



SAUVY™

Za optimalnu ekspresiju sortnih tiolnih aroma

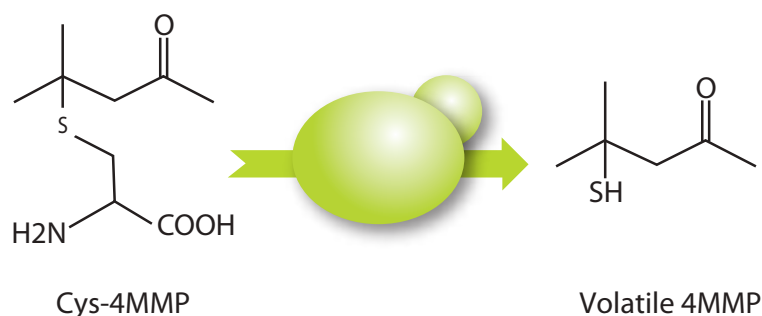
Tehnički članak

Uvod

Hlapivi tioli su skupina spojeva poznata po doprinosu voćnih nota u vinu. Te arome su značajna karakteristika pojedinih sorata, kao što su Sauvignon Blanc, Colombard, Verdejo, Pošip, Malvazija. .. i predstavljaju značajan dio njihove tipičnosti. Također, pridonose aromatskoj kompleksnosti i voćnosti drugih sorata, te čak i u crnim vinima. 3MH (3-sulfanyl-hexan-1-ol, znan i kao 3SH), njegov acetat 3MHA (znan i kao 3SH-A) i 4MMP (4-methyl-4-sulfanylpentan-2-one, znan i kao 4MSP) su tri najznačajnija spoja; 3MH daje aromu grejpa, 3MHA egzotično voće, a 4MMP arome crnog ribizla. Njihov prag detekcije je veoma nizak, naročito za 4MMP (0.8 ng/L). Ti spojevi prisutni su u grožđu i moštu kao bezmirisni prekursori, cisteizirani ili glutaizirani konjugati. Aromatski tioli nastaju enzimatskom aktivnosti kvasca tijekom alkoholne fermentacije.

Hlapivi tioli dolaze od vinskog kvasca

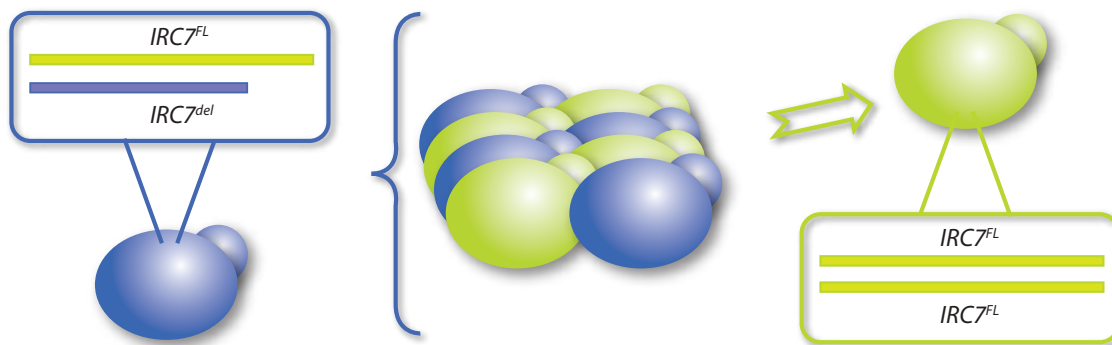
Saccharomyces cerevisiae sposoban je koristiti prekursore i osloboditi slobodne tiole, 3MH and 4MMP (Slika 1). 3MHA je derivat od 3MH dobiven acetilacijom. Vinski kvasci imaju različitu sposobnost stvaranja hlapivih tiola ovisno o njihovoj genetici i enzimatskoj aktivnosti.



Slika 1. Konverzija bezmirisnih prekursora u hlapive tiole od strane kvasca

Genetičko istraživanje kako hlapivi tioli dolaze od vinskog kvasca

Detalji oko svih enzima uključenih u proces konverzije prekursora u hlapive tiole još uvijek nisu u potpunosti poznati. Međutim, poznate su grupe enzima, ugljik-sumpor liaze, odgovorne za konverziju prekursora 3MH i 4MMP. Osim toga, gen *IRC7* posebno je važan. Gen *IRC7* šifra je za jedan enzim, β -liazu koji pristaje cisteiziranim konjugatima prekursora. Uloga *IRC7* gena je da naglasi, potencira stvaranje 4MMP jer je *IRC7* pristaje (šifriran je za taj konjugat) β -liazi koja inače pokazuje različite performence prema cis-konjugatima 4MMP [1, 2, 3]. Različiti vinski kvasci posjeduju verzije gena koji je neaktivan i proizvodi nefunkcionalan protein *IRC7^{del}* [1]. Enzim u ovakvom obliku može djelovati na prekursore hlapivih tiola. Kada kvasac posjeduje punu verziju gena (*IRC7^{FL}*), može uspješno djelovati na prekursore i u konačnici osloboditi hlapive tiole. Pažljivo proučavajući našu kolekciju kvasaca i njihovih genetskih sposobnosti, pronašli smo vinski kvasac koji ima cjelokupnu kolekciju gena *IRC7^{FL}*. Međutim, ovaj gen nema puno djelovanje jer kvasac ima i njegovu neaktivnu kopiju u sebi. Kroz naše istraživanje, uspjeli smo dobiti soj kvasca koji posjeduje dva cijela kompleta aktivnih gena *IRC7^{FL}*, gena koji u cjelosti može osloboditi i naglasiti sav potencijal β -liaze enzima za oslobađanje 4MMP. Novi pristup baziran na dijeljenju stanice kvasca korišten je u dobivanju roditeljskog kvasca, nakon toga je prisiljen na sporulaciju i proizvodnju široke populacije različitih fenotipova. Ova populacija je skenirana na puni komplet gena *IRC* koristeći *allele specific* PCR, omogućujući nam da selekcioniramo novi vinski kvasac koji ima dvije u punoj dužini alele *IRC7* (Slika 2) i kao posljedicu jako funkcionalni enzim β -liazu snažnog djelovanja na cys-4MMP.

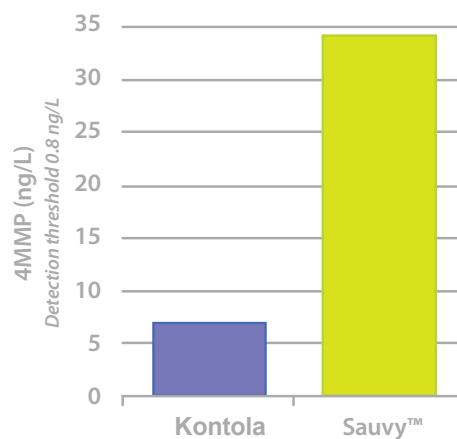


Slika 2. Nova metoda bazirana na staničnom dijeljenju i dobivanju selekcije sa dvije pune i funkcionalne dužine gena *IRC7* gene - Sauvy™.

Povećana proizvodnja 4MMP

Novi selekcionirani kvasac nazvan je Sauvy™. U prvoj fazi njegovog testiranja u laboratorijskim uvjetima na vinu Sauvignon Blanc, pokazala se njegova velika sposobnost za otpuštanjem 4MMP u znatno većim koncentracijama od kontrolnog kvasca (Slika 3.). To je potvrdilo utjecaj cijelih alela gena *IRC7* i veliki potencijal nove selekcije.

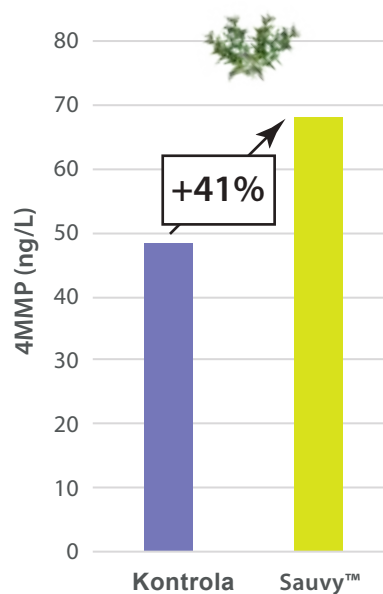
Slika 3. Koncentracija 4MMP u vinu fermentiranom sa i bez Sauvy™ (Sauvignon Blanc, 18°C, u laboratoriju).



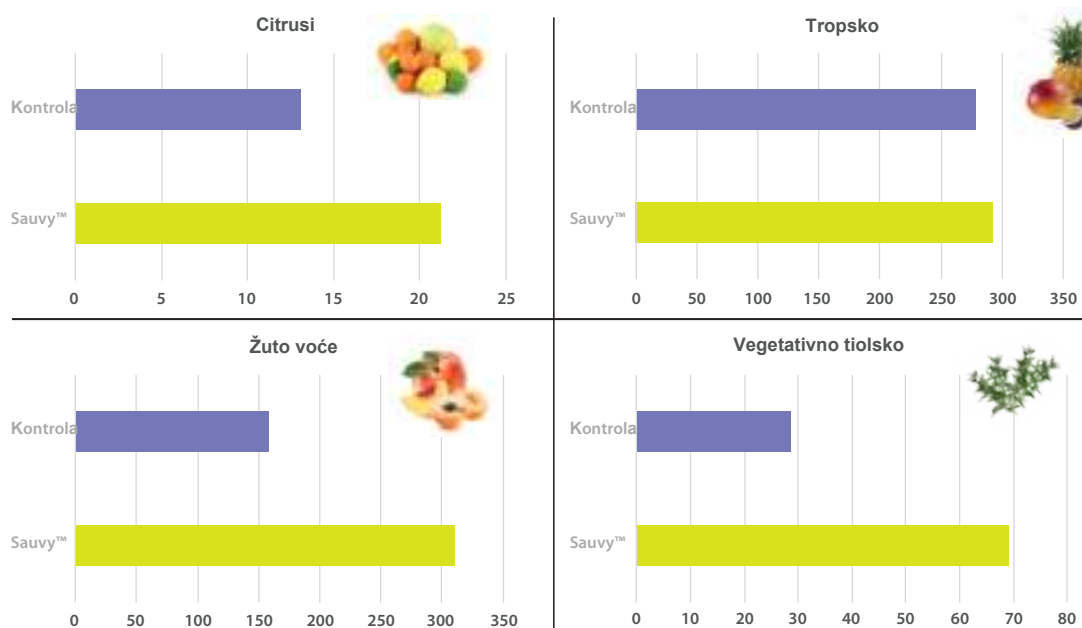
Testiranja u vinarijama

Tijekom tri godine testiranja u vinarijama diljem svijeta potvrdila se njegova specifičnost proizvodnje hlapivih tiola, naročito 4MMP. Tijekom 2019. provedeno je 7 fermentacija na sorti Sauvignon Blanc sa novom selekcijom u usporedbi sa drugim kvascem poznatim po sposobnosti proizvodnje 4MMP u Francuskoj, Njemačkoj, SAD-u, Novom Zelandu, Čileu. Konačan rezultat oslobođenih tiola bio je u prosjeku do 41% veći od kontrolnog kvasca. (Slika 4)

Slika 4. Proizvodnja 4MMP od Sauvy™ i kontrolnog "tiolnog" kvasca na Sauvignon Blancu 2019. (prosjek 7 pokusa u Francuskoj, Njemačkoj, SAD-u, Novom Zelandu i Čileu).

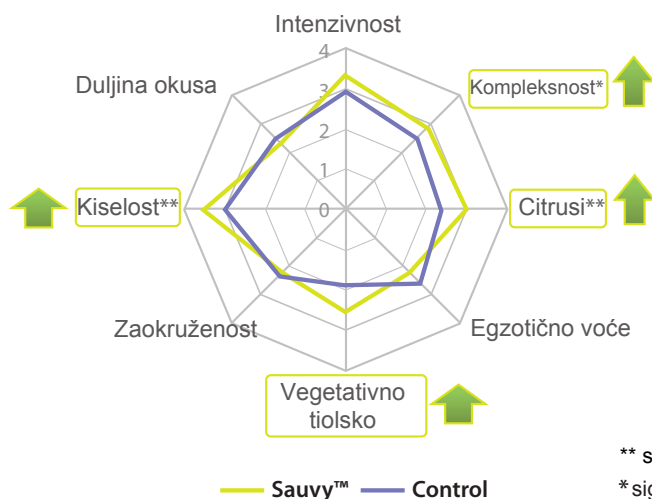


Osim što ima posebnu moć proizvodnje 4MMP, Sauvvy™ je u većini pokusa pokazao puni i intenzivni tiolski profil. Na primjer, bazirano na Odor Activity Value indexu (Slika 5) u Sauvignon blancu iz Gers, Francuska, 2019., vidi se veća percepcija vegetativnih tiola, kao i kompleksnog aromatskog profila sa citrusima, tropskim i žutim voćem u odnosu na kontrolni "tiolni" kvasac. Uz boxtree, Sauvvy™ pokazuje i percepciju drugih tiolnih aroma.



Slika 5. Arome bazirane na Odor Activity Value indexu. Pokus na Sauvignon blanc vinu (Gers, France, 2019) - kontrola vs Sauvvy™.

U senzornoj analizi vina Sauvignon Blanc, Bordeaux, Francuska, 2018., sudjelovalo je 36 profesionalnih ocjenjivača. Sauvvy™ je pokazao veliku kompleksnost, percepciju vegetativnih tiola i citrusa u usporedbi sa kontrolom (Slika 6). Okus je percipiran kao svježiji, te je 26 od 36 kušača preferiralo vino fermentirano sa Sauvvy™ sojem.



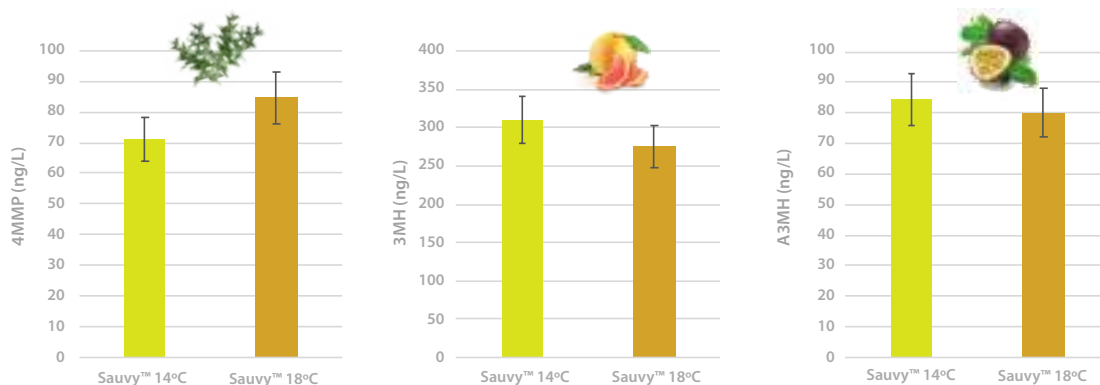
Slika 6. Senzorna analiza 36 profesionalnih ocjenjivača na vinu Sauvignon Blanc, Bordeaux, France, 2018.

** signifikantna razlika 5%
* signifikantna razlika 10%.

Nadalje, u svim pokusima vina fermentirana na Sauvvy™ imala su vrlo nisku hlapivu kiselinu. Uočena je i proizvodnja estera i 2-phenyl ethyl ethanol, što je rezultiralo jačim voćnim notama u vinu.

Tijekom 29 pokusa u laboratorijskim uvjetima i vinarijama u različitim uvjetima u različitim zemljama svijeta Sauvvy™ je pokazao dobru kinetiku i proizvodnju 4MMP, naročito u uvjetima visokog početnog YAN-a i sa kvalitetnom ishranom u fermentaciji.

Različite probe su odrađene kako bi se što bolje upoznao utjecaj različitih vanjskih faktora , posebno temperature na Sauvvy™. Fermentacija na nižoj temperaturi (14°C) ili višoj temperaturi (18°C) nema značajni utjecaj na kinetiku fermentacija i na proizvodnju tiola, kao što se vidi na slici 7.



Slika 7. Tiolni prekursori za Sauvvy™ na dvije različite temperature fermentacije (Sauvignon blanc, Val de Loire France, 2019)

Zaključak

Genetsko razumijevanje oslobađanja hlapivih tiola i naša ekspertiza u selekciji i karakterizaciji vinskog kvasca omogućila nam je da uspješno razvijemo novi vinski kvasac optimalnog oslobađanja 4MMP. Sauvvy™ pokazuje izuzetan potencijal u proizvodnji intenzivnih, svježih, aromatičnih bijelih vina. Vina fermentirana sa Sauvvy™ pokazuju tipični aromat lista rajčice, ogrozda, egzotičnog voća, citrusa i crnog ribiza. Sauvvy™ daje svježinu koja je prisutna i u punoći.

Reference

- [1] Roncoroni M, Santiago M, Hooks DO, Moroney S, Harsch MJ, Lee SA, Richards KD, Nicolau L, Gardner RC (2011) **The yeast *IRC7* gene encodes a β -lyase responsible for production of the varietal thiol 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in wine.** *Food Microbiol.* 28(5):926-935
- [2] Thibon C, Marullo P, Claisse O, Cullin C, Dubourdieu D, Tominaga T (2008) **Nitrogen catabolic repression controls the release of volatile thiols by *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation.** *FEMS Yeast Res* 8: 1076–1086
- [3] Santiago M, Gardner RC (2015) **Yeast genes required for conversion of grape precursors to varietal thiols in wine.** *FEMS Yeast Res.* 15(5):fov034