

投稿類別:農業類

篇名：

「液麩」風「發」-探討米麩液態培養與發酵時間之特性變化

作者：

張維庭。臺北市立松山高級工農職業學校。高三食品加工科仁班。  
黃育玲。臺北市立松山高級工農職業學校。高三食品加工科仁班。  
葉柏辰。臺北市立松山高級工農職業學校。高三食品加工科仁班。

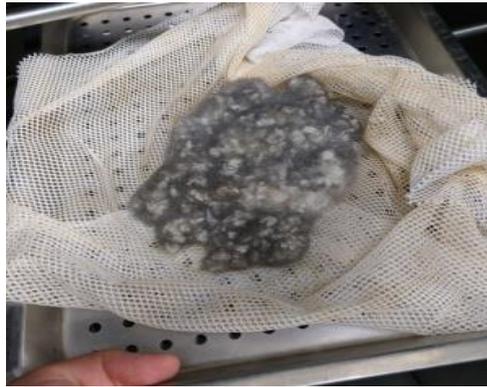
指導老師：

王昭君老師

## 壹●前言

### 一、研究動機

在高二的食品加工實習-製作米酒的實習課程中，首先必須培養米麴，但不知道為何我們組的米麴在發酵箱培養第三天時，蒸熟的米上居然佈滿了黑色黴菌菌絲(如圖一)，跟預期差異頗大，讓我們深切體會到固態培養發酵米麴是門深奧的技術，它涉及到食品加工與食品微生物多方面理論，故為了減少固態發酵之失敗率及繁複性，我們嘗試探究是否可用液態發酵之培養方式來改善固態發酵的缺點。



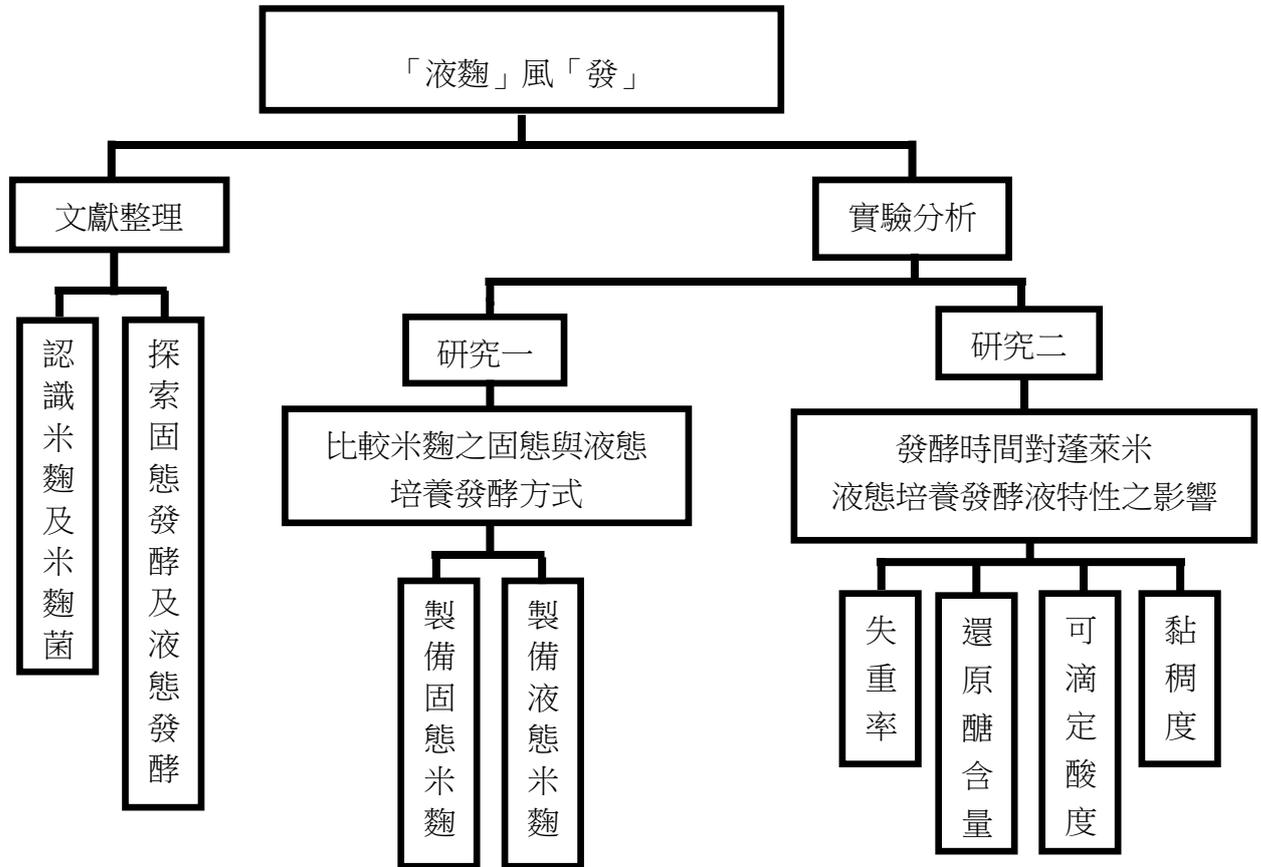
(圖一) 受污染的米麴外觀(作者自攝)

此外，根據研究指出微生物發酵可將原料經過多步驟的酵素催化化學反應，轉換為高價值、高活性的產物。如麴酸為真菌的二次代謝物，具有某些特殊的生物性質。所以常被應用在許多方面，「例如具有良好的美白效果和金屬螯合、抗氧化的能力，在食品加工上麴酸可以防止水果表面之氧化褐變、抑菌和抑真菌特性」(程國恩，2016)，顯示發酵液內的麴酸具有良好效益，故我們想從米麴液態發酵的角度出發，探討不同發酵時間對米麴液態發酵液各種特性之影響，透過多項實驗來研究分析探討最佳液態發酵時間條件。

### 二、研究目的

- 1、藉由文獻收集認識米麴種類及來源，同時了解米麴菌生理特性與應用，作為發酵研發基礎。
- 2、探討何謂固態及液態發酵，同時實際培養比較操作實務面上二者之優缺點，藉此剖析提出二者發酵之異同點及液態發酵應留心之注意事項。
- 3、以蓬萊米液態發酵法為前提，比較不同發酵時間下發酵液之失重率、可滴定酸度、還原糖含量及黏稠度等特性變化，透過分析找到最適之發酵時間條件，期望製備出高保健活性的發酵液提供往後食品加工相關應用。

三、研究架構



貳●正文

一、認識米麴及米麴菌

(一)米麴

稻米屬於禾本科(Gramineae)、稻屬(Oryza)，學名 *Oryza sativa* L.，常見有胚芽米、精白米等，而一般常用食用蓬萊米做為米麴製作之基材。而「麴」又稱麴蘖或是酒母，可以米、豆、麥等穀類為基質，經浸漬與殺菌後接種 *Aspergillus* 麴菌屬微生物，發酵三到五日所得之產品，「麴於食品發酵上常作為發酵源，於製麴過程中，麴菌能分泌多種不同酵素(如:澱粉酶及蛋白酶)分解基質成小分子，以供菌體之生長及產生風味物質。」(楊志佳，2010)，依照麴型態上的不同可以分為固體麴及液體麴兩大類:

- 1.固體麴：外型的不同又可分為塊麴及散麴，塊麴又因大小不同分成大麴與小麴。
  - (1)小麴:以米為原料，接種麴之後調整適當水分，數天培養後乾燥製成。具有製造簡單、容易保存、發酵期短、澱粉利用率高等特點。
  - (2)大麴:以麥及碗豆為原料，經磨粉→加水→培養等步驟，形成的磚形麴，且由於大麴種類繁多，故發酵產生的風味亦有很大的差異。
  - (3)散麴:外觀保持原料的型態，有異於塊麴之塊狀，經通風、通氣培養而成的新型小麴。

## 「液麴」風「發」-探討米麴液態培養與發酵時間之特性變化

2.液體麴：因製造作業流動化，可以減少人力，且較無雜菌污染的問題，大部分以阿米洛法來製造液體麴。阿米洛法指的是將原料米、水、鹽酸於高溫高壓下蒸煮液化，冷卻後接菌，培養後澱粉會液化及糖化，且由於培養與發酵同時進行，所以節省很多空間及人力，間接取代了固體麴的問題。

### (二)米麴菌 (*Aspergillus oryzae*)

米麴菌屬於散囊菌科、麴黴屬(*Aspergillus sp.*)的真菌，又稱日本麴黴。在外型上，「營養菌絲有橫隔，分身孢子柄的基部有足細胞，頂端頂囊，但無橫隔。」(江春梅，2014)，而菌絲柄會產生大量的分生孢子，其電子顯微鏡檢圖如「圖二」(註四)。



(圖二)米麴菌(*Aspergillus oryzae*)電子顯微鏡檢圖(來源:註四)

米麴菌常用在釀造食品，會產生特殊發酵風味，食品發酵工業上經常使用的麴菌有 *A. oryzae*、*A. sojae*、*A. awamori* 等，其中以 *Aspergillus oryzae* 為麴菌屬的代表菌種，此菌能分泌各種不同的酵素，「如糖化酵素、轉化酵素、纖維分解酵素、麥芽糖酵素、脂解酵素、蛋白質分解酵素等。其中以蛋白質分解酵素與糖化酵素活性最強。」(黃忠村，2017)，廣泛用於醬油、味噌、黃酒等。而本次研究採用之米麴菌來源為商業熟米麴菌(品牌:大山)，如(圖三)。



(圖三)大山熟米麴菌粉包裝及粉末(作者自攝)

## 二、探討米麴的固態與液態發酵

發酵方式若依照原料型態的不同，可分為固態發酵及液態發酵兩大類：

### (一) 固態發酵

原料須先經過前處理，確保成固體的狀態，利用經純化的麴菌及大量培養需氧量高的微生物，在適當的溫度及濕度範圍內培養，開始讓微生物在含水量低的固態物質上生長，產生發酵所

## 「液麴」風「發」-探討米麴液態培養與發酵時間之特性變化

需的產物，再加水萃取。適合應用在黴菌及蕈類等微生物，固態發酵製品例如:米酒、高粱酒、醬油等。

### (二)液態發酵

乃是利用試管、三角瓶、大型發酵槽等培養工具來盛裝發酵液。依培養方式不同，可分為下列四種:

- 1.液態靜置培養:適合兼氣性微生物生長發酵，例如:牛乳的乳酸發酵。
- 2.液態原料培養:一開始先拌入空氣，有利於發酵產生大量的菌體；後期環境則是以靜置兼氣為主，代謝的產物也隨之改變，生成酒精，例如:酵母菌之酒精發酵。
- 3.液態、固態混和培養:分為兩種，不定時拌入空氣，以利於好氣性微生物生長，例如:魚醬油發酵後期所產生的魚膠；不拌入空氣，以利於兼氣性菌生長，例如:乳酸發酵。
- 4.「通氣、震盪培養:利用外力作用增加液體溶氧量，有益於培養好氣性菌，例如:醋酸發酵。」  
(郭文玉，2014)

### 三、(研究一) 比較米麴之固態與液態培養發酵方式

(一)目的:實際進行米麴之固態與液態發酵，藉此剖析比較二者之優缺點及差異性。

#### (二) 固態發酵步驟

蓬來米洗淨瀝乾，採米:水=1:1 比例浸漬 1 小時→電鍋蒸熟米粒，且中心無白點→米麴菌粉混入烤熟麵粉，製成混麴粉以增加分散性→熟米粒放涼至 37°C，拌入混麴粉(1%)→放入發酵箱(溫度:37°C、相對濕度:80%)培養。

		
浸米	電鍋蒸熟米粒	市售麴粉拌烤麵粉
		
熟米粒冷卻至 37°C	熟米拌混麴粉	發酵箱 37°C 培養

(作者自攝)

#### (三) 液態發酵步驟

蓬來米洗淨瀝乾，採米:水=1:1 比例浸漬 1 小時→電鍋蒸煮至米粒分明，且中心無白點→米飯冷卻至 37°C，加入無菌水及大山熟米麴粉(原料米:水:麴粉= 100%: 300%: 0.5%)→均質製得含麴

「液麴」風「發」-探討米麴液態培養與發酵時間之特性變化

菌之液態米漿→倒入滅菌錐形瓶及塞上矽膠透氣塞→放入恆溫震盪培養箱(溫度:30°C、震盪轉速 80r.p.m)培養。

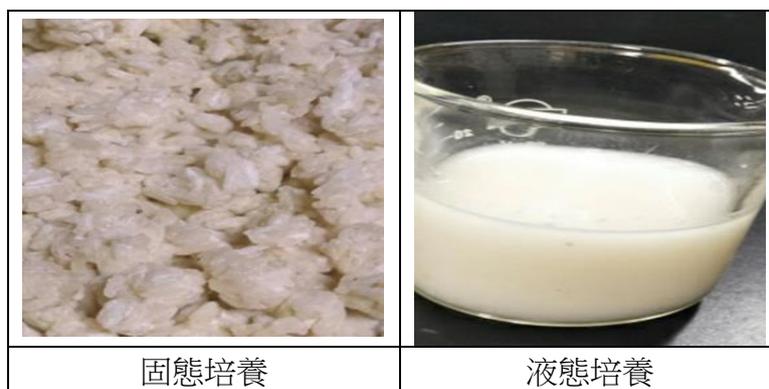
		
浸米	電鍋蒸熟米粒	冷卻至 37°C 均質
		
含麴菌液態米漿	錐形瓶液態培養	30°C 震盪培養

(作者自攝)

(四)結果與討論

1. 固態米麴與液態米麴之外觀

由(圖四)發現正常的固態米麴上佈滿白色菌絲，米粒完整分明，散發淡淡香氣；而液態培養發酵米麴並無法觀察到米粒或黴菌生長外觀，但其濃稠度及色澤會隨發酵培養時間而由稠轉稀，由白色轉成略帶黃色之稀狀溶液，同時散發特殊發酵麴酸風味。



(圖四)固態米麴與液態米麴外觀(作者自攝)

2. 培養固態米麴與液態米麴關鍵注意事項

固態發酵是在半開放環境下進行，需注意溫濕度之控制，且文獻指出若製麴溫度大於 40°C 時易造成燒麴現象，導致麴菌死亡，且無法製出顆粒分明之米麴，故必須嚴格掌控發酵溫度，藉由不斷堆麴或散麴反覆操作來控溫，相關耗費時間及人力。而液態發酵因放在已控溫恆溫震盪下培養，微生物受到污染的機率較低，且其發酵的二次代謝物-麴酸的產物會大於固態發酵，便於往後食品加工之應用。

## 「液麴」風「發」-探討米麴液態培養與發酵時間之特性變化

### 四、(研究二)不同發酵時間對蓬萊米液態發酵液特性之影響-目的及步驟

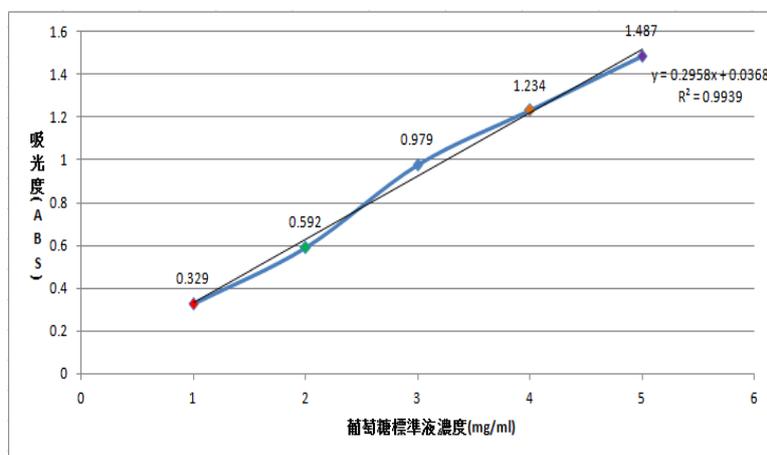
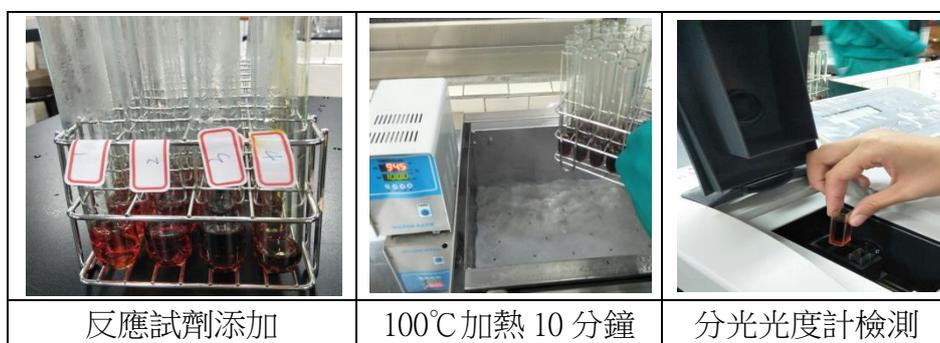
(一)目的:蓬萊米米麴採液態培養方式，固定每隔 12 小時收集，再測定發酵液的失重率、還原糖含量、可滴定酸度及黏度等特性，藉此找到最適液態發酵時間條件。

#### (二)步驟

1.失重率:發酵前(g)=(盛裝好的發酵液+瓶+矽膠塞)秤重→每 12 小時紀錄重量→失重率%={減少重量(g)/原始重量(g)}×100%

2.還原糖含量(採 DNS 還原糖測定法):

配製 DNS 溶液(0.25 公克 3,5 二硝基水楊酸與 75g 酒石酸鉀鈉溶於 2M 50ml 的 NaOH，再定量至 250 ml)→各取 0.4 ml 葡萄糖(1mg/ml~5mg/ml 標準品)或米麴發酵液經離心的澄清樣品溶液(10 倍稀釋液)→加入 4ml DNS 試劑→放入 100°C 加熱 10 分鐘→靜置冷卻至室溫→以分光光度計 570nm 檢測吸光度→繪製標準曲線(如圖五)，利用迴歸曲線再換算還原糖濃度。

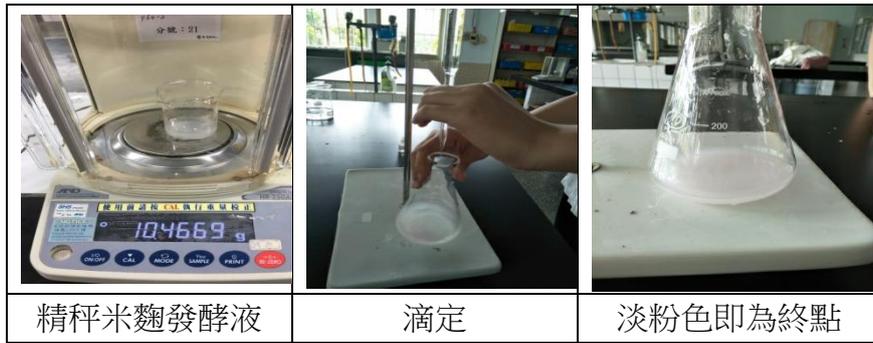


(圖五)DNS 試驗的葡萄糖標準曲線

#### 3.可滴定酸度

精秤取 10g 米麴發酵液→稀釋 4 倍放入錐形瓶加入酚酞指示劑→用已標定 0.01N NaOH 滴定→達粉紅色維持 30 秒不變色即為終點。

「液麴」風「發」-探討米麴液態培養與發酵時間之特性變化



4. 黏稠度

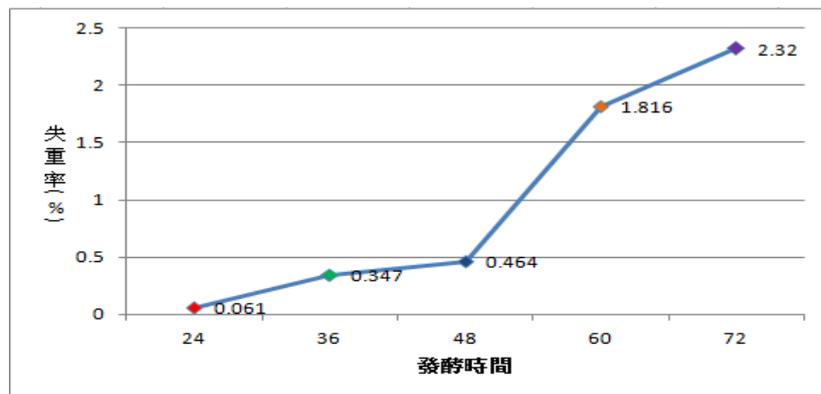
取定量米麴發酵液裝入適宜容器→選擇轉軸(S61)及設定黏度計測定條件(轉速 6.0 RPM)→檢測黏稠度(單位:cps)。



五、(研究二)不同發酵時間對蓬萊米液態發酵液特性之影響-結果與討論

(一)失重率

蒸熟蓬萊米混入 0.5% 熟米麴菌再加入 3 倍水均質後，培養環境條件為 0~72 小時，30°C、80 RPM 的液態震盪培養發酵，因製麴過程中麴菌會分泌澱粉分解酵素來水解澱粉進行液化過程，外觀上培養剛開始 24 小時可明顯看出大量泡沫生成，推測發酵伴隨產生 CO<sub>2</sub> 使得液態發酵液重量減少，故檢測失重率可間接了解麴液發酵之狀態。由(圖六)結果發現發酵時間與失重率成正比關係，隨著時間增加液態發酵液重量會減少，在 24 小時失重率只有 0.061%，在 48~60 小時失重速率加快，斜率最大，60 小時以後失重又漸趨緩，當達培養 72 小時失重率為 2.32%，是 24 小時的 3.44 倍。

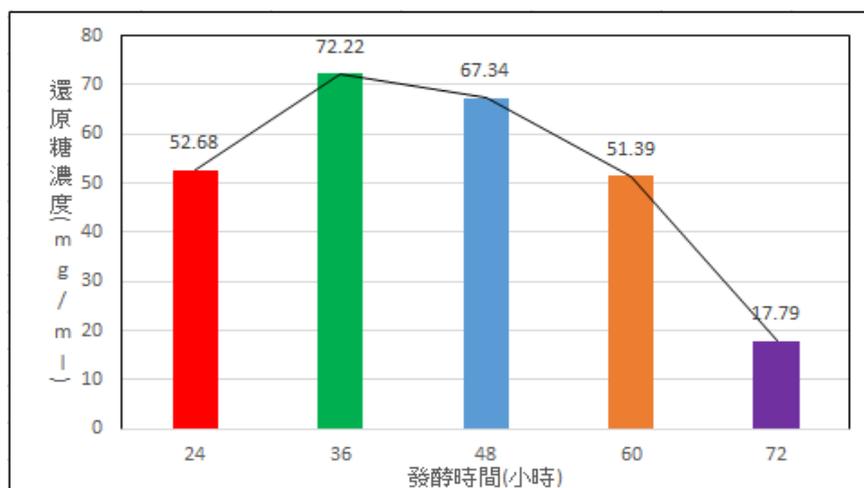


(圖六)不同發酵時間與蓬萊米液態發酵液失重率之相關性

## 「液麴」風「發」-探討米麴液態培養與發酵時間之特性變化

### (二)DNS 法還原糖含量測定

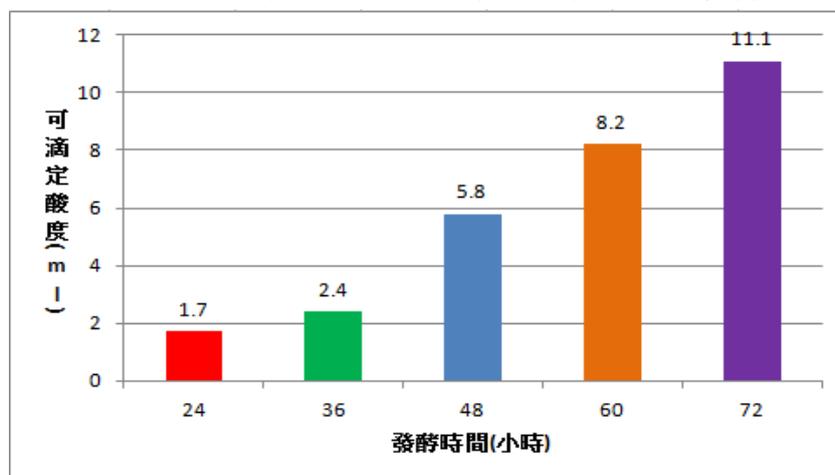
麴菌生長分泌的澱粉酶會將糊化米澱粉糖化後產生葡萄糖等較小分子醣類，添加 DNS 試劑可檢測還原糖含量，藉此得知發酵液之糖化程度。由(圖七)發現發酵時間與還原糖含量呈一鐘形曲線變化，以發酵 36 小時最高約為 72 mg/ml，36 小時後還原糖含量逐步下降，60 小時約與 24 小時相當，約為 51-52 mg/ml，但發酵至 72 小時含糖量明顯低了許多，只剩 17.79 mg/ml，只有最高 36 小時的 24.63%，推測 36 小時後已水解的小分子還原糖可能被熟米麴菌粉內的酵母菌作用發酵產酸，造成還原糖量減少。



(圖七)不同發酵時間與蓬萊米液態發酵液還原糖含量之相關性

### (三)可滴定酸度

澱粉分解糖化後，糖會發酵產生 CO<sub>2</sub> 及次級代謝產物，其中尤以麴酸倍受關注，故我們以 0.01N NaOH 溶液來測定米麴液態培養液之酸度。由(圖八)顯示發酵時間與可滴定酸度成正比關係，隨著時間增加液態發酵液酸度上升，72 小時滴定終點體積為 24 小時之 4.67 倍，配合(圖七)與還原糖含量變化之關係時發現糖減少而酸上升，故考量日後食品加工製造時若需有糖酸度二者之配合時，不宜發酵至 72 小時以免含糖量太低且酸度太高而影響加工產品特性。

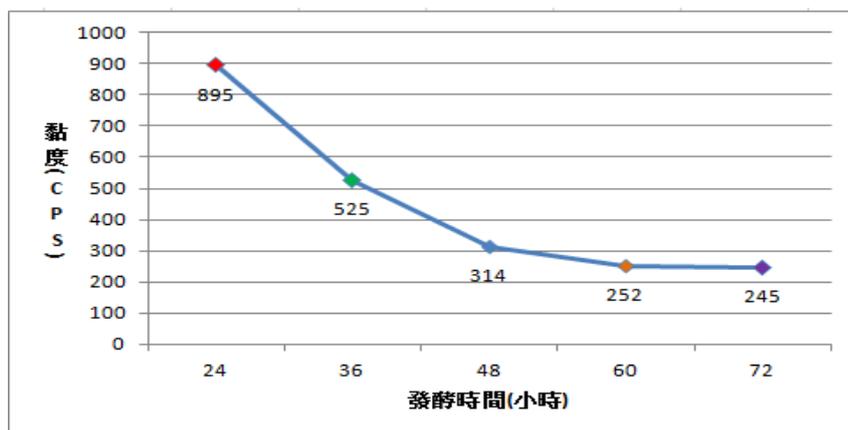


(圖八)不同發酵時間與蓬萊米液態發酵液可滴定酸度之相關性

## 「液麴」風「發」-探討米麴液態培養與發酵時間之特性變化

### (四)黏稠度

蒸熟米混合米麴菌粉後，與 3 倍水均質呈現半固狀米糊，但隨著發酵時間可發現米糊逐步變稀，故想藉由黏度計檢測了解其變化情況。由(圖九)發現蓬萊米液態發酵液的黏稠度與發酵時間成反比關係，72 小時黏稠度值 245 cps 只有 24 小時的 27.4%，明顯稀化許多，且曲線下降斜率最大時間點為 24~36 小時，顯示此段時間液化速率最快，且 60 小時後漸趨於平緩無變化，液化反應減少。



(圖九)不同發酵時間與蓬萊米液態發酵液黏稠度之相關性

### 參●結論

透過文獻整理我們發現「米麴」這項中國傳統發酵物的神奇之處與應用之廣，能藉由產生大量分生孢子而繁殖分泌酵素製作多種發酵產品，以科學化控制培養影響的環境因子，勢必能將「米麴」發揚光大。而針對我們實驗之結果提出以下幾點結論：

1.米麴培養方式:實際進行固態及液態培養後將二者比較剖析整理出(表一)，希望藉此發展米麴的液態培養法，以減少製米麴失敗率進而提升米麴應用。

(表一)固態發酵與液態發酵製程間的差異性

差異性	固態發酵	液態發酵
滅菌程度	較低的無菌狀態	高度無菌
水分	水分較低的環境生長	沉浸在液體生長
溫度控制	較難控制	較易控制
攪拌需求	不需攪拌	需攪拌(震盪培養)
接種	孢子接種，較難均勻接種	能均勻接種
耗能	能源消耗小	能源消耗大

2.米麴液態培養時間:

(1)在 72 小時的分析過程中時間與失重率、酸度成正比，與黏稠度成反比，且均在 48 小時呈現明顯轉折，顯示麴菌進行液化使米漿變稀後，進行發酵作用產 CO<sub>2</sub> 及酸，故培養時間應控制在 48 小時內為佳。

「液麴」風「發」-探討米麴液態培養與發酵時間之特性變化

- (2)液態培養液的還原醣含量在 36 小時達到最高，若從發展米麴發酵液之食品加工考量前提下，建議採 36~48 小時的發酵時間能有較好糖、酸量，二者配合組成柵欄效應利於保藏。
- (3)在延伸開發新產品時，若產品加糖量較多時可選擇 36 小時發酵液，若產品需酸輔助則建議使用 48 小時發酵液來增加保存性和賦予特殊風味，藉此達到減少產品砂糖及提升色澤目的。

綜合而論，透過此次小論文我們從不同的角度視野進行米麴的培養，期望製備得到的米麴發酵液日後應用在食品加工保藏研究，藉此研發出天然保健的食品保存液。

肆●引註資料

註一:程國恩(2016)。探討發酵條件對米麴發酵液之品質及其在抗氧化、免疫調節及抑菌之效果。國立屏東科技大學食品科學系碩士論文。

註二:楊志佳、涂曉君、陳錦樹(2010)。米乳酸發酵飲品之開發與功能強化研究。農業生技產業季刊，23，41-49。

註三:江春梅、陳彩雲(2014)。食品微生物實習 II。台南市:復文。

註四: kisspng。2018 年 10 月 27 日。取自

[https://www.google.com.tw/search?biw=1174&bih=809&tbm=isch&sa=1&ei=sDDUW7qdL4yD8gXu\\_rABw&q=aspergillus+flavus&oq=Aspergillus+&gs\\_l=img.1.0.0i10.29262.29952.0.32686.5.5.0.0.0.0.83.275.5.5.0...0...1c.1.64.img..0.2.112...0i30k1.0.Y4rhXmQfpzI#imgrc=-CRjTv-8MJ1VSM:&spf=1540632785024](https://www.google.com.tw/search?biw=1174&bih=809&tbm=isch&sa=1&ei=sDDUW7qdL4yD8gXu_rABw&q=aspergillus+flavus&oq=Aspergillus+&gs_l=img.1.0.0i10.29262.29952.0.32686.5.5.0.0.0.0.83.275.5.5.0...0...1c.1.64.img..0.2.112...0i30k1.0.Y4rhXmQfpzI#imgrc=-CRjTv-8MJ1VSM:&spf=1540632785024)。

註五:黃忠村(2017)。食品微生物。台南市:復文。

註六: 郭文玉、劉發勇、邱宗甫(2014)。食品加工 II。台南市:復文。