



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 366 899**

51 Int. Cl.:
C12G 1/02 (2006.01)
C12G 3/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08872002 .4**
96 Fecha de presentación : **22.12.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2247706**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.11.2010**

54 Título: **Método para producción de un vino con menor contenido de alcohol.**

30 Prioridad: **29.01.2008 EP 08101051**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.10.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.10.2011

73 Titular/es: **Chr. Hansen A/S**
Bøge Allé 10-12
2970 Hørsholm, DK

72 Inventor/es: **Van den Brink, Johannes Maarten y**
Bjerre, Kristine

74 Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para la producción de un vino con menor contenido de alcohol

Campo de la invención

- 5 [0001] La presente invención se refiere a un método para la producción de un vino con menor contenido de alcohol que implica el tratamiento de zumo de uva no fermentada con glucosa oxidasa y glucosa isomerasa.

Antecedentes de la técnica

[0002] Debido al calentamiento global a nivel mundial, las uvas contienen más azúcar. Este azúcar se convierte en alcohol en la fermentación alcohólica, dando como resultado vinos con mayores niveles de alcohol.

- 10 [0003] Paralelo a esta situación, uno de los principales problemas en la industria del vino en la actualidad son los altos niveles de etanol. Los niveles de etanol a 15-16 % (V/V) destruyen la calidad sensorial de un vino y, en ocasiones, ponen el vino en una clasificación tributaria más alta que la deseada. Los niveles elevados de etanol vistos en el transcurso de las últimas décadas son una consecuencia del aumento de los niveles de azúcar en las uvas cosechadas. Hoy en día, los vinos con un contenido de etanol superior al 16 % (V/V) ya no son una rareza, y se
15 prevé que los niveles de azúcar aumenten aún más con el calentamiento global.

[0004] Las áreas de viñedos importantes que actualmente se consideran negativamente afectadas por el calentamiento global son áreas importantes tales como Rioja (España), Chianti (Italia), Hunter Valley (Australia) y el sur de California.

- 20 [0005] Los métodos actuales para la reducción de etanol como ósmosis inversa, cono rotatorio o dilución no son satisfactorios. Estos métodos pueden tener efectos adversos en la calidad sensorial del vino. Además, el precio de hasta 1 USD/galón para ósmosis inversa de vino es una limitación considerable para un uso más amplio de este método.

- 25 [0006] US4675191 (Novo Industri, Dinamarca - publicada en 1987) describe un método para reducir el contenido de alcohol en el vino que implica el uso de la glucosa oxidasa enzimática. Con respecto al método descrito, la columna 2, líneas 25-29 dice:

"El método de esta invención comprende el tratamiento de zumo de uva no fermentada con glucosa oxidasa en presencia de oxígeno, convirtiendo así la glucosa del zumo de uva en ácido glucónico y, luego, la fermentación de la uva así tratada."

- 30 [0007] Los principales elementos técnicos pertinentes de este método de la técnica anterior están esquemáticamente ilustrados en la figura 1.

Resumen de la invención

- 35 [0008] El problema a resolver por la presente invención es el de proporcionar un nuevo método para la reducción del contenido de alcohol del vino, caracterizado por el hecho de que el método debe proporcionar significativamente menos cantidad de alcohol en el vino. Además, el método reduce significativamente el riesgo de paradas indeseadas de fermentaciones alcohólicas.

[0009] La solución se basa en que los presentes inventores han identificado que un método a base de glucosa oxidasa de la técnica puede mejorarse significativamente incluyendo también el uso de glucosa isomerasa.

[0010] En la figura 1 se ilustra una comparación esquemática del método de US4675191 y el método de la invención.

- 40 [0011] En un ejemplo práctico incluido en este documento, puede verse que un proceso que sólo usa glucosa oxidasa dio una reducción total de azúcar de alrededor del 12 % y la adición extra de glucosa aumentó este número significativamente a una reducción de azúcar de alrededor del 19 %. Menos azúcar en el zumo de uva implica menos contenido de alcohol en el vino.

- 45 [0012] Además, los inventores descubrieron que la adición extra de glucosa isomerasa ayudó a mantener la proporción de glucosa/fructosa en el zumo de uva en 1:1aproximadamente, lo cual reduce significativamente el riesgo de paradas indeseadas de fermentaciones alcohólicas. Para obtener más detalles, véase el ejemplo práctico incluido en este documento.

[0013] El experto en la materia sabe que, si la proporción de glucosa/fructosa en el zumo de uva es significativamente diferente de 1:1, es posible obtener paradas de fermentaciones alcohólicas; es decir, la levadura no fermenta todo el azúcar y, por lo tanto, se obtiene un vino demasiado dulce.

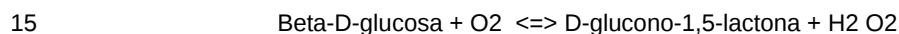
[0014] Como el experto en la materia sabe, una aplicación importante comercial pertinente de glucosa isomerasa es convertir glucosa en fructosa por ejemplo para hacer jarabe rico en fructosa (la fructosa es más dulce que la glucosa).

5 [0015] En esta línea, los presentes inventores se vieron realmente sorprendidos de que la adición de glucosa isomerasa diera tal resultado positivo (significativamente menos cantidad de azúcar => menos alcohol en el vino). Una razón para ello fue que la glucosa isomerasa puede prima facie verse como una enzima que puede "eliminar/convertir" el exceso de glucosa y la glucosa-oxidasa, por lo tanto, tendría menos sustrato disponible (la glucosa oxidasa no actúa sobre la fructosa).

10 [0016] No obstante, como se muestra en los ejemplos prácticos incluidos, la adición de glucosa isomerasa dio resultados muy positivos.

[0017] Sin limitarse a la teoría, se cree que la siguiente podría ser una explicación teórica para la razón por la cual la adición de glucosa isomerasa da resultados muy positivos.

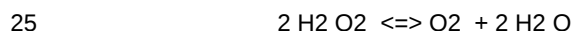
[0018] La glucosa-oxidasa (EC 1.1.3.4) cataliza la siguiente reacción en el zumo de uva:



En el zumo de uva el "D-glucono-1,5-lactona" generado es convertido espontáneamente en ácido glucónico. Por consiguiente, se elimina el D-glucono-1,5-lactona y el equilibrio, por lo tanto, va hacia la derecha => se elimina la glucosa del zumo de uva.

20 [0019] Si la preparación enzimática también tiene actividad de catalasa, también se elimina el H₂O₂ creado => el equilibrio, por lo tanto, se mueve aún más a la derecha => se elimina más glucosa. La participación de la actividad de catalasa es una forma de realización preferida en el presente documento – véase la discusión más abajo.

[0020] La catalasa (EC 1.11.1.6) cataliza la reacción:

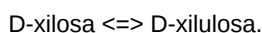


30 [0021] En relación con el método según se describe en el presente, es glucosa isomerasa EC 5.3.1.5 (nombre oficial: xilosa isomerasa). El nombre oficial para esta clase de EC 5.3.1.5 es xilosa isomerasa. No obstante, como sabe el experto en la materia, como nombre alternativo, también puede denominarse glucosa isomerasa. Glucosa isomerasa es, por ejemplo, el nombre usado en productos comerciales pertinentes de esta clase de enzima, tal como el producto comercial usado en los ejemplos prácticos incluidos en este documento.

[0022] La reacción pertinente y bien conocida incluida en el presente catalizada por glucosa isomerasa en el zumo de uva es la siguiente:



[0023] Como sabe el experto en la materia, esta clase de enzima también puede catalizar la siguiente reacción:



40

[0024] Esta reacción relacionada de la xilosa es menos pertinente en el presente documento.

45 [0025] Una teoría es que la glucosa eliminada por la glucosa oxidasa luego crea una situación en el zumo de uva, en la cual la proporción de glucosa/fructosa se vuelve inferior a 1:1 (se obtiene "demasiada" fructosa – "demasiado poca" glucosa). El equilibrio de la glucosa isomerasa consiguientemente es "forzado" hacia la izquierda => la fructosa se convierte en glucosa para "recuperar" la proporción de glucosa/fructosa de 1:1 => la glucosa oxidasa

obtiene glucosa "recientemente" creada sobre la cual actuar y así se elimina más azúcar en general (tanto glucosa como fructosa) del zumo de uva.

[0026] Como se ha mencionado anteriormente, el mantenimiento de la proporción de glucosa/fructosa de 1:1 también tiene la ventaja de reducir significativamente el riesgo de paradas de fermentaciones alcohólicas.

- 5 [0027] Antes de la fermentación alcohólica de levadura, el O₂ está presente en el zumo de uva no fermentado. Como el experto en la materia sabe, la fermentación de levadura normal generalmente consiste en dos partes:

Parte 1

Crecimiento aeróbico (el oxígeno está presente)

- 10 Este es el proceso de crecimiento inicial rápido en el cual la levadura duplica su número de células aproximadamente cada 4 horas. (Normalmente 24-72 horas).

Parte 2

Fermentación anaeróbica (sin oxígeno presente)

- 15 La actividad más lenta y la levadura fermentan el azúcar (tanto glucosa como fructosa), convirtiéndola en alcohol (azúcar => 2 alcohol etílico + 2 CO₂) en lugar de aumentar el número de células de levadura. (Este proceso puede tardar de días a semanas según la levadura y la receta).

[0028] Por consiguiente, durante la fermentación con levadura, el O₂ desaparecerá a corto o largo plazo. La glucosa oxidasa necesita O₂ para la actividad. No obstante, la glucosa isomerasa es activa con o sin la presencia de O₂. Por consiguiente, la glucosa isomerasa también puede ayudar a mantener la proporción de glucosa/fructosa de 1:1 durante la fermentación alcohólica con levadura real.

- 20 [0029] Por consiguiente, un primer aspecto de la invención se refiere a un método para la producción de un vino con menor contenido de alcohol, que comprende los siguientes pasos:

1. (1): tratamiento del zumo de uva no fermentado con una cantidad eficaz de las siguientes dos enzimas:

1. (a) glucosa oxidasa en presencia de oxígeno por un periodo de tiempo adecuado para convertir al menos una parte de la glucosa en el zumo de uva en ácido glucónico; y

- 25 2. (b) glucosa isomerasa por un periodo de tiempo adecuado para convertir al menos una parte de la fructosa en el zumo de uva en glucosa;

y luego,

3. (2): el zumo de uva así tratado con cantidades reducidas de glucosa y fructosa se fermenta para producir el vino con

- 30 menor contenido de alcohol.

Definiciones

[0030] Todas las definiciones de los términos incluidos en el presente documento están en conformidad con lo que entendería el experto en la materia en relación con el contexto técnico pertinente.

- 35 [0031] El término "menor contenido de alcohol" en relación con un vino producido según el método del primer aspecto se refiere aquí a un menor contenido de alcohol en el vino en comparación con un vino producido bajo las mismas condiciones pero sin el tratamiento con las dos enzimas del paso (1) del primer aspecto. De hecho, puede considerarse que este término se relaciona directamente con el uso de una cantidad eficaz de las dos enzimas.

- 40 [0032] Si se utiliza una cantidad eficaz de glucosa oxidasa, se eliminará al menos una parte de la del zumo de uva y, por lo tanto, se obtendrá menos alcohol en el vino. Lo mismo ocurre con una cantidad eficaz de glucosa isomerasa, que convierte al menos una parte de la fructosa en el zumo de uva en glucosa => esta glucosa creada luego es eliminada por la glucosa oxidasa => por lo tanto, habrá menos alcohol en el vino.

[0033] A continuación se describen las formas de realización de la presente invención, sólo a modo de ejemplos.

Dibujos

[0034] Figura 1: Una ilustración/comparación esquemática del método de US4675191 y el método de la invención.

Descripción detallada de la invención

Disminución/reducción de cantidades alcohólicas:

[0035] En esencia, el método según se describe en el presente se puede utilizar para hacer un vino con prácticamente cualquier contenido inferior de alcohol deseado.

- 5 [0036] Por ejemplo, puede ser un denominado "vino ligero" con un contenido de alcohol de alrededor de 6-7 %.

[0037] Como se ha mencionado anteriormente, debido al calentamiento global, las uvas en todas partes del mundo contienen más azúcar, lo cual produce vinos con niveles de alcohol elevados. Puede que esto no se desee por cuestiones diferentes como el mal sabor o diferente clasificación tributaria.

- 10 [0038] Por consiguiente, en una forma de realización preferida, el vino con menor contenido de alcohol, producido como se describe en el presente, en realidad tendrá un contenido de alcohol que se considera normal para un vino tinto/blanco en la actualidad - por ejemplo 12-14 %.

[0039] En otras palabras, el mismo vino tendría un porcentaje alcohólico demasiado alto (p. ej. 15-17%) si hubiese sido hecho sin el tratamiento enzimático según se describe en el presente.

- 15 [0040] El vino puede ser cualquier tipo de vino pertinente, tal como vino blanco, vino tinto, vino no espumoso o vino espumoso.

Ácido glucónico:

[0041] El tratamiento de zumo de uva no fermentado con glucosa oxidasa genera ácido glucónico, que no es fermentable por levadura y, por lo tanto, aparece el ácido glucónico en el vino. Como el experto en la materia sabe, el ácido glucónico puede dar propiedades organolépticas insatisfactorias al vino.

- 20 [0042] Por consiguiente, una forma de realización el método del primer aspecto comprende un paso opcional (3) eliminación de al menos una parte del ácido glucónico para obtener un vino con propiedades organolépticas satisfactorias.

- 25 [0043] En una forma de realización, el ácido glucónico se elimina mediante neutralización por adición de una sustancia que forma una sal de ácido glucónico difícilmente soluble, preferiblemente carbonato cálcico. El carbonato de calcio es poco costoso y ya se utiliza como un agente de desacidificación química para vinos, y las sales precipitadas de ácido glucónico, principalmente el gluconato de calcio, pueden eliminarse fácilmente por filtración. Como el vino debe ser filtrado de todos modos, esta neutralización no introduce ningún paso de filtración adicional en el proceso de elaboración del vino.

- 30 [0044] Como el experto en la materia sabe, los vinos con alto contenido de alcohol frecuentemente carecen de acidez. Esto significa que para este tipo de vinos en realidad ser preferible no eliminar el ácido glucónico.

Glucosa oxidasa y glucosa isomerasa

[0045] La glucosa oxidasa y glucosa isomerasa a utilizar en un método como se describe en este caso se puede obtener a partir de numerosas fuentes diferentes adecuadas tal como productos de enzima pertinentes disponibles comercialmente.

- 35 [0046] Como el experto en la materia sabe, hay numerosos productos de enzima de oxidasa/isomerasa de glucosa diferentes disponibles comercialmente en el mercado con enzimas que actúan en las condiciones normales de elaboración de vinos (p. ej. valores de pH pertinentes, temperatura, etc.).

[0047] En los ejemplos prácticos a continuación, se utilizaron los siguientes productos de enzima disponibles comercialmente:

- 40 glucosa-oxidasa: Hyderase® (de Amano)

glucosa isomerasa: producto de Sigma (# G4166-50g). Número de fabricación – véase un ejemplo práctico aquí.

[0048] Una ventaja del producto Hyderase® es que también comprende actividad de catalasa.

Actividad de catalasa

- 45 [0049] Como se ha mencionado anteriormente, el uso de una preparación enzimática con actividad de catalasa en el método como se describe en el presente también puede producir la eliminación del H₂ O₂ creado por la glucosa-oxidasa.

[0050] El peróxido de hidrógeno (H₂ O₂) puede producir un color de vino indeseado y puede, por lo tanto, no ser un componente deseable en el vino.

[0051] Además, como se ha mencionado anteriormente, al eliminar el H_2O_2 , se puede hacer que el equilibrio de glucosa-oxidasa se mueva aún más a la izquierda =>se elimina más glucosa.

5 [0052] Por consiguiente, en una forma de realización preferida del paso (1) del primer aspecto, el zumo de uva también es tratado con una cantidad eficaz de una preparación con actividad de catalasa por un periodo de tiempo adecuado para convertir al menos una parte del H_2O_2 en el zumo de uva en $O_2 + H_2O$.

Parámetros de producción preferidos - paso 1 del primer aspecto

10 [0053] Como el experto en la materia sabe, los cambios en los procedimientos de elaboración de vino alteran las propiedades organolépticas del producto de vino. Por lo tanto, se prefiere la adaptación de los procedimientos habituales de elaboración de vino y la práctica del método como se describe en el presente. En la medida de lo posible, no se hará nada mediante la práctica de esta invención para alterar el sabor y el aroma del vino.

[0054] Los procesos de enzima catalizada normalmente son realizados dentro del pH óptimo de la enzima. La práctica preferida de esta invención es tratar el zumo de uva no fermentado sin ajustar su pH. Afortunadamente, los productos adecuados pertinentes disponibles comercialmente de las enzimas como se utilizan en este caso muestran actividad y estabilidad adecuadas en la gama de pH 3-4 habitual para el zumo de uva no fermentado.

15 [0055] Debe entenderse que cualquier enzima como se describe en este caso se puede usar en el método según la invención, con la condición de que la misma muestre una actividad razonable pertinente y estabilidad al pH y temperatura predominante durante el método para la producción de vino. Así, pueden utilizarse ambas preparaciones enzimáticas inmovilizadas y solubles, incluso si habitualmente se prefieren preparaciones enzimáticas solubles.

20 [0056] Para el trabajador experto en la técnica resulta sencillo establecer cuánta enzima de una especie dada se necesita para un zumo dado y una conversión de azúcar deseada.

[0057] Por ejemplo, dependiendo de los detalles de tiempos de tratamiento y temperaturas:

1. (i): una actividad de glucosa oxidasa de aproximadamente entre aproximadamente 1.000 y 50.000.000 unidades internacionales por hl de zumo de uva será apropiada; y
- 25 2. (ii): una actividad de glucosa isomerasa de aproximadamente entre 100 y 5.000.000 unidades internacionales por hl de zumo de uva será apropiada.

30 [0058] Como el experto en la materia sabe, una unidad internacional se define como aquella cantidad de la enzima que cataliza la conversión de 1 micro mol de sustrato por minuto. También deben especificarse las condiciones. Como el experto en la materia sabe, normalmente se toma una temperatura de 30 °C y el valor de pH y la concentración de sustrato que ofrecen la tasa máxima de conversión del sustrato.

[0059] En el presente documento las unidades internacionales son definidas como se ha descrito anteriormente y según la técnica, es decir, son determinadas a una temperatura de 30 °C y el valor de pH y la concentración de sustrato que ofrecen la tasa máxima de conversión de sustrato.

35 [0060] Como el experto en la materia sabe, es trabajo de rutina para el experto en la materia determinar unidades internacionales para las enzimas como se describe en el presente y pueden determinarse dentro de una incertidumbre aquí relativamente menor.

40 [0061] Por ejemplo, como el experto en la materia sabe, el valor de pH óptimo y la concentración de sustrato óptima puede variar para una enzima específica de interés (p. ej. una glucosa oxidasa específica). No obstante, es fácil identificar este pH óptimo y la concentración de sustrato puesto que por lo general está dado, por ejemplo, en la documentación del producto para un producto enzimático comercial pertinente. Además, para una enzima específica de interés, el trabajo de rutina general incluye identificar parámetros tales como pH óptimo y concentración de sustrato.

[0062] En una forma de realización preferida se utiliza lo siguiente:

- 45 1. (i): una actividad de glucosa oxidasa aproximadamente entre 15.000 y 5.000.000 unidades internacionales por hl de zumo de uva; y
2. (ii): una actividad de glucosa isomerasa aproximadamente entre aproximadamente 5.000 y 500.000 unidades internacionales por hl de zumo de uva.

50 [0063] En una forma de realización preferida, la temperatura durante el paso (1) del primer aspecto es entre 1 y 35 °C., preferiblemente entre 3 y 30 °C. Generalmente, en reacciones enzimáticas, la velocidad de reacción general aumentará con la temperatura si se aumenta la temperatura de, por ejemplo, alrededor de 25 a 40 °C. En este caso, no obstante, se liberará más oxígeno del líquido si se aumenta la temperatura de 25 a 40 °C., y así, se reducirá la

velocidad de reacción general bajo tales circunstancias. Un tratamiento extendido más prolongado a 40 °C también podría ser perjudicial para la calidad del zumo de uva.

5 [0064] En general, preferiblemente el único cambio efectuado en la mecánica de las cantidades de elaboración de vino a un almacenamiento o corto plazo del zumo de uva no fermentado mientras el zumo (aireado) está siendo tratado con glucosa oxidasa, isomerasa y,

10 opcionalmente, otras enzimas aquí descritas. A este respecto, se observa que el tiempo del tratamiento puede ser el parámetro de control mejor que la actividad enzimática. Por ejemplo, debería emplearse suficiente glucosa oxidasa debería para convertir la proporción deseada de glucosa dentro de un tiempo de tratamiento razonable, en el cual el tiempo generalmente no exceda las 72 horas y muchas veces no exceda las 48 horas. Incluso si está presente alguna levadura en el zumo de uva no fermentado, se ha descubierto que la fermentación no se iniciará en ningún grado apreciable durante las primeras 48 horas, y así, es posible eliminar las cantidades pertinentes de azúcar.

[0065] En relación al paso 1 del primer aspecto, debe tenerse en cuenta que el grado de conversión se controla con mucha facilidad dado que la reacción de la glucosa al ácido glucónico se detiene casi inmediatamente por corte del suministro de oxígeno.

15 [0066] La práctica de esta invención también contempla ejemplos en los que el zumo de uva reducido en azúcar que resulta del paso 1 se mantiene como un suministro ácido (reserva ácida) y es mezclado con un zumo de uva con deficiencia de ácido para mejorar las propiedades organolépticas del vino resultante.

[0067] Debe entenderse que la eliminación del ácido glucónico se puede realizar en cualquier momento, por ejemplo, después del paso de fermentación.

20 [0068] Alternativamente, puede realizarse por adición de, por ejemplo, carbonato de calcio antes de la adición de glucosa oxidasa como se describe en este caso. Una ventaja de esto es que el pH aumenta en el zumo de uva, y ello generalmente puede mejorar la actividad de la glucosa oxidasa ya que ésta generalmente tiene pH óptimo alrededor de pH neutral.

25 [0069] En una forma de realización preferida, la preparación o las preparaciones de enzima pertinente(s) es/son una preparación sólida soluble en agua, preferiblemente una preparación no pulverizada. La estabilidad de almacenamiento de una preparación sólida es mejor que la estabilidad de almacenamiento de una preparación líquida y, además, no es necesario añadir ningún agente de conservación. De todos modos, se recomienda que el usuario disuelva el agente de forma sólida en una pequeña cantidad de agua inmediatamente antes del uso.

30 [0070] En una forma de realización preferida del método como se describe en este caso, se suministra oxígeno continuamente al zumo de uva durante el paso 1 del primer aspecto. El suministro de oxígeno tiene una influencia notablemente grande en la velocidad de reacción de la reacción enzimática de la glucosa oxidasa en particular. De este modo, la introducción continua de oxígeno asegura una alta velocidad de reacción. De preferencia, el oxígeno se suministra mediante una bomba de aire, el medio más eficaz para introducir oxígeno en el zumo de uva.

35 [0071] En una forma de realización preferida del método según la invención, la cantidad de preparación de oxidasa/isomerasa de glucosa adicionada en la fase 1 es suficiente para la generación de la reducción deseada de concentración de azúcar en un periodo de tiempo no superior a alrededor de 72 horas. Como se ha señalado, incluso si hay un poco de levadura en el zumo de uva, la fermentación no progresará hasta ningún grado apreciable durante las primeras 48 horas, y así, ninguna cantidad apreciable de glucosa/fructosa es simultáneamente fermentada a alcohol durante la conversión enzimática de glucosa a ácido glucónico.

40 [0072] En una forma de realización preferida, la cantidad eficaz y el periodo de tiempo para las dos enzimas de glucosa oxidasa/isomerasa durante el paso (1) es tal que:

1. (A): el contenido de azúcar en el zumo de uva se reduce en al menos 10 %, más preferiblemente al menos 14 % e incluso más preferiblemente al menos 17 %.

45 [0073] Como se ha mencionado anteriormente, en ejemplos prácticos incluidos en el presente el contenido de azúcar (tanto glucosa como fructosa) se redujo en un 19 %.

[0074] En una forma de realización preferida del método según la invención, el valor de pH en la fase 1 no está controlado. Esta forma de realización es particularmente preferida en los casos en los cuales es viable y se emplea un tiempo de tratamiento más prologado, por ejemplo, hasta 72 horas aproximadamente.

50 [0075] Debido al hecho de que el aroma, el sabor y bouquet del vino son propiedades que son extremadamente sensibles, no podría predecirse si el vino con menos alcohol producido según la invención poseería las propiedades deseadas en tanto que el vino con menos alcohol producido según la invención con preparaciones de glucosa oxidasa/isomerasa soluble contendrá rastros de glucosa oxidasa/isomerasa inactiva y puede diferir del vino común en relación a la concentración de otros ingredientes también. No obstante, se ha descubierto que el vino con menos

alcohol producido según la invención posee todas propiedades normales del vino, incluido el sabor y el bouquet, excepto, por supuesto, las propiedades relacionadas directamente con la concentración alcohólica.

Parámetros de producción preferidos - paso 2 del primer aspecto

- 5 [0076] La realización del paso 2 de primer aspecto, es decir, la fermentación del zumo de uva tratada, es un paso obligatorio del método de la invención. No obstante, en esta instancia no es necesario suministrar ninguna discusión detallada del paso de fermentación ya que la realización de las prácticas convencionales de elaboración de vino están expresamente contempladas y las mismas son sabidas por los expertos en técnica de enología. Ya se ha destacado aquí que en la práctica preferida de esta invención se evita la imposición de cualquier cambio innecesario en la mecánica del proceso de elaboración de vino.
- 10 [0077] Como se ha mencionado anteriormente, durante la fermentación de la levadura, el O₂ desaparecerá al corto o largo plazo. La glucosa oxidasa necesita O₂ para actuar. No obstante, la glucosa isomerasa puede actuar con o sin la presencia de O₂. Por consiguiente, la glucosa isomerasa también puede ayudar a mantener la proporción de glucosa/fructosa de 1:1 durante la fermentación alcohólica con levadura real.
- 15 [0078] De hecho esto ocurrirá generalmente durante el método como se describe en este caso. La glucosa isomerasa añadida al zumo de uva no fermentado durante el paso (1) normalmente está activa aún durante la fermentación de alcohol de levadura del paso (2).
- [0079] No obstante, opcionalmente podría añadirse glucosa isomerasa adicional durante la fermentación alcohólica de levadura del paso (2).
- 20 [0080] Por consiguiente, en una forma de realización de la invención del primer aspecto, se añade glucosa isomerasa durante el paso de fermentación alcohólica de levadura (2).

Ejemplos

Ejemplo 1: Reducción enzimática de azúcar en zumo de uva - ejemplo de paso (1) del primer aspecto.

- 25 [0081] Un posible modo de reducir el contenido final de alcohol en el vino es reducir la concentración de azúcar en el zumo de uva antes de la fermentación alcohólica. Por lo tanto, se realizó un tratamiento enzimático del zumo de uva para reducir el contenido de azúcar total.
- [0082] Se llevaron a cabo tres experimentos independientes usando dos réplicas en cada caso. En cada muestra se añadieron 200 ml de zumo de uva (Pinot Blanc 2007, Alemania, pasteurizado) a un matraz de vidrio y se mezcló continuamente con un agitador magnético. Las muestras fueron aireadas a lo largo de todo el experimento.
- 30 [0083] Se agregaron bien 100 mg de glucosa oxidasa (Hyderase, Amano, > 15.000 U/g) o 100 mg de glucosa-oxidasa y 1 g de glucosa isomerasa (Sigma, G4166-50 g, >350 U/g) a los matraces. Se dejó que se realizara la incubación a temperatura ambiente durante 3 días.
- 35 [0084] Se tomaron muestras justo antes de la adición de las enzimas y después de 3 días. Las muestras fueron analizadas para detectar la presencia de glucosa y fructosa usando un ensayo comercial basado en UV suministrado por Boehringer Mannheim/R-biopharm (número de catálogo 10 139 106 035) después del protocolo proporcionado por el fabricante. Los resultados de este experimento se resumen en la tabla I a continuación.

Tabla I: Reducción enzimática de azúcar (glucosa y fructosa) en zumo de uva. GOX= glucosa oxidasa

Día	Tratamiento	Azúcar total (g/l)	Reducción de azúcar total (%)
0	GOX	230	0
	GOX+isomerasa	235	0
3	GOX	202	12
	GOX+isomerasa	190	19

Conclusión

- 5 [0085] Estos resultados de este ejemplo 1 demuestran que un proceso que sólo usa glucosa oxidasa dio una reducción de azúcar total de alrededor del 12 % y la adición extra de glucosa isomerasa aumentó este porcentaje significativamente a una reducción de azúcar de alrededor del 19 %. Menos azúcar en el zumo de uva implica menos contenido de alcohol en el vino.

Ejemplo 2: Fermentación de levadura de zumo de uva tratada - ejemplo del paso (1) y el paso (2) del primer aspecto

- 10 [0086] Se llevó a cabo una simulación completa de un proceso general de elaboración de vino a escala de laboratorio. En este experimento, se demostró que el tratamiento enzimático sí tuvo un efecto en el nivel de alcohol final sin influir negativamente en los parámetros más importantes de la producción de vino como la fermentación alcohólica o la fermentación meloláctica.

- 15 [0087] El experimento completo se efectuó a temperatura ambiente, aproximadamente 22 °C. Se realizaron seis experimentos con cuatro litros de zumo de uva (Pinot Blanc 2007, Alemania, pasteurizado) cada uno en matraces de fermentación. El pH del zumo de uva fue no ajustado y no se añadió ningún material aparte de las enzimas descritas en este ejemplo.

[0088] El zumo de uva fue preincubado por tres días con enzimas como se describe más abajo, seguido de la fermentación alcohólica de 11 días y una fermentación meloláctica de 10 días.

20 Tratamiento enzimático

[0089] Se dividieron seis matraces en tres grupos de dos matraces.

- 25 [0090] El zumo de uva en el grupo 1 fue preincubado por tres días con 0,5 g/l de glucosa oxidasa (Hyderase, Amano, > 15.000 U/g), el zumo de uva en el segundo grupo con 0,5 g/l de glucosa oxidasa y 2 g/l de glucosa isomerasa (Sigma, G4166-50g, >350 U/g) y el zumo de uva en el grupo de control no fue tratado con enzimas. Después de la adición de enzima, los matraces fueron enérgicamente aireados por tres días en presencia de las enzimas, antes de iniciar la fermentación alcohólica. La aireación es importante puesto que el oxígeno es necesario en la conversión enzimática mediada por glucosa oxidasa.

Fermentación alcohólica

- 30 [0091] La fermentación alcohólica fue iniciada por inoculación con rehidratación de levadura de vino liofilizada (*Saccharomyces cerevisiae* Merit.Ferm, Chr. Hansen, 0.1 g/l) a una concentración final de 9×10^5 UFC/mL. La rehidratación se llevó a cabo en agua de peptona (15 g/l de triptona, Oxoid L42, 9 g/l NaCl, 1,14 g/l 2 % antiespumante 1510, BHD 63215) durante 10 minutos a temperatura ambiente.

- 35 [0092] En este punto se detuvo la aireación y el proceso quedó sin oxígeno durante los siguientes días como resultado del metabolismo de la levadura. Se dejó que se realizara la fermentación alcohólica fue por once días a temperatura ambiente, la cual dio como resultado la conversión casi completa de todo el azúcar en alcohol.

Fermentación meloláctica

[0093] Después de la fermentación alcohólica, se inició la fermentación maloláctica. El objetivo de esta parte del proceso es convertir el malato en lactato que produce una sensación sensorial más agradable y, de esta manera, es una parte importante del proceso de producción de vino. El fermentación maloláctica es realizada principalmente por

la bacteria *Oenococcus oeni*. Sería altamente indeseable que el crecimiento de *O. oeni* se viera perjudicado por el tratamiento enzimático del zumo de uva.

- 5 [0094] Once días después del inicio de la fermentación alcohólica, la fermentación maloláctica se inició por adición de *O. oeni* (Viniflora, Chr. Hansen. Lote n.º: 2711097) al zumo de uva fermentada. Se dejó que la *O. oeni* liofilizada (0,7 g de 8,2 E+11 CFU/g) se rehidratara durante 10 minutos en 100 ml de agua de peptona 15g/l triptona, Oxoid L 42,9 g/l NaCl, 1,14 g/l 2% antiespumante 1510, BHD 63215). Se añadieron tres ml a 4000 ml de zumo de uva fermentada, lo cual dio como resultado una concentración final de $4,3 \times 10^6$ a UFC/mL. Se permitió reposar otros 10 días a temperatura ambiente.

Resultados

10 Efecto del tratamiento enzimático en niveles alcohólicos

[0095] Los niveles de glucosa y de fructosa se midieron usando un ensayo comercial basado en UV suministrado por Boehringer Mannheim/R-biopharm (número de catálogo 10 139 106 035), usando el protocolo suministrado por el proveedor.

Tabla II, niveles de azúcar al final del inicio de la fermentación alcohólica

Día	Tratamiento	Glucosa (g/l)	Fructosa (g/l)	Azúcar total (g/l)
0	Control	110 ± 3	118 ± 1	229 ± 4
	GOX	96 ± 5	124 ± 3	225 ± 9
	GOX + Isome-	106 ± 22	119 ± 5	225 ± 25
	rasa			
11	Control	0 ± 0	8 ± 2	8 ± 2
	GOX	24 ± 17	59 ± 11	83 ± 27
	GOX + Isome-	0	0	0
	rasa			

- 15 [0096] Se midió el alcohol en días diferentes durante la fermentación alcohólica usando el método de titulación del Dr. Rebelein como se describe en la bibliografía (Bestimmung des alkoholgehalts nach Dr. Rebelein. Publicado por: C Schliesmann Kellere-Chemie GmbH & Co. KG, Auwiesenstrasse 5, 74523 Schwäbische Hall (2001)). En el zumo de uva no tratada, la fermentación fue casi completa, alcanzando un nivel de alcohol final de 12,7 % al final del proceso. Cuando el zumo fue pretratado con glucosa oxidasa y glucosa isomerasa la fermentación de azúcar fue completa pero el nivel de alcohol final fue aún significativamente inferior (11,8 %).

- 20 [0097] Los bajos niveles de alcohol encontrado cuando el zumo fue pretratado con glucosa-oxidasa solamente son un resultado de fermentación incompleta. El zumo tratado con glucosa oxidasa en este experimento no es utilizable en la elaboración normal de vino debido a los altos niveles de restos de azúcar (especialmente fructosa especial) al final de la fermentación (tabla II).

[0098] Por consiguiente, la adición extra de glucosa isomerasa ayudó a mantener la proporción de glucosa/fructosa en el zumo de uva en una proporción de alrededor de 1:1, lo cual reduce significativamente el riesgo de paradas indeseadas de fermentaciones alcohólicas como se muestra cuando se usa solamente GOX.

- 30 [0099] Además, el experimento con isomerasa eliminó todo el azúcar mientras algún azúcar de fructosa (8 g/l) todavía estaba presente en el control (zumo de uva no tratada). Este demuestra que la isomerasa como tal impide las paradas de fermentaciones.

Tabla III, niveles alcohólicos durante la fermentación. El día 11 se inició la fermentación maloláctica. Los niveles de alcohol en las muestras tratadas previamente con glucosa oxidasa (GOX) están en cursiva para indicar que estos valores son el resultado de una fermentación alcohólica seriamente retardada. Nd: no determinado

Día	Tratamiento	Alcohol (vol %)
0	Control	0
	GOX	0
	GOX + Isomerasa	0
7	Control	10,9 ± 0,3
	GOX	Nd
	GOX + Isomerasa	10,7 ± 0,5
11	Control	12,3 ± 0,1
	GOX	7,5 ± 1,3
	GOX + Isomerasa	11,7 ± 0,1
16	Control	12,7 ± 0,1
	GOX	9,3 ± 0,6
	GOX + Isomerasa	11,8 ± 0,01

5 Conclusión

[0100] Los resultados de este ejemplo 2 muestran que GOX + isomerasa bajó considerablemente el porcentaje de alcohol a 11,8 % en comparación con 12,7 de control.

[0101] Además, la adición extra de glucosa isomerasa ayudó a mantener la proporción de glucosa/fructosa en el zumo de uva en una proporción alrededor de 1:1, lo cual reduce significativamente el riesgo de paradas indeseadas de fermentaciones alcohólicas en comparación con el uso de GOX solamente.

[0102] Los bajos niveles de alcohol (9,3 %) detectados cuando el zumo fue pretratado con glucosa oxidasa solamente, son un resultado de fermentación incompleta -- en otras palabras, paradas indeseadas de fermentaciones alcohólicas. El zumo tratado con glucosa oxidasa en este experimento no es utilizable en la elaboración normal de vino debido a los altos niveles de restos de azúcar (especialmente fructosa especial) al final de la fermentación (tabla II).

[0103] Además, el experimento con isomerasa eliminó todo el azúcar mientras algún azúcar de fructosa (8 g/l) todavía estaba presente en el control (zumo de uva no tratada). Este demuestra que la isomerasa como tal impide las paradas de fermentaciones.

Ejemplo 3: Desarrollo de levadura durante la fermentación alcohólica – la adición de isomerasa reduce significativamente la parada de fermentación alcohólica.

[0104] El experto en la materia sabe que las paradas de fermentaciones típicamente surgen cuando las concentraciones de fructosa son considerablemente superiores a las concentraciones de glucosa. Durante la fermentación alcohólica, la proporción de glucosa/fructosa, que es 1/1 al principio de la fermentación alcohólica, puede cambiar a un valor negativo, dando como resultado una fermentación retardada.

[0105] En este ejemplo 3 una fermentación retardada (parada) fue inducido por tratamiento del mosto con glucosa oxidasa sola.

[0106] Para investigar el efecto de la glucosa isomerasa en la capacidad de la levadura para crecer y sobrevivir durante una fermentación alcohólica, se realizó una producción de vino simulada como se describe en el ejemplo 2 del presente. El zumo de uva fue preincubado por tres días con enzimas como se describe más abajo, seguido de la fermentación alcohólica de 11 días y una fermentación maloláctica de 10 días.

[0107] Se realizaron tres experimentos independientes usando dos réplicas en cada caso. En cada muestra se añadieron 200 ml de zumo de uva (Pinot Blanc 2007, Alemania, pasteurizado) a un matraz de vidrio y se mezcló continuamente con un agitador magnético. Las muestras fueron aireadas a lo largo de todo el experimento.

[0108] Se agregaron bien 100 mg de glucosa oxidasa (Hyderase, Amano, > 15.000 U/g) o 100 mg de glucosa-oxidasa y 1 g de glucosa isomerasa (Sigma, G4166-50 g, >350 U/g) a los matraces. Se dejó que se realizara la incubación a temperatura ambiente durante 3 días. Después de este punto se inició la fermentación alcohólica por inoculación con levadura de vino liofilizada rehidratada (*Saccharomyces cerevisiae* Merit.Ferm, Chr. Hansen, 0.1 g/l) a una concentración final de $9E+05$ UFC/mL. La rehidratación se llevó a cabo en agua de peptona (15 g/l de triptona, Oxoid L42, 9 g/l NaCl, 1,14 g/l 2 % antiespumante 1510, BHD 63215) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Once días después del inicio de la fermentación alcohólica, la fermentación maloláctica se inició por adición de *O. oeni* (Viniflora, Chr. Hansen. Lote n.º: 2711097) al zumo de uva fermentada. Se dejó que la *O. oeni* liofilizada (0,7 g de $8,2 E+11$ CFU/g) se rehidrata durante 10 minutos en 100 ml de agua de peptona 15g/l

triptona, Oxoid L 42,9 g/l NaCl, 1,14 g/l 2% antiespumante 1510, BHD). Se añadieron tres ml a 4000 ml de zumo de uva fermentada, lo cual dio como resultado una concentración final de $4,3*10^6$ a UFC/mL. Se permitió reposar otros 10 días a temperatura ambiente.

[0109] El número de unidades formadoras de colonias de *S. cerevisiae* fue determinado en diferentes puntos temporales tomando muestras del zumo de uva fermentada y colocándolas en placas en diluciones en serie en placas de agar de medio sólido de YGC seguido de una incubación durante toda la noche a 30 °C.

[0110] Los niveles de glucosa y de fructosa se determinaron usando un ensayo comercial basado en UV suministrado por Boehringer Mannheim/R-biopharm (número de catálogo 10 139 106 035), usando el protocolo suministrado por el proveedor.

Resultados

Efecto de la isomerasa en una parada de fermentación alcohólica

[0111] Durante la fermentación alcohólica, los azúcares en el zumo de uva son convertidos en etanol por la levadura *S. cerevisiae*.

[0112] Se demostró que el tratamiento con glucosa oxidasa sola produce una fermentación alcohólica retardada (parada de fermentación) debido al crecimiento retardado de *S. cerevisiae* (como se muestra en la tabla IV). En el mosto pretratado con glucosa oxidasa, el crecimiento de levadura fue muy pobre durante los primeros días de la fermentación alcohólica. El número de CFU estuvo por debajo del límite de detección en el día 1 y fue aproximadamente 3 unidades logarítmicas más bajo el día 2 de la fermentación alcohólica. Este es una indicación clara de una parada de fermentación.

[0113] Este resultado fue respaldado por el análisis del azúcar. Mientras que en el mosto no tratado aprox. 60 % del azúcar fue fermentado después de 3 días de fermentación de levadura, menos del 10 % fue fermentado en el mosto pretratado con GOX.

[0114] No obstante, cuando la glucosa isomerasa estaba presente durante la pretratamiento y la fermentación alcohólica, el proceso de fermentación se comportó de manera casi idéntica a la de la fermentación del mosto no tratado. Tanto los niveles de azúcar restantes y el número de CFU de *S. cerevisiae* (tabla IV) fueron comparable al mosto no tratado. En otras palabras; la glucosa isomerasa fue capaz de superar la parada de fermentación provocada por el tratamiento con GOX.

Tabla IV, Viable

Concentración de células de *S. cerevisiae* durante la fermentación alcohólica. El zumo de uva ha sido pretratado por tres días como se describe. La levadura fue añadida a $t = 0$ días. Nd = debajo del límite de detección.

Días	Tratamiento	CFU/ml (promedio)	Azúcar total (g/l)
0	Control	$7,0 \pm 1,4 E+05$	229±4
	GOX	$9,0 \pm 4,2 E+05$	225±9
	GOX + Isomerasa	$9,0 \pm 1,4 E+05$	225±25
1	Control	$6,5 \pm 2,1 E+05$	

	GOX	Nd	
	GOX + Isomerasa	$1,0 \pm 0,9 \text{ E}+06$	
2	Control	$2,2 \pm 0,2 \text{ E}+07$	212±6
	GOX	$5,0 \pm 7,1 \text{ E}+04$	220±6
	GOX + Isomerasa	$1,1 \pm 0,9 \text{ E}+07$	209±11
3	Control	$6,9 \pm 0,9 \text{ E}+07$	86±64
	GOX	$2,7 \pm 3,3 \text{ E}+06$	207±5
	GOX + Isomerasa	$5,1 \pm 1,7 \text{ E}+07$	96±80
7	Control	$3,1 \pm 0,9 \text{ E}+07$	22±10
	GOX	$3,2 \pm 1,1 \text{ E}+07$	141±55
	GOX + Isomerasa	$4,3 \pm 0,3 \text{ E}+07$	11±8
9	Control	$2,7 \pm 0,2 \text{ E}+07$	
	GOX	$2,0 \text{ E} \pm 0,8 +07$	
	GOX + Isomerasa	$1,1 \pm 1,6 \text{ E}+07$	
16	Control	$6,9 \pm 6,6 \text{ E}+06$	2±1
	GOX	$2,9 \pm 1,0 \text{ E}+06$	53±12
	GOX + Isomerasa	$9,5 \pm 9,2 \text{ E}+05$	0±0
18	Control	$2,5 \pm 0 \text{ E}+05$	
	GOX	$4,0 \pm 2,1 \text{ E}+06$	
	GOX + Isomerasa	$2,0 \text{ E}+05$	

Conclusión

[0115] Como se muestra en este ejemplo 3, el uso de GOX solo puede inducir significante la parada indeseada de la fermentación.

- 5 [0116] Los resultados de este ejemplo 3 muestra que la adición de isomerasa puede ayudar a superar los efectos negativos de la adición de GOX en el crecimiento de *S. cerevisiae* generalmente usada para la producción de vino.

Referencias

- [0117] 1. US4675191 (Novo Industri, Dinamarca - publicado 1987)

REIVINDICACIONES

1. Método para la producción de un vino con menor contenido de alcohol, que comprende los siguientes pasos: (1): tratamiento de zumo de uva no fermentada con una cantidad eficaz de las dos siguientes enzimas:
 - 5 (a) glucosa oxidasa en presencia de oxígeno por un periodo de tiempo adecuado para convertir al menos una parte de la glucosa en el zumo de uva en ácido glucónico; y
 - (b) glucosa isomerasa por un periodo de tiempo adecuado para convertir al menos una parte de la fructosa en el zumo de uva en glucosa;
 - (c) y luego,
 - 10 (d) (2): el zumo de uva así tratado con cantidades reducidas de glucosa y fructosa se fermenta para producir el vino con menor contenido de alcohol, donde el término "menor contenido de alcohol" se refiere a un menor contenido de alcohol en el vino en comparación con un vino producido bajo condiciones idénticas pero sin el tratamiento con las dos enzimas del paso (1).
- 15 2. Método según la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que el vino producido con menor contenido de alcohol del paso (2) según la reivindicación 1 tiene un contenido de alcohol que puede ser considerado normal para un vino tinto/blanco, a saber 12-14 %, y caracterizado por el hecho de que el vino tendría un porcentaje alcohólico demasiado alto, a saber 15-17 %, si hubiese sido hecho sin el tratamiento enzimático del paso (1) según la reivindicación 1.
- 20 3. Método según las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado por el hecho de que el método según la reivindicación 1 comprende un paso extra (3) de eliminación de al menos una parte del ácido glucónico para obtener un vino con propiedades organolépticas satisfactorias; y caracterizado por el hecho de que el ácido glucónico se elimina mediante neutralización por adición de una sustancia que forma una sal de ácido glucónico difícilmente soluble, preferiblemente carbonato de calcio.
- 25 4. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que la cantidad eficaz y el periodo de tiempo para las dos enzimas de glucosa oxidasa/isomerasa durante el paso (1) son tales que: (A): el contenido de azúcar en el zumo de uva se reduce un 10 % como mínimo.
5. Método según la reivindicación 4, caracterizado por el hecho de que el contenido de azúcar en el zumo de uva se reduce en un 17 % como mínimo.
6. Método según las reivindicaciones 4 o 5, caracterizado por el hecho de que
 - 30 - el periodo de tiempo no es superior a 72 horas; y
 - la cantidad eficaz para las dos enzimas de glucosa oxidasa/isomerasa es:
 - (b) (i): una actividad de glucosa oxidasa entre 1.000 y 50.000.000 unidades internacionales por hl de zumo de uva; y
 - (c) (ii): una actividad de glucosa isomerasa entre 100 y 5.000.000 unidades internacionales por hl de zumo de uva; y
 - 35 - la temperatura durante el paso (1) según la reivindicación 1 es entre 1 y 35 °C., preferiblemente entre 3 y 30 °C.
7. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que el oxígeno se suministra continuamente al zumo de uva durante el paso 1 según la reivindicación 1, preferiblemente, el oxígeno se suministra mediante una bomba de aire.
- 40 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que en la fase (1) según la reivindicación 1 el zumo de uva también es tratado con una cantidad eficaz de una preparación con actividad de catalasa por un periodo de tiempo adecuado para convertir al menos una parte del H₂O₂ en el zumo de uva en O₂ + H₂O.
- 45 9. Método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que la glucosa isomerasa adicional se añade durante el paso de fermentación alcohólica de levadura (2) según la reivindicación 1.
10. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el vino es vino blanco, vino tinto, vino no espumoso o vino espumoso.

P3261PC00

Figura 1

En uvas:

Azúcar es aprox. una proporción de 1:1 de glucosa y fructosa

ESTADO DE LA TÉCNICA - US4675191**INVENCIÓN - Elementos nuevos en negrita**Antes de la fermentación de levadura:Antes de la fermentación de levadura:

Glucosa oxidasa a uvas:

Glucosa oxidasa a uvas:

 $\text{Glucosa} + \text{O}_2 \Rightarrow \text{ácido glucónico} + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{Glucosa} + \text{O}_2 \Rightarrow \text{ácido glucónico} + \text{H}_2\text{O}_2$ **Glucosa isomerasa a uvas:****Glucosa $\Leftrightarrow$ Fructosa**Fermentación de levadura:Fermentación de levadura:**Menos glucosa $\Rightarrow$ menos alcohol en vino****Menos glucosa y fructosa $\Rightarrow$ significativamente menos alcohol en vino****Proporción glucosa/fructosa mantenida a proporción 1: 1 $\Rightarrow$ evitar paradas de fermentación de alcohol**Después de la fermentación de levadura:
Eliminación opcional de ácido glucónicoDespués de la fermentación de levadura:
Eliminación opcional de ácido glucónico