueen el tránsito de moléculas mayores. La diálisis se emplea rutinariamente para cambiar el disolvente en el que se encuentran disueltas las macromoléculas. Estos procesos de diálisis se han comenzado a estudiar su uso en otros ámbitos industriales, como por ejemplo para desalcoholizar bebidas (Voet et al., 2006).

Hasta donde nosotros conocemos, no se han publicado trabajos experimentales sobre el uso de la diálisis para la desalcoholización de vinos, sin embargo, la técnica de desalcoholización por diálisis se ha probado a nivel experimental en la industria cervecera. Moonen y Niefind llevaron a cabo un estudio inicial sobre la desalcoholización de cerveza mediante el uso de procesos de diálisis utilizando una unidad piloto con una capacidad de 1500 l/h (Moonen et al., 1982). En la desalcoholización mediante diálisis, el etanol se elimina utilizando el principio de difusión selectiva a través de una membrana semipermeable. El alcohol se difunde a través de la membrana de la cerveza

al agua como resultado del gradiente de concentración entre ambas soluciones (ver Fig.1). Se sugirió que la diálisis

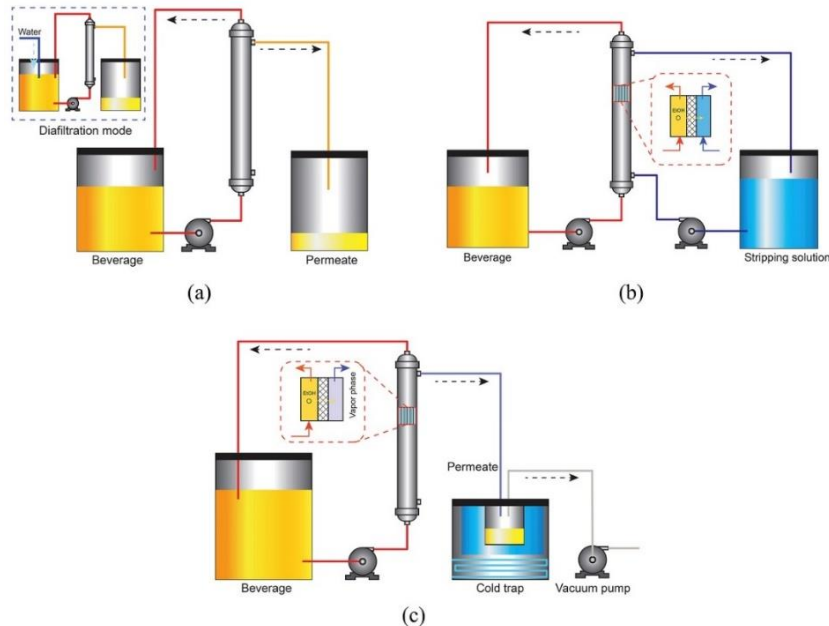


Fig.1 Proceso industrial de diálisis de una cerveza

debería operarse a una presión por encima de la presión de saturación de CO_2 , prácticamente sin diferencia con la presión transmembrana, y la corriente de agua está enriquecida con CO_2 para evitar la liberación de CO_2 (Mangindaan et al., 2018).

El proceso de diálisis generalmente se realiza a temperaturas bajas, en el rango de $1-6^\circ\text{C}$, eliminando de esta forma la carga térmica del producto. Las membranas de diálisis están compuestas de derivados de celulosa o de varios materiales sintéticos (por ejemplo, polisulfona, polietersulfona) y generalmente están dispuestas en haces de fibras huecas, conectada en un módulo adecuado. En las fibras huecas, la cerveza pasa a lo largo de las fibras, mientras que simultáneamente un líquido de dializado libre de alcohol fluye en sentido contrario a lo largo del lado exterior de la membrana (Attenborough et al., 1988; Donhauser et al., 1991)

El principio del flujo a contracorriente garantiza un alto gradiente de concentración entre el dializado y la cerveza en términos del contenido de alcohol para que se pueda obtener una difusión óptima. Para operar un módulo de diálisis es necesario aplicar algo de presión tanto en el lado de la cerveza como en el de diálisis, de lo contrario, la difusión se puede interrumpir por la liberación de dióxido de carbono. La presión aplicada debe ser al menos igual a la presión de saturación del CO_2 en la cerveza a una temperatura dada. Para minimizar aún más la pérdida de CO_2 , se recomienda agregar una pequeña cantidad de dióxido de carbono en el agua de diálisis. Esto también eliminará el riesgo de transferencia de oxígeno del dializado a la cerveza. También se debe prestar atención al contenido de sales inorgánicas (sodio, calcio, nitratos), que pueden concentrarse en el dializado durante la rectificación y luego pasar a la cerveza (Attenborough et al., 1988; Donhauser et al., 1991).

Leskošek y Mitrović estudiaron una optimización de la desalcoholización de cerveza. utilizando membranas de Cuprofa, donde la pureza y la permeabilidad del etanol como el producto principal fueron optimizados. La selectividad óptima se obtiene cuando se armoniza una velocidad media adecuada de cerveza para lograr un régimen hidrodinámico específico (Leskošek et al., 1994).

3.- Objetivos:

El objetivo de este Trabajo de Fin de Grado (correspondiente al Grado en Enología que se imparte en la ETSIIAA de Palencia) es la de estudiar el proceso de desalcoholización de un vino mediante el uso de un proceso de diálisis por membrana. El proceso se realizará en una célula de pequeñas dimensiones, en un sistema cerrado para ver los cambios sobre él y poder extraer conclusiones sobre la viabilidad e interés de dicho proceso como alternativa a métodos convencionales u otros métodos de membranas, que ya se han venido proponiendo para la desalcoholización parcial del vino. Estudios previos en el SMAP de la Universidad de Valladolid, llegaron a la conclusión de que reducir el alcohol de un vino mediante la reducción de la concentración de azúcares iniciales en el mosto por nanofiltración conlleva cambios importantes en la composición volátil del vino resultante, afectando a sus propiedades organolépticas, aspecto fundamental en la aceptación final del producto que debe ser preservado en cualquier proceso propuesto. Asimismo, el uso de otros procesos de membrana como la Nanofiltración combinada con Pervaporación (Sainz, 2017) o únicamente Pervaporación (Asensio, 2018), permitieron la extracción de una cantidad notoria de alcohol y la reincorporación de otras sustancias volátiles (entre ellas los aromas) de nuevo al vino con resultados interesantes pero que requieren mayor estudio para su optimización. Por todo ello resulta conveniente explorar otros procesos de desalcoholización.

Consecuentemente se propone como objetivo principal en este trabajo diseñar un sistema de diálisis por membranas, utilizarlo para la desalcoholización de un vino blanco experimental, todo ello con vistas a su posible aplicación para la desalcoholización de vino u otros fermentados a escala industrial.

Dentro del trabajo se estudiarán diferentes tipos de membranas con diferentes características que las hacen potencialmente útiles para un proceso de diálisis y se estudiará la eficiencia de dichas membranas en la eliminación de alcohol en un vino sintético obtenido a partir de una disolución patrón de alcohol en agua a las concentraciones deseadas. De esta manera se determinará la eficiencia de cada una de estas membranas y se elegirá la más adecuada para el proceso de diálisis.

Finalmente, para la membrana escogida, por presentar las mejores características de separación sobre el vino sintético, se realizará una filtración por diálisis usando en este caso un vino experimental y se compararán los resultados obtenidos sobre dicho vino experimental, desde un aspecto analítico, con el vino de partida. Dado que este estudio representa un paso previo a la aplicación del proceso, centrándose en la posibilidad de utilización del proceso, el volumen de vino dializado no será suficiente para poder estudiar los aspectos organolépticos del proceso, lo cual será objeto de un trabajo posterior que conduzca a una cantidad suficiente de vino filtrado y su comparación con el vino patrón.

4.-Materiales y métodos:

4.1.-Sistema de Diálisis:

Las experiencias de diálisis fueron realizadas en el laboratorio de Procesos de Membrana del Grupo de Superficies y Materiales Porosos (SMAP) de la Universidad de Valladolid, laboratorio situado en la Facultad de Ciencias (Campus Miguel Delibes).

El sistema de diálisis usado para nuestros experimentos estaba conformado por una pequeña celda de membrana (1) plana formada por dos semiceldas, entre las cuales se sitúa la membrana (2). La celda de membrana estaba conectada a sendos circuitos independientes mediante dos peristálticas (3) y (4), Eheim modelo 1048. Con ellas circulábamos (a contracorriente) los dos líquidos contenidos en sendos Erlenmeyer de 2 L de capacidad (5) y (6), de forma que los líquidos de ambos circuitos no estuvieran en contacto directo. Dichos líquidos estaban constituidos por agua destilada y el vino (sintético en las pruebas preliminares y vino experimental en la prueba definitiva). Finalmente, ambos Erlenmeyer fueron aislados mediante Parafilm® para evitar pérdidas de alcohol y así reducir el error experimental de la experiencia por la evaporación de este.

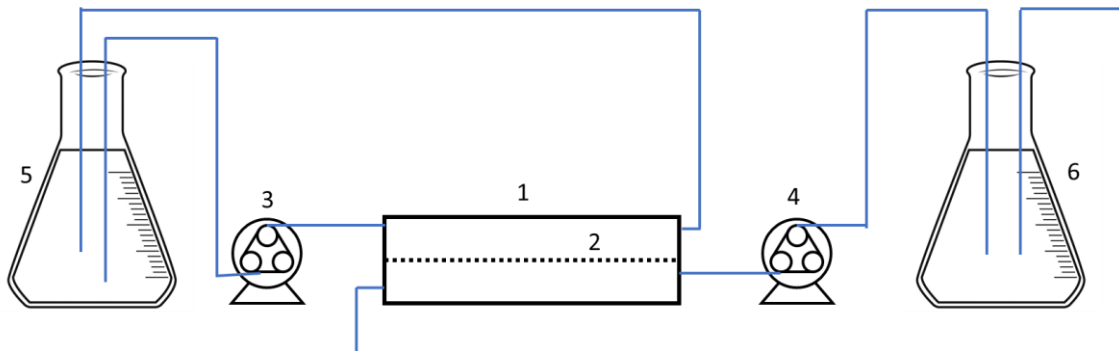


Fig. 2 Esquema del sistema de diálisis de membrana

4.2.-Membranas:

Durante el trabajo se probaron diversas membranas comerciales, buscando cual daba mejores prestaciones en el proceso de diálisis. A continuación, se describen las principales características de las tres membranas elegidas.

- SR3-TFC:

La primera que probamos es una membrana diseñada para ser utilizada primordialmente en NF, proceso que, como ya comentamos, funciona bajo un gradiente de presión. La separación obtenida se basa en el tamaño molecular y es principalmente aplicada en la eliminación de sustancias orgánicas, tales como microcontaminantes y sales multivalentes. Este tipo de membranas se usan habitualmente en industrias entre las que se incluyen alimentación, lácteos y bebidas, semiconductores, automoción, agua y residuos. Esta membrana funciona bien en nuestro rango de presiones (1 atm sin diferencia entre lados), temperatura de nuestro experimento (t^a ambiente) y el pH del vino (rango óptimo de 4 a 10). Además, otro punto crítico de esta membrana es que si el líquido que pasa por ella posee una turbidez de más de 1 NTU puede dar lugar a error en esta. Esta membrana está hecha de Poliamida, un material con alto grado de empaquetamiento, con este material se obtienen membranas con elevados valores de permeabilidad nos acerca al objetivo de conseguir nuevas membranas de UF con un buen balance en sus propiedades de permeabilidad-selectividad

- **NP030:**

Esta membrana también es ampliamente usada para procesos de nanofiltración pero en este caso es una membrana menos sensible al pH de la muestras (soporta un rango de 0 a 14), puede aguantar hasta 40 bares de presión diferencial y tiene más permeabilidad por lo que es menos selectiva. En este caso esta membrana está hecha de Polietersulfona, este material permite la fabricación de membranas, con propiedades reproducibles y controlables en cuanto al tamaño de los poros de hasta 40 nanómetros. Estas membranas pueden usarse en aplicaciones como la hemodiálisis, recuperación de las aguas residuales, procesamiento de alimentos y bebidas, y la separación de gases. Estos polímeros se utilizan también en las industrias automotriz y electrónica.

- **GH Series 2500:**

La que finalmente elegimos para nuestro experimento, es una membrana TFM (thin-film membrane) la cual tiene más porosidad y tiene más capacidad de pasar el alcohol de un medio a otro junto a otras sustancias por lo que es menos selectiva; en cuanto a sus características generales es una membrana totalmente apta para este tipo de experiencia, ya que puede aguantar presiones elevadas (aguanta unos 27 bar), el rango de pH es amplio (de 2 a 10) y es operativa hasta una temperatura de 50 °C.

En la tabla siguiente, Tabla 1, se resumen algunas características nominales de todas las membranas estudiadas. Dichos datos proceden de los fabricantes y se han reseñado tal cual estos los indican en sus respectivos catálogos.

Tabla 1. Características nominales de las membranas estudiadas.

Membrana	Fabricante	MWCO	Rango pH	Flujo típico L/m ² -hr	Max. Temp. °C
SR3-TFC	Koch	200	3-10	18,5	50
NP030	Mycrodyn Nadir	400	0-14	> 40	95
GH 2500	General Electric	2500	2-10	8-34 GFD	50

4.3.-Vino:

La materia prima utilizada en el experimento de diálisis fue un vino blanco experimental de la añada 2014 elaborado por estudiantes del Grado en Enología de la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias (ETSIAA), a partir de uvas procedentes de la variedad Verdejo. Se escogieron 4 botellas (2 a las que se aplicará el proceso de diálisis y otras 2 que servirán como vino testigo para comparar con el vino filtrado). Las cantidades de vino utilizado, si bien no permite la realización de catas y estudios organolépticos, sí que será suficiente para comprobar la adecuación del proceso diseñado y proponer el camino para su posible mejora y escalado a nivel industrial.

Para homogeneizar la muestra (recordemos que las botellas utilizadas procedían de un vino experimental por lo cual eran esperables ligeras diferencias entre las distintas botellas, a pesar de proceder de una misma añada, uva y parcela) se mezclaron todas las botellas en una lechera de 25 litros. Posteriormente se dejó reposar el vino unos días y se procedió de nuevo a embotellar el vino ya homogeneizado. Este período de reposo se hace necesario ya que los vinos de partida no habían sido filtrados tras su elaboración de forma que se buscaba eliminar posos u otros depósitos que pudieran ocasionar un bloqueo en la membrana y el peor funcionamiento del proceso.

4.3.1.- Vino sintético:

Previamente a la experiencia de diálisis con la membrana escogida, se realizaron, como ya se comentó, diversas pruebas previas con diversas membranas candidatas a dar resultados aceptables en un proceso de diálisis. Dichas pruebas se realizaron utilizando, en lugar del vino real (que se reserva para la experiencia definitiva, con la membrana escogida finalmente) un vino que podríamos denominar sintético, constituido por una disolución de alcohol en agua al 11%. Para esto usamos alcohol del 99% (Scharlab, calidad reactiva) y agua destilada. Este vino sintético se usó para probar la eficacia de cada membrana y la velocidad de extracción de alcohol de las mismas, a fin de determinar cuál de las tres membranas comerciales propuestas, nos daba mejores prestaciones en el proceso. Asimismo, nos ayudó a testear el diseño del dispositivo y comprobar si el sistema sufría pérdidas por absorción de alcohol en sus diferentes componentes.

4.4.- Análisis.

Como se ha comentado en los objetivos de este trabajo, la motivación última del trabajo experimental realizado, era la comprobación de la aplicabilidad del proceso de diálisis por membrana a la desalcoholización parcial de un vino blanco experimental. Para ello era necesario determinar, primordialmente, el grado de alcohol que el proceso sustraía del vino de partida. Esta determinación se hizo de forma precisa mediante los métodos analíticos que se comentarán en otro apartado posterior. Sin embargo, en el propio laboratorio, se hacía necesario una determinación aproximada de las prestaciones del proceso, de forma que pudiéramos saber a lo largo del mismo, si se iban cumpliendo los objetivos.

Para ello se utilizaron dos métodos complementarios, uno más impreciso, en el que tomábamos muestras a intervalos regulares del permeado y otro más preciso, que se utilizaba al final del experimento. A continuación, se describirán ambos procedimientos, utilizado durante las pruebas previas que nos permitieron elegir la membrana más adecuada.

4.4.1.- Análisis in situ del contenido en alcohol del permeado

Para medir el contenido de alcohol en el agua y la solución alcohólica usamos dos métodos aparte del que usaremos posteriormente en el laboratorio (ebullometría):

En primer lugar, para una determinación rápida (si bien menos precisa) del contenido en alcohol del permeado, utilizamos un refractómetro clásico de Abbe (PCE modelo ABBE-REF 1). Sobre el porta muestras de vidrio de la superficie óptica, previamente limpio y seco, depositábamos una gota del permeado (tomada a intervalos regulares del recipiente de permeado) y con la propia escala del equipo determinábamos el índice de refracción del líquido analizado. Dicho índice de refracción con ayuda de la tabla de conversión adecuada, nos permitía deducir el valor del contenido en alcohol de dicha muestra.

Para una mayor precisión del resultado final, este se determinó a partir de un refractómetro diferencial ATAGO modelo DD-5, mucho más preciso pero que por su mayor tiempo de medición, no nos permitía tomar muestras tan frecuentes, a fin de no interferir en los resultados del proceso.

Previamente a las medidas con el refractómetro diferencial, es necesario construir la recta de calibrado, con ayuda de la cual convertir las medidas de índice de refracción en contenidos en alcohol. Dicha curva de calibrado se construyó preparando una serie de muestras de diversas concentraciones, las cuales estaban formadas por la dilución a un volumen final de 100 mL, de diversos volúmenes de alcohol (99 %) en agua destilada. Posteriormente de cada una de estas muestras se extraía una pequeña cantidad cuyo índice de refracción se determinaba en el equipo. Los resultados de dicha calibración los tenemos en la tabla siguiente (Tabla 2):

Tabla 2: datos de calibrado del refractómetro diferencial

Recta Calibrado EtOH		
% EtOH (v/v)	V EtOH (mL)	Medida Refractómetro
0,5	0,5	0,026
1	1	0,060
1,5	1,5	0,090
2	2	0,128
2,5	2,5	0,155
3	3	0,196
3,5	3,5	0,222
4	4	0,260
4,5	4,5	0,294
5	5	0,340
5,5	5,5	0,374
6	6	0,415
6,5	6,5	0,434
Matraces de 100mL		

Posteriormente, los datos de la tabla se representaron en la siguiente curva de calibrado (recta en este caso) que nos permitirá conocer la concentración de alcohol para una medida dada del índice de refracción.

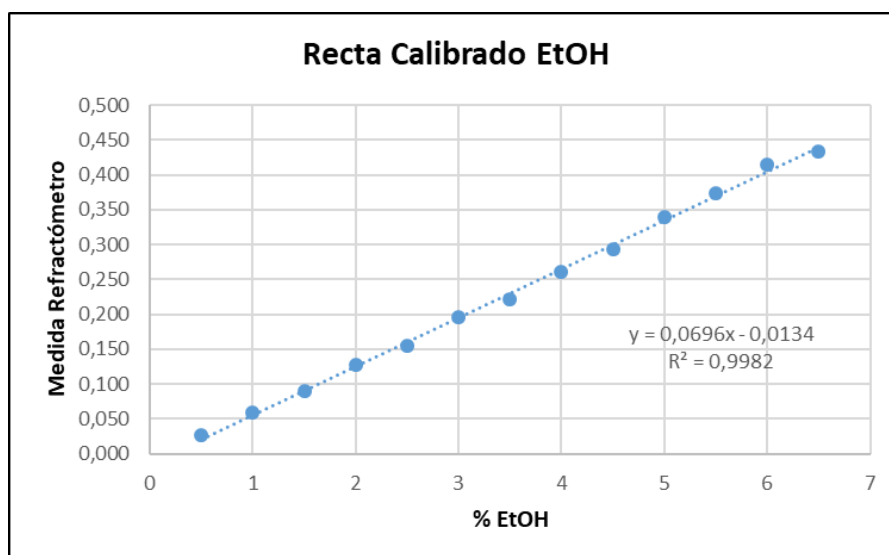


Fig.3: recta de calibrado del refractómetro diferencial

La recta de calibrado se realizó para concentraciones en alcohol hasta el 7%, ya que es el límite de medición de la máquina. Por ello en las medidas que luego se hagan sobre vinos reales o sintéticos, se realizarán tras dilución de la muestra a la mitad en agua destilada y así evitar que los resultados obtenidos se salgan de la escala.

4.4.2.- Métodos de análisis en laboratorio:

Una vez terminado el proceso de filtración, el retenido resultante (recordemos que el permeado consiste básicamente en agua con el alcohol extraído del vino tratado) así como el vino testigo fueron analizados en el Laboratorio de la ETSIIAA, a fin de determinar las diferencias existentes tras la diálisis para un conjunto de parámetros de interés.

A continuación, se comentarán brevemente los métodos de laboratorio usados para analizar el vino muestra y el vino filtrado, resultado del proceso de diálisis diseñado, a fin de comprobar si químicamente hay una diferencia palpable entre ambos vinos y, consecuentemente, poder decidir sobre el interés del método propuesto para su aplicación a gran escala en un posible proceso industrial de desalcoholización parcial del vino.

pH: La determinación del pH de los vinos se llevó a cabo con un pH-metro CRISON modelo Basic 20+. Para este análisis fue necesario también un vaso de precipitados de 150 mL.

Previamente a la medición del pH es necesaria la calibración del pH-metro (electrodo), para ello se utilizan dos tampones de referencia, uno a pH 4 y otro a pH 7. Para que la medida sea lo más exacta posible se debe medir a una temperatura de 20°C, por lo que se atemperaron tanto los vinos como los tampones.

Acidez total: Esta determinación se llevó a cabo por el método potenciométrico, para el cual se utilizó un pH-metro CRISON modelo Basic 20+, un vaso de precipitados de 150 mL, una bureta de 25 mL y una solución de NaOH 0.1N (previamente preparada a partir de una solución 1N).

Para llevar a cabo esta medición es necesario retirar el CO₂ de la muestra mediante centrifugación. Se toman 20 mL de vino en el vaso de precipitados y se introduce el electrodo del pH-metro, se va añadiendo NaOH hasta que el pH de la muestra alcanza un valor de 7 (pH neutro). Con el volumen de NaOH gastado se conoce la acidez total del vino (ácidos valorables de la muestra).

Acidez volátil: Se llevo a cabo con un volatimetro eléctrico de la marca GAB System, y se determinó dicha acidez por el método García Tena. Para este análisis fue necesario utilizar una bureta de 10 mL, fenolftaleína (previamente preparada) y una disolución de NaOH 0.01N (preparada a partir del NaOH 0.1N anterior)

Siguiendo el método García Tena, se colocan 11mL de vino en un matraz de destilación de 60 mL y lleva a ebullición. El destilado se recoge en dos probetas, la primera de 5.1 mL se desecha, la segunda de 3.2 mL se conserva para su posterior valoración. El método estima que en la primera fracción (5.1mL) están presentes los ácidos más volátiles que el ácido acético, en la segunda probeta (3.2mL) se estima que ha pasado 1/3 del ácido acético del vino.

Se valora la segunda probeta con los 3.2 mL de destilado con NaOH 0.01N, para ello se vierte el contenido en un vaso de precipitados de 25 mL y se añaden unas gotas de fenolftaleína.

Grado alcohólico: La medición del grado alcohólico es crucial en la determinación del éxito de este experimento. Por ello se realizaron determinaciones previas en el laboratorio de filtración como se ha indicado en el apartado previo y una determinación posterior más precisa en el laboratorio de la ETSIIAA. Esta determinación se llevó a cabo con un ebulómetro de la marca GAB System.

La determinación precisa del grado alcohólico del vino tanto del resultante como del testigo se llevó a cabo por ebulometría, para lo cual se toma una primera medida de la temperatura de ebullición del agua destilada, que se toma como referencia. Esta medida se lleva a una regla de cálculo móvil haciendo el cero con dicha temperatura. Se toma la medida con vino siguiendo el mismo procedimiento, habiendo vaciado el equipo de agua. Con el dato de la temperatura de ebullición del vino se obtiene el grado alcohólico del mismo.

Sulfuroso libre y total: Este análisis se llevó a cabo por el método Ripper sencillo, para lo cual se necesitó una bureta de 5 mL, un matraz Erlenmeyer de 100 mL, pipetas de 10, 5 y 1 mL, una solución de I₂ 0.02N, una solución de NaOH 1N, una solución de H₂SO₄ al 16% y almidón al 1%.

Para llevar a cabo este método se añaden 10 mL de vino y 10 mL de NaOH, se tapa y se esperan 20 minutos. Pasados los 20 minutos se añaden 5 mL de H₂SO₄ y 1 mL de almidón. Esto se valora con Iodo 0.02N hasta ver el viraje violáceo/grisáceo. Con el volumen de Iodo gastado se determina el sulfuroso total de la muestra.

En el caso del sulfuroso libre, se añaden 10 mL de vino en un matraz Erlenmeyer de 100 mL, se añaden 5 mL de H₂SO₄ al 16%, 1 mL de almidón y se valora frente I₂ 0.02N hasta coloración violácea/grisácea.

IPT (Índice de Polifenoles Totales): Para la determinación de este índice se utilizó un espectrofotómetro LAN OPTICS (serie 2000), con espectro en el visible y en el ultravioleta.

Para llevar a cabo esta medida fue necesario diluir la muestra 1:10, por lo que fue necesario un matraz aforado de 50 mL y una pipeta de 5 mL. Para que la medida fuera lo más exacta posible se utilizó una cubeta de cuarzo de 1 cm. Esta medida fue llevada a cabo por el método de índice ultravioleta, midiendo la absorbancia del vino a una longitud de onda de 280nm, haciendo el blanco con agua destilada.

Color: Este análisis se llevó a cabo con un espectrofotómetro UV-VIS serie 2000 de la marca LAN OPTICS como en el análisis anterior. En lugar de utilizar una cubeta de cuarzo como en el caso anterior, se utilizó una cubeta de vidrio de 1 cm, ya que la sensibilidad es menor en este caso. Se utilizó en método usual de Glories para esta determinación.

Siguiendo las directrices de este método, se elimina el CO₂ de la muestra mediante centrifugación, proceso que facilita la clarificación del vino. Se hace el cero utilizando agua destilada como referencia y posteriormente se mide la absorbancia de la muestra a 420nm en una cubeta de vidrio de 1 cm.

Se hace la medida a una sola longitud de onda (420nm) ya que el color dominante de los vinos blancos está comprendido entre el amarillo dorado y amarillo verdoso, teniendo un rango de absorción de 400-480nm (Asensio, 2018).

5.-Resultados.

5.1 Pruebas preliminares

Como hemos comentado previamente, a fin de determinar cuál, de entre las membranas disponibles, podía presentar mejores prestaciones en un proceso de diálisis, el sistema anterior se usó previamente en un conjunto de pruebas preliminares con las tres membranas disponibles. En dichas pruebas preliminares se utilizó como fluido a desalcoholizar, el denominado vino sintético obtenido como comentamos en el apartado anterior y cuya concentración del 11 % se decidió a fin de acercarse lo más posible al vino real que se usará posteriormente. De esta forma se buscaba que las condiciones obtenidas en las pruebas se reprodujeran razonablemente en la experiencia definitiva.

Estas pruebas previas se realizaron con el mismo montaje reseñado en el apartado 4.1 (Fig. 2) equipo, que como se ha comentado, estaba situado en un laboratorio del Grupo de Superficies y Materiales Porosos (SMAP) de la Universidad de Valladolid.

Tras haber saturado los componentes del circuito con solución alcohólica para evitar que estos crearan error en las mediciones empezamos a probar diferentes membranas para encontrar una que tuviera la capacidad de separar suficiente alcohol en un tiempo relativamente corto.

a) Membrana TFC-SR3:

Empezamos usando una membrana de peso molecular o más bajo posible buscando que el proceso de diálisis fuera lo más selectivo posible al alcohol presente en el vino (membrana SR3 con 200 Da). Tras preparar el vino sintético de las características ya comentadas y llenar el sistema con éste y con agua destilada respectivamente, y dejando el sistema en estado estacionario durante 9 horas, se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 3:

Tabla 3: Datos de extracción de alcohol de la membrana SR3

	Pruebas iniciales (EtOH 11% aprox)		
	Fecha: 16/11/2018		
	Hora	n	Refrac. Dif
SR3 200 Da	10:30	1,332	0,001
	12:00	1,332	0,003
	13:30	1,331	0,003
	15:00	1,331	0,006
	blanco	1,332	0,000

En dicha tabla se representan únicamente los datos de índice de refracción (absoluto y diferencial). Dado que estos valores (incluso determinados con el refractómetro diferencial, más preciso que el refractómetro de Abbe) apenas cambian respecto al valor de referencia del vino sintético, no se utilizó la recta de calibrado para convertirlos en grado de alcohol. Dentro del error experimental asociado a la propia recta de calibrado, podemos concluir que, con esta membrana, el proceso sólo alcanzó una variación del contenido en alcohol de apenas un 0,2% (prácticamente dentro del margen de error del refractómetro diferencial) por lo que esta membrana se descarta para su utilización en diálisis con vino real.

b) Membrana NP030:

La siguiente prueba se realizó con una membrana que presentaba presumiblemente, mayor capacidad de transmisión, en este caso el doble que la anterior. Intentábamos con eso acelerar el proceso sin perder la capacidad de selectividad de la membrana. Usamos la membrana NP030 de 400 Da y dejamos el experimento el mismo tiempo que en la experiencia anterior (9 hrs) para ver la extracción de alcohol por diálisis al agua destilada obteniendo los resultados de la Tabla 4:

Tabla 4: Datos de extracción de alcohol de la membrana NP030

	Pruebas iniciales (EtOH 11% aprox)		
	Hora	n	Refrac. Dif
NP030 400 Da	16:55	1,332	0,000
	17:55	1,332	0,001
	18:55	1,332	0,004
	blanco	1,332	0,000

Tras analizar el resultado nos dio iguales resultados por lo que sospechamos que los datos son el error de la máquina de medición que usamos (refractómetro diferencial) por lo que la última prueba que se haría sería con una membrana menos selectiva, pero con más porosidad para facilitar el paso del alcohol, aunque durante el proceso se arrastraran con el alcohol, más sustancias volátiles.

c) Membrana GH2500:

En la tercera prueba optamos por una membrana con menos selectiva (amplio rango de peso molecular) para intentar acelerar el proceso de extracción de alcohol evitando a su vez los cambios organolépticos y optimizando la extracción de este. En este caso repetimos la experiencia dos veces ya que en una (**tabla 5**) de ellas el nivel de alcohol se redujo muy drásticamente y podía deberse a la absorción de alguna parte del sistema de este. En el segundo antes de introducir en el sistema el vino sintético antes explicado hicimos circular otra disolución hidroalcohólica de aproximadamente el 5% de alcohol en agua destilada y volvimos a montar el experimento.

Tabla 5: Datos de extracción de alcohol de la membrana GH2500, primer experimento

Hora	Vino sintético		Permeado	
	M.Rápida	Alcohol (%)	M.Rápida	Alcohol (%)
11:00	1,339	14,850575	1,332	0
13:30	1,338	11,287356	1,3325	0,3218
16:45	1,3375	11,057471	1,333	0,3649
18:45	1,337	11	1,333	0,3793
9:00	1,337	10,712644	1,332	0,4799

En esta tabla se representa las mediciones en el refractómetro clásico de ABBE (M. Rápida) mientras que en la otra columna se representa el grado alcohólico medido en el refractómetro diferencial tras calcularlo con la recta de calibrado. La experiencia se mantuvo durante un total de 22 horas seguidas para asegurarnos de su eficacia.

Por otro lado, y para asegurarnos que estos datos eran correctos repetimos la prueba midiendo también la parte del agua para averiguar si el alcohol se transmitía o si se perdía por alguna parte del sistema ya que no cuadraba esa pérdida tan grande en tan poco tiempo.

Obtuvimos con la repetición del experimento estos datos:

Tabla 6: Datos de extracción de alcohol de la membrana GH2500, segundo experimento

Hora	Vino Sintético		Permeado	
	M.Rápida	Alcohol (%)	M.Rápida	Alcohol (%)
11:20	1,339	11,91954	1,332	0
13:45	1,3385	11,804598	1,332	0,235632184
16:30	1,338	11,45977	1,333	0,278735632
18:30	1,3365	11,287356	1,332	0,293103448
9:30	1,336	11,229885	1,3325	0,408045977
11:30	1,336	11,287356	1,332	0,422413793

Esta tabla contiene lo mismo que la anterior, pero con un poco más de tiempo de medición.

Empezamos la prueba con una disolución de 11% de agua destilada con alcohol y al finalizar el tiempo medimos el líquido del recipiente con alcohol obteniendo que tenía 10% por lo que hubo una bajada considerable en 9 horas por lo que esta membrana cumplía en parte lo que buscábamos.

5.2.-Diálisis con vino real

Habiendo elegido la membrana que cumplía las necesidades del experimento procedimos a preparar la materia prima del estudio para su procesado. En este caso la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias (ETSIIAA) de Palencia nos cedió 4 botellas de vino blanco de la variedad Verdejo de vinificación experimental de la vendimia del año 2014

Tras saber el mejor método que podemos usar tenemos que pasar al desarrollo experimental de este, en este caso en el laboratorio de un laboratorio del Grupo de Superficies y Materiales Porosos (SMAP). Tras dejar un día a unos 10 grados el vino para su decantación natural y así evitar que se depositen materiales sólidos en la membrana evitando que se cierren poros, montamos el experimento y dejamos correr este durante un día entero para asegurarnos una correcta transferencia de alcohol ya que en las anteriores pruebas la bajada no era la óptima.

Tras haberlo dejado el tiempo que valoramos como máximo y con un cierto control de cuanto alcohol se perdía gracias a la membrana de diálisis volvimos a embotella el resultado y llevarlo a la ETSIIAA para su posterior análisis.

5.3.-Resultados de los análisis químicos del vino

Se hicieron 4 mediciones de cada tipo de vino para evitar fallos en la medición de laboratorio y evitar cualquier tipo de error instrumental o accidental.

Tabla 7: Resultados químicos comparativos del análisis del vino testigo y tras la experiencia de diálisis.

	pH	Acidez total (g/L TH2)	Grado alcohólico (% vol.)	Ac. volátil (g/L ácido acético)	SO2L (mg/L)	SO2T (mg/L)	IPT	Color
Vino Desalcoholizado	3,19 ± 0,06	4,14±0,08	10,9±0,12	0,4±0,2	6±0	49,6±4,13	0,57±0,03	0,1±0
Vino Patron	3,15±0,11	4,15±0,1	11,5±0,16	0,2±0,02	6±0	52,8±4,13	0,52±0,01	0,11±0

La variable que más nos importaba es la de la medición del alcohol. A simple vista esta tiene una diferencia notable entre el vino patrón y el que hemos pasado por nuestro sistema de membranas. Tras analizar ambas muestras en el laboratorio y obtener los resultados observamos que ha bajado aproximadamente medio grado. Para nosotros es un resultado satisfactorio ya que es una bajada interesante para poderse reescalar a una medida industrial para bodegas ya que no es una extracción que pueda crear cambios agresivos y eliminar el equilibrio en le vino, además con el estudio de una optimización para la técnica se podría aumentar la extracción del alcohol.

La acidez total y pH no se ven muy afectados por el proceso de membrana según los datos obtenidos cosa que es buena ya que si sufriera una bajada de acidez podría cambiar radicalmente el aspecto organoléptico de este.

Se puede observar un aumento de volátil que puede ser causada por la oxigenación del vino en el proceso de diálisis de membrana ya que el sistema no estaba completamente aislado del aire. Esto también puede generar la bajada de sulfuroso total de este.

El color y los IPT no cambian por lo que no sufre pardeamiento ni retención de polifenoles la membrana lo cual es un punto a favor de este método.

6.- Conclusiones

El objetivo de este trabajo, como indicamos al comienzo de esta memoria, ha sido el estudio del método de diálisis para la extracción de alcohol en un vino y el análisis del vino resultantes a fin de determinar la posibilidad de utilizar esta técnica en la desalcoholización parcial de vinos comerciales. Como paso previo a este estudio, y dado que no se disponían datos previos sobre la adecuación del proceso ni sobre las membranas más adecuadas para realizarlo, hemos probado diferentes tipos de membranas que se usan para UF y NF y hemos observado su eficacia en la extracción de alcohol por medio de diálisis. Para ello se ha diseñado y probado un montaje experimental adecuado que permite realizar la diálisis, a través de la membrana escogida, entre dos fluidos, uno de ellos concentrado en el elemento volátil a separar y otra agua pura. Hasta donde conocemos por la bibliografía científica existente, este método no se ha utilizado comercialmente en la extracción total o parcial de alcohol en vino.

Tras haber analizado diferentes tipos de membranas para el método de diálisis podemos decir que no todas son válidas. De hecho, las primeras membranas utilizadas, más selectivas (de peso molecular de corte más bajo) conllevan un proceso demasiado lento que puede causar cambios físicos y organolépticos al vino, un efecto secundario que no es aceptable para el consumidor. Sin embargo, en un tercer intento, hemos averiguado que hay al menos una membrana (en nuestro caso la GH2500) que cumplía con el cometido de extraer alcohol y tras analizar el vino pudimos observar un cambio en el nivel de alcohol suficiente mientras que las otras variables medidas no hay apenas impacto. Esto nos hace pensar que, afinando el proceso, posiblemente mediante la búsqueda de un filtro de membrana comercial más específicamente diseñado para diálisis, se pueda llegar a un resultado de desalcoholización superior. Idealmente se buscaría la reducción del contenido en alcohol en un máximo de 2 °, para cumplir las especificaciones de la OIV. Asimismo, se debería comprobar que, mediante el escalado del proceso (utilización de una mayor superficie de membrana y trabajo en caudales superiores de recirculación), se obtendría esta reducción de alcohol en un tiempo sensiblemente menor y siempre manteniendo las características organolépticas del vino original.

Si bien los procesos de separación que utilizan membranas son energéticamente eficientes y generan poco impacto ambiental, parece claro que para esta aplicación en particular es necesario continuar el estudio buscando como se ha dicho membranas con más eficiencia en la separación de alcohol, para, tras comprobar que el vino no sufre pérdidas sensoriales importantes (siempre una limitación fundamental a cualquier tratamiento aplicado al vino), poder plantearnos la utilización de este método a escala industrial para su posterior implantación en bodegas.

En términos generales, podemos concluir, que el método de diálisis por membrana, es útil para la desalcoholización parcial de vinos blancos comerciales, ya que permite la extracción de una cantidad apreciable de alcohol sin dañar al vino resultante en términos de sus análisis químicos. No obstante, queda pendiente la comprobación de la adecuación del método en términos organolépticos para lo cual se hace necesaria una

etapa de optimización del proceso que permita obtener dicha reducción en tiempo más cortos,

Este paso posterior, si bien no se ha acometido en el marco de este TFG (por la restricción al tiempo máximo dedicado a este tipo de trabajos) podría ser objeto de un posterior TFG o trabajo de investigación, partiendo de las conclusiones aquí obtenidas.

7.-Referencias:

- Ariono D, Khoiruddin, Subagjo, Wenten I. Heterogeneous structure and its effect on properties and electrochemical behavior of ion-exchange membrane. *Materials Research Express*. 2017;4(2):024006.
- Asensio de la Riva J. Uso de pervaporación en la desalcoholización de vinos blancos [Internet]. *Uvadoc.uva.es*. 2018 [cited 8 June 2019]. Available from: <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/31725>.
- Attenborough W. Evaluation of processes for the production of low-and non-alcohol beer. *Ferment*. 1988;1(2):40-44.
- Campo E, DO B, Ferreira V, Valentin D. Aroma properties of young Spanish monovarietal white wines: a study using sorting task, list of terms and frequency of citation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 2008;14(2):104-115.
- Código Internacional de prácticas enológicas [Internet]. OIV.Int. 2019 [cited 8 June 2019]. Available from: <http://www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/practicas-enologicas/codigo-internacional-de-practicas-enologicas>.
- Donhauser S, Glas K, Mueller O. Behavior of beer components during the manufacture of alcohol-reduced products by dialysis. *Brauwelt International*. 1991;2(1):139-144.
- Duchêne E, Schneider C. Grapevine and climatic changes: a glance at the situation in Alsace [Internet]. *Hal.archives-ouvertes.fr*. 2019 [cited 8 June 2019]. Available from: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00886271/>
- García-Martín N, Palacio L, Prádanos P, Hernández A, Ortega-Heras M, Pérez-Magariño S et al. Evaluation of several ultra- and nanofiltration membranes for sugar control in winemaking. *Desalination*. 2009;245(1-3):554-558.
- García-Martín N, Perez-Magariño S, Ortega-Heras M, González-Huerta C, Mihnea M, González-Sanjosé M et al. Sugar reduction in white and red musts with nanofiltration membranes. *Desalination and Water Treatment*. 2011;27(1-3):167-174.
- Himma N, Anisah S, Prasetya N, Wenten I. Advances in preparation, modification, and application of polypropylene membrane. *Journal of Polymer Engineering*. 2016;36(4).
- Leskošek I, Mitrović M. OPTIMIZATION OF BEER DIALYSIS WITH CUPROPHANE MEMBRANES. *Journal of the Institute of Brewing*. 1994;100(4):287-292.
- Mangindaan D, Khoiruddin K, Wenten I. Beverage dealcoholization processes: Past, present, and future. *Trends in Food Science & Technology*. 2018; 71:36-45.
- Moonen H, Niefind H. Alcohol reduction in beer by means of dialysis. *Desalination*. 1982;41(3):327-335.
- Olmo Á, Blanco C, Palacio L, Prádanos P, Hernández A. Pervaporation methodology for improving alcohol-free beer quality through aroma recovery. *Journal of Food Engineering*. 2014; 133:1-8.
- Rektor A, Kozak A, Vatai G, Bekassymolnar E. Pilot plant RO-filtration of grape juice. *Separation and Purification Technology*. 2007;57(3):473-475.

- Sainz Escudero D. Aplicación de nanofiltración por membrana y pervaporación para la desalcoholización de vinos comerciales y recuperación de aromas [Internet]. Uvadoc.uva.es. 2017 [cited 8 June 2019]. Available from: <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/26527>.
- Salgado C, Fernández-Fernández E, Palacio L, Carmona F, Hernández A, Prádanos P. Application of pervaporation and nanofiltration membrane processes for the elaboration of full flavored low alcohol white wines. *Food and Bioproducts Processing*. 2017; 101:11-21.
- Salgado C, Fernández-Fernández E, Palacio L, Hernández A, Prádanos P. Alcohol reduction in red and white wines by nanofiltration of musts before fermentation. *Food and Bioproducts Processing*. 2015; 96:285-295.
- Salgado C, Palacio L, Prádanos P, Hernández A, González-Huerta C, Pérez-Magariño S. Comparative study of red grape must nanofiltration: Laboratory and pilot plant scales. *Food and Bioproducts Processing*. 2015; 94:610-620.
- Saliba A, A Ovington L, C Moran C. Consumer demand for low-alcohol wine in an Australian sample. *International Journal of Wine Research*. 2013;1-8.
- Tonietto J, Sotés Ruiz V, Gómez-Miguel V. *Clima, zonificación y tipicidad del vino en regiones vitivinícolas iberoamericanas*. Madrid: CYTED; 2012.
- Voet D, Voet J. *Bioquímica*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2006.
- Wee S, Tye C, Bhatia S. Membrane separation process—Pervaporation through zeolite membrane. *Separation and Purification Technology*. 2008;63(3):500-516.