Progetto mis. 124

TECNOLOGIA INNOVATIVA PER LA MISURAZIONE DELL'OSSIGENO NELLE BOTTIGLIE DI VINO - TIMOXI WINE

Università di Padova, Centro Interdipartimentale per la Ricerca in Viticoltura e Enologia - CIRVE

Responsabile-Coordinatore: Prof. Andrea Curioni

Riassunto

Nel presente progetto di ricerca si è affrontato il tema della misura dell'ossigeno nello spazio di testa di bottiglie di vino. A questo scopo è stato sviluppato il prototipo di uno strumento del tutto nuovo che riesce a misurare la concertazione di ossigeno in bottiglie chiuse in modo completamente non invasivo, fornendo in pochi secondi un dato che può essere sfruttato per conoscere la quantità di ossigeno presente non solo appena dopo la chiusura della bottiglia, ma anche per tutto il periodo della sua conservazione. In questo modo si può tenere sotto controllo l'evoluzione del contenuto di ossigeno delle bottiglie che verranno poste in commercio anche in relazione alle modalità di imbottigliamento e alla tipologia delle chiusure adottate, fornendo all'enologo opportunità analitiche finora sconosciute.

La tecnologia su cui si basa la misurazione è la spettroscopia laser, che consente di risalire alla quantità di ossigeno presente a partire dalla misura dell'assorbimento della radiazione di un fascio laser altamente monocromatico che attraversa il collo della bottiglia chiusa. Poiché il segnale dovuto all'ossigeno è estremamente debole sono stati messi in atto diversi accorgimenti tecnici, che hanno permesso di arrivare ad una configurazione dello strumento utilizzabile in condizioni di cantina con risultati del tutto soddisfacenti.

Dopo aver calibrato lo strumento in aria, e aver posizionato la bottiglia da analizzare, si effettua la misura, che richiede solo alcuni secondi (da 5 a 20) per avere una buona prestazione. Prendendo la media di diverse misure (3-4) si ottiene un risultato ancora migliore. Lo strumento è in grado di avere una deviazione standard di circa 0.3% di O_2 per pressioni fino a circa 2 bar. Per pressioni superiori le prestazioni si degradano (il limite è di circa 3 bar), mentre per pressioni inferiori a quella atmosferica esse possono anche migliorare.

I risultati della misura non risentono del tipo di bottiglia, né del colore del vetro, ed è possibile misurare anche bottiglie di PET. La misura è totalmente non invasiva e può essere ripetuta sulla stessa bottiglia per un numero indefinito di volte, anche a distanza di anni.

Presso la Cantina partner del progetto, lo strumento è stato applicato alla misurazione della quantità di O_2 in diverse bottiglie, di colore chiaro o scuro, e contenenti diversi vini, bianchi e rossi, e chiuse con diverse tipologie di tappi (in sughero, sintetici, in spugna e a vite), seguendo le variazioni nella concentrazione di O_2 in alcuni casi fino a poco meno di 3 mesi dall'imbottigliamento. In generale si sono riscontrate cinetiche di consumo di ossigeno da parte del vino che corrispondono a quanto riportato in letteratura e si sono determinate differenze, anche significative, tra le diverse tipologie di chiusura, mentre il colore della bottiglia non ha avuto effetti sui risultati ottenuti. Le misure spettrofotometriche di variazione del colore, teoricamente correlabili a variazioni nello stato di ossidazione, effettuate ai vari tempi sia sui vini bianchi che su quelli rossi, hanno confermato una certa variabilità che potrebbe essere posta in relazione con le quantità di O_2 misurate.

In sintesi, la nuova tecnologia qui sviluppata può essere considerata un importante passo avanti per la misura dell'ossigeno e può essere utilizzata come un valido mezzo per controllare la qualità del vino in bottiglia.

Abstact

In this research project, the issue of measuring oxygen concentration in the headspace of wine bottles has been addressed. For this purpose, the prototype of a completely new instrument that can measure in a few seconds the oxygen concentration in closed bottles in a completely non-invasive way has been developed. This instrument provides data which can be exploited to know the amount of oxygen not only just after the closure of the bottle, but also throughout all the period of its storage. In this way one can keep under control the evolution of the oxygen content of the bottles that will be placed on the market also in relation to both the mode of bottling and the type of closures used, providing an analytical tool hitherto unavailable to the enologist.

The developed technology is based on laser spectroscopy, which allows to track the amount of oxygen from the measure of the absorption of a highly monochromatic laser radiation that crosses the neck of the closed bottle. Since the signal due to oxygen is extremely weak, several technical solutions have been put in place, which allowed to obtain at a final configuration of the instrument that can be used in winemaking conditions with completely satisfactory results.

After calibrating the instrument in the air, and having positioned the bottle to analyze, a few seconds (5 to 20) are required to have a good response. Taking the average of different measures (3-4) even better results can be obtained. The instrument is able to give a standard deviation of about 0.3% O_2 for internal pressures up to about 2 bar, while for higher values the performance degrades

(the limit is approximately 3 bar), but for pressures lower than the atmospheric one they can improve.

The quality of the measurements does not depend on the type of bottles, nor on their color. The measurement is totally non-invasive and can be repeated on the same bottle for an indefinite number of times, even after many years.

The instrument has been applied to the measurement of the amount of O_2 in different bottles, made of light or dark glass, and containing different wines, white and red, and closed with different types of closures (cork, synthetic, foam and screw), following changes in the concentration of O_2 in some cases for periods up to a little less than three months after bottling.

In general, by using the developed technique, kinetics of oxygen consumption by the wine that match those described in the literature have been found. Moreover, some differences among the different types of closure have been measured, while it was confirmed that the color of the bottle has no effect on the results. The spectrophotometric analysis of the wine color, which is correlated to the oxidation state, made at various times on both white and red wines, have confirmed a degree of variability that may be related to the amount of O_2 measured in the corresponding bottles.

In summary, the new technology here developed can be considered a major improvement for the measurement of O_2 in wine bottles to be used as a tool to control the quality of bottled wines.

Relazione finale

Il progetto, svolto in collaborazione con la Cantina Produttori Campodipietra Società Agricola Cooperativa, ha avuto come obiettivo lo sviluppo di una nuova tecnologia che fosse in grado di misurare l'ossigeno presente nello spazio di testa di contenitori chiusi in modo completamente non invasivo ed affidabile. Questo obiettivo è stato raggiunto grazie alla messa a punto, con la consulenza di L PRO s.r.l., Spin-off del'Università di Padova, di un prototipo di uno strumento nuovo il cui funzionamento si basa sulla spettroscopia laser, già sperimentata precedentemente per la misura dell'anidride carbonica in recipienti chiusi.

La misura dell'ossigeno nel vino

Data per scontata l'importanza dell'ossigeno in enologia, esistono diversi sistemi per la misura di questo gas. Tra i più diffusi sono quelli basati su sensori elettrochimici, come per esempio l'Orbisphere, che determinano la quantità di ossigeno facendo fluire una parte del liquido, prelevato dal contenitore sotto atmosfera di azoto, in un sensore che ne misura la conducibilità che è proporzionale alla pressione parziale di ossigeno.

Altri sistemi, abbastanza complicati e non privi di svantaggi, si basano sull'uso di sostanze che sono in grado di cambiare colore in funzione della quantità di ossigeno, ma questi possono essere applicati, solo al fine di saggiare il passaggio di ossigeno attraverso diversi tipi di chiusure, su soluzioni modello e non su vini reali.

Un sistema alternativo che evita l'apertura del recipiente si basa invece sul posizionamento di un sensore all'interno della bottiglia chiusa. Questi sensori, attivati da una luce blu fornita attraverso una fibra ottica rispondono emettendo una luce rossa fornendo un segnale che, opportunamente elaborato, indica la concentrazione dell'ossigeno. Questo sistema ha il vantaggio di non essere invasivo e di permettere misure a tempi diversi, che però evidentemente possono essere fatte solo sulle bottiglie dotate del sensore, che non sono certamente quelle che possono essere messe in commercio.

Tutti questi sistemi, quindi, non consentono misure sistematiche, rapide e nemmeno molto affidabili, né possono essere applicati alle bottiglie che verranno effettivamente commercializzate, dato che le misure dopo l'imbottigliamento possono essere fatte solo su qualche bottiglia a campione, con processi abbastanza lunghi e risultati affetti da irriproducibilità di tipo statistico.

Nella pratica di vinificazione, imbottigliamento e conservazione si sente dunque il bisogno di un metodo di misura dell'ossigeno presente in una bottiglia in modo rapido e non invasivo, da applicare al fine del controllo di qualità, ma anche per stabilire le modalità di imbottigliamento e la tipologia di chiusura più adatta in funzione di un determinato obiettivo produttivo.

Lo strumento

Il misuratore di contenuto di ossigeno all'interno delle bottiglie sviluppato durante il progetto è basato sul principio della spettroscopia laser: un fascio di radiazione altamente monocromatica emesso da un laser attraversa lo spazio di testa della bottiglia dove è contenuto il gas. La lunghezza d'onda della radiazione coincide con una delle righe di assorbimento della molecola di ossigeno. Misurando con un fotorivelatore l'intensità della radiazione dopo che ha attraversato il collo della bottiglia, è possibile determinarne l'assorbimento e da esso risalire, nota la distanza attraversata (spessore interno del collo), alla concentrazione del gas oggetto della misura come indicato schematicamente nella figura.

In realtà, la radiazione laser viene anche fortemente assorbita dal vetro della bottiglia, in particolare se esso è scuro. Per tenere conto di ciò la lunghezza d'onda della radiazione laser viene fatta variare attorno alla riga della molecola in modo da separare il contributo del vetro, che è costante nel piccolo intervallo di lunghezza d'onda della scansione, da quello della riga della molecola.

I laser impiegati per questa applicazione sono laser a diodo: VCSEL o DFB quindi robusti, affidabili e adatti ad applicazioni industriali. La variazione della lunghezza d'onda viene in questi laser realizzata semplicemente variando la corrente di alimentazione del laser stesso o anche variando la temperatura di funzionamento.

Questi principi sono già applicati, ad esempio, per la rivelazione della CO_2 e Lpro S.r.l. già produce e commercializza uno strumento in grado di misurarne la pressione parziale, come anche quella totale, nelle bottiglie di vino.

Tuttavia l'estensione di queste tecniche al caso della misura dell'O_2 si scontra contro due grosse difficoltà:

1) la molecola dell'O_2 essendo formata da due atomi identici non presenta righe vibrazionali permesse come altre molecole (ad esempio CO_2, H_2O, ecc). Le uniche righe di assorbimento possibili sono delle righe (così dette di overtone) attorno a 760 nm, di intensità debolissima;
2) nell'atmosfera esterna alla bottiglia è presente O_2, in concentrazione di circa 21%. Tale valore è spesso ben superiore a quanto presente all'interno della bottiglia e che si vuole misurare (fino a < 1%). Inoltre, anche le pressioni dei gas possono essere diverse: quella interna è spesso superiore alla pressione atmosferica. Questo introduce un ulteriore elemento di distorsione della misura.

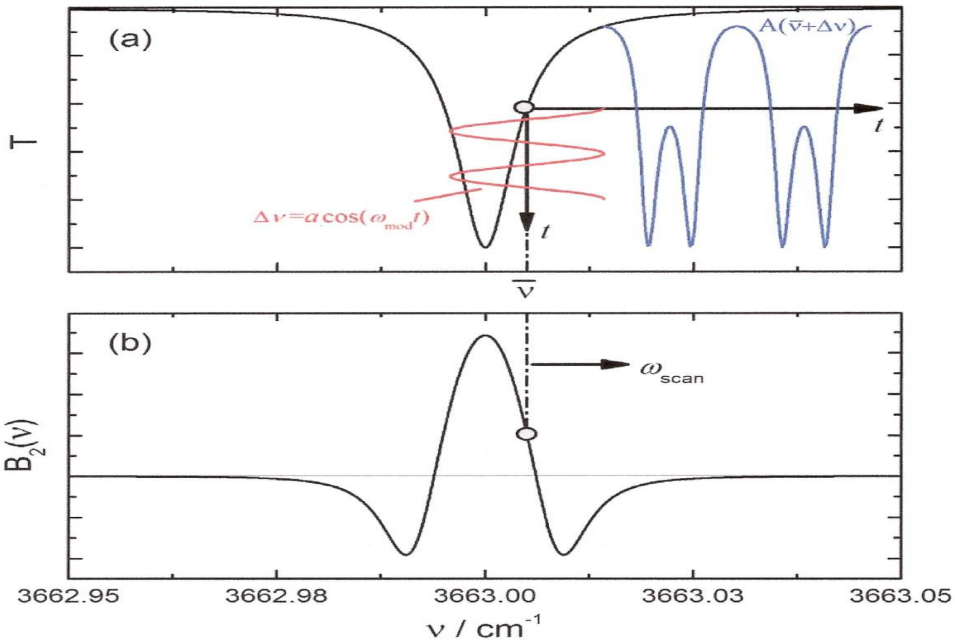
Il superamento di tali difficoltà ha costituito il vero punto di radicale innovazione del progetto.

Punto 1) Per avere un dato quantitativo assumiamo che in una bottiglia il cui collo ha un diametro interno di 18 mm sia presente l'1% di O_2. Ebbene, in questo caso l'assorbimento da parte delle molecole di O_2 è di circa 3 $x10^{-5}$. Questo significa che si deve poter misurare una variazione dell'intensità del fascio di 3/100000 dell'intensità stessa.

Bisogna quindi: a) aumentare la sensibilità della misura di assorbimento; b) minimizzare ogni

ulteriore causa di perturbazione della misura come, ad esempio, l'effetto etalon o ogni specie di rumore.

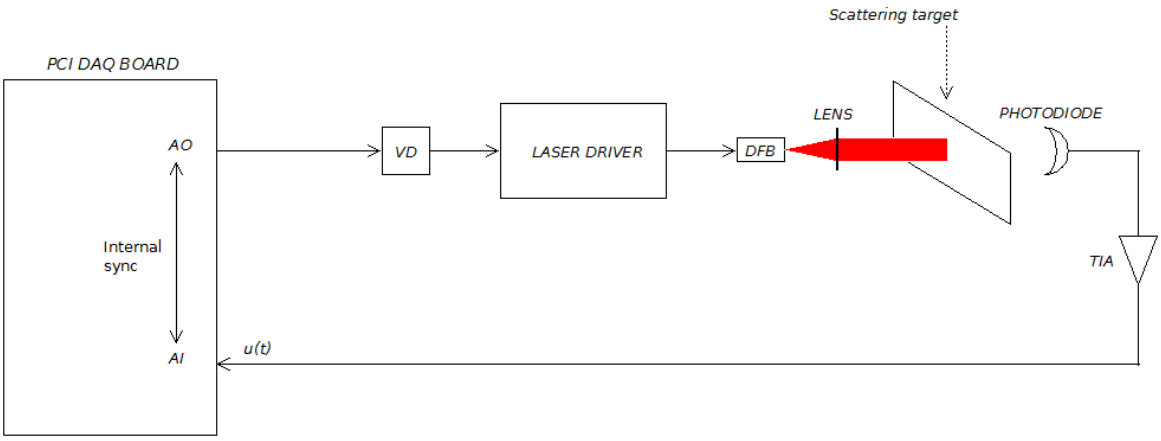
L'elevata sensibilità della misura è stata ottenuta utilizzando una tecnica di modulazione della misura di assorbimento nota come WMS: Wavelength Modulation Spectroscopy. Si tratta di imprimere alla variazione della lunghezza d'onda della radiazione laser una modulazione sinusoidale e poi realizzare un battimento tra il segnale rivelato dal fotodiodo e la stessa frequenza di modulazione.



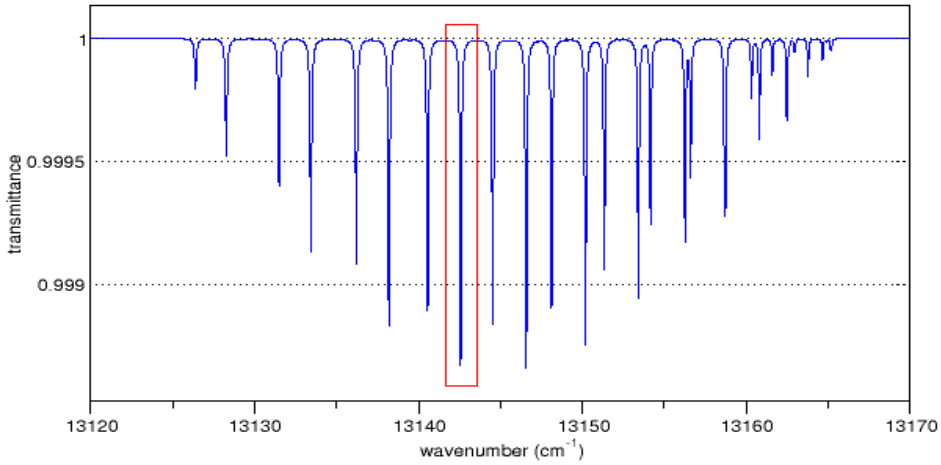
Nella figura in (a) è rappresentato lo spettro di una riga dell'O_2 e la modulazione della lunghezza d'onda del laser, mentre in (b) è mostrato il risultato dopo il battimento, effettuato alla frequenza doppia di quella modulante. Si ottiene un segnale simile alla derivata seconda della riga originaria. Il grande vantaggio della WMS è che essa elimina i contributi costanti all'assorbimento, come ad esempio quello del vetro, permettendo quindi di aumentare di molto la sensibilità della misura.

Nello strumento realizzato, poi, questa modulazione e demodulazione è realizzata in modo sincrono e in maniera digitale, ottenendo quindi prestazioni assolutamente stabili nel tempo e riproducibili.

Uno schema di massima della configurazione utilizzata è mostrato in figura:



Il laser è un laser della Ulm Photonics e lavora attorno a 760 nm dove vi è la banda di assorbimento dell'O_2 come mostrato nella figura seguente. Si opera sulla riga più intensa. Il laser è controllato, in corrente e temperatura, mediante una scheda della Thorlabs, mentre i segnali di modulazione e demodulazione sono generati/raccolti da una scheda della National Instruments.

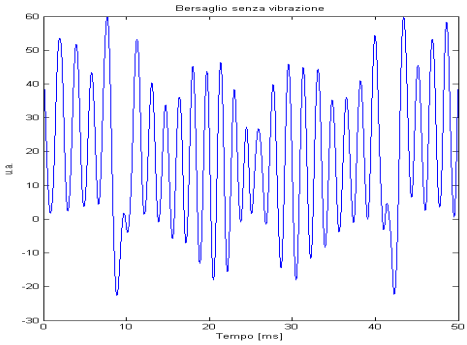


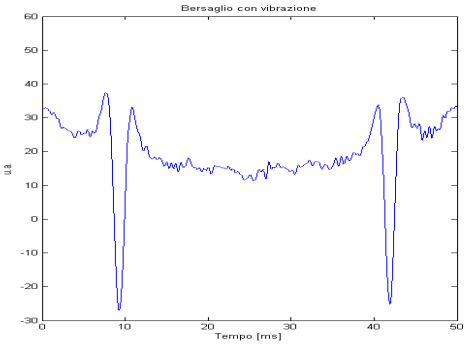
Particolarmente critico si è rivelato il controller di temperatura. Infatti basta variare di poco la temperatura del laser (anche di meno di 0,1° C) perchè vi sia un'apprezzabile variazione della posizione della riga e la conseguente incertezza nella misura. A tale proposito si è sviluppato un apposito algoritmo che verifica la posizione della riga prima della misura e poi controlla la corrente per portare la riga nella giusta posizione.

b) la minimizzazione dei possibili disturbi ha rappresentato uno dei punti più critici del progetto e ha richiesto un lungo lavoro. In particolare, la misura è influenzata da modulazioni spurie dell'intensità che si originano da effetti etalon. Si tratta di interferenze tra fasci altamente coerenti riflessi dalle varie interfacce che il fascio laser incontra nel suo passaggio. Ad esempio, ad ogni passaggio aria-vetro vi è una parte del fascio riflessa indietro con il risultato che l'interferenza tra i vari fasci provoca battimenti che possono variare anche casualmente. Tale effetto è particolarmente

vistoso nel caso di bottiglie di vetro chiaro.

Attraverso un'attenta indagine sperimentale si è visto che la soluzione più efficace per la riduzione dell'etalon è quella di imprimere un piccolo movimento oscillatorio/vibratorio alla bottiglia in modo da “piallare” l'etalon durante la misura. Nello strumento questo è realizzato spostando in modo oscillante di una frazione di mm il collo della bottiglia durante la misura. La figura seguente mostra l'effetto dell'etalon e la sua riduzione ottenibile con la vibrazione.





Per quanto riguarda il punto 2) si è realizzata l'eliminazione dell'ossigeno esterno utilizzando due cilindretti di materiale siliconico trasparente interposti tra il laser e la bottiglia e tra la bottiglia ed il fotodiodo. Laser e fotodiodo sono contenuti in due contenitori e sono spinti da due molle che portano i cilindretti a contatto con il vetro della bottiglia eliminando l'aria esterna. In questo modo il segnale di assorbimento che si misura è solo quello dovuto all'ossigeno che sta all’interno della bottiglia. Per questa realizzazione si è visto inoltre che è conveniente operare con il laser senza alcuna lente di collimazione e quindi in espansione libera. Il fotodiodo deve quindi essere di area sufficiente a raccogliere l'intero fascio. Per questo si è utilizzato un fotodiodo Hamamatsu da 10 x 10 mm di area. Per rendere lo strumento immune dall'effetto della luce ambiente davanti al fotodiodo è stato interposto un filtro infrarosso.

Si è inoltre implementato un programma di controllo e sopratutto di best-fit delle forme di riga sperimentali. Questo programma calcola la forma di riga che ci si aspetta partendo dai dati caratteristici del laser, ricavati sperimentalmente in prove preliminari.

Si è effettuata quindi una lunga sperimentazione con un prototipo dello strumento messo a punto utilizzando diverse bottiglie con diversi contenuti di O_2 e a diverse pressioni. Queste prove hanno portato ad alcune conclusioni: nonostante tutti gli accorgimenti la misura della concentrazione dell'O_2 effettuata con la WMS risente molto della pressione interna alla bottiglia. Aumentando la pressione, la riga di assorbimento si allarga (a causa degli urti tra le molecole) e, di conseguenza, la derivata (seconda) diminuisce di ampiezza; questo, unito alla piccolezza intrinseca del segnale,

comporta che per pressioni elevate non sia più possibile separare in modo univoco dal segnale sperimentale il contributo dovuto alla concentrazione dell'O_2, oggetto della misura, da quello dovuto alla pressione totale.

Si è quindi deciso di affiancare al canale di misura dell'O_2 un secondo canale, costituito dal ben noto e funzionante sistema di misura della CO_2. Tale canale fornisce in modo non ambiguo la pressione totale del gas (oltre ovviamente alla misura della concentrazione della CO_2). La misura di pressione così ricavata viene utilizzata assieme al segnale del canale dell'O_2 per ricavare la definitiva concentrazione dell'ossigeno. Naturalmente per avere una buona misura di pressione è necessario che all'interno della bottiglia sia presente una quantità di CO_2 sufficiente (almeno superiore al 2-3%, cosa che nelle bottiglie di vino si verifica sempre).

La figura seguente mostra la realizzazione pratica dello strumento.

In fase di messa a punto lo strumento è stato calibrato misurando bottiglie campione in cui veniva iniettata una miscela di O_2 ed N_2 con % e pressioni variabili. In particolare, la calibrazione dello strumento è stata effettuata tramite alcune bottiglie campione in cui veniva immessa una atmosfera modificata con un contenuto noto di ossigeno. Tali miscele venivano realizzate in un apposito polmone che consente di riempire i campioni con le pressioni volute. Nella fase iniziale, le prestazioni dello strumento erano definite usando diverse concentrazioni di ossigeno e diverse pressioni, misurate con manometri di precisione. Questo ha consentito di realizzare una caratterizzazione iniziale che ha reso lo strumento pronto all’uso da parte dell’operatore, a cui viene richiesta una semplice calibrazione tramite acquisizione dello zero in aria.

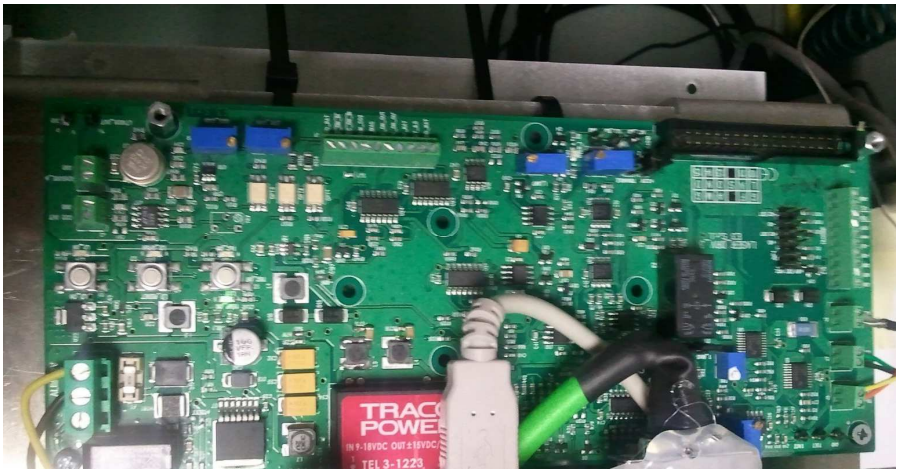
La misura viene dunque effettuata prima prendendo un segnale di calibrazione (senza la bottiglia) in aria. Poi viene posizionata la bottiglia portando a contatto i contenitori del laser e del fotodiodo. La misura richiede alcuni secondi (da 5 a 20) per avere una buona prestazione. In realtà se si effettuano diverse (3-4) misure, ruotando di un poco la bottiglia tra una misura e l'altra, e se ne prende la media si ottiene un risultato ancora migliore.

La riproducibilità, l'accuratezza e la sensibilità dipendono da diversi parametri. Lo strumento è in grado di avere una deviazione standard di circa 0.3% di O_2 per pressioni fino a circa 2 bar. Per pressioni superiori le prestazioni si degradano (il limite è di circa 3 bar), mentre per pressioni inferiori a quella atmosferica esse possono anche migliorare.

La qualità della misura non dipende dal tipo di bottiglie, di vetro chiaro o scuro, né dal tipo di vetro ed è possibile misurare anche bottiglie in PET. La misura è totalmente non invasiva e può essere ripetuta sulla stessa bottiglia per un numero indefinito di volte, anche a distanza di anni.

Criticità e sviluppi futuri.

Le prestazioni dello strumento, come sensibilità e accuratezza, appaiono molto buone e adatte all'impiego previsto. La principale criticità è legata alla complessità dello strumento e, di conseguenza, al suo possibile costo per l'utente. Ridurre la complessità necessita da un lato di vedere se è possibile, e in che intervallo operativo, fare a meno della misura della pressione mediante il canale di misura della CO_2, il che consentirebbe di quasi dimezzare il costo. Questo però richiede ancora una serie di misure aggiuntive. Inoltre, anche realizzare in casa alcune schede di controllo contribuirebbe a ridurre i costi. A tale scopo si è progettata e realizzata una apposita scheda elettronica che congloba in un' unico pezzo sia il controller di corrente del laser sia il controller di temperatura che il sistema di modulazione/demodulazione sincrono necessita. La figura seguente mostra la realizzazione pratica della scheda.



Lo strumento può trovare applicazione oltre che nel settore dei vini anche per bevande gassate e non. In quest'ultimo caso, dovendo misurare la pressione e non essendovi CO_2 presente, è possibile utilizzare per la misura le righe del vapor d'acqua. Questa opzione è già stata provata separatamente.

Risultati su vini in condizioni operative

Presso gli stabilimenti della Cantina partner del progetto si sono effettuate le prove di misurazione con il prototipo messo a punto in condizioni operative. I siti di imbottigliamento sono stati due: lo stabilimento di Campodipietra e la Casa Vinicola Bosco Malera. La macchina imbottigliatrice dello stabilimento di Campodipietra è una Virmauri anno 1984 a 16 teste riempitrici con compensazione di azoto unicamente nella campana di contenimento del vino, non avendo la possibilità di insufflare azoto nella bottiglia prima del riempimento. La macchina imbottigliatrice della Casa Vinicola Bosco Malera è una Correlassi anno 1989 a 32 teste riempitrici anch'essa con le stesse caratteristiche riguardo alla possibilità di utilizzare l'azoto. Si deve quindi immaginare che lo spazio di testa al momento dell'imbottigliamento, in entrambi i casi, sia interamente saturo di aria in uno stato compresso, per effetto della diminuzione del volume causa dell'entrata e del posizionamento del tappo.
Nelle prove effettuate sono state utilizzati diversi tipi di chiusure ed in particolare tappi in sughero birondellati (Ganau), tappi sintetici (Tappì), tappi in spugna (Enocork) e tappi a vite (Alplast). Le bottiglie di Arzeri Bianco sono state tappate unicamente con tappi in sughero (Porto Cork).

Preliminarmente si sono considerati vini di varietà diverse (bianche e rosse) sottoposti ad imbottigliamento (in bottiglie di vetro chiaro e colorato) con due tipi di chiusure (tappi in sughero e tappi tecnici). Le caratteristiche analitiche dei vini utilizzati nella sperimentazione sono riportate nella seguente tabella.

Caratteristiche analitiche all'imbottigliamento e data di imbottigliamento dei vini utilizzati nella sperimentazione.

Vino	**Alcol (%)**	**Acidità totale (g/l)**	**Acidità volatile (g/l)**	**pH**	**Zuccheri residui (%)**	**SO_2 totale**	**SO_2 libera**	**Data di imbottigliamento**
Nero d'Avola	12,16	5,66	0,45	3,41	0,56	130	46	20/06/2012
Rosso semisecco	10,10	5,53	0,30	3,30	1,00	165	45	19/07/2012

Merlot	12,06	5,23	0,49	3,46	0,65	120	48	28/08/2012
Pinot grigio	11,86	5,70	0,20	3,26	0,48	176	48	05/09/2012
Verduzzo friulano	12,59	5,4	0,59	3,29	3,42	180	60	05/07/2012

Su questi diversi vini è stata misurata, utilizzando lo strumento precedentemente descritto, la variazione della percentuale di ossigeno contenuta nello spazio di testa. Per ogni tipologia di vino sono state selezionate 6 bottiglie, che sono state monitorate a tempi diversi.

Sono stati inizialmente selezionate le bottiglie un vino bianco e di due vini rossi. Il vino bianco era un Verduzzo friulano dorato (commercializzato con il nome di Arzeri), vinificato con criomacerazione e con un leggero passaggio in botti di rovere, mentre i vini rossi erano un rosso IGT ed un Merlot. Per il vino bianco era stato scelto un tappo in sughero e bottiglie in vetro bianco, mentre per i rossi un tappo tecnico e bottiglie in vetro scuro.
I risultati riguardanti la misurazione dell'ossigeno nello spazio di testa sono riportati rispettivamente nelle Tabelle 1, 2 e 3 e nei relativi Grafici 1, 2 e 3.

Tabella 1 e Grafico 1. *Evoluzione della percentuale di ossigeno nello spazio di testa delle bottiglie di vino bianco Verduzzo friulano chiuse con tappi di sughero. Ogni dato è la media della misura su 6 bottiglie diverse.*

Giorni	Media	Dev. St.
0	16,82	1,16
1	10,37	1,67
5	7,18	1,17
7	4,83	1,12
11	3,59	0,80
12	3,17	0,80
13	2,84	0,78
14	2,65	0,74
15	2,55	0,74
47	0,88	0,43
50	0,57	0,39
53	0,48	0,38
57	0,48	0,30
61	0,37	0,28
67	0,32	0,26
74	0,30	0,28
82	0,39	0,28

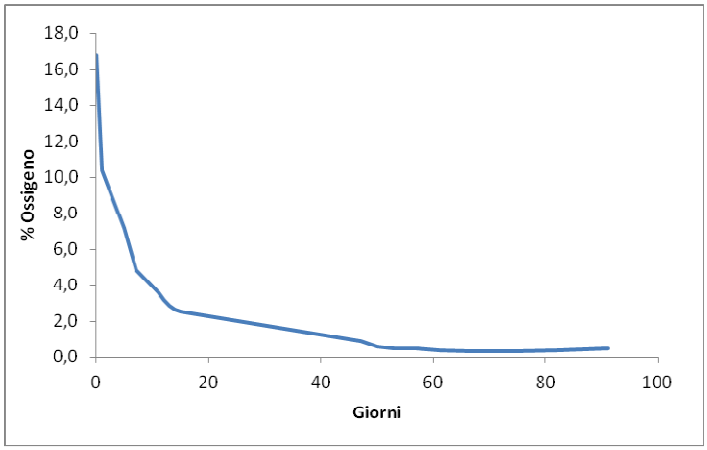


Tabella 2 e Grafico 2. *Evoluzione della percentuale di ossigeno nello spazio di testa delle bottiglie di vino Rosso Igt chiuse con tappo tecnico. Ogni dato è la media della misura su 6 bottiglie diverse.*

Giorni	Media	Dev. St.
0	10,77	0,39
1	7,84	0,69
33	1,64	0,12
36	1,01	0,13
39	0,91	0,17
43	0,83	0,13
47	0,75	0,14
53	0,65	0,12
60	0,49	0,09
68	0,61	0,15
77	0,59	0,14

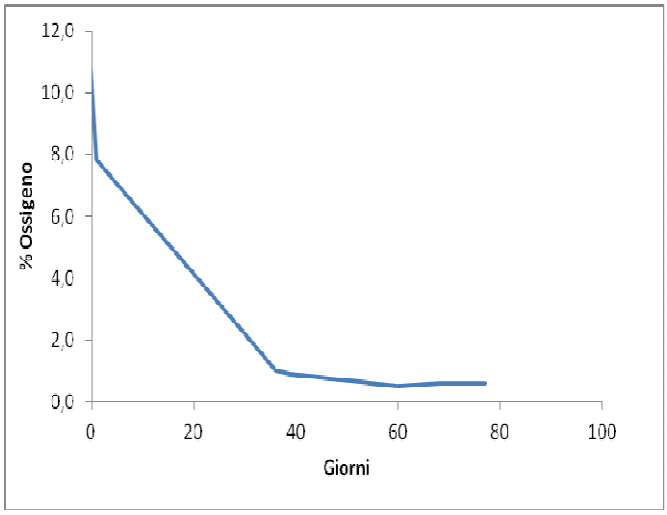
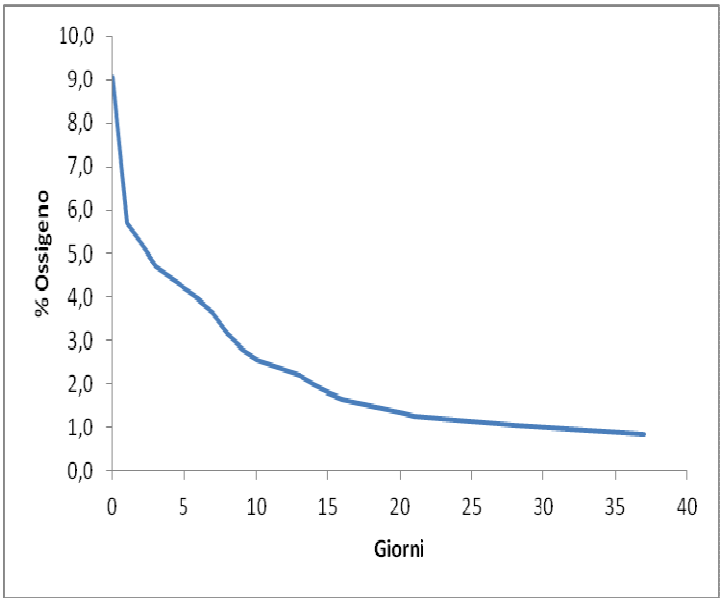


Tabella 3 e Grafico 3. *Evoluzione della percentuale di ossigeno nello spazio di testa delle bottiglie di vino Merlot chiuse con tappo tecnico. Ogni dato è la media della misura su 6 bottiglie diverse.*

Giorni	Media	Dev. St.
0	9,06	1,27
1	5,69	0,74
2	5,23	0,77
3	4,72	0,71
6	3,96	0,72
7	3,64	0,75
8	3,17	0,74
9	2,80	0,67
10	2,57	0,63
13	2,21	0,55
14	1,98	0,53
15	1,81	0,46
16	1,65	0,45
20	1,35	0,42
21	1,26	0,37
28	1,04	0,29
37	0,84	0,22



Con queste misure non invasive si è potuto confermare quanto già noto e cioè che il vino "consuma" ossigeno a velocità più o meno elevate. Infatti, indipendentemente dal vino e dal tipo di chiusura, il consumo dell'ossigeno è stato graduale nel tempo fino a raggiungere un valore

percentuale prossimo allo zero nello spazio di testa. Quindi si conferma che l'ossigeno presente nella fase gassosa (spazio di testa), è in equilibrio con quello disciolto nel liquido, che viene a mano a mano consumato da sostanze del vino in grado di essere ossidate. Sia per il Verduzzo che per il Rosso Igt la percentuale di ossigeno ha raggiunto un valore stabile in circa 50 giorni, mentre il Merlot non ha raggiunto, nei tempi di misurazione (solo 37 giorni), il punto di equilibrio. La cinetica di assorbimento osservata per il Verduzzo sembrerebbe contraddire il fatto che l'assorbimento di ossigeno è generalmente più lento nei vini bianchi rispetto ai vini rossi. Bisogna tenere conto tuttavia che il vino bianco considerato aveva subito un trattamento di criomacerazione che porta ad un contenuto più elevato di polifenoli e quindi, se queste sono le sostanze coinvolte, ad un consumo di ossigeno più veloce rispetto ai vini bianchi non criomacerati. Inoltre, bisogna anche tenere conto del diverso tipo di chiusura (tappo tecnico per i rossi e di sughero per il bianco) potrebbe aver influito sulla "tenuta" all'aria determinando una diversa quantità di ossigeno "importato" dall'esterno.

Alla fine dell'esperimento le bottiglie sono state aperte ed è stata misurata l'assorbanza a 420 nm per il vino bianco, per avere una misura che potesse indicare eventuali fenomeni di ossidazione. Per i rossi, invece, è stata fatta una determinazione spettrofotometrica dell'assorbanza a 520 nm, che dà indicazioni sull'evoluzione del colore rosso, che come è noto, viene influenzata fortemente dalla quantità di ossigeno disciolto.

Considerando le repliche effettuate, per il vino Verduzzo sembrerebbe esistere una correlazione negativa tra la percentuale di ossigeno nello spazio di testa e l'intensità di colore (coefficiente di correlazione -0.456). Questo dato è insolito, in quanto un maggiore contenuto di ossigeno dovrebbe anche causare un maggiore imbrunimento. L'analisi statistica ha però verificato che tale correlazione non è significativa ($p<0.05$).

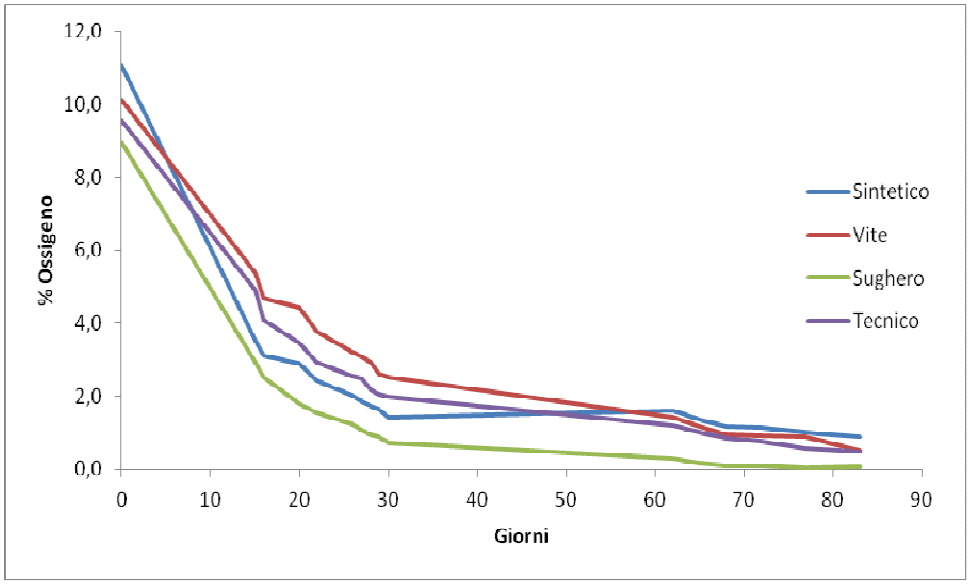
Anche nel caso dei vini rossi la correlazione tra assorbanza a 520 nm e contenuto di ossigeno è risultata negativa (coefficienti di correlazione -0.608 e -0.457 per il Rosso Igt e il Merlot, rispettivamente), ma questo dato è significativo solo per il Rosso Igt ($p<0.05$). Si potrebbe dunque pensare che l'assorbimento di ossigeno osservato nei primi 50 giorni dall'imbottigliamento non abbia influenza sui fenomeni ossidativi a carico dei polifenoli in misura tale da provocare variazioni nel colore dei vini, che, bisogna ricordarlo, sono protetti da anidride solforosa, presente in quantità simili per tutti i campioni esaminati.

L'effetto del tipo di chiusura, che può influenzare anche di molto il passaggio di aria all'interno della bottiglia è quindi stato verificato effettuando misurazioni su un vino rosso (Nero d'Avola), conservato in bottiglie di vetro scuro. Le bottiglie erano state chiuse con 4 tipi di chiusure diverse: tappo tecnico, tappo sintetico, tappo di sughero e tappo a vite. In questo modo si è voluta verificare

l'applicabilità del metodo di misura dell'ossigeno per evidenziare differenze tra i diversi tipi di chiusura. I risultati ottenuti per tempi di misurazione fino a 83 giorni dall'imbottigliamento sono riportati nella Tabella e nel Grafico 4.

Tabella 4 e grafico 4. Evoluzione della percentuale di ossigeno nello spazio di testa di bottiglie di vino Nero d'Avola chiuse con 4 diverse tipologie di tappo. Ogni dato è la media della misura su 6 bottiglie diverse.

	Sintetico		Vite		Sughero		Tecnico	
Giorni	Media	Dev. St.	Media	Dev. St.	Media	Dev. St.	Media	Dev. St.
0	11,07	1,80	10,12	1,34	8,95	1,05	9,56	0,50
15	3,51	0,48	5,38	0,44	2,94	0,44	4,91	0,46
16	3,11	0,41	4,70	0,45	2,51	0,34	4,08	0,69
20	2,88	0,47	4,42	0,36	1,79	0,43	3,46	0,45
22	2,43	0,34	3,78	0,35	1,56	0,37	2,94	0,44
26	2,01	0,26	3,22	0,42	1,23	0,35	2,56	0,34
27	1,85	0,26	3,09	0,41	1,07	0,32	2,50	0,34
28	1,73	0,18	2,93	0,26	0,95	0,26	2,18	0,35
29	1,64	0,17	2,62	0,30	0,89	0,19	2,06	0,38
30	1,41	0,23	2,53	0,45	0,73	0,25	2,00	0,34
62	1,61	0,22	1,43	0,30	0,30	0,08	1,22	0,19
65	1,36	0,20	1,18	0,32	0,16	0,15	1,01	0,11
68	1,18	0,19	0,94	0,23	0,11	0,07	0,86	0,12
72	1,15	0,12	0,93	0,23	0,11	0,06	0,75	0,17
77	1,02	0,09	0,88	0,23	0,05	0,05	0,57	0,08
83	0,89	0,12	0,49	0,15	0,08	0,07	0,46	0,10



Anche in questo caso è stata osservata una diminuzione graduale del contenuto di ossigeno nel

tempo, come osservato precedentemente. Tuttavia appare che l'andamento delle curve ottenute nei diversi casi non sia sovrapponibile ed in particolare, che il tappo di sughero sia quello che determina un consumo più veloce e completo dell'ossigeno presente nello spazio di testa. Bisogna però notare che la misura al tempo 0 (cioè appena dopo l'imbottigliamento) non è uguale in tutti i casi, il che indicherebbe una certa variabilità legata all'operazione di imbottigliamento con i diversi tipi di chiusura. Tuttavia, se consideriamo che il vino è lo stesso in tutti i casi, e quindi la sua capacità di "consumo" di ossigeno è la stessa, la differenza nel contenuto di ossigeno al tempo 0 e al tempo dell'ultima misurazione (ΔO_2), deve essere spiegata sulla base di differenze di permeabilità all'aria delle diverse chiusure. Quindi sembrerebbe che il tappo di sughero abbia una tenuta maggiore (ΔO_2 8,87) di quelli a vite e tecnico (ΔO_2 9,63 e 9,46) e ancora maggiore di quello sintetico (ΔO_2 10,18). Considerando solo la misura effettuata all'ultimo tempo (83 giorni dall'imbottigliamento), si è potuto confermare che, anche indipendentemente dal contenuto di ossigeno presente al momento dell'imbottigliamento, la percentuale di ossigeno nei campioni è significativamente diversa ($p<0.05$) in funzione delle diverse tipologie di chiusura (Grafico 5).

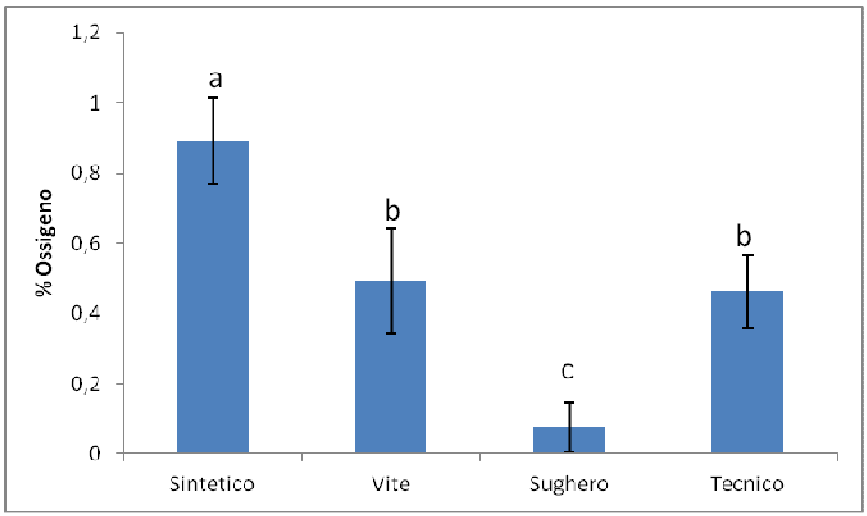


Grafico 5. Percentuale di ossigeno nello spazio di testa di bottiglie di vino Nero d'Avola chiuse con 4 diverse tipologie di tappo a 83 giorni dall'imbottigliamento. Ogni dato è la media della misura su 6 bottiglie diverse.

Nel nostro caso, le bottiglie chiuse con tappo sintetico sembrano essere quelle con il maggiore contenuto residuo di ossigeno nello spazio di testa, mentre quelle chiuse con tappo di sughero sono quelle in cui il livello di ossigeno al termine della sperimentazione è più basso. Il tappo tecnico e quello a vite si sono comportati in maniera simile e intermedia rispetto alle altre due tipologie di chiusura.

Sembrerebbe quindi che il tappo in sughero sia, almeno nel caso considerato, quello che permette il minore ingresso di gas nella bottiglia. Questo dato contraddice in parte quanto verificato nel caso di altre ricerche (Godden et al., 2001 *Australian Journal of Grape and Wine Research* 7, 64), per le quali sembrerebbe che il tappo a vite possa garantire la maggior tenuta nei riguardi dell'aria. Tuttavia è anche stato dimostrata una grande variabilità nelle prestazioni di diversi tipi di chiusure dello stesso tipo (sughero, sintetici, ecc), da mettere in relazione con la qualità del materiale usato. Diversi tipi di tappi di sughero, per esempio, possono far passare quantità di ossigeno molto variabili, in alcuni casi bassissime, ed in altri casi molto elevate.

Il colore dei vini misurato come assorbanza a 520 nm alla fine delle periodo di osservazione, ha confermato che esistono delle piccole differenze, ma in alcuni casi significative, tra i diversi gruppi di campioni (Grafico 6), mettendo in evidenza che lo stesso vino conservato in bottiglie chiuse in modo diverso effettivamente evolve in modo differente. E'chiaro che i tempi di conservazione considerati (circa due mesi e mezzo) sono molto brevi rispetto a quelli che può avere un vino commercializzato (anche di alcuni anni). Quindi le differenze riscontrate dovrebbero aumentare per tempi più lunghi andando ad influire anche in modo molto significativo sulla qualità dei diversi campioni.

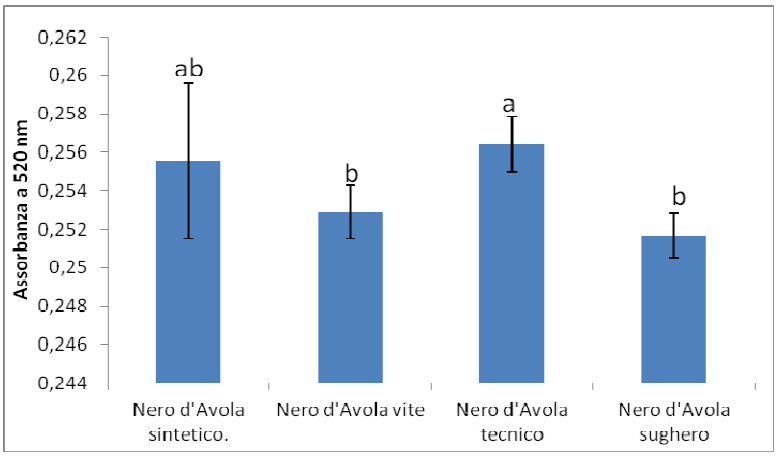


Grafico 6. Assorbanza a 520 nm di vino Nero d'Avola chiuso con 4 diverse tipologie di tappo a 83 giorni dall'imbottigliamento. Ogni dato è la media della misura su 5 bottiglie diverse.

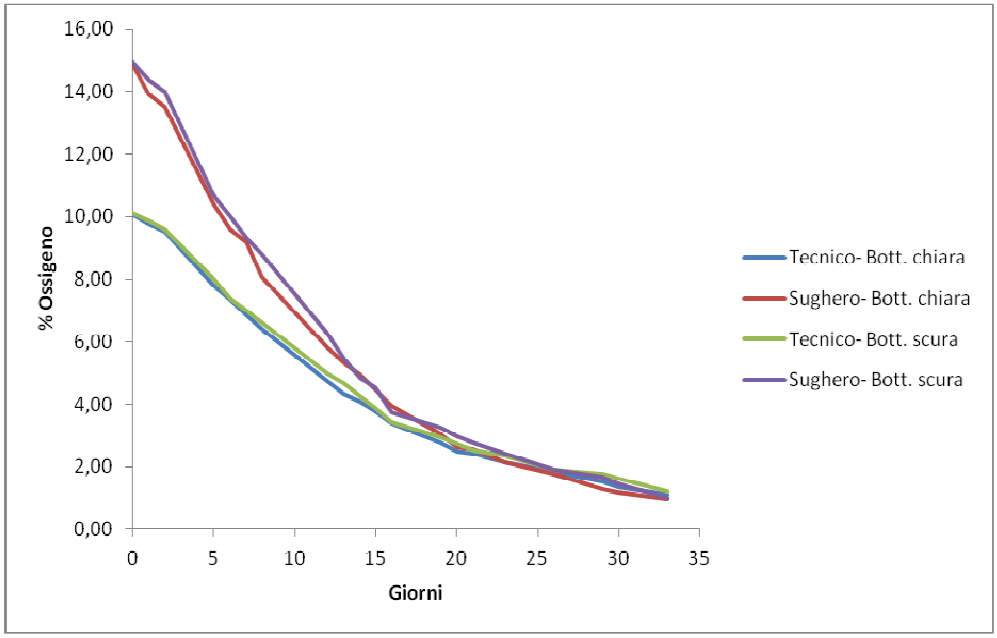
In particolare il tappo a vite e quello di sughero determinano un colore finale del vino leggermente inferiore (ma in maniera significativa, $p<0.05$) rispetto agli altri due tipi di chiusura. In linea generale quindi, sembra che le chiusure che causano un minore ingresso di ossigeno (per esempio, nel nostro caso il tappo di sughero), siano anche quelle che causano una minore evoluzione del colore, il che conferma che una piccola quantità di ossigeno è necessaria per consentire al colore di

svilupparsi appieno. Questo naturalmente vale per i tempi brevi qui considerati, mentre resta da vedere l'effetto dell'ossigeno che può entrare in tempi di conservazione lunghi, dove nei casi di maggiore permeabilità, potrebbe determinare fenomeni ossidativi indesiderati.

Infine, sono state sottoposte a misurazione, per un periodo di circa un mese, bottiglie di vino bianco (Pinot grigio) conservato in bottiglie di vetro chiaro o scuro e tappate in due modi diversi. Questo al fine di determinare l'effetto combinato del colore della bottiglia (chiara o scura) e del tipo di chiusura (tappo tecnico o di sughero) (grafico 7)

Tabella 7 e grafico 7. Evoluzione della percentuale di ossigeno nello spazio di testa di bottiglie di vino Pinot grigio in vetro scuro o chiaro e chiuse con 2 diverse tipologie di tappo Ogni dato è la media della misura su 6 bottiglie diverse.

	Tecnico- Bott. chiara		Sughero- Bott. Chiara		Tecnico- Bott. scura		Sughero- Bott. Scura	
Giorni	Media	Dev. St.	Media	Dev. St.	Media	Dev. St.	Media	Dev. St.
0	10,08	0,85	14,90	0,79	10,11	0,46	14,97	0,50
1	9,77	0,87	13,92	0,75	9,88	0,32	14,38	0,65
2	9,54	0,77	13,52	0,72	9,60	0,36	13,99	0,56
5	7,78	0,67	10,40	0,52	8,00	0,39	10,67	0,61
6	7,36	0,54	9,60	0,49	7,39	0,29	10,02	0,75
7	6,87	0,54	9,20	0,62	6,99	0,15	9,31	0,75
8	6,40	0,45	8,07	0,37	6,62	0,28	8,80	0,65
12	4,76	0,41	5,83	0,29	4,99	0,35	6,26	0,52
13	4,34	0,38	5,32	0,42	4,68	0,27	5,48	0,25
14	4,10	0,37	4,95	0,40	4,27	0,33	4,86	0,37
15	3,76	0,30	4,48	0,35	3,88	0,32	4,54	0,35
16	3,40	0,29	3,94	0,36	3,44	0,22	3,75	0,23
19	2,78	0,28	3,06	0,32	2,94	0,29	3,24	0,35
20	2,48	0,29	2,62	0,28	2,75	0,27	2,97	0,32
21	2,41	0,24	2,55	0,29	2,54	0,18	2,78	0,29
23	2,13	0,26	2,13	0,24	2,36	0,17	2,43	0,26
26	1,84	0,21	1,77	0,32	1,89	0,16	1,90	0,30
29	1,51	0,25	1,28	0,20	1,75	0,23	1,66	0,31
30	1,34	0,15	1,17	0,14	1,61	0,20	1,47	0,20
33	1,12	0,15	0,96	0,16	1,22	0,26	1,01	0,19



Anche in questo caso si è osservata una diminuzione graduale della percentuale di ossigeno nello spazio di testa, che ha raggiunto per tutti i campioni circa gli stessi valori.

Si può osservare che i campioni conservati tappati con chiusure diverse contengono inizialmente una quantità diversa di ossigeno. Questo fenomeno potrebbe essere imputato probabilmente ad una diversa taratura del sistema di riempimento dell'imbottigliatrice subito prima della tappatura. Infatti le due serie di bottiglie (tappo in sughero e tappo tecnico) sono state evidentemente imbottigliate in tempi diversi. I valori tendono comunque a stabilizzarsi nel tempo, raggiungendo valori simili dopo circa due settimane. L'esperimento è stato fermato dopo un mese dall'imbottigliamento, quindi prima del raggiungimento della stabilità. Questo ha impedito di verificare se anche in questo caso il tappo di sughero avesse una maggiore impermeabilità rispetto al tappo tecnico. L'analisi dell'ossigeno all'ultimo giorno (33° giorno dall'imbottigliamento), ha mostrato comunque che le due serie di campioni con il tappo in sughero hanno un contenuto medio di ossigeno leggermente inferiore agli altri, anche se le differenze non sono statisticamente significative, confermando la tendenza mostrata dai dati precedenti. Nessuna differenza è stata riscontrata per bottiglie di vetro di colore diverso, il che conferma che il sistema di misurazione non risente del colore della bottiglia.

Anche per questi campioni alla fine dell'esperimento sono state effettuate le analisi dell'assorbanza a 420nm, riscontrando alcune differenze, piccole ma significative.

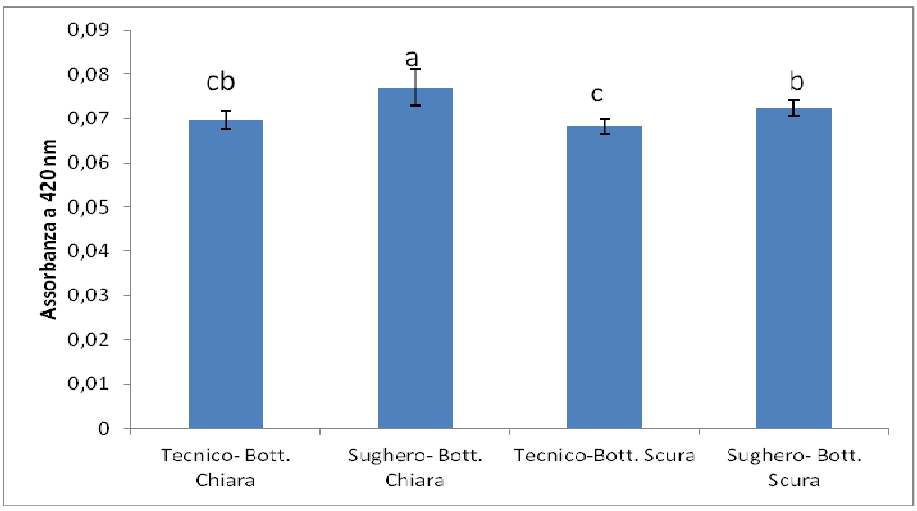


Grafico 8. Assorbanza a 420 nm di vino Pinot grigio chiuso con 2 diverse tipologie di tappo e conservato in bottiglie di vetro scuro o chiaro a 33 giorni dall'imbottigliamento. Ogni dato è la media della misura su 5 bottiglie diverse.

Indipendentemente dal tipo di bottiglia, il vino delle bottiglie con il tappo di sughero è quello che ha dimostrato il maggior imbrunimento. Questo indicherebbe una maggiore ossidazione che però è molto probabilmente dovuta non tanto alla permeabilità del tappo di sughero, che come visto nel nostro caso sembra essere la più bassa, ma alla maggiore quantità di ossigeno presente all'imbottigliamento (grafico 7), quantità che viene comunque consumata dopo 25-30 giorni provocando evidentemente una maggiore ossidazione misurata come imbrunimento.
E' stato possibile anche vedere, in questo caso, l'effetto dovuto alla tipologia di bottiglia. Si è notato che l'effetto sul colore, almeno nel breve periodo come nell'esperimento condotto in questo caso, è influenzato più dal tipo di tappo che dal colore del vetro della bottiglia. Con il tappo di sughero si è potuto osservare, però, un significativo ($p<0.05$) incremento di imbrunimento nelle bottiglie chiare rispetto a quelle scure.

CONCLUSIONI

Dai risultati ottenuti si può quindi concludere che il metodo strumentale sviluppato durante il progetto può utilmente essere impiegato per la misura del contenuto in ossigeno nello spazio di testa di bottiglie di vino in modo preciso, affidabile e non invasivo, rappresentando un notevole passo avanti non solo dal punto di vista tecnico, ma anche per l'opportunità reale che esso offre in termini di controllo del prodotto durante le fase di imbottigliamento e di conservazione del vino. Si può presumere che, una volta risolti i problemi riguardanti il costo, ancora elevato, della strumentazione messa a punto in questo progetto, il sistema qui proposto possa entrare a far parte dei controlli di routine nelle cantine.