

貝利A葡萄酒醪之酵母菌分子鑑定

林秀儒、陳裕星、洪梅珠、張致盛、秦立德

目 的

酒類釀製是微生物複雜的作用過程，酵母菌扮演極重要的角色，同時酒類發酵製程中，非僅只單一菌種或菌系存在作用，因地理環境、氣候、葡萄樹齡及葡萄品種皆會影響酒醪中不同種類的酵母菌存在。傳統上酵母菌鑑定是依據型態及生理特性，不同的培養條件易導致不確定性的結果，目前分子生物技術則成為重要的鑑定工具。本研究即藉由分子生物技術分析探討貝利A葡萄酒發酵過程中，酵母菌種出現之差異與添加偏亞硫酸鉀對酒醪發酵之影響。

材料與方法

採收於本場貝利A葡萄以破碎去梗機進行破碎除梗後，添加液態果膠分解酵素0.07 g/kg，調整汁液糖度至25度Brix，總酸為0.8%以下。每處理16公升酒醪四重複，另以添加偏亞硫酸鉀使酒醪中保持50ppm二氧化硫及添加活性乾酵母0.25g/l處理，比較葡萄酒自然發酵及誘導發酵。酒醪置於20°C含皮發酵，於第七天進行壓榨去皮，分裝於玻璃桶中，發酵過程中定時取樣分離鑑定酵母菌種，將取樣之發酵酒醪以無菌水序列稀釋後各取100µl塗抹於含有100ppm鏈黴素之YMA平板上，以文獻記載方法視需求分別進行核糖體基因ITS序列分析及粒線體基因限制片段多型性分析。

結果與討論

以貝利A葡萄進行紅葡萄酒釀製，利用ITS PCR-RFLP鑑識酒醪中的酵母菌類，共獲得八種不同的酵母菌電泳分析圖譜，鑑定為*Saccharomyces cerevisiae*、*Kloeckera apiculata* (*Hanseniaspora uvarum*)、*Hanseniaspora occidentalis*、*Candida stellata*、*Candida membranae*、*Issatchenkia terricola*、*Kluyveromyces phaffii*及*Candida magnoliae*。在酒醪發酵後期僅可分離到*S. cerevisiae*，利用限制酶HinfI分析酵母菌*S. cerevisiae*粒線體DNA，可鑑識出供測之8種商業酵母菌為不同的菌系，自誘導發酵酒醪中分離的*S. cerevisiae*與加入酒醪的商業酵母菌具有相同限制圖譜，自然發酵酒醪中分離的*S. cerevisiae*則與供測菌系的限制圖譜相異，顯示為不同的菌系，為來自葡萄上的天然酵母菌類。添加商業酵母菌誘導發酵之酒醪於第六日還原糖量降至5-6.35 g/L，酒精度達11.55-11.9 vol.%，自然發酵處理酒醪於第八日還原糖量降至3.4-5.5 g/L，酒精度達11-11.1 vol.%，誘導發酵處理可提前二日完成酒精發酵。