



TEST DI STABILITÀ PROTEICA A CONFRONTO

La valutazione della stabilità proteica dei vini bianchi si ripresenta ogni anno come un problema per l'enologo anche se numerosi sono i metodi di indagine disponibili. Con il presente lavoro si è cercato di affrontare la tematica confrontando alcuni test di stabilità proteica al fine di fare chiarezza sulle risultanze analitiche che, nella maggior parte dei casi, sono rappresentate da valori di torbidità. I risultati hanno evidenziato la validità dei diversi test, tuttavia il loro utilizzo non può prescindere dalla conoscenza di alcune caratteristiche compositive del vino. La corretta interpretazione dei valori di torbidità dei diversi test è la condizione essenziale per gestire al meglio le tecniche di stabilizzazione proteica.



Di
Emilio Celotti
Jessica Salvian
Paola Ferraretto

**Dipartimento di Scienze degli Alimenti,
 Università degli Studi di Udine - Udine**

(Da sinistra nella foto)

INTRODUZIONE

■ Le proteine dei vini possono determinare instabilità del sistema in funzione delle loro caratteristiche compositive, delle condizioni del vino e delle condizioni di conservazione dello stesso. Sui vini stabilizzati i quantitativi di proteine possono variare da pochi mg/L a qualche centinaio di mg/L fino a raggiungere valori prossimi al grammo per litro (1, 8, 10, 11, 17, 18). Tuttavia nel vino rimangono le proteine più stabili al processo di trasformazione, in particolare le più rappresentate sono la taumatina e, in quantità minore la chitinasi (14, 15, 18, 23).

■ Delle proteine dei vini è nota la reattività con i tannini, questo determina una stabilizzazione naturale nei vini rossi, mentre nei bianchi le proteine possono rappresentare un fattore di instabilità non certa, ma condizionata alle condizioni di conservazione del vino. L'instabilità delle proteine in genere si evidenzia con variazioni dello stato colloidale e sviluppo di torbidità ed eventuale precipitato in bottiglia (5).

■ Tale rischio di instabilità proteica deve essere stimato in modo accurato al fine di gestire in modo ragionato gli interventi di stabilizzazione proteica, possibilmente nel rispetto della qualità globale in particolare per i vini

aromatici. Numerosi sono i metodi utilizzabili per valutare la situazione delle proteine del vino (2, 4, 7, 9, 12, 14, 16, 19, 21, 22, 24), tuttavia rispetto alla quantificazione delle proteine, difficilmente applicabile in cantina, è preferibile valutare una risposta ad un trattamento destabilizzante, misurabile semplicemente per nefelometria o turbidimetria.

■ Un rischio legato ad alcune metodiche è la sovrastima dell'instabilità in quanto si provoca anche la precipitazione di sostanze non proteiche, come i tannini e i polisaccaridi, inoltre è verificato che nel caso del test a caldo diversi sono gli interferenti, come riportato da recenti ricerche (6, 20).



DOCUMENTO TECNICO

■ I risultati forniti dai diversi test risultano difficilmente confrontabili tra loro e spesso è difficoltosa l'interpretazione del dato analitico quando ad esempio sullo stesso vino un test decreta la stabilità mentre un altro definisce instabile il vino.

■ Considerando che dalla risposta analitica scaturisce un trattamento tecnologico, diventa di fondamentale importanza determinare il rischio di instabilità proteica con metodi sensibili ma di cui si conoscano a fondo vantaggi e limiti applicativi. La sovrastima diventa molto rischiosa in quanto comporterebbe un trattamento deproteinizzante eccessivo e quindi a rischio di impoverimento organolettico del vino.

■ Il presente lavoro è nato dalla reale esigenza di fare chiarezza sull'interpretazione di alcuni test di stabilità proteica che sfruttano il differenziale di torbidità al fine di ottimizzare la gestione delle tecniche di stabilizzazione dei vini bianchi senza incorrere in trattamenti inutili a discapito della qualità sensoriale.

MATERIALI E METODI

■ Per lo studio sono stati utilizzati vini bianchi friulani giovani della vendemmia 2014, i vini erano di lotti diversi, prelevati subito dopo la fermentazione alcolica e dopo alcuni mesi di sosta in vasca. Il campionamento è stato effettuato volutamente in periodi diversi al fine di effettuare valutazioni su campioni a torbidità diversa. I test utilizzati prevedevano tutti la valutazione della torbidità differenziale dopo il test. Sono stati utilizzati i seguenti metodi:

• Test a caldo (heat test - HT) con riscaldamento dei campioni per 30 minuti alla temperatura di 80°C, raffreddamento del campione e misura della torbidità.

• Test a caldo con aggiunta di tannino condensato (TC C) (0,5 mL di soluzione di tannino al 5 % in acqua al 10 % di etanolo su 50 mL di vino) riscaldamento dei campioni per 30 minuti alla temperatura di 80°C, raffreddamento del campione e misura della torbidità.

• Test a caldo con aggiunta di tannino idrolizzabile (TC I) (soluzione di tannino al 5 % in acqua al 10 % di etanolo) riscaldamento dei campioni per 30 minuti alla temperatura di 80°C, raffreddamento del campione e

misura della torbidità.

• Test a freddo (temperatura ambiente) con aggiunta di tannino condensato (TC F) (soluzione di tannino al 5 % in acqua al 10 % di etanolo) e misura della torbidità.

• Test a freddo (temperatura ambiente) con aggiunta di tannino idrolizzabile (TI F) (soluzione di tannino al 5 % in acqua al 10 % di etanolo) e misura della torbidità.

• Protocheck (PC) (2,4): test elettrolitico che sfrutta la capacità delle proteine di interagire rapidamente con un polimero a carica elettrica negativa. Prevede la misura della torbidità del campione tal quale (NTU1), successivamente si aggiunge il vino al reagente anionico, (in rapporto 2:1) e dopo un minuto si esegue la seconda lettura (NTU2). Per effetto della diluizione PC = (NTU2 - NTU1/1,5).

• Bentotest: sono state utilizzate le soluzioni commerciali di Bentotest per vini bianchi (BB) e per vini rossi (BR); a 20 mL di vino sono stati aggiunti 2 mL di reagente Bentotest, dopo 1 minuto viene misurata la torbidità.

■ Per la misura del diametro delle particelle colloidali (size submicronico) è stato utilizzato un granulometro DLS della NICOMP con sorgente laser a 632,8 nm e misura con angolo di diffrazione a 90°.

■ Nelle prove su vini filtrati è stata utilizzata una carta da filtro a pieghe da 4-6 micron

di porosità, mentre per la centrifugazione si è operato per 5 minuti a 3000 rpm.

■ Per tutti i test i valori riportati nelle tabelle e figure rappresentano il differenziale di torbidità sviluppato a seguito del test, solo nel caso del Protocheck tale valore considera anche il fattore analitico di diluizione tra vino e reagente.

RISULTATI DELLA RICERCA

Valutazione di vini stabili di un anno.

■ Per verificare le risposte dei test utilizzati è stata effettuata una prima valutazione su un vino bianco e su un vino rosso, entrambi di un anno. Dall'esame della **Tab. 1** emergono alcune interessanti osservazioni. Anzitutto il test a caldo con tannino riporta al calcolo differenziale di torbidità valori negativi difficilmente interpretabili, a conferma di quanto già osservato in precedenti esperienze, in particolare su vini rossi e liquorosi (3). Questo fatto potrebbe essere attribuibile alla dissoluzione di alcune frazioni colloidali e conseguente diminuzione della torbidità, effetto contrapposto alla torbidità legata alla denaturazione termica delle proteine. Più veritieri sembrano esse-

Tab. 1 - Valori dei diversi test di stabilità proteica su vini di un anno

CODICE TEST	TEST	Valori dei test	
		Vino rosso	Vino bianco
TAL QUALE	Torbidità vino	55,3	6,5
TC F	Tannino condensato, a freddo	31,6	45,7
TI F	Tannino idrolizzabile, a freddo	26,7	54,5
TC C	Tannino condensato, a caldo	-56,14	-4,39
TI C	Tannino idrolizzabile, a freddo	-83,85	-32,2
BB	Bentotest vini bianchi	12,5	-2,99
BR	Bentotest vini rossi	0,4	0,36
PC	Protocheck	0,9	1,43
HT	Test a caldo - Heat test	-52,71	-1,4


Tab. 2 - Statistiche dei vari test applicati su vini a diversi livelli di torbidità (CV= coefficiente di variazione) (n=3)

NTU vino tal quale	15		45		> 150		140	
	media	CV%	media	CV%	media	CV%	media	CV%
TC F	150,5	4,5	229,8	4,2	141,9	3,0	249,3	0,2
TI F	163,5	6,9	209,8	6,9	118,3	16,9	190,7	6,2
TC C	143,5	4,3	479,1	1,6	150,7	16,9	335,3	2,3
TI C	130,9	3,1	386,8	8,2	121,7	6,1	265,0	9,7
BB	16,0	1,3	84,5	4,4	-264,7	-6,1	70,0	8,2
BR	55,2	0,5	165,2	3,5	152,3	11,9	162,7	2,0
PC	2,1	4,8	5,7	0,8	20,7	32,2	4,5	12,8
Test a caldo (HT)	0,1	216,0	4,2	20,6	-51,0	-12,1	-27,0	-16,0

re invece i valori di torbidità con i tannini a temperatura ambiente e con il Bentotest. Il Protocheck evidenzia leggere instabilità per entrambi i vini mentre il test a caldo fornisce valori negativi difficilmente interpretabili.

Ripetibilità dei test

■ Verificata la notevole differenza dei risultati in termini di torbidità tra i diversi test, sono state effettuate alcune valutazioni per determinare la ripetibilità degli stessi su vini diversi e con torbidità diverse. La **Tab. 2** evidenzia per tutti i test coefficienti di variazione molto interessanti su vini con torbidità massima di 44, solo nel caso di un vino il test a caldo non presenta valori ripetibili in quanto i risultati vicini allo zero non consentono di utilizzare tale indicatore statistico; tuttavia anche nel vino con 44 NTU di torbidità il test a caldo non evidenzia una buona ripetibilità. Se il vino è molto più torbido i risultati cominciano ad essere inficiati a valori oltre i 150 NTU, mentre fino a valori di 150 NTU praticamente tutti i test risultano applicabili ad esclusione del test a caldo che riporta valori negativi.

■ È evidente quindi che risulta interessante l'utilizzo dei test anche su vini con una certa torbidità al fine di valutare in anticipo la situazione della stabilità proteica per poterla

gestire al meglio. Il test a caldo evidenzia comunque dei limiti applicativi in situazioni di alta torbidità.

Valutazione dei test su standard di proteine

■ I test analizzati presentano principi di azione differenziati che inevitabilmente possono cambiare il risultato turbidimetrico e posso-

no addirittura fornire risposte molto diverse in termini di stabilità. Per cercare di capire meglio la risposta nelle condizioni reali sono state valutate le risposte a concentrazioni diverse di una proteina animale e di una di vinacciolo, entrambe aggiunte su un vino bianco. I risultati evidenziano comportamenti differenziati dei test, in particolare il Protocheck per entrambe le proteine evidenzia risposte crescenti alle aggiunte, mentre per

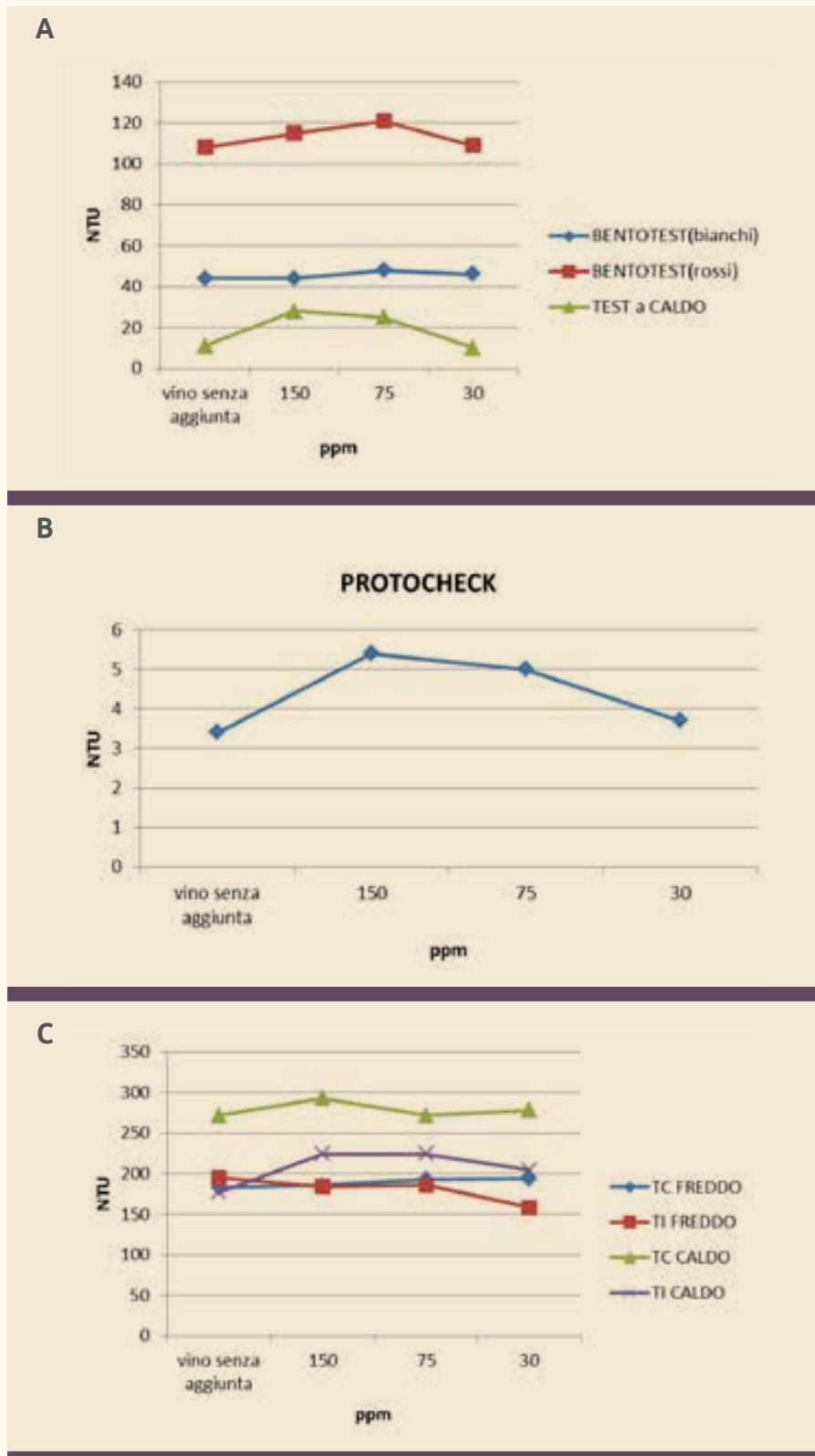
Tab. 3 - Risultati dei test applicati su standard di gelatina animale suina

	Vino senza aggiunta	Vino +100 ppm	Vino + 50 ppm	Vino + 10 ppm
TAL QUALE (NTU)	26	26	26	25
TC FREDDO	159	272	223	172
TI FREDDO	126	248	171	120
TC CALDO	393	430	472	425
TI CALDO	303	368	382	322
BENTOTEST(B)	40	75	58	42
BENTOTEST(R)	53	109	75	66
PROTOCHECK	2,36	51	27	4,5
TEST a CALDO	15	11	13	17



DOCUMENTO TECNICO

Fig. 1 - Risposte dei diversi test all'aggiunta di proteina di vinacciolo



gli altri test non sempre la risposta risulta lineare e crescente. In particolare per la proteina da vinacciolo (Fig. 1a-b-c) risultano regolari e crescenti i valori per il test a caldo, il Protocheck e il test con Tannino idrolizzabile a freddo; nel caso della proteina animale (Tab. 3) rispondono regolarmente il Protocheck, il Bentotest e i due tannini a freddo.

■ I valori evidenziano che, a fronte di una risposta significativa, vanno interpretati correttamente i diversi valori di torbidità determinati dalla reazione al test.

■ Nel caso del Protocheck si parla di rischio instabilità per valori calcolati superiori a 0,3-0,5; teoricamente il valore sarebbe zero, tuttavia considerando l'errore strumentale e la manualità dell'operatore, il valore limite può essere considerato 0,3-0,5, mentre nel caso del test a caldo si considera 3-5 NTU il limite di stabilità, tuttavia per il test a caldo i limiti fissati dai diversi laboratori non sono univoci. Nel caso del tannino i valori diventano di qualche decina di NTU o addirittura centinaia di NTU. Rimane l'incognita delle diverse risposte legate alla natura del tannino, valori che talvolta forniscono anche esiti contrapposti sulla stabilità dei vini. È evidente che non esiste una regola né tantomeno un valore fisso di torbidità da considerare.

■ È fondamentale la conoscenza dei limiti di specificità e di risposta dei test che determinano ad esempio valori molto diversi di torbidità se applicati allo stesso vino.

Valutazione di vini bianchi giovani (vendemmia 2014)

■ Dall'analisi delle correlazioni (Tabb. 4-7) tra i risultati dei diversi test sono emerse alcune interessanti considerazioni. Il valore di torbidità del vino tal quale non è in nessun caso correlato al valore dei diversi test, a conferma che, entro certi limiti di torbidità, è verosimile utilizzare l'analisi diretta anche sul vino non filtrato. Solo nel caso dei vini limpidi esistono situazioni di correlazione significativa tra la torbidità del vino e il valore di alcuni test.

■ Se andiamo ad analizzare le correlazioni tra i diversi test applicati a vini in condizioni diverse risulta evidente la non correlazione tra metodi in gran parte dei casi. Questo non significa che non siano confrontabili,



ma è la conferma che il torbido da misurare deriva da reazioni chimico-fisiche diverse in funzione del test. Sicuramente vanno definiti dei limiti di torbidità per definire stabile o instabile un vino, purtroppo però non si può standardizzare un valore di NTU che, come nel caso del test a caldo è influenzato dalla quantità di tannino del vino. Non a caso il test a caldo effettuato con qualsiasi tannino determina valori più alti di torbidità rispetto al test a caldo.

Molto importante è inoltre la conoscenza del vino, la tecnica con cui è stato prodotto e la sua vita futura; ad esempio se un vino è già stabile per la presenza di mannoproteine darà dei falsi positivi con i test di stabilità proteica; solo la conoscenza di questi aspetti potrà evitare trattamenti inutili di deproteizzazione.

■ Se analizziamo i risultati ottenuti sui vini limpidi, a fronte delle correlazioni significative tra tutti i test, è interessante osservare che nel caso del Protocheck (Tab. 8) solo un vino risulta stabile, mentre nel caso del test a caldo è difficile definire certe situazioni in quanto non è ancora ben definibile un valore limite certo di NTU, tuttavia se correliamo il protocheck e il test a caldo emerge una correlazione significativa. L'utilizzo del tannino a freddo, evidenzia invece situazioni di instabilità per tutti i vini in linea con le risposte del Protocheck; nel caso del test a caldo con tannino si osservano anche valori negativi difficilmente interpretabili.

■ Alla luce dei risultati ottenuti è evidente che è necessario interpretare i diversi valori di torbidità tra diversi test al fine di stimare nella maniera più accurata il problema proteico e quindi per definire in modo ragionato e rispettoso della qualità i trattamenti di stabilizzazione proteica da applicare (4, 13).

■ Sempre dall'analisi della tabella 8 relativa ai valori rilevati su vini limpidi, è evidente la variabilità dei risultati dei diversi test, a conferma della difficoltà interpretativa dei dati, in particolare quando non sono univoci tra i diversi test.

■ I dati dei vini limpidi evidenziano anche situazioni con il test a caldo con tannino a valori più bassi rispetto allo stesso test a temperatura ambiente, questo risultato potrebbe essere relazionato all'effetto di solubilizzazione dell'alta temperatura su alcune frazioni colloidali, con conseguente diminu-

Tab. 4 - Coefficienti di correlazione ("r" di Pearson) tra variabili, inclusa la torbidità del vino. I valori in grassetto sono significativi per p=0,05

Vini non filtrati									
	NTU vino	TCF	TI F	TCC	TI C	BB	BR	PC	HT
NTU vino	1,000000	-0,155076	-0,146704	0,140976	0,138722	0,343929	0,550728	0,112069	-0,095965
TCF	-0,155076	1,000000	0,967310	0,537083	0,537299	0,460340	0,350644	0,321342	0,325088
TI F	-0,146704	0,967310	1,000000	0,439875	0,446063	0,584837	0,379472	0,340337	0,186762
TCC	0,140976	0,537083	0,439875	1,000000	0,993834	0,422804	0,664175	0,233642	0,832384
TI C	0,138722	0,537299	0,446063	0,993834	1,000000	0,435173	0,688065	0,241055	0,857273
BB	0,343929	0,460340	0,584837	0,422804	0,435173	1,000000	0,795725	0,475463	0,030603
BR	0,550728	0,350644	0,379472	0,664175	0,688065	0,795725	1,000000	0,427731	0,410876
PC	0,112069	0,321342	0,340337	0,233642	0,241055	0,475463	0,427731	1,000000	0,185412
HT	-0,095965	0,325088	0,186762	0,832384	0,857273	0,030603	0,410876	0,185412	1,000000

Tab. 5 - Coefficienti di correlazione ("r" di Pearson) tra variabili, inclusa la torbidità del vino. I valori in grassetto sono significativi per p=0,05

Vini centrifugati									
	NTU vino	TCF	TI F	TCC	TI C	BB	BR	PC	HT
NTU vino	1,000000	0,109131	0,130731	0,141464	0,385852	0,219013	0,293940	0,176939	0,459676
TCF	0,109131	1,000000	0,952810	0,938161	0,925112	0,593737	0,757894	0,856328	0,025147
TI F	0,130731	0,952810	1,000000	0,933969	0,897664	0,648783	0,752072	0,842235	-0,088520
TCC	0,141464	0,938161	0,933969	1,000000	0,925187	0,719921	0,864347	0,896868	-0,087113
TI C	0,385852	0,925112	0,897664	0,925187	1,000000	0,676166	0,772438	0,807406	-0,015269
BB	0,219013	0,593737	0,648783	0,719921	0,676166	1,000000	0,824440	0,433487	-0,298804
BR	0,293940	0,757894	0,752072	0,864347	0,772438	0,824440	1,000000	0,790490	0,159295
PC	0,176939	0,856328	0,842235	0,896868	0,807406	0,433487	0,790490	1,000000	0,208680
HT	0,459676	0,025147	-0,088520	-0,087113	-0,015269	-0,298804	0,159295	0,208680	1,000000

Tab. 6 - Coefficienti di correlazione ("r" di Pearson) tra variabili, inclusa la torbidità del vino. I valori in grassetto sono significativi per p=0,05

Vini filtrati									
	NTU vino	TCF	TI F	TCC	TI C	BB	BR	PC	HT
NTU vino	1,000000	-0,027493	-0,133416	-0,079990	0,159523	0,702431	-0,281728	-0,655175	-0,121472
TCF	-0,027493	1,000000	0,928748	0,909073	0,901646	0,506527	0,467788	0,176230	0,781884
TI F	-0,133416	0,928748	1,000000	0,786742	0,759427	0,318481	0,450612	0,208503	0,705161
TCC	-0,079990	0,909073	0,786742	1,000000	0,943689	0,475492	0,461632	0,137708	0,855131
TI C	0,159523	0,901646	0,759427	0,943689	1,000000	0,666485	0,408590	-0,005411	0,792969
BB	0,702431	0,506527	0,318481	0,475492	0,666485	1,000000	0,114676	-0,331839	0,367978
BR	-0,281728	0,467788	0,450612	0,461632	0,408590	0,114676	1,000000	0,440202	0,336391
PC	-0,655175	0,176230	0,208503	0,137708	-0,005411	-0,331839	0,440202	1,000000	-0,013758
HT	-0,121472	0,781884	0,705161	0,855131	0,792969	0,367978	0,336391	-0,013758	1,000000

Tab. 7 - Coefficienti di correlazione ("r" di Pearson) tra variabili, inclusa la torbidità del vino. I valori in grassetto sono significativi per p=0,05

Limpidi naturali									
	NTU vino	TCF	TI F	TCC	TI C	BB	BR	PC	HT
NTU vino	1,000000	0,598479	0,497703	0,388050	0,505523	0,479863	0,703868	0,714069	0,148025
TCF	0,598479	1,000000	0,897659	0,891193	0,905317	0,894619	0,887474	0,600997	0,700111
TI F	0,497703	0,897659	1,000000	0,895699	0,898689	0,855824	0,875056	0,530743	0,709947
TCC	0,388050	0,891193	0,895699	1,000000	0,975406	0,967283	0,891251	0,555409	0,911216
TI C	0,505523	0,905317	0,898689	0,975406	1,000000	0,978347	0,949722	0,625443	0,841686
BB	0,479863	0,894619	0,855824	0,967283	0,978347	1,000000	0,905480	0,680666	0,859345
BR	0,703868	0,887474	0,875056	0,891251	0,949722	0,905480	1,000000	0,720404	0,727447
PC	0,714069	0,600997	0,530743	0,555409	0,625443	0,680666	0,720404	1,000000	0,419553
HT	0,148025	0,700111	0,709947	0,911216	0,841686	0,859345	0,727447	0,419553	1,000000



DOCUMENTO TECNICO

Tab. 8 - Dati su vini limpidi (torbidità dei vini e differenziali di torbidità dopo i vari test)

NTU vino tal quale	TC F	TI F	TC C	TI C	BENTOTEST(B)	BENTOTEST (R)	PROTOCHECK	TEST a CALDO
0,7	156,9	134,3	-0,4	-35,8	-0,6	0,5	1,0	-0,1
5,5	181,2	145,6	25,7	-12,7	1,2	1,4	1,4	2,7
5,0	247,6	145,0	24,1	5,1	-0,1	1,4	0,6	2,1
2,8	245,8	181,2	87,0	19,4	3,1	2,2	1,0	2,3
7,7	494,9	309,3	469,9	304,3	26,5	31,7	1,9	6,2
7,8	606,8	326,2	950,8	635,2	66,5	66,1	4,4	69,3
6,8	255,8	247,2	80,8	18,4	6,0	6,3	1,5	3,9
2,8	126,8	128,2	13,7	-18,8	-0,6	0,6	1,4	2,0
7,9	507,8	344,2	722,8	512,2	36,8	63,7	0,5	45,7
7,2	318,4	216,8	213,4	251,8	22,5	27,6	1,6	2,9
19,7	524,9	262,3	357,9	339,3	33,3	52,6	4,0	7,5
1,0	254,6	200,0	56,6	7,5	1,2	4,0	1,4	3,0
0,9	317,7	171,1	20,7	-19,8	-0,6	2,1	0,3	1,8
22,6	440,0	276,4	342,0	304,4	23,5	64,7	4,5	10,3
12,4	352,2	183,5	141,2	57,6	9,6	12,9	0,7	3,5
6,2	316,4	184,8	73,4	7,7	1,0	4,8	1,2	2,6

zione di torbidità. Tuttavia se confrontiamo i valori del test a caldo e del test a freddo con presenza di tannino è evidente l'effetto del tannino sulla risposta del solo test a caldo, a conferma che la presenza di piccole quantità di tannino condiziona notevolmente il risultato del test a caldo.

■ Nei vini limpidi, pur risultando significativa la correlazione tra tutti i test, al fine applicativo interessa il limite di NTU da considerare per definire un vino stabile o instabile. In particolare si può evidenziare che il test a caldo presenta valori di poche unità di torbidità che si possono prestare a giudizi di stabilità o instabilità in funzione di interpretazioni diverse tra laboratori. Anche nel caso dei test con tannino l'interpretazione non risulta facile in quanto è nota la diversa risposta del tannino in funzione dell'origine botanica.

■ L'enologo dovrà considerare oltre al test da applicare anche le caratteristiche del vino e le sue future condizioni di conservabilità. In sostanza i diversi test si sono dimostrati validi se correttamente applicati, qualche

riserva rimane sul test a caldo che risulta influenzato dalla quantità di tannino e che in molte situazioni evidenzia valori negativi.

■ Oltre all'aspetto analitico va sicuramente considerato quello pratico che fa sì che il Protocheck e il test con tannino a freddo siano gli unici due al momento applicabili con tempi rapidi anche direttamente in cantina. Da ricordare tuttavia che il test elettrolitico Protocheck è standardizzabile, mentre quello con il tannino è fortemente influenzato dal tipo di tannino utilizzato (2).

■ Un aspetto interessante è che per i diversi vini a diversi livelli di torbidità la significatività delle correlazioni cambia, questo conferma la difficoltà di definire dei limiti fissi di torbidità per alcuni test, in particolare per il test a caldo e per i test con tannino.

■ Anche la valutazione del diametro idrocolloidale delle particelle, determinata dopo l'esecuzione dei diversi test, ha evidenziato l'assenza di correlazioni significative in funzione del differenziale di torbidità, a conferma della complessità dei meccanismi di

formazione del torbido che contraddistinguono i diversi metodi e che non sono ancora completamente noti.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

■ I diversi test utilizzati per la valutazione della stabilità proteica forniscono risultati non comparabili in termini di NTU e di conseguenza bisogna interpretare correttamente i risultati al fine di ottimizzare la gestione della stabilità dei vini.

■ Si è confermata l'utilità di tutti i test, tuttavia per ognuno vanno considerati i limiti applicativi e soprattutto vanno definiti dei valori limite di stabilità-instabilità in funzione delle specifiche di ogni vino. Nella tabella 9 si riassumono vantaggi e criticità principali dei vari test.

■ Alcuni test si sono dimostrati di utilità pratica anche su vini giovani torbidi, in questo caso la stima dell'instabilità proteica può indirizzare l'enologo verso scelte tecnologiche



DOCUMENTO TECNICO

Tab. 9 - Punti di forza e criticità dei test valutati

Test utilizzati	Punti di forza	Criticità
TC A FREDDO	Rapido	Difficile standardizzare e il tannino
TI A FREDDO	Rapido	Difficile standardizzare e il tannino
TC A CALDO	Alta risposta turbidimetrica	Difficile standardizzare e il tannino, necessita di laboratorio, non rapido
TI A CALDO	Alta risposta turbidimetrica	Difficile standardizzare e il tannino, necessita di laboratorio, non rapido
BENTOTEST(B)	Rapido se utilizzato senza le prove di chiarifica	Rischio di sovrastima
BENTOTEST(R)	Rapido se utilizzato senza le prove di chiarifica	Rischio di sovrastima
PROTOCHECK	Rapido, standardizzabile, alta specificità	Obbligo di nefelometro
TEST a CALDO	Economico	Necessita di laboratorio Può dare valori negativi Influenzato dalla quantità di tannini

che più rispettose della qualità del vino.

■ Il test a caldo ha evidenziato alcuni limiti, in particolare possono presentarsi differenziali negativi di torbidità a seguito di solubilizzazione di torbidi sospesi o formazione di particelle colloidali più grossolane e meno numerose, con conseguente diminuzione della torbidità.

■ Dall'analisi dei risultati ottenuti si può affermare che tutti i test valutati possono essere utilizzati per la stima della stabilità proteica dei vini, è evidente che per ogni test bisogna essere consapevoli dei limiti applicativi in termini di tempo e di costo, della specificità di reazione e dell'eventuale interferenza di sostanze non proteiche.

■ Da non trascurare il fatto che i diversi test possono dare anche dei falsi positivi ad esempio su vini stabili ma ricchi in manoproteine (3). Alcune situazioni difficili, soprattutto su vini aromatici, andranno indagate utilizzando 2 o più test al fine di definire in modo più accurato gli eventuali interventi di stabilizzazione proteica. ■

BIBLIOGRAFIA

1. Batista L., Monteiro S., Loureiro V.B., Teixeira A.R., Ferreira R.B., 2009. The complexity of protein haze formation in wines. *Food Chem.* 112:169-177.
2. Celotti E. 2004. Procedimento di valutazione dell'instabilità delle proteine contenute in una bevanda a pH acido. Brevetto Italiano UD2004A000162, depositato il 3 Agosto 2004, Università degli Studi di Udine. PCT International Patent 05764076.5. Method to evaluate the instability of Proteins in an Acid pH Drink
3. Celotti E., Forniz R. 2011. Valutazione della stabilità proteica su vini liquorosi attraverso un test rapido, *L'Enologo*, 47 (11), 81-87.
4. Celotti E., Martellozzo E, 2006. New analytical approach to unstable protein evaluation in musts and wines. First International Symposium "Macromolecules of Grape and Wines", Reims-France, 18-21 May 2006, 183-189.
5. Delanoë D., Suberville N., 2005. Troubles et Depots des Boissons Fermentées et des Jus de Fruits. Ed. Oenoplurimedia, Chaintre/France
6. De Bruijn, J; Loyola, C; Arumi, JL; Martinez, J. 2014. Effect of non-protein factors on heat stability of Chilean Sauvignon Blanc wines. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 74 (4), 490-496.
7. Dubourdieu D., Serrano M., Vannier A.C., Ribereau-Gayon P., 1988. Etude comparée des tests de stabilité protéique. *Conn. Vigne Vin*, 22(4):261-273.

■ 8. Esteruelas M., Poinssaut P., Siczkowski N., Manteau S., Fort M.F., Canals J.M., Zamora F., 2009. Characterization of natural haze protein in sauvignon white wine. *Food Chem.* 113:28-35.

■ 9. Ferreira R.B., Monteiro S., Piçarra-Pereira M.A., Tanganho M.C., Loureiro V.B., Teixeira A.R., 2000. Characterization of the proteins from grapes and wines by immunological methods. *Am.J.Enol.Vitic.* 51(1): 22-28.

■ 10. Ferreira R.B., Piçarra-Pereira M.A., Monteiro S., Loureiro V.B., Teixeira A.R., 2002. The wine proteins. *Trends in Food Science and Technology* 12:230-239.

■ 11. Hsu J.C., Heartherbell D.A., 1987b. Heat-unstable proteins in wine. I. Characterization and removal by bentonite fining and heat treatment. *Am.J.Enol.Vitic.* 38:11-16.

■ 12. Jackobs L. Bentotest, 1962. *Das Weinblatt*, 34/35.

■ 13. Lucchetta, M; Pocock, KF; Waters, EJ; Marangon, M. 2013. Use of Zirconium Dioxide during Fermentation as an Alternative to Protein Fining with Bentonite for White Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64 (3), 400-404.

■ 14. Manteau S., Poinssaut P., 2010. Instabilité protéique des vins blancs et rosés. Partie 2/2. Comparaison des test de stabilité protéique dans les vins blancs et rosés et mise au point d'un nouveau test : l'Immuno-test. *Revue del Œnologues*, 135, 23-27.

■ 15. Marangon, M; Van Sluyter, SC; Waters, EJ; Menz, RI. 2014. Structure of Haze Forming Proteins in White Wines: Vitis vinifera Thaumatin-Like Proteins. *PLOS ONE*, 9 (12).

■ 16. Marchal R., Seguin V., Maujean A., 1997. Quantification of interferences in the direct measurement of proteins in wines from the Champagne region using the Bradford method. *Am. J. Enol. Vitic.*, 48: 303-309.

■ 17. Mesquita P.R., Piçarra-Pereira M.A., Monteiro S., Loureiro B., Teixeira A.R., Ferreira R.B., 2001. Effect of wine composition on protein stability. *Am.J.Enol.Vitic.* 52:324-330.

■ 18. Moine-Ledoux V., Dubourdieu D., 1997. Molecular interpretation of the improvement of protein stability in white wines during their ageing on the lees. *Rev. Oen. Tech. Vit. Oen.* 86:11-14.

■ 19. Pocock K.F., Høj P.B., Adams K.S., Kwiatkowski M.J., Waters E.J., 2003. Combined heat and proteolytic enzyme treatment of white wines reduces haze forming protein content without detrimental effect. *Aus. J. Grape Wine Res.* 9:56-63.

■ 20. Sarmento MR, Oliveira JC, Slatner M, Boulton RJ. (2000). Influence of intrinsic factors on conventional wine protein stability tests. *Food Control*, 11: 423-432.

■ 21. Toland T.M., Fugelsang K.C., Muller C.J. 1996. Methods for estimating protein instability in white wines: a comparison. *Am. J. Enol. Vitic.* 47(1): 111-112.

■ 22. Vincenzi S., Zapparoli G., Zoccatelli G., Simonato B., 2011. Metodo rapido per la determinazione e la quantificazione di proteine e glicoproteine nei vini bianchi. *Infowine*, 10/1, 1-5.

■ 23. Yokotsuka K., Singleton V.L., 1995. Interactive precipitation between phenolic fractions and peptides in wine-like model solutions: turbidity, particle size, and residual content as influenced by pH, temperature and peptide concentration. *Am. J. Enol. Vitic.* 46(3): 329-338.

■ 24. Zoeklein B., 1991. Protein stability determination in juice and wine. *Viticulture/Enology*, Virginia State, publication 463-015.