

Aplicação de Técnicas Imunológicas no Estudo das Proteínas de Castas e Vinhos do Dão

Maria A. Piçarra-Pereira^{1,2}, Sara A. Monteiro¹, Virgílio B. Loureiro¹, Artur R. Teixeira¹ e Ricardo B. Ferreira¹

¹Departamento de Botânica e Engenharia Biológica, Instituto Superior de Agronomia, 1399 Lisboa Codex.

²Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco, 6001 Castelo Branco Codex.

Os vinhos contêm quantidades consideráveis de proteínas. A presença destes compostos azotados causa preocupação aos vinicultores porque as proteínas podem tornar-se insolúveis e precipitar. O aparecimento de turvação ou depósito no vinho engarrafado indica que ele é instável e, conseqüentemente, de baixo valor comercial. Um conhecimento detalhado das proteínas presentes nas uvas e nos vinhos e dos factores responsáveis pela turvação é da maior importância para os produtores de sumo de uva e vinicultores.

No trabalho anterior fez-se um estudo das proteínas dum vinho duma casta da região do Dão - Assario Branco.

A região demarcada do Dão ocupa quase toda a zona sul da provincia da Beira Alta. Os solos desta região têm uma camada arável pouco profunda, sendo a camada subjacente desagregável, o que, após a surriba necessária à implantação da vinha, permite um fácil escoamento das águas pluviais e o livre crescimento das raízes das videiras.

O clima é temperado com Verões quentes e secos e Invernos pluviosos.

As vinhas do Dão, que originam os vinhos que tornaram esta zona famosa, estendem-se por áreas contínuas não armadas, as velhas, ou armadas, as mais recentes. As videiras são conduzidas, de um modo geral, em forma de cone invertido, a cerca de 60-70 cm acima do solo.

Ao contrário do que acontece na maioria dos grandes países vitícolas, em Portugal, e neste caso na região do Dão existe uma enorme variedade de castas. Estimam-se em cerca de cinco dezenas as castas plantadas nos vinhedos desta região. Esta característica da viticultura portuguesa é facilmente explicada pela instabilidade do clima do nosso país, permitindo uma melhor defesa contra os caprichos do tempo.

“Immunoblots” da proteína total e das diversas proteínas do Assario com cada um dos anticorpos obtidos mostram que os anticorpos contra as proteínas 4 e 5 produzem sinais muito fortes com as proteínas 4, 5, 6 e 9 e sinais mais fracos com as proteínas 11 e 12.

Dada a elevada especificidade dos anticorpos, estes resultados sugerem que os polipéptidos 4, 5, 6 e 9 têm estruturas semelhantes, enquanto os polipéptidos 11 e 12, quando comparados aos 4 e 5, terão menor semelhança estrutural. Recentemente, foi publicado que as diferentes fracções proteicas dum vinho branco têm idênticas estruturas primárias (Waters et al., 1996). Estas observações talvez possam ser

explicáveis pela existência de uma proteína precursora nas uvas do Assario e comum a todas as principais proteínas dos vinhos.

Pensou-se, então, que seria interessante verificar se noutros vinhos estariam presentes as proteínas fraccionadas.

Para reduzir ao mínimo o efeito do “terroir” no teor proteico, efectuaram-se ensaios de imunodeteccção com uvas de várias castas, do mesmo ano e da região do Dão: Assario Branco, Verdelho, Borrado de Mosca (castas brancas) e Tinta Pinheira (casta tinta).

SDS-PAGE mostra que as diferentes variedades de uvas estudadas têm polipéptidos com uma gama de massas moleculares semelhantes, independentemente dos respectivos teores em proteína.

A comparação do padrão, no gel, da proteína total do vinho Assario com o da proteína total do sumo de uva Assario mostra que durante o processo de formação do vinho houve uma nítida alteração da composição em polipéptidos.

Os “immunoblots” dos diversos sumos de uva com os três anticorpos indicam que as uvas das diferentes castas, brancas ou tintas, cultivadas num mesmo “terroir” contêm um conjunto idêntico de polipéptidos.

Perante os resultados obtidos resolvemos estender o uso das técnicas imunológicas à análise das proteínas de uma grande variedade de vinhos.

Para tal foram seleccionados não só vinhos brancos produzidos a partir de uma casta única de uvas, de diferentes regiões de Portugal e preparadas por técnicas de microvinificação, mas também vinhos de origem comercial.

Como era de esperar, o teor proteico dos vinhos estudados varia muito.

No entanto, SDS-PAGE e “Western blotting” das proteínas de cada um dos vinhos mostram que os diferentes vinhos, produzidos em diferentes anos e regiões de Portugal e a partir de castas diferentes são compostos por polipéptidos de tamanhos semelhantes.

Os respectivos “immunoblots” revelaram que todos os vinhos testados contêm polipéptidos estruturalmente iguais ou muito semelhantes, independentemente da variedade das uvas, ano e região.

Concluindo, diremos que a Imunologia é uma área em expansão na investigação biológica. A aplicação de métodos imunológicos à análise das proteínas dos vinhos permitiu-nos a obtenção de anticorpos policlonais altamente específicos contra as proteínas total e individuais do vinho Assario Branco preparado a partir de uma casta única de uvas.

Os estudos feitos provaram que: (i) as principais proteínas do Assario têm estruturas semelhantes; (ii) as proteínas do Assario derivam das proteínas da polpa das uvas; (iii) diferentes variedades de uvas, brancas ou tintas, apresentam um conjunto idêntico de polipéptidos; (iv) vinhos preparados por técnicas de microvinificação ou de origem comercial, de uvas de diferentes castas e crescidas em “terroirs” diferentes também contêm um grupo idêntico de polipéptidos.

Waters, E. J., Shirley, N. J., and Williams, P. J.. Nuisance proteins of wine are grape pathogenesis-related proteins. (1996) *J.Agric. Food Chem.* 44: 3-5