



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2012 00553**

(22) Data de depozit: **24.07.2012**

(41) Data publicării cererii:
30.01.2014 BOPI nr. 1/2014

(71) Solicitant:
• **STAȚIUNEA DE CERCETARE
DEZVOLTARE PENTRU VITICULTURĂ ȘI
VINIFICAȚIE IAȘI,**
ALEEA MIHAIL SADOVEANU NR. 48, IAȘI,
IS, RO

(72) Inventatori:
• **SAVIN COSTICĂ,**
ALEEA MIHAIL SADOVEANU NR. 48, IAȘI,
IS, RO;
• **MĂNTĂLUȚĂ ALINA,**
ALEEA MIHAIL SADOVEANU NR. 48, IAȘI,
IS, RO

(54) **METODĂ DE IMOBILIZARE A LEVURILOR FOLOSITE ÎN
TEHNOLOGIA VINURILOR SPUMANTE**

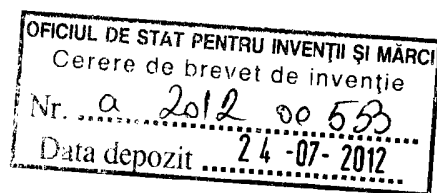
(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la o metodă de imobilizare a levurilor folosite în tehnologia vinurilor spumante. Metoda conform invenției constă din aceea că, pe o matrice de biopolimer gumă gelan, obținută prin adăugarea a 10...30 ml de suspensie conținând 0,035 g/l bentonită la 0,3...1 g gumă gelan dizolvată în 40...70 ml de apă sterilă deionizată, la temperatura de 70...80°C, se adaugă un volum de suspensie 10% de celule de levuri, care asigură o concentrație de 1,5...2,5 g celule

de levuri, la un volum final de 100 ml amestec, urmat de omogenizarea și extruderea amestecului sub formă de picături, într-o soluție 1,5...2% de clorură de calciu, la un timp de imersare de 30...60 min, după care perlele rezultate se filtrează și se reintroduc în soluție 0,05...0,1% de gumă gelan, se spală cu apă deionizată și se activează în must de struguri steril, timp de 4...6 h.

Revendicări: 2





METODĂ DE IMOBILIZARE A LEVURILOR FOLOSITE ÎN TEHNOLOGIA VINURILOR SPUMANTE

Invenția se referă la o metodă de preparare a biocatalizatorului cu celule de levuri imobilizate, sub formă de perle, pentru producerea vinurilor spumante în butelii prin metoda champenoise. Perlele de biocatalizator se obțin folosind o nouă matrice și anume gelan-gum, un biopolimer din categoria aditivilor alimentari care exclude posibilitatea antrenării în produsele vinicole a substanțelor toxice.

Pentru imobilizarea celulelor de levuri sunt cunoscute și alte matrici ca alginat, carrageenan, polivinil alcool etc. (Fumi M.D. și colab., 1998, Am. J. Enol.Vitic, vol. 39, p. 267-272, Kantevik H.L., 1992, nr. patent 5079011, Martynenko N.N. și colab., 2004, Appl. Bioch. Microbiol., vol. 40, nr. 2, p. 158-164). Rezultatele obținute au arătat că pentru prepararea gelurilor în vederea imobilizării celulelor de levuri s-au folosit concentrații mari din matricele menționate, de 2-4 %, fiind necesar totodată acoperirea perlelor cu un strat dublu pentru reținerea celulelor în interiorul perlelor.



Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este: difuzia optimă a nutrienților la nivelul celulelor de levuri imobilizate prin utilizarea unor concentrații reduse de biopolimer pentru prepararea matricei de entrapare; stabilitatea fizico-mecanică a structurii perlelor, acestea nefiind compresibile, flotante, cu eliminarea operațiunii de remuaj, neafectându-se calitățile organoleptice ale vinurilor spumante.

Metoda de imobilizare a levurilor folosite în tehnologia vinurilor spumante, conform invenției, folosește matricea de gelan-gum pentru prepararea unui biocatalizator cu celule de levuri imobilizate. S-au utilizat concentrații de 0,3...1,0 g gelan-gum, dizolvat în 40...70 mL apă deionizată sterilă la temperatura de 70...80°C, după răcirea soluției de gelan-gum la temperatura de 25...50°C, s-au adăugat 10...30 mL suspensie de bentonită cu concentrația de 0,035 g/mL și un volum de suspensie de 10% celule care asigură concentrația de 1,5...2,5 g celule levuri la 100 mL amestec. Înainte de prepararea suspensiei de 10%, celule de levuri au fost spălate cu apă deionizată sterilă și centrifugate la 5000...8000 rpm.

Amestecul obținut a fost extrus printr-o capilară cu diametrul interior de 0,5 mm, picăturile fiind imersate în 300...800 mL dintr-o soluție de clorură de calciu 1,5...2 %, cu agitare ușoară, intermitentă, timp de 10... 60 minute.

Perlele de biocatalizator filtrate se introduc într-o soluție de 0,05...0,1 % soluție de gelan-gum. Prezența ionilor de calciu conduc la formarea unei pelicule de gelan-gum protectoare care împiedică eliberarea celulelor de levuri din stratul superficial al perlelor. Această operațiune este urmată de spălarea perlelor de biocatalizator cu apă deionizată sterilă, timp de 3...8 ore la temperatura de 10...30°C cu agitare ușoară. Operațiunea de spălare a perlelor de biocatalizator este considerată foarte importantă având în vedere scopul urmărit și anume de a obține vinuri spumante limpezi, fără depozit. În cazul în care ionii de calciu bivalenți nu au fost eliminați în totalitate prin spălare, se formează cristale de tartrat de calciu care conduc la un depozit în butelii, aspect neacceptat la obținerea vinurilor spumante.

Perlele de biocatalizator cu celule de levuri imobilizate în gelan-gum, înainte de utilizare în fermentația a două în butelii pentru prepararea vinului spumant sunt activate în must de struguri steril timp de 4...6 ore. Testarea activității catalitice a biocatalizatorului s-a efectuat în butelii, în care s-a introdus amestecul de tiraj (vin materie primă pentru spumante și licoarea care asigură 24 g zaharuri/L). După dopuire și agrafare, buteliile se așează orizontal în camere speciale la temperatura de 14-16°C.



Un exemplu de realizare a invenției se referă la:

- a) prepararea perlelor de biocatalizatori prin imobilizarea celulelor de levuri în gelan-gum;
- b) eliminarea surplusului soluției de clorură de calciu 2%;
- c) fermentația a doua alcoolică în butelii cu biocatalizatorul de celule de levuri imobilizate în gelan-gum.

0,5 g gelan-gum se dizolvă în 65 mL apă deionizată sterilă, pe o baie de apă, la temperatura de 80°C, timp de 30 minute cu agitare ușoară. După răcirea soluției la 30°C s-a adăugat: 20 mL, o suspensie celule levuri aparținând speciei *Saccharomyces bayanus* MNF11 (substanță uscată 10%), 14 mL, o suspensie bentonită ($c = 0,035$ g/mL) urmată de omogenizare, pentru repartizarea uniformă a suspensiilor practicându-se extruderea gelului printr-o capilară cu diametrul interior de 0,5 mm. Picăturile au fost imersate de la distanța de 10 cm, în vasul cu 600 mL soluție clorură de calciu 2%, timp de 30 minute, pentru întărirea picăturilor de amestec care devin rotunde, având aspect de perle. Perlele de biocatalizator sunt separate prin filtrare de soluția de clorură de calciu 2 % se reintroduc într-o soluție de gelan-gum 0,1 % timp de 10 minute. După filtrare, perlele sunt spălate cu apă deionizată sterilă pentru îndepărtarea ionilor bivalenți de calciu în exces. Conform rețetei de preparare din metoda prezentei invenții rezultă aproximativ 86 g perle de biocatalizator cu celule de levuri imobilizate în gelan-gum.

În butelii de sticlă se introduc perlele de biocatalizator cu celule de levuri imobilizate în gelan-gum, care asigură cantitatea de 1,5 g celule/butelie și amestecul de tiraj obținut din vin materie primă pentru spumante la care s-a adăugat licoarea de tiraj care asigură 24 g/L zaharuri.

Buteliile astfel pregătite sunt așezate orizontal la temperatura de 14...16°C. Fermentația alcoolică a doua în butelii s-a finalizat după 15 zile. După acest interval de timp buteliile au fost observate în lumina unei lămpi pentru aprecierea limpidității. Prin simpla, poziționare verticală a buteliilor cu dopul în jos, în câteva secunde perlele de biocatalizator cu celule de levuri imobilizate în gelan-gum s-au depus astfel că operațiunea de remuaj a fost eliminată. Degorjarea (eliminarea perlelor), sub presiunea dioxidului de carbon rezultat în butelii în urma procesului de fermentație alcoolică s-a realizat în condiții optime.



Invenția prezintă următoarele **avantaje**:

- imobilizarea celulelor de levuri în biopolimerul gelan-gum ca matrice exclude posibilitatea introducerii în vinurile spumante a reziduurilor toxice fiind un aditiv alimentar verificat și acceptat de FAO;
- costul perlelor de biocatalizator este convenabil deoarece în final se obțin 86...88 g perle folosind doar 0,4...0,6 % biopolimer gelan-gum, raportul fiind de 1 la 4 față de alte matrici utilizate până în prezent (alginat, carrageenan etc.);
- pentru asigurarea reținerii celulelor de levuri în interiorul perlelor de biocatalizator, metoda din prezenta invenție propune o nouă soluție și anume adaosul, a suspensiei de bentonită în structura perlelor, aditiv oenologic admis în industria vinicolă, care are proprietatea de a aglomera celulele de levuri și deci, de a evita eliberarea acestora în mediul de fermentație la prepararea vinurilor spumante;
- calitatea biopolimerului gelan-gum ca matrice de imobilizare a celulelor de levuri în vederea utilizării la prepararea vinurilor spumante reiese din stabilitatea structurii perlelor și a difuziei optime a nutrienților în interiorul acestora conducând la reducerea cu 50 % a perioadei de fermentație alcoolică a doua;
- proprietățile fizico-mecanice ale perlelor de biocatalizator corespund criteriilor de utilizare în tehnologia de preparare a vinurilor spumante și anume nu sunt compresibile, flotante, având o structură stabilă care oferă posibilitatea reutilizării în mai multe cicluri de fermentație alcoolică;
- separarea biocatalizatorului din mediul de fermentație se realizează ușor, în câteva secunde, conducând la eliminarea operațiunii de remuaj din tehnologia de preparare a vinurilor spumante;
- matricea de gelan-gum nu afectează calitatea organoleptică a vinului spumant, acesta păstrând calitățile vinului materie primă, în special aroma fină.



METODĂ DE IMOBILIZARE A LEVURILOR FOLOSITE ÎN TEHNOLOGIA VINURILOR SPUMANTE

Revendicări:

1. Metodă de imobilizare a levurilor folosite în tehnologia vinurilor spumante **caracterizată prin aceea** că se utilizează ca matrice, biopolimerul gelan-gum.

2. Metodă de imobilizare a levurilor folosite în tehnologia vinurilor spumante, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** la prepararea biocatalizatorului cu celule de levuri imobilizate în matricea de gelan-gum se utilizează concentrații de 0,3...1 g gelan-gum dizolvat în 40...70 mL apă deionizată sterilă la temperatura de 70...80°C, la care se adaugă 10...30 mL suspensie de bentonită (0,035 g/mL), un volum de suspensie 10% celule care asigură concentrația de 1,5...2,5 g celule levuri la un volum final de 100 mL amestec, urmat de omogenizarea și extruderea sub formă de picături a amestecului într-o soluție de 1,5...2 % clorură de calciu, timpul de imersare fiind de 30...60 minute, urmată de filtrarea și reintroducerea perlelor într-o soluție de 0,05...0,1 % gelan-gum fiind apoi spălate cu apă deionizată sterilă pentru îndepărtarea ionilor de calciu bivalenți în exces și activarea în must de struguri steril timp de 4...6 ore înainte de testarea activității catalitice în fermentația alcoolică a doua în butelii pentru prepararea vinurilor spumante.

