

# TEST RAPIDO PER LA STIMA DELL'INSTABILITÀ PROTEICA

Emilio Celotti, Roger Forniz, Erika Barbieri

Le proteine dei vini sono composti che, potenzialmente, possono determinare **instabilità chimico-fisica** del sistema, in funzione delle condizioni del vino e delle loro caratteristiche strutturali. Se il sistema rimane inalterato, le proteine permangono in soluzione stabile ma, quand'anche un solo fattore di instabilità interviene, il vino si intorbida sviluppando casse proteica.

I fattori che possono destabilizzare le proteine sono molteplici, fra cui la **temperatura**, i **metalli**, l'**ossigenazione**, la presenza di **tannini**, variazioni di **pH** e dello stato di **solvatazione** colloidale delle particelle. Da ciò si può facilmente dedurre come le cause che conducono alla casse proteica sono spesso di difficile previsione in virtù della complessità e della variabilità delle interazioni e della combinazione dei fattori di instabilità.

Da recenti studi sui sistemi colloidali è emerso che i principali fattori di stabilizzazione sono la solvatazione e la carica elettrica. Ne consegue che una loro eliminazione risulti tra le cause principali di instabilità. Il rischio è pertanto presente nei vini e deve essere correttamente stimato per prevenire il problema, nel rispetto della qualità globale del prodotto.

## Stima dell'instabilità proteica

Rispetto alla quantificazione delle proteine, difficilmente applicabile in cantina, è preferibile misurare un parametro indiretto legato alla precipitazione di tali composti, vale a dire la reattività ad un trattamento destabilizzante, misurabile ad esempio per turbidimetria.

Considerando inoltre, che alla risposta analitica è associato un trattamento tecnologico, la sovrastima del problema diventa molto rischiosa in quanto comporterebbe un trattamento deproteinizzante eccessivo e conseguente impoverimento organolettico (A).

## Test rapido

Il test denominato ProtoCheck, brevetto Internazionale dell'Università di Udine, è stato messo a punto per i vini bianchi, ma interessanti risultati emergono anche su vini liquorosi e spumanti.

Principali caratteristiche del metodo:

- ⇒ standardizzabile: il reagente è una soluzione titolata e perfettamente standardizzabile di un polielettrolita anionico specifico
- ⇒ rapido: breve tempo di reazione. Dopo 1 min. valore stabile
- ⇒ ad alta specificità: si sfrutta l'elettropositività delle proteine
- ⇒ interferenze limitate: tannini, polisaccaridi, torbidità non interferiscono sulla reazione
- ⇒ utilizzabile direttamente in cantina: è sufficiente un piccolo turbidimetro ed una provetta con il reattivo
- ⇒ non è necessario filtrare il campione

L'aggiunta del reattivo provoca la rapida neutralizzazione delle sole proteine, senza interagire con gli altri componenti del vino come tannini o polisaccaridi.

### Esecuzione del test rapido in 5 passaggi:

- 1 - Misura torbidità del campione tal quale (NTU)
  - 2 - Aggiunta del reagente anionico (2 volumi di vino e 1 volume di reagente) (B)
  - 3 - Agitare capovolgendo 2-3 volte la provetta
  - 4 - Lettura torbidità dopo 1 minuto (NTU2)
  - 5 - ProtoCheck (PC) = NTU2 - (NTU1/1,5\*)
- \*1,5 è il fattore di diluizione

(B) - Misura della torbidità su campione prima e dopo l'aggiunta del reagente anionico



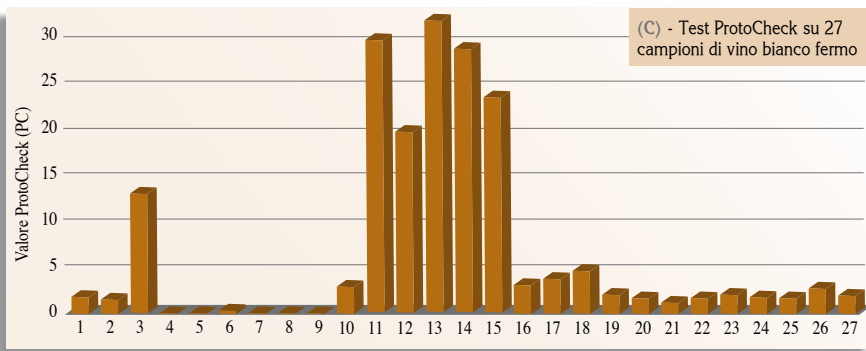
## Su vini bianchi tranquilli

Dalle esperienze realizzate si può considerare stabile un vino con valori prossimi allo zero. Risultati superiori sono legati a rischi di instabilità variabili. Da 0,5 a qualche unità si tratta di instabilità medio-basse, mentre numeri superiori indicano instabilità potenziali significative (C). La rapidità del test e la semplicità di esecuzione lo rendono applicabile direttamente in cantina, consentendo di effettuare controlli online sulla stabilizzazione proteica, senza necessità di inviare il campione in laboratorio, ottenendo un'informazione immediata.

L'approccio analitico mediante **elettro-neutralizzazione della carica** positiva delle proteine del vino rappresenta un metodo più specifico rispetto ad altri in uso e consente di valutare esclusivamente la potenziale instabilità proteica senza sovrastimare il problema. In questo modo si possono individuare i trattamenti di deproteinizzazione più rispettosi della qualità organolettica del vino.

### (A) - Test in uso valutazione stabilità proteica

	vantaggi	svantaggi
Sali inorganici (solfato di ammonio)	semplice esecuzione	difficilmente standardizzabile
Temperatura	semplice esecuzione	necessita di laboratorio, risultato variabile in funzione del contenuto in tannino
Solventi organici (etanolo)	semplice esecuzione in laboratorio	aspecifico, precipita non solo proteine
Tannino	rapido, reagisce solo con le proteine	difficilmente standardizzabile
Proteotest™	rapido, reagisce solo con le proteine	difficilmente standardizzabile
Acidi organici e inorganici	semplice esecuzione in laboratorio	aspecifico, precipita non solo proteine
Bentotest™	semplice esecuzione in laboratorio	aspecifico, precipita non solo proteine
Immunotest™	specifico per 2 proteine instabili identificate	laborioso, realizzabile solo in laboratorio
Prostab™	semplice esecuzione	necessita di tarature per i diversi vini
Bentocheck™	semplice esecuzione	realizzabile solo in laboratorio
Combinazioni tempo-temperatura	semplice esecuzione	influenzato da combinazione dei fattori e contenuto di tannino
Combinazioni tempo-temperatura-tannino	semplice esecuzione	influenzato da combinazione dei fattori e contenuto di tannino



### Su vini liquorosi tipo Porto

Il lavoro è nato dalla reale esigenza di alcuni produttori di vino Porto di individuare una soluzione ai problemi di instabilità proteica visti i casi in cui il test caldo, metodo utilizzato di norma, dava risultati che lasciavano pensare ad una corretta evoluzione del prodotto, salvo poi formare col tempo dei precipitati proteici in bottiglia.

I primi test di stabilità su vini Porto hanno subito dimostrato che le varie metodiche forniscono risultati a volte anche molto differenti fra loro e talvolta in contraddizione, anche con valori calcolati negativi.

Considerata l'eterogeneità delle tipologie dei vini Porto è risultato interessante valutare l'effetto del tannino sui test di stabilità proteica.

È stato dimostrato che differenze di 10 ppm di tannino determinano variazioni nel test a caldo anche di 15-20 NTU. Pertanto vini con lo stesso contenuto in proteine ma diverso tenore in tannini forniscono risposte molto diverse, con il rischio di applicare trattamenti stabilizzanti non proporzionali al contenuto proteico del vino.

Con l'utilizzo invece del test rapido il risultato non viene modificato in funzione del contenuto di tannini del vino, confermando la notevole specificità di azione ed affidabilità.

Risultano interessanti in proposito alcune situazioni in cui Protocheck fornisce dati d'instabilità negativi col test a caldo. Ciò si spiegherebbe con il basso contenuto in tannino del vino (D).

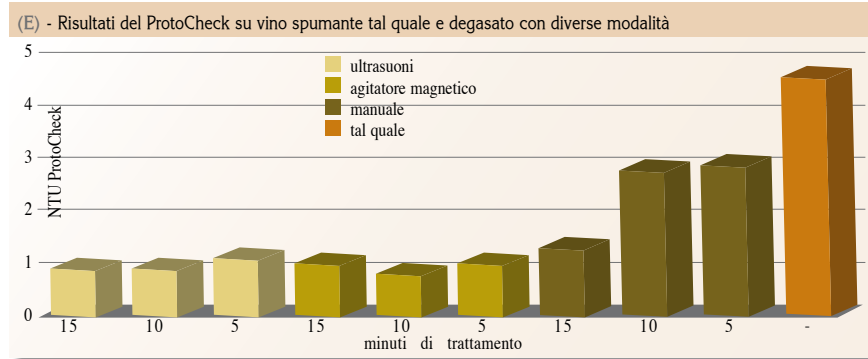
Nel complesso il test rapido ha dimostrato di non risentire in modo significativo di interferenti e per questo motivo è perfettamente applicabile anche ai vini liquorosi.

L'attività è stata inoltre estesa a diverse tipologie di vini spumanti e frizzanti, prendendo in considerazione la possibile interazione con la CO<sub>2</sub> dei diversi metodi utilizzati.

Le tipologie di prodotti analizzati sono le seguenti:

- ⇨ Vino Spumante Extra Dry
- ⇨ Vino Spumante Dolce
- ⇨ Vino Spumante Metodo Classico
- ⇨ Vino Frizzante Bianco
- ⇨ Vino Frizzante Rosso

Le analisi sono state svolte sfruttando le tecniche di degassaggio, riportate nel grafico (E) in base ad un ordine crescente di efficacia, in funzione di quanto verificato in un'indagine preliminare: agitazione manuale 120 secondi seguita da agitazione con ancoretta magnetica per 10 minuti e successiva applicazione degli ultrasuoni per 15 minuti.

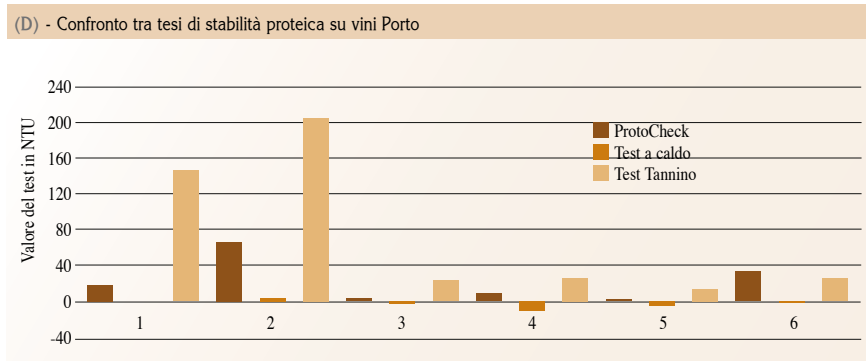


### Su vini spumanti e frizzanti

È stata valutata l'applicabilità di alcuni metodi utilizzati per l'analisi della stabilità proteica su vini frizzanti e spumanti. In particolar modo, si è proceduto all'identificazione di un metodo rapido per il **degassaggio** del campione da sottoporre al controllo, e al contempo alla valutazione dell'interferenza della CO<sub>2</sub> sui test di stabilità proteica.

Tutti i campioni sono stati sottoposti anche ad altri test di stabilità proteica, dai quali sono a volte emersi limiti applicativi del test a caldo, molto influenzato dal contenuto in tannini.

I risultati migliori sono stati ottenuti applicando la tecnica degli **ultrasuoni**. Dall'analisi dei risultati ottenuti con il test rapido emerge la necessità di procedere preliminarmente all'eliminazione dell'anidride carbonica al fine di ottenere un risultato più attendibile, anche in funzione di eventuali trattamenti con bentonite da eseguire sul vino instabile. Con una corretta eliminazione della CO<sub>2</sub> è stata verificata la piena applicabilità del ProtoCheck nella valutazione della stabilità proteica di vini spumanti e frizzanti (E, F).



Emilio Celotti, Roger Forniz,  
Erika Barbieri  
Dipartimento di Scienze degli Alimenti,  
Università degli Studi di Udine  
emilio.celotti@uniud.it