

# 水稻品種苗栗 1 號釀製甜酒釀發酵過程中之生化變化

許廣成<sup>1,2</sup> 李懿書<sup>1,2</sup> 謝佳昀<sup>1,3</sup> 田伊婷<sup>1,4</sup> 傅珮宜<sup>1,5</sup> 吳柔萱<sup>1,6</sup> 郭慧嫻<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup>國立大湖農工高級職業學校 <sup>2</sup>國立高雄海洋科技大學 水產食品系 <sup>3</sup>弘光科技大學 食品科技系

<sup>4</sup>國立屏東科技大學 食品科學系 <sup>5</sup>嘉南藥理科技大學 食品科技系 <sup>6</sup>弘光科技大學 健康事業管理系

<sup>7</sup>國立台灣大學 食品科技研究所

## 摘 要

稻米為臺灣主要農產品之一，水稻品種之支鏈澱粉、直鏈澱粉、蛋白質、脂質含量不同，所釀製之酒類品質亦有所差異。經由根黴菌與酵母菌之純菌培養，來探討不同品種之水稻釀製甜酒釀發酵過程中之生化變化。發酵 168 小時內，隨著時間增加，澱粉逐漸被澱粉酶分解，還原糖呈現增加之趨勢。酸鹼值(pH)由 6.7~6.44 在 24 小時內驟降而後維持在 pH 3.5~3.9 之間，可滴定酸度、酒精含量及水分含量皆逐漸升高。台中在來 1 號(Taichung Native 1, TN1)其還原糖增加之趨勢較為和緩，台中糯 70 號(Taichung Waxy 70, TCW70)還原糖則一直維持在 550  $\mu\text{g/ml}$  之上，而苗栗 1 號(Miaoli 1, ML1)在發酵 120 小時內，其還原糖生成量與台中糯 70 號並無顯著差異。可滴定酸部分，在發酵 168 小時之後，台秈糯 2 號(Tai Sen Waxy 2, TSW2)及台中糯 70 號皆顯著低於台中在來 1 號與苗栗 1 號。發酵 36 小時後，酒精生成量約 4~5%，實驗後期生成漸趨平緩。

**關鍵詞：**甜酒釀、根黴菌、糖化、生化變化

## 前 言

酒釀源起於兩千年前南北朝時期為我國傳統的米類發酵食品之一。甜酒釀通稱為酒釀、甜酒或甜釀酒，因可繼續發酵為酒類製品，故又有酒糧、酒娘、漿頭酒等名稱。而英文則稱為 Lao-chao

(老酒)，是因酒釀為紹興酒發酵之前身，故以紹興酒之通稱老酒而命名(劉等，1979；Wang, 1980)。酒釀發酵期間，酒藥內的菌株會在蒸熟的米飯上快速生長，並分泌出澱粉酶、蛋白酶、脂解酶等酵素(陳，1990)。糯米澱粉經由糖化酵素分解成小分子糖類後，部分再

\*論文聯繫人

e-mail: vivi8899@thvs.mlc.edu.tw

經發酵轉變成酸和酒精；蛋白質經由蛋白分解酵素分解產生胜肽和胺基酸，其部分會再轉變成高級醇；脂質經由脂肪水解酵素分解產生脂肪酸，其部分會與酒精作用轉變成酯類，造成酒釀特有的香味(許，2003)。

稻米為臺灣主要農產品之一，依胚乳特性可區分為稈稻、秈稻及糯稻，品種間主要差異在直鏈澱粉(amylose)及支鏈澱粉(amylopectin)含量之比例不同(Perdon *et al.*, 1975)，秈米支鏈澱粉分子量小，分支數少，平均鏈長較長，大約18-22個葡萄糖基，而稈稻及糯稻的平均鏈長分別為15-18及17-20個葡萄糖基，因此秈稻品種回凝速率較快，製成米飯的入口性質較差(盧，1996)。而米之蛋白質、脂肪酸含量於品種間亦有所差異，並影 米製加工產品之風味性質(蔡，2004；賴，2004)。傳統製備甜酒釀是以圓糯米為原料，而商業化生產之甜酒釀多以蓬萊米為原料，二者皆在市場上各占一席之地。經由根黴菌與酵母菌之純菌培養，本研究欲探討4種不同水稻品種白米所釀製甜酒釀發酵期間之生化變化，以利製作甜酒釀時品種選擇之參考。

## 材料與方法

### 一、材料

#### (一)水稻品種：

台中在來1號(Taichung Native 1, TN1)、苗栗1號(Miaoli 1, ML1)、台中秈糯2號(Taichung Sen Waxy 2, TSW2)、台中糯70號(Taichung Waxy

70, TCW70)由行政院農業委員會苗栗農業改良場作物改良課提供。

#### (二)釀酒發酵菌種：

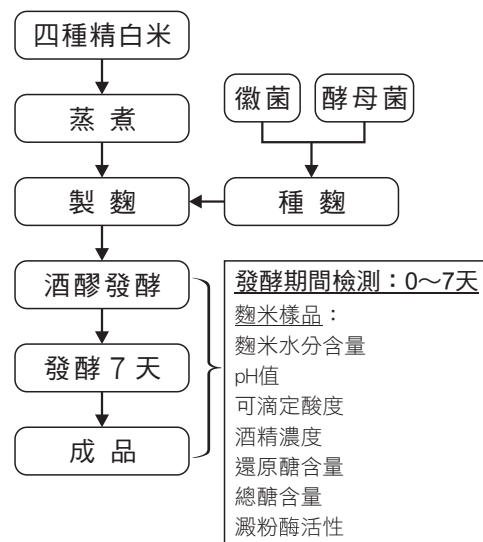
根黴菌(*Rhizopus oryzae*)由臺灣大學食品科技研究所周正俊教授提供；酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)購自汎球國際貿易公司(台北市)，商品名為Danstil C之活性乾酵母。

#### (三)培養基：

利用PDA(potato dextrose agar)培養根黴菌，及YMA(yeast malt agar, 配方：yeast extract 3g；malt extract 3g；peptone 5g；glucose 200g；agar 15g；蒸餾水1L)培養酵母菌。

## 二、試驗方法

### (一)釀酒流程



## (二) 微生物保存、活化及接種源製備

### 1. 冷藏保存：

- (1) 根黴菌：將 *Rhizopus oryzae* 分別接種於 PDA 斜面培養基，30°C 培養 3 天，置於 4°C 冰箱中保存。
- (2) 酵母菌：將 *Saccharomyces cerevisiae* 接種於 YM 斜面培養基，30°C 培養 3 天，置於 4°C 保存。

### 2. 冷凍保存：

- (1) 黴菌：上述菌株接種於 PDA 斜面培養，30°C 培養 7 天，分別以 5 ml 含有 0.1% Tween 80 的無菌水沖洗斜面培養基表面，取得孢子懸浮液，隨後取 0.9 ml 孢子懸浮液加入 0.1 ml 40% 甘油，置於冷凍小管，存放於 -80°C 保存。
- (2) 酵母菌：接種於 YM 液體培養基，於 30°C 下培養 2 天，0.7 ml 菌液加入 0.3 ml 40% 甘油，置於冷凍小管，存放於 -80°C 保存。

### 3. 活化：

- (1) 根黴菌：使用前，菌株先接種於 PDA 平面培養基 30°C 下培養 3 天，連續活化兩次後，將菌株接種至 PDA 斜面培養基，於 30°C 下培養 3 天，以供使用。
- (2) 酵母菌：接種於 YM 液體培養基，於 30°C 下培養 2 天，即可使用。

## 4. 接種源之製備：

- (1) 根黴菌：菌株接種於 PDA 斜面培養基，於 30°C 培養 3 天，以含有 0.1% Tween 80 的無菌水刮洗斜面培養基表面，取得孢子懸浮液，隨即以經高壓滅菌 (121°C，15min) 處理過之無菌水，調整至 10<sup>6</sup> 個/ml 之孢子懸浮液作為接種源備用。
- (2) 酵母菌：將活化之酵母菌取 1 ml 接種至 100 ml YM broth 培養 2 天，經離心約 2,000 g，10 分鐘後，除去上清液，加入適量無菌水將菌體懸浮成 10<sup>6</sup> 個/ml 備用 (陳，1990；Chou and Rwan, 1995)。

## (三) 甜酒釀之製備

麴米之製備：四品種米各取 600 g，以水清洗 4-5 次，室溫下加入兩倍體積的水浸泡米 2 小時，瀝乾米粒後秤重，以蒸箱進行蒸煮後秤重，調整水分含量至 40% 後，將蒸熟之米飯放入耐熱之玻璃罐中，於殺菌釜中滅菌 (121°C，20 min) 後秤重。冷卻至 40°C，將滅菌後約 300g 之米飯置於直徑 15 公分、高 5 公分底部為 60 mesh 篩網之麴盤上，均勻噴灑含 10 ml 10<sup>6</sup> 個孢子/ml 之孢子懸浮液及 10 ml 10<sup>6</sup> 個菌體/ml 酵母菌菌體懸浮液，翻攪均勻，隨即進行固態發酵，控制溼度 95%、於 30°C 下恆溫培養箱中培養，每 4 小時翻麴一次，24 小時後，約 50 g 米飯裝於置入 250 ml 已滅菌耐熱玻璃罐，旋緊瓶蓋，繼續在 30°C 下培養。

#### (四) 分析方法

##### 1. 取樣：

麴米樣品濾液之製備：在酒釀之製備過程中，分別於第0、24、36、48、60、72、96、120、144、168、192小時，取約20g之麴米精秤重量，加入100mL 1% NaCl之溶液，於室溫下以超音波震盪器連續震盪2小時，再以Whatman No. 1濾紙過濾，所得濾液定量至100ml即為粗酵素液(Narahara *et al.*, 1982; Chou and Rwan, 1995)。樣品除立即做酵素活性及水分含量測定之外，其餘儲存於-20°C冷凍庫中，待分析前再予以完全解凍。

##### 2. 水分含量測定：

依AACC 44-15A(2000)標準方法，秤取約5g之麴米，置於105°C之烘箱乾燥24小時至恆重，記錄乾燥後重量，精秤計算之：

$$\text{水分含量(\%)} = \frac{(A-B)}{B} \times 100$$

A：原料重量(g)

B：乾燥後重量(g)

##### 3. pH值之測定：

以pH酸鹼值測定儀(Jenco, USA)直接測定。

##### 4. 可滴定酸度：

取樣品濾液做適當稀釋後，取10mL以0.1N NaOH滴定至滴定終點，終點為淡粉紅色，讀取消耗的0.1N NaOH的ml數，換算酸度。

出麴酸度(mg/g(sample))% =

$$\left[ \frac{0.1(N) \times F \times V(\text{ml}) \times 90(E)}{1000} \right]$$

$\times D / W \times 100\%$

F：0.1N NaOH之力價

E：乳酸的當量(E=90)

V：消耗0.1N NaOH之ml數

D：稀釋倍數

W：麴米重量(g)

##### 5. 還原醣之測定(Bernfeld, 1955; Miller, 1959)：

(1)取0.5ml澄清樣品於試管中，再加入1.5ml DNS試劑，置於沸水中隔水加熱反應10分鐘。

(2)反應後，流水冷卻使反應終止，再加入去離子水4ml稀釋，室溫下靜置20分鐘後，於波長550nm下測試吸光值，再對照標準曲線即可得還原醣濃度。

(3)標準曲線：分別配置葡萄糖、麥芽糖標準溶液，濃度分別為0、20、40、60、80、100g/ml之標準溶液進行色，以製標準曲線。

##### 6. 總醣量之測定(Dubosi, 1956)：

###### Phenol-sulfuric acid assay

以glucose為標準品，取0.2ml之含醣溶液(濃度約在0~100μg/mL)，加入0.2ml 5% phenol溶液，均勻混合後，沖入濃硫酸(95-98%)1ml，經30分鐘後反應冷卻，於波長490nm下測定其吸光值。對照以不同濃度葡萄糖濃度製作之標準曲線定量之。

## 7. 澱粉酶活性測定：

採用 Wohlgemuth (1908) 變法測定，即取 1 ml 麴米萃取液加入 1 ml 1% 可溶性澱粉溶液 (溶於 pH 5.0, 0.2 M 醋酸緩衝溶液)，在 40°C 下作用 30 分鐘，以 1N NaOH 0.5ml 終止反應。依測定還原醣方法，在波長 550 nm 下測吸光值。活性單位以 U 表示，每公克樣品在 30 分鐘內生成 1 mg maltose 之酵素量定義為一單位澱粉酶活性。

$$\Delta E = E_s - E_b$$

$$\text{酵素活性 (U)} = \Delta E \times D / W$$

$E_s$ ：樣品液中還原糖濃度

$E_b$ ：空白組中還原糖濃度

D：稀釋倍數

W：樣品重量(或體積)

## 8. 糖化度：

$$\text{糖化度 \%} = \frac{\text{樣品還原醣量}}{\text{總醣量}} \times 100\%$$

## 9. 乙醇含量之測定(化學氧化法)

(馬及張，2007)：

(1) 取重鉻酸鉀標準溶液 10 ml，加入 5 ml 濃硫酸溶液混合均勻，冷卻後加入 1 ml 樣品濾液反應 5 分鐘後，加入 10 ml 碘化鉀溶液，放置暗處 5 分鐘後取出，加水至 300 ml，再用硫代硫酸鈉標準溶液滴定至淡黃綠色，加入 1 ml 澱粉指示劑，繼續用硫代硫酸鈉標準溶液滴定至藍色剛好消失，即為終點。

(2) 計算公式：

$$\text{乙醇含量 (\%, g/v)}$$

$$= (V_0 - V) \frac{6}{V} \frac{6}{0.7893} D$$

$V_0$ ：空白試驗所消耗之硫代硫酸鈉標準溶液 ml 數

V：測定樣品所消耗之硫代硫酸鈉標準溶液 ml 數

6：10 ml 重鉻酸鉀標準溶液與 6g/100 ml 乙醇溶液 1 ml 完全反應

D：樣品稀釋倍數

0.7893：無水乙醇在 20°C 時之密度(g/ml)

## (五) 統計分析：

每項試驗至少重複 3 次，其平均值及標準偏差為實驗結果之現，結果並以統計分析系統 (Statistic Analysis System, SAS) 9.1 版 (SAS, 2007) 進行統計分析。以最小顯著差異法 (LSD, Least Significant Differences) 比較各處理數值間之差異，當  $p < 0.05$  表示具有顯著性差異。

## 結 果

經由根黴菌與酵母菌之純菌接種於不同直鍊澱粉含量的水稻 4 個品種蒸煮米，來探討不同品種之水稻釀製甜酒釀發酵過程中之水分、pH 值、可滴定酸度、酒精含量、還原糖、總醣與澱粉酶等變化情形，茲將結果分述於下：

### 一、水分及 pH 值：

在本研究所測試的 4 個水稻品種白米經蒸煮後的水分，台中在來 1 號、苗栗 1 號、台秈糯 2 號等 3 種米約在 45% (米乾重為基準)，而台中糯 70 號水分含量為 55.1%。在米飯冷卻過程當中部分水分散逸，故在發酵起始階段，各品種

蒸米的水分含量比剛蒸煮時，都些許下降(參考圖二)，台中在來 1 號 37%、苗栗 1 號 43%、台秈糯 2 號 39.5%，而台中糯 70 號 40%。在圖一釀酒過程各品種水分變化可見，發酵進行 24 小時之後水分，除台中在來 1 號上升至 40%，其餘 3 個品種則持續在下降中，直至 36~48 小時之後才又上升。台秈糯 2 號之水分含量在開始發酵時，持續下降於 36 小時至 30% 以下，至 96 小時水分為 31.5%。台中糯 70 號則在 48 小時下降至最低點近 30%。於 96 小時台中在來 1 號為 41%、苗栗 1 號 46%、台秈糯 2 號 31%，而台中糯 70 號 34%。在甜酒釀發酵過程中，糯米逐漸被糖化，而產生多量的液化汁，因此其水分含量會隨發酵之進行逐漸升高。糯稻低直鍊澱粉與中高直鍊澱粉釀酒過程中水份 現不同。

酸鹼度在 4 個品種米進行甜酒釀之發酵期間變化情形表現非常相似，發酵之初均約在 6.7~6.44 之間。24 小時之後，pH 值皆降低至 3.5~3.9，而後趨於穩定，約在 3.1~3.8 之間(圖二)，其中以苗栗 1 號最低，台中在來 1 號最高，2 個糯稻品種則相近，在 3.5~3.6 之間。

## 二、可滴定酸度及酒精含量：

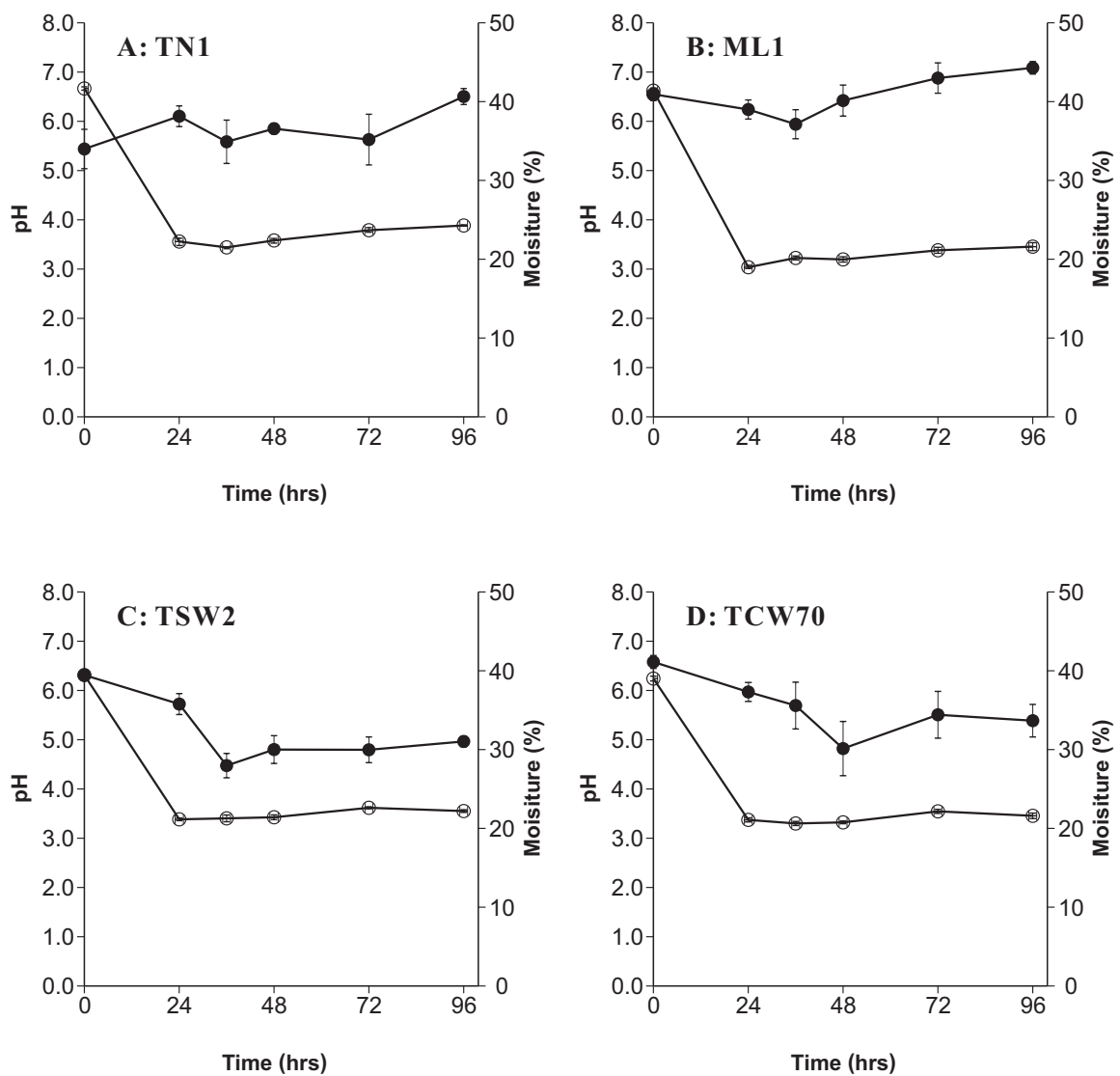
可滴定酸度會隨著時間增加而漸增，由圖二顯示在 36~48 小時達到最高，台中在來 1 號為 0.17%、苗栗 1 號 0.20%，2 個糯稻則在 0.10%。台中在來 1 號、苗栗 1 號在發酵 96 小時之後，可滴定酸度顯著比台秈糯 2 號與台中糯 70 號高。而台秈糯 2 號與台中糯 70 號在發酵 48 小時之後，可滴定酸度就 現略下

降而趨平緩的趨勢。

在甜酒釀之發酵過程中，4 個品種米之發酵基質中酒精含量都有隨著時間增加而逐漸上升(圖二、圖三)。在發酵 36 小時後，酒精生成量趨於緩和，最終酒精含量 4~5%。

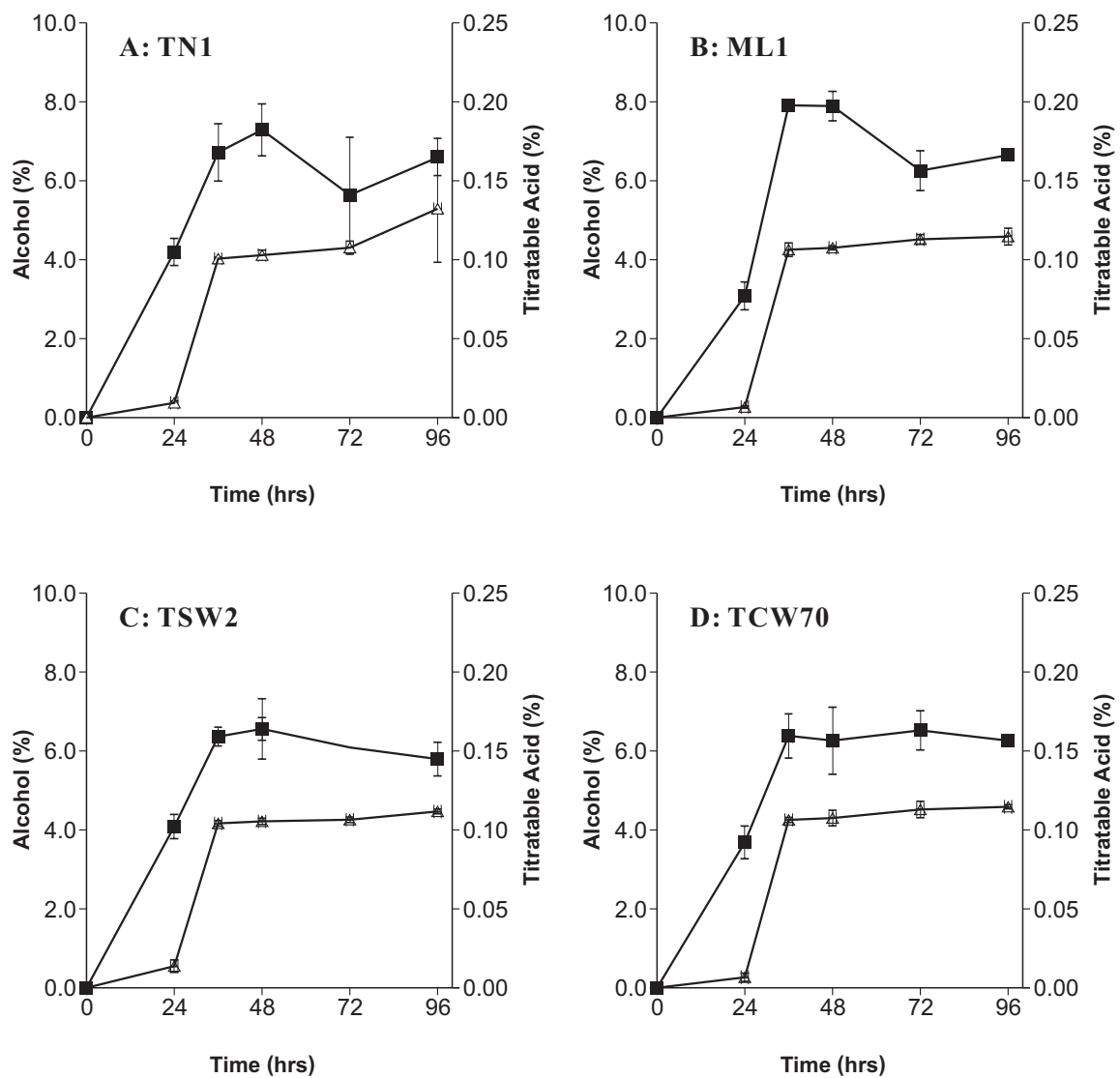
## 三、還原糖、總醣、澱粉酶與糖化度：

圖三及圖四分爲還原糖及總醣，澱粉酶及糖化度在發酵期間的變化情形。開始發酵之後，還原糖含量除台秈糯 2 號有起伏變化，其他 3 個品種隨著時間增加遞增(圖四)，而台中糯 70 號(Taichung Waxy 70, TCW70)在發酵 24 小時以後還原糖則一直維持在 550  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之上，台中在來 1 號在 120 小時後，才升至 550  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，而苗栗 1 號(Miaoli 1, ML1) 在發酵 120 小時內，其還原糖生成量與台中糯 70 號並無顯著差異，且在發酵 36 小時測定時出現高峰，還原糖量達到 1589  $\text{g}/\text{mL}$ ，在發酵 72 小時之後，其還原糖量仍維持在 4 個品種中最高量，且在 36 小時該品種糖化度 27.97% 及澱粉酶活性 44  $\text{U}/\text{g}$ (圖五)。總醣含量在發酵開始微生物增長分泌出澱粉酶後，隨著時間增加而增加，台中在來 1 號在發酵 96 小時後，總醣量才遠高於其他 3 個品種，但澱粉酶活性卻下降，還原糖含量及糖化度皆顯著低於其他 3 個品種(圖四、五)。此時，台中糯 70 號其糖化度為 34%，爲此研究 4 個品種中糖化度最高者；台秈糯 2 號與台中糯 70 號澱粉酶活性維持在 13~15  $\text{U}/\text{g}$ ，但台中在來 1 號與苗栗 1 號之澱粉酶活性卻顯著下降至 5  $\text{U}/\text{g}$ 。



圖二 水稻 4 個參試品種發酵期間水分(%, ●)及 pH 值(○)之變化。  
 TN1：台中在來 1 號；ML1：苗栗 1 號；TSW2：臺稙糯 2 號；  
 TCW70：臺中糯 70 號。每個數值皆以平均值 標準差(n=3) 現。

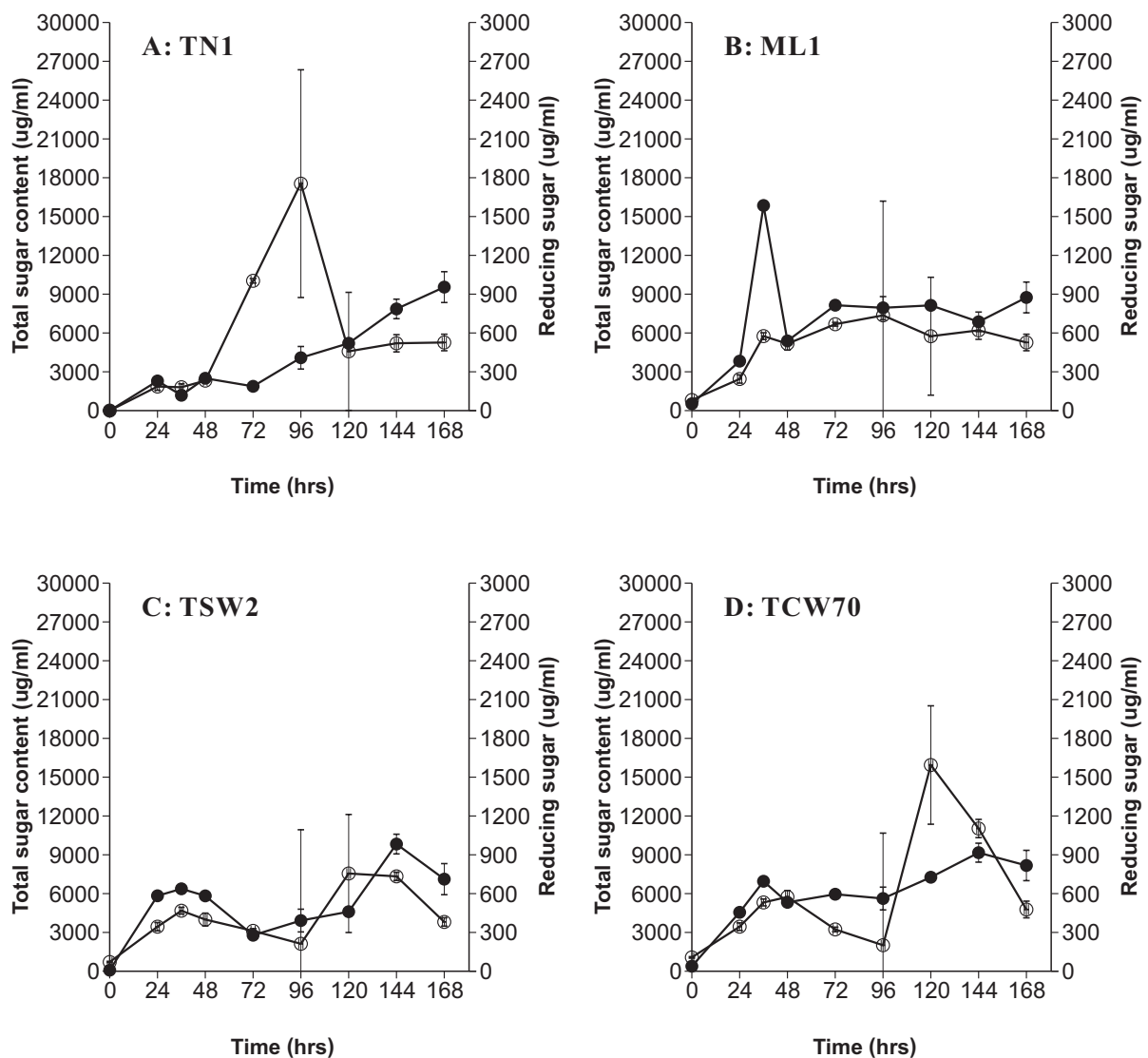
Fig. 2. The change of moisture content (% , ●) and pH value (○) during Lao-chao fermentation.  
 TN1: Taichung Native 1; ML1: Miaoli 1; TSW2: Taichung Sen Waxy 2; TCW70: Taichung Waxy 70.  
 Data are mean ± standard deviations, n=3.



圖三 水稻 4 個參試品種發酵期間酒精含量(%, △)及可滴定酸度(■)之變化。  
 TN1：台中在來 1 號；ML1：苗栗 1 號；TSW2：臺稈糯 2 號；  
 TCW70：臺中糯 70 號。每個數值皆以平均值 標準差(n=3) 現。

Fig. 3. The change of alcohol content (% , △) and titratable acidity (■) during Lao-chao fermentation.  
 TN1: Taichung Native 1; ML1: Miaoli 1; TSW2: Taichung Sen Waxy 2; TCW70: Taichung Waxy 70.  
 Data are mean ± standard deviations, n=3.





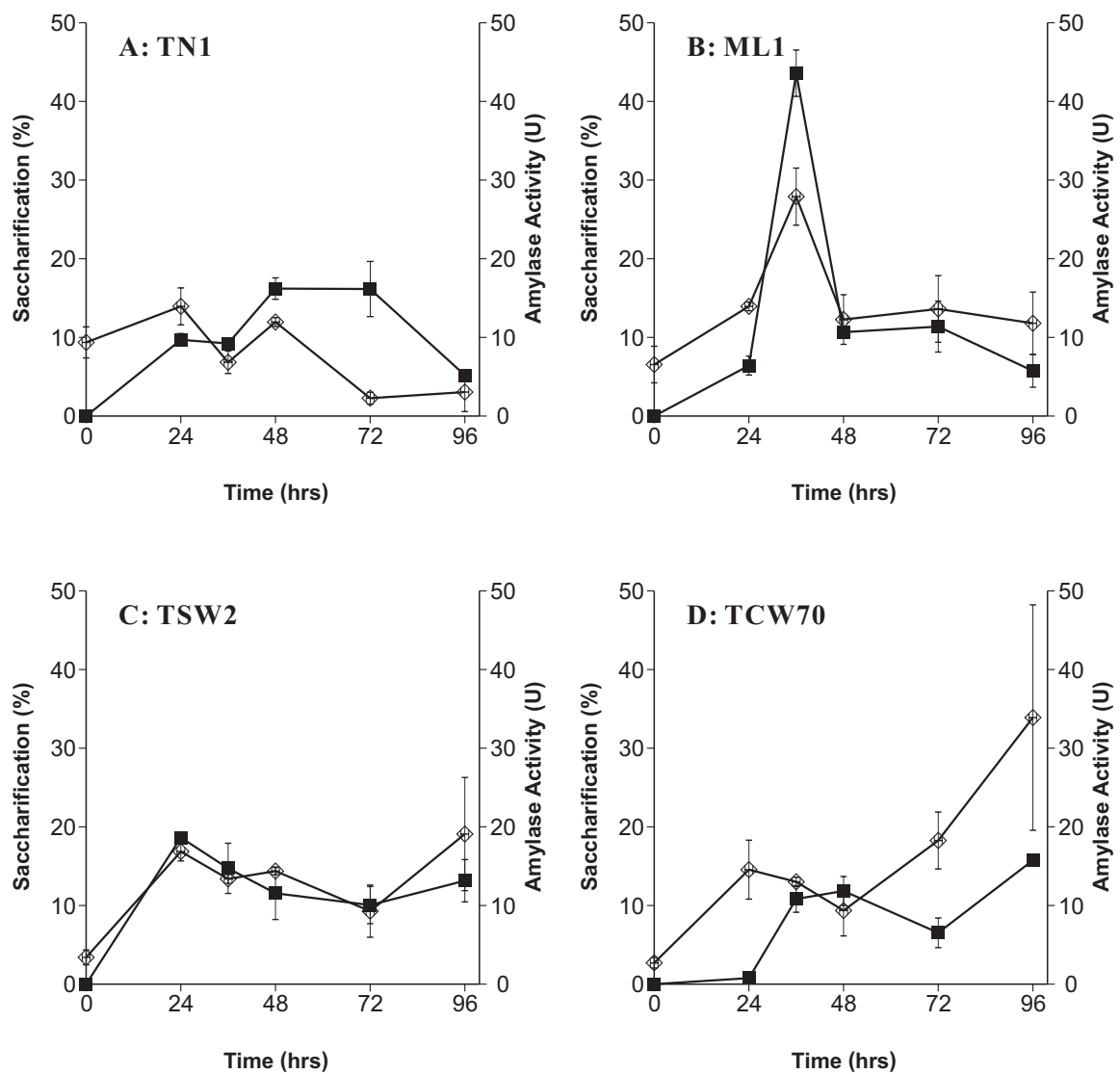
圖四 水稻 4 個參試品種發酵期間總醣(○)及還原糖(●)之變化。  
 TN1：台中在來 1 號；ML1：苗栗 1 號；TSW2：臺稈糯 2 號；  
 TCW70：臺中糯 70 號。每個數值皆以平均值 標準差(n=3) 現。

Fig. 4. The change of total carbohydrate (○) and reducing sugar (●) during Lao-chao fermentation.  
 TN1: Taichung Native 1; ML1: Miaoli 1; TSW2: Taichung Sen Waxy 2; TCW70: Taichung Waxy 70.  
 Data are mean  $\pm$  standard deviations, n=3.

## 討 論

本研究藉由不同直鍊澱粉含量的水稻品種釀製甜酒釀發酵過程中之水分、pH 值、可滴定酸度、酒精含量、還原糖、總醣與澱粉酶等變化情形，瞭解甜酒釀發酵過程的生化反應。本研究在來米台中在來 1 號其還原糖增加之趨勢較為和緩，圓糯米台中糯 70 號之還原糖則一直維持在 550 g/ml 之上，而稉米苗栗 1 號在發酵 96 小時內，其還原糖生成量與台中糯 70 號並無顯著差異。發酵 36 小時後，酒精生成量約 4~5%，低於其他研究結果，可能與水分不夠有關。所測定 pH 值於 24 小時後各品種皆趨穩定可能與發酵後之產物具有緩衝能力有關 (Shieh and Beuchat, 1982)。本次實驗結果與前人研究之結果 (陳, 1990) 相近，該研究產物之 pH 值約為 4.1~4.5 之間，比此次實驗結果高，研判可能與使用之菌醃不同之故。造成甜酒釀可滴定酸度提高之成分除主要由醣類水解經克伯氏循環 (TCA cycle) 而來之中間產物代謝外，黴菌水解生成的游離脂肪酸、胺基酸，甚至菌體分解而成的核苷酸都會使可滴定酸度增加 (Shieh and Beuchat, 1982)。由本研究可滴定酸度比較，糯稻品種比其他品種低，此與台中糯 70 號之蛋白質含量為 9.83%、脂肪含量 1.41%，高於苗栗 1 號及台中在來 1 號 (賴, 2004)，相對的可滴定酸度會增加。但本研究結果是台中糯 70 號可滴定酸較低，此可能因該品種糖類水解中間產物酸性物質較少。

在來米的支鏈澱粉分子量小，分支數少，平均鏈長較長，相較於稉米、糯米，不易糊化，回凝速度快 (盧, 1996; 張, 1991)，這些因子都會影響發酵的結果。此次實驗結果顯示台中在來 1 號其澱粉分解速度較緩慢，還原糖生成速度相較其他米也較緩慢。研究指出，台中在來 1 號之平均米澱粉顆粒比台中糯 70 號大，米澱粉之比表面積與顆粒大小之分布情形之間存有很高之相關性，米澱粉顆粒越小其比表面積亦隨之增加 (陳等, 2004)。Kulp (1973) 之研究顯示大顆粒小麥澱粉之糊化起始溫度、崩壞度 (breakdown)、水結合力及酵素感受力等均較小顆粒澱粉低。而不同大小顆粒之澱粉顆粒，其澱粉型態及結構上的差異可能會出現不同之理化性質，進而影響其糊化行為 (蔡, 1997; Vasanthan and Bhatta, 1995, 1996)。以電子顯微鏡觀察秈米、稉米、糯米，其澱粉顆粒表面小凹洞有所不同，可能是進入澱粉顆粒內部之非結晶通道 (amorphous channel)，且與酵素分解的行為有關 (Fannon *et al.*, 1993; Gallent *et al.*, 1997; Baldwin *et al.*, 1994; BeMiller, 1997)。本研究酒精生成量與一般酒釀 8~10% 作比較 (陳, 1990)，本實驗結果酒精生成量 4~5% 明顯較低。研判可能與發酵基質水分減少，微生物所分泌之酵素缺乏作用的媒介，因而生成量無法提升，尤其台中在來 1 號水分僅 37%，其相對的總醣及還原糖含量也較低變化，可與之呼應。



圖五 水稻 4 參試品種發酵期間糖化度(◇)與澱粉酶活性(■)之變化。  
 TN1：台中在來 1 號；ML1：苗栗 1 號；TSW2：臺稈糯 2 號；  
 TCW70：臺中糯 70 號。每個數值皆以平均值 標準差(n=3) 現。

Fig. 5. The change of total carbohydrate (◇) and reducing sugar (■) during Lao-chao fermentation.  
 TN1: Taichung Native 1; ML1: Miaoli 1; TSW2: Taichung Sen Waxy 2; TCW70: Taichung Waxy 70.  
 Data are mean  $\pm$  standard deviations, n=3.

## 誌 謝

感謝行政院農業委員會苗栗區農業改良場張素貞研究員及王仁助課長提供稻米原料以及實驗技術之支援。感謝國立臺灣大學食品科技研究所游若箴所長、周正俊教授、生化科技研究所李昆達副教授等提供實驗用藥品及菌種。

## 引用文獻

- 馬美范、張印貞。2007。化學氧化法測定白酒中乙醇含量的研究。釀酒科技。2：93~94。
- 許銘書。2003。甜酒釀發酵過程中黑糯米之生化變化。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。臺北市。
- 張曙明。1991。探討以不同溫度加熱所得各種米澱粉糊之老化。食品科學，18：275~285。
- 陳芝瑩。1990。不同菌醃對甜酒釀釀造過程中生化變化及風味之影。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。臺北市。
- 陳季洲、呂政義、盧訓。2004。米澱粉顆粒粒徑分佈及型態之研究。台灣農化與食品科學，42：29~35。
- 賴柏廷。2004。探討不同碾米率稻米之理化性質及對清酒品質之影。國立中興大學食品科學研究所碩士論文。台中市。
- 劉伯文、王西華、楊盛行、石文治。1979。米類發酵食品。食品工業，11：7~10。
- 盧訓。1996。稻米品種結構與米食加工之關係。臺灣省農業試驗所專刊，59：211~228。
- 蔡玫琳。1997。澱粉顆粒及其分子之成糊行爲。國立臺灣大學食品科技研究所博士論文。台北市。
- 蔡美鳳。2004。水稻品種間炊飯特性與食味值之表現。國立嘉義大學農學研究所碩士論文。嘉義縣。
- AACC. 2000. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 10<sup>th</sup> ed. Methods, 44-15A, 46-11A, 30-10, 08-01, 76-30A, 61-02. The Association: St. Paul, Minnesota.
- Bernfeld, P. 1955. Amylase  $\alpha$  and  $\beta$  Chemistry. Methods Enzymol. 1: 149-155.
- Baldwin, P. M. J. Adler, M. C. Davis, and C. D. Melia. 1994. Holes in starch granules: Confocal, SEM and light microscopy studies of starch granule structure. Starch/Staerke. 46: 341-346.
- BeMiller, J. N. 1997. Structure of the starch granule. J. Appl. Glycosci. 44:43-49.
- Chou, C. C. and J. H. Rwan. 1995. Mycelial propagation and enzyme production in Koji prepared with *Aspergillus oryzae* on various rice extrudites and steamed rice. J. Ferment. Bioeng. 79: 509-512.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Anal.

- Chem. 28: 350-356.
- Fannon, J. E., J. M. Shull, and J. N. BeMiller.** 1993. Interior channels of starch granules. *Cereal Chem.* 70: 611-613.
- Gallant, D. J., B. Bouchet, and P. M. Baldwin.** 1997. Microscopy of starch : Evidence of a new level of granule organization. *Carbohydr Polym.* 32: 177-191.
- Kulp, K.** 1973. Characteristics of small granule starch of flour and wheat. *Cereal Chem.* 50: 666-679.
- Miller, G. L.** 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31: 426-428.
- Narahara, H, Y. Koyama, T. Yoshida, S. Pichangkura, R. Ueda, and H. Taguchi.** 1982. Growth and enzyme production in a solid-state culture of *Aspergillus oryzae*. *J. Ferment. Technol.* 60: 311-319.
- Perdon, A. A., E. J. Del-Rosario, and B. O. Juliano.** 1975. Solubilization of starch synthetase bound to *Oryza sativa (rice)* starch granules. *Pytochemistry* 14: 949-951.
- Pelczar, M. J. Jr., E. C. S. Chen, and Krieg, N. R.** 1986. *Microbiology*, 5th ed., McGraw-Hill Inc., New York, U.S.A.
- Shieh, Y. S. C. and C. W. Beuchat.** 1982. Microbial changes in fermented peanut and soybean containing kojis prepared using *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oligosporus*. *J. Food Sci.* 47: 518-522.
- Vasanthan, T. and R. S. Bhatt.** 1995. Starch purification after milling and air classification of waxy, normal and high amylase barleys. *Cereal Chem.* 72: 379-384.
- Vasanthan, T. and R. S. Bhatt.** 1996. Physicochemical properties of small and large granule starches of waxy, regular, and high amylase barleys. *Cereal Chem.* 73: 199-207.
- Wang, H. H.** 1980. Fermented rice products. In "Rice Production and Utilization" p. 650, Ed. Luh, B.S. AVI Publishing Co., Westport, Conn., U.S.A.

收件日期：101年01月20日

接受日期：101年09月05日

# Biochemical Changes in Fermentation Process of Lao-chao with Different Rice Cultivars

**Guang-Cheng Syu**<sup>1,2</sup>, **Yi-Shu Li**<sup>1,2</sup>, **Chia-Yun Hsieh**<sup>1,3</sup>, **Yi-Ting Tian**<sup>1,4</sup>, **Pei-Yi Fu**<sup>1,5</sup>, **Rou-Xuan Wu**<sup>1,6</sup>, **Hui-Hsien Kuo**<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup>National Da-Hu Agricultural Industrial Vocational High School, Miaoli, Taiwan, R. O. C.

<sup>2</sup>National Kaohsiung Marine University Department of Seafood Science, Kaohsiung, Taiwan, R. O. C.

<sup>3</sup>Hungkuang University Department of Food Science and Technology, Taichung, Taiwan, R. O. C.

<sup>4</sup>National Pingtung University of Science and Technology Department of Food Science, Pingtung, Taiwan, R. O. C.

<sup>5</sup>Chia Nan University of Pharmacy and Science Department of Food Science & Technology, Chitayi, Taiwan, R. O. C.

<sup>6</sup>Hungkuang University Department of Health Business Administration, Taichung, Taiwan, R. O. C.

<sup>7</sup>National Taiwan University Institute of Food Science and Technology, Taipei, Taiwan, R. O. C.

## ABSTRACT

Rice is an important kind of crop products in Taiwan, with different contents of amylose, amylopectin, protein and lipid among different cultivars. In this research, we studied on the biochemical changes in fermentation process of Lao-chao with different rice cultivars via the pure culture of *Rhizopus* and yeast. After 168 hours of fermentation, starch was gradually degraded by amylase with time and the content of reducing sugar thus increased. Moreover, the pH value drastically dropped from 6.7-6.44 to 3.5-3.9 in 24 hours and kept in this range thereafter, while titrable acidity, alcohol content and moisture content gradually increased. However, in Taichung Native 1 (TN1), the content of reducing sugar increased in a milder tendency. The content of reducing sugar kept above 550 µg/ml in Taichung Waxy 70 (TCW70), and there was no significant difference compared with the one in Miaoli 1 (ML1) in 120 hours of fermentation. After 168 hours of fermentation, titrable acidity in Tai Sen Waxy 2 (TSW2) and TCW70 was significantly lower than TN1 and ML1. Alcohol content reached about 4-5% after 36 hours of fermentation and its production became moderate in the late stage of our experiment.

**Key words:** Lao-chao, *Rhizopus*, saccharification, biochemical changes

\*Corresponding author, e-mail: vivi8899@yahoo.com.tw