

不同糖化菌種在玉米釀造酒中風味之影響

張慶如

國立宜蘭技術學院食品科學系副教授

摘要

本研究主要探討不同糖化菌種，在玉米釀造酒中風味之影響。在本研究所使用的不同糖化菌種分別為泡盛菌(*Aspergillus awamori*)及根黴菌(*Rhizopus formosaensis*)，而釀酒原料為玉米，酒精發酵則由酵母菌(*Saccharomyces sake*)完成。釀成之玉米酒，經蒸餾後利用氣相層析儀(Gas Chromatography)，酒精比重測量計，總滴定酸度(以醋酸為主)分析，及官能品評方法對不同糖化菌種在玉米釀造酒中做系列之分析比較。結果顯示，由於酒經發酵之酵母菌菌種相同，故使用不同糖化菌對釀酒成分上大致接近，只是有些成分的含量上有多寡之不同，而此含量之多寡不同卻造成此不同糖化菌種釀酒成品品質之風味與優質程度大為不同。使用根黴菌(*Rhizopus formosaensis*)做為玉米釀造酒之糖化菌，在儀器分析及官能品評結果上，都遠優於使用泡盛菌(*Aspergillus awamori*)做為玉米釀造酒之糖化菌。由此可知，釀酒之品質好壞，實在是有許多不同的科學角度需要詳細加以研究的。

關鍵詞：糖化菌、根黴菌、泡盛菌、酵母菌、玉米酒

The Influences of Saccharifying Microorganisms on the Properties of Maize Wines

Audrey Chingzu Chang

Associate Professor, Department of Food Science, National Ilan Institute of
Technology

Abstract

This research conducted the influences of saccharifying microorganisms on the properties of maize wines. Maize wines were first saccharified by two different saccharifying microorganisms of *Aspergillus awamori* and *Rhizopus formosaensis*; and then fermented by *Saccharomyces sake*. After the fermentations were completed, the maize wines were collected by using the 80°C distillation method. Comparisons of gas chromatography measurements, alcohol content, titratable acidity of acetate, and the organoleptic evaluation were made between the two different maize wines saccharified by two saccharifying microorganisms. Results showed that the analytical contents of two different maize wines were about the same but quite different in quantities of some contents. Thus, influenced the flavors and qualities of these two maize wines to a distinct degree. Maize wine saccharified by *Rhizopus formosaensis* had a much better flavor and quality both analytically and sensorially than the one saccharified by *Aspergillus awamori*. The results revealed that there are many scientific angels of making wines need to be detailed studied.

Key Words: Saccharifying microorganisms, *Aspergillus awamori*, *Rhizopus formosaensis*, *Saccharomyces sake*, Maize wine

一、前言

穀類製酒其原料種類繁多，有小麥、水稻、玉米、大麥、甘藷等。其中玉米可喻為是農作物中的一個奇蹟，玉米雖非人類主要的糧食作物來源，不過它的生產量卻是非常驚人，加上本身具有基因變異非常明顯，所以用途很廣泛^[1]，故玉米僅次於水稻與小麥，為主要穀類作物之一。

玉米的學名為 *Zea mays* L.，漢名除了玉米(台灣)尚有番麥、玉蜀黍、御麥。為禾本科玉蜀黍屬的植物，原產為熱帶。但由於近年來的改良，溫帶與寒帶也都能種植，因此產地分佈很廣，遍及世界各地。玉蜀黍種類繁多包含了下列七種：有稈種、爆裂種、硬質種、馬齒種、軟質種、甜質種、甜粉種^[2]。其營養價值富有蛋白質、澱粉、纖維素、維生素、礦物質及碳水化合物，但因品種的不同含量而異。玉蜀黍的用途可做為酒、動物飼料、糖蜜、玉米粉、食品、食用油、玉米澱粉樹脂等，滿足人類所需。以酒精為例，使用玉米作為原料的製成酒類有威士忌、琴酒、伏特加，由玉米或玉米與其他原料經糖化、發酵、連續蒸餾及貯藏熟成而得，酒精濃度平均約 40~50 % 左右相當高。而玉米本身亦具有性平、味甘甜、無毒、清熱利尿、平肝利膽等功效對人體幫助不少，但由於玉米油性含量大，於潮濕的環境加熱後容易發酵，並且產生的黃麴毒素是一種致癌物質^[2]，故貯藏期間應要防止受潮，若發現霉變的玉米如變了色與碎裂就要避免食用^[2]。

製造玉米酒的流程如同前段所述，須經過糖化、發酵等階段，而糖化過程使用糖化菌或糖化酵素，將大分子的澱粉經糖化作用轉變為小分子的葡萄糖，再加入酵母菌，把糖轉化成酒精，且產生特殊的風味和香氣，但不同的麴來釀酒，其成品酒風味也不大一樣，產酒率也高低不同^[2]，故本試驗即針對泡盛菌(*Aspergillus awamori*) 根黴菌(*Rhizopus formosensis*)這兩種糖化菌對玉米酒風味之影響變化。有關製酒所需的糖化菌種，文獻中只找到些許報告，而報告中有提到糖化菌的種類，「中國米類酒之釀造」舉出製造米酒所用的糖化菌為 *Rhizopus oryzae*^[3]，紹興酒則為 *Aspergillus oryzae*^[3]；但在我們所蒐集大部份的文獻中，只說明製酒的過程中需要糖化菌，並無確實的指出所使用的糖化菌的名稱，但在我們從以前到現在所做系列酒類研究中我們發現，沒有糖化菌文獻做參考，極為不便，故我們經由多次試驗，選出兩株不同的糖化菌來研究對同種穀類製酒的風味之變化。糖化菌除了應用在製酒上外，文獻報告指出糖化菌可作為人體的助消化劑，其作用在於促進碳水化合物的消化，加強腸道乳酸菌的作用，抑制有害菌的增殖；另一方面糖化菌亦作為動物生菌劑^{[3][4]}，並將生菌劑定義為「藉改善腸道內微生物平衡，而對宿主動物起有益作用之活微生物添加物」，特別是針對豬、牛、馬、犬、雞。其機制為抑制有害菌的增殖以促使腸內菌叢正常化、產生消化酵素與合成維生素 B 群、增強免疫作用。生菌劑可維持動物的身體健康、提高消化吸收及抗病性，其結果為在野外飼養時，除預防治療下痢及腸炎，同時也提高及改善了增重率、飼料效率、育成率、繁殖率等生產性。

酒精的發酵過程通常都利用酵母菌，傳統上酵母菌 (Yeast) 的定義，是指至少於生活史的營養(無性)生殖階段，主要以單細胞形式存在的微生物，營養方式通常為出芽 (Budding) 增殖。其被歸類為真菌 (Fungi) 中，因其特性：(1) 缺乏葉綠素的光合成色素，(2) 無運動性，(3) 具堅硬細胞壁，(4) 具細胞核，(5) 生活史中的營養細胞階段皆為單細胞形式，不產生明顯氣生的無性孢子 (Conidia)^[5]。酵母菌在食品工業上被廣泛利用於發酵性飲料麵包及醬油和豆醬類等^[4]。尤其酵母菌對酒類香氣生成之貢獻很大，酒的主體香味大部分是由酵母菌於發酵過程中產生的。製酒原料中的分解物隨酒精發酵所生成的副產物如高級醇油類、酯類、醛類、酸類以及氨基酸構成香氣來源^[5]。

二、材料與方法

(一) 玉米酒原料

本試驗所用的玉米酒分為兩組，一組為以泡盛菌 *Aspergillus awamori*(CCRC 30891)作為糖化菌，另一組為以根黴菌 *Rhizopus formosensis*(ATCC 31150)作為糖化菌；兩組所用材料皆為乾燥玉米粒磨製玉米粉；酒精發酵用酵母菌則為 *Saccharomyces sake*。

(二) 製作方法

1. 以泡盛菌(*Aspergillus awamori*)作為糖化菌

將乾燥玉米粒磨製之玉米粉與水以 1 : 4 比例混合，用鍋子蒸煮，一面蒸一面攪拌，好了以後將原料冷卻而溫度需控制至 24 °C^[6]，此時再接種泡盛菌(*Aspergillus awamori*)進行糖化作用，泡盛菌乃移植加入購自食工所斜面試管內已活化之糖化菌 *Aspergillus awamori*(CCRC 30891) ，加入此糖化菌的量為總原料重之 0.1%，目的即將大分子的醣類轉換成小分子的葡萄糖，糖化約 1 小時後，加入已用 PDB (potato dextrose broth)活化培養之酵母菌液 5 毫升，進行發酵作用。此液體內含酵母菌 *Saccharomyces sake* (CCRC 20262)，每一毫升的活菌數約 1×10^8 。在進行發酵作用期間需要時常攪拌均勻，約每天 3~4 次，發酵作用持續約 9~10 天後即可得玉米酒，再經 80 °C 蒸餾得蒸餾玉米白酒，此蒸餾玉米白酒即可做各項實驗測試。

2. 以根黴菌(*Rhizopus formosensis*)作為糖化菌

製作的流程大致上與 1.雷同，但冷卻溫度則須控制在 24^[6]之間，才可接種根黴菌(*Rhizopus formosaensis*)，此根黴菌亦是移植加入購自食工所斜面試管內已活化之糖化菌 *Rhizopus formosaensis*(ATCC 31150)，加入此糖化菌的量為總原料重之 0.1%，其他後續步驟則皆與前項 1.之流程無異。

(三) 總滴定酸度測定

總滴定酸度測定乃用標準鹼(0.1N 氫氧化鈉)溶液滴定法(A.O.A.C, 1995)^[8]。根據氫氧化鈉用量換算成試樣內所含之總酸的百分比數作為本研究的總滴定酸度的參考值，本研究之總滴定酸度是以醋酸的總滴定酸度為主，因為玉米酒中主要的有機酸是以醋酸為主。

(四) 酒精度測定

本研究之酒精測定方法，乃使用日製 KYOTO DA-310 型的酒精密度分析儀，將不同的待測已蒸餾後之白酒液，用振動週期測定方式於 20 ~30 下測定所得到的值，再依據 A.O.A.C 1028 頁所提供之酒精密度與酒精度換算表計算而得。

(五) 揮發性物質分析：

使用氣相層析法。氣相層析分析儀使用惠普牌 5790 型，已充填式分離管進行成分分析，其操作條件及標準液配製如後：1.層析分析管：長度 6ft、6.6 % Carbowax、20M 80~12mesh Carbowax B.A.W.內徑 2mm，玻璃管柱。2.檢測器：火焰離子檢測器(FID)。3.氣體：氮氣 4.流速：20ml/min。5.注射氣溫度：150。6.檢測器溫度：200。7.樣品注射量：2 μ m。8.升溫條件：初溫：60，升溫速率 5 /min，達到 160 維持 2min。9.標準液之配製：取 5.14 % 之乙醛 0.5ml，5.01 % 甲醇 0.4ml，5.0 % 之乙酸乙酯 20ml，5.0 % 之正丙醇 0.2ml，5.0 % 之異丁醇 0.4ml，2.0 % 之乙醯乙醇 1.0ml，2.0 % 之 2-甲基丁醇 0.5ml，3.04 % 之 3-甲基丁醇 1.0ml，5.0 % 之乙酸 1.0ml，5.0 % 之乳酸乙酯 0.4ml，5.0 % 之喃醛 0.1ml，5.0 % 之 2,3-丁二醇 0.2ml，2.0 % 之正戊酸乙酯 2.0ml；將以上混合後添加 40 % 乙醇配製成 100ml 液體。

(六) 品評方法

由合格的品酒師採用經濟部商品檢驗局編印之食品官感嗜好性順位法^[9]。12 位品評人員按個人對樣品的嗜好，將待測酒以 1 分、2 分、3 分、4 分表示之。品評完後分數相加、分數越低者食品官感嗜好性越佳。每一次評審後須稍作休息 20 分鐘，此時工作人員改變待測酒的符號，再一次請品評人員複評。查其結果與品評人員原先鑑定項目之順位法結果是否相同而判斷是否有嗜好程序的差異，以便品評結果之穩定。

三、結果與討論

當人們在飲酒時對於酒的感官程度，絕大部份來自於芳香化合物的香氣和口感，而在香氣方面含揮發性的高級醇、有機酸和各種酯類，為成就優良香氣的最大原因，對酒的風味有明顯的正效應^[10]。本試驗根據氣相層析儀(Gas Chromatography)所進行的揮發性成份的分析、酒精度測量、及總醋酸滴定酸之結果做分析比較。結果顯示：使用不同糖化菌種的兩組玉米酒的化學成份大致相同，只是化學成分的含量有明顯不同。

可滴定的成份分析結果顯示，不同糖化菌種對相同玉米釀造酒之可滴定酸度值完全相同(圖一)。酒精測定的結果亦顯示，不同糖化菌種，但只要使用相同玉米原料來釀造，則其釀成的酒精度亦會相同(圖二)，在揮發性氣體分析結果上，二項香氣成份之揮發性氣體中，含有玫瑰花香味的 2 苯基乙醇^[11]成份含量上，以 *Rhizopus formosaensis*作為糖化菌的玉米酒含量約為 50mg/liter，而以 *Aspergillus awamori*作為糖化菌的玉米酒含量約為 38mg/liter(圖三)，相差達 32%，換言之，以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的玉米酒內含的玫瑰花香之成份是以 *Aspergillus awamori*作為糖化菌的玉米酒的 1.32 倍氣味。而在含有水果香氣的乙酸乙酯^[11]成份含量上，以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的玉米酒含量約為 186mg/liter，而以 *Aspergillus awamori* 作為糖化菌的玉米酒含量約為 114mg/liter，換言之，以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的內含的水果香氣成份是以 *Aspergillus awamori* 作為糖化菌的玉米酒的 1.64 倍(圖三)。具有刺激臭味的乙醛成份含量上，以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的玉米酒內含的量約為 25mg/liter，以 *Aspergillus awamori* 作為糖化菌的玉米酒含量約為 48mg/liter，少約 0.9 倍(圖三)。由 2 苯基乙醇與乙酸乙酯之香氣成份增加，而乙醛不佳的成份減少結果來看，以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的玉米酒，其香味必然遠較以 *Aspergillus awamori* 作為糖化菌的玉米酒在氣味芳香度上為優。

具有米糠風味或油耗味的雜醇油化合物中：甲醇含量以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的玉米酒為 2mg/liter，而以 *Aspergillus awamori* 作為糖化菌的玉米酒為 11mg/liter，以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的玉米酒的甲醇量會比以 *Aspergillus awamori* 作為糖化菌的玉米酒的含量約少 4.5 倍(圖四)。正丙醇含量則二者相差無幾，以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的玉米酒為 200mg/liter。以 *Aspergillus awamori* 作為糖化菌的玉米酒為 198mg/liter。2-甲基丙醇成份含量上，以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的玉米酒為 84mg/liter 亦遠少於以 *Aspergillus awamori* 作為

糖化菌的玉米酒 513mg/liter,其減少的倍數約 5.33 倍,唯一較多的成份含量為 2,3-二甲基丁醇,以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的玉米酒為 1542mg/liter,比 *Aspergillus awamori* 作為糖化菌的玉米酒 659mg/liter 多 1.34 倍,在米糠風味或油耗味的化學成份文獻上指出,此種成份值若越低時,對酒之利口性、爽口性及整體口感官能品評上都具有正面之意義^{[1][2][3][11][12]}。因此隨著 *Rhizopus formosaensis* 所釀之酒中此不佳氣味成份值的大部份降低,只有 2,3-二甲基丁醇值增加(圖四),截長補短的結果,其在成份降低之貢獻度仍是正面的。

此外,在糖化菌分解玉米原料的觀察上,我們發現以 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌的玉米酒其發泡能力較強,再配合後續之研究分析結果顯示,可以推測使用 *Rhizopus formosaensis* 作為糖化菌,可以使玉米內大分子化合物分解的更完全,亦使與大分子化合物結合的香氣官能基分離,進而使後續之發酵完成後,雖然在酒精成份及總滴定酸上無不同,但香氣含量成份明顯大大不同。因此在香味部分,根黴菌(*Rhizopus formosaensis*)亦遠較於使用泡盛菌(*Aspergillus awamori*)作為糖化菌所製的玉米酒良好。可能根黴菌(*Rhizopus formosaensis*)的發泡能力與澱粉水解之糖化能力有關,所以根黴菌(*Rhizopus formosaensis*)較泡盛菌(*Aspergillus awamori*)的澱粉水解糖化能力為強,使酵母菌(*Saccharomyces sake*)更能完全行葡萄糖發酵作用,以致其發酵作用完全,所以香氣成份含量較多。

此兩組玉米酒,針對香氣及所呈現之風味進行官能品評,使用根黴菌(*Rhizopus formosaensis*)作糖化菌所釀造的玉米酒在香氣上及利口上遠優於以泡盛菌(*Aspergillus awamori*)作糖化菌所釀之玉米酒(12 分比 36 分,圖五)。這和使用氣相層析儀器分析出的結果相符合。由我們實驗結果總結,不同糖化菌種在玉米釀造酒中最大的不同是在揮發性香氣成份含量大不相同,而造成香氣明顯差別。而此香氣的差別是很多酒類研究學者所希望知道的結果,所以繼續深入此方面的研究也許可以對此相關領域有更多的貢獻。

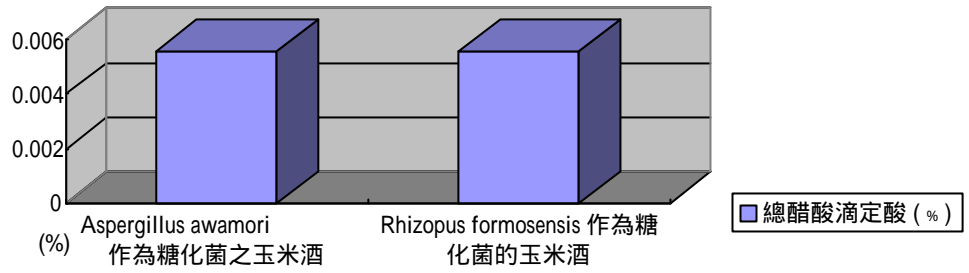
所以使用根黴菌(*Rhizopus formosaensis*)作為玉米釀造酒之糖化菌在各種儀器分析及官能品評結果上,都遠優於使用泡盛菌(*Aspergillus awamori*)作為玉米釀造酒之糖化菌。由此可知釀酒之品質好壞,實在是有許多不同的科學角度需要詳細加以研究探討的。

四、參考文獻

1. 張銘堂 (1997),「作物的奇蹟----玉米」,科學農業,第四十五卷,第三期,第 99-100 頁。
2. 黃及時 (1997),「威士忌酒的開發」,製酒科技專論彙編,第十七期,第 169-191 頁。
3. 劉桂郁 (1997),「中國米類酒之釀造」,第二十九卷,第九期,第 26-32 頁。
4. 倪德全 (1998),「酵母菌的檢定及分類」,製酒科技專論彙編,第十期,第 31-40 頁。
5. 李福臨 (1995),「酵母菌在食品工業上之應用」,食品工業月刊,第五期,第 43-49 頁。
6. 劉仲康 (1997),「神奇的酵母菌」,科學月刊,第二十八卷,第七期,第 579-560 頁。
7. 食品發展研究所 (2000 版),真菌目錄,第 39.67.148,新竹。
8. A.O.A.C. (1995), Official Methods of Analysis., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., U.S.A.
9. 黃淑貞 (1984),食品官感檢查手冊,第 53 頁,經濟部商品檢驗局,台北,台灣。
10. 作者黑野勘六、勝月英,譯者趙生偉 (1954),本文譯自 Harpers Wine & Spirit Gazette,日本。
11. 陳芝瑩、周正俊 (1993),「甜酒釀之香氣成份」,食品科學,第二十卷,第三期,第 229-238 頁。
12. 林讚蜂 (1994),「酵母菌對酒類之香氣生成之貢獻」,製酒科技專論彙編,第十六期,第 1-24 頁。

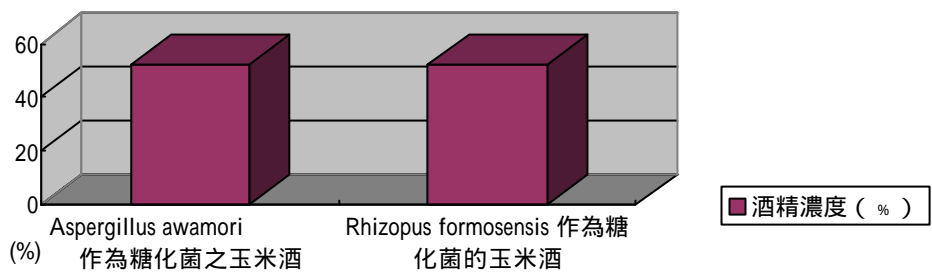
91 年 08 月 21 日投稿

91 年 11 月 07 日接受



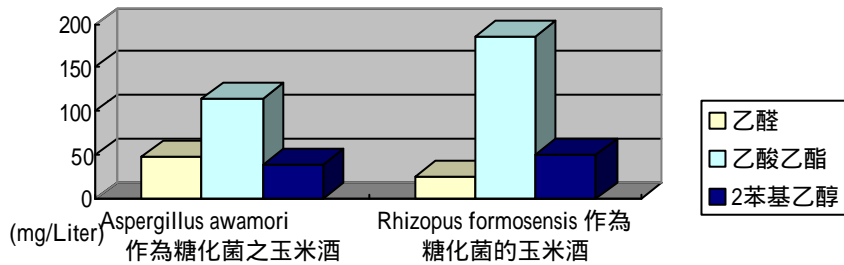
圖一 總滴定酸在不同糖化菌種所釀玉米酒之比較

Fig 1 The titratable acidity values of maize wines made of different saccharifying microorganisms.



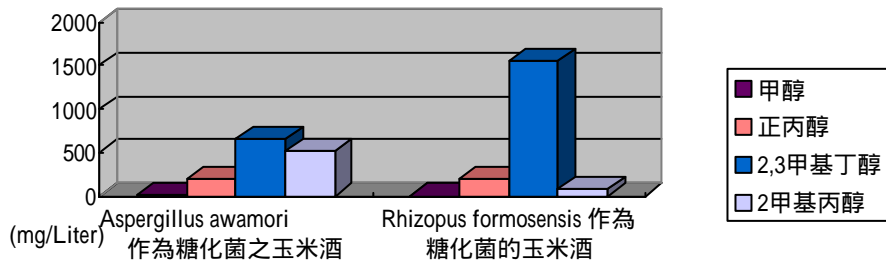
圖二 酒精濃度在不同糖化菌種所釀玉米酒之比較

Fig 2 The alcohol contents of maize wines made of different saccharifying microorganisms.



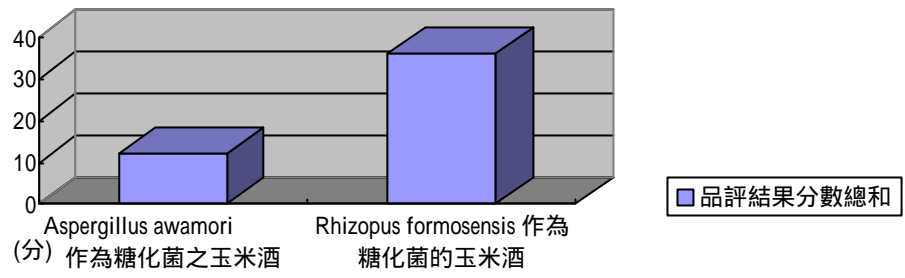
圖三 乙醛,乙酸乙酯及2-苯基乙醇在不同糖化菌種所釀玉米酒之比較

Fig 3 The acetaldehyde, ethyl acetate and 2-phenyl ethanol contents of maize wines made of different saccharifying microorganisms.



圖四 甲醇,正丙醇和2,3-甲基丁醇及2-甲基丙醇在不同糖化菌種所釀玉米酒之比較

Fig 4 The methanol, 1-propanol, 2,3-dimethyl-butanol, 2-methyl-1-propanol contents of maize wines made of different saccharifying microorganisms.



圖五 不同糖化菌所釀玉米酒之品評結果分數總和

Fig 5 The sensory evaluation results of maize wines made of different saccharifying microorganisms.