



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TRABAJO FIN DE GRADO

Título
Uso de clarificantes de proteína vegetal en vino tinto ecológico
Autor/es
Itziar López Casado
Director/es
Belén Ayestarán Iturbe y Zenaida Guadalupe Mínguez
Facultad
Facultad de Ciencias, Estudios Agroalimentarios e Informática
Titulación
Grado en Enología
Departamento
Curso Académico
2013-2014



Uso de clarificantes de proteína vegetal en vino tinto ecológico, trabajo fin de grado
de Itziar López Casado, dirigido por Belén Ayestarán Iturbe y Zenaida Guadalupe Mínguez
(publicado por la Universidad de La Rioja), se difunde bajo una Licencia
Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.
Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los
titulares del copyright.

© El autor
© Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 2014
publicaciones.unirioja.es
E-mail: publicaciones@unirioja.es



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TRABAJO FIN DE GRADO

Título

Uso de clarificantes de proteína vegetal en vino tinto ecológico

Autor/es

Itziar López Casado

Tutor/es

M^a Belén Ayestarán Iturbe y Zenaida Guadalupe Mínguez

Facultad

Facultad de Ciencias, Estudios Agroalimentarios e Informática

Titulación

Trabajo Fin de Grado en Enología

Departamento

Agricultura y Alimentación

Curso Académico

2013/2014

RESUMEN

Una solución al problema de las trazas de clarificantes alérgenos en los vinos es sustituir su empleo por clarificantes libres de alérgenos. En este trabajo se plantea el empleo de proteínas de origen vegetal como clarificantes alternativos al uso de caseína y albúmina, proteínas declaradas como potencialmente alérgicas. Las pruebas de clarificación se realizaron en un vino ecológico mezcla de Tempranillo, Graciano y Maturana Tinta. Se analizó el efecto de los clarificantes en la limpidez, altura y compacidad de lías, estabilidad de la materia colorante, parámetros de color, polifenoles y características sensoriales. El clarificante de proteínas extraídas de la patata resultó una buena alternativa y eficaz a dosis medias (7 g/Hl), aunque la gelatina animal fue el clarificante que mayor complejidad, volumen en boca y persistencia aportó al vino, y menor sensación de astringencia.

ABSTRACT

A solution to the issue of traces of fining agents that can cause allergies found in wines is replacing their employment for allergen-free fining agents. Plant-derived proteins are proposed in this study as an alternative to the use of casein and albumin, declared potentially allergic proteins. The clarification assays were carried out in an ecological red wine made from Tempranillo, Graciano and Maturana Tinta. The effects of the fining agents were tested against the limpidity, height lees, stability of the coloring matter, color parameters, polyphenols and sensory properties. Fining agents with potato-based proteins were considered to be a correct and effective alternative in medium doses (7g/Hl.), although animal-based gelatin gave more complexity, greater mouthfeel and persistence to the wine, enabling lower levels of astringency.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	4
2. MATERIAL Y MÉTODOS	12
2.1. Vinificación y toma de muestras	14
2.2. Pruebas de clarificación	16
2.3. Parámetros enológicos y análisis químicos	17
2.3.1. Parámetros enológicos generales	17
2.3.2. Limpidez	17
2.3.3. Parámetros de color e IPTs	17
2.3.4. Prueba de la estabilidad de materia colorante	17
2.4. Análisis sensorial	18
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
3.1. Pruebas de clarificación	22
3.2. Pruebas de estabilidad en materia colorante	24
3.3. Análisis sensorial	25
4. CONCLUSIONES	30
5. BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	37
ANEXO I: Ficha técnica del clarificante a base de proteínas de la patata	38
ANEXO II: Ficha técnica del clarificante a base de proteínas del guisante	40
ANEXO III: Ficha técnica del clarificante gelatina líquida	41

CAPÍTULO 1.

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Capítulo 1. Lista de tablas

Capítulo 1. Lista de figuras

Figura 1.1_Pictogramas que van en la contra etiqueta de las botellas

El vino puede ser considerado como un medio hidroalcohólico donde determinadas sustancias se encuentran en forma de solución verdadera y otras bajo la forma de dispersión coloidal; de tal forma que su grado de limpidez queda condicionado por su composición y por una posible insolubilización de determinadas sustancias, así como también por los posibles desarrollos microbianos que se pudieran producir en el vino, jugando entonces los fenómenos coloidales un importante papel en la estabilidad o inestabilidad de la turbidez (Hidalgo-Togores et al. 2011).

La eliminación de las partículas que enturbian el vino es uno de los fines que se persiguen con la clarificación, y además que sea más rápida que la clarificación por sedimentación por gravedad seguida de trasiego. Esta clarificación acelerada será forzosamente necesaria cuando se trata de vinos enfermos o alterados por su inestabilidad coloidal, arrastrando tras la adición del clarificante las partículas responsables de la turbidez.

Además hay otras cualidades o aspectos organolépticos que actúan cuando se emplea un clarificante como la mejora del vino dándole mayor redondez o sedosidad, en definitiva, la clarificación le aporta finura y lo dispone para crianza o su consumo. Además la clarificación se puede utilizar para prevenir futuros enturbiamientos, aún no presentes, que pueden originarse por sustancias presentes en el vino, que se eliminan con el empleo del clarificante más apropiado. El resultado es la estabilización del vino respecto a esas sustancias inestables que pueden producir el enturbiamiento.

La filtración es un procedimiento que acelera la limpidez y brillantez de los vinos, y en el caso que pueda ser suficiente, se consigue con mayor rapidez y economía. Pero no siempre puede alcanzarse la estabilización de la limpidez con una filtración, siendo muchas veces necesaria la acción de un tratamiento que puede incluso afectar a su composición, actuando de una manera no solamente física, sino físico-química; aquí se hace imprescindible el uso del clarificante.

Los clarificantes orgánicos de origen animal más utilizados en Enología son:

- Albúmina animal obtenida de albúmina de huevo o polvo de sangre deshidratada.
- La caseína y el caseinato de potasio son proteínas obtenidas de la leche.
- Gelatina comestible fabricada a partir del colágeno de los huesos de animales.

- La cola de pescado obtenida a partir de la vejiga natatoria de los peces.

En bodegas históricas de *Médoc* utilizan desde hace tiempo la albúmina de huevo para clarificar vinos tintos por ser un producto barato y de fácil suministro. Se trata de una técnica que como muchas otras los franceses dejaron en la memoria de los bodegueros y enólogos españoles. Es el ejemplo de la bodega *Tondonia López de Heredia* de Haro donde cuentan a sus visitas que anexa a la bodega siempre hubo un gallinero y utilizaban las claras para clarificar el vino (unas 2 claras por Hl.). Luego las yemas se las daban a las monjas clarisas de los conventos para que hicieran ese conocido dulce tan exquisito.

Los vinos tintos no clarificados, aunque estén perfectamente limpios, pueden contener una cantidad de materia colorante inestable. En este estado cualquier factor que desestabilice a esa materia colorante coloidal (como la temperatura, por ejemplo) provoca una turbidez y una precipitación. La eliminación de esta la materia colorante inestable se realiza mediante el uso de clarificantes, lo que constituye a la vez un tratamiento clarificante y estabilizante. Es importante la correcta preparación del clarificante así como su adecuada dosificación, por lo que es necesario conocer sus características y modo de preparación, así como sus condiciones óptimas de actuación antes de aplicar el tratamiento. Es recomendable, por tanto, la realización de pruebas previas de laboratorio, con el vino a una temperatura similar a la de bodega, para seleccionar la dosis adecuada del clarificante seleccionado y conocer a priori el efecto que tendrá en el vino.

La gelatina actúa en el vino por floculación recíproca, no sólo arrastra las partículas suspendidas de polifenoles que constituyen la turbidez visible sino también arrastra las partículas mucho más pequeñas que existen en estado coloidal y que podrían ocasionar luego una turbidez. La albúmina de huevo puede ser agregada directamente al vino pero es más común la forma comercial, una preparación de albúmina en forma de polvo. Los caseinatos se utilizan para eliminar la amargura y dureza de, por ejemplo, los vinos blancos de Jerez. Tanto la albúmina de huevo como los caseinatos son agentes clarificantes con propiedades óptimas, pero las trazas de estos residuos en el vino pueden representar un riesgo para aquellas personas que sufren alergia o intolerancias alimentarias.

La problemática originada por las “vacas locas”, la encefalopatía espongiforme bovina (BSE), y su posible transmisión a los seres humanos ha dado lugar a restricciones en el uso de productos de origen animal para la clarificación del vino.

La legislación de varios países, sobre todo en la Unión Europea, se ha actualizado y prohíbe el uso de polvo de sangre seca y de la albúmina sérica. El uso de la gelatina también ha sido cuestionado, pero la gelatina aún se sigue utilizando ampliamente por sus buenas capacidades de clarificación y estabilización, sobre todo en los vinos tintos.

El Reglamento de Ejecución (UE) nº 579/2012 indica que es obligatorio mencionar el contenido en el etiquetado del vino si los derivados del huevo y de la leche son utilizados y si el vino clarificado con este tipo de productos es positivo para la presencia de residuos utilizando técnicas de detección y cuantificación, con unos límites establecidos de 0,25 ppm en el caso de los derivados del huevo y 0,5 ppm para los derivados de la leche.

El Reglamento UE nº 579/2012 también incluye la obligatoriedad de mencionar en el etiquetado el contenido de sulfitos. En el vino, los sulfitos se encuentran de forma natural a bajos niveles, pero posteriormente se adicionan con la finalidad de inhibir bacterias y mohos, evitar la oxidación del vino y preservar el aroma y frescor, garantizando así su calidad. Un exceso de sulfitos empeora la calidad del vino, ya que pierde color, adquiere un olor picante y altera su sabor. Pueden causar problemas en personas sensibles provocando asma, que se caracteriza por dificultades respiratorias, respiración entrecortada, sibilancia y tos. En el organismo humano el sulfito ingerido con los alimentos es metabolizado por la enzima llamada sulfitooxidasa. En sujetos con actividad enzimática normal no existe ningún problema, pero en las personas con sensibilidad elevada a los sulfitos, los niveles presentes en algunos alimentos son suficientes para producir reacciones perjudiciales, aunque el mecanismo preciso no está bien claro. La única medida en estos casos es evitar que los alimentos y bebidas contengan sulfitos. No obstante, los sulfitos no tienen efectos teratógenos ni cancerígenos, ni representan riesgo para la inmensa mayoría de la población a los niveles presentes en los alimentos.

De forma general, las menciones en el etiquetado para los casos en que haya presencia de alérgenos serán:

a) en el caso de la leche y de los productos que contengan leche, se emplea la mención de “leche”, “productos lácteos”, “caseína de leche” o “proteína de leche”;

b) en el caso del huevo o de productos que contengan huevo, se utilizan las menciones de “huevo”, “proteína de huevo”, “ovoproducto”, “lisozima de huevo” o “ovoalbúmina”;

c) dióxido de azufre y sulfitos en concentraciones superiores a 10 mg/kg o 10 mg/litro, expresado como SO₂.

Además, el reglamento establece, a título opcional, la posibilidad de completar estas menciones con el uso de alguno de los pictogramas representados en la **Figura 1.1**.



Figura 1.1_Pictogramas que van en la contra etiqueta de las botellas.

La OIV ha establecido unos requerimientos en los métodos analíticos de cuantificación de las trazas de los clarificantes alérgenos en el vino. No obstante, el grupo investigación de Restani y colaboradores han coordinado trabajos adicionales para obtener una mejor comprensión de los residuos de proteínas de huevos y leche en los vinos clarificados y su importancia para la salud humana. Este grupo demostró la ausencia de trazas en vinos blancos, tintos y rosados tratados con clarificantes de proteínas de huevo y de leche, después de ser filtrados, a diferentes dosis y con diferentes características físico-químicas (Restani et al. 2012).

Con el fin de garantizar a las bodegas y a los consumidores la confianza en los resultados de la concentración de trazas o residuos de leche y huevos en el vino es necesario desarrollar un método analítico adecuado. En el año 2010 la industria alimentaria reconoció la necesidad de desarrollar métodos de análisis precisos y reproducibles para dar una información veraz y satisfacer así a ciertos mercados veganos exportadores. Así, se desarrollarán los kits inmunoenzimáticos (ELISA) fabricados por la empresa australiana *ELISA Systems* para proporcionar esta capacidad analítica a la industria. En un principio el ensayo se utilizó como una prueba de selección cualitativa pero se fue más allá para desarrollar un ensayo que proporcionara datos cuantitativos. Dos kits de *ELISA Systems* fueron elegidos: para residuos de caseína, ESCASPRD-48, para residuos de huevo mejorada ESEGG- 48. El kit de residuos de leche se ha adaptado a “proteína de la leche total”, en lugar de "Caseína" y el kit de residuo de huevo fue adaptado a “proteínas totales de clara de huevo”, en lugar de “Ovoalbúmina”. La colaboración entre laboratorios mostró que ambos kits ELISA tienen buena reproducibilidad, repetibilidad, y robustez en la detección de residuos de agentes clarificantes alérgenos presentes en el vino, de acuerdo con los requisitos de la resolución OIV 427-2010 modificada por la OIV/COMEX 502-2012 (Restani et al. 2013). Se han investigado también otros métodos analíticos como la espectrometría de masas de ionización-tándem de cromatografía líquida capilar-electrospray para la detección e identificación de los péptidos derivados de la caseína (Monaci et al. 2010); detección por espectrometría de masas de las proteínas del huevo, (Tolin et al. 2011) o espectrometría de masas de alta resolución para la cuantificación de concentraciones sub-ppm de agentes clarificantes residuales (Monaci et al. 2013). Todos estos métodos tienen en común el objetivo de cuantificar los

residuos que dejan los clarificantes de proteína de huevo o caseínas y que pueden representar un riesgo potencial para los consumidores alérgicos.

Una solución al problema de las trazas de clarificantes alérgenos en los vinos es sustituir su empleo por clarificantes libres de alérgenos. Los enólogos demandan productos que sustituyan a los clarificantes orgánicos tradicionales por otros con propiedades y protocolos similares. En este sentido, una posibilidad prácticamente viable es el uso de proteínas de origen vegetal (Lefebvre et al. 2000). En un primer momento **se planteó el uso de las proteínas de origen vegetal como alternativa al uso de caseína y albúmina**, proteínas declaradas como potencialmente alérgicas. Posteriormente, las investigaciones se centraron en encontrar un clarificante proteico de origen vegetal con efecto comparable al de la gelatina que, sólo o en combinación con otros clarificantes, tuviera capacidad para la reducción de taninos sin influir organolépticamente de una manera negativa (Ribéreau-Gayon et al. 2006).

En este sentido, centros de investigación (Departamentos de Agricultura de la Universidad de Milán y de Nápoles y Departamento de Biotecnología de la Universidad de Verona) y empresas de productos enológicos estudiaron varias alternativas a los clarificantes proteicos de origen animal. Los resultados obtenidos de algunos clarificantes alternativos, como los productos procedentes del trigo o el guisante, fueron muy buenos e incluso fueron autorizados por la OIV (resolución de la OIV: OENO 28/2004). Estudios previos (Inturmendi et al. 2010; Marchal et al. 2002.; Maury et al. 2003) demostraron que el gluten de trigo comercial, especialmente en forma de preparados hidrolizados, permite una eficiente clarificación del vino. Sin embargo, es bien conocido que las proteínas del gluten de trigo están involucradas tanto en la alergia alimentaria y como en la enfermedad celíaca (Hischenhuber et al. 2006). Por ello **se comenzó a experimentar con proteínas extraídas de la lenteja, soja, gluten de maíz, altramuza, semillas de uva, fibras de pulpa de manzana y fibras de orujo de uva.**

Los clarificantes a base de proteínas de la lenteja tuvieron un mayor impacto en los componentes de aroma en relación al gluten de trigo y proteínas del guisante, produciendo una marcada disminución en el aroma del vino clarificado (Marianita et al. 2013). El gluten del trigo fue el que da produjo el mejor equilibrio entre la eficacia en la clarificación y la retención de compuestos aromáticos. Además, el gluten en los vinos tratados se mantuvo muy por debajo del umbral sugerido para los alimentos sin gluten.

Las proteínas extraídas del gluten del maíz mostraron una acción clarificante excelente si se compara con gelatinas de origen animal. De hecho, estas proteínas disminuyeron de forma notoria la turbidez, eliminaron los compuestos fenólicos, como antocianinas y proantocianidinas y no afectaron al color del vino tinto y a los componentes aromáticos (Simonato et al. 2013).

Las proteínas de la semilla de uva reducen la astringencia de los vinos tintos respecto a vinos sin tratar, siendo una herramienta prometedora como sustituto de proteínas exógenas a la uva (Vincenzi et al. 2013).

En otro estudio reciente, se observó que fibras derivadas de plantas insolubles tienen mayor capacidad de adsorber taninos del vino tinto frente a un clarificante más tradicional como el caseinato de potasio (Guerrero et al. 2013). El caseinato y la fibra de manzana eliminan selectivamente compuestos fenólicos de alta masa molecular, mientras que las fibras de uva eliminan tanto los de masa molecular alto como los de masa molecular bajo. La cantidad de taninos se reducen un 42% con la fibra de pulpa de manzana y un 38% en el caso de la fibra de orujo de uva mientras que el caseinato de potasio retira un máximo de 19%. De forma general, muestran buenos resultados, considerando a las fibras derivadas de plantas insolubles como agentes de afinado alternativos para los vinos tintos.

Por otro lado, la empresa Laffort® fue la pionera en producir un clarificante a base de extractos de proteínas vegetales de patata (nombre comercial: Vegecoll®). Este producto fue aprobado por la Comunidad Europea en la resolución OIV-OENO 495-2013. Este clarificante constituye una alternativa no-alérgica y no-animal utilizado como agente clarificante porque disminuye los fenoles totales y taninos así como, la astringencia y el contenido de compuestos fenólicos del vino tinto que reaccionan con las proteínas salivales. En estudios comparativos, se ha demostrado que su eficacia fue la misma que la que puede tener una gelatina e incluso mejor a la obtenida con tratamientos con albúmina y caseína (Gambutí et al. 2012). Sin embargo, la eficacia y efecto ante la estabilidad de materia colorante del clarificante de proteínas vegetales de patata y de guisante falta por comprobarla en vinos tintos ecológicos de composición y características organolépticas diferentes a las descritas en la bibliografía.

Por consiguiente, el **objetivo** de este trabajo **fue comparar los efectos del clarificante sin riesgos alérgicos como el de patata y guisante frente a la tradicional de gelatina de origen animal**. Se realizaron diferentes ensayos de clarificación a diferentes dosis utilizando los clarificantes antes mencionados. Se analizó el nivel de limpidez, la altura y compacidad de las lías generadas, la estabilidad de materia colorante, la intensidad colorante e IPTs, y las características sensoriales.

CAPÍTULO 2.

MATERIAL Y MÉTODOS

Capítulo 2. Lista de tablas

Tabla 2.1_ Ficha de cata

Capítulo 2. Lista de figuras

Figura. 2.1_ Diagrama de flujo de la vinificación del vino joven ecológico elaborado en la bodega Viña Ijalba

Figura 2.2_ Foto de las pruebas de clarificación

2.1. Vinificación y toma de muestras

El vino empleado para realizar este estudio fue un vino joven 2013 ecológico de la bodega Viña Ijalba, resultado de un coupage de tres vinos varietales de uva de Tempranillo, Graciano y Maturana Tinta. Estas variedades de uva se cultivaron en parcelas de la propiedad plantadas sobre minas a cielo abierto abandonadas (graveras) que se han recuperado desde el punto de vista medioambiental.

Las prácticas de viticultura llevadas a cabo fueron iguales en todas las parcelas. La poda de invierno se realizó a seis pulgares, con dos yemas y la ciega; el espergurado y desnietado se realizó en mayo; el deshojado manual hasta el segundo racimo se hizo en junio; y, por último, se realizaron dos despuntados en julio antes del envero. La técnica de aclareo de racimos no se realizó. A nivel fitosanitario se aplicaron 5 tratamientos distribuidos desde mayo hasta 21 días antes de la vendimia. Estos tratamientos sólo incluyeron los productos azufre en polvo, azufre mojable y sulfato de cobre, únicos permitidos en explotaciones ecológicas. Las uvas se vendimiaron en óptimo estado de maduración y en buenas condiciones sanitarias durante la primera quincena de octubre. La vendimia se realizó de forma manual en cajas de 20 Kg de capacidad que sólo se llenaron hasta 18 Kg para evitar aplastamientos a la hora de apilarlas. Posteriormente fueron transportadas en remolque hasta la bodega, descargándolas en una tolva. Se vinificaron por separado variedades y parcelas.

La **Figura 2.1** representa el esquema de vinificación y la toma de muestras que se detallan a continuación. Tras las vendimias, las uvas introducidas en la bodega se estrujaron y despalillaron (2.800 Kg/hora, maquinaria Modelo 30I, Toscana Enológica Mori, Mori Giorgio & C. S. R. L., Tavarnelle Val di Pesa, Italia). La uva estrujada y despalillada se encubó en depósitos de acero inoxidable de 200.000 L de capacidad y se adicionaron 3g/HL de SO₂. Posteriormente se llevó a cabo la fermentación alcohólica mediante la adición de 25 g/HL de la levadura comercial *Saccharomyces cerevisiae* Uvaferm VRB (Lallemand-Inc., Montreal, Canadá). El proceso de fermentación-maceración duró aproximadamente 8 días a una temperatura de 25 ± 5 °C. Durante la fermentación alcohólica se hicieron remontados dos veces al día. La fermentación alcohólica se controló realizando medidas de densidad y temperatura y se consideró terminada cuando el contenido en azúcares reductores de los vinos fue menor de 2g/L. Después de la fermentación alcohólica, los vinos se descubaron al mismo tipo de depósitos, mezclándose con los vinos de prensa procedentes del prensado de sus hollejos fermentados. El prensado se realizó en una prensa horizontal Modelo 70 (González Tratamientos, S. L., Logroño, La Rioja), con una presión máxima de trabajo de 400 atmósferas, durante dos horas. El rendimiento de transformación de la uva al vino fue del 65-70%.

La fermentación maloláctica, que duró entre 30 y 60 días, se realizó espontáneamente en los depósitos a una temperatura de $18 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Después de la fermentación maloláctica, que se dio por finalizada cuando el contenido en ácido málico de los vinos fue menor de 0,1 g/L, los vinos se trasegaron otra vez a depósitos de acero inoxidable y se corrigieron hasta un contenido de SO_2 libre de 30 mg/L.

Finalmente se realizó el coupage de las diferentes variedades: 85% Tempranillo, 10% Graciano, 5% Maturana tinta.

Las muestras se tomaron en garrafones de 5 L después de realizar el coupage en bodega. Se llevaron a cabo los ensayos de clarificación en la Universidad de La Rioja, así como las pruebas analíticas de color y turbidez. El análisis sensorial se realizó después de aplicar los tratamientos correspondientes de clarificación.



Figura 2.1_Diagrama de flujo de la vinificación del vino joven ecológico elaborado en la bodega Viña Ijalba

2.2 Pruebas de clarificación

Los productos de clarificación empleados para los ensayos de clarificación en el vino ecológico fueron dos clarificantes de proteínas vegetales: a) patata (Vegecoll[®] de Laffort, San Sebastian) y b) guisante (Proveget 100 de Agrovin, Logroño); y c) clarificante de proteína de origen animal: gelatina líquida (Vinigel seda de Agrovin, Logroño). La información de cómo se realiza la preparación de los clarificantes de proteínas vegetales en polvo y las dosis recomendadas y máximas para cada clarificante las describen las fichas técnicas suministradas por los fabricantes (anexo I, II y III). En estos anexos se indica:

- **Vegecoll[®]** de Laffort: dosis recomendada de 3 a 10 g/Hl, dosis máxima legal hasta 50 g/Hl.
- **Proveget 100** de Agrovin: dosis recomendada de 10 a 20 g/Hl.
- **Vinigel seda** de Agrovin: dosis recomendada de 30 a 80 g/Hl.

Los dos productos de origen vegetal en polvo se disolvieron diez veces su peso en agua antes de adicionarse para facilitar su distribución homogénea y rápida en la masa de vino. Se prepararon las disoluciones madre de Vegecoll de 100 g/l y de Proveget de 100 g/l. El clarificante Vinigel Seda al estar en estado líquido, se adicionó directamente con una micropipeta.

El vino ecológico a clarificar, y a la misma temperatura que en bodega (16°C), se distribuyó en 12 conos de *Imhoff* de un litro de capacidad, formando tres series de cuatro conos de *Imhoff* por serie.



Figura 2.2_ Foto de las pruebas de clarificación

La primera serie correspondió al clarificante Vegecoll[®]: al vino del primer cono de la serie no se le adicionó el clarificante (el Testigo), al vino de los restantes conos *Imhoff* se le adicionó con agitación 0,3; 0,7; y 1,0 ml de la disolución madre (10g/0,1L) de Vegecoll, lo que equivale a una escala de dosis de 3, 7 y de 10 g/Hl.

La segunda correspondió al clarificante Proveget 100: al vino del primer cono de la serie se le denominó control. Al vino de los tres conos restantes se le adicionaron con agitación 0,5; 1,0; y 1,5 ml de la disolución madre (10 g/0,1L) de Proveget lo que equivale a una dosis de 5, 10 y de 15 g/Hl.

La tercera serie le correspondió a Vinigel Seda. El vino de un cono era el control, sin adición de clarificante. Al vino de los restantes conos *Imhoff* se les adicionaron con agitación 0,2; 0,35; y 0,5 ml de Vinigel Seda, lo que equivale a una dosis de 20, 35 y de 50 mL/Hl.

Durante los once días que duró la clarificación se midió la altura de las lías y se observó el estado de compactación de las mismas. Se tomaron muestras a los 3 días y a los 10 días de clarificación para analizar la limpidez, intensidad colorante y el índice de polifenoles totales del vino.

2.3. Parámetros enológicos y análisis químicos

Los parámetros y compuestos evaluados en este trabajo fin de grado, así como los métodos de análisis utilizados para su determinación, se describen a continuación.

2.3.1 Parámetros enológicos generales

A lo largo de la vinificación se tomaron muestras del vino en la bodega y se realizaron análisis de grado alcohólico, pH, acidez total, acidez volátil, sulfuroso libre y sulfuroso total, siguiendo los métodos oficiales de la OIV (1990).

2.3.2 Limpidez

Las unidades Nefelométricas de Turbidez (NTU) del vino durante los ensayos de clarificación del vino se determinaron con un Turbidímetro (HACH 2100 N).

2.3.3 Parámetros de color e IPTs

Las medidas de intensidad colorante e índice de polifenoles totales (IPTs) se midieron mediante las técnicas recomendadas por la OIV (1990). Estos métodos usan medidas espectrofotométricas que se llevaron a cabo utilizando el espectrofotómetro CARY 300 Scan UV-VIS (Varian, Madrid, España). Todas las medidas se realizaron por triplicado y se refirieron a cubetas de 10 mm de espesor.

2.3.4 Prueba de la estabilidad de materia colorante

La prueba de estabilidad de la materia colorante de un vino sirve para asegurarnos que la materia colorante del vino no sedimente con el tiempo. Un volumen de 25 ml de muestra de vino se filtra por un filtro de nylon de 45 μm . A continuación, se mide la limpidez del vino filtrado con un nefelómetro (HACH 2100 N) y el valor medido de NTU se denomina NTU_1 . Posteriormente, el vino filtrado se refrigera a 4°C durante 48 horas y, a continuación, se atempera el vino hasta 20°C momento en que se mide otra vez las NTU, estableciendo el valor NTU_2 . El vino es estable si la diferencia entre el valor de NTU_2 y NTU_1 es inferior a 10.

2.4 Análisis sensorial

Se analizaron sensorialmente las muestras de vino después de las pruebas de clarificación.

El panel de cata estuvo compuesto por 20 catadores, formado por alumnos del Grado en Enología de la Universidad de la Rioja y profesionales de la D. O. Ca. Rioja. Los catadores habían participado previamente en paneles descriptivos de atributos sensoriales en tintos. Todas las muestras se evaluaron en tres fases, en la fase visual (color), en la fase aromática (fracción volátil) y en la fase gustativa (equilibrio en boca). Los descriptores se eligieron según el perfil que la bodega tiene de ese vino.

El análisis sensorial se realizó en dos sesiones. En la primera sesión se realizó la fase de evaluación sensorial propiamente dicha. Los catadores utilizaron una ficha de cata con el vocabulario de consenso, marcando la intensidad de cada atributo en una escala de respuesta cuantitativa con 5 niveles de intensidad, donde 0 correspondía a la ausencia de percepción de la propiedad considerada y 5 a una intensidad muy elevada del mismo. Además, los catadores pudieron realizar comentarios adicionales sobre las propiedades sensoriales de los vinos o indicar su preferencia entre todas las muestras. La ficha de cata que recoge todos los atributos de la cata realizada y la valoración global de los vinos se presenta en la **Tabla 2.1**. En cada sesión se repitió un vino con el fin de determinar la consistencia de cada catador.

En la segunda sesión, los catadores más relajados describieron los atributos del vino con sus propias palabras en voz alta y debatieron entre ellos los posibles aportes o eliminaciones a cuenta de los clarificantes. Alguno de los catadores pronosticó la posible correspondencia de los clarificantes aplicados en las muestras con los vinos que tenían delante, atestiguando las diferencias entre ellos.

Los vinos se presentaron a 18°C en catavinos codificados de acuerdo a la norma ISO 3591 (1977). La evaluación sensorial se llevó a cabo en la sala de catas de la Universidad de La Rioja, que cumple con la norma ISO 8589 (1998).

Tabla 2.1_Ficha de cata

Evaluar del 0 (nada) al 5 (mucho) estos vinos:	VISUALMENTE			AROMÁTICAMENTE						GUSTATIVAMENTE							
	Intensidad	Limpidez	Violáceos	Intensidad Aromática	fruta fresca	fruta madura	Herbáceos	Flores	Levadura Pan	Humedad, moho	Dulzor	Acidez	Astringencia	Amargor	Volumen	Equilibrado	Persistencia
209																	
345																	
101																	
320																	

Evaluar del 0 (nada) al 5 (mucho) estos vinos:	VISUALMENTE			AROMÁTICAMENTE						GUSTATIVAMENTE							
	Intensidad	Limpidez	Violáceos	Intensidad Aromática	fruta fresca	fruta madura	Herbáceos	Flores	Levadura Pan	Humedad, moho	Dulzor	Acidez	Astringencia	Amargor	Volumen	Equilibrado	Persistencia
125																	
333																	
275																	
125																	

Evaluar del 0 (nada) al 5 (mucho) estos vinos:	VISUALMENTE			AROMÁTICAMENTE						GUSTATIVAMENTE							
	Intensidad	Limpidez	Violáceos	Intensidad Aromática	fruta fresca	fruta madura	Herbáceos	Flores	Levadura Pan	Humedad, moho	Dulzor	Acidez	Astringencia	Amargor	Volumen	Equilibrado	Persistencia
103																	
367																	
298																	
254																	

Observaciones _____

Preferencia _____

De los 12 vinos, hay 3 que son el mismo vino ¿Cuáles son? _____

CAPÍTULO 3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Capítulo 3. Lista de tablas

Tabla 3.1_Seguimiento altura de lías, compactación y limpidez durante las pruebas de clarificación

Tabla 3.2_Evolución del color en la prueba de clarificación

Tabla 3.3_Prueba de estabilidad de la materia colorante

Capítulo 3. Lista de figuras

Figura 3.1_Perfil sensorial de los vinos tratados con el clarificante de la proteína de la patata

Figura 3.2_Perfil sensorial de los vinos tratados con el clarificante de la proteína del guisante

Figura 3.3_Perfil sensorial de los vinos tratados con el clarificante de gelatina animal

3.1. Pruebas de clarificación

Las pruebas de clarificación se realizaron para observar, por un lado, las diferencias entre los clarificantes no alérgenos (derivados de patata y guisante) y alérgeno (gelatina líquida) en su comportamiento frente a los parámetros descritos en la **Tabla 3.1** y, por otro, para observar el efecto de los clarificantes en los parámetros de color como intensidad colorante e índice de polifenoles totales (**Tabla 3.2**).

Los resultados de la altura de lías, de compactación de las lías y de variación de la limpidez durante los once días que duraron los ensayos de clarificación se presentan en la **Tabla 3.1**. En general, se observa en esta Tabla que los resultados de altura y compactación de las lías no variaron en los diez días de tratamiento, con independencia de la dosis y del tipo de clarificante empleado.

A dosis bajas los clarificantes proteicos vegetales no compactaron adecuadamente las lías. El clarificante a base de proteínas del guisante, que dio resultados cercanos al testigo, como si no se le hubiera adicionado ningún tratamiento.

Tabla 3.1_Seguimiento de altura de lías, compactación y limpidez durante las pruebas de clarificación

VINO	DOSIS	Altura de las Lías (cm)			Compactación de las lías	Limpidez (NTUs)		
		Días			Días	Días		
		26/03 t=0 días	28/03 t=3 días	4/04 t=10 días	4/04 t=10 días	26/03 t=0 días	28/03 t=3 días	4/04 t=10 días
Testigo	-----	-----	-----	-----	-----	37,6	39,7	29,9
Testigo + clarificante a base de proteínas de la Patata	Baja	4,0	4,0	4,0	Alto	35,8	30,7	21,9
	Media	10,1	10,0	10,0		28,3	30,0	21,0
	Alta	10,2	10,0	10,0		28,3	30,0	23,6
Testigo + clarificante a base de proteínas del Guisante	Baja	0,5	0,5	1,0	Bajo	41,3	34,9	31,8
	Media	1,0	1,5	1,5		41,5	35,2	31,4
	Alta	1,0	2,0	2,0		45,0	28,4	25,7
Testigo + Gelatina líquida	Baja	4,0	5,0	4,5	Medio	33,2	28,7	23,6
	Media	7,0	8,0	7,5		33,6	29,8	21,3
	Alta	11,0	10,0	10,0		33,6	30,3	25,1

En la dosis media de los tratamientos de origen vegetal, se observó en la **Tabla 3.1** una clara diferencia entre el clarificante a base de proteínas de la patata y del procedente de proteínas del guisante. El clarificante de patata fue efectivo a dosis

medias dejando 10 cm de lías y con una compactación alta. El clarificante de proteína del guisante, que a ninguna de las dosis utilizadas no produjo diferencias apreciables respecto al vino testigo. Incluso dosis altas, la proteína de guisante continuó decepcionando con una compactación no perceptible y una altura de lías casi nula. La proteína de patata actuó de la misma manera que a dosis medias, no aumentó la altura de las lías y la compactación fue igual de adecuada.

La gelatina líquida se comportó a dosis bajas como el clarificante de proteína de guisante, sedimentaron las lías de forma compacta pero fue más efectiva a dosis superiores. En el cono con el tratamiento clarificante a una dosis media, se observó una altura de lías más baja que el clarificante del guisante a la misma dosis, compactando más adecuadamente este último. Sin embargo a dosis altas la gelatina líquida actuó dejando una altura de lías igual al clarificante de origen vegetal a dosis altas pero una compactación más baja que el clarificante de la patata.

El grado de limpidez, definido como el porcentaje de variación de limpidez del vino clarificado respecto a la del testigo fue, de forma general, más alto (25,8%) en el clarificante de la patata que el del guisante (0,9%) y gelatina (22,07%). Estos resultados en el vino clarificado con patata coinciden con la mayor compactación y la altura de lías (**Tabla 3.1**). A dosis bajas ya desde el primer momento ($t=0$) fue el clarificante más efectivo, hecho muy diferente a lo que ocurrió con el clarificante del guisante que incluso se obtuvieron valores de turbidez más altos que en el propio testigo. No obstante, la gelatina animal mostró una limpidez baja pero al tercer día de ser adicionado fue cercano a los valores del clarificante de la patata. A dosis medias ocurrió algo similar y no se observaron cambios significativos en la limpidez hasta el tercer día o incluso hasta el último día de tratamiento. El clarificante proteico a base de guisante obtuvo unos resultados tan nefastos que hasta el último día proporcionó valores más altos de turbidez que el testigo. Sin embargo, al final de la prueba en dosis más altas el clarificante de guisante mostró valores nefelométricos aceptables, comparables a los resultados de la gelatina animal. Fue el único, porque a dosis altas, tanto el clarificante de la patata como la gelatina aportaron grados de limpidez menores (16,75% y 12,76% respectivamente) que a dosis medias (29,76% y 28,76%), siendo estas últimas más efectivas tal y como recomiendan los fabricantes.

Por tanto, teniendo en cuenta el volumen de lías que sedimentaron, la compactación y el grado de limpidez, la proteína de guisante no actuó de forma eficaz y adecuada. Incluso a dosis más altas, no clarificó eficientemente y aunque su turbidez fue menor pero tras once días de tratamiento, esto no es práctico en una bodega.

Con la gelatina líquida se obtuvo una clarificación aceptable a dosis medio-altas. En la altura de las lías y la compactación no se observaron resultados significativos hasta dosis altas de 50 ml/Hl. En el grado de limpidez, este clarificante actuó de forma más lenta que el de patata y hasta el tercer día no se observó un descenso de NTU, dejando al vino con una mayor limpidez a dosis medias.

El otro clarificante de origen vegetal, el de la patata, alcanzó y superó los resultados de la gelatina de origen animal. El grado de limpidez del vino se alcanzó más rápidamente así como la altura y compactación de las lías fue la más adecuada en comparación al resto de clarificantes. Los mejores resultados se obtuvieron a dosis medias.

La **Tabla 3.2** muestra los valores obtenidos respecto a la intensidad colorante e índice de polifenoles totales de las pruebas de clarificación a diferente dosis a lo largo de diez días que dura el ensayo.

Tabla 3.2_Evolución del color en la prueba de clarificación

VINO	DOSIS	Intensidad colorante (IC)			Índice de polifenoles totales (IPT)		
		Días			Días		
		26/03 t=0 días	28/03 t=3 días	4/04 t=10 días	26/03 t=0 días	28/03 t=3 días	4/04 t=10 días
TESTIGO	----- ----	26,30	27,83	20,72	57,9	53,3	62,0
Testigo + clarificante a base de proteínas de la Patata	Baja	20,10	24,80	21,14	56,2	51,4	65,6
	Media	19,20	23,66	20,89	52,0	50,0	65,7
	Alta	19,90	22,58	22,16	54,1	50,3	64,0
Testigo+ clarificante a base de proteínas del Guisante	Baja	19,33	23,77	36,65	49,2	63,3	61,4
	Media	14,56	21,24	21,77	44,8	65,0	62,4
	Alta	26,53	23,70	22,45	48,8	66,1	63,3
Testigo + Gelatina líquida	Baja	24,04	22,21	20,45	*	66,2	62,2
	Media	21,26	23,00	20,35	*	58,7	59,8
	Alta	21,12	24,05	21,10	*	61,6	62,7

Al final del tratamiento, todos los ensayos de clarificación presentaron valores de IC parecidos al testigo. No se encontraron diferencias entre las diferentes dosis.

Una situación similar ocurrió con los IPTs, aunque se obtuvieron valores más altos en el caso del clarificante de proteínas de la patata.

La finalidad de las pruebas de clarificación es elegir un clarificante que proporcione una coagulación y precipitación rápida, que proporcione una limpidez elevada y deje unas lías compactas y de pequeño volumen. En cuanto a la cantidad de compuestos polifenólicos responsables del color, el clarificante que mejor funcione será aquel que produzca las menores pérdidas de dichos compuestos.

En definitiva, tanto el clarificante obtenido a partir de proteínas de la patata, como la gelatina son los que mejor se comportan en este vino tinto joven ecológico obteniéndose los mejores resultados a dosis medias.

3.2. Pruebas de estabilidad de materia colorante

En la **Tabla 3.3** se presentan los resultados de la prueba de estabilización de la materia colorante de los vinos al final del tratamiento de clarificación. Se observa que

el vino testigo, el único que no se le adicionó ningún clarificante, fue inestable ya que la diferencia de NTU entre la muestra refrigerada a 4°C durante 48 horas y la inicial fue superior a 10 NTU. En esta prueba, se consideran los vinos estables frente a la materia colorante, si la diferencia de NTU entre la muestra filtrada refrigerada y no refrigerada es inferior a 10 NTU. Era de esperar que un vino joven recién terminada la fermentación maloláctica fuera inestable frente a la materia colorante.

Todos los clarificantes utilizados en estos ensayos produjeron una estabilización de la materia colorante. Este efecto además fue independiente de la dosis ya que dan resultados estables en toda la escala de dosis probada. En conclusión, estos resultados de estabilidad de materia colorante no sirven para seleccionar un tipo y una dosis de clarificante.

Tabla 3.3 Prueba de estabilidad de la materia colorante.

VINO	Dosis	NTU ₁ ^a	NTU ₂ ^b	NTU ₂ ^b - NTU ₁ ^a	Resultado
Testigo	-----	2,33	31,0	28,67	Inestable
Testigo + clarificante a base de proteínas de la Patata	Baja	1,92	4,70	2,78	Estable
	Media	2,15	3,07	0,92	
	Alta	2,16	3,74	1,58	
Testigo+ clarificante a base de proteínas del Guisante	Baja	2,10	4,30	2,2	Estable
	Media	2,45	4,90	2,45	
	Alta	2,21	4,93	2,72	
Testigo + Gelatina líquida	Baja	1,85	9,05	7,2	Estable
	Media	2,40	6,56	4,16	
	Alta	2,18	10,9	8,72	

^a: Valor de NTU₁ después de filtrar el vino por un filtro de nylon de 45 micras

^b: Valor de NTU₂ después de estar refrigerado a 4°C durante 48 horas, 20°C.

3.3. Análisis sensorial

Con los resultados de las fichas de cata **Tabla 2.1**, se elaboraron tres diagramas de araña (**Figura 3.1-Figura 3.3**) que representan la media de los distintos atributos valorados por los veinte catadores que participaron en el análisis sensorial de los vinos clarificados y testigos.

Se debe señalar que fue una cata particularmente tediosa pues cada catador tenía que analizar doce vinos tintos en total, tres de ellos repetidos y las diferencias eran apenas apreciables entre unos y otros vinos. La fase olfativa y gustativa fueron las fases en las que más diferencias se encontraron.

La Figura 3.1 muestra el perfil sensorial de los vinos tratados con el clarificante proteico de patata y el mismo vino sin ningún tratamiento de clarificación, el testigo. En la fase visual, destacaron los colores violáceos del testigo mientras que dos de las

dosis empeladas lo disminuyen (dosis alta y baja). En cuanto a la limpidez e intensidad de color, los cuatro vinos obtuvieron resultados similares.

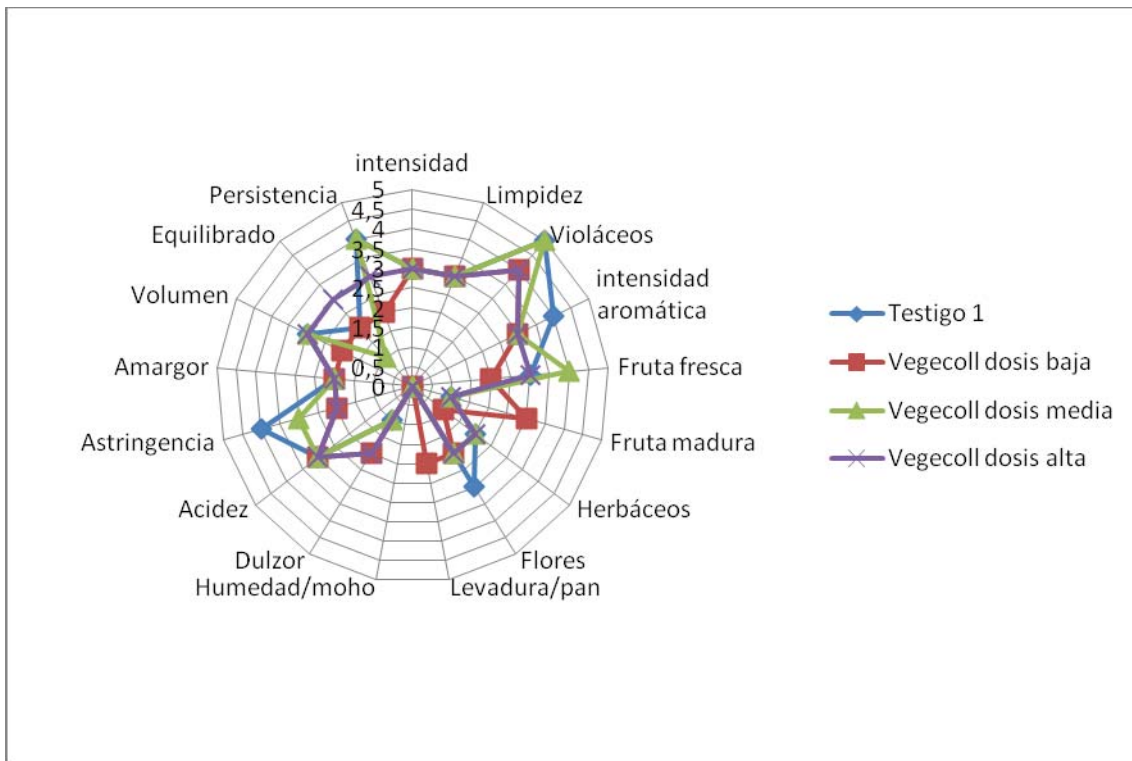


Figura 3.1_perfil sensorial de los vinos tratados con el clarificante de la proteína de la patata

En la fase olfativa, los vinos con una dosis media del clarificante de la patata, mostraron los mayores valores a notas varietales, frutales y florales. Por otra parte, cabe mencionar, que este clarificante a dosis bajas muestra menores notas a fruta fresca, más a frutas maduras y notas a levaduras. En general, el perfil del vino final que se quiere obtener es aquel en el que se mantenga las notas varietales y la juventud que le precede. Por eso, la dosis media da mejores resultados en este aspecto.

En la fase gustativa, se observaron unas mayores puntuaciones de persistencia, de equilibrio y menos astringencia con la dosis alta. En este sentido, la astringencia del vino testigo se reduce con el clarificante, pero dicha reducción es similar a dosis alta y baja.

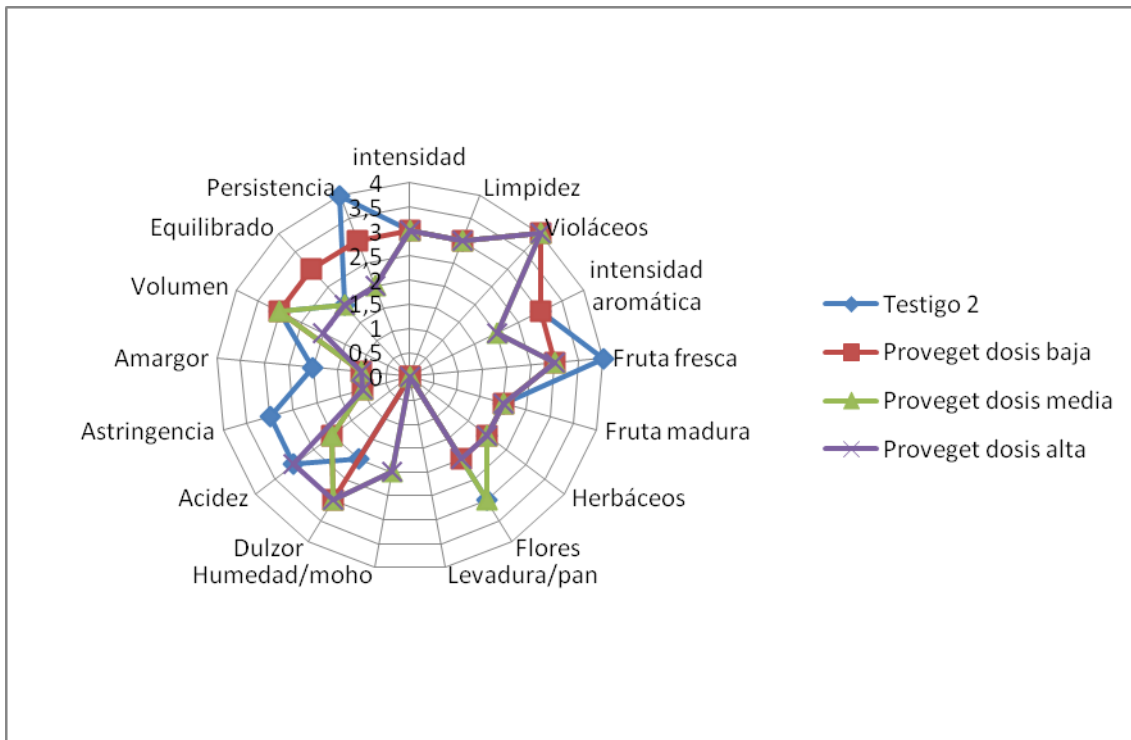


Figura 3.2_Perfil sensorial de los vinos tratados con el clarificante de proteína del guisante

La **Figura 3.2**, muestra a los vinos tratados con el clarificante a base de proteína extraída del guisante. De la misma manera que con el anterior, se compararon diferentes dosis con un testigo sin adición ninguna de clarificante.

En la fase visual, todos los vinos presentan puntuaciones altas de intensidad colorante, limpidez y de color violáceo. Esto sugiere que el clarificante de guisante respeta el color y no lo reduce a ninguna dosis.

En la fase olfativa, destacan los valores a notas de humedad y moho de las dosis medio-altas del clarificante de proteína del guisante. En general, las tres dosis respetan los aromas de fruta fresca, flores, así como los aromas negativos de herbáceos. En resumen, la dosis baja respeta más al vino en relación a los aromas varietales y disminuye las notas a humedad/moho, descriptores que mejoran la calidad del vino.

En la fase gustativa, los vinos clarificados con proteína de guisante a dosis bajas presentaron mayor equilibrio y persistencia y menor astringencia y amargor, y fueron significativamente diferentes a los vinos clarificados con dosis altas.

De forma general, el clarificante de proteína del guisante a dosis bajas, 5 g/Hl, mantiene un perfil sensorial de vino aceptable, respetándolo en la fase visual y olfativa y aportando cualidades positivas en la fase gustativa.

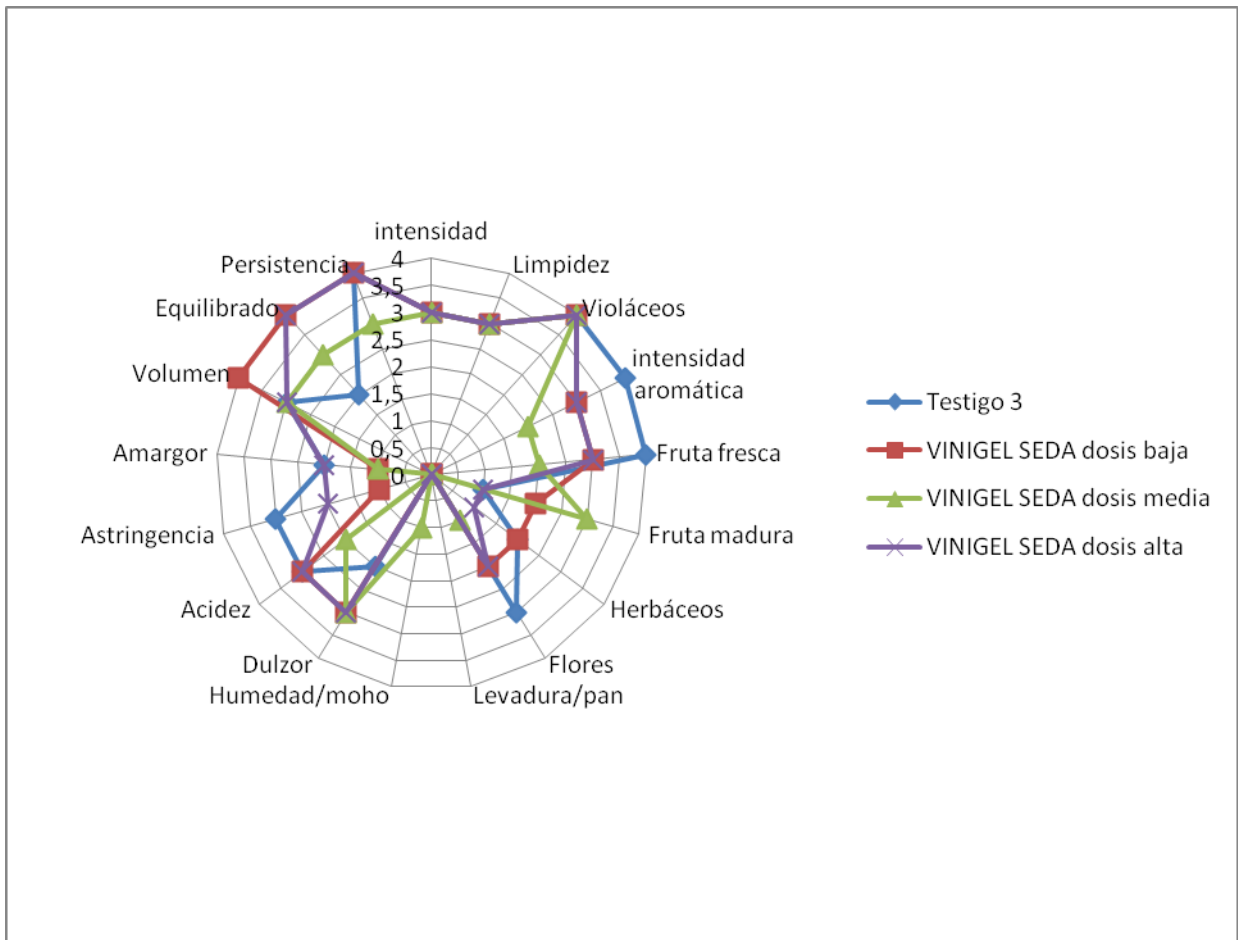


Figura 3.3_Perfil sensorial de los vinos tratados con el clarificante de gelatina líquida

La **Figura 3.3** muestra el tratamiento con gelatina, comparándolo a diferentes dosis con un testigo.

La fase visual es la misma en los cuatro vinos, una intensidad colorante alta, buena limpidez y valores altos respecto a los colores violáceos.

En la fase olfativa destacan las notas varietales a fruta fresca y flores en los vinos tratados con dosis media-alta. Los aromas herbáceos y a fruta madura obtuvieron mayores puntuaciones en dosis bajas.

La fase gustativa del vino clarificado con gelatina a dosis bajas presenta valores altos de equilibrio y persistencia, destacando estos resultados en comparación a los vinos clarificados con proteínas vegetales. Así mismo, el vino clarificado con gelatina a dosis baja destaca del resto de vinos clarificados con proteínas vegetales por su gran volumen en boca.

A pesar de ser una cata difícil por tener doce muestras y parecerse tanto entre ellos, los catadores apreciaron las diferencias entre cada tratamiento.

Los resultados del análisis sensorial indican que la gelatina a dosis bajas fue el clarificante que mejor afinó al vino, eliminando la astringencia y amargor, dando más

volumen y complejidad. Los clarificantes de patata y de guisante no confieren en boca lo que la gelatina aporta, pero visualmente y aromáticamente sí que respetan al vino en su totalidad, dando muy buenos resultados en ambos casos.

CAPÍTULO 4.

CONCLUSIONES

En este trabajo se plantea la utilización de las proteínas de origen vegetal como alternativa al uso de caseína y albúmina, proteínas declaradas como potencialmente alérgicas. Varias investigaciones se han centrado en encontrar un clarificante proteico de origen vegetal con efecto comparable al de la gelatina. Este trabajo pretende aportar respecto a este tema una comparación de dos clarificantes de origen vegetal extraídos a base de proteínas de la patata y del guisante frente a uno potencialmente alérgico de origen animal, una gelatina líquida. Se busca un clarificante que produzca una coagulación y precipitación rápida, una limpidez elevada y deje unas lías compactas y de pequeño volumen; y respete lo que poseía el vino antes del tratamiento y no caiga excesivamente.

En este trabajo se realizaron diferentes ensayos de clarificación a diferentes dosis utilizando los clarificantes antes mencionados. Se analizó el nivel de limpidez, la altura y compacidad de las lías generadas, la estabilidad de materia colorante, la intensidad colorante e IPTs, y las características sensoriales.

Todos los clarificantes, y a todas las dosis, produjeron una estabilización de la materia colorante inestable presente en el vino testigo. Por lo tanto, no se pudo seleccionar ningún clarificante en relación a su efecto sobre la estabilidad de la materia colorante.

El clarificante de origen vegetal de la patata consiguió mayor grado de limpidez y compactación de las lías en comparación al resto de los clarificantes. Este clarificante no produjo cambios significativos en los componentes responsables del color ni IPTs. En definitiva, el clarificante a base de proteínas de la patata fue el que mejor se comportó en estas pruebas con el vino tinto joven ecológico, por encima de clarificantes de origen animal tradicionalmente usados en bodega, como es la gelatina líquida. Los mejores resultados se obtuvieron con dosis medias (7 g/Hl).

En relación al análisis sensorial, la gelatina líquida a dosis bajas fue el clarificante que mejor afinó al vino, eliminando la astringencia y amargor y dando más volumen y complejidad.

En conclusión, el clarificante a base de patata fue el más rápido y eficaz en cuanto a la compactación de las lías pero la gelatina fue mejor organolépticamente.

Particularmente creo que siempre hay que optar por aquello que mejore el vino, sobre todo en boca, pues es uno de los objetivos de la clarificación, el afinamiento, siempre que respete la fase visual y aromática, como es el caso. Pero si el mercado exige un vino libre de alérgenos y sustancias procedentes de pieles y cartílagos animales, se considera el clarificante a base de patata como una alternativa correcta y eficaz.

CAPÍTULO 5.

BIBLIOGRAFÍA

- Cattaneo, A.; Ballabio, C.; Bertelli, A.A.; Fiocchi, A.; Galli, C.L.; Isoardi, P.; Terracciano, L.; Restani, P.; Evaluation of residual immunoreactivity in red and white wines clarified with gluten or gluten derivatives (2012), *International Journal of Tissue Reaction.*, Vol.25, pages.57–64.
- Cosme, F.; Capão, I.; Filipe-Ribeiro, L.; Bennett, R.N.; Mendes-Faia, A.; Evaluating potential alternatives to potassium caseinate for white wine fining: Effects on physicochemical and sensory characteristics (2012), *Food Science and Technology*, Vol.46, pages.382-387.
- Gambutì, A.; Rinaldi, A.; Moio, L.; Use of patatin, a protein extracted from potato, as alternative to animal proteins in fining of red wine, (2012), *European Food Research and Technology.*, Vol.235, pages.753–765.
- Guerrero, R.F.; Smith, P.; Bindon, K.A.; Application of Insoluble Fibers in the Fining of Wine Phenolics (2013), *J. Agric Food Chem.*, Vol.61, pages.4424–4432.
- Hidalgo Togados, José.; (2011) *Tratado de Enología*, 2 volúmenes, 2ª Edición.
- Hischenhuber, C.; Crevel, R.; Jarry, B.; Mäki, M.; Moneret-Vautrin, D. A.; Romano, A.; Safe amounts of gluten for patients with wheat allergy or coeliac disease (2006), *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, Vol.23, pages.559-575.
- Inturmendi, N.; Durán, D.; Marín-Arroyo, M. R.; Fining of red wines with gluten or yeast extract protein (2010), *International Journal of Food Science & Technology*, Vol.45, pages.200-207.
- Lefebvre, S.; Maury, C.; Poinssaut, P.; Gerland, C.; Gazzola, M.; Sacilotto, R.; Le collage des vins: influence du poids moléculaire des gélatines et premiers essais de colles d'origine végétale (1999), *Revue des Enologues*, Vol.94, pages.37-40.

- Luchian, C.; Niculaua, M.; Cotea, V.V.; Bilba, N.; Copcia, V.; Sandu, A.V.; Adsorption of phenolic compounds from wine on mesoporous MCM-41 molecular sieve (2011), *Revista de Chimie*, Vol.62, pages.287-292.
- Marchal, R.; Marchal-Delahaut, L.; Lallement, A.; Jeandet, P.; Wheat gluten used as a clarifying agent of red wines (2002). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.50, pages.177-184.
- Maury, C.; Sarni-Manchado, P.; Lefebvre, S.; Cheynier, V.; Moutounet, M.; Influence of fining with plant proteins on proanthocyanidin composition of red wines 2003), *American Journal of Enology and Viticulture*, Vol. 54, pages 105–111.
- Maury, C.; Sarni-Manchado, P.; Lefebvre, S.; Cheynier, V.; Moutounet, M.; Influence of fining with plant proteins on proanthocyanidin composition of red wines (2003), *American Journal Of Enology and Viticulture*, Vol.54, pages.105-111.
- Monaci, L.; Losito, I.; Palmisano, F.; Godula, M.; Visconti, A.; Towards the quantification of residual milk allergens in caseinate-fined white wines using HPLC coupled with single-stage Orbitrap mass spectrometry (2011), *Food Additives and Contaminants, Exposure and Risk Assessment*, Vol.28, pages.1304–1314.
- Noriega-Dominguez, M.J.; Duran, D.S.; Virseda, P.; Marin-Arroyo, M.R.; Non-animal proteins as clarifying agents for red wines (2010), *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, Vol.44, pages.179–189.
- OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin). (2006). *Récueil 360 de Méthodes Internationales d'Analyse des Vins et des Moûts*. Paris: Edition Officielle.
- Quintela, S.; Villarán, M.C.; López de Armentia, I.; Elejalde, E.; Ochratoxin A removal from red wine by several oenological fining agents: bentonite, egg albumin, allergen-free adsorbents, chitin and chitosan (2012), *Food Additives & Contaminants.*, Vol.29, pages.1168-1174.
- Restani, P.; Beretta, B.; Ballabio, C.; Galli, C.L.; Bertelli, A.E.; Evaluation by SDS-PAGE and immunoblotting of residual antigenicity in gluten-treated wine : a preliminary study (2002), *International Journal of Tissue Reaction.*, Vol.24, pages.85–91.
- Ribèreau-Gàyon, J.; Peynaud, E.; Ribèreau-Gàyon, P.; Sudraud, P.; (1994). *Tratado de Enología. Ciencias y técnicas del vino. Tomo IV: Clarificación y estabilización. Materiales e instalaciones. Hemisferio Sur.*. Buenos Aires. 1.

- Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; (2006) Handbook of Enology: The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments.
- Simonato, B., Mainente, F., Suglia, I., Curioni, A. and Pasini, G; Evaluation of fining efficiency of corn zeins in red wine: a preliminary study (2009), *Italian Journal of Food Science*, Vol.21, pages.97–105.
- Simonato, B.; Mainente, F.; Suglia, I.; Curioni, A.; Pasini, G.; Evaluation of fining efficiency of corn zeins in red wine: a preliminary study (2009). *Italian Journal of Food Science*, Vol.21, pages.97-105.
- Simonato, B., Mainente, F., Tolin, S., & Pasini, G. Immunochemical and mass spectrometry detection of residual proteins in gluten fined red wine (2011), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.59, pages.3101-3110.
- Simonato, B., Mainente, F., Tolin, S. and Pasini, G.; Immunochemical and mass spectrometry detection of residual proteins in gluten fined red wine (2011), *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 59, pages.3101–3110.
- Simonato, B; Mainente, F; Selvatico, E.; Violoni, M.; Pasini, G.; Assessment of the fining efficiency of zeins extracted from commercial corn gluten and sensory analysis of the treated wine (2013), *Food Science and Technology*., Vol. 54, pages 549-556.
- Tolin, S., Pasini, G., Curioni, A., Arrigoni, G., Masi, A., Mainente, F.; Simonato, B.; Mass spectrometry detection of egg proteins in red wines treated with egg white (2012), *Food Control*., Vol. 23, pages.87–94.
- Tománková, E.; Balík, J.; Dulovcová, K.; Evaluation of changes in colour properties of clarified red and rosé wines (2012), *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*., Vol.60, pages.239-246.
- Weber, P.; Kratzin, H.; Brockow, K.; Ring, J.; Steinhart, H.; Paschke, A.; Lysozyme in wine: A risk evaluation for consumers allergic to hen's egg (2009), *Molecular Nutrition & Food Research*., Vol. 53, pages 1469-1477.
- Weber, P.; Kratzin, H.; Ring, J.; Steinhart, H.; Paschke, A.; Lysozyme in wine: a risk evaluation for consumers allergic to hen's egg (2009), *Molecular Nutrition and Food Research*, Vol. 53, pages.1469–1477.
- Yokotsuka, K.; Singleton, V.L.; Interactive precipitation between phenolic fractions and peptides in wine-like model solution: turbidity, particle size and residual

content as influenced by pH, temperature and peptide concentration (1995),
American Journal of Enology and Viticulture, Vol. 46, pages.329–338.

Webs que han sido de gran utilidad:

- www.agrovin.com/agrv/index.php/web/enologia/clarificante
- www.laffort.com/es/productos/clarificacion/728-vegecoll
- www.laprensadelrioja.com/.../195-vegecoll-nueva-proteina-derivada-de-l...
- http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1955_23.pdf

ANEXOS
