

# INYECCIÓN DE AIRE EN LATAS

## Un estándar de referencia para métodos analíticos del TPO

*La búsqueda de un estándar de referencia de TPO (Total Package Oxygen u Oxígeno Total en el Envase) aún está abierta, a pesar del uso de varios métodos y dispositivos para medir este importante parámetro en la industria cervecera. Actualmente, TPO es uno de los únicos parámetros en el análisis de cerveza que no tiene un estándar. En este artículo se describe un método nuevo para crear un estándar TPO y se compara este con otros métodos. Este nuevo estándar se utiliza para evaluar las mediciones de TPO mediante métodos existentes.*

El oxígeno se considera un parámetro crítico básico que afecta el perfil de frescura de la cerveza envasada. En 1984, K. Uhlig y C. Vilachà, trabajando en la Industria Cervecera Polar [1], publicaron un artículo que significó un gran adelanto por varias razones:

- Reemplazo de la medición de aire por la medición de oxígeno
- Reemplazo del uso de reactivos por el análisis con instrumentación electrónica
- Mejora del límite de detección inferior a unos pocos ppb, cuando previamente solo podía determinarse aprox. 1 ml de aire (correspondiente a 270 ppb de TPO).

25 años más tarde, se logra otro paso fundamental con la fabricación de instrumentación dedicada específicamente al análisis de TPO.

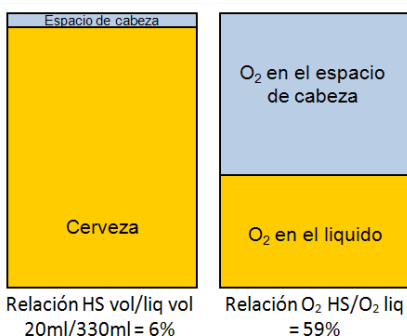


Fig. 1 Lata en equilibrio, vol HS de 20ml

Sin embargo, actualmente existe todavía una carencia crítica: un estándar de referencia para el TPO. Se compararon los pocos métodos disponibles y los resultados obtenidos se describen en este artículo.

Entre todos los métodos, se comprobó que la inyección de aire provee los mejores resultados. La fiabilidad de este método se demostró en combinación con el nuevo analizador de oxígeno y CO<sub>2</sub>; el Orbisphere 6110.

### ¿Qué es el TPO?

La figura 1 muestra una lata de 330 ml a 8°C después de equilibrarla (por agitación), la figura 2 muestra una lata directamente después del envasado. Las áreas amarillas y azules muestran la cerveza y el volumen del espacio vacío (HS, por su nombre en inglés, headspace) con el contenido correspondiente de O<sub>2</sub> a la derecha.

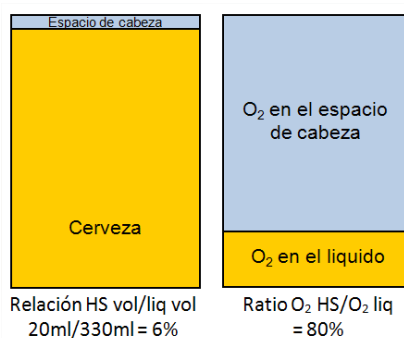


Fig. 2 Lata después del envasado, no equilibrada

El cálculo para la figura 1 se realizó con el factor Z. La proporción de cada superficie coincide con la relación entre volúmenes y contenidos de oxígeno en cada fase.

La paradoja del TPO reside en que la ubicación principal del oxígeno en el envase se encuentra en el volumen menor: el HS. En principio, las propiedades físicas del oxígeno explican este fenómeno. Siendo 30 veces menos soluble que el CO<sub>2</sub>, el oxígeno permanece en la fase gaseosa con una concentración de acuerdo con la temperatura del líquido y a la relación entre volúmenes. Esto se muestra en la figura 1.

La figura 2 muestra un ejemplo donde la relación de O<sub>2</sub> en el HS respecto al TPO es mucho más alta que después de lograr un equilibrio perfecto (fig. 1). Cualquier variación en el volumen del HS tiene un impacto muy importante en el TPO: un aumento de 10 ml en el HS provoca un aumento del 9% del TPO.

### Requisitos para un estándar TPO

La identificación de la aptitud para el uso de un nuevo estándar TPO se evaluó teniendo en cuenta los siguientes criterios [2]:

- Precisión
- Precisión intermedia
- Repetibilidad
- Reproducibilidad

- Rango
- Robustez metrológica
- Facilidad de implementación; puede transportarse a cualquier parte, laboratorio o área industrial, poco o nada dependiente del operario.

## Principio de los estándares TPO evaluados

El objetivo principal para un estándar TPO es tener una cantidad conocida de oxígeno en un envase, con una incertidumbre conocida. Muchos métodos potenciales se basan en la introducción de una cantidad de aire desconocida o conocida dentro del HS del envase. En los análisis químicos, este método también se llama SAM (Standard Addition Method) [3].

Antes de la inyección de aire, se analiza un lote de blancos (cervezas viejas con poco oxígeno). El valor final esperado es la suma de la concentración de TPO en el blanco más el aire adicionado. También es mejor utilizar la misma cerveza que la empleada para construir el estándar, pues la misma toma en cuenta cualquier efecto de la matriz de la cerveza.

## Las soluciones actuales para estándares TPO

### Espacio vacío barrido con aire

Las botellas se preparan en una cabina con atmósfera de oxígeno controlada. El HS se barre durante un tiempo definido con una mezcla conocida de oxígeno. Este método tiene buena precisión y repetibilidad, pero requiere dispositivos especiales y tiempos de barrido muy largos. Ambos criterios tienen un impacto negativo a la hora de implementar esta solución.

### Latas de referencia con agua

Se extrae un lote de latas con agua carbonatada de una llenadora con pick up de aire (entrada de aire en el HS) conocido. Se mide una parte del lote, y se determina la distribución estadística de TPO.

Este método es fácil de implementar, pero tiene limitaciones al tratar de proveer estándares con diferentes concentraciones con el objetivo de obtener una validación de linealidad. La precisión no puede definirse. Inicialmente, este método fue evaluado por la ASBC en 2004, y luego descartado [4].

### Inyección de aire en la espuma de botellas abiertas

Se destapa cuidadosamente una botella de cerveza pasteurizada. La pared de la botella se golpea suavemente con una varilla, para provocar la creación de espuma en la parte superior de la botella. Se introduce una jeringa de aire dentro de la espuma, y se inyecta su contenido. Inmediatamente después se coloca una tapa corona en la botella y se cierra.

Este método también fue evaluado por un subcomité [5] de ASBC, pero también fue rechazado en 2007, después de un ensayo interlaboratorio. La repetibilidad y las diferencias entre laboratorios quedaron fuera de los límites aceptables.

### Inyección de aire en el HS

Es una variante del método ASBC inicial descrito previamente. En este método, la tapa corona se cambia por otra diferente que incluye un diafragma [6]. Este método generó una repetibilidad y reproducibilidad con una relación desviación estándar/promedio del 28%. Debe prepararse especialmente una tapa corona específica.

Con el método tradicional de análisis de TPO se identificó una precisión del 80%, lo que significa un error del 20%.

### Inyección de aire en el líquido

Se mencionó una variante de este método [5] en la conclusión del informe final 2007, en el subcomité de ASBC.



Fig. 3 Inyección de aire en el líquido

Una cantidad de aire conocida se inyecta dentro de una lata de aluminio, en la cual se colocó previamente un septum de goma en el punto de inyección. El septum se mantiene en su ubicación mediante una abrazadera de gran diámetro.

Después de 4 años de uso en Hach Lange Geneva (previamente Orbisphere), este método presenta muy buenos resultados, tanto en las tareas de control de calidad, como en las actividades de campo con la validación de mediciones de TPO. La preparación de la muestra es bastante fácil, y el método permite la inyección de casi cualquier cantidad de aire en la lata. Por lo tanto, provee una solución para los criterios de precisión, linealidad y repetibilidad. Se utilizan latas estándar de cerveza vieja, y el tiempo requerido para la preparación y la facilidad de implementación son aceptables.

Criterio	Lata de referencia con agua	Barrido de gas en el HS	Inyección de aire en espuma	Inyección de aire en el HS	Inyección de aire en lata
Veracidad de medida	●	●	●	●	●
Repetibilidad	●	●	●	●	●
Precisión intermedia	●	●	●	●	●
Reproducibilidad	●	●	●	●	●
Linealidad	○	●	●	●	●
Rango	○	●	●	●	●
Robustez metrológica	●	●	●	●	●
Facilidad de implementación	●	○	●	●	●

Tabla 1: Comparación entre estándares de TPO

## Evaluación de métodos

La tabla 1 muestra una evaluación de todos los métodos existentes, considerando diferentes criterios. El mejor método debe demostrar la mejor combinación de dos grupos principales de criterios: requerimientos metroológicos y facilidad de implementación. A pesar de que varios métodos pueden presentar buenos resultados en uno o en otro grupo, solo el método de inyección de aire cumple con ambos criterios.

### Método de inyección de aire utilizado con el analizador de TPO Orbisphere 6110

El Orbisphere 6110 mide O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y el volumen de HS con el contenido de gases en el HS y en el líquido. El sistema utiliza una técnica de muestreo de gas patentada.

La repetibilidad con muestras medidas después de la inyección de aire (170 ppb), con mismo instrumento y mismo operario fue de  $\pm 20$  ppb, bajando hasta  $\pm 2$  ppb cuando el operario es experimentado.

La relación O<sub>2</sub> medido/O<sub>2</sub> inyectado, idealmente debería ser de un 100%, midiendo todo el oxígeno inyectado en la lata.

El proceso de medición del 6110 es completamente automático, y la ausencia de contacto entre los sensores y el líquido minimiza los requerimientos de mantenimiento y asegura un funcionamiento consistente del equipo y una gran fiabilidad de los resultados. La figura 5 muestra la relación O<sub>2</sub> medido/O<sub>2</sub> inyectado procedente de aprox. 70 analizadores distintos, con analistas también distintos pero dentro de un mismo laboratorio.

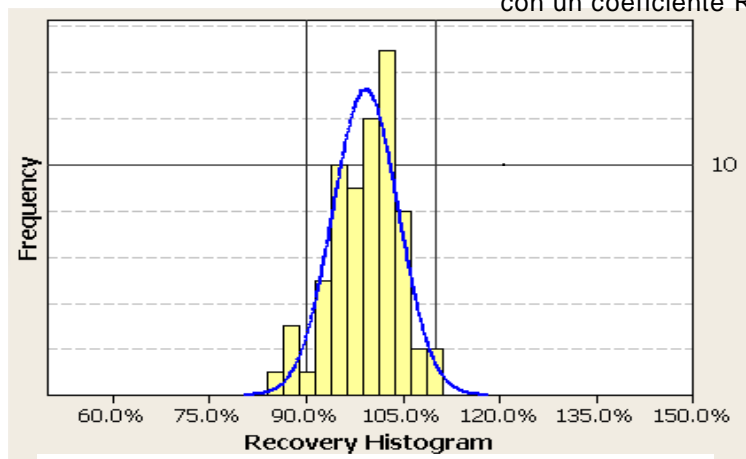


Fig. 5 Histograma de la relación O<sub>2</sub> medido/O<sub>2</sub> inyectado

Esto se conoce también como precisión intermedia.

Se observa que el factor O<sub>2</sub> medido/O<sub>2</sub> inyectado hallado es excelente, de 99,2% (159 ppb) y con una desviación estándar de solo  $\pm 5\%$ .



Fig. 4 El analizador Orbisphere 6110

Para un intervalo de confianza del 95%, las mediciones se ubican entre 144 ppb y 176 ppb. Son buenos resultados, teniendo en cuenta que la incertidumbre final es la combinación de las incertidumbres del analizador y de la preparación de la muestra, siendo esta última la fuente principal de errores aleatorios generados por los operarios durante la preparación del estándar.

La validación de linealidad generalmente se realiza durante la puesta en marcha. El ejemplo mostrado en la figura 6 demuestra la excelente linealidad del método de inyección de aire y del analizador, con un coeficiente R<sup>2</sup> a 0,99.

## Beneficios del nuevo método de referencia para TPO

De momento no hay disponibilidad de datos procedentes de ensayos colaborativos, pero cientos de inyecciones realizadas en plantas distintas han demostrado que este método provee un mayor grado de confianza con cualquier analizador o método de medición del TPO. Otros beneficios de la nueva referencia para TPO incluyen:

- Identificación de la incertidumbre de los equipos utilizados para el control de calidad después del envasado.
- Evaluación del funcionamiento del laboratorio a través de estudios colaborativos y comparativos.
- La mejor precisión permite una mejor gestión de la producción fuera de especificaciones. Es posible gestionar el cumplimiento de las especificaciones del producto empleando una zona de rechazo, en vez de un solo límite fijo, estrategia ampliamente utilizada actualmente.

## El análisis estándar de TPO y sus limitaciones

El tener una referencia robusta para TPO motiva a la hora de evaluar el método actual de análisis de TPO con agitación y medición en líquido. En varias plantas se identificaron diferencias entre el método estándar de análisis de TPO y el analizador 6110. No obstante, la referencia con inyección de aire confirmó que el 6110 suministraba los resultados correctos.

En algunos casos, el factor O<sub>2</sub> medido/O<sub>2</sub> inyectado era bueno, por encima del 90%, pero en otros casos fue inferior al 80%. Para explicar esta diferencia hay que recordar que el método estándar se basa en la hipótesis de que el equilibrio completo de los gases en el envase se alcanza después de 5 minutos. Esto no se verifica siempre. La brecha entre

la teoría y la práctica proviene de factores, tales como:

- El sistema de equilibrio. En lugar de utilizar los dispositivos recomendados que giran el envase se utilizan agitadores horizontales, menos eficientes

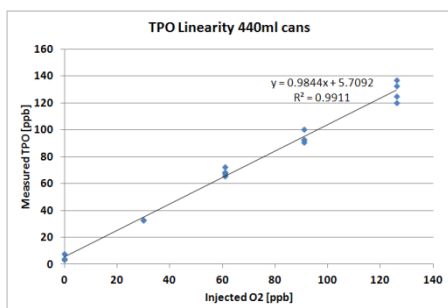


Fig. 4 Validación de linealidad en la práctica con inyección de aire en latas

- El tiempo de equilibrio, no siendo el mismo para botellas y para latas, a veces es insuficiente
- La espuma dentro del envase reduce la generación de turbulencia
- Los efectos de la matriz, con o sin atrapadores de oxígeno, afectando al oxígeno disuelto en el transcurso del tiempo.

## Conclusión final

La inyección de aire en latas como referencia de TPO presenta un progreso significativo en comparación con otros métodos. Su fuerza proviene del rendimiento superior en lo relativo a los requerimientos metrológicos así como a la facilidad de uso e implementación.

Otro beneficio del método se debe al hecho de que reproduce el mismo proceso de contaminación de aire durante el envasado, con la contribución principal del oxígeno dentro del espacio de cabeza. Por lo tanto, la validación de un método TPO se realiza con un envase en condiciones casi idénticas a las encontradas después del proceso de llenado. El método de inyección de aire también puso de manifiesto las limitaciones del análisis estándar de TPO, en el cual la medición del oxígeno disuelto -después de un equilibrio supuestamente perfecto- conduce a subestimar

el TPO en muchos casos. La razón para esto es la dificultad de lograr la transferencia correcta de oxígeno desde el espacio de cabeza al líquido, pues el equilibrio casi nunca se alcanza completamente. Debido a que del 60 al 90% del TPO está ubicado en el HS, medir del 30 al 10% restante en la fase líquida expone a una incertidumbre más alta al aplicar el factor Z.

La identificación del funcionamiento de la nueva referencia con inyección de aire ha sido posible con el Orbisphere 6110 que no requiere el equilibrio previo del envase.

Finalmente, el uso de una referencia de TPO estándar y robusta también ayudará a la transición de los dispositivos existentes, que emplean el método estándar, a los nuevos analizadores de TPO.

## Referencias

1. Vilachá C., and Uhlig K. The measurement of low levels of oxygen in bottled beer. *Brauwelt Int.* 1985, Vol. 1, pp. 70-73.
2. Eurachem. *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, 1st edition. 1998.
3. Morrison, George H. *General aspects of trace analytical methods I. Methods of calibration in trace analysis.* s.l. : IUPAC Chemistry, 1975. pp. 395 - 402. Vol. 41.
4. ASBC Subcommittee. *Method for Reference Standard for Total Package Oxygen.* s.l. : ASBC, 2004.
5. ASBC subcommittee. *METHOD FOR REFERENCE STANDARD FOR TOTAL PACKAGE OXYGEN.* s.l. : ASBC, 2007.
6. Carolina Wehrmann, Carlos De Amorín, Carsten Zufall. *A Novel*

Method for Interlaboratory Analysis of TPO. 2011, Vol. 69(4), pp. 267-272.

## Georges Schmidt

Ingeniero mecánico formado en el Instituto Federal Suizo de Tecnología, de Lausanne.

Product Application Manager en Hach Lange Sarl Ginebra. Está en la empresa desde 1989 (previamente Orbisphere), donde ocupó distintas posiciones en ventas internacionales y gestión de productos.