

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 720 261**

51 Int. Cl.:

C12G 1/00 (2009.01)

C12H 1/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.05.2017 PCT/IB2017/052535**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.12.2017 WO17212351**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.05.2017 E 17726998 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.01.2019 EP 3323876**

54 Título: **Proceso de producción de vino utilizando flores de Castanea sativa**

30 Prioridad:

09.06.2016 PT 2016109448

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

19.07.2019

73 Titular/es:

**INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA
(100.0%)
Campus de Santa Apolónia
5300-253 Bragança, PT**

72 Inventor/es:

**FERREIRA, ISABEL;
ALVES HELENO, SANDRINA;
MAGALHÃES PINTO PAIVA, FERNANDO y
BENTO, ALBINO ANTÓNIO**

74 Agente/Representante:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

ES 2 720 261 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

Proceso de producción de vino utilizando flores de *Castanea sativa*

5 SECTOR DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un procedimiento de producción de vino sin sulfitos añadidos, y al vino obtenido a partir de ese nuevo procedimiento. Se refiere al impacto de utilizar conservantes sintéticos, concretamente sulfitos, en la elaboración del vino, y propone una solución alternativa de conservantes naturales para la producción de vino.

10 TÉCNICA ANTERIOR

A lo largo del tiempo, el interés en el desarrollo de aditivos alimentarios ha aumentado exponencialmente ya que las industrias necesitan prolongar el periodo de caducidad de los productos, especialmente para la exportación, donde la adición de aditivos tales como conservantes era necesaria con el fin de garantizar la llegada de los alimentos a su destino en buenas condiciones de calidad y seguridad, evitando su contaminación y deterioro. Actualmente existen más de 2.500 aditivos alimentarios, la mayoría utilizados como conservantes, para prolongar el periodo de caducidad del producto alimenticio, a la vez que se mantienen sus propiedades químicas y organolépticas.

20 Sin embargo, existen algunos problemas que surgen de la utilización de estos productos, en general relacionados con efectos toxicológicos o alérgicos. Como resultado, la utilización de aditivos químicos (agentes antioxidantes o antimicrobianos) en alimentos cada vez está más restringida por la legislación sobre alimentos (Reglamento CE 1331/2008). Entre los conservantes utilizados más frecuentemente están los sulfitos, un grupo de moléculas (las más comunes son dióxido de azufre, bisulfito de sodio y potasio, bisulfato de sodio y potasio) utilizadas en productos alimenticios, que actúan como agentes antimicrobianos y antioscurecimiento, que ejercen su actividad antimicrobiana a través de la retirada de grupos SH de los sulfitos dentro las células de microorganismos donde reaccionan con proteínas, ADN, enzimas; mientras que el efecto antioxidante se produce a través de la inhibición de Maillard y la enzima polifenol oxidasa (Carocho, M., Barreiro, MF, Morales, P., Ferreira, ICFR Adding molecules to food, pros and cons - Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2014, 377-399).

30 Estas moléculas pueden ejercer su actividad en su forma libre o pueden combinarse con otras moléculas tales como con ácidos orgánicos, que se utilizan mucho en la industria del vino y también en otros productos alimenticios propensos al deterioro por la acción de microorganismos. Sin embargo, existe cierta controversia en la utilización de estos aditivos, porque algunos de ellos se han asociado estrechamente con problemas para la salud, concretamente toxicológicos o alérgicos (Carocho, M., Morales, P., Ferreira, ICFR) Natural food additives: Quo vadis? Trends in Food Science and Technology, 2015, 45, 284-295). Por tanto, la utilización de algunos de estos aditivos sintéticos cada vez está más restringida en los reglamentos sobre alimentos (Reglamento CE 1331/2008). Estas moléculas sintéticas producen efectos perjudiciales sobre la salud humana, estando relacionadas con la destrucción de vitamina B1 (tiamina), problemas respiratorios y de sensibilidad cutánea produciendo dermatitis, urticaria, angioedema, dolor abdominal, diarrea y anafilaxia mortal (Vally, H, Allosa, M., Allosa, M., Allosa, M., Allosa, M., Allan, M., Allan, M., Allergic contact dermatitis caused by sodium, Clinical & Experimental Allergy, 2009, 39, 1643-51. Metabisulphite: a challenging allergen, a case series and literature review, Contact Dermatitis, 2012, 67, 260-9).

45 La propensión a estos síntomas ha aumentado gradualmente debido a la gran cantidad de productos alimenticios tratados con sulfito; por tanto en la Unión Europea y en los Estados Unidos, todos los productos que contienen sulfito tienen que mencionar esta información en la etiqueta. En relación con el consumo de vino, se han llevado a cabo varios estudios en diferentes países que advierten de los peligros asociados con los individuos que consumen grandes cantidades de vino sulfitado (Vandevijvere, S., Temme, E., Andjelkovic, M., Will, MD, Goeyens, L., Loco, JV Estimate of intake of sulphites in the Belgian adult population, Food Additives & Contaminants A, 2010, 27, 1072-1083).

55 El dióxido de azufre, un aditivo utilizado común en forma de sulfitos, es un compuesto fundamental en enología debido a sus propiedades antimicrobianas y también a sus propiedades antioxidantes y antioscurecimiento, siendo su incorporación una práctica actual en el proceso de producción de vino. Sin embargo, es uno de los aditivos más proclives a desencadenar reacciones alérgicas, lo que ha conducido a un interés creciente en la sustitución del dióxido de azufre por productos naturales o procesos alternativos en la elaboración del vino (Izquierdo-Cañas, PM, García-Romero, E., Huertas-Nebreda, B., Gómez-Alonso, S. Colloidal silver complex as an alternative to sulphur dioxide in winemaking, Food Control, 2012, 23, 73-81). Dado el peligro de la ingesta de sulfuro para la salud humana, la investigación de conservantes naturales sin toxicidad se ha convertido en una prioridad general. Existen ya algunas alternativas naturales a los sulfitos, autorizadas y legisladas, como formaciones basadas en ácido ascórbico, tales como ácido eritórbito (E315, 5 mg/kg de peso corporal); cisteína (E920; cantidad adecuada); algunos ácidos fenólicos, 4-hexilresorcinol (E586; dosis diaria aceptable no especificada), un compuesto orgánico que sólo se regula en gambas (Brannen, AL, Davidson, PM, Salminen, S, Thorngate, J. 2001. Food additives: Taylor & Francis).

65 Los sulfitos también se utilizan frecuentemente en la conservación de otros productos alimenticios, tales como

cerveza, vinagres, crustáceos, carne picada y otros, lo que significa que existe un amplio potencial para estas industrias alimentarias, en la sustitución de estos compuestos sintéticos, por conservantes naturales que cumplan con los reglamentos y con las pruebas de seguridad alimentaria.

5 A este respecto, la utilización de productos naturales como conservantes para sustituir la utilización de aditivos sintéticos ha aumentado, no sólo debido a su capacidad como conservantes, sino también debido a las propiedades bioactivas que pueden conferir estos agentes naturales a los productos alimenticios, haciendo que sean alimentos o bebidas funcionales. La gran mayoría de los productos naturales utilizados presentan fuerte actividad biológica debido a la presencia de moléculas bioactivas, concretamente compuestos fenólicos, de los que se indica que son
10 agentes antioxidantes y antimicrobianos excelentes, lo que justifica su utilización como conservantes. Sin embargo, estas moléculas también se conocen por otras actividades biológicas, concretamente su alta capacidad antitumoral (Carocho, M., Ferreira, ICFR The Role of Phenolic Compounds in the Fight Against Cancer - A Review, Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 2013, 13, 1236-1258), siendo posible aprovecharse de la presencia de estos compuestos naturales, a partir de su utilización como conservantes en la industria alimentaria. Teniendo en cuenta
15 las restricciones legislativas que se han impuesto sobre la utilización de aditivos sintéticos, se han explotado en gran medida fuentes naturales en esta área, permitiendo el desarrollo de alimentos/bebidas funcionales con aditivos naturales, más seguros y de mayor calidad.

20 Existen numerosos estudios en la bibliografía que describen cientos de plantas ricas en polifenoles con capacidad conservante; sin embargo, su utilización implica la extracción de estos compuestos, así como su purificación, lo que no es el caso en la presente invención.

Se conocen bien algunas aplicaciones con respecto a la utilización de compuestos naturales como conservantes naturales en el proceso de elaboración del vino. La solicitud de Patente US2015044328, por ejemplo, se refiere a la
25 utilización de resveratrol y/o pterostilbeno como agentes conservantes de los compuestos fenólicos presentes en vinos. Aunque las uvas contienen estos compuestos en su constitución, están presentes en cantidades bajas, de modo que es necesario que los autores del documento mencionado anteriormente aumenten sus cantidades para garantizar el efecto conservante de los compuestos fenólicos presentes en los vinos. Sin embargo, para que sea posible la adición de estos compuestos, son necesarios procesos de extracción y posterior purificación para obtener
30 los compuestos fenólicos con un alto grado de pureza para su posterior adición al vino. Estos procesos implican costes adicionales significativos que no pueden asumirse en varias industrias. En la presente invención, se evitan todos estos costes adicionales puesto que no son necesarias las etapas de extracción y purificación de los compuestos porque los polifenoles, concretamente los taninos, particularmente el compuesto trigaloil-hexa-hidroxi-difenol-glucósido, son los principales constituyentes de las flores masculinas del castaño; por tanto las flores se liofilizan y se añaden directamente al vino en la cantidad necesaria para ejercer el efecto conservante deseado.
35

La Patente PT105981 describe un proceso de producción de vino que utiliza una película a base de quitosana sin añadir dióxido de azufre al vino. En una realización preferente, las películas se preparan mediante la unión covalente de la quitosana con otros compuestos fenólicos con alta actividad antioxidante, por ejemplo extractos de vino o uva o ácido cafeico ricos en moléculas antioxidantes. En este caso es necesaria la preparación de biopelículas, lo que implica un proceso químico complejo. Además, se requieren grandes cantidades de quitosana, lo que requiere procesos de extracción basados en organismos que tienen este compuesto (cáscaras de gambas) y purificación adicional. Estas etapas de extracción y purificación generan costes significativos a las industrias que constantemente están solicitando tratamientos y procedimientos simplificados y de bajo coste, así como también
45 procedimientos de extracción que utilicen disolventes más ecológicos. Además, la quitosana puede presentar problemas alérgicos, lo que reduce su aplicabilidad en la industria alimentaria. La presente invención se distingue por la falta de disolventes para obtener la matriz rica en polifenoles, puesto que se añade al vino en su forma natural (flores deshidratadas).

50 Entre las matrices naturales, el castaño (*C. sativa*) presenta una gran diversidad de componentes con utilidades diferentes, tales como castañas, utilizados para la alimentación y hojas utilizadas frecuentemente en la preparación de infusiones y decocciones. Sin embargo, las flores también se utilizan en la preparación de "tés" y refrescos con el fin de aumentar el valor nutricional de estas bebidas y también de proporcionar un aroma floral (documento CN102524895 B), que se describen como fuentes excelentes de compuestos fenólicos, especialmente en trigaloil-hexa-hidroxi-difenol-glucósido, que muestra fuerte actividad antioxidante, antimicrobiana y también antitumoral (Carocho, M., y otros, 2006), Barros, L., Bento, A., Santos-Buelga, C., Morales, P., Ferreira, ICFR. *C. sativa* Mill Flowers Among the Most Powerful Antioxidant Matrices: A Phytochemical Approach in Decoctions and Infusions, BioMed Research International, 2014, 2014, 1-7; Carocho, M., Calhelha, RC, Queiroz, MJRP, Bento, A., Morales, P., Sokovic, M., Ferreira, ICFR Infusions and decoctions of *C. sativa* flowers as effective antitumor and Antimicrobial Trices, Industrial Crops and Products, 2014, 62, 2-46).
60

Teniendo en cuenta las propiedades bioactivas mostradas por las flores de *C. sativa*, en la presente invención estas flores se incorporaron directamente al vino durante el proceso de elaboración del vino como una alternativa a la adición de sulfitos, que han demostrado ser tóxicos y que producen problemas para la salud a los consumidores de productos que contienen estos aditivos sintéticos. La ventaja de utilizar flores de *C. sativa* como una alternativa a los sulfitos es garantizar al consumidor un producto de vino con las mismas características fisicoquímicas y sensoriales,
65

5 pero mucho más seguro en lo que se refiere a la salud, puesto que se elimina completamente la utilización de sulfitos y, por tanto, se evitan los problemas que pueden surgir por su presencia en vino. Además, las moléculas bioactivas presentes en las flores de *C. sativa* pueden conferir al vino otras propiedades bioactivas además del efecto conservante, procedentes de las flores incorporadas, lo que permite que el consumidor obtenga estas ventajas a la vez que disfruta de un producto altamente apreciado.

10 En la presente invención, se utilizan flores de castaño directamente, sin necesidad de etapas de extracción, por lo que tampoco se utilizan extractos. Las flores masculinas de castaño se recolectan, se liofilizan y se añaden directamente al vino verde, sustituyendo a la adición de sulfitos, sin cambiar el proceso de fabricación. Desde un punto de vista industrial, es una aplicación económicamente viable y no muy laboriosa, puesto que no hay necesidad de extraer los compuestos bioactivos, eliminando la utilización de disolventes orgánicos que se utilizan normalmente para la extracción de compuestos fenólicos, y que son difíciles de eliminar por las industrias alimentarias.

15 **PROBLEMAS TÉCNICOS RESUELTOS**

Tal como se detalla anteriormente, la presente invención se refiere al problema de utilizar conservantes sintéticos tóxicos, concretamente sulfitos, en el proceso de elaboración del vino, y propone una solución alternativa de conservantes naturales para la producción de vino.

20 La presente invención describe el proceso de producir vino, y el vino obtenido a partir del mismo, mediante la utilización de flores de *Castanea sativa* Mill. como agentes antioxidantes y antimicrobianos, como una alternativa a la utilización de sulfitos y sin alterar los parámetros fisicoquímicos y sensoriales del vino. El procedimiento de la invención no requiere las etapas previas de extracción y purificación de la composición bioactiva, representando por tanto una alternativa de bajo coste compatible con una utilización industrial en la industria de elaboración del vino, a diferencia de otros conservantes naturales dados a conocer hasta ahora.

30 Las flores de *Castanea sativa* no tienen efecto alérgico a diferencia de otros compuestos naturales dados a conocer hasta ahora como conservantes alternativos y, como efecto adicional, las moléculas bioactivas presentes en las flores de *C. sativa* pueden conferir al vino otras propiedades bioactivas además del efecto conservante.

35 Considerando las restricciones legislativas que se han aplicado a la utilización de aditivos sintéticos en la industria alimentaria debido a los riesgos para la salud asociados con su ingestión, la presente invención da a conocer una solución a un problema bien conocido de toxicidad de conservantes alimentarios, concretamente los sulfitos en el proceso de elaboración del vino. Hasta ahora, este problema seguía sin resolverse, ya que nunca se ha presentado una solución industrialmente factible sin efectos secundarios y que garantice los parámetros fisicoquímicos y sensoriales del vino obtenido.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

40 La presente invención describe el proceso de producción de vino utilizando flores de *Castanea sativa* Mill. como conservantes naturales, debido a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas, como una alternativa a la utilización de sulfitos. Una realización preferente se refiere a la producción de *vinho verde* (vino verde) sin sulfitos añadidos.

45 En vista de las restricciones legislativas que se han aplicado a la utilización de aditivos sintéticos en la industria alimentaria debido a los riesgos para la salud asociados con su ingestión, surgen nuevos sectores de investigación que consideran la utilización de fuentes naturales y bioactivas con poca o ninguna toxicidad y de alta aceptación por los consumidores.

50 Ampliamente descritas por sus actividades antioxidantes y antimicrobianas, las flores de *Castanea sativa* se añadieron directamente al vino durante su proceso de producción como una alternativa a la adición de sulfitos, manteniendo el resto del proceso sin cambios. Considerando los resultados obtenidos, basados en el análisis fisicoquímico y sensorial requerido para este tipo de bebidas, la adición de flores de *C. sativa* confirió al vino propiedades conservantes, sin alterar sus parámetros fisicoquímicos y sensoriales. La mayor ventaja de este proceso es la completa eliminación de la utilización de conservantes sintéticos, concretamente sulfitos, lo que permite que el consumidor disfrute de un producto altamente apreciado con calidad y, lo que es más importante, más seguro, y que también puede proporcionar a los consumidores otros beneficios derivados de los compuestos bioactivos presentes en las flores incorporadas en el vino.

60 Para la producción de vino en que se han incorporado flores de *Castanea sativa* Mill, se recolectan manualmente flores masculinas en el campo, tras el proceso de fertilización, sin perjuicio para la formación del fruto; entonces se liofilizan las flores y se incorporan en el vino verde, durante el proceso de producción. Para el proceso de producción, las uvas se recogen y se prensan; el mosto se transfiere a una cuba a la que se añaden las flores de *C. sativa* en una cantidad seleccionada según los valores conocidos de actividad biológica (antioxidante y antimicrobiana) ya estudiados, con el fin de conferir efectos conservantes al vino. Tras este proceso, el mosto se enfría y se transfiere a otra cuba tras de 24 a 48 horas. La fermentación comienza a temperatura controlada con

levaduras autóctonas.

5 Se deja reposar el vino durante 2-3 meses, tras lo cual se transfiere de nuevo a otra cuba y permanece ahí hasta que se embotella aproximadamente 6 meses después. En esta fase, el vino también se somete a una serie de análisis requeridos, donde se evalúan diferentes parámetros con valores mínimos y máximos que se tabulan según la legislación, tales como los parámetros fisicoquímicos y sensoriales, con el fin de verificar si existieron cambios en las características del vino mediante la adición de flores, en comparación con el mismo vino con sulfitos.

10 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

La figura 1 representa un esquema general del proceso de producción de *vinho verde* con flores masculinas de *C. sativa* Mill.

15 La figura 2 describe la representación esquemática del procedimiento desde la producción hasta la elaboración de *vinho verde* al que se han incorporado flores de *C. sativa* Mill.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

20 La presente invención se refiere a un proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos, caracterizado por que se utilizan flores de *Castanea sativa* como conservantes naturales, que sustituyen a la adición de sulfitos sintéticos.

En una realización preferente, el proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos comprende las etapas siguientes:

- 25 a. recolecta de las flores de *Castanea sativa* Mill;
- b. tratamiento y almacenamiento de las flores de *Castanea sativa*;
- 30 c. recolecta y prensado de las uvas para obtener el mosto;
- d. adición de flores de *Castanea sativa* Mill al mosto como conservantes naturales, que sustituyen a la adición de sulfitos sintéticos;
- 35 e. enfriamiento del mosto;
- f. fermentación para la producción de vino.

40 En una realización más preferente, en la etapa a del proceso de la presente invención, flores masculinas de *Castanea sativa* Mill se recolectan manualmente tras el periodo de fertilización.

En otra realización preferente, en la etapa b del proceso de la presente invención, las flores se liofilizan, se reducen a polvo y se almacenan en un desecador.

45 En otra realización preferente, en la etapa d del proceso de la presente invención, la cantidad de flores de *Castanea sativa* añadidas es de 10-25 g/50 l de vino.

En otra realización preferente, en la etapa c del proceso de la presente invención, las uvas se recolectan al final del verano y luego se prensan.

50 En otra realización preferente, el vino sin sulfitos añadidos es *vinho verde*.

En otra realización preferente, en la etapa e del proceso de la presente invención, el mosto se coloca en una cuba refrigerada a una temperatura de 5°C a 9°C. En otra realización más preferente, se transfiere a una cuba de fermentación tras un periodo de 24-48 h de enfriamiento. En otra realización preferente, la fermentación del vino se realiza con levaduras autóctonas a una temperatura de 14-16°C durante 2-3 meses, seguido por la nueva transferencia a otra cuba.

60 También es un objeto de la presente invención el vino obtenido mediante el proceso mencionado anteriormente, teniendo dicho vino una concentración de dióxido de azufre libre menor de 10 mg/dm³ y una concentración de dióxido de azufre total menor de 33 mg/dm³. En una realización más preferente, dicho vino tiene una concentración de dióxido de azufre libre de 8 mg/dm³ y una concentración de dióxido de azufre total de 18 mg/dm³.

65 En otra realización preferente, el vino es *vinho verde*. En una realización más preferente, dicho vino verde presenta: grado alcohólico volumétrico adquirido del 11,0% en volumen; densidad de 0,9916 g/cm³; extracto seco total de 20,6 g/dm³; extracto no reductor de 19,1 g/dm³; azúcares totales inferiores a 1,5 (LQ) g/dm³; acidez total 7,1 g (ácido

tartárico)/dm³; acidez volátil de 0,57 g (ácido acético)/dm³; acidez fija de 6,4 g (ácido tartárico)/dm³; pH = 3,24; ácido L-málico menor de 0,3 (LQ) g/dm³; ácido tartárico de 3,6 g/dm³; prueba negativa de estabilidad de alteración por oxidación; grado alcohólico volumétrico total de 11,1% en volumen

5 **EJEMPLO**

Para la producción de *vinho verde* (vino verde) en que se han incorporado flores de *Castanea sativa* Mill, se recolectan manualmente flores masculinas en el campo, tras el proceso de fertilización, sin perjuicio para la formación del fruto; a continuación se liofilizan las flores y se incorporan en el vino verde, durante el proceso de producción. El *vinho verde* lo produce el productor Fernando Magalhães Pinto Paiva en la ciudad de Amarante. Para el proceso de producción, las uvas se recogen y se prensan; el mosto se transfiere a una cuba a la que se añaden las flores de *C. sativa* en una cantidad seleccionada según los valores conocidos de actividad biológica (antioxidante y antimicrobiana) ya estudiados, con el fin de conferir efectos conservantes al vino. Tras este proceso, el mosto se enfría y se transfiere a otra cuba tras de 24 a 48 horas. La fermentación comienza a una temperatura controlada con levaduras autóctonas.

Se deja reposar el vino durante 2-3 meses, tras lo cual se transfiere de nuevo a otra cuba y permanece ahí hasta que se embotella aproximadamente 6 meses después. En esta fase, el vino también se somete a una serie de análisis requeridos, donde se evalúan diferentes parámetros con valores mínimos y máximos que se tabulan según la legislación, tales como los parámetros fisicoquímicos y sensoriales, con el fin de verificar si hubo cambios en las características del vino mediante la adición de flores, en comparación con el mismo vino con sulfitos.

- El primer objetivo de la presente invención es recoger las flores masculinas de *C. sativa*. Para este fin, las flores masculinas se recolectan manualmente en el campo tras el periodo de fertilización, sin perjuicio para la producción de las castañas. Con este enfoque, las flores masculinas, en lugar de carecer de utilidad, se recolectan aprovechando la alta cantidad de compuestos bioactivos que están presentes, dándoles una utilización funcional. Las flores se liofilizan, se reducen a polvo y se almacenan en un desecador para su protección de la humedad.

- El segundo objetivo es la producción de *vinho verde*. Las uvas se recolectan cerca del final del verano, y se llevan al lugar de producción. Tras este proceso, las uvas se prensan y el mosto resultante se transfiere a una cuba refrigerada. En esta fase, se añaden las flores de *C. sativa* liofilizadas, en una cantidad basándose en su actividad antioxidante y antimicrobiana estudiada previamente, que corresponde a 10-25 g de la flor liofilizada/50 l de *vinho verde*. A continuación se enfría el mosto hasta 5-9°C y tras 24-48 horas se transfiere a otra cuba donde tiene lugar la fermentación por la acción de levaduras autóctonas con control de temperatura a 14-16°C durante 2-3 meses.

Tras este periodo, el vino se transfiere de nuevo a otra cuba para obtener un vino más claro, y se desecha el precipitado resultante de la fermentación. Tras 6-8 meses, se embotella el vino.

- El tercer objetivo es evaluar los parámetros fisicoquímicos y sensoriales del vino con flores de *C. sativa*, teniendo como control el vino con la adición de sulfitos. Estos análisis son obligatorios en este tipo de productos e incluyen varios parámetros fisicoquímicos tales como: grado alcohólico volumétrico adquirido, densidad, extracto seco total, extracto no reductor, azúcares totales, acidez total, acidez volátil, acidez fija, pH, dióxido de azufre libre, dióxido de azufre total, ácido cítrico, cloruros, sulfatos, grado alcohólico volumétrico total, para vino con sulfitos; grado alcohólico volumétrico adquirido, densidad, extracto seco total, extracto no reductor, azúcares totales, acidez total, acidez volátil, acidez fija, pH, dióxido de azufre libre, dióxido de azufre total, ácido L-málico, ácido tartárico, prueba de estabilidad (alteración por oxidación), grado alcohólico volumétrico total, para el vino con flores añadidas; análisis sensorial (aspecto-claridad, aspecto-color, aroma-prueba descriptiva, aroma-defecto marcado, aroma-calidad, aroma-tipicidad) para el vino con sulfitos añadidos; y: (aspecto-claridad, aspecto-color, aroma-prueba descriptiva, sabor-prueba descriptiva) para el vino con flores de *C. sativa*. Los intervalos mínimos y máximos cumplen con los reglamentos, de modo que todos los productos de vino deben estar dentro de estos intervalos regulados para comercializarse.

Los parámetros fisicoquímicos del vino de control con adición de sulfitos fueron: grado alcohólico volumétrico adquirido = 11,49%; densidad = 0,9906 g/cm³, extracto seco total = 19,6 g/cm³, extracto no reductor = 18,00 g/cm³, azúcares totales = 1,6 g/cm³, acidez total = 5,6 g (ácido tartárico)/dm³, acidez volátil = 0,49 g (ácido acético)/dm³, acidez fija = 5,0 g (ácido tartárico)/dm³, pH = 3,26, dióxido de azufre libre = 10 mg/dm³, dióxido de azufre total = 33 mg/dm³, ácido cítrico <0,10 (LQ) g/dm³, cloruros <0,034 (LQ) g(cloruro de sodio)/dm³, sulfatos = 0,32 g (sulfato de potasio)/dm³, grado alcohólico volumétrico total = 11,6% en volumen; y para el análisis sensorial: aspecto-claridad = ligeramente opalino, aspecto-color= amarillo paja, aroma-prueba descriptiva = joven y ligeramente oliváceo, aroma-defecto marcado = no, calidad de aroma = suficiente (5), tipicidad de aroma = típico, sabor-prueba descriptiva = joven y ligeramente oliváceo, sabor-defecto marcado = no, calidad de sabor = suficiente (5), sabor-tipicidad = típico. El vino con la adición de flores mostró los siguientes parámetros fisicoquímicos: grado alcohólico volumétrico = 11,0% en volumen, densidad = 0,9916 g/cm³, extracto seco total = 20,6 g/dm³, extracto no reductor = 19,1 g/dm³, azúcares totales ≤1,5 (LQ) g/dm³, acidez total = 7,1 g (ácido tartárico)/dm³, acidez volátil = 0,57 g (ácido acético)/dm³, acidez fija = 6,4 g (ácido tartárico)/dm³, pH = 3,24, dióxido de azufre libre = 8 mg/dm³, dióxido de azufre total = 18 mg/dm³, ácido L-málico <0,3 (LQ) g/dm³, ácido tartárico = 3,6 g/dm³, prueba de estabilidad

(alteración por oxidación) = negativa, grado alcohólico volumétrico total = 11,1% en volumen; y para el análisis sensorial: aspecto-claridad = ligeramente opalino, aspecto-color = amarillo paja, aroma-prueba descriptiva = joven y ligeramente oliváceo, sabor-prueba descriptiva = joven y ligeramente oliváceo.

5 Según los resultados, el vino con flores de *C. sativa* demostró ser una alternativa prometedora al vino con la adición de sulfitos, puesto que la incorporación de las flores no afectó a las características fisicoquímicas y sensoriales. Todos los parámetros analizados estaban dentro de los intervalos regulados para cada parámetro. Por tanto, la presente invención da a conocer a la industria del vino una alternativa, prometedora y segura, que permite el consumo de un producto altamente apreciado, más seguro y mejor aceptado por los consumidores, evitando la adición de aditivos sintéticos de toxicidad conocida.

10 La presente invención describe el proceso para la producción de *vinho verde* (vino verde) por el productor Fernando Magalhães Pinto Paiva, utilizando flores de *Castanea sativa* Mill como agentes antioxidantes y antimicrobianos, como una alternativa a la utilización de sulfitos sintéticos. Más específicamente, la presente invención utiliza las flores de *C. sativa* con actividad antioxidante y antimicrobiana excelentes ya demostradas. Las flores se añaden directamente con el fin de sustituir a la necesidad de utilizar sulfitos sintéticos (compuestos con toxicidad conocida) utilizados frecuentemente en la industria alimentaria, especialmente en la industria del vino. El producto resultante, el vino producido que contiene flores de *C. sativa*, se sometió a diferentes análisis fisicoquímicos y sensoriales, revelando valores similares a los de los vinos que contienen sulfitos en todos los parámetros analizados; es decir, valores dentro de los parámetros legales requeridos para este tipo de bebidas. La principal ventaja de la presente invención es la eliminación completa de la utilización de agentes sintéticos que están estrechamente relacionados con problemas para la salud, lo que garantiza una mayor seguridad para el consumidor en el consumo de vino, dado que es un producto ampliamente consumido y altamente apreciado en todo el mundo.

REIVINDICACIONES

1. Proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos, **caracterizado por que** se utilizan flores de *Castanea sativa* como conservantes naturales, que sustituyen a la adición de sulfitos sintéticos.
2. Proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos, **caracterizado por que** comprende las etapas siguientes:
- recolecta de las flores de *Castanea sativa* Mill;
 - tratamiento y almacenamiento de las flores de *C. sativa*;
 - recolecta y prensado de las uvas para obtener el mosto;
 - adición de las flores de *C. sativa* al mosto como conservantes naturales, que sustituyen a la adición de sulfitos sintéticos;
 - enfriamiento del mosto;
 - fermentación para la producción de vino.
3. Proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que**, en la etapa a, flores masculinas de *C. sativa* se recolectan manualmente tras el periodo de fertilización.
4. Proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que**, en la etapa b, las flores se liofilizan, se reducen a polvo y se almacenan en un desecador.
5. Proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que**, en la etapa d, la cantidad de flores de *C. sativa* añadidas es de 10-25 g/50 l de vino.
6. Proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que**, en la etapa c, las uvas se recolectan al final del verano y luego se prensan.
7. Proceso para la producción de vino, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** el vino sin sulfitos añadidos es *vinho verde*.
8. Proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que**, en la fase e, el mosto se coloca en una cuba refrigerada a una temperatura de 5°C a 9°C.
9. Proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos, según la reivindicación 7, **caracterizado por la** transferencia a una cuba de fermentación tras un periodo de 24-48 h de enfriamiento.
10. Proceso para la producción de vino sin la adición de sulfitos, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la fermentación del vino se realiza con levaduras autóctonas a una temperatura de 14-16°C durante 2-3 meses, seguido por la nueva transferencia a otra cuba.
11. Vino obtenido mediante el proceso descrito en las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado por que** tiene una concentración de dióxido de azufre libre menor de 10 mg/dm³ y una concentración de dióxido de azufre total menor de 33 mg/dm³.
12. Vino, según la reivindicación 10, **caracterizado por que** tiene una concentración de dióxido de azufre libre de 8 mg/dm³ y una concentración de dióxido de azufre total de 18 mg/dm³.
13. Vino, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** es *vinho verde*.
14. Vino, según la reivindicación 12, **caracterizado por** presentar: grado alcohólico volumétrico adquirido del 11,0% en volumen; densidad de 0,9916 g/cm³; extracto seco total de 20,6 g/dm³; extracto no reductor de 19,1 g/dm³; azúcares totales inferiores a 1,5 (LQ) g/dm³; acidez total 7,1 g (ácido tartárico)/dm³; acidez volátil de 0,57 g (ácido acético)/dm³; acidez fija de 6,4 g (ácido tartárico)/dm³; pH = 3,24; ácido L-málico menor de 0,3 (LQ) g/dm³; ácido tartárico de 3,6 g/dm³; prueba negativa de estabilidad de alteración por oxidación; grado alcohólico volumétrico total del 11,1% en volumen.

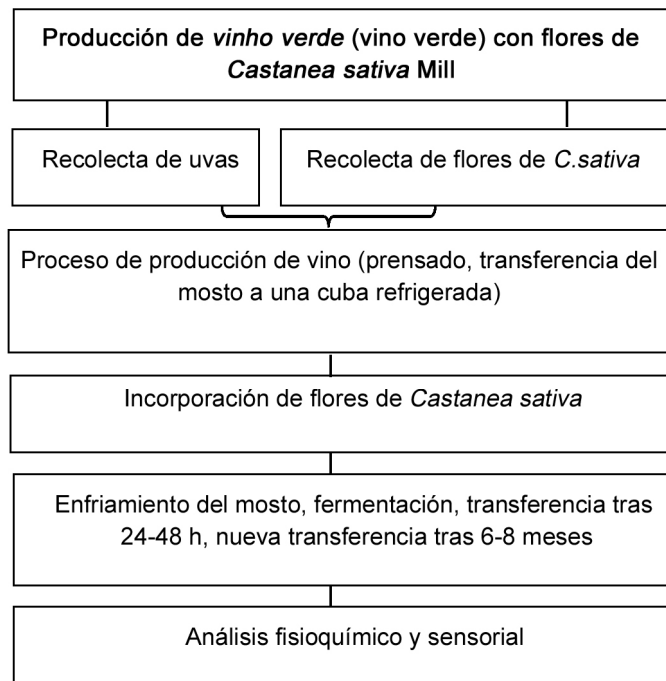


Figura 1

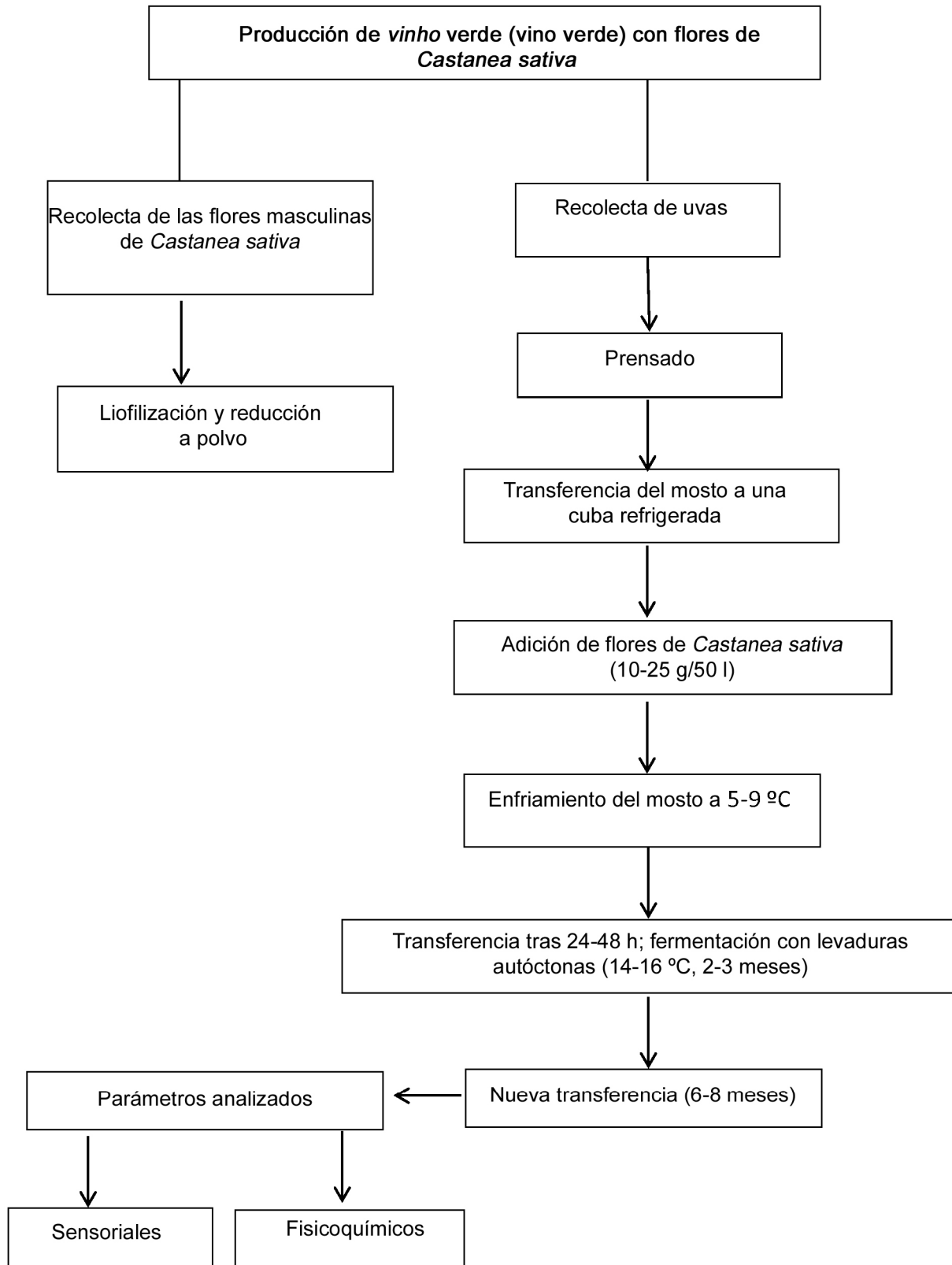


Figura 2