



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2018 00872

(22) Data de depozit: 06/11/2018

(41) Data publicării cererii:  
30/06/2020 BOPI nr. 6/2020

(71) Solicitant:  
• EPI-SISTEM S.R.L., BD.BRAȘOVULUI  
NR.145, SĂCELE, BV, RO;  
• CENTRUL INTERNAȚIONAL  
DE BIODINAMICĂ,  
INTRAREA PORTOCALELOR NR.1,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• INSTITUTUL DE CERCETARE  
DEZVOLTARE PENTRU VITICULTURĂ ȘI  
VINIFICAȚIE, STR. VALEA MANTEI NR.1,  
VALEA CĂLUGĂREASCĂ, PH, RO

(72) Inventatori:  
• EPURE PETRU, BD.GRIVIȚEI NR.56,  
BL.10, SC.B, AP.16, BRAȘOV, BV, RO;  
• VASILESCU ALINA, BDUL.1MAI, NR.27,  
BL.C7, AP.38, ET.9, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• GASPĂR SZILVESZTER, STR.CEAHLĂUL  
NR.20, BL.103, SC.3, ET.5, AP.72,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• TITOIU ANA MARIA,  
STR.CALEA FERATĂ, NR.15,  
SAT.VAIDEENI, COMUNA VAIDEENI, VL,  
RO;  
• PORUMB ROXANA,  
VALEA CĂLUGĂREASCĂ NR.45, BL.11CVV,  
AP.6, VALEA CĂLUGĂREASCĂ, PH, RO

(54) SISTEM AUTOMAT BAZAT PE BIOSENZOR  
PENTRU MONITORIZAREA UNOR PARAMETRI  
AI PROCESULUI DE VINIFICAȚIE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un sistem automat bazat pe biosenzori pentru monitorizarea unor parametri din timpul procesului de vinificație a vinurilor. Sistemul, conform invenției, este compus dintr-un modul de monitorizare și control (a), un modul de prelevare (b) a probelor de must dintr-un tanc, un modul de diluție (c) a probelor cu o soluție tampon adecvată determinării, un modul de determinare a glucozei (d), un modul de determinare a concentrației de polifenoli (e), un modul de determinare a caracteristicilor de culoare (f), un modul de fluidică (g), care asigură transferul reactivilor între modulele menționate și detectorii electrochimici/optici, și un modul de avertizare (h), care generează alarme luminoase și sonore referitoare la depășirea unor limite ale concentrației de glucoză sau de polifenoli, temperatură, etc.

Revendicări: 4  
Figuri: 2

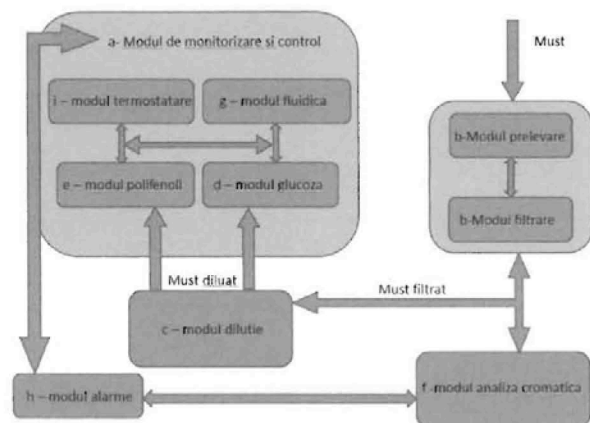


Fig. 1



## Sistem automat bazat pe biosenzor pentru monitorizarea unor parametri ai procesului de vinificație

### DESCRIERE

Invenția se referă la un sistem de monitorizare a unor parametri din timpul procesului de vinificație a vinurilor utilizând (bio)senzori. Parametrii monitorizați sunt concentrația de glucoză, concentrația de compuși polifenolici totali și proprietățile de culoare. Sistemul conform invenției este compus din modul de monitorizare și control (a), modul de prelevare (b), modul de diluție (c), modul de determinare a glucozei (d), modul de determinare a concentrației de polifenoli totali (e), modul de determinare a caracteristicilor de culoare (f), modul de fluidică (g), modul de avertizare (h).

Avantaje: avertizează evoluția parametrilor procesului de vinificație peste anumite limite și ajută la obținerea unor vinuri de calitate cu păstrarea caracteristicilor specifice acelei categorii de vin

- (a) **modul de monitorizare și control**– este compus dintr-un ansamblu de elemente electronice și microcontrollere care permit monitorizarea parametrilor de funcționare ai fiecărui modul, monitorizarea parametrilor de măsurat, determinarea concentrațiilor de glucoză și polifenoli totali, determinarea caracteristicilor cromatice și controlul elementelor componente/ Include 8 pompe peristaltice, 16 valve, 6 senzori, 3 surse de alimentare de 5V, 12V și 24V. Include proceduri de control în timp real al proceselor derulate, prelucrarea și afișarea datelor măsurate precum și transmiterea unor avertizări la distanță în cazul unor alarme generate de parametri de vinificare care au depășit limitele admise.
- (b) **modul de prelevare**– este compus din 6 valve, 6 pompe peristaltice și 2 elemente de filtrare. Rolul acestui modul este de a asigura prelevarea unei probe de 150ml de must din tanc, filtrarea mustului de elementele biologice care pot infunda instalația și transferul probei către modulele de măsură pe baza protocolului stabilit
- (c) **modul de diluție**– include un ansamblu de 10 valve și 6 pompe ce asigură diluarea probei cu un anumit factor în vederea respectării domeniului liniar al senzorilor. Factorul de diluție poate fi de 200, 500 și 1000 și poate fi selectat pentru fiecare determinare programată în cursul unei zile. Probele se diluează cu soluția tampon adecvată determinării respective ( de exemplu tampon fosfat sau soluție de hexacianoferrat în tampon TRIS)
- (d) **modul de determinare a glucozei**– este un modul compus din 4 valve, 2 pompe peristaltice, detector enzimatic amperometric și celula de detecție în flux cu electrod de carbon funcționalizat cu glucoxidază. Modulul execută 3 injecții alternative repetate la un interval de 10 minute, compară semnalul obținut de la proba cu curba de calibrare realizată prin injectarea a două soluții standard de glucoză de concentrație 0.1 mM și 1mM și afișează concentrația probei în timp real (Fig. 1). Soluțiile standard sunt preparate manual dintr-o soluție stoc adecvată prin diluare cu soluție de hexacianoferrat în tampon TRIS pH 7.2 ("HCF-TRIS"). Proba de analizat este obținută prin diluare adecvată cu HCF-TRIS folosind modulul de diluție automată descris mai sus. Metoda necesită un flux stabil de electrolit HCF-TRIS, cu o concentrație adecvată de HCF și polarizarea senzorului de glucoză la un potențial negativ de ordinul mV. Include proceduri de spălare, calibrare, măsură și interpretare a rezultatelor.
- (e) **modul de determinare a concentrației de polifenoli totali**- este un modul compus din 4 valve, 2 pompe peristaltice, detector amperometric și celula de detecție în flux cu electrod de

carbon functionalizat nanotuburi de carbon. Modul executa 3 injectari alternative repetate la un interval de 10 minute si compara semnalul obtinut de la proba cu o curba de calibrare stabilita cu solutii standard de acid galic cu concentratie 0.1mg/L si respectiv 3mg/L. Solutiile standard sunt obtinute prin diluare manuala cu solutie tampon la este de maxim 2mL/min. Include proceduri de spalare, calibrare, masura si interpretare a rezultatelor.

**(f) modul de determinare a caracteristicilor de culoare**– este compus dintr-o sursa de lumina Xe, filtru pentru lungimile de unda 420nm, 520nm si 620nm, element de detectie a absorbtiei optice, celula in flux cu drum optic de 1-3mm si un volum maxim de 3ml. Acest modul pune in evidenta evolutia caracteristicilor cromatice la vinurile albe si in special la cele rosii.

**(g) modul de fluidica**– este o retea optimizata de tuburi, valve si pompe care asigura transferul reactivilor intre modulele componente si detectorii electrochimici/optici. Selectia reactivilor poate include apa distilata, proba de must, solutie de hexacianoferat in tampon TRIS, solutie tampon fosfat, solutii standard de glucoza, solutii standard de acid galic, eventual standarde de culoare. Debitul utilizat poate varia intre 0.1ml/min pana la 30ml/min si pot fi reglate dupa caz.

**(h) modul de avertizare**– este un modul care genereaza alarme luminoase si sonore si poate transmite la distanta avertizari referitoare la depasirea unor limite ale concentratiei de glucoza, polifenoli, temperatura, etc.

**(i) modul de termostatare**– este un modul ce asigura o temperatura constanta pentru elementele componente sensibile la temperaturi joase, sub 10 grade Celsius, si care asigura incalzirea cu ajutorul unor elemente Peltier la o temperatura fixata. Bucla de reglare este de tip PID ( proportional, integral, derivativ). Celulele si detectorii amperometrici lucreaza in conditii optime incepand de la 18-20° Celsius ceea ce in perioada de toamna este dificil de intalnit in halele de vinificare unde sunt in general 10-12° Celsius.

Sistemul se poate prezenta sub forma a doua incinte paralelipipedice fixate pe roti ce pot fi mutate cu usurinta in halele de vinificatie. Ele pot avea o inaltime de maxim 2200mm, latime de maxim 600mm si adancime de 300mm. Sistemul este dotat cu un ecran LCD pentru afisarea parametrilor de functionare si a datelor masurate. Comanda se poate face local prin ecran de tip touch-screen inteligent sau la distanta prin intermediul unor tehnologii web.

Sistemul necesita o alimentare la 220V si are un consum mediu de 0.8KW in regim de lucru si 0.2KW in regim de stationare. Sistemul permite preprogramarea intervalelor orare de prelevare si masurare pentru functionare automata iar in regim manual permite utilizarea individuala a dispozitivelor din sistem: pompe, valve, detectori, surse, alarme,

Senzorii enzimatici utilizati pentru determinarea concentratiei de glucoza sunt planari, au configuratie de 3 electrozi, si au electrodul de lucru functionalizat cu glucozoxidaza . De exemplu, pot fi utilizati electrozi de carbon functionalizati cu glucozoxidaza disponibili comercial. Pot fi utilizati o perioada de 48-72 ore intr-un sistem de analiza in flux prin care circula un flux constant de electrolit adecvat (de ex HCF-TRIS in functie de constructia senzorului) iar calibrarea se face zilnic. Rezultatele se coreleaza direct iar valorile absolute sunt similare celor determinate prin metoda enzimatica oficiala curenta a Organizatiei Internationale a Viei si Vinului. Pentru detectia compusilor polifenolici totali se utilizeaza sisteme planare in configuratie cu 3 electrozi din care electrodul de lucru este functionalizat cu

nanotuburi de carbon pentru a fi rezistent la adsorptia nespecifica a compusilor din must si vin. De exemplu, pot fi utilizati electrozi disponibili comercial. . Pentru determinarea concentratiei de polifenoli totali acestia pot fi utilizati 4-5 zile cu calibrare periodica. Senzorii sunt utilizati intr-o celula in flux prin care circula un flux bine stabilit dintr-o solutie tampon cu pH acid. De exemplu, o solutie adecvata este solutie tampon 0.2 M fosfat pH 2.4 ka un flux de 2 mL/minut. Pentru determinarea compusilor fenolici totali senzorii sunt polarizati la un potential adecvat corespunzator oxidarii compusilor fenolici din must si vin, de exemplu 1V. Rezultatele sunt corelate direct cu continutul in compusi fenolici determinat prin metoda clasica spectrofotometrica Folin Ciocalteu.

Sistemul este foarte util intrucat pune in evidenta concentratia de glucoza din must astfel incat se poate determina cu precizie progresul procesului de vinificare si poate fi controlata tehnologia de vinificare cu o precizie superioara.

In practica se determina prin metode spectrometrice sau difractometrice concentratia de zahar total ceea ce nu ofera o informatie la fel de precisa asupra continutului de glucoza care are potential de metabolizare mai ridicat decat fructoza si zaharoza.


#### Cercetare documentara

In urma verificarilor efectuate nu am gasit un sistem similar brevetat in Romania. La nivel mondial sistemele care monitorizeaza parametrii de vinificatie utilizeaza in proportie de 90% metode spectrometrice, FTIR sau difractometrice si nu utilizeaza biosenzori enzimatici.

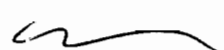
Exista sisteme care utilizeaza senzori enzimatici pentru determinarea glucozei precum BIOPAT de la firma Sartorius insa acesta este proiectat pentru lucrul in laborator , utilizeaza un potential de oxidare mult mai mare iar numarul de determinari sugereaza ca se face calibrarea la un interval mult mai mare de timp iar interventia operatorului chimist este necesara. Domeniul de masura este limitat la 40g/L ceea ce sugereaza utilizarea mai degraba pentru vinuri deja fermentate decat pentru must.


De asemenea, firma YSI – Xilem produce echipamentul YSI 2900 Analyser ce utilizeaza un senzor GOD pe baza de platina insa procedura implica interventie manuala specializata si presupune urmarirea unui protocol. De asemenea domeniul de masura este limitat la 40g/L ceea ce nu permite detectia de glucoza pentru mustuieli nefermentate.

Zeutec – Spectra , Thermo , FOSS Winescan utilizeaza tehnici FT-IR si sunt echipamente sau kituri de laborator.

GASPAR STEINWESER Epura Petru  
 Gaspard  


FORUMS ROXANA  
 Roxana

TITOIU ANA-MARIA  


VASILESCU ALINA  


## Sistem automat bazat pe biosenzor pentru monitorizarea unor parametri ai procesului de vinificatie

### REVENDICARI

#### Formulam urmatoarele revendicari independente :

- Sistemul de monitorizare si control cu microprocesor si touch-screen inteligent – are la baza elemente originale de concepie hardware si software care asigura toate functionalitatile prezentate in sectiunea DESCRIERE. Elementele hardware sunt integrate cu ajutorul partilor de software/firmware realizate in dialecte C si pot fi reconfigurate in functie de necesitati. Este asigurata astfel o flexibilitate sporita a modului de functionare si control a sistemului accesibila la nivel de utilizator.
- Modulul de determinare electrochimica a compusilor din must si vin – are in componenta un microcontroller care asigura functia de detector amperometric, este compatibil cu sisteme de electrozi serigrafati, poate aplica potentiale de la -0.5 V la +1.5 V si masura intensitati ale curentului de ordinul nA- $\mu$ A; o celula in flux prin care circula un electrolit adecvat si in care pot fi integrati biosenzori optimizati pentru aplicatia vizata; Celula optica in flux pentru masurarea caracteristicilor cromatice ale vinului– este realizata prin imprimare 3D din PLA/ABS/PET-G , acomodeaza ferestre din sticla si se etanseaza cu polimer PDMS. Volumul activ este de 10ml si poate functiona cu 2 cai optice. Prezinta o rezistenta mecanica sporita si poate fi utilizata pentru o perioada de 1-3 luni.

#### Formulam urmatoarele revendicari dependente

- Metoda de determinare electrochimica a glucozei si a continutului de polifenoli pe durata fermentatiei alcoolice – folosind modulul de determinare electrochimica si biosenzori planari serigrafati, polarizati la un potential adecvat si integrati intr-o celula in flux prin care circula un electrolit adecvat la un flux bine stabilit. De exemplu, pentru detectia glucozei pot fi utilizati electrozi disponibili commercial modificati cu glucozoxidaza, polarizati la un potential mic negativ de ordinul mV (de exemplu -25 mV), folosind ca electrolit un flux de 20 mM HCF in tampon pH 7.2 la un debit de 0.5 mL/min. Pentru determinarea compusilor fenolici totali pot fi utilizati electrozi disponibili comercialfunctionalizati cu nanotuburi de carbon polarizati la un potential de conditionare pozitiv (de exemplu 1V) in solutie tampon de pH acid (de exemplu fosfat 0.1M pH 2.4 la un debit de 1-2 mL/min).
- Celula electrochimica in flux– este realizata prin imprimare 3D din PLA/ABS/PET-G si apoi etansata cu un polimer PDMS inert la activitatea electrochimica. Volumul activ este de 0.03ml. Poate acomoda electrozi serigrafati. Prezinta o rezistenta mecanica sporita si poate fi utilizata pentru o perioada de 3-6 luni fara deteriorari. Este prevazuta cu cel putin un inlet si un outlet si permite integrarea de retele fluidice suplimentare.

GASPĂR SILVESTER  
 Epure Petre  
 Vasilescu Alina  
 OK

POREMB ROXANA  
 Titciu Anamaria

Sistem automat bazat pe biosenzori pentru monitorizarea unor parametri ai procesului de vinificatie

DESENE

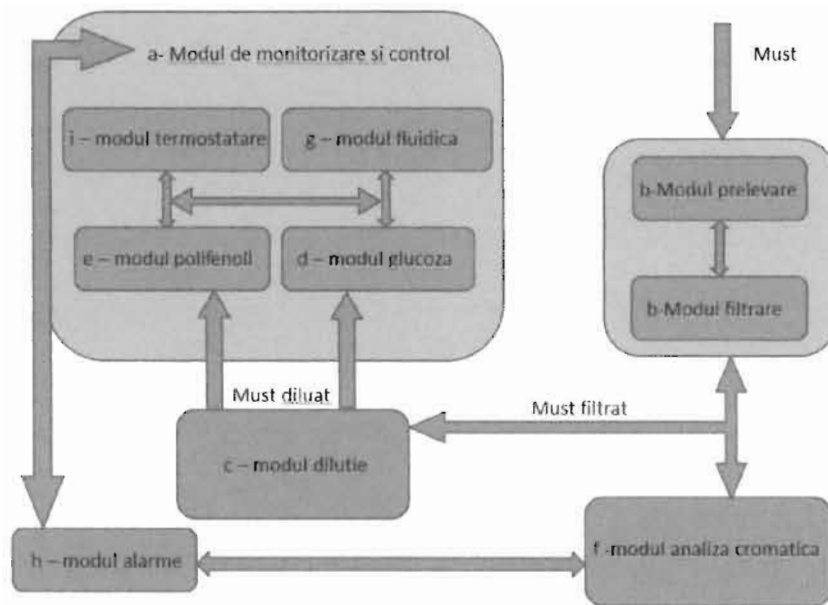


Fig. 1 – Arhitectura sistemului automatizat de monitorizare a procesului de vinificatie

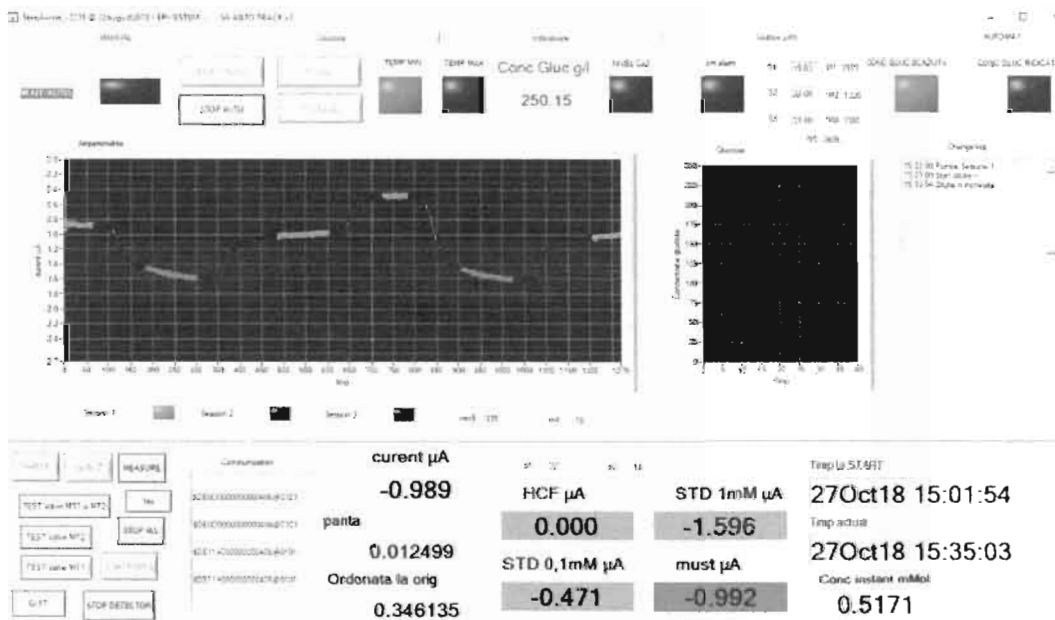


Fig. 2 – Extras din interfața de monitorizare concentratie de glucoza

GĂSPĂR ȘILVEȘTEA  
 foyrsh  
 VASINESCU  
 ALINA ch

Epuza Petru

PORUM IS ROXANA  
 Răduș.

TÎCIOIU ANA-MARIA