



# INFLUÊNCIA DAS MANOPROTEÍNAS DE *S. CEREVISIAE* NA QUALIDADE DOS VINHOS

As manoproteínas de levedura são polissacáridos localizados nas suas paredes celulares que, quando libertados no vinho, melhoram a qualidade organolética e a estabilidade. Contribuem para aumentar o “volume em boca” e a suavidade, reduzem a adstringência dos taninos, melhoram a estabilidade da cor e a complexidade aromática. São libertadas no vinho de uma forma natural, durante a fase tumultuosa da fermentação alcoólica.

Paulo J.F. Cameira dos Santos

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

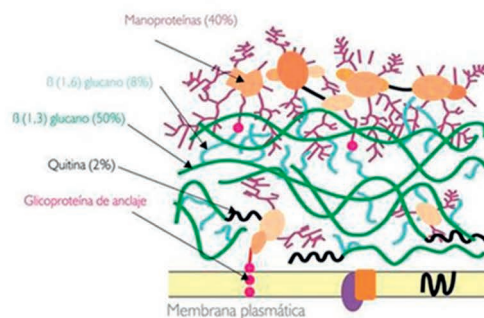


## Introdução

Usseglio-Tomasset (1976)<sup>[1]</sup> demonstrou que as leveduras libertam no vinho coloides glucídicos do tipo glucomanano. Na realidade, trata-se de manoproteínas<sup>[2,3]</sup>, constituídas essencialmente por manose, sendo a glucosamina responsável pela ligação dos N-glicanos à parte proteica (5 a 30% da molécula), e por  $\beta$ -glucanos (Wucherpennig *et al.*, 1984)<sup>[4]</sup>, compostos por longas cadeias de glucose ligadas em  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3), ramificadas por monómeros no carbono 6 (Figura 1). A sua concentração depende do modo de vinificação e de conservação do vinho no final da fermentação (estágio sobre borras, *bâtonnage*). Estas estruturas representam geralmente entre 20 e 40% dos polissacáridos solúveis do vinho.

## Incidências tecnológicas dos polissacáridos do vinho

De uma forma genérica, os polissacáridos totais do vinho são compostos por: (1), AGP, Arabinogalactanas-proteínas; (2) RGII, as Ramnagalacturonanas do tipo II e (3) as manoproteínas. Para além do seu efeito sobre a limpidez dos vinhos, através da formação de turvações – como é o caso das cadeias lineares de arabinana –, as principais influências tecnológicas dos coloides glucídicos exercem-se essencialmente



**Figura 1** – Imagens em microscopia ótica de células de *S. cerevisiae* (à esquerda) e esquema da parede celular da mesma levedura, mostrando a localização das manoproteínas.

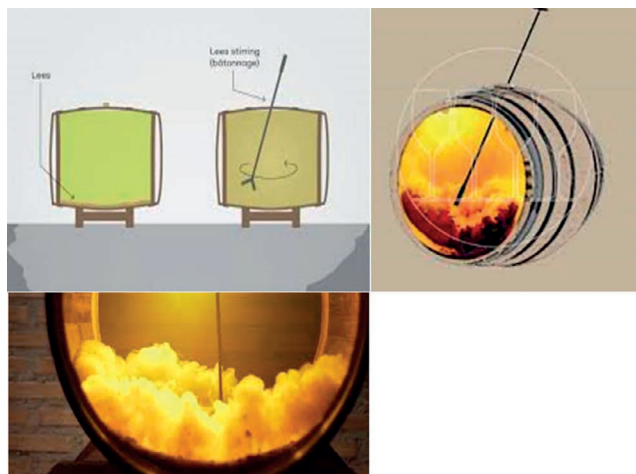
a dois níveis: 1) na estabilização tartárica, através da interação com os sais de tartarato de cálcio e de potássio; e 2) na colmatagem das superfícies filtrantes.

### Os polissacáridos e estabilização tartárica

Os enólogos sempre observaram que certos polissacáridos do vinho se opõem à precipitação dos tartratos, e por essa propriedade foram designados “coloides protetores” (Ribéreau-Gayon et al., 1977<sup>[5]</sup>; Feuillat, 1987<sup>[6]</sup>). Este fenômeno seria devido às interações entre os polissacáridos e os sais no processo de formação dos cristais de ácido tartárico (tartarato de cálcio e bitartarato de potássio). Estas macromoléculas constituiriam, assim, um obstáculo à estabilização tartárica do vinho por arrefecimento prolongado. Lubbers (1993)<sup>[7]</sup> demonstrou que

as macromoléculas extraídas das paredes celulares das leveduras podem atuar como um adjuvante enológico “natural” contra a precipitação tartárica dos vinhos. Daí o surgimento da prática ancestral da *Bâtonnage* (Figura 2), inicialmente na região francesa da Borgonha, mas que rapidamente se difundiu por todo o mundo devido aos seus benefícios.

*Bâtonnage* é a técnica de mexer as borras (leveduras mortas e resíduos) no fundo de recipientes de vinho, como cubas de inox ou barricas de carvalho, para as manter em suspensão (Figura 2). Este processo, que tem origem francesa, visa aumentar a complexidade, o corpo e a textura do vinho, conferindo-lhe maior cremosidade e suavidade. A frequência e a duração da *bâtonnage* são decididas pelo enólogo, dependendo do resultado desejado.



**Figura 2** – Prática e execução da *bâtonnage*.

### A filtração de vinhos e a estabilidade tartárica

Após uma filtração, pode ocorrer uma diminuição do teor de polissacáridos do vinho que, ao serem retidos nas membranas dos filtros, deslocam o equilíbrio das interações entre polissacáridos e sais o que pode, por sua vez, induzir uma precipitação tartárica indesejável<sup>[9]</sup>. A possibilidade de modificar estes equilíbrios é explorada em certas práticas enológicas, como a adição de goma-arábica (Ribéreau-Gayon et al., 1977)<sup>[5]</sup> ou de carboximetilcelulose. Uma outra prática enológica atualmente autorizada pela União Europeia é a adição de manoproteínas comerciais, provenientes de leveduras, mas purificadas in-

dustrialmente<sup>[8]</sup>. Normalmente, apresentam-se sob a forma de preparações comerciais liofilizadas.

### Polissacáridos e a colmatação das superfícies de filtração

Os polissacáridos estão também diretamente implicados na colmatação dos filtros. No entanto, os investigadores observaram que o poder de colmatação de um vinho não está diretamente relacionado com o seu teor total em polissacáridos, e que vinhos com concentrações semelhantes em colóides glucídicos podem apresentar diferentes aptidões à filtração (Wucherpfennig *et al.*, 1987)<sup>[9]</sup>. Belleville *et al.* (1991)<sup>[10, 11]</sup> demonstraram que o poder de colmatação dos polissacáridos está parcialmente relacionado com o seu volume hidrodinâmico.

### Colmatação relacionada com os polissacáridos do vinho provenientes da uva

Para esta classe de polissacáridos, Belleville *et al.* (1991)<sup>[10, 11]</sup> demonstraram que, com exceção das frações contendo polissacáridos maioritariamente ácidos, existe uma correlação bastante significativa entre o volume hidrodinâmico e o poder de colmatação das frações polissacarídicas em solução modelo. O poder de colmatação anormalmente elevado do RG-II, tendo em conta a sua baixa massa molecular, poderia ser explicado pela sua adsorção preferencial na membrana, devido à sua carga negativa ao pH do vinho. Uma fração polissacarídica insolúvel (constituída maioritariamente por um arabinano linear muito pouco solúvel) induz igualmente uma redução significativa do débito de filtração.

### Colmatação provocada pelos polissacáridos do vinho produzidos por microrganismos

As manoproteínas de *Saccharomyces cerevisiae* têm um efeito de colmatação<sup>[12]</sup>, devido à sua abundância natural e ao seu elevado peso molecular. As dificuldades de filtração associadas à presença de uma  $\beta$ -glucana produzida pelo fungo *Botrytis cinerea* são significativas (Dubourdieu, 1982)<sup>[1]</sup>. No entanto, o rendimento de filtração dos vinhos provenientes de colheitas contaminadas por *B. cinerea* pôde ser me-

lhorado através da utilização de preparações enzimáticas comerciais contendo atividade  $\beta$ -glucanase.

### Descrição estrutural das manoproteínas de *S. cerevisiae*

As manoproteínas são polissacáridos glicoproteicos complexos, o que significa que consistem numa porção proteica (peptídeo) ligada covalentemente a longas cadeias de carboidratos (polissacarídeos), maioritariamente manose (mananos).

A estrutura é geralmente descrita como tendo dois tipos de ligações glicosídicas principais<sup>[13]</sup>:

1. Glicosilação N-ligada (N-linked): Esta é a parte maior da manoproteína, representando cerca de 90% dos carboidratos. Consiste numa longa cadeia principal de unidades de manose ligadas por ligações  $\alpha$ -1,6.
  - Possui cadeias laterais mais curtas com ligações  $\alpha$ -1,2 e  $\alpha$ -1,3.
  - A ligação ao resíduo de asparagina (Asn) da proteína é feita através de uma ligação N-glicosídica, com duas moléculas de N-acetilglucosamina (GlcNAc) como ponte.
2. Glicosilação O-ligada (O-linked): Corresponde a uma porção mais curta, com cadeias de 1 a 5 unidades de manose, sem ramificações:
  - As ligações são, na sua maioria,  $\alpha$ -1,2 e depois  $\alpha$ -1,3.
  - A ligação à proteína ocorre através do grupo hidroxila de resíduos de serina (Ser) ou treonina (Thr).

No seu *habitat* natural (parede celular da levedura), estas manoproteínas estão ligadas a uma rede de suporte de beta-glucanos e quitina, formando uma matriz complexa que compõe a estrutura externa da célula.

### As manoproteínas como aditivos

Após o processo de aprovação pela União Europeia, no espaço económico europeu as manoproteínas podem ser usadas em vinificação, seja através do uso de leveduras inativadas ou de preparações purificadas, antes do engarrafamento para estabilizar o vinho.



## Aplicações e benefícios

- **Melhoria da suavidade:** Suavizam os taninos mais reativos e reduzem a sensação de adstringência.
- **Aumento do volume:** Conferem mais volume e untuosidade à boca.
- **Estabilidade da cor:** Ajudam a estabilizar a cor dos vinhos, especialmente em tintos e rosés.
- **Estabilidade aromática:** Promovem maior complexidade e fineza aromática, e ajudam a estabilizar os compostos aromáticos.
- **Estabilidade tartárica e proteica:** Contribuem para a estabilização dos vinhos contra a precipitação de cristais de tártaro e proteínas.
- **Redução do amargor:** Podem ajudar a reduzir o amargor em certos vinhos.

## Sob a forma de preparação comercial, são usadas da seguinte forma:

- **Durante a fermentação** – Algumas preparações são adicionadas no início da fermentação para proteger moléculas aromáticas e de cor.
- **Antes do engarrafamento** – Outras preparações podem ser adicionadas no final do processo, antes da filtração final, pois são completamente solúveis e não interferem na filtração.
- **Por meio de leveduras inativadas** – Utilizando produtos derivados de leveduras inativadas que libertam manoproteínas no vinho ou, diretamente, aplicando preparações ricas nestes compostos.

## Conclusões

As propriedades benéficas das manoproteínas em vinificação são conhecidas desde há séculos, embora só recentemente, por volta dos anos de 1990, é que a estrutura da sua molécula tenha sido descoberta e todo o mecanismo da sua atuação completamente elucidado.

Para aumentar a sua concentração no vinho, podem ser usados dois processos: a *bâtonnage*, processo ancestral e que não usa qualquer aditivo, ou a adição ao vinho, em diversas fases da vinificação, através de preparações comerciais existentes para o efeito. ☺

## Bibliografia

- [1] Usseglio-Tomasset, L. (1976). Les colloïdes glucidiques solubles des moûts et des vins. *Conn. Vigne Vin*, **10**:193–226.
- [2] Ballou, C.E. (1982). Yeast cell wall and cell surface. In: Strather, Jones, et Broach (Eds.), *The molecular biology of the yeast Saccharomyces: metabolism and gene expression*, Cold Spring Harbour Laboratory, pp. 335–360.
- [3] Lubbers, S.; Charpentier, C.; Feuillat, M. et Volley, A. (1994). Influence of Yeast Walls on the Behaviour of Aroma compounds in a model wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **45**(1):29–33.
- [4] Wucherpennig, K.; Dietrich, H.; Fauth, R. (1984). Über den Einfluß von Polysacchariden auf die Klärung und Filtrierfähigkeit von Weinen unter besonderer Berücksichtigung des Botrytisglucans. *Deut. Lebensmittel-Rundschau*, **80**:38–44.
- [5] Ribéreau-Gayon, J.; Peynaud, E.; Ribéreau-Gayon et Sudraud, P. (1977). *Traité d'Enologie: Sciences et Techniques du vin*. Tome 4. Dunod (Ed.), Paris.
- [6] Feuillat, M. (1987). Stabilisation et clarification des vins: aspects colloïdaux. *Rev. Eno.*, **45**:7–17.
- [7] Lubbers, S. (1993). Caractérisation de macromolécules d'origine levurienne du vin. Etude des interactions avec des substances d'arome. Application à la stabilisation tartrique. Thèse, Université de Bourgogne, France.
- [8] Wucherpennig, K.; Dietrich, H. (1989). Die bedeutung der kolloide für die klärung von Most and Wein. *Vitic. Enol. Sci.*, **44**:1–12.
- [9] Wucherpennig, K.; Dietrich, H.; Kanzler, K.; Will, F. (1987). Origin, structure and molecular weight of colloids present in fruit juices and fruit wines and their significance for clarification and filtration processes. *Confructa*, **31**:80–96.
- [10] Belleville, M.P.; Brillouet, J.M.; Tarodo de La Fuente, B.; Saulnier, L.; Moutounet, M. (1991). Differential roles of red wine colloids in the fouling of a cross-flow microfiltration alumina membrane. *Vitic. Enol. Sci.*, **46**:100–107.
- [11] Cameira-dos-Santos (1995). Colmatage en Microfiltration Tangentielle: Mise en Évidence D'interactions Entre Les Polysaccharides du Vin et des Membranes Polymériques. Thèse pour le Diplôme de Doctorat. école Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier. Montpellier, France.
- [12] Doubourdieu, D. (1982). Recherches sur les polysaccharides sécrétés par *Botrytis cinerea* dans la baie de raisin. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Bordeaux II (France).