



Universidad de Valladolid
Campus de Palencia

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIERÍAS AGRARIAS

Titulación de Grado
Especialidad en Enología

**Aplicación de nanofiltración por
membrana y pervaporación para la
desalcoholización de vinos comerciales
y recuperación de aromas.**

Daniel Sainz Escudero

José Ignacio Calvo Díez

Encarnación Fernández Fernández

Copia para el tutor/a

Junio de 2017

ÍNDICE GENERAL de la MEMORIA

1. Resumen	1
2. Introducción	1
2.1. Membranas	2
2.1.1. Definición y clasificación	3
2.1.2. Procesos de membrana	6
2.1.3. Métodos de fabricación	8
2.1.3. Materiales utilizados	9
3. Justificación	10
4. Objetivos	10
5. Materiales y métodos	11
5.1. Vino	11
5.2. Equipo de nanofiltración	11
5.3. Equipo de pervaporación	13
5.4. Métodos de análisis químicos	15
5.5. Métodos de análisis sensorial	18
5.5.1. Prueba triangular de diferencias	18
5.5.2. Check-all-that-apply (CATA)	18
6. Resultados	19
6.1. Nanofiltración	19
6.2. Pervaporación	20
6.3. Reconstrucción del vino	23
6.4. Análisis químicos	23
6.5. Análisis sensorial	24
6.5.1. Prueba triangular de diferencias	24
6.5.2. Check-all-that-apply (CATA)	25
7. Conclusiones	26
8. Bibliografía	28

1 RESUMEN

El estudio realizado consistió en la desalcoholización parcial de un vino blanco mediante su nanofiltración (NF) y la posterior recuperación de aromas del permeado de la nanofiltración, mediante pervaporación (PV). Tras la reconstrucción del vino a partir del retenido de NF y los aromas recuperados por PV, se pretendía que el vino reconstruido presentara una reducción sensible del contenido en alcohol así como una composición aromática y organoléptica, lo más parecida posible al vino original.

Los resultados de los análisis químicos de ambos vinos resultaron parecidos, con pequeñas diferencias en la acidez, total y volátil, y en el nivel de sulfuroso. Sin embargo, los análisis sensoriales mostraron una gran diferencia entre ambos vinos a nivel organoléptico. El estudio concluye que el sistema de desalcoholización funciona, pero la reducida área de filtración de que dispusimos ocasionó un aumento del tiempo de filtrado, una mayor recirculación, con sus consecuentes aireaciones y calentamiento de los fluidos, que podrían verse solucionados aumentando dicha área, por ejemplo con un módulo en espiral.

2 INTRODUCCIÓN

Muchos son los procesos de filtración por membrana que se han aplicado a la vinificación desde hace ya bastantes años. Algunos ejemplos son: ultrafiltración (UF) y microfiltración tangencial (MF) para clarificar el mosto de uva blanca, la concentración de azúcar mediante la nanofiltración (NF) (Campo *et al.*, 2009) y la ósmosis inversa (RO) (Rektor *et al.*, 2006) en los mostos. La osmosis inversa también se utiliza para reducir el alcohol en los vinos (Labanda *et al.*, 2009), pero el problema es que las membranas RO son permeables al alcohol y al agua, y después de la filtración es necesario agregar agua nuevamente al vino desalcoholizado, lo que crea problemas legales en algunos países donde la adición de agua está prohibido. Por supuesto, el agua permeada podría separarse del alcohol y añadirse de nuevo al vino retenido.

En principio, esto debería permitirse ya que esta agua proviene del mismo vino. Otros procesos de membrana se utilizan para obtener alcohol bajo o cerveza, como la diálisis (Liguori *et al.*, 2015) o la pervaporación (PV) (Carmona *et al.*, 2016) o destilación de la membrana de vacío (García-Martín *et al.*, 2011). Finalmente, la microfiltración (MF) del vino antes de su embotellado es el único sistema que garantiza con absoluta seguridad la total ausencia de microorganismos indeseables que pueden producir una posterior alteración del producto una vez embotellado.

Estudios previos en el Grupo de Superficies y Materiales Porosos (SMAP) de la Universidad de Valladolid, llevaron a la conclusión de que reducir el alcohol de un vino mediante la reducción del azúcar contenido en el mosto por NF, conlleva cambios importantes en la composición volátil del vino resultante, tan importante para sus posteriores propiedades organolépticas. Este hecho fue atribuido a fenómenos asociados a la retención por parte de la membrana utilizada de diferentes compuestos aromáticos y precursores, primordiales para dotar a un vino de sus necesarias cualidades sensoriales. Se señalaron algunos resultados similares después de la filtración en membrana de vinos tintos (Kontoudakis, 2017).

Por otro lado, se pueden producir bebidas no alcohólicas (o con grado alcohólico reducido) eliminando el etanol de una bebida completamente fermentada. Las técnicas de separación más comunes para el desalcoholizado de bebidas son el tratamiento térmico o los procesos basados en membranas (Brányiket *et al.*, 2012). Los procesos de tratamiento térmico incluyen evaporación y destilación o separación por vapor, en ambos casos bajo condiciones de vacío. Los procesos basados en membranas incluyen la ósmosis inversa, RO, (Labanda *et al.*, 2009; Pilipovik *et al.*, 2005), la nanofiltración, NF, (Verhoef *et al.*, 2008), la diálisis (Petkovska *et al.*, 1997) y la pervaporación, PV, (Vatai, 2007).

La pervaporación (PV) es un proceso usado para separar uno o más compuestos en un líquido usando membranas semipermeables en las que el permeado sale como vapor en el lado permeado a baja presión donde hay vacío, mientras que el material retenido permanece como líquido (Liu *et al.*, 2017). El permeado que está en fase de vapor se condensa y se reintroduce en el producto final. El retentado mantiene otros componentes y puede ser usado por otro proceso o reciclado para una separación posterior.

La PV es uno de los procesos de membrana más efectivos para la recuperación de aromas en bebidas. Las membranas de PV son muy selectivas para varios grupos químicos importantes en los perfiles aromatizantes de las bebidas (Dobrak *et al.*, 2010). Durante los últimos años, la PV se ha aplicado con éxito para la recuperación de compuestos de aroma de zumos de frutas (Figoli *et al.*, 2010; Raisi *et al.*, 2011). También se ha recuperado el propio jugo de las frutas, después de la concentración de aromas por evaporación (Ortiz, 2008; She *et al.*, 2006). La pervaporación se ha aplicado también en los últimos años para la eliminación del etanol (Vatai, 2007; Verhoef *et al.*, 2008) y la recuperación del aroma de las bebidas alcohólicas (Brazinha *et al.*, 2009). Además se ha utilizado en la desalcoholización del vino (Catarino *et al.*, 2011), y también en el proceso de obtención de cerveza sin alcohol (Catarino *et al.*, 2011).

2.1 MEMBRANAS

Comenzaremos esta memoria hablando con un poco más de detalle de todo lo relacionado con la ciencia y la tecnología de las membranas: desde el concepto de interfase, el cual da origen al concepto de membrana; pasando por todos los tipos más importantes de membrana que existen así como los principales métodos de fabricación de membranas. Finalmente se citan algunas de las innumerables aplicaciones prácticas que poseen las membranas.

Las membranas están presentes en gran parte de las actividades que se realizan a lo largo de la vida. No sólo son parte integrante de las células de todos los seres vivos e instrumentos fundamentales para su relación con el entorno; sino que cada día más se debe hablar de las membranas sintéticas, fabricadas por el hombre y que cada día encuentran más aplicaciones a nivel científico, industrial y tecnológico que se extienden a una gran variedad de campos.

Sin embargo, a pesar del auge y la importancia de las membranas, aún hoy sigue sin estar del todo claro lo que se entiende por membrana. Esto deriva de la gran variedad morfológica, estructural y de composición que presentan los distintos materiales agrupados bajo este término tan genérico.

En la sección siguiente se hablará de la importancia a nivel práctico que tienen las membranas y se intentará dar una definición precisa del concepto de membrana.

2.1.1 DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN

La ciencia y la tecnología de las membranas han ido tomando cada vez más importancia en numerosas aplicaciones prácticas debido especialmente a su gran eficiencia a la hora de permitir el transporte selectivo de ciertas sustancias, a la simplicidad de su funcionamiento y a su buena adaptabilidad a todo tipo de procesos.

Pero éstas no son las únicas ventajas que presenta el uso de membranas ya que los requerimientos energéticos del trabajo con membranas son comparativamente muy bajos y además las membranas presentan una buena estabilidad bajo una amplia variedad de condiciones de operación, características de gran importancia desde el punto de vista industrial. Además hay que destacar que las membranas pueden utilizarse para separaciones con cualquier tipo de fluido, ya sea líquido o gas.

El concepto de membranas se encuentra muy relacionado con el concepto de interfase, el cual se expone a continuación:

“Una interfase es un plano o una superficie que forma frontera común a dos fases con propiedades diferentes y unidas por relaciones de intercambios y de interacción recíproca.” Este concepto se muestra gráficamente en la **Figura 1**.

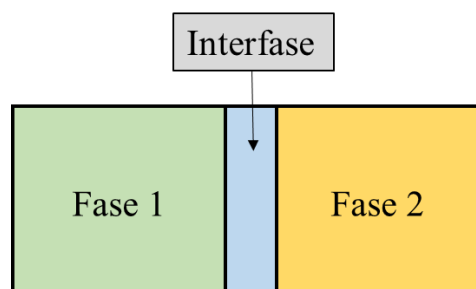


Figura 1: Concepto de interfase.

Partiendo de esta idea, una membrana se puede considerar como un tipo particular de interfase con unas características muy particulares tal y como se indica en la siguiente definición:

Una definición de membrana (Peinador, 2013) puede ser la siguiente: **“Cualquier región que actúa como una barrera selectiva entre dos fluidos, restringiendo o favoreciendo el paso de uno o más componentes, de uno o ambos fluidos a través de ella”**.

Esta definición permite hacer una amplia clasificación (Peinador *et al.*, 2013; Martínez, 1998) de las membranas dependiendo del criterio que se escoja. Una posible clasificación toma como punto de partida tres enfoques distintos: su naturaleza, su estructura y su mecanismo de transferencia, tal como se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Clasificación de las membranas.

Naturaleza	Biológicas		
	Sintéticas	Homogéneas	Inorgánicas Orgánicas
		Compuestas	Inorgánicas Orgánicas Mixtas
Estructura	Estructura microscópica	Porosidad	Porosas Densas
		Configuración	Simétricas Asimétricas
		Líquidas	Soportadas No soportadas
	Estructura macroscópica	Laminares Tubulares Fibras huecas	
Mecanismo de transporte	Transporte convectivo Transporte por difusión Transporte por intercambio iónico		

A continuación se describirán todos los criterios bajo los cuales se pueden clasificar las membranas así como la clasificación resultante de las mismas.

- **Según su naturaleza:** En base a su origen, las membranas se pueden clasificar en biológicas y sintéticas.
 - **Membranas biológicas:** Son aquellas que forman parte de los seres vivos. Dentro de éstos se pueden encontrar tanto a nivel celular como a nivel pluricelular.
 - **Membranas sintéticas:** Son aquellas que han sido fabricadas de manera artificial por el ser humano para distintos propósitos, sobre todo en los ámbitos industrial y científico.

Según sea su composición, las membranas sintéticas pueden clasificarse en:

- ✚ **Homogéneas:** Son aquellas que se componen de un único material.
- ✚ **Compuestas:** Son aquellas que se componen de una superposición de capas de distintos materiales.

A su vez según sea el material o los materiales de los que están compuestas las membranas, éstas se pueden clasificar en:

- **Inorgánicas**
- **Orgánicas**
- **Mixtas**

- **Según su estructura:** A la hora de hablar de estructura se debe distinguir a qué nivel se está trabajando, microscópico o macroscópico, debido a que dentro de cada uno de ellos se pueden distinguir hechos diferentes; además la estructura que presente la membrana se ve fuertemente influenciada por el proceso de fabricación.
 - **Estructura microscópica:** A este nivel se pueden distinguir propiedades de la membrana relacionadas con su composición y su morfología; siendo relevantes factores como la naturaleza de los materiales que la componen y el tipo de poros así como la distribución de tamaños de los mismos. Dependiendo de cuál de ellos se analice, las membranas se pueden clasificar según:
 - ✚ **Porosidad:** Dependiendo de cómo sea la distribución de poros, las membranas pueden clasificarse en:
 - **Membranas densas**
 - **Membranas porosas**
 - ✚ **Configuración:** Desde el punto de vista de la configuración las membranas pueden clasificarse en:
 - **Membranas simétricas**
 - **Membranas asimétricas**
 - ✚ **Líquidas:** Estas membranas pueden ser de dos tipos:
 - **Membranas soportadas**
 - **Membranas no soportadas**
 - **Estructura macroscópica:** A este nivel se pueden distinguir aspectos de la membrana relacionados con su apariencia externa; teniéndose en cuenta factores como el espesor y la estructura porosa, los cuales influyen en la velocidad de transporte y en la selectividad. Según sea su apariencia, las membranas se pueden clasificar en:
 - ✚ **Laminares**
 - ✚ **Tubulares**
 - ✚ **Fibras huecas**
- **Según su mecanismo de transporte:** El transporte a través de una membrana va estar condicionado tanto por la naturaleza y la estructura de la membrana, como por las propiedades físicas y químicas de las sustancias que la atraviesan. Desde este punto de vista, se puede analizar el transporte a través de tres mecanismos distintos de transporte:
 - **Transporte convectivo**
 - **Transporte por difusión**
 - **Transporte por intercambio iónico**

2.1.2 PROCESOS DE MEMBRANA

Como ya se ha comentado anteriormente, a partir de la definición de membrana podemos deducir que las mismas intervienen en procesos que conllevan una separación de sustancias. Dicha separación por parte de la membrana debe ser impulsada por la acción de algún fenómeno físico, como por ejemplo por la aplicación de algún gradiente o de algún campo; a este fenómeno impulsor se le denomina fuerza generalizada.

Aquí se van a describir los procesos más importantes (Martínez, 1998) atendiendo a su mecanismo impulsor o fuerza generalizada.

a) Procesos de separación por un gradiente de presión.

Esta sección se centrará en los procesos en los que la fuerza generalizada será un gradiente de presión. Estos procesos son básicamente idénticos, debido a que el proceso de separación es similar, pero con diferencias en el mecanismo de transporte, en las presiones empleadas y en el tamaño de poro y en el tipo de las membranas que se utilizan.

A continuación se citarán aquellos procesos de separación por gradiente de presión más importantes, que son los siguientes:

- ❖ **Microfiltración:** En este proceso el mecanismo de transporte es el flujo convectivo. Las membranas utilizadas son membranas simétricas con tamaños de poro de 0.1 a 10 μ m, y las diferencias de presión utilizadas son de 0.1 a 2 bar
- ❖ **Ultrafiltración:** En este proceso se pretende separar moléculas o partículas pequeñas, de un tamaño menor que 0.3 μ m de diámetro, empleándose para ellos presiones entre 2 y 10 bar. Para este proceso el mecanismo de transporte es el flujo convectivo, al igual que en el proceso anterior, y el tipo de membrana que se usa en este caso son las membranas asimétricas.
- ❖ **Nanofiltración:** En los últimos años del siglo XX se comenzó a hablar de un proceso de membrana por gradiente de presión que ocuparía el rango por debajo de las membranas de Ultrafiltración más densas, pero sin llegar a lo que posteriormente entenderemos por Ósmosis Inversa. Dicho proceso se denomina actualmente Nanofiltración y se aplica cuando las membranas presentan poros entre 1 y 10 nm de diámetro.
- ❖ **Ósmosis inversa:** En este proceso las moléculas a separar son aún más pequeñas y es necesario aplicar presiones que estarán comprendidas entre los 20 y 100 bar. A diferencia de los dos procesos anteriores, en este proceso el mecanismo de transporte es la difusión del soluto en el interior de la matriz de la membrana, por lo que se utilizarán membranas densas para llevar a cabo estos procesos.

b) Procesos de separación por un gradiente de potencial químico o electroquímico.

Estos fenómenos aparecen a través de una membrana que separa dos disoluciones de igual o diferente concentración, de modo que el mecanismo de transporte es la difusión a través de la membrana. Además, las sustancias que se difunden pueden ser electrolíticas, no electrolíticas o mezcla de ambas.

Dependiendo de cómo sean las concentraciones de las disoluciones se pueden distinguir distintos fenómenos:

- ❖ Si las dos disoluciones tienen igual concentración hay dos tipos de procesos que son:
 - **Autodifusión**
 - **Interdifusión**
- ❖ Si por el contrario, la concentración de las disoluciones es distinta, la difusión de las especies es en sentido contrario al gradiente de concentración.
 - Un caso de especial interés dentro de este grupo es la **ósmosis**.

c) Procesos de separación por un campo eléctrico aplicado.

Cuando se aplica un campo eléctrico a un sistema separado por una membrana puede haber una corriente a través de ésta debido al movimiento de los iones, el cual se verá favorecido si la membrana es conductora. Nunca se va a encontrar una membrana que impida totalmente el paso de corriente, incluso para el caso de membranas no selectivas.

Dentro de este apartado cabe destacar los siguientes procesos:

- ❖ **Electrodiálisis:** Recibe este nombre el movimiento de iones a través de la membrana.
- ❖ **Electroósmosis:** Este proceso tiene lugar cuando, además de la transferencia de iones, hay un transporte de disolvente.

d) Procesos de separación por un gradiente de temperatura.

Hasta ahora todos los fenómenos descritos tienen lugar en sistemas isotermos, pero también existen procesos de separación que se producen cuando las dos especies separadas tienen temperaturas distintas, es decir, utilizan como fuerza generalizada un gradiente de temperatura.

El hecho de mantener un gradiente de temperatura a través de la membrana va a dar lugar a dos fenómenos, que son:

- ❖ Un flujo de disolvente, fenómeno conocido como **termoósmosis**.
- ❖ Un flujo de electrolito el cual hace que aparezca una fuerza electromotriz denominada **potencial de difusión térmico**.

También existe otro proceso de separación que es el que se produce en la **pervaporación** en la cual la fuerza impulsora es la presión de vapor de la fase líquida que es capaz de atravesar los poros de la membrana cuando al otro lado se realiza vacío, como fue demostrado en diferentes estudios (Blanco *et al.*, 2014; Mariana *et al.*, 2015; Paz *et al.*, 2017; Salgado *et al.*, 2014).

2.1.3 MÉTODOS DE FABRICACIÓN

En la actualidad existen numerosos métodos para fabricar membranas, cada uno de ellos basados en unos principios distintos. Ahora bien estos procedimientos de obtención de membranas se clasifican en cinco grandes grupos (Martínez, 1998), atendiendo a la naturaleza del proceso físico-químico principal que interviene en cada caso; a su vez, alguno de estos se lleva a cabo según distintas variantes. En la **tabla 2** se resumen los procedimientos generales más importantes así como alguna de sus variantes:

Tabla 2: Esquema de los procesos de fabricación de membranas.

Inversión de fases	Precipitación por inmersión Evaporación controlada Precipitación térmica
Deposición y recubrimiento	Recubrimiento por inmersión Polimerización a través de un plasma Polimerización interfacial Deposición dinámica
Revelado de trazas nucleares	
Sinterización	
Deformación mecánica	

A continuación se exponen brevemente los principales procedimientos generales de obtención de membranas como son:

Inversión de fases: Este procedimiento es usado para la fabricación de membranas poliméricas. En este proceso entran en juego tres componentes que son: el polímero, el disolvente y un coagulante. Es el método más utilizado en sus tres variantes y permite obtener membranas asimétricas formadas por un soporte poroso y una capa activa que las dota de selectividad.

Deposición y recubrimiento: En estos métodos se recurre a la fijación de una película delgada de material con propiedades selectivas sobre una base porosa que sirve de soporte, dando lugar a una membrana compuesta de tipo asimétrico. El soporte puede ser en unos casos, integrante de la propia membrana (soporte poroso) o un simple molde para su fabricación.

Revelado de trazas nucleares: En este procedimiento se somete a una membrana densa a un haz de partículas nucleares ionizantes, cuyas trayectorias a través del polímero son las que se transforman en los poros tras un tratamiento químico posterior, denominado revelado.

Sinterización: Consiste en aglutinar, por efecto de la temperatura y/o la presión, un material granular o en forma de polvo, con el fin de conseguir una lámina sólida más o menos porosa. La temperatura empleada debe ser inferior a la temperatura de fusión del material. Es este uno de los métodos más empleados en la fabricación de membranas cerámicas.

Deformación mecánica: Para este procedimiento lo que se hace es provocar una deformación mecánica a la película polimérica; así, si se le aplica una tensión adecuada, se pueden conseguir membranas con estructura de celdillas que son formadas al producirse roturas parciales en el seno del material. El estiramiento puede realizarse en frío o en caliente, según una o más direcciones y generalmente sobre polímeros parcialmente cristalinos.

2.1.4 MATERIALES UTILIZADOS

En la actualidad existe una gran variedad de materiales para fabricar membranas, lista que va creciendo con el paso del tiempo y con los avances científicos y tecnológicos; ahora bien, el material o los materiales de los que está fabricada la membrana varían en función de las posibles aplicaciones prácticas que ésta pueda tener.

Otro aspecto a tener en cuenta es que los materiales utilizados para la fabricación de membranas deben cumplir requisitos como:

- Resistencia química.
- Estabilidad térmica.
- Estabilidad mecánica.
- Alta permeabilidad.

Ahora se citarán los tipos de materiales (Peinador *et al.*,2013) utilizados para fabricar membranas, así como algunos ejemplos y características de los mismos. Normalmente estos materiales se clasifican en tres grandes grupos que son los siguientes:

Materiales orgánicos:

- Celulosa y derivados

Poliamidas aromáticas (PA) o aramidas:

- Polietersulfona (PES)
- Politetrafluoroetileno (PTFE o Teflón)
- Policarbonato (PC)

- Polipropileno (PP)
- Poliacrilonitrilo (PAN)

Materiales inorgánicos:

- Metales
- Cerámica
- Vidrio

3 JUSTIFICACIÓN

Debido al cambio climático, los últimos años han sido más cálidos y secos en algunas regiones. Como consecuencia de ello, se produce una maduración temprana de las uvas lo que aumenta el contenido de azúcar. Por lo tanto, la fermentación alcanza grados alcohólicos más altos de lo deseado. Un control adecuado de los azúcares en los mostos también puede ser útil para obtener vinos con bajo grado alcohólico que son demandados por ciertos mercados. Como consecuencia, debería ser útil contar con tecnologías que pudieran corregir esta tendencia de obtener grados alcohólicos demasiado altos. Una de estas tecnologías no demasiado agresiva y altamente específica requiere el uso de procesos de membrana. Estas tecnologías tienen la ventaja de evitar cualquier adición de productos limitados o prohibidos. Por otra parte, los subproductos con alto contenido de azúcar o alcohol podrían utilizarse para fabricar licores o como aditivos en procesos alimenticios (García-Martín *et al.*, 2009).

4 OBJETIVOS

La presente memoria describe el trabajo realizado por Daniel Sainz Escudero, en la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de Palencia, bajo la tutorización de José Ignacio Calvo y Encarnación Fernández, profesores de la ETSIIAA, y constituye el trabajo que el alumno presenta como Trabajo de Fin de Grado, conducente a la obtención del título de Graduado en Enología.

El objetivo último que se planteaba a lo largo de este trabajo consistía en la desalcoholización parcial de un vino blanco mediante su nanofiltración y la posterior recuperación de aromas del permeado de NF, mediante pervaporación (PV). A partir del retenido de NF y de los aromas recuperados por PV se procede a reconstruir el vino de partida del que se espera una reducción sensible del contenido en alcohol así como una composición aromática y organoléptica, lo más parecida posible al vino original. Para comprobar el adecuado cumplimiento de estos objetivos se realizaron los correspondientes análisis químicos y sensoriales (mediante catas apropiadas a los parámetros a determinar) sobre los vinos de partida y el desalcoholizado. A lo largo de esta memoria se discutirán los resultados obtenidos y se extraerán las conclusiones pertinentes para futuros trabajos en esta dirección.

Es importante comentar que este trabajo aquí presentado constituye una primera aproximación al problema, novedosa a día de hoy, y que se pretende sirva para mostrar la posibilidad de utilizar a escala industrial un proceso combinado de NF y PV

para la obtención de vinos con menor grado alcohólico, manteniendo sus propiedades organolépticas. Evidentemente, los posibles fallos y debilidades del proceso serán identificados, para proceder a su mejora en futuros experimentos de este tipo.

- La memoria que se presenta comienza con una introducción general a las membranas y los procesos de membrana.
- Seguidamente el apartado Materiales y Métodos, reseña todos los elementos materiales necesarios tanto para la filtración del vino como para su posterior análisis y cata.
- El siguiente apartado presenta los resultados obtenidos con su discusión exhaustiva
- Finalmente el apartado de conclusiones permite resumir los principales logros del proceso aquí diseñado, así como sus debilidades, proponiendo asimismo métodos de mejora que puedan permitir continuar con éxito el camino aquí emprendido.
- Al final de la memoria se presenta ordenada toda la bibliografía utilizada en la redacción de la presente memoria.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 VINO

El vino que fue empleado en este estudio fue un vino experimental de la vendimia 2014 sin filtrar.

El primer paso fue homogeneizar el vino, para ello se recopiló 26 botellas que se homogeneizaron en un depósito de 100 litros. Al estar el vino sin filtrar, y con el fin de evitar que las partículas más gruesas pudieran colmatar rápidamente la membrana de nanofiltración, se estabilizó en frío a 4°C durante 10 días en la cámara de refrigeración de la bodega experimental de La Yutera con el objetivo de facilitar la sedimentación de las partículas más gruesas.

Tras este periodo de estabilización se realizó un trasiego a 2 lecheras de 25 litros de capacidad con camisa de frío. Asimismo se embotellaron 10 botellas para utilizar como muestra de referencia para realizar los posteriores análisis.

5.2 EQUIPO DE NANOFILTRACIÓN

La primera etapa del tratamiento de desalcoholización del vino blanco obtenido consistió en la Nanofiltración del mismo. Dicha NF se realizó en una planta piloto automatizada en la que se utilizó como módulo de membrana un módulo plano con flujo transversal, como el que se muestra en la **Figura 2**, que proporciona un área activa de membrana $A = 6,6 \times 10^{-3} \text{m}^2$, diseñado en el Grupo de Superficies y Materiales Porosos (SMAP) de la Universidad de Valladolid. Tanto este sistema de Nanofiltración como el que se describirá posteriormente para realizar la Pervaporación, están situados en los laboratorios del SMAP sitios en la Facultad de Ciencias de Valladolid.

El montaje consistió en un tanque de alimentación formado por un recipiente de 30 litros de acero inoxidable con camisa de frío para poder controlar la temperatura. Para el control de la temperatura se empleó un baño refrigerador de la marca NESLAB modelo RTE-220. El fluido se hizo recircular con una bomba HYDRA-CELL d10.

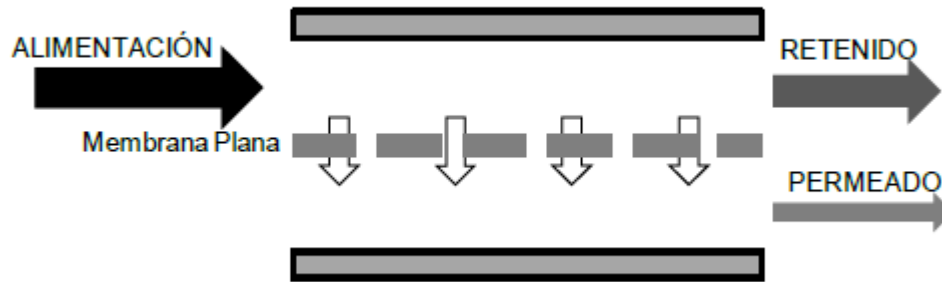


Figura 2. Esquema de un módulo plano con flujo transversal.

Se colocaron dos medidores de presión de tipo digital conectados a una centralita (encargada de la automatización y control de todos los parámetros de filtración). Dichos manómetros estaban situados antes y después del módulo de membrana (MP) para medir la presión de entrada y salida. Con el fin de ajustar manualmente la presión dentro del módulo se colocó una válvula de aguja a la salida de la unidad. El flujo transversal se ajustó mediante una centralita Novadep conectada a un sistema informático con el cual se controlaba de velocidad de la bomba y la presión. En particular era importante que la presión no sobrepasara un nivel crítico, que fijamos en 40 bares, para que no se produjeran roturas en la membrana. El caudal de retenido se midió con un caudalímetro Tecfluid con rango de medida entre 0 y 10 l / min. El flujo de permeado se podía monitorizar en caso necesario usando una báscula conectada a la anteriormente citada centralita. Durante el experimento de NF sólo se utilizó ocasionalmente la medición del flujo de permeado para asegurarnos de mantener un valor aceptable de la permeabilidad a través de la membrana.

La membrana de nanofiltración (NF) utilizada en el MP era DK (DK1812C-28D), de la serie D, asimétrica de inversión de fase de la empresa General Electric. La serie D, a la que pertenece nuestra membrana de nanofiltración, de los elementos patentados de membrana de nanofiltración de película fina se caracteriza por un corte aproximado del peso molecular de 150-300 Dalton para moléculas orgánicas no cargadas. Los aniones polivalentes y multivalentes son preferentemente rechazados por la membrana, mientras que el rechazo de iones monovalentes depende de la concentración y composición de la alimentación. Dado que los iones monovalentes pasan a través de la membrana, no contribuyen a la presión osmótica, permitiendo así que los sistemas de membrana de nanofiltración de la serie D funcionen a presiones de alimentación inferiores a las de los sistemas RO. La membrana DK tiene un rechazo mínimo del 98% sobre 2.000 ppm de $MgSO_4$ a 25 °C (77 ° F) y 110 psi de presión de funcionamiento.

Los Elementos DK de Procesamiento de Productos Lácteos se usan típicamente en procesos relacionados con alimentos que requieren procedimientos sanitarios estrictos. Las aplicaciones incluyen desalado de lactosa, desacidificación y desmineralización de suero de leche o permeado de UF.

Durante las experiencias de NF se controló (como ya se ha indicado) la temperatura de la corriente de alimentación, así como la temperatura del condensador, la presión dentro del circuito y el caudal del flujo de alimentación. La temperatura de la corriente de alimentación se mantuvo constante a 6°C por medio del baño refrigerador anteriormente citado. La presión dentro del circuito se mantuvo controlada a 30 ± 1 Bar (ya que experimentos previos nos mostraron que si la presión aumentaba en exceso podría romper la membrana), y el caudal de alimentación se ajustó a 6.0 ± 0.2 l/min.

El permeado de la nanofiltración se recogió en un vaso de precipitados de 2 litros de capacidad aforado para poder ir estimando el volumen de permeado que se fuera recogiendo.

5.3 EQUIPO DE PERVAPORACIÓN

Posteriormente a la ya comentada etapa de NF del vino blanco, el permeado de dicha primera etapa fue conservado en frigorífico durante 158 horas para eliminar por deposición cualquier partícula procedente de la filtración.

Posteriormente dicho volumen de permeado fue tratado en un sistema de pervaporación, a fin de eliminar la mayor cantidad posible de alcohol recuperando asimismo los aromas volátiles del vino.

Este sistema de pervaporación se encuentra situado asimismo en los laboratorios del SMAP en la Facultad de Ciencias de Valladolid. En este caso, la membrana está en una celda de lámina plana que proporciona un área activa de membrana $A = 6,6 \times 10^{-3} \text{m}^2$. Una bomba FLUJET modelo R2100-232 extrae la solución del permeado para pervaporar del tanque de alimentación de 3 litros de capacidad con camisa de frío calentada por un baño calefactor de Julabo modelo F 12. Este fluido circula tangencialmente sobre la membrana para limitar los efectos de la concentración-polarización. Antes y después de la membrana se colocan 2 medidores de presión de tipo manométrico, y tras el segundo medidor, una válvula de aguja para controlar la presión del circuito. A continuación se sitúa un medidor de flujo de tipo rotámetro para controlar el caudal del flujo que se mueve por el circuito.

Por otro lado, a la salida de la celda de la membrana preparada para el permeado, se coloca una válvula de tres vías para poder direccionar el permeado hacia una trampa de nitrógeno líquido u otra. El permeado se condensa en 2 trampas de nitrógeno líquido de maneta alterna, mientras una se está atemperando para extraer el permeado la otra está recogiendo el permeado que se separa por medio de la membrana.

Entre las trampas de nitrógeno líquido y la bomba de vacío se emplea otra válvula de tres vías para poder desviar la succión de la bomba de vacío hacia el circuito de una de las trampas u otra según necesitemos. Se dispone, finalmente, una bomba de vacío Agilent Technologies reduce la presión hasta 2 mmHg.

También se empleó grasa alimentaria para poder separar el matraz en el que se recogía el permeado y una pipeta de 20 ml para poder recoger el permeado del matraz ya que el borde de dicho matraz estaba impregnado con la grasa. El montaje de la instalación experimental de pervaporación puede verse en la **Figura 3**.

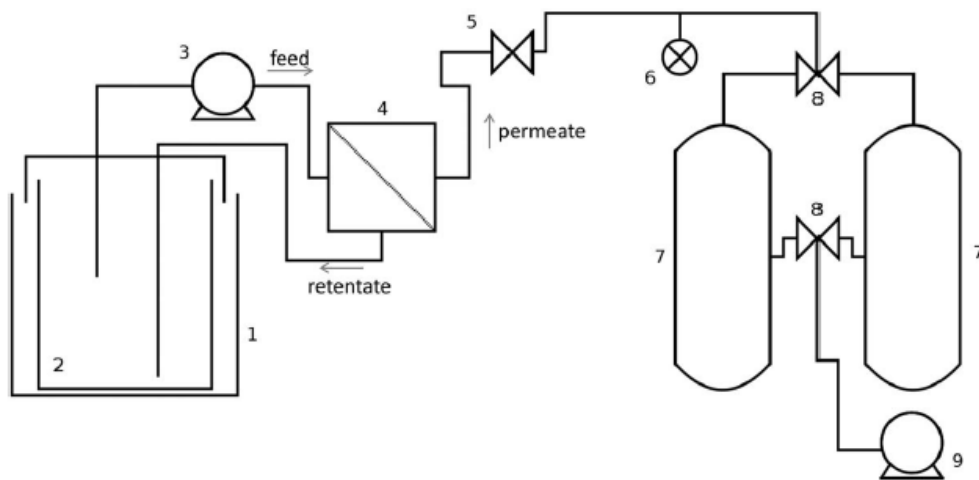


Figura 3. Esquema de la instalación experimental de pervaporación. **1.** Baño termostático; **2.** Tanque de alimentación; **3.** Bomba de alimentación; **4.** Membrana; **5.** Válvula de aguja; **6.** Manómetro; **7.** Trampa de nitrógeno líquido; **8.** Válvula de tres vías; **9.** Bomba de vacío.

La membrana de pervaporación (PV) que se empleó fue una membrana basada en PDMS fabricada y comercializada por Pervatech. Sus características principales se muestran en la **Tabla 3**.

Las membranas PDMS (Polidimetilsiloxano, $[(C_2H_6OSi)_n]$) tienen características hidrófobas/organofílicas, en las que el constituyente orgánico de la alimentación pasa preferentemente a través de la membrana. Aplicaciones posibles con membranas hidrófobas/organofílicas:

- Recuperación o extracción de productos orgánicos de la alimentación natural como zumos de frutas, vino, cerveza, aceite de coco, aceites esenciales (carvona, limoneno) y en combinación con la fermentación.
- Recuperación de sustancias orgánicas en aplicaciones biotecnológicas o biotecnológicas relacionadas con la alimentación, tales como alimentos naturales como zumos de fruta, vino, cerveza, aceite de coco, aceites esenciales (carvona, limoneno) y en combinación con fermentación.
- Separación de alcohol etílico (y otros alcoholes) del vino y la cerveza.

- Combinación con biorreactores en la producción de alcoholes (etanol, alcohol isopropílico, butanol), ABE (acetona, butanol, etanol), aldehídos, producción de sabor así como producción de ácido.
- Separación de compuestos orgánicos volátiles.

Tabla 3: Características principales de la membrana de pervaporación.

P. Max (10⁵Pa)	ΔP. Max (10⁵Pa)	Rango de pH	T^a Max. (°C)
3	1	3-8	80

Durante las experiencias de PV, así como ya comentamos en las de NF, se controló la temperatura de la corriente de alimentación, la temperatura del condensador, la presión dentro del circuito y el caudal del flujo de alimentación. La temperatura de la corriente de alimentación se mantuvo constante a 40 ± 1 °C por medio del baño calefactor anteriormente citado, también la temperatura del condensador se mantuvo constante a -196 °C, ya que las trampas estaban sumergidas constantemente en nitrógeno líquido. La presión dentro del circuito se mantuvo en un valor bajo (± 1 Bar) de forma que se evitara una diferencia de presión excesiva entre ambos lados de la membrana (recuérdese que por el lado del permeado se hace vacío) que pudiera inducir tensiones excesivas e incluso roturas en la membrana. Finalmente el caudal de alimentación se ajustó a 3.5 ± 0.1 l/min.

Para proceder a la extracción del permeado de la pervaporación de las trampas de nitrógeno, al terminar cada periodo de PV (al principio cada 20 min, pero a medida que la experiencia avanzaba, se realizaba cada hora), se desconectaba del sistema el depósito de permeado que se había mantenido en la trampa, y con sus válvulas cerradas, se sacaba del dispositivo y se dejaba atemperar a temperatura ambiente, ya que dicho permeado se encontraba congelado. El hecho de tener dos trampas de nitrógeno, con un sistema de válvulas duplicadas adecuado, permitía continuar la PV dirigiendo el permeado a la segunda unidad, mientras se desconectaba y vaciaba la primera. Una vez descongelado, se extrajo del condensador (Refrigerante de Liebig), adecuadamente sellado, con una pipeta de 20 ml para traspasarlo posteriormente a pequeños viales de 18 ml de capacidad, con tapa estanca, de forma que no se perdiera nada de su contenido.

5.4 MÉTODOS DE ANÁLISIS QUÍMICOS

Se realizaron varias analíticas a ambos vinos, el vino original y el vino desalcoholizado, así como algunos de ellos a los permeados de ambas pruebas, la nanofiltración y la pervaporación. Los análisis y los materiales empleados fueron los siguientes:

pH: Se llevo a cabo con un pH-metro de la marca CRISON Basic 20. Para este análisis también fue necesario un vaso de precipitados de 150 ml. La determinación del pH fue llevada a cabo, como ya se ha dicho, mediante un pH-metro y el procedimiento es el siguiente:

- Se calibra el electrodo con las soluciones tampón, en este caso a pH 4 y pH 7, limpiando cuidadosamente con agua destilada entre medidas de soluciones distintas. Se debe medir a 20°C para ello los tampones y las muestras se mantendrán a esa temperatura. Se realizaran dos lecturas y se dará como resultado la media de ambas mediciones.

Acidez total: Se llevó a cabo con un pH-metro de la marca CRISON Basic 20y un agitador magnético sin calefacción de la marca BUNSEN. Para este análisis también fue necesario un vaso de precipitados de 150 ml, una bureta de 25 ml, un soporte para buretas y una disolución de NaOH 0.1N. La determinación de la acidez total fue llevada a cabo mediante el método potenciométrico y el procedimiento es el siguiente:

- Se retira el CO₂ de la muestra de vino y se toman 20 ml en un vaso de precipitado de 100 ml. Se introduce el electrodo del pH-metro en la muestra y posteriormente se va añadiendo NaOH 0.1N hasta llevar la muestra a pH 7. Conociendo el volumen de la muestra, el factor de la solución de NaOH y el volumen de NaOH gastado podemos conocer la acidez total del vino, que es la suma de todos los ácidos valorables en la muestra.

Acidez volátil: Se llevó a cabo con un volatímetro eléctrico GAB System. Para este análisis también fue necesario una bureta de 10 ml, un soporte para buretas, fenolftaleína y una disolución de NaOH 0.01N. La determinación de la acidez volátil se llevó a cabo por el método de García Tena y el procedimiento es el siguiente:

- Se colocan 11 ml en un matraz de destilación de 60 ml de capacidad y se calienta directamente con una fuente de calor. El destilado se recoge en 2 probetas distintas; en la primera se recogen 5.1 ml del destilado. El método considera que en esta primera fracción han pasado los ácidos más volátiles que el ácido acético, como el SO₂, el CO₂ y además 1/3 del ácido acético que contiene el vino. En la segunda probeta se recogen 3.2 ml de destilado, estimándose que en dicho volumen ha pasado 1/3 del ácido acético del vino. Después se valora el destilado de la segunda probeta, tras añadirle unas gotas del indicador fenolftaleína, con NaOH 0.01N para conocerse la acidez total.

Color: Se llevó a cabo con un espectrofotómetro UV-VIS serie 2000 de la marca LAN OPTICS. Para este análisis también se utilizó una cubeta de vidrio de 1 cm. La determinación del color se llevó a cabo por el método usual de Glories y el procedimiento es el siguiente:

- Se prepara la muestra clarificándola y eliminando el CO₂ mediante centrifugación, se realiza el cero midiendo a 420 mn de absorvancia utilizando agua como referencia y después se mide la muestra directamente a 420 mn de absorvancia en una cubeta de vidrio de 1 cm.

Grado alcohólico: Este análisis se realizó también en el permeado de la nanofiltración. Se llevó a cabo con un ebullómetro de GAB System, dotado de un termómetro. Para llevar a cabo los análisis del grado alcohólico que tenía el permeado de la pervaporación se realizó mediante Refractometría y se empleó un refractómetro de mesa ABBE-REF 1 de la marca PCE. La determinación del grado alcohólico se llevó a cabo por el método de ebullometría y el procedimiento es el siguiente:

- Primero se lleva a ebullición agua destilada y se toma medida de la temperatura cuando la columna de mercurio del termómetro se estabilice. Esta temperatura se lleva a la regla de cálculo móvil haciéndola coincidir con el cero de la escala fija, bloqueando la regla para las medidas de ese día. Tras vaciar la caldera del ebullómetro y enjuagarla con vino, se coloca el vino en la caldera enrasando la marca de la caldera, se pone en marcha la columna de refrigeración con agua y se lleva a ebullición el vino. Cuando la columna de mercurio del termómetro se estabilice se toma nota de la temperatura. En la regla de cálculo se leerá el grado alcohólico del vino en la parte fija que será el que coincida con la temperatura de ebullición del vino en la parte móvil.

Sulfuroso libre y total: Se llevó a cabo con un analizador de sulfuroso en vinos SO₂-Matic 23 de la marca CRISON. Para este análisis también se utilizó una pipeta de 10 ml, una disolución de H₂SO₄ al 25% y una disolución de NaOH 4N. El sulfuroso libre fue necesario emplear otro método ya que el analizador de sulfuroso en vinos SO₂-Matic 23 no tenía suficiente sensibilidad. Para este otro método, el método Ripper, se utilizó una bureta de 5 ml, un matraz erlenmeyer de 250 ml, pipetas de 20 y 5 ml, una disolución de H₂SO₄ al 16%, una disolución de I₂ 0.02N, una disolución de NaOH 1N y almidón al 1%. La determinación del sulfuroso libre y total fue llevada a cabo por el método Ripper, la diferencia fue que en el caso del total se empleó el método automatizado y para el libre se empleó el método tradicional. El procedimiento del método tradicional para conocer el sulfuroso total es el siguiente:

- En un matraz de 100 ml añadimos 10 ml de NaOH y 10 ml de vino, tapamos y esperamos 20 minutos a que el sulfuroso combinado se libere. Tras esos 20 min añadimos 5 ml de sulfúrico al 16% y unas gotas de almidón. Valoramos con I₂ 0.02N hasta que vira a azul-violeta. Para conocer el sulfuroso libre directamente ponemos 10 ml de vino en un matraz de 100 ml, adicionamos 5 ml de sulfúrico al 16%, añadimos unas gotas de almidón y se valora con I₂ 0.02N hasta color gris-morado.

IPT(Índice de Polifenoles Totales): Se llevó a cabo con un espectrofotómetro UV-VIS serie 2000 de la marca LAN OPTICS. Fue necesario llevar a cabo una disolución 1:10 por lo que empleo un matraz aforado de 50 ml y una pipeta de 5 ml. Para llevar a cabo este análisis también fue necesaria una cubeta de cuarzo de 1 cm. La determinación del índice de polifenoles totales fue llevada a cabo por el método del índice ultravioleta y el procedimiento fue el siguiente:

- Se diluye la muestra 1:50 y se mide la absorbancia frente a agua destilada a 280 nm, con una cubeta de cuarzo de 1 cm.

Todos los análisis comentados: pH, acidez total, acidez volátil, color, grado alcohólico y sulfuroso libre y total; se realizaron en ambos vinos (original y filtrado), además el grado alcohólico se determinó también en el permeado del proceso de NF, ya que su determinación nos permitió estimar la cantidad de necesaria de retenido para poder llegar a la reducción alcohólica esperada.

5.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS SENSORIAL

En este estudio participó un grupo de 26 consumidores no entrenados, pero con experiencia en la cata de vinos, y con edades comprendidas entre los 18 y los 45 años, todos ellos estudiantes y profesores del Grado de Enología, que evaluaron las 2 muestras de vino de la variedad Verdejo.

Las pruebas se realizaron en la sala de cata de la ETSIIAA del Campus de Palencia (Universidad de Valladolid) y en cabinas individuales de cata, con aislamiento lateral y frontal.

5.5.1 Prueba triangular de diferencias

Esta prueba se llevó a cabo siguiendo la Norma UNE ISO 4120:2008. Para el análisis de los datos se utilizó la tabla A.1 de la misma norma, observando si el número de respuestas correctas es mayor o igual que el número dado en dicha tabla (correspondiente al número de jueces y al nivel de riesgo α elegido para la prueba).

5.5.2 Check-all-that-apply (CATA)

Por último, los consumidores realizaron el método CATA (Ares, 2017). Se les presentó un listado de atributos y se les pidió que indicaran cuál de las palabras o frases era la más apropiada, según su experiencia, para describir la muestra que se estaba evaluando.

Los consumidores objeto de este estudio tuvieron que contestar al método a través de 15 atributos sensoriales para describir cada muestra de vino, utilizando la metodología CATA que estuvo integrada por los siguientes términos:

- Limpio, Ácido, Con volumen en boca, Amargo, Aroma intenso, Tropical, Frutal, Cítrico, Anisado, Herbáceo, Balsámico, Oxidado, Reducido, Persistencia intensa y Aceptable.

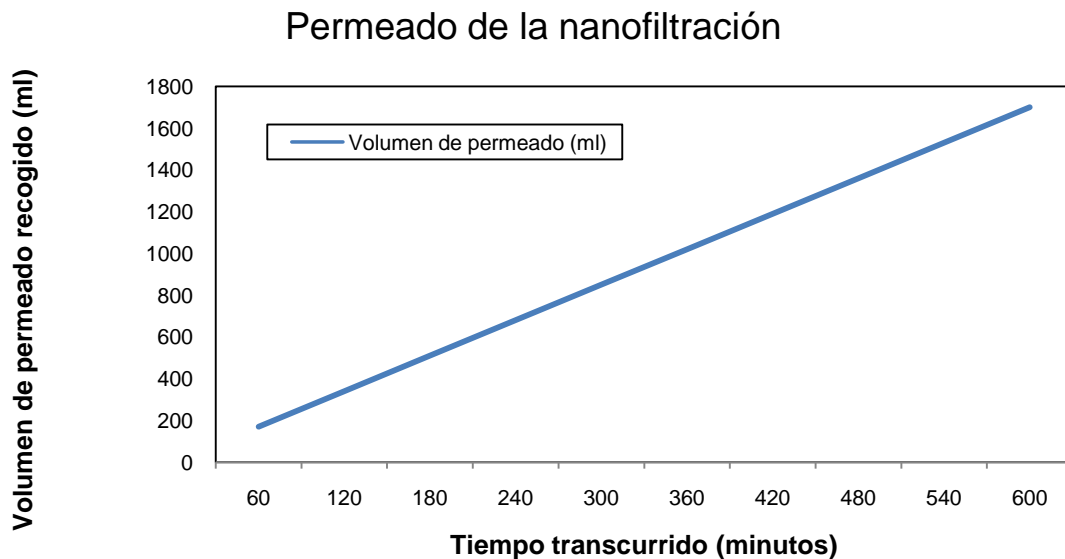
También fue incluida una sección de comentarios para que los jueces indiquen sus observaciones sobre las diferencias entre ambas muestras que no vengan recogidas dentro del listado de atributos que les fue entregado.

6 RESULTADOS

En este apartado se hablará de los resultados obtenidos en las diferentes fases del procedimiento de desalcoholización, la nanofiltración y la pervaporación, de los resultados obtenidos analíticamente al comparar el vino original y el vino desalcoholizado y los resultados obtenidos en el análisis sensorial realizado a ambos vinos y se discutirá los resultados obtenidos en los diferentes aspectos.

6.1 NANOFILTRACIÓN

Para el proceso de nanofiltración se partió de un volumen inicial de 8 litros de vino y tras 10 horas de nanofiltración se recogieron 1700 ml de permeado como se muestra en la **Gráfica 1**. Los datos obtenidos para la realización de la **Gráfica 1** se pudieron obtener ya que el permeado se fue recogiendo en un vaso de precipitado aforado (capacidad total 2,0 L), de forma que se fueron realizando lecturas periódicas del nivel de enrase en dicho recipiente. Dicho permeado fue guardado en un frigorífico al terminar la etapa de NF para eliminar por deposición cualquier partícula procedente de la filtración y su mejor conservación hasta que se realizase la pervaporación.

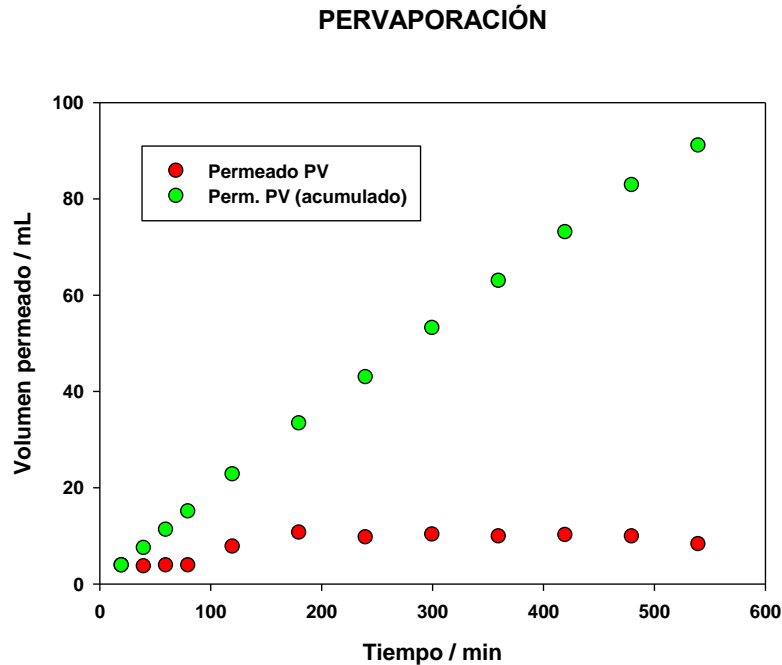


Gráfica 1. Evolución del permeado de la nanofiltración.

Como se puede observar en la **Gráfica 1**, el volumen de permeado recogido durante la nanofiltración fue acumulándose de forma constante dando lugar a una pendiente (que se suele denominar permeabilidad de la membrana) que es asimismo constante. La constancia de la permeabilidad a lo largo de todo el proceso nos indica que la membrana en ningún momento se colmató no siendo afectada por el indeseable fenómeno del ensuciamiento (o fouling), al menos no en una cantidad apreciable.

6.2 PERVAPORACIÓN

Para el proceso de pervaporación se partió de un volumen inicial de 1700 ml de permeado procedente de la nanofiltración y tras 520 minutos obtuvimos 91 ml de pervaporado distribuido en 12 extracciones como se muestra en la **Gráfica 2**.

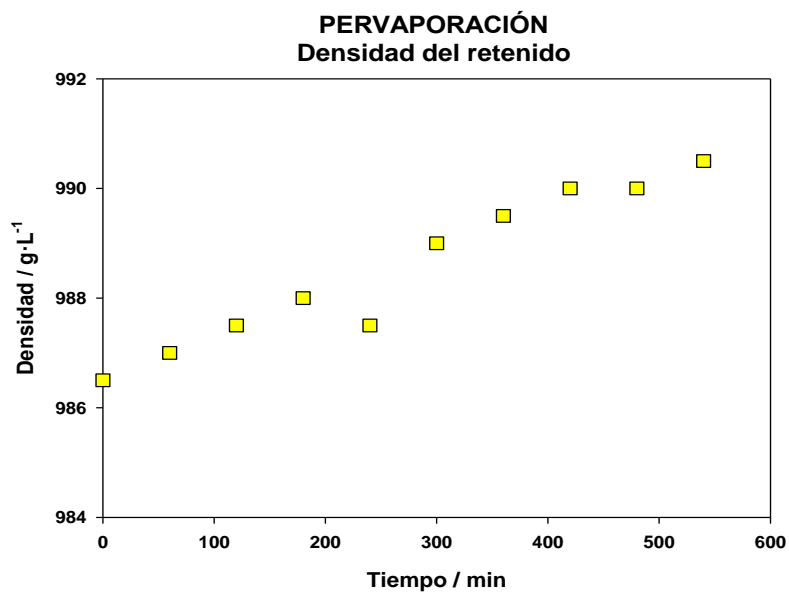


Gráfica 2. Volumen de permeado recogido durante la pervaporación.

En la **Gráfica 2** también podemos observar como el volumen de permeado que fue recogiendo fue constante en el tiempo; esto indica que la membrana en ningún momento se colmató (algo por otro lado esperable al trabajar con fases gaseosa y líquida a ambos lados de la membrana). En estas condiciones cualquier partícula presente en la disolución de partida que pudiera dar lugar a oclusión de los poros de la membrana y consecuentemente a una disminución apreciable del flujo a través de la misma, se ve frenada por la propia hidrofobicidad de la membrana que impide el paso de soluciones acuosas (incluyendo las partículas que puedan contener). Sólo las sustancias volátiles presentes en la alimentación, favorecidas por el vacío en el lado del permeado, logran superar la barrera membranaria y ser recogida a un ritmo constante.

En cuanto a las diferencias entre los valores individuales de cada extracción (marcados en la figura como símbolos rojos) tienen que ver con el hecho de que el intervalo de muestreo se fue ampliando, una vez que los primeros viales recogidos nos permitieron estimar la cantidad total esperable.

Durante la pervaporación también se fue midiendo la densidad del retenido para tener una idea aproximada de cuanto grado alcohólico tenía y a qué velocidad iba disminuyendo. La evolución de la densidad del retenido se puede observar en la **Gráfica 3**. La evolución se puede considerar que es la previsible (salvo un único punto a mediados de experiencia cuyo comportamiento anómalo se achaca a un error experimental) ya que, el retenido, que es básicamente una mezcla hidroalcohólica, fue aumentando de densidad al ir quitándole progresivamente una mayor proporción de alcohol. El agua, como ya sabemos, tiene una densidad superior, 1000 g/l, que la del etanol, 789 g/l, por lo tanto, una densidad de partida de 986.5 g/l corresponde a un grado alcohólico de 10 % v/v. La densidad final del retenido fue de 990.5 g/l, lo que corresponde a un grado alcohólico de 6.9 % v/v.



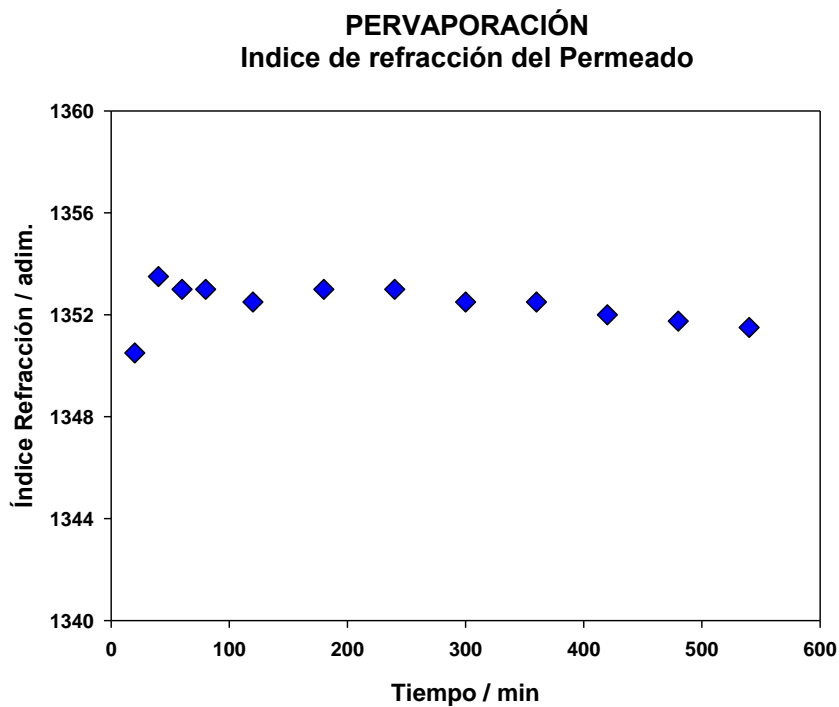
Gráfica 3. Densidad del retenido durante la pervaporación.

También se realizó un seguimiento mediante refractometría del grado alcohólico que tenía el permeado recogido en cada muestra ya que eran volúmenes muy pequeños para poder emplear cualquier otro método. Los resultados se pueden observar en la **Gráfica 4**. Según un estudio realizado anteriormente, (Peinador, 2013), podemos utilizar diferentes fórmulas para averiguar el grado alcohólico de una disolución hidroalcohólica según su índice de refracción.

La primera extracción, la que corresponde a los aromas según su volumen (Carmona *et al.*, 2016; Mariana *et al.*, 2015; Salgado *et al.*, 2014) podemos decir que un índice de refracción de 1.3505 corresponde a una concentración de 22.7 %.

El siguiente valor, que es el más elevado corresponde a un índice de refracción de 1.3535 que a su vez corresponde a una concentración de etanol del 27.5 %; los valores obtenidos van bajando hasta llegar a 1.3515 transcurridos 540 minutos, este valor corresponde a una concentración de etanol de 24.2 %. Estas concentraciones de etanol en el permeado son menores que otro estudio en el que se desalcoholizaba un vino mediante pervaporación (Vatai, 2007), esto puede deberse al uso de un tipo de membrana diferente o a una concentración de etanol de partida del fluido a pervaporar.

Asique podemos asegurar dos cosas: primera que el contenido de alcohol del retenido fue descendiendo, ya que el permeado tenía una mayor concentración de etanol que el retenido, y segunda, que la concentración de etanol del permeado también fue decreciendo ya que la concentración de etanol del permeado es directamente proporcional a la concentración de etanol del retenido. La misma reducción de componentes recogidos en el permeado de la pervaporación se observó en otro estudio (She *et al.*, 2006) a medida que el proceso de pervaporación avanzaba.



Gráfica 4. Índice de refracción del permeado de la nanofiltración.

6.3 RECONSTRUCCION DEL VINO

Una vez tenemos por un lado el retenido de la NF (una cantidad importante ya que recordemos a partir de los 8 L de vino original, solo se obtuvieron 1.7 L de permeado) y de la PV y hemos analizado su contenido en alcohol, el retenido de la NF 11% v/v y el retenido de la PV 6.9 % v/v. Y, por otro lado tenemos el vial con los aromas recogidos en la PV, procedemos a calcular los volúmenes que debemos mezclar para tener un vino reconstruido de 9% v/v de alcohol y una cantidad suficiente para realizar los análisis necesarios y las catas. Teniendo en cuenta que disponemos de 1.5 litros de retenido de la PV, y que éste es el valor limitante ya que hay mucho más retenido de la nanofiltración, mezclamos 1.47 litros de retenido de la NF y 1.36 litros de retenido de la PV y añadimos los 3.8 ml de aromas recogidos durante la PV. En total obtuvimos 2.834 litros de vino desalcoholizado.

6.4 ANÁLISIS QUÍMICOS

En este apartado se presentan los datos de los análisis químicos que se realizaron a ambos vinos, el vino original y el vino desalcoholizado, como se pueden observar en la **Tabla 4**, y se procederá a la discusión de los mismos.

Tabla 4. Resultados de las analíticas realizadas a ambos vinos.

Muestra	pH	Ac. total (g/l de ác. tartárico)	Ac. volátil (g/l de ác. Acético)	Color	Grado alcohólico (% v/v)	Sufuroso libre (mg/l)	Sulturoso total (mg/l)	IPT
Vino original	3.17	4.9	0.16	0.103	11.2	0	75	4
Vino desalcoholizado	3.22	4.0	0.22	0.122	9.2	0	66	4

Como puede observarse en la **Tabla 4**, el pH es mayor y la acidez total es menor en el vino desalcoholizado, esto puede ser debido a que al reconstruir el vino se añadió casi la mitad del retenido de la pervaporación, que no olvidemos era el permeado de la nanofiltración, por lo tanto, esta parte tenía menor acidez ya que la membrana de NF era selectiva y no dejaba pasar la mayor parte de los ácidos, como también se observó en trabajos anteriores (Catarino *et al.*, 2011), entre ellos el ácido tartárico que es el mayoritario dentro de un vino. En cambio, en trabajos realizados nanofiltrando el mosto para su retirada de azúcares y posterior vinificación (García-Martín *et al.*, 2009) la acidez total y el contenido en ácido tartárico se mantuvo estable.

Respecto a la acidez volátil se aprecia un aumento en el vino desalcoholizado, esto puede deberse a la excesiva recirculación, en ambos procesos que provocaba por tanto una gran aireación, y a la elevada temperatura a la que se mantuvo el retenido de la nanofiltración durante la pervaporación. En otros estudios (Catarino *et al.*, 2011) se observaron aumentos del contenido de acetaldehído, precursor del ácido acético, en los vinos que se sometieron a una desalcoholización usando membranas.

Igual que en el caso de la acidez total, en estudios realizados retirando parcialmente los azúcares de un mosto de Verdejo para posteriormente elaborar vino con este (García-Martín *et al.*, 2009) la acidez volátil del vino resultante fue igual e incluso menor al realizarle una ultrafiltración después de la nanofiltración. Como se demuestra en otros estudios (Garc, 2003) la temperatura y la iluminación a la que fue sometido el vino durante los procesos de NF y PV pudieron favorecer el aumento de la acidez volátil de nuestro vino desalcoholizado.

La intensidad de color también varió aunque en menor medida, aun así el aumento de color de del vino desalcoholizado puede ser debido a la oxidación de los polifenoles del vino, debido de nuevo a las altas temperaturas y a la oxidación producida en ambos procesos. Al contrario que en nuestro caso, el color se vio disminuido en otros estudios realizando la nanofiltración en el mosto (García-Martín *et al.*, 2009) tras su vinificación midiendo la absorbancia a 420 nm.

El grado alcohólico era el que se pretendía alcanzar para el vino desalcoholizado. Para este experimento se buscaba una bajada de 2% v/v.

El contenido en sulfuroso libre de ambos vinos era nulo ya que se trataba de un vino blanco elaborado en 2014 y, además, durante su homogeneización y su periodo de sedimentación perdió el poco que podría tener aun. El sulfuroso total descendió de manera notable en el vino desalcoholizado, 9 mg/l. Esto es debido a pérdidas producidas durante NF y PV, de nuevo, por el movimiento excesivo del vino durante ambos procesos que originó una gran aireación. Los IPT de ambos vinos se mantuvieron estables en ambos casos.

6.5 ANALISIS SENSORIAL

6.5.1 Prueba triangular de diferencias

En esta prueba de análisis sensorial se notó gran diferencia entre ambos vinos, como se puede apreciar en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Datos obtenidos en la prueba triangular.

	Nº de catadores
Notaron diferencias	23
No notaron diferencias	3

Para esta prueba se decidió un nivel de significación de 0,05 y con un total de 26 jueces, por lo tanto observando la tabla A.1 de la Norma UNE EN ISO 4120-2008, se necesitan 14 respuestas como mínimo para concluir que los dos vinos presentan una diferencia perceptible. En nuestro caso obtuvimos 23 respuestas por lo que podemos asegurar que ambos vinos tienen diferencias perceptibles.

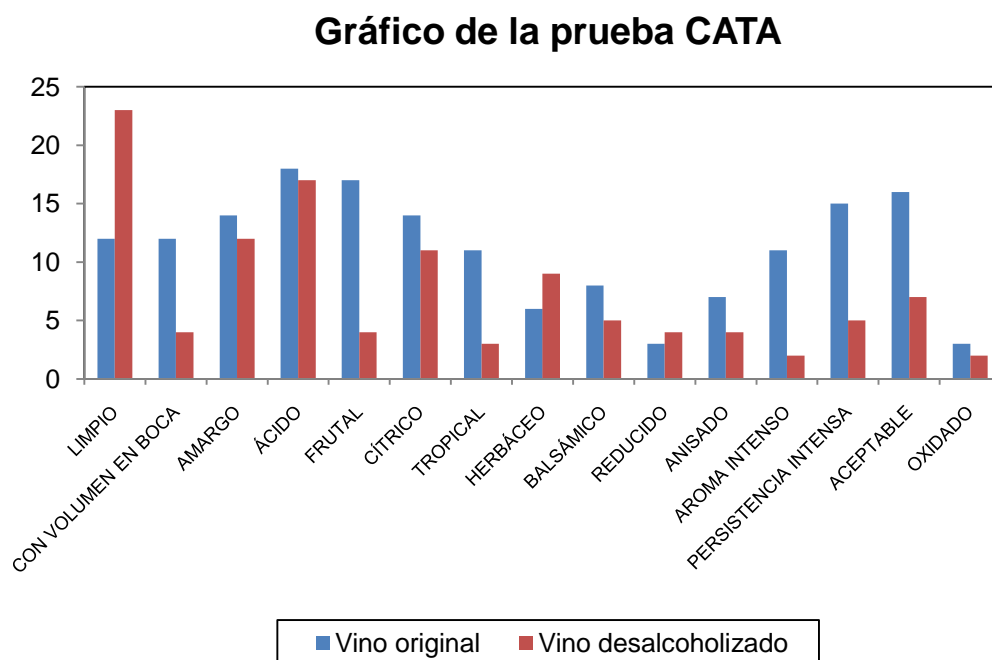
También se calculó el intervalo de confianza inferior unilateral de la población que puede percibir una diferencia entre las muestras UNE EN ISO 4120-2008, empleando la siguiente fórmula:

$$P_p = [1.5 \times (23/26) - 0.5] - 1.5 \times 1.64 \sqrt{(23/26) \times [1 - (23/26)/26]}$$

Se puede concluir que con un nivel de confianza del 95%, el 67% de la población puede percibir diferencias entre ambos vinos

6.5.2 Check-all-that-apply (CATA)

En este apartado van a ser presentados y comentados los datos obtenidos durante la prueba CATA. Los resultados obtenidos pueden ser observados en la **Gráfica 5**.



Gráfica 5. Frecuencia de citaciones obtenidas en la prueba CATA.

Como se puede observar en la **Gráfica 5**, la gran mayoría de los atributos aromáticos del vino desalcoholizado, menos el aroma herbáceo, fueron menos citados que en el caso del vino original. Asimismo, la intensidad aromática general del vino desalcoholizado también fue citada en menos ocasiones que la del vino original.

El volumen en boca también fue uno de los atributos citados menos veces en el vino desalcoholizado debido al proceso de nanofiltración al que fue sometido y al menor contenido de alcohol que como sabemos es un componente que aporta la sensación de volumen en boca. Por otro lado, el vino desalcoholizado se mostró claramente más limpio que el original, ya que este no había sido sometido a ninguna filtración.

También la persistencia en boca fue bastante menor en el vino desalcoholizado y respecto a la acidez, que es un parámetro analizado químicamente, que podemos observar en la **Tabla 4**, que es menor en el vino desalcoholizado, no se aprecian diferencias significativas.

Al contrario que en nuestro caso, cuando la desalcoholización de los vinos se ha realizado mediante una reducción parcial de los azúcares de los mostos de partida (García-Martín *et al.*, 2009), las diferencias han sido mucho menores sensorialmente.

Este método de cata fue empleado en vinos blancos y tintos obteniendo un gran resultado (Campo *et al.*, 2008; Campo *et al.*, 2009; Chem, 2003; McCloskey, 1995).

7 CONCLUSIONES

De este estudio podemos sacar varias conclusiones, que podemos relacionar con los objetivos iniciales del trabajo propuesto. Para ello recordemos el objetivo doble que nos planteábamos, reducir apreciablemente el contenido alcohólico del vino de partida y mantener en la medida de lo posible sus cualidades organolépticas.

- Atendiendo al primer objetivo y a la vista de los resultados obtenidos podemos considerar que el proceso de filtración en dos etapas aquí propuesto es válido para desalcoholizar vinos permitiendo reducciones notables del contenido en alcohol del vino original.
- Sin embargo, el resultado no ha sido satisfactorio para el segundo objetivo, mantener la semejanza con el vino original de forma que el consumidor esté satisfecho con el resultado. Es evidente, a la vista de los resultados de las catas, y también, aunque en menor medida, por los análisis realizados que, para poder llevar estos procesos a un nivel industrial habría que introducir varios cambios para conseguir un producto que mantuviera una mayor semejanza al vino de partida, sobre todo a nivel organoléptico.

- La principal razón de las notables diferencias sensoriales que presentan los vinos original y reconstruido radica en el uso de una celda de laboratorio con un área de filtración muy reducida. Eso conlleva que ambos procesos fueran muy lentos, se recogiese el permeado muy lentamente y el retenido tuviera que estar recirculando durante mucho tiempo con las consecuentes oxidaciones del vino y cambios de temperatura al pasar por la bomba y posteriormente por tanque de alimentación (y ello a pesar del uso de termostatación en el sistema de filtración).
- Este problema podría mejorarse empleando módulos en espiral que permiten una mayor área de membrana en un espacio relativamente pequeño. También podría mejorarse el proceso empleando conducciones de teflón, que es un material más inerte, en lugar de gomas de siliconas que tras tanta recirculación y a temperaturas elevadas, sobre todo en el caso de la PV, terminaban por dar sabores y olores al retenido.
- Usando montajes en planta piloto con un simple cartucho de membrana espiral comercial podríamos tener áreas de membrana superiores al metro cuadrado (más de 200 veces mayores que el área usada en este experimento). Esto nos permitiría tratar cantidades superiores (del orden del centenar de litros) y aun así reducir en un factor 20 el tiempo de filtración, con la consiguiente mejora en el estado del retenido especialmente.
- Otro aspecto que podría contribuir a esta mejora es usar una refrigeración del tanque de alimentación durante la nanofiltración más potente, de forma que bajáramos sensiblemente la temperatura media del vino durante la filtración, de forma que se minimicen las oxidaciones que como sabemos son favorecidas por las elevadas temperaturas.

Por lo tanto, podemos concluir que aunque el procedimiento seguido en este estudio se ha demostrado como válido a la hora de desalcoholizar un vino, el vino desalcoholizado, sensorialmente, resultó excesivamente distinto del vino original. Estamos seguros que en posteriores etapas de este estudio, simplemente aumentando el área de membrana, se obtendrán resultados más acordes con los objetivos esperados. De esta forma la filtración en dos etapas (NF+PV) de vinos blancos sería una alternativa viable a procesos ya estudiados como la reducción del contenido en azúcares en el mosto de partida, mediante NF. Este proceso ha demostrado obtener buenos resultados de reducción del grado alcohólico y mantenimiento de las propiedades organolépticas.

8 BIBLIOGRAFÍA

- Ares G. Comparison of static and dynamic sensory product characterizations based on check-all-that-apply questions with consumers. *Food Res Int.* Elsevier. 2017.
- Blanco CA, Palacio L, Prádanos P, Hernández A. Pervaporation methodology for improving alcohol-free beer quality through aroma recovery. 2014.
- Brányik T, Silva DP, Baszczyn M. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. 2012.
- Brazinha C, Crespo JG. Aroma recovery from hydro alcoholic solutions by organophilic pervaporation : Modelling of fractionation by condensation. 2009.
- Campo E, Do B V, Ferreira V, Valentin D. Aroma properties of young Spanish monovarietal white wines: a study using sorting task , list of terms and frequency. 2008.
- Campo E, Ballester J, Langlois J, Dacremont C, Valentin D. Comparison of conventional descriptive analysis and a citation frequency-based descriptive method for odor profiling : An application to Burgundy Pinot noir wines. 2009.
- Carmona FJ, Hernández A, Prádanos P. Food and Bioproducts Processing Application of pervaporation and nanofiltration membrane processes for the elaboration of full flavored low alcohol white wines. *Food Bioprod Process.* Institution of Chemical Engineers. 2016.
- Catarino M, Mendes A. Dealcoholizing wine by membrane separation processes. *Innov Food Sci Emerg Technol.* Elsevier Ltd. 2011.
- Chem F. A New Approach To Examine the Relationships between Sensory and Gas Chromatography – Olfactometry Data Using Generalized Procrustes Analysis Applied to Six French. 2003.
- Dobrak A, Figoli A, Chovau S, Galiano F, Simone S, Vankelecom IFJ. Journal of Colloid and Interface Science Performance of PDMS membranes in pervaporation : Effect of silicalite fillers and comparison with SBS membranes. *J Colloid Interface Sci.* Elsevier Inc. 2010.
- Ernoux MB, Erri CCC, Eduardo C, Erri PC, Iqueira MS, Eto N, et al. Cropping systems, carbon sequestration and erosion in Brazil: A review. *Agron Sustain Dev.* 2006.
- Figoli A, Tagarelli A, Cavaliere B, Voci C, Sindona G, Sikdar SK, et al. Evaluation of pervaporation process of kiwifruit juice by SPME-GC / Ion Trap Mass Spectrometry. *DES .* Elsevier B.V. 2010.
- Garc E. Influence of storage temperature on the volatile compounds of young white wines. 2003.
- García-Martín N, Palacio L, Prádanos P, Hernández A, Ortega-heras M. Evaluation of several ultra- and nanofiltration membranes for sugar control in winemaking. *DES.* Elsevier B.V. 2009.

- García-Martín N, Perez-Magariño S, Ortega-Heras M, González-Huerta C, Mihnea M, González-Sanjosé ML. Sugar reduction in white and red musts with nanofiltration membranes. 2011.
- Hernández, A., Tejerina, F., Arribas, J.I., Martínez, L., Martínez, F. Microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa. Univ.de Murcia. 1990.
- Kontoudakis N. Influence of partial dealcoholization by reverse osmosis on red wine composition and sensory characteristics. 2017.
- Labanda J, Vichi S, Llorens J, Lo E. LWT - Food Science and Technology Membrane separation technology for the reduction of alcoholic degree of a white model wine. 2009.
- Liguori L, Francesco G De, Russo P, Perretti G, Albanese D, Di M. Food and Bioproducts Processing Production and characterization of alcohol-free beer by membrane process. Food Bioprod Process. Institution of Chemical Engineers. 2015.
- Liu H, Wang N, Zhao C, Ji S, Li J. Membrane materials in the pervaporation separation of aromatic/aliphatic hydrocarbon mixtures—A review. Chinese J Chem Eng. Elsevier B.V. 2017.
- Mariana C, Fernández-fernández E, Palacio L, Hernández A, Prádanos P. Food and Bioproducts Processing Alcohol reduction in red and white wines by nanofiltration of musts before fermentation. Food Bioprod Process. Institution of Chemical Engineers. 2015.
- Martínez LP. Dpto . de Termodinámica y Física Aplicada. Caracterización estructural y superficial. Tesis doctoral, Universidad de Valladolid. 1998.
- Mccloskey LP. Descriptive analysis for wine quality experts determining appellations by chardonnay wine aroma. 1995.
- Ones OP, Rodríguez JD, Zumalacárregui L. Evaluación de propiedades físicas de mezclas Evaluation of physical properties of ethanol- water mixtures (II). 2010.
- Ortiz I. Separation and concentration of bilberry impact aroma compound from dilute model solution by pervaporation. 2008.
- Paz AI, Blanco CA, Palacio L, Andr C, Hern A. Aroma recovery of beer flavors by pervaporation through polydimethylsiloxane membranes. 2017.
- Peinador R. Dpto . de Termodinámica y Física Aplicada. Characterization of ultra and nanofiltration commercial filters by liquid-liquid displacement. Tesis doctoral, Universidad de Valladolid. 2009.
- Raisi A, Aroujalian A. Aroma compound recovery by hydrophobic pervaporation : The effect of membrane thickness and coupling phenomena. Sep Purif Technol. Elsevier B.V. 2011.
- Rektor A, Kozak A, Vatai G, Bekassy-molnar E. Pilot plant RO-filtration of grape juice. 2006.

Salgado CM, Palacio L, Prádanos P, Hernández A, González-huerta C, Pérez-Magari S. Food and Bioproducts Processing Comparative study of red grape must nanofiltration : Laboratory and pilot plant scales. 2014.

She M, Hwang S. Recovery of key components from real flavor concentrates by pervaporation. 2006.

Petkovska M, Leskos I. Analysis of mass transfer in beer polysulfone membranes.1997.

Pilipovik M V, Riverol C. Assessing dealcoholization systems based on reverse osmosis. 2005.

Vatai G. Production of alcohol free wine by pervaporation. 2007.

Verhoef A, Figoli A, Leen B, Bettens B, Drioli E, Bruggen B Van Der. Performance of a nanofiltration membrane for removal of ethanol from aqueous solutions by pervaporation. 2008.