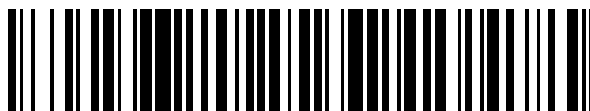


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 573**

51 Int. Cl.:

C12G 1/02 (2006.01)

C12G 3/02 (2006.01)

C12P 7/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.03.2007 PCT/US2007/064391**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.09.2007 WO07109662**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2007 E 07758900 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2017 EP 2007868**

54 Título: **Aditivos de liberación sostenida para productos de fermentación**

30 Prioridad:

20.03.2006 US 784091 P

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

04.07.2017

73 Titular/es:

**GUSMER ENTERPRISES, INC. (100.0%)
124 M STREET
FRESNO, CA 93721, US**

72 Inventor/es:

**WALKER, TERESA, L.;
PETERSEN, LARS y
MENZIES, ROBERT, H.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 621 573 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

Aditivos de liberación sostenida para productos de fermentación

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere generalmente a la mejora de los procesos de fermentación de productos alimentarios proporcionando aditivos a microbios a lo largo del tiempo que permiten la liberación de componentes esenciales durante las etapas específicas de crecimiento que ayudarán a los procesos metabólicos vitales. Más concretamente, esta invención se refiere a la mejora y manipulación de microbios de fermentación alcohólica en zumos, bebidas fermentadas, y otros productos comestibles y a la producción de biocombustibles.

REFERENCIAS CITADAS

Una relación de referencias bibliográficas mencionadas en esa solicitud se puede encontrar en la sección precedente a las reivindicaciones.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Aunque los escritos más antiguas en medicina se remontan a antiguas civilizaciones, descubrimientos científicos más recientes impulsaron la progresión de tecnologías de sistemas de administración. En 1862, John Wyeth, un farmacéutico e investigador, fabricó medicinas en grandes cantidades para doctores y para su distribución al por mayor. Su compromiso con la producción en masa de medicinas le llevó al desarrollo de la "píldora comprimida" o la pastilla y a la invención de la prensa de pastillas giratoria en 1872. Los productos farmacéuticos en forma de pastillas permitieron la toma de medicación pero todavía a menudo se requerían múltiples administraciones. El continuo desarrollo de la industria farmacéutica moderna, especialmente desde los años 50, ha conducido a un exceso de tecnologías de liberación controlada o de liberación en el tiempo. Estas tecnologías han sido utilizadas con numerosos productos farmacéuticos y se pueden dividir en tres categorías – liberación retardada, sistemas dirigidos a una zona y liberación sostenida o en el tiempo (Chaudhari, 2004).

Los sistemas de liberación retrasada dispensan dosis repetitivas de uno o más ingredientes activos a menudo utilizando rutas de liberación parenterales. Estas rutas de liberación incluyen la administración de fármacos transdérmica, inyecciones intravenosas, inyecciones intramusculares, o implantes subcutáneos. Los sistemas de suministro de fármacos transdérmicos son generalmente no invasivos, son estéticamente aceptables, pueden proporcionar suministro local durante varios días, y pueden ser utilizados en pacientes inconscientes (Kaparissides et al., 2006).

Las tecnologías dirigidas a una zona son utilizadas en numerosos sistemas biológicos para suministrar ingredientes activos directamente a ubicaciones objetivo. Históricamente, estos sistemas han sido controlados por difusión; sin embargo, la investigación moderna está investigando sistemas de polímeros biodegradables (Vogelson, 2001). Los sistemas de suministro de objetivo incluyen microesferas poliméricas, microcápsulas, nanocápsulas, complejos macromoleculares, y gotas poliméricas.

Los sistemas de liberación sostenida están formulados para disolver y liberar lentamente una sustancia a lo largo del tiempo. Estos sistemas están generalmente formulados con sustancias activas embebidas en una matriz de agentes de liberación en el tiempo. Estos mecanismos de liberación sostenida permiten que los ingredientes activos se escapen a través de la difusión o a través de la liberación osmótica, es decir, hinchamiento físico para formar un gel en el que los ingredientes activos son liberados a través de la superficie del producto.

Con los éxitos de las tecnologías de administración avanzadas, los científicos han expandido la industria más allá de los productos farmacéuticos para incluir diversas aplicaciones relacionadas con la agricultura y la biorremediación. BIOCAPSULES (Center o Bioremediation, Salt Lake City, Utah) ofrece microorganismos encapsulados específicos de zona para la liberación sostenida, retrasada y/o de objetivo en aplicaciones medioambientales y de biorremediación (<http://programs.weber.edu/bioremediación/biocapsu.htm>). El enfoque de BIOCAPSULES es proporcionar liberación en el tiempo estable, simultaneo de microorganismos y nutrientes clave a aplicaciones medioambientales utilizando una matriz biodegradable. También se hace referencia a un producto llamado BIOGREEN (Biogreen_{LTD}, Melbourne, Vic, Australia) para insecticidas de liberación sostenida en control de cosechas. La patente de Estados Unidos 5.472.955 concedida a Kellerby está dirigida a insecticidas de liberación sostenida para el control de la mosca del cuerno. Además, un producto llamado MICROESSENTIALS EZ (Cargil AgHorizons, Cargill Limited, Winnipeg, Manitoba, Canadá) está dirigido a fertilizantes de liberación sostenida para el abono de cosechas.

Aunque las tecnologías de liberación sostenidas o en el tiempo aun no han sido utilizadas en aplicaciones de fermentación, la investigación ha mostrado que la nutrición equilibrada es extremadamente importante para la velocidad de fermentación, crecimiento de células, y cinética de fermentación (Chaney et al., 2006). A los productores de vino a menudo se les requiere añadir aditivos en varias etapas de la fermentación para evitar las fermentaciones atascadas, para reducir o evitar la formación de sulfuro de hidrógeno, ácido acético, carbamato de etilo, y otros metabolitos no deseados así como para mejorar los perfiles de aroma y sabor.

El papel de la suplementación microbiana a través de aditivos complejos y nutrientes que contienen nitrógeno asimilable, vitaminas, minerales y aminoácidos ha sido documentado (Agenbach, 1977; Butzke, 1998; Ingledew y Kunkee, 1985; Ough et al., 1989; y Sablayrolles, et al, 1996). La investigación ha mostrado que múltiples adiciones son de hecho superiores a adiciones sencillas (Alfenore et al., 2002; Chaney et al., 2006; Julien et al., 2000; y Manginot et al., 1998). La investigación sugiere que añadir todos los suplementos de nutrientes simultáneamente puede conducir a una velocidad de fermentación precipitada, a un desequilibrio en la absorción de compuestos de nitrógeno, y a un menor carácter afrutado de los vinos.

La adición de nitrógeno a zumos deficientes es extremadamente importante para el crecimiento de las células, el metabolismo, la síntesis de proteínas, y resistencia de alcohol; sin embargo, el ritmo de adición es igualmente importante. Por ejemplo, una adición grande de fosfato de diamonio inicialmente puede retrasar o inhibir la absorción de aminoácidos. Por lo tanto, se prefiere, adiciones múltiples a lo largo del tiempo y mantendrán el proceso de fermentación en su pico incrementando la falibilidad de la fermentación. Chaney et al. 2006 informaron que uvas Shiraz que habían recibido dos adiciones de nitrógeno completaron la fermentación con baja acidez volátil a temperatura estándar (29°C), mientras que depósitos duplicados con el régimen de adición de nitrógeno estándar produjeron acidez volátil aumentada y fracasaron a la hora de completar la fermentación. La suplementación de aditivos debería ser completada durante la primera mitad de la fermentación.

La mayoría de los productores de vino no tienen la opción de realizar múltiples adiciones debido al volumen de vino producido y las restricciones de tiempo durante la cosecha.

El documento US 4.282.255 describe un método y composiciones iniciadoras para el crecimiento de bacterias que producen ácidos y composiciones de bacterias producidas por el mismo.

SUMARIO DE LA INVENCION

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una composición para liberación sostenida de aditivos en un fluido de fermentación como se especifica en la reivindicación 1.

De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un método de preparación de una pastilla de liberación sostenida para fluidos de fermentación como se especifica en la reivindicación 12.

De acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención se proporciona un método para mejorar la fermentación como se especifica en la reivindicación 14.

La invención es un sistema de administración de liberación sostenida y composición de materiales para manipular la actividad microbológica en un fluido o líquido de fermentación. La invención preferida está dirigida al uso de un suplemento de nutriente de liberación sostenida para manipular la fermentación alcohólica en el vino.

El producto de la presente invención consta de aditivos complejos y nutrientes y un mecanismo de liberación sostenida para permitir una única adición de componentes que produzcan perfiles de liberación consistentes con múltiples adiciones en zumos, bebidas fermentadas, otros productos comestibles, y en el producto de biocombustibles. Preferiblemente, el producto aditivo está comprimido en pastillas que se disolverán de forma lenta y simularan múltiples administraciones de los componentes del nutriente. La terminología alternativa para pastillas incluye pero no se limita a, obleas, pellets, cuerdas, barras, etc.

El mecanismo de liberación sostenida ayudará a los usuarios con la adición de aditivos. El producto podría ser una única pastilla o un sistema de múltiples pastillas diseñado para suministrar nutrientes clave a los microbios inicialmente y a lo largo de todo el ciclo de fermentación. En un sistema de múltiples pastillas se pueden utilizar diferentes relaciones del mecanismo de liberación sostenida para permitir la liberación cuando sea más ventajosa para la fermentación. El sistema de liberación sostenida se disolverá lentamente a lo largo de unos pocos días liberando los componentes del nutriente claves necesarios para sostener, aumentar y manipular la actividad microbiana.

De manera ventajosa, el producto permitirá la conveniencia de una acción, en una única vez, de pastillas de aditivo que tengan una funcionalidad de liberación sostenida incorporada.

Un beneficio clave de esta invención es la "facilidad de uso". Con este producto aditivo administrado a lo largo del tiempo, son creados "perfiles de liberación" cuando diferentes componentes nutricionales son liberados en diferentes momentos o con diferentes relaciones. De manera ideal, la liberación tendrá lugar durante dos a cinco días en solución acuosa a temperatura ambiente con bajo pH. Los beneficios adicionales incluyen fermentaciones mejoradas, saludables a través de componentes nutricionales que promuevan el crecimiento, viabilidad y supervivencia a largo plazo; fermentaciones atascadas y lentas; tolerancia al alcohol incrementada; y absorción de aminoácidos equilibrada dando lugar a vinos con mejores aromas y sabores.

La invención consiste en componentes diseñados para suplementar etapas específicas durante la fermentación. Como ejemplo, es mejor añadir menos fosfato de diamonio inicialmente y más fosfato de diamonio después de que

la fermentación esté activa.

Debido a la funcionalidad de liberación sostenida de la presente invención, los productores de vino pueden añadir estos suplementos nutricionales una vez que ha empezado la fermentación consiguiendo de este modo el beneficio de múltiples administraciones. Al contrario que en la técnica anterior, esta invención tiene una función de liberación sostenida para permitir que los compuestos puedan ser liberados en distintas etapas realizando de este modo múltiples adiciones. El suplemento de nutrientes de la presente invención puede ser fabricado de manera rentable y tiene un amplio rango de utilización potencial en la alimentación, en bebidas fermentadas y en la producción de biocombustibles.

Los objetivos y ventajas de la invención serán evidentes de la siguiente descripción de la realización preferida de la invención realizada en combinación con los dibujos adjuntos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es un gráfico que ilustra el efecto de funcionalidad de liberación sostenida en la velocidad de fermentación de un zumo de Chardonnay en el Ejemplo 1.

La Figura 2 es un gráfico que ilustra el efecto de los productos Micro-Essentials Powder, Micro-Essentials Complete-Time Release, y Competitor en la velocidad de fermentación de uvas Syrah en el Ejemplo 2.

La Figura 3 es un gráfico que ilustra el efecto de los productos Micro-Essentials Complete-Time Release, en comparación con un producto Competitor en la velocidad de fermentación de uvas Cabernet Franc en el Ejemplo 3.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Como se ha utilizado en esta descripción, el término "aditivo" generalmente se refiere a una sustancia añadida en cantidades relativamente pequeñas a otro producto, en este caso al fluido de fermentación, para mejorar, fortalecer o alterar de otro modo el fluido. En la presente invención, los aditivos típicamente son nutrientes que mejoran una fuente de alimento al fluido.

Aunque los aditivos son a menudo añadidos a productos de fermentación, tales como fermentaciones de zumo, alimentos, y biocombustibles, no proporcionan un mecanismo de liberación sostenida que permita la lenta difusión en el producto a lo largo de periodos de tiempo largos. La presente invención proporciona un sistema de administración sostenida para mejorar y manipular la fermentación de zumos, bebidas, y otros productos comestibles, la producción de biocombustibles, conocidos tanto como "fluidos de fermentación" o "líquidos de fermentación". Esta invención se refiere a un mecanismo para la liberación sostenida que puede proporcionar una fermentación estable, eficiente, y fiable a través de la liberación medida de los componentes aditivos y etapas clave durante el proceso de fermentación sin que se requiera la adición manual de aditivos en incrementos medidos durante el proceso de fermentación.

El sistema de liberación sostenida o controlada proporciona funcionalidad de liberación en el tiempo a través de una mezcla de componentes específicos que incluyen, pero no se limitan a, un agente de formación de gel, un ligante y al menos un aditivo en una cantidad suficiente para permitir la liberación sostenida del aditivo en el producto de fermentación para periodos de hasta, y que se extienden más allá de, 96 horas sin la necesidad de reponer el aditivo. En su forma mas simple, un aditivo de liberación sostenida para la fermentación está formado por una pastilla con una combinación de un agente de formación de gel, tal como alginato, una fuente de calcio, y una fuente de aditivo, típicamente un nutriente tal como una fuente de nitrógeno, con una liberación sostenida de 40 horas.

Agente de Formación de Gel:

El agente de formación de gel o gelificante está destinado a la administración y liberación controladas de los aditivos al sistema de fermentación y a mantener la proporción adecuada del aditivo en el producto de fermentación durante un periodo de tiempo largo. Los agentes de formación de gel para este fin se conocen en la técnica. Un agente de liberación controlada, de liberación en tiempo o de desintegración puede estar definido como una sustancia o mezcla de sustancias añadidas a una composición para facilitar su rotura o desintegración después de la administración en el fluido de fermentación. El uso de un agente de formación de gel en esta invención proporciona una rotura controlada y una distribución de los aditivos en el fluido de fermentación. Niveles pequeños pero importantes de un desintegrante convencional, tal como una celulosa microcristalina, se pueden añadir para refinar y regular más la velocidad de desintegración de las pastillas en el fluido de fermentación.

Ejemplos de sistemas de administración incluyen, pero no se limitan a alginatos, hidrocoloides, tales como carragenano, agar, gelatina y pectina, y gomas, por ejemplo goma de guar, goma arábiga, goma de algarrobo, goma de xantano y gomas de gelatina, derivados de celulosa, por ejemplo, etil celulosa, e hidroxilpropil metil celulosa, maltodextrina, y almidones de productos alimenticios, por ejemplo, maíz, arroz, patata y tapioca, y revestimientos no solubles en agua, por ejemplo ceras, zeínas, ácidos grasos, laca, y aceites comestibles.

Los alginatos son los sistemas de administración más preferidos. Los alginatos tienen propiedades de formación de gel que crean el perfil de liberación sostenida. Ejemplos de alginatos incluyen alginato de sodio, alginato de potasio,

alginato de calcio, alginato de magnesio, alginato de amonio, y alginato de trietanolamina. Un alginato preferido es alginato de sodio (PRONATAL LF200M (FMC BioPolymer, Drammen, Noruega)). Los alginatos están presentes en la fórmula en cantidades comprendidas entre el 0 y el 20% en peso, preferiblemente cantidades comprendidas entre el 2 y el 8% en peso, y los más preferible aproximadamente el 4% en peso. El agente de formación de gel, que en contacto con el fluido de fermentación, forma una estructura de matriz que libera el aditivo de manera controlada. El concepto de utilizar gelatina para encerrar tanto el líquido (esto es, aceite de hígado de bacalao, vitamina E) y sustancias en polvo es conocido en la técnica. Se hace referencia a L. Lachman, et al., 1971; Porter, 1990; y Tyle, 1990 para ejemplos no limitativos de sistemas de administración adecuados.

Ligantes y Excipientes:

Una sustancia inerte densa se puede añadir a la composición para aumentar la densidad con el fin de asegurar que la pastilla de liberación sostenida permanezca en el fluido de fermentación. El material de relleno que se puede emplear en los procesos de la presente invención es preferiblemente relativamente insoluble en agua y se puede elegir de cualquiera de los bien conocidos en la técnica, tales como agentes de formación de pastillas, antiadherentes de pastillas, ligantes de pastillas, excipientes de compresión directa de pastillas, talco, carbonato de calcio, sílice adherido coloidal, glicolato de almidón de sodio o mezclas de los mismos. Una fuente de calcio es el agente afirmante preferido en productos alimentarios y tiene la ventaja añadida de la solubilidad, alto contenido en calcio, y no tener aroma ni sabor. Además, el calcio liga con los agentes de formación de gel, para formar redes de formación de gel más fuertes. Ejemplos de tales fuentes de calcio incluyen: cloruro de calcio, citrato de calcio, fosfato de calcio, carbonato de calcio, lactato de calcio, aspartato de calcio, estearato de calcio, y sulfato de calcio. Una fuente de calcio preferida es el citrato tricálcico (Gadot Bio-chem (USA) Inc., Syosset, NY). La fuente de calcio está presente en la fórmula en cantidades comprendidas entre 0 y 20 % en peso, preferiblemente en cantidades comprendidas entre 0,25 y 5% en proceso, y lo más preferible aproximadamente 1% en peso.

La presente invención también puede comprender otros ingredientes adecuados bien conocidos por los expertos en la técnica, tales como absorbentes, antioxidantes, agentes de amortiguación, colorantes, agentes de sabor, agentes edulcorantes, lubricantes, diluentes, desintegrantes de pastilla, glidantes de pastilla, agentes abrillantadores y otros excipientes equivalentes del grupo formado por estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de cinc, ácido esteárico en polvo, aceites vegetales hidrogenados, polietileno glicol, aceite mineral, y color DF&C, celulosa modificada, lactosa polietileno glicol, dióxido de silicio coloidal, talco, sulfato de lauril de sodio, sales de amonio cuaternarias, manitol, cloruro de sodio, sulfato de sodio, fosfato de sodio, cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, fosfato de magnesio, lactosa, sacarosa, glucosa, polietileno glicoles, ceras, aceite de ricino hidrogenado, almidón, polivinil pirrolidona, o una combinación de los mismos. Ejemplos no limitativos de ligantes y rellenos incluyen TABULOS y CAB-O-SIL M5 (Cabot Corporation, Tuscola, Illinois).

La adición del lubricante adecuado es altamente deseable ya que mejora el caudal de la granulación de la pastilla, evita la adhesión de la pastilla a la superficie de la prensa de pastilla, reduce la fricción entre partículas y facilita la expulsión de la pastilla de la cavidad de la prensa. El lubricante empleado en la composición de la presente invención puede ser cualquiera de los lubricantes más comunes conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de sodio, estearato de calcio, y ácido esteárico. El lubricante está presente en la fórmula en cantidades comprendidas entre 0 y 10% en peso, preferiblemente en cantidades comprendidas entre 0,25 y 2% en peso, y lo más preferible, aproximadamente el 0,6% en peso. El estearato de magnesio es el agente lubricante preferido. Una fuente de magnesio preferida es Vivion Inc. (San Carlos, CA).

El dióxido de silicio se utiliza como agente fluidificante libre. El dióxido de silicio está presente en la fórmula en cantidades comprendidas entre 0 y 10% en peso, preferiblemente en cantidades comprendidas entre 0,25 y 2% en pesos, y lo más preferible, aproximadamente el 0,6 % en peso. Una fuente de dióxido de silicio preferida es Vivion Inc. (San Carlos, CA).

La celulosa microcristalina se utiliza como un agente ligante debido a sus excelentes propiedades de compresión. La celulosa microcristalina tiene también propiedades de lubricación y desintegración. La celulosa microcristalina está presente en la fórmula en cantidades comprendidas entre 0 y 80 % en peso, preferiblemente en cantidades comprendidas entre 10 y 35% en peso, y lo más preferible aproximadamente en un 20% en peso. Una celulosa microcristalina preferida es AVICEL (FMC BioPolymer, Philadelphia, PA).

Aditivos:

La composición de la presente invención proporciona un portador para administrar al menos un aditivo para el producto de fermentación. En la industria vinícola, los aditivos son típicamente nutrientes que son añadidos para evitar la fermentación atascada, para reducir o evitar la formación de sulfuro de hidrógeno, ácido acético, carbamato de etilo, y otros metabolitos no deseados así como para mejorar los perfiles de sabor y aroma. Los nutrientes típicos incluyen una fuente de nitrógeno, vitaminas, minerales, levadura y extractos de levadura, y otros. Los tipos y cantidades de nutrientes dependen del producto de fermentación. Se hace referencia a la siguiente lista no limitativa para nutrientes adaptables para el sistema de liberación sostenida de la presente invención con respecto a la industria vinícola. Está dentro del campo de la invención utilizar el sistema de liberación sostenida para la liberación de otros aditivos en otros fluidos dependiendo de las necesidades del fluido. Por ejemplo, los biocombustibles requieren aditivos especializados en su proceso de fermentación. Cuando los aditivos se pueden cambiar, el sistema

de liberación en el tiempo de la presente invención se puede utilizar para administrar los aditivos.

El nitrógeno es un elemento esencial necesario para evitar las fermentaciones atascadas y lentas. Ejemplos de fuentes de nitrógeno incluyen: amonio, gas amoníaco, fosfato de diamonio, sulfato de amonio, nitrito, nitrato, proteínas, aminoácidos, y urea. Una fuente de nitrógeno preferida es el fosfato de diamonio: (American Tartaric Products, Larchmont, NY). El fosfato de diamonio es una fuente de nitrógeno inorgánica utilizada en fermentaciones para promover el crecimiento de la levadura y ayudar en la finalización de la fermentación. El fosfato de diamonio está presente en la fórmula en cantidades comprendidas entre 0 y 90 % en peso, preferiblemente en cantidades comprendidas entre 35 y 75 % en peso, y lo más preferible, aproximadamente en un 69% en peso.

El extracto de levadura suministra aminoácidos, ácidos grasos, ácidos nucleicos, vitaminas y minerales para facilitar la fermentación. El extracto de levadura está presente en la fórmula en cantidades comprendidas entre 0 y 50% en peso, preferiblemente en cantidades comprendidas entre 5 y 30% en peso, y lo más preferible aproximadamente en un 5% en peso. Una fuente de extracto de levadura preferida es TASTONE 154 (Sensient Technologies, Milwaukee, WI). Otros ejemplos de extracto de levadura de Sensient Technologies incluyen AX965, FM957, TT900, y AX1003. Ejemplos de extracto de levadura de Lallemand (Montreal, Quebec) incluyen Feraid 2133, FNI 100, FNI 200, FNI 205, FNI 300, FNI 405.

Ejemplos no limitativos de vitaminas y minerales utilizados en las formulaciones incluyen biotina, cromo, cobalamina, (B12), ácido fólico (B9), inositol, magnesio, manganeso, molibdeno, niacina (B3), ácido pantoténico (B5), potasio, piridoxina (B6), riboflavina (B2), tiamina (B1) y cinc. Una fuente preferida de vitaminas y minerales es Micro-Essentials Trace ("MET") (Gusmer Enterprises, Fresno, CA), una mezcla de vitamina pura y mineral. La mezcla de vitamina/mineral está presente en la fórmula en cantidades comprendidas entre 0 y 25% en peso, preferiblemente en cantidades comprendidas entre 0,5 y 8% en peso, y lo más preferible aproximadamente en un 1% en peso.

La tabla 1 se refiere a la importancia y la utilidad de las vitaminas y minerales:

Tabla 1

Aditivos (vitaminas minerales) y papeles funcionales para el metabolismo de levadura y bacterias	
Vitamina	Función metabólica
Biotina	• Reacciones de Carboxilación y descarboxilación • Mejor efecto cinético y sinérgico con nitrógeno
Pantotenato de Calcio (Vitamina B5)	• Influye en la viabilidad y la velocidad de fermentación • PA aumentado y YAN aumentado conducen a una disminución del sulfuro de hidrógeno
Cobalamina (vitamina B12)	• Promueve el crecimiento
Ácido Fólico (folato)	• producción y mantenimiento de células nuevas
Inositol	• Utilizado para la división celular y la estimulación de la velocidad de crecimiento de levadura • Esencial para la síntesis de fosfolípidos de membrana • La deficiencia disminuirá la velocidad del metabolismo de carbohidratos.
Niacina (vitamina B3)	• Coenzimas en reacciones de oxidación/reducción (bajo anaerobiosis)
Piridoxina (vitamina B6)	• Metabolismo del aminoácido, deaminación, descarboxilación
Riboflavina (vitamina B2)	• Como coenzimas en reacciones de oxidación/reducción (bajo anaerobiosis)
Tiamina (vitamina B1)	• Aumenta la viabilidad • disminuye la concentración de ácidos cetónicos • Elemento esencial de carboxilasa que asegura la descarboxilación del ácido pirúvico en etanol • Mejora el equilibrio de dióxido de azufre
Minerales	
Cromo	• Implicado en la fijación de carbono
Magnesio	• implicado en la integridad de las células • Juega un papel clave en el control metabólico, crecimiento y proliferación de células • El Mg limitado es responsable del crecimiento de levadura disminuido y la actividad fermentativa • mejor resistencia al alcohol, temperatura y resistencia osmótica • Producción de etanol más elevada
Manganeso	• Efecto sinérgico con cinc, tiempo de generación más corto
Molibdeno	• Implicado en la fijación de nitrógeno
Potasio	• Requerido para el crecimiento de levadura y la fermentación • Los iones son necesarios para la absorción de fosfato

Cinc	• Cofactor de encimas de glicólisis, aumenta la tolerancia al alcohol, regulación de productos derivados (ésteres, alcoholes, ácidos grasos)
------	--

Aunque el sistema de liberación sostenida se puede utilizar en forma de polvo, la realización preferida es en forma de pastillas, que son producidas utilizando una prensa de pastillas. En otra realización, la mezcla de aditivo podría ser procesada utilizando un extrusor, un proceso de secador/revestimiento de lecho fluidificado, o a través de microencapsulación para obtener productos de diferentes formas (pellets, cuerdas, obleas, barras, etc.) con funcionalidad de liberación sostenida.

Se ha encontrado que el tamaño de las pastillas añade a la sostenibilidad de la liberación de los aditivos dentro del sistema. Después de muchas investigaciones, se ha encontrado que las pastillas producidas en máquinas de generación de pastillas más pequeñas convencionales tienen velocidades de desintegración rápidas (< 12 horas) en comparación con los productos de la presente invención. Sin desear vincularse a una premisa, se cree que las velocidades de desintegración más largas de la presente invención son debidas a las pastillas de mayor tamaño, es decir, pastillas de al menos 0,96 pulgadas (1,75 cm) de espesor y 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro. Este mayor tamaño en combinación con el agente de formación de gel contribuye a una red de formación de gel más fuerte.

Los ingredientes activos y excipientes están mezclados en cantidades apropiadas antes de la granulación en seco. Los excipientes ayudan a los polvos a ser más fluidos, dan volumen a la pastilla, y ayudan a los polvos a fundirse o a que las partículas se enlacen entre sí. Después de los ingredientes sean mezclados, el proceso de granulación en seco se utiliza para formar gránulos sin utilizar solución líquida. Estos polvos son compactados y comprimidos mediante técnicas bien conocidas en la industria. Se pueden utilizar procesos y la maquinaria de pastilla convencionales que son tanto compresión como granulación directas, por ejemplo golpeo, antes de la compresión. Aquellos individuos implicados en la producción de forma de dosis sólida farmacéutica o nutracéutica están versados en que los procesos y en la maquinaria utilizada como forma de dosificación es una forma de dosificación muy común en la industria. Un ejemplo de una prensa adecuada es una prensa STOKES R4 equipada con un troquel con borde de bisel cóncavo, de acero inoxidable de 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro.

La cantidad del aditivo de liberación sostenida añadida al fluido de fermentación depende de un cierto número de factores que incluyen, pero no se limitan a, el tipo de fluido de fermentación, el tipo de aditivo, la finalidad de la nutrición, el tamaño de la pastilla de liberación sostenida, la cantidad de agente de formación de gel dentro de la pastilla, y la duración del tiempo de liberación sostenida protegida de los aditivos. El fin último del sistema de liberación sostenida de la presente invención es añadir el aditivo en un portador que activará una liberación sostenida del aditivo a lo largo de un periodo de tiempo por encima de la administración normal o típica del aditivo. Idealmente, el sistema sería capaz de liberar sostenidamente el aditivo durante un periodo de tiempo de 12 horas o más, preferiblemente 24 – 48 horas, y más preferiblemente más de 96 horas.

La administración se puede realizar mediante una pastilla grande o bolo, o por medio de varias pastillas más pequeñas añadidas todas simultáneamente siempre y cuando se consiga el fin último de la liberación sostenida. Como ejemplo, una inoculación de liberación sostenida en un fluido de fermentación, tal como vino, se puede conseguir en dosis comprendidas entre 3 y 81 bs/1000 galones (G) (1,4 y 3,6 kg/3785 litros) en menos pastillas más grandes o en varias, por ejemplo, 60 a 160 pastillas más pequeñas por cada 1000G (3785 litros).

El producto final comprende una mezcla de una cantidad nutricionalmente efectiva de un aditivo, un agente de formación de gel, un ligante, un lubricante, y preferiblemente celulosa microcristalina, comprimidos en una pastilla. La pastilla proporciona una liberación sostenida de la cantidad nutricionalmente efectiva de aditivo que tiene un patrón de liberación predecible y controlable. La pastilla típicamente pesa entre aproximadamente 2 y aproximadamente 40 gramos y tiene una densidad de aproximadamente 1,4 a 5,5. Preferiblemente, la pastilla pesa entre aproximadamente 5 y aproximadamente 30 gramos y tiene una densidad comprendida entre aproximadamente 1,5 y 3,0. La densidad de la pastilla permitirá que permanezca en el fluido de fermentación para liberar los aditivos durante un periodo de tiempo de hasta 96 horas, de una manera predecible y controlable. El producto tiene ventajas sobre la técnica anterior consistentes en que se requieren administraciones menos frecuentes de los aditivos con lo que se reducen los costes de mano de obra.

Aunque la invención está inicialmente diseñada para ser utilizada con la adición de aditivos a los microbios del vino durante el proceso de fermentación, se puede aplicar en otros productos alimentarios, bebidas fermentadas y en el área de los biocombustibles. Ejemplos no limitativos de otras aplicaciones incluyen zumo, vino y cerveza.

Varias formas alternativas de mecanismo de liberación sostenida descritas podrían también incluir ingredientes de suministro de objetivo, ayudas de procesamiento, sistemas y métodos de administración.

Los ejemplos de los ingredientes administrables de objetivo y ayudas de procesamiento incluyen pero, no se limitan a, enzimas que incluyen lisozima, preservativos que incluyen dióxido de azufre, organismos vivos que incluyen bacterias y levadura y agentes de clarificación.

Ejemplos y métodos incluyen pero no se limitan a la adición de sistemas de administración sostenida para activar las

mezclas de ingredientes antes de la formación de la pastilla, encapsulación o revestimiento exterior del polvo de aditivo con cera o zeína, o una combinación de componentes de liberación sostenida internos y extremos incorporados en el ingrediente activo para formar un agente de liberación sostenida de disolución lenta. Los conceptos de encapsulación y microencapsulación se conocen en la técnica. La encapsulación implica encerrar medicinas o ingredientes en una forma utilizable. La microencapsulación es un proceso que deposita partículas diminutas o gotas en forma de dosificación sólida (es decir, pastilla, pellet, gránulo o núcleo) creando una carcasa, revestimiento o membrana alrededor del ingrediente activo. El concepto de revestir los productos interiores se conoce en la técnica. El revestimiento coloca una capa uniforme de material sobre o alrededor de una forma de dosificación sólida. El revestimiento normalmente se realiza a través de una de cuatro técnicas principales: revestimiento de azúcar, revestimiento de película, microencapsulación, o revestimiento de compresión. (Lachman, et al., 1986; Lakkis, 2007; Shelke, 2005; U.S. Department of Health and Human Services, 1997).

La combinación de los ingredientes de la fórmula sinérgicamente mejora el beneficio y efecto de los ingredientes individuales. La frase "una cantidad nutricionalmente efectiva" significa una cantidad de la composición que mejora un beneficio o mejora en el fluido de fermentación el proceso de liberación sostenida de la presente invención.

La fórmula se proporciona en forma de pastillas. Ejemplos no limitativos de formulaciones para el producto de liberación sostenida de la presente son los siguientes:

Micro-Essentials Complete-Time Release ("MEC-TR") (Gusmer Enterprises, Fresno, CA) es una mezcla de nutrientes única completa en forma de pastilla con un sistema de liberación sostenida. Este producto contiene extracto de levadura, cáscara de levadura, caseína hidrolizada, fosfato de diamonio, vitaminas y minerales, alginato, citrato tricálcico, y excipientes, de acuerdo con la siguiente fórmula:

EJEMPLO DE FORMULA		
INGREDIENTE	% EN PESO	OTRA INFORMACIÓN
Extracto de levadura	14	TASTONE 154
Cáscara de Levadura	7,5	Nutrex 370
Caseína hidrolizada	5,7	HCA-411
Fosfato de diamonio	43	DAP
Alginato de Sodio	4	PRONATAL LF200M
Citrato Tricálcico	1	
Vitaminas y minerales	2,8	Micro-Essentials Trace
FORMACIÓN DE PASTILLAS		
MCC y excipientes	22	Celulosa Microcristalina, estearato de magnesio y dióxido de silicio

La fórmula anterior se utiliza en fermentaciones en el momento de la inoculación de levadura a un intervalo de dosificación comprendido entre 3-81bs/1000G (1,4 – 3,6 kg/3785 litros) (aproximadamente 60 a 160 pastillas por cada 1000G (3785 litros). Dado que el MEC-TR está diseñado para minimizar el esfuerzo nutricional suministrando fuentes de nitrógeno, vitaminas y minerales asociados con zumos/mostos deficientes, el rango de dosificación depende del nivel de disminución de aditivo. Cada pastilla pesa entre 20 y 26 g.

Micro-Essentials Boost-Time Release ("MEB-TR") es una mezcla única de nutrientes compleja en forma de pastilla con un sistema de liberación sostenida. Este producto contiene extracto de levadura, fosfato de diamonio, vitaminas y minerales, alginato, citrato tricálcico, y excipientes, de acuerdo con la siguiente fórmula:

EJEMPLO DE FORMULA		
INGREDIENTE	% EN PESO	OTRA INFORMACIÓN
Extracto de levadura	5	TASTONE 154
Fosfato de diamonio	69	DAP
Alginato de sodio	4	PRONATAL LF200M
Citrato Tricálcico	1	
Vitaminas y minerales	1	Micro-Essentials Trace
FORMACIÓN DE PASTILLAS		
MCC y excipientes	20	Celulosa Microcristalina, estearato de magnesio y dióxido de silicio

La fórmula anterior se utiliza en fermentaciones en el momento de la inoculación de levadura en dosificaciones comprendidas entre 3-81bs/1000G (1,4 – 3,6 kg/3785 litros) (aproximadamente 60 a 160 pastillas por cada 1000G (3785 litros). Dado que el MEB-TR está diseñado para minimizar el esfuerzo nutricional asociado con zumos/mostos deficientes, el rango de dosificación depende del nivel de disminución de aditivo. Cada pastilla pesa entre 20 y 26 g.

Los siguientes ejemplos de laboratorio y bodega comercial se proporcionan para demostrar el rendimiento del

mecanismo de liberación sostenida y para expresar la importancia de las administraciones múltiples de los nutrientes a través del proceso de fermentación como se ha referido en la presente invención. Los ejemplos y las ilustraciones no están destinados a restringir el campo de la invención. Los productores de vino añadieron productos con sistemas de liberación sostenida inicialmente en el comienzo de la fermentación, y los productos sin liberación sostenida fueron añadidos inicialmente y múltiples veces durante el transcurso de la fermentación. Los siguientes acrónimos aplican en todos los ejemplos:

MEC-TR: Micro-Essentials Complete-TR (Gusmer Enterprises, Fresco CA)

MEP: Micro-Essentials Powder (Gusmer Enterprises, Fresco CA)

MEB-TR: Micro-Essentials Boost-TR (Gusmer Enterprises, Fresco CA)

EJEMPLO 1

El objetivo de este ejemplo fue mostrar perfiles de fermentación similares para MEC-TR comparados con MEP y multiadición de MEP. El MEP fue añadido a las fermentaciones en dos métodos: 1) Todo el MEP fue añadido inicialmente al comienzo de la fermentación y 2) Durante las adiciones múltiples de MEP, la mitad del polvo fue añadida inicialmente y la otra mitad del polvo fue añadida entre 48 y 72 horas después del inicio de la fermentación. Múltiples administraciones de MEP fueron utilizadas para evaluar la efectividad del sistema de liberación sostenida incorporado de la pastilla de MEC-TR. Nuestro objetivo era proporcionar un sistema de liberación sostenida (añadido en el inicio de la fermentación) que funcione similar al polvo añadido en múltiples etapas a través de la fermentación.

Zumo de Chardonnay congelado (Arroyo Seco Vineyards, San Martin, CA) fue descongelado a temperatura ambiente antes de separarse en lotes de 3 L. MEP, múltiples adiciones de MEP y MEC-TR fueron utilizados en este experimento.

Los ingredientes activos y excipientes fueron mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas y después fueron añadidos al zumo como MEC-TR. El MEC-TR contiene un mecanismo de liberación sostenida para suministrar los compuestos clave a la levadura a través de la fermentación. El sistema de liberación sostenida fue desarrollado para simular múltiples adiciones de polvo. MEC-TR fue producido utilizando un troquel de acero inoxidable de 1 pulgada (2,5 cm) de diámetro, 0,25 pulgadas (6 mm) de altura, y fue comprimido utilizando una prensa hidráulica con útil de bastidor con forma de H montada en banco de la marca (DAKE, una División de JSJ Corporation, Grand Haven, MI) con una nariz de martillo plano. Cada pastilla de MEC-TR pesaba aproximadamente 4g.

El MEC-TR fue añadido al tanque de fermentación a 4g/3L al comienzo de la fermentación. MEP fue añadido en forma de polvo al tanque de fermentación a 4g/3L en el inicio de la fermentación. MEP de adición múltiple fue añadido en forma de polvo al tanque de fermentación en dos partes alícuotas (2g/3L inicialmente y 2g/3L después de 48-72 horas). Todos los tratamientos fueron inoculados con levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Ruby. ferm) (Chr Hanses, Dinamarca) y fermentada a 72°F (22°C) en tanques de vidrio de 3 litros hasta el secado (< 2g/L de azúcar residual). Se mostro que la fermentación se producía muy rápidamente, cuando los nutrientes eran añadidos en forma de polvo. La adición de nutrientes a través del mecanismo de liberación sostenida suministró a los microbios los nutrientes necesarios en las fases claves durante la fermentación. Estas fermentaciones empezaron más lentamente pero completaron la fermentación a la misma velocidad. El zumo fue muy rico en nutrientes; por lo tanto, todas las fermentaciones avanzaron más rápido que las fermentaciones típicas. Las curvas de fermentación se muestran en la Figura 1.

EJEMPLO 2

El objetivo de este ejemplo fue comparar los perfiles de fermentación entre MEP (Gusmer Enterprises, Fresno, CA), MEC-TR y un producto competidor. El producto competidor en el Ejemplo 2 era una combinación de fosfato de diamonio (American Tartaric Products, Larchmont, NY) y SUPERFOOD (Sensient Technologies, Milwaukee, WI), una mezcla compleja de nutrientes de levadura que contiene cascaras de levadura, extracto de levadura, fosfato de diamonio, vitaminas y minerales. Los productos competidores (fosfato de diamonio y SUPERFOOD) no tenían funcionalidad de liberación sostenida; por lo tanto, se realizaron múltiples administraciones cuando se comparan estos productos con los productos que contenían sistemas de liberación sostenida. La combinación de fosfato de diamonio y SUPERFOOD fue seleccionada para la comparación debido a que estos productos son utilizados habitualmente por RH Phillips para adiciones de nutrientes.

Uvas Syrah (RH Phillips, Woodland, CA) fueron cosechadas y separadas en tres depósitos de bodega comerciales que contenían 16 toneladas de fruta con adiciones de agua apropiadas para reducir el Brix. Fueron utilizados los productos MEP, MEC-TR y DAP/SUPERFOOD en este experimento.

Los ingredientes activos y excipientes fueron mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas y después fueron añadidos al zumo como MEC-TR. El MEC-TR contiene un mecanismo de liberación sostenida diseñado para suministrar componentes clave a la levadura a través de todo el proceso de fermentación. El sistema de liberación sostenida fue desarrollado para simular múltiples adiciones de polvo. Las pastillas de MEC-TR fueron producidas utilizando un troquel de acero inoxidable, cóncavo, con borde biselado de aproximadamente 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro, 0,69 pulgadas (1,75 cm) de altura, y fueron comprimidas utilizando una prensa Stokes

R4. Cada pastilla de MEC-TR pesaba de 20 – 26 g.

El MEC-TR fue añadido al depósito de fermentación a 51 bs/1000G (2,3 kg/3785 litros) al inicio de la fermentación. El MEP fue añadido en forma de polvo al depósito de fermentación en dos partes alícuotas (21 bs/1000G (0,9 kg/3785 litros) inicialmente y 21 bs/1000G (0,9 kg/3785 litros) después de 48 – 72 horas). La combinación de DAP/SUPERFOOD fue añadida en forma de polvo al depósito de fermentación en dos partes alícuotas (1 lb DAP/1000G (0,5 kg/3785 litros) con 1 lb de SUPERFOOD/1000G (0,5 kg/3785 litros) con 1 lb de SUPERFOOD/1000G (0,5 kg/3785 litros) después de 48-72 horas). Todos los tratamientos fueron inoculados con levadura *Saccharomyces cerevisiae* (D254) fermentada inicialmente a 18 °C. Después de 48-72 horas, la temperatura de fermentación fue incrementada a 75°F (24°C) y fermentada hasta secado (< 2g/L de azúcar residual). MEP presentó el mismo perfil de rendimiento que MEC-TR ilustrando el valor de funcionalidad de liberación sostenida en una fermentación controlada. Tanto MEP como MEC-TR se comportaron igualmente bien en comparación con la combinación DAP/SUPERFOOD. Las curvas de fermentación se muestran en la Figura 2.

EJEMPLO 3

El objetivo de este ejemplo fue determinar el rendimiento de una fermentación a escala comercial comparando MEC-TR con un producto competidor. El producto competidor del Ejemplo 3 fue una combinación comercial de fosfato de diamonio (American Tartaric Products, Larchmont, NY) y Fermaid K (Lallemand, Montreal, Quebec). Fermaid K es un nutriente de levadura completo que suministra fosfato de diamonio, amino ácidos libres, ácidos grasos no saturados, nutrientes clave, sulfato de magnesio, tiamina, ácido fólico, biotina, pantotenato de calcio) y levadura inactiva. Los productos competidores (fosfato de diamonio y Fermaid K9 no tienen funcionalidad de liberación sostenida; por lo tanto, fueron realizadas múltiples administraciones cuando se comparan estos productos con productos que contenían sistemas de liberación sostenida. La combinación de fosfato de diamonio y Fermaid K fue seleccionada como una comparación debido a que estos productos son utilizados habitualmente por Stellenzicht (Stellenbosh, Sudáfrica) para adiciones de nutrientes.

Uvas Cabernet francesas (Stellenzicht) fueron cosechadas y separadas en dos depósitos de bodega comerciales, conteniendo cada uno aproximadamente 14 toneladas de fruta. MEC-TR y DAP/F fueron utilizados en este experimento.

Los ingredientes activos y los excipientes fueron mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas y después fueron añadidos al zumo como MEC-TR. El MEC-TR contiene un mecanismo de liberación sostenida diseñado para suministrar componentes clave a la levadura durante toda la fermentación. El sistema de liberación sostenida fue desarrollado para simular múltiples adiciones de polvo. Las pastillas de MEC-TR fueron producidas utilizando un troquel de acero inoxidable, cóncavo, con borde biselado de aproximadamente 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro, 0,69 pulgadas (1,75 cm) de altura, y fueron comprimidos utilizando una prensa Stokes R4. Cada pastilla de MEC-TR pesaba de 20 – 26 g.

El MEC-TR fue añadido al depósito de fermentación a 66g/hL al inicio de la fermentación. La combinación DAP/Fermaid K fue añadida en forma de polvo al depósito de fermentación en dos partes alícuotas (20 g de DAP/hL con 13g Fermaid K/hL inicialmente y 20g DAP/hL con 13g de Fermaid K/hL después de 48 – 72 horas). Todos los tratamientos fueron inoculados con levadura *Saccharomyces cerevisiae* (NT50) (Anchor Yeast, Cape Town, Sudáfrica) y fermentada entre 64 – 75 °F (18-24 °C) hasta secado (< 2 g/L de azúcar residual). El MEC-TR presentó una fermentación controlada que progresó ligeramente más rápido que el producto competidor. Las curvas de fermentación se muestran en la Figura 3.

EJEMPLO 4

El objetivo de este ejemplo es evaluar la velocidad de liberación de amoníaco a través del mecanismo de liberación sostenida de MEB-TR.

Un concentrado de zumo de Sauvignon Cabernet fue diluido en 15 Brix y separado en tres depósitos de tratamiento de 1 L. El tratamiento incluye Polvo sin Ingredientes de Liberación en el Tiempo ("P- sin TR"), Polvo con Ingredientes de Liberación en el Tiempo ("P-TR") y productos de MEB-TR.

Los ingredientes activos y los excipientes fueron mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas y después fueron añadidos al zumo como MEB-TR. Los ingredientes para tratamientos P- sin TR y P-TR fueron mezclados concienzudamente antes de ser añadidos al zumo en forma de polvo. El MEB-TR es producido utilizando un troquel de acero inoxidable, cóncavo, con borde biselado de 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro, 0,69 pulgadas (1,75 cm) de altura, y fueron comprimidos utilizando una prensa Stokes R4. Se espera que cada pastilla de MEB-TR pese entre 20 - 26 g. El P-sin TR no tiene funcionalidad de liberación sostenida. El P-TR y el MEB-TR contienen sistemas de liberación sostenida.

Se espera que los productos que contienen el mecanismo de liberación sostenida muestren entre un 20 -30 % de liberación de amoníaco dentro de las primeras pocas horas con una liberación continua del resto de amoníaco durante 72 horas. Se espera que los productos sin mecanismo de liberación sostenida muestren una liberación de amoníaco completa dentro de las primeras pocas horas.

EJEMPLO 5

El objetivo de este ejemplo es evaluar la velocidad de liberación de cinc a través del encamisado de liberación sostenida de MEB-TR.

Un concentrado de zumo de Cabernet Sauvignon es diluido a 15 Brix y separado en tres depósitos de tratamiento de 1L. El tratamiento incluye Polvo sin Ingredientes de Liberación en el Tiempo ("P-sin TR"), Polvo con Ingredientes de Liberación en el Tiempo ("P-TR") y productos de MEB-TR.

Los ingredientes activos y los excipientes son mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas y después añadidos al zumo como MEB-TR. Los ingredientes para tratamientos P-sin TR y P-TR fueron mezclados concienzudamente antes de ser añadidos al zumo en forma de polvo. El MEB-TR es producido utilizando un troquel de acero inoxidable, cóncavo, con borde biselado de 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro, 0,69 pulgadas (1,75 cm) de altura, y fueron comprimidos utilizando una prensa Stokes R4. Se espera que cada pastilla de MEB-TR pese entre 20- 26 g. El P-sin TR no tiene funcionalidad de liberación sostenida. El P-TR y el MEB-TR contienen sistemas de liberación sostenida.

Se espera que los productos que contienen el mecanismo de liberación sostenida muestren entre un 20 -30 % de liberación de cinc dentro de las primeras pocas horas con una liberación continua del resto del cinc durante 72 horas. Los productos sin mecanismo de liberación sostenida se espera que muestren una liberación de cinc completa dentro de las primeras pocas horas.

EJEMPLO 6

El objetivo de este ejemplo es monitorear el efecto de lisozima de liberación sostenida y su capacidad para reducir las bacterias malolácticas.

La lisozima es utilizada por los productores de vino para controlar el crecimiento de la bacteria perjudicial gram-positiva, que puede generar fermentaciones lentas e incrementar la actividad volátil. La lisozima controla diversos aspectos de la fermentación maloláctica y estabiliza el vino después de la fermentación alcohólica.

Un concentrado de zumo de Chardonnay es diluido a 15 Brix, ajustado a un pH 3,5, e inoculado con la bacterias maloláctica Viniflora Oenos (Chr Hansen, Dinamarca). Tres días después de la inoculación, el zumo es separado en tres depósitos de tratamiento.

Los ingredientes activos y los excipientes son mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas. La lisozima-TR contiene el mecanismo de liberación sostenida y es utilizada para este experimento. La lisozima-TR es producida utilizando un troquel de acero inoxidable, cóncavo, con borde biselado de 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro, 0,69 pulgadas (1,75 cm) de altura, y es comprimida utilizando una prensa Stokes R4. Se espera que cada pastilla de Lisozima-TR pese entre 20- 26 g.

La media Diferencial de Wallerstein se utiliza para controlar el crecimiento de la bacteria maloláctica. Se espera que la adición de Lisozima al zumo controle el desarrollado de la bacteria indígena y evite que se produzca la fermentación maloláctica prematura. Se espera que la adición de lisozima al vino reduzca la población bacteriana y disminuya la formación de acidez volátil.

EJEMPLO 7

El objetivo de este ejemplo es evaluar las aplicaciones internas del mecanismo de liberación sostenida cuando es incorporado al material extruido.

Ensayos de Extrusión – Componentes de liberación sostenida fueron mezclados y extruidos utilizando una mezcladora "Kitchen Aid" con función de aglomeración de pasta. Varios componentes de liberación sostenida solubles en agua son evaluados incluyendo varios alginatos y gelatinas. El material extruido es secado en un horno antes de la producción de pellets. Los pellets son colocados en el vino de Cabernet Sauvignon para la evaluación. Después de 24 horas en el vino, la muestra presenta buenas propiedades y se mantiene bien junta.

EJEMPLO 8

El objetivo de este ejemplo es evaluar las aplicaciones externas del mecanismo de liberación sostenida cuando se aplica a un material extruido.

Ensayos de Revestimiento – Componentes de liberación sostenida son mezclados y utilizados para revestir pellets extruidos. Los revestimientos son aplicados utilizando un evaporador giratorio. Los pellets son revestidos con diversos agentes de liberación sostenida no solubles en agua incluyendo lacas, ceras y zeínas. Los pellets son colocados en vino de Chardonnay y Cabernet para su evaluación. Se espera que el uso de revestimientos incremente el tiempo de liberación en comparación con otras muestras de control.

EJEMPLO 9

El objetivo de este ejemplo es evaluar las aplicaciones internas del mecanismo de liberación cuando se incorpora a un producto de pastilla.

Ensayos de Gelatina- Los ingredientes activos y los excipientes son mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas. Las pastillas de liberación sostenida son producidas utilizando un troquel de acero inoxidable, cóncavo, con borde biselado de 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro, 0,69 pulgadas (1,75 cm) de altura, y son comprimidas utilizando una prensa Stokes R4. Se espera que cada pastilla de liberación sostenida pese entre 20- 26 g. Fueron ensayados varios tipos de gelatina como componentes del mecanismo de liberación sostenida. Se espera que el uso de gelatinas aumente el tiempo de liberación en comparación con las muestras de control.

EJEMPLO 10

El objetivo de este ejemplo es comparar los perfiles de fermentación entre MEP. MEC-TR y otros productos comercialmente disponibles.

La cerveza y otras bebidas fermentadas se pueden beneficiar de los aditivos de liberación sostenida. Los ingredientes activos y los excipientes fueron mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas y fueron añadidos a la fermentación. Las tabletas de liberación sostenida fueron producidas utilizando un troquel de acero inoxidable, cóncavo, con borde biselado de 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro, 0,69 pulgadas (1,75 cm) de altura, y son comprimidas utilizando una prensa Stokes R4. Se espera que cada pastilla de liberación sostenida pese entre 20- 26 g. Después de que los productos fuesen añadidos, los tratamientos fueron inoculados con levadura y fueron fermentados. El MEP y los productos comerciales se añadirán en múltiples partes alícuotas durante toda la fermentación. MEC-TR se añadirá una vez al inicio de la fermentación. Se espera que la funcionalidad de liberación sostenida proporcione fermentaciones fiables para la cerveza y para otras bebidas fermentadas.

EJEMPLO 11

El objetivo de este ejemplo es evitar que las fermentaciones se conviertan en reducidas en nutrientes durante las fermentaciones continuas.

Dado que la fermentación es una etapa crítica en una destilería, la industria de biocombustibles se puede beneficiar también de los nutrientes de liberación sostenida. Los fabricantes de alcohol combustible a menudo utilizan un sistema de fermentación continua en el que la levadura es reciclada y reañadida al fermentador para proporcionar actividad catalítica adicional y aumentar la velocidad de producción (Ingledew, W.M., 2003). Con estas culturas continuas, los nutrientes deben ser añadidos múltiples veces para asegurar la nutrición de la levadura.

Los ingredientes activos y los excipientes son mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas. Las pastillas de liberación sostenida son producidas utilizando un troquel de acero inoxidable, cóncavo, con borde biselado de 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro, 0,69 pulgadas (1,75 cm) de altura, y son comprimidas utilizando una prensa Stokes R4. Se espera que cada pastilla de liberación sostenida pese entre 20- 26 g.

Dado que las fermentaciones de biocombustibles son continuas, las pastillas de liberación sostenida son añadidas cuando los niveles de nutrientes disminuyen. Se espera que los nutrientes de liberación sostenida proporcionen un nivel consistente de nutrición en los fermentadores y consigan velocidades de producción de alcohol más elevadas.

EJEMPLO 12

El objetivo de este ejemplo es mostrar el efecto de utilizar Natamicina como agente antimicrobiano en el control de organismos perjudiciales del vino, particularmente *Brettanomyces*.

La natamicina es utilizada en todo el mundo como preservativo natural principalmente para el tratamiento del queso y embutido secado; sin embargo, las investigaciones indican que la natamicina es efectiva en el control del deterioro de la levadura de la post-fermentación del vino. La natamicina es legal en algunos países para el embotellado del vino semi-dulce para evitar la re-fermentación en la botella.

Los ingredientes activos y los excipientes son mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas. Las pastillas de natamicina-TR con mecanismos de liberación sostenida son producidas utilizando un troquel de acero inoxidable, cóncavo, con borde biselado de 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro, 0,69 pulgadas (1,75 cm) de altura, y son comprimidas utilizando una prensa Stokes R4. Se espera que cada pastilla de Natamicina-TR pese entre 20- 26 g.

Las pastillas de natamicina-TR son añadidas al zumo o vino para mejorar la estabilidad microbiológica en los depósitos, botellas y barriles. La estabilidad microbiológica es un asunto mayor en los productos de ácido bajo con elevados niveles de azúcar fermentable. Se espera que la natamicina proteja contra la re-fermentación y el deterioro.

EJEMPLO 13

El dióxido de sulfuro es ampliamente utilizado en zumos, vino, y muchos productos comestibles como antioxidante químico e inhibidor microbiano.

Los ingredientes activos y los excipientes son mezclados concienzudamente antes de ser comprimidos en pastillas. Las pastillas de sulfuro de azufre (SO₂-TR) con mecanismos de liberación sostenida son producidas utilizando un troquel de acero inoxidable, cóncavo, con borde biselado de 1,5 pulgadas (4 cm) de diámetro, 0,69 pulgadas (1,75 cm) de altura, y son comprimidas utilizando una prensa Stokes R4. Se espera que cada pastilla de SO₂-TR pese entre 20- 26 g.

Las pastillas de SO₂-TR son añadidas al zumo o vino para inhibir la oxidación, matar e inhibir el desarrollo de microorganismos e inhibir la actividad de la fenoloxidasas. Se espera que el dióxido de azufre añadido a través el sistema de liberación sostenida proteja contra el deterioro y la oxidación.

BIBLIOGRAFÍA

Aganbakh, W.A. 1977. A study of must nitrogen content in relation to incomplete fermentations, yeast production and fermentation activity. In: Proceedings of the South African Society for Enology and Viticulture, Cape Town, pp 66-88.

Alfenore, S., C. Molina-Jouve, and S.E. Guillouet. 2002. Improving ethanol production and viability of *Saccharomyces cerevisiae* by a vitamin feeding strategy during fed-batch process. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60:67-72.

Butzke, C.E. 1998. Survey of yeast assimilable nitrogen status in musts from California, Oregon, and Washington. *Am. J. Enol. Vitic.* 49:220-224.

Chaney, D., S. Rodriguez, K. Fugelsang, and R. Thornton. 2006. Managing high-density commercial scale wine fermentations. *J. Appl. Micro.* 100:689-698.

Chaudhari, D. 2004. Controlled drug delivery systems. Literature Seminar - Universidad of Alabama.

Ingledeu, W.M. 2003. Continuous fermentation in the fuel alcohol industry: How does the technology affect yeast? In: *The Alcohol Textbook - A Reference for the Beverage, Fuel and Industrial Alcohol Industries*. K.A. Jacques, T.P. Lyons, and D.R. Kelsall, eds. 4th Edition. Nottingham University Press.

Ingledeu, W.M. and R. Kunkee. 1985. Factors influencing sluggish fermentations of grape juice. *Am. J. Enol. Vitic.* 36:65-76.

Julien, A., J.L. Roustau, L. Dulau, and J.M. Sablayrolles. 2000. Comparison of nitrogen and oxygen demands of enological yeasts: technological consequences. *Am. J. Enol. Vitic.* 51:215-222.

Kaparisides, C., S. Alexandridou, K. Kotti, and S. Chaitidou. 2006. Recent advances in novel drug delivery systems. *AZojono - Journal of Nanotechnology Online*. 2:1-11.

Kellerby, Joe D., Patente de Estados Unidos 5.472.955, titulada "Insecticide Mixture for Ear Tags, concedida el 5 de diciembre de 1995.

Lachman, L., H.A. Lieberman, and J.L. Kanig. 1986. *The Theory of Practice of Industrial Pharmacy*, 3rd Ed., Lea & Febiger, Philadelphia.

Lachman, L., H.A. Lieberman, and J.L. Kanig. 1971. *The Theory of Practice of Industrial Pharmacy*, 3rd Ed., Lea & Febiger, Philadelphia.

Lakkis, J.M. 2007. *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems*. Blackwell Publishing Professional, Ames, IA (No disponemos de esta referencia – fecha estimada julio de 2007).

Manginot, C., J.L. Roustau, J.M. Sablayrolles. 1998. Nitrogen demand of different yeast strains during alcoholic fermentation. Importance of the stationary phase. *Enzyme and Microbial Technology*. 23:511-517.

Ough, C.F., M. Davenport, and K. Joseph. 1989. Effects of certain vitamins on growth and fermentation rate of several commercial active dry wine yeasts. *Am. J. Enol. Vitic.* 40:208-213.

Porter, S. 1990. Chapter 89. In: *Remington's Pharmaceutical Sciences*. 18th Ed. Mack Publishing Co. Easton, Pennsylvania.

Sablayrolles, J.M., C. Dubois, C. Manginot, J.L. Roustau, and P. Barre. 1996. Effectiveness of combined ammoniacal nitrogen and oxygen additions for completion of sluggish and stuck wine fermentations. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 82:377-381.

Shelke, K. 2005. The hidden ingredients: encapsulation technologies protect key ingredients and deliver them at just the right moment. (Encapsulation)(Micro-encapsulation). *Food Processing* – publicada online el 1 de julio de 2005.

Tyle, P. 1990. Chapter 10. In: *Specialized drug delivery systems, manufacturing and production technology*. P.K.

Wilkinson and F.S. Hom, eds. Marcel Dekker, New York.

U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). 1997. *Guidance for Industry - SUPAC-IR: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Manufacturing Equipment Addendum*.

Vogelsson, C.T. 2001. Advances in drug delivery systems. *Modern Drug Discovery*. 4(4):49-50, 52.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición para la liberación sostenida de aditivos en un fluido de fermentación, con comprende, en forma de pastilla, un agente de formación de gel o gelificante, al menos un aditivo, y un ligante, en la que el agente de formación de gel y el ligante están presentes en cantidades efectivas para permitir la liberación sustancial de al menos un aditivo en el fluido de fermentación durante un periodo de tiempo de al menos 12 horas y hasta 96 horas, y en la que el al menos un aditivo comprende fosfato de diamonio en una cantidad comprendida entre el 35 y el 75 % en peso de la composición, para utilizar en la reducción de la fermentación atascada y lenta.
- 10 2. Una composición como la reivindicada en la reivindicación 1, en la que el fluido de fermentación es seleccionado del grupo formado por zumo, bebidas, productos comestibles y la producción de biocombustibles.
- 15 3. Una composición como la reivindicada en la reivindicación 1, en la que el agente de formación de gel está presente en cantidades comprendidas entre el 2 y el 8 % en peso.
- 20 4. Una composición como la reivindicada en la reivindicación 1, que además comprende una fuente de calcio presente en una cantidad efectiva suficiente para permitir la liberación sostenida del aditivo en el fluido de fermentación durante un periodo de tiempo de al menos 12 horas.
- 25 5. Una composición como la reivindicada en la reivindicación 4, en la que la fuente de calcio es seleccionada del grupo formado por cloruro de calcio, citrato de calcio, fosfato de calcio, carbonato de calcio, lactato de calcio, aspartato de calcio, estearato de calcio, citrato tricálcico y sulfato de calcio.
6. Una composición como la reivindicada en la reivindicación 1, en la que el agente de formación de gel y el ligante están presentes en cantidades suficientes para permitir la liberación sostenida en el fluido de fermentación durante un periodo de tiempo de hasta 72 horas.
- 30 7. Una composición como la reivindicada en la reivindicación 1, en la que el al menos un aditivo comprende además un extracto de levadura.
8. Una composición como la reivindicada en la reivindicación 1, en la que el ligante es celulosa microcristalina.
- 35 9. Una composición como la reivindicada en la reivindicación 1, en la que el al menos un aditivo comprende además cantidades nutricionalmente efectivas de vitaminas y minerales.
- 40 10. Una composición como la reivindicada en la reivindicación 1, presente en forma de pastilla de un tamaño seleccionado efectivo para mantener la liberación del aditivo en el fluido de fermentación durante un periodo de al menos 12 horas.
- 45 11. Una composición como la reivindicada en la reivindicación 1, en la que el agente de formación de gel es seleccionado del grupo que comprende hidrocoloides, carragenano, agar, gelatina, pectina, goma de guar, goma arábica, goma de algarrobo, goma de xantano, goma de gelatina, etilcelulosa, hidroxilpropil metilcelulosa, maltodextrina, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, almidón de tapioca, zeínas, ácidos grasos, cáscaras, aceites comestibles, y alginatos, en donde opcionalmente el agente de formación de gel es seleccionado del grupo formado por alginato de sodio, alginato de potasio, alginato de calcio, alginato de magnesio, alginato de amonio, y alginato de trietanolamina.
- 50 12. Un método de preparación de una pastilla de liberación sostenida para la fermentación de fluidos que comprende una composición como la reivindicada en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, comprendiendo el método:
 - a. formar una composición ligante mezclando aproximadamente entre un 35 % y un 75 % en peso de un aditivo en un agente de formación de gel;
 - 55 b. añadir aproximadamente entre un 0,2 % y un 2% en peso de un agente afirmante a la composición ligante para incrementar la densidad con el fin de asegurar que la pastilla de liberación sostenida permanece en el fluido de fermentación;
 - c. añadir un lubricante a la composición ligante en cantidades comprendidas entre aproximadamente un 0,25 y un 2% en peso; y
 - 60 d. mezclar entre aproximadamente un 0,25% y un 2% en peso un agente dispersante en la composición ligante y formar una pastilla para añadir al fluido de fermentación para liberar el aditivo durante un periodo de tiempo de al menos 12 horas y hasta 96 horas.
- 65 13. Un método como el reivindicado en la reivindicación 12, en el que el agente desintegrante es celulosa microcristalina y/o en el que el agente lubricante es estearato de magnesio.

14. Un método para mejorar la fermentación, que comprende añadir una composición como la reivindicada en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 a un fluido de fermentación para reducir la fermentación atascada o lenta.

5 15. Un método como el reivindicado en la reivindicación 12, en el que la fermentación es una fermentación alcohólica.

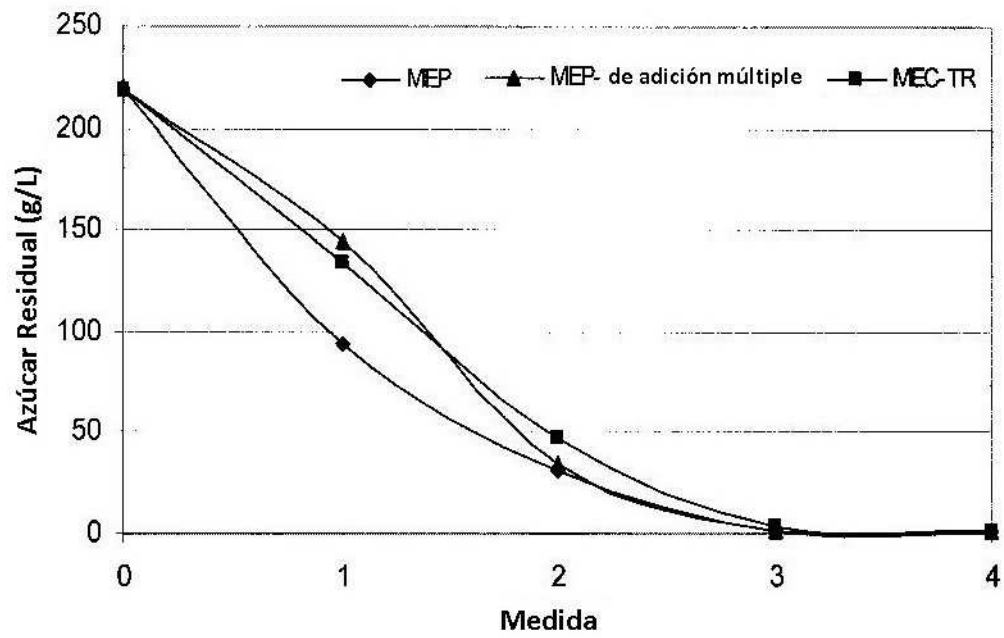


Figura 1

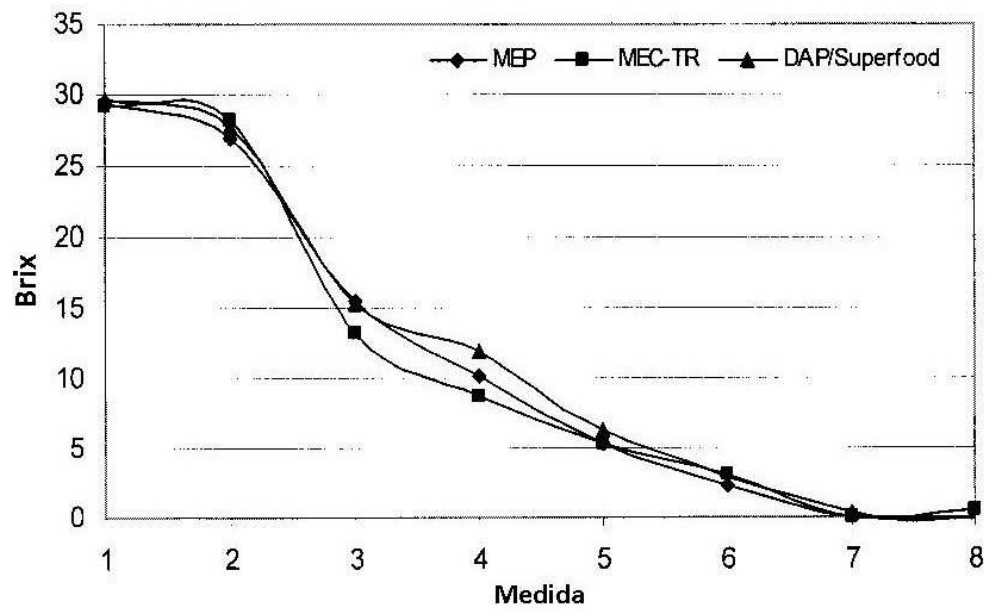


Figura 2

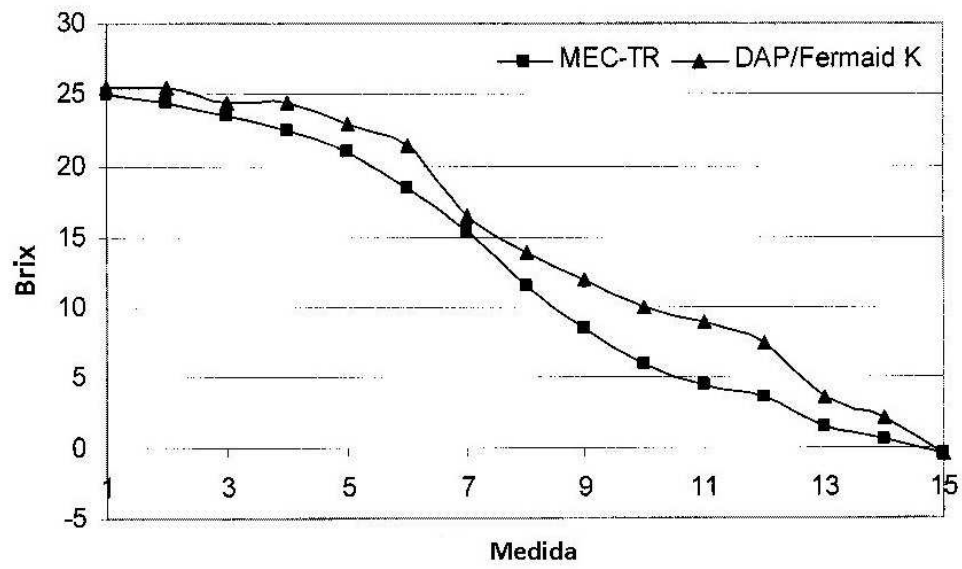


Figura 3