

DOCUMENTO
TECNICO**Emilio Celotti
Roger Forniz***Dipartimento di Scienze
degli Alimenti
Università degli Studi di Udine*

E. Celotti

VALUTAZIONE DELLA STABILITÀ PROTEICA SU VINI LIQUOROSI ATTRAVERSO UN TEST RAPIDO

A seguito di alcuni problemi evidenziati da alcune aziende nella valutazione della stabilità proteica di vini liquorosi, con il presente studio si è cercato di affrontare il problema confrontando alcuni test tradizionali con un test rapido a base di polielettroliti anionici. I risultati hanno confermato l'applicabilità e la semplicità operativa del nuovo test direttamente su vino non filtrato.

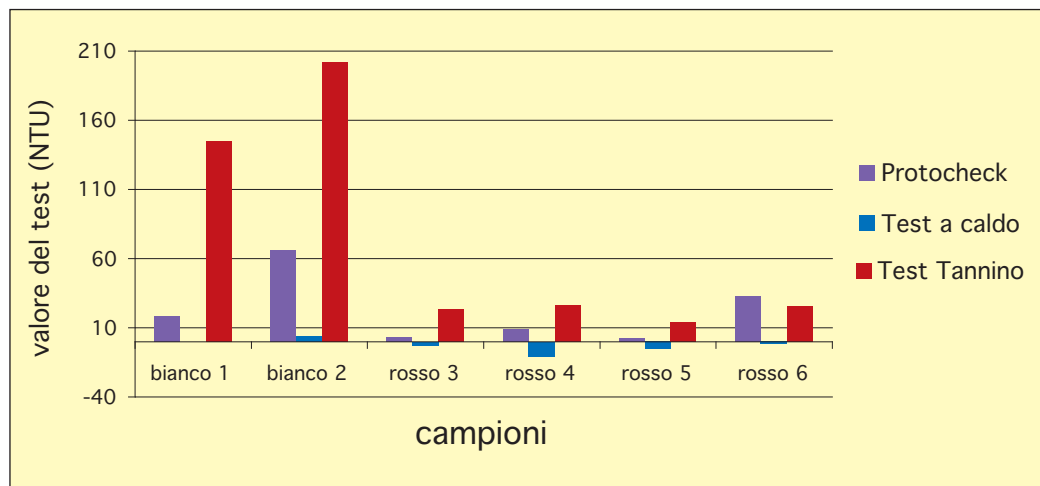
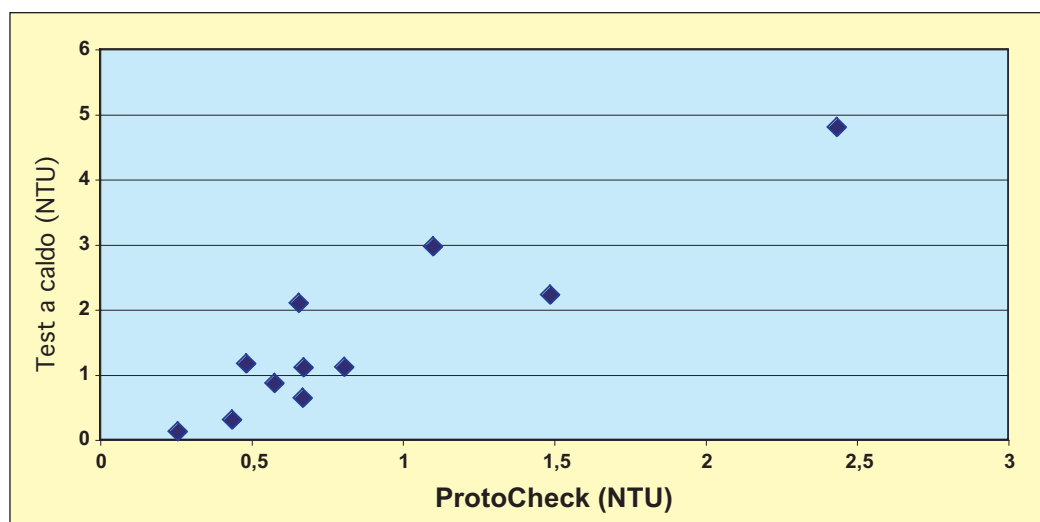
Introduzione

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, però se almeno un fattore di instabilità interviene, il vino si intorbida. Dopo la fermentazione rimangono prevalentemente le proteine che sono passate indenni durante la

vinificazione, mentre gli aminoacidi sono poco rappresentati in quanto utilizzati dai lieviti; in termini quantitativi rimangono mediamente 300-400 mg/L di proteine, tuttavia si possono raggiungere anche valori prossimi a 1000 mg/L (1, 7, 9, 10, 11, 15, 16).

I fattori che possono destabilizzare le proteine, sono molteplici. Ricordiamo la temperatura, i metalli, l'ossigenazione, la presenza di tannini, variazioni di pH e variazioni dello stato di solvatazione colloidale delle particelle.

Le proteine in forma stabile nel vino sono colloidali idrofili, presentano carica elettrica positiva in quanto il loro punto isoelettrico varia tra 4 e 7 ed è pertanto superiore al pH del vino; hanno alta reattività con i tannini e il loro peso molecolare (PM) varia tra 16 e 100 kDa; possiedono inoltre capacità adsorbenti e si legano di preferenza con tannini ad alto peso molecolare. Le proteine a più alto PM sono più stabili in quanto legate a polisaccaridi (glicoproteine), il loro PM arriva anche a 100

Fig. 1 - Test di stabilità a confronto su vini Porto**Fig. 2 - Confronto fra test a caldo e Protocheck (valori in NTU)**

kDa, quelle legate all'instabilità dei vini sono le più piccole, con PM variabili tra 16 e 30 kDa (9, 10, 16, 22).

Una particolare caratteristica delle proteine dei vini è la loro reattività con i tannini, questo determina una stabilizzazione naturale nei vini rossi, mentre in quelli bianchi le proteine possono rappresentare un rischio di instabilità futura, in funzione delle condizioni di conservazione del vino.

In questa complessità di struttura e reattività ne consegue che le proteine possono dare instabilità per piccole variazioni compositive o di conservazione del vino. Si tratta spesso di fenomeni colloidali di difficile previsione in virtù della complessità e della variabilità delle interazioni e della combina-

zione dei fattori di instabilità.

Il rischio di instabilità proteica è pertanto presente nei vini e deve essere correttamente stimato al fine di intervenire in modo adeguato nella prevenzione del problema, possibilmente nel rispetto della qualità globale del vino (2, 3, 4, 14, 17, 21).

I metodi tradizionali

I metodi tradizionali di stima dell'instabilità proteica. Considerando il rischio di instabilità delle proteine del vino, diversi sono i metodi che sono stati proposti e utilizzati per prevedere tale fenomeno (6, 8, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 23).

Rispetto alla quantificazio-

ne delle proteine, difficilmente applicabile in cantina, è preferibile misurare un parametro indiretto legato alla precipitazione proteica, vale a dire una reattività ad un trattamento destabilizzante, misurabile per torbidimetria o per nefelometria.

I metodi in uso sono molteplici e utilizzano anche principi di reazione diversi: citiamo la precipitazione alcolica, la denaturazione termica e successiva precipitazione, la reazione con tannino, la precipitazione acida (ad esempio Bentotest), la denaturazione con solfato di ammonio, ecc.; inoltre si applicano combinazioni di effetto come ad esempio la denaturazione termica associata al tannino che si presta ad innumerevoli varianti analitiche.

In riferimento ai metodi in uso ricordiamo che il tannino è difficilmente standardizzabile come reagente, l'etanolo precipita anche i polisaccaridi e tannini, l'ambiente fortemente acido precipita anche i tannini e altri colloidali a carica negativa. Le valutazioni con questi sistemi inoltre fornisce risultati contraddittori e rende difficilmente interpretabile la torbidità che deriva dalla destabilizzazione colloidale provocata al mezzo; i tempi di analisi inoltre possono essere lunghi e la metodica non sempre standardizzabile.

Un altro rischio legato ad alcune metodiche è legato alla sovrastima del problema in quanto si provoca anche la precipitazione di sostanze non proteiche, come i tannini e i polisaccaridi.

In pratica i risultati forniti dai diversi test risultano difficilmente confrontabili tra loro e spesso è difficoltosa l'interpretazione del dato analitico.

Se consideriamo inoltre che alla risposta analitica è spesso associato un trattamento tecnologico, diventa di fondamentale importanza determinare il rischio di instabilità proteica con metodi sensibili e accurati, senza significativi effetti di interferenti non proteici. La sovrastima diventa molto rischiosa in quanto comporterebbe un

trattamento deproteinizzante eccessivo e quindi a rischio di impoverimento organolettico del vino.

Recentemente è stato proposto un nuovo test per la valutazione dell'instabilità proteica, denominato Protocheck (2), che tiene conto di tutte queste valutazioni. Il test prevede l'interazione di un polielettrolita anionico organico che neutralizza la carica elettrica positiva delle proteine, portandole al punto isoelettrico, determinando in questo modo la loro insolubilità ed il conseguente intorbidamento del liquido. Tale test sfrutta il fatto che le proteine sono gli unici colloidali nel vino ad avere carica positiva risultando pertanto specifico nei confronti di queste sostanze.

Il Protocheck ha dimostrato la sua validità come test di instabilità nei vini, tuttavia essendo anche molto differenti le condizioni dei vini liquorosi, in particolare per il contenuto alcolico e quello zuccherino, si è reso necessario verificare l'affidabilità in questi prodotti.

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

Materiali e metodi

Il lavoro svolto presso la cantina Barros di Porto ha visto l'applicazione di differenti test di stabilità direttamente sui vini. Per la sperimentazione sono stati prelevati circa 30 campioni direttamente dal responsabile di laboratorio e di cantina. La gamma di campioni è stata selezionata opportunamente in modo da comprendere tutte le tipologie di vino Porto.

Lo schema del lavoro ha previsto le seguenti fasi:

Fig. 3 - Risposta del Protocheck all'aggiunta di bentonite

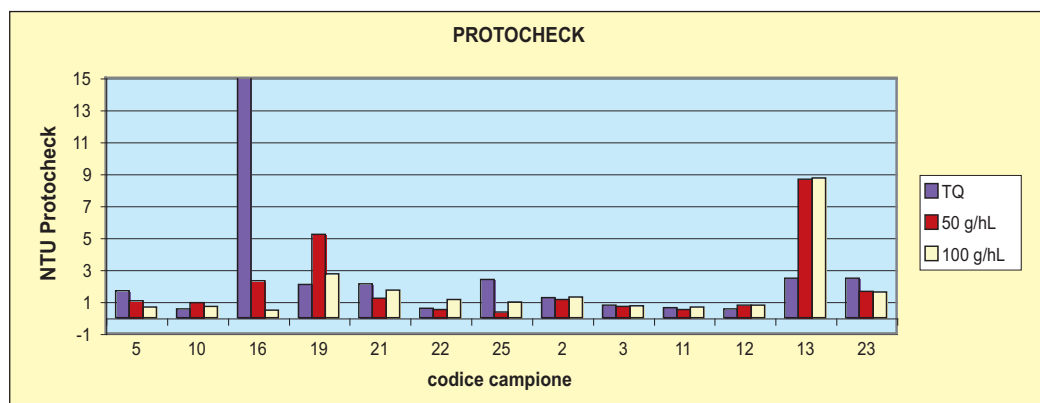


Fig. 4 - Risposta del test a caldo all'aggiunta di bentonite

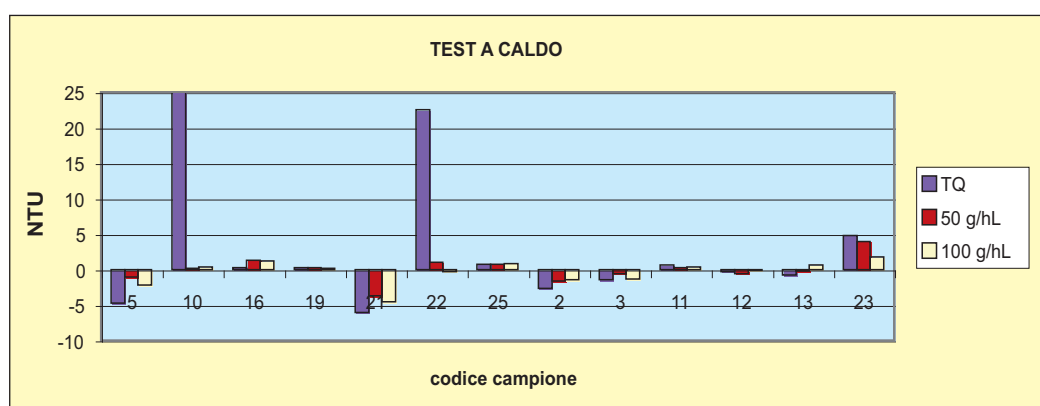
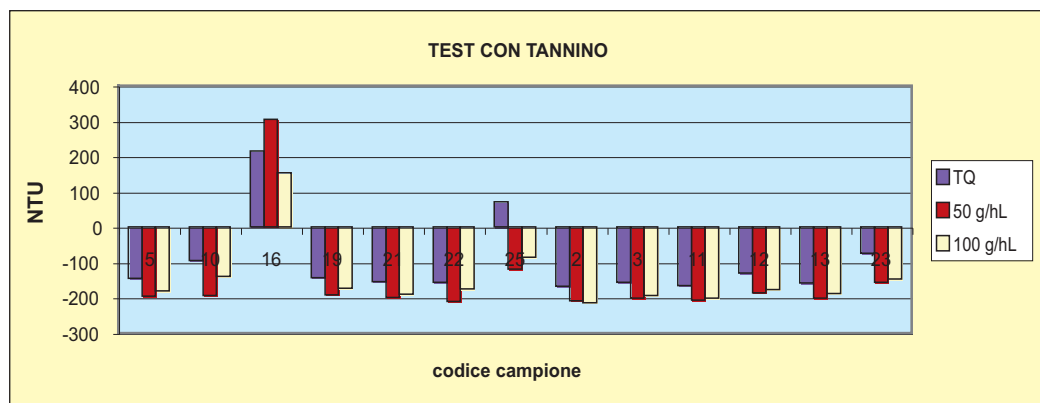


Fig. 5 - Risposta del test con tannino all'aggiunta di bentonite



- ☞ Prove di solubilità del sedimento per verifiche preliminari sull'origine del torbido
- ☞ Test preliminari su vini Porto di diversa tipologia
- ☞ Valutazione di possibili interferenti compositivi
- ☞ Confronto tra test di stabilità proteica

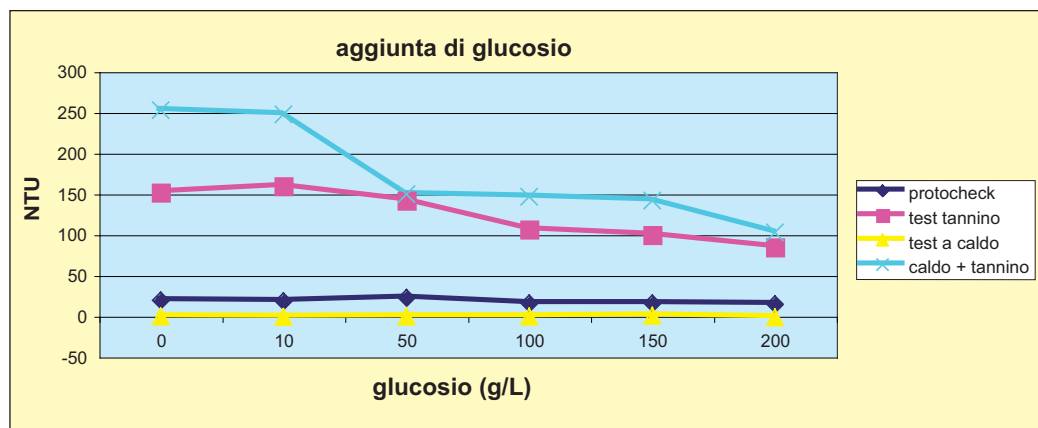
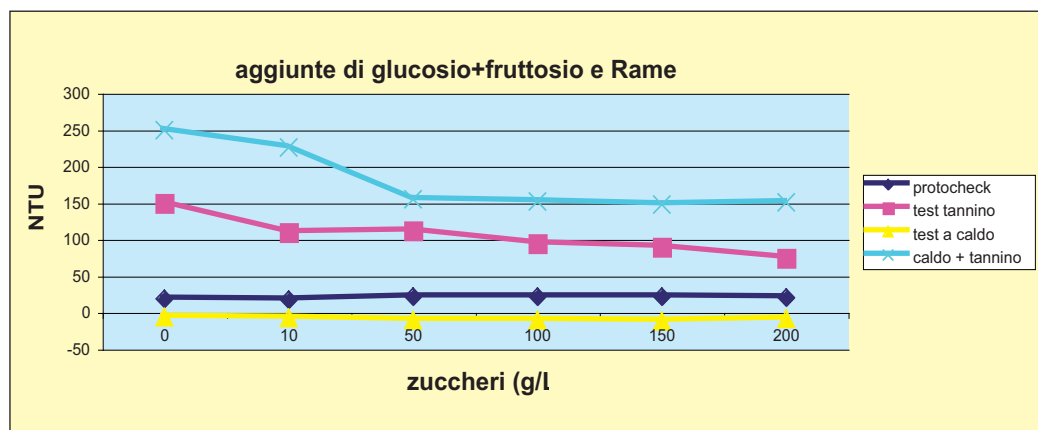
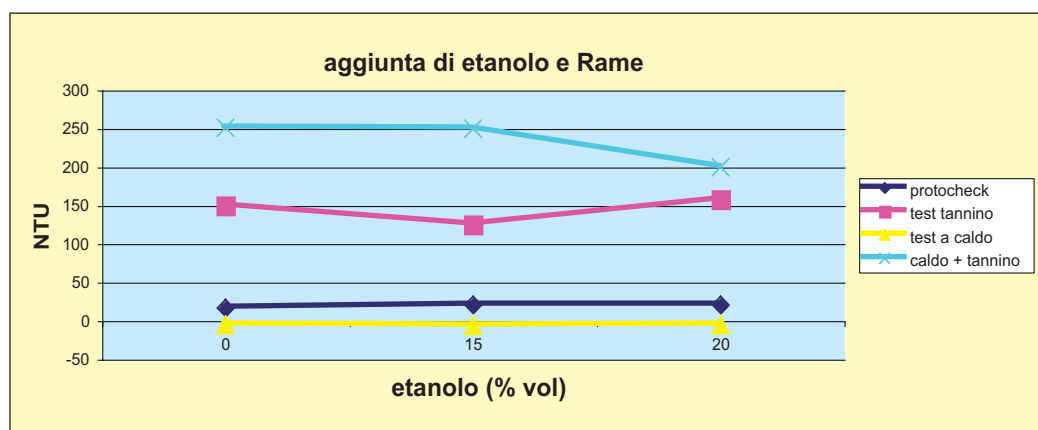
Test a caldo e test con tannino. La preparazione dei campioni prevede nel caso

del test a caldo il riscaldamento dei campioni per 30 minuti alla temperatura di 80°C. Per il test con tannino, è stata utilizzata una soluzione al 5% p/v di tannino di quercia sciolto in etanolo al 20% v/v. Per semplificare le operazioni di laboratorio sono state realizzate le esperienze anche su vino non filtrato.

In entrambi i casi il risultato viene espresso come differenza di torbidità tra il valore

misurato nel vino tal quale e successivamente al riscaldamento oppure all'aggiunta della soluzione di tannino a temperatura ambiente.

Sono stati utilizzati questi 2 test come riferimento in quanto ritenuti di semplice utilizzo in cantina, in particolare il test a caldo è quello più utilizzato dai tecnici, mentre il test con tannino è di rapida esecuzione se fatto a temperatura ambiente.

Fig. 6 - Vino bianco con dosi crescenti di glucosio**Fig. 7 - Vino bianco + Rame (2ppm) con dosi crescenti di glucosio e fruttosio in rapporto 1:1****Fig. 8 - Vino bianco + Rame (2ppm) con dosi crescenti di etanolo**

Protocheck. La metodologia del Protocheck prevede la misura della torbidità del campione tal quale (NTU1), successivamente si aggiunge il vino al reagente anionico, (in rapporto reagente - vino pari ad 1:2) e dopo un minuto la soluzione è pronta per la seconda lettura (NTU2). Il calcolo del

risultato tiene conto della differenza di torbidità e della diluizione: $PROTOCHECK = (NTU2 - NTU1/1,5)$.

A differenza dei test tradizionali il Protocheck non prevede la filtrazione del vino, rendendo possibile una valutazione rapida e applicabile anche in cantina avendo a di-

sposizione un turbi dimetro portatile.

Prove di solubilità sul sedimento. Per valutare la natura del sedimento, sono state inoltre eseguite prove di solubilità in ambiente acido o basico secondo le metodiche in uso (5).

Risultati della ricerca

L'applicazione di test di solubilità sui sedimenti in bottiglia ha subito evidenziato la probabile presenza di proteine nel precipitato, spesso in associazione a sostanze polifenoliche. I primi test di stabilità proteica su vini Porto hanno subito dimostrato che le varie metodiche forniscono risultati a volta anche molto discordanti fra loro (Fig. 1).

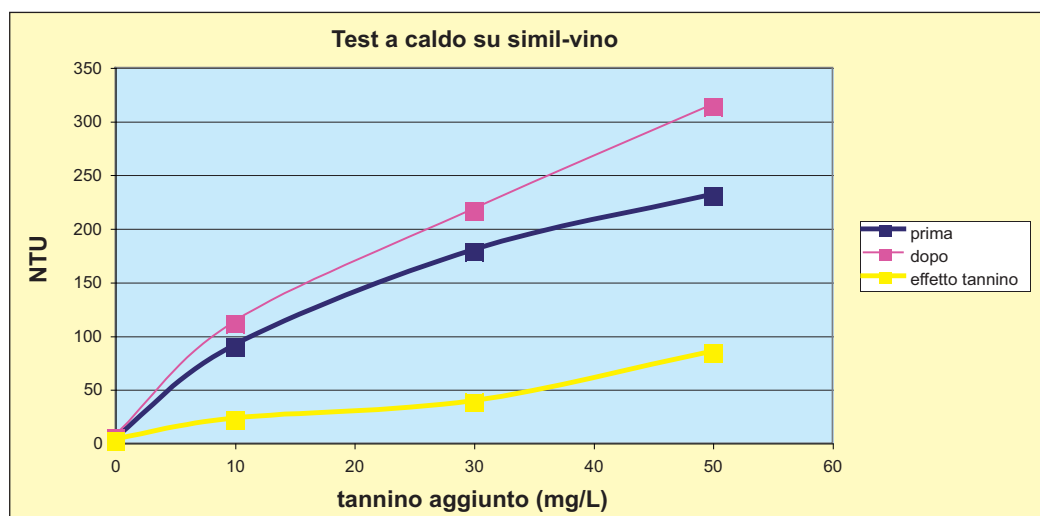
È da notare che se il secondo campione di vino bianco (Bianco 2), pur con valori di torbidità nettamente diversi per i tre test, evidenzia in tutti i casi una netta instabilità, altri vini reagiscono per esempio al Protocheck ed al test con tannino mentre rimangono pressoché stabili al test a caldo (Bianco 1).

Questo ultimo caso è molto significativo e conferma i problemi sorti nelle cantine di Porto dove la stabilità è attualmente verificata solo con il test a caldo realizzato a 80 °C per 30 minuti con misura della torbidità dopo raffreddamento. Il campione in questione potrebbe essere un esempio di come un vino bianco di Porto può essere valutato stabile quando in realtà è ancora ampiamente suscettibile a precipitazioni. Per poter meglio interpretare i risultati dei vari test sono state valutate le proteine mediante metodo Lowry e per elettroforesi, i dati hanno confermato la presenza di proteine in tutti i vini.

Sorprendenti sono i risultati negativi del test a caldo nei vini rossi, confermati anche nelle prove successive e che potrebbero dipendere da particolari complessi tannino-proteina solubili per effetto del riscaldamento. La differenza di risultati in termini di NTU tra i vari test dipende dal meccanismo d'azione, per questo motivo ogni valore di torbidità deve essere riferito alla metodica che lo ha determinato.

Le analisi eseguite presso il laboratorio della cantina Barros di Porto hanno confermato una discreta corrispondenza tra Protocheck e test a caldo, al contrario il test con tan-

Fig. 9 - Variazione di torbidità nel test a caldo su una soluzione simil-vino con glutine idrolizzato aggiunta di quantità crescenti di tannino (valore Protocheck senza tannino aggiunto =2,7)



nino si è dimostrato già dall'inizio inadatto alla tipologia dei vini liquorosi.

Questo test infatti tende a fornire risultati negativi che sono quindi difficilmente interpretabili e che potrebbero dipendere da reazioni di condensazione del tannino con complessi tannino-proteina stabilizzati probabilmente dal lungo invecchiamento. In tutte le situazioni il torbido provocato dalla reazione dei diversi test ha provocato variazioni del torbido in sospensione e non si sono osservati precipitati nei tempi di valutazione del test, pertanto i dati di torbidità tra i vari test risultano correttamente interpretabili.

I test sono stati ripetuti sia su vino tal quale che dopo filtrazione e nel caso del Protocheck hanno evidenziato una buona corrispondenza fra le 2 tesi (Fig. 2) a conferma del fatto che, salvo casi limite nei quali i vini sono molto torbidi e necessitano di una filtrazione sgrossante, non è necessaria alcuna preparazione del campione. I valori più elevati di torbidità nel caso del test Protocheck potrebbero essere relazionati in modo proporzionale alle proteine presenti nei solidi sospesi e reattive al test.

Per valutare meglio le possibilità applicative dei diversi tesi sono state effettuate diverse prove di trattamento con bentonite su diverse tipologie

di vino, di seguito si riportano alcuni risultati (Figg. 3, 4, 5). Le prove di chiarifica con bentonite a dosi di 50 e 100 g/hL hanno dimostrato che tutti i test rispondono, se pur diversamente, al trattamento deproteinizzante. Le diverse risposte turbidimetriche tra i test sono legate come noto al meccanismo di azione. Valori bassi di Protocheck (es. 1,00) possono corrispondere a valori di alcune decine di NTU del test a caldo o a valori ancora superiori del test con tannino.

Si deve precisare che talvolta, per eliminare completamente le proteine (valori prossimi a 0,00), bisognerebbe ricorrere a dosaggi troppo alti di bentonite, da evitare se si vogliono salvaguardare gli aromi del vino.

Il fatto che anche 100 g/hL non portino sempre a stabilità per i diversi test indica che probabilmente anche alti dosaggi di bentonite non riescono ad eliminare completamente le proteine, inoltre i valori negativi del test a caldo e del test con tannino risultano difficilmente interpretabili. Non è da escludere pertanto la presenza di mannoproteine nei vini Porto, in grado di reagire positivamente con i test di stabilità proteica e quindi di fornire valori di instabilità fittizia. Va osservato comunque che per tutti i test, si evidenziano risultati anomali a seguito del trattamento con bentonite.

Valutazione di interferenti

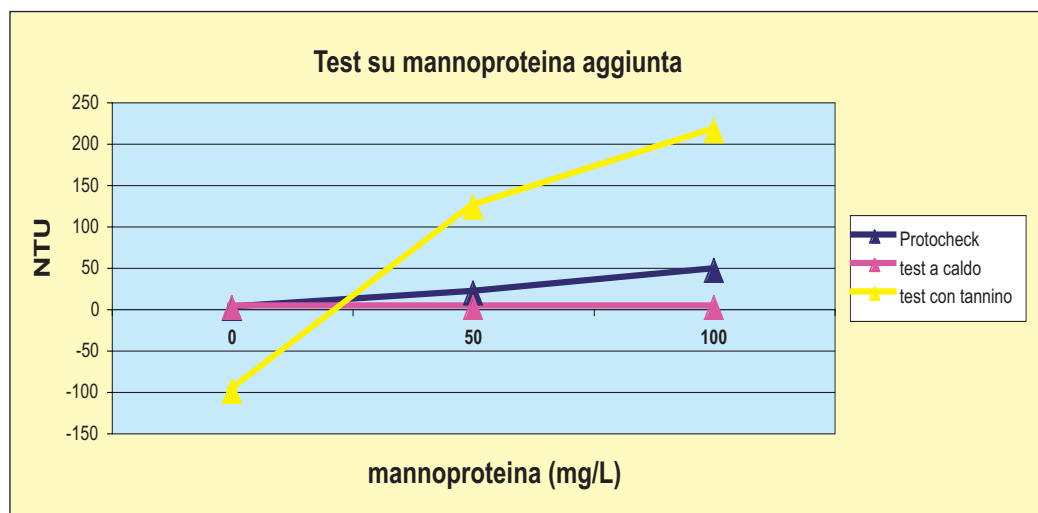
Considerata inoltre la complessità compositiva del vino Porto e le diverse tipologie di prodotto, sono stati valutati gli effetti di alcuni fattori compositivi e di processo nei confronti dei test di stabilità proteica.

I test eseguiti su vino bianco addizionato con dosi crescenti di glucosio, fruttosio, glucosio e fruttosio in rapporto 1:1 ed infine di etanolo, si sono dimostrati molto interessanti.

Da tutte le tesi è emerso infatti che gli unici test a non essere influenzati in modo significativo dalle varie componenti considerate sono il test a caldo ed il Protocheck, come evidenziato dalle Figg. 6, 7 e 8.

Analizzando i risultati si osservano risposte non univoche nei confronti dei diversi interferenti, è evidente quindi che la conoscenza delle caratteristiche dei singoli vini e dei trattamenti enologici effettuati in vinificazione consente di interpretare con più accuratezza i risultati dei diversi test di stabilità proteica.

Considerati i valori di etanolo e di zuccheri dei vini Porto, e il frequente ricorso ad interventi con rame, risultano interessanti i test a caldo e il PC, meno sensibili a tali variabili compositive e di trattamento.

Fig. 10 - Risposta dei vari test all'aggiunta di mannoproteina

Contenuto in tannini

Influenza del contenuto in tannini sul test a caldo.

Se come detto gli unici test che assicurano una scarsa interferenza per quanto riguarda zuccheri, alcol e rame nella valutazione della stabilità proteica sono test a caldo e Protocheck, bisogna precisare che altre componenti possono comunque riservare delle sorprese.

Recenti valutazioni infatti, hanno evidenziato 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 diversi contenuti in tannini forniranno risposte molto diverse, con il rischio quindi di consigliare trattamenti stabilizzanti non proporzionali al contenuto proteico del vino. Nella Fig. 9 si riportano esperienze di aggiunte di proteina (glutine) ad una soluzione similvino, dove in ascissa 0,1 mL corrispondono a 10 mg/L di tannino aggiunto. Si possono osservare risposte significative del test a caldo per piccole aggiunte di tannino, a conferma dell'interferenza di questi composti fenolici sul risultato del test a caldo.

Nel caso dell'impiego del test a caldo con l'aggiunta di tannino, c'è il rischio inoltre che una piccola variazione nell'aggiunta della soluzione

liquida di tannino comprometta il risultato analitico (ad esempio una goccia di differenza). In Protocheck è invece verificata l'assenza di tale effetto, confermando la notevole specificità di azione.

Risultano interessanti in proposito alcune situazioni in cui il Protocheck fornisce dati di instabilità mentre il test a caldo no, questo potrebbe essere spiegato dal basso contenuto in tannino del vino.

Presenza di mannoproteine

Risposta dei test di stabilità all'aggiunta di mannoproteine. Per verificare l'effetto delle mannoproteine sono state effettuate delle aggiunte tarate utilizzando prodotti estratti e purificati in laboratorio.

Le mannoproteine aggiunte hanno risposto al Protocheck in modo proporzionale all'aggiunta così come il test con tannino, al contrario il test a caldo non è stato influenzato positivamente da tale variazione del sistema mostrando invece una lieve diminuzione di torbidità (Fig. 10).

Questo risultato potrebbe spiegare alcune situazioni in cui anche dopo trattamenti intensivi con bentonite il vino evidenzia instabilità potenziale dovuta evidentemente a mannoproteine presenti.

Le mannoproteine risentono poco dell'effetto del trattamento con bentonite, tuttavia

determinano risposte positive ai vari test di stabilità proteica, in particolare il test con tannino e il Protocheck.

Alla luce di queste considerazioni ed evidenze sperimentali diventa importante l'interpretazione del test usato nella stima dell'instabilità proteica di vini stabilizzati con mannoproteine aggiunte o ottenute da sosta del vino sulle fecce fini. In particolare i risultati ottenuti con le aggiunte tarate di tannino devono far riflettere in quanto significa che i vini con diversi contenuti in tannino forniscono risposte diverse al test a caldo, pur con stesso contenuto di proteine, mentre il test con polielettroliti Protocheck non subisce l'effetto del tannino.

Considerazioni conclusive

I test per la valutazione della stabilità proteica forniscono risultati non comparabili in termini di NTU e talvolta l'interpretazione di stabilità non è omogenea tra i metodi.

Il Protocheck ha dimostrato di non essere influenzato da zuccheri, etanolo, rame e per questo motivo è perfettamente applicabile anche ai vini liquorosi di Porto.

Vista la specificità d'azione, la possibilità di misurare il campione senza filtrazione preventiva e i tempi molto rapidi d'analisi, Protocheck può essere consigliato come test rapido di valutazione della stabilità proteica in sostituzione dei tradizionali test a caldo e test con tannino. In casi dubbi comunque è consigliabile incrociare almeno due test, tuttavia bisogna essere consapevoli di interpretare valori di NTU completamente diversi tra i vari metodi di analisi.

Alla luce dei risultati ottenuti si può considerare zero «0» o al massimo 0,2 - 0,3 di Protocheck come dato limite per non avere rischi di potenziale instabilità proteica. Bisogna precisare che il valore zero corrisponde all'assenza di proteine, è pertanto difficile definire un valore di stabilità. Questo problema riguarda tutti i test; bisogna pertanto

conoscere l'evoluzione futura del vino e le statistiche di instabilità della cantina. Il Protocollo fornisce quindi una stima delle proteine e si può pertanto affermare che secondo tali esperienze possiamo definire 0,2 – 0,3 il limite di potenziale instabilità. Potenziale instabilità significa che le proteine si destabilizzano "casce" se ci saranno le condizioni nel vino, pertanto c'è anche la possibilità che un valore 0,4 di PC o più alti con altri test, corrispondano a vini stabili.

Rimangono alcune situazioni da verificare, in particolare i dati negativi evidenziati con il test a caldo e con il test con tannino. Risaltano soprattutto i valori negativi del test a caldo che si manifestano prevalentemente nei vini rossi e questo potrebbe far pensare a variazioni del sistema colloidale. Per esempio esiste la possibilità che complessi solubili tra tannini e proteine si solubilizzino per effetto del calore, determinando diminuzioni di NTU. Tuttavia questi aspetti sono da approfondire e lasciano aperta la possibilità di nuovi studi. Alla luce delle esperienze effettuate emerge con chiarezza la necessità di conoscere vantaggi e limiti dei diversi test al fine di utilizzare la metodica più adatta alla tipologia di vino e alla sua evoluzione prima e dopo l'imbottigliamento.

Ringraziamenti. *Gli autori ringraziano per la collaborazione la Cantina Barros di Oporto (Portugal) e la società Enartis di Trecate (Novara), inoltre la dott.ssa Barbara Scotti e gli enologi Josè Santos e Giovanni Branca.* ■

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., 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.

3. Celotti E., Cacciola V., Dell'Eva M., 2010. Recent acquisitions on interactions between tannins and polysaccharides. Oral communication, 60th German Grape and Wine Congress, Stuttgart march 24th to 28th, PDF 31-41.

4. Dawes H., Boyes S., Keene J., Heaterbell D., 1994. Protein instability of wines: influence of protein isoelectric point. *Am. J. Enol. Vitic.* 45(3): 319-326.

5. Delanoe D., Suberville N., 2005. Troubles et Depots des Boissons Fermentées et des Jus de Fruits. Ed. Oenoplurimedia, Chaintré/France

6. Dubourdiou D., Serrano M., Vannier A.C., Ribereau-Gayon P., 1988. Etude comparée des tests de stabilité protéique. *Conn. Vigne Vin*, 22(4):261-273.

7. Esteruelas M., Poinssaut P., Sieczkowski 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.

8. 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.

9. 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.

10. Feuillat M., Charpentier C., von Bonn E., 1995. Characterization of proteins in white wines: application to Chardonnay wines. *Rev. Oen. Tech. Vit. Oen.* 78:9-14.

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. Lowry O.H., Rpsbrogh J., Farr A.L. and Randall J. (1951). *J. Biol. Chem.*, 193, 265.

14. Manteau S., Poinssaut

P., 2010. Instabilité protéique des vins blancs et rosés. *Partie 2/2. revue del Enologues*, 135, 23-27.

15. 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.

16. Moine-Ledoux V., Dubourdiou 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.

17. 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.

18. Sarmiento MR, Oliveira JC, Slatner M, Boulton R.J. (2000). Influence of intrinsic factors on conventional wine protein stability tests. *Food Control*, 11: 423-432.

19. 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.

20. 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.

21. Waters E.J., Alexander G., Muhlack R., Pocock K.F., Colby C., O'Neill B.K., Høj P.B., Jones P., 2005. Preventing protein haze in bottled white wine. *Aus. J. Grape Wine Res.* 11:215-225.

22. 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.

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