

ESTABILIZACIÓN PROTEICA DE VINOS EN CONTINUO

Pachova, V.; Salazar, F., Achaerandio, I., Güell, C.; López, F.

Departament d'Enginyeria Química, Unitat d'Enologia del CeRTA (Generalitat de Catalunya), Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, Av. Països Catalans 26, 43007 Tarragona, Spain
e-mail: francisco.lopez@urv.net

Resumen

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en la estabilización proteica de vinos mediante el empleo de óxido de zirconio como material adsorbente. El óxido de zirconio se puede empacar en una columna, aspecto que permite que el tratamiento se pueda realizar en continuo. Las características físico-químicas del vino tratado no se ven afectadas por el tratamiento. La reducción de proteínas totales en el vino está entre el 50-70% del valor inicial, siendo probablemente la fracción proteica en el rango 20-30 kDa la responsable de la inestabilidad proteica del vino.

INTRODUCCION

Las macromoléculas del vino, especialmente las proteínas, pueden generar precipitados, o causar turbidez, que afectan su estabilidad y aspecto visual. Es por ello que la estabilización proteica es una etapa importante en la elaboración de vinos blancos, y tiene una incidencia directa sobre la comercialización del producto. El contenido proteico puede variar en un rango de 14.2 y 275 mg/L, pero la mayoría de proteínas tienen un peso molecular inferior a 70 kDa (Sarmiento et al 2000). En vinos españoles el nivel de proteínas varía de 19–50 mg/L (Gonzalez-Lara et al 1989). Aunque se pueden encontrar proteínas en un rango entre 11-200 kDa, y un Punto Isoeléctrico (pI) entre 3.1-9.2 (Moio y Addeo 1989, Ruíz-Larrea et al 1998). Las proteínas con mayores pesos moleculares son las glicosiladas (Correa y Polo, 1991, Ruíz-Larrea et al 1998). Las proteínas de menor peso molecular (12 y 20-30 kDa) y bajo pI (4.1-5.8) y las glicoproteínas son las fracciones que contribuyen a la inestabilidad proteica del vino (Hsu y Heatherbell 1987).

La formación de esta turbidez hasta la fecha no se ha podido correlacionar con el contenido total de proteínas del vino (Dizy and Bisson 1999, Mesquita et al 2001). La relación entre la inestabilidad proteica y características de las proteínas se ha estudiado en diferentes trabajos. Desde un punto de vista del efecto del peso molecular y punto isoeléctrico de las diferentes fracciones de proteínas (Dawes et al 1994, Hsu y Heatherbell 1987, Sarmiento et al 2001, Waters et al 1992). No obstante los resultados obtenidos no llegan a conclusiones claras sobre la influencia de las características físicoquímicas de las fracciones proteicas sobre la inestabilidad del vino (Ferreira et al 2002).

Algunos trabajos (Dupin et al 2000, Mesquita et al 2001, Moine-Ledoux 1996, Siebert 1999, Versari et al 1999) han mostrado que la presencia en el vino de otras macromoléculas como polisacáridos y polifenoles o su interacción con las proteínas pueden afectar el enturbiamiento en diferentes bebidas. Waters et al (1993, 1994) mostraron que dos diferentes polisacáridos (uno de origen de la levadura) protegían el vino del enturbiamiento proteico, y por tanto el vino permanecía estable sin necesidad de eliminar parcialmente proteínas. Moine-Ledoux (1996) mostraron que la adición de manoproteínas al vino reducía la dosis de bentonita necesaria para estabilizar proteicamente el vino.

Los métodos de estabilización empleados en la mayoría de bodegas consisten en operaciones discontinuas, en los que se añade un material adsorbente que en general no es selectivo. Para la estabilización proteica el empleo de bentonita es el método más efectivo (Ferreira et al 2002). No obstante los inconvenientes que presenta son la pérdida de producto, la generación de residuos con un alto impacto ambiental, así como la necesidad de mayor mano de obra, tiempos de operación largos y dificultad de control. Otro aspecto es que la bentonita no es específica, elimina tanto compuestos indeseables como no, por lo que dificulta el control de la calidad final del vino.

Existen diferentes estudios sobre la capacidad de estabilización de diferentes tipos de bentonita (Blade y Boulton 1988, Dawes et al 1994, Lubbers et al 1995), el efecto de la concentración de etanol sobre su capacidad de adsorción (Achaerandio et al 2001), y el método de adición de bentonita en la eficiencia de la estabilización (Weiss et al 2001).

Hsu et al (1987), y Dumon y Barmier (1992) estudiaron la posibilidad de emplear la ultrafiltración tangencial para estabilizar vino, pero la calidad de los vinos obtenidos era baja, ya que esta técnica eliminaba una gran cantidad de componentes del vino.

Actualmente se está trabajando en el desarrollo de procesos de adsorción en continuo que sustituyan los tratamientos discontinuos y minimizar los inconvenientes con los tratamientos actuales. Weetall et al (1984) estudió la posibilidad de inmovilizar ácido tánico, encontrando que las proteínas y taninos pueden ser eliminados sin afectar el nivel de péptidos y la acidez del vino. Sin embargo el gran inconveniente de este método es el coste.

Otros trabajos mediante resinas de intercambio (Gump and Huang 1999, Sarmento et al 1999, 2000, 2001) mostraron una reducción del nivel de polifenoles y proteínas, pero el color del vino y el aroma se vio también afectado.

El empleo de óxidos metálicos para adsorber proteínas ha sido estudiado por diferentes autores. Fukuzaki et al 1996 estudiaron diferentes óxidos (sílica, alúmina, óxido de titanio y óxido de zirconio) con BSA, Hughes-Wassell y Embery, 1996 y Giacomelli et al 1997 estudiaron también la adsorción de BSA en óxido de titanio. Todos estos trabajos se han realizado en soluciones modelo con proteínas puras.

En trabajos previos de nuestro grupo (Pachova et al 2002) se ha planteado la posibilidad de utilizar óxido de zirconio para la eliminación selectiva de proteínas en vinos blancos operando en continuo, pues los resultados de este material frente a la alúmina fueron satisfactorios en la adsorción de BSA, ovalbúmina y lisocima. Igualmente los primeros ensayos en continuo con el óxido de zirconio en soluciones modelo de BSA mostraron la posibilidad de usar este material para la eliminación de proteínas de vino. El óxido de zirconio es un material con una gran estabilidad térmica y químicamente inerte, que se emplea en catálisis y en separación de procesos como la cromatografía líquida y la filtración por membranas. La superficie de este material es a la vez básica y ácida, haciendo atractivo su uso como material adsorbente (Chaufer et al 2000).

El objetivo de este trabajo es mostrar una visión global de los resultados obtenidos por nuestro grupo en la estabilización proteica en continuo de vinos blancos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales. El óxido de zirconio (ZrO_2) empleado en estos estudios ha sido suministrado por Mel Chemicals (Manchester, Inglaterra). La morfología de este material ha sido en polvo de tamaño de partículas de 1 μm . En la Tabla 1 se presentan las características principales del óxido de zirconio empleados en los tratamientos de vinos en este estudio. Destacar la diferencia de características entre el material empleado (ZrO_2 -A) para tratar el vino Chardonnay 2000 y el empleado (ZrO_2 -B) para el resto de los vinos tal como se ha recibido de fábrica.

Los vinos empleados en estos trabajos han sido un vino Chardonnay del año 2000, un vino Chardonnay del año 2001 y un vino Moscatel del año 2002. El contenido total de proteínas ha sido determinado por el método de Bradford (Bradford 1976). El perfil macromolecular se ha determinado por HPLC (Pachova et al 2002). Los contenidos en proteínas totales y las fracciones identificadas para los vinos estudiados se muestran en la Tabla 2.

Columnas de relleno. El óxido de zirconio se ha empacado en columnas de relleno. Para el estudio con el vino de Chardonnay del año 2000, se ha empleado una columna de 19 cm de altura y 1.5 cm de diámetro interno, en la que se han empacado 12 g de ZrO_2 , tratándose a un caudal constante de 0.11 mL/min. En los vinos de Chardonnay 2001 y Moscatel, la columna empleada presenta una geometría de 19 cm de alto y 5.1 cm de diámetro interno. La cantidad de ZrO_2 empacado ha sido de 200 g y el caudal del tratamiento ha sido de 2 mL/min para el vino de Chardonnay de 2001 y 5.5 mL/min para el vino de Moscatel de 2002. El volumen tratado de vino en todos los experimentos ha sido el equivalente a 100 veces el volumen del relleno de la columna (100 BV), excepto para el vino de moscatel en el tratamiento después de la segunda regeneración en la que se ha tratado 150 BV.

Test térmico de estabilidad proteica. Este test consiste en calentar 50 mL de vino filtrado a través de una membrana de 0.45 μm (Millipore, Bedford, Massachusetts, HAWPO1300) durante 2 h en una bañera termostatizada a 80 °C. A continuación se lleva durante 2 h a 4 °C. Se mide la turbidez por nefelometría y se exprese en unidades nefelométricas de turbidez (NTU). La diferencia entre la turbidez entre el vino antes de calentar/enfriar y después del tratamiento está relacionada con la inestabilidad proteica. Los vinos se pueden considerar estables si esta diferencia es menor a 2 NTU (Moine-Ledoux y Dubourdieu, 1999).

Regeneración. La regeneración del óxido de zirconio usado se ha realizado mediante tratamiento térmico en un horno a 500°C durante 16 h.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

El óxido de zirconio se ha mostrado en los diferentes vinos estudiados como un material que se puede emplear para reducir el contenido de proteínas en el vino operando en forma continua. El efecto de los tratamientos de los diferentes vinos con el óxido de zirconio se resume en la Tabla 3. Indicar que los

valores de reducción del contenido proteico se refieren al valor medio para un volumen de vino tratado de 100 BV.

Las proteínas totales se han reducido en un 50% durante el tratamiento de 100 BV para el vino de Chardonnay de 2000. El vino obtenido hasta 60 BV es estable proteicamente, y a partir de este valor el vino empieza a ser no estable. En el tratamiento correspondiente al vino Chardonnay 2001, la reducción de proteínas totales es del 50% los primeros 60 BV tratados, y a partir de este valor la capacidad de eliminación de proteínas del ZrO₂ disminuye a valores del 20% hasta el final del volumen total tratado de 100 BV. La estabilidad proteica del vino no se ha conseguido con este tratamiento. La explicación de este comportamiento se puede relacionar con el diámetro medio de los poros del ZrO₂-A empleado en este estudio que es de 5.7 nm (ver Tabla 1) mientras que para el vino Chardonnay de 2001 el diámetro medio de los poros de ZrO₂-B empleado era de 11 nm (ver Tabla 1). Al ser los poros más pequeños, por factores de tamaño las proteínas que pueden ser responsables de la inestabilidad, no acceden a los centros activos del material y por lo tanto no son eliminadas. En el tratamiento del vino de Moscatel con el ZrO₂ los resultados obtenidos muestran que la reducción de proteínas totales es del 60% en todo el tratamiento, y el vino obtenido es estable proteicamente los primeros 50 BV tratados. Estos resultados para los tres vinos nos muestran que el valor absoluto en la reducción de proteínas no es el factor que nos determine la estabilidad proteica del vino, y están de acuerdo a las conclusiones obtenidas por otras investigaciones (Dizy and Bisson 1999, Mesquita et al 2001).

No obstante si se analiza el efecto del tratamiento sobre las diferentes fracciones proteicas se pueden obtener algunas conclusiones que se pasan a discutir a continuación. Para el vino Chardonnay 2000 recordar que es estable los primeros 60 BV. En la Figura 1 se presenta la relación expresada en tanto por ciento entre la concentración de salida de la columna respecto la de entrada para el vino tratado, para las diferentes fracciones proteicas identificadas en este vino.

La fracción de 50 a 70 kDa en los primeros 25 BV se va eliminando cada vez menos hasta estabilizarse a valores del 50%. A partir de 25 BV esta relación se mantiene constante en valores del 50% hasta el final de tratamiento (100BV). La fracción de 30 a 40 kDa se elimina totalmente los primeros 70 BV, disminuyendo su eliminación a valores del 85% a partir de 70 BV hasta el final del tratamiento (100BV). Finalmente la eliminación de la fracción de 15 kDa disminuye hasta el 10% en los primeros 25 BV y permanece constante es este valor el resto del tratamiento. Con estos resultados se puede relacionar la inestabilidad proteica con la fracción proteica de 30-40 kDa, pues mientras que ésta se ha eliminado totalmente, el vino obtenido es estable proteicamente.

Para el vino Chardonnay 2001 el vino obtenido no es estable proteicamente, pero si se analiza como varía el perfil proteico con el tratamiento (ver Figura 2), se puede observar que de las cuatro fracciones identificadas en este vino, hasta el tratamiento de 50-60 BV la fracción de 50-70 kDa se elimina totalmente, mientras que la fracción de 20-30 kDa se reduce notablemente (orden del 90%), mientras que las fracciones de 15 y > 70 kDa, solo se reduce al inicio del tratamiento. En principio la mejora de estabilidad de este vino, aunque no es estable proteicamente, la podemos asociar con la reducción de las fracciones de 20-30 kDa y 50-70 kDa. No obstante parece que la incidencia de la fracción de 20-30 kDa sea la que más afecte, pues hasta un tratamiento de 30 BV, donde la eliminación de la fracción de 50-70 kDa es total, el vino obtenido es igualmente inestable proteicamente.

Otro de los aspectos importantes de este procedimiento en continuo es la posibilidad de regeneración del ZrO₂. Con el tratamiento térmico aplicado se ha conseguido recuperar, e incluso el material ha mejorado sus prestaciones respecto a las características adsorbentes de cómo se suministraba el material de fábrica. Pero antes de incidir en la regeneración del material, analizaremos la relación existente entre la eliminación de las diferentes fracciones proteicas con la estabilidad del vino. Para el vino Chardonnay 2001 tratado con ZrO₂ regenerado (ZrO₂-B-r1c), la variación del perfil proteico se muestra en la Figura 3. Tal como se puede observar la eliminación de la fracción proteica de 50-70 kDa es total para todo el tratamiento, mientras que la eliminación de la fracción de 20-30 kDa es similar en ciertos aspectos a la obtenida con el ZrO₂ sin regeneración, pero los primeros 20 BV se elimina totalmente, entre 20-60 BV la eliminación es similar al material original, y a partir de 60 BV hasta el final del tratamiento la eliminación en este segundo caso es mayor. El vino obtenido con este tratamiento es estable proteicamente, pero con estos datos y para este vino no se puede afirmar categóricamente que la fracción de 20-30 kDa sea la causa de la inestabilidad, pero quizás la interacción entre estas dos fracciones y/o con otros componentes del vino puedan ser las responsables de la inestabilidad del vino. En este segundo caso la fracción > 70 kDa presenta una mayor reducción durante todo el tratamiento, indicando también un posible efecto de esta fracción sobre la inestabilidad proteica del vino. Finalmente el análisis del tratamiento con el vino Moscatel 2002 (ver Figura 4) nos muestra que para todo el tratamiento las fracciones proteicas >70 kDa y 15 kDa permanecen prácticamente constantes, la eliminación de la fracción 50-70 kDa ha sido total, mientras que la fracción de 20-30 kDa se elimina totalmente hasta valores de 50 BV, y a partir de este valor la eliminación de esta fracción disminuye. Para este vino su estabilidad proteica se consigue hasta

valores de tratamiento de 50 BV, indicando una fuerte relación de la inestabilidad con la presencia de esta fracción en el vino.

Anteriormente se ha destacado la mejora de la capacidad de adsorción con la regeneración térmica. En la Tabla 1 se presenta un resumen del efecto de la regeneración sobre el óxido de zirconio.

El ZrO_2 utilizado para el tratamiento del vino Chardonnay 2001 y Moscatel 2002 ha sido del mismo lote y mismas características físico-químicas. El tratamiento térmico para regenerar el material usado con el vino Chardonnay 2001 muestra que disminuye su superficie BET, pero aumenta el diámetro medio de los poros así como la mesoporosidad. Igualmente ha ocurrido para el material empleado con el vino Moscatel, pero en este segundo estudio este incremento del diámetro medio ha sido más notable, pues ha pasado de 5.7 nm a valores de 10 nm, por lo que el acceso de las macromoléculas a los centros activos está más favorecido. Igualmente este tratamiento ha podido representar un aumento de la capacidad de adsorción por la formación de nuevos centros activos en la superficie del ZrO_2 . Indicar finalmente que en las diferentes regeneraciones realizadas con el material empleado para el vino de Moscatel, la capacidad de eliminación de proteínas totales ha sido importante tal como se puede observar en la Figura 5. La estabilidad proteica de los vinos obtenidos con el material regenerado térmicamente se ha logrado en todos los casos, pues las fracciones proteicas de 50-70 kDa y 20-30 kDa se han eliminado en todo el tratamiento, aspecto que corrobora la importancia de la fracción de 20-30 kDa como responsable de la inestabilidad proteica de los vinos.

Finalmente comentar los resultados sobre las características analíticas del vino tratado con este procedimiento. Para el vino de Chardonnay 2001 (ver Tabla 4) los valores analíticos del vino antes y después del tratamiento no presenta diferencias significativas, excepto para la densidad óptica a 420 que presenta una disminución, pero esta disminución es similar a la que se obtendría para este vino si se realizase la estabilización proteica mediante el empleo de bentonita.

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo muestran que el óxido de zirconio es un material que puede ser usado como adsorbente para eliminar proteínas del vino. Este material puede ser empacado en columnas de forma que permitirían trabajar en continuo.

No obstante es necesario realizar estudios al nivel de planta piloto, tratando mayores volúmenes de vino, que permitan estudiar con más detalle si este tratamiento afecta significativamente las características sensoriales de los vinos obtenidos. Estos estudios adicionales nos permitirán también evaluar la viabilidad técnico-económica del proceso.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Cooperativa de Vila-rodona, al MEC y programa de becas de alto nivel de la Unión Europea para América Latina (Alβan) el soporte financiero, y a Mel Chemicals por el suministro del óxido de zirconio.

Tabla 1. Características de óxido de zirconio empleado.

Estado	Área BET (m ² /g)	Diámetro poro medio (nm)	Area microporo (%)	Area mesoporo (%)	Vinos tratado
ZrO ₂ -A	77	11	4.4	95.6	Chardonnay 2000
ZrO ₂ -B	243	5.7	11.8	88.2	Chardonnay 2001 Moscatel 2002
ZrO ₂ -B-r1c	170	6.8	1.9	99.1	Chardonnay 2001
ZrO ₂ -B-r1m	122	9.7	5.5	94.5	Moscatel 2002
ZrO ₂ -B-r2m	110	10	5.6	94.4	Moscatel 2002
ZrO ₂ -B-r3m	108	9.5	5.1	94.9	Moscatel 2002

Tabla 2. Características proteicas de los vinos estudiados

Vino	Proteínas (mg/L)	Fracción proteica identificada				
		>70 kDa	50-70 kDa	30-40	20-30 kDa	15 kDa
Chardonnay 2000	11.0 ± 0.6	no	si	si	no	si
Chardonnay 2001	30.0 ± 0.5	si	si	no	si	si
Moscatel 2002	30.0 ± 0.5	si	si	no	si	si

Tabla 3. Efecto del tratamiento en continuo sobre el contenido proteico de los vinos estudiados

Vino	Reducción (%)		
	ZrO ₂	ZrO ₂ -R1	ZrO ₂ -R2
Chardonnay 2000	50	-	-
Chardonnay 2001	50 (60BV)	50	-
Moscatel 2002	60	65	70 (150BV)

Tabla 4. Características físico-químicas del vino Chardonnay 2001 antes y después del tratamiento con ZrO₂ regenerado (entre paréntesis desviación estándar)

Vino/muestra	inicial	0-100BV
pH	3.44(0.04)	3.43(0.03)
Acidez total, g/L ácido tartárico	5.0(0.3)	5.0(0.3)
Acidez fija, g/L ácido tartárico	4.6(0.3)	4.4(0.3)
Acidez volátil, g/L ácido acético	0.4(0.1)	0.5(0.3)
Grado alcohólico, %vol	13.9(0.3)	14.1(0.3)
Extracto seco, g/L	20.6(2.9)	20.6(1.6)
Cenizas, g/L	2.42(0.35)	1.82(0.34)
Azúcares reductores, g/L	1.10(0.49)	0.80(0.17)
Índice polifenoles totales, IPT	5.98(0.43)	5.84(0.47)
Polifenoles totales, mg/L ácido gálico	296.6(15.3)	281.1(6.5)
Cloruros, g/L NaCl	2.4(0.4)	3.1(0.8)
Sulfatos, g/L K ₂ SO ₄	< 0.7	< 0.7
Densidad óptica 420 nm	0.185(0.008)	0.149(0.013)

Figura 1. Curva de saturación de las fracciones proteicas para el vino Chardonnay 2000 con óxido de zirconio original (ZrO₂-A)

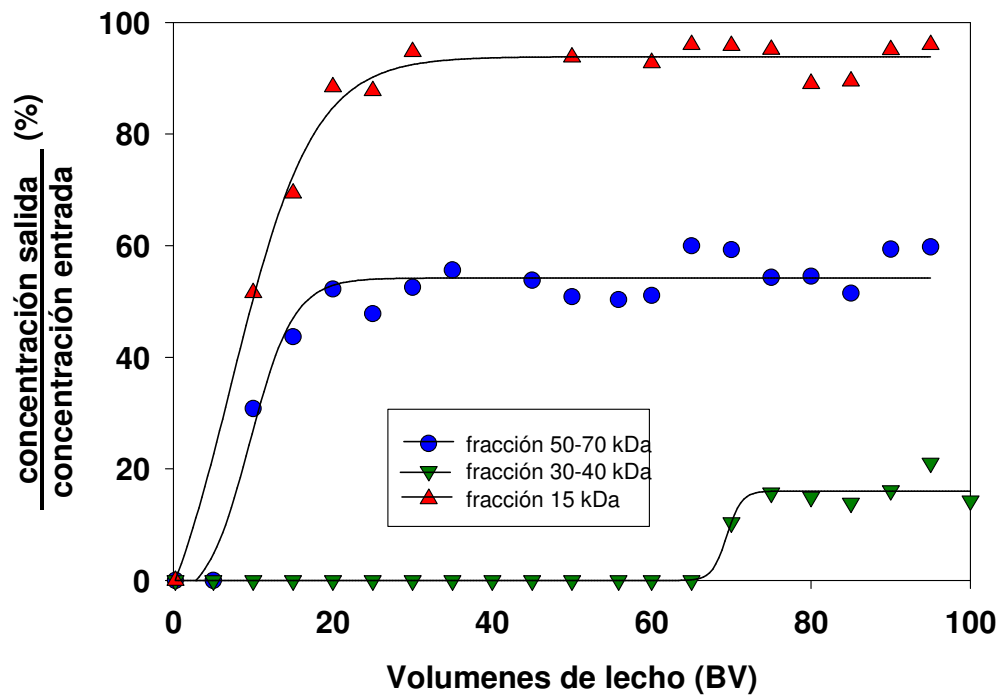


Figura 2. Curva de saturación de las fracciones proteicas para el vino Chardonnay 2001 con óxido de zirconio original (ZrO_2-B)

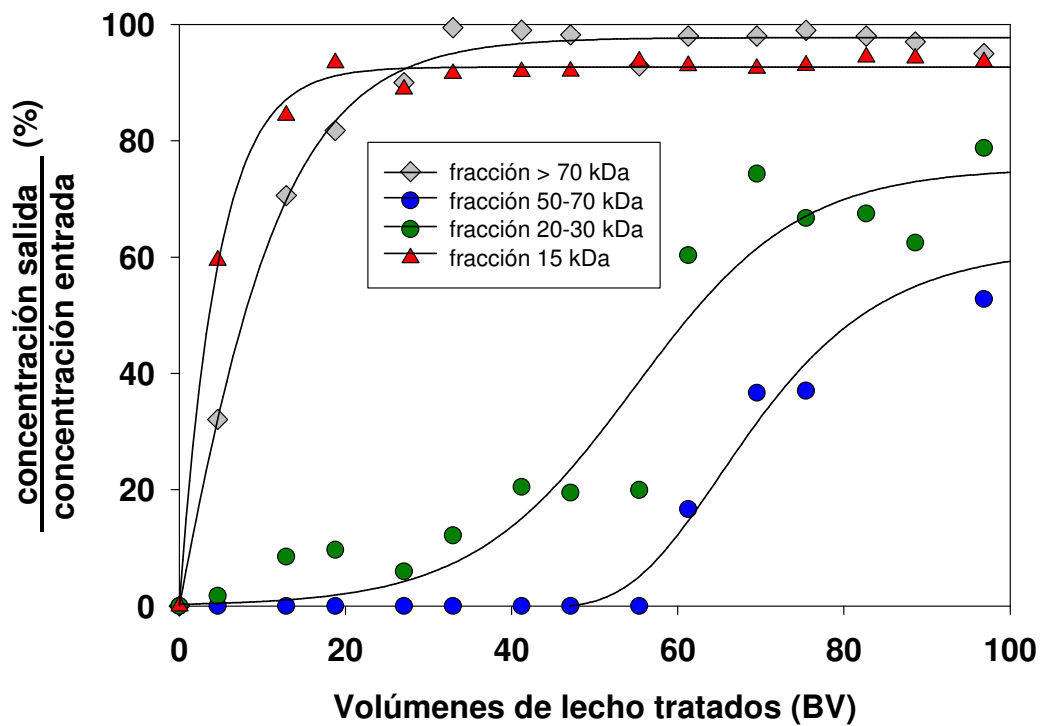


Figura 3. Curva de saturación de las fracciones proteicas para el vino Chardonnay 2001 con óxido de zirconio regenerado una vez (ZrO₂-B-r1c)

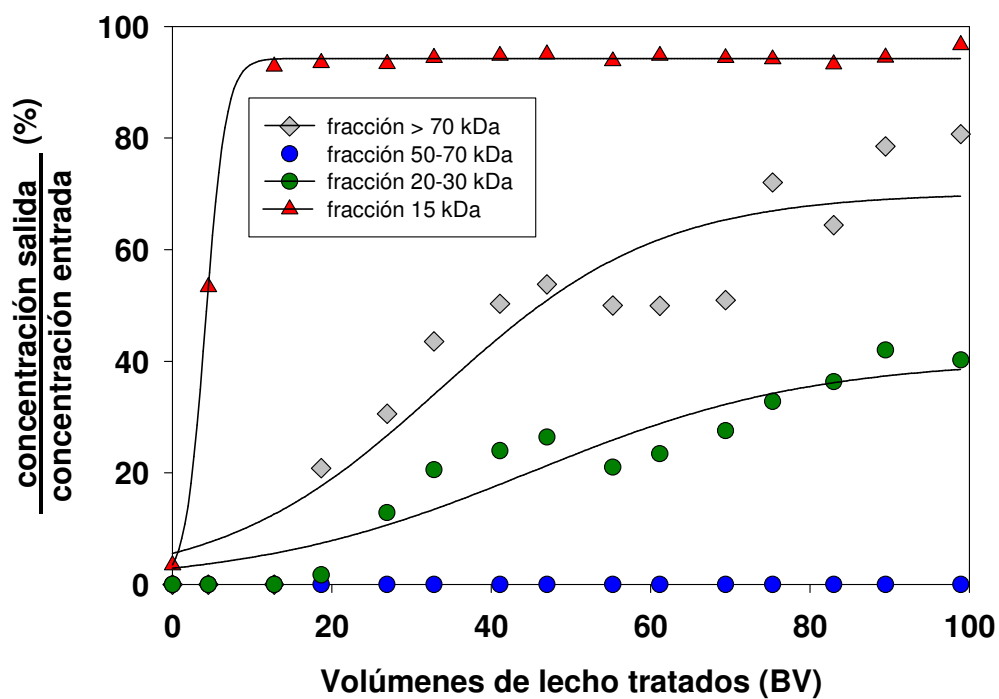


Figura 4. Curva de saturación de las fracciones proteicas para el vino Moscatel 2002 con óxido de zirconio original (ZrO_2-B)

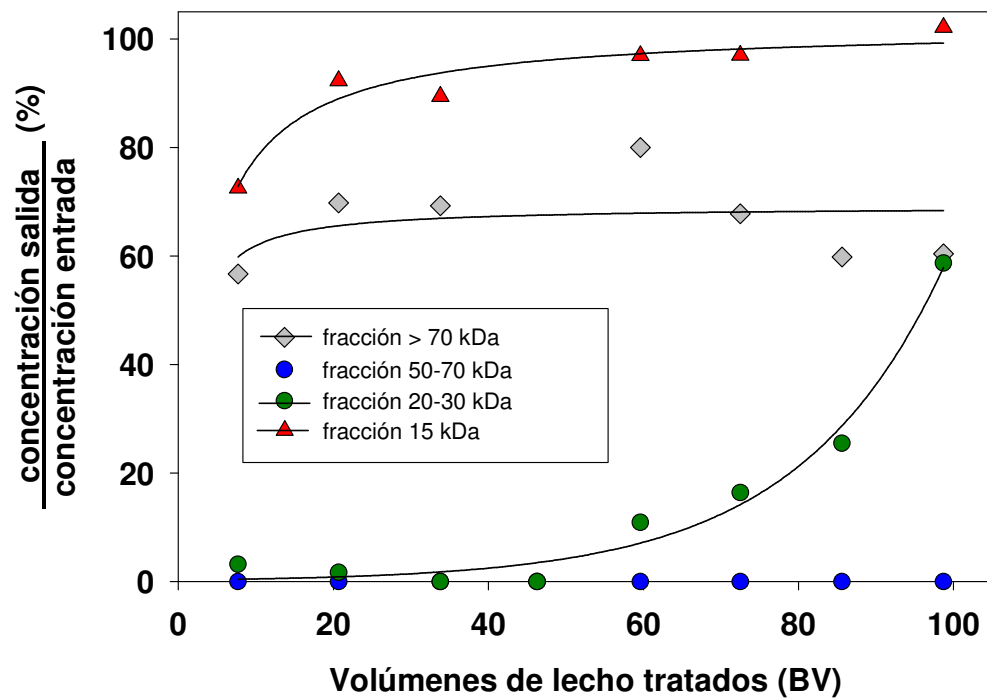
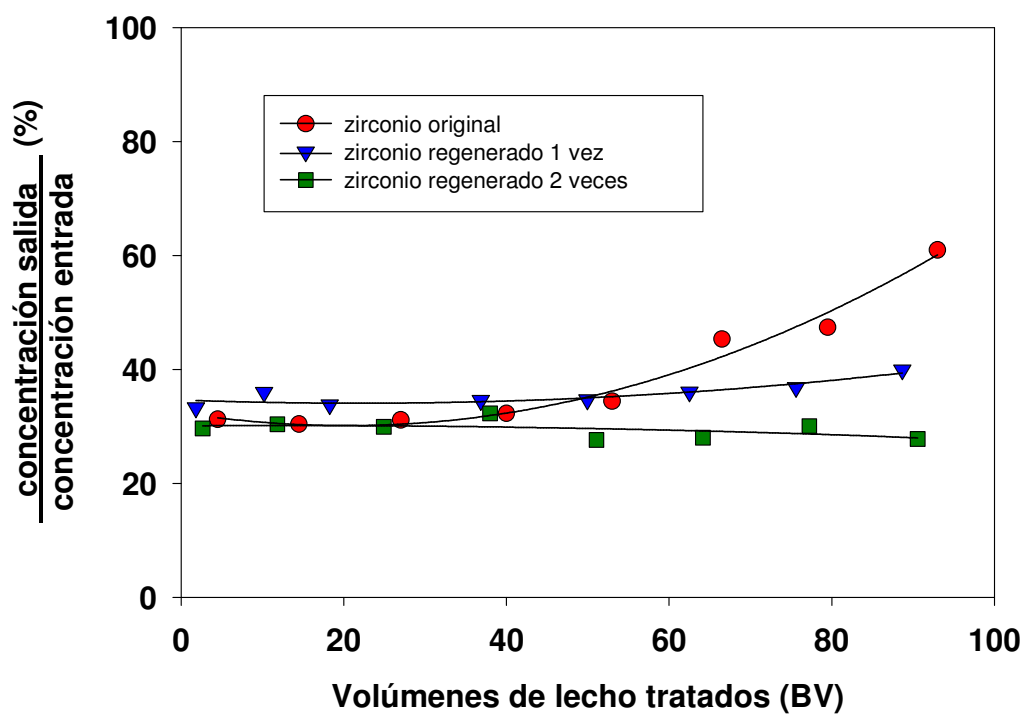


Figura 5. Curva de saturación de las proteínas totales para el vino Moscatel 2002 con óxido de zirconio original (ZrO_2-B) y regenerados ($ZrO_2-B-r1m$, $ZrO_2-B-r2m$)



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Achaerandio, I., Pachova, V., Güell, C., López, F., **2001**, Protein adsorption by bentonite in a white wine model solution: Effect of protein molecular weight and ethanol concentration, *Am. J. Enol. Vit.*, 52, 122-126.
2. Blade, H.W., Boulton, R., **1988**. Adsorption of protein by bentonite in a model wine solution. *Am. J. Enol. Vitic.* 39 (3), 193-199.
3. Bradford, M., **1976**, A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
4. Chaufer, B., Rabiller-Baudry, M., Bouguen, A., Labbe, J.P., Quémerais, A., **2000**, Spectroscopic characterization of zirconia coated by polymers with amine groups. *Langmuir* 16,1852-1860.
5. Correa, I.; Polo, M. C., **1991**, Las proteínas de los mostos y los vinos: importancia tecnológica y técnicas analíticas para su estudio. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 31, 319-329.
6. Dawes, H., Boyes, S., Keene, J., Heatherbell, D., **1994**. Protein instability of wines: Influence of protein isoelectric point. *Am. J. Enol. Vitic.* 45 (3), 319-326.
7. Dizy, M., Bisson. L.F., **1999**. White wine protein analysis by capillary zone electrophoresis. *Am. J. Enol. Vitic.* 50,120-127.
8. Dumon, S.; Barnier, H., **1992**, Ultrafiltration of protein solutions on ZrO₂ membranes. The influence of surface chemistry and solution chemistry on adsorption. *J. Membrane Sci.*, 74, 289-302.
9. Dupin, I.V.S., Stockdale, V.J., Williams, P.J., Jones, G.P., Markides, A.J., Waters, E.J., **2000**. *Saccharomyces cerevisiae* mannoproteins that protect wine from protein haze: Evaluation of extraction methods and immunolocalization. *J. Agric. Food Chem.* 48 (4), 1086-1095.
10. Ferreira, R.B., Piçarra-Perreira, M.A., Monteiro, S., Loureira, V.B., Teixeira, A.R., **2002**, The wine proteins. *Trends Food Sci. Technol.* 12 (7), 230-239.
11. Fukuzaki, S.; Urano, H.; Nagata, K., **1996**, Adsorption of bovine serum albumin onto metal oxide surfaces. *J. Ferment. Bioengin.*, 81, 163-167.
12. Giacomelli, C. E.; Avena, M. J.; De Pauli, C. P., **1997**, Adsorption of bovine serum albumin onto TiO₂ particles. *J. Colloid Interface Sci.*, 188, 387-395.
13. González-Lara, R.; Polo, M. C.; Correa, I.; Ramos, M., **1989**, Características de las proteínas de los mostos de uvas de variedades cultivadas en España, *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 29(3), 332-339.
14. Gump, B. M.; Huang, C. F., **1999**, Removal of unstable protein in grape juice and wine by adsorbents resins. California Agricultural Technology Institute (CATI) Publications # 990402, April.
15. Hsu, J.C., Heatherbell, D.A., **1987**, Heat-unstable proteins in wine. I. Characterization and removal by bentonite fining and heat treatment. *Am. J. Enol. Vitic.* 38 (1), 11-16.
16. Hsu, J. C.; Heatherbell, D. A.; Flores, J. H.; Watson, B. T., **1987**, Heat unstable proteins in grape juice and wine. II. Characterization and removal by ultrafiltracion. *Am. J. Enol. Vitic.*, 38, 17- 22.
17. Hughes-Wassell, D. T.; Embery, G., **1996**, Adsorption of bovine serum albumin onto titanium powder. *Biomaterials*, 17, 859- 864.
18. Lubbers, S.; Guerreau, J.; Feuillat, M., **1995**, Étude de l'efficacité déproteinisante de bentonites commerciales sur un moût et des vins des cépages Chardonnay et Sauvignon. *Bulletin de l'O. I.V.*, 769-770, 225-244.
19. Mesquita, P.R., Piçarra-Perreira, M.A., Monteiro, S., Loureira, V.B., Teixeira, A.R., Ferreira, T.B., **2001**, Effect of wine composition on protein stability. *Am. J. Enol. Vitic.* 52 (4), p. 324-330.
20. Moine-Ledoux, V., **1996**, Recherches sur le rôle des mannoprotéines de levure vis à vis de la stabilisation protéique et tartrique des vins. Thesis, Université Bordeaux II.
21. Moine-Ledoux, V.; Dubourdiou, D., **1999**, An invertase fragment responsible for improving the protein stability of dry white wines. *J. Sci. Food Agric.*, 79, 537-543.
22. Moio, L.; Addeo, F., **1989**, Focalizzazione isoelettrica delle proteine clouding, *Vignevini*, 4, 53-57
23. Pachova, V., Ferrando, M., Güell, C., López, F., **2002**, Protein adsorption onto metal oxide materials in white wine model systems. *J. Food Sci.* 67 (6), 2118-2121.
24. Ruíz-Larrea, F.; López, R.; Santamaría, P.; Sacristán, M.; Ruíz, M. C.; Zarazaga, M.; Gutiérrez, A. R.; Torres, C., **1998**, Soluble proteins and free amino nitrogen content in must and wine of cv. Viura in La Rioja. *Vitis*, 37, 139-142.
25. Sarmiento, M. R.; Oliveira, J. C., Slatner, M., Boulton, R.B., **1999**, Kinetics of the adsorption of Bovine serum albumin contained in a model wine solution by non-swelling ion exchange-resins. *J Food Eng* 39, 65-71
26. Sarmiento, M. R.; Oliveira, J. C.; Boulton, R. B., **2000**, Selection of low swelling materials for protein adsorption from white wines. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 35, 41-47.
27. Sarmiento, M.R., Oliveira, J. C., Slatner, M., Boulton, R.B., **2001**, Effect of ion-exchange adsorption on the protein profiles of white wine. *Food Sci. Technol. Int.* 7 (3), 217-224.

28. Siebert, K.J., **1999**, Protein – polyphenol haze in beverages. *Food Technol.* 53 (1), 54-57.
29. Versari, A., Barbanti, D., Potentini, G., Parpinello, G.P., Galassi, S., **1999**, Preliminary study on the interaction of gelatin-red wine components. *Ital. J. Food Sci.* 11, 231-239.
30. Waters, E.J., Wallace, W., Williams, P.J., **1992**, Identification of heat-unstable wine proteins and their resistance to peptidases. *J. Agric. Food Chem.* 40, 1514-1519.
31. Waters, E.J., Wallace, W., Tate, M.E., Williams, P.J., **1993**, Isolation and partial characterization of a natural haze protective factor from wine. *J. Agric. Food Chem.* 41, 724-730.
32. Waters, E.J., Pellerin, P., Brillouet, J.M., **1994**, A *Saccharomyces* mannoprotein that protects wine from protein haze. *Carbohydr. Polym.* 23, 185-191.
33. Weetall, H.H., Zelko, J.T., Bailey, L.F., **1984**, A new method for the stabilization of white wine, *Am. J. Enol. Vitic.* 35 (4), 212-215.
34. Weiss, K.C., Lange, L.W., Bisson, L.F., **2001**, Small-scale fining trials: Effect of method of addition on efficiency of bentonite fining, *Am. J. Enol. Vitic.* 52 (3), 275-279