

## 主題報導

# 生物科技與葡萄酒事業

鄭建瑋

### 前言

100 多年來，全球的葡萄酒釀酒事業大致可以分為強調傳統的歐洲傳統製酒風格酒廠，和以美國與澳洲為主流的所謂“新世界”釀酒事業兩類。前者強調傳統，標榜“*le gout de terroir*”（法文，土地的味道），強調葡萄酒的風味特性是因為各個葡萄酒產區特殊的氣候、土壤和人文差異而有所不同，因此來自相同母株的 Cabernet sauvignon 種植在不同的葡萄園，由不同的酒莊主人來照顧，所釀製的葡萄酒必然會有所差異，而這些差異就是造就部分葡萄酒昂貴身價的主要原因。對於許多消費者而言，很多著名的五大酒莊所生產的葡萄酒不只是酒，更有如藝術品一般的收藏價值。相對來說，在美國、澳洲、南非、以及南美洲的智利與阿根廷，多數酒廠由於歷史相對較短，尚未建立傳統與名聲，葡萄酒的售價無法提高，因此必須借重現代科技來擴大生產、安定品質從而建立特殊風格與良好聲譽。在這些新世界酒廠所出品的酒，產量通常很大，品質也相對穩定，但是卻少有令人驚艷的稀世珍釀出現<sup>17</sup>。

近年來，由於世界局勢的快速轉變，以及全球化的影響，新興葡萄酒市場在亞洲崛起，因此帶動全球葡萄酒生產事業面貌的改變。為因應劇烈變遷中的市場需求，無論歐洲或是新

世界的葡萄酒生產事業，此時都不得不仰賴現代科技特別是生物科技來提高產量。

### 生物科技在葡萄酒事業的應用範圍

目前生物科技在葡萄酒事業上的可運用範圍包括：利用遺傳工程方法鑑別葡萄種原<sup>5,7,15,16</sup>、改良葡萄品種<sup>4,10,13</sup>、篩選與改良釀酒用酵母菌株<sup>2,3</sup>，以及二次發酵的控制<sup>6,12</sup>等方面，此外對於葡萄酒成分分析方面的研究，除了已經定義了部分葡萄酒的官能品評特性，建立品質管制標準之外，更提供葡萄酒在健康促進方面的研究課題<sup>11,12</sup>，其中最著名的自然是葡萄酒中所含的多酚類成分白藜蘆醇（Resveratrol, 3,5,4'-trihydroxystilbene）的研究<sup>8,9</sup>，由眾多研究結果中發現，白藜蘆醇可以增加心血管內皮細胞一氧化氮的合成，由此降低血小板凝結、並抑制血栓，進而達到保護心血管的功能。在 2006 年 11 月 Nature 期刊上刊載哈佛大學 David Sinclair 團隊的研究成果<sup>1</sup>，更顯示白藜蘆醇可以延長老鼠的生命期望值達 30%，由此許多人望文生義，直指白藜蘆醇是所謂的長壽之藥，而紅葡萄酒是“生命之水”（*eaux de vie*）。這些科學研究在某種程度上更提高消費者心中對紅葡萄酒在健康促進方面的正面形象，讓“紅葡萄酒熱”持續發燒<sup>9,17</sup>。

## 生物科技運用於釀酒葡萄品種改良

在葡萄種原鑑定與純化方面的研究，遠自 1970 年代，分子生物學技術濫觴時代便已經開始。由於歐陸傳統葡萄酒生產國，如法國、西班牙和義大利等地區，葡萄釀酒歷史悠久，釀酒葡萄種原品系 (Variety) 分化極為複雜，相同產區中不同品系的葡萄酒，往往影響釀酒製程以及市場價格，因此對於釀酒葡萄品系的篩選、鑑定與保存便成為一件非常重要的工作。這裡所謂的葡萄品種就植物分類學上的定義，基本上全球都屬於同一個“種” (Species) 也就是 *Vitis vinifera*，但由於葡萄植物天然演化或後天人為栽培育種的結果，如今各地都有許多不同的栽培品種 (Cultivar)。光義大利一國，常見的栽培品種便已經有超過 3,000 種之多，全球更可能有超過 15,000 種不同的栽培品種存在<sup>1</sup>，然而其中有許多原先被認為不同的品系其實是相同的，同樣的有許多品系其實不視原先所認定的那種栽培品種，唯有藉助現代生物科技的協助才能加以鑑別與分類，早年利用酵素的表現做標記，漸漸轉變為以 DNA 當標記，可以不受植物生長環境的外在因素的影響。由最初所使用的 RFLP (Restriction fragment length polymorphism) 分析技術，到利用 PCR 技術的 RAPD (Random amplified polymorphic DNA marker) 與 SCAR (Sequence characterized amplified region markers) 的標記技術，逐步改進，到如今原本用於動物與人類種源的特徵標記 (Microsatellite markers) 方法也運用於葡萄品系的鑑定上，並且為歐洲聯邦所認可的標準方法<sup>14</sup>。

另一方面，在釀酒葡萄品種的改

良方面，利用基因轉殖的技術，以培育抗蟲和抗病品種，擴大產量的努力持續不斷，技術日益成熟，且在許多國家和地區都已經獲致良好成果<sup>4,10,13</sup>。然而近年來國際間一股反對基因改造食物 (Genetically modified organisms, GMO) 的情緒，伴隨著反對全球化的風潮，也吹向葡萄種植與葡萄酒釀造事業。反對 GMO 的人普遍認為 GM 食物可能會在未來導致人體健康的危害，而經由意外管道而被釋放到大自然的基因轉殖作物則可能對大自然的環境造成無可挽回的浩劫，此外也有許多人擔心因為 GMO 的存在，生命可以被以智慧財產或專利的形式註冊及擁有，如此將可能造成不公平競爭，少數的大型跨國農業企業將可在實驗室中製造出所謂的超級植物，從此阻斷生物的天然多樣性，讓目前豐富多樣且生意盎然的農業不復存在，目前已有 23 個國家包括我國在內立法允許基因轉殖作物的上市，但是都必須經過嚴格的審查以及明確的標示，例如歐洲聯邦地區對於超過 0.9% 基因改造的農作物必須強制標示，我國則規定 5% 以上才必須標示，中國大陸在 1% 以上就必需依法強制標示；美、加兩國則採比較寬鬆的態度，認為到目前為止沒有任何證據顯示前述顧慮有可能成真，因此超過 5% 才需要標示，且採自願登記的方式<sup>10</sup>。

正如本文前言所述，新世界釀酒事業遠較歐陸酒廠自由，也較借重現代生物科技，因此在面對 GM 時的態度也是一樣，美國、加拿大、澳洲以及阿根廷等新世界製酒大國所種植的釀酒葡萄，較歐洲傳統葡萄酒產區更有可能經過基因改造，但基於葡萄酒

長期以來對消費者的天然、健康與有機的訴求，強調傳統工藝者，往往較能在市場中售出高價，因此 GM 的標示在這個行業裏，注定會影響其葡萄酒的銷售，因此標示與否正考驗著許多釀酒人的良知<sup>10</sup>。

### 生物科技運用於釀酒葡萄品種改良

既然基改葡萄可能產生疑慮，那釀酒酵母菌又是否可以經過基因重組呢？答案卻是肯定的。

在歐洲許多著名的葡萄酒產區如波爾多地區的 Medoc 酒產區，禁絕任何化學肥料與農藥的使用，目的在於盡力維持葡萄園裡的自然生態，因此在葡萄果實上通常可以存在有許多酵母菌與乳酸細菌 (Lactic acid bacteria, LAB)，其中最常見的酵母菌包括主要的釀酒酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* 和非 *Saccharomyces* 酵母菌群 (NSYs)，包括 *Brettanomyces spp.*, *Zygosaccharomyces spp.*, *Kloeckera apiculata*, *Candida pulcherima*, *Rhodotorula minuta* 與 *Pichia membranaefaciens* 等，乳酸細菌則分屬 *Lactobacillus*, *Pediococcus* 和 *Leuconostoc* 等三屬<sup>2,3</sup>。採自田野間的葡萄，經過簡單的清洗、去枝、碾壓、破碎之後，壓在釀酒桶下層的葡萄，會因重力作用而讓葡萄汁流出，並使葡萄浸泡在葡萄汁裡，這就是葡萄酒釀酒工藝中所謂的浸漬 (Maceration) 過程，在這段期間內，上述菌叢開始一連串發酵過程，多數的非 *Saccharomyces* 酵母菌群在葡萄酒釀造初期，隨著酒精度的逐漸提高而死亡，各個不同品系的 *Saccharomyces cerevisiae* 成為酒汁中最重要菌種直到酒精發酵完成，在這個時期，乳酸

細菌依然存活但其生長受制於酵母菌的影響以及釀酒時通常所採用的低溫環境，但在酒精發酵完成後的熟成過程中，慢慢地進行蘋果乳酸發酵 (Malolactic fermentation, MLF)，讓較高酸度的蘋果酸轉換成酸度較低的乳酸並釋放出二氧化碳，MLF 的進行可以帶給葡萄酒較複雜多變的風味，同時可以提高酒中微生物的安定性，抑制醋酸細菌的生長，因此 MLF 往往被視為釀造一支優良葡萄酒所必須經過的一個程序，重要性甚至不下於以 *Saccharomyces cerevisiae* 為主的酒精發酵<sup>6,17</sup>。

然而這種由自然界中的野生菌種所引起的自然發酵過程卻並不是隨處可得，必須具備許多先天條件，例如長期有機的葡萄種植方式、大量的人工、適宜的氣候、無汙染的環境和悠久的製酒傳統，因此早被歐洲葡萄酒莊園認為是 *le goût de terroir* 的一部分。

對於新大陸或歐洲及亞洲等新興葡萄酒廠而言，缺乏悠久的釀酒傳統代表著他們的葡萄園沒有一個安定的微生物生態系，劇烈競爭的市場也讓他們無法耐心的等待一個安定的生態環境的建立，同時由於他們的葡萄酒無法像歐洲著名葡萄酒廠般賣得高價，因此必須靠著大規模生產來降低成本並保障獲益，而現代葡萄園藝方法與現代生物科技變成為唯一的選擇<sup>17</sup>。

歐洲許多著名的酒廠喜歡用 *sur lie* 的方式釀酒，*sur lie* 的意思是用 225 升的小型橡木桶 (Barrel) 釀酒與儲酒，葡萄酒基本上不需要換桶澄清 (Racking)，因此需要有較長的窖藏時

間，也必須購置許多昂貴的新橡木桶來製酒，葡萄酒的成本與單價自然較高。到了新世界的製酒環境，很難再用這種方法來製酒，所以幾乎全部都採用 5-10 噸以上的大型不鏽鋼釀酒槽 (Tank) 來釀酒，大型的酒廠甚至有高達 50 噸容量的大型釀酒槽，在這樣的製酒環境下，自然無法再使用天然菌株的發酵方法，必須借重人工所培育高效率的 *Saccharomyces cerevisiae* 釀酒酵母，釀造過程採用逐步放大的方法，務求在最短時間內讓 *Saccharomyces cerevisiae* 成為發酵槽內的優勢菌種，在最短時間內拉高酒精度，以避免醋酸菌等其他微生物生長所引起的腐敗，而造成巨額損失。

高效率 *Saccharomyces cerevisiae* 的取得，最初是採集自天然菌叢，然後經過人工的純化、培育與篩選，經過各國研究人員多年的努力，不同品系的 *Saccharomyces cerevisiae* 已經有 15,000 種以上，即便國內需求有限，國內生物資源保存與研究中心目前也保有 622 株各種不同的釀酒酵母菌株。

由於 *Saccharomyces cerevisiae* 是人類最常使用的酵母菌株，因此被視為是一般認定安全的菌株 (General regarded as safe, GRAS)。*Saccharomyces cerevisiae* 是最少完成基因體定序的真核生物，其基因體定序工作完成於 1996 年。釀酒酵母的基因組包含大約 1,200 萬 Base pairs，分成 16 組染色體，共有 6,275 個基因，其中可能約有 5,800 個真正具有功能。據估計其基因約有 23% 與人類同源<sup>18</sup>。酵母基因組數據庫包含有酵母基因組的詳細註釋 (Annotation)，是研究真核細胞遺傳學和生理學的重要工具。因為釀酒酵母

與同為真核生物的動物和植物細胞具有很多相同的結構，又容易培養，酵母菌被用作研究真核生物的模式生物，是目前被人們了解最多的生物之一<sup>2</sup>。

因此 *Saccharomyces cerevisiae* 很容易被改良與轉殖，在基因工程學上常常被用來作為基因轉殖的對象，因此也有許多商業上可使用的專利菌株問世，其中不乏宣稱具有絕佳發酵性能的專利菌株，這類基因改造過的商業菌株在美國與摩達維亞等國已經可以合法上市，部分釀酒業者也已經開始採用這類菌株<sup>18</sup>。相同的情形也發生在酒中乳酸菌的情形，基改乳酸菌目前也已經開始應用於控制葡萄酒二次發酵的過程。然而較爭議的是，在許多國家中，葡萄酒使用 GMO 的葡萄原料必須強制標示，而釀酒過程中使用的 GM 菌株卻無須標示<sup>2,10,18</sup>。

## 結語

傳說中，很久以前法國勃根地的著名葡萄酒產區 *Côte de Beaune* 和 *Côte de Nuits* 是兩個比鄰而居的村落，因為彼此誤解而使得一邊永遠是黑夜，一邊則永遠是白天，兩者其實都需要對方，卻無法跨越鴻溝，唯有兩方和解才能使彼此過正常的生活。對於現代生物科技特別是 GMO 的看法，在葡萄酒事業中明顯的可以看到這樣的一個現象，既然生物科技的發展已經進步到今天的狀態，傳統製酒業者似乎該開始認真考慮如何加以接納，讓優良傳統延續。而屬於新世界製酒風格的美洲與亞非澳酒廠，似乎也不應對於生物科技的使用上過於躁進，畢竟釀酒風格的建立不可能不經

過一段相當長時間的醞釀。唯有循序漸進的引入科技，在傳統製酒技術的基礎下尋求突破，葡萄酒事業的未來才能持續發展。

### 參考文獻

1. Baur JA, Pearson KJ, Price KL, Jamieson KA, Lerin C, Kalra V, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Piste PJ, Poosala P, Becker KG, Boss C, Gwin D, Wang M, Ramaswamy S, Fishbein KW, Spencer RG, Lakatta EG, Le Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, de Cabo R, Sinclair DA: Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006, 444:337-342.
2. Cebollero E, Gonzalez-Ramos D, Tabera L, Gonzalez R: Transgenic wine yeast technology comes of age: is it time for transgenic wine?: *Biotechnology Letters* 2007, 29(2):191-200
3. Esteve-Zarzoso B, Manzanares P, Ramón D, Querol A: The role of non-Saccharomyces yeasts in industrial winemaking. *International microbiology* 1998, 2(1):143-148
4. Ferreira RB, Monteiro SS, Piçarra-Pereira MA, Teixeira AR: Engineering grapevine for increased resistance to fungal pathogens without compromising wine stability. *Trends Biotechnol.* 2004, 22(4):168-73.
5. Hinrichsen P, Narváez C, Bowers JE, Boursiquot JM, Valenzuela J, Muñoz C, Meredith CP: Distinguishing Carmenère from Similar Cultivars by DNA Typing. *American Journal of Enology and Viticulture* 2001, 52(4):396-399.
6. Liu SQ, Pilone G J: A review : Arginine metabolism in wine lactic acid bacteria and its practical significance. *Journal of Applied Microbiology* 1998, 84(3):315-327.
7. Martínez L, Cavagnaro P, Boursiquot JM, Agüero C: Molecular Characterization of Bonarda-type Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Cultivars from Argentina, Italy, and France. *American Journal of Enology and Viticulture* 2008, 59(3):287-291.
8. Spranger M I, Clímaco MC, Sun BS, Eiriz N, Fortunato C, Nunes A, Leandro MC, Avelar ML, Belchior AP: Differentiation of red winemaking technologies by phenolic and volatile composition. *Analytica Chimica Acta* 2004, 513: 151-161.
9. Pervaiz S: Resveratrol: from grapevines to mammalian biology. *FASEB* 2003, 17:1975-1985
10. Pretorius S, Hoj IS, Bordier P: Grape and wine biotechnology: challenges, opportunities and potential benefits. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 2005, 11:83-108.
11. Preys S, Mazerolles G, Courcoux B

- P, Samsona A, Fischerc U, Hanafib M, Bertrandb B, Cheyniera V: Relationship between polyphenolic composition and some sensory properties in red wines using multiway analyses. *Analytica Chimica Acta* 2006, 563(1-2): 126-136.
12. Rodríguez H, Curiela JA, Landetea JM, Rivasa B, Felipeb FM, Gómez-Cordovésa C, Mancheñoc JM, Muñoz R: Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 2009, 132(2-3): 79-90.
13. Sabate J, Cano J, Querol A, Guillamón JM: Diversity of *Saccharomyces* strains in wine fermentations: analysis for two consecutive years. *Letters in Applied Microbiology* 1998, 26(6): 452 – 455.
14. Sefc KM, Lefort F, Grando MS, Scott K, Steinkellner H, Thomas MR, 2001: Microsatellite markers for grapevine: a state of the art. In: *Molecular Biology and Biotechnology of Grapevine*, KA Roubelakis -Angelakis editor, Kluwer Publishers, Amsterdam. Pp 407-438.
15. Thomas MR, Cain P, Scott NS: DNA typing of grapevines: A universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Molecular Biology* 1994, 25(6):939-949.
16. Thomas RM, Cain P, Scott NS, Collins GG, Symons HR: Differentiation and identification of grapevine cultivars by DNA typing. *Rivista di Viticoltura e di Enologia* 1996, 49(1): 57-58.
17. 鄭建瑋, 2004, ” 葡萄酒賞析 ” , 台北揚智文化出版公司.
18. <http://en.wikipedia.org/wiki/Yeast>
- 

鄭建瑋 銘傳大學生物科技學系