



MEDICIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN VINOS DE LANGUEDOC-ROUSSILLON (FRANCIA): COMPARACIÓN DE DIFERENTES SONDAS

Ing. Agr. Marcos A. Maza

MAGISTER SCIENTIAE EN VITICULTURA Y ENOLOGIA
CICLO 2002 - 2003

Mendoza, 2004



**MEDICIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN VINOS
DE LANGUEDOC-ROUSSILLON (FRANCIA):
COMPARACIÓN DE DIFERENTES SONDAS**

Ing. Agr. Marcos A. Maza

Director: Michael Moutounet (INRA – Francia)

Co-Director: Jean Claude (INRA – Francia)

Índice

AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN.....	4
RESUME.....	5
INTRODUCCION.....	6
1. CONSIDERACIONES GENERALES	6
1.1. <i>Propiedades de los gases</i>	6
1.2. <i>Gas disuelto en un líquido</i>	6
1.2.1. Definición	6
1.2.2. Presión parcial de un gas disuelto	7
1.2.3. Solubilidad y concentración	7
1.3. <i>Consumo del oxígeno por el vino</i>	9
1.3.1. Mecanismo de acción del oxígeno en el vino.....	10
1.3.1.1. Oxidación del etanol.....	13
1.3.1.2. Consumo por el SO ₂	13
1.3.1.3. Otros consumos de oxígeno.....	13
1.3.1.4. Consecuencias de la oxidación sobre la estructura de compuestos fenólicos y sus características organolépticas.	14
1.3.1.4.1. Degradación de antocianos.....	14
1.3.1.4.2. Degradación y polimerización de taninos.....	14
1.3.1.4.3. Reacción de condensación taninos - antocianos.....	14
1.4. <i>Los agregados de oxígeno a los vinos</i>	16
1.4.1. Agregados operacionales.....	16
1.4.2. Embotellamiento.....	16
1.4.3. Piletas.....	16
1.4.4. Barricas.....	17
1.5. <i>Instrumentos para la medición de oxígeno disuelto</i>	17
1.5.1. Método polarográfico.....	17
1.5.2. Método coulombiométrico.....	18
1.5.3. Método por luminiscencia (LDO™ Hach Lange).....	19
1.6. <i>Hipótesis y Objetivos</i>	20
MATERIALES Y METODOS.....	22
2. CONSIDERACIONES GENERALES	22
2.1. <i>Sondas</i>	22
2.1.1. Sonda testigo.....	22
2.1.2. Primera sonda testeada.....	23
2.1.3. Segunda sonda testeada.....	23
2.2. <i>Comparación de las sondas</i>	24
2.2.1. Accesorios necesarios para montar las pruebas.....	24
2.2.2. Instrumental	25
2.3. <i>Dispositivo en barricas</i>	25
2.4. <i>Dispositivo Pileta CSC</i>	26
2.5. <i>Dispositivo en botellas</i>	27
2.6. <i>Calibración previa de las sondas</i>	28
2.7. <i>Pruebas</i>	29
2.7.1. Pruebas preliminares.....	29
2.7.1.1. Prueba P1 (Variación de caudal)	29
2.7.1.2. Prueba P2 (Reacción de las sondas)	29
2.7.2. Pruebas en barricas.....	30
2.7.2.1. Prueba Ba1 (Cooperativa Anne de Joyeuse sobre vino blanco).....	30
2.7.2.2. Prueba Ba2 (INRA de Pech Rouge sobre vino tinto).....	31
2.7.3. Pruebas en pileta CSC.....	31
2.7.3.1. Prueba CSC1 (Pileta de Constructions Sondées du Coteau abajo)	31
2.7.3.2. Prueba CSC2 (Constructions Soundées du Coteau arriba)	31
2.7.4. Pruebas en botellas.....	31
2.7.4.1. Prueba Bot1 (Botellas de la Cooperativa Anne de Joyeuse).....	32

2.7.4.2.	Prueba Bot2 (Botellas de Gransud)	32
2.8.	<i>Análisis estadísticos de los datos</i>	32
RESULTADOS		33
3.	RESULTADOS	33
3.1.	<i>Transformación de los datos</i>	33
3.2.	<i>Pruebas preliminares</i>	33
3.2.1.	Prueba P1	33
3.2.2.	Prueba P2	35
3.3.	<i>Pruebas en barricas</i>	37
3.3.1.	Prueba Ba1	37
3.3.2.	Prueba Ba2	41
3.4.	<i>Prueba en pileta CSC</i>	42
3.4.1.	Prueba CSC1	42
3.4.2.	Prueba CSC2	44
3.5.	<i>Pruebas en botellas</i>	44
3.5.1.	Prueba Bot1	44
3.5.2.	Prueba Bot2	45
DISCUSION		46
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS		50
BIBLIOGRAFÍA		53

Agradecimientos

Deseo extender mi más sincero agradecimiento a:

Mi director y codirector de tesis a M. Moutounet y JC Vidal por su orientación, consejos y apoyo durante mi trabajo en Francia.

A la Cátedra Enología I y II quienes me brindaron su apoyo durante el desarrollo del cursado de la maestría.

Al Dr. Ing. Agr. Hernan Ojeda y Ms. Ing Agr. Dora Strafile quienes me prestaron su invaluable sentido crítico y me guiaron en la redacción del trabajo durante mi estadía en Francia además de darme cabida en su familia durante 6 meses.

A mi esposa, Ing. Agr. Leonor Deis por su enorme apoyo emocional durante todo el desarrollo del presente trabajo y en la redacción del mismo.

Resumen

El ensayo fue desarrollado en el INRA de Pech Rouge (Francia) y el objetivo fue comparar distintas sondas de oxígeno disuelto y establecer el procedimiento a seguir para la medición. Para eso se utilizaron 3 sondas de distintas empresas y con distintos principios de medición del oxígeno. La primera sonda usada como testigo fue la sonda polarográfica de la empresa Orbisphere, la segunda sonda fue la sonda columbiométrica y la tercera sonda mide el oxígeno por el método de luminiscencia de la empresa Hach Lange. Las sondas polarográficas y columbiométrica tienen la particularidad de consumir el oxígeno que se encuentra en la muestra, por lo que necesitan un caudal de circulación apropiado para descartar errores en la medición. La sonda por luminiscencia no consume oxígeno de la muestra.

En una primer etapa se realizaron varias pruebas preliminares que consistieron en medir el oxígeno disuelto en fase líquida y gaseosa (nitrógeno aire y agua) con el fin de poner a punto las calibraciones de los equipos y revisar la metodología de trabajo. Después de las pruebas preliminares se procedió con la medición de oxígeno disuelto en vinos que se encontraban en barricas, en piletas y en botellas.

Las mediciones de oxígeno disuelto realizadas en barricas con vino, fueron realizadas a tres profundidades: en la superficie (4cm), en el medio (32cm) y en fondo (64cm) de la barrica. Para eso la muestra fue extraída de la barrica hacia las sondas con la ayuda de un dispositivo de tubos de acero inoxidable y poliamida. La medición de oxígeno de la pileta fue realizada con las sondas sumergidas en el vino y efectuando una circulación del vino (con una bomba acoplada al tanque) para evitar que las sondas consuman el oxígeno y provocar una medición por defecto. La medición de oxígeno de las botellas fue realizada gracias a un dispositivo (Orbisphere) que extrae el vino de la botella hacia las sondas.

Del resultado de las comparaciones de las tres sondas estudiadas se detectaron diferencias en la medición de oxígeno en las distintas sondas y en las diferentes pruebas. La sonda polarográfica de la empresa Orbisphere utilizada como testigo dio siempre valores concretos y repetitivos que concuerdan con los valores teóricos.

Las pruebas realizadas en barricas con vino blanco dieron resultados diferentes para las tres sondas analizadas, mientras que en el vino tinto no hubo diferencia entre la sonda polarográfica y la columbiométrica aunque sí con la sonda luminiscente. La sonda luminiscente presentó diferencias cuando las mediciones se realizaron con agitación y sin agitación observando valores normales con la medición que se realizó con agitación.

Las pruebas en piletas no dieron diferencias entre la sonda polarográfica y la luminiscente, mientras que sí hubo diferencias con la columbiométrica.

Las pruebas en botellas no dieron diferencias entre ninguna de las tres sondas analizadas.

La metodología de trabajo fue correcta, evidenciada por la repetibilidad de los valores registrados por la sonda polarográfica usada como testigo en todos los ensayos y los valores teóricos que deberían tener los vinos en el momento que se los analizó. Es posible que las diferencias observadas en la sonda columbiométrica este dada por un posible acumulación de burbujas de aire en el sector donde se encuentra el sensor, interfiriendo en las mediciones.

La sonda luminiscente tiene la desventaja de tener poca sensibilidad en las mediciones pudiendo afectar los análisis cuando los contenidos de oxígeno son inferiores a 0,5 mg/L.

Résumé

L'étude, menée à l'INRA de GRUISSAN (France), a eu pour objectif de comparer différentes sondes de mesure de l'oxygène dissous et d'affiner les modes opératoires analytiques. Pour cela nous avons utilisé 3 sondes de différentes entreprises et avec différents principes de mesure de l'oxygène. La sonde polarographique de la société Orbisphere a servi de référence pour la comparaison avec une sonde coulométrique et une sonde utilisant la luminescence de l'entreprise Hach Lange. Les électrodes des deux premières sondes ont la particularité de consommer l'oxygène qui se trouve à leur proximité. C'est pourquoi elles ont besoin que le vin circule avec un débit suffisant pour rendre négligeable cette autoconsommation. En revanche, la sonde par luminescence ne consomme pas l'oxygène de l'échantillon.

Une première étape a consisté à effectuer plusieurs essais préliminaires sur la mesure de l'oxygène dissous dans phase liquide et gazeuse (azote, air et eau) afin de mettre au point l'étalonnage des équipements et réviser la méthodologie de travail. Ensuite, des analyses ont été réalisées sur des vins en barrique, en cuve et en bouteille.

Pour les barriques, des analyses ont été pratiquées aux trois profondeurs suivantes : de -4cm à la surface de contact avec l'air, au milieu (-32cm) et au fond (-64cm) de la barrique. L'échantillon a été extrait de la barrique vers les sondes avec l'aide d'un dispositif de tubes en acier inoxydable et en polyamide. La mesure d'oxygène en cuve a été effectuée avec les sondes immergées dans le vin mis en circulation par une pompe de remontage reliée à la cuve afin de s'affranchir du problème d'autoconsommation et aboutir à un résultat par défaut. La mesure en bouteille a été effectuée à l'aide d'un dispositif de perçage du bouchon (Orbisphere) qui amène le vin de la bouteille vers les sondes grâce à l'emploi d'azote sous pression.

Ces différents essais ont révélé des comportements différents des sondes étudiées. La sonde polarographique Orbisphere, utilisée comme témoin, a toujours donné des résultats cohérents et répétables.

Les analyses faites sur les barriques de vin blanc ont donné des résultats différents pour les trois sondes utilisées. Tandis que sur les barriques de vin rouge, il n'a pas été observé de grande différence entre la sonde polarographique et la sonde coulométrique. En revanche, la sonde par luminescence a donné des valeurs différentes avec et sans agitation. Les meilleurs résultats ont été obtenus en agitant la sonde dans le vin.

Les essais dans la cuve n'ont pas mis en évidence de différence entre la sonde polarographique et la sonde par luminescence au contraire de la sonde coulométrique.

Les essais dans les bouteilles n'ont montré aucune différence importante entre les trois sondes.

La méthodologie de travail a montré sa fiabilité, notamment pour des teneurs proche de 0 à 5 ppb. Dans tous les essais, la sonde témoin a donné des valeurs répétables et en adéquation avec les valeurs théoriques citées dans la littérature. Il est possible que les différences observées avec la sonde coulométrique soient dues à une accumulation de bulles d'air au niveau du capteur qui interfèrent sur les mesures.

Quant à la sonde par luminescence, elle présente l'inconvénient d'avoir peu de sensibilité pour des teneurs en oxygène inférieures à 0,5 mg/L.

Introducción

1. Consideraciones generales

El oxígeno se encuentra en la naturaleza (a temperatura ambiente) en estado gaseoso, y representa el 20,9 % de la masa gaseosa que rodea la tierra. El resto de dicha masa está compuesta en su mayoría por nitrógeno. El oxígeno es un gas incoloro, inodoro e insípido. Sus temperaturas de ebullición y de fusión son respectivamente -183°C y -218°C ; su solubilidad en agua a 0°C es de $48,9\text{ cm}^3/\text{l}$.

Tabla 1.1: Composición del aire en la superficie terrestre (Moutounet *et col* 1991).

Elemento	Vol. %	Peso %	Masa volumétrica a 1 atm. y 0°C
Aire (seco)			1,293
Oxígeno	20,95	23,15	1,429
Nitrógeno	78,09	75,52	1,250
Dióxido de Carbono	0,03	0,046	1,977
Otros gases	RESTOS		

La masa volumétrica del oxígeno es superior a la del nitrógeno y del aire pero es inferior a la del dióxido de carbono.

1.1. Propiedades de los gases

El estado en que se encuentra la materia depende de un equilibrio entre las fuerzas de atracción de las moléculas. En un gas estas moléculas están muy distanciadas unas de otras por lo tanto la interacción entre ellas es muy baja y la masa volumétrica es pequeña.

La cantidad de gas (para un determinado número de moles n) depende de tres variables:

Volumen: **V**; Presión: **P**; Temperatura: **T**

La ecuación de un gas perfecto es:

$$PV = nRT$$

$P =$ presión en Pa;

$V =$ volumen en m^3

$R =$ constante de un gas perfecto ($8,31\text{ Joules/mol}$);

$n =$ número de moles del gas ($6,023 \times 10^{23}$ moléculas)

$T =$ temperatura absoluta ($t^{\circ}\text{C} + 273,15$).

De la ecuación anterior podemos deducir que el volumen de un gas disminuye cuando la presión aumenta y crece cuando la temperatura también lo hace. La presión aumenta con la temperatura de igual manera que el volumen.

En condiciones normales de presión y temperatura 1 mol de un gas ocupa un volumen de 22,4 litros (a 20°C y 1013 hPa). Para el caso del oxígeno, un mol con una masa de 32 gr en condiciones normales ocupa un volumen de 22,4 litros; entonces la masa volumétrica del oxígeno es igual a 1,43 gr/l.

La mezcla de gases, obedece exactamente igual a la ecuación de los gases perfectos y de la misma manera se comporta bajo la ley de los gases perfectos.

1.2. Gas disuelto en un líquido

1.2.1. Definición

Un gas está en estado disuelto cuando las moléculas del gas se encuentran en suspensión en las moléculas del líquido. Esto responde a un fenómeno físico, ya que no existe una

relación química entre las moléculas del líquido con el gas. Por el contrario, si existiera relación entre el oxígeno y las moléculas del líquido, el gas dejaría de ser gas disuelto y pasaría a estar combinado.

1.2.2. Presión parcial de un gas disuelto

La presión parcial de un gas disuelto en un líquido es igual a la presión de dicho gas (en mm de mercurio ó hPa) ejercida sobre la superficie del líquido para mantener el equilibrio con los niveles de disolución.

El aire saturado de vapor de agua tiene (a 20°C, una atmósfera de presión y considerando que la presión de vapor de agua es de 18 mm de Hg) una presión parcial de: $(760 \text{ mm Hg} - 18 \text{ mm Hg}) \times 0,209 = 155,3 \text{ mm de Hg}$ ó 207 hPa.

La presión parcial del oxígeno en equilibrio con el agua o vino saturado de aire es, a 20°C y una atmósfera de presión, de 155 mm de Hg. **Si la presión atmosférica aumenta, también lo hace la concentración de oxígeno que se encuentra en el vino en equilibrio con la presión parcial.**

1.2.3. Solubilidad y concentración

La concentración másica del gas es la masa de dicho gas por unidad de volumen. Se pueden expresar como ppm (mg/kg) ó en ppb (µg/kg).

La concentración másica o molar de un gas disuelto está ligada a la presión parcial por la ley de Henry:

$$P_{O_2} = H \times C$$

Donde P_{O_2} es la presión parcial del oxígeno,

H es la constante de Henry,

C es la concentración del oxígeno.

La constante de Henry es llamada comúnmente coeficiente de solubilidad, que depende de la naturaleza del gas en estudio, de la temperatura y del tipo de sustancia líquida. La solubilidad del oxígeno es inversamente proporcional al coeficiente de Henry.

Para una temperatura determinada la constante da valores diferentes en el agua y en mostos o vinos y varía según la evolución del medio. En general las sales y los azúcares presentes en el medio producen un aumento del 10% de la constante con respecto al agua, provocando una disminución de la solubilidad del oxígeno (Riba 1990).

Considerando soluciones hidroalcohólicas, la concentración de oxígeno disminuye cuando la concentración de etanol aumenta hasta valores de 25 % v/v pero después los valores de oxígeno aumentan exponencialmente cuando los contenidos de alcohol se encuentran por encima de 40% v/v (Figura 1.1).

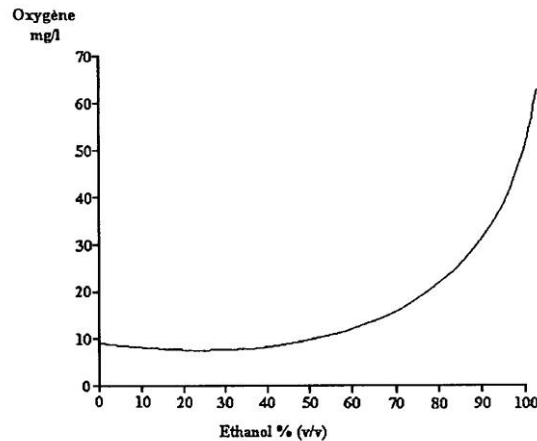


Figura 1.1: Solubilidad del oxígeno en el aire en mezclas hidroalcohólicas a 20°C y presión atmosférica (Moutounet 1991).

También está demostrado que la solubilidad del oxígeno en el agua aumenta cuando la temperatura disminuye (figura 1.2). Este aumento de la solubilidad es gradual y continuo. Cuando la temperatura del agua es igual a 0°C la concentración de oxígeno disuelto se encuentra en valores cercanos a 14,5 mg.l⁻¹ (Hitchman 1978).

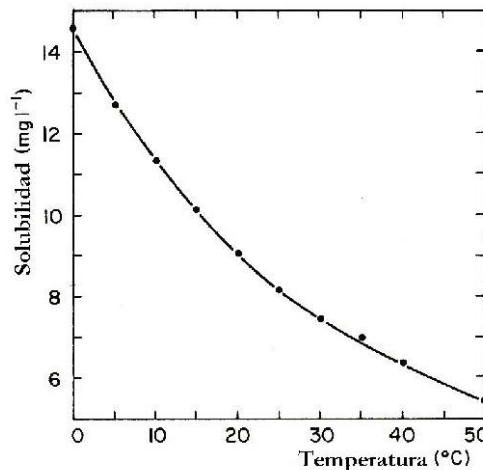


Figura 1.2: Variación de la solubilidad del oxígeno en agua, en contacto con aire saturado de vapor de agua, a distinta temperatura y presión constante de 760 mm de Hg (Hitchman 1978).

Está demostrado que la presencia de solutos en la fase líquida trae como consecuencia un aumento en la constante de Henry y una disminución en los contenidos de oxígeno en el líquido. Esto se puede ver en la tabla siguiente:

Tabla 1.2: Solubilidad del oxígeno en equilibrio de saturación a 20°C. (Moutounet *et col* 1991).

	Agua destilada	Solución de NaCl 30%	Jugo de uva	Vino (etanol 10% v/v)	Agua ardiente (etanol 66% v/v 3 gr de extracto seco)
Presión parcial (mm de Hg)	155	155	155	155	155
Porcentaje de saturación	100	100	100	100	100
Concentración mg/l	9,2	7,4	6,5	8,4	15,0

La solubilidad del oxígeno varía muy poco de un vino a otro considerando la misma temperatura y presión.

Cuando un gas está en contacto con un líquido, primero se disuelve progresivamente hasta alcanzar un equilibrio (la presión parcial del gas disuelto igual a la presión parcial del gas en contacto con la superficie del líquido). La velocidad de disolución esta dada por la siguiente ecuación:

$$\frac{dc}{dt} = k_l \cdot a (C^* - C_i)$$

C^* = concentración de gas en equilibrio (ligado a la presión parcial por la ley de Henry),

C_i = concentración inicial del gas disuelto,

K_l = coeficiente volumétrico de transferencia de la materia,

a = superficie específica de la interfase gas/líquido expresado en m^2/m^3 .

Del análisis de esta ecuación se concluye que los aportes de oxígeno van a aumentar cuando disminuye el espesor del líquido, aumenta la superficie de contacto entre el aire y el líquido y también la persistencia de la capa de aire en la superficie.

En laboratorio, la saturación del vino con oxígeno se realizó en 30 segundos por agitación con igual volumen de aire. Según mediciones realizadas los vinos disuelven sin agitación 5mg de oxígeno en 20 minutos por cada 100 cm^2 de superficie de contacto con el vino (Ribereau-Gayon citado en Moutounet 1991).

1.3. Consumo del oxígeno por el vino.

Cuando el vino ha sido saturado de oxígeno disuelto, éste se consume en el vino y el potencial de óxido reducción disminuye poco a poco. Se puede repetir esta operación varias veces y al principio se nota una mejora en la calidad organoléptica, pero después de varias saturaciones la situación cambia y se produce una degradación del producto (pardeamiento, aparición de aromas oxidados, precipitaciones) (Flanzy 2000).

Algunos autores remarcan la gran capacidad del vino de consumir oxígeno. La presencia de oxígeno en los vinos es una característica que no perdura en el tiempo debido a la propiedad del vino de consumir cantidades determinadas de oxígeno. Este consumo de oxígeno está dado por las características propias de cada vino y en particular por la proporción de sustancias que lo componen (polifenoles, anhídrido sulfuroso, presencia de lías, etc.). Debido a eso, vinos guardados en recipientes completamente cerrados (sin contacto con el aire) después de un cierto tiempo poseen valores de oxígeno cercanos a cero ppb.

La velocidad de consumo de oxígeno disuelto está influenciada también por la temperatura del vino. Un vino tinto saturado de oxígeno puede consumir todo el oxígeno en 25 días a 13 °C, en 18 días a 17°C, en 4 días a 20°C, en 3 días a 30°C y puede ser consumido en algunos minutos si el vino se encuentra a 70°C (Riberau Gayon citado en Moutounet 1991).

Como lo muestra la figura 1.3 la cantidad de oxígeno que puede consumir un vino en 10 días es de aproximadamente 340 mg/l, esto equivale a saturar el vino unas 40 veces con aire (Moutounet 1991).

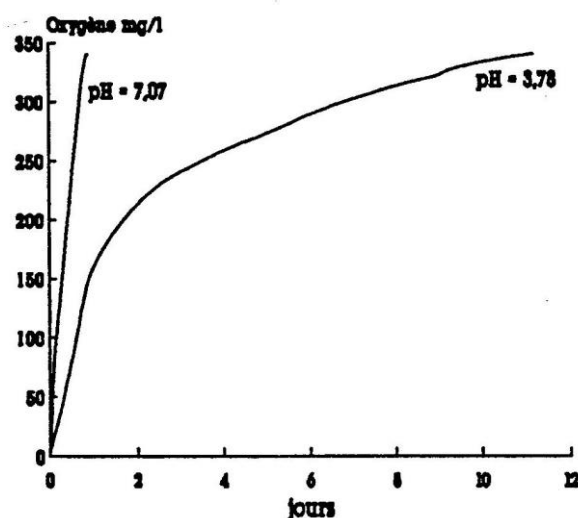


Figura 1.3: Capacidad de consumo de oxígeno de un vino de Madiran (Moutounet 1991).

Para otros autores la cantidad de oxígeno que puede ser consumida por el vino es mayor ya que señalan consumos de 600 ml/l para los vinos tintos y 60 ml/l para vinos blancos (Singleton 1987).

1.3.1. Mecanismo de acción del oxígeno en el vino

El oxígeno molecular es paramagnético y tiene dos electrones no apareados que le confieren un estado de triplete y un comportamiento de radical doble. En esta forma el oxígeno no puede reaccionar con otros compuestos orgánicos que generalmente se encuentren en estado simple porque es un proceso sin cambios de electrones. La mayoría de los compuestos orgánicos no producen compuestos estables en estado de triplete y el oxígeno puede reaccionar solamente con moléculas que tengan electrones no apareados (radicales libres). Esta condición contribuye a formar una barrera cinética que impide la iniciación de la reacción con O_2 (Singleton 1987).

Los fenómenos de oxidación en los vinos, en los cuales están incluidos las sustancias fenólicas, son de extrema complejidad y muchos de ellos aun son un interrogante. Pero está demostrado que la capacidad de los vinos de consumir oxígeno está directamente relacionada con su contenido en polifenoles (Singleton 1987).

Para que exista una reacción de oxidación en el vino, el oxígeno o bien el otro compuesto debe estar activado. La presente activación del oxígeno molecular en superóxido (O_2^{\bullet}) está bajo la dependencia del hierro ferroso por su influencia catalítica (Singleton 1987, Danilewicz 2003).

El anión superóxido (O_2^{\bullet}) da por dismutación (reacción de una molécula de oxígeno conjuntamente con la oxidación de una segunda) el peróxido de hidrógeno H_2O_2 .

El peróxido de hidrógeno es muy reactivo cuando no está como radical libre. Éste puede, en presencia de hierro ferroso, descomponerse para dar un radical libre hidróxilo extremadamente reactivo (OH^{\bullet}). Este radical es miles de veces más reactivo que el anión superóxido y que el oxígeno molecular. Cuando ya está activado puede formar radicales libres a partir de moléculas orgánicas autooxidables. Son inestables y fuertes intermediarios oxidantes:

Peroxilo **ROO \bullet**

Alcoxilo **RO \bullet**

Hyperoxilo **ROOH \bullet**

Por otro lado tenemos a los compuestos fenólicos considerados como los principales reductores primarios. Estos compuestos fenólicos están equilibrados entre la forma ortodifenol y la forma fenato dependiendo del pH de la solución. El pKa de los fenoles naturales se sitúa entre 9 a 10, por lo que al pH del vino la forma fenato tiene una concentración baja. También se puede decir que a pH 4 hay 9 veces más fenato que a pH 3 (Singleton 1987).

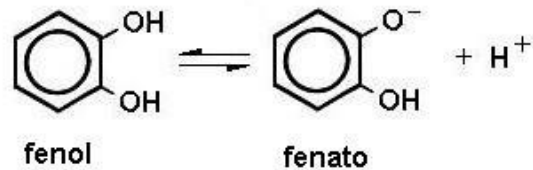


Figura 1.4: Equilibrio entre la forma fenol y la forma fenato (Singleton 1987).

El radical semiquinónico es la forma activada mayoritaria de substratos fenólicos directos de la oxidación y estaría formado por la reacción del oxígeno molecular con la forma fenato. Una estabilización relativa se produce por deslocalización del electrón libre hacia la nube electrónica del núcleo bencénico, confiriendo al radical una duración suficiente para participar de distintas reacciones (figura 1.5).

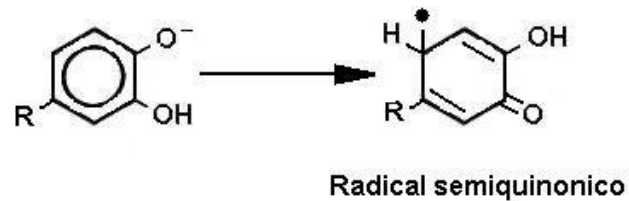
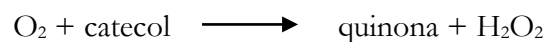


Figura 1.5: Activación de los compuestos fenólicos (fenatos) a formas radicales semiquinónicos.

La reacción de los radicales que estarían implicados en una serie de reacciones, puede ser representada por la siguiente ecuación:



La fase limitante de este proceso es la producción de semiquinonas debido principalmente a la débil concentración de iones fenato, al pH ácido del vino.

Otras reacciones podrían llevar al mismo resultado, como las hidroxilaciones de tipo Felton, interviniendo el peróxido de hidrógeno y el ión ferroso para dar el radical hidroxilo o un complejo activo del hierro (Danilewicz 2003).

Los polifenoles son descriptos como reductores primarios, reductores secundarios y catalizadores o sea que pueden intervenir en casi todas las reacciones de oxidación. En la figura 1.6 se ve un ciclo de regeneración de los reductores primarios:

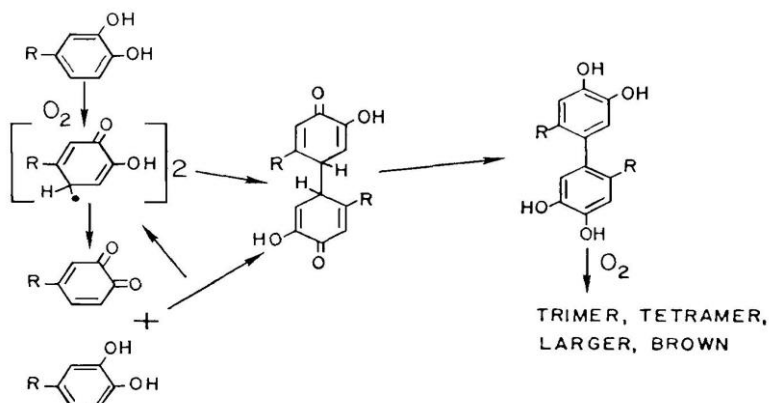


Figura 1.6: Ejemplo simplificado de la regeneración de un oligómero oxidable por reacción entre dos semiquinonas y un fenol (Singleton 1987).

Los átomos de hidrógeno emigran para regenerar la molécula de la forma quinona a una nueva hidroquinona (forma orthodiphenol) y este último puede entrar nuevamente al ciclo. A partir de monómeros se forman dímeros, después se forman los trímeros y así sucesivamente hasta las formas más condensadas (figura 1.7). De esta manera las estructuras se vuelven condensadas y la probabilidad de que dos moléculas estén en posición de combinarse se vuelve escasa, y la reacción se retrasa (Singleton 1987).

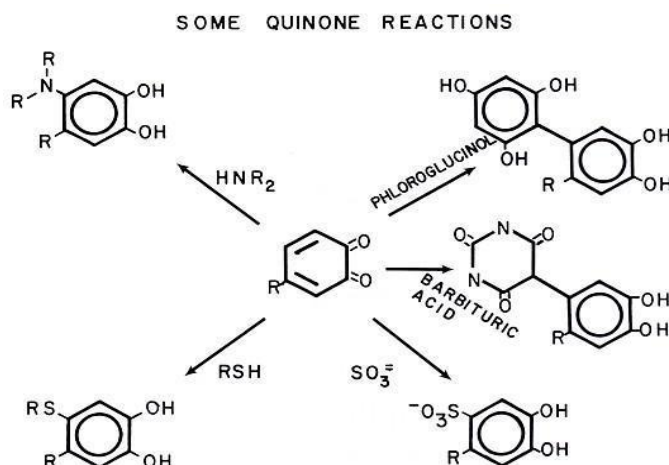


Figura 1.7: Reacciones adicionales de quinonas (Singleton 1987).

Todas las moléculas anteriores se regeneran a hidroquinona, permitiendo una nueva oxidación. Ciertas moléculas regeneradas tendrían un potencial redox menor que la de origen por lo tanto se oxidarían más rápido, de esta manera se habla de acción pro-oxidante de los compuestos fenólicos o auto-catalizador de la oxidación de los fenoles. La reincorporación de estos polifenoles neoformados en el grupo de los substratos explica el alto nivel de la oxidabilidad por unidad de polifenol original (Singleton 1987).

Pero, mientras más compuestos fenólicos tomados en el ciclo como reductores, más se oxidan fácilmente, de esta manera los otros compuestos no forman parte del ciclo. Éstos se encuentran así protegidos (acción antioxidante) mientras las reacciones de polimerizaciones sean más rápidas que las reacciones de oxidación primarias.

Esto explicaría la diferencia entre una oxidación manejada donde los polifenoles tienen tiempo de ser regenerados (microoxigenación) y una oxidación violenta, donde la cantidad de oxígeno disuelto es suficiente para oxidar todos los substratos simultáneamente.

1.3.1.1. Oxidación del etanol

El etanol es uno de los compuestos mayoritarios de los vinos, pero éste es muy poco oxidable en las condiciones de temperatura y pH del vino. Sin embargo la producción de aldehído esta relacionada con la oxidación de un fenol y luego la reacción con el etanol (Wildenradt *and* Singleton 1974).

En el desarrollo de la reacción podemos ver la formación de moléculas de peróxido de hidrógeno que reaccionan luego con el etanol para dar como resultado el acetaldehído.

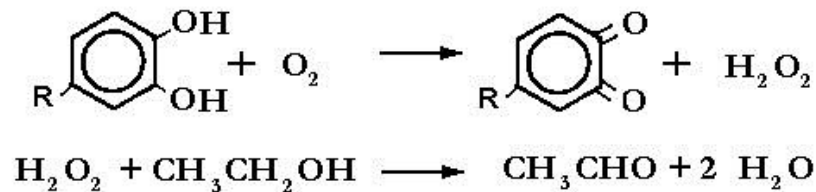
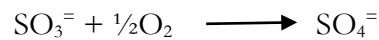


Figura 1.8: Producción de etanal a partir de la oxidación del etanol (Wildenradt *and* Singleton 1974, Singleton 1987).

1.3.1.2. Consumo por el SO₂

El anhídrido sulfuroso es utilizado como aditivo en los mostos y en los vinos con fines antisépticos y antioxidantes. Su efecto antioxidante está demostrado en los vinos blancos, pero no influye prácticamente en el consumo de oxígeno en el vino tinto.

El anión sulfito libre puede combinarse directamente con el oxígeno molecular para dar sulfatos según la siguiente reacción:



Esta reacción es muy lenta ya que la proporción de sulfitos a los pH del vino es muy baja. La rol de los sulfitos se sitúa en otro nivel. Estos estarían interviniendo en la reducción de los ortoquinonas. Por otra parte, teniendo en cuenta la rapidez de la reacción entre el SO₂ y el peróxido de hidrógeno H₂O₂, este estaría en parte combinada, reduciría la posibilidad de oxidaciones de numerosas sustancias orgánicas (Moutounet 1991).

1.3.1.3. Otros consumos de oxígeno

El ácido ascórbico y algunos metales de transición (hierro y cobre) en pequeñas cantidades no justifican el consumo habitual del oxígeno. El ácido ascórbico posee una función diénol susceptible a ser oxidada a dicetona muy oxidable.

El ácido tartárico también podrá ser oxidado en presencia de un catalizador metálico produciendo los ácidos dioxitartárico y dioximaléico, luego el glioxal y el ácido oxálico (Danilewicz 2003).

El oxígeno puede estar excitado y llevado a un estado determinado en el que es capaz de reaccionar bajo la acción de la luz, en presencia de pigmentos fotosensibles. Pero, como generalmente los vinos se guardan en la oscuridad (recipientes metálicos, mampostería etc.) esta reacción no es importante para la oxidación de los vinos. Por eso el empleo de botellas pigmentadas trata de proteger al vino de la luz para evitar la oxidación (sabor a luz) (Charpentier *et col* 1981, Maujean *et col* 1978, 1983).

También se ha encontrado que las lías de las levaduras que quedan después de la fermentación alcohólica son grandes consumidoras de oxígeno (Cheynier *et col* 1997, Fornairon *et col* 1999, Salmon *et col.* 2002).

1.3.1.4. Consecuencias de la oxidación sobre la estructura de compuestos fenólicos y sus características organolépticas.

1.3.1.4.1. Degradación de antocianos

Los antocianos libres son sensibles a la oxidación, son transformados irreversiblemente en compuestos incoloros o amarillentos. La oxidación depende de la naturaleza de las moléculas, de la estructura y del ambiente. Las moléculas poseen una función ortodifenol sobre el ciclo lateral (delphinidina, petunidina y cianidina) que se oxida muy rápido en ortoquinonas pero ellas son pocas en los vinos. Los otros constituyentes (paenodinina y malvidina) son más estables.

La oxidación de las moléculas depende del pH, de la temperatura y de la composición de la solución.

1.3.1.4.2. Degradación y polimerización de taninos

Los taninos son igualmente sensibles a la oxidación. Las soluciones acuosas de procianidinas amarillean y perduran sobretodo a pH alcalinos. En los vinos estas reacciones son favorecidas por las oxidaciones violentas o temperaturas elevadas. Organolépticamente presentan una disminución de la astringencia.

Los caracteres astringentes de los taninos estarían dados por la formación no específica e irreversible de uniones hidrógenos entre grupos ortodifenoles y proteínas de la cavidad bucal. El grado de astringencia de taninos está ligado íntimamente a la naturaleza de la estructura (Singleton *et col* 1976).

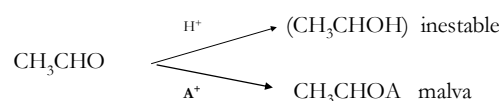
En los vinos está sugerido que el equilibrio entre amargor y astringencia está condicionado por la concentración de procianidinas: un crecimiento en los tenores tiene por efecto de marcar la amargura. En los casos donde interviene las procianidinas sólo las pequeñas moléculas de oligómeros son suficientemente solubles para poder cruzar la membrana lipídica y acceder a los receptores responsables de la sensación de amargura. Se ve que los mecanismos de oxidación tal como están descritos más arriba conducen a una polimerización de procianidinas que tendrán una tendencia a disminuir la sensación amarga (Singleton *et col* 1976).

Por otro lado la microoxigenación actúa estabilizando el color y disminuyendo la astringencia (Zamora *et col* 2001).

1.3.1.4.3. Reacción de condensación taninos - antocianos

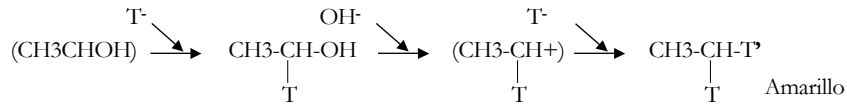
Si el contenido de SO₂ libre no es superior a lo que usualmente se usa en las prácticas enológicas (menos de 30 mg/l) y en medio ácido, el etanal reacciona para su estabilización con un catión que puede ser un protón H⁺ o un catión flaviliun. En este último caso la formación de un derivado antociánico en el color es desplazado hacia los colores malva (máxima absorción hacia las grandes longitudes de onda) (Glories 1990).

El esquema de la reacción sería el siguiente:

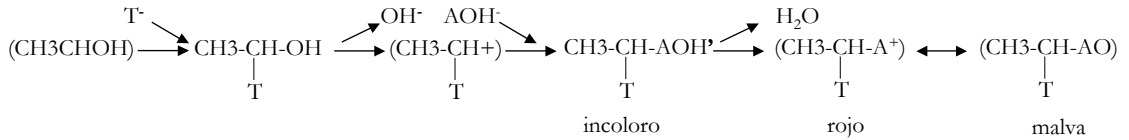


Los nuevos cationes formados son muy reactivos sobre todo frente a sustitutos nucleófilos tales como los taninos (T⁻) y los antocianos (AOH⁻). Las siguientes reacciones dependen de proporciones relativas de estos dos aniones:

- Medio rico en taninos y pobre en antocianos:

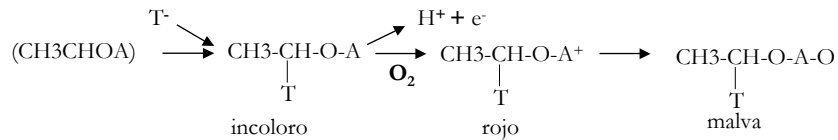


Polimerización muy desordenada con formación de taninos muy incómodos:



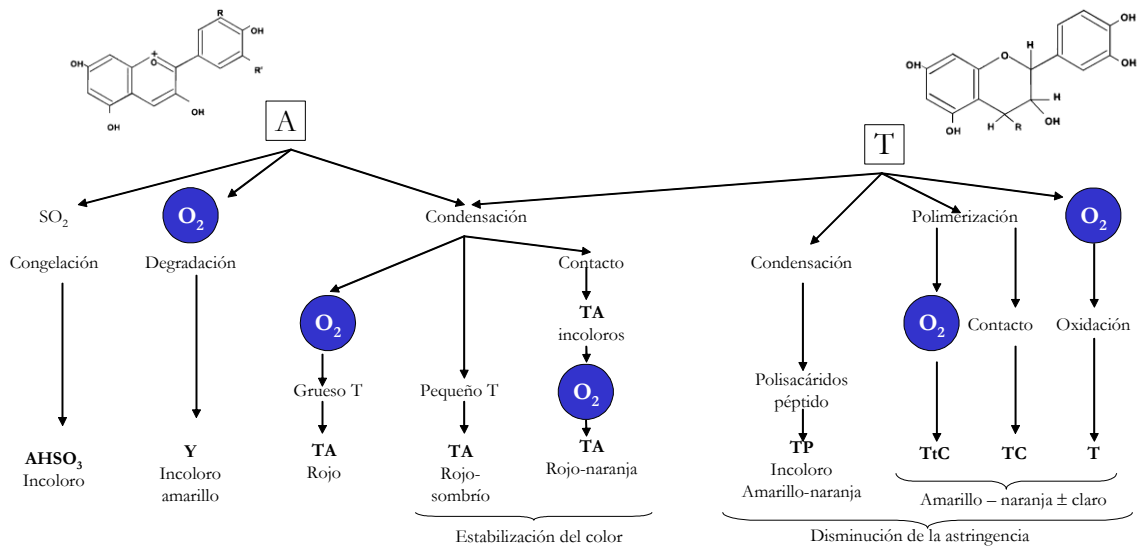
Aparición después de perder agua de un nuevo equilibrio interviniendo un complejo tanino/antociano.

- Medio rico en antocianos y pobre en taninos:



En el primer complejo formado, la estructura antociana está bajo la forma flaviliun (incoloro), pero después de la oxidación se puede transformar en ión flaviliun para dar un complejo rojo a malva.

Para resumir las distintas combinación de los compuestos fenólicos se muestra la siguiente esquema donde muestra la evolución de los compuestos fenólicos durante la conservación de vino tinto (Glories 1990):



TA: complejo tanino antociano
 TP: complejo tanino polisacárido
 TC: taninos condensados
 TtC: taninos muy condensados
 T: taninos

1.4. Los agregados de oxígeno a los vinos.

1.4.1. Agregados operacionales.

Los vinos pueden sufrir durante su conservación hasta el embotellado, varios agregados de oxígeno que pueden ser accidentales o propios de las maquinarias utilizadas. Estos agregados de oxígeno pueden llegar hasta saturación en algunos casos extremos o por el contrario, si se toman las debidas precauciones los aportes pueden ser insignificantes.

Las distintas operaciones de trabajo de una bodega implican que los vinos incorporen oxígeno. La cantidad de estas incorporaciones está dada por el tipo de trabajo que se realice y el tipo de maquinaria que se utilizada.

Tabla 1.3: Disolución del oxígeno en el curso de las operaciones tecnológicas (Vidal *et col* 2001,2003, 2004).

Operación	Oxígeno disuelto (mg/l)
Bombeado normal	0,1 – 0,2
Filtración	0,7
Centrifugación	1,0
Microfiltración tangencial	1,5
Embotellado	1,6

El bombeado defectuoso, con fugas en alguna estopada o conexión de mangueras, provoca una intensa aireación.

1.4.2. Embotellamiento

El embotellado también es una fuente de enriquecimiento de oxígeno, ya que una botella llena con aire contiene $(0,75 \text{ l} \times (32\text{g}/22,4 \text{ l O}_2)) \times 20,9\% \text{ O}_2 = 0,224 \text{ g}$ de oxígeno por botella (Moutounet 1991).

Debido a la cantidad de oxígeno que contiene la botella en el momento de embotellaje, es indispensable que las líneas de trabajo cuenten con el sistema de inertisaje con nitrógeno para poder disminuir la cantidad de oxígeno que está en contacto con el vino y evitar así la disolución del mismo.

Existen trabajos donde se muestra la importancia del inertisaje en una línea de embotellamiento ya que la ausencia de nitrógeno en la línea puede provocar un aumento de oxígeno de 0,28 mg/l (Vidal *et col* 2004).

1.4.3. Piletas

En las piletas generalmente los aportes de oxígeno al vino son casi nulos, dependiendo de las características de la misma. Contenidos de 20 a 50 $\mu\text{g/l}$ pueden ser encontrados en piletas, sin embargo con la utilización de sondas de mejor precisión ($\mu\text{l/l}$) y teniendo precauciones en las manipulaciones los contenidos de oxígeno pueden ser menores (Moutounet y Mazauric 1999).

Se puede decir que piletas mal cerradas en la parte superior producen un permanente intercambio de oxígeno entre la parte superior del vino con el aire, fenómeno similar al observado en barricas, donde los primeros 10 cm de vino pueden estar más enriquecidos en los contenidos de oxígeno disuelto (Moutounet 2000). De todas maneras este aporte no es de importancia y mucho más si el tamaño de la piletta es grande, ya que la relación entre la superficie del vino (tapa de la piletta) con la cantidad de vino (volumen total) que existe en la piletta es muy pequeña.

1.4.4. Barricas

Las barricas proporcionan un continuo y pequeño aporte de oxígeno al vino. Esta cantidad está estimada en 20 a 30 ml por litro en barricas de 225 litros (Ribereau-Gayon 1931). Mientras más nueva es la barrica los aportes de oxígeno son mayores ya que con el tiempo los depósitos de cristales de tartrato ácido de potasio van colmatando la parte interna de las duelas limitando el intercambio gaseoso (Vivas *et col* 1993).

Las barricas permiten una oxidación regular y permanente del vino. Los procesos oxidativos son muy suaves cuando los contenidos de SO₂ libre son normales (20-25 mg/l). La cantidad de oxígeno que pasa a través de los poros de la madera está ligado a muchos factores propios de la madera y factores externos. Entre los factores internos podemos decir que es muy importante el tipo la especie utilizada y la región de origen de la madera, el tamaño del poro y la edad de la barrica. Entre los factores externos podemos nombrar los procesos de secado (artificial y natural) y la técnica de fabricación de la barrica (*chauffage*) entre otros (Glories 1990).

1.5. Instrumentos para la medición de oxígeno disuelto

La medición del oxígeno disuelto se realiza con sondas específicas. Estas sondas tienen distintas denominaciones dependiendo del principio electroquímico que utilicen. En todas ellas, la muestra (vino) está separada de la sonda por una membrana permeable al oxígeno.

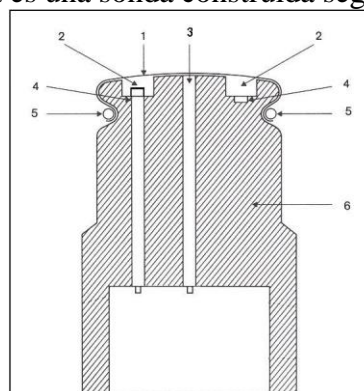
Actualmente las mediciones están basadas en los siguientes principios:

- Método polarográfico (tipo sonda de Clark).
- Método coulombiétrico (tipo pila galvánica de Hersch).

Existe en la actualidad otro tipo de sonda desarrollada y puesta en el mercado hace muy poco tiempo (menos de 1 año), cuyo principio se basa en un nuevo método de medición de última tecnología, la luminiscencia.

1.5.1. Método polarográfico

La sonda polarográfica es una sonda construida según el principio de Clark.



(1) Membrana; (2) Electrolito; (3) Cátodo; (4) Ánodo; (5) O-ring; (6) Material aislante del detector.

Figura 1.9: Esquema de las partes que componen la sonda polarográfica (Hitchman 1978)

Consta de una celda electroquímica formada por un ánodo (plata) y un cátodo (oro) sumergidos en un electrolito (KCl), y protegidos por una membrana permeable al oxígeno de características definidas por el fabricante.

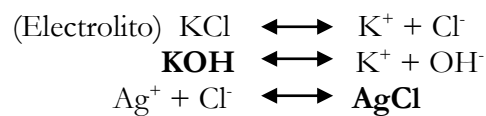
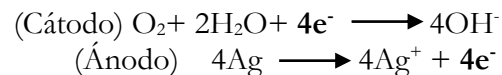
Las membrana utilizada en la sonda A tiene las siguientes características: espesor 25µm; gama de medición para oxígeno disuelto 0,1 ppb a 20 ppm; gama de medición para oxígeno

gaseoso 0,25Pa a 50 KPa; tiempo que respuesta 7,2 segundos; caudal recomendado en la cámara de circulación para líquidos 10,8 l/h; caudal gaseoso recomendado 0,1 a 3 l/minuto.

El oxígeno penetra a través de la membrana y cuando la sonda aplica una tensión de 0,75 volt comienza la reacción en el cátodo que induce una corriente eléctrica proporcional a la cantidad de oxígeno entrante en la célula.

La cantidad de oxígeno entrante en la célula es proporcional a la presión parcial o fugacidad del oxígeno en el exterior de la membrana.

Después de aplicada una tensión de 0,75 volt la reacción se puede resumir así:



La membrana juega un papel muy importante ya que depende de ella la cantidad de oxígeno entrante. La proporción de oxígeno que la puede atravesar dependerá de algunos factores, entre ellos tenemos:

- La presión del oxígeno sobre la membrana (PO_2).
- La permeabilidad de la membrana (Sm).
- El coeficiente de difusión del oxígeno del material empleado para la fabricación de la membrana (Dm).
- El espesor de la membrana (Xm).

Todas las características de la membrana determinan la cantidad de moléculas de oxígeno que penetran en la sonda, la que está representada por la siguiente ecuación:

$$\text{Pm} = \frac{\text{PO}_2 \times \text{Sm} \times \text{Dm}}{\text{Xm}} \quad (1)$$

La corriente eléctrica generada por la sonda es directamente proporcional al número de moléculas y convertida en presión parcial de oxígeno disuelto según la ecuación:

$$\text{I} = \frac{4 \text{FA Dm Sm PO}_2}{\text{Xm}}$$

I = corriente de la sonda

4 = Número de electrones por molécula de oxígeno

F = Faraday

A = Superficie del cátodo

$\text{Dm}, \text{Sm}, \text{PO}_2, \text{Xm}$ son características de la membrana colocadas en la ecuación anterior (1)

1.5.2. Método coulombiométrico

La sonda coulombiométrica es una sonda construida según el principio de la pila de Hersch. Tiene similares características que la nombrada anteriormente. Las diferencias radican en que la celda electroquímica está construida con oro (cátodo) y plomo (ánodo) y el tamaño de los mismos es extremadamente pequeño por lo que se los denomina comúnmente microcaptore.

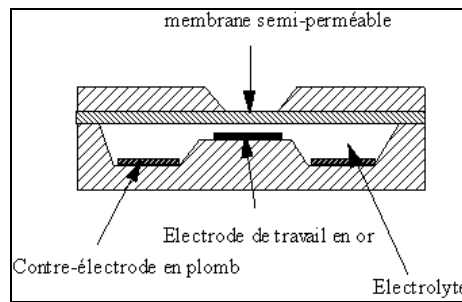
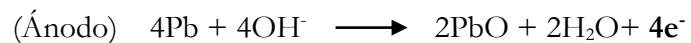
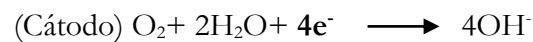


Figura 1.10: Esquema del microcaptor (LAAS).

Construir captore de tamaño reducido tiene como finalidad, disminuir el costo de fabricación y precio de venta de la sonda, como también disminuir en gran medida el mantenimiento de la sonda. Cuando la sonda se encuentra con problemas basta con cambiar completamente el captor viejo por uno nuevo.

Los dos electrodos se encuentran en una solución electroquímica semisólida a base de KHCO_3 separada de la muestra por una membrana de similares características que la sonda polarográfica.

La reacción que se produce se puede resumir así:



La concentración de oxígeno esta basada en la siguiente ecuación:

$$w = \frac{M i t}{\eta F}$$

w = masa (gr) de la sustancia,
 M = peso molecular,
 i (A) = intensidad de corriente,
 t = tiempo (segundos)
 η = es la fracción total de la cantidad de sustancia electroactiva de la muestra que reacciona con el electrodo.

Como es una reacción directamente proporcional entre la corriente “ i ” y la masa “ w ”, la medición de esta corriente puede ser utilizada como método absoluto del análisis químico.

1.5.3. Método por luminiscencia (LDO™ Hach Lange)

El principio de medición con LDO™ se basa en el aspecto físico de la luminiscencia. Esto se define como la característica de ciertos materiales (luminiscentes) para emitir luz, que no es producto del calor sino como resultado de la excitación por luz.

El tipo de luminiscencia y la longitud de onda de la luz de la excitación, han sido cuidadosamente seleccionado, y la intensidad y el decaimiento de la radiación de la luminiscencia en un cierto tiempo es dependiente de la concentración de oxígeno que rodea el material.

El sensor de LDO™ esta compuesto por dos componentes:

- El capuchón del sensor (fabricado de un material transparente al que se le ha aplicado el material luminiscente).
- El cuerpo del sensor con el LED azul y otro rojo, un fotodiodo y una unidad electrónica del análisis.

Fases de la Medición:

Se emite una luz azul hacia la superficie luminiscente que instantáneamente se activa. La superficie luminiscente reemite una luz roja que es detectada en el foto diodo. En esta parte la cantidad de luz reemitida roja, es inversamente proporcional a la concentración de oxígeno disuelto.

El tiempo de retorno al descanso de la capa luminiscente se reduce con la presencia de oxígeno. Este tiempo es lo que se toma el sistema para relacionarlo con la concentración de oxígeno.

Entre los dos flash de color azul la sonda emite un flash de luz roja para que el sistema tome como referencia para determinar la concentración de oxígeno disuelto. De esta manera siempre el sistema tiene un valor de referencia con el que compara permanentemente sin necesidad de nuevas calibraciones (Hach Lange 2004).

Los siguientes esquemas muestran como es la fase de medición:

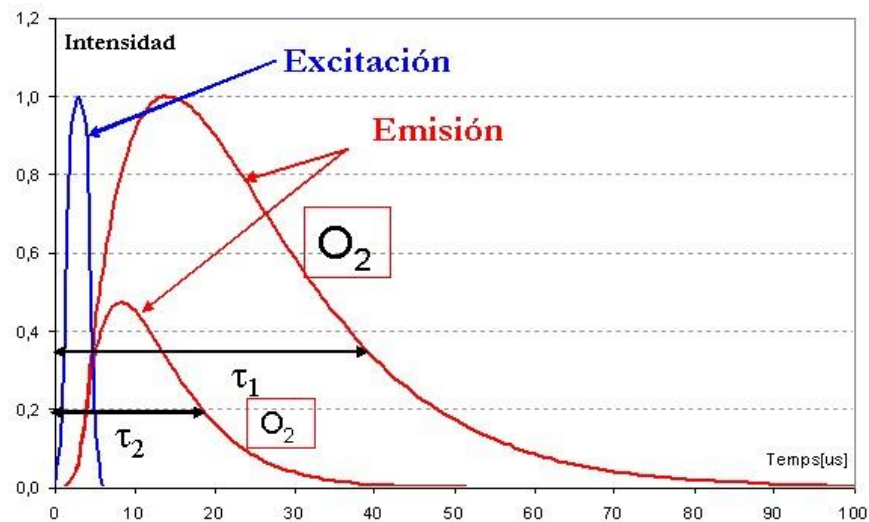
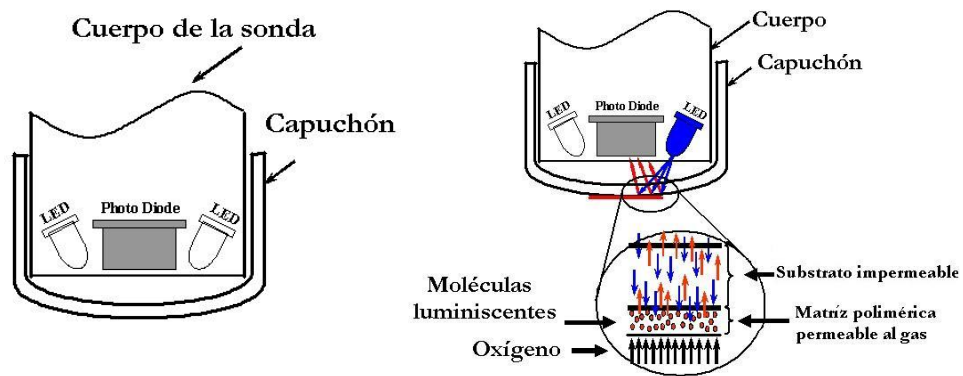


Figura 1.11: Esquemas del proceso de medición de la sonda por LDO (Hach Lange).

1.6. Hipótesis y Objetivos

Las sondas en estudio presentan el mismo comportamiento, igualando las condiciones en las que se realizan las muestras.

Las sondas deberán registrar valores de oxígeno disuelto similares en las distintas condiciones de trabajo en una bodega ya sea en vinos en reposo o en movimiento, jóvenes o añejos, en tanques o barricas.

El primer objetivo es evaluar el comportamiento de las sondas polarográficas, coulombiométricas y por luminiscencia utilizadas para la medición del Oxígeno disuelto en vinos, en distintas condiciones, similares a las de trabajo en una bodega

Materiales y Métodos

2. Consideraciones Generales

Para la evaluación de las sondas se realizaron varias pruebas en distintas situaciones con el objetivo de establecer sus comportamientos y protocolos de mediciones. Las mediciones se realizaron en el laboratorio y bodega del INRA de Pech Rouge, centro de embotellamiento de Narbonne (Francia) y bodega en Limoux (Francia) desde julio de 2004 hasta setiembre de 2004.

En algunas pruebas realizadas las condiciones operacionales cambiaron, debido a que los lugares y la forma de trabajo fueron distintos.

Las mediciones que se realizaron estuvieron concentradas en:

- Barricas
- Tanques
- Botellas

Antes de comenzar con la diseño de los distintas pruebas, se describen las distintas sondas y los distintos componentes que forman parte de accesorios de cada una de ellas, los que se usaron en los distintas pruebas.

2.1. Sondas

2.1.1. Sonda testigo

La sonda utilizada como testigo es una sonda de origen Suizo de marca Orbisphere que ha sido probada en varios trabajos para medir oxígeno disuelto (Soberka, Warzecha 1986; Zingarelli, Gerbi 1999; Vallade, Tribut-Sohier 2001; Vidal 2001, 2003, 2004).

El sector donde se encuentra el electrodo tiene un diámetro de 27 mm, lo que la diferencia de la sonda testada cuyo diámetro es inferior (figura 2.4). En la figura 2.1 se pueden ver las dimensiones y características de la sonda.

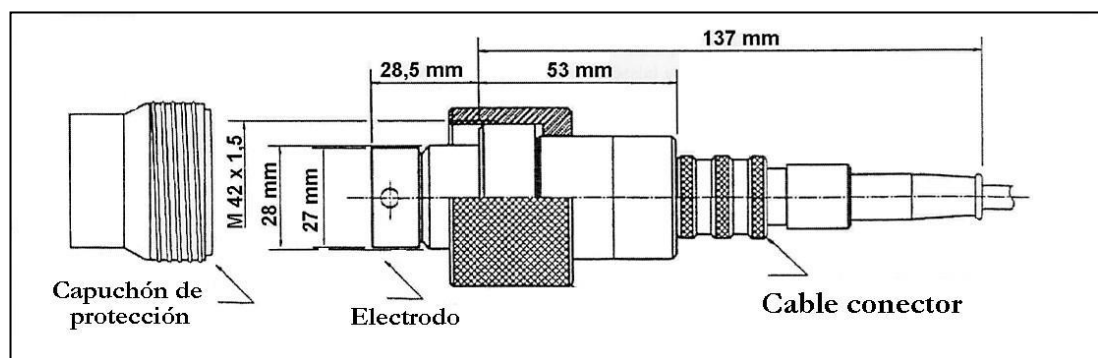


Figura 2.1: Esquema de la sonda testigo (Orbisphere).

Para su identificación la llamaremos “sonda A”. En algunas pruebas son utilizadas dos sondas de la misma empresa por lo que las mismas tendrán un número indicando la sonda correspondiente (“A1” y “A2”). La membrana que se utilizó fue la 2956A ya que el tiempo de respuesta de la medición con esta sonda es rápido (7 segundos) y la sensibilidad es de 0,1 ppb (datos Orbisphere).

Todas las sondas polarográficas como la que usamos como testigo consumen el oxígeno de la muestra. Por ello las mediciones que se realizan con esta sonda tienen que estar en medios agitados, para evitar que los valores sean erróneos.

La sonda está compuesta con varios accesorios que se amoldan a la situación de trabajo y a las diferentes mediciones que se requieren. Posee una cámara de circulación que se puede acoplar en la cabeza de la sonda (ver figura 2.2) y de esta manera se genera una circulación de vino en la sonda y puede ser usada en otras situaciones por ejemplo medición de oxígeno en botellas.

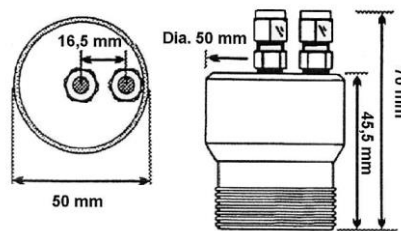


Figura 2.2: Esquema de la cámara de circulación que se monta sobre la sonda (Orbisphere).

2.1.2. Primera sonda testada

Para fines prácticos la llamaremos a la sonda columbiométrica **sonda “B”**.

Esta sonda evaluada presenta menos accesorios que la. Eso hace que el mantenimiento de la sonda sea bajo.

La zona donde se encuentra el electrodo tiene un diámetro de 3 milímetros de ancho. Esta sonda al igual que la polarográfica, también consume oxígeno y por lo tanto deben tomarse las mismas precauciones. Tiene una cámara de circulación, de igual característica que la mostrada en la figura 2.2, para realizar los mismos tipos de mediciones que la sonda testigo. La cámara de esta sonda tiene las mismas características que la sonda testigo (la entrada del vino se encuentra en el centro de la sonda justo sobre el microcaptor de la misma). La sensibilidad de la sonda es de 0,1 ppb (datos del constructor).



Figura 2.3: Registrador de señal para varias sondas (foto Maza 2004).

Un accesorio importante es el concentrador de señales que tiene la particularidad de conectar varias sondas a un computador portátil mediante un cable USB, que puede mediante un programa determinado graficar el progreso de todas las sondas.

2.1.3. Segunda sonda testada

La segunda sonda testada (tipo luminiscente), que la llamaremos **“C”**, llegó al laboratorio de Pech Rouge para ser evaluada más tarde (fines de julio) por lo que sólo fue probada en algunas pruebas. La característica principal de esta sonda radica que no tiene accesorios extra como las otras. Es manual con dimensiones reducidas (21 cm de largo x 8 cm de ancho x 4 cm de alto), con un cable de 1 metro de largo, en cuyo extremo se encuentra la sonda.

Se realizaron con esta sonda mediciones puntuales dentro de las botellas, dentro de la pileta y dentro de las barricas, ya que la misma carece de cámara de circulación por lo que no se pudo acoplar al dispositivo que se muestra en la figura 2.5.

Una desventaja que tiene esta sonda es la sensibilidad (10 ppb, datos del constructor) lo que implica que algunas situaciones no logre registrar contenidos de oxígeno disuelto con mayor sensibilidad. Por el contrario, esta sonda no consume oxígeno en la medición y no necesita agitación como las otras dos sondas (“A” y “B”).

Para poder ver las diferencias de tamaño de las tres sondas se muestra el siguiente esquema que muestra la vista de frente y un corte AA de las tres sondas para poder diferenciar los diferentes tamaños.

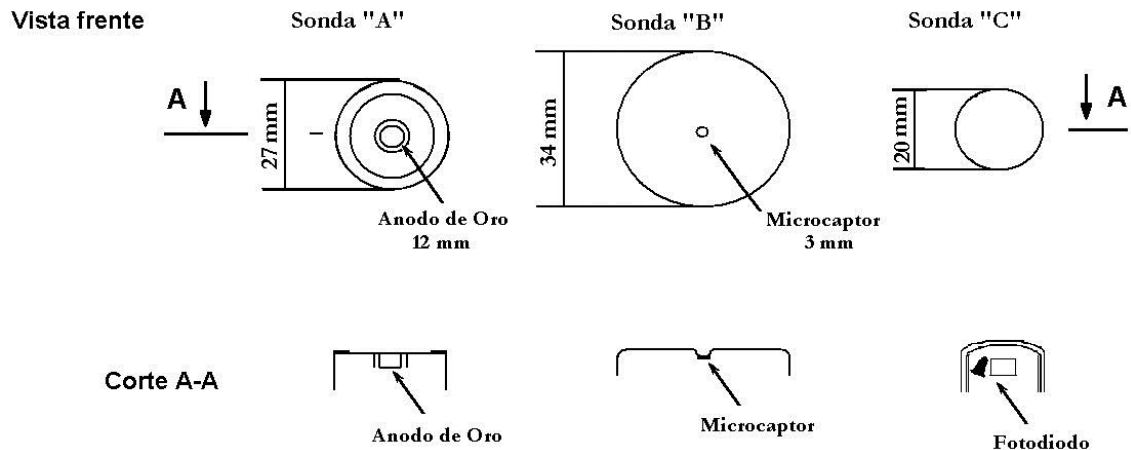


Figura 2.4: Esquema de la cabeza de las sondas para ver las diferentes relaciones de tamaños que tienen las zonas de medición (Maza 2004).

2.2. Comparación de las sondas

2.2.1. Accesorios necesarios para montar las pruebas

Para poder montar las distintas pruebas se necesitaron varios accesorios. Es importante describirlos para comprender con más detalle la metodología de trabajo.

Tubos de acero inoxidable: Los tubos de acero inoxidable tienen un diámetro exterior de 6 mm y 4 mm de diámetro interior. Los distintos tubos utilizados, son acondicionados dependiendo de la prueba ya que su posición es fija y no permite que se mueva. Se utilizaron para su corte, curvado y acondicionado final, herramientas especiales. Es totalmente impermeable al oxígeno.

Tubos de poliamida: Los tubos de poliamida tienen el mismo grosor que los de acero inoxidable. La ventaja radica en la flexibilidad y facilidad de maniobrabilidad, por lo que en algunas pruebas es indispensable su uso (presenta muy poca permeabilidad al oxígeno).

Uniones, codos, y llaves de 3 vías: son todas de acero inoxidable de marca Swagelok fabricados para instalaciones de gas con férula y contra férula en sus conexiones. Sirven para unir los tubos y direccionar el vino y/o la purga de nitrógeno.

Caudalímetros: fueron utilizados 2 caudalímetros de distintas marcas (uno para cada sonda). Los dos pueden variar de 2 l/h hasta 12 l/h (según catálogo para agua).

Nitrógeno: El nitrógeno utilizado en todas las pruebas es de marca Alphagaz y tiene un contenido máximo de impureza en oxígeno de $2 \text{ ppm}/3,7\text{m}^3 = 0,5 \text{ ppb/l}$. El mismo es utilizado para purgar las líneas por donde circula el vino y disminuir los agregados de oxígeno en los tubos.

2.2.2. Instrumental

Para que las sondas fueran evaluadas al mismo tiempo, se diseñó un pequeño módulo (Figura 2.5), para que las dos sondas "A y B" realizaran las mediciones en forma simultánea.

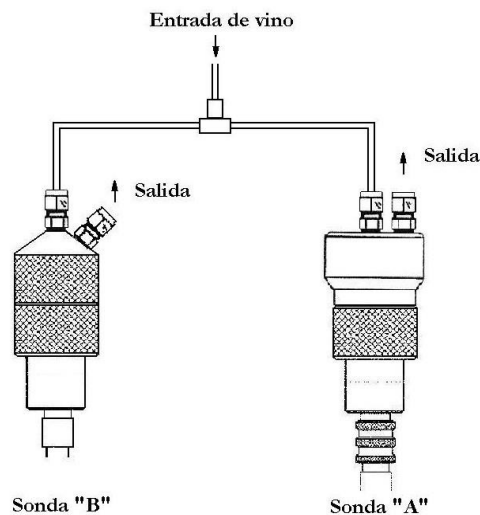


Figura 2.5: Esquema de trabajo de las dos sondas simultáneas.

Las salidas de vino son conducidas con tubos de poliamida, cuya ventaja radica en su flexibilidad lo que permite colocar el resto de los accesorios del equipo en distintos lugares y alturas. Los dos tubos de entrada a las sondas son de acero inoxidable para descartar posibles ingresos de oxígeno.

Es válido recordar que después que el vino sale de la sonda es conducido hacia los respectivos caudalímetros, que cada sonda posee a fin de poder regular el caudal de ambas en forma independiente.

Este dispositivo montado para las dos sondas fue utilizado en casi todas las pruebas. En aquellos casos en que no se utilizó se describirá la forma de sus variantes.

2.3. Dispositivo en barricas

Las barricas son pequeñas piletas de madera cuya capacidad es de 225 litros. La metodología de trabajo para medir la cantidad de oxígeno disuelto que contiene el vino es con la extracción de una muestra por la parte superior donde se encuentra el orificio de llenado y vaciado (figura 2.6).

Como son recipientes con poco volumen comparados con la pileta CSC de acero inoxidable, pequeñas perturbaciones del vino en la superficie pueden variar los contenidos de oxígeno disuelto de toda la barrica. Para las pruebas se utilizó el mismo dispositivo mostrado en la figura 2.6, pero para sacar la muestra se utilizó un tubo de acero inoxidable que se podía mover (en profundidad) gracias a una rosca ajustable marca Swagelok con el objetivo de extraer las muestras de las distintas profundidades de la barrica. De esta manera se podrá ver un gradiente de oxígeno disuelto desde la superficie del vino hacia la barrica y también ver los contenidos de oxígeno disuelto en las distintas profundidades. Como la barrica es un sistema de intercambio permanente de oxígeno con el medio exterior es de suponer que los contenidos de oxígeno disuelto se encuentren más altos que los de las

piletas normales. La comparación de las sondas en esta prueba es importante en la medida que se tengan en cuenta algunas precauciones para que no exista interferencia en los valores.

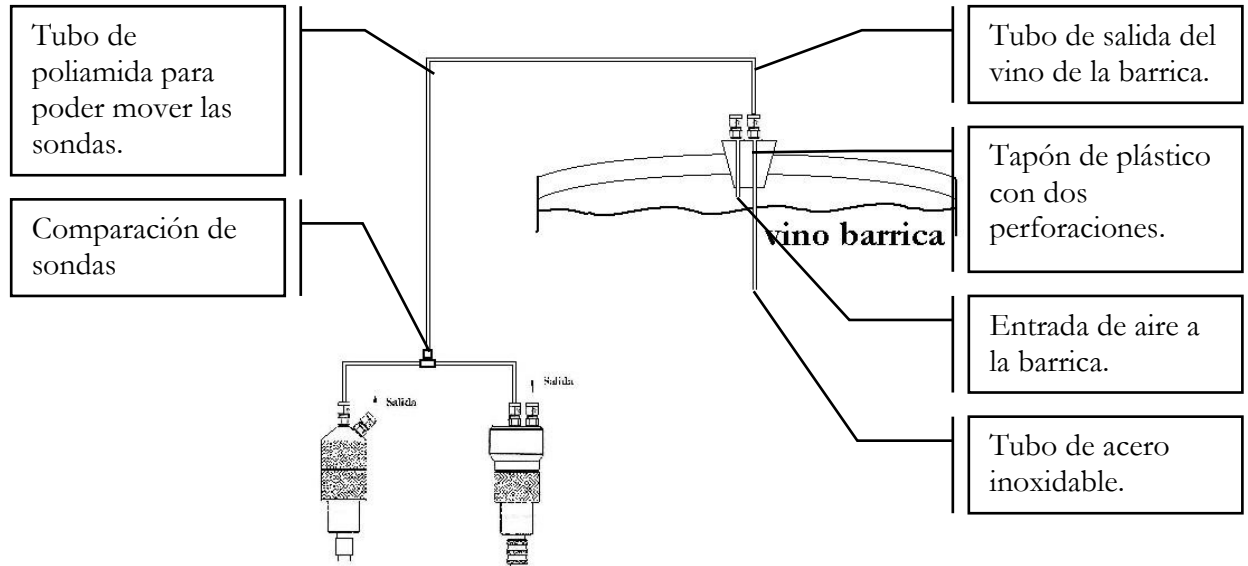


Figura 2.6: Esquema del dispositivo de extracción de muestra en barricas.

En las distintas pruebas realizadas en las barricas se puede apreciar que hay un tramo entre la salida de la bodega y el dispositivo de las sondas que tiene un tubo de poliamida. Se decidió colocar este tubo y no uno completo de acero inoxidable porque las barricas presentan diferentes alturas, lo que trae un problema con los tubos de acero porque estos son rígidos. El tubo de poliamida elimina este problema y como existen diferentes extensiones, se pueden hacer mediciones de barricas que se encuentren en el tercer y cuarto rango de altura lo que representa cerca de 3 metros.

El movimiento del vino desde la bodega hasta la sonda es por diferencia de gravedad, es por eso que siempre tiene que haber una distancia que facilite la salida del vino de la bodega y establezca un caudal apropiado para que las sondas funcionen normalmente y no consuman el oxígeno de la muestra.

2.4. Dispositivo Pileta CSC

La cuba CSC (Constructions Soundées du Coteau) es un pileta de acero inoxidable que posee la bodega del INRA de Pech Rouge y cuya finalidad es la de trabajar en las distintas pruebas en que está involucrado en oxígeno. En este caso la pileta estaba llena de vino tinto AOC Corbières 12% de alcohol 2003 y en ella se realizaron algunas mediciones que se describirán más adelante (en el desarrollo de cada prueba).

La cuba CSC tiene incorporado varios sistemas de módulos que hacen que la misma sea una pileta completa para la vinificación. Tiene una bomba para hacer remontajes, incorporada en un lado de la pileta, también hay en la parte inferior un mezclador para mover todas las lías del fondo de la cuba; un dispositivo de enfriamiento propio e independiente de los demás piletas para mantener al vino a temperaturas normales y estables con un sistema de doble camisa que cubre casi todo el tanque. Todo esto está manejado desde un panel de control.

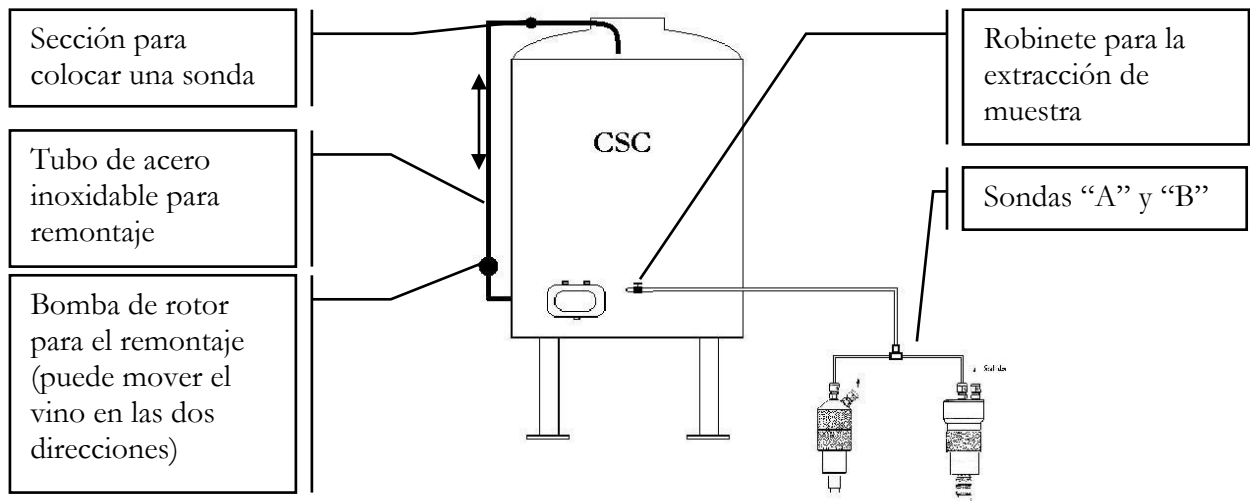


Figura 2.7: Esquema de la cuba CSC y de la posición del robinete para la extracción de la muestra.

En la parte lateral de la cuba existe un robinete llamado comúnmente “robinete degustador” de acero inoxidable con válvula esférica marca Swagelok. En él fue instalado un tubo de acero inoxidable unido al dispositivo de medición de las dos sondas descrito anteriormente en la figura 2.5. De esta manera se pudo tomar mediciones de la piletta en cualquier momento.

2.5. Dispositivo en botellas

Para la medición de oxígeno disuelto en las botellas con vino se utilizó otro accesorio (Orbisphere N° 29973), que tiene la finalidad de perforar el capuchón de la botella e introducir dentro la de misma una aguja que sirve para la extracción de la muestra que es empujada con nitrógeno.

La muestra de vino sale del toma muestra (empujada con nitrógeno), pasa por la cámara de circulación y al salir de la cámara el vino pasa por un caudalímetro (para regular el caudal que circula por la sonda). De esta manera siempre pasa por la sonda la cantidad de vino que la sonda necesita y que los fabricantes aconsejan para una medición eficaz. Para todas las sondas “A” (membrana 2956A) el caudal utilizado fue de 12 l/h.

La sonda “A” está conectada a un dispositivo (“boítier serie 3600 de orbisphere”) que es el que transforma la corriente generada por la sonda en el valor de oxígeno disuelto. Este dispositivo tiene incorporado microcircuitos que permiten cambiar las configuraciones como por ejemplo las unidades de medida, tanto para el oxígeno disuelto como para la temperatura, también tiene incorporado un sensor de presión atmosférica que permite la calibración de la sonda en el momento de realizar las mediciones. Es posible conectar este dispositivo a una computadora mediante un cable RS232 y registrar todos los valores medidos en un sencillo programa para analizarlos.



Figura 2.8: Dispositivo Orbisphere n° 29973 para la extracción de la muestra en botellas (foto Maza 2004).

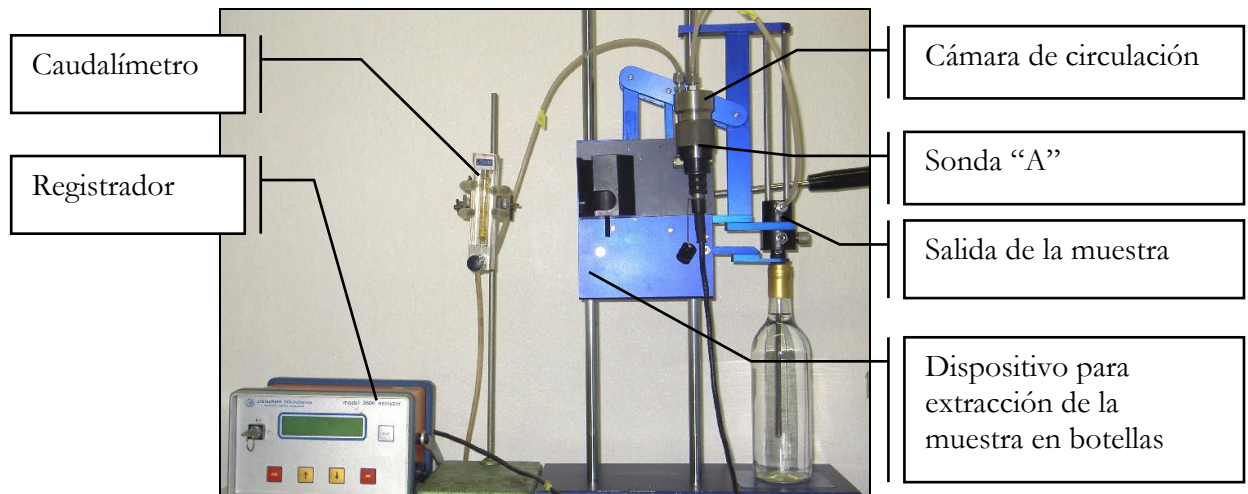


Figura 2.9: Fotografía de accesorios para la medición de oxígeno disuelto en botellas (foto Maza 2004).

Cuando se analiza oxígeno en vino en barricas o en piletas, se utilizan los mismos accesorios excepto el dispositivo para la extracción de muestras de las botellas. Los detalles de cada prueba se especificarán, en el punto 2.7.

2.6. Calibración previa de las sondas

La sonda "A" tiene incorporado un sensor de presión, pero para más exactitud, el control de la presión se realizó con lecturas de presión atmosférica del barómetro que posee el INRA de Pech Rouge. Este consiste en una columna de mercurio cuya lectura es directa en milímetros de mercurio.

La calibración que se realiza en la sonda "A" debe ser convertida en hPa para ser ingresada al programa de la sonda, una vez ingresado el valor de la presión, la sonda

comienza la calibración (con aire saturado de vapor de agua) que puede durar unos 5 minutos. Durante estos minutos el visor de la sonda indica el porcentaje de la última calibración que puede estar entre 30% y 170% después de esto se da el OK a la calibración y comienza la medición del aire. Esta medición del oxígeno del aire se verifica con los valores de la tabla de concentraciones de oxígeno en el aire saturado de vapor de agua (ver anexo 1) que deben coincidir con los que la sonda mide. Por el contrario si en la calibración de la sonda los porcentajes se encuentran fuera del rango (30-170) hay que realizar las operaciones de mantenimiento de la sonda descrito por el fabricante, con los materiales que el fabricante proporciona para tal fin.

La calibración de la sonda “B” se realiza en dos etapas, según los fabricantes de la sonda es necesario cada 1 a 2 semanas, pero para el desarrollo del trabajo se hizo antes de cada prueba. La primera etapa de la calibración se realiza en una solución de sulfito de Na (Na_2SO_3) cuyo valor de oxígeno disuelto es 0 (cero). La segunda etapa de calibración se realiza en el aire saturado de vapor de agua, cuyo valor de oxígeno dependerá de la presión y de la temperatura de la calibración. Luego de realizadas las dos etapas, el programa proporciona y registra los valores de la calibración K (ppm/V), de offset (ppb) y el % precedente.

Después de terminada las calibraciones de las dos sondas se procede a realizar las mediciones en la correspondiente prueba.

2.7. Pruebas

2.7.1. Pruebas preliminares

Se le llamó pruebas preliminares a aquellas realizadas en soluciones patrones (agua, sulfitos, nitrógeno, etc.) con el objetivo de analizar la forma y estado de las sondas, familiarizarse con el software de la sonda “B” y ver otros detalles como las características de funcionamiento de las sondas.

Algunas pruebas que se realizaron no son mostradas en este trabajo pero fueron de gran ayuda para poder establecer protocolos de trabajo y puesta a punto del instrumental.

2.7.1.1. Prueba P1 (Variación de caudal)

En la siguiente prueba se trató de establecer el caudal de circulación de la sonda “B” para ser utilizada con la cámara de circulación.

La prueba consistió en la utilización de botellas llenas con agua extraída de la red doméstica, la que fue previamente colocada en un agitador magnético para aumentar el nivel de oxígeno disuelto.

En este caso se utilizó para la medición del O_2 , el extractor de muestras de botellas y las dos sondas estuvieron montadas en paralelo con el dispositivo mostrado en la figura 2.5.

La sonda “A” se mantuvo siempre con el caudal recomendado por la empresa (12 l/h) y se hizo variar los caudales de la sonda “B” en 4, 6, 8 y 10 l/h respectivamente para lo cual se realizaron 10 repeticiones de cada medición.

2.7.1.2. Prueba P2 (Reacción de las sondas)

Se hizo circular por las sondas (con el dispositivo en paralelo aire y nitrógeno) alternativamente hasta obtener las 10 repeticiones.

De esta manera las sondas pasarían de un estado donde los contenidos de oxígeno son cercanos a cero ppb a contenidos cercanos a saturación 8000 ppb.

Para hacer la circulación de aire-nitrógeno en forma consecutiva se colocó sobre el dispositivo en paralelo una llave de 3 vías, en el que se conectó, por un lado la entrada de nitrógeno y por el otro la entrada de aire. Con sólo girar la llave comenzaba a circular aire o nitrógeno alternativamente.

La circulación de aire se realizó gracias a una bomba peristáltica que proporcionaba a las dos sondas una entrada de aire continuo para hacer la medición.

La circulación de nitrógeno se realizó con presiones menores a 0,5 bar. La marca del gas es Alphagas descrito en el punto 2.2.1.

El tiempo de duración de cada etapa fue de 5 minutos.

2.7.2. Pruebas en barricas

Antes de hacer los pruebas se probó la forma de trabajar y la metodología que mejor se amoldaba a las condiciones de trabajo para la medición de oxígeno disuelto en barricas.

Se realizaron varias pruebas que no son descritas en este trabajo pero que consistieron en buscar la forma de no perturbar al vino de la barrica y al mismo tiempo realizar la medición.

2.7.2.1. Prueba Ba1 (Cooperativa Anne de Joyeuse sobre vino blanco)

La prueba realizada en la cava Cooperativa Anne de Joyeuse de Limoux (Francia) donde se evaluaron las tres sondas en 5 barricas de 225 litros con vino blanco Chardonnay 2003.

Se analizaron dos lotes de barricas, el primer lote que se analizó estaba compuesto por tres barricas con vino Chardonnay 2003 colocado en las barricas en octubre de 2003 que todavía tenía las lías en el fondo de las barricas. El segundo lote analizado estaba compuesto por 2 barricas con vino Chardonnay 2003 colocado en las barricas en abril de 2004 y no tenían lías en el fondo de las mismas.

Todas las barricas se encontraban en un gran galpón con ambiente climatizado ($20^{\circ}\text{C} \pm 3$) para mantener la conservación del vino.

La forma de trabajar en el primer lote consistió en medir, primero la concentración de oxígeno disuelto en los primeros 4 cm de profundidad, luego medir el medio (32 cm de profundidad), el fondo de la barrica con las lías (64 cm de profundidad) y por último medir la concentración de oxígeno disuelto 1 cm por encima del fondo (63 cm de profundidad).

Las mediciones en el segundo lote consistieron en medir, primero, la concentración de oxígeno disuelto en los primeros 4 cm de profundidad luego medir el medio (32 cm de profundidad) y finalmente el fondo de la barrica (64 cm de profundidad).

La extracción de vino consistió en dejar el tubo de acero inoxidable sumergido a 4 cm en el vino y a medida que el vino salía de la barrica la profundidad del vino iba disminuyendo paulatinamente hasta que comenzaba a aspirar aire de la superficie del vino.

Una vez terminada la medición en la superficie se cambió la profundidad de extracción del vino con un tubo de acero inoxidable más largo.

El tiempo de medición de la concentración de oxígeno disuelto en el medio de la barrica fue de 5 minutos, luego se cambió la profundidad el tubo y se midió la concentración de oxígeno del fondo de la barrica por un lapso de tiempo de 5 minutos y por último se midió la concentración del oxígeno disuelto en el fondo menos 1 cm durante 5 minutos más. En el segundo lote el procedimiento fue medir el medio y fondo de la barrica solamente.

Los caudalímetros se regularon (cuando la diferencia de gravedad lo permitió) a 4 litros por hora en la sonda “B” y a 12 litros por hora en la sonda “A1”. La tercera sonda “C” no posee caudalímetro y la agitación fue manual.

Después de realizar la medición de oxígeno con el dispositivo de la figura 2.5, se sacó el tubo de acero inoxidable y se colocó la tercera sonda “C” en el medio (34 cm) y en el fondo (64 cm) de la barrica y se realizaron las mediciones con y sin agitación manual de la misma.

Las sondas fueron calibradas con la presión atmosférica que registraba la sonda “A”.

2.7.2.2. Prueba Ba2 (INRA de Pech Rouge sobre vino tinto)

El desarrollo de esta prueba tuvo como objetivo principal, comparar los valores obtenidos en el prueba anterior.

Para ello se utilizaron las barricas del INRA de Pech Rouge con vino tinto AOC Corbières).

La metodología de trabajo fue la misma descrita en 2.7.2.1 y se realizó en 4 barricas de roble de 225 litros.

Primero se midieron los cuatro primeros cm de profundidad, luego el medio (32 cm) y el fondo (64 cm) de cada barrica con las tres sondas.

Después de realizar la medición de oxígeno con el dispositivo de la figura 2.5, se sacó el tubo de acero inoxidable y se colocó la tercera sonda “C” en el medio (32 cm) y en el fondo (64 cm) de la barrica y se realizaron las mediciones con y sin agitación manual de la misma.

2.7.3. Pruebas en pileta CSC

2.7.3.1. Prueba CSC1 (Pileta de Constructions Sondées du Coteau abajo)

La prueba desarrollada en la pileta CSC se montó de la siguiente manera: la sonda “A1” fue colocada en el robinete degustador que posee la pileta en la parte lateral como se puede ver en la figura 2.7. La sonda “A2” y la sonda “B” fueron sumergidas en el vino, por la tapa superior, a la misma profundidad que el robinete.

Una vez que las sondas estuvieron sumergidas, comenzó la agitación del vino en la pileta con la bomba que posee la misma. La circulación del vino se hizo de arriba (30cm de profundidad) hacia abajo (fondo de la pileta). La duración de la agitación fue de 30 minutos y, luego se paró la bomba y las mediciones siguieron por un tiempo de 10 minutos más. Se realizaron 5 repeticiones en la misma pileta después de la estabilización del vino.

2.7.3.2. Prueba CSC2 (Constructions Soundées du Coteau arriba)

Esta prueba tuvo las mismas características que la descrita en 2.7.3.1. Las principales diferencias fueron las siguientes: la sonda “A1” fue colocada en el tubo de remontaje donde funciona la bomba, las sondas “A2”, “B” y la “C” fueron sumergidas en el vino a una profundidad de 80 centímetros (por la tapa de la pileta) debido a que la sonda “C” tiene una limitante con respecto a la extensión del cable de la sonda (1 metro).

La agitación del vino fue de 30 minutos y las mediciones continuaron por 10 minutos más después de parar la agitación.

Se realizaron 5 repeticiones en la misma pileta después de estabilizado el vino.

2.7.4. Pruebas en botellas

Las pruebas realizadas en botellas se realizaron bajo el protocolo desarrollado en el INRA de Pech Rouge (anexo 2).

2.7.4.1. Prueba Bot1 (Botellas de la Cooperativa Anne de Joyeuse)

Esta prueba fue realizada con el objetivo de comparar las dos sondas “A1” y “B” y en botellas con vino a distintas temperaturas.

El vino fue embotellado en cava Cooperativa Anne de Joyeuse de Limoux (Francia) y conservadas a 20°C durante 55 días, después de este tiempo se hicieron dos lotes (8 botellas cada uno). Un lote fue colocado en una cámara a 30°C y el otro lote fue mantenido a 20°C. Se mantuvieron a esa temperatura durante 48 horas más, antes de hacer las mediciones.

Las mediciones de oxígeno disuelto que se realizaron fueron en 8 botellas con la sonda “A1” y “B”.

Todas las mediciones se realizaron dentro de las cámaras.

2.7.4.2. Prueba Bot2 (Botellas de Gransud)

Esta prueba fue realizada en la sala de embotellaje Gransud (Narbonne-Francia) y consistió en realizar mediciones de oxígeno disuelto en botellas con vino recientemente embotellado.

Se analizaron 3 lotes de vinos (12 botellas cada lote) de los cuales 6 botellas fueron analizadas con las sondas “A1” y “B”, y las otras 6 botellas fueron analizadas con la sonda “C”.

Las botellas de la primera muestra analizada fueron extraídas inmediatamente después de ser llenadas y tapadas.

Las otras dos muestras analizadas fueron botellas llenadas el día anterior a la medición por lo que ya tenían 24 horas de reposo.

2.8. Análisis estadísticos de los datos

Los datos fueron analizados por análisis de la varianza de un factor o test de Kruskal – Wallis.

Resultados

3. Resultados

3.1. Transformación de los datos

A fin de comparar los análisis efectuados en condiciones de temperaturas y presiones diferentes, los datos brutos fueron transformados a condiciones normales de temperatura y presión (20°C y 1013 hPa). El coeficiente de corrección fue obtenido por la siguiente ecuación:

$$x = \frac{[O_2a]}{[O_2b]}$$

x = coeficiente de corrección de los valores de las sondas
a = concentración de oxígeno a 100% de saturación a 20°C y 1013 hPa de presión,
b = concentración de oxígeno a 100% de saturación a la temperatura y presión de la medición.

El resultado de esta ecuación fue multiplicado por los datos registrados por el programa de las sondas y de esta manera obtuvimos un nuevo valor de comparación normalizado a condiciones normales.

Los datos para el cálculo de la ecuación anterior se extrajeron de la tabla de concentraciones de oxígeno en aire saturado de vapor de agua de los manuales de la sonda "A" (ver anexo 1).

Después de varias pruebas realizadas para comprobar que los dispositivos y las calibraciones funcionaran y estuvieran de acuerdo a la metodología de trabajo desarrollada en el INRA de Pech Rouge las variaciones para las distintas pruebas se presentan a continuación.

3.2. Pruebas preliminares

3.2.1. Prueba P1

La prueba P1 que se desarrolló en el laboratorio del INRA con el objetivo de evaluar el caudal necesario para el funcionamiento de la cámara de circulación de la sonda "B".

Así obtuvimos las curvas de los valores guardados por el programa (Figura 3.1), para las dos sondas "A" y "B" y se prosiguió con todas las botellas hasta obtener las 10 repeticiones para caudal de 4 L/h. Luego se continuó con las mediciones de los otros caudales evaluados (6, 8 y 10 L/h).

Los valores reales de oxígeno disuelto (en ppb) se guardaron cada 5 segundos, con ellos se obtuvo la tabla 3.1.

Se eligieron los caudales de 12 l/h para la sonda "A" y 4 l/h para la sonda "B" y con ellos se obtuvo una curva (figura 3.1). Se tomó la zona más estable en las mediciones, que abarca un minuto de la curva, la que se usó como referencia. Durante este tiempo se calcularon los valores promedios de oxígeno disuelto y temperatura para las dos sondas ("A" y "B"). Una vez obtenido estos valores fueron transformados según se mostró en el punto 3.1.

Los datos resumidos de todos los caudales con sus respectivas repeticiones son mostrados en la siguiente tabla.

Tabla 3.1: Contenido de oxígeno disuelto (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa) en los caudales 4, 6, 8 y 10 l/h para la sonda "B" y 12 l/h para la sonda "A" (Valores entre paréntesis indica desviación típica).

	4 l/h	12 l/h	6 l/h	12 l/h	8 l/h	12 l/h	10 l/h	12 l/h
Rep	"B"	"A1"	"B"	"A1"	"B"	"A1"	"B"	"A1"
1	8342	8491	8026	8185	7743	7884	7886	7965
2	8289	8464	7570	7762	7820	7915	8030	8063
3	8707	8505	7975	8070	7686	7880	7887	7928
4	8733	8526	7711	7696	7673	7837	7963	7983
5	8415	8562	7784	8195	7578	7829	7892	7890
6	7952	7931	7921	7966	7825	7951	7969	7946
7	8705	8401	8050	7904	7939	7848	7808	7701
8	8662	8408	8100	7933	7769	7682	8041	7869
9	8679	8392	7947	7804	8168	8005	7896	7700
10	8365	8010	7903	7747	7892	7890	8180	8001
8	8484 ±(256)	8369 ± (218)	7898 ±(165)	7926 ±(179)	7809 ± (165)	7872 ±(86)	7955 ±(107)	7904 ±(121)

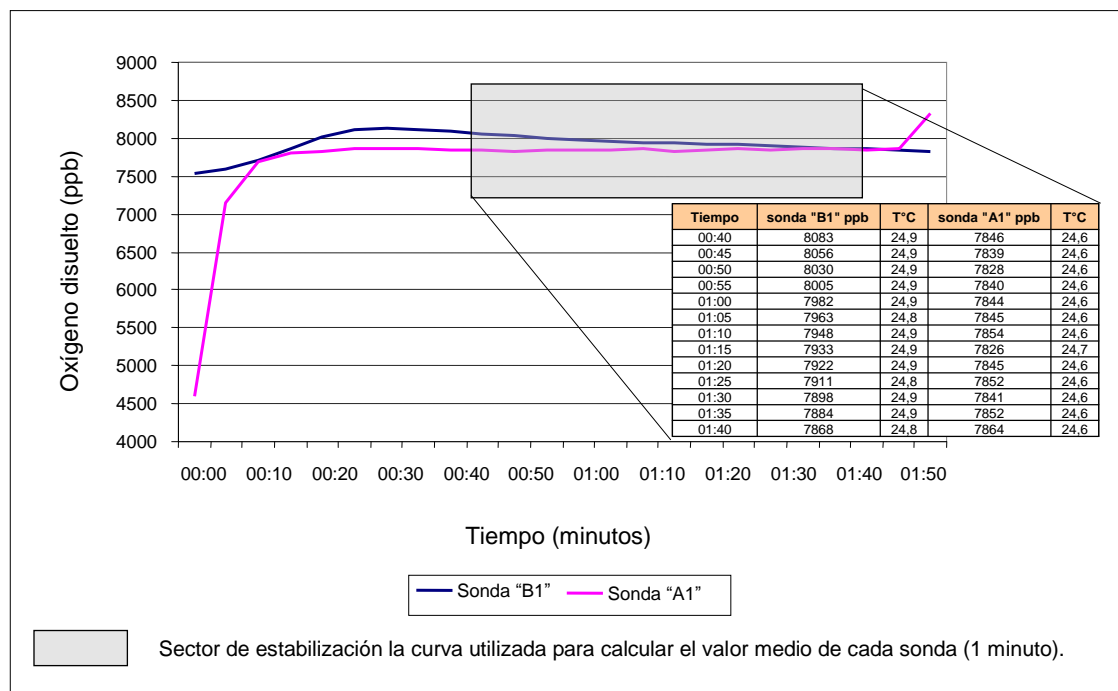


Figura 3.1: Valores de oxígeno disuelto (mediciones brutas) obtenidos de la medición (rep. n° 1) con agua (previamente agitada) a 4 l/h de caudal para la sonda "B" y 12 l/h para "A1".

Para el análisis estadístico de los datos (después de ser transformados a una misma temperatura y presión atmosférica) se usaron los valores de la sonda A1 como testigo.

Para un nivel de significancia del 95% el ANOVA mostró que los valores no tuvieron una diferencia significativa para ninguno de los caudales utilizados, comparado con el testigo.

Para mostrar los resultados obtenidos de esta prueba se elaboró la tabla 3.2, donde se muestra de forma más resumida los resultados obtenidos. Se calculó el promedio para de cada tratamiento (10 repeticiones) y para cada sonda ("A" y "B").

Tabla 3.2: Promedio de los valores de oxígeno disuelto (en condiciones normales de presión y temperatura, 20°C y 1013 hPa) obtenidos en las 10 repeticiones de cada tratamiento, para las dos sondas (Valores entre paréntesis indica desviación típica).

Caudal de la sonda "B"	Valores promedio (ppb)	
	"B"	"A1"
4 l/h	8484 ± (256)	8369 ± (218)
6 l/h	7898 ± (165)	7926 ± (179)
8 l/h	7809 ± (165)	7872 ± (86)
10 l/h	7955 ± (107)	7904 ± (121)

Los resultados indicaron que no hay diferencias entre los distintos caudales evaluados con un nivel de confianza del 95%, por lo que se podría utilizar cualquier caudal sin afectar la medición en la sonda "B".

Del resultado de este análisis surgió la posibilidad de utilizar el caudal de 4 l/h para el resto de las pruebas para que el volumen de vino utilizado sea menor.

3.2.2. Prueba P2

La segunda prueba realizada con las dos sondas "A" y "B", se hizo para evaluar su comportamiento en la medición de valores de oxígeno cercanos a cero ppb con la ayuda de nitrógeno y valores de oxígeno altos ($\cong 8000$ ppb) como los encontrados en el aire a la temperatura y presión determinada del día de la medición.

La siguiente figura muestra como fue el comportamiento de las sondas registradas por el programa. Se pueden ver claramente como son los picos (repeticiones) en las mediciones con aire y los descensos mediciones con nitrógeno.

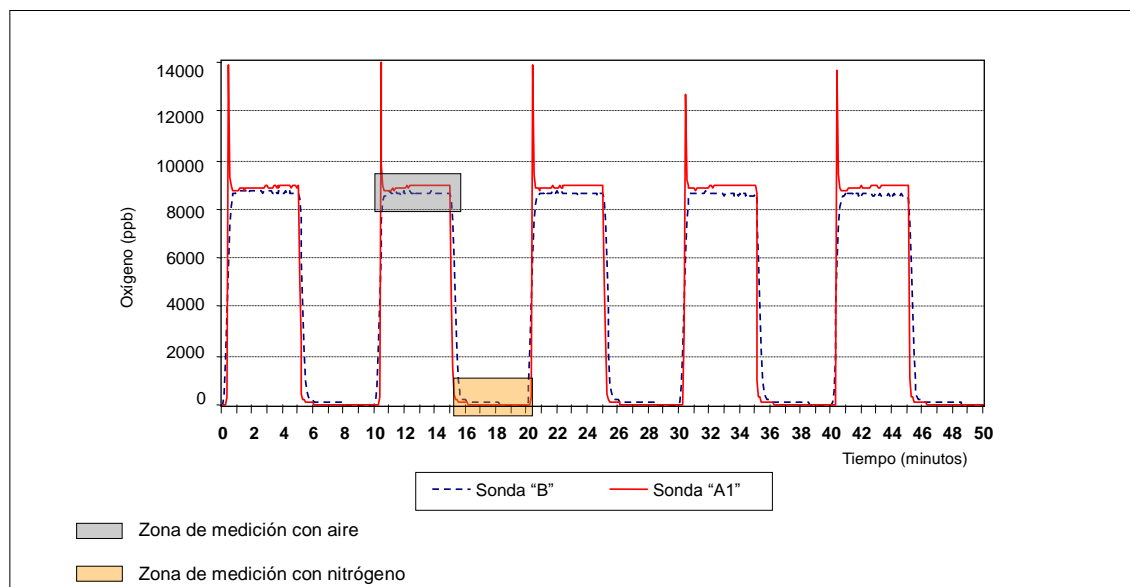


Figura 3.2: Muestra de todas las repeticiones (mediciones brutas) obtenidas en la medición de oxígeno en el aire y en nitrógeno para la sonda "A" y "B".

La presión de nitrógeno utilizada nunca pasó los 0,5 bar y el tiempo de medición con nitrógeno y aire fue siempre de 5 minutos.

Cuando es aplicado el nitrógeno después de una medición con aire, el descenso es instantáneo, sin embargo, las dos sondas tienen diferentes velocidades para llegar a valores cercanos a 10 ppb. Para observar este fenómeno en detalle se analizó la figura 3.3.

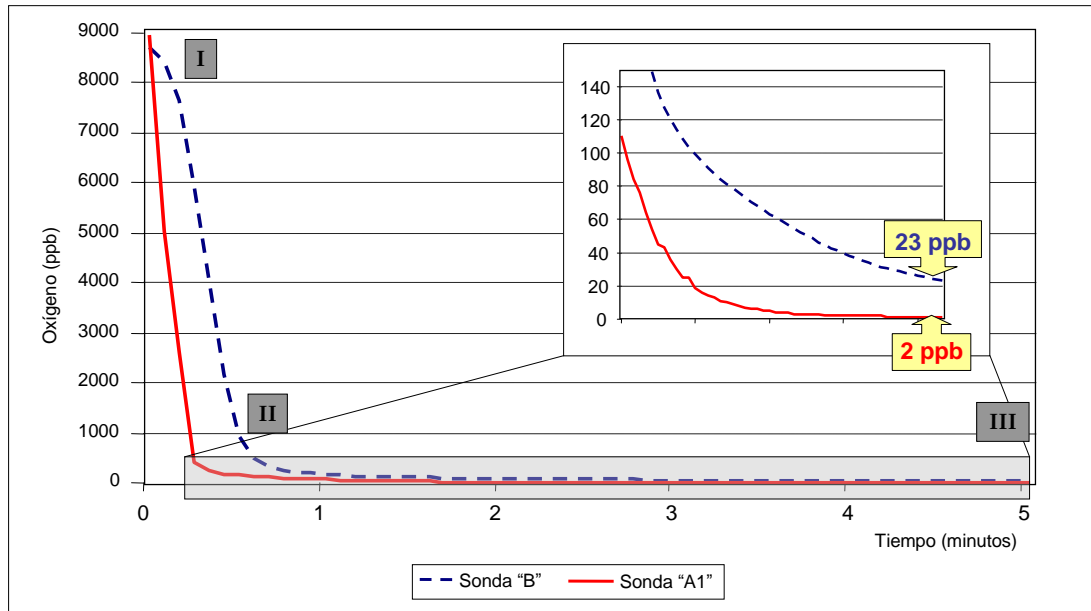


Figura 3.3: Muestra obtenida (mediciones brutas) de la ampliación de la 2^{da} repetición de oxígeno obtenido para las dos sondas (“A” y “B”) cuando es aplicado nitrógeno. Punto (I) valores de oxígeno (ppb) registrados al final de la medición de aire; (II) valores de oxígeno (ppb) a los 20 segundos de aplicado el nitrógeno; (III) valores de oxígeno (ppb) a los 5 minutos de aplicado el nitrógeno.

La curva muestra la actividad típica que presenta el comportamiento de las dos sondas cuando se ha aplicado nitrógeno durante cinco minutos. Rápidamente las dos sondas pasan de grandes concentraciones de oxígeno a valores de 100 ppb de oxígeno (punto I – II figura 3.3). La velocidad de descenso después de pasar la línea de los 100 ppb es muy lenta y, a medida que los valores se aproximan a 10 ppb la curva se hace asintótica al eje x.

La sonda “B” tiene una respuesta más lenta respecto a la “A” siendo al final de los 5 minutos los valores finales diferentes que los de la sonda “A” (punto III figura 3.3).

Para analizar las sondas se tomó como referencia los últimos dos minutos de cada curva y se calculó los valores promedios de cada repetición.

El análisis estadístico indica una diferencia significativa para un nivel de confianza del 95% entre los valores obtenidos por las dos sondas con nitrógeno y también para el aire.

Tabla 3.3: Valores promedio de oxígeno (ppb) (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa) obtenidos de los 2 últimos minutos de cada curva de un tiempo total de 5 minutos (Valores entre paréntesis indica desviación típica).

Repetición	AIRE		NITRÓGENO	
	“B”	“A1”	“B”	“A1”
1	9288	9758	41	2
2	9280	9770	44	2
3	9292	9775	48	2
4	9282	9791	51	2
5	9265	9766	52	2
	9281 ± (10,5)a	9772 ± 12,2)b	47 ± (4,7)	2 ± (0,1)

Los datos para aire fueron analizados con ANOVA y los de nitrógeno se compararon con el análisis de Kruskal –Wallis (por violación a una de las condiciones del ANOVA).

Para nitrógeno y aire el análisis dio como resultado que existen diferencias entre las dos sondas para un nivel de confianza de 95%.

3.3. Pruebas en barricas

3.3.1. Prueba Ba1

La medición de oxígeno disuelto en los dos lotes de barricas a diferentes profundidades se graficaron para su interpretación.

La figura muestra dos zonas bien definidas (I) correspondientes a las mediciones realizadas en la superficie de la barrica (4 cm) y al final de la grafica (II) las mediciones que se realizaron al medio, fondo con lías y fondo menos 1 cm de profundidad de la barrica.

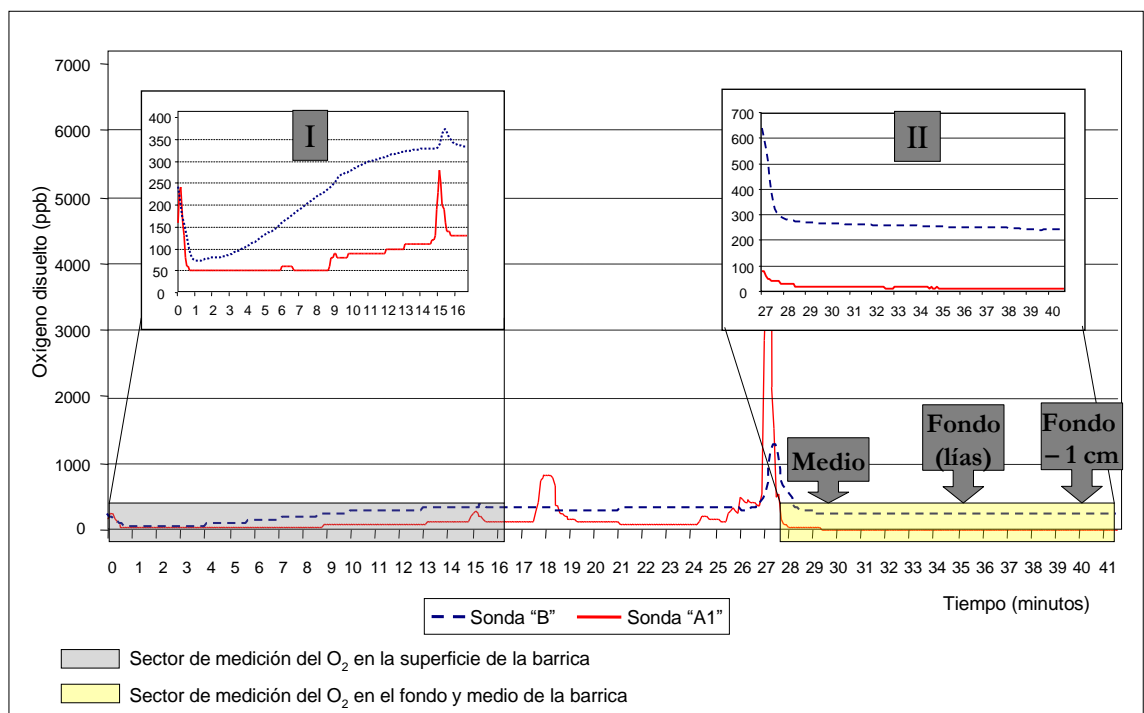


Figura 3.4 Oxígeno disuelto obtenidos (mediciones brutas) del análisis de la primera repetición del primer lote. (I) sector de mediciones de la superficie de la barrica (4 cm); (II) sector de medición de oxígeno disuelto en el medio (32 cm) y en el fondo (64).

Debido a que los contenidos de oxígeno disuelto varían en la superficie de la barrica, y difieren con respecto a las concentraciones de oxígeno disuelto del medio y del fondo de la barrica se dividió la curva en dos sectores, se separaron del gráfico principal un sector exclusivo de las mediciones de la superficie y el sector del medio y fondo de cada barrica. De esta manera se pudo ver y analizar las repeticiones y establecer el comportamiento de las dos sondas en cada sector.

En la superficie de la barrica los contenidos de oxígeno disuelto disminuyeron a medida que la profundidad aumentó. Por eso fueron tomados 4 puntos de referencia (figura 3.5) durante el tiempo que se analizaron los contenidos de oxígeno de la superficie de la cada barrica. Lo mismo se realiza para cada curva de las 4 barricas restantes.

Estos puntos representan el valor promedio de las mediciones durante 1 minuto para cada sonda en dicho punto. Los valores correspondientes a los contenidos de oxígeno han sido transformados a la misma temperatura y presión para ser comparados.

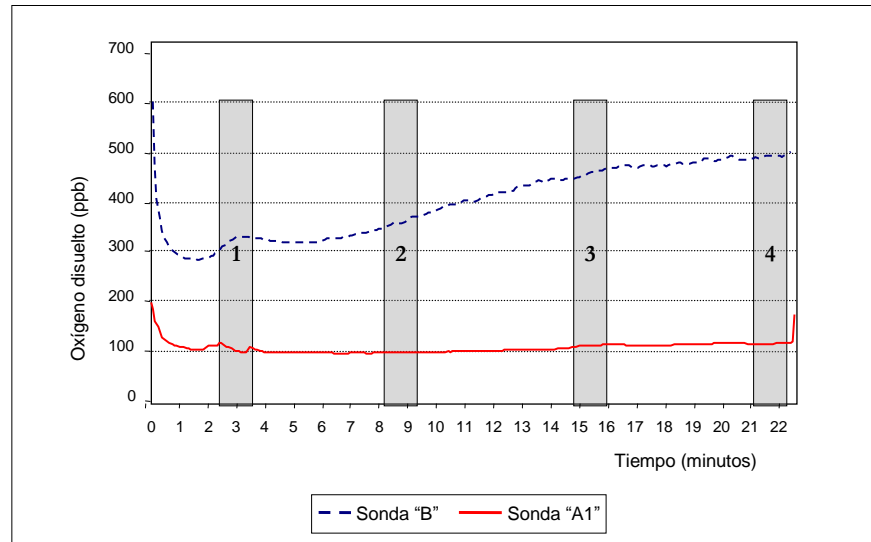


Figura 3.5: Muestra de los valores (mediciones brutas) de oxígeno disuelto en los 4 cm de profundidad de la primera repetición y del primer lote. 1 representa el valor promedio de 1 minuto de medición a los 4 cm de profundidad; 2 representa a los 3 cm de profundidad; 3 representa los 2 cm de profundidad y 4 representa valores en la superficie del vino.

El análisis de los 4 puntos promedios tomados en la superficie de las 3 barricas del primer lote dio como resultado una diferencia significativa entre las dos sondas para cada uno de los puntos tomados como referencia.

Tabla 3.4: Valores promedios de oxígeno disuelto (ppb) de 3 repeticiones del primer lote en la comparación de los 4 puntos para las dos sondas (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Resultado del ANOVA. Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$). Valores entre paréntesis indica desviación típica.

Punto	“A1”	“B”
1	42 a \pm (18,6)	217 b \pm (222)
2	50 a \pm (4)	241 b \pm (65)
3	95 a \pm (11,8)	367 b \pm (55)
4	117 a \pm (14,8)	363 b \pm (55)

Los valores promedios obtenidos en los 4 puntos de referencias para las 3 barricas dieron como resultado que la sonda “B” registró valores superiores y con mucha variabilidad comparada con la sonda “A”.

La comparación de los 4 puntos en el segundo lote dio como resultado los siguientes valores:

Tabla 3.5: Valores promedios de oxígeno disuelto (ppb) de 2 repeticiones del segundo lote en la comparación de los 4 puntos para las dos sondas (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Resultado del ANOVA. Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$). Valores entre paréntesis indica desviación típica.

Punto	“A1”	“B”
1	45 a \pm (37)	250 b \pm (236)
2	39 a \pm (24)	299 b \pm (141)
3	73 a \pm (14)	436 b \pm (2)
4	209 a \pm (158)	489 b \pm (26)

Los contenidos de oxígeno disuelto van aumentando a medida que las mediciones se acercaron a la superficie (punto 4).

Como en el medio de la barrica (32 cm) los contenidos de oxígeno son prácticamente iguales (no presentan un gradiente en la concentración como en la superficie) se los analizó juntos con los valores del fondo de la barrica.

El punto 5 se tomo el primer minuto de la medición (en la parte media de la barrica, 32 cm de profundidad), el punto 6 en la fase final de la medición en el medio de la barrica, el punto 7 en el fondo de la barrica con lías (cuando los valores ya estaban estabilizados, 64 cm de profundidad) y el punto 8 en el fondo menos 1 cm (63cm de profundidad).

Estos cuatro puntos se muestran en la figura 3.6.

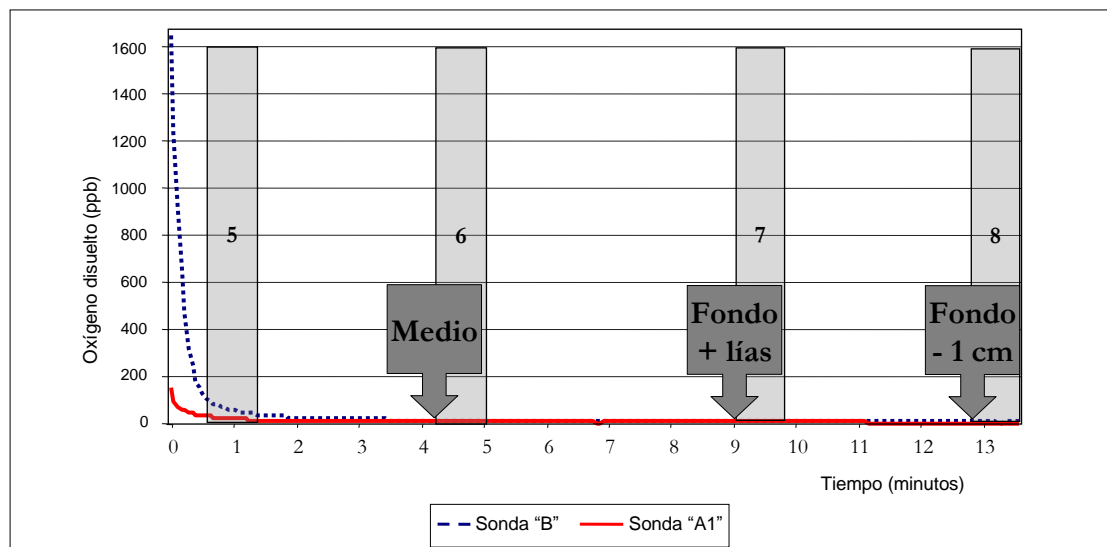


Figura 3.6: Valores obtenidos (mediciones brutas) de las mediciones de oxígeno disuelto en la primera repetición del primer lote; en el medio (32 cm), en el fondo (64 cm) y fondo menos 1 cm (63 cm) de una barrica. 5 indica el valor promedio de un minuto de medición al comienzo de la medición de la sonda del medio; 6 indica el valor promedio del último minuto del medio de la barrica; 7 indica en valor promedio del último minuto del fondo de la barrica; 8 indica en valor promedio del último minuto del fondo menos 1 cm de la barrica.

Del análisis de los respectivos puntos en el medio y en el fondo de las 3 barricas, se comprobó que había diferencia entre las dos sondas “A” y “B” para un nivel de significancia de 95% en los cuatro puntos establecidos para el análisis.

Tabla 3.6: Valores promedios de oxígeno disuelto (ppb) de 3 repeticiones del primer lote en la comparación de los 4 puntos (5, 6, 7 y 8) para las dos sondas (en condiciones normales de presión y temperaturas 20°C y 1013 hPa). Resultado del test de Kruskal-Wallis. Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$). Valores entre paréntesis indica desviación típica.

Punto	“A1”	“B”
5	28 a \pm (8,4)	377 b \pm (35)
6	14 a \pm (5,3)	446 b \pm (147)
7	10 a \pm (5,2)	446 b \pm (195)
8	7 a \pm (2,9)	408 b \pm (173)

Se analizó la diferencia entre los distintos puntos (5, 6, 7, y 8) para una misma sonda y se comprobó que hay diferencia significativa entre el punto 5 y el resto de los puntos (6, 7 y 8) para la sonda “A”. La sonda “B” no mostró diferencia entre ninguno de los cuatro puntos analizados. Tampoco hubo diferencias entre los contenido de oxígeno en el vino que se encontraba en el medio de la barrica y el que estaba en el fondo de la barrica con lías.

El segundo lote analizado de barricas solo tiene 3 puntos de comparación ya que las mismas carecen de lías y por lo tanto solo se realiza la medición del medio y fondo de la barrica.

Tabla 3.7: Valores promedios de oxígeno disuelto (ppb) de 2 repeticiones del segundo lote en la comparación de los 3 puntos (5, 6 y 7) para las dos sondas (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Resultado del ANOVA. Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$). Valores entre paréntesis indica desviación típica.

Punto	“A1”	“B”
5	34 a \pm (7,8)	434 b \pm (60)
6	19 a \pm (10,3)	390 b \pm (22,8)
7	19 a \pm (1,2)	361 b \pm (23)

El análisis de los puntos, en el medio y en el fondo del segundo lote, se comprobó que había diferencia entre las dos sondas “A” y “B” para un nivel de significancia de 95% en los tres puntos establecidos para el análisis (5, 6 y 7). Tampoco se encontró diferencias en los tres puntos para una misma sonda (“A” y “B”).

La sonda “C” fue colocada en los dos lotes de barricas inmediatamente después de haber realizado el muestreo con las otras dos sondas.

Se introdujo la sonda en el medio de la barrica y después de hacer la medición se realizó una pequeña agitación manual, lo mismo con la medición del fondo.

Los valores presentan diferencias significativas entre las mediciones realizadas en el medio de la barrica con y sin agitación (figura 3.7 Medio).

Los dos lotes analizados se comportaron de la misma forma. Se registró diferencias significativas en el medio de la barrica entre las mediciones realizadas con agitación y sin agitación. Cuando analizamos el fondo de las barricas no hay diferencias entre los valores con agitación y los de sin agitación.

Tabla 3.8: Valores promedio de 3 repeticiones de oxígeno disuelto (ppb) de la sonda (“C”) en el medio y fondo de la barrica del primer lote (con lías) (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Resultado del ANOVA Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$) Valores entre paréntesis indica desviación típica.

	Medio	Fondo
s/agitación	327 a \pm (26,5)	43 b \pm (25)
c/agitación	20 b \pm (10)	30 b \pm (35)

Tabla 3.9: Valores promedio de 2 repeticiones de oxígeno disuelto (ppb) de la sonda (“C”) en el medio y fondo de la barrica del segundo lote (sin lías) (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Resultado del ANOVA Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$) Valores entre paréntesis indica desviación típica.

	Medio	Fondo
s/agitación	351 a \pm (88,8)	79 b \pm (22,5)
c/agitación	68 b \pm (22,5)	58 b \pm (7,6)

Los resultados obtenidos indicaron claramente que la sonda necesita una agitación para realizar la medición de la concentración de oxígeno. La poca sensibilidad de la sonda “C” hace que los resultados tengan mucha variabilidad.

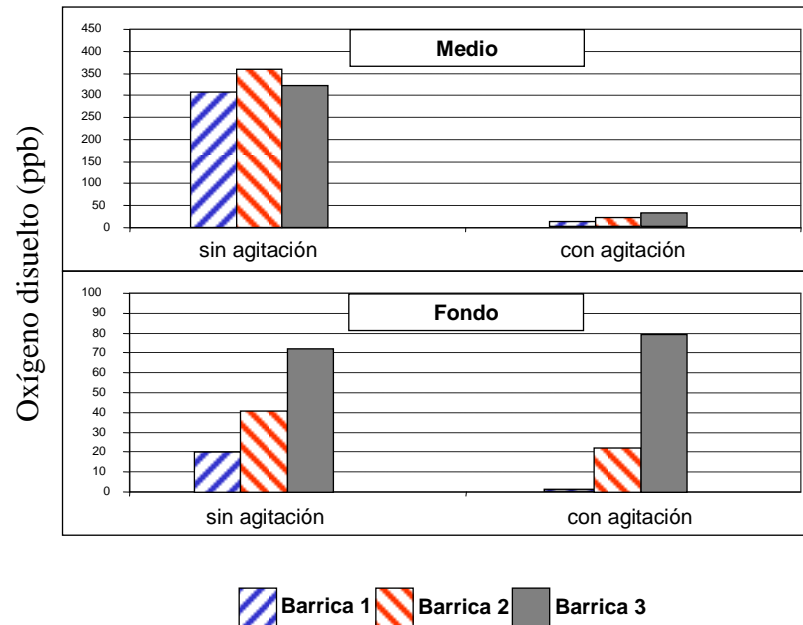


Figura 3.7: Resultados obtenidos de los datos de oxígeno disuelto obtenidos en las mediciones realizadas con la sonda “C” en el primer lote en tres barricas, en el medio y fondo de las barricas (con y sin agitación), en condiciones normales de presión y temperaturas: 20°C y 1013 hPa.

3.3.2. Prueba Ba2

Esta prueba tuvo las mismas características que la anterior. El fin fue comparar la metodología aplicada en las pruebas anteriores sobre barricas que posee el INRA de Pech Rouge.

Para el análisis del vino en la superficie de cada barrica se colocaron los 4 puntos de referencia, de la misma manera que en la prueba desarrollada en el punto 3.4.

En esta prueba debido a problemas registrados en la sonda “B” en las dos últimas barricas medidas, los datos de esas dos barricas fueron descartados para realizar el análisis. Esta decisión fue tomada debido a que el error obtenido del análisis sería mayor si los datos eran agregados al análisis.

Para realizar el análisis de los datos se utilizó el análisis de ANOVA. Los resultados de los puntos 1, 2 y 3 indicaron que los datos tomados con las dos sondas no presentan diferencias, mientras que si hay diferencia en el punto 4.

Tabla 3.10: Valores promedios de oxígeno disuelto (ppb) de 4 repeticiones para la sonda “A” y 2 repeticiones para la sonda “B” (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Resultado del ANOVA en la comparación de los 4 puntos para las dos sondas. Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$). Valores entre paréntesis indica desviación típica.

Punto	“A1”	“B”
1	40 a \pm (43,8)	102 a \pm (45,9)
2	53 a \pm (28,0)	86 a \pm (15,2)
3	85 a \pm (24,3)	121 a \pm (20,0)
4	94 a \pm (10,5)	126 b \pm (6,94)

De la comparación de las dos sondas en el punto 5, 6 y 7 se evidenció que no hay diferencias entre las dos sondas. Sin embargo la sonda “B” registró valores anormales en 2

barricas (repeticiones). Estos valores no están dentro de los valores normales que se pueden encontrar en las barricas, y fueron descartados para el análisis.

Tabla 3.11: Valores promedios de oxígeno disuelto (ppb) de 4 repeticiones para la sonda “A” y 2 repeticiones para la sonda “B” (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Resultado del ANOVA en la comparación de los 3 puntos para las dos sondas. Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$). Valores entre paréntesis indica desviación típica.

Punto	“A1”	“B”
5	397 a \pm (736,5)	870 a \pm (1117,5)
6	8 a \pm (2,5)	8 a \pm (1,2)
7	6 a \pm (1,9)	5 a \pm (5,4)

La sonda “C” (cuya medición se llevo a cabo igual que la prueba anterior) mostró diferencias en los valores obtenidos si la medición se realizó con agitación o sin agitación, mientras que el fondo no hay diferencias.

Tabla 3.12: Valores promedio de 4 repeticiones de oxígeno disuelto (ppb) de la sonda (“C”) en el medio y fondo de la barrica (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$). Valores entre paréntesis indica desviación típica.

	Medio	Fondo
s/agitación	467 a \pm (81,6)	90 b \pm (40,6)
c/agitación	81 b \pm (30,7)	57 b \pm (25,2)

De la comparación de las mediciones en las dos profundidades (medio y fondo) para un mismo modo operativo se detectó que no existen diferencias entre ambas profundidades si la medición se realizó con agitación. Pero si hay diferencias si se realiza sin agitación.

El comportamiento de la sonda “C” fue igual en las dos pruebas realizadas en las barricas.

3.4. Prueba en pileta CSC

3.4.1. Prueba CSC1

En la prueba realizada sobre la pileta de acero inoxidable CSC donde se comparó las sondas “A1”, “A2” y “B” se intentó verificar que los valores dados por las sondas deberían ser iguales, ya que, si bien las dos sondas sumergidas (“A1” y “B”) en el vino se encontraron separadas de la tercer sonda (“A2” que se encontraba ubicada en el robinete degustador de la pileta), todo el vino que contenía la pileta se homogenizaría al comenzar con la agitación y también los contenidos de oxígeno disuelto.

Para realizar el análisis de los datos se procedió de la misma manera que las pruebas anteriores.

Se verificaron los puntos establecidos en las respectivas gráficas y se realizaron las comparaciones.

El desarrollo de la curvas para las sondas “A1”, “A2” y “B” es el siguiente:

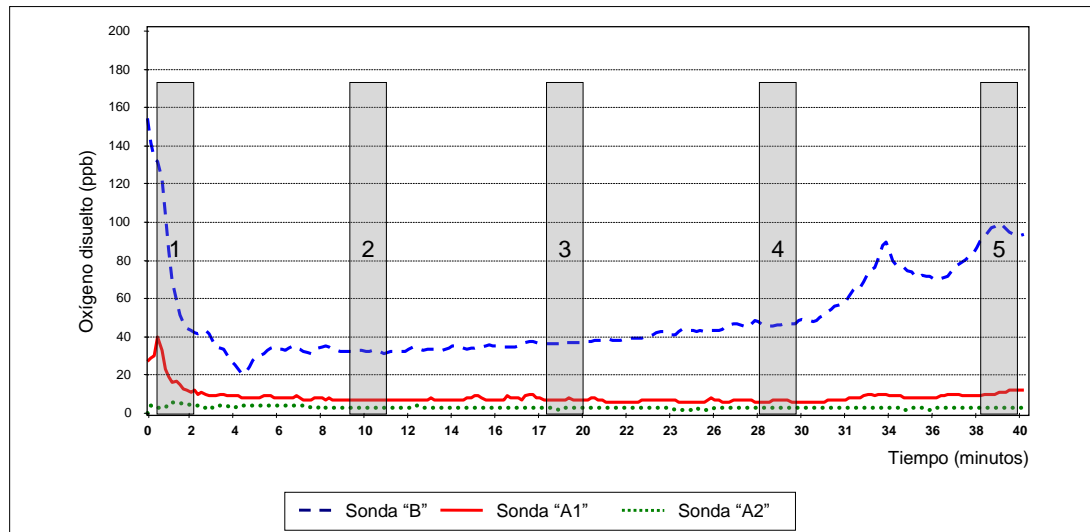


Figura 3.8: Muestra de los valores (mediciones brutas) de oxígeno disuelto de las tres sondas (2^{da} repetición). 1 representa el valor promedio de 1 minuto de medición al comenzar con la agitación; 2 representa el valor promedio de 1 minuto a los 10 minutos de agitación; 3 representa el valor promedio de 1 minuto a los 20 minutos de agitación; 4 representa el valor promedio de 1 minuto al final de la agitación y 5 valor promedio en el último minuto.

Para el análisis se tomaron 5 puntos de referencia, uno más que en las anteriores pruebas (4 puntos con vino en agitación y 1 punto con vino sin agitación). Cada uno de estos puntos representa un valor que es obtenido calculando el promedio de las mediciones de 1 minuto en el punto establecido.

El punto 1 al comienzo de la agitación, el punto 4 al final de la agitación, el punto 2 y 3 son dos puntos de referencia.

Luego de la agitación el vino permanece en reposo durante 10 minutos más, que también son evaluados (punto 5) para ver como se comportan las sondas en este periodo.

Los resultados indicaron por análisis de Kruskal – Wallis, que hay diferencia entre las sondas utilizadas en los distintos puntos analizados.

Para resumir estos datos se muestra el siguiente cuadro:

Tabla 3.13: Valores promedio de 5 repeticiones de oxígeno disuelto (ppb) de las tres sondas (“A1”, “A2” y “B”) en los 5 puntos de referencia (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$). Valores entre paréntesis indica desviación típica.

Sondas	Puntos de referencia				
	1	2	3	4	5
“A1”	31 a ($\pm 48,7$)	7 a ($\pm 4,8$)	6 a ($\pm 2,9$)	6 a ($\pm 2,2$)	10 a ($\pm 4,5$)
“A2”	6 a ($\pm 3,7$)	4 a ($\pm 1,6$)	4 a ($\pm 0,9$)	3 a ($\pm 0,7$)	2 b ($\pm 0,5$)
“B”	41 a ($\pm 40,3$)	29 b ($\pm 16,3$)	53 b (± 45)	50 b ($\pm 32,4$)	95 c ($\pm 36,3$)

En el punto 1 no hay diferencias entre las sondas “A1”, “A2” y “B”. En los puntos 2, 3 y 4 no hay diferencias entre las dos sondas “A” pero si hay diferencia entre éstas sondas con la sonda “B”. En el punto 5 hay diferencias entre las tres sondas (“A1”, “A2” y “B”).

Hay una clara reacción de las dos sondas “A” a tener los mismos valores en la mayoría de los puntos.

3.4.2. Prueba CSC2

Esta prueba tiene similares características que la anterior, se suma la sonda “C” para ser comparada.

El análisis de los datos fue realizado por Kruskal-Wallis para muestras no paramétricas.

Los resultados indicaron que hay variaciones entre las 4 sondas tratadas (“A1”, “A2”, “B” y “C”) en los diferentes puntos de comparación.

Los resultados del análisis los podemos visualizar en la siguiente tabla:

Tabla 3.14: Valores promedio de 5 repeticiones de oxígeno disuelto (ppb) de las cuatro sondas (“A1”, “A2”, “B” y “C”) en los 5 puntos de referencia (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$), test de Kruskal – Wallis. Valores entre paréntesis indica desviación típica.

Sondas	Puntos de referencia				
	1	2	3	4	5
“A1”	10 b ($\pm 3,7$)	5 b ($\pm 2,7$)	4 bc (± 14)	4 bc ($\pm 1,2$)	5 b ($\pm 1,6$)
“A2”	21 b ($\pm 11,6$)	14 b ($\pm 9,3$)	13 b ($\pm 8,7$)	12 b ($\pm 8,1$)	4 b ($\pm 1,1$)
“B”	110 a (± 54)	49 a (± 9)	41 a ($\pm 3,6$)	42 a ($\pm 8,1$)	82 a ($\pm 16,8$)
“C”	65 abc ($\pm 66,4$)	4 b ($\pm 15,5$)	-2 c ($\pm 9,5$)	-4 c ($\pm 8,4$)	16 b ($\pm 21,4$)

Esta prueba mostró que cambiando de posición las sondas, igual los contenidos de oxígeno fueron iguales. El comportamiento de las sondas “A” y “B” presentó la misma tendencia que la prueba anterior. La sonda “C” presentó valores intermedios entre las dos sondas (“A” y “B”) aunque en algunas mediciones la sonda presentó valores muy bajos.

3.5. Pruebas en botellas

3.5.1. Prueba Bot1

La prueba en botellas de vino a diferentes temperaturas, tuvo como objetivo principal medir las diferencias en los contenidos de oxígeno en un lote de botellas a las que se les cambió la temperatura de conservación.

Las mediciones fueron realizadas con el mismo protocolo desarrollado por el INRA de Pech Rouge con las variantes descritas en el punto 2.6.4.1.

Las mediciones de las dos sondas “A1” y “B”, a 20°C no presentaron diferencias significativas. En las mediciones realizadas a 30°C si hubo diferencia entre las dos sondas.

Del análisis de la sonda “A” a las diferentes temperaturas hay diferencias significativas entre las muestras (ANOVA). En la sonda “B” también se detectaron diferencias.

El resumen del análisis lo vemos en la siguiente tabla:

Tabla 3.15: Valores promedio de 8 repeticiones de oxígeno disuelto (ppb) de las dos sondas (“A1” y “B”) en las dos temperaturas (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$). Valores entre paréntesis indica desviación típica.

Sondas	Temperatura	
	20°C	30°C
“A1”	6 a ($\pm 1,2$)	9 b ($\pm 1,4$)
“B”	12 a ($\pm 16,2$)	55 b (± 30)

3.5.2. Prueba Bot2

En esta prueba se analizaron 3 lotes de botellas de diferentes procedencias con distintas concentraciones de oxígeno disuelto; los resultados fueron los siguientes:

Las dos sondas analizadas “A” y “B” no mostraron diferencias significativas para ninguno de los tres lotes analizados.

El análisis de la sonda “C” mostró nuevamente diferencia entre las mediciones realizadas con agitación de las de sin agitación.

El análisis de la varianza de la sonda “A” y la sonda “C” (con agitación) da como respuesta que no hay diferencia entre estas dos sondas para ningunos de los tres lotes analizados.

Tabla 3.16: Valores promedio de 6 repeticiones de oxígeno disuelto (ppb) de las tres sondas y en los tres lotes (en condiciones normales de presión y temperatura: 20°C y 1013 hPa). Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$). Valores entre paréntesis indica desviación típica.

Sondas	Lotes de botellas		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3
“A1”	1809 a (± 526)	1774 a (± 308)	424 a (± 323)
“B”	1799 a (± 485)	1702 a (± 285)	425 a (± 291)
“C” con agitación	2079 a (± 542)	1925 a (± 152)	408 a (± 477)

Esto nos indica que las tres sondas (“A” “B” y “C” con agitación) tuvieron los mismos comportamientos en esta prueba.

Discusión

Pruebas preliminares

En las pruebas preliminares para el caso de la comparación de los distintos caudales (P1), con la cámara de circulación para la sonda “B” vemos que no hubo diferencia entre los distintos caudales. Por lo que no haría falta un gran caudal para que la sonda funcione correctamente.

En el caso de las botellas los caudales chicos aumentan el tiempo de muestreo, mejorando la posibilidad de estabilización de las mediciones de las sondas lo que permite tomar un valor estable. Por el contrario si los caudales hubieran sido más altos (para las dos sondas) el contenido del líquido de la botella (75cl) no hubiera alcanzado para que la medición fuera estable. Por lo que se deduce que podría ser el mejor caudal 4 L/h para las futuras pruebas.

La diferencia de caudal entre las dos sondas (“A” y “B”) estaría dada prácticamente por la diferencia de tamaño de captor de la sonda como se mostró en la figura 2.4.

En la segunda prueba preliminar (P2), realizada con nitrógeno y aire, donde se mostró la respuesta de las sondas a los cambios de concentraciones de oxígeno cuando es aplicado aire y nitrógeno en forma continua. En esta prueba se verificaron algunas diferencias entre las dos sondas “A” y “B”. La más importante de estas diferencias radica en el descenso que existe cuando se aplica nitrógeno. La sonda “B” tiene muchas dificultades, en los 5 minutos de aplicado el nitrógeno, llegando a valores por debajo de 30 ppb, mientras que la sonda “A” en el mismo tiempo de tratamiento llega a valores de tres o dos ppb de oxígeno.

Para la realización de estas pruebas se verificó siempre que las dos sondas se encontrasen secas (sin presencia de gotas de agua), que podrían afectar las mediciones en las sondas (más en la sonda “B”). Es posible que la sonda “B” tenga dificultades en descender muy rápidamente desde 8000 ppb a 2 ppb ya que el manual de instrucciones de dicha sonda recomienda que para la calibración en la fase de sulfitos, la sonda permanezca toda una noche sumergida en una solución de sulfitos para obtener una buena calibración.

Las pruebas preliminares que se realizaron verificaron la metodología de trabajo y lograron poner a punto la calibración de la sonda “B”. Se realizaron varias pruebas que no se muestran en este trabajo. En estas pruebas se constató que la sonda “B” tenía problemas en algunas mediciones y se pensó que todos estos problemas estarían dados por la acumulación de aire en el sector donde se ubica el sensor.

Una prueba no mostrada pero que vale la pena mencionarla fue la realizada con aire, nitrógeno y agua. Esta prueba tiene similares características que la prueba P2 con la diferencia de tener una tercer medición en agua saturada de oxígeno. Este ensayo no funcionó debido a que después de realizar la medición con agua, pequeñas gotas de la misma quedan alojadas en la pequeño captor de la sonda “B” imposibilitando seguir con el resto de las mediciones, igualmente inclinando la sonda. No sucedía lo mismo con la sonda testigo.

En definitiva se llegó a la conclusión de no mezclar dos fases en una misma medición de oxígeno con la sonda “B” (siempre gas o líquido).

Barricas

La evaluación del oxígeno disuelto en la superficie de la barrica es una medición difícil debido al poco volumen que tiene la barrica y al intercambio gaseoso. Si la barrica está herméticamente cerrada los contenidos de oxígeno en la superficie del vino son menores (5-10% de oxígeno) a los encontrados en el aire (Moutounet *et. all* 1998), por lo tanto la

difusión del oxígeno hacia el vino es menor. Pero después de sacar el tapón de la boca, se introduce aire con 20,9 % de oxígeno.

Como los vinos consumen oxígeno, la parte del vino que está en contacto con el aire, (en la superficie de las barricas) tiene más oxígeno que la que se encuentra en el fondo de la barrica, es por eso que cuando evaluamos los contenidos de oxígeno en los primeros 4 cm de oxígeno encontraremos un gradiente. Del análisis de este gradiente se detectó que los contenidos de oxígeno aumentan hasta saturación a medida que disminuye el espesor de la película de vino en contacto con el aire.

Las dos sondas evaluadas en esta prueba dieron diferencias significativas entre ellas. La sonda testigo "A" ya ha sido probada en distintos ensayos (Soberka y Warzecha 1986; Zingarelli, Gerbi 1999; Vallade y Tribaut-Sohier 2001; Vidal *et. all* 2001, 2003, 2004) lo que evidencia un mal funcionamiento de la sonda B, presentando valores de 2 a 5 veces superior que la sonda testigo.

Hay que tener en cuenta que esta prueba fue realizada sobre vino blanco al cual tiene una capacidad menor de consumo de oxígeno que los vinos tintos y por lo tanto puede presentar concentraciones de oxígeno disuelto mayores que un vino tinto. Pero no se justifica los valores observados en la sonda "B"

En cuanto a los contenidos de oxígeno disuelto promedios registrados en el medio y en el fondo de las barricas, 14 ppb y 7 ppb respectivamente, (mediciones de la sonda "A") corresponden a valores correctos y bajos para un vino blanco y mucho más si se encuentra en barricas. Las mediciones realizadas en las barricas con lías da valores más bajos que los que no tienen lías; se podría decir que los resultados obtenidos confirman el trabajo realizado por Fornairon *et col* 1999 que dice que las lías son grandes consumidoras de oxígeno, sin embargo faltaría más repeticiones o ensayos para poder afirmar este caso. La sonda "B" registró valores promedio 446 ppb para el medio y 408 ppb para el fondo de las barricas. Estos valores son altos considerando que se tomaron las mismas condiciones para las dos sondas y las mismas metodologías de trabajo. Se desconocen cuales fueron las causas de esta diferencia.

La sonda "C" registró (en el medio y en el fondo de las barricas) valores inferiores que la sonda "B" y superiores a los registrados por la sonda "A". Esta comparación se realizó cuando de sonda "C" se mantuvo con agitación.

En la segunda prueba desarrollada sobre barricas (prueba Ba2, barricas de Pech Rouge) sobre vino tinto surgió nuevamente un problema con la sonda "B" que se tradujo en que las dos últimas barricas de un total de cuatro analizadas presentaron problemas con las mediciones notándose un aumento continuo en las concentraciones de oxígeno en las barricas. Los contenidos de oxígeno en esa barrica (según la sonda testigo) se encontraban por debajo de los 50 ppb y la sonda "B" supero los 1000 ppb dejando otra gran incógnita. Descartadas las mediciones de estas dos barricas debido a los problemas ya comentados, la comparación de las dos sondas indicó que no hay diferencias entre las sondas cuando se analizaron los contenidos de oxígeno disuelto en el medio y en el fondo de la barrica.

Este problema se presentó en varias oportunidades en la sonda "B" en distintas pruebas. Se piensa que podría estar atribuido a la acumulación de pequeñas burbujas de aire en el espacio donde se encuentra el microcaptor (ver figura 2.4). Este problema no se presentó en las otras sondas debido a que el diseño y el tamaño de la sondas no permiten esta acumulación de aire.

La sonda "C" presentó en el medio y en el fondo de las barricas valores más altos comparados con la las mediciones realizadas en las barricas de vino blanco. Si comparamos

los valores con las otras sondas (“A” = 7 a 10 ppb y B” = 400-500 ppb) podemos decir que la sonda “C” se encuentra entre valores intermedios entre las dos sondas “A” y “B” (comparando siempre valores con agitación de la sonda “C”).

La eliminación de estas burbujas en la sonda “B” implica desarmar la cámara de circulación y secar o verificar su estado para luego volverla a armar con el inconveniente de perder la información de las barricas procesadas debido a que el vino ha sido extraído de la barrica para el análisis.

Es difícil poder dar una conclusión de los resultados de esta comparación. Lo que sí se puede afirmar es que la sonda testigo (“A” de Orbisphere) continuó dando excelentes resultados en lo que respecta a exactitud y repetibilidad de los datos, incluso se han registrado valores de 7 ppb de oxígeno disuelto en el vino en el fondo de la barrica. Estos valores son bajos e indica que el dispositivo de muestreo del vino funciona perfectamente. Si hubiera algún problema en el diseño del dispositivo de muestreo, la sonda registraría valores superiores debido a ingresos de aire por algún lugar.

Hay que recordar que para las pruebas se tuvieron en cuenta las recomendaciones propuestas por Moutounet y Mazauric (1999) en la utilización de nitrógeno para purgar el aire y las precauciones que hay que tener respecto al procedimiento de medición de oxígeno disuelto.

Piletas

Las pruebas realizadas en la piqueta CSC tuvieron un buen desarrollo durante las dos pruebas realizadas.

En la primera prueba que se realizó (piqueta CSC abajo) se pudo apreciar como las dos sondas “A1” y “A2” no marcaron diferencia significativa entre las mediciones, mientras que la sonda “B” si presentó diferencias con respecto a las dos sondas “A”.

En el punto de referencia 5 hay diferencias entre las tres sondas, pero hay que recalcar que este punto el vino ya no tiene agitación con la bomba y la diferencia entre las sondas es posible.

Los puntos 2, 3 y 4 son los más importantes (estables) para comparar los contenidos de oxígeno disuelto en el vino de la piqueta. En estos 3 puntos los valores promedios para la sonda “A1” fueron de $6 \pm 0,57$ ppb, para la sonda “A2” $3,7 \pm 0,57$ ppb y para la sonda “B” 44 ± 13 ppb.

En la segunda prueba realizada en la piqueta CSC (piqueta CSC arriba) se evaluaron las cuatro sondas “A1”, “A2”, “B” y “C” resultados similares a la prueba anterior (CSC1). Las dos sondas “A” no dieron diferencias significativas en ninguno de los cinco puntos de referencias, mientras que la sonda “B” continuó realizando mediciones significativamente más altas que “A”.

La sonda “C” dio valores entre las dos sondas (A y B) y en el punto 2 no hay diferencias entre la sonda “C” y la “A”. Esto nos mostró que la sonda “C” tiene un buen desarrollo, considerando siempre que existe agitación en el vino.

Los contenidos de oxígeno fueron siempre bajos no existiendo interferencia ni incorporación de oxígeno de ningún lado pudiendo alterar los datos. Los contenidos de oxígeno disuelto registrados por la sonda “A” son siempre buenos.

Los valores obtenidos por la sonda “A” son más bajos en la piqueta que en las barricas. Como el vino es el mismo se podría decir que las barricas tienen mas oxígeno que la piqueta, confirmando la bibliografía (Ferrarini *et col* 2001) que habla de los distintos contenidos de oxígeno en distintos recipientes contenedores de vinos.

Botellas

La primera prueba realizada en botella, fue a diferentes temperaturas. Esta prueba registró diferencias significativas entre la sonda “A” a diferentes temperaturas. Cuando analizamos las dos sondas a una misma temperatura (20°C) el análisis no indicó diferencia significativa sin embargo la variabilidad de la sonda “B” es muy grande comparado con la sonda “A”. Lo mismo sucede cuando analizamos las dos sondas a 30°C.

Las dos sondas registraron mediciones más altas cuando las temperaturas fueron más elevadas, esto es raro ya que los contenidos de oxígeno a 30°C debieron dar concentraciones de oxígeno más bajas que a 20°C. Una causa posible de esto podría ser la modificación de la permeabilidad del corcho debido a las diferentes temperaturas, cuya incidencia no fue estudiado en este informe.

El segundo ensayo realizado en las botellas dió resultados más concretos ya que ninguna de las tres sondas mostró diferencias significativas. Si bien la variabilidad de las sondas fue grande, en estos casos la precisión es menos importante porque los contenidos de oxígeno disueltos son altos.

Los valores de los lotes son diferentes y dependen del tiempo que ha pasado desde el envasado hasta la medición del oxígeno. El Lote 1 y 2 fueron botellas con poco tiempo de envasado y los contenidos son mayores a diferencia del lote 3 que tenía 24 horas de envasado y parte del oxígeno ya había sido consumido por el vino.

Un importante resultado con respecto a las mediciones realizadas con las sonda A y B es que poseen muy poca variabilidad cuando se analizó la muestra gaseosa de aire y nitrógeno, esto ayuda a comprender mejor el comportamiento de la sonda “B” que en muchos caso da malas interpretaciones debido a la posible acumulación de burbujas de aire en el captor. Cuando la muestra es un gas no existió este problema otorgando buenos resultados.

Para hacer un resumen de las ventajas y desventajas detectadas en las tres sondas se realizó un cuadro mostrando algunas características de las mismas.

Tabla 4.1: Comparación esquemática de las tres sondas. (+++: valores altos; ++: valores medios; +: valores bajos)

Características	“A”	“B”	“C”
Precisión > 0,5 mg/L	+++	++	++
Precisión < 0,5 mg/L	+++	+	+
Repetibilidad	+++	+	++
Sensibilidad	++	++	+
Velocidad para una medición estable	+++	++	+
Costo de adquisición	+++	+	+
Posibilidad de conexión a computadoras	si	Si	si
Costo de mantenimiento	+++	+	+
Facilidad de transporte	+	++	+++

Conclusiones y Perspectivas

Como conclusión de todas las pruebas realizadas podríamos decir que existió diferencias entre las sondas estudiadas por lo que se rechaza la hipótesis de que las sondas se comportarían iguales en todas las condiciones.

El comportamiento de la sonda "A" fue bueno en todas las pruebas realizadas evidenciadas por la repetibilidad de los datos y los valores teóricos (tanto en valores cercanos a saturación como en valores cercanos a 0 ppb), mientras que las otras dos sondas manifestaron algunas diferencias dependiendo de las pruebas.

Podríamos decir que la sonda "B" tendría un mejor comportamiento cuando los contenidos de oxígeno disuelto se encuentran por encima de los 0,5 mg/l y el medio el que se analiza no se encuentre agitado, ya que podría provocar un posible acumulación de burbujas en el captor de la sonda "B".

La sonda "C" por su diseño y practicidad de transporte es una sonda buena para realizar mediciones puntuales en distintas situaciones de trabajo en una bodega donde los contenidos de oxígeno disuelto sean superiores a 0,5mg/l. Si bien la sonda no consume oxígeno es una condición necesaria que la misma tenga una pequeña agitación para lograr valores mas cercanos a la sonda testigo.

Sería interesante realizar otras pruebas con más repeticiones para poder apreciar mejor los distintos contenidos de oxígeno en aquellas situaciones donde las concentraciones de oxígeno disuelto se encontraban por debajo de 0,5 mg/l, como es el caso de las barricas con lías y sin lías y en piletas días después de ser llenadas.

Anexo 1

12

Manuel instructions M.O.C.A Oxygène polarographique

1.3.3 Table des concentrations en oxygène dans l'air saturé de vapeur d'eau

Concentrations exprimées en ppm (mg/litre) d'O₂ dissous, suivant la température en °C dans la colonne de gauche et la pression atmosphérique en Torr (ou mmHg) en abscisse.

T	700	705	710	715	720	725	730	735	740	745
0	13,39	13,49	13,58	13,68	13,78	13,87	13,97	14,07	14,16	14,26
1	13,02	13,11	13,21	13,30	13,40	13,49	13,58	13,68	13,77	13,86
2	12,67	12,76	12,85	12,94	13,03	13,12	13,21	13,30	13,40	13,49
3	12,33	12,42	12,51	12,59	12,68	12,77	12,86	12,95	13,04	13,13
4	12,01	12,09	12,18	12,26	12,35	12,44	12,52	12,61	12,70	12,78
5	11,70	11,78	11,86	11,95	12,03	12,12	12,20	12,29	12,37	12,46
6	11,40	11,48	11,56	11,65	11,73	11,81	11,89	11,98	12,06	12,14
7	11,12	11,20	11,28	11,36	11,44	11,52	11,60	11,68	11,76	11,84
8	10,85	10,92	11,00	11,08	11,16	11,24	11,32	11,39	11,47	11,55
9	10,59	10,66	10,74	10,82	10,89	10,97	11,05	11,12	11,20	11,28
10	10,34	10,41	10,49	10,56	10,64	10,71	10,79	10,86	10,94	11,01
11	10,10	10,17	10,24	10,32	10,39	10,46	10,54	10,61	10,68	10,76
12	9,87	9,94	10,01	10,08	10,15	10,23	10,30	10,37	10,44	10,51
13	9,65	9,72	9,79	9,86	9,93	10,00	10,07	10,14	10,21	10,28
14	9,44	9,50	9,57	9,64	9,71	9,78	9,85	9,92	9,99	10,05
15	9,23	9,30	9,37	9,43	9,50	9,57	9,64	9,70	9,77	9,84
16	9,04	9,10	9,17	9,23	9,30	9,37	9,43	9,50	9,56	9,63
17	8,85	8,91	8,98	9,04	9,11	9,17	9,23	9,30	9,36	9,43
18	8,67	8,73	8,79	8,86	8,92	8,98	9,05	9,11	9,17	9,24
19	8,49	8,55	8,61	8,68	8,74	8,80	8,86	8,93	8,99	9,05
20	8,32	8,38	8,44	8,50	8,57	8,63	8,69	8,75	8,81	8,87
21	8,16	8,22	8,28	8,34	8,40	8,46	8,52	8,58	8,64	8,70
22	8,00	8,06	8,12	8,18	8,24	8,29	8,35	8,41	8,47	8,53
23	7,85	7,91	7,96	8,02	8,08	8,14	8,19	8,25	8,31	8,37
24	7,70	7,76	7,81	7,87	7,93	7,98	8,04	8,10	8,16	8,21
25	7,56	7,61	7,67	7,73	7,78	7,84	7,89	7,95	8,01	8,06
26	7,42	7,47	7,53	7,58	7,64	7,70	7,75	7,81	7,86	7,92
27	7,29	7,34	7,39	7,45	7,50	7,56	7,61	7,67	7,72	7,77
28	7,16	7,21	7,26	7,32	7,37	7,42	7,48	7,53	7,58	7,64
29	7,03	7,08	7,14	7,19	7,24	7,29	7,35	7,40	7,45	7,50
30	6,91	6,96	7,01	7,06	7,12	7,17	7,22	7,27	7,32	7,37
31	6,79	6,84	6,89	6,94	6,99	7,04	7,10	7,15	7,20	7,25
32	6,67	6,72	6,77	6,82	6,87	6,92	6,98	7,03	7,08	7,13
33	6,56	6,61	6,66	6,71	6,76	6,81	6,86	6,91	6,96	7,01
34	6,45	6,50	6,55	6,60	6,65	6,70	6,74	6,79	6,84	6,89
35	6,34	6,39	6,44	6,49	6,54	6,59	6,63	6,68	6,73	6,78
36	6,24	6,29	6,34	6,38	6,43	6,48	6,53	6,57	6,62	6,67
37	6,14	6,18	6,23	6,28	6,33	6,37	6,42	6,47	6,51	6,56
38	6,04	6,08	6,13	6,18	6,22	6,27	6,32	6,36	6,41	6,46
39	5,94	5,99	6,03	6,08	6,12	6,17	6,22	6,26	6,31	6,35
40	5,84	5,89	5,94	5,98	6,03	6,07	6,12	6,16	6,21	6,25
41	5,75	5,80	5,84	5,89	5,93	5,98	6,02	6,06	6,11	6,15
42	5,66	5,70	5,75	5,79	5,84	5,88	5,92	5,97	6,01	6,06
43	5,57	5,61	5,66	5,70	5,74	5,79	5,83	5,88	5,92	5,96
44	5,48	5,52	5,57	5,61	5,65	5,70	5,74	5,78	5,83	5,87
45	5,39	5,43	5,48	5,52	5,56	5,61	5,65	5,69	5,73	5,78
46	5,30	5,35	5,39	5,43	5,47	5,52	5,56	5,60	5,64	5,69
47	5,22	5,26	5,30	5,35	5,39	5,43	5,47	5,51	5,56	5,60
48	5,13	5,18	5,22	5,26	5,30	5,34	5,39	5,43	5,47	5,51
49	5,05	5,09	5,13	5,18	5,22	5,26	5,30	5,34	5,38	5,42
50	4,97	5,01	5,05	5,09	5,13	5,17	5,21	5,26	5,30	5,34

(Première de deux)

Table des concentrations en oxygène dans l'air saturé de vapeur d'eau

Concentrations exprimées en ppm (mg/litre) d'O₂ dissous, suivant la température en °C dans la colonne de gauche et la pression atmosphérique en Torr (ou mmHg) en abscisse.

T	750	755	760	765	770	775	780	785	790	795
0	14,36	14,45	14,55	14,64	14,74	14,84	14,93	15,03	15,13	15,22
1	13,96	14,05	14,15	14,24	14,33	14,43	14,52	14,61	14,71	14,80
2	13,58	13,67	13,76	13,85	13,94	14,03	14,13	14,22	14,31	14,40
3	13,22	13,31	13,39	13,48	13,57	13,66	13,75	13,84	13,93	14,02
4	12,87	12,96	13,04	13,13	13,22	13,30	13,39	13,48	13,56	13,65
5	12,54	12,62	12,71	12,79	12,88	12,96	13,05	13,13	13,21	13,30
6	12,22	12,31	12,39	12,47	12,55	12,63	12,72	12,80	12,88	12,96
7	11,92	12,00	12,08	12,16	12,24	12,32	12,50	12,48	12,56	12,64
8	11,63	11,71	11,79	11,87	11,94	12,02	12,10	12,18	12,26	12,34
9	11,35	11,43	11,51	11,58	11,66	11,74	11,81	11,89	11,96	12,04
10	11,09	11,16	11,24	11,31	11,39	11,46	11,53	11,61	11,68	11,76
11	10,83	10,90	10,98	11,05	11,12	11,20	11,27	11,34	11,42	11,49
12	10,58	10,66	10,73	10,80	10,87	10,94	11,01	11,09	11,16	11,23
13	10,35	10,42	10,49	10,56	10,63	10,70	10,77	10,84	10,91	10,98
14	10,12	10,19	10,26	10,33	10,40	10,47	10,53	10,60	10,67	10,74
15	9,90	9,97	10,04	10,11	10,17	10,24	10,31	10,37	10,44	10,51
16	9,69	9,76	9,83	9,89	9,96	10,02	10,09	10,16	10,22	10,29
17	9,49	9,56	9,62	9,69	9,75	9,82	9,88	9,95	10,01	10,07
18	9,30	9,36	9,43	9,49	9,55	9,62	9,68	9,74	9,81	9,87
19	9,11	9,17	9,24	9,30	9,36	9,42	9,48	9,55	9,61	9,67
20	8,93	8,99	9,05	9,11	9,18	9,24	9,30	9,36	9,42	9,48
21	8,76	8,82	8,88	8,94	9,00	9,06	9,12	9,18	9,24	9,30
22	8,59	8,65	8,71	8,77	8,82	8,88	8,94	9,00	9,06	9,12
23	8,43	8,48	8,54	8,60	8,66	8,72	8,77	8,83	8,89	8,95
24	8,27	8,33	8,38	8,44	8,50	8,55	8,61	8,67	8,72	8,78
25	8,12	8,17	8,23	8,29	8,34	8,40	8,45	8,51	8,56	8,62
26	7,97	8,03	8,08	8,14	8,19	8,25	8,30	8,36	8,41	8,47
27	7,83	7,88	7,94	7,99	8,04	8,10	8,15	8,21	8,26	8,32
28	7,69	7,74	7,80	7,85	7,90	7,96	8,01	8,06	8,12	8,17
29	7,56	7,61	7,66	7,71	7,77	7,82	7,87	7,92	7,98	8,03
30	7,43	7,48	7,53	7,58	7,63	7,68	7,74	7,79	7,84	7,89
31	7,30	7,35	7,40	7,45	7,50	7,55	7,61	7,66	7,71	7,76
32	7,18	7,23	7,28	7,33	7,38	7,43	7,448	7,53	7,58	7,63
33	7,06	7,11	7,16	7,21	7,26	7,30	7,35	7,40	7,45	7,50
34	6,94	6,99	7,04	7,09	7,14	7,18	7,23	7,28	7,33	7,38
35	6,83	6,88	6,92	6,97	7,02	7,07	7,12	7,16	7,21	7,26
36	6,72	6,76	6,81	6,86	6,91	6,95	7,00	7,05	7,10	7,15
37	6,61	6,66	6,70	6,75	6,80	6,84	6,89	6,94	6,98	7,03
38	6,50	6,55	6,60	6,64	6,69	6,74	6,78	6,83	6,87	6,92
39	6,40	6,45	6,49	6,54	6,58	6,63	6,67	6,72	6,77	6,81
40	6,30	6,34	6,39	6,43	6,48	6,53	6,57	6,62	6,66	6,71
41	6,20	6,24	6,29	6,33	6,38	6,42	6,47	6,51	6,56	6,60
42	6,10	6,15	6,19	6,24	6,28	6,32	6,37	6,41	6,46	6,50
43	6,01	6,05	6,09	6,14	6,18	6,23	6,27	6,31	6,36	6,40
44	5,91	5,96	6,00	6,04	6,09	6,13	6,17	6,22	6,26	6,30
45	5,82	5,86	5,91	5,95	5,99	6,04	6,08	6,12	6,16	6,21
46	5,73	5,77	5,82	5,86	5,90	5,94	5,99	6,03	6,07	6,11
47	5,64	5,68	5,72	5,77	5,81	5,85	5,89	5,94	5,98	6,02
48	5,55	5,59	5,64	5,68	5,72	5,76	5,80	5,84	5,89	5,93
49	5,46	5,51	5,55	5,59	5,63	5,67	5,71	5,75	5,80	5,84
50	5,38	5,42	5,46	5,50	5,54	5,58	5,62	5,66	5,71	5,75

(Seconde de deux)

Anexo 2

INRA**Mode opératoire
Oxygène dissous****Rev : 0****PECH ROUGE****Avant propos :**

Les utilisateurs doivent au préalable recevoir une formation de la part du responsable (JC VIDAL), avant toute mesure.

1. Principe :

Le dosage de l'oxygène dissous est effectué par voie électrochimique. La sonde polarographique est constituée par une cathode en or, une anode en argent et une membrane perméable à l'oxygène séparant les électrodes du milieu extérieur.

L'oxygène moléculaire qui traverse la membrane va engendrer par réaction électrochimique un courant proportionnel à la pression partielle de l'oxygène dans le milieu étudié. Dans le cas d'un système polarographique, la réaction aux électrodes fait appel à une tension électrique de polarisation extérieure.

La diffusion de l'oxygène à travers la membrane est fonction, entre autres facteurs, de la température, de la pression et de la salinité du milieu. La compensation de température est automatique sur l'appareil utilisé ici.

Après application d'une tension (ddp) de 0.725 V aux bornes des électrodes, les réactions sont:

à la cathode : $O_2 + 2 H_2O + 4e^- ==> 4 OH^-$,

à l'anode : $4 Ag + 4 Cl^- ==> 4 AgCl + 4 e^-$.

Les gaz susceptibles de se réduire aux environs de 0.725 V et de traverser la membrane peuvent donc interférer ; dans la pratique, seul le chlore en forte quantité peut gêner. Par ailleurs, certains composés soufrés (sulfures, mercaptans ...) sont susceptibles d'empoisonner la membrane à la suite d'un contact prolongé.

2. Appareillage :

-Analyseur monocanal à microprocesseur pour mesures d'oxygène (M.O.C.A) d'ORBISPHERE LABORATORIES composé de :

un boîtier de mesure série 3600,

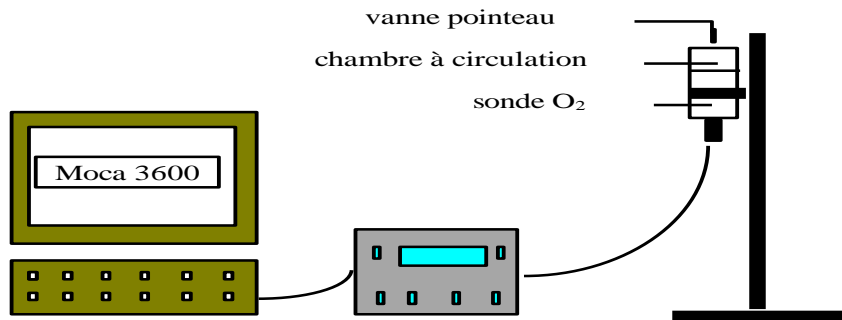
une sonde oxygène polarographique type 31120 pour mesure d'oxygène dissous ou gazeux supérieures à 1 ppb (dissous) / 0.5 Pa (gazeux).

-Echantillonneur d'oxygène pour boîtes et bouteilles 29973 d'ORBISPHERE LABORATORIES.

-Ordinateur PC équipé de WINDOWS version 1.01 ou ultérieure et du logiciel d'acquisition de données Moca 3600 PROGRAM d'ORBISPHERE LABORATORIES.

-Bouteille d'azote (Air liquide, 9.4 m³, qualité ALIGAL 1 : pureté = 99.95%).

3. Schéma de montage :



Utiliser une clé de 14 pour les raccords SWAGELOK.

4. Mode opératoire :

4.1-Etalonnage de la sonde dans l'air :

Le réaliser à chaque jour d'utilisation.

Vérifier les raccordements entre les différents éléments.

Mettre sous tension le boîtier et attendre environ 10 mn.

Sonde :

Dévisser le capuchon de sonde ou la chambre à circulation, le remplir d'eau puis vider cette eau de manière à ne garder qu'une fine pellicule d'eau sur les parois internes du capuchon.

Replacer avec précaution le capuchon ou la chambre à circulation sur la tête de sonde et le maintenir en place en vissant de quelques tours le collier de serrage. On «emprisonne» ainsi quelques millilitres d'air qui vont se saturer naturellement en vapeur d'eau.

Boîtier :

A partir du menu «MESURE / OPTIONS / CALIBRATION», utiliser les touches \uparrow et \downarrow pour faire clignoter «CALIBRATION», puis appuyer sur DO. Vous entrez dans le sous-menu des opérations d'étalonnage. Procéder de la même façon pour sélectionner «DANS L'AIR».

Le système affiche le message donnant la valeur du pourcentage du courant produit par la sonde par rapport à celui de l'étalonnage précédent sous la forme «XX.XX % DE LA CALIBRATION PRECEDENTE». Cette indication est fort utile pour visualiser la dérive du signal de la sonde depuis son dernier étalonnage, dérive ayant pour principale cause l'encrassement des électrodes, provenant de la réaction électrochimique ayant lieu entre les électrodes et l'électrolyte.

La vitesse d'encrassement des électrodes, phénomène qui est rappelons le inéluctable, est proportionnelle aux teneurs en oxygène mesurées, au temps de mesure, ainsi qu'au milieu de mesure, et est de plus différente suivant le type de membrane utilisé. Une dérive de quelques %

Par mois est parfaitement normale, tandis qu'une dérive de quelques % par jour indique en général un mauvais choix de membrane par rapport à l'application.

Si le pourcentage affiché vous semble trop bas, vous devrez procéder au nettoyage des électrodes pour retrouver une sensibilité proche de 100.00 %.

Les limites maximales de la valeur du pourcentage affiché sont de 50 % à 150 %. En dehors de ces valeurs, le fait d'appuyer sur la touche DO fera apparaître le message d'erreur «CALIBRATION HORS DES LIMITES». Si le pourcentage affiché est entre les limites tolérées, et si celui-ci vous convient, le fait d'appuyer sur DO après stabilisation de cette

valeur fera apparaître sur l'écran «CALIBRATION TERMINEE» pendant quelques instants, qui vous confirme que le système est bien étalonné.

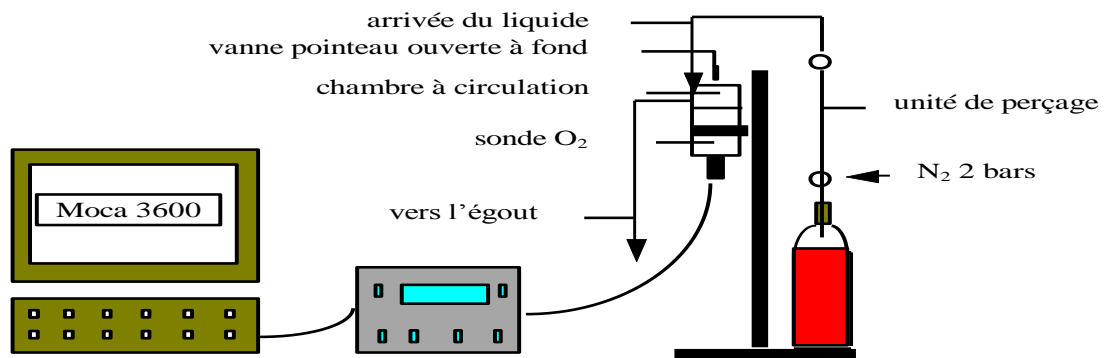
Ensuite, on peut soit revenir au menu principal «MESURE / OPTIONS / CALIBRATION» à l'aide de la touche ESC, soit faire une nouvelle vérification de l'étalonnage avec la touche DO.

Rentrer dans le menu «MESURE», le système affiche une concentration en oxygène comprise entre 8 et 9000 ppb selon la température et la pression atmosphérique. Comparer la valeur donnée par rapport à *la table des concentrations en oxygène dans l'air saturé de vapeur d'eau* (voir pages suivantes) afin de vérifier l'étalonnage.

Equivalence entre différentes unités de pression :

1 bar = 1000 mbar = 750.1 Torr = 750.1 mm Hg = 29.53 Inches = 0.987 Atm = 14.5 PSI = 100 Kpa.

4.2-Mesure :



Rentrer dans le menu «MESURE».

Vérifier les unités de mesure :

pour la teneur en oxygène en gaz dissous : ppb,

pour la température : °C.

Si ce n'est pas le cas, aller dans le menu «OPTIONS» ==> «UNITES DE MESURE» ==> «DISSOUS» ==> choisir ppb. Précision : 1 ppb = 1 µg/l, 1 ppm = 1 mg/l.

Mettre sous tension le micro-ordinateur, ouvrir le logiciel ORBISPHERE / O₂. Choisir dans le menu «configuration» l'option all data, pour avoir le résultat des mesures en continu.

Vérifier que l'obus soit bien placé au bout de l'aiguille de perçage.

Débloquer la poignée de sécurité orange et faire coulisser l'unité de perçage de façon que celle-ci vienne se bloquer en position centrée sur le haut de la bouteille. Enfoncer le tire-bouchon pour ne pas que le bouchon glisse vers le bas de la bouteille au moment du perçage.

Ramener le levier franchement vers vous depuis sa position initiale en position horizontale, afin de percer le bouchon. Par action sur la pièce supérieure noire de la tête de perçage, descendre le tube d'échantillonnage dans la chambre à gaz. Libérer l'orifice pour permettre à l'azote de sortir. Mettre la contre pression d'azote (détendeur réglé sur 2 bars) en ouvrant la vanne pointeau située sur la partie inférieure de la tête de perçage.

Attendre que la teneur en oxygène soit tombée en dessous de 10 ppb. Descendre l'aiguille au fond de la bouteille. Le gaz vecteur pressurise la phase gazeuse de l'emballage poussant

ainsi le liquide à travers le tube d'échantillonnage vers la pièce noire supérieure de la tête de perçage où un tuyau plastique le conduit à l'entrée de la chambre à circulation de la sonde. Dans la chambre à circulation, la sonde mesure la concentration en oxygène du liquide puis celui-ci est rejeté via un tuyau de sortie vers un fût à bière qui sert d'égout.

Lancer l'acquisition des données sur le logiciel. Eliminer les bulles qui se seraient formées dans les tubes et la chambre à circulation car elles faussent la mesure par défaut. Attendre la stabilisation de la lecture avant de la prendre en compte (passer au minimum 200-300 ml de liquide).

Sortir le tube d'échantillonnage, puis ramener le levier à sa position initiale. Enlever le tire-bouchon et dégager la bouteille avec la main droite en soulevant l'unité de perçage avec la main gauche. Bloquer la poignée de sécurité orange.

4.3-Conditionnement après utilisation et stockage :

En fin d'utilisation, utiliser une bouteille pleine d'eau et bouchée comme un échantillon normal afin de rincer tout le circuit.

Si on utilise la sonde régulièrement, remplir d'un peu d'eau le capuchon de protection et d'étalonnage, et le placer sur la tête de sonde, maintenu par le collier de serrage, durant la période de non utilisation. Pour des durées de non fonctionnement supérieures, telles que plusieurs mois, il est préférable de la conserver, après avoir effectué une procédure de nettoyage des électrodes, sèche, sans électrolyte, mais avec une membrane et le capuchon à visser comme protection contre la poussière ou les chocs.

REMARQUES IMPORTANTES :

D'après nos essais de 2003, il est préférable d'utiliser la chambre de circulation et un tuyau d'alimentation de la sonde en acier inoxydable imperméable à l'oxygène, surtout pour les valeurs proches de 0-100 ppb.

Insérer un débitmètre dans le circuit pour obtenir un débit adapté aux recommandations du constructeur.

Pour les mesures sur les cuves, la première mesure sert de blanc afin de purger tout l'oxygène piégé dans le circuit.

Bibliografia

- Charpentier N., Maujean A.** (1981). Sunlight flavours in champagne wines. Weurman Flavour Research Symposium p 609-615.
- Cheyrier V., Arellano I. H., Souquet J. M., Moutounet M.** (1997). Estimation of the oxidative changes in phenolic compounds of Carignane during winemaking. *Am. J. Enol. Vitic.* Vol 48 n° 2 1997.
- Danilewicz J. C.** (2003). Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: central role of iron and copper. *Am. J. Enol. Vitic.* 54 n°2 p 73-85.
- Ferrarini R., D'Andrea E.** (2001). Risultati delle misure dell'ossigeno durante la conservazione ed il condizionamento dei vini. *Industria delle Bevande* 30-173.p 256-261.
- Flanzy C.** (2000). *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos 2000 Capítulo 20 Crianza de Vinos. Microoxigenación de vinos.*
- Fornairon C., Mazauric J.P., Salmon J. M., Moutounet M.** (1999). Observations sur la consommation de l'oxygène pendant l'élevage des vins sur lies. *J. Int. de Sci. Vigne Vin.* 33 n°2 p 79-86.
- Glories Y.** (1990). Oxygène et élevage en barriques 1990. *Revue française de œnologie* n°124 p 91-96.
- Hitchman M. L.** (1978). *Measurement of dissolved Oxygen* 255p John Wiley & Sons, Inc. and Orbisphere Laboratories.
- Maujean A., Seguin N.** (1983). Sunlight flavours in champagne wines. IV. Study of an oenological solution to prevent sunlight flavour. *Sciences des Aliments*, 3(4) p 603-613.
- Maujean A., Haye C., Feuillat M.** (1978). Contribution on the study of "light" flavour defect in champagne. II. Influence of light on oxidation/reduction potential. Correlation with contents of thiols in the wine. *Connaissance de la Vigne et du Vin.* 12(4) p 277-290.
- Moutounet M.** (1991). Comité interprofessionnel des vins doux naturels, journées œnologiques du 22 de mars 1991 Montpellier.
- Moutounet M. et Mazauric J.P.** (1999). Dosages microquantités d'oxygène dans les vins Feuillettes verts de l'OIV n° 1085.
- Moutounet M. Mazauric J.P. Ducournau P. Lemaire T.** (2000). Micro-oxygenation des vins. Principe et applications technologiques. V Symposium d'œnologie de Salice de Terme Italie 1 y 2 de Juin de 2000.
- Moutounet M., Mazauric J.P., Saint Pierre B., Hanocq J.F.** (1998). Echanges gazeux des vins logés en barriques. *J. Sci. Tech. Tonnellerie* (4) p 115-129.
- Riba J.P.** (1990). L'oxygène en solution: Solubilité et lois de transferts. *Revue française de œnologie* n°124 p 14-20.
- Riberau Gayon.** (1932). Oxydation et réduction dans les vins. Thèse Doctorat ès Sc. Phys. Bordeaux, et 2ème ed. Delmas, Bordeaux, 1933 Résumé dans *Ann. Brass. Dist.* 30, 155.
- Salmon J. M. Fornairon-Bonnefond, C. Mazauric J. P.** (2002). Interactions between wine lees and polyphenols: Influence on oxygen consumption capacity during simulation of wine aging. *J. of Food Science.* 67 (5) p 1604-1609.
- Singleton V. L.** (1987). Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: Observations and practical implications. *Am. J. Enol. Vitic.* Vol 38 n°1 p 69-77.

- Singleton V.L., Noble A. C.** (1976). Wine flavor and phenolic substances A.C.S. Symposium 26 p. 47-70.
- Soberka R. Warzecha A.** (1986). Influence de certains facteurs sur le taux d'oxygène dissous au cours de la fabrication de la bière, troisième partie Bios, vol 17 n° 11 p31-40.
- Vidal J. C., Dufourcq T., Boulet J.C., Moutounet M.** (2001). Les apports d'oxygène au cours des traitements des vins Bilan des observations sur site, 1ère partie. Revue française de œnologie. n° 190, p 24-31.
- Vidal J. C., Boulet J.C., Moutounet M.** (2003). Les apports d'oxygène au cours des traitements des vins Bilan des observations sur site, 2ème partie. Revue française de œnologie. n°201, p 32-38.
- Vidal J. C. , Boulet J.C., Moutounet M.** (2004). Les apports d'oxygène au cours des traitements des vins Bilan des observations sur site, 3ème partie. Revue française de œnologie. n°205, p 25-34.
- Vivas N., Zamora F., Glories Y.** (1993). Incidence de certains facteurs sur la consommation de l'oxygène et sur le potentiel d'oxydo-réduction dans les vins. J. Inter. Sc. Vigne et Vin 27 (1) p 23-24.
- Wildenradt H. L., Singleton V. L.** (1974). The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolic compounds and its relation to wine aging. Am. J. Enol. Vitic. Vol 25 n°2 .
- Zamora F. Canals J. M. Rozès N. Arola L. Cabanillas P.** (2001). Influencia de la microoxigenación en el color y las características de los vinos tintos. Tecnología del Vino 2 p 51-56.
- Zingarelli D., Gerbi V.** (1999). Giornata di studio Ossigeno e vino. Piacenza (Italie) Esperienze di misurazione dell'ossigeno disciolto durante l'imbottigliamento di vini.