

發明專利說明書 TP19298 200538545

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：P4110P48

C12N 1/4

※申請日期：P4. 4. 7

※IPC 分類：

C12G 3/02

一、發明名稱：(中文/英文)

C12G 3/12

液體麴之製法

C12N 9/28

METHOD OF MANUFACTURING LIQUID KOJI

C12N 7/34

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文) (簽章) ID：

朝日啤酒股份有限公司(アサヒビール株式会社)

ASAHI BREWERIES, LTD.

代表人：(中文/英文) (簽章)

池田弘一

IKEDA, KOUICHI

住居所或營業所地址：(中文/英文)

日本國東京都中央區京橋三丁目 7 番 1 號

7-1, Kyobashi 3-chome, Chuo-ku, Tokyo Japan

國籍：(中文/英文)

日本

Japan

三、發明人：(共 2 人)

姓名：(中文/英文) ID：

1.杉本利和/SUGIMOTO, TOSHIKAZU

2.小路博志/KOUJI, HIROSHI

國籍：(中文/英文)

1.~2.日本

Japan

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家(地區)申請專利：

【格式請依：受理國家(地區)、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.日本 2004.04.09 特願 2004-115904

2.日本 2004.12.03 特願 2004-350661

3.日本 2004.12.06 特願 2004-352320

4.日本 2004.12.06 特願 2004-352324

5.日本 2004.12.28 特願 2004-378453

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

三、發明人：(共 2 人)

姓名：(中文/英文) ID：

1.杉本利和/SUGIMOTO, TOSHIKAZU

2.小路博志/KOUJI, HIROSHI

國籍：(中文/英文)

1.~2.日本

Japan

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家(地區)申請專利：

【格式請依：受理國家(地區)、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.日本 2004.04.09 特願 2004-115904

2.日本 2004.12.03 特願 2004-350661

3.日本 2004.12.06 特願 2004-352320

4.日本 2004.12.06 特願 2004-352324

5.日本 2004.12.28 特願 2004-378453

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係相關於製造發酵飲食品時使用的液體麴，特別是具備釀造燒酒時所需的酵素活性的液體麴之製法。

【先前技術】

製造酒類時使用的麴有將絲狀菌的孢子接種於經蒸煮等處理後的原料而培養之固體麴，以及將原料和其他營養源添加於水調製成液體培養基，再接種麴菌的孢子或前培養的菌絲等進行培養之液體麴。

先前的酒類或發酵飲食品例如日本清酒、燒酒、醬油、味噌、味醂等的製造過程中，廣泛使用固體培養法進行製麴，亦即採用固體麴。此固體培養法係將白麴菌 (*Aspergillus kawachii*)、泡盛麴菌 (*Aspergillus awamori*)、黑麴菌 (*Aspergillus niger*)、黃麴菌 (*Aspergillus oryzae*)、或醬油麴菌 (*Aspergillus sojae*) 等麴菌的孢子散佈於已蒸煮的穀類等固體原料，使麴菌在表面增殖之培養方法。

例如製造燒酒時，廣泛使用白麴菌 (*Aspergillus kawachii*)、泡盛麴菌 (*Aspergillus awamori*) 等固體麴。惟，固體培養法係一種原料或麴菌不均勻分散的培養系，不易使溫度或水分含量、各種營養成分等因素一致，控制其培養的機制相當複雜。又，多在開放狀態下製麴，此時易受雜菌污染在品質管理方面需多注意。因此，此法不適用於大規模的製造。

相對於此，液體培養法可容易地進行培養控制或品質管理，係一種可有效地生產之培養型態，例如，因無法充分

具有釀造燒酒所需的酵素活性時，極少可將麴菌經液體培養所得的培養物作為燒酒麴。在此，由液體培養法收得的培養物，除了指從液體培養法收得的培養物（又稱為液體麴）之外，亦指培養液、菌體、其濃縮物或其乾燥物等。

由液體培養法製得的培養物無法使用於燒酒等發酵飲食品的製造之主要原因，係液體培養時麴菌的澱粉酶、纖維素酶等酵素生成機制大不同於固體培養，一般而言其生成性較低落（參考非專利文獻 1）。

通常，以燒酒為首的酒類之製造，以並行複發酵使生成酒精。因此，影響饋給麴菌的葡萄糖之麴菌的糖質分解相關酵素，特別是葡糖澱粉酶或耐酸性 α -澱粉酶，係酒精發酵過程之關鍵酵素。惟，由液體培養法製得的培養物中，葡糖澱粉酶的活性顯著降低，其生成機制和固體培養法大不相同（參考非專利文獻 2）。

提昇麴菌的葡糖澱粉酶的活性之方法，例如在菌絲生育的階段施予壓力處理之同時培養麴菌之方法（參考專利文獻 1）或在麴菌培養液中添加焙炒的穀類之方法（參考專利文獻 2）等。專利文獻 1 中的方法，係培養於具有多孔性膜或空隙的固定化劑中，發現標識葡糖澱粉酶的新穎基因 *glaB* 而提高同酵素活性，需要嚴密的控制及特殊的培養裝置，較不實用。又，專利文獻 2 中的方法，係將麴菌培養於使用至少部分的原料經過焙炒的穀類之液體培養基，焙炒穀類亦需增加新穎的製造工程。

本發明者們發明一種使用含有麴菌難以分解的糖質的液體培養基之麴菌培養方法（參考專利文獻 3）。根據本

發明，可簡便且經濟地製得在麴菌的液體培養中，一種可用於酒類或發酵飲食品的製造的具高活性葡糖澱粉酶等糖質分解相關酵素之麴菌培養物。

另一方面，最近開始詳細地進行有關耐酸性 α -澱粉酶之分子生物學的解析（參考非專利文獻 3）。依據上述的分析，白麴菌具有非耐酸性 α -澱粉酶和耐酸性 α -澱粉酶等性質相異的 2 種類澱粉酶基因，惟其發現樣式大不相同，液體培養中，可充分生成非耐酸性 α -澱粉酶，而幾乎無法生成釀造燒酒時的關鍵酵素亦即耐酸性 α -澱粉酶。

製造燒酒時，為要預防燒酒酒醴的腐壞，於低 pH 環境下進行釀造。惟，因非耐酸性 α -澱粉酶於低 pH 條件下快速地失去活性，對釀造燒酒時的糖質分解幾乎無貢獻。因此，為要製造燒酒，必須在麴菌的液體培養中大量生成可分解燒酒釀造時的糖質之耐酸性 α -澱粉酶。

先前，亦有探討麴菌的液體培養中，耐酸性 α -澱粉酶的生成機制之報告，其方法係使用含有蛋白脲或檸檬酸緩衝液的合成培養基，培養時間超過 100 小時等，不適用於實際的燒酒釀造之液體麴製法（參考非專利文獻 4）。

專利文獻 1：特開平 11-225746 號公報

專利文獻 2：特開 2001-321154 號公報

專利文獻 3：特開 2003-265165 號公報

非專利文獻 1：Iwashita K. et al: Biosci. Biotechnol. Biochem.,62, 1938-1946 (1998)、山根雄一等：日本釀造協會誌.,99,84-92 (2004)

非專利文獻 2：Hata Y. et al: J. Ferment. Bioeng.,84,

532-537(1997)、Hata Y. et al: Gene., 207, 127-134(1998)、
Ishita H. et al: J. Ferment. Bioeng.,86, 301-307 (1998) 、
Ishita H. et al: Curr Genet.,37, 373-379 (2000)

非專利文獻 3: Nagamine K. et al: Biosci. Biotechnol.
Biochem.,67, 2194-2202 (2003)

非專利文獻 4: Sudo S. et al: J. Ferment. Bioeng.,76,
105-110 (1993) 、 Sudo S. et al: J. Ferment. Bioeng.,77,
483-489(1994)、須藤茂俊等:日本釀造協會誌.,89,768-774
(1994)

【發明內容】

〔解決發明之課題〕

惟，專利文獻 3 的方法中，具高活性的葡糖澱粉酶之麴菌培養物，係將麴菌培養於添加難分解性糖質調製成的液體培養基所生成者，無法使用以穀類等培養原料調製成普通的液體培養基進行培養。

又，揭示將麴菌培養在液體培養基，製得具高活性的葡糖澱粉酶的麴菌培養物之技術，惟無提及在液體培養基中培養麴菌，製得具有高活性的酒精發酵中另一關鍵酵素亦即耐酸性 α -澱粉酶的液體麴之技術。一般認為，此耐酸性 α -澱粉酶係一種無法於液體培養中生成之酵素，截至目前為止，尚未開發出具有高活性的耐酸性 α -澱粉酶之液體麴。

本發明的目的係提供一種液體麴之製法，其特徵係將製造發酵飲食品時使用的液體麴，特別是釀造燒酒等酒精發酵的關鍵酵素葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶的酵素活性高之液體麴培養於使用未碾製的穀類，亦即穀皮覆蓋表面

之穀類或只去除表面的穀皮（粗殼）之穀類、未加工豆類或芋類、或特定的雜穀類作為原料之液體培養基，而非培養於添加特殊糖質等，或使用經焙炒處理的原料之特別液體培養基。

〔解決課題之方法〕

本發明者等為要解決上述課題經研究的結果發現，製造使用於發酵飲食品的製造之液體麴時，如上述般，將麴菌培養於含有任一種穀皮覆蓋表面之穀類或只去除表面的穀皮（粗殼）之穀類、外皮覆蓋在表面的未加工豆類或芋類、或雜穀類例如莧紫及/或奎藜籽(quinoa)作為培養原料之液體培養基，藉此，可製造葡萄糖澱粉酶活性、及耐酸性 α -澱粉酶活性已增強之液體麴。又，此酵素活性已增強之液體麴適用於燒酒的釀造，而完成本發明。

亦即，本發明提供下列所示者。

(1) 一種液體麴之製法，其特徵係用於製造發酵飲食品時的液體麴之製法，將麴菌培養於含有任一種穀皮覆蓋在表面之穀類；只去除表面的穀皮（粗殼）之穀類；外皮覆蓋在表面的未加工的豆類或芋類；及莧紫及/或奎藜籽(quinoa)作為培養原料之液體培養基。

(2) 如第1項之液體麴之製法，其中穀皮覆蓋在表面之穀類係未碾製、或碾製比率為至少有穀皮殘留在穀粒的表面者。

(3) 如第1或2項之液體麴之製法，其中穀類係大麥。

(4) 如第3項之液體麴之製法，其中大麥係上述碾製比率為90%以上者。

(5) 如第 1 或 2 項之液體麴之製法，其中穀類係米、小麥、蕎麥、稗、小米、稷、高粱或玉米。

(6) 如第 1 項之液體麴之製法，其中只去除表面的穀皮（粗殼）之穀類係糙米。

(7) 如第 1 項之液體麴之製法，其中外皮覆蓋在表面的未加工的豆類或芋類係大豆、小豆、或甘藷。

(8) 如第 1~7 項中任一項之液體麴之製法，其中培養於含上述培養原料的液體培養基之麴菌培養物中，至少同時生成、蓄積葡糖澱粉酶和耐酸性 α -澱粉酶。

(9) 一種發酵飲食品之製法，其特徵係使用以上述 1~8 項中任一項方法製得的液體麴製造發酵飲食品。

(10) 如第 9 項之發酵飲食品之製法，其中發酵飲食品的所有製造工程均在液態下進行。

(11) 如第 9 或 10 項之發酵飲食品之製法，其中發酵飲食品的製造係於與外界保持遮蔽的液態狀態下進行。

(12) 如第 9~11 項中任一項之發酵飲食品之製法，其中發酵飲食品的製造係將原料置入上述液體麴中，製造一次酒醋。

(13) 如第 9~12 項中任一項之發酵飲食品之製法，其中發酵飲食品係燒酒。

(14) 一種發酵飲食品製造用的液體麴套組，其特徵係至少含有以上述 1~8 項中任一項之液體麴之製法製得的葡糖澱粉酶活性和耐酸性 α -澱粉酶活性。

(15) 如第 1~7 項中任一項之液體麴之製法，其中將麴菌培養於含有上述培養原料的液體培養基以製造液體麴的

方法中，藉著抑制培養原料中澱粉內的糖質釋放至培養基的速度，以調整液體麴的酵素活性。

〔發明效果〕

依據本發明，將麴菌培養於含有上述各種培養原料的液體培養基，可製造液體麴，此液體麴可同時生成大量的葡糖澱粉酶和耐酸性 α -澱粉酶等釀造燒酒時所需的酵素群。因液體培養較固體培養可更嚴密地監控培養條件，故可經濟地且有效率地製造品質穩定之液體麴。

又，使用本發明製造的液體麴，具有和先前使用固體麴的燒酒酒醪相同程度的發酵性，如此製得的燒酒具有和使用固體麴製得的燒酒相同程度的品質，可製得官能方面毫不遜色之燒酒。

且，因本發明中使用的培養原料係未碾製、未加工、或碾製程度至少為外皮尚留在表面，故尚可提高原料利用率或製品率。

又，使用本發明製得的液體麴製造燒酒時，不同於先前使用固體麴製造燒酒的情形，因全工程可直接以液態進行，故可提供較先前更有效且穩定的燒酒製造系統。

【實施方式】

〔實施發明之最佳型態〕

以下，具體地說明本發明。

本發明的液體麴之製法係將麴菌培養於添加上述穀類、豆類、芋類、特定的雜穀類等原料而調製成的液體培養基，包括已提高葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶的酵素活性的液體麴之製造工程。亦即，因使用上述各種原料培養

麴菌，此原料中的澱粉的糖化時間長，可抑制糖被釋放至培養基之速度，而提高液體麴的酵素活性。且葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶可同時地、平衡地生成並蓄積。

本發明中，使用為原料的穀類例如大麥、米、小麥、蕎麥、稗、小米、稷、高粱、玉米等。這些原料的型態，可使用未碾製、或碾製比率為至少有穀皮殘留在穀粒的表面者等。例如穀類為大麥時，未碾製的碾製比率 100% 者、或以未碾製的碾製比率為 100% 扣除大麥的穀皮比率（一般為 7~8%）之比率，亦即碾製比率為 92~93% 以上者。

上述的碾製比率，係指將穀類碾製後穀類殘留的比例，例如碾製比率 90% 係指去除 10% 的穀類表層的穀皮等。又，本發明中的糙麥，係指未碾製的麥至穀皮殘留在穀粒表面的碾製程度間，亦即包含碾製比率 90% 以上者。穀皮係指覆蓋於穀粒表面的外側部分。

本發明中，使用為原料的只去除表面的穀皮之穀類----糙米，係指只去除稻的粗殼的米。

又，本發明中使用為原料的豆類和芋類，例如大豆、紅豆、甘藷等。這些原料只清洗外皮的污物，完全不施予剪斷、粉碎處理等加工。

本發明中使用為原料的莧紫係莧科莧屬植物的總稱，在穀類中蛋白質含量高且胺基酸中的離胺酸的含量與大豆中的含量相當。又，較碾製白米含更豐富的鈣、鐵、纖維質等係高營養的穀類，原產國為中南美洲諸國、印度、喜馬拉雅、尼泊爾的特定區域。另一方面，奎藜籽係藜科的一年生草本植物，主要栽培於祕魯南部或玻利維亞西部的安

地斯山脈等高地，富含礦物質、維生素、蛋白質、食物纖維。

使用為原料的莧紫和奎藜籽，可單獨使用或混合使用。使用於液體培養基的調製時，不須進行細碎或粉碎等前處理。

上述原料係和水混合調製成液體培養基。適當地選擇原料的摻合比例，調製成液體培養基，使培養麴菌時可選擇性地生成、蓄積葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶。

例如以大麥作為原料時，調製相對於水添加 1~20% (w/vol) 糙麥的液體培養基。又，使用未碾製的大麥作為糙麥時，調製成添加 8~10% (w/vol) 的液體培養基較佳，使用 95% 碾製的大麥作為糙麥原料時，調製成添加 1~4% (w/vol) 的液體培養基較理想。

其次，使用去粗殼的糙米作為原料時，調製相對於水添加 1~20% (w/vol) 的糙米的液體培養基，其中以添加 5~13% (w/vol) 較理想，又以添加 8~10% (w/vol) 更佳。

使用豆類作為原料時，調製相對於水添加 1~10% (w/vol) 的豆類的液體培養基，其中以添加 8~10% (w/vol) 較理想，若使用紅豆時，調製添加 1~2% (w/vol) 的液體培養基。又，使用芋類作為原料時，調製相對於水添加 1~10% (w/vol) 的芋類的液體培養基。

又，例如使用莧紫作為原料時，調製相對於水添加 1.5~15% (w/vol) 的液體培養基，其中以添加 2~10% (w/vol) 較理想，又以添加 2~8% (w/vol) 更佳。另一方面，若使用奎藜籽時，調製相對於水添加 1.5~7% (w/vol) 的液體

培養基，其中以添加 2~6% (w/vol) 較理想，又以添加 2~4% (w/vol) 更佳。

如此，最適當的摻合用量依使用原料的碾製度、使用的麴菌株、原料的種類等而異，可任意地選擇。

將麴菌培養於添加適量的上述原料之液體培養基，平衡地生成多量的葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶，使用於燒酒釀造可製得具有充分酵素活性的液體麴。原料的用量若超過上限值，則培養液的黏性增加，無法充分供應麴菌進行好氣培養所需的氧氣或空氣，培養物中的氧氣濃度降低，培養過程不易繼續進行較不理想。另一方面，若此原料的用量小於下限值，則無法提高酵素的產量。

亦可於培養前使原料中含有的澱粉預先糊化。使澱粉糊化的方法無特別的限制，可採用蒸煮法、培炒法等常法。後述的液體培養基的殺菌工程中，藉著高溫高壓滅菌等加熱至高於澱粉的糊化溫度時，藉此處理亦可同時進行澱粉的糊化。

在液體培養基中適當地添加上述原料之外的有機物、無機鹽等營養源較理想。這些添加物可為培養麴菌時一般使用的物質，無特別的限制，有機物例如米糠、小麥麩、玉米漿、大豆粕、脫脂大豆等，無機鹽例如銨鹽、硝酸鹽、鉀鹽、酸性磷酸鹽、鈣鹽、鎂鹽等水溶性化合物，亦可同時使用 2 種以上的有機物及 / 或無機鹽。其添加量係可促進麴菌的增殖即可，無特別的限制，有機物的添加量為 0.1~5% (w/vol)，無機鹽的添加量為 0.1~1% (w/vol) 較理想。如此製得的麴菌的液體培養基亦可依需求進行滅菌處理，

其處理方法無特別的限制。例如可採用高溫高壓滅菌法，於 121°C 進行 15 分鐘滅菌。

使滅菌後的液體培養基冷卻至培養溫度後，將麴菌接種於液體培養基。本發明中使用的麴菌係具有糖質分解酵素生成能之麴菌，又以具有葡糖澱粉酶生成能及耐酸性 α -澱粉酶生成能之麴菌較理想，例如以白麴菌 (*Aspergillus kawachii*) 等為代表之白麴菌類、以泡盛麴菌 (*Aspergillus awamori*) 或黑麴菌 (*Aspergillus niger*) 等為代表之泡盛麴菌類、以黃麴菌 (*Aspergillus oryzae*)、或醬油麴菌 (*Aspergillus sojae*) 為代表之黃麴菌類等。又，接種於培養基的麴菌的型態不拘，可使用孢子或菌絲。

這些麴菌可由一種的菌株進行培養，或同種或二種以上的異種菌株混合培養而成。可採用其孢子或由前培養收得的菌絲等型態，採用菌絲的方法因達到對數增殖期所需時間短故較理想。麴菌在液體培養基的接種量無特別的限制，每 1ml 液體培養基接種 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個孢子，若為菌絲則接種 0.1~10% 的前培養液。

麴菌的培養溫度，在不影響生育的範圍內無特別的限制，惟以 25~45°C 較理想，又以 30~40°C 更佳。若培養溫度低則麴菌的增殖緩慢容易引起雜菌的污染。培養時間為 24~72 小時較理想。培養裝置係可進行液體培養者即可，惟因麴菌必須進行好氣培養，必須於可將氧氣和空氣饋入培養基中的好氣條件下進行。又，為要在培養中使培養基中的原料、氧氣、及麴菌可均勻地分布於裝置內，進行攪拌較理想。攪拌條件和通氣量無特別的限制，可維持培養環

境於好氣狀態即可，可依培養裝置、培養基的黏度等適當地選擇。

藉由上述的培養法進行培養，可同時、平衡地生成葡萄糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶的酵素，形成具有可用於燒酒釀造的酵素活性之液體麴。又，上述的培養法製得的液體麴，除了培養物之外，亦可作為使培養物離心分離收得的培養液、其濃縮物或其乾燥物等。

由本發明的製法製得的液體麴等可用於酒類或發酵飲食品的製造。例如製造清酒時在酒母或各種酒醴的釀造階段，製造燒酒時在酒醴的釀造階段，製造醬油時在釀造階段，製造味噌時在釀造階段，製造味醂時在釀造階段，可使用液體麴取代固體麴。

又，使用由上述液體麴或培養物收得的培養液或其濃縮物等，製造酒類或發酵飲食品時，全部工程可以以液態進行。全部工程以液態進行的酒類之製法，例如製造燒酒時，使用玉米、麥、米、芋、稷等作為原料，於 80°C 的高溫下，使用耐熱性酵素劑使此原料溶解液化後，於其中再添加上述液體麴及酵母，藉此使酒精發酵後的酒醴以常壓蒸留法或減壓蒸留法等進行蒸留之製法。

〔實施例〕

以下，以實施例等更具體地說明本發明，惟本發明不受限於這些實施例。

（實驗例 1）製造液體麴時糙麥的用量之檢討

調製如表 1 所示更改原料的糙麥比例之 5 種液體培養基，將麴菌培養於各個液體培養基製造液體麴。

首先，在添加 0.2% (w/vol) 硝酸鉀、0.3% (w/vol) 磷酸二氫鉀的水中加入糙麥，分別調製成含有 1、2、4、8、10% (w/vol) 糙麥的 5 種液體培養基。將 100ml 的調製成的液體培養基放入容量 500ml 的附栓三角燒瓶中，在高溫高壓滅菌釜中滅菌後，接種預先在液體培養基中進行前培養的白麴菌 (*Aspergillus kawachii* IFO4308)，其接種量相對於液體培養基為 1% (v/vol)。又，糙麥係使用國產 2 條大麥的未碾製麥。

之後，於溫度 37°C、振盪速度 100rpm 條件下培養 48 小時。培養結束後，測定製得的各個培養物的葡糖澱粉酶、耐酸性 α -澱粉酶之生成量。表 1 及第 1 圖所示為培養於不同糙麥用量的液體培養基的培養物中，葡糖澱粉酶、耐酸性 α -澱粉酶之生成量。又，使用糖化力分別定量套組（龜甲萬製）測定葡糖澱粉酶的酵素活性。又，耐酸性 α -澱粉酶的酵素活性之測定方法，係將（非專利文獻 3）的方法稍加改良，培養物經過酸處理後使非耐酸性 α -澱粉酶失活後，使用 α 澱粉酶測定套組（龜甲萬製）進行測定。更具體而言，在 1ml 培養液中添加 9ml 的 100mM 醋酸緩衝液（pH3），於 37°C 進行 1 小時酸處理後，使用 α 澱粉酶測定套組（龜甲萬製）進行測定。

另一方面，對照區係使用經碾製成碾製比率為 70% 的國產 2 條大麥（以下稱為圓麥）作為原料，和試驗區相同做法調製液體培養基，在相同條件下進行培養，培養結束後，相同地測定製得的各培養物的葡糖澱粉酶、耐酸性 α -澱粉酶之生成量。表 1 及第 2 圖所示為培養於不同圓麥用量的

液體培養基的培養物中，葡糖澱粉酶、耐酸性 α -澱粉酶之生成量。

(表 1)

原料用量和酵素生成量

試驗區			對照區		
糙麥用量	GA (U/ml)	ASAA (U/ml)	圓麥用量	GA (U/ml)	ASAA (U/ml)
1%	72.4	3.1	1%	58.8	1.2
2%	101.8	4.5	2%	102.6	3.4
4%	127.1	7.3	4%	66.2	4.2
8%	187.6	12.0	8%	17.5	11.2
10%	217.3	14.0	10%	10.3	10.7
16%	201.5	12.3	16%	10.0	9.7
20%	185.3	10.5	20%	8.8	8.9

* GA：葡糖澱粉酶

ASAA：耐酸性 α -澱粉酶

如表 1 及第 1 圖所示，使用糙麥進行培養之培養物，隨著糙麥用量的增加，葡糖澱粉酶和耐酸性 α -澱粉酶的酵素亦同時平衡地提高生成量，其生成量較使用圓麥的對照區大幅地增加。特別是添加 10% (w/vol) 糙麥的液體培養基，生成 217.3 U/ml 葡糖澱粉酶、14.0 U/ml 耐酸性 α -澱粉酶，使用於燒酒製造時可同時具有充分的酵素活性。(僅供參考：製造燒酒時所需的葡糖澱粉酶和耐酸性 α -澱粉酶的酵素活性值，葡糖澱粉酶為 100U/ml 以上、耐酸性 α -澱粉酶為 10U/ml 以上)

另一方面，使用圓麥的對照區，如表 1 及第 2 圖所示，添加 2% (w/vol) 圓麥的液體培養基的葡糖澱粉酶活性最

高，添加 8% (w/vol) 圓麥的液體培養基的耐酸性 α -澱粉酶活性最高，二種酵素無法同時大量生成。

如此，將麴菌培養於添加 1~20% (w/vol) 糙麥的液體培養基可同時平衡地生成葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶。特別是添加 8~10% (w/vol) 糙麥（未碾製）時，即使使用於燒酒釀造亦無法製造同時具有充分的酵素活性之液體麴。

將麴菌培養於使用糙麥的液體培養基後，可同時平衡地生成大量的葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶，乃因使用穀皮覆蓋表面的糙麥作為原料，藉著穀皮抑制原料中澱粉的葡萄糖等糖的釋出，因於糖濃度較低的狀態下進行培養，故較易生成葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶等酵素。

（實施例 1）使用糙麥的液體麴之製造

首先，在已添加 0.2% (w/vol) 硝酸鉀、0.3% (w/vol) 磷酸二氫鉀的水中加入糙麥，調製成 10% (w/vol) 的液體培養基。其次，將 100ml 的液體培養基放入容量 500ml 的附栓三角燒瓶，經過高溫高壓滅菌釜滅菌後，接種預先在液體培養基中進行前培養的白麴菌 (*Aspergillus kawachii* IFO4308)，其接種量相對於液體培養基為 1% (v/vol)。又，糙麥係使用國產 2 條大麥的未碾製麥。

之後，於溫度 37°C、振盪速度 100rpm 條件下培養 48 小時。培養結束後，測定製得的各個培養物的葡糖澱粉酶、耐酸性 α -澱粉酶之生成量，得知生成 217.3 U/ml 葡糖澱粉酶、14.0 U/ml 耐酸性 α -澱粉酶，使用於燒酒製造時可同時具有充分的酵素活性。

(實施例 2) 以使用糙麥的液體麴製造麥燒酒

實施例 1 中，培養於添加 10% (w/vol) 糙麥調製成的液體培養基而製得的液體麴 (已增強葡糖澱粉酶和耐酸性 α -澱粉酶之培養物)，使用此液體麴製造燒酒。

亦即，使用 500ml 的培養於添加 10% (w/vol) 糙麥調製成的液體培養基而製得的液體麴，如表 2 所示的摻合釀造，進行麥合計量 1328.6g 的裝入釀造，發酵溫度維持於 25°C，進行第一次釀造 5 日、第二次釀造 2 日、第三次釀造 13 日共三段的裝入釀造。又，國產 2 條大麥經過 70% 碾製並以水清洗後，浸漬 60 分鐘、瀝乾 30 分鐘後蒸煮 35 分鐘之麥，使用此麥作為續加入麥。又，第一次裝入釀造中，因來自液體麴的帶入麥量 50.0g 無法充分進行發酵，故裝入 262.9g 續加入麥使麥量和固體麴的麥量相同。又，酵母係使用燒酒酵母 (鹿兒島酵母)，在 30°C 於 YPD 培養基靜置培養 48 小時之培養物中植菌 50 μ l。

(表 2)

	試驗區 (麥液體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴麥 (g)	50.0	—	—	50.0
續加入麥 (g)	262.9	507.9	507.9	1278.6
液體麴 (mL)	500.0	—	—	500.0
水 (mL)	321.4	765.7	272.9	1360.0
90% 乳酸 (mL)	1.4	—	—	1.4

又，對照裝入釀造 (固體麴裝入釀造) 係使用固體麴的麴麥，以表 3 所示的摻合釀造製造燒酒。固體麴之製法係使用 70% 碾製麥，經洗麥後浸漬 40 分鐘，進行瀝乾 30 分鐘，並蒸煮 40 分鐘後使冷卻至 40℃，對於每 1kg 碾製麥，植菌 1g 的種麴 (白麴菌 *Aspergillus kawachii* IFO4308)，於 40℃ · 相對溼度 95% 的條件培養 24 小時，又於 35℃ · 相對溼度 95% 下培養 6 小時，再於 30℃ · 相對溼度 90% 下培養 18 小時。又，發酵條件等相同於上述本發明的裝入釀造 (液體麴裝入釀造)。

(表 3)

	對照區 (麥固體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴麥 (g)	312.9	—	—	312.9
續加入麥 (g)	—	507.9	507.9	1015.7
水 (mL)	500.0	765.7	594.3	1860.0

第 3 圖所示係和對照組的固體麴裝入釀造之對照。從第 3 圖可清楚得知，和使用固體麴的對照裝入釀造比較，在使用液體麴的裝入釀造具有幾乎相同的發酵過程。又，無

論是使用液體麴或固體麴，其製得最後的酒醴的酒精度數皆為 17.8%。

其次，最後的酒醴經過減壓蒸留而得的原酒，加水使成酒精度數為 25%，由 8 位品評員以採點法（5 點品評法、1：佳~5：差）進行官能品評，其平均點如表 4 所示。

（表 4）

燒酒原酒（酒精度數 25%）之官能品評

	評點
本發明裝入釀造（液體麴裝入釀造）	3.0
對照裝入釀造（固體麴裝入釀造）	3.0

其結果顯示，其酒質幾乎無差異性，無論使用液體麴或固體麴皆可製得具相同酒質的燒酒。

從以上的結果得知，依據本發明將麴菌培養於添加 1~20%（w/vol）糙麥的液體培養基，可平衡地同時生成葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶。特別是在添加 8~10%（w/vol）糙麥（未碾製）的液體培養基，可製得同時具有使用於燒酒製造的充分的酵素活性之液體麴。因此，使用液體麴可製造和使用固體麴製得的燒酒相同酒質之燒酒。又，不須以特別的培養裝置或特殊的培養工學方法嚴密地控制培養，以簡便的液體培養基即可製造具有高活性葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶之液體麴，且較固體培養容易地進行更嚴密的製麴管理，可安定地製造高品質麴。又，藉由麴的液體化不僅使酒醴的流動化的發酵管理簡易化，亦可達到麴製造工程、燒酒製造工程的省力化、效率化。

（實施例 3）以使用蕎麥的液體麴製造米燒酒

1. 固體麴製造方法

使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後使冷卻至 40℃，對於每 1kg 碾製米，植菌 1g 的種麴（白麴菌 *Aspergillus kawachii* IFO4308），於 40℃ · 相對溼度 95% 的條件培養 24 小時，又於 35℃ · 相對溼度 95% 下培養 6 小時，再於 30℃ · 相對溼度 90% 下培養 18 小時。

2. 液體麴之製法

（1）前培養方法：8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌（*Aspergillus kawachii* IFO4308）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

（2）本培養法：將 40g 蕎麥和 1.0g 硝酸鉀、1.5g 磷酸二氫鉀和 500ml 水放入 2000ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 5ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時，製造蕎麥液體麴。此時液體麴的酵素活性，GA 活性為 112.4U/ml，ASAA 活性為 10.4U/ml。

3. 米燒酒之製法

（1）使用酵母：燒酒酵母（鹿兒島酵母）

（2）釀造摻合：釀造摻合如表 5、表 6 所示。米係使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後的米。試驗區分為 1) 固體麴裝入釀造、2) 蕎麥液體麴裝入釀造等 2 試驗區，二試驗區的總米量及水量相

等。酵母係將 $50 \mu\text{l}$ 於 30°C 靜置培養 48 小時者植菌於 YPD 培養基。

(3) 發酵條件： 25°C ，固定

(4) 蒸留條件：減壓蒸留

(表 5)

	試驗區 (蕎麥液體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴蕎麥 (g)	40.0	—	—	40.0
續加入米 (g)	311.3	507.6	507.6	326.5
水 (mL)	594.0	765.4	265.6	1625.0
液體麴 (mL)	500.0	—	0.0	500.0
90% 乳酸 (mL)	1.4	—	—	1.4

(表 6)

	對照區 (固體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴米 (g)	311.3	—	—	311.3
續加入米 (g)	—	507.6	507.6	1015.2
水 (mL)	594.0	765.4	565.6	2125.0

第 4 圖所示係和對照組的固體麴裝入釀造之對照。從第 4 圖可清楚得知，和使用固體麴的對照裝入釀造比較，在使用蕎麥液體麴的裝入釀造，具有幾乎相同的發酵過程。又，固體麴裝入釀造區、蕎麥液體麴裝入釀造區的最後酒釀的酒精度數分別為 19.1%、18.9%，幾乎相同程度。

其次，以減壓蒸留法使製得固體麴裝入釀造區和蕎麥液體麴裝入釀造區的燒酒酒釀進行蒸留，由 6 位專業品評員以 5 點品評法 (佳 1-3-5 差) 進行上述製得的燒酒原酒之官

能品評，結果可知固體麴裝入釀造區、蕎麥液體麴裝入釀造區無太大的差異，蕎麥液體麴亦可製造具充分品質的燒酒。又，如表 7 所示，蕎麥液體麴區有「具蕎麥風味」之評語，可知使用蕎麥液體麴可使米燒酒具有「蕎麥」般的風味。

(表 7)

	官能品評結果	
	評點 (平均點)	風評
固體麴	3.0	華麗
蕎麥液體麴	2.8	舒暢,有蕎麥風味

(實施例 4) 以使用小米的液體麴製造米燒酒

1. 固體麴製造方法

使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後使冷卻至 40℃，對於每 1kg 碾製米，植菌 1g 的種麴（白麴菌 *Aspergillus kawachii* IFO4308），於 40℃・相對溼度 95% 的條件培養 24 小時，又於 35℃・相對溼度 95% 下培養 6 小時，再於 30℃・相對溼度 90% 下培養 18 小時。

2. 液體麴之製法

(1) 前培養方法：8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌（*Aspergillus kawachii* IFO4308）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

(2) 本培養法：將 40g 小米和 1.0g 硝酸鉀、1.5g 磷酸

二氫鉀和 500ml 水放入 2000ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 5ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時，製造小米液體麴。此時液體麴的酵素活性，GA 活性為 101.3U/ml，ASAA 活性為 11.0U/ml。

3. 米燒酒之製法

(1) 使用酵母：燒酒酵母（鹿兒島酵母）

(2) 釀造摻合：釀造摻合如表 8、表 9 所示。米係使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後的米。試驗區分為 1) 固體麴裝入釀造、2) 小米液體麴裝入釀造等 2 試驗區，二試驗區的總米量及水量相等。酵母係將 50 μ l 於 30℃ 靜置培養 48 小時者植菌於 YPD 培養基。

(3) 發酵條件：25℃，固定

(4) 蒸留條件：減壓蒸留

(表 8)

	試驗區（小米液體麴）			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴小米（g）	40.0	—	—	40.0
續加入米（g）	311.3	507.6	507.6	1326.5
液體麴（mL）	500.0	—	—	500.0
水（mL）	594.0	765.4	265.6	1625.0
90% 乳酸（mL）	1.4	—	—	1.4

(表 9)

	對照區 (固體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴米 (g)	311.3	—	—	311.3
續加入米 (g)	—	507.6	507.6	1015.2
水 (mL)	594.0	765.4	565.6	2125.0

第 5 圖所示係和對照組的固體麴裝入釀造之對照。從第 5 圖可清楚得知，和使用固體麴的對照裝入釀造比較，在使用小米液體麴的裝入釀造，具有幾乎相同的發酵過程。又，固體麴裝入釀造區、小米液體麴裝入釀造區的最後酒醪的酒精度數均為 19.1% 相同。

其次，以減壓蒸留法使製得固體麴裝入釀造區和小米液體麴裝入釀造區的燒酒酒醪進行蒸留，由 6 位專業品評員以 5 點品評法 (佳 1-3-5 差) 進行上述製得的燒酒原酒之官能品評，結果可知固體麴裝入釀造區和小米液體麴裝入釀造區無太大的差異，小米液體麴亦可製造具充分品質的燒酒。又，如表 10 所示，小米液體麴區有「舒暢的風味」之評語，顯示可製造和先前固體麴製法不同酒質的米燒酒原酒。

(表 10)

	官能品評結果	
	評點 (平均點)	風評
固體麴	3.0	華麗
小米液體麴	3.0	舒暢

(實施例 5) 以使用稗的液體麴製造米燒酒

1. 固體麴製造方法

使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後使冷卻至 40℃，對於每 1kg 碾製米，植菌 1g 的種麴（白麴菌 *Aspergillus kawachii* IFO4308），於 40℃ • 相對溼度 95% 的條件培養 24 小時，又於 35℃ • 相對溼度 95% 下培養 6 小時，再於 30℃ • 相對溼度 90% 下培養 18 小時。

2. 液體麴之製法

(1) 前培養方法：8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌 (*Aspergillus kawachii* IFO4308) 的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

(2) 本培養法：將 40g 稗和 1.0g 硝酸鉀、1.5g 磷酸二氫鉀和 500ml 水放入 2000ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 5ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時，製造稗液體麴。此時液體麴的酵素活性，GA 活性為 113.0U/ml，ASAA 活性為 10.2U/ml。

3. 米燒酒之製法

(1) 使用酵母：燒酒酵母（鹿兒島酵母）

(2) 釀造摻合：釀造摻合如表 11、表 12 所示。米係使用

90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後的米。試驗區分為 1) 固體麴裝入釀造、2) 稗液體麴裝入釀造等 2 試驗區，二試驗區的總米量及水量相等。酵母係將 50 μ l 於 30°C 靜置培養 48 小時者植菌於 YPD 培養基。

(3) 發酵條件：25°C，固定

(4) 蒸留條件：減壓蒸留

(表 11)

	試驗區 (稗液體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴稗 (g)	40.0	—	—	40.0
續加入米 (g)	311.3	507.6	507.6	1326.5
液體麴 (mL)	500.0	—	—	500.0
水 (mL)	594.0	765.4	265.6	1625.0
90% 乳酸 (mL)	1.4	—	—	1.4

(表 12)

	對照區 (固體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴米 (g)	311.3	—	—	311.3
續加入米 (g)	—	507.6	507.6	1015.2
水 (mL)	594.0	765.4	765.6	2125.0

第 6 圖所示係和對照組的固體麴裝入釀造之對照。從第 6 圖可清楚得知，和使用固體麴的對照裝入釀造比較，在使用稗液體麴的裝入釀造，具有幾乎相同的發酵過程。又，固體麴裝入釀造區、稗液體麴裝入釀造區的最後酒醕的酒精度數分別為 19.1%、18.8% 幾乎相同程度。

其次，以減壓蒸留法使製得固體麴裝入釀造區和稗液體

麴裝入釀造區的燒酒酒醪進行蒸留，由 6 位專業品評員以 5 點品評法（佳 1-3-5 差）進行上述製得的燒酒原酒之官能品評，結果可知固體麴裝入釀造區、稗液體麴裝入釀造區無太大的差異，稗液體麴亦可製造具充分品質的燒酒。又，如表 13 所示，稗液體麴區有「舒暢的風味」之評語，顯示可製造和先前固體麴製法不同酒質的米燒酒原酒。

(表 13)

	官能品評結果	
	評點（平均點）	風評
固體麴	3.0	華麗
稗液體麴	3.0	舒暢

（實施例 6）以使用稗的液體麴製造米燒酒

1. 固體麴製造方法

使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後使冷卻至 40℃，對於每 1kg 碾製米，植菌 1g 的種麴（白麴菌 *Aspergillus kawachii* IFO4308），於 40℃・相對溼度 95% 的條件培養 24 小時，又於 35℃・相對溼度 95% 下培養 6 小時，再於 30℃・相對溼度 90% 下培養 18 小時。

2. 液體麴之製法

（1）前培養方法：8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌（*Aspergillus kawachii* IFO4308）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

(2) 本培養法：將 40g 稷和 1.0g 硝酸鉀、1.5g 磷酸二氫鉀和 500ml 水放入 2000ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 5ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時，製造稷液體麴。此時液體麴的酵素活性，GA 活性為 90.3U/ml，ASAA 活性為 8.5U/ml。

3. 米燒酒之製法

(1) 使用酵母：燒酒酵母（鹿兒島酵母）

(2) 釀造摻合：釀造摻合如表 14、表 15 所示。米係使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後的米。試驗區分為 1) 固體麴裝入釀造、2) 稷液體麴裝入釀造等 2 試驗區，二試驗區的總米量及水量相等。酵母係將 50 μ l 於 30℃ 靜置培養 48 小時者植菌於 YPD 培養基。

(3) 發酵條件：25℃，固定

(4) 蒸留條件：減壓蒸留

(表 14)

	試驗區（稷液體麴）			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴稷（g）	40.0	—	—	40.0
續加入米（g）	311.3	507.6	507.6	1326.5
液體麴（mL）	500.0	—	—	500.0
水（mL）	594.0	765.4	265.6	1625.0
90% 乳酸（mL）	1.4	—	—	1.4

(表 15)

	對照區 (固體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴米 (g)	311.3	—	—	311.3
續加入米 (g)	—	507.6	507.6	1015.2
水 (mL)	594.0	765.4	765.6	2125.0

第 7 圖所示係和對照組的固體麴裝入釀造之對照。從第 7 圖可清楚得知，和使用固體麴的對照裝入釀造比較，在使用稷液體麴的裝入釀造，具有幾乎相同的發酵過程。又，固體麴裝入釀造區和稷液體麴裝入釀造區的最後酒醴的酒精度數分別為 19.1%、18.8% 幾乎相同程度。

其次，以減壓蒸留法使製得固體麴裝入釀造區和稷液體麴裝入釀造區的燒酒酒醴進行蒸留，由 6 位專業品評員以 5 點品評法（佳 1-3-5 差）進行上述製得的燒酒原酒之官能品評，結果可知固體麴裝入釀造區、稷液體麴裝入釀造區無太大的差異，稷液體麴亦可製造具充分品質的燒酒。又，如表 16 所示，稷液體麴區有「具圓滑、甘味的味道」之評語，顯示可製造和先前固體麴製法不同酒質的米燒酒原酒。

(表 16)

	官能品評結果	
	評點 (平均點)	風評
固體麴	3.0	華麗
稷液體麴	2.9	甘味、圓滑

(實施例 7) 以使用高粱的液體麴製造米燒酒

1. 固體麴製造方法

使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後使冷卻至 40℃，對於每 1kg 碾製米，植菌 1g 的種麴（白麴菌 *Aspergillus kawachii* IFO4308），於 40℃・相對溼度 95% 的條件培養 24 小時，又於 35℃・相對溼度 95% 下培養 6 小時，再於 30℃・相對溼度 90% 下培養 18 小時。

2. 液體麴之製法

(1) 前培養方法：8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌（*Aspergillus kawachii* IFO4308）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

(2) 本培養法：將 40g 高粱和 1.0g 硝酸鉀、1.5g 磷酸二氫鉀和 500ml 水放入 2000ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 5ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時，製造高粱液體麴。此時液體麴的酵素活性，GA 活性為 111.2U/ml，ASAA 活性為 10.5U/ml。

3. 米燒酒之製法

(1) 使用酵母：燒酒酵母（鹿兒島酵母）

(2) 釀造摻合：釀造摻合如表 17、表 18 所示。米係使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後的米。試驗區分為 1) 固體麴裝入釀造、2) 高粱液體麴裝入釀造等 2 試驗區，二試驗區的總米量及水量相等。酵母係將 $50 \mu\text{l}$ 於 30°C 靜置培養 48 小時者植菌於 YPD 培養基。

(3) 發酵條件： 25°C

(4) 蒸留條件：減壓蒸留

(表 17)

	試驗區（高粱液體麴）			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴高粱（g）	40.0	—	—	40.0
續加入米（g）	311.3	507.6	507.6	1326.5
液體麴（mL）	500.0	—	—	500.0
水（mL）	594.0	765.4	265.6	1625.0
90% 乳酸（mL）	1.4	—	—	1.4

(表 18)

	對照區（固體麴）			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴米（g）	311.3	—	—	311.3
續加入米（g）	—	507.6	507.6	1015.2
水（mL）	594.0	765.4	765.6	2125.0

第 8 圖所示係和對照組的固體麴裝入釀造之對照。從第 8 圖可清楚得知，和使用固體麴的對照裝入釀造比較，在

使用高粱液體麴的裝入釀造，具有幾乎相同的發酵過程。又，固體麴裝入釀造區、高粱液體麴裝入釀造區的最後酒醴的酒精度數均為 19.1% 相同程度。

其次，以減壓蒸留法使製得固體麴裝入釀造區和高粱液體麴裝入釀造區的燒酒酒醴進行蒸留，由 6 位專業品評員以 5 點品評法（佳 1-3-5 差）進行上述製得的燒酒原酒之官能品評，結果可知固體麴裝入釀造區、高粱液體麴裝入釀造區無太大的差異，高粱液體麴亦可製造具充分品質的燒酒。又，如表 19 所示，高粱液體麴區有「具穀物的甘味」之評語，顯示可製造和先前固體麴製法有明顯差異化的燒酒原酒。

（表 19）

	官能品評結果	
	評點（平均點）	風評
固體麴	3.0	華麗
高粱液體麴	3.0	穀物的甘味

（實施例 8）使用玉米的液體麴之製造

（1）前培養方法：8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌（*Aspergillus kawachii* IFO4308）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

（2）本培養法：將 1~8g 玉米和 0.2g 硝酸鉀、0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 1ml 前培養液植

菌於此本培養基，並於 37°C，以 100rpm 震盪培養 48 小時。利用實驗例 1 的方法測定培養後的培養上清液中的酵素生成量，亦即葡糖澱粉酶（GA）活性及耐酸性 α -澱粉酶（ASAA）活性。結果如表 20 所示。

從表 20 清楚可知，在玉米用量 4% 以上驗區，清楚得知燒酒釀造所需的酵素活性的目標值葡糖澱粉酶清楚為 100U/ml。另一方面，耐酸性 α -澱粉酶的目標值為 10U/ml，隨著增加無法達到此目標值區的玉米用量，此酵素的生成量有增加的趨勢。

如上述般，本試驗的 ASAA 活性的目標值不清楚者，因具有同時生成 GA 酵素、及 ASAA 酵素之能力，極可能藉著培養條件的最適化使酵素生成性增大至目標值水準。又，在使用 8% 玉米液體麴的燒酒裝入釀造中，若較一般摻合增加麴比率，可充分地製造燒酒。

（表 20）

玉米用量	酵素活性 (U/ml)	
	GA	ASAA
1%	61.9	1.4
2%	66.4	1.7
4%	135.7	3.8
8%	114.2	4.2

（實施例 9）使用糙麥的液體麴之製造

（1）前培養方法：8g 的 65% 碾製麥和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121°C 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將泡盛麴菌（*Aspergillus awamori* IFO4388）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6

個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

(2) 本培養法：將 1~8g 糙麥（95% 碾製麥）和 0.2g 硝酸鉀、0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時。利用實驗例 1 的方法測定培養後的培養上清液中的酵素生成量，亦即葡糖澱粉酶（GA）活性及耐酸性 α -澱粉酶（ASAA）活性。結果如表 21 所示。

從表 21 清楚可知，在糙麥用量為 4% 的試驗區，得知燒酒釀造所需的酵素活性的目標值葡糖澱粉酶清楚為 100U/ml 及耐酸性 α -澱粉酶清楚為 10U/ml。由此可知，即使使用黑麴菌仍具有和白麴菌相同的酵素的高生成效果。

(表 21)

糙麥用量	酵素活性 (U/ml)	
	GA	ASAA
1%	27.9	2.6
2%	41.5	2.0
4%	136.5	10.0
8%	7.1	0.1

(實施例 10) 使用糙米（含粗殼米）的液體麴之製造

(1) 前培養方法：8g 的 90% 碾製米（食米）和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌（*Aspergillus kawachii* IFO4308）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

(2) 本培養法：將 1~8g 糙米（含粗殼）和 0.2g 硝酸鉀、

0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。又，使用的糙米係直接以含穀皮（粗殼）的狀態不經脫殼而被使用。將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時。利用實驗例 1 的方法測定培養後的培養上清液中的酵素生成量，亦即葡糖澱粉酶（GA）活性及耐酸性 α -澱粉酶（ASAA）活性。結果如表 22 所示。

從表 22 清楚可知，在糙米用量為 4% 的試驗區，得知燒酒釀造所需的酵素活性的目標值葡糖澱粉酶清楚為 100U/ml 及耐酸性 α -澱粉酶清楚為 10U/ml。由此可知，即使使用含穀皮（粗殼）的米仍具有和糙麥相同的酵素的高生成效果。

（表 22）

糙米（含粗殼米）用量	酵素活性（U/ml）	
	GA	ASAA
1%	29.2	0.8
2%	39.3	1.8
4%	140.4	11.5
8%	89.0	5.2

（實施例 11）使用糙米（含粗殼米）的液體麴之製造

（1）前培養方法：8g 的 90% 碾製米（食米）和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將泡盛麴菌（*Aspergillus awamori* IFO4388）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

（2）本培養法：將 1~8g 糙米（含粗殼）和 0.2g 硝酸鉀、

0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。又，使用的糙米係直接以含穀皮（粗殼）的狀態不經脫殼而被使用。將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時。利用實驗例 1 的方法測定培養後的培養上清液中的酵素生成量，亦即葡糖澱粉酶（GA）活性及耐酸性 α -澱粉酶（ASAA）活性。結果如表 23 所示。

從表 23 清楚可知，在糙米用量為 8% 的試驗區，得知燒酒釀造所需的酵素活性的目標值葡糖澱粉酶清楚為 100U/ml 及耐酸性 α -澱粉酶清楚為 10U/ml。由此可知，使用含穀皮（粗殼）的米且使用泡盛麴菌，仍具有酵素的高生成效果。

（表 23）

糙米（含粗殼米）用量	酵素活性（U/ml）	
	GA	ASAA
1%	14.3	1.4
2%	19.3	1.4
4%	40.3	3.9
8%	100.0	10.5

（實施例 12）使用去除粗殼的糙米的液體麴之製造

1. 前培養方法：

8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌（*Aspergillus kawachii* IFO4308）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

2. 本培養法：

將 1~10g 去除粗殼的糙米和 0.2g 硝酸鉀、0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時。

另一方面，對照組係將 1~10g 的 90% 碾製米和 0.2g 硝酸鉀、0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時。

培養結束後，測定各培養上清液中的葡糖澱粉酶活性（GA）和耐酸性 α -澱粉酶活性（ASAA）。使用糖化力分別定量套組（龜甲萬製）測定葡糖澱粉酶活性（GA），耐酸性 α -澱粉酶活性（ASAA）之測定方法，係將（非專利文獻 3）的方法稍加改良，培養物經過酸處理後使非耐酸性 α -澱粉酶失活後，使用 α 澱粉酶測定套組（龜甲萬製）進行測定。更具體而言，在 1ml 培養液中添加 9ml 的 100mM 醋酸緩衝液（pH3），於 37℃ 進行 1 小時酸處理後，使用 α 澱粉酶測定套組（龜甲萬製）進行測定。

3. 結果：

如表 24 所示。至目前為止的研究，釀造燒酒所需的酵素活性，葡糖澱粉酶為 100U/ml、耐酸性 α -澱粉酶為 10U/ml 即可。對照組使用白米時，GA 及 ASAA 無法同時超越目標值，而試驗組使用糙米時，GA 及 ASAA 可同時平衡地生成，

特別是糙米用量 8% 以上時，目標酵素活性值變清楚。根據此結果，糙米較白米更適合作為液體麴之原料。

(表 24)

試驗組			對照組		
糙米用量	酵素活性 (U/ml)		白米用量	酵素活性 (U/ml)	
	GA	ASAA		GA	ASAA
1%	52.9	2.6	1%	19.8	1.1
2%	64.0	4.0	2%	31.9	2.0
4%	101.8	9.3	4%	51.3	4.3
8%	112.7	15.6	8%	56.5	10.3
10%	136.2	18.7	10%	52.1	11.2

(實施例 13)以使用去除粗殼的糙米的液體麴製造燒酒

1. 固體麴製造方法

使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後使冷卻至 40℃，對於每 1kg 碾製米，植菌 1g 的種麴（白麴菌 *Aspergillus kawachii* IFO4308），於 40℃ · 相對溼度 95% 的條件培養 6 小時，再於 30℃ · 相對溼度 90% 下培養 18 小時。

2. 液體麴之製法

(1) 前培養方法：8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌（*Aspergillus kawachii* IFO4308）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

(2) 本培養法：將 40g 去除粗殼的糙米和 1.0g 硝酸鉀、1.5g 磷酸二氫鉀和 500ml 水放入 2000ml 的附栓三角燒瓶，

置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 5ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時，製造糙米液體麴。

對照組係將 40g 的 90% 碾製米和 1.0g 硝酸鉀、1.5g 磷酸二氫鉀和 500ml 水放入 2000ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 5ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時，製造白米液體麴。

3. 米燒酒之製法

(1) 使用酵母：燒酒酵母（鹿兒島酵母）

(2) 釀造摻合：釀造摻合如表 25~表 27 所示。米係使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後的米。實驗區（試驗區、對照區）分為 1) 固體麴裝入釀造、2) 糙米液體麴裝入釀造、及 3) 白米液體麴裝入釀造等 3 區，各區的總米量及水量相等。酵母係將 50 μ l 於 30℃ 靜置培養 48 小時者植菌於 YPD 培養基。

(3) 發酵條件：25℃，固定

(4) 蒸留條件：減壓蒸留

(表 25)

	試驗區（糙米液體麴）			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴米（g）	40.0	—	—	40.0
續加入米（g）	271.3	507.6	507.6	1286.5
水（mL）	594.0	765.4	265.6	1625.0
液體麴（mL）	500.0	—	—	500.0
90% 乳酸（mL）	1.4	—	—	1.4

(表 26)

	對照區 (1) (白米液體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴米 (g)	40.0	—	—	40.0
續加入米 (g)	271.3	507.6	507.6	1286.5
水 (mL)	594.0	765.4	265.6	1625.0
液體麴 (mL)	500.0	—	—	500.0
90% 乳酸 (mL)	1.4	—	—	1.4

(表 27)

	對照區 (2) (固體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴米 (g)	311.3	—	—	311.3
續加入米 (g)	—	507.6	507.6	1015.2
水 (mL)	594.0	765.4	765.6	2125.0

4. 結果與研究

發酵過程如第 9 圖所示。從圖清楚可知，固體麴裝入釀造區和糙米液體麴裝入釀造區，具有幾乎相同的發酵過程。惟，白米液體麴裝入釀造區的發酵經過較差。又，最後酒醴的酒精度數，固體麴裝入釀造區 19.1% 和糙米液體麴裝入釀造區 18.9% 幾乎相同程度，相對於此，白米液體麴裝入釀造區的最後酒醴的酒精度數為 12.5，明顯地較前二者低。

以減壓蒸留法使製得固體麴裝入釀造區和糙米液體麴裝入釀造區的燒酒酒醴進行蒸留，由 6 位專業品評員以 5 點品評法 (佳 1-3-5 差) 進行上述製得的燒酒原酒之官能品評，結果如表 28 所示，可知固體麴裝入釀造區和糙米液體

麴裝入釀造區無太大的差異。惟，糙米液體麴區有「舒暢・輕快」之評語，可製得具舒暢香味的米燒酒。從上述的結果顯示，即使使用糙米液體麴亦可製造和固體麴相同品質的米燒酒。

(表 28)

	官能品評結果	
	評點 (平均點)	風評
固體麴	3.0	華麗
糙米液體麴	2.8	華麗、輕快、舒暢

(實施例 14) 使用去除粗殼的糙米的液體麴之製法

1. 前培養方法：

8g 的 90% 碾製米 (食米) 和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將泡盛麴菌 (*Aspergillus awamori* IFO4388) 的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

2. 本培養法：

將 1~8g 去除粗殼的糙米和 0.2g 硝酸鉀、0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時。

培養結束後，以實施例 12 的方法測定培養上清液中的葡萄糖澱粉酶活性 (GA) 和耐酸性 α -澱粉酶活性 (ASAA)。

3. 結果：

如表 29 所示。如前述般，釀造燒酒所需的酵素活性的

目標值，葡糖澱粉酶為 100U/ml、耐酸性 α -澱粉酶為 10U/ml。從表 29 清楚可知，在糙米用量為 8% 的試驗區，GA 和 ASAA 的目標值均清楚，即使使用泡盛麴菌亦可達到和白麴菌相同的酵素高生成效果。又，更增加糙米的用量時，亦可期待產生和白麴菌相同的酵素高生成效果。

(表 29)

糙米用量	酵素活性 (U/ml)	
	GA	ASAA
1%	23.0	0.1
2%	33.0	0.2
4%	89.0	8.2
8%	132.7	10.6

(實施例 15) 大豆液體麴之製法

1. 前培養方法：

8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌 (*Aspergillus kawachii* IFO4308) 的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

2. 本培養法：

將 1~10g 大豆和 0.2g 硝酸鉀、0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時。培養結束後，測定培養上清液中的葡糖澱粉酶 (GA) 活性和耐酸性 α -澱粉酶 (ASAA) 活性。使用糖化力分別定量套組 (龜

甲萬製) 測定 GA 活性，ASAA 活性之測定方法，係將 (非專利文獻 3) 的方法稍加改良，培養物經過酸處理後使非耐酸性 α -澱粉酶失活後，使用 α -澱粉酶測定套組 (龜甲萬製) 進行測定。更具體而言，在 1ml 培養液中添加 9ml 的 100mM 醋酸緩衝液 (pH3)，於 37°C 進行 1 小時酸處理後，使用 α -澱粉酶測定套組 (龜甲萬製) 進行測定。

3. 結果：

如表 30 所示。至目前為止的研究，釀造燒酒所需的酵素活性的目標值，葡糖澱粉酶為 100U/ml、耐酸性 α -澱粉酶為 10U/ml。從表清楚可知，隨著大豆用量的增加，GA 活性及 ASAA 活性亦增加，大豆用量 8% 以上時，目標酵素活性值變清楚。根據此結果，大豆適合作為液體麴之原料。

(表 30)

大豆用量	酵素活性 (U/ml)	
	GA	ASAA
1%	43.6	2.3
2%	48.0	2.7
4%	84.5	9.3
8%	110.8	11.3
10%	103.7	10.8

(實施例 16) 以使用大豆的液體麴製造米燒酒

1. 固體麴製造方法

使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後使冷卻至 40°C，對於每 1kg 碾製米，植菌 1g 的種麴 (白麴菌 *Aspergillus kawachii* IFO4308)，於 40°C • 相對溼度 95% 的條件培養 24 小時，又於 35°C • 相對

溼度 95% 下培養 6 小時，再於 30℃ • 相對溼度 90% 下培養 18 小時。

2. 液體麴之製法

(1) 前培養方法：

8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌 (*Aspergillus kawachii* IFO4308) 的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

(2) 本培養法：

將 40g 大豆和 1.0g 硝酸鉀、1.5g 磷酸二氫鉀和 500ml 水放入 2000ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 5ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時，製造大豆液體麴。

3. 米燒酒之製法

(1) 使用酵母：燒酒酵母（鹿兒島酵母）

(2) 釀造摻合：

釀造摻合如表 31、表 32 所示。米係使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後的米。試驗區分為 1) 固體麴裝入釀造、2) 大豆液體麴裝入釀造等 2 試驗區，二試驗區的總米量及水量相等。酵母係將 50 μ l 於 30℃ 靜置培養 48 小時者植菌於 YPD 培養基。

(3) 發酵條件：25℃，固定

(4) 蒸留條件：減壓蒸留

(表 31)

	試驗區 (大豆液體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴大豆 (g)	40.0	—	—	40.0
續加入米 (g)	311.3	507.6	507.6	1326.5
水 (mL)	594.0	765.4	265.6	1625.0
液體麴 (mL)	500.0	—	—	500.0
90% 乳酸 (mL)	1.4	—	—	1.4

(表 32)

	對照區 (固體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴米 (g)	311.3	—	—	311.3
續加入米 (g)	—	507.6	507.6	1015.2
水 (mL)	594.0	765.4	765.6	2125.0

4. 結果與研究

發酵過程如第 10 圖所示。從圖清楚可知，對照區的米固體麴裝入釀造區和試驗區的大豆液體麴裝入釀造區，具有幾乎相同的發酵過程。又，最後酒醴的酒精度數，米固體麴裝入釀造區 19.1%、大豆液體麴裝入釀造區 18.7% 幾乎相同程度。

以減壓蒸留法使製得米固體麴裝入釀造區、大豆液體麴裝入釀造區的燒酒酒醴進行蒸留，由 6 位專業品評員以 5 點品評法 (佳 1-3-5 差) 進行上述製得的燒酒原酒之官能品評，結果如表 33 所示，可知米固體麴裝入釀造區、大豆液體麴裝入釀造區無太大的差異，可知大豆液體麴亦可製造

具充分品質的燒酒。又，大豆液體麴區有「華麗的香味」之評語，顯示可製造和先前固體麴製法有明顯差異化之燒酒原酒。

(表 33)

	官能品評結果	
	評點 (平均點)	風評
固體麴	3.0	舒暢
大豆液體麴	2.6	華麗、輕快

(實施例 17) 紅豆液體麴之製法

1. 前培養方法：

8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌 (*Aspergillus kawachii* IFO4308) 的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

2. 本培養法：

將 1~10g 紅豆和 0.2g 硝酸鉀、0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時。培養結束後，以實施例 15 的方法測定培養上清液中的葡糖澱粉酶 (GA) 活性和耐酸性 α -澱粉酶 (ASAA) 活性。

3. 結果：

如表 34 所示。如前述般，釀造燒酒所需的酵素活性的目標值，葡糖澱粉酶為 100U/ml、耐酸性 α -澱粉酶為 10U/ml。從表清楚可知，紅豆用量為 2% 時 GA 活性和 ASAA

活性最大，紅豆用量為 1~2% 時，目標酵素活性值變清楚。
由此結果可知，紅豆適合使用為液體麴之原料。

(表 34)

紅豆用量	酵素活性 (U/ml)	
	GA	ASAA
1%	126.7	11.3
2%	138.2	12.9
4%	85.4	10.8
8%	67.7	9.4
10%	59.0	8.9

(實施例 18) 以使用紅豆的液體麴製造米燒酒

1. 固體麴製造方法

使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後使冷卻至 40℃，對於每 1kg 碾製米，植菌 1g 的種麴（白麴菌 *Aspergillus kawachii* IFO4308），於 40℃ • 相對溼度 95% 的條件培養 24 小時，又於 35℃ • 相對溼度 95% 下培養 6 小時，再於 30℃ • 相對溼度 90% 下培養 18 小時。

2. 液體麴之製法

(1) 前培養方法：

8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌（*Aspergillus kawachii* IFO4308）的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

(2) 本培養法：

將 10g 紅豆和 1.0g 硝酸鉀、1.5g 磷酸二氫鉀和 500ml 水放入 2000ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 5ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時，製造大豆液體麴。

3. 米燒酒之製法

(1) 使用酵母：燒酒酵母（鹿兒島酵母）

(2) 釀造摻合：

釀造摻合如表 35、表 36 所示。米係使用 90% 碾製米，洗米後浸漬 15 分鐘，瀝乾 10 分鐘，並蒸煮 30 分鐘後的米。試驗區分為 1) 固體麴裝入釀造、2) 紅豆液體麴裝入釀造等 2 試驗區，二試驗區的總米量及水量相等。酵母係將 50 μ l 於 30℃ 靜置培養 48 小時者植菌於 YPD 培養基。

(3) 發酵條件：25℃，固定

(4) 蒸留條件：減壓蒸留

(表 35)

	試驗區（紅豆液體麴）			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴紅豆（g）	10.0	—	—	10.0
續加入米（g）	311.3	507.6	507.6	1326.5
水（mL）	594.0	765.4	265.6	1625.0
液體麴（mL）	500.0	—	—	500.0
90% 乳酸（mL）	1.4	—	—	1.4

(表 36)

	對照區 (固體麴)			
	第一次	第二次	第三次	合計
麴米 (g)	311.3	—	—	311.3
續加入米 (g)	—	507.6	507.6	1015.2
水 (mL)	594.0	765.4	765.6	2125.0

4. 結果與研究

發酵過程如第 11 圖所示。從圖清楚可知，米固體麴裝入釀造區和紅豆液體麴裝入釀造區，具有幾乎相同的發酵過程。又，最後酒醴的酒精度數，米固體麴裝入釀造區 19.1%、紅豆液體麴裝入釀造區 19.2% 幾乎相同程度。

以減壓蒸留法使製得固體麴裝入釀造區、紅豆液體麴裝入釀造區的燒酒酒醴進行蒸留，由 6 位專業品評員以 5 點品評法(佳 1-3-5 差)進行上述製得的燒酒原酒之官能品評，結果如表 37 所示，可知固體麴裝入釀造區和紅豆液體麴裝入釀造區無太大的差異，紅豆液體麴亦可製造具充分品質的燒酒。又，紅豆液體麴區有「鬆軟、甘甜香味」之評語，顯示可製造和先前固體麴製法有明顯差異化之燒酒原酒。

(表 37)

	官能品評結果	
	評點 (平均點)	風評
固體麴	3.0	舒暢
紅豆液體麴	2.8	鬆軟、紅豆般甘甜香味

(實施例 19) 甘藷液體麴之製法

1. 前培養方法：

8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌

(*Aspergillus kawachii* IFO4308) 的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37°C，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

2. 本培養法：

輕柔地清洗 1 條生甘藷（約 20g）的外側，不須進行去蒂或削皮等處理直接和 1.0g 硝酸鉀、1.5g 磷酸二氫鉀和 500ml 水放入 2000ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121°C 進行 15 分鐘滅菌。將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37°C，以 80rpm 輕緩地震盪，使培養液中的甘藷不崩解地培養 48 小時。

培養結束後，以實施例 15 的方法測定培養上清液中的葡糖澱粉酶（GA）活性和耐酸性 α -澱粉酶（ASAA）活性。

3. 結果：

如表 38 所示。如前述般，釀造燒酒所需的酵素活性的目標值，葡糖澱粉酶為 100U/ml、耐酸性 α -澱粉酶為 10U/ml。

從表 38 清楚可知，可同時生成 GA 和 ASAA 二酵素。ASAA 的目標酵素活性值不清楚者，且通氣條件等液體麴培養條件維持在最適狀況時，期待可增加酵素活性，即使是現狀的甘藷液體麴，藉著增加燒酒釀造時的麴比率亦可充分地製造燒酒。

（表 38）

甘藷	酵素活性 (U/ml)	
	GA	ASAA
	108.6	5.5

（實施例 20）莧紫液體麴之製法

1. 前培養方法：8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121°C 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌 (*Aspergillus kawachii* IFO4308) 的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37°C，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

2.本培養法：將 1~8g 莧紫和 0.2g 硝酸鉀、0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時。培養結束後，測定培養上清液中的葡糖澱粉酶活性（GA）和耐酸性 α -澱粉酶活性（ASAA）。使用糖化力分別定量套組（龜甲萬製）測定 GA 活性，ASAA 活性之測定方法，係將（非專利文獻 4）的方法稍加改良，培養物經過酸處理使非耐酸性 α -澱粉酶失活後，使用 α 澱粉酶測定套組（龜甲萬製）進行測定。更具體而言，在 1ml 培養液中添加 9ml 的 100mM 醋酸緩衝液（pH3），於 37℃ 進行 1 小時酸處理後，使用 α 澱粉酶測定套組（龜甲萬製）進行測定。

3.結果：如表 39 所示。至目前為止的研究，釀造燒酒所需的酵素活性的目標值，葡糖澱粉酶為 100U/ml、耐酸性 α -澱粉酶為 10U/ml。從表清楚可知，莧紫用量 2% 以上時，GA、ASAA 二酵素的活性的目標值變清楚，顯示莧紫可有效地作為液體麴原料。

（表 39）

莧紫用量	酵素活性（U/ml）	
	GA	ASAA
1%	108.6	5.5
2%	125.7	11.0
4%	112.4	13.5
8%	125.0	13.4

(實施例 21) 奎藜籽液體麴之製法

1.前培養方法：8g 的 90% 碾製米和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。冷卻後，將白麴菌 (*Aspergillus kawachii* IFO4308) 的種麴孢子植菌於前培養基中，使含量為 1×10^6 個/ml，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 24 小時。

2.本培養法：將 1~8g 的奎藜籽和 0.2g 硝酸鉀、0.3g 磷酸二氫鉀和 100ml 水放入 500ml 的附栓三角燒瓶，置於高溫高壓滅菌釜以 121℃ 進行 15 分鐘滅菌。將 1ml 前培養液植菌於此本培養基，並於 37℃，以 100rpm 震盪培養 48 小時。培養結束後，以實施例 20 的方法測定培養上清液中的葡糖澱粉酶活性 (GA) 和耐酸性 α -澱粉酶活性 (ASAA)。

3.結果：如表 40 所示。至目前為止的研究，釀造燒酒所需的酵素活性的目標值，葡糖澱粉酶為 100U/ml、耐酸性 α -澱粉酶為 10U/ml。從表清楚可知，奎藜籽用量為 2~4% 時，可平衡地生成二酵素，顯示奎藜籽可有效地作為液體麴原料。

(表 40)

用量	酵素活性 (U/ml)	
	GA	ASAA
1%	132.7	7.3
2%	126.8	10.6
4%	123.5	11.1
8%	88.2	18.1

[應用於產業上的可能性]

根據本發明，提供一種使用穀皮覆蓋表面之穀類或只去除表面的穀皮 (粗殼) 之穀類、外皮覆蓋表面之豆類或芋

類、或雜穀類莧紫及 / 或奎藜籽作為培養原料，有效地且廉價地製造品質安定的液體麴之方法。且，此液體麴不僅適用於發酵飲食品的製造，因可平衡地生成大量的葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶二酵素，適用於燒酒等酒類之製造。

【圖式簡單說明】

第 1 圖以使用糙麥的液體培養基進行麴菌培養時，糙麥用量和葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶的生成量之關係圖。

第 2 圖以使用對照區的圓麥的液體培養基進行麴菌培養時，糙麥用量和葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶的生成量之關係圖。

第 3 圖以使用糙麥的液體麴製造麥燒酒時的發酵過程圖。

第 4 圖以使用蕎麥的液體麴製造米燒酒時的發酵過程圖。

第 5 圖以使用小米的液體麴製造米燒酒時的發酵過程圖。

第 6 圖以使用稗的液體麴製造米燒酒時的發酵過程圖。

第 7 圖以使用稷的液體麴製造米燒酒時的發酵過程圖。

第 8 圖以使用高粱的液體麴製造米燒酒時的發酵過程圖。

第 9 圖使用各種的麴製造燒酒時的發酵過程圖。

第 10 圖以使用大豆的液體培養基進行麴菌培養，再使用製得的液體麴製造燒酒時的發酵過程圖。

第 11 圖以使用紅豆的液體培養基進行麴菌培養，再使用製得的液體麴製造燒酒時的發酵過程圖。

五、中文發明摘要：

本發明的目的係提供一種於製造發酵飲食品時使用的液體麴，特別是釀造燒酒時使用的葡糖澱粉酶及耐酸性 α 澱粉酶的酵素活性高之液體麴。

本發明係提供製造發酵飲食品時使用的液體麴之製法，以含有任一種的穀皮覆蓋表面之穀類、只去除表面的穀皮（粗殼）之穀類、外皮覆蓋表面之未加工豆類或芋類、及雜穀類莧紫及/或奎藜籽(quinoa)作為培養原料之液體培養基，將麴菌培養於此液體培養基之液體麴的製法。

依據本發明，平衡葡糖澱粉酶及耐酸性 α -澱粉酶二酵素且增加其生成量，可製造具備釀造燒酒時所需的酵素活性之液體麴。使用此液體麴，可有效地製造燒酒等發酵飲食品。

六、英文發明摘要：

An object of the present invention is to provide a liquid koji to be used in the production of a fermented food or drink, particularly a liquid koji having glucoamylase and acid-stable α -amylase with high enzymatic activities, which can be used in the brewing of shochu. The present invention provides a method of manufacturing a liquid koji to be used in production of a fermented food or drink, comprising: cultivating a koji mold in a liquid medium that contains, as a raw material, a substance selected from the group consisting of a cereal having a surface covered with a husk; a cereal having a surface from which only a husk (e.g., a chaff) is removed; an unprocessed bean or tuber having a surface covered with a hull; and amaranthus and/or quinoa. According to the present invention, both enzymes of glucoamylase and acid-stable α -amylase are simultaneously produced with high yield in a balanced manner to allow the production of a liquid koji having enzymatic activities required for, for example, the brewing of shochu. By using the liquid koji, fermented foods and drinks such as shochu can be efficiently produced.

十、申請專利範圍：

1. 一種液體麴之製法，其特徵係用於製造發酵飲食品時的液體麴之製法，將麴菌培養於含有任一種穀皮覆蓋在表面之穀類；只去除表面的穀皮（粗殼）之穀類；外皮覆蓋在表面的未加工的豆類或芋類；及莧紫及/或奎藜籽(quinoa)作為培養原料之液體培養基。
2. 如申請專利範圍第 1 項之液體麴之製法，其中穀皮覆蓋在表面之穀類係未碾製、或以至少有穀皮殘留在穀粒的表面上以上之碾製比率碾製者。
3. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之液體麴之製法，其中穀類係大麥。
4. 如申請專利範圍第 3 項之液體麴之製法，其中大麥係上述碾製比率 90% 以上者。
5. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之液體麴之製法，其中穀類係米、小麥、蕎麥、稗、小米、稷、高粱或玉米。
6. 如申請專利範圍第 1 項之液體麴之製法，其中只去除表面的穀皮（粗殼）之穀類係糙米。
7. 如申請專利範圍第 1 項之液體麴之製法，其中外皮覆蓋在表面的未加工的豆類或芋類係大豆、紅豆、或甘藷。
8. 如申請專利範圍第 1~7 項中任一項之液體麴之製法，其中培養於含上述培養原料的液體培養基之麴菌培養物中，至少同時生成、蓄積葡萄糖澱粉酶和耐酸性 α -澱粉酶。
9. 一種發酵飲食品之製法，其特徵係使用以申請專利範圍 1~8 項中任一項方法製得的液體麴製造發酵飲食品。
10. 如申請專利範圍第 9 項之發酵飲食品之製法，其中發酵

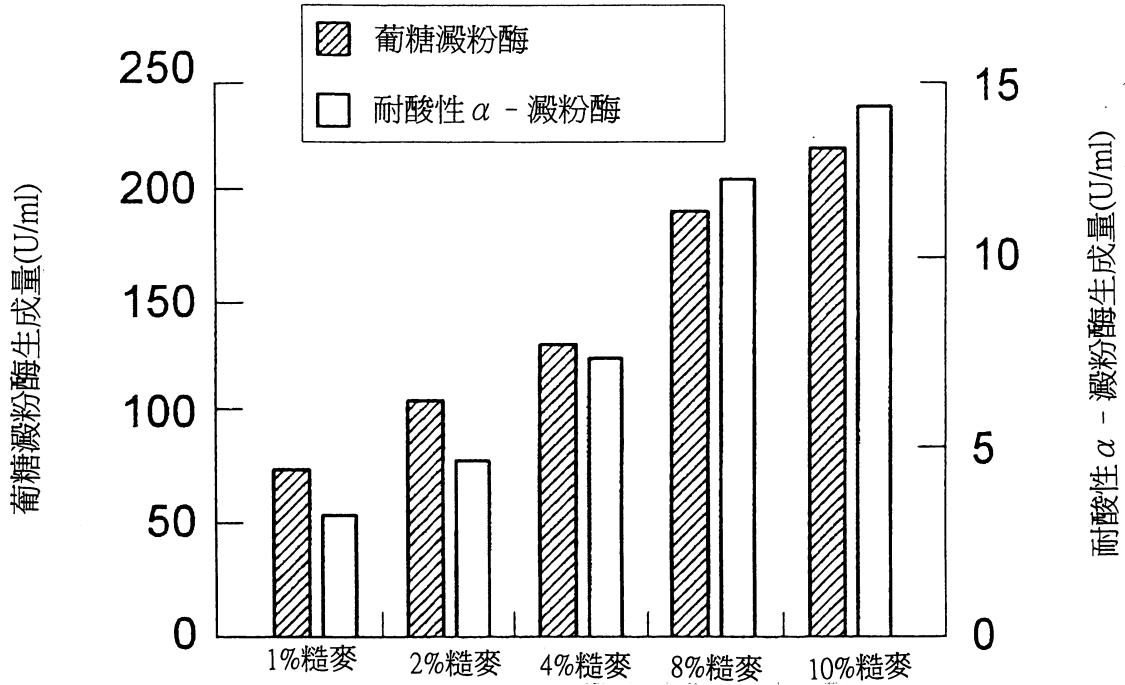
飲食品的所有製造工程均在液態下進行。

- 11.如申請專利範圍第 9 或 10 項之發酵飲食品之製法，其中發酵飲食品的製造係於與外界保持遮蔽的液態狀態下進行。
- 12.如申請專利範圍第 9~11 項中任一項之發酵飲食品之製法，其中發酵飲食品的製造係由將副原料置入上述液體麴中，製造一次酒醴而進行。
- 13.如申請專利範圍第 9~12 項中任一項之發酵飲食品之製法，其中發酵飲食品係燒酒。
- 14.一種發酵飲食品製造用的液體麴組，其特徵係至少含有以申請專利範圍 1~8 項中任一項之液體麴之製法製得的葡糖澱粉酶活性和耐酸性 α -澱粉酶活性。
- 15.如申請專利範圍第 1~7 項中任一項之液體麴之製法，其中將麴菌培養於含有上述培養原料的液體培養基以製造液體麴中，藉著抑制培養原料中由澱粉由來的糖質釋放至培養基的速度，以調整液體麴的酵素活性。

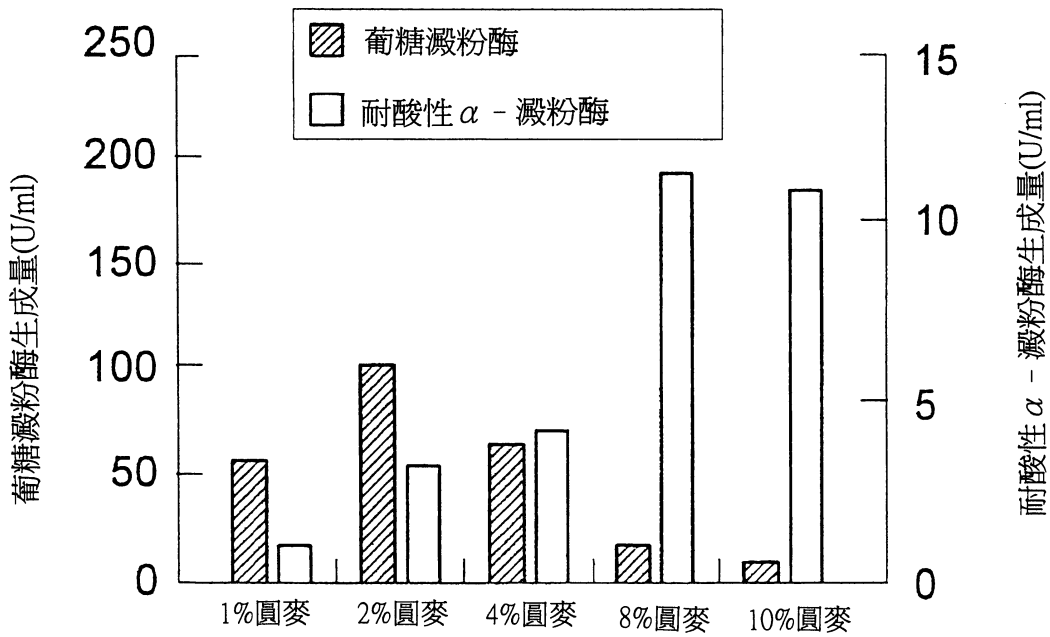
十一、圖式：

第 1 圖

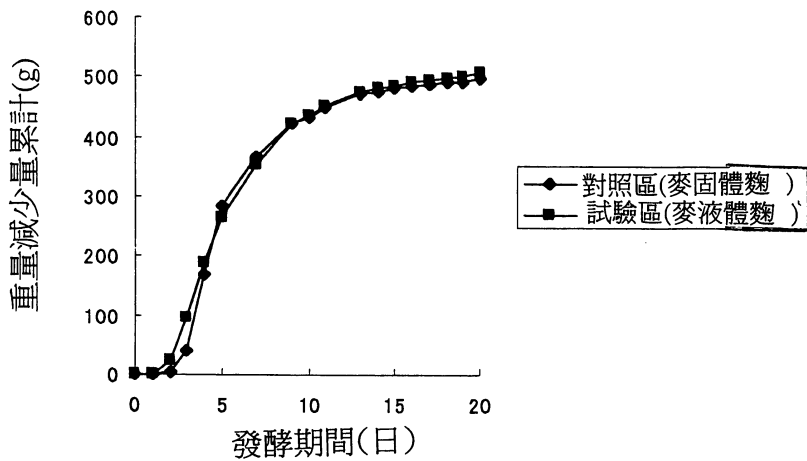
1/5



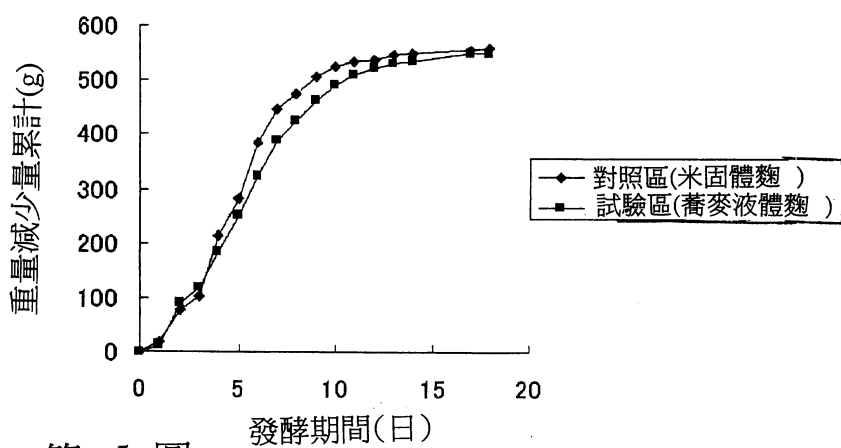
第 2 圖



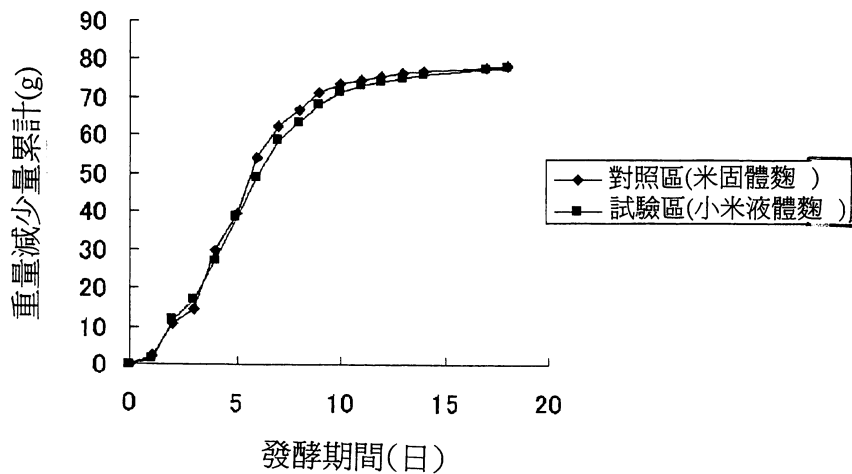
第 3 圖



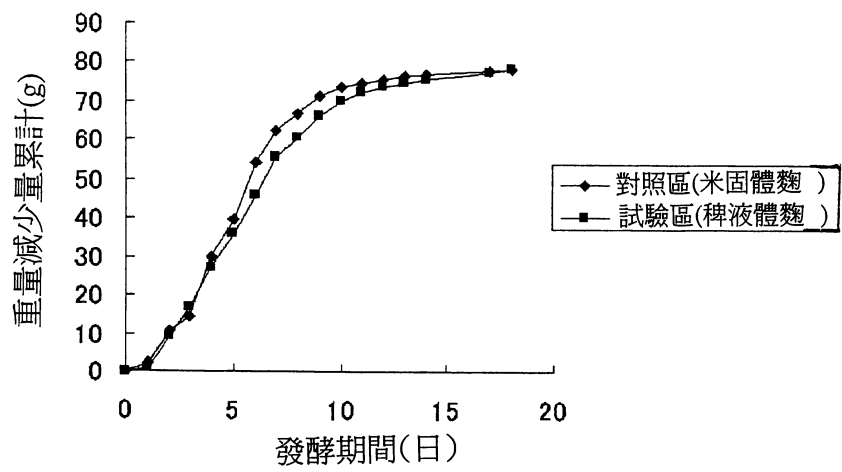
第 4 圖



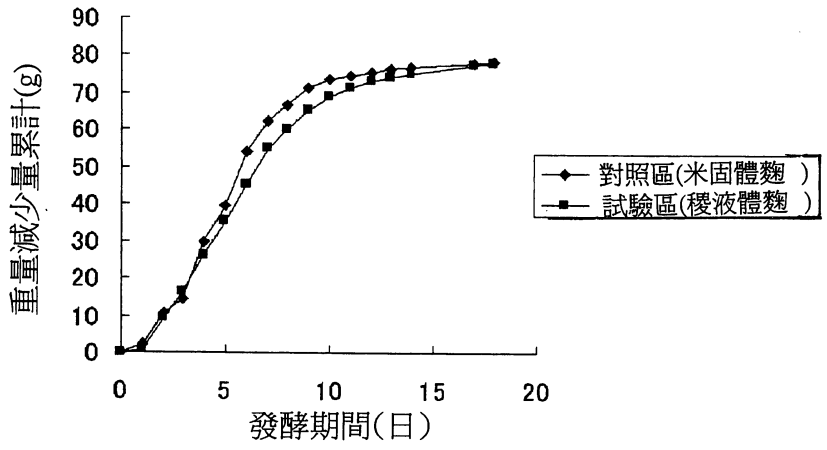
第 5 圖



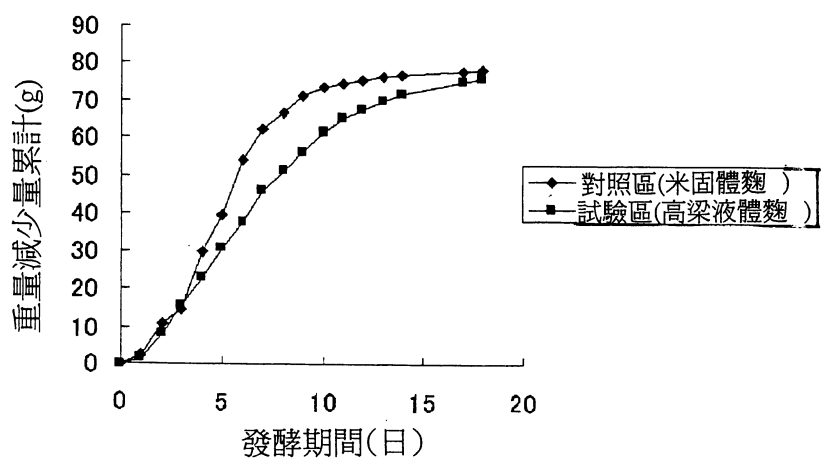
第 6 圖



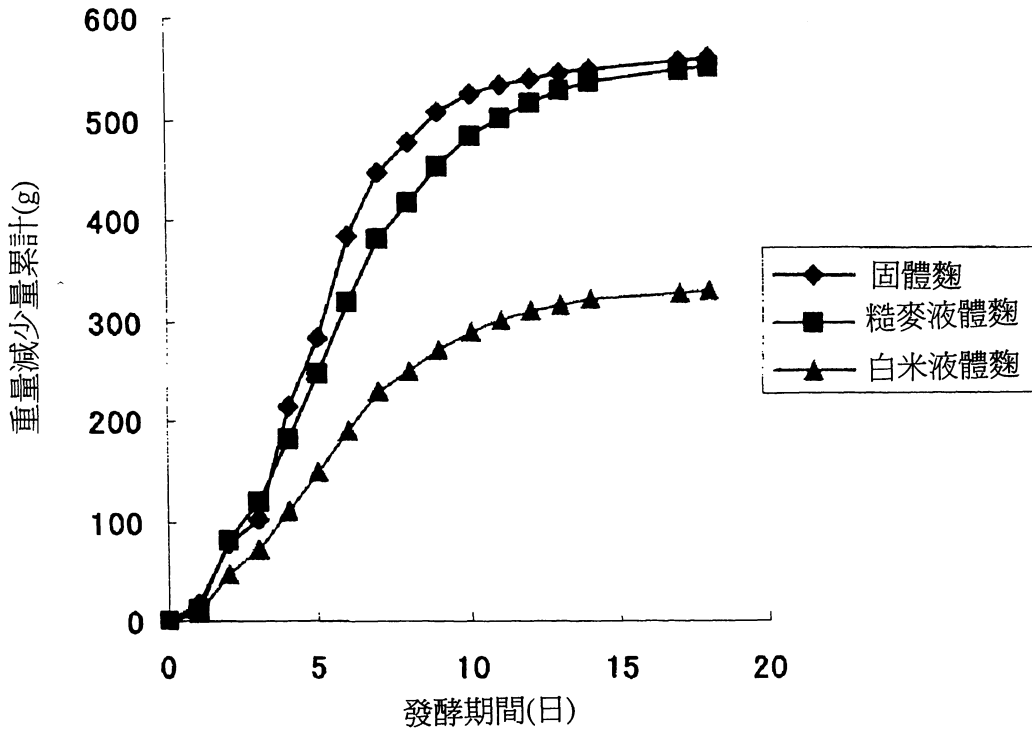
第 7 圖



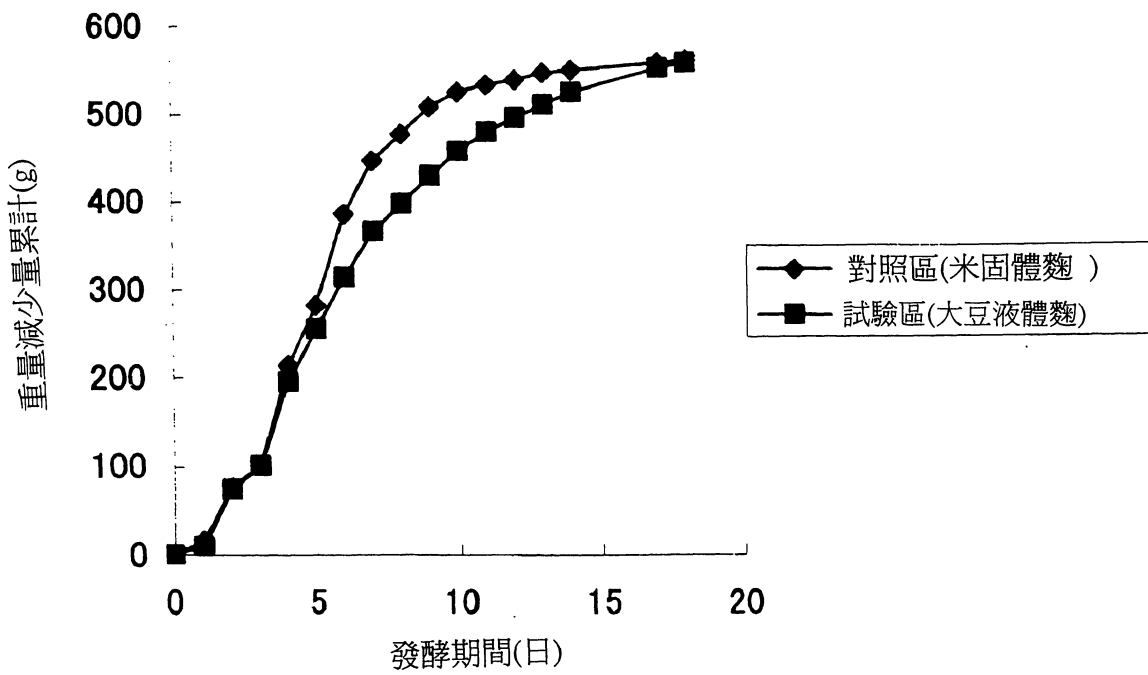
第 8 圖



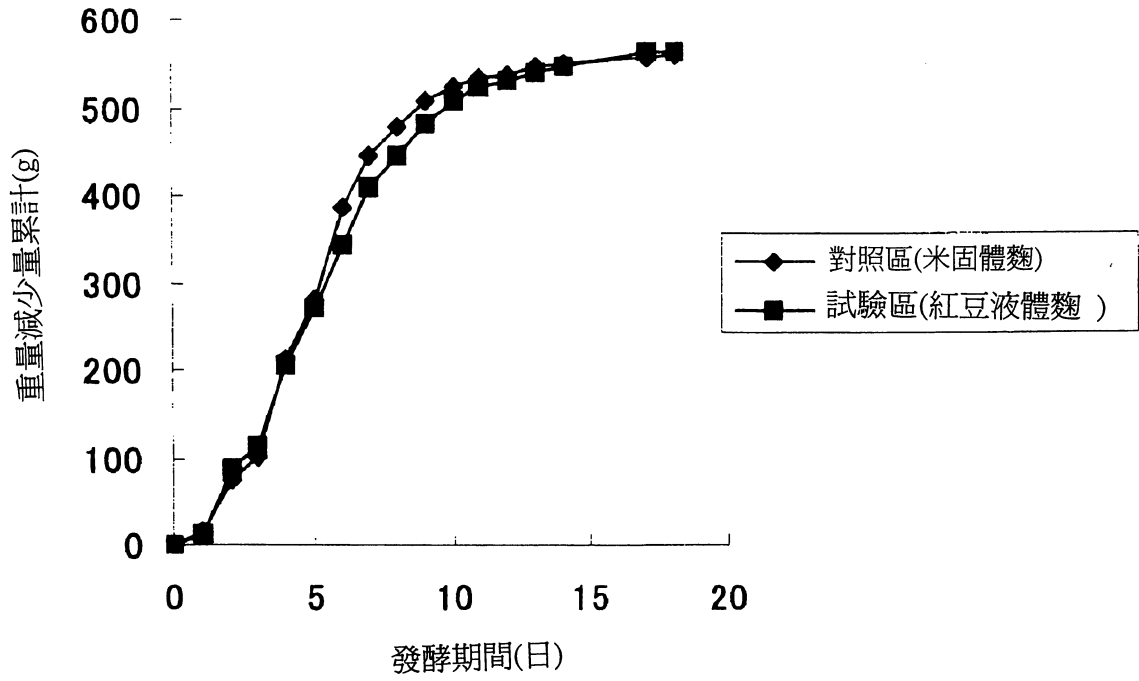
第 9 圖



第 10 圖



第 11 圖



七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：無。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無。

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：