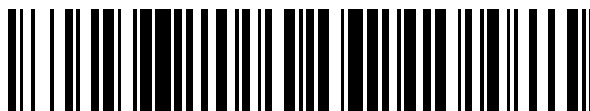


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 423**

51 Int. Cl.:

A23L 2/80 (2006.01)

C12C 5/00 (2006.01)

C12G 1/02 (2006.01)

C12H 1/056 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2008 E 08756890 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2015 EP 2164946**

54 Título: **Métodos y composiciones para clarificación de bebidas fermentables**

30 Prioridad:

04.06.2007 AU 2007903002 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

19.08.2015

73 Titular/es:

**CARLTON AND UNITED BEVERAGES LIMITED
(100.0%)
77 SOUTHBANK BOULEVARD
SOUTHBANK, VIC 3006, AU**

72 Inventor/es:

**DUAN, DAVID W.;
ROGERS, PETER J. y
WILKES, ERIC**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 543 423 T3

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

Métodos y composiciones para clarificación de bebidas fermentables

- 5 La presente invención se refiere a métodos y composiciones para clarificación de bebidas fermentables, en particular bebidas fermentables alcohólicas tales como vino, cerveza, cerveza rubia, ale, sidra de manzana, sidra de pera, bebidas alcohólicas y licores.

Antecedentes

- 10 En la práctica general de la producción del vino, el vino tiene que estabilizarse después de la fermentación para eliminar proteínas inestables. A esto se hace referencia como 'estabilización en caliente'. En la mayoría de los casos esto se consigue por la adición de bentonita.
- 15 Para estabilizar el vino en frío, se añade tartrato al vino, que se almacena subsiguientemente a baja temperatura durante un periodo de tiempo comprendido entre unos cuantos días y varias semanas. Esto está diseñado para reducir los niveles de potasio y calcio, que en caso contrario pueden conducir generalmente a la formación de neblina en los productos embotellados, especialmente el vino blanco espumoso.
- 20 Existen desventajas en este enfoque, a saber:
- (1) La bentonita crea usualmente grandes cantidades de heces de vino, lo que conduce a pérdida significativa de vino.
 - (2) La adición de bentonita puede deteriorar la calidad del vino y causar también problemas con la filtración del vino.
 - (3) La práctica actual de estabilización en frío con tartrato es ineficiente energéticamente.
 - (4) El tartrato tiene una capacidad limitada de eliminación de calcio. Los tartratos de calcio, aunque insolubles, pueden formarse muy lentamente, de tal modo que en las condiciones comerciales no se elimina necesariamente todo el calcio con un tratamiento estándar. Así, el vino con altos niveles iniciales de calcio presenta todavía riesgo de formar precipitados y turbidez después del embotellado.
- 30

WO 2006/032088 da a conocer el uso de pectina y carragenano en un método para clarificación de bebidas después de la fermentación.

Sumario

- Los presentes inventores han encontrado que la adición de un carragenano al zumo de uva antes de la fermentación mejora notablemente la estabilidad del vino. Los inventores han encontrado también que la adición de una pectina al vino puede eliminar calcio del vino de una manera lineal, dependiente de la dosis. Los inventores se interesaron en encontrar si podrían idear un tratamiento simple, basado en estas macromoléculas existentes naturalmente, de modo que afectase simultáneamente a la estabilización en frío y en caliente.
- 40

- Se ha encontrado que una combinación de una pectina y un carragenano pueden utilizarse para tratamiento del zumo de uva antes de la fermentación. El tratamiento puede reducir el nivel de calcio en el vino blanco fermentado a partir del zumo tratado al menos un 20%. Además, el tratamiento mejora acusadamente la estabilidad al calor del vino. Este método puede utilizarse comercialmente para mejorar la estabilización en frío y la estabilización en caliente del vino blanco.
- 45

- Conforme a la presente invención, se proporciona un método para clarificar las bebidas fermentables que comprende tratar la bebida con una pectina y un carragenano antes de la fermentación.
- 50

Adicionalmente, conforme a la presente invención se proporciona una composición de clarificación para el tratamiento de una bebida fermentable que comprende una pectina y un carragenano.

- 55 La presente invención proporciona también el uso de una pectina y un carragenano como composición de clarificación para el tratamiento de una bebida fermentable.

Descripción Detallada

- 60 La presente invención proporciona métodos y composiciones para clarificación de bebidas fermentables que implican el uso de una pectina y un carragenano.

Pectina

Las pectinas son polisacáridos que tienen propiedades gelificantes, que se encuentran en cantidades variables en las paredes primarias de las células y tejidos intercelulares de muchas plantas. Las mismas son muy abundantes en frutos y hortalizas, especialmente en las cortezas de los frutos cítricos.

Existen dos tipos principales de pectinas comerciales. Pectinas pobres en ésteres metílicos o pobres en metoxi (LM) que tienen un grado de esterificación (DE) de 50% o menos y pectinas ricas en ésteres metílicos (HM) que tienen un DE de 50% o más. Debido a su aptitud para fijar el calcio, se prefieren las pectinas LM. Las pectinas LM tienen preferiblemente un DE de 0-35%, más preferiblemente 7-25%, y aún más preferiblemente 10-18%.

Las pectinas (LM) se dividen en dos sub-grupos, a saber, pectina convencional pobre en éster metílico (LMC) y pectinas amidadas pobres en ésteres metílicos (LMA). Ambos sub-grupos se caracterizan por su capacidad para formar geles en sistemas con contenido bajo de sólidos y un intervalo de pH amplio. Ambos tipos forman geles en presencia de calcio. El DE (grado de esterificación) y DA (grado de amidación) de las pectinas tienen influencia sobre la capacidad de las pectinas para formar geles, dado que DE y DA determinan la reactividad de las pectinas con el calcio.

Las pectinas LMA se utilizan generalmente para favorecer la gelificación en preparaciones de frutas con bajo contenido de azúcar, particularmente en mermeladas y jaleas pobres en azúcar. Las mismas son sensibles al calcio y son por consiguiente capaces de gelificarse como resultado del contenido de calcio en el fruto. Las pectinas LMC son más reactivas con el calcio que las pectinas LMA y por tanto más preferibles para uso en la presente invención. Las pectinas LMC se utilizan en yogur de frutas, helados ondulados y productos similares.

La pectina LM es el éster metílico parcial del ácido poli-alfa-D-galacturónico enlazado en 1,4. La estructura está complicada, sin embargo, por interrupción con residuos 1,2-alfa-L-ramnosa simples. Las pectinas LM formarán geles de calcio compactos y el método de reticulación puede considerarse en términos del modelo de 'caja de huevos', que requiere fijación cooperativa de iones calcio entre cintas alineadas de poligalacturonato. La afinidad para el calcio puede modificarse por amidación de los grupos ácidos y por esterificación – por cambio de la carga y distribución de la carga. La afinidad de la pectina en solución se verá afectada también por el pH, la temperatura y la concentración de azúcares y macromoléculas en solución.

Las pectinas utilizadas en los métodos y composiciones de la presente invención pueden estar disponibles comercialmente y obtenerse "en el mercado" o prepararse por los procesos convencionales de desesterificación o amidación de pectinas existentes naturalmente, v.g. pectinas de frutos tales como pectinas de manzana o de frutos cítricos, o pectinas de raíces o tubérculos tales como pectinas de remolacha, zanahoria o patata, o pectinas de girasol.

Las pectinas disponibles comercialmente se denominan "pectinas estandarizadas". Éstas contienen a menudo aproximadamente 20-50% de azúcares. A las pectinas sin azúcar añadido se hace referencia como "pectinas activas". Cuando se hace referencia a esta memoria, la concentración de pectina en un agente reductor del calcio, a no ser que se indique otra cosa, se refiere a la concentración de pectinas estandarizadas, es decir con inclusión de cualesquiera azúcares.

Se apreciará que en los métodos y composiciones de la presente invención se pueden utilizar pectinas naturales y modificadas. Las pectinas pueden encontrarse en la forma de sales de pectina tales como sales metálicas, por ejemplo sales de metal alcalino, en particular sales de potasio o sodio.

Si bien puede añadirse pectina a la bebida fermentable en forma líquida o de suspensión coloidal, se ha encontrado que la forma de pectina en polvo es más eficaz. La pectina soluble puede formar estructuras micelares estables y aumentar la turbidez de la bebida.

Una solución de pectina puede prepararse por dispersión de una pectina en un disolvente adecuado tal como agua destilada. La solución de pectina puede contener otros aditivos tales como conservantes, por ejemplo metabisulfito de sodio.

Ejemplos de pectinas que pueden utilizarse para reducir el calcio en el zumo de uva fermentable incluyen CU-L023/05, CU-L024/05, TS 1580 y CB-L038/06, preferiblemente TS 1580 (DE=18%), CB-L038/06 (DE=10%) (compárese la Tabla 2 más adelante).

La pectina en polvo se añade preferiblemente en una cantidad que es eficaz para reducir el calcio en la bebida. Se ha encontrado que la tasa de reducción de calcio es directamente proporcional a la tasa de dosificación de pectina.

Cuando la cantidad de un componente se expresa como porcentaje, se apreciará que todas las cantidades de los componentes se suman para dar 100%.

Cualquier referencia en esta memoria a peso/peso o p/p se refiere a una relación de peso a peso, es decir x % peso/peso se refiere a x gramos de formulación sólida en 100 gramos de la formulación de sólidos.

- 5 Generalmente, cuando se expresa en esta memoria el % de solución se refiere a la cantidad de pectina en la solución y no a los otros componentes. Por ejemplo, una solución con 1% de pectina tendrá 1 g de pectina en 100 mililitros. Pueden estar presentes otros componentes.

10 Se apreciará que la cantidad de pectina añadida dependerá del tipo de pectina utilizado. La cantidad preferida de pectina en el volumen de fluido total de la bebida es 0,2-5 g/L, más preferiblemente 0,2-3 g/L.

La pectina utilizada en el método de la presente invención es reciclable y puede reutilizarse después de lavado con una solución ácida tal como ácido cítrico, lo cual puede reducir los costes de producción.

15 Carragenano

El carragenano puede ser un tipo soluble en agua fría o un tipo insoluble en agua fría. Ejemplos de un carragenano de tipo soluble en agua fría incluyen carragenanos de dominio iota tales como CSW-2 y CSM-2. Ejemplos de un carragenano de tipo insoluble en agua fría incluyen carragenanos de dominio kappa tales como K-1000 y X-106-03.

20 Los carragenanos de tipo soluble en agua fría son más eficaces para mejorar la estabilización en caliente de la bebida, dado que tienen un tiempo de contacto mucho más prolongado con la bebida fermentable antes de la gelificación, al contrario que los carragenanos de tipo insoluble en agua fría que forman un gel muy rápidamente.

25 El carragenano puede añadirse a la bebida fermentable en polvo o en suspensión o solución coloidal. Una solución de carragenano se puede preparar por dispersión del carragenano en un disolvente adecuado tal como agua destilada para formar, por ejemplo, una solución al 2% p/v.

30 La cantidad preferida de carragenano añadida a la bebida fermentable es 0,02 a 0,2 g/L en forma líquida y 0,05 a 0,5 g/L en polvo.

Bebidas

La presente invención encuentra su mayor utilidad en el tratamiento de bebidas fermentables, particularmente bebidas fermentables alcohólicas tales como cervezas, cervezas rubias, ale, sidra de manzana, sidra de pera, bebidas alcohólicas, licores y vino, con inclusión de vino calmado y vino espumoso. La misma puede encontrar utilidad también en refrescos alcohólicos y bebidas alcohólicas de frutas. El nivel de alcohol, como se mide por la cantidad de etanol contenido en la bebida puede ser 2,5 a 40%.

35

Aditivos

40 Se apreciará que pueden utilizarse otros aditivos en el método de la invención. Por ejemplo, pueden añadirse pequeñas dosis de hasta 0-2 g/L, preferiblemente 0,1 a 1,0 g/L de bentonita adicionalmente a la pectina y el carragenano para mejorar el efecto de clarificación.

45 Cuando se añaden carragenano en forma de solución y opcionalmente bentonita a la bebida fermentable, puede añadirse también como conservante 0,3% de metabisulfito de sodio o potasio. Pueden añadirse también conservantes con la pectina cuando la misma se encuentra en polvo.

Método

50 La pectina, el carragenano, y los aditivos opcionales, tales como bentonita, se añaden antes de la fermentación.

La bebida fermentable es generalmente un zumo de fruta o una fruta que ha sido triturada subsiguientemente tal como un zumo de uva cuando la bebida es vino. Puede tratarse también de zumo de manzana si la bebida es sidra.

55

Como se ha descrito arriba, la pectina y el carragenano pueden añadirse a la bebida fermentable en polvo o suspensión o solución coloidal, preferiblemente con agitación y dejarse sedimentar luego durante un periodo de hasta 72 horas a la temperatura ambiente (22°C). Se añade luego levadura en una cantidad de, por ejemplo, 200-400 mg/L a la bebida fermentable tratada, y la bebida se deja fermentar a la temperatura ambiente hasta que se completa la fermentación, generalmente hasta 10-14 días dependiendo de la naturaleza de la bebida.

60

Alternativamente, la pectina y el carragenano pueden retirarse de la bebida fermentable tal como el zumo de fruta o la fruta durante el trasiego.

65 La pectina, el carragenano y la bentonita cuando está presente pueden añadirse utilizando cualquier técnica conocida adecuada tal como dosificación manual o por el uso de sistemas de dosificación mecánicos tales como una hélice o un mezclador estático en línea.

La adición de una pectina y un carragenano antes de la fermentación da como resultado fermentación más rápida, separación de la mayoría de las proteínas inestables y una cantidad importante de calcio sin efecto alguno sobre la producción de alcohol, el perfil de materias volátiles o la pérdida de complejidad. La bebida fermentada que se ha sometido al pretratamiento de la presente invención tiene estabilidad mejorada y tiene una perspectiva menor de formar turbidez después del embotellado.

Descripción de los Dibujos

En los ejemplos que siguen, se hará referencia a los dibujos que se adjuntan, en los cuales:

La Figura 1 es un gráfico que muestra el efecto del tratamiento del zumo con bentonita, pectina y carragenano sobre la formación de alcohol durante la fermentación del vino. La fermentación se controló a 16°C durante 12 días. El control era la fermentación sin adición alguna. La bentonita se utilizó como control positivo con un nivel de dosificación de 1 g/L. Se dosificó CP-L038/06 como forma en polvo a 1,5 g/L en el zumo de uva y se dosificó CSW-2 como solución al 2% hasta 0,2 g/L en el zumo en dosificación individual o la combinación.

La Figura 2 es un gráfico que muestra la reducción de calcio en el vino durante la fermentación del vino. La concentración de calcio se analizó el día 0, el día 6 y el día 12 y se comparó con el control. La tasa de dosificación y el método para adición de cada aditivo se describen en la Figura 1 anterior.

La Figura 3 es un gráfico que muestra cambios en las materias volátiles del vino después de fermentaciones de 12 días de zumo sin tratar, y zumo tratado con bentonita o carragenano + pectina. Las Figuras A, B y C muestran la formación de ésteres, alcoholes superiores y ácidos. Las tasas de dosificación y el método para adición de cada aditivo se describen en la Figura 1 anterior.

La Figura 4 es un gráfico que muestra cambios en la estabilidad del vino después de una fermentación de 12 días utilizando el zumo tratado.

Ejemplos

La presente invención se describirá a continuación con referencia a los ejemplos no limitantes siguientes.

En los ejemplos, se hará referencia a las abreviaturas que siguen:

Acetato de etilo	ETOAC
Hexanoato de etilo	ETHEX
Octanoato de etilo	ETOCT
Acetato de fenil-etilo	PHETAC
Acetato de isoamilo	IAMOAC
Ésteres totales	TOTEST
n-propanol	NPROH
Isobutanol	IBUOH
Alcohol isoamílico	IAMOH
Alcohol fenil-etílico	PHETOH
Alcoholes totales	TOTALC
Ácido butanoico	BUT
Ácido hexanoico	HEX
Ácido octanoico	OCT
Ácido decanoico	DEC
Ácidos totales	TOTACD

Materiales y métodos:**Materias primas**

5 Los zumos Chardonnay blancos utilizados en los ejemplos fueron suministrados recientemente por Great Western Wineries, Victoria. Los zumos se almacenaron congelados o se utilizaron inmediatamente.

10 Para las pruebas de fermentación se utilizó levadura de vino seca QA23 (Danstar Ferment AG, Suiza). La levadura se hidrató por adición de 10 volúmenes de agua destilada a 35-40°C durante 20 minutos sin sacudidas. Después de ello, la lechada se mezcló bien antes del 'pitching'.

15 Un carragenano de tipo soluble en agua (CSW-2) fue suministrado por CP Kelco, Copenhagen, Dinamarca. Se preparó en seguida una solución de CSW-2 al 2% siguiendo el protocolo de preparación estándar. Las pectinas CU-L024/05, CB-L038/06 y CU-L023/05 fueron suministradas por Herbstreith & Fox Gmb, Nurnberg, Alemania. Se trata de pectinas cítricas LMC no amidadas. El DE de cada pectina es 25%, 10% y 7%, respectivamente. La pectina TS1580 fue suministrada por CP Kelco (DE-18%, lote de prueba).

Se recogieron muestras de zumo, zumo fermentado tratado y sin tratar, y los productos de vino finales (post-filtración) y se midieron concentración de calcio, alcohol, pH y materias volátiles.

20 **Estimación de los iones calcio y otros metales en el vino**

Los iones metálicos se miden por inyección directa de 5 µl de muestra de vino en un sistema HPLC (HP 1100) equipado con un detector de conductividad (Waters 432). Se utilizó para la separación una columna de cationes Universal (100 x 4,6 mm x 7 µ).

25

Método para análisis de materias volátiles en el vino (GC-espacio de cabeza)

30 Se utilizó para los análisis un cromatógrafo de gases equipado con programación de temperatura, espectrómetro de masas, sistema de abertura de inyector capilar/sin división, tomamuestras automático del espacio de cabeza y columna capilar BP21 (25 m x 0,32 mm x 0,25 µ). Se añadieron aproximadamente 2 g de cloruro de sodio a los viales del espacio de cabeza (10 mL); se inyectaron 3 mL de muestra de vino en los viales del espacio de cabeza. El vial de muestra se cerró inmediatamente por fruncido, y se inyectaron 10 µl de estándar interno. Las materias volátiles se estimaron por el método GC/MS por comparación con el estándar interno.

35 **Método para el test de estabilidad al calor del vino**

Se filtraron aproximadamente 30 mL de muestra de vino a través de un filtro de jeringuilla de 0,45 µm (Sartorius). La muestra filtrada se calentó a 80°C durante 2 horas y se enfrió a 4°C durante 2 horas más antes de la medida de la turbidez.

40

La turbidez de las muestras calentadas se midió utilizando un turbidímetro Hach (2100AN) y se indica como unidades de turbidez nefelométricas (NTU). La diferencia en la turbidez antes y después del calentamiento debería ser, idealmente, menor que o igual a 2NTU para un vino estable.

45 **Ejemplo 1 - Carragenanos y pectinas adecuados para estabilización del vino**

Carragenano

50 Los diferentes tipos de carragenano pueden tener solubilidades en agua diferentes, así como capacidades y afinidades diferentes de fijación de proteínas. La idoneidad de los diferentes carragenanos para tratar zumo de uva blanca se evaluó utilizando el test de estabilidad al calor del vino. Las fermentaciones se llevaron a cabo en fermentadores en escala de sobremesa (500 mL).

55 CSW-2, un carragenano de dominio iota, se disolvió en agua destilada a 2% p/v a la temperatura ambiente. K-100, un carragenano definido de dominio kappa se hidrató en agua a 60°C hasta disolución al 2% p/v.

Se incluyó también en este ejemplo una pectina LMC, CB-L038/06.

60 La solución de carragenano o pectina se mezcló con el zumo de uva a la temperatura ambiente (22°C, 200 mg/L) y se agitó durante 15 min.

65 El zumo se transfirió a una probeta y se dejó sedimentar en las condiciones del ambiente durante 16 horas. El zumo tratado se transfirió luego a botellas Schott de 1L y se añadió a continuación la lechada de levadura recién preparada hasta 200 mg de peso seco de levadura/L. El zumo se dejó fermentar a 22°C en las botellas durante 10 días.

Tabla 1. Tratamiento del zumo de uva blanca con carragenano y pectina. Las fermentaciones se llevaron a cabo en botellas Schott de 1L a 22°C. La concentración de etanol y la estabilidad del vino se midieron después de fermentaciones de 10 días. CSW-2 es un carragenano soluble en agua fría, K100 es un kappa-carragenano comercial y CB-L038/06 es una pectina LMC.

	Control	CSW-2 (0,2g/L)	K-100 (0,2g/L)	CB-L038/06 (0,2g/L)
Etanol (% v/v)	12,2	12,6	12,4	12,7
Turbidez en caliente (NTU)	49,0	4,6	8,9	31,4

Los resultados después de la fermentación en la Tabla 1 muestran que la producción final de etanol no se veía afectada por el carragenano o la pectina. De hecho, se observó que las fermentaciones con el zumo tratado eran ligeramente más rápidas que el control, alcanzando además una concentración final de etanol ligeramente mayor. El vino producido a partir del zumo tratado con pectina era ligeramente más estable que el control (NTU 31,4 frente a 49,0). Sin embargo, el resultado del test de estabilidad al calor era todavía muy superior al límite especificado para el producto de vino blanco envasado (2 NTU). No obstante, los vinos preparados con cualquiera de los zumos tratados con carragenano eran mucho más estables que el control o el vino después de tratamiento con pectina. El tratamiento con carragenano CSW-2 era el más eficaz. La turbidez del vino (CSW-2) era sólo 4,6, la del vino (K-100) era 8,9, con reducción de ~ 90% y ~ 80% respectivamente, con respecto al control. CSW-2 (tipo soluble en agua fría) era más eficaz que K-100 (tipo insoluble en agua fría) dado que K-100 formará un gel muy rápidamente en zumo de uva frío (< 10°C, pH-3,2). CSW-2 es un carragenano soluble en agua fría y por tanto tendrá un tiempo de contacto mucho más largo con las proteínas del zumo antes de la gelificación del zumo.

Pectina

Se encontró previamente que algunas pectinas LMC reactivas con el calcio, tales como CU-L024/05 (DE = 25%) separarán cantidades significativas de calcio del vino blanco cuando se suministran en polvo. Los autores se interesaron en determinar si esto podría ocurrir en el zumo de uva. El vino es diferente del zumo de uva debido al 12-14% de contenido de etanol, pero el zumo de uva comercial está 'exento de etanol'.

Se utilizaron fermentadores de sobremesa para investigar los elementos sobre la fermentación y estabilidad de la dosificación combinada de pectinas y carragenanos en el zumo de uva blanca. En el primer caso, se testó la capacidad de las pectinas para separar el calcio del zumo de uva.

Se investigaron 4 LMC, pectinas reactivas con el calcio. Estas pectinas se seleccionaron después de una revisión extensa de tipos de pectina, basada en niveles de DE y reactividad con el calcio. La pectina en polvo se dispersó concienzudamente en zumo de uva a 1 g/L a 10°C, utilizando un agitador magnético para agitar durante 15 minutos. El zumo se dejó sedimentar a 4°C durante al menos 16 horas antes de la toma de muestras para análisis de calcio. Los resultados se presentan en la Tabla 2. Cada pectina (1 g/L) era capaz de reducir el calcio contenido en el zumo. CU-L024/05 era la menos eficaz - con 15% de reducción; CB-L038/06 era la óptima, dado que separaba prácticamente 23%.

Estos resultados muestran que las pectinas con niveles de DE comprendidos entre 10 y 18% proporcionan la tasa de reducción de calcio óptima en el zumo de uva.

Tabla 2. Efecto de la adición de pectina sobre la reducción de calcio en el zumo de uva. La pectina se añadió a 1,0 g/L en el zumo a 10°C con agitación. ΔCa (%) indica un porcentaje de calcio eliminado del zumo.

	control	CU-L024/05	TS1580	CB-L038/06	CU-L023/05
Pectina DE (%)	-	25	18	10	7
Ca ²⁺ (mg/L)	89	75	70	69	72
ΔCa (%)	-	-15,7	-21,3	-22,5	-19,1

Ejemplo 2 - Efecto de las adiciones de CSW-2 y CB-L038/06 sobre la tasa de fermentación y la producción de alcohol

Se seleccionaron CSW-2 y CB-L038/06 para pruebas de fermentación adicionales (nivel de 20 L). Se utilizaron 5 fermentadores. Se trató el zumo Chardonnay de la añada de 2007 con CSW-2 (0,2 g/L), CB-L038/06 (1,5 g/L) o una combinación de ambos. Como control se utilizó zumo sin tratar. La adición de bentonita (1 g/L) sirvió como control positivo. Cada zumo se transfirió al fermentador inmediatamente después del tratamiento. Se enfrió a 10°C durante

16 horas antes de inocular la levadura de vino hidratada - QA23. La fermentación se controló a 16°C durante 12 días.

5 La Figura 1 muestra que el zumo de uva tratado fermentaba más rápidamente que el control. La producción de alcohol después de la fermentación del zumo tratado era prácticamente la misma con 11,8% (v/v). El alcohol en el zumo sin tratar era sólo 10,3% después de 12 días. Después de 16 días el mismo había alcanzado prácticamente 11,5% (no representado).

10 **Ejemplo 3 - Efecto del tratamiento del zumo de uva con CSW-2 y CB-L038/06 sobre el calcio, las materias volátiles y la estabilidad del vino.**

La concentración de calcio durante la fermentación del zumo de uva tratado se monitorizó los días 0, 6 y 12.

15 La concentración de calcio en el zumo sin tratar era > 115 mg/L al comienzo de la fermentación (Figura 2). La adición de bentonita o CSW-2 (carragenano) no reducía el calcio en el zumo. Sin embargo, la adición de CB-L 38/06 (sola o en combinación con carragenano) daba como resultado una disminución significativa del calcio en el zumo. Una reducción de calcio aún más evidente ocurría en el vino acabado que exhibía una reducción de 28,4% con pectina sola y 32,4% en combinación con carragenano. Esto es debido presumiblemente a que la gelificación/precipitación de la pectina en el vino es más eficaz debido al alcohol.

20 La bentonita y el carragenano reducían ambos el calcio en ~ 10% después de la fermentación, lo cual es todavía significativo.

25 Las materias volátiles en el vino (ésteres, alcoholes superiores y ácidos) se monitorizaron durante la fermentación. Los ésteres (Figura 3A) en los vinos de CSW-2 y CB-L038/06 aumentaban en > 21% (hexanoato de etilo) hasta 140% (acetato de feniletilo). Esto suma hasta un 49% de aumento en la producción de ésteres total. En el zumo tratado con bentonita, la producción de hexanoato de etilo disminuía un 11%, pero la producción de octanoato de etilo aumentaba 71%. Globalmente, no se registraba cambio alguno en la producción total de ésteres con el zumo de uva tratado con bentonita.

30 El co-tratamiento con carragenano y pectina conducía a un aumento en la mayoría de los alcoholes superiores (Figura 3B) excepto n-propanol, que disminuía ligeramente en un 7%. La producción total de alcoholes superiores aumentaba 34%, comparada con ~ 14% para el zumo tratado con bentonita. Una vez más, el co-tratamiento con carragenano-pectina daba como resultado un aumento de 110% en ácido octanoico, pero una disminución de 33% en el nivel de ácido decanoico. Globalmente, los ácidos totales aumentaban 27%. En el vino tratado con bentonita los ácidos totales disminuían un 10%.

35 Los vinos fueron evaluados también por un panel sensorial de la empresa. 8 de 9 probadores preferían el vino que se produjo a partir del zumo co-tratado con carragenano-pectina. Se consideraba más afrutado y más auténtico para 'tipo Chardonnay'.

40 En contraste, aunque los datos químicos indicaban que el tratamiento con bentonita no afectaba acusadamente a las materias volátiles del vino, el panel juzgó que este vino tenía poco cuerpo y era algo 'terroso'. La bentonita reducía de hecho el color comparada con el control, mientras que los otros tratamientos no lo hacían (Tabla 3).

45

Tabla 3. Cambios en el pH y el color del vino causados por los tratamientos del zumo.

	control	Bentonita	CSW-2+CB-L38/06
pH	3,6	3,5	3,6
Color (unidades EBC)	2,4	1,5	2,3

50 Estabilidad al calor

Los vinos se enfriaron a 4°C y se incubaron durante 5 días, se filtraron a través de un filtro de fibra de vidrio Millipore y se evaluaron finalmente respecto a estabilidad al calor. El vino de control era ~ 60 NTU (Figura 4), y el vino CB-L038/06 daba un valor de 40NTU. Esto está lejos de ser una mejora 'significativa'. El tratamiento del zumo con carragenano (CSW-2) producía un resultado muy bajo de NTU en el vino - disminución hasta 5,2, con pectina+carragenano esto descendía a 4,7. Los productores de vino en Australia tienen como objetivo típicamente un valor de 2 o menos. El vino de bentonita (1,0 g/L) ensayado a 1,4NTU, está muy por debajo de este valor.

60 Este ejemplo muestra que el tratamiento del zumo de uva puede ser una vía más cómoda y más sencilla de estabilizar el vino que la práctica actual, que trata el vino después que se ha completado la fermentación. La bentonita tiene por sí misma una capacidad muy limitada para eliminar calcio del vino, cuando se añade antes o después de la fermentación. La pectina se destaca como un agente muy eficaz para eliminación del calcio.

En combinación con carragenano parece ser ligeramente más eficaz. El carragenano elimina proteínas, pero no tiene prácticamente efecto negativo alguno sobre los niveles de materias volátiles. La bentonita es aún mejor en la terminación de proteínas, y así, el carragenano en combinación con una dosis muy baja de bentonita debería alcanzar < 2 NTU en el test de calor sin efecto alguno o sólo con un efecto escaso sobre las materias volátiles del vino. Una combinación de bentonita, carragenano y pectina puede ser la 'receta' óptima para estabilización del vino. La misma proporciona también un gran alcance en cuanto a versatilidad para los productores de vino.

Ejemplo 4 - Efecto de la adición de bentonita durante el tratamiento del zumo de uva sobre la estabilidad del vino

La práctica pasada ha consistido invariablemente en el tratamiento del vino con macromoléculas solubles. Esto requiere el uso de bombas dosificadoras y equipo asociado que aumenta los costes y la complejidad de la producción del vino y limita la aplicación a bodegas de tamaño medio o grande. Incluso entonces puede no considerarse económicamente justificado. Por ello, y a fin de evaluar adyuvantes de proceso solubles, los inventores han buscado macromoléculas que sean igualmente eficaces cuando se introducen en polvo. Esto crea productos mucho más versátiles y una facilidad de aplicación más simple.

Una combinación de este tipo para el tratamiento del zumo de uva se describe en la sección siguiente. Se combinó bentonita (0,4 g/L) con carragenano CSW-2 (0,1 g/L) y pectina TS1580 (1,0 g/L). La mezcla de polvos se utilizó para tratar zumo de uva que se empleó subsiguientemente para fermentaciones de sobremesa en laboratorio. Se utilizaron como controles zumo sin tratar y una mezcla sin bentonita (CSW-2 + TS1580). Las mezclas se añadieron cuidadosamente a los zumos en botellas Schott de 1 litro durante 15 minutos antes de dejar que las muestras se sedimentaran a 4°C durante al menos 16 horas. Se hidrató luego una cantidad de 0,2 g/L de levadura seca de vino QA23 en agua destilada y se inoculó en cada botella. Se dejó luego que la fermentación transcurriera a la temperatura ambiente (22°C) durante 10 días.

Los resultados (Tabla 4) muestran que la formación de materias volátiles en los zumos tratados aumentaba significativamente en comparación con el control, como era de esperar. Sin embargo, los valores finales de pH, nivel de alcohol y color del vino no cambiaban. La concentración de calcio del vino en los vinos tratados era aproximadamente 25% menor comparada con el control. La concentración de sodio en ambos casos aumentada desde 12 mg/L a 84-85 mg/L. Esto está todavía dentro del intervalo aceptable para el vino blanco de Australia. Y lo que es más importante, ambos tratamientos producían vinos más estables. El vino de control alcanzó un registro de 32NTU en el test de calor. El vino de (pectina + carragenano) alcanzó un registro de 5,8 NTU. El vino producido a partir de zumo de uva tratado con pectina, carragenano y bentonita era 2,7 NTU. Esto indica que sería factible un proceso en un solo paso para reemplazar el uso post-fermentación de una dosis elevada de bentonita para estabilización al calor. El tratamiento con bentonita + CSW-2 + TS1580 es una opción de este tipo.

Tabla 4. Efectos del tratamiento de zumo de uva sobre la formación de materias volátiles, productos químicos y propiedades físicas del vino. 1: Control sin tratar, 2: CSW-2 + TS1580 y 3: bentonita + CSW-2 + TS1580. La diferencia (\pm %) indica cambios entre el test y el control. Un aumento de 10% o más está resaltado en negra, mientras que una disminución de 10% o más está resaltada en cursiva.

5

Ésteres	Octanoato de etilo	0.44	0.72	63.18	0.76	72.67
	Acetato de fenil-etilo	0.28	0.60	114.3	0.62	121.4
	Acetato de isoamilo	0.96	1.96	101.2	2.18	127.1
superiores	n-propanol	53.60	53.20	-0.7	52.80	-1.5
	Isobutanol	31.80	43.20	35.8	42.20	32.7
	Alcohol isoamílico	118.60	125.8	6.1	126.0	6.2
	Alcohol fenil-etílico	38.00	35.00	-7.9	35.00	-7.9
Ácidos grasos	Ácido hexanoico	2.50	5.08	103.2	5.56	122.4
	Ácido octanoico	4.28	7.08	65.4	7.56	76.6
	Ácido decanoico	1.14	1.62	42.1	1.80	57.9
	Alcohol (v/v, %)	10.43	10.71	2.7	10.73	2.9
	pH	3.42	3.42	0.0	3.42	0.0
	Color	1.60	1.70	6.3	1.70	6.3
Iones	Ca ²⁺	98.00	74.00	-20.6	72.00	-26.6
	Na ⁺	12.00	85.00	608.3	84.00	600.0
	Turbidez en caliente	32.00	5.8	-82.0	2.7	-91.5

Conclusión

10 Las bebidas fermentadas tales como el vino tienen una complejidad excepcional. Los tratamientos posteriores a la fermentación para conseguir la estabilización al calor y al frío influyen generalmente de hecho en las características de sabor del vino.

15 La estabilización de las bebidas fermentables tales como el zumo de uva en el caso del vino es una vía diferente de enfocar la estabilización de las bebidas. El punto de adición de pectina al zumo de uva puede parecer contrario a la intuición, cuando el tratamiento con pectinasa se utiliza frecuentemente para evitar problemas de filtración aguas abajo de la fermentación. Los adyuvantes de proceso macromoleculares se añaden generalmente como soluciones o suspensiones coloidales, lo cual puede ser problemático, dado que ello requiere equipo de dosificación y suministro que aumenta los costes generales y limita la incorporación de nueva tecnología. Los sistemas diseñados específicamente conducen usualmente a cierta pérdida de flexibilidad de la planta.

20 El método y la composición de la presente invención reducen algunos de estos problemas. El carragenano y la pectina son ingredientes 'considerados generalmente como seguros (GRAS)'. La pectina existe naturalmente en todas las plantas, y aunque existen diferencias en complejidad estructural, la estructura general de este ácido poligalacturónico es la misma. El carragenano es también un adyuvante de procesamiento alimentario que se recupera en cantidades comerciales de plantas marinas. Las mezclas en polvo de pectina y carragenano pueden dosificarse por adición manual, o mediante tornillo, u otros sistemas mecánicos de suministro.

25 Existen beneficios potenciales en la utilización de estos pretratamientos de las bebidas. Se ha encontrado que las fermentaciones son más rápidas, las fermentaciones finales son más claras, mientras que parece no existir cambio alguno del perfil de volatilidad, y ausencia de pérdidas de complejidad en la utilización de estos tratamientos. La pectina, el carragenano y la bentonita son ingredientes alimentarios tradicionales. La estequiometría de la mezcla puede variarse fácilmente dependiendo de las "dianas" moleculares, y/o los cationes a eliminar. La adición de estas macromoléculas no va en detrimento de la técnica del productor de vino, de las experiencias implícitas de él o de ella, y del misterio del proceso.

35

Se predice que los efectos del cambio climático aumentarán a corto plazo. La acumulación de calcio en el fruto es precisamente una de las consecuencias de los cambios de clima, ocasionados probablemente a medida que las plantas optimizan los gradientes osmóticos para acumulación de agua. Existe también probablemente un cambio en el nivel residual de proteínas en el zumo de uva, y posiblemente un aumento en el carácter reactivo de algunas de estas proteínas. La eliminación eficaz de las proteínas termosensibles y la optimización de la capacidad de vino de primera calidad de todas las añadas será muy importante a medida que los rendimientos del fruto disminuyen cuando las hidrotermas se desplazan hacia el norte y el sur, y afectan a los distritos de cultivo de vid tradicionales.

El método y la composición de la presente invención promoverán vinos más afrutados, vino más estable, y eliminarán, o al menos reducirán notablemente la producción de desechos en la producción de vino, lo cual es una vez más un problema crítico de rentabilidad para los productores marginales.

La adición de una mezcla de pectina y carragenano a una bebida fermentable tal como el zumo de uva elimina la mayor parte de las proteínas inestables y una cantidad importante de calcio. El calcio del vino puede controlarse por dosificación de niveles apropiados de pectina en el zumo de uva. Los vinos producidos a partir del zumo tratado son más afrutados, con un cuerpo más pleno. La estabilidad del vino se mejora también significativamente por el tratamiento. Por consiguiente, el vino puede requerir únicamente un proceso de 'abrillantado' o incluso ningún tratamiento de estabilización ulterior cuando se ha tratado por el método de la presente invención.

Ejemplo 4 - Pruebas de añadas con Chardonnay y Sauvignon Blanc

Se realizaron pruebas de añadas con zumo Chardonnay y también con Sauvignon Blanc para evaluar el efecto del tratamiento con pectina y carragenano sobre el requerimiento de bentonita. Adicionalmente, se compararon los efectos de estos tratamientos sobre las materias volátiles del vino, junto con las tasas de fermentación para el zumo tratado y sin tratar. En este ejemplo, los niveles de calcio eran inferiores al umbral máximo de la añada para calcio, y por consiguiente los tratamientos no estaban diseñados para reducir los niveles finales de calcio después de la fermentación en un margen significativo.*

Las pruebas siguientes utilizaron uvas Chardonnay cultivadas en el distrito de tierras altas Victorian Central, y uvas Sauvignon Blanc cultivadas también en esta región.

Añada de 2008

Prueba 1

Se cosecharon las uvas, y se trataron conforme a las condiciones descritas a continuación. En la Parte A, se añadieron la solución de carragenano y polvo de pectina a los zumos de uva Chardonnay, con agitación moderada de los contenedores damajuana. En la Parte B, se añadieron polvo de pectina (TS 1580) y solución de carragenano (CSW-2) directamente a las uvas (45 kg), se mezclaron manualmente para conseguir una distribución uniforme, y se trituraron subsiguientemente utilizando una pequeña prensa accionada a mano.

En la Parte A se establecieron los tratamientos siguientes:

- Control A - Ausencia de adición de pectina o carragenano.
- Tratamiento 1A - Adición de 1,5 g/L de pectina (polvo) y 0,150 g/L de carragenano (líquido) e incubación durante 30 min antes de adición de pectinasa y enfriamiento (duplicado).
- Tratamiento 2A - adición de 1,5 g/L de pectina y 0,150 g/L de carragenano e incubación durante 1 hora antes de adición de pectinasa y enfriamiento (duplicado).
- Tratamiento 3A - Adición de 1,5 g/L de pectina y 0,150 g/L de carragenano e incubación durante 2 horas antes de adición de pectinasa y enfriamiento (duplicado).

Las muestras para análisis de nitrógeno disponible en la levadura (YAN) se recogieron antes de adición de pectinasa y se analizaron por digestión de la muestra con arginasa y ureasa para liberar amoniaco. El amoniaco se cuantifica utilizando un protocolo de enzimación en el cual se mide espectrofotométricamente la formación de la coenzima NADPH durante la conversión de 2-oxoglutarato en L-glutamato en presencia de glutamato-deshidrogenasa.

En la Parte B se establecieron los tests siguientes:

- Control B - Ausencia de adición de pectina o carragenano.
- Tratamiento 1B - Adición de 1,5 g/L de pectina y 0,150 g/L de carragenano a 45 kg de fruto seguido por el procesamiento de mezcla y trituración usual.

ES 2 543 423 T3

- Tratamiento 2B - Adición de 1,5 g/L de pectina y 0,150 g/L de carragenano a 45 kg de fruto y mezcla manual, seguido por incubación durante 1 hora antes de procesamiento como en el caso normal.
- Tratamiento 3B - Adición de 1,5 g/L de pectina y 0,150 g/L de carragenano a 45 kg de fruto y mezcla, seguido por incubación durante 2 horas, antes de procesamiento como en el caso normal.

Después de la incubación, se añadieron 30 ppm (0,4 mL) de pectinasa y las damajuanas se llevaron a 4 °C para sedimentación durante 18 horas antes de la decantación.

10 Se inoculó levadura EC1118 (300 mg/L) en el zumo una vez que las damajuanas se calentaron a 16 °C.

La fermentación se realizó entre 18 y 20 °C y la tasa de fermentación se monitorizó por medida de la densidad en grados Bé. La densidad Bé final era 0. Una vez que se acabó cada fermentación, se llevó la misma a 4 °C, se añadieron 60 mg/L de SO₂ y se dejó sedimentar. El vino se trasegó y se embotelló con tapones roscados para análisis general de calidad, con inclusión de iones metálicos, materias volátiles y estabilidad al calor.

20 Tabla 3. Datos de tratamiento para la Prueba 1, Parte A y Parte B. Los zumos Chardonnay se trataron con una combinación de solución de carragenano y polvo de pectina y se sedimentaron a 4 °C durante 16 horas. Se inoculó levadura de vino EC1118 en el zumo y se fermentó luego a la temperatura ambiente (20 °C) durante 7 días.

Código de la Prueba	Damajuana (DJ) No.	Zumo Tratado (L)	Volumen después de trasego (L)	10% EC1118 añadido (ml)	Información adicional
Parte A Zumo de uva Chardonnay					
Control 1A	D13	12	9,5	30	Bé 10,8, pH 3,37, TA 7,2, YAN 217 FSO ₂ 8mg/l
Control 2A	D14	12	9,3	30	
T 1A	D9	12	9,6	30	
	D10	12	9,25	30	
T 2A	D11	12	8,8	30	
	D16	12	8,4	30	
T 3A	D17	12	8,6	30	YAN 206
	D18	12	8,25	30	
Parte B Uva - trituración - zumo recogido					
Control B		D29	12	10,0	30
T 1B		D30	12	8,5	30
T 2B		D27	12	9,0	30
T 3B		D28	12	8,85	30

Tabla 4. Datos de fermentación para la Prueba 1, Parte A y Parte B

Zumo	DJ No.	Día 1		Día 4		Día 7	
		Bé	Temp	Bé	Temp	Bé	Temp
Control A	13	10,8	16	4,8	23	0	20
	14	10,8	16	4,4	23	0	20
1A	9	10,8	16	4,6	23	0	20
	10	10,8	16	4,6	23	0,2	20
2A	16	10,8	16	4	23	0	20
	11	10,8	16	4,6	23	0,4	20
3A	17	10,8	16	4,2	23	0,2	20
	18	10,8	16	4,2	23	0	20

ES 2 543 423 T3

Zummo	DJ No.	Día 1		Día 4		Día 7	
		Bé	Temp	Bé	Temp	Bé	Temp
Fruto							
Control B	29	11	16	5,6	23	0,4	20
1B	30	11	16	5,4	23	0,2	20
2B	27	11	16	4,8	23	0	20
3B	28	11	16	5,8	23	0,2	20

5 La Tabla 4 registra los cambios en los niveles de azúcar (Bé) durante la fermentación de 7 días para la Parte A (adición al zumo de uva). Después del día 4, los valores Bé para el control y para T1A, 2A y 3A (Chardonnay, pectina y carragenano, 0,5, 1 y 2 horas de incubación) eran muy similares. Y después de 7 días se llegó a la conclusión de que las diferencias en azúcar residual no eran significativas. Análogamente, la tasa de fermentación para la Parte B (pectina y carragenano a las uvas) no exhibía diferencia fundamental alguna el día 4 y el día 7.

Tabla 5. Análisis de materias volátiles para el vino producido en la Prueba 1, Parte A y Parte B

	Control A	1A	2A	3A	Control B	1B	2B	3B
ETOAC	38,1	43,1	41,0	41,0	38,4	40	41,6	45,7
ETHEX	1,0	1,2	1,2	1,1	1,16	1,12	1,08	1,14
ETOCT	1,0	1,2	1,1	1,0	1,1	1,05	0,84	1,06
PHETAC	0,3	0,4	0,3	0,3	0,38	0,41	0,38	0,41
IAMOAC	3,1	3,7	3,2	3,0	3,06	3,14	3,26	3,89
TOTEST	43,5	49,6	46,8	46,4	44,1	45,7	47,2	52,2
NPROH	44,0	43,4	42,1	40,7	37,6	40,5	37,5	45,0
IBUOH	19,5	19,3	19,7	19,5	18,2	19,0	19,7	19,8
IAMOH	132,8	122,2	122,4	123,8	129,2	120,4	132	120,8
PHETOH	28,1	23,4	24,0	24,1	29,6	28,1	29,4	24,1
TOTALC	224,4	208,2	208,1	208,0	214,6	208	218,6	209,7
BUT	1,5	1,7	1,6	1,6	1,5	1,4	1,5	1,4
HEX	4,9	5,6	5,4	5,0	5,0	5,1	4,5	5,0
OCT	9,0	10,6	9,9	9,3	9,7	9,2	8,5	9,0
DEC	3,1	3,8	3,6	3,2	3,4	3,4	2,7	3,4
TOTACD	18,8	21,9	20,7	19,4	19,9	19,6	17,5	19,1
Alc (%)	11,1	11,1	11,1	11,0	11,2	11,2	11,0	11,4

10

Tabla 6. Cambios porcentuales en materias volátiles para la Prueba 1, Parte A y Parte B (véase la Tabla 7)

%	Control A	1A	2A	3A	Control B	1B	2B	3B
ETOAC	0	13,3	7,8	7,6	0,0	4,2	8,3	19,0
ETHEX	0	19,9	14,1	7,3	0,0	-3,4	-6,9	-1,7
ETOCT	0	14,3	10,8	3,0	0,0	-4,5	-23,6	-3,6
PHETAC	0	12,3	0,0	-6,2	0,0	7,9	0,0	7,9
IAMOAC	0	19,4	4,1	-2,9	0,0	2,6	6,5	27,1
TOTEST	0	13,9	7,6	6,7	0,0	3,6	7,0	18,4
NPROH	0	-1,4	-4,3	-7,6	0,0	7,7	-0,3	19,7

%	Control A	1A	2A	3A	Control B	1B	2B	3B
IBUOH	0	-1,0	0,8	-0,3	0,0	4,4	8,2	8,8
IAMOH	0	-8,0	-7,9	-6,8	0,0	-6,8	2,2	-6,5
PHETOH	0	-16,9	-14,8	-14,4	0,0	-5,1	-0,7	-18,6
TOTALC	0	-7,2	-7,3	-7,3	0,0	-3,1	1,9	-2,3
BUT	0	12,2	5,8	7,5	0,0	-1,4	0,7	-5,4
HEX	0	14,0	10,2	2,8	0,0	2,6	-9,5	1,6
OCT	0	17,9	10,2	3,7	0,0	-4,4	-12,0	-7,3
DEC	0	23,9	15,5	3,9	0,0	0,0	-20,9	0,6
TOTACD	0	16,6	10,1	3,3	0,0	-1,8	-11,7	-3,8

- Los datos de materias volátiles del vino para los vinos de la Parte A y la Parte B exhibían variaciones en algunas materias volátiles. Los ésteres totales en cifras absolutas no acusan diferencias fundamentales. El pretratamiento con pectina y carragenano del zumo de uva (1A, 2A y 3A) aumentaba los ésteres totales aproximadamente un 10%. Análogamente, el pretratamiento de las uvas elevaba los ésteres totales aproximadamente en la misma cantidad. Los alcoholes superiores disminuían ligeramente. Los ácidos totales aumentaban ligeramente. Si se comparan los cambios porcentuales (Tabla 6), dichos cambios son como sigue: el pre-tratamiento del zumo de uva (Parte A) aumenta los ésteres totales hasta 14%; el pretratamiento de las uvas (Parte B) aumenta los ésteres hasta 18%. Los alcoholes superiores totales (Parte A frente a B, Tabla 8) disminuían ligeramente más de 7% y 3% respectivamente. Los ácidos totales aumentaban, 16,6% máximo y disminuían 11,7% máximo para las Partes A y B respectivamente.

- Esto es diferente en magnitud a los datos de laboratorio que utilizaban zumo de uva, es decir equivalente a la Parte A de este estudio. Los cambios porcentuales en las fermentaciones de laboratorio eran mayores que 100% para algunos ésteres. Los alcoholes superiores y los ácidos grasos aumentaban también significativamente. Existen varias razones por las cuales puede ocurrir esto - historia previa del zumo, zumo reciente frente a zumo almacenado, efectos de la geometría del fermentador, etc. Sin embargo, está claro que el tratamiento con pectina más carragenano tiene el potencial de cambiar las materias volátiles aromáticas del vino, lo que puede ser utilizado por el productor de vino para manipular, crear o mejorar las características de sabor.

20 Tabla 7. Resultado de estabilidad al calor del vino para la Prueba 1, Parte A y Parte B

Damajuana no.	13	14	9	10	16	11	17	18	29	30	27	28
Test de calor (2h)	36.7	36	44.1	43.4	43.9	44.4	42.8	39.2	52.6	36.1	32.4	31.4
Test de bentonita (ppm)	800	800	400	400	500	400	400	400	800	400	400	400

- La estabilidad al calor de estas fermentaciones se ensayó como se muestra en la Tabla 7. El vino de control requiere 800 mg/L de bentonita, mientras que los vinos tratados necesitaban sólo 400 mg/L en todos los casos aparte de uno (T2A); todos los 8 vinos restantes del test eran equivalentes.

Prueba 2

- Se repitió el protocolo de la Prueba 1 Parte A con el zumo Sauvignon Blanc. Sin embargo, se incluyeron 2 condiciones adicionales: en T2D y 2E polvo de carragenano reemplazó a la solución de carragenano. Los tests se establecieron como sigue:

- Control - Ausencia de pectina o carragenano
- Tratamiento 2A - Adición de 1,5 g/L de pectina (polvo) y 0,150 g/L de carragenano e incubación durante 1 minuto antes de adición de pectinasa y enfriamiento (duplicado).
- Tratamiento 2B - Adición de 1,5 g/L de pectina (polvo) y 0,150 g/L de carragenano e incubación durante 10 minutos antes de adición de pectinasa y enfriamiento (duplicado).
- Tratamiento 2C - Adición de 1,5 g/L de pectina (polvo) y 0,150 g/L de carragenano e incubación durante 30 min antes de adición de pectinasa y enfriamiento (duplicado).
- Tratamiento 2D - Adición de 1,5 g/L de pectina (polvo) y 0,250 g/L de carragenano e incubación durante 10 min antes de adición de pectinasa y enfriamiento (duplicado).
- Tratamiento 2E - Adición de 1,5 g/L de pectina (polvo) y 0,250 g/L de carragenano e incubación durante 30 min antes de adición de pectinasa y enfriamiento (duplicado).

ES 2 543 423 T3

La pectina y el carragenano se agitaron enérgicamente con el zumo utilizando una hélice eléctrica manual conforme al plan anterior. Se añadió subsiguientemente pectinasa (400 µL en 12 L) y las damajuanas se llevaron a 4 °C para sedimentación durante 16 horas. Después de la sedimentación, todos los tratamientos se trasegaron, se dejaron calentar luego a 16 °C y se inocularon con levadura EC1118 a 200 mg/L. Los zumos se fermentaron y embotellaron finalmente conforme al protocolo de la Prueba 1.

5

Tabla 8. Datos de tratamiento para la Prueba 2. Los zumos Sauvignon Blanc se trataron por una combinación de solución de carragenano y polvo de pectina en T2A, 2B y 2C, mientras que en T2D y 2E, la solución de carragenano se reemplazó por polvo de carragenano. Después del tratamiento, los zumos se sedimentaron a 4 °C durante 16 horas. Se inoculó levadura de vino EC1118 en los zumos y se fermentó luego a la temperatura ambiente (20 °C) durante 7 días.

10

	DJ No.	Volumen Inicial (L)	Volumen Trasegado (L)	Datos del Zumo
	10	12	10,50	pH 3,24
Control	20	12	10,60	TA 10,7
	3	12	10,15	Bé 11
T2A	8	12	10,05	YAN 307
	2	12	10,25	SO ₂ 30
T2B	7	12	10,15	
	4	12	10,40	
T2C	6	12	10,40	
	5	12	10,35	
T2D	14	12	10,30	
	18	12	10,30	
T2E	11	12	10,40	

Tabla 9. Datos de fermentación para la Prueba 2 después del día 7

15

DJ No.	RS	FSO ₂	TSO ₂	pH	TA	Alc	VA
10	0,25	36	131	3,14	10,2	10,9	0,13
20	0,09	33	161	3,14	10,6	10,8	0,22
3	0,24	29	136	3,17	10,4	10,9	0,34
8	0,29	35	134	3,18	10,0	10,9	0,20
2	0,34	26	130	3,20	10,0	10,9	0,24
7	0,20	33	149	3,19	10,1	10,8	0,44
4	1,51	29	153	3,17	10,3	10,9	0,37
6	0,20	36	140	3,18	10,1	10,9	0,19
5	0,30	29	129	3,19	10,1	10,9	0,23
14	0,25	36	137	3,19	10,1	11,0	0,28
18	0,29	35	133	3,18	10,1	10,9	0,14
11	0,21	37	149	3,18	10,1	10,9	0,35

Tabla 10. Análisis del vino y cambios porcentuales en materias volátiles para la Prueba 2

	Control	2A	2B	2C	2D	2E	%	2A	2B	2C	2D	2E
ETOAC	40,55	41,45	45,80	42,65	45,35	45,70		2,2	12,9	5,2	11,8	12,7
ETHEX	0,98	0,82	0,78	0,96	0,87	1,02		-15,9	-20,5	-2,1	-10,8	4,1

ES 2 543 423 T3

	Control	2A	2B	2C	2D	2E	%	2A	2B	2C	2D	2E
ETOCT	0,94	0,79	0,79	0,86	0,86	0,87		-16,0	-16,0	-8,5	-9,0	-8,0
PHETAC	0,55	0,56	0,64	0,47	0,59	0,45		2,8	16,5	-14,7	8,3	-17,4
IAMOAC	3,67	3,59	4,67	3,87	4,40	3,66		-2,2	27,1	5,3	19,9	-0,3
TOTEST	46,65	47,20	52,65	48,80	52,05	51,65		1,2	12,9	4,6	11,6	10,7
NPROH	32,70	26,25	20,65	29,65	26,90	35,30		-19,7	-36,9	-9,3	-17,7	8,0
IBUOH	20,40	20,50	22,50	17,80	20,90	19,15		0,5	10,3	-12,7	2,5	-6,1
IAMOH	142,65	137,80	131,20	130,90	130,30	133,35		-3,4	-8,0	-8,2	-8,7	-6,5
PHETOH	30,75	31,25	25,35	24,60	24,60	25,00		1,6	-17,6	-20,0	-20,0	-18,7
TOTALC	226,50	215,80	199,70	202,95	202,70	212,80		-4,7	-11,8	-10,4	-10,5	-6,0
BUT	1,29	1,40	1,21	1,43	1,34	1,56		8,1	-6,6	10,5	3,5	20,5
HEX	5,01	4,84	4,59	5,07	4,84	5,25		-3,4	-8,5	1,2	-3,4	4,7
OCT	9,81	8,90	8,61	9,38	9,44	10,22		-9,3	-12,2	-4,4	-3,8	4,1
DEC	3,24	2,58	2,58	2,95	2,94	2,96		-20,4	-20,5	-9,0	-9,4	-8,6
TOTACD	19,82	18,14	17,38	19,20	18,93	20,39		-8,6	-12,3	-3,2	-4,5	2,9

Los datos de materias volátiles acusaban las mismas tendencias que anteriormente: es decir, los ésteres aumentaban, los alcoholes superiores disminuían ligeramente y los ácidos totales disminuían ligeramente.

5

Tabla 11. Datos de estabilidad al calor para la Prueba 2

DJ No.	10	20	3	8	2	7	4	6	5	14	18	11
Ensayo de calor (2h)	67,4	61,8	49,7	28,0	49,0	43,7	52,8	45,3	41,1	33,1	19,8	24,4
Test de bentonita (ppm)	1200	1200	700	600	800	600	600	700	500	500	600	500

10 Los datos de estabilidad al calor muestran una gran disminución en el requerimiento de bentonita para estabilización al calor. En el vino de control, la dosis de bentonita para estabilización alcanzaba 1200 mg/L. Esto podría reducirse a menos de la mitad con algo de la combinación de pectina más carragenano como se muestra en la Tabla 11.

15 Estas pruebas se realizaron con uvas o zumo recientes en las condiciones de producción de vino. Se observó una gran disminución en el requerimiento de bentonita utilizando tratamientos de pectina más carragenano. Los cambios en la distribución de materias volátiles, aunque no tan grandes como los elevados en las condiciones de pequeña escala del laboratorio, eran suficientes para demostrar que estos pretratamientos pueden utilizarse si se requiere para modificar los activos de sabor en el vino acabado.

20 **Ejemplo 5 - Efectos de la tasa de dosificación de carragenano, el tiempo de contacto entre el zumo de uva y la pectina más carragenano durante la fermentación del vino**

Este ejemplo se llevó a cabo utilizando uvas Sauvignon Blanc cultivadas en la región de cultivo de uvas Victorian Centre. Se recogió zumo de vertido directo y se combinó con zumo después de prensado. Los detalles del zumo se muestran a continuación en la Tabla 12:

Tabla 12. Zumo Sauvignon Blanc utilizado en este estudio

Bé	pH	TA	FSO ₂	TSO ₂	YAN	Malato
12	3.25	7.77	14	41	239	4

5 Se añadieron en cada caso 1,5 L de zumo a un fermentador de sobremesa de 2 L y se mezclaron enérgicamente con polvo de pectina (TS 1580) más solución de carragenano al 2% (CSW-2) utilizando la receta siguiente durante 15 minutos. Se utilizó como control un zumo sin tratar. Los zumos de control y tratados se mezclaron con 30 ppm de pectinasa y se almacenaron luego a 4 °C durante 16 horas antes del trasiego. En los tratamientos 5 y 6 (T5 y T6) no se realizó trasiego alguno, y por tanto la pectina y el carragenano añadidos se arrastraron a la fermentación.

10 Tabla 13. Tabla de tratamiento de los zumos. La pectina y el carragenano se mezclaron con el zumo a 20 °C utilizando un agitador magnético durante 15 minutos.

Tratamiento	Control	1	2	3	4	5	6
Pectina (g/L)	0	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Carragenano (g/L)	0	0,15	0,20	0,30	0,50	0,15	0,15
Volumen de Zumo (L)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Volumen después de Trasiego	1,5	1,4	1,4	1,3	1,3	1,5	1,5

15 Se inoculó una lechada de levadura de vino (EC1118) al 10% en cada zumo una vez que se calentaron los fermentadores a 16 °C.

20 La fermentación se controló entre 20 y 22 °C y la tasa de fermentación se monitorizó por medida de la densidad Bé (Tabla 14). Una vez que el valor Bé de cada fermentación alcanzó cero, se llevó la misma a 4 °C durante 7 días. El sobrante (vino) se recogió y se pasó a través de un filtro de jeringuilla de nailon de 0,45 µm. Finalmente se realizaron los tests de estabilidad al calor utilizando las muestras de vino filtradas con empleo de los protocolos de test estándar.

Tabla 14. Datos fermentación para Sauvignon Blanc. La temperatura de fermentación estaba comprendida entre 20 y 32 °C.

25

Azúcar (Bé)	Control	1	2	3	4	5	6
Día 0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Día 2	9,4	9,2	8,9	8,8	8,6	8,6	8,8
Día 5	2,1	2,8	2,2	2,2	2,6	2,6	2,8
Día 7	0	0	0	0,2	0	0	0

Los datos muestran que la utilización de azúcar era muy similar durante la fermentación en todos los casos de test comparada con el control. Todas las fermentaciones cesaron después de 7 días y el valor Bé era efectivamente 0.

30 Tabla 15. Datos de estabilidad al calor del vino tratado y el vino de control. Se tomaron muestras duplicadas y se midieron en la mayoría de las condiciones excepto T4 y T5. El flujo de filtración está clasificado entre rápido (0) y muy lento (5).

Tratamiento	Control	1	2	3	4	5	6
Dificultad de filtración	5	5	3	0	0	5	5
Turbidez (NTU)	33,7	9,59	2,82	2,14	1,59	1,59	1,64
	34,7	9,32	3,04			1,49	1,48

35 Los datos (Tabla 15) muestran claramente que la estabilidad al calor del vino está estrechamente relacionada con la tasa de dosificación de carragenano. Por tanto, una dosis incrementada de carragenano da como resultado un vino más estable a juzgar por el test de calor (véase T1, 2, 3 y 4 en la Tabla 17). Esto es especialmente evidente una vez

que se añadieron 0,5 g/L de carragenano al zumo. El vino resultante es estable al calor, y no requiere tratamiento ulterior alguno con bentonita. Por el contrario, los datos de filtración muestran que tasas elevadas de dosis de carragenano reducen la filtrabilidad a valores inaceptables. Sin embargo, el mantenimiento de la pectina y el carragenano en la fermentación consigue una estabilidad excelente al calor en comparación con los zumos que se trasegaron antes de la fermentación (T5 y T6 frente a T1). Una tasa de dosificación de carragenano baja puede alcanzar incluso estabilidad al calor y no requerir tratamiento alguno ulterior posterior a la fermentación, con tal que exista un tiempo de contacto suficientemente largo, tal como en el ejemplo anterior, dejando el carragenano en el zumo durante la fermentación. Al mismo tiempo, las tasas de tratamiento de carragenano son lo suficientemente bajas para causar poco impacto sobre la práctica de filtración estándar.

En las reivindicaciones que siguen y en la descripción de la invención que antecede, excepto donde el contexto requiera otra cosa debido a expresiones lingüísticas específicas o implicación necesaria, el término "comprenden" o variaciones tales como "comprende " o "que comprende(n)" se utilizan en sentido global, es decir para especificar la presencia de las características indicadas pero sin excluir la presencia o adición de características adicionales en diversas realizaciones de la invención.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para clarificación de bebidas fermentables que comprende tratar la bebida con una pectina pobre en ésteres metílicos o pobre en metoxi (LM) que tiene un grado de esterificación (de E) de 50% o menos y un carragenano antes de la fermentación.
2. El método conforme a la reivindicación 1, en el cual la pectina pobre en ésteres metílicos o pobre en metoxi (LM) tiene un DE de 0-35%, 7-25% o 10-18%.
- 10 3. El método conforme a la reivindicación 2, en el cual la pectina LM es una pectina pobre en ésteres metílicos (LMC) o una pectina amidada pobre en ésteres metílicos (LMA).
- 15 4. El método conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el cual la pectina es pectina estandarizada (mezcla de azúcares) o una pectina activa (exenta de azúcares).
- 20 5. El método conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el cual la pectina se encuentra en la forma de una sal, tal como una sal metálica, tal como una sal de metal alcalino, tal como de sodio o potasio.
6. El método conforme a una cualquiera de reivindicaciones 1 a 5, en el cual la pectina es reciclable y se reutiliza después de lavado con una solución ácida.
- 25 7. El método conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el cual el carragenano es un tipo soluble en agua fría, tal como carragenano de dominio iota, o un tipo insoluble en agua fría, tal como un carragenano de dominio kappa.
- 30 8. El método conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el cual la pectina y el carragenano se añaden a la bebida fermentable en forma de polvo o en suspensión o solución coloidal.
9. El método conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el cual la cantidad de pectina añadida cuando la bebida fermentable es una bebida ácida que tiene un nivel de calcio de 70 mg/L o superior es 0,2-5 g/L o 0,2--3 g/L, o en el cual la cantidad de carragenano añadida a la bebida fermentable es 0,02 a 0,2 g/L en forma líquida o 0,05 a 0,5 g/L en forma de polvo.
- 35 10. El método conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el cual se añaden bentonita y/o un conservante a la bebida fermentable.
- 40 11. El método conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el cual la bebida fermentable es un zumo de fruto o un fruto que se tritura subsiguientemente y en el que, opcionalmente, la pectina y el carragenano se añaden separados del zumo o fruto durante el trasiego o permanecen en el zumo o fruto durante la fermentación.
- 45 12. El método conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el cual la bebida fermentable es una bebida fermentable alcohólica, tal como cerveza, cerveza rubia, ale, sidra de manzana, sidra de pera, bebida alcohólica, licor o vino.
- 50 13. Una -composición de clarificación para tratamiento de una bebida fermentable antes de la fermentación que comprende una pectina pobre en ésteres metílicos o pobre en metoxi (LM) que tiene un grado de esterificación (DE) de 50% o menos y un carragenano.
14. Uso de una pectina pobre en ésteres metílicos o pobre en metoxi (LM) que tiene un grado de esterificación (DE) de 50% o menos y un carragenano como composición de clarificación para tratamiento de una bebida fermentable antes de la fermentación.

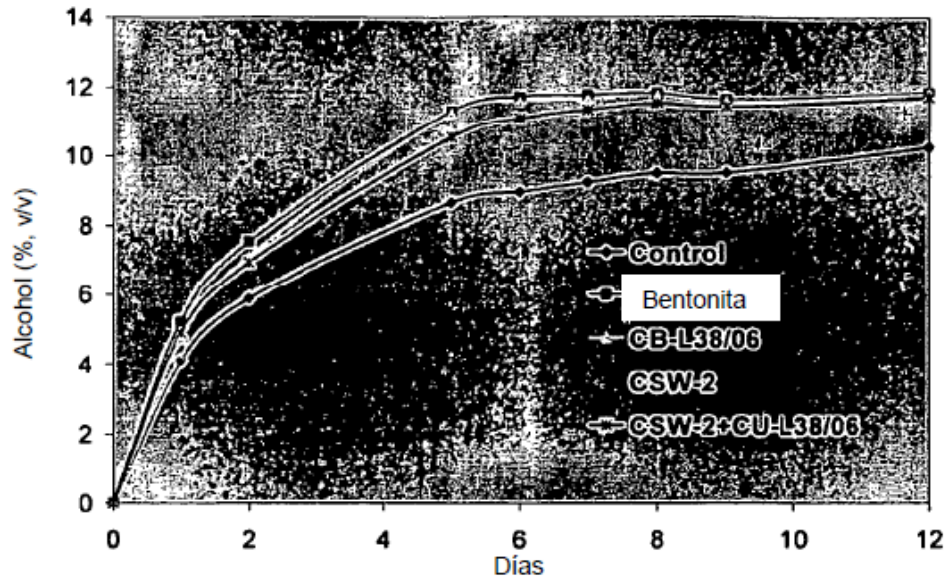


Figura 1

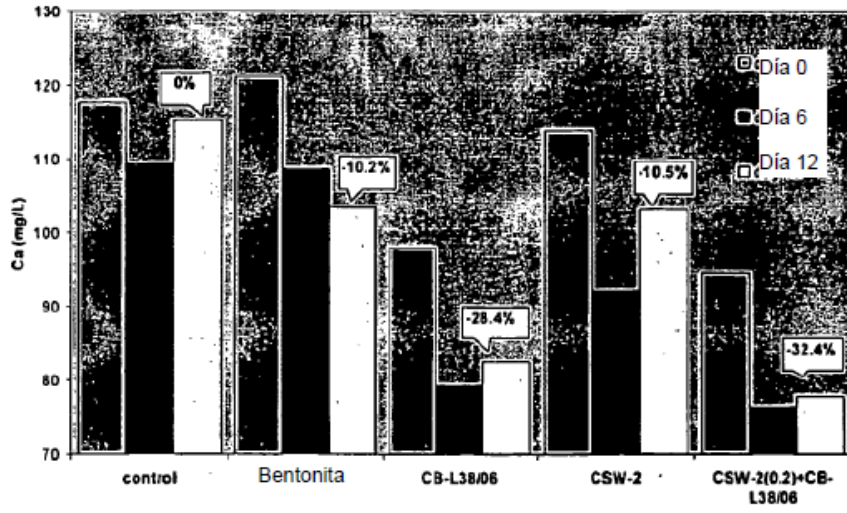


Figura 2

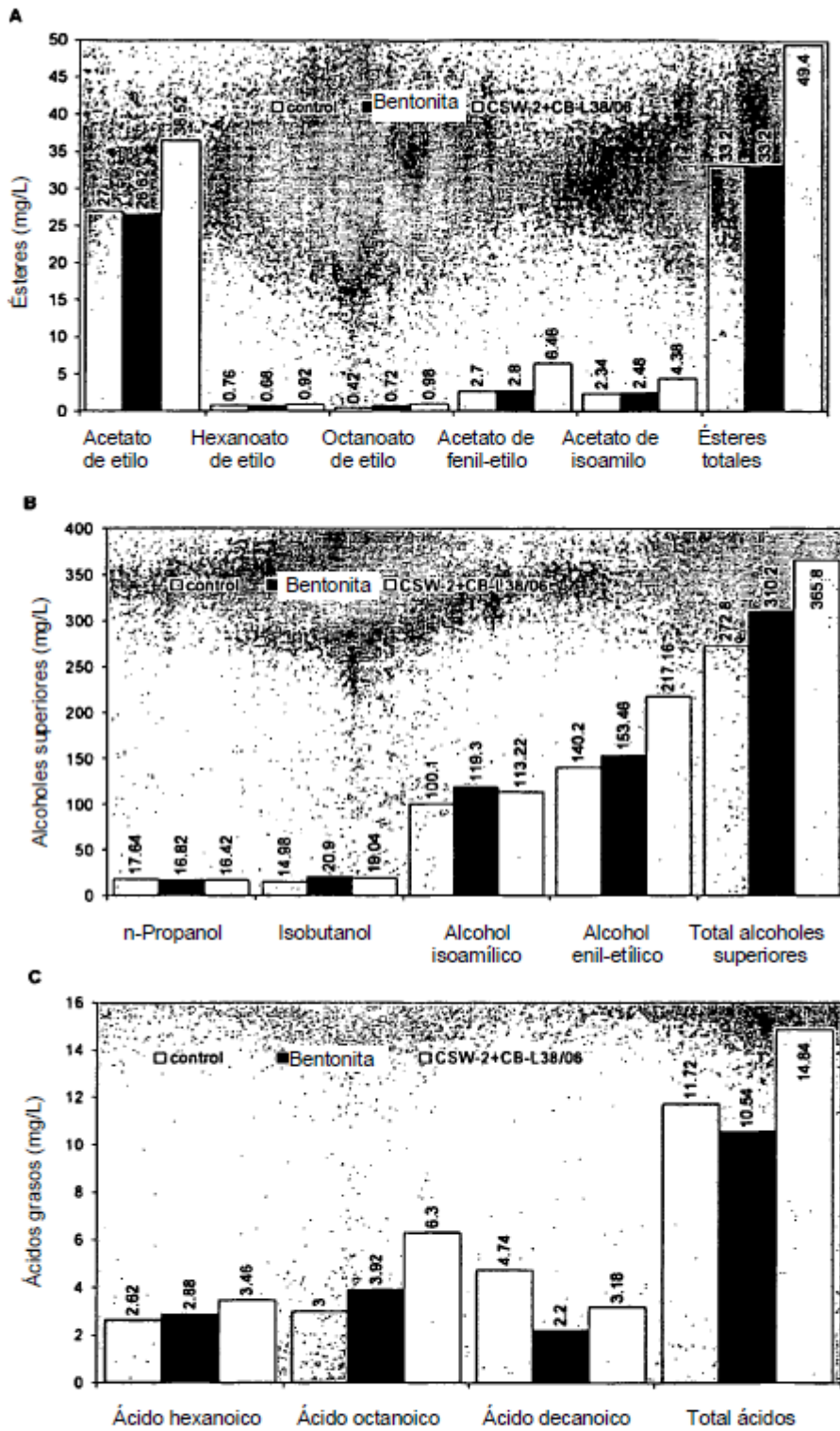


Figura 3

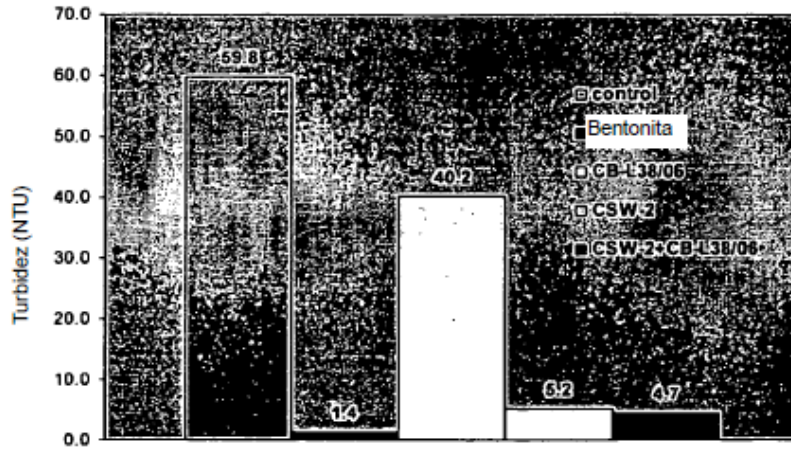


Figura 4