



**Universidad de Valladolid**

Máster en Calidad Desarrollo e Innovación de Alimentos

# **Efecto del etanol, azúcar y polifenoles en medidas de oxígeno disuelto en vinos**

Inés Bausela González

Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos.

E.T.S. Ingenierías Agrarias, Palencia. Universidad de Valladolid

Septiembre 2012

<b>I. RESUMEN</b>	3,4
<b>II.INTRODUCCIÓN</b>	
<b>II.1.Papel del oxígeno en enología</b>	5,6
<b>II.2.Efectos del oxígeno en el vino</b>	
II.2.1. <u>Efectos positivos</u>	7
II.2.2. <u>Efectos negativos</u>	7,8
<b>II.3.Microoxigenación</b>	
II.3.1. <u>Fundamentos de la microoxigenación</u>	9
II.3.2. <u>Objetivos</u>	9-11
<b>II.4.Solubilidad del oxígeno en el vino</b>	11,12
<b>II.5.Medida de oxígeno</b>	12-15
II.5.1.Unidades de medida de oxígeno	14,15
<b>III.MATERIALES Y MÉTODOS</b>	16-28
<b>III.1.Materiales</b>	
III.1.1. <u>Reactivos</u>	16,17
III.1.2. <u>Equipos</u>	
III.1.2.1.Presens Fibox 3 LCD-Trace	18-22
III.1.2.2.Firesting (O <sub>2</sub> ) Pyroscience	22,23
III.1.2.3.Orbisphere 3650	23,24,25,26
<b>III.2.Método</b>	26,27
<b>III.3.Análisis estadístico</b>	27,28
<b>IV.RESULTADOS</b>	29-44
<b>IV.1.Valores de oxígeno disuelto</b>	29-38
<b>IV.2.Influencia estadística de los parámetros en las medidas de oxígeno disuelto</b>	
IV.1.1. <u>Alcohol</u>	39
IV.1.2. <u>Azúcar</u>	39
IV.1.3. <u>Polifenoles</u>	40
IV.1.4. <u>Equipo</u>	40,41
IV.1.5. <u>Manova</u>	41-44
<b>V.CONCLUSIONES</b>	45
<b>VI.REFERENCIAS</b>	46
<b>Anexo I</b>	

## I. RESUMEN

El proceso de envejecimiento del vino en tanques utiliza la adición de madera de roble y pequeñas cantidades de oxígeno para imitar el proceso tradicional del vino en barricas de roble. Esta pequeña dosis de oxígeno depende del vino y debe ser modificado en el curso oxidativo. El control y la gestión de oxígeno es necesario para alcanzar las características deseadas en el producto final. Por tanto, es esencial para medir el contenido de oxígeno disuelto (OD) en vinos durante el proceso de envejecimiento correctamente y debe llevarse a cabo con sistemas adecuados.

El contenido de oxígeno disuelto en el vino depende de la tasa de dosificación llevado a cabo y en consecuencia en la cantidad consumida por compuestos del vino para su oxidación. La mayoría de los dispositivos para medir OD presente en el mercado se basan en luminiscencia o tecnología electroquímica. Ambas tecnologías tienen características excelentes, con ventajas y desventajas específicas con respecto a la otra, por lo que la selección se debe hacer conocer su rendimiento durante el proceso específico. Sin embargo la mayoría de estos sistemas están calibrados y se refiere a la medición de oxígeno en el agua por lo que puede ser posible pensar en la existencia de efectos no contemplados de otros compuestos principales del vino en el comportamiento de los sensores usados en cada tecnología.

Este trabajo presenta los resultados obtenidos en la evaluación del efecto de los compuestos principales de vino tinto en la medición de oxígeno con los dispositivos usuales para tanto la bodega y el laboratorio.

En particular, se ha estudiado el efecto de la concentración de etanol, azúcar y polifenoles del vino, la medición de OD usando ambas tecnologías más comunes: electroquímica y luminiscencia. Se ha considerado el efecto de estos compuestos en un dispositivo electroquímico y en tres equipos luminiscentes diferentes. Los resultados muestran que medir el nivel de OD depende de todos los compuestos estudiados (etanol, azúcar y polifenoles), y la lectura de OD es afectada de manera diferente por cada uno de los equipos estudiados. Todo esto requiere considerar el efecto de los compuestos principales de vino en la calibración de los dispositivos de medición de OD.

### **ABSTRACT**

Wine aging process in tanks uses the addition of oak wood and small quantities of oxygen to mimic the traditional wine aging process in oak barrels. This small dosage of oxygen depends on the wine and must be modified during the oxidative course. Control and management of oxygen is necessary to reach the desirable characteristics in the

final wine. It is thus essential to measure the dissolved oxygen content (DO) in wines during the aging process properly and must be carry out with appropriate systems.

Dissolved oxygen content in wine depends on the dosage rate carried out and consequently on the consumed amount by wine compounds for their oxidation. Most of the devices to measure DO present in the market are based on optoluminiscent or electrochemical technology. Both technologies have excellent characteristics, with specific advantages and disadvantages with respect to the other, so the selection must be done knowing their performance during the specific process. However most of these systems are calibrated and referred to DO measurement in water so it may be possible to think in the existence of not contemplated effects of other main compounds of the wine in the behavior of the sensors used in every technology.

This work presents the results obtained in the evaluation of the effect of the principal compounds of red wine in the DO measurement with the usual devices for both the winery and the laboratory.

In particular have been studied the effect of ethanol, sugar and polyphenol concentration at wine's level, the DO measurement using both most common technologies: electrochemical and optoluminiscent. It has been considered the effect of these compounds in one electrochemistry device and in three different optoluminiscent equipment. Results show that measured DO level depends on all the studied compounds (ethanol, sugar and polyphenols), and the DO reading are differently affected by each one of them for all the studied equipment. All of this requires considering the effect of the main compounds of wine in the calibration of the DO measurement devices.

## II. INTRODUCCIÓN

### II.1. Papel del oxígeno en enología

La atmosfera, compuesta en un 21% de oxígeno ( $O_2$ ), desempeña un papel importante en muchas reacciones metabólicas y químicas. El oxígeno, soluble en el vino, es un agente oxidante muy fuerte y debido a esto juega un papel muy importante en el ámbito enológico ya que es un elemento presente en el entorno de la bodega.

El oxígeno puede ser temido por ser un enemigo directo del vino al producir oxidaciones indeseadas y pardeamientos de los compuestos fenólicos, mientras que una oxigenación limitada y controlada es un gran aliado para el correcto desarrollo del vino.

Los compuestos del vino y del mosto coexisten en sus formas oxidadas y reducidas (pares redox). Al oxidarse un compuesto, otro es reducido y viceversa. Esto es conocido como reacción de reducción-oxidación, en la que los electrones son transferidos entre un reductor y un oxidante. Estas reacciones continuarán hasta alcanzar el equilibrio.

En las reacciones relacionadas con la elaboración de los vinos, el equilibrio Redox refleja dos grupos de compuestos, los agentes oxidantes y los reductores. El agente oxidante más importante en el mosto y en los vinos es el oxígeno. Otros productos químicos pueden incrementar su acción en el vino actuando ellos mismos como potentes oxidantes como pueden ser metales, hierro y cobre actuando como potentes catalizadores.

Existen radicales libres y peróxidos producidos en la oxidación de compuestos fenólicos que pueden participar como agentes oxidantes. Los agentes reductores más importantes del vino son el anhídrido sulfuroso ( $SO_2$ ), el ácido ascórbico, los compuestos fenólicos y el glutatión.

A diferencia de las reacciones en los mostos, la oxidación en los vinos está ligada principalmente a reacciones no enzimáticas.

Los compuestos susceptibles a la oxidación son mayoritariamente compuestos fenólicos presentes sobre todo en vinos tintos; durante el proceso el Oxígeno molecular se reduce a peróxido de hidrógeno escalonadamente y serán necesarios 4 electrones. La reacción en cadena se muestra en la siguiente ilustración (Ilustración1)

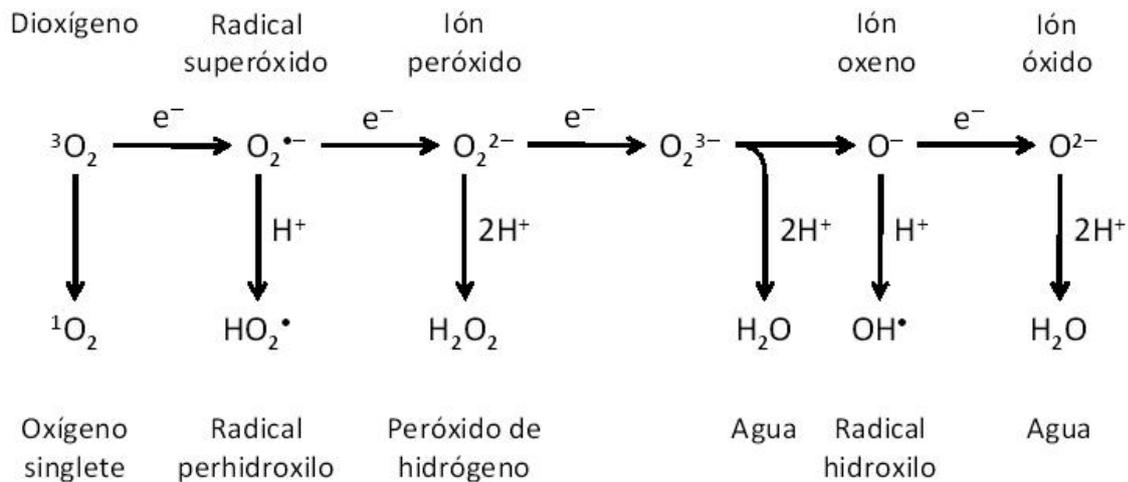


Ilustración 1 Reducción del oxígeno molecular mediante la adición sucesiva de electrones. Fuente Fernando P. Molina-Heredia 2012.

Estas reacciones generan radicales peróxido ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), que pueden ser reducidos por los compuestos fenólicos del vino.

## II.2. Efectos del oxígeno en el vino

El aporte de oxígeno durante las distintas etapas de elaboración del vino es variado y se modifica continuamente.

Los procesos como el trasiego, centrifugación, refrigeración, estabilidad tartárica y embotellado son procesos con un alto nivel de enriquecimiento de oxígeno.

Mientras que procesos como el bombeo, filtración, electrodiálisis e intercambios de calor son procesos de un bajo nivel de enriquecimiento.

El oxígeno disuelto en vinos o mostos es indispensable para su evolución. Además, los mecanismos de oxido-reducción modifican su calidad.

Dependiendo de la dosis de oxígeno que se aplique al vino, los efectos aparecidos en el proceso podrán ser positivos o negativos en el vino.

### II.2.1. Efectos positivos.

Eliminación de aromas reductivos, derivados azufrados. Se producen en la fermentación alcohólica por la acción de las levaduras. El derivado azufrado más importante, el sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) proporciona olor a huevos podridos. Así mismo hay compuestos azufrados que proporcionan aromas varietales de ciertas variedades, por lo que podrían verse disminuidas (Waterhouse y Laurie, 2006).

Favorece las reacciones de condensación entre los taninos (T) y los antocianos (A) dando lugar a dos productos A-T y T-A; estos productos estabilizan el color y reducen la astringencia de los vinos (Haslam 1980 y Vidal et al. 2002), mejorando la palatabilidad del vino.

### II.2.2. Efectos negativos:

Los antocianos libre y otros compuestos fenólicos son sensibles a la oxidación, proporcionando productos incoloros y produciendo una pérdida del color.

El oxígeno favorece el desarrollo microbiano:

Bacterias acéticas que proporcionan un aumento en la acidez volátil. Si las condiciones de temperatura, pH y oxígeno son favorables actuarán aunque la concentración de SO<sub>2</sub> sea adecuada para proteger al vino.

Las levaduras (*Brettanomyces*) generan compuestos en el vino como 4-etil-fenol y 4-etil-guayacol, que proporcionan aromas desagradables en el vino como olor a establo o sudor de caballo.

En la siguiente tabla (tabla 1) se muestran los principales efectos sensoriales del O<sub>2</sub> en el vino.

Tabla 1 Efectos sensoriales del O<sub>2</sub> en el vino

<b>Tipo de reacción</b>	<b>Efecto sensorial</b>	<b>Principales compuestos químicos implicados</b>	<b>Efecto</b>
Polimerización de taninos	Disminución de la astringencia	Taninos y acetaldehído	Aumenta al aumentar el

			O <sub>2</sub>
Degradación de los tioles varietales	Pérdida de aromas frutales varietales	Tioles varietales	Mas alto al aumentar el O <sub>2</sub>
Formación de tioles reductivos	Aparición de olores desagradables reductivos durante el envejecimiento en botella	Tioles reductivos (H <sub>2</sub> S, metilmercaptano, etilmercaptano)	Mas alto al disminuir O <sub>2</sub>
Degradación de tioles reductivos	Menor presencia de notas desagradables reductivos y mejor expresión de aromas frutales	Tioles reductivos (H <sub>2</sub> S, metilmercaptano, etilmercaptano)	Mas alto al aumentar el O <sub>2</sub>
Formación de aldehídos	Aparición de aromas a frutos secos y miel	aldehídos alifáticos, metional, fenilacetaldehído, sotolon	Más alto al aumentar O <sub>2</sub>

No todos los vinos o mostos reaccionarán de la misma manera a la oxigenación, ya que existen factores que determinan el efecto como pueden ser:

- Variedad de la uva: depende de la cantidad de antioxidantes (Polifenoles, ácido ascórbico) y mejora la resistencia al oxígeno.
- Temperatura: afecta a la disolución y a la actividad del oxígeno aumentando su disolución mediante la disminución de la temperatura. Mientras, al disminuir la temperatura, se reduce la actividad de reacción del oxígeno.
- Proceso de vinificación: en los mostos la velocidad de oxidación es mayor debido a que son enzimáticamente catalizadas por polifenoloxidasas, enzimas derivadas de la uva (tirosinasa) o del mal estar de las uvas (*Botrytis cinérea*).
- Duración del contacto con el aire: depende de la duración de la exposición que sea este.

Los efectos negativos que provoca el oxígeno se deben a un aporte de tiempo excesivo. Por lo tanto para evitar estos efectos y conseguir otros positivos, es necesaria una oxigenación lenta para que éste sea consumido a medida que se adiciona (microoxigenación) en lugar de una oxigenación violenta y en un momento puntual (macrooxigenación).

### **II.3. Microoxigenación.**

A principio de los años noventa Patrick Ducournau y la familia Laplace decidieron interesarse por los aportes de oxígeno a la crianza de sus vinos de la denominación francesa *Madiran*. Debido a que en la crianza de los vinos de la variedad *tannat* contiene una alta concentración en taninos (7g/L) y antocianos (2g/L) (Yêrle, 2006) que provocan una sequedad gustativa, buscaron una técnica que permitiera conservar el carácter afrutado y untuosidad a los vinos.

En los primeros ensayos en 1991 aportando oxígeno controladamente y constantemente, mostraron beneficios en relación con los trasiegos o la ausencia de oxígeno, evolucionando más lentamente, evitando por tanto pérdidas de color y aumento de sequedad en boca. Los resultados fueron: potenciación del color, frutalidad y obtención de unos taninos grasos y redondos (Lemaire, 1995).

De esta manera nació la Microoxigenación (MO), herramienta para el control del oxígeno, uno de los parámetros más importantes en la crianza de los vinos. Es necesario integrar debidamente esta herramienta en relación con otros factores de crianza para alcanzar el equilibrio deseado. Por otra parte, debe aclararse que la microoxigenación no es una tecnología de aceleración de crianza de los vinos.

#### II.3.1. Fundamentos de la microoxigenación

El fundamento surge debido a los intercambios gaseosos que ocurren en las barricas durante la crianza del vino. Inicialmente se estudió la presencia del oxígeno en esa etapa donde la cantidad de oxígeno, como ya hemos visto anteriormente, es de 30-50 ppb (Castellari 2004). Con la microoxigenación se busca proporcionar ese aporte de oxígeno de una forma controlada en los depósitos de acero inoxidable para reproducir lo que ocurre en las barricas, mejorando así las propiedades sensoriales.

##### II.3.1.1. Objetivos:

Mejorar y estabilizar la intensidad y color de los vinos, favorecido por la reacción de condensación entre taninos-antocianos.

Potenciar las notas frutales y favorecer la integración de los aromas de la madera y reducir a su vez la intensidad de los aromas herbáceos del vino.

Mejorar la palatabilidad del vino, reduciendo la aspereza y sequedad.

La microoxigenación nace, como ya se ha comentado, para proporcionar el aporte de oxígeno que se consigue en las barricas, en los depósitos de acero inoxidable. Sin embargo hoy en día se aplica en distintas etapas del proceso de vinificación:

- Durante la fermentación alcohólica:

El objetivo principal en esta etapa es favorecer el crecimiento de las levaduras para evitar fermentaciones largas y lentas, consiguiendo el completo agotamiento de los azúcares para evitar indeseables reacciones secundarias que provocan sustancias organolépticas. El aporte de oxígeno durante 24-48 horas (Anocibar 2005) evita paradas de fermentación.

- Después de la fermentación alcohólica y antes de la fermentación maloláctica:

El principal objetivo es la estabilización del color y transformación de los taninos verdes a taninos duros y más suaves.

El aporte se aplica al finalizar la fermentación alcohólica y antes de la fermentación maloláctica, debido a que es el momento en el que más taninos y antocianos contienen el vino. De este modo la reacción de condensación se producirá con mayor facilidad (Castellari et al.2000). No todos los vinos son aptos para oxigenar ya que se tiene que tener en cuenta la relación de concentración molar entre taninos y antocianos. Si la de antocianos es mayor que la de taninos se puede producir un descenso de la coloración; si la de taninos es mayor que la de antocianos se producirá una polimerización que provoca un aumento del color amarillo y una disminución de la astringencia. Si la relación entre ellos es equilibrada se obtendrá una estabilización del color y disminución de la astringencia.

- Aplicación durante la maduración o almacenamiento

Se produce desde el final de la fermentación maloláctica hasta el embotellado. Solo se aplicará a vino almacenado en depósitos y no en barricas.

En la siguiente tabla (tabla 2) se recogen los tiempos y concentraciones de oxígeno en cada etapa.

Tabla 2 Tiempos y concentraciones de oxígeno en varias etapas del proceso de vinificación.

Etapa	Concentración de oxígeno ppb	Tiempo de exposición
Después de FA y antes de FM	10-60 mL/L al mes	2-3 semanas
Almacenamiento en depósito	0.5-10 mL/L al mes	1-6 meses

En definitiva, la microoxigenación se fundamenta en un aporte de oxígeno controlado y constante a través de un microdifusor para facilitar la disolución de este en el vino (Moutounet et al. 1995).

#### II.4. Solubilidad del oxígeno en el vino.

El intercambio de oxígeno en el mosto, vino en fermentación o vino final se rige por las leyes relativas de los gases (Mountounet y Vidal 2006), ley del gas ideal:

$$PV=nRT$$

Indicando que la cantidad de oxígeno disuelto depende principalmente de la presión y temperatura.

Sabemos que un mol de gas ideal en condiciones normales de presión y temperatura (1 atm y 273K respectivamente) ocupa 22.4 litros. Según Lemaire (1995), en las condiciones de presión y temperatura que encontramos en una bodega el oxígeno se comporta como un gas ideal y su masa volumétrica es de 1.43 g/L; en condiciones de saturación los vinos podrán contener 6mL/L o lo que es lo mismo 8.5mg/L de oxígeno disuelto (Mountounet y Vidal, 2006).

La solubilidad del oxígeno en el vino depende de la superficie de contacto y de la temperatura:

La superficie de contacto entre el gas y el líquido determina la cantidad de oxígeno disuelto, por lo tanto a mayor superficie de contacto entre el líquido y el gas, mayor cantidad de oxígeno disuelto habrá en el vino. (Moutounet y Vidal, 2006). Una gran superficie de contacto asegura una difusión total del gas en el líquido; esto se consigue con un difusor de oxígeno.

Otro de los factores que más influye es la temperatura, cuanto más baja sea la temperatura mayor será la cantidad de oxígeno disuelto. Hay que tener en cuenta que a

bajas temperaturas se reduce la velocidad de las reacciones oxidativas, reduciendo el consumo de oxígeno. Debido a esto hay que mantener una temperatura adecuada, aquella que mantenga en equilibrio la solubilidad y el consumo de oxígeno. Se indica como temperaturas óptimas de trabajo 15°C – 18°C. En la siguiente ilustración (Ilustración 2) se observa la región óptima de temperatura para una dosis máxima recomendada de oxígeno para un vino tinto.

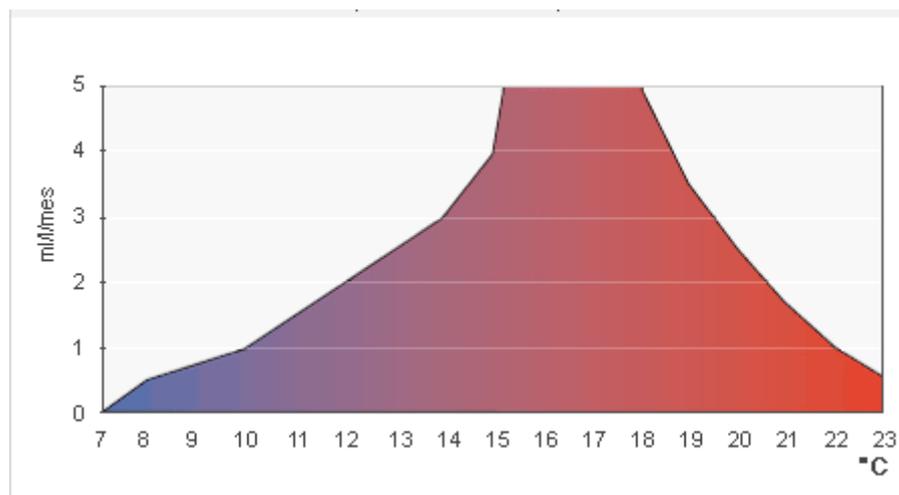


Ilustración 2 Dosis máximas de oxígeno recomendadas en vino limpio. (Lemaire, 1995; Roig & Yerle, 2003)

La turbidez es otro factor a tener en cuenta. La presencia de sustancias coloidales en el medio influye altamente, ya que las sustancias sólidas, sobre todo restos de levaduras consumen oxígeno. El aporte de oxígeno no se aplicará a vinos con una turbidez superior a 100 NTU (Lemaire, 1995; Roig & Yerle, 2003).

## II.5. Medida de oxígeno

La presencia de oxígeno en el vino está relacionada con las propiedades de los gases capaces de disolverse en líquidos. Cuando un gas se disuelve en un medio líquido, podemos asociar ese sistema a uno en el que un gas se encuentra en suspensión en un líquido. Al considerar mezclas gas/líquido, un parámetro clave es la presión parcial del gas en dicho líquido. Dalton (1803) establece que la presión en una mezcla, que no reaccionan entre sí, es igual a la suma de las presiones parciales que ejerce cada uno de ellos si solo uno ocupara todo el volumen de la mezcla, sin variar la temperatura.

$$P_{total} = \sum_{i=1}^n P_i$$

Por lo tanto la presión parcial de cada gas en la mezcla es:

$$P_i = P \cdot x_i$$

$P_i$  es la presión parcial,  $x_i$  es la fracción molar del componente y  $p$  es la presión del sistema.

La presión parcial se define como la presión que debe aplicarse a la superficie del líquido para mantener una determinada concentración del gas en él. Habitualmente al estudiar el oxígeno disuelto en un líquido, se prefiere utilizar valores de concentración, como por ejemplo mg/l al que se suele denominar ppm o, para concentraciones más bajas, mg/l al que se suele denominar ppb. La presión parcial y la concentración están relacionadas según la ley de Henry (1803):

$$P_{O_2} = H_{O_2} \cdot C$$

$P_{O_2}$  es la presión parcial del oxígeno,  $C$  es la concentración y  $H_{O_2}$  es la constante de solubilidad, también conocida como la constante de Henry. Este parámetro clave depende de la temperatura y de la composición del medio líquido. Por tanto, la cantidad de oxígeno que estará presente en el líquido a una determinada presión, variará en función de la temperatura y el tipo de líquido.

El proceso de disolución del gas alcanza un equilibrio en el que el número de moléculas que abandonan la disolución para entrar en la fase gas es igual a las moléculas que abandonan la fase gas para formar parte de la disolución. Como la solubilidad dependerá de la presión parcial del gas; si la temperatura permanece constante un aumento de la presión aumentará la cantidad de gas disuelto.

En la ilustración 3 podemos ver como al aumentar la presión el número de colisiones es mayor elevando la disolución del gas en la disolución. (Fisicoquímica. Ira N. Levine Mc Graw Hill volumen 1)



Ilustración 3 Variación de la disolución de un gas en una disolución al aumentar la presión.

Cuando trabajamos con el mismo gas, la misma temperatura y el mismo solvente, como es nuestro caso, la constante K es la misma, pudiendo usar la siguiente ecuación que relaciona la presión y concentración inicial y final.

$C_1$  y  $C_2$  Concentración  $P_1$  y  $P_2$  Presión parcial

$$\frac{C_1}{P_1} = \frac{C_2}{P_2}$$

### II.5.1. Unidades de medida de oxígeno.

A la hora de medir la concentración de oxígeno las unidades que podemos utilizar son partes por millón (ppm) o %Air Saturation (%Saturación del aire)

Para relacionar las dos unidades usaremos la siguiente expresión:

$$[ ] \frac{at_w(\ )}{ai\ sat\ ati\ n} (\ ) \text{ ———}$$

Donde:

$p_{atm}$ : Es la presión atmosférica (mbar o hPa)

$p_w$ : Presión de vapor del agua a una determinada temperatura (Kelvin) (mbar)

$p_N$ : Presión estándar (1013 mbar)

0.2095: Contenido de oxígeno en aire

: eficiente de absorción Bns en a na temperatura T. ( $\text{cm}^3 (\text{O}_2)/\text{cm}^3$ )

M ( $\text{O}_2$ ): Masa molecular del Oxígeno 32 g/mol

$V_m$ : volumen molar (22.414 L/mol)

Para poder determinar  $p_w$  usaremos la ecuación de Campbell, en la que la presión depende exponencialmente de la temperatura

$$p_w(T) = e^{(A - \frac{B}{T} - C \cdot \ln T)}$$

Donde: **A**, **B** y **C** son constantes

**A**: 52.57; **B**: 6690.9 y **C**: 4.681

Para poder determinar el coeficiente de absorción de bunsen , necesitamos la siguiente expresión, dependiendo de la temperatura polinómicamente:

$$10^3 \alpha = a + b \cdot \theta + c \cdot \theta^2 + d \cdot \theta^3 + e \cdot \theta^4$$

Donde  $\theta$  es la temperatura de trabajo dada en °C y **a**, **b**, **c**, **d** y **e** son constantes.

**a**: 48.998; **b**: -1.335; **c**:  $2.755 \cdot 10^{-2}$ ; **d**: -3.220

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### III.1. Materiales

##### III.1.1. Reactivos

Se prepararon diferentes disoluciones de alcohol, azúcar y Polifenoles.

Las concentraciones de los 3 parámetros con los que se ha trabajado se encuentran en un rango asociado a diferentes vinos.

Para preparar las disoluciones de alcohol se ha utilizado alcohol etílico ( $C_2H_6O$ ) en concentraciones de 0%, 11%, 13% y 15%; para preparar las disoluciones de azúcar se ha utilizado glucosa ( $C_6H_{12}O_6$ ) en concentraciones de 0g/L, 2g/L y 4g/L y para preparar las disoluciones de polifenoles se utilizó ácido gálico ( $C_6H_2(OH)_3COOH$ ) en concentraciones de 0g/L, 1g/L 3g/L y 5g/L; las concentraciones preparadas son posibles niveles en vinos secos tanto blancos como tintos.

Para cubrir todos los niveles se han realizado combinaciones de los tres parámetros (tabla1).

Todas las disoluciones se prepararon con agua ultra pura o también conocida como Milli-Q.

Tabla 3: Combinaciones realizadas para los distintos ensayos

Alcohol	Azúcar	Polifenoles
0	0	0
0	0	1
0	0	3
0	0	5
0	2	0
0	2	1
0	2	3
0	2	5
0	4	0
0	4	1
0	4	3
0	4	5
11	0	0

11	0	1
11	0	3
11	0	5
11	2	0
11	2	1
11	2	3
11	2	5
11	4	0
11	4	1
11	4	3
11	4	5
13	0	0
13	0	1
13	0	3
13	0	5
13	2	0
13	2	1
13	2	3
13	2	5
13	4	0
13	4	1
13	4	3
13	4	5
15	0	0
15	0	1
15	0	3
15	0	5
15	2	0
15	2	1
15	2	3
15	2	5
15	4	0
15	4	1
15	4	3

15	4	5
----	---	---

### III.1.2. Equipos

Para realizar las medidas de oxígeno disuelto se utilizaron 4 sondas diferentes, tres de ellas se basan en las propiedades luminiscentes de Oxígeno y una se basa en técnicas polarográficas.

Serán necesarios además un baño ultrasensible, Julabo, el cual nos permita controlar la temperatura de 15 °C de trabajo.

#### III.1.2.1. Presens Fibox 3 LCD- trace

Equipo basado en la luminiscencia, se define como la propiedad de algunos materiales (luminóforos) de emitir luz al ser excitados por un estímulo diferente al calor; en nuestro caso luz, midiendo la concentración de oxígeno. Siendo una técnica no destructiva ya que no consume oxígeno.

El principio de medida está basado en el efecto de la amortiguación de la luminiscencia por el oxígeno molecular. (Ilustración 4)

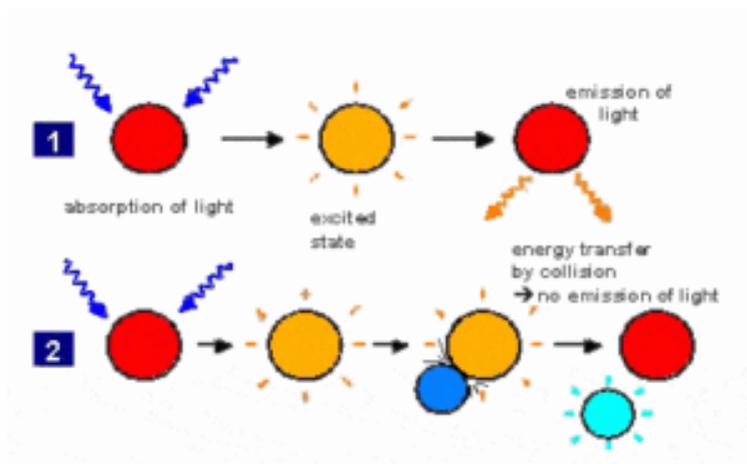


Ilustración 4 efecto de la disminución amortiguación de la luminiscencia 1- Proceso de luminiscencia en ausencia de oxígeno, 2- Desactivación del indicador de luminiscencia por el oxígeno molecular.

La colisión entre el luminóforo en su estado excitado, y el oxígeno (desactivador) provoca una desactivación sin radiación, una colisión o desactivación dinámica. Después de la colisión, la energía se transfiere de la molécula indicadora de excitación al oxígeno transfiriéndose de su estado fundamental (triplete) a su estado excitado (singlete). Como resultado la molécula indicadora no emite luminiscencia y por tanto la señal decrece.

La relación entre la concentración de oxígeno y la intensidad luminiscente así como con el tiempo de vida de la luminiscencia se describe por la siguiente ecuación (ecuación 1) de Stern-Volmer.

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{SV}[O_2]$$

$$I = f([O_2])$$

$$\tau = f([O_2])$$

Ecuación Stern-Volmer (1): I: Intensidad luminiscente en presencia de Oxígeno I<sub>0</sub>: Intensidad luminiscente en ausencia de oxígeno τ: tiempo de decaimiento en presencia de oxígeno τ<sub>0</sub>: Tiempo de decaimiento en ausencia de oxígeno. K<sub>sv</sub> Constante de Stern-Volmer. [O<sub>2</sub>] Concentración de oxígeno.

Para llevar a cabo una medida, el LED de excitación transmite luz azul pulsada. El pulso luminoso incide, a través del material portador transparente (Vidrio), en el luminóforo transfiriéndole parte de su energía radiante. Los electrones del luminóforo saltan de su nivel energético básico a un nivel excitado o superior y en un intervalo de microsegundos retrocederán a su nivel original pasando por diferentes niveles intermedios, esa diferencia energética se emitirá en forma de luz roja.

En la siguiente imagen (Ilustración 5) se observa la disminución de la intensidad luminiscente.

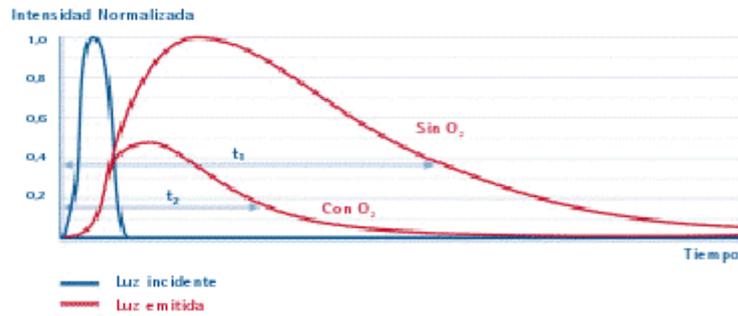


Ilustración 5 Transcurso de la intensidad de la luz de excitación azul (Luz incidente) y de la luz roja (Luz emitida)  
Fuente: [www.hach-lange.es](http://www.hach-lange.es) especificaciones medidas LDO

El instrumento Presens Fibox 3 LCD Trace utilizado es el mostrado en la ilustración 6.



Ilustración 6 Presens Fibox 3 LCD Trace

Será necesario utilizar unas fibras de polímero denominadas sensores, adheridas en el vidrio, del material donde se realice la medida. En la siguiente imagen (Ilustración 7) se pueden ver los sensores, tamaño y forma.



Ilustración 7 Sensores PST-3 y PST-6

En nuestro caso utilizaremos el Sensor PST-3

La correcta conexión de los componentes es la siguiente (Ilustración 8).



Ilustración 8 Montaje del sensor luminiscente Presens Fibox 3 LCD Trace. Fuente: Manual Fibox 3 LCD trace Fiber optic oxygen transmitter

Una vez seleccionado el sensor que se utilizará, es importante calibrarlo, ya que la calibración de cada sensor es diferente.

Se realizarán dos puntos de calibración agua libre de oxígeno (0%) y agua saturada con oxígeno (100%). En la siguiente tabla se recogen los datos correspondientes a nuestro sensor (Tabla 4)

Tabla 4 Datos correspondientes a la calibración del sensor PST-3

Presión	Temperatura	% Air.Sat	Phase signal
980 hPa	20°C	0%	60.29
980 hPa	20°C	100%	27.00

Las especificaciones del sensor se recogen en la siguiente tabla (Tabla 5)

Tabla 5 Especificaciones sensor PST3. Presens Fibox 3 LCD Trace

Especificaciones PST 3	
Rango de medida	0– 100 % O2 0 – 1000 hPa
Límite de detección	de 0.03 % oxygen

Rango de medida de temperatura	0 – 50 °C
--------------------------------	-----------

Tiempo de respuesta	< 6 sec.
---------------------	----------

III.1.2.2. FireSting O<sub>2</sub> (Pyroscience)

Al igual que el anterior equipo el fundamento es la propiedad de amortiguar la luminiscencia de un luminóforo del oxígeno. Por tanto su funcionamiento es el mismo. En la siguiente imagen (Ilustración 9) podemos ver detalladamente como la luz emisora, en este caso la luz emitida es roja ( $\lambda = 630 \text{ nm}$ ). Al igual que la anterior técnica no consume oxígeno.

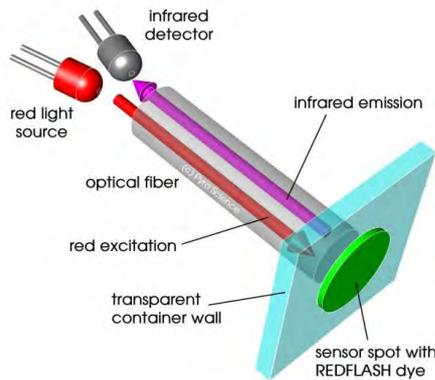


Ilustración 5 Emisión de luz en Firesting O<sub>2</sub> Pyroscience

En la siguiente imagen (ilustración 10) vemos como este equipo tiene varios canales (S1, S2, S3 y S4) en los que se pueden conectar sensores, pudiendo realizar medidas con sensores diferentes al mismo tiempo. T es la conexión del sensor de temperatura.



Ilustración 60 Conexiones del equipo

Al poder utilizar varios sensores al mismo tiempo, en nuestro trabajo compararemos dos; un sensor tipo Mini y un segundo sensor tipo Trace

Para calibrar los sensores al igual que el anterior equipo han de realizarse dos puntos de calibración un punto al 0%, es decir agua libre de oxígeno, y un segundo punto de calibración al 100% de agua saturada en oxígeno; para el sensor Trace, mientras que el sensor Mini tomamos la calibración de fábrica.

Tabla 6 Calibración sensor Mini

<b>Sensor</b>	<b>Serial number</b>	<b>Código calibración</b>
Mini	2011-08-30-050	WE6-542-204

Tabla 7 Calibración sensor Trace

<b>Sensor</b>	<b>Presión</b>	<b>Temperatura</b>	<b>% Air.Sat</b>	<b>dphi</b>
	943 hPa	15°C	0%	50.353
Trace	934 hPa	15°C	100%	7.764

La tabla 6 muestra las especificaciones de los sensores utilizados.

Tabla 8 Especificaciones sensores Mini y Trace. Firesting O<sub>2</sub> Pyroscience

<b>Característica</b>	<b>Mini</b>	<b>Trace</b>
Límite de detección	0.1% Air sat	0.02% Air.sat
Tiempo de respuesta	<15 sec	<20 sec
Resolución	0.05% Air.sat al 5% Air.sat	0.01 % Air. Sat al 1% Air.sat

### III.1.2.3. Orbisphere 3650 (Hach)

Orbisphere 3650 es un equipo con una sonda polarográfica tipo electrodo de Clark (Ilustración 11), La sonda es la parte más importante del sistema y la más delicada, consta de un ánodo de plata (Ag) revestido con un alambre de platino (Pt) que funciona como cátodo. Esto esta insertado en una cubierta protectora llena con una disolución electrolítica de cloruro de potasio (KCl). La cubierta en su extremo está recubierta por una membrana de

Teflón, material permeable al gas, permitiendo el paso del oxígeno presente en la solución y evitando el paso de la disolución.

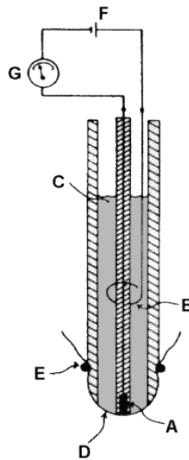


Ilustración 7 Electrodo de Clark (A: Superficie de Platino, B: Electrodo Ag/AgCl, C: Electrolito KCl, D: Membrana de teflón, E: Anillo de goma, F: Suministro de tensión, G: Galvanómetro)

Aplicando un potencial de 790 mV, el oxígeno presente en la célula se reduce a iones Hidróxido ( $\text{OH}^-$ ) en el cátodo depositándose cloruro de plata ( $\text{AgCl}$ ) en el ánodo. La reacción provoca un flujo de corriente con intensidad proporcional a la cantidad de oxígeno presente en la muestra. El medidor convierte esta medida en concentración de oxígeno disuelto (ppm o ppb) en función de la temperatura y presión atmosférica medidos por el electrodo.

Esta técnica es destructiva ya que consume poco a poco el Oxígeno disuelto alrededor de la membrana, provocando un déficit de oxígeno local respecto al resto de la disolución.

Este fenómeno ha de ser compensado por una velocidad de agitación lo suficientemente elevada.

Debido a la deriva del electrodo, es necesario calibrar diariamente el instrumento, con una concentración de oxígeno conocida (100%). Se realiza midiendo la concentración de oxígeno en el aire en una solución saturada con vapor de agua, que para nuestro caso corresponde al 109.19 %.

En las imágenes (Ilustraciones 12 y 13) el equipo utilizado.



Ilustración 82 Orbisphere 3650 1-Cámara de Flujo 2-Sensor electroquímico 3-Puerto RS-232 4-Batería 5-Sensor de presión barométrica, válvula de alivio Fuente: *Manual Orbisphere 3650*



Ilustración 3 Sonda polarográfica Orbisphere 3650

Otro punto muy importante a la hora de utilizar este instrumento es la membrana semipermeable que se utiliza, en nuestro caso utilizamos la membrana 2956A.

En la siguiente tabla (Tabla 9) se observan las especificaciones de la membrana utilizada.

Tabla 9 Especificaciones de membrana: sensores de oxígeno

Modelo de membrana	2956A
Material	PFA
Grosor (µm)	25
Gas de calibración	Aire
Intervalo de medición de disolución	0 ppb-20 ppm
Intervalo de medición gaseosa	0 Pa -50 kPa
Lo que sea mayor un ±1% de la lectura o ± 1ppb	

Precisión	
Límite integrado de dosis de radiación [rads]	2 x 10 <sup>4</sup>
Corriente prevista en aire @ 25 °C [μA]	26,4
Corriente prevista en O <sub>2</sub> [μA]	132
Consumo de O <sub>2</sub> en agua saturada de O <sub>2</sub> a 25 °C [μg/h a]	40
Intervalo de compensación de temperatura	-5 a 60°C
Intervalo de medición de Temperatura	-5 a 100°C
Tasa de flujo de líquido recomendada mín. [mL/min]	180
Tasa de flujo lineal recomendada mín. [cm/s]	200
Tasa de flujo gaseoso recomendada [L/min]	0.1 a 3

### III.2.Método

Se han preparado disoluciones en las concentraciones mostradas anteriormente en la tabla 3, usando como disolvente agua ultra pura.

El material del recipiente donde se realizan las medidas es de vidrio; es importante que todos los sensores, luminiscentes y polarográficos se coloquen al mismo nivel, para evitar interferencias o medidas erróneas.

Las disoluciones a medir se han mantenido a temperatura constante de 15°C; como queremos medir una concentración de oxígeno conocida, se ha saturado el aire con oxígeno

mediante una cerámica borboteando aire en la disolución; el gas también se ha mantenido a temperatura constante de 15°C.

Para conseguir la saturación del aire, y que no existan interferencias con el ambiente, se ha cerrado herméticamente la zona de medida.

En la siguiente imagen (Ilustración 14) se observa el montaje del vaso en el que se realizarán las medidas.

A, B y C son las sondas luminiscentes, sonda PST-3 (Presens fibox 3 LCD trace), sonda Mini (Firesting) y sonda Trace (Firesting), como se observa colocadas a la misma altura; adheridas al vidrio. D es la sonda polarográfica (Orbisphere 3650) introducido en la disolución a la altura del resto de sondas.

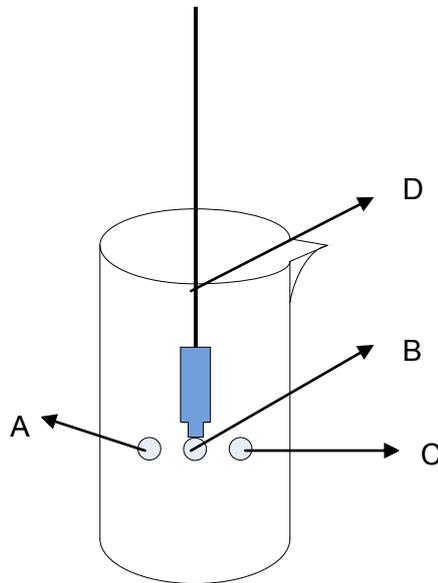


Ilustración 4 Montaje para realizar el análisis

Para aislar el vaso donde se realizan las medidas lo recubrimos con aislante polimérico (poliuretano), así conseguiremos mantener la temperatura deseada.

Se mantienen las sondas midiendo cada disolución durante 60-90 minutos para asegurar una medida constante y reproducible.

### **III.3. Análisis estadístico**

El tratamiento estadístico de los datos se llevó a cabo mediante análisis de varianza (ANOVA), con el objeto de determinar el efecto de los diferentes factores en estudio. Se

realizaron pruebas F de Snedecor para un intervalo de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ) para la comparación de los valores obtenidos en las medidas, utilizando el programa informático *STATISTICA versión 8.0* de (2007).

## IV.RESULTADOS

### IV.1. Valores de oxígeno disuelto

Se han realizado representaciones gráficas para cada combinación de las variables (Anexo I).

Se ha representado en el eje y principal %Air. Sat (concentración de oxígeno disuelto), en el eje y secundario % de error y en el eje x el tiempo de medidas.

Ayudándonos de los datos estadísticos, la variable con menos influencia es el azúcar, por lo que en el documento analizaremos el resto de variables (Alcohol, polifenoles y equipos), tomando como valor constante de azúcar 2g/L.

En el mismo gráfico se ha representado el valor 100% Air. Sat siendo este el valor impuesto al saturar la disolución con oxígeno. Representamos el error de cada equipo:

$$\%Error = \frac{Medida\ equipo - 100\% Air.Sat}{Medida\ equipo} \cdot 100$$

Analizaremos para una misma concentración de azúcar y polifenoles, las medidas de los diferentes equipos al aumentar la concentración de alcohol

- Efecto del Alcohol sobre el oxígeno disuelto (OD) con concentraciones de 2g/L Azúcar y 0g/L Polifenoles

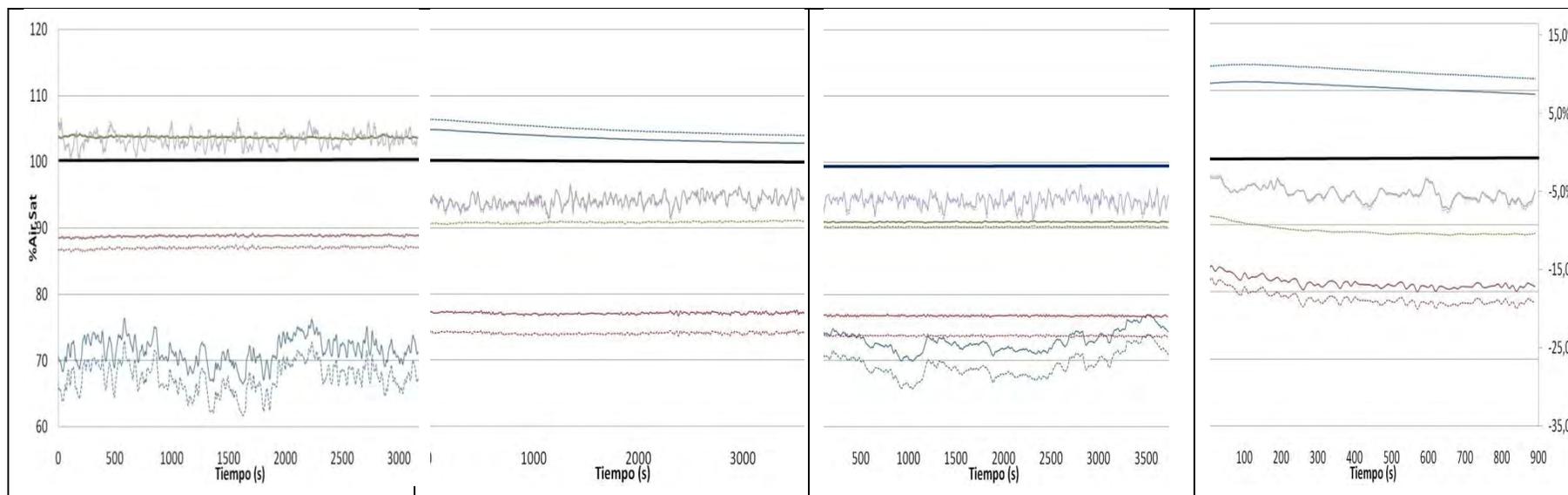
— %Air.Sat. Orbisphere    — %Air.Sat Presens    — %Air.Sat Mini    — %Air.Sat Trace  
 - - - Error Orbisphere    - - - Error Presens    - - - Error Mini    - - - Error Trace

0%EtOH

11%EtOH

13%EtOH

15%EtOH



La sonda Orbisphere es la que nos proporciona los valores más bajos, y lleva asociada un error por lo tanto más alto, las sondas luminiscentes Firesting Pyroscience, tanto la sonda Mini como la sonda Trace, nos proporciona unos valores más ajustadas a la medida impuesta; 100% Air. Sat, por lo tanto llevan asociado un error menor. La tercera sonda luminiscente, Presens, muestra valores intermedios entre las anteriores, pero aún así bastante bajos.

Al aumentar la concentración de alcohol, para las tres sondas luminiscentes la tendencia es la misma, disminuye el valor de oxígeno disuelto, manteniéndose los valores obtenidos con la sonda Presens Fibox, siempre inferiores a las sondas Firesting Pyroscience Mini y Trace.

La sonda Orbisphere no mantiene una tendencia clara, ya que como se puede observar aumentan los valores de oxígeno disuelto para una concentración de 11% de alcohol, mientras que para una concentración 13% de alcohol disminuye bruscamente, para volver a aumentar el oxígeno disuelto al incrementar la concentración de alcohol a 15%.

En la siguiente tabla (tabla 10) se recogen los errores estimados.

Tabla 10 Aproximación de los errores para las diferentes combinaciones.

Polifenoles g/L	Azúcar g/L	Equipo	Equipo	Error %
0	2	Orbisphere	0	-25
			11	+4
			13	-25
			15	+6
0	2	Presens Fibox	0	-10
			11	-20
			13	-20
			15	-17
0	2	Firesting Pyroscience Mini	0	+2
			11	-7
			13	-7
			15	-7
0	2	Firesting Pyroscience Trace	0	+3
			11	-5
			13	-5
			15	-5

- Efecto del Alcohol sobre el OD con concentraciones de 2g/L Azúcar y 1g/L Polifenoles

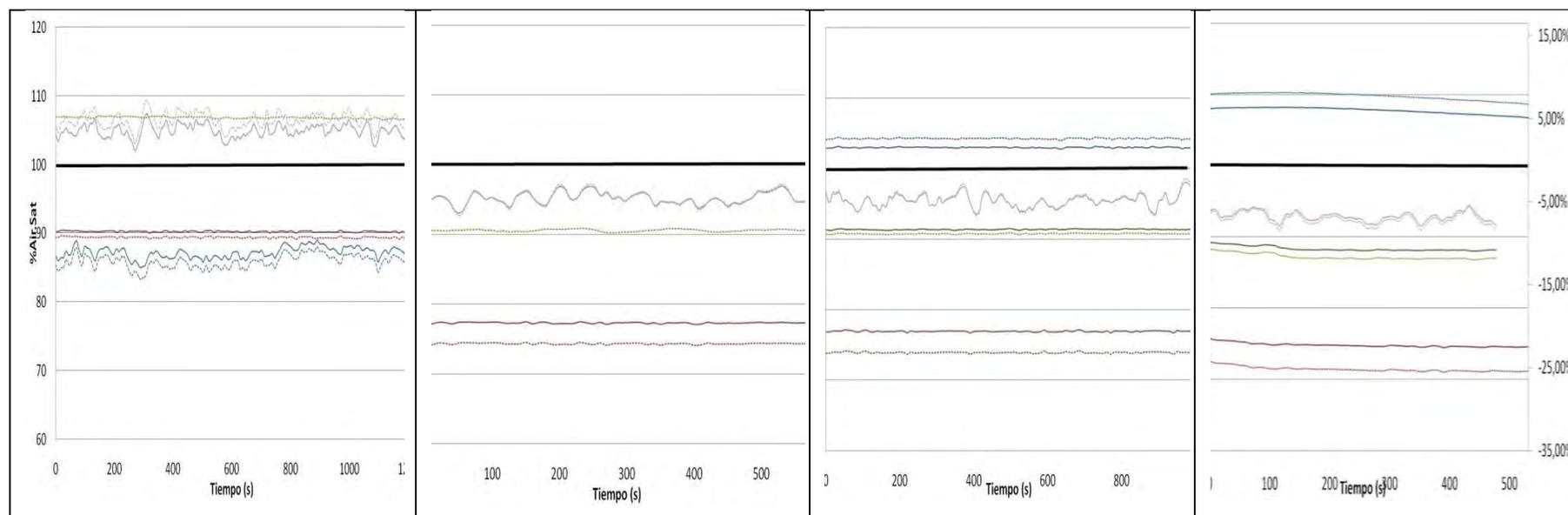
— %Air.Sat. Orbisphere    — %Air.Sat Presens    — %Air.Sat Mini    — %Air.Sat Trace  
 - - - - Error Orbisphere    - - - - Error Presens    - - - - Error Mini    - - - - Error Trace

0%EtOH

11%EtOH

13%EtOH

15%EtOH



Al aumentar la concentración de polifenoles, los valores de las medidas de oxígeno disuelto, a una concentración de 0% de alcohol aumentan. No se observa tanta diferencia entre los equipos como en las gráficas anteriores, pero aun así la sonda Orbisphere, nos proporciona los valores menores y las sondas Firesting Pyroscience los valores superiores; para niveles de alcohol 0%.

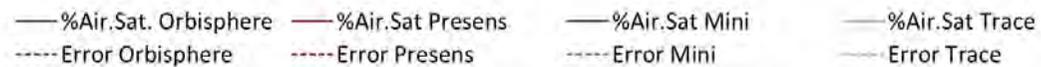
Al aumentar la concentración de alcohol, los niveles de oxígeno disuelto disminuyen, en todos los equipos excepto para el equipo Orbisphere que al aumentar los niveles de alcohol, aumenta el oxígeno disuelto; siendo este equipo el que nos proporciona los valores más altos de oxígeno.

En la siguiente tabla (Tabla 11) se recogen los errores estimados.

Tabla 11 Aproximación de los errores para las diferentes combinaciones

Polifenoles g/L	Azúcar g/L	Equipo	Equipo	Error %
1	2	Orbisphere	0	-10
			11	ND
			13	+2
			15	+6
1	2	Presens Fibox	0	-8
			11	-23
			13	-24
			15	-25
1	2	Firesting Pyroscience Mini	0	+5
			11	-7
			13	-7
			15	-9
1	2	Firesting Pyroscience Trace	0	+6
			11	-5
			13	-5
			15	-7

- Efecto del Alcohol sobre el OD con concentraciones de 2g/L Azúcar y 3g/L Polifenoles

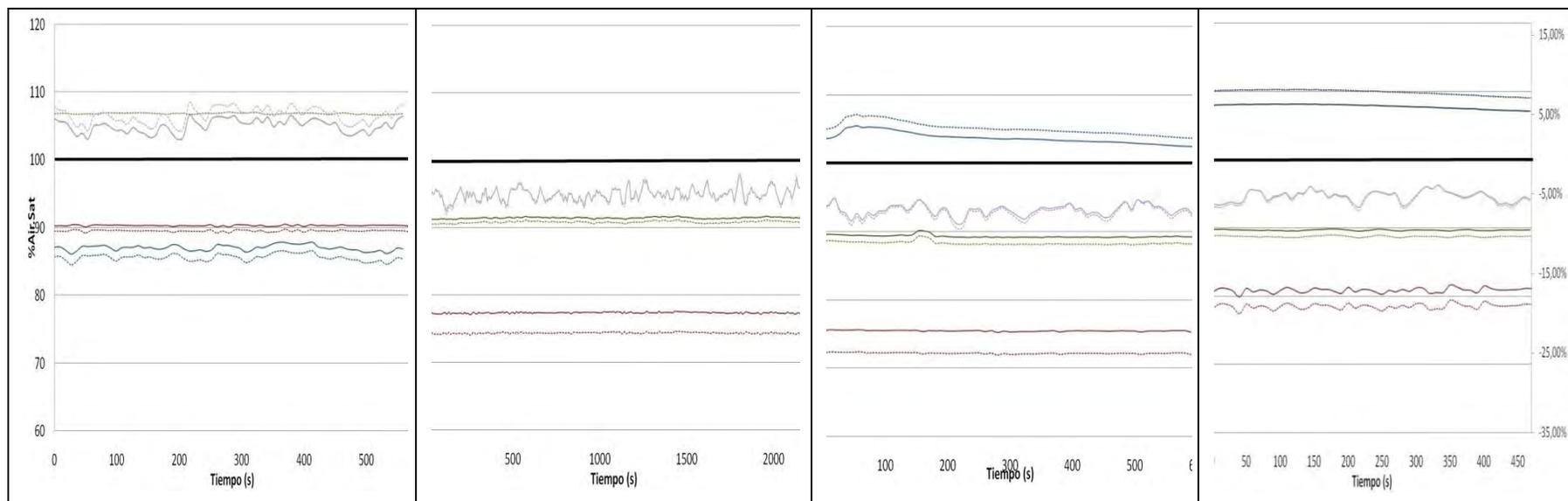


0%EtOH

11%EtOH

13%EtOH

15%EtOH



Se ha aumentado la concentración de polifenoles a 3 g/L, y la tendencia para 0% de alcohol es similar a las gráficas anteriores, siendo la sonda Orbisphere la que nos proporciona los valores menores de oxígeno, y las sondas Firesting Pyroscience los valores más altos. Al aumentar la concentración de alcohol, los valores de oxígeno se hacen menores para todas las sondas luminiscentes (Fibox Presens y Firesting Pyroscience, Mini y Trace), mientras que la sonda electroquímica Orbisphere los valores son superiores al aumentar la concentración de alcohol.

En la siguiente tabla (Tabla 12) se recogen los errores estimados.

Tabla 12 Aproximación de los errores para las diferentes combinaciones.

Polifenoles g/L	Azúcar g/L	Equipo	Equipo	Error %
3	2	Orbisphere	0	-10
			11	ND
			13	+2
			15	+6
3	2	Presens Fibox	0	-10
			11	-23
			13	-25
			15	-20
3	2	Firesting Pyroscience Mini	0	+5
			11	-10
			13	-13
			15	-13
3	2	Firesting Pyroscience Trace	0	+6
			11	-5
			13	-6
			15	-6

- Efecto del Alcohol sobre el OD con concentraciones de 2g/L Azúcar y 5g/L Polifenoles

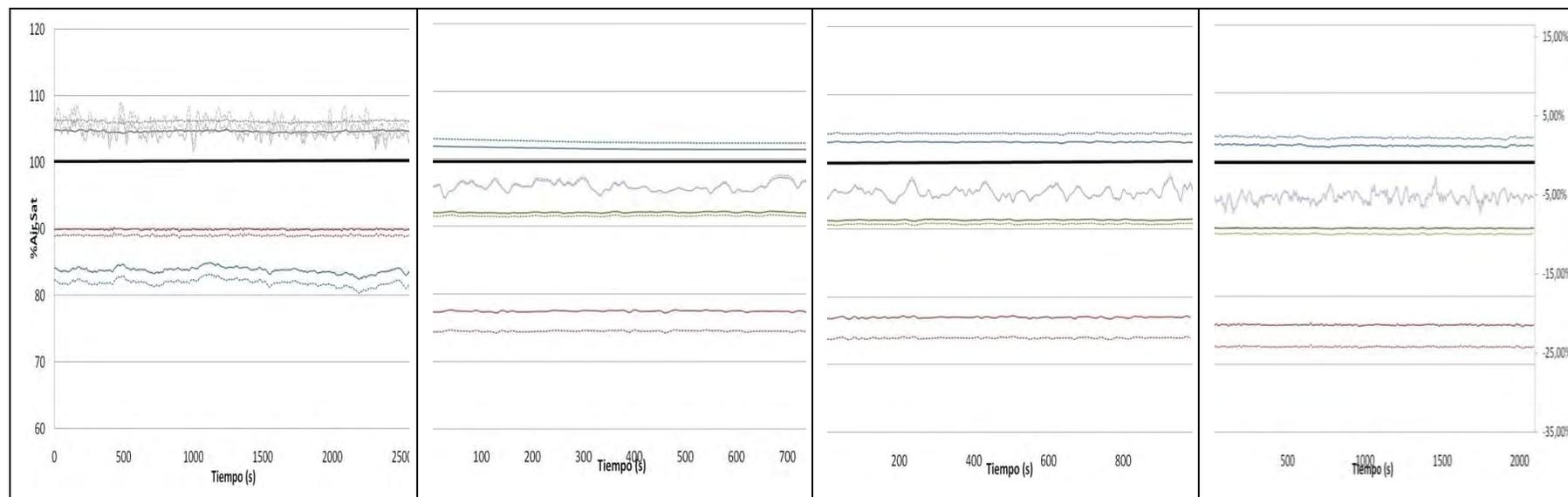
— %Air.Sat. Orbisphere    — %Air.Sat Presens    — %Air.Sat Mini    — %Air.Sat Trace  
 - - - Error Orbisphere    - - - Error Presens    - - - Error Mini    - - - Error Trace

0%EtOH

11%EtOH

13%EtOH

15%EtOH



Al aumentar la concentración de polifenoles a 5 g/L, la tendencia sigue siendo como en las anteriores gráficas, al aumentar el grado alcohólico disminuyen los valores de oxígeno disuelto, para todas las sondas excepto para la sonda Orbisphere que aumenta y se mantiene prácticamente constante.

En la siguiente tabla (Tabla 13) se recogen los errores estimados.

Tabla 13 Aproximación de los errores para las diferentes combinaciones

Polifenoles g/L	Azúcar g/L	Equipo	Equipo	Error %
5	2	Orbisphere	0	-15
			11	+2
			13	+2
			15	+3
5	2	Presens Fibox	0	-10
			11	-23
			13	-24
			15	-24
5	2	Firesting Pyroscience Mini	0	+5
			11	-9
			13	-10
			15	-10
5	2	Firesting Pyroscience Trace	0	+6
			11	-5
			13	-5
			15	-6

Una vez analizadas las gráficas, es importante explicar porque la sonda Orbisphere para niveles de alcohol 0% está por debajo de todas las medidas, mientras que al aumentar la concentración de alcohol, nos ofrece los valores más altos de oxígeno disuelto; al borbotear aire en la disolución, el tamaño de burbujas es importante controlarlo ya que esta sonda está sumergida en la disolución. En una disolución sin porcentaje de alcohol, las burbujas son muy grandes, pudiendo generar una cámara pequeña de aire sobre la superficie de contacto con la membrana de este equipo; localizado en su interior el electrodo; mientras que al introducir alcohol las burbujas se hacen más pequeñas. Esto es debido a la tensión superficial de los dos líquidos. Por lo que en disoluciones sin alcohol, las burbujas son muy grandes generando pequeñas

cámaras de aire, que no permiten realizar la medida de oxígeno exacta, mientras que al introducir alcohol las burbujas no lo generaron.

Tabla 14 Valores de tensión superficial para el agua y el alcohol etílico a 20°C. *Manual de Física, Koshkin N. I., Shirkévich M. G. Editorial Mir (1975)*

Líquido	Tensión Superficial $\gamma / (10^{-3} \text{ N/m})$
Alcohol	22.75
Agua	72.75

#### IV.2. Influencia estadística de los parámetros en las medidas de oxígeno disuelto.

Tabla 13 Resultado Anova

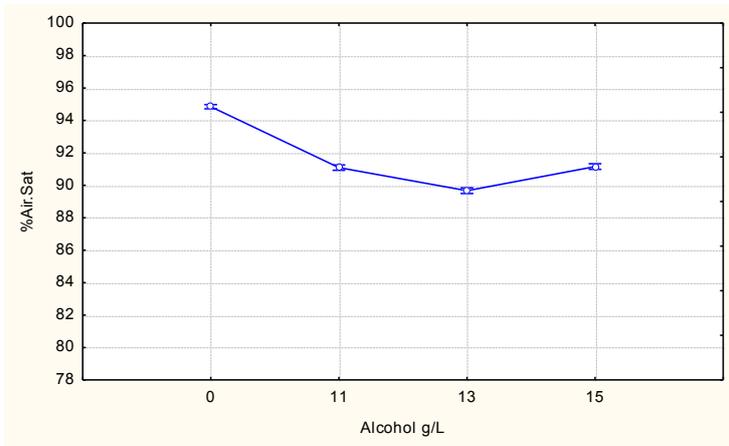
Efecto	Prueba de significación de %Air.Sat				
	SS	Grados de libertad	MS	F	p
Alcohol g/L	143561	3	47854	919	0.0
Azúcar g/L	14025	2	7012	135	0.0
Polifenoles g/L	9113	3	3038	58	0.0
Equipo	1467968	3	489323	9398	0.0
Error	1805616	34680	52		0.0

En la tabla anterior (Tabla 13), se recogen los resultados obtenidos de realizar el estudio anova, el valor p para todos los factores que estamos estudiando es 0.0, es decir, son significativos todos los factores.

Las variables que hemos estudiado, en mayor o menor medida influyen en las medidas realizadas.

Analizamos cada variable.

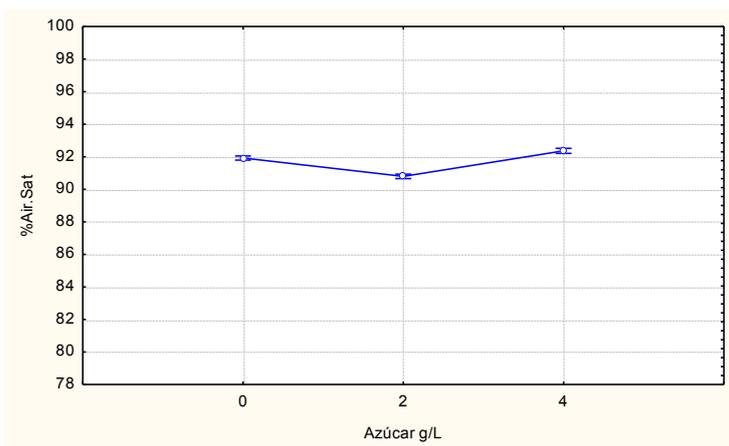
#### IV.2.1. Alcohol:



Todas las medidas obtenidas son valores inferiores a la condición impuesta (100%); al aumentar la concentración alcohólica las medidas de oxígeno disminuyen notablemente para niveles entre 0% de alcohol y 13% de alcohol, mientras que en concentraciones alcohólicas de 15% aumenta de nuevo la medida de oxígeno disuelto.

Es importante saber que se han incluido todas las medidas realizadas para los niveles de alcohol fueran cuales fuesen los valores del resto de variables (azúcar y polifenoles) y para todas las sondas con las que se ha trabajado.

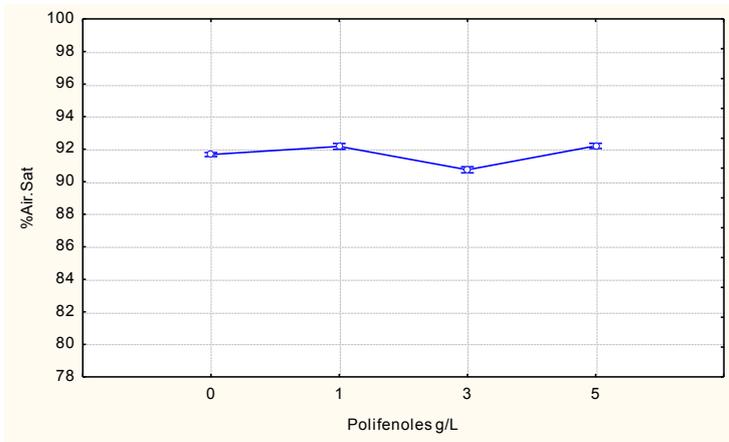
#### IV.2.2. Azúcar



Todas las medidas obtenidas son valores inferiores a la condición impuesta (100%); al aumentar la concentración de azúcar disminuye para una concentración de 2g/L, mientras que para concentraciones de 4 g/L aumenta la medida de oxígeno disuelto.

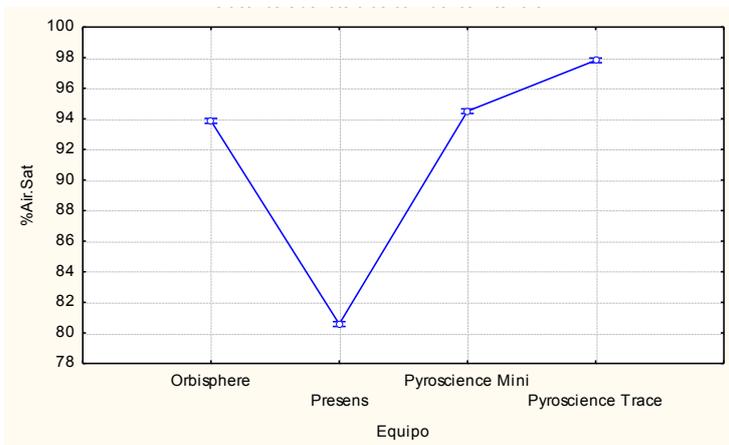
Las variaciones no son significativas, siendo esta variable que menos influye en las medidas.

#### IV.2.3. Polifenoles



Todas las medidas obtenidas son valores inferiores a la condición impuesta (100%); al aumentar la concentración de polifenoles aumenta excepto a niveles de 3g/L. Como en el caso anterior la variación no es significativa en los diferentes niveles de la variable.

#### IV.2.4. Equipo



Con este parámetro no podemos analizar la tendencia, ya que son equipos diferentes. Este parámetro es el más significativo de los 4 parámetros, todas las medidas son inferiores a la condición teórica que hemos impuesto (100% Air.Sat).

El equipo Presens nos ofrece las medidas más bajas de los 4 equipos, mientras que las medidas dadas por el equipo Pyroscience con la sonda Trace es la sonda que nos ofrece las medidas más ajustadas a la condición impuesta.

Para un mismo equipo; Firesting Pyroscience, los dos sensores ópticos (Spots) que utilizados proporcionan medidas diferentes, por tanto el escoger un sensor u otro; aunque el equipo es el mismo; será importante.

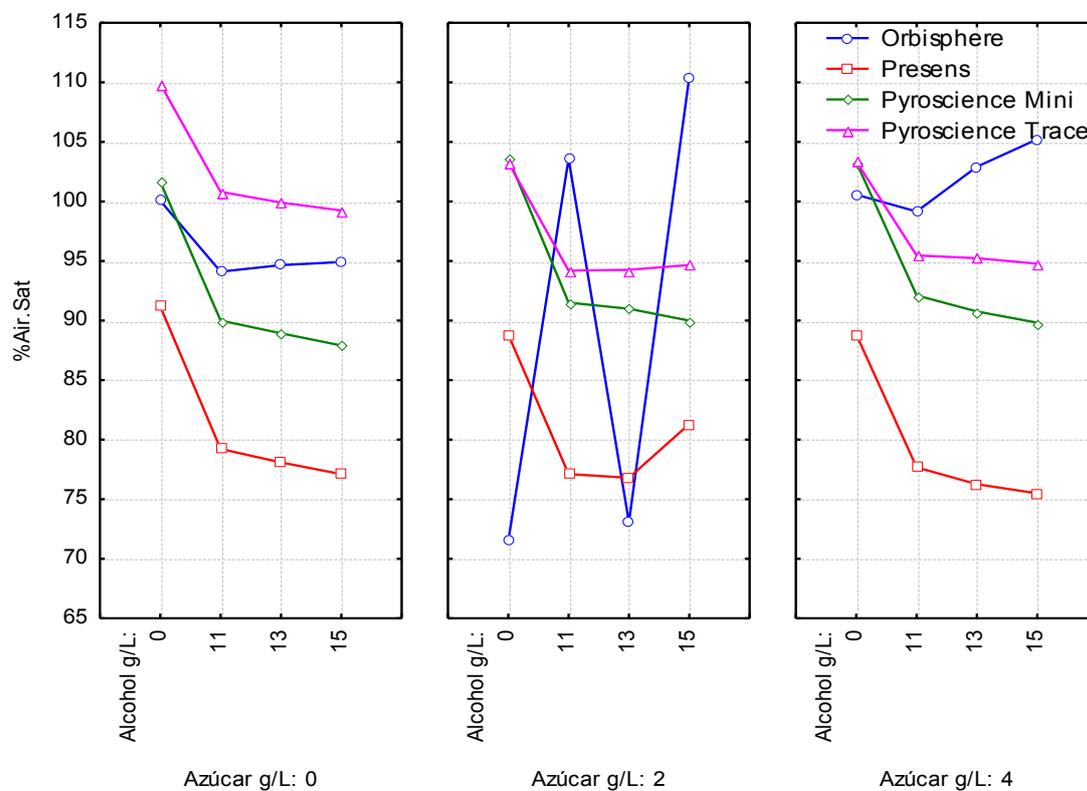
#### IV.2.5. Manova

Tabla 14 Resultado Manova

Efecto	SS	Grados de libertad	MS	F	p
Azúcar/Equipo/Alcohol/Polifenoles	86834.7	50	1736.7	3387.8	0.0
Error	17687	34504	0.5		

En la tabla anterior (Tabla 14) se recogen los datos estadísticos de realizar un Manova, o anova multifactorial. El efecto conjunto de las cuatro variables, provoca variación en las medidas de OD significativas, ya que el valor p es 0.0.

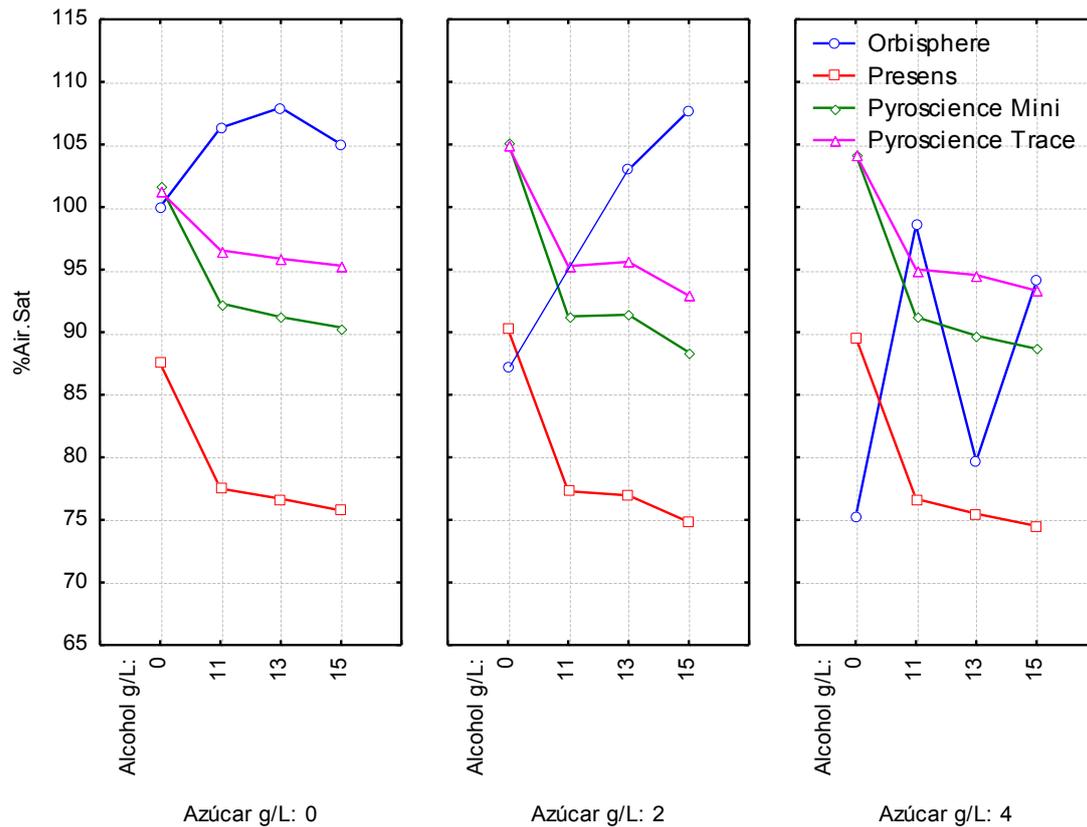
#### 0 g/L polifenoles



Para los diferentes niveles de azúcar, las sondas luminiscentes siguen un mismo patrón al aumentar el alcohol, el nivel de OD disminuye.

Los niveles de azúcar no provocan cambios en la tendencia de las medidas, excepto en el equipo Orbisphere.

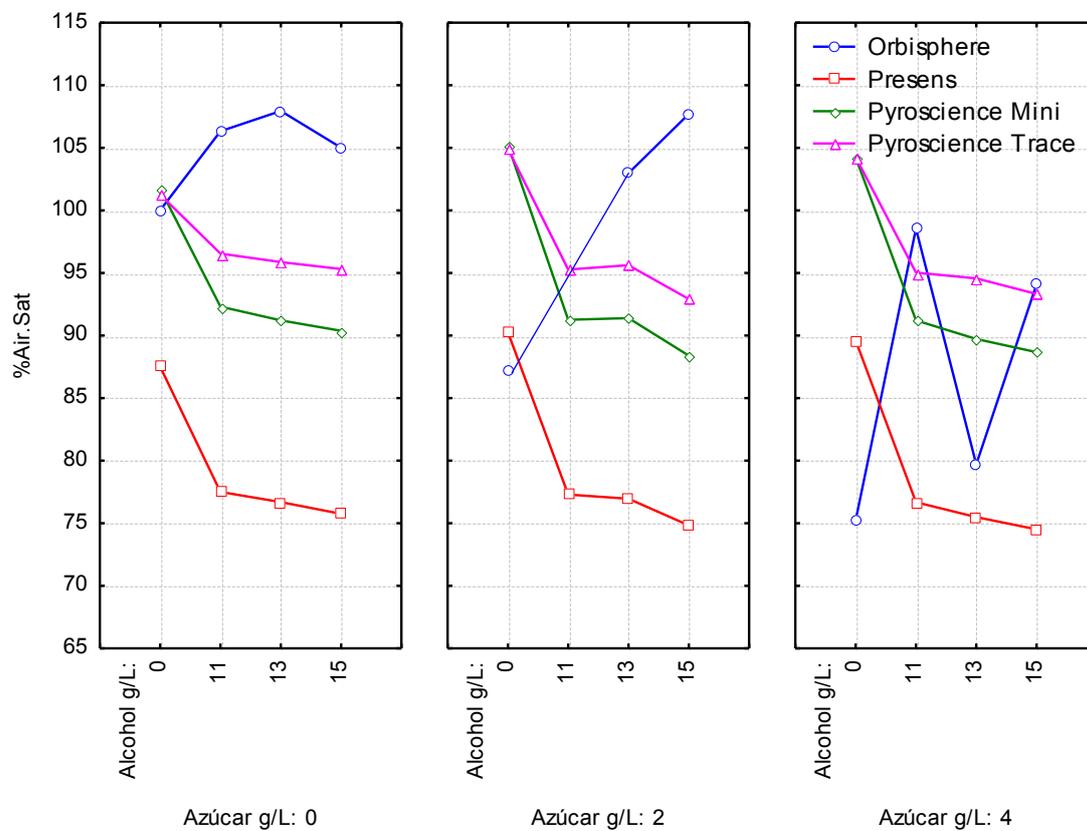
### 1 g/L polifenoles



Al aumentar la concentración de polifenoles, se ve afectado el equipo Orbisphere, ya que no sigue una tendencia clara, para los diferentes niveles de azúcar.

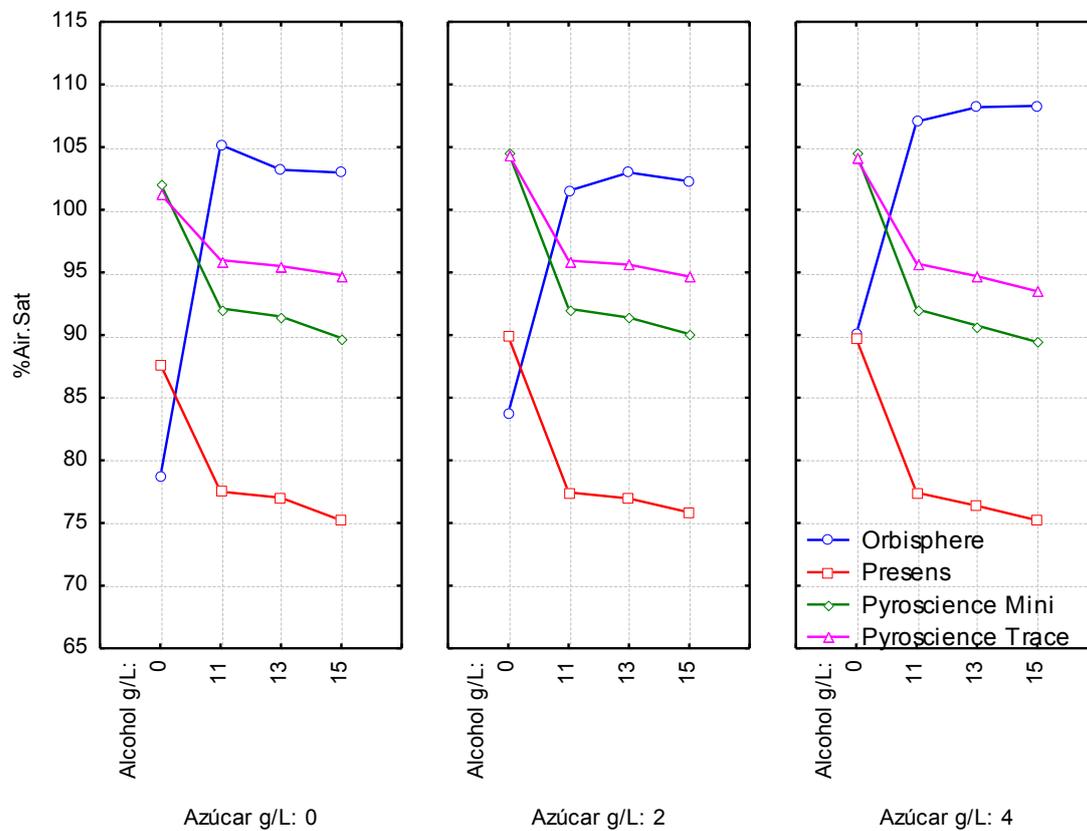
Las sondas luminiscentes siguen la misma tendencia, disminuye el nivel de OD al aumentar el alcohol.

## 3 g/L polifenoles



Aumentamos la concentración de polifenoles, ocurre lo mismo que en los casos anteriores, el oxígeno disminuye al aumentar la concentración de alcohol.

## 5 g/L polifenoles



Quando los niveles de polifenoles son 5 g/L, máxima concentración, el equipo Orbisphere marca una tendencia clara, aumenta el OD al aumentar el alcohol, mientras que el resto de equipos mantiene la tendencia de las gráficas anteriores.

## **V. CONCLUSIONES**

V.1. A medida que aumentamos la concentración del alcohol el oxígeno es menor, por tanto para vinos más alcohólicos la cantidad de oxígeno será menor que para vinos con menos cantidad de alcohol.

La variación de azúcar y polifenoles, no varía la cantidad de oxígeno disuelto.

V.2. Las medidas obtenidas en todos los equipos son inferiores a la condición teórica impuesta, por lo que todos los equipos llevan asociados un error.

V.3. El equipo con menor error asociado, es el que se basa en la técnica electroquímica, Orbisphere 3650, aunque a su vez es el equipo con el que más cuidado hay que tener a la hora de realizar las medidas, ya que como se ha comentado anteriormente, para disoluciones sin alcohol las burbujas nos generan un problema en la medida.

El mantenimiento de este equipo es más tedioso que los equipos basados en luminiscencia; contiene una membrana y un electrodo que hay que cambiar y limpiar respectivamente, cuando se observe que las medidas no son lineales.

V.4. Para un mismo equipo, Firesting Pyroscience, escoger el tipo de sensor que se utilizará es importante, ya que como se ha observado el sensor Trace tiene una variación de medida más amplia que el sensor Mini, que es más preciso; Se utiliza para medir concentraciones pequeñas de oxígeno.

V.5. El equipo Presens Fibox, aunque nos proporciona las medidas más lineales y constantes, son las más bajas respecto al valor teórico, por lo que su error es el mayor de todos los equipos.

## VI. REFERENCIAS

- Anocibar, A. (2005). La micro-oxigenación en la elaboración de vinos. Rev. Guía de Oro de los Vinos de España, 2, p. 32-39.
- Castellari, M.; Matricardi, L.; Arfelli, G.; Galassi, S. y Amati, A. (2000). Levels of single bioactive phenolics in red wine as a function of the oxygen supplied during storage. Food Chem., 69, p. 61-67.
- Castellari, M.; Simonato, B.; Torielli, G.B.; Spinelli, P. y Ferrarini, R. (2004). Effects of different enological treatment on dissolved oxygen in wines. Ital. J. Food Sci., 3,9.387-397.
- Fernando P. Molina-Heredia (2012) El lado oscuro del oxígeno SEBBM DIVULGACIÓN
- Haslam, E. (1980). In vino veritas: oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. Phytochem, 16, p.1625-1670.
- Le ai e, "La ic -oxygénation des vins" Report for the requirements of the Diplôme National d'Œnologie (ecole Nationale Superieure Agronomique: Montpellier, France).
- Moutounet, M. y Vidal, J.C. (2006). La medida de oxígeno disuelto en la bodega: ¿Nuevo criterio para garantizar la calidad? Revista Internet de Viticultura y Enología, 3/1, p. 1-5. (www.infowine.com).
- Moutounet, M.; Puech, J. L.; Keller, R. y Feuillat, F. (1999). Les caractéristiques du bois de chêne en relation avec son utilisation en œnologie. Le phénomène de duramisation et ses conséquences. Rev. Fr. Oenol., 174, p.12-17.
- Roig, G y Yêrle, S. (2003). Balance y perspectivas de 10 años de microoxigenación. ACE Enología. www.acenología.com.
- Vidal, J.C.; Cartalade, D.; Souquet, J.M.; fulcrand, H. y Cheynier, V. (2002). Changes in proanthocyanidin chain length in winelike model solutions. J.Agric. Food Chem., 50, p. 2261-2266.
- Waterhouse, A.L. y Laurie, V.F. (2006). Oxidation of wine phenolic: A critical evaluation and hypotheses. From the ASEV 2005 Phenolics Symposium. Am.J. Enol. Vitic., 25, p.119-126
- Yêrle, S. (2006). Microoxigenación y fermentación maloláctica. III encuentro enológico: Fermentación maloláctica. Fundación para la cultura del vino. Madrid. P. 127-136.

## VII. ANEXO

