

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**IMPORTANCIA DE LOS POLISACÁRIDOS DE INTERÉS ENOLÓGICO Y
FACTORES ASOCIADOS A SU CONTENIDO EN EL VINO**

ANDRÉS OCQUETEAU MORENO

SANTIAGO ó CHILE

2014

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**IMPORTANCIA DE LOS POLISACÁRIDOS DE INTERÉS ENOLÓGICO Y
FACTORES ASOCIADOS A SU CONTENIDO EN EL VINO**

**IMPORTANCE OF WINE INTEREST POLYSACCHARIDES AND FACTORS
RELATED TO ITS CONTENT IN WINE**

ANDRÉS OCQUETEAU MORENO

SANTIAGO ó CHILE

2014

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Título

IMPORTANCIA DE LOS POLISACÁRIDOS DE INTERÉS ENOLÓGICO Y FACTORES ASOCIADOS A SU CONTENIDO EN EL VINO

Memoria para optar al título profesional de:
Ingeniero Agrónomo

Mención: Enología

Andrés Ocqueteau Moreno

Profesores Guías	Calificaciones
Sr. Álvaro Peña N. Ingeniero Agrónomo, Enólogo, Dr.	6,7
Profesores Evaluadores	
Sr. Eduardo Loyola M. Ingeniero Agrónomo, Enólogo, Dr.	6,5
Sr. José Luis Henríquez S. Ingeniero Agrónomo, M.S. Ph D.	6,9

Santiago, Chile

2014

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, por su dedicación.

A Catalina, amor de mi vida y futura esposa, por ser la luz de mi vida en los momentos más oscuros y por devolverme mi esencia y mi alma perdidas en algún minuto. Gracias por ser mi inspiración constante en los momentos de duda y debilidad, por cada lágrima compartida, por cada risa, declaración de amor y por ser un bálsamo de optimismo y felicidad durante todos mis años de carrera. Te dedico a ti no sólo este trabajo, sino también mi vida entera. Te amo Cata.

A mi hermano mayor, Marcelo, por tomarme en sus brazos cuando más lo necesitaba y permitirme cursar mi carrera sin distractores. Su ayuda en palabra y acción fue invaluable para cumplir mi sueño profesional, razón por la cual te estaré por siempre agradecido hermano.

A mi profesor guía, Álvaro Peña, tremendo profesional y persona, por la inmensa oportunidad de permitirme realizar esta memoria. Gracias por tu consejo desinteresado, por confiar en mí y sobre todo por ayudarme a cerrar un ciclo más en mi vida.

Al profesor Rubén del Barrio Galán, por su desinteresado aporte y el tiempo dedicado a la corrección de esta memoria.

A la familia Vacher Jurado, que me acogió desde el primer momento como un miembro más, compartiendo conmigo mil momentos íntimos, en los cuales apreheñé preciados valores familiares. Gracias a esta hermosa familia, conocí la simpleza de la vida cuando las prioridades son las correctas, además de entender que el amor verdadero se sobrepone a cualquier circunstancia adversa que imponga la vida.

INDICE

RESUMEN	2
Palabras claves.....	2
ABSTRACT	3
Key words	3
INTRODUCCIÓN	4
Objetivo.....	6
MATERIALES Y MÉTODOS	7
Lugar de estudio	7
Materiales	7
Método	7
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
Antecedentes generales	8
Origen de los polisacáridos presentes en el vino	8
Polisacáridos de la uva	10
Polisacáridos de las levaduras.....	18
Propiedades de carga de los polisacáridos del vino	21
Naturaleza química de la interacción entre los componentes de la uva	22
INTERÉS ENOLÓGICO DE LOS POLISACÁRIDOS	25
Antecedentes generales	25
El vino como un sistema coloidal	26
Estabilidad proteica	28
Estabilidad tartárica	30
Influencia de las propiedades sensoriales en boca	31
Influencia en el perfil aromático	34
Estabilización de color en vinos tintos	36

FACTORES QUE INCIDEN EN EL CONTENIDO DE POLISACÁRIDOS DE LAS BAYAS	38
Variedad de uva	38
Rendimiento	38
Índice de maduración	38
MANEJOS ENOLÓGICOS Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE POLISACÁRIDOS	39
Crianza sobre lías	39
Adición de enzimas -glucanasas	41
Preparados comerciales derivados de levaduras	43
LEVADURAS Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE POLISACÁRIDOS .	44
POLISACÁRIDOS NO ENDÓGENOS DE USO ENOLÓGICO	47
Carboximetilcelulosa	47
Goma xantano	48
Goma arábica	49
CONCLUSIONES	51
BIBLIOGRAFÍA	52

RESUMEN

Los atributos de calidad de un vino responden a una interacción entre sus diversos componentes, los cuales pueden variar en cantidad y calidad, lo que depende de una gran cantidad de factores tales como tipo de suelo, variedad de uva utilizada, condiciones climáticas, prácticas culturales, cepa de levadura utilizada en la fermentación y manejos en bodega entre otros muchos.

En esta matriz compleja que es el vino, diversos componentes pueden interactuar durante del proceso de fermentación y posterior crianza, produciéndose una modificación de sus atributos sensoriales. Además, diferentes procesos o técnicas pueden también inducir cambios en las reacciones que se llevan a cabo entre los distintos componentes del vino.

Diversos estudios han logrado demostrar que los polisacáridos -moléculas estructurales de la pared celular de la baya y las levaduras- tienen influencia directa en las propiedades sensoriales de los vinos, interactuando tanto con los compuestos fenólicos como los aromáticos. Entre todos los tipos de polisacáridos presentes en el vino, las manoproteínas han sido descritas como las más relevantes, logrando efectos positivos tales como reducción de la astringencia en vinos tintos, disminución de la quiebra proteica y mejora en la estabilidad tartárica en vinos blancos, mejora del perfil aromático y estabilización del color.

A pesar de la importancia de lo anteriormente descrito, existe limitada información compilatoria acerca del interés enológico de los polisacáridos y los distintos factores que afectan su contenido. Además, en algunos casos la información disponible es contradictoria.

En este estudio se describen las distintas fuentes de polisacáridos presentes en la baya y en el vino y se analizan los principales factores asociados a su contenido en el vino, como también el interés enológico de estas macromoléculas. Para ello, se recopilaron las investigaciones existentes en que se hiciera referencia a este tema de estudio.

PALABRAS CLAVES

- Manoproteínas
- Astringencia
- Quiebra proteica
- Estabilidad tartárica

ABSTRACT

Quality attributes of a wine respond to an interaction among its various components, which vary in quantity and quality, depending on a lot of factors such as soil type, variety used, climatic conditions, cultural practices, strain yeast used in the fermentation and cellar handling among many others.

It is well known that wine is a complex matrix made up of several compounds which can interact among themselves throughout the fermentation process, thereby modifying their sensorial characteristics. Besides, different process or techniques can also induce changes in the reactions that can take place between different wine compounds.

Several studies have succeeded to demonstrate that polysaccharides - structural molecules on yeasts and berries cell wall - have direct influence on the sensory properties of the wines, interacting with both phenolic and aromatic compounds. Among all types of polysaccharides present in wine, mannoproteins have been described as the most relevant, achieving positive effects like reducing astringency, decreased protein haze and improving tartaric stability.

Despite the importance of the above described, there is limited information about the wine interest polysaccharides and other factors affecting its content. Moreover, in some cases the available information is contradictory.

The various polysaccharides sources present in the berry and wine were described and factors associated with their wine contents were analyzed, as well as oenological interest of these macromolecules. To do this, available researches regarding this topical were gathered.

KEY WORDS

- Mannoproteins
- Astringency
- Protein haze
- Tartaric stabilisation

INTRODUCCIÓN

El vino corresponde a una solución hidroalcohólica que contiene cientos de compuestos que provienen de la uva o de la elaboración del vino y su guarda. En cuanto a los compuestos presentes en la uva, se encuentran los azúcares, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, compuestos nitrogenados, minerales, polisacáridos y compuestos aromáticos (Dharmadhikari, 1994).

La calidad de los vinos está altamente influenciada por los compuestos fenólicos, sustancias volátiles y polisacáridos, los cuales son responsables de entregar características sensoriales tan importantes como el color, aroma, cuerpo, astringencia y amargor (Peña-Neira, 2006).

Según Guadalupe y Ayestarán (2008), los polisacáridos del vino provienen principalmente de las células del hollejo y pulpa de la uva, como también de las levaduras participantes en el proceso de vinificación. Hay dos fuentes de polisacáridos cuantitativamente menos relevantes mencionadas por estos autores, que son las bacterias acéticas y lácticas y la contaminación de hongos como *Botrytis cinerea*.

Los polisacáridos de la pared celular de la uva se pueden agrupar en dos categorías: celulosa y polisacáridos no celulósicos. La celulosa se encuentra formando una estructura de microfibrillas, embebidas en una matriz conformada por polisacáridos hemicelulósicos; que a su vez está inmersa en una matriz de pectinas (Carpita y Gibeaut, 1993).

Durante la fase III de la curva de crecimiento de la baya, comienza un período de expansión celular (Dokoozlian y Kliwer, 1996), sintetizándose después del envero una gran cantidad de pectinas óheteropolisacáridos complejos- que actúan como adhesivo en las láminas intermedias de las paredes celulares. Según Hidalgo (2006), estas pectinas son degradadas y solubilizadas en los posteriores procesos de vinificación por la acción de enzimas pectinolíticas naturales contenidas en la uva, quedando como resultado unidades poliméricas de polisacáridos que se transfieren al vino. Los polisacáridos no celulósicos provenientes de la pared celular de la uva pueden clasificarse en dos grandes grupos: (1) polisacáridos ácidos, que engloba a los homogalacturonanos y ramnogalacturonanos I y II (RG I y II), y (2) polisacáridos neutros, que engloba a los arabinanos, galactanos y arabinogalactanos I y II (AG I y II) (Flanzy, 2000; Vidal *et al.*, 2003; Doco *et al.*, 2007). La concentración de polisacáridos, según Del Barrio-Galán (2012), suele oscilar entre 100-400 mg/L en vinos blancos y entre 250-800 mg/L en vinos tintos. Por su parte, la concentración de polisacáridos procedentes de la uva depende principalmente de la variedad de uva, el rendimiento del viñedo, las condiciones edafoclimáticas, el nivel de madurez de la uva y las técnicas de vinificación empleadas (Riu-Aumatell, 2002).

La pared celular de la levadura ósegunda fuente de polisacáridos del vino- está constituida principalmente por polisacáridos en proporción de 58% -glucanos, 40% manoproteínas y 2% de quitina (todos de carácter neutro), cantidades que pueden variar considerablemente

en estructura y composición debido al estrés, condiciones del cultivo, edad y modificaciones genéticas (Fleet y Manners, 1977) además de la aireación, agitación, grado de clarificación del mosto y principalmente del tiempo de crianza sobre lías (Caridi, 2006).

Los polisacáridos en general y las manoproteínas en particular, moléculas que representan el 35% de los polisacáridos totales en el vino (Dubourdieu y Moine, 1997; Feuillat y Charpentier, 1998; Vidal *et al.*, 2003), son responsables de mejorar algunas de las características sensoriales del vino como el aumento del volumen en boca, untuosidad y cuerpo, contribuyendo a la sensación de plenitud. Además, por efecto indirecto disminuyen la astringencia debido a la formación del complejo polisacárido-taninos condensados (Escot *et al.*, 2001; Gonçalves, y Heyraud, 2002; Vidal *et al.*, 2003; Vidal *et al.*, 2004a; Vidal *et al.*, 2004b; Doco *et al.*, 2007; Jouquand *et al.*, 2008; Troszy ska *et al.*, 2010).

En el rango del pH del vino, las manoproteínas tienen cargas negativas y pueden establecer interacciones iónicas y electrostáticas con los componentes del vino, lo que deriva en la formación de complejos solubles e insolubles. Este proceso es dependiente en gran medida de su carga eléctrica neta y sus grupos funcionales (Caridi, 2006). Se ha postulado que las manoproteínas disminuyen la cantidad de proantocianidinas libres capaces de interactuar con las proteínas de la saliva y también compensan la pérdida de lubricación, derivada de la interacción tanino-proteína a través de un aumento de la viscosidad causada por la presencia de estos polisacáridos (Pozo-Bayón *et al.*, 2009). La interacción entre taninos y manoproteínas puede producir estructuras estables no reactivas con las proteínas de la saliva produciendo una disminución de la astringencia (Guadalupe y Ayestarán, 2008).

Existen otros tipos de polisacáridos que son utilizados en bodega para disminuir la astringencia en vinos durante el proceso de elaboración, estos son: carboximetilcelulosa, goma xantano (polisacárido microbiano) (Jouquand *et al.*, 2008) y goma arábica (Flanzy, 2000; Cainelli, 2007; Troszy ska *et al.*, 2010).

Teniendo en cuenta la implicancia de los polisacáridos en variados aspectos de calidad del vino, mejorando sus atributos organolépticos y valor comercial, se hace necesaria una recopilación bibliográfica lógica y ordenada de la información disponible en la literatura científica, tendiente a que académicos, estudiantes y cercanos al mundo de la enología tengan una visión más amplia del tema.

Objetivo

Analizar la importancia de los polisacáridos de interés enológico y los factores que influyen en su contenido en el vino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en las dependencias de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

Los materiales utilizados fueron las fuentes de información bibliográfica relacionadas con el tema en estudio. Éstas fueron obtenidas desde bases de datos científicas, a las cuales se accedió desde la Universidad de Chile o desde la biblioteca Ruy Barbosa de la Facultad de Ciencias Agronómicas. Además, se revisaron libros, tesis, memorias de títulos, revistas electrónicas avaladas tales como ACE, Journal Agricultural Food Chemistry, American Journal of Enology and Viticulture, Australian Journal of Grape and Wine Research y publicaciones científicas impresas o disponibles en internet. Además, se revisó material disponible en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) y en la biblioteca San Joaquín de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

Método

La metodología adoptada en este estudio, consistió en una primera instancia en buscar y recopilar todo el material que pudiese contribuir a la investigación. Una vez obtenido el material, se procedió a leer, y clasificar de acuerdo a su utilidad para la investigación. El material seleccionado fue analizado para extraer la información más consistente, y generar posibles discusiones. A continuación, se comenzó a redactar el escrito de acuerdo a los objetivos propuestos.

En este estudio se analizaron los siguientes tópicos:

- Origen de los polisacáridos presentes en el vino
- Interés enológico de los polisacáridos
- Factores que inciden en el contenido de polisacáridos en las bayas
- Manejos enológicos en bodega y su relación con el contenido de polisacáridos
- Levaduras y su relación con el contenido de polisacáridos
- Polisacáridos no endógenos de uso enológico
- Conclusiones

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Antecedentes generales

Origen de los polisacáridos presentes en el vino

Los polisacáridos son carbohidratos complejos en los que se unen entre sí un gran número de azúcares simples a través de enlaces glicosídicos (McMurry, 2008). En el vino, los polisacáridos son originados por distintas fuentes (Figura 1). Algunos provienen de la degradación enzimática de las paredes celulares de las bayas de la uva durante su maduración; otros derivan de los tratamientos de vinificación y otros se liberan de las paredes de las levaduras durante la fermentación alcohólica. Junto a los polifenoles y proteínas, los polisacáridos forman uno de los mayores grupos de macromoléculas en el vino y se pueden encontrar en concentraciones que varían entre 0,2-2 g/L (Pellerin y Cabanis, 1998).

Dentro de los polisacáridos derivados de la degradación enzimática de las paredes celulares de las bayas de uva, se encuentran las hemicelulosas y pectinas. Estas últimas son un complejo y heterogéneo grupo de polisacáridos que incluyen homogalacturanos, ramnogalacturanos I y II, galactanos y arabinanos, entre otros (Cosgrove, 2005). Algunos de estos azúcares tienen carácter ácido como el ácido galacturónico y otros de carácter neutro como la ramnosa, galactosa y arabinosa. De este modo, el carácter ácido o neutro de un polisacárido depende del tipo de azúcares con los que estén constituidos. Uno de los polisacáridos pécticos más abundantes son los ramnogalacturanos. Además, se encuentran polisacáridos simples como los homogalacturanos, arabinogalactanos I (AG-I) y arabinogalactanos II (AG-II) (Flanzy, 2003; Taiz, 2006).

Pared celular de la pulpa

Las paredes celulares sólo representan el 0,5% del peso seco de la pulpa (Saulnier y Thibault, 1987), donde las pectinas constituyen entre el 25 y el 50%. Estas pectinas están constituidas principalmente por cadenas de homogalacturanos y ramnogalacturanos, estas últimas denominadas zonas *õ*erizadas por tener gran cantidad de cadenas laterales de arabinanos y arabinogalactanos (Saulnier *et al.*, 1988). Así mismo, según Flanzy (2000), el contenido de hemicelulosas varía entre el 15 al 25% del peso seco de la pared y el de celulosa entre un 20 a 30%.

Pared celular del hollejo

Las paredes celulares del hollejo o piel son bastante más espesas que las de la pulpa (representan aproximadamente 3% del peso seco). No obstante, la concentración de pectinas es algo menor con respecto a la pulpa, por lo que se infiere que cualquier proceso

de maceración o contacto con las pieles durante el proceso de vinificación enriquecerá los vinos de polisacáridos (Flanzy, 2000). En cuanto a la composición polisacarídica, predominan la celulosa, las pectinas, hemicelulosas, los xiloglucanos y los mananos (Lecas y Brouillet 1994). Un hecho importante descrito por Lecas y Brillouet (1994), es la poca diferencia que presentan las pieles de bayas tintoreras y blancas en cuanto al contenido de fracciones de polisacáridos, por lo que el contenido de antocianos sería el único elemento diferenciador entre ambas.

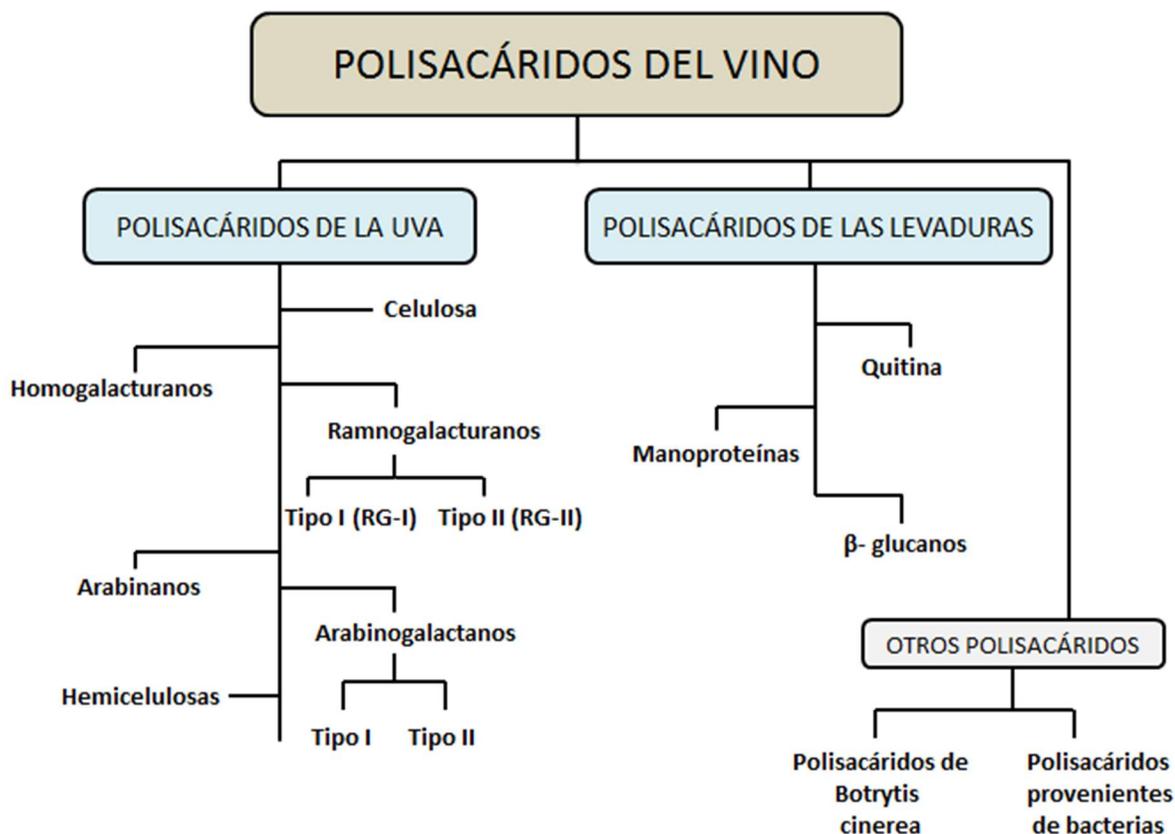


Figura 1. Distintas fuentes de polisacáridos presentes en el vino (Del Barrio-Galán, 2012).

Polisacáridos de la uva

Celulosa

La celulosa es un polímero lineal de D-glucosa unida por enlaces β (1-4). Las cadenas lineales de celulosa se agregan para formar fibrillas macromoleculares de 5-15 μm de diámetro (McCann *et al.*, 2001) con una disposición paralela (Figura 2), cuya estructura cristalina está soportada por numerosos puentes de hidrógeno intramoleculares. Las microfibrillas celulósicas suelen estar cubiertas por xiloglucanos y glucoarabinanos unidos fuertemente. Esta disposición permite la existencia de espacios entre las microfibrillas que están ocupados por los polisacáridos de la matriz (Carpita y Gibeaut, 1993).

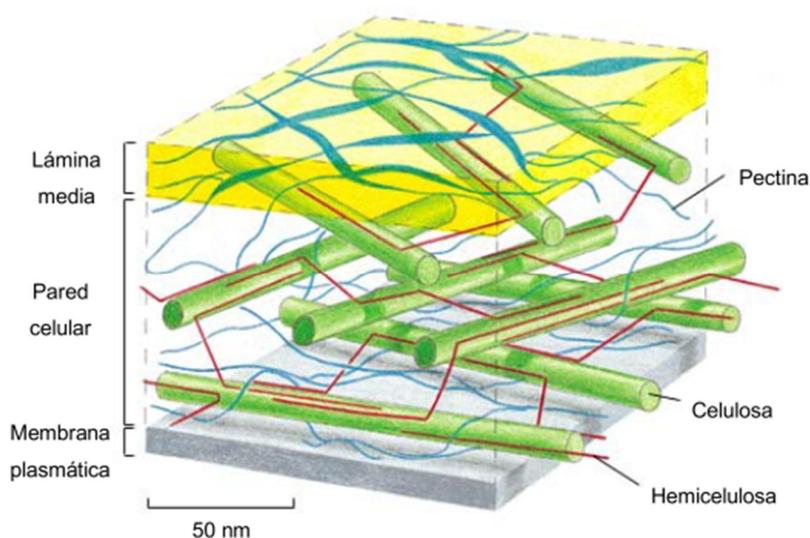


Figura 2. Estructura de los polisacáridos que conforman la pared celular (McNeil *et al.*, 1984).

Polisacáridos no celulósicos

Los principales polisacáridos no celulósicos presentes en las paredes primarias de dicotiledóneas son las pectinas y las hemicelulosas (heteroxilanos, xiloglucanos y glucomananos) (Selvendran, 1985).

Pectinas

Las pectinas son una mezcla compleja de polisacáridos compuestos principalmente de homogalacturonos y ramnogalacturonos del tipo I (Stevenson *et al.*, 1988) (figura 3). Constituyen alrededor del 35% de las paredes celulares (Grant Reid, 2000) y se encuentran distribuidas de manera desigual (Roldan y Vian, 1981); son las principales macromoléculas (excepto en gramíneas) de la lámina media y junto con las proteínas (Bacic *et al.*, 1988;

Carpita y Gibeaut, 1993) actúan como sustancias cementantes (Jarvis, 1998). Químicamente, están formadas por largas cadenas de centenas de ácido galacturónico (homogalacturanos), con cadenas laterales de ramnogalacturanos, en las cuales la ramnosa se intercala con unidades de ácido galacturónico. La zona ocupada por los homogalacturanos, denominada zona lisa, adquiere gran importancia enológica, dado que es el sitio de acción donde las enzimas hidrolizan más fácilmente a las pectinas. En contraparte, existe la zona erizada, ocupada por las cadenas de ramnogalacturanos, que posteriormente también son liberadas por la acción enzimática (Hidalgo, 2010).

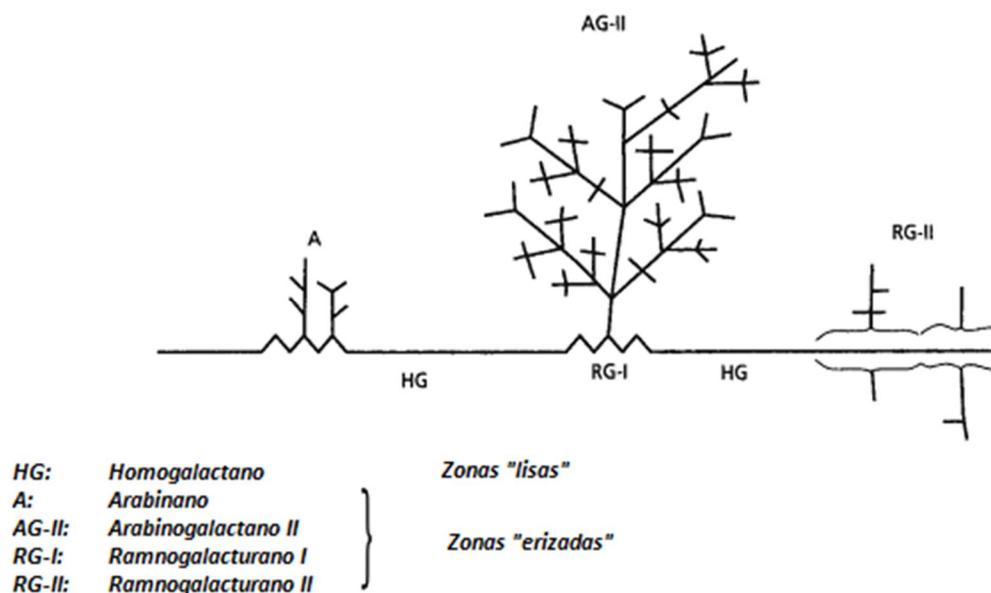


Figura 3. Modelo estructural de las sustancias pécticas (Hidalgo, 2010).

Homogalacturanos. Los homogalacturanos son polisacáridos pécticos que están constituidos por cadenas sin ramificar de residuos de ácido D-galacturónico unidos por enlaces $-(1 \rightarrow 4)$, que pueden estar metilesterificados, formando lo que se conoce como zonas lisas de las pectinas (Figura 4). La esterificación parcial de los ácidos galacturónicos ocasionada por el metanol o el ácido acético, produce un importante grado de polimerización y de metilación de las cadenas de homogalacturanos (Cartaya *et al.*, 2009). Según Flanzky (2003), esta conformación les confiere dos características importantes:

- i) Una sensibilidad extrema a las enzimas pectolíticas, entre ellas las endo y exopoligalacturonasas
- ii) Acomplejamiento de los iones calcio con la consecuente capacidad de formar geles

Según el mismo autor, esta tendencia a la hidrólisis enzimática conduce a la rápida desaparición de las cadenas de homogalacturanos y la liberación simultánea de ramnogalacturanos I y II, lo que explica su abundancia en mosto y baja presencia en el vino. Siguiendo esta línea, Doco *et al.* (2007) describen presencia de unidades

monoméricas de ácido galacturónico en el vino, producto de la degradación enzimática de los homogalacturanos por parte de las endo y exo- poligalacturonasas. Son el grupo de polisacáridos más abundante en la uva (Vidal *et al.*, 2001; Pinelo *et al.*, 2006).

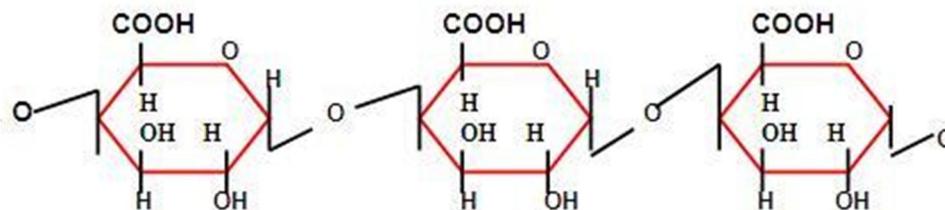


Figura 4. Estructura molecular de los homogalacturanos (Cartaya *et al.*, 2009)

Ramnogalacturanos I. Los ramnogalacturanos I (RG-I), segundos polisacáridos más abundantes en la uva, son polímeros con un esqueleto base de residuos alternados de D-galactosa unidos en $\alpha(1 \rightarrow 4)$ y L-ramnosa unidos $\alpha(1 \rightarrow 2)$ (Lau *et al.*; 1985). Numerosas cadenas laterales de residuos de azúcares neutros pueden estar unidas a través de la ramnosa en las posiciones C4 y/o C3, confiriendo un aspecto erizado. Las cadenas laterales normalmente están constituidas por arabinanos, galactanos y arabinogalactanos (Figura 5). Estas moléculas son abundantes en las paredes celulares de las bayas (Lecas y Brillouet, 1994), sin embargo en el vino se encuentran en cantidades menores debido a su baja solubilidad y a su marcada sensibilidad a la degradación enzimática (Pellerin y Cabanis, 2003, citado por Del Barrio-Galán, 2012).

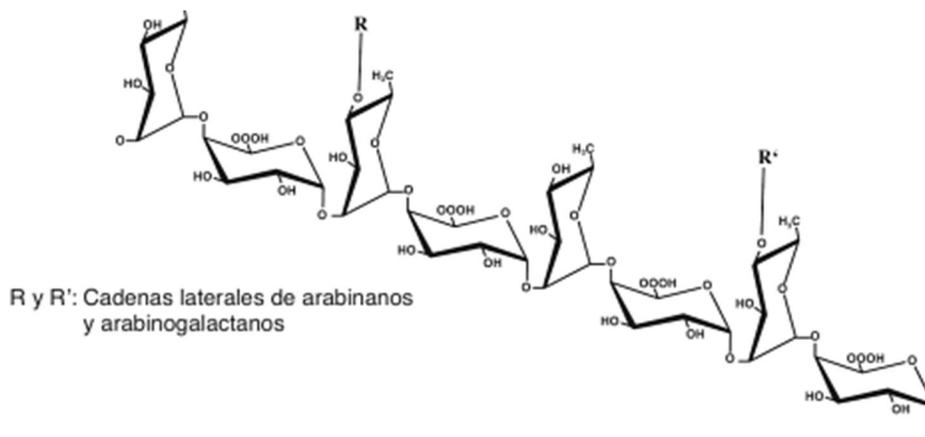


Figura 5. Estructura molecular de los ramnogalacturanos I (Hidalgo, 2010).

Ramnogalacturanos II. Los ramnogalacturanos II (RG-II) son otro tipo de polisacáridos pécticos encontrados en las paredes celulares primarias. Los RG-II tienen un esqueleto base de ramnogalacturonano, pero contienen una compleja estructura de ramificaciones de monosacáridos del esqueleto base (Figura 6) (Stevenson *et al.*, 1988). La proporción de RG-II en las paredes celulares de las bayas es relativamente baja, usualmente alrededor de 4% o menos (O'Neill *et al.*, 1996). El ramnogalacturano II es uno de los mayores

Arabinogalactanos I. Están formados por una cadena de moléculas de galactosa o galactopiranosas unidas por enlaces $\beta(1 \rightarrow 4)$, con ramificaciones sobre el carbono en posición 3 o cadenas de arabinosa unidas por enlaces del tipo $\alpha(1 \rightarrow 3)$ (Figura 8). Son moléculas muy insolubles, lo que explica su total ausencia en mostos y vinos (Hidalgo, 2010).

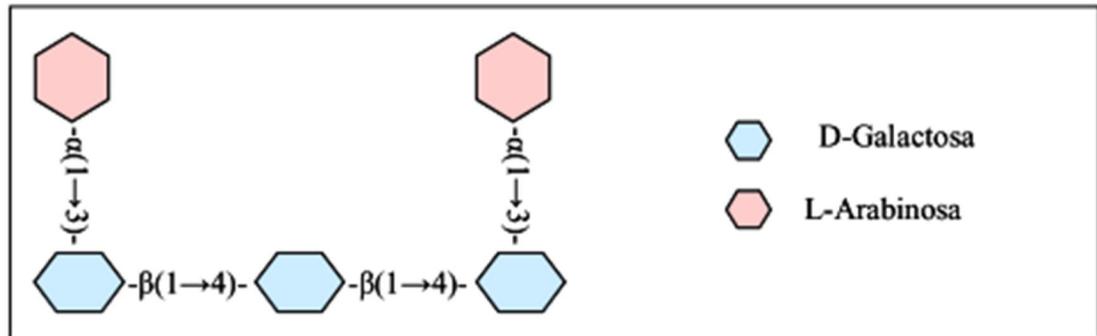


Figura 8. Estructura del arabinogalactano I (Del Barrio-Galán, 2012).

Arabinogalactanos II. Son polisacáridos estructuralmente distintos caracterizados por residuos de D-galactosa con uniones $\beta(1 \rightarrow 3)$ y $\beta(1 \rightarrow 6)$ con sustituciones de α -L-arabinosa, que se encuentra unido lateralmente a las cadenas de ramnogalacturanos I (Figura 9). Corresponden al grupo de polisacáridos más abundantes en mostos y vinos, con contenidos entre 50-150 mg/L en los vinos blancos y entre 100-200 mg/L en los vinos tintos (Hidalgo, 2010). Estas moléculas forman parte de la llamada zona ñerizada de las pectinas y tienen masas moleculares altas, con valores entre 130.000 y 260.000 Dalton.

Existe aún controversia si los arabinogalactanos II son un componente real de la pared celular o si están asociados al espacio extracelular y a la membrana plasmática (Carpita y Gibeaut, 1993).

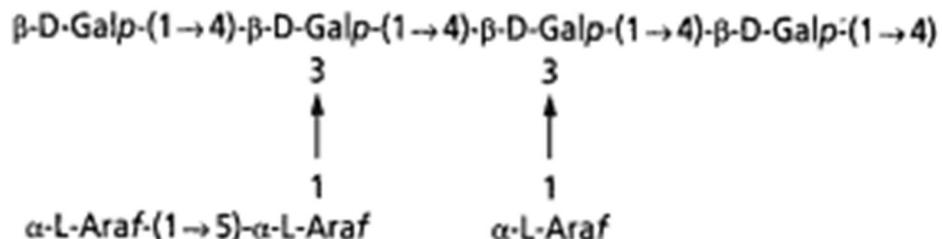


Figura 9. Estructura del arabinogalactano II (Hidalgo, 2010).

Hemicelulosas

Las hemicelulosas son macromoléculas en gran parte neutras, que forman asociaciones no covalentes con la celulosa. Las hemicelulosas pueden constituir alrededor del 30% en peso de las paredes celulares primarias (Grant Reid, 2000).

El xiloglucano (XG) es el principal componente hemicelulósico de las bayas (Pauly *et al.*, 1999) y puede constituir alrededor del 20% de los polisacáridos no celulósicos de las paredes celulares primarias (Dey y Brinson, 1984), aunque este valor puede ser muy variable. El xiloglucano contiene un esqueleto base de D-glucosa con uniones β -(1 \rightarrow 4) que presenta sustituciones de residuos D-xilosa unidos en β -(1 \rightarrow 6), a los cuales pueden estar unidos otros azúcares neutros tales como galactosa, arabinosa y fucosa (Figura 10). Los xiloglucanos están unidos fuertemente a las microfibrillas de celulosa a través de múltiples puentes de hidrógeno, conectando la cadena principal del XG a la superficie de las microfibrillas de celulosa. Estos entrecruzamientos de microfibrillas de celulosa confieren a la pared resistencia y también limitan la velocidad de elongación de la pared (Albersheim *et al.*, 1994).

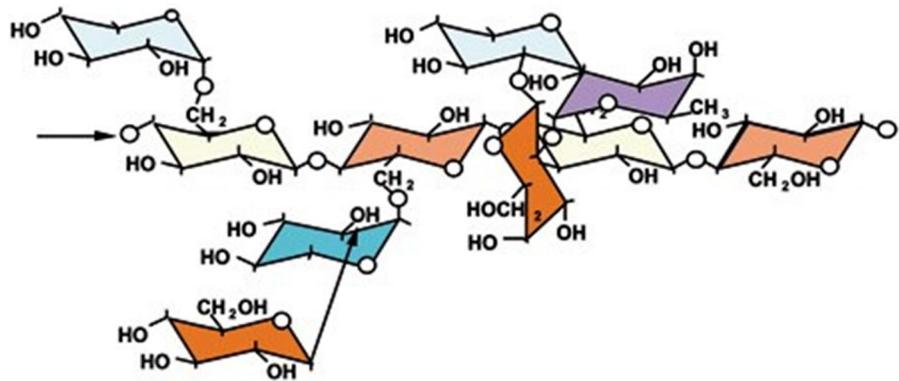


Figura 10. Estructura de los xiloglucanos presentes en las paredes celulares (Pauly *et al.*, 1999).

Los heteroxilanos constituyen una pequeña proporción de las paredes de las bayas. Están compuestos de un esqueleto base de D-xilosa con uniones β -(1 \rightarrow 4), con sustituciones muy variadas o ramificaciones originadas a partir de residuos xilosil unidos en posición C2 o C3. Estas sustituciones y las cadenas laterales están constituidos por combinaciones de residuos de arabinosa, glucosilo (o su derivado 4-*O*-metil), xilosa y galactosa (Bacic *et al.*, 1988).

Los mananos están constituidos por una cadena lineal de D-manosa con uniones en β -(1 \rightarrow 4) de grados de polimerización variables (Bacic *et al.*, 1988). Los galactomananos tienen un esqueleto base β -(1 \rightarrow 4)-manosa que está sustituido generalmente en la posición C6 con residuos individuales de β -galactosa. Los glucomananos y galactoglucomananos son polisacáridos constituidos por residuos de D-manosa y D-glucosa unidos en β -(1 \rightarrow 4)

dispuestos al azar en una sola cadena. En los galactoglucomanos, los residuos de la cadena principal se sustituyen con residuos individuales de -D-galactosa en la posición C6. Estos polisacáridos son sólo componentes minoritarios de las paredes celulares de las bayas (Bacic *et al.*, 1988).

A continuación se presenta un resumen de los principales polisacáridos presentes en bayas de *Vitis vinifera* con las concentraciones respectivas citadas en la literatura (Cuadro 1).

Cuadro 1. Clasificación de los polisacáridos constituyentes de las bayas de *Vitis vinifera*.

Polisacárido	Naturaleza química	Concentración en la baya (mg/g)*	Concentración en el vino (mg/L)**	Referencias
Homogalacturanos	ácida	100	~0	Pellerin y Cabanis, 1998; Vidal <i>et al.</i> , 2001
Ramnogalacturanos I ^a	ácida	77,9-89,7	<20	Pellerin y Cabanis, 1998; Gerbaud <i>et al.</i> , 1997.
Ramnogalacturanos II	ácida	24,5-26,3	20-250	Hidalgo, 2010; Doco <i>et al.</i> , 2003.
Arabinanos	neutra	<i>s/i</i>	~0	Pellerin y Cabanis, 1998.
Arabinogalactanos I	neutra	<i>s/i</i>	~0	Hidalgo, 2010.
Arabinogalactanos II	neutra	<i>s/i</i>	50-200	Hidalgo, 2010.

* material de pared celular

** los rangos están dados por la variación entre cepas blancas y tintoreras

^a ausente en vinos blancos

s/i sin información

La estructura y disposición de los distintos componentes de la pared celular primaria de *Vitis vinifera* se muestra a continuación en la Figura 11, donde se esquematiza la matriz de polisacáridos o pectinas, como también las microfibrillas de celulosa embebidas en esta compleja estructura. A su vez, el Cuadro 2 muestra la composición química de los principales polisacáridos presentes en el vino.

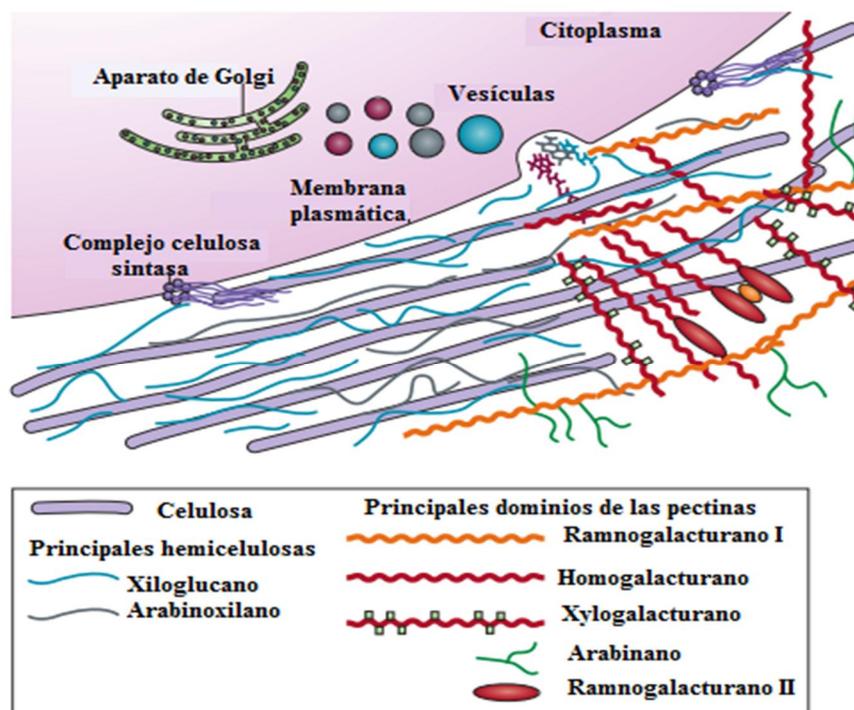


Figura 11. Estructura de la pared celular primaria y los distintos componentes polisacáridos que la conforman (Cosgrove, 2005).

Cuadro 2. Composición química de los principales polisacáridos del vino (Vernhaut *et al.*, 1996).

	MPO	MP1	MP2	AGP0	AGP1	AGP2	RG-II
Proteínas	6,2	3,5	4,6	6,0	3,7	3,9	
Ácidos urónicos ^a	*			3,5	4,7	7,3	40,2
Azúcares neutros ^a	92,7	82,8	72,4	90,5	87,4	74,1	28,9
Fósforo ^a	0,13	0,34	0,43				
Ramnosa ^b			0,5		1,3	3,5	35,4
Arabinosa ^b	0,9	0,8	3,8	39,2	46,5	46,4	24,7
Manosa ^b	96,8	97,6	89,9		1,0	1,2	
Galactosa ^b	0,6	0,9	4,2	60,8	50,4	48,0	15,3
Glucosa ^b	1,6	0,7	1,6		0,8	0,9	0,7
2-O-CH ₃ -Fucosa ^b							6,4
Fucosa ^b							4,8
2-O-CH ₃ -Xylosa ^b							5,1
Apiosa ^b							7,9

^a Porcentaje de materia seca

^b % Mol

* < 0,2 % del total

*MP0, MP1 Y MP2 corresponden a distintas fracciones aisladas de manoproteínas

*AGP0, AGP1 y AGP2 corresponden a distintas fracciones aisladas de arabinogalactanos

*RG II corresponde a los arabinogalactanos II

Polisacáridos de las levaduras

La pared celular de las levaduras es una estructura de gran plasticidad, que da forma a la célula, controla la permeabilidad celular y protege a la célula de los cambios osmóticos (Molina *et al.*, 2000).

La pared celular de la levadura representa entre 20 a 30% de la célula de la levadura en peso seco. Está compuesta de polisacáridos complejos como los β -glucanos, las manoproteínas y la quitina, todos ellos de carácter neutro (Cuadro 3). Específicamente, la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* se encuentra constituida principalmente de polisacáridos en proporción 58% de β -glucanos, 40% de manoproteínas y un 2% de quitina (Fleet *et al.*, 1977). La pared celular está compuesta por dos capas de polisacáridos. La primera de ellas denominada capa interna o pared celular interna, es una matriz transparente y amorfa constituida principalmente de β -(1,3) y β -(1,6)-glucanos, moléculas responsables de mantener la forma y rigidez de la célula y por tanto determinantes en la resistencia a los cambios osmóticos y mecánicos (Cid *et al.*, 1995). La segunda, denominada capa externa o pared celular externa es la más importante desde el punto de vista enológico, por su alto contenido de manoproteínas (30-50% del peso seco), las cuales se encuentran entrelazadas por enlaces glucosídicos a los β -(1,6)-glucanos (Molina *et al.*, 2000) (Figura 12).

Las manoproteínas se encuentran ubicadas en la capa externa ancladas a la capa interna de β -glucanos o bien la atraviesan completamente. Son las moléculas responsables de la porosidad de la pared, juegan un rol de filtro selectivo y protección contra los ataques químicos y enzimáticos de tipo glucanasa (Nguyen *et al.*, 1998, Zlotnik *et al.*, 1984). Por su parte, la quitina juega un rol importante durante la morfología y formación de células del ciclo celular. A nivel molecular, la arquitectura de la pared parece estar constituida por bloques de construcción flexibles, que reagrupan a los componentes a través de uniones covalentes como una estructura ordenada (Liesen *et al.*, 1996, Cabib *et al.*, 2001).

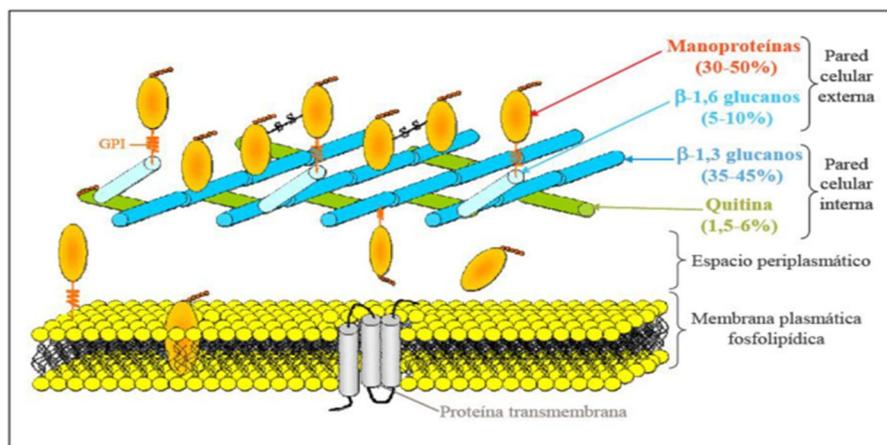


Figura 12. Estructura de las envolturas celulares de la levadura (Molina *et al.*, 2000). Se indica el porcentaje en peso de cada componente (Klis *et al.*, 2006).

Quitina

La quitina se sintetiza a partir de N-acetilglucosamina por acción de la enzima quitin sintasa, que deposita los polímeros de quitina en el espacio extracelular próximo a la membrana citoplasmática (Figura 13). El contenido en quitina de la pared celular varía según la fase morfológica de la levadura y representa entre el 1 y 2% del peso seco de la pared celular de las levaduras (Pontón, 2008).

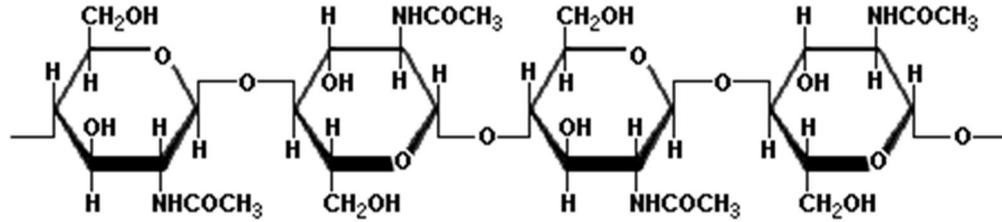


Figura 13. Estructura de la quitina (Gibbons, 2002).

-glucanos

Los α -(1 \rightarrow 3)-glucanos tienen un grado de polimerización de \sim 1500 unidades de glucosa en cadena y tienen una estructura similar a un resorte en espiral que confiere elasticidad y resistencia a la tracción a la pared celular. En la parte externa se pueden unir moléculas altamente ramificadas de α -(1 \rightarrow 6)-glucanos, que a su vez pueden unirse a las manoproteínas (Lesage y Bussey, 2006) (Figura 14).

Los α -(1 \rightarrow 6)-glucanos forman un polímero de entre 150-350 residuos de glucosa por molécula y poseen una estructura amorfa muy ramificada (Lesage y Bussey, 2006).

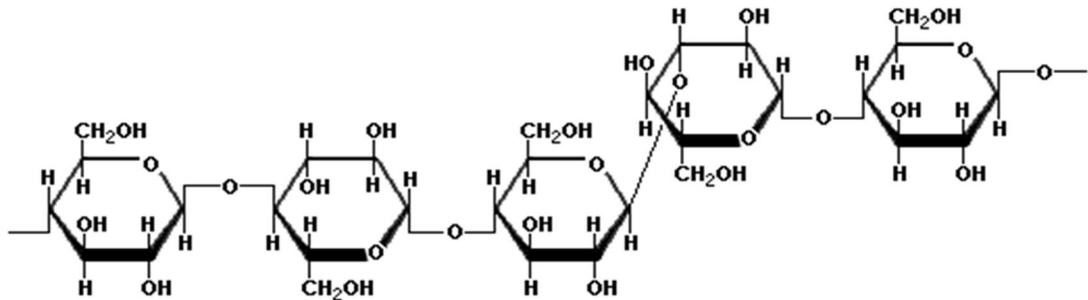


Figura 14. Estructura de los α -glucanos (Gibbons, 2002).

Manoproteínas

Los polisacáridos parietales de las levaduras cedidos al vino (100-150 mg/L), se conocen con el nombre de manoproteínas. Estos compuestos están formados por una cadena peptídica lineal, llevando, por un lado, cadenas más cortas de una a cuatro moléculas de manosa unidas a la cadena peptídica por enlaces *O*-glicosil sobre la serina y treonina y, por otra parte, de un α -D-manano de alta masa molecular, con unas 150 a 250 unidades de manosa muy ramificadas a su vez con otras cadenas laterales de manosa más cortas de una a tres unidades, unido a la cadena peptídica sobre la asparagina mediante un enlace N-glicosil y haciendo intervenir dos unidades de N-acetilglucosamina (Figura 15). Se pueden distinguir en los vinos dos tipos de estos compuestos (Hidalgo, 2003):

-Manoproteínas mayoritarias; representan entre un 80-100% del total, que contienen un 90% de manosa y un 10% de proteínas. Su masa molecular oscila entre 100.000 y 2.000.000 Da.

-Glucomanoproteínas minoritarias; representan entre un 10-20% conteniendo un 25% de glucosa, 25% de manosa y 50% de proteínas. Su masa molecular oscila entre 20.000-90.000 Da.

De acuerdo a lo señalado por Navascués (2010), las manoproteínas son componentes mayoritarios de la pared celular de las levaduras (25-50%) y junto a otros polisacáridos forman su estructura. Estos componentes son liberados durante la fase de crecimiento activo de las levaduras y posteriormente durante la autólisis. Químicamente las manoproteínas son proteoglicanos que contienen entre un 5-20% de porción peptídica y un 80-95% de cadenas de manosa (Navascués, 2010).

La liberación de estos polisacáridos de las paredes de las células se produce por la acción de enzimas parietales endo α -(1 \rightarrow 3)-glucanasas y endo α -(1 \rightarrow 6)-glucanasas, con una importante actividad durante la fermentación alcohólica y un mantenimiento mucho más debilitado durante algunos meses después de la misma. La autólisis de las levaduras durante la conservación del vino sobre las lías, conduce a una liberación de las manoproteínas fijadas sobre el glucano de las paredes celulares, así como una hidrólisis parcial de las glucomanoproteínas, siendo estos compuestos resultantes muy solubles en medio acuoso como es el vino. Las manoproteínas pueden ser degradadas por enzimas tales como: exo-(1 \rightarrow 6)- α -D-manosa, exo-(1 \rightarrow 2)- α -manosa y α -D-manosidasa (Hidalgo, 2003).

Se ha determinado que las manoproteínas liberadas al vino durante la fermentación, sumado a los arabinogalactanos II y ramnogalactanos II (RG-II), derivados de la uva, son los principales tipos de polisacáridos presentes en el vino, representando el 35, 42,2 y 19% respectivamente del total de polisacáridos (Vidal *et al.*, 2003).

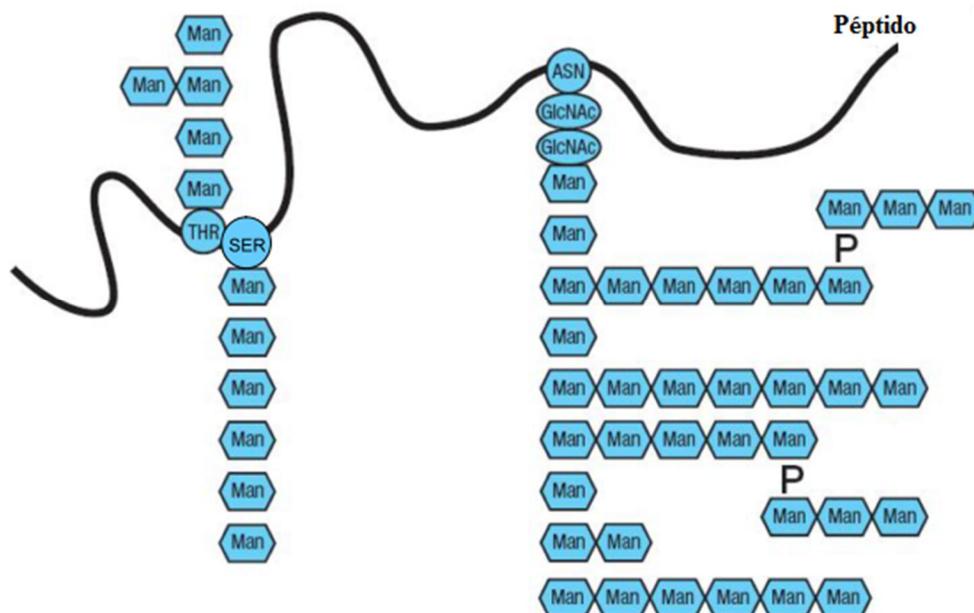


Figura 15. Estructura de las manoproteínas extracelulares de levadura (extraído de Bajard-Sparrow *et al.*, 2007).

Cuadro 3. Contenido de macromoléculas de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* (Aspinall, 1980).

Macromolécula	Peso seco de la pared celular (%)
Manoproteínas	35-40
-(1 6)-glucanos	5-10
-(1 3)-glucanos	50-55
Quitina	1-2

Propiedades de carga de los polisacáridos del vino

Las interacciones de los polisacáridos del vino con otros constituyentes dependerán tanto de sus propiedades físico-químicas como de su carga neta. Vernhault *et al.* (1996) estudiaron la carga de los polisacáridos para relacionarla con su capacidad de retención de otras moléculas. El estudio se llevó a cabo en una solución hidroalcohólica de un vino modelo (pH 3,5) y distinguió entre las manoproteínas de las levaduras y los polisacáridos de la baya. En el primer caso, todos los polisacáridos resultaron tener carga negativa en la

solución hidroalcohólica usada como muestra (Cuadro 4). En el segundo caso, se concluyó que la carga neta de las manoproteínas resulta de la presencia de grupos fosfato y de las cadenas laterales de grupos amino y carboxilo.

La evolución de esta densidad de carga en función del pH variará dependiendo si estamos hablando de polisacáridos pécticos o de manoproteínas (Hidalgo, 2010). En el caso de las manoproteínas, la densidad de carga sufre muy poca variación en función del pH y es consecuencia de la ionización de los grupos fosfato de la porción polisacarídica, así como de los grupos carboxilo y amino de los aminoácidos de la porción proteica (Amory y Rouxhet, 1988; Bowen y Ventham, 1994). En el caso de los polisacáridos pécticos, la densidad de carga es bastante más sensible a las variaciones de pH, produciéndose un aumento significativo de la carga negativa entre pH 2 y 5, llegando a un valor de equilibrio en los rangos de pH del vino. Las carga negativa en estas moléculas está relacionada con los grupos carboxilos de los ácidos urónicos (ácidos galacturónicos y glucurónico), que son ácidos más débiles que los grupos fosfato. Las partes proteicas, en tanto, no parecieran tener mayor influencia en el perfil de carga de estas macromoléculas (Frevet y Ballou, 1985).

El conocimiento de la naturaleza de las cargas netas y naturaleza de los grupos funcionales de polisacáridos pécticos y manoproteínas permite predecir el comportamiento de estas macromoléculas cuando interaccionan con otros componentes del vino. Esto permitirá saber cómo evolucionan estas macromoléculas en función del pH y así conocer su punto isoelectrico, información necesaria para los enólogos a la hora de decidir sobre la conveniencia de tratamientos como la clarificación o la filtración, o también para entender como las distintas fracciones de polisacáridos interaccionan con los compuestos fenólicos del vino (Feuillat y Charpentier, 1998).

Cuadro 4. Carga negativa (en C/g) de los polisacáridos del vino en una solución de modelo hidroalcohólico a pH 3,5 (Vernhaut *et al.*, 1996).

Polisacárido	Carga (C/g)
MP0	7,8
MP1	52
MP2	66
AGP0	6,6
AGP1	22,4
AGP2	59,5
RG-II	91,7

Naturaleza química de la interacción entre los componentes de la uva

Los compuestos fenólicos de la baya interactúan constantemente con otros componentes como las proteínas y los polisacáridos (Terrier *et al.*, 2009). La interacción de los polisacáridos con antocianos por ejemplo, puede incrementar la estabilidad colorante, mientras que la interacción con flavanoles como la catequina participa en la reducción de la sensación de astringencia y amargor (Peña, 2005). En cuanto a la naturaleza de las interacciones entre flavonoides y polisacáridos, Poncet-Legrand *et al.* (2003) señalan a las uniones hidrofóbicas y los puentes de hidrógeno como las más importantes, lo que se explica por las propiedades físico químicas de los agregados de flavonoides, que les impiden por ejemplo, formar enlaces iónicos con otras moléculas.

Vernhet *et al.* (1996) describen también la incidencia de las propiedades de carga de los polisacáridos en cuanto a su interacción con otros componentes del vino. Estos autores mencionan que la fracción ácida de los polisacáridos tiende a formar parte de interacciones electrostáticas e iones con otros componentes cargados, sobre todo considerando la alta carga negativa de estas macromoléculas en los rangos de pH en el vino. A modo de ejemplo, se señala que las uniones que se forman entre polisacáridos y proteínas, que pueden resultar en complejos solubles o insolubles, son altamente dependientes de las cargas netas y de los grupos funcionales de los polisacáridos. De aquí el impacto que pueden llegar a tener los tratamientos de clarificación, pues modifican la composición glucosídica de los vinos y consecuentemente su estabilidad y atributos organolépticos.

En cuanto al tipo de uniones químicas entre los diversos componentes polisacáridos de las pectinas, Cosgrove (2005) propone un tipo de unión covalente, aunque la naturaleza del enlace no ha sido claramente determinada. El mismo autor propone los siguientes puntos en su modelo (Figura 16):

- Los dominios de las pectinas podrían estar covalentemente enlazados, formando una compleja malla molecular donde los ramnogalacturanos I actúan como soporte, mientras los otros polisacáridos se insertan en esta matriz a modo de ramas.
- Los homogalacturanos estarían entrelazados por enlaces iónicos a través de iones calcio, mientras el boro sería el responsable de los enlaces diéster entre los ramnogalacturanos.
- Los ramnogalacturanos II se encuentran formando dímeros por medio de enlaces del tipo éster. Este tipo de unión determina algunas características como la porosidad y grosor de la pared celular primaria.

Por consiguiente, los diferentes polisacáridos pécticos están unidos entre ellos de manera covalente para formar las pectinas nativas que se encuentran en las paredes celulares (Albersheim *et al.*, 1996), lo que explica que las llamadas zonas òlisasö (sin ramificaciones) de las pectinas son rápidamente degradadas bajo la acción de enzimas pectinolíticas

endógenas de la uva. Esta hidrólisis enzimática conduce a una rápida desaparición de las cadenas de homogalacturanos y a la liberación simultánea de ramnogalacturanos I y II.

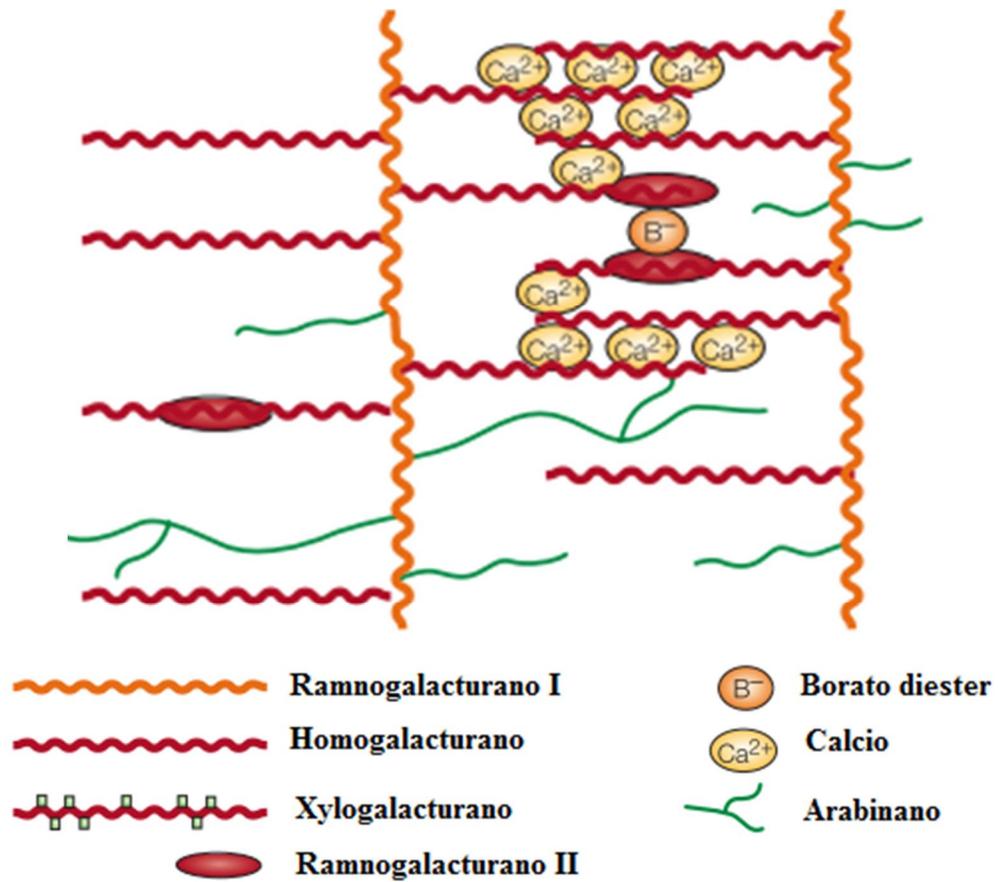


Figura 16. Modelo de formación de redes de pectina en la pared celular (Cosgrove, 2005).

INTERÉS ENOLÓGICO DE LOS POLISACÁRIDOS

Antecedentes generales

El vino es una suspensión coloidal en la que los coloides micelares (materia colorante, sales tartáricas, fosfato férrico, etc.) son mantenidos en dispersión por la acción de cargas eléctricas que garantizan una repulsión de las partículas. Los coloides macromoleculares (proteínas, polisacáridos) son estabilizados por el doble fenómeno de la hidratación y de cargas eléctricas. El vino posee una gran variedad de macromoléculas que pueden aglomerarse y formar partículas finas, que quedan en suspensión, apareciendo una turbidez o terminando en flóculos que precipitan y forman depósitos. Estos problemas pueden ser resueltos por dos intervenciones enológicas. La primera consiste en eliminar las moléculas potencialmente inestables a través de clarificación y/o filtración. Esta técnica, generalmente conduce a un empobrecimiento organoléptico del vino. La segunda estrategia consiste en asociar las macromoléculas inestables a otras más estables, conocidas como coloides protectores (Caridi, 2006).

Tratando de demostrar la importancia de los polisacáridos en su rol de coloides protectores, Fanzone (2012) estudió los parámetros fenólicos y polisacáridicos globales en vinos Malbec y Cabernet Sauvignon, observando una tendencia hacia una mayor concentración de estos compuestos en vinos con mayor valor comercial, coincidentes también con una mejor valoración sensorial en los vinos de alta gama con mayor contenido de polisacáridos (Figura 17). Si bien el método de extracción utilizado en este estudio no permitió la separación de las unidades de polisacáridos, se observaron diferencias significativas entre los distintos umbrales de curva de cada fracción polisacáridica, midiéndose mayor concentración de las distintas fracciones en los vinos de mayor gama.

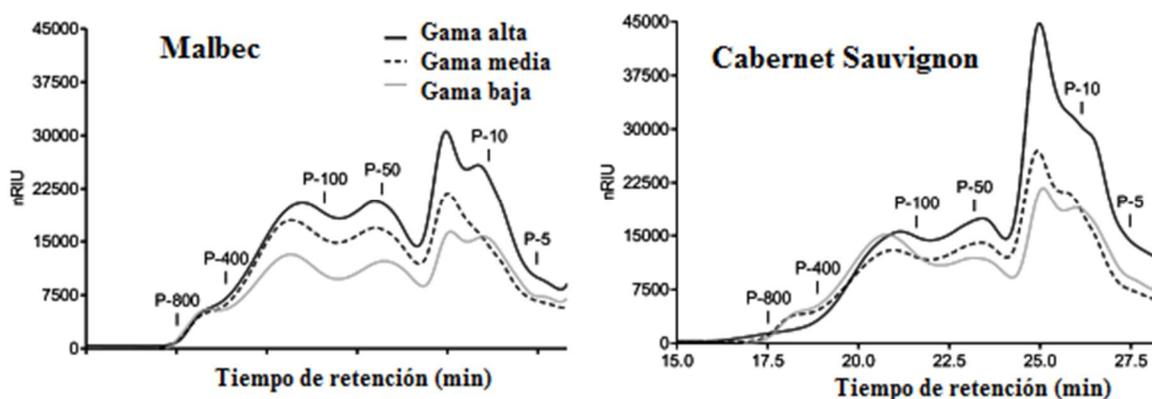


Figura 17. Distribución por peso molecular de las fracciones solubles de polisacáridos en vinos Malbec y Cabernet Sauvignon de distinto valor comercial (Fanzone, 2012).

En este contexto, las macromoléculas derivadas de las paredes celulares de levaduras, particularmente las manoproteínas, han atraído mucha atención en el mundo de la enología

en los últimos 15 años, debido a su demostrada contribución a la calidad del vino y su estabilidad química, actuando como coloides protectores (Caridi, 2006).

El vino como un sistema coloidal

La categorización del vino como un sistema coloidal (Feuillat, 1987) es fundamental para entender las interacciones moleculares que se producen, y más específicamente cómo los polisacáridos se comportan en este medio. En general, el concepto de coloide es usado en las soluciones químicas para definir ciertos tamaños de moléculas disueltas en ellas (Hiemenz, 1986). En el caso de los vinos, sin embargo, es más correcto hablar de un estado coloidal conformado por dos fases (Flanzy, 2003): la fase dispersa, conformada por las partículas coloidales y una fase dispersante o continua. En el caso de los mostos, esta última fase es el agua, y en el caso de los vinos, una solución hidroalcohólica conformada por sistemas polidispersos conformados por partículas de distintos tamaños y afinidad química por el solvente (Figura 18). Según Flanzy (2003), entre las características más relevantes de los coloides están la solubilidad y la carga química. Según su solubilidad, se denominan hidrófilos cuando estos coloides son solubles en medios acuosos e hidrófobos cuando no los son.

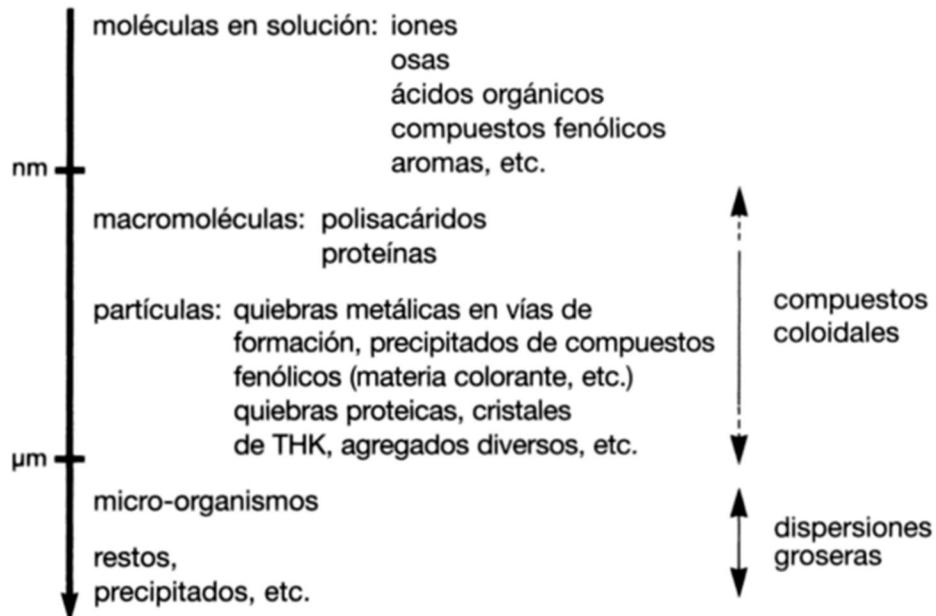


Figura 18. Diversos estados fisicoquímicos en el sistema coloidal del vino (Hidalgo, 2010).

Los coloides hidrófilos presentes en el vino pueden ser de origen endógeno o exógeno, siendo los primeros polisacáridos y proteínas provenientes de la uva. Los exógenos, en tanto, corresponden a las manoproteínas de levaduras liberadas durante la fermentación alcohólica y el envejecimiento con lías (Flanzy, 2003). Los coloides hidrófobos por su

parte, corresponden a agregados de moléculas de estructura cristalina, materia colorante diversa, precipitados, entre otros (Saucier *et al.*, 2000). Es importante mencionar que los coloides hidrófobos son inestables en la solución hidroalcohólica del vino, y por lo tanto, son el origen de la turbidez y precipitados (Flanzy, 2010). La floculación también se puede dar en los coloides hidrófilos a través de dos fenómenos: supresión de carga eléctrica y deshidratación (Úbeda, 2000) (Figura 19).

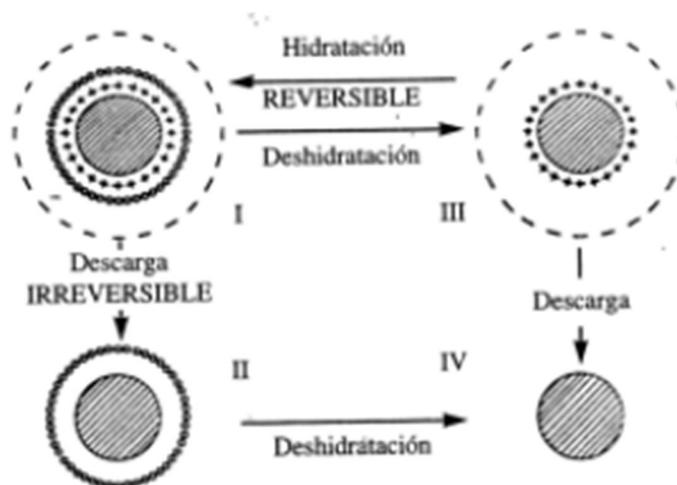


Figura 19. Esquema de floculación de coloides hidrófilos (Úbeda, 2000).

Flanzy (2003) señala la existencia de compuestos capaces de impedir la floculación o precipitación de los coloides hidrófobos. La literatura denomina a estos compuestos coloides protectores, dada su capacidad de participar en procesos de estabilización tartárica y proteica así como de la materia colorante, lo que finalmente puede mejorar los atributos organolépticos del vino. El efecto protector se explica por una fijación de los coloides hidrófilos sobre la superficie de los coloides hidrófobos, por lo que permanecen estables en la solución (Hidalgo, 2010). El mismo autor señala que el efecto final es la estabilización de los otros coloides en el medio, así como también evitar que estos se aproximen para flocular.

Según Hidalgo (2010), el vino contiene de manera natural diversas sustancias que se comportan como coloides protectores, que en general son todos aquellos que se comportan como coloides hidrófilos, pero específicamente son los polisacáridos las moléculas que presentan estas propiedades de forma más marcada, procediendo en algunos casos de la vendimia sana, y en otros, de las paredes celulares de los microorganismos del vino en forma de manoproteínas.

La forma en que estos coloides interactúan en el vino está siendo ampliamente discutida en la actualidad, y si bien no está totalmente claro su modo de interacción con los distintos componentes del vino, sus efectos benéficos están comprobados y avalados en la literatura que se cita en los capítulos posteriores.

Estabilidad proteica

La quiebra proteica es un fenómeno enológico indeseado, que se produce por la insolubilización de proteínas termosensibles provenientes de las bayas, y que tiene como principal consecuencia la precipitación de estas macromoléculas, produciendo defectos visuales especial y casi exclusivamente en vinos blancos (Hidalgo, 2010).

Como se mencionó anteriormente, los coloides hidrófobos del mosto y vino, entre ellos las proteínas provenientes de la uva y levaduras, pueden flocular debido a distintos fenómenos fisicoquímicos. En este contexto, el efecto de los coloides protectores contra la quiebra proteica en vinos blancos ha sido descrito por diversos autores (Waters *et al.*, 1994).

El aumento del contenido proteico en mostos y vinos se debe a diferentes técnicas bastante difundidas en la actualidad como son: exceso de fertilización nitrogenada, sobremaduración, maceraciones de los hollejos, desfangados, envejecimiento con lías, entre otras (Blouin *et al.*, 2003).

La concentración de proteínas totales depende del tipo de vino y varía típicamente entre 15 a 230 mg/L (Ferreira *et al.*, 2001). Las proteínas relacionadas con la patogénesis de la baya son particularmente estables bajo las condiciones de vinificación, y por lo tanto pasan al vino, donde pueden precipitar, formando sedimentos y causando la quiebra proteica (Waters *et al.*, 1996) (Figura 20). Las fracciones proteicas responsables de la inestabilidad del vino son glicoproteínas térmicamente inestables de bajo peso molecular (12 y 20-30 kDa) y de bajo punto isoelectrico (Hsu y Heattherbell, 1987; Dawes *et al.*; 1994), lo que implica que tienen carga positiva en el pH del vino.

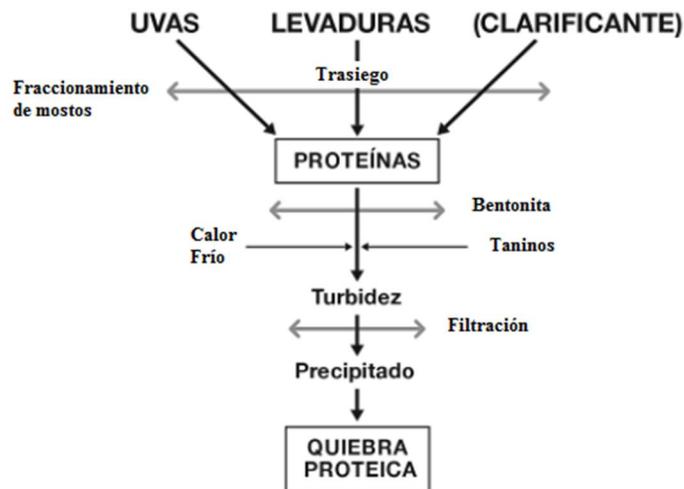


Figura 20. Mecanismo de la quiebra proteica (Blouin, 2003).

Si bien no hay claridad respecto al mecanismo, hay demostraciones empíricas de los beneficios de las manoproteínas en la prevención de la quiebra proteica. Ledoux *et al.*

(1992) demostraron que un vino envejecido con lías de levadura tenía un potencial de quiebra proteica menor y además menores requerimientos de dosis de bentonita para prevenir este fenómeno comparado con otro vino de iguales características, en cuanto a contenido proteico, pero no envejecido con lías. Las moléculas responsables de esta acción resultaron ser las manoproteínas, no obstante, otras glicoproteínas también han demostrado tener efecto en la reducción de la quiebra proteica, incluyendo arabinogalactanos (Waters *et al.*, 1994).

En un estudio llevado a cabo por Dupin *et al.* (2000), se evaluó el efecto protector de la turbidez de un aislado de levadura (invertasa), para lo cual se midió la concentración de manoproteínas y derivados en soluciones de vino con distintos tiempos de crianza con lías, encontrándose resultados bastante convincentes en cuanto a la prevención de la quiebra proteica. En el Cuadro 5 se muestra el grado de disminución de la turbidez como un porcentaje de la medición de la turbidez inicial, bajo un tratamiento de inducción por calor. Este estudio también confirma a las manoproteínas (con alto contenido de manosa) por sobre las glucomanoproteínas, como las principales moléculas responsables del fenómeno, en una concentración de 175 mg/L, medidas al final de la fermentación.

El mecanismo exacto por el que las manoproteínas protegen al vino de la quiebra proteica no está del todo claro. Además, se ha establecido que la adición de manoproteínas no previene la precipitación, sino que disminuye el tamaño de partículas responsables de la quiebra (Waters *et al.*, 1993) y que también se puede deber a un fenómeno de competencia entre las manoproteínas y proteínas del vino. Esto quedó corroborado por Dupin *et al.* (2000), quienes demostraron que el uso de manoproteínas no cambiaba ni la cantidad ni calidad de las proteínas precipitadas, pero sí disminuía el efecto de turbidez en el vino. A su vez concluyeron que la manoproteína utilizada no formaba parte del precipitado y permanecía soluble en el vino.

Cuadro 5. Actividad protectora de las manoproteínas sobre la estabilidad proteica (Dupín *et al.*, 2000).

Tiempo en lías de levaduras (semanas)	Concentración de polímeros de manosa liberados (mg/L)	Actividad protectora de la turbidez del material liberado (% turbidez)
0	0	100
2	4	90
4	10	80
6	11	70
8	15	50

De acuerdo a los antecedentes expuestos, se puede concluir que las manoproteínas interactúan con componentes no proteicos del vino aún no esclarecidos, los cuales son necesarios para la formación de largas cadenas de proteínas desnaturalizadas e inestables, que serían responsables del aspecto de turbidez del vino. Por lo tanto, es vital la identificación de estos componentes para un uso adecuado de las manoproteínas y sus derivados en el manejo de la turbidez en bodega, lo que a su vez puede permitir bajar los costos por el uso de bentonita como elemento clarificante.

Estabilidad tartárica

La obtención de la estabilidad tartárica es una problemática específica del sector vitivinícola, debido a la riqueza de las uvas en ácido tartárico y en sales de potasio y calcio, que pueden precipitar en ciertas condiciones fisicoquímicas y termodinámicas (Moutounet *et al.*, 1999).

El ácido tartárico, en presencia de los iones potasio y calcio, forma distintas sales, tales como el bitartrato potásico, tartrato neutro de calcio, tartrato doble de potasio y calcio, y con el ácido málico, el malotartrato de calcio. El bitartrato potásico es el más abundante entre estas sales y tiene la característica de ser poco soluble en soluciones hidroalcohólicas conservadas a bajas temperaturas, pH débilmente ácidos y en presencia de núcleos de cristalización. Estas condiciones, muy frecuentes en los vinos, son los responsables de que los vinos que no son debidamente estabilizados, durante el almacenamiento precipiten el bitartrato de potasio en forma de depósitos cristalinos o amorfos (Tribuzi, 2013).

De acuerdo a lo señalado por Togores (2007), los ramnogalacturanos II y las manoproteínas derivadas de la autólisis de las levaduras del vino, son capaces de impedir la insolubilización de las sales de bitartrato de potasio, frenando su posterior precipitación. El mismo autor señala que cuando el ramnogalacturano II excede los 100 mg/L, tal como es el caso de los vinos tintos o en los blancos fermentados en barrica, este polisacárido tiene un comportamiento similar al de las manoproteínas, actuando como inhibidor de la cristalización de las sales de tartrato.

Por otra parte, varios estudios demuestran que las manoproteínas inhiben la precipitación tartárica (Moine-Ledoux *et al.*, 1999; Lubbers *et al.*, 1994; Togores, 2007) con un efecto que podría deberse a una inhibición competitiva, que limita la formación de cristales, impidiendo la nucleación.

Las manoproteínas pueden actuar ya sea inhibiendo la formación de cristales o bien cambiando sus propiedades y haciéndolas más solubles a una temperatura más baja (Goertges y Stock, 2000). De acuerdo a Gerbaud *et al.* (1997), las manoproteínas afectan la tasa de crecimiento de las sales de bitartrato de potasio, uniéndose específicamente en los puntos de nucleación y previniendo la expansión de la estructura cristalina. Moine-Ledoux (2002) complementa esta información, afirmando que el efecto estabilizador de estas moléculas es más eficiente y duradero que el logrado con el ácido metatartárico, insumo habitual en enología para lograr la estabilidad tartárica. Se ha demostrado también, que con una dosis de 25 g/hL de manoproteínas, tanto vinos tintos, blancos y rosé permanecen estables incluso después de haber sido mantenidos a -4°C por un período de 6 días, lo que confirma su efecto en la disminución de la temperatura de cristalización (Moine-Ledoux y Dubourdieu, 1999).

Influencia en las propiedades sensoriales en boca

En general los estudios indican que la astringencia en el vino se trata de una sensación táctil gustativa, producida principalmente por la interacción entre los polifenoles del vino (principalmente flavanoles), con las proteínas de la saliva (Gawel, 1998). Algunos estudios han determinado que algunas proteínas salivales ricas en prolina (Sarni- Manchado *et al.*, 1999) y otras proteínas comerciales como gelatina y seroalbúmina bovina o BSA (Hatano *et al.*, 2003) presentan una gran afinidad para unirse a los taninos.

Esta sensación táctil denominada astringencia es un complejo fenómeno que involucra la interacción de diferentes compuestos tales como polifenoles, proteínas, carbohidratos, iones metálicos, entre otros, generando la precipitación de proteínas y una pérdida de lubricación en la cavidad bucal (Mateus *et al.*, 2006). La formación del complejo insoluble procianidinas - proteínas salivales puede estar dada por la creación de puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas o por atracción electrostática (Figura 21) (Zamora, 2003).

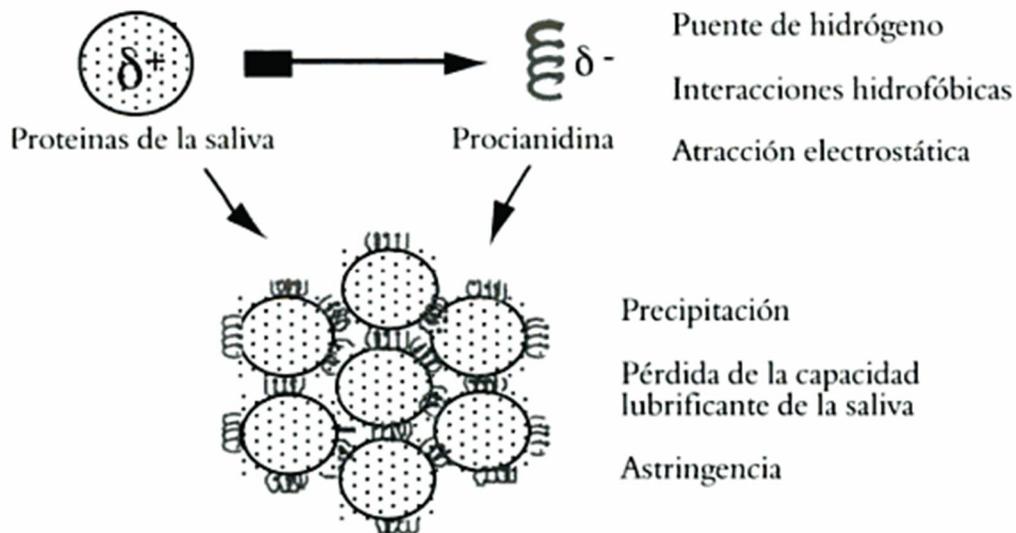


Figura 21. Mecanismo molecular de la astringencia (Zamora, 2003).

Tratando de entender la importancia de los polisacáridos en la disminución de la astringencia, Riou *et al.* (2002) analizaron la incidencia que tienen estas macromoléculas en la agregación de los taninos. Los resultados permitieron observar que los polisacáridos no impedían la agregación inicial de taninos, pero influían en la evolución del tamaño de las partículas. En este sentido, a las concentraciones de taninos del vino, los ramnogalacturanos II incrementaron fuertemente el diámetro medio aparente de las partículas, mientras que los arabinogalactanos no impactaron la agregación de los taninos. Un aumento del diámetro medio de las partículas significa una mayor agregación de taninos, lo que limitaría la unión de los taninos con las proteínas salivales, disminuyendo la percepción de astringencia.

En relación al efecto de las manoproteínas sobre la percepción de astringencia, diversos autores han postulado que los taninos, en ausencia de interacciones con manoproteínas, presentan una gran reactividad con las proteínas de la saliva. Por el contrario, en presencia de estos compuestos a las concentraciones del vino (50mg/L), se agruparían formando macro-estructuras estables, limitando su reacción con las proteínas de la saliva, y por consiguiente, la sensación de astringencia (Zamora, 2003; Riou *et al.*, 2002) (Figura 22). De la misma manera, se ha observado que los vinos tratados con manoproteínas, presentarían una mayor redondez en boca, percepción asociada a una baja astringencia (Guadalupe *et al.*, 2007).

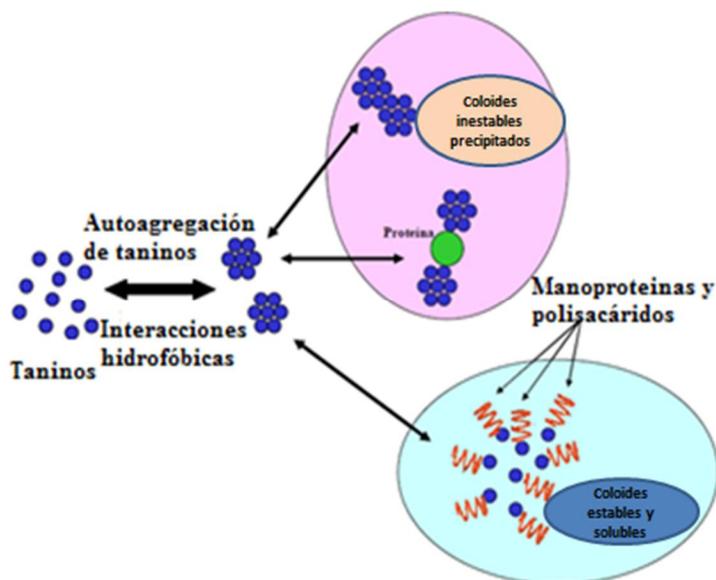


Figura 22. Esquema de interacción tanino-manoproteína y autoagregación de taninos (Del Barrio-Galán, 2012).

Guadalupe y Ayestarán, (2008), estudiaron el efecto de las manoproteínas comerciales, sobre el contenido y perfil de los polisacáridos, y polifenoles del vino. En este estudio se utilizó mosto y vino de la variedad Tempranillo, el cual fue vinificado por un lado, sin manoproteínas y por el otro, con 13,5 g/hL de un preparado de manoproteínas comerciales. Los resultados mostraron que al inicio de la fermentación alcohólica, los mostos tratados con manoproteínas presentaban alrededor de 100 mg/L más de manoproteínas de alto peso molecular (bMP) que su respectivo control. Luego, se observó una disminución de bMP en las muestras tratadas con manoproteínas comerciales, lo que coincidió con una reducción sustancial del contenido de taninos. Según los autores, esta observación sugeriría una precipitación de los agregados manoproteínas-taninos. A partir de lo anterior, Guadalupe y Ayestarán plantearon dos hipótesis

- (i) En las condiciones estudiadas, las manoproteínas podrían actuar como estabilizadores, ya que la interacción entre taninos y manoproteínas daría lugar a estructuras de alto peso molecular que serían inestables y precipitarían, llevando a una disminución en el total del contenido de taninos.

- (ii) En las condiciones estudiadas, las manoproteínas podrían actuar como floculantes de los polímeros en lugar de estabilizadores. La floculación se explica generalmente por uniones, donde las mismas moléculas de manoproteínas se unen a los diferentes taninos, dando lugar a la formación de grandes agregados y su posterior precipitación.

Mateus *et al.* (2006) y Carvalho *et al.* (2006) señalan que existen dos mecanismos en los que la interacción taninos - proteínas salivales parecen ser inhibidas por la presencia de polisacáridos. El primero postula que algunos polisacáridos son polielectrolitos y podrían formar complejos ternarios solubles en medio acuoso de polifenoles ó proteínas ó polisacáridos. Esta unión puede estar dada por la formación de puentes de hidrógeno entre un átomo de hidrógeno de los polisacáridos y un grupo hidroxilo de los polifenoles, o también por interacciones hidrofóbicas. El segundo, en cambio, señala que los polisacáridos encapsulan a los polifenoles interfiriendo con la unión a proteínas (Figura 23).

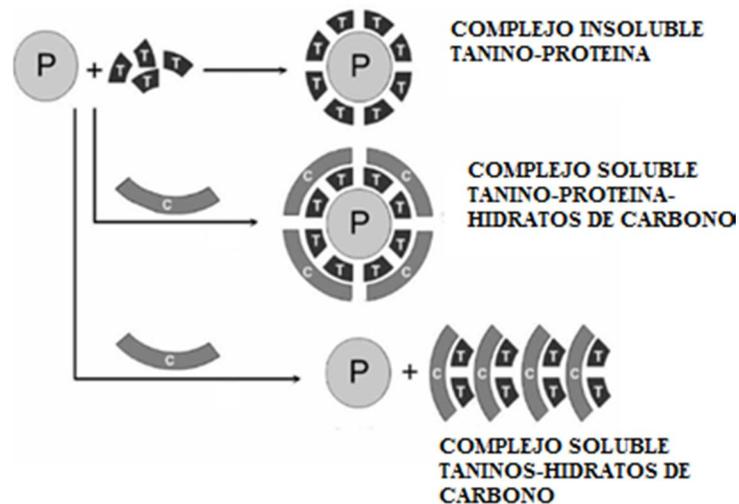


Figura 23. Supuestos mecanismos de inhibición del complejo taninos ó proteínas por los polisacáridos. P: proteína, T: tanino y C: polisacárido (Carvalho, 2006).

Asimismo, Carvalho *et al.* (2006), utilizando algunos taninos, dos proteínas salivales (-amilasa y proteínas ricas en prolina) y cuatro fracciones de polisacáridos [AGP0, AGP50, AGP150 (arabinogalactanos) y RG-II (ramnogalacturano II)], evaluaron el efecto de los polisacáridos sobre la agregación tanino-proteína. Los resultados determinaron que las fracciones más ácidas de los arabinogalactanos, tienen la capacidad de inhibir la formación de agregados tanino-proteína, incluso en concentraciones bajas de hasta 20 mg/L (polisacárido AGP 150 para -amilasa y proteínas ricas en prolina y AGP 50 y RG-II para -amilasa). Según estos autores, las observaciones previamente señaladas, demostrarían que los vinos con estos niveles de polisacáridos podrían presentar una baja astringencia, incluso con un aumento sostenido de la concentración de polifenoles. Sin embargo, altos niveles de algunos polisacáridos, tales como AGP0 y RG-II, podrían aumentar la sensación de astringencia.

Vidal *et al.* (2004b), analizaron sensorialmente algunas fracciones de polisacáridos (neutros: manoproteínas y arabinogalactanos unidos a proteínas y ácidos: ramnogalacturano II), en una solución de vino modelo. Los resultados mostraron que ambas fracciones de polisacáridos, aumentan significativamente la sensación de redondez en boca, parámetro sensorial que se correlaciona con una menor astringencia. Además, la fracción de polisacáridos ácidos (RG-II) provocó una disminución significativa del atributo asociado a la astringencia del vino mientras que la fracción de polisacáridos neutros (manoproteínas y arabinogalactanos) presentó menor efecto sobre la astringencia.

Influencia en el perfil aromático

Juega *et al.* (2012), estudiaron la influencia de las manoproteínas en la mejora del aroma en vinos blancos *cv.* Albariño fermentados por 30 días con tres cepas distintas de levaduras. Las cepas fueron seleccionadas por su alta capacidad de liberar manoproteínas, para lo cual fueron previamente evaluadas en laboratorio. La variedad de uva elegida, a su vez, se explica por ser materia prima de vinos altamente aromáticos.

La mayoría de los compuestos encontrados en el vino final correspondieron a alcoholes superiores, encontrándose muchas veces diferencias significativas dependiendo de la cepa utilizada, variando en rangos desde 12,5 mg/L a los 115 mg/L, pero bajo el umbral de los 300 mg/L, considerado como el límite en el que estos compuestos afectan negativamente la calidad aromática de los vinos (Figura 24). Lo interesante del estudio, es que los vinos con mayor cantidad de manoproteínas en la porción coloidal, fueron a su vez los que mostraron mayor capacidad de retención de compuestos aromáticos como el geraniol. Destaca también la capacidad de retención de terpenos y norisoprenoides, componentes aromáticos asociados con la frescura y frutuosidad de la cepa Albariño.

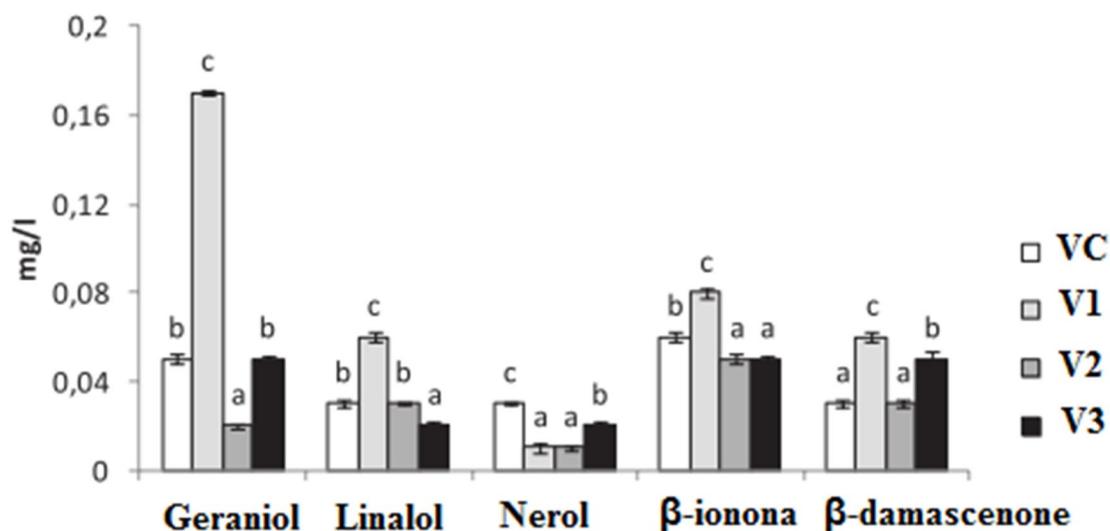


Figura 24. Concentración (mg/L) de compuestos aromáticos terpenos en tres muestras de vino (VC=vino control; V1=muestra 1; V2=muestra 2; V3=muestra 3) (Juega *et al.*, 2012).

Por su parte, Chalier *et al.* (2007) encontraron evidencia de la interacción entre manoproteínas secretadas por las levaduras (a concentraciones normales en el vino 150mg/L) y diferentes compuestos aromáticos. Los autores observaron que las manoproteínas pueden ayudar a reducir la volatilidad de los compuestos aromáticos en más de un 80%. Aparte de esto, concluyeron que tanto la porción glucosídica como la porción peptídica de las manoproteínas, están relacionadas al fenómeno de retención de aromas. Más recientemente, Comuzzo *et al.* (2012) encontraron que la retención de aromas por parte de la fracción coloidal rica en manoproteínas es un fenómeno complejo que depende de una serie de variables (pH, cepa de levadura, temperatura, interacciones con otros complejos del sistema coloidal, entre otros). Estos autores sugieren que este fenómeno puede tener implicancias prácticas en la calidad aromática de los vinos, porque estos compuestos inicialmente retenidos por las manoproteínas, pueden ser liberados y percibidos a nivel retronasal al momento de la cata a temperatura ambiente, lo que según del Barrio-Galán (2012) podría traducirse en una precepción aromática más duradera en el tiempo.

El efecto de niveles crecientes de polisacáridos (arabinogalactanos principalmente) sobre los compuestos aromáticos volátiles fue estudiado por Rinaudo (2004) en vinos modelo. Según el estudio, los compuestos volátiles de isoamil acetato, etil hexanoato, 2 metil-1-butanol y ácido octanoico fueron débilmente afectados después de la adición de arabinogalactanos en el rango de 0-5g/L. El mismo autor señala que el arabinogalactano es un polisacárido neutro de alto peso molecular, que probablemente tiene una relativa baja solubilidad debido a la existencia de un largo número de puentes de hidrógeno, los que estabilizan las interacciones entre cadenas. Sin embargo, a niveles más altos de adición de arabinogalactanos, se observó una reducción de los compuestos volátiles, sugiriendo una unión intermolecular entre estos compuestos y los polisacáridos presentes. Esta disminución, en el caso del etil octanoato, etil decanoato y etil dodecanoato, fue seguida de un rápido incremento, lo que puede atribuirse a la incapacidad de los arabinogalactanos de interactuar con ciertos compuestos volátiles. Por otro lado, no se evidenció influencia en la volatilidad del hexanol hasta dosis de 1g/L, mientras que se requirieron niveles más altos de arabinogalactanos para disminuir su volatilidad, lo que indica la interacción bimolecular entre el hexanol y los arabinogalactanos. Esto fue consistente con los resultados obtenidos por Dufour y Bayonave (1999), quienes también observaron una reducción de la actividad del hexanol al incrementar la adición de polisacáridos.

El efecto de las pectinas (homogalacturanos, ramnogalacturanos I y II) en la concentración de compuestos aromáticos volátiles también fue estudiado. Una baja concentración de estas moléculas pareció mantener mayor cantidad de compuestos aromáticos con respecto a los vinos control, especialmente el etil octanoato, etil decanoato, etil dodecanoato, dietil succinato y el hexanol. Sin embargo, para un incremento en las concentraciones de pectinas de 1 a 2g/L, se observó una disminución significativa, excepto para los ésteres etil octanoato, decanoato y dodecanoato (Dufour y Bayonave, 1999).

El comportamiento disímil entre las pectinas y los arabinogalactanos en la volatilidad de estos compuestos, puede estar relacionado con su estructura. Las pectinas están compuestas de enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$, parcialmente metiladas, por lo que son consideradas carbohidratos aniónicos. La repulsión electrostática domina a pH neutro y las moléculas de pectina se conforman en una estructura de espiral aleatoria (Marín, 2003). El comportamiento

molecular cambia marcadamente a valores de pH más bajos (bajo grado de ionización), produciéndose un incremento en la rigidez de la cadena probablemente por un incremento en las interacciones intermoleculares (Marín, 2003). Se presume que las pectinas podrían haber incrementado la liberación de los compuestos aromáticos menos hidrofóbicos, a través de un efecto desalador, tal como lo demostraron Oakenfull y Scott (1984) para los geles de pectina. Las pectinas contienen un gran número de unidades de azúcar y serían por lo tanto, capaces de capturar una gran cantidad de agua. La disminución de agua disponible para los compuestos del aroma puede haber incrementado su liberación.

En contraparte, según los estudios de Chinachoti (1995), las moléculas de pectina, pueden por estiramiento, alinearse con segmentos de otras moléculas y formar micelas que son más hidrofóbicas porque el agua ligada es reemplazada por puentes de hidrógeno. Esto podría explicar la alta retención de etil octanoato, etil decanoato y etil dodecanoato, los cuales poseen diferentes grupos funcionales, pero similar hidrofobicidad.

A pesar de los antecedentes empíricos recabados, el mecanismo exacto involucrado en la retención de aroma en soluciones de polisacáridos puros y mixtos, aún no es completamente comprendido. Una de las razones es que la estructura química de estos polisacáridos varía según la fuente o el proceso industrial usado en su extracción o purificación (Rinaudo, 2004).

Estabilización de color en vinos tintos

Diversos autores del mundo de la enología, han debatido acerca del rol de las manoproteínas como moléculas ligadoras de compuestos fenólicos como los antocianos, logrando una mayor estabilidad de color en el vino. La teoría señala que las manoproteínas son absorbidas por las moléculas coloidales de antocianos y copigmentos, cubriendo la superficie de estos coloides y además evitando su degradación y precipitación (Feuillat y Charpentier, 1998) (Figura 25).

En un estudio de Guadalupe *et al.* (2010), se usaron manoproteínas de origen comercial para evaluar el efecto en la estabilidad de color de vinos tintos cv. Tempranillo. Estas moléculas fueron agregadas al vino en la etapa prefermentativa. La preparación comercial de manoproteínas consistió en 73% de polisacáridos y 2% de proteínas. La manosa fue el principal azúcar (91%), seguida por la glucosa. La primera observación importante del estudio, es que las manoproteínas añadidas se mantuvieron solubles durante la etapa prefermentativa y no precipitaron. A pesar de esto, los resultados en cuanto a intensidad de color fueron bastante erráticos, en cuanto a la teoría de las manoproteínas como coloides protectores. Sin embargo, se debe considerar que la composición química y física de las manoproteínas difieren dependiendo del tipo y origen de levadura y/o preparado comercial usado en el proceso de vinificación.

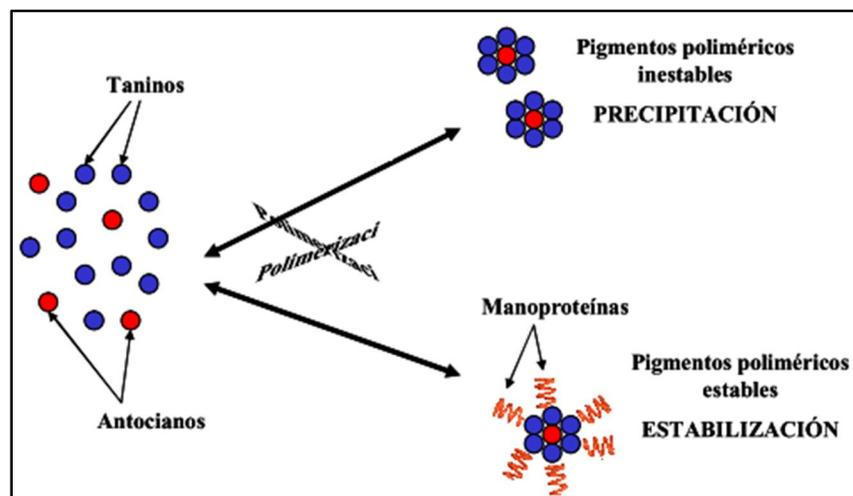


Figura 25. Efecto de las manoproteínas en la estabilidad de la materia colorante (Del Barrio-Galán, 2012).

A pesar de los numerosos estudios acerca de la influencia de las manoproteínas en la mejora de color, ninguno ha logrado determinar hasta el momento este supuesto beneficio. No obstante lo anterior, algunos de estos estudios sí han demostrado un efecto benéfico en la estabilidad colorante en vinos tintos. En este sentido, Palomero *et al.* (2007) demostraron cómo las manoproteínas derivadas de la pared celular de las levaduras, ejercen un efecto protector sobre la degradación de los antocianos monoméricos y sobre la variación a formas no coloreadas de estos compuestos fenólicos, en vinos que han sido sometidos a una crianza con lías. Demostraron además, que la coloración azul-roja de la cual estas moléculas son responsables, perdura más en el tiempo ante la presencia de las manoproteínas.

Más aún, Palomero *et al.* (2007), lograron probar la influencia de las manoproteínas sobre la estabilidad de ciertos compuestos antociánicos responsables del color en los vinos. Estos autores demostraron cómo las vitisinas -moléculas antociánicas- permanecen estables por mayor tiempo cuando los vinos son sometidos a una crianza con lías, lo que según los mismos autores está relacionado con la actividad protectora de las manoproteínas al unirse a los pigmentos poliméricos, como también a su capacidad protectora contra la oxidación (Rossenfeld *et al.*, 2003).

De lo anteriormente expuesto, se puede concluir que las manoproteínas ejercen un efecto estabilizante sobre la materia colorante al interactuar con pigmentos poliméricos específicos. La interacción pareciera depender de múltiples factores, entre ellos la cepa de levadura utilizada, que determinará a su vez la naturaleza química de las manoproteínas liberadas al medio. Al ser la pigmentación un fenómeno complejo y dependiente de múltiples moléculas, se hace necesaria mayor investigación en cuanto a la conveniencia del uso de manoproteínas en la estabilidad de la materia colorante.

Factores que inciden en el contenido de polisacáridos en las bayas

La estructura y composición de la pared celular puede variar considerablemente en respuesta al estrés, condiciones de cultivo, edad y modificaciones genéticas (Fleet, 1991; Ha *et al.*, 2002; Klis *et al.*, 2002; Aguilar-Uscanga *et al.*, 2005). Muchos de estos factores, sumados a condiciones externas como exposición solar, temperatura, nutrición, topografía y tipos de poda pueden modificar el contenido de polisacáridos en las bayas, sin embargo se nombran a continuación sólo los factores más relevantes desde el punto de vista agronómico.

Variedad

El contenido específico de polisacáridos no ha sido ampliamente estudiado y en general los estudios señalan que no existen diferencias significativas en el contenido de pectinas entre las distintas variedades de *Vitis vinifera* (Saulnier *et al.*, 1988).

La diferencia más importante que señalan Pellerin y Cabanis (1998) es la ausencia de ramnogalacturanos I en las cepas blancas, mientras que Hidalgo (2010) señala diferencias importantes en cuanto a los contenidos de ramnogalacturanos II y homogalacturanos II entre variedades blancas y tintoreras.

Rendimiento

En un estudio realizado por Riu-Aumatell *et al.* (2002), quedó demostrado que las concentraciones de polisacáridos fueron más bajas en las muestras obtenidas de predios de alto rendimiento (> 10.500kg/ha). Un gran número de racimos por hectárea puede resultar en paredes celulares y hollejos más delgados y menor cantidad de polisacáridos, debido a la distribución de los nutrientes en la baya. Las fracciones polisacarídicas en predios de alto y bajo rendimiento difirieron significativamente, tanto para polisacáridos neutros como totales. Según Jackson (1993), el rendimiento puede afectar directamente la composición de la baya por cambios intrínsecos en el metabolismo.

Índice de Maduración

Según Flanzky (2003), el grado de maduración de la uva se correlaciona positivamente con las fracciones polisacarídicas. El autor asevera que durante el curso de la maduración la pared celular se ablanda, porque las pectinas de la lamela media son solubilizadas por las endopoligalacturonasas y las pectinmetilestarasas. Esto podría explicar el incremento de los polisacáridos a niveles mayores de madurez.

Por otra parte, Canals *et al.* (2005) mencionan que el grado de madurez puede ejercer un efecto indirecto en el grado de solubilización de los polisacáridos. En particular menciona,

que a altos niveles de etanol, a medida que la baya va madurando, disminuyen la concentración de polisacáridos por efecto de la precipitación.

Asimismo, Yakushiji *et al.* (2001), demostraron que las fracciones de pectinas decrecen fuertemente después de la fase de envero, mientras que las fracciones de hemicelulosas muestran una marcada disminución desde semanas antes de la pinta. Según los mismos estudios, el contenido de celulosa disminuyó constantemente a medida que la uva maduraba, pero el decremento mayor se produjo desde pre-pinta a pinta. Sin embargo, los xiloglucanos sufrieron tendencia a la despolimerización en esta misma etapa.

Manejos enológicos en bodega y su relación con el contenido de polisacáridos

Crianza sobre lías

La crianza de los vinos constituye una etapa fundamental de la vinificación, puesto que condiciona la calidad final del vino mediante la revelación de su potencial y su estabilidad en el tiempo. Para los vinos tintos, el interés de las lías además del aporte de polisacáridos solubles provenientes de las levaduras es que interviene a nivel de potencial de óxido reducción, observándose una estrecha relación entre la intensidad de los caracteres frutados del aroma de los vinos y la presencia de borras (Blaise *et al.*, 2006).

Las lías vínicas de fermentación son el residuo formado al decantar la biomasa de levaduras responsables de la fermentación alcohólica de un mosto. Esta población microbiológica será, en mayor o menor medida heterogénea, en función de la inoculación o no de una cepa de levadura seleccionada, y de su implantación. Poblaciones de bacterias lácticas y/o acéticas así como diferentes sales tartáricas y restos vegetales derivados del procesado de la vendimia, pueden encontrarse también acumulados en el fondo de un depósito tras la fermentación. (Palomero *et al.* 2007).

El interés de esta técnica radica en la mejora de las cualidades sensoriales y gustativas del vino a través del aporte, principalmente, de manoproteínas y glucanos provenientes de las paredes de las levaduras ya lisadas en el proceso previo de fermentación (Figura 26).

Durante la autólisis de las levaduras, existe una desestructuración de la pared celular por rotura de las fibras de glucanos y quitina debido a la propia dotación enzimática de la levadura. También existe hidrólisis de proteínas que incrementa los contenidos nitrogenados del vino (Lurton *et al.*, 1989); como consecuencia de esta despolimerización y proteólisis las paredes celulares pierden rigidez (Feuillat, 1998). Las glucanasas, presentes en la pared hasta después incluso de 4 meses, y las manosidasas en menor parte, son las responsables de la degradación de las envueltas celulares (Charpentier y Fressinet, 2004).

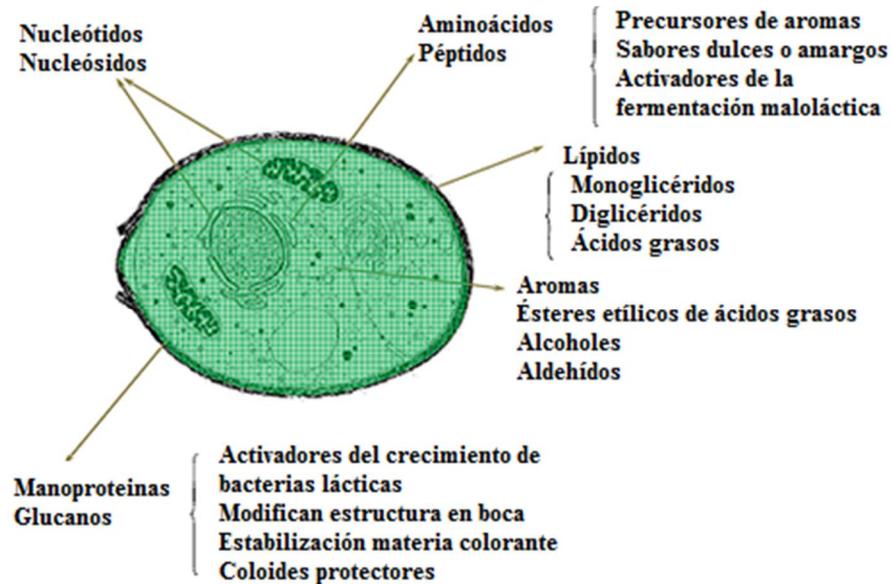


Figura 26. Compuestos liberados en el transcurso de la crianza sobre lías, y respectivos papeles enológicos (Fuente: Adaptada de Feuillat, 1998).

La degradación de la pared se traduce en una modificación de su estructura y de su composición, posterior a una hidrólisis de glucanos por enzimas del tipo α -glucanasas. El proceso está descrito en cuatro etapas (Feuillat, 1998):

- Una mezcla de polisacáridos y de cadenas cortas de oligosacáridos es liberada por acción de una glucanasa
- Luego la estructura de la pared se desestabiliza por hidrólisis parcial de los glucanos. Consecuentemente, se liberan las manoproteínas.
- Durante el proceso de autólisis, los glucanos de la pared continúan siendo degradados por las α -glucanasas extracelulares.
- Finalmente, las α -glucanasas degradan los glucanos ligados a las manoproteínas

De este modo, la crianza sobre lías puede contribuir a mejorar las propiedades sensoriales y tecnológicas comentadas anteriormente debido a que los polisacáridos liberados son agentes estabilizadores contra precipitaciones tartáricas (Lubbers *et al.*, 1994), y proteicas (Moine-Ledoux *et al.*, 1997). También interaccionan con la fracción fenólica, permitiendo una mayor estabilidad del contenido de antocianos monómeros (Saucier *et al.*, 2000; Morata *et al.*, 2007). La afinidad y el ratio de consumo potencial por el oxígeno de las lías alcanza valores mucho más altos que por la fracción polifenólica del vino (Fornairon-Bonnenfond y Salmon, 2003). De esta manera, las lías pueden competir notablemente con los polifenoles por el oxígeno (Salmon, 2006), lo que explica en parte la mayor estabilidad de la materia colorante y la menor degradación de antocianos. Por su parte, el aumento de

la fracción lipídica, origina un enriquecimiento de la fracción aromática del vino, debido a reacciones secundarias de formación de ésteres y aldehídos (Pueyo *et al.*, 2000).

Palomero *et al.* (2007), estudiaron el efecto de la crianza sobre lías en la liberación de polisacáridos de las paredes de las levaduras y su influencia sobre el contenido de monómeros de antocianos. Para el estudio se usó como materia prima *Vitis vinifera cv.* Tempranillo. El pH del mosto fue de 3,7 y el contenido de azúcar de 210g/L. Para la etapa fermentativa se usaron levaduras liofilizadas en cantidad de 0,3g/L y el cambio en el contenido de monómeros antociánicos fue medido durante 420 días. En todos los ensayos y en todos los tiempos de evaluación (1-3-5-7 y 9 meses), los vinos envejecidos con lías mostraron mayores contenidos de polisacáridos que los vinos control. Importante destacar que las mayores cantidades de polisacáridos observadas al noveno mes correspondieron mayormente a fragmentos de tamaño largo (100.000-120.000 Da).

El mismo estudio destaca la importancia de la crianza sobre lías sobre la concentración de vitisinas, compuestos piranoantociánicos altamente estables formados por la condensación de los antocianos y otros metabolitos liberados durante la fermentación alcohólica. Según Bakker y Timberlake (1997), las vitisinas son más resistentes a la decoloración que otros antocianos del vino y además expresan mayor intensidad colorante que otros pigmentos a pH 4.

La actividad estabilizante estudiada se fundamenta en que los índices de consumo de oxígeno por parte de las paredes celulares activas y lías son mucho más altos que los que poseen los compuestos fenólicos del vino (Rosenfeld *et al.*, 2003; Fornairon-Bonnefond y Salmon, 2003). Palomero *et al.* (2007), por su parte, concluyeron que la liberación de polisacáridos durante la autólisis y la competencia de las lías por el oxígeno son los factores responsables de la mayor estabilidad del contenido de monómeros de antocianos.

Adición de enzimas -glucanasas

Los preparados comerciales de enzimas -glucanasas autorizados para el uso en enología incrementan de forma muy considerable las concentraciones de polisacáridos. Ellas se sintetizan y aíslan principalmente a partir de especies del género *Trichoderma*, cultivadas bajo condiciones que optimicen su producción y aislamiento (Humbert-Goffard *et al.*, 2004).

La adición de enzimas -glucanasas a los vinos de forma exógena favorece la liberación de los polisacáridos (glucanos) y manoproteínas de las levaduras (Charpentier *et al.*, 2004).

Para demostrar estos efectos benéficos, Palomero *et al.* (2009) compararon el contenido de antocianos en vinos *cv.* Tempranillo en tres tratamientos distintos: fermentación convencional, vino envejecido con lías y vino envejecido con lías y adición de enzimas -glucanasas durante la fermentación. Los resultados fueron bastante concluyentes, pues en sólo dos semanas las cantidades de polisacáridos eran iguales o incluso mayores que las obtenidas en un plazo de 9 meses a través del proceso convencional de crianza sobre lías. Importante destacar que durante la primera semana posterior a la adición de las enzimas, no

se observaron evidencias del proceso autolítico (1,3-3,9mg/L de polisacáridos totales). Sin embargo, durante la segunda semana se observaron cantidades importantes de estas macromoléculas, poniendo de manifiesto la actividad autolítica de las enzimas α -glucanasas. En general, la cantidad liberada al final del proceso de crianza sobre lías fue bastante parejo para todas las cepas usadas, variando entre 53,1678,8 mg/L.

A pesar de que la adición de α -glucanasas condujo a una liberación mucho más rápida de polisacáridos y aceleró el proceso de autólisis celular (Palomero *et al.*, 2009), el perfil polisacarídico no fue el mismo al obtenido mediante el proceso convencional de crianza sobre lías. De hecho, los fragmentos obtenidos fueron usualmente más pequeños y uniformes en tamaño, lo que confirmaron en el tiempo de elución obtenido en el cromatógrafo HPLC, donde las fracciones de polisacáridos de alto peso molecular (120.000 Da) y las de más bajo peso molecular (70.000 Da) fueron bastante menores que en la autólisis convencional. Según los mismos autores, esto último tiene cierta lógica, dado que las α -glucanasas hidrolizan de una manera más regular las fibras de glucano, liberándose fragmentos de tamaño más similar, lo que en teoría podría mejorar la estabilidad coloidal de los vinos.

En contraparte, cuando en el mismo estudio se analizaron los momentos de más alta concentración de compuestos antociánicos, las muestras con α -glucanasas mostraron concentraciones hasta 30% menores que los otros dos tratamientos (control y crianza convencional). La explicación se fundamenta en que las enzimas comerciales tienen pequeñas cantidades de enzima α -glucosidasa, la cual hidroliza la glucosa que esterifica a los antocianos, llevando a la producción de moléculas menos estables (Wrolstad *et al.*, 1994; Wightman y Wrolstad, 1996). Esta tendencia se mantuvo durante el tiempo, muy probablemente por la desnaturalización de las enzimas comerciales versus la mayor estabilidad de las provenientes de las levaduras (Palomero *et al.*, 2009) (Figura 27).

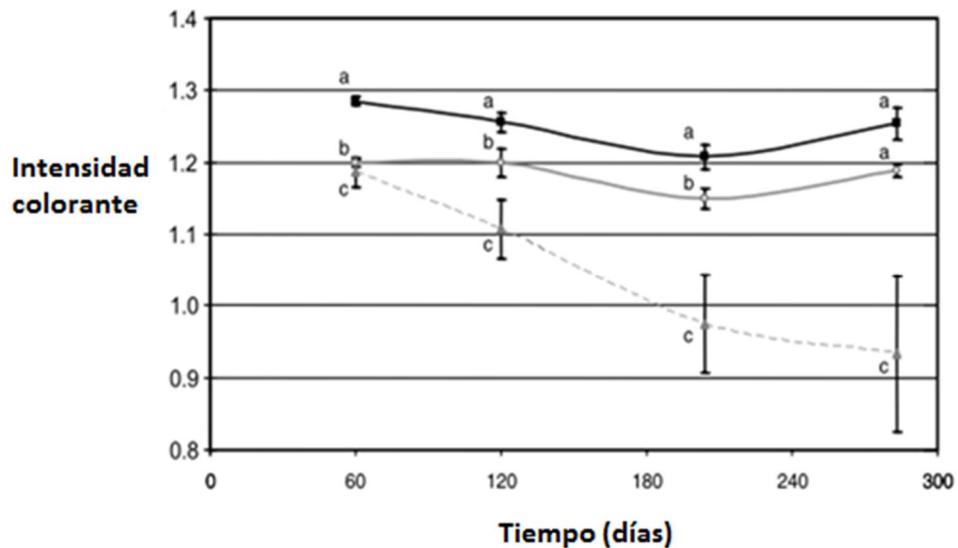


Figura 27. Intensidad colorante en vinos control (c), crianza sobre lías convencional (a) y crianza con uso de enzimas α -glucanasas (b) (Palomero *et al.*, 2009).

Preparados comerciales derivados de levadura

A pesar de los comprobados efectos positivos de la crianza sobre lías en los atributos sensoriales y tecnológicos de los vinos, se han descrito una serie de desventajas surgidas a partir de su uso, como por ejemplo aparición de olores indeseables en bodega (Del Barrio-Galán *et al.*, 2010). Como solución, la industria vitivinícola ha buscado nuevas alternativas comerciales como el uso de preparados comerciales derivados de levaduras, que permiten la liberación de compuestos como polisacáridos y manoproteínas al vino. Estos compuestos, como se ha mencionado anteriormente, pueden interactuar con compuestos fenólicos y aromáticos, modificando la percepción sensorial de los vinos (Del Barrio-Galán *et al.*, 2012a).

Según Pozo-Bayón *et al.*, 2009 (citado por Del-Barrio Galán, 2012), los preparados comerciales derivados de levaduras pueden clasificarse en

- Levaduras secas inactivas: El proceso de obtención consiste en la inactivación térmica de la levadura y su posterior secado.
- Autolisados de levaduras: Se obtienen por inactivación térmica con un proceso de incubación que permite la liberación de enzimas de la levadura que degradan parte del contenido intracelular. Están formados tanto por materia soluble como insoluble procedente de las paredes celulares.
- Extractos de levadura: Son el extracto soluble que se obtiene tras la degradación total del contenido citoplasmático.
- Paredes o corteza de levadura: Se obtienen por centrifugación durante el proceso de obtención de los extractos de levadura. Son insolubles y están compuestos únicamente por las paredes de la levadura sin contenido citoplasmático.

El efecto que los preparados comerciales puedan ejercer, va a depender directamente de su composición química, y más específicamente, de la combinación y proporción de polisacáridos y manoproteínas liberadas al medio. En esta línea de investigación, Del Barrio-Galán *et al.* (2012b), estudiaron la composición monosacáridica de distintos preparados comerciales derivados de levaduras, encontrándose proporciones de manoproteínas bastante similares en las distintas muestras, del orden del 41-43%. Las diferencias más importantes descritas por los autores tienen relación con la proporción entre los polisacáridos de alto y bajo peso molecular, lo que pareciera relevante en los fenómenos de estabilidad coloidal, según lo descrito por Palomero *et al.* (2009). Los parámetros enológicos (pH, grado alcohólico, acidez total y contenido de ácido tartárico) y la composición fenólica no demostraron diferencias significativas en los vinos blancos *cv.* Verdejo estudiados. No obstante, los mismos autores mencionaron que luego de tres meses en botella, los vinos tratados con preparados comerciales, presentaron concentraciones más altas de polifenoles totales, debido al efecto ya descrito de estabilización coloidal por parte de las manoproteínas. Corroborando lo anterior, los vinos blancos tratados con las levaduras YD-4 y YD-5 mostraron una concentración significativamente más baja de

taninos, ésteres tartáricos y flavonoles, que los vinos control (Del Barrio-Galán *et al.*, 2012b), estos últimos compuestos fenólicos relacionados con la sensación de amargor en vinos blancos.

En el mismo estudio, se encontraron cantidades significativamente más altas de polisacáridos neutros en los vinos tratados con preparados que en los vinos control, encontrándose una correlación positiva entre el contenido de manosa y el contenido de polisacáridos neutros. Otro dato relevante del estudio, es que hubo una liberación importante de polisacáridos después de mantener el vino tres meses en botella, lo que según Del Barrio-Galán *et al.* (2012) se debe a la presencia de α -glucanasas endógenas del vino, ya sea liberadas por las levaduras fermentativas o por los aditivos comerciales usados.

Levaduras y su relación con el contenido de polisacáridos

La cantidad y calidad de manoproteínas liberadas en las distintas etapas de la fermentación depende de la especie de levadura, del número de células formadas y de su condición fisiológica, que a la vez dependerá del medio de crianza (Rosi *et al.*, 2000). En este sentido, el rol tradicional de las levaduras del vino, como simples transformadoras de azúcar en etanol, ha sido significativamente ampliado a través de los conocimientos aportados por la microbiología enológica (Malherbe *et al.*, 2003). En años recientes, la selección de levaduras conlleva el desarrollo de técnicas para detectar cepas que puedan mejorar el vino en términos de su color, aroma, estructura y otras propiedades tecnológicas (Benito *et al.*, 2009).

Rosi *et al.* (2000), demostraron que distintas cepas de levadura difieren en su capacidad de producir macromoléculas. El estudio consideró, entre otras variables, la cantidad de material extracelular producido luego del proceso de fermentación. Las cepas estudiadas fueron BRG, BM45 y RC212 donde se observó que la concentración final de macromoléculas en las 2 primeras fue de 100 mg/L, mientras que en la última sólo fue de 30 mg/L. Rosi *et al.* (2000), también demostraron que la cantidad de polisacáridos liberada es altamente dependiente del metabolismo celular de la levadura, que a su vez está determinado intrínsecamente por el genotipo de la cepa utilizada. También se hicieron mediciones en la cantidad de polisacáridos de vinos tintos, donde se encontraron importantes diferencias cuantitativas. La cantidad de macromoléculas obtenidas por precipitación etanólica fue de 200 mg/L para los vinos vinificados con la cepa RC212 y 300 mg/L para los vinificados con la cepa BRG. El contenido de polisacáridos de muestras vinificadas con las cepas BRG y RC212 no fue significativamente diferente, pero la cantidad de polisacáridos ligados a compuestos fenólicos fue mayor en los vinos elaborados con la cepa BRG.

Por otro lado, se ha demostrado la importancia del medio de cultivo en la variación del contenido de polisacáridos estructurales de la pared celular de las levaduras. Pacheco *et al.*, (2005) observaron el efecto de la variación de las fuentes de carbono (glucosa, sacarosa, maltosa, manosa y etanol) y pH (3,4,5,6) en un medio mineral *öcell factory*. Las células fueron recolectadas en fase exponencial de crecimiento y se extrajo la pared celular. Los

extractos de pared se hidrolizaron con H₂SO₄ al 72% y las muestras fueron analizadas por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Se realizó una prueba de resistencia al rompimiento celular con una α -glucanasa, con células cultivadas en diferentes fuentes de carbono y pH. Los resultados del análisis por HPLC, mostraron que la composición de los polisacáridos en la pared celular, varía considerablemente con las modificaciones del medio de cultivo. Se observó que las levaduras cultivadas en sacarosa tienen mayor porcentaje de pared celular (25%) y mayor cantidad de glucanos (115 μ g/mg peso seco) y mananos (131 μ g/mg peso seco), que aquellas levaduras cultivadas en etanol (13% en peso seco). Las levaduras cultivadas a pH 5 presentaron 19% de pared celular en peso seco, mientras que a pH 6 el porcentaje fue menor (14%). Se comparó este resultado con el contenido de polisacáridos en la pared celular y se concluyó que la resistencia de la célula al rompimiento, no está ligada a la cantidad de α -glucanos contenidos en la pared celular, sino que va a depender del número de enlaces α -1,3 y α -1,6-glucanos, los cuales juegan un rol importante durante el ensamblaje de la pared.

Como se ve, hay un gran número de factores intrínsecos que está determinado por la cepa utilizada en los procesos fermentativos, lo que se suma a variaciones en la expresión fenotípica dados por condiciones ambientales, que en el caso de la levadura están determinadas por el medio de cultivo.

Intentando unificar un criterio a la hora de seleccionar levaduras, Suárez-Lepe y Morata (2012) discutieron acerca de las propiedades de las levaduras más relevantes en cuanto a su influencia en la calidad del vino. A continuación se nombran las principales propiedades descritas y los respectivos factores que las condicionan (Suárez-Lepe y Morata, 2012):

- Mejora de color:
 - Absorción de antocianos por las paredes celulares
 - Formación de piroantocianinas durante el metabolismo de las levaduras
 - Formación de piroantocianinas vinilfenólicas
 - Prevención en la formación de etilfenol
- Enriquecimiento del perfil aromático:
 - Formación de alcoholes y ésteres
 - Actividad α -glucosidasa
 - Intervención en el metabolismo del sulfuro
- Mejora de estructura y cuerpo:
 - Producción de polialcoholes enlazados
 - Producción de 2,3-butanodiolos

De los factores anteriormente mencionados, el papel de las levaduras como promotores de la síntesis de vitisinas pareciera ser fundamental en su función como agente estabilizante del

color en vinos tintos (Suárez-Lepe y Morata, 2012). Las vitisinas son copigmentos formados por una reacción de condensación entre el ácido pirúvico y los antocianos del mosto (Bakker y Timberlake, 1997). A su vez, la cantidad de ácido pirúvico está determinada en gran parte por el tipo de levadura utilizada en la fermentación.

Por su parte, Morata *et al.* (2007) demostraron que la fermentación de mostos con levaduras que contienen la enzima hidroxinamato decarboxilasa, incrementa la formación de vinilfenoles, moléculas precursoras de las piroantocianinas vinilfenólicas, responsables en parte de la estabilidad de la materia colorante en vinos (Figura 28).

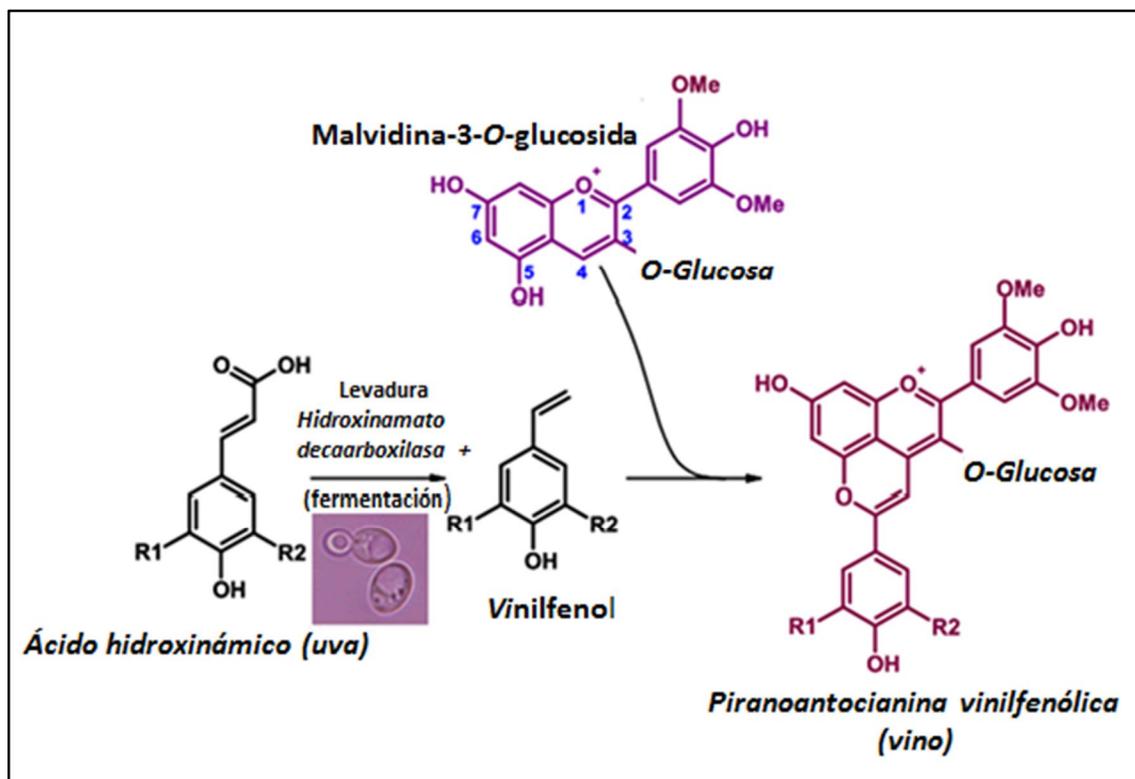


Figura 28. Formación de piroantocianinas vitilfenólicas a partir de la baya y de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* seleccionadas (Suárez-Lepe y Morata, 2012).

Polisacáridos no endógenos de uso enológico

Los compuestos fenólicos, si bien imprescindibles en los atributos de un vino, pueden provocar efectos indeseables en la calidad del mismo, tales como la sensación de astringencia. Una de las soluciones que ha propuesto la industria enológica para intentar enmascarar este defecto es el uso de polisacáridos exógenos, cuyas propiedades químicas no sólo permiten combatir la astringencia, sino que también pueden modificar la percepción de compuestos volátiles y no volátiles responsables del sabor del vino (Baines y Morris, 1987; Doyen *et al.*, 2001; Jouquand *et al.*, 2008; Koliandris *et al.*, 2008; Malkki *et al.*, 1990; Malone *et al.*, 2003).

A continuación, se describen los tres polisacáridos no endógenos mayormente estudiados en la industria vitivinícola.

Carboximetilcelulosa

La carboximetilcelulosa de Na (CMC) es un ester de celulosa cuya estructura polimérica le confiere un efecto de coloide protector. Esta sustancia es obtenida por esterificación de las funciones alcohólicas primarias de las unidades glucopiranosídicas enlazadas con enlaces esterosídicos 1-4 de tipo β (Figura 29). Por ello, las propiedades de las CMC están relacionadas con el grado de esterificación de las funciones alcohólicas y con el grado de polimerización, es decir, con el número de unidades de glucopiranososa por molécula de polímero, que determina su viscosidad (Tribuzi, 2013).

Estudios de la utilización de la CMC como inhibidor de las precipitaciones tartáricas (Crachereau *et al.*, 2001; Gerbaud *et al.*, 1997; Lubbers *et al.*, 1993; Asvany, 1986), demuestran, además del efecto inhibitorio sobre la cristalización del bitartrato de potasio, su estabilidad en el tiempo, la ausencia de toxicidad (Tusseau, 2009), la escasa retención de aromas y el buen comportamiento organoléptico en los vinos blancos (Tusseau, 2009; Moutounet *et al.*, 1999; Gerbaud, 1997). En contraparte, otros trabajos también ponen en evidencia, que las CMCs, al reaccionar con los compuestos fenólicos formando agregados intermoleculares, aumentan la turbidez de los vinos, disminuyen la intensidad colorante y pierden parte del efecto inhibitorio (Moutounet *et al.*, 1999).

En cuanto a su dosis de uso, Marchal *et al.* (2010) comprobaron que 10 g/hL eran suficientes para estabilizar vinos blancos y espumantes. Este efecto puede ser explicado en términos de la interacción entre la carga negativa de la CMC y la carga positiva de los cristales debido a una acumulación de iones potasio. Esta interacción no sólo previene el crecimiento de los cristales, sino que también modifica su estructura (Crachereau *et al.*, 2001). Dosis de 4 g/hL demostraron ser igual de eficientes que tratamientos de manoproteínas y ácido metartárico a las mismas dosis, y tan eficientes incluso como los tratamientos de frío, con la ventaja comparativa de ser mucho más estable (Gerbaud, *et al.*, 2010).

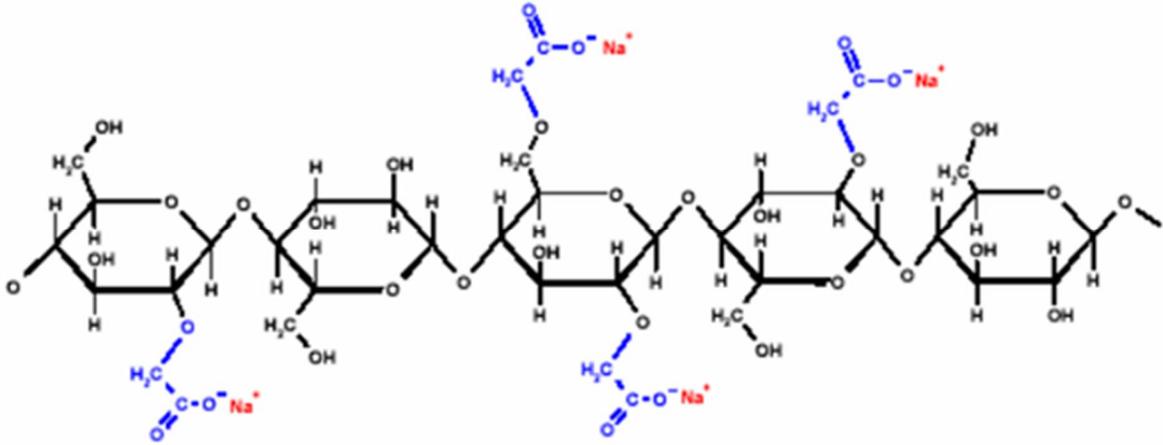


Figura 29. Estructura de la carboximetilcelulosa (Tribuzi, 2013).

Goma xantano

La goma xantano es un polisacárido con un esqueleto de β -D-glucosa como la celulosa, pero cada segunda unidad de glucosa está conectada a un trisacárido de manosa, ácido glucurónico, y manosa (Figura 30). La manosa más cercana a la cadena principal tiene un éster de ácido acético en el carbono 6, y la manosa final del trisacárido tiene un enlace entre los carbonos 6 y 4 al segundo carbono de un ácido pirúvico. Este compuesto es producido por la bacteria *Xanthomonas campestris* que se encuentra en vegetales crucíferos como la col y coliflor. Las cargas negativas en los grupos carboxilos de las cadenas laterales causan que las moléculas formen fluidos muy espesos al ser mezclados con agua. La goma xantano se usa como espesante para salsas, para prevenir la formación de cristales de hielo en los helados, como sustitutos de grasa con pocas calorías y tiene un uso menos difundido en la retención de compuestos volátiles en la industria vitivinícola. Este polisacárido frecuentemente se mezcla con la goma guar porque la viscosidad de la combinación es mayor a la de las gomas usadas solas (Díaz *et al.*, 2012).

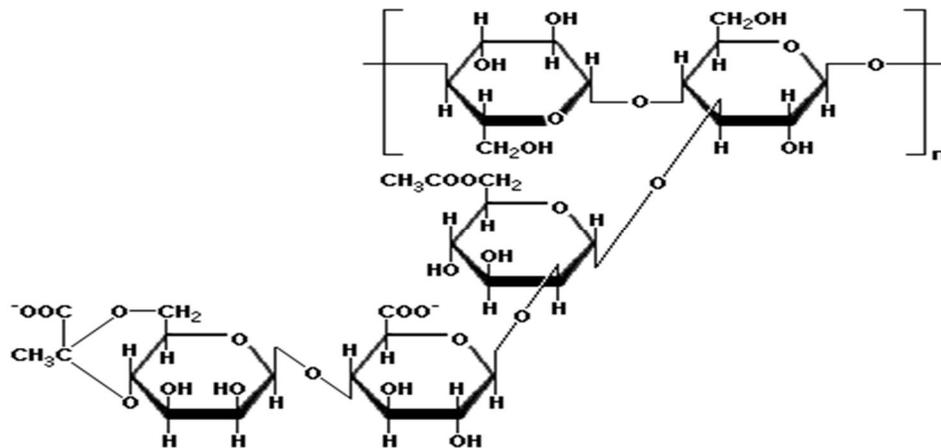


Figura 30. Estructura de la Goma Xantano (Díaz, 2012).

Troszy ska *et al.* (2010) estudiaron el efecto de los tres polisacáridos mencionados anteriormente, sobre la sensación de astringencia en vinos modelo. Para tal efecto, se definió una concentración crítica del polisacárido (cuya nomenclatura es *c), en la cual este comienza a interactuar con otras moléculas presentes en el vino. Los resultados obtenidos a partir de este valor crítico de concentración, demostraron ser bastante parecidos entre la carboximetilcelulosa, la goma xantano y la goma arábica (Figura 32).

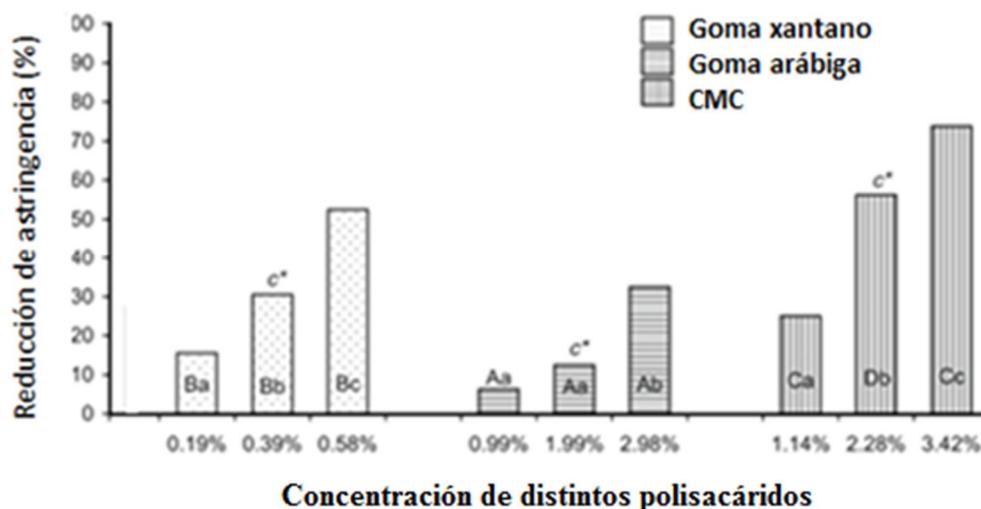


Figura 32. Porcentajes de reducción de la sensación de astringencia en goma arábica, goma xantano y carboximetilcelulosa (Troszy ska *et al.* 2010).

A partir de lo descrito anteriormente, es posible señalar que la CMC tiene un potencial importante de uso para la estabilización de vinos, considerando también la escasa estabilidad en el tiempo del ácido metatartárico y el efecto negativo de la estabilización por frío en varios parámetros cualitativos del vino (Tribuzi, 2013). Pese a que este polisacárido actúa por inhibición y no por eliminación de las sales de bitartrato de potasio, su modo de acción es bastante eficiente con la ventaja comparativa de ser un método económicamente más atractivo frente a la estabilización por frío. La goma arábica por su parte, tiene un amplio efecto como coloide protector que va desde la estabilización tartárica de los vinos hasta la interacción con flavanoles como la catequina, reduciendo la sensación de astringencia. En contraparte, la goma xantano tiene un uso bastante menos difundido en la industria vitivinícola, pero por su capacidad de retención de compuestos volátiles, pareciera tener un potencial importante en el tratamiento de vinos con defectos aromáticos.

CONCLUSIONES

- Los grupos de polisacáridos presentes en uva y levaduras están químicamente identificados, a pesar de lo cual las concentraciones en baya de arabinanos y de arabinogalactanos I y II aún no se encuentran cuantificadas.
- La presencia en el vino de los distintos polisacáridos de la baya, depende en gran parte de la conformación estructural de las pectinas, pues este factor determina los sitios activos de acción enzimática durante el proceso de fermentación.
- Las manoproteínas son los polisacáridos de mayor interés enológico, pues interactúan con los compuestos fenólicos de múltiples maneras.
- La influencia de los polisacáridos sobre la estabilidad colorante es bastante compleja, pues no sólo depende de la interacción con las manoproteínas, sino también de factores metabólicos relacionados con la cepa de levadura utilizada en la vinificación.
- El efecto de los polisacáridos sobre la estabilidad aromática depende tanto de la concentración y naturaleza de las manoproteínas liberadas a lo largo de la autólisis como del tipo de compuesto aromático.
- Los preparados comerciales derivados de levaduras deben seguir siendo estudiados, especialmente cuando se intenta corregir vinos con problemas de coloración y astringentes.
- La crianza sobre lías es una técnica que permite mejorar la estructura de los vinos, principalmente por la liberación de los polisacáridos parietales, que actúan como coloides protectores, sin embargo es necesario continuar estudiando este tipo de crianza para poder dar mayor certidumbre de su efecto en la calidad físico-química y sensorial de los vinos.
- Para identificar el proceso exacto de cómo los polisacáridos intervienen en la disminución de la quiebra proteica, es necesario el uso de tecnología avanzada que permita dilucidar claramente cuáles son las moléculas responsables y qué partes estructurales de estas moléculas interactúan.
- La influencia de los polisacáridos sobre las propiedades sensoriales en boca está ampliamente estudiada y existen los argumentos suficientes para respaldarla.
- La aplicación de técnicas biomoleculares para la selección de levaduras altamente productoras de manoproteínas es una de las prioridades del sector vitivinícola.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar-Uscanga, B., J. Solis-Pacheco and J. Francois. 2005. Estudio de la variación de la composición de los polisacáridos contenidos en la pared celular de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. E-Gnosis. Revista digital científica y tecnológica. www. E-gnosis.udg.mx/vol3/art.12 (vol. 3), art. 12.
- Albersheim, P., J. An, G. Freshour, M. S. Fuller, R. Guillén, K. Ham, M. G. Hahn, J. Huang, M. A. O'Neill, A. Whitcombe, M. V. Williams, W. S. York and A. G. Darvill. 1996. Structure and function studies of plant cell wall polysaccharides. *Biochemical Society Transactions*, 22: 374-378.
- Amory, D. E., P. G. Rouxhet, and J.P. Dufour. 1988. Flocculence of brewery yeasts and their surface properties: chemical composition, electrostatic charge and hydrophobicity. *Journal of the Institute of Brewing* 94(2): 79-84.
- Asvany, A. 1986. Résultats récents de l'utilisation de carboxyméthylcellulose. 15e sesión du groupe d'expert technologie du vin O.I.V., doc. 1425/87.
- Bacic, A., P.J. Harris and B. A. Stone. 1988. Structure and function of plant cell walls. En: *The Biochemistry of Plants*, Preiss, J. (Ed.), Academic Press, New York, pp. 297-371.
- Baines, Z. V. and E. R. Morris. 1987. Flavour/taste perception in thickening system: the effect of guar gum above and below c^* . *Food Hydrocolloids* 3: 197-205.
- Bajard-Sparrow, C., M. Causette, C. Fauveau, P. Latham, P. Pellerin, P. and P. Lankhorst. 2007. Claristar. Nuevo producto para la estabilización tartárica. DMS Food Specialtes. http://www.dsm.com/en_US/downloads/oenology/tartrate_stabilisation_sp.pdf.
- Bakker, J. and C. F. Timberlake. 1997. Isolation, identification and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45: 35-43.
- Benito, S., F. Palomero, A. Morata, F. Calderón and J. A. Suárez Lepe. 2009. Factors affecting the hydroxycinnamate decarboxylase/vinylphenol reductase activity of *Dekkera/Brettanomyces*: application for *Dekkera/Brettanomyces* control in red wine making. *Journal of Food Science* 74(1): 15-22.
- Blaise, A., M. Pacaud and M. Pauly. 2006. El Bâtonnage, técnica innovadora en la crianza de los vinos, Aplicación práctica: utilización de derivados de levaduras. *Revista Enología N*, 11, 64.
- Blouin, J. y G. Guimberteau. 2003. *Maduración y madurez de la uva*. Primera edición. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, España. 151 p.

- Bowen, W. R. and T. J. Ventham. 1994. Aspects of yeast flocculation, size distribution and zeta potential. *Journal of the Institute of Brewing*, 100(3): 167-172.
- Cabib, E., D.H. Roh, M. Schmidt, L.B. Crotti and A. Varma. 2001. The yeast cell wall and septum as paradigms of cell growth and morphogenesis. *Journal of Biological Chemistry*. 276: 19679-19682.
- Cainelli, J. 2007. Goma arábica: un protector natural de los vinos revisión de conceptos sobre su utilización en enología. *Enología* 5: 1-4.
- Canals, R., M.C. Llaudy, J. Valls, J.M. Canals and F. Zamora. 2005. Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10): 4019-4025.
- Caridi, A. 2006. Enological functions of parietal yeast mannoproteins. *Antonie van Leeuwenhoek* 89: 417-422.
- Carpita, N. C. and Gibeaut. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *The Plant Journal*, 3: 1-30.
- Cartaya, O., C. Peniche and I. Reynaldo. 2009. Polímeros naturales recolectores de iones metálicos. *Revista Iberoamericana Polímeros* 10: 81-94.
- Carvalho, E., N. Mateus, B. Plet, I. Pianet, E. Dufourc and V. De Freitas. 2006. Influence of wine pectic polysaccharides on the interactions between condensed tannins and salivary proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (23): 8936-8944.
- Chalier, P., B. Angot, D. Delteil, T. Doco and Z. Gunata. 2007. Interactions between aroma compounds and whole mannoprotein isolated from *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food Chemistry*, 100, 22-30.
- Charpentier, C., A.M. Dos-Santos and M. Feuillat. 2004. Release of macromolecules by *Saccharomyces cerevisiae* during ageing of French flor sherry Wine vin jaune. *International Journal of Food Microbiology* 96 (3): 253-262.
- Chinachoti, P. 1995. Carbohydrates: Functionally in foods. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61, 922-929.
- Cid, V. J., A. Durán, F. Del Rey, M.P. Zinder, C. Nombela and M. Sánchez. 1995. Molecular basis of cell integrity and morphogenesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological Reviews* 59: 345-386.
- Comuzzo P., L. Tat, D. Fenzy, L. Brotto, F. Battistuta and R. Zironi. 2011. Interactions between yeast autolysates and volatile compounds in wine and model solution. *Food Chemistry* 127: 473-480.

Cosgrove, D. J. 2005. Growth of the plant cell wall. *Nature reviews molecular cell biology*, 6(11), 850-861.

Crachereau, J. C., N. Gabas, J. Blouin, B. Hebrard and A. Meujean. 2001. Stabilisation tartrique des vins par la carboxyméthylcellulose (CMC). *Bulletin O.I.V.*, 74(841-842): 151-159.

Dawes, H., S. Boyes, J. Keene and D. Heatherbell. 1994. Protein instability of wines: influence of protein isoelectric point. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 319-326.

Del Barrio-Galán, R., M. Sánchez-Iglesias, M. Ortega-Heras, C. González-Huerta and S. Pérez-Magariño. 2010. Efecto de la aplicación de diferentes derivados de levaduras comerciales sobre la calidad de vinos blancos. *Enoviticultura*, 3: 14-22.

Del Barrio-Galán, R. 2012. Crianza sobre lías y uso de preparados comerciales derivados de levadura en la calidad de vinos blancos y tintos. Tesis doctoral. Universidad de Salamanca, Salamanca (España). 353p.

Del Barrio-Galán, R., S. Pérez-Magariño, M. Ortega-Heras, Z. Guadalupe and B. Ayestarán. 2012a. Polysaccharide characterization of commercial dry yeast preparations and their effect on white and red wine composition. *LWT-Food Science and Technology*, 48(2), 215-223.

Del Barrio-Galán, R., M. Ortega-Heras, M. Sánchez-Iglesias and S. Pérez-Magariño. 2012b. Interactions of phenolic and volatile compounds with yeast lees, commercial yeast derivatives and non toasted chips in model solutions and young red wines. *European Food Research and Technology*, 234(2), 231-244.

Dey, P. M. and K. Brinson. 1984. Plant cell-walls. *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry* 42: 265-382.

Diaz, J. R., L. Torelli, E. Vega and M. Masuelli. 2012. Influencia de la fuerza iónica en las propiedades hidrodinámicas de goma xántica.

Dharmadhikari, M. 1994. Composition of grapes. *Vineyard and Vintage Review*, Missouri State University, 9 (7/8): 3-8. United States of America. Disponible en: <<http://www.extension.iastate.edu/wine/sites/www.extension.iastate.edu/files/wine/compositionofgrapes.pdf>>.

Doco, T., P. Vuchot, M.V. Cheynier and M. Moutounet. 2003. Structural modification of wine arabinogalactans during aging on lees. *American journal of enology and viticulture*, 54(3): 150-157.

Doco, T., P. Williams and V. Cheynier. 2007. Effect of flash release and pectinolytic enzyme treatments on wine polysaccharide composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(16): 6643-6649.

Dokoozlian, N. and W. Kliewer. 1996. Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121 (5): 869-874.

Doyen, K., M. Caret, R.S.T. Linforth and A.J. Taylor 2001. Volatile release from an emulsion: headspace and in mouth studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 804-810.

Dubourdieu, D. 1992. Vinification des vins blancs secs en barriques. Le bois et la qualité des vins et des eaux-de-vies. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 137-143.

Dubourdieu, D. and V. Moine. 1997. Role of yeast mannoproteins in tartrate stability of wines. *Revue des Oenologues et des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques* 85: 17.

Dufour, C. and C. L. Bayonove. 1999. Influence of wine structurally different polysaccharides on the volatility of aroma substances in a model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 671-677.

Dupin, I.V.S., V.J. Stockdale, P.J. Williams, G.P Jones, A.J. Markides and E. J. Waters. 2000. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1086-1095.

Escot, S., M. Feuillat, L. Dulau and C. Charpentier. 2001. Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 7(3): 153-159.

Fanzone, M., F. Zamora, V. Jofré, M. Assof, C. Gómez Cordovés and A. Peña-Neira 2012. Phenolic characterisation of red wines from different grape varieties cultivated in Mendoza province (Argentina). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92(3): 704-718.

Ferreira, R.B., M.A. Picarra-Perreira, S. Monteiro, V.B. Loureiro and A. R. Teixeira. 2001. The Wine proteins. *Trends in Food Science and Technology*, 12: 230-239.

Feuillat, M. Preparation of yeast's autolysates and their addition to sparkling wines manufactured by the Champenoise method. *Revista Francese de Oenologie* 109: 17-27.

Feuillat, M. and C. Charpentier. 1998. Yeast's mannoproteins: a new possible oenological adjuvant. *Bulletin Office International de la Vigne et du Vin*, 71(813,814): 9446967.

Flanzy, C. 2000. *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. AMV. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 795p

Flanzy, C. 2003. *Enología fundamentos científicos y tecnológicos*. Segunda edición. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, España. 782 p.

- Fleet, G. H. and Manners. 1977. The enzymic degradation of an alkali-soluble glucan from the cell walls of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Genetic Microbiological* 98: 315-327.
- Fleet, G. H. 1991. Cell Walls. En: *The Yeast*. Volumen IV. Rose, A. H. and J.S. Harrison (Editores). Academic Press, Londres (Inglaterra), pp. 200-277.
- Fornairon, C. and J. M. Salmon. 2003. Impact of oxygen consumption by yeast lees on the autolysis phenomenon during simulation of wine aging on lees. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 51: 2584-2590.
- Frevert, J. and C. E. Ballou. 1985. *Saccharomyces cerevisiae* structural cell wall mannoprotein. *Biochemistry* 24(3): 753-759.
- Gawel, R. 1998. Red wine astringency: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 4: 74-95.
- Gerbaud, V., Gabas, N., Blouin, J., Pellerin, P., and M. Moutunet. 1997. Influence of wine polysaccharides and polyphenols on the crystallization of potassium hydrogen tartrate. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 31(2), 65-83.
- Gibbons, B.J., Roach, P.J., and T. D. Hurley. 2002. Crystal Structure of the autocatalytic initiator of glycogen synthesis, glycogenin. *J. Mol. Biol.* 319:463-477.
- Goertges S. and R. Stock. 2000. Crystals in wine. Crystal stabilization and stability control. *Deutsche weinmagazin* 2: 24-28.
- Gonçalves, F. and A. Heyraud. 2002. Characterization of White Wine Mannoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(21): 6097-6101.
- González-Ramos, D.; Cebollero, E. and R. González. 2008. Recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain overproducing mannoproteins stabilizes Wine against protein haze. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 5533-5540.
- Grant Reid, J. S. 2000. Cementing the wall: cell wall polysaccharide synthesizing enzymes. *Current Opinion in Plant Biology* 3: 512-516.
- Guadalupe, Z.; Palacios, A. and B. Ayestarán. 2007. Maceration enzymes and mannoproteins: A posible strategy to increase colloidal stability and color extraction in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 4854-4862.
- Guadalupe, Z. and B. Ayestarán. 2008. Effect of commercial mannoprotein addition on polysaccharide, polyphenolic, and color composition in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 9022-9029.

Guadalupe, Z., L. Martinez and B. Ayestarán. 2010. Yeast mannoproteins in red winemaking: Effect on polysaccharide, polyphenolic, and color composition. *American Journal of Enology and Viticulture* 61 (2): 191-200.

Guilloux-Benatier, M. and D. Chassagne. 2003. Comparison of components released by fermented or active dried yeasts after aging on lees in a model wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 746-751.

Ha, C. H., K.H. Lim, Y.T Kim, S.T. Lim, C.W. Kim and H. I. Chang. 2002. Analysis of alkali-soluble glucan produced by *Saccharomyces cerevisiae* wild type and mutants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58, 370-377.

Hatano, T., M. Hori, R. Hemingway and T. Yoshida. 2003. Size exclusion chromatographic analysis of polyphenol-serum albumin complexes. *Phytochemistry* 63: 817-823.

Hidalgo, J. 2003. *Tratado de Enología. Volumen 1.* Mundi-prensa, Madrid (España).

Hidalgo, J. 2006. Síntesis y evolución de los principales compuestos de la uva. En: *La calidad del vino desde el viñedo.* Mundi-prensa, Madrid (España), pp. 187-254.

Hidalgo, J. 2010. *Tratado de Enología. 2^{da} edición.* Mundi-prensa, Madrid (España).

Hiemenz, P. C. and R. Rajagopalan. 1986. *Principles of colloid and surface Chemistry* Marcel Dekker. New York, 677-735.

Hsu, J.C. and D. A. Heatherbell. 1987. Heat-unstable proteins in wine. Characterization and removal by bentonite fining and heat treatment. *American Journal of Enology and Viticulture* 38: 11-16.

Humbert-Goffard, A., C. Saucier, V. Moine-Ledoux, R.M. Canal-Llaubéres, D. Dubourdiou and Y. Glories. 2004. *Enzyme and Microbial Technology* 34: 537-543.

Jackson, D. I. and P. B. Lombard. Environmental and Management practices affecting grape composition and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1993. 44: 409-430.

Jarvis, M. C. 1998. Intercellular separation forces generated by intercellular pressure. *Plant, Cell and Environment*, 21: 1307-1310.

Jouquand, C., Y. Aguni, C. Malhiac and M. Grisel. 2008. Influence of chemical composition of polysaccharides on aroma retention. *Food Hydrocolloids* 22(6): 1097-1104.

Juega, M., Y.P Nunez, A.V. Carrascosa and A. J. Martinez Rodriguez. 2012. Influence of Yeast Mannoproteins in the Aroma Improvement of White Wines. *Journal of food science* 77(8): 499-504.

- Klis, F. M.; P. Mol, K. Hellingwerf and S. Brul. 2002. Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Microbiology Reviews, 26, 239-256.
- Klis, F. M.; A. Boorsma and P. W. J. de Groot. 2006. Cell wall constitution in *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast 23: 185-202.
- Koliandris A., A .Lee, A. Ferry, S. Hill and J. Mitchell. 2008. Relation between structure of hydrocolloid gels and solutions and flavor release. Food Hydrocolloids 22: 623-630.
- Lau, J. M.; M. McNeil, A.G. Darvill and P. Albersheim. 1985. Structure of the backbone of rhamnogalacturonano I, a pectic polysaccharide in the primary cell walls of plants. Carbohydrate Research, 137: 111-125.
- Lecas, M. and J.M. Brillouet. 1994. Cell wall composition of grape berry skins. Phytochemistry, 35(5), 1241-1243.
- Ledoux, V.; L. Dulau and D. Dubourdieu. 1992. Interprétation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins au cours de l'élevage sur lies. Journal Internationale des Sciences de Vignes et Vin. 26: 239-251.
- Lesage, G. and H. Bussey. 2006. Cell Wall assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 70, 317-343.
- Liesen, T., C.P. Hollenberg and J. J. Heinisch. 1996. ERA, a novel cisacting element required for autoregulation and ethanol repression of PDC1 transcription in *Saccharomyces cerevisiae*. Molecular microbiology, 21(3): 621-632.
- Lomolino, G. and A. Curioni. 2007. Protein haze formation in White wines: Effect of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall components prepared with different procedures. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 8737-8744.
- Lubbers, S., B. Leger, C. Charpentier and M. Feuillat. 1993. Inhibitory effect of yeast wall extracts on the potassium hydrogen tartrate precipitation in an ethanolic solution. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin 27: 13-22.
- Lubbers, S., C. Charpentier, M. Feuillat and A. Voilley. 1994. Influence of yeast cell walls on the behavior of aroma compounds in a model wine. American Journal of Enology and Viticulture, 45, 29-33.
- Lurton, L., J.P. Segain and M. Feuillat. 1989. Proteolysis during the autolysis of yeasts under acidic conditions. Sciences des Aliments, 9.
- Malherbe, D. F., M. Du Toit, R.C. Otero, P. Van Rensburg and I. S. Pretorius. 2003. Expression of the *Aspergillus niger* glucose oxidase gene in *Saccharomyces cerevisiae* and its potential applications in wine production. Applied microbiology and biotechnology, 61(5-6): 502-511.

- Malkki, Y., R. Heinio and K. Autio. 1990. Influence of oat gum, guar gum and carboxymethyl cellulose on the perception of sweetness and flavor. *Food Hydrocolloids* 6: 525-532.
- Malone, M., I. Appelqvist and I. Norton. 2003. Oral behavior of food hydrocolloids and emulsion. Part 2. Taste and aroma release. *Food Hydrocolloids* 17: 775-784.
- Marchal, R., M. Laigrrre and V. Legras. 2010. Utilisation de la CMC pour la stabilisation tartrique des vins blancs: résultats expérimentaux. *Revue des Enologues* 133. 41p.
- Marín, F. Z. 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. Mundi-Prensa Libros.
- Mateus, N., J. Oliveira, J. Pissarra, A.M. González-Paramás, J.C Rivas-Gonzalo, C. Santos-Buelga, A. Silva and V. de Freitas. 2006. A new vinylpyranoanthocyanin pigment occurring in aged red Wine. *Food Chemistry*, 97, 689-695.
- McCann, M. C., M. Bush, D.Milioni, P.Sado, N.J Stacey, G. Catchpole; G., M. Defernez, N.C. Carpota, H. Hofte, P. Ulskov, R.H. Wilson and K. Roberts. 2001. Approaches to understanding the functional architecture of the plant cell wall. *Phytochemistry*, 57: 811-821.
- McMurry, J. 2008. *Química Orgánica*. 7^{ma} ed. Cepage Learning Editores. Santa Fe, México. 1002p.
- McNeil, M., A.G. Darvill, S.C Fry and P. Albersheim. 1984. Structure and function of the primary cell walls of plants. *Annual Review of Biochemistry*, 53: 625-663.
- Moine-Ledoux, V., A. Perrin, I. Paladin and D. Dubourdiou. 1997. First result of tartaric stabilization by adding mannoproteins (Mannostab (R)). *Journal International des Sciences de la Vigne et du vin* 3 (1): 23-31.
- Moine-Ledoux, V. and D. Dubourdiou. 1999. An invertasa fragment responsible for improving the protein stability of dry white wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 537-543.
- Moine-Ledoux, V. and D. Dubourdiou. 2002. Role of yeast mannoproteins with regard to tartaric stabilization of wines. *Bulletin- Office International de la Vigne et du Vin*, 75 (857,858): 471-482.
- Molina, M., C. Gil, J. Pla, J. Arroyo and C. Nombela. 2000. Protein localisation approaches for understanding yeast cell wall biogenesis. *Microscopy research and Technique*, 51, 601-612.
- Morata A., C. González and J. A. Suárez-Lepe. 2007. Formation of vinylphenolic pyranoanthocyanins by selected yeasts fermenting red grape musts supplemented with hydroxycinnamic acids. *International Journal of Food Microbiology* 116. 144-152.

- Moutounet, M., B. Saint Pierre, J.L. Battle and J. L. Escudier. 1999. Stabilisation tartrique. Détermination du degré d'instabilité des vins. Mesure de l'efficacité des inhibiteurs de cristallisation. In VI International Oenologie Symposium. Bordeaux 10-12 juin 1999. 531-534.
- Navascués, E. 2010. El papel de las manoproteínas en la elaboración de vinos de calidad. *Enología Vinote Q.* 47: 21-23.
- Nguyen, T., G. and P. Rogers. 1998. Composition of the cell walls of several yeast species. *Application Microbiological Biotechnology.* 50: 206-212.
- Nunan, K., I. Sims, A. Bacic, S. Robinson and G. Fincher. 1998. Changes in cell wall composition during ripening of grape berries. *Plant Physiology* 118 (3): 783 -792.
- Oakenfull, D. and A. Scott. 1984. Hydrophobic interaction in the gelation of high methoxyl pectins. *Journal of Food Science,* 49, 1093-1098.
- O'Neill, M. A., D. Warrenfels, K. Kates, P. Pellerin, T. Doco, A.G. Darvill and P. Albersheim. 1996. Rhamnogalacturonan-II: a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cells, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester. *Journal of Biological Chemistry,* 271: 22923-22930.
- Pacheco, J. S., B.A. Uscanga and J. François. 2005. Estudio de la variación de la composición de los polisacáridos contenidos en la pared celular de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. *e-Gnosis,* 3, 10.
- Palomero, F., A. Morata, S. Benito, M.C. González and J. A. Suárez-Lepe. 2007. Conventional and enzyme-assisted autolysis during ageing over lees in red wines: Influence on the release of polysaccharides from yeast cell walls and on Wine monomeric anthocyanin content. *Food Chemistry,* 105, 838-846.
- Palomero, F., S. Benito, A. Morata, W. Tesfaye, M.C. González and J. A. Suárez-Lepe. 2009. Effect on the autolysis process and the colouring matter of several commercial preparations with α -glucanase action in red winemaking. *European Food Research and Technology,* 229, 585-592.
- Pauly, M., P. Albersheim, A.G. Darvill and W. S. York. 1999. Molecular domains of the cellulose/xyloglucan network in the cell walls of higher plants. *The Plant Journal,* 20: 629-639.
- Pellerin, P. and J. C. Cabanis, 1998. Los glúcidos. Pp. 66-96. In: Flazy, C. 2003. *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos.* 2^{da} ed. Ediciones mundi-prensa, Madrid, España. 805p.
- Peña-Neira, A. 2005. Composición fenólica de uvas y vinos. Aspectos generales. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación de Baja California. Cytel-Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 35 p.

- Peña-Neira, A. 2006. En la calidad de uvas y vino los taninos y su importancia. Informe enológico. Vendimia (abril):18-20
- Pinelo, M., A. Arnous and A.S. Meyer. 2006. Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. Trends in food science & technology, 17(11): 579-590.
- Poncet-Legrand, C., D. Cartalade, J.L. Putaux, V. Cheynier and A. Vernhet. 2003. Flavan-3-ol aggregation in model ethanolic solutions: Incidence of polyphenol structure, concentration, ethanol content, and ionic strength. Langmuir 19(25): 10563-10572.
- Poncet-Legrand, C., T. Doco, P. Williams and A. Vernhet. 2007. Inhibition of grape seed tannin aggregation by wine mannoproteins: Effect of polysaccharide molecular weight. American Journal of Enology and Viticulture, 58, 87-91.
- Pontón, J. 2008. La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. Revista Iberoamericana de Micología 25(2): 78-82.
- Pozo-Bayón, M., I. Andújar-Ortiz and M. V. Moreno-Arribas. 2009. Preparados enológicos comerciales a base de levaduras secas inactivas: modo de acción y principales aplicaciones durante la vinificación. ACE: Revista de enología 110: 2.
- Pueyo, E., A. Martínez-Rodríguez, M.C. Polo, G. Santa-María and B. Bartolomé. 2000. Release of lipids during yeast autolysis in a model wine system. Journal of agricultural and food chemistry 48(1): 116-122.
- Ribéreau-Gayon, P., Y. Glories, A. Maujean and D. Dubourdieu. 1999. Clarification and stabilization treatments: fining wine. Handbook of Enology: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments, Volume 2, 2nd Edition, 301-331.
- Rinaudo, M. 2004. Role of substituents on the properties of some polysaccharides. Biomacromolecules, 5 (4), 1155-1165.
- Riou, V., A. Vernhet, T. Doco and M. Moutounet. 2002. Aggregation of grape seed tannins in model wine effect of wine polysaccharides. Food Hydrocolloids, 16.
- Riu-Aumatell, M.; M. López-Barajas, E. López-Tamames and S. Buxaderas. 2002. Influence of yield and maturation index on polysaccharides and other compounds of grape juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 4604-4607.
- Rodríguez-Bencomo, J. J., M. Ortega-Heras and S. Pérez-Magariño. 2010. Effect of alternative techniques to ageing on lees and use of non-toasted oak chips in alcoholic fermentation on the aromatic composition of a red Wine. European Food Research and Technology, 230, 485-496.
- Roldan, J. C. and B. Vian. 1981. Use of purified endopolygalacturonase for a topochemical study of elongation cell walls at the ultrastructural level. Journal of Cell Science 48: 333-343.

- Rosenfeld, E., B. Beauvoit, B. Blondin and J. M. Salmon. 2003. Oxygen consumption by anaerobic *Saccharomyces cerevisiae* in enological conditions: effect on fermentation kinetics. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 113-121.
- Rosi, I., A. Gheri, P. Domizio and G. Fía. 2000. Production de macromolécules pariétales de *Saccharomyces cerevisiae* au cours de la fermentation et leur influence sur la fermentation malolactique. *Revue des Oenologues*, 94, 18-20.
- Salmon, J. M. 2006. Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: Practical implications. *LWT-Food Science and Technology* 39: 959-965.
- Sarni-Manchado, P., V. Cheynier and M. Moutounet. 1999. Interactions of grape seed tannins with salivary proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 42-47.
- Saucier, C., Y. Glories and D. Roux. 2000. Interactions tanins-colloides: Nouvelles avancées concernant la notion de bons et de mauvais tanins. *La Revue des Oenologues*, 94, 7-8.
- Saulnier, L. and J. F. Thibault. 1987. Enzymic degradation of isolated pectic substances and cell wall from pulp of grape berries. *Carbohydrate polymers*, 7(5): 345-360.
- Saulnier, L., J.M. Brillouet and Joseleau, J. P. 1988. Structural studies of pectic substances from the pulp of grape berries. *Carbohydrate Research*, 182(1), 63-78.
- Selvendran, R. R. 1985. Developments in the chemistry and biochemistry of pectic and hemicellulosic polymers. *Journal of Cell Science Supplement*, 2: 51-88.
- Stevenson, T., A. G. Darvill and P. Albersheim. 1988. 3-Deoxy-D-Ixyo-2-heptulosaric acid, a component of the plant cell-wall polysaccharide rhamnogalacturonan II. *Carbohydrate Research*, 179: 269-288.
- Suárez-Lepe, J. A. and A. Morata. 2012. New trends in yeast selection for winemaking. *Trends in Food Science & Technology* 23(1): 39-50.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2006. *Fisiología Vegetal*. 3^{era} ed. Universitat Jaume. California, Los Ángeles. 1338p.
- Terrier N., L. Torregrosa, A. Ageorges, S. Vialet, C. Verries, V. Cheynier and C. Romieu. 2009. Ectopic expression of VvMybPA2 promotes proanthocyanidin biosynthesis in *Vitis vinifera* and suggests additional targets in the pathway. *Plant Physiol* 149: 102861041.
- Togores, J. H. 2007. Fermentación maloláctica en barrica. *Viticultura enología profesional*, 110: 63-65.
- Tribuzi, G. 2013. Estudio del efecto de distintos tratamientos en la estabilidad de los vinos.

Troszyska, A., O. Narolewska, S. Robredo, I. Estrella, T. Hernández, G. Lamparski and Amarowicz. 2010. The effect of polysaccharides on the astringency induced by phenolic compounds. *Food Quality and Preference* 21(5): 463-469.

Tusseau, D. 2009. Stabilisation des sels d'acide tartrique des vins par les gommages de cellulose. *Journée technique des Oenologues*, Epernay.

Úbeda, R. M. 2000. *Teoría de la clarificación de mostos y vinos y sus aplicaciones prácticas*. Mundi-Prensa Libros.

Verduyn, C., E. Postma, W. Scheffers and J. Van Dijken. 1992. Effect of benzoic acid on metabolic fluxes in yeast: a continuous-culture study on the regulation of respiration and alcoholic fermentation. *Yeast* 8: 501-517.

Vernhaut, A., P. Pellerin, C. Prieur, J. Osmianski and M. Moutounet. 1996. Charge properties of some grape and wine polysaccharide and polyphenolic fractions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(1), 25-30.

Vidal, S., P. Williams, M.A. O'Neill and P. Pellerin. 2001. Polysaccharides from grape berry cell walls. Part 1: Tissue distribution and structural characterization of pectic polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 45, 315-323.

Vidal, S., P. Williams, T. Doco, M. Moutounet and P. Pellerin. 2003. The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterization. *Carbohydrate Polymers* 54(4): 439-447.

Vidal, S., P. Courcoux, L. Francis, M. Kwiatkowski, R. Gawel, P. Williams, E. Waters and V. Cheynier. 2004a. Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components on mouth-feel perception. *Food Quality and Preference* 15(3): 209-217.

Vidal, S., L. Francis, P. Williams, M. Kwiatkowski, R. Gawel, V. Cheynier and E. Waters. 2004b. The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium. *Food Chemistry* 85(4): 519-525.

Villetaz, J. C., R. Amado and H. Neukom. 1981. Structural investigations of an arabinan from grape juice. *Carbohydrates and Polymers* 1: 101-105.

Wang, F., Y.J. Wang and Z. Sun. 2002a. Conformational role of xanthan gum in its interaction with locust bean gum. *Journal of Food Science*, 67(7), 2609-2614.

Wang, F., J. Wang and Z. Sun. 2002b. Conformational role of xanthan gum in its interaction with guar gum. *Journal of Food Science*, 67(9), 3289-3294.

Waters, E.J., W. Wallace, M.E. Tate and P. J. Williams. 1993. Isolation and partial characterization of a natural haze protective factor from wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 724-730.

- Waters, E.J., P. Pellerin and J. M. Brillouet. 1994. A *Saccharomyces* mannoprotein that protects wine from protein haze. *Carbohydrate Polymers* 23 (3): 185-191.
- Waters, E.J., N.J. Shirley and P. J. Williams. 1996. Nuisance proteins of wine are grape pathogenesis-related proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 3-5.
- Wightman, J. D. and R. E. Wrolstad. 1996. α -glucosidase activity in juice processing enzymes based on anthocyanin analysis. *Journal of Food Science* 61:544-552.
- Wrolstad, R. E., J. D. Wightman and R. W. Durst. 1994. Glycosidase activity of enzyme preparations used in fruit processing. *Food Technology* 11: 90-98.
- Yakushiji, H., N. Sakurai and K. Morinaga. 2001. Changes in cell wall polysaccharides from the mesocarp of grape berries during veraison. *Physiologia Plantarum*, 111(2), 188-195.
- Zamora, F. 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. AMV Ediciones. Ediciones MundiPrensa. 224p.
- Zlotnik, H., M.P. Fernández, B. Browsers and E. Cabib. 1984. *Saccharomyces cerevisiae* manoproteins from an external cell wall layer that determines wall porosity. *Journal of Bacteriology*, 159, 1018-1026.