

嘉義市第 37 屆國民中小學科學展覽會

作品說明書

科 別：生活與應用科學(2)(民生與環保)

組 別：國 中 組

作品名稱：米酒的製造及甲醇之檢測研究

關 鍵 詞：米酒、甲醇、蒸餾

編 號：

米酒的製造及甲醇之檢測研究

摘要

本件科展活動的主要內容分為兩部分，第一部分是本校營養午餐剩餘之米飯，經加入酒麴和水混合發酵，再經蒸餾，產出米酒。第二部分是對產出之米酒及市售蒸餾酒，檢測是否含有甲醇；我們自行設計比色裝置，檢測甲醇之大概含量；另製作甲醇檢量線經由檢測酒樣品與對-玫瑰苯胺鹽酸鹽試劑之呈色反應，測得不同的吸光值，藉此推算酒中甲醇的含量。

初步實驗得知：(一)酒麴發酵方法製造米酒：米飯、酒麴與水之最佳重量比例為 1：0.3%：3，整個製程需 28 天左右，平均酒精度約 40%，平均產率約 20%。(二)自製比色管比色法，可檢測甲醇之大概含量，簡易實用。(三)以分光光度計比色法製作檢量線，檢測自製米酒甲醇之含量，沒有檢出甲醇；另外實際收集市面上三種蒸餾酒商品，僅一種商品檢出含有 80ppm 甲醇，尚在衛生署准許的 1000ppm 範圍內。

壹、研究動機

近年來食安事件層出不窮，假酒問題嚴重，新聞報導許多不肖業者在酒中加入甲醇，但事實真的是業者的詭計嗎？還是在釀酒之發酵過程中，有部分甲醇產出？於是我們請老師指導，並藉著理化課中所學過的醱類的發酵原理，收集相關檢測酒中甲醇的資料，開始做此專題探討，來尋求答案。

貳、研究目的

- (一)體驗米酒釀造方法。
- (二)研究酒精中檢測甲醇之方法。
- (三)喚起民眾對假酒中甲醇的認識以維護飲酒安全。

參、研究設備及器材

一、廚餘米飯製造米酒部份：(圖1)

廚餘米飯、砂糖、酒麴(白殼)、檸檬酸、酒精度計、糖度計、單向氣閥、不銹鋼蒸餾器、玻璃儲存瓶、燒杯、量筒、試管、磅秤、電子天平、攪拌器、漏斗、紗布、蒸餾水、自來水、量筒、燒杯、試管、錐形瓶、大漏斗、玻璃缸、數位相機、筆電。

二、甲醇之檢測部份：(圖1)

甲醇、乙醇、對-玫瑰苯胺鹽酸鹽(pararosaniline hydrochloride)、過錳酸鉀、硫酸、磷酸、草酸、亞硫酸鈉、蒸餾水、滴管、玻棒、移液管、試劑儲存瓶、燒杯、安全吸球、量筒、試管。

	
a.糖度計	b.酒精度計
	
c.恆溫槽	d.分光光度計(400—900nm)
	
e.溫度計	f.甲醇檢測藥品
	
g.酒麴粉	h.比色分析試管
	
I.甲醇檢測試劑及器材	j.米酒蒸餾設備

圖1.研究設備及器材

肆、研究過程及方法

第一部分：米飯釀造米酒

一、釀酒主要酵素介紹

(一) 酒麴：

酒麴俗稱白麴，屬於固體物，製酒時需先磨成細粉，再與米飯均勻混合後發酵，酒麴中含有麴黴菌和酵母菌，麴黴菌可將澱粉轉化成葡萄糖，酵母菌則能將葡萄糖轉變成酒精。

(二) 酶製劑：

釀酒工業常用的酶製劑，有葡萄糖澱粉酶、 α -澱粉酶、 β -澱粉酶、纖維素酶、果膠酶、蛋白酶、酯化酶等，這些酶是由麴黴或細菌經發酵精製而成，其能水解水中的澱粉、蛋白質、半纖維素等，而主要以葡萄糖澱粉酶為主，其他酶類為輔助作用

二、釀酒發酵原理

(一) 酒發酵原理是於反應過程中，加入酒麴(含麴黴菌和酵母菌酵素)，麴黴菌可將澱粉轉化成葡萄糖，酵母菌則能將葡萄糖轉變成酒精。

(二) 主要步驟：

1. 澱粉 + 酒麴 $\xrightarrow{\text{水解}}$ 葡萄糖
2. 葡萄糖 $\xrightarrow{\text{發酵}}$ 酒醪(完全發酵後之溶液) + 二氧化碳
3. 酒醪(12%) \rightarrow 第一次蒸餾(酒精度約 30%~60%)
 \rightarrow 第二次蒸餾(酒精度約 60%~80%)

(三) 主要反應：

1. 澱粉水解：
$$\text{H} - [\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]_n - \text{OH} + (n-1) \text{H}_2\text{O} \longrightarrow n \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$$
2. 葡萄糖水解：
$$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow 2 \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 2 \text{CO}_2$$

三、實驗流程：

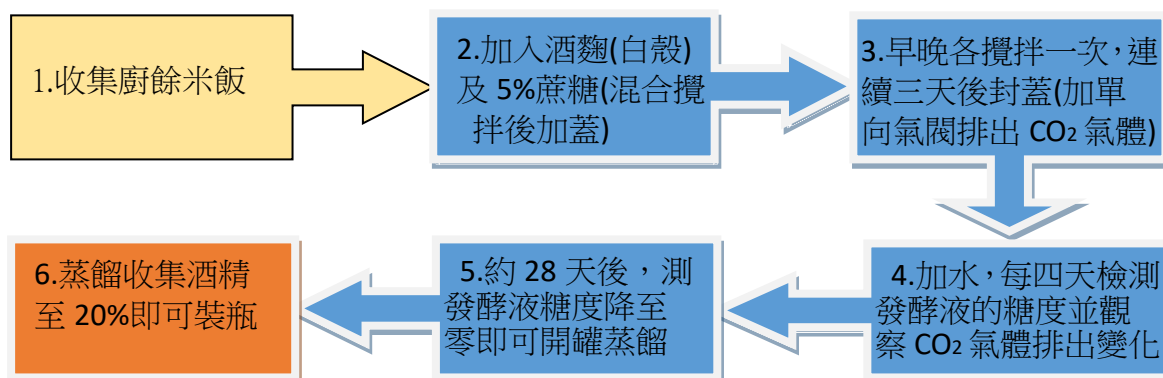


圖 2.米酒釀造流程

二、實驗步驟：實驗情形(圖 3)。

- 1.至本校各班級收集營養午餐剩餘之米飯。
- 2.米飯加水除去骨頭魚刺等雜質。
- 3.以紗布過濾除去水分，依所需的米飯量秤重後，倒入塑膠桶中。
- 4.將酒麴粉，稱得所需的重量，加適量的溫水後放入米飯中攪拌均勻。
5. 米飯：酒麴：水之重量比=1：0.3%：8 覆上紗布後加蓋，靜置發酵 3 天。
- 6.加入一定量的蒸餾水，覆上含有單向排氣閥的蓋子，使產生的 CO₂順利排出桶外。
- 7.靜置再發酵約四星期，至無二氧化碳氣體產生為止。
- 8.測試米醱糖度，當糖度為零時，是為完全發酵；將發酵完全之米醱，倒入蒸餾器中。
- 9.開始蒸餾，蒸餾液溫度達 80°C時即有酒精餾出，當酒精度降為 15% 時停止蒸餾。
- 10.測定酒精度，將成品放入玻璃容器中保存。
- 11.改變比例米飯：酒麴：水之重量比=1：0.4%：8 及 1：0.5%：8
- 12.重複步驟 1-9，找出最佳製造米酒配方。

四、發酵過程糖度檢測

(一)實驗步驟：

- 1.準備糖度計。
- 2.倒出發酵液。
- 3.在開始發酵後每週檢測一次。
- 4.至檢測液之糖度等於零，即表示米飯中之醱類已完全轉換成酒。

(二)實驗情形：(圖 4.)。










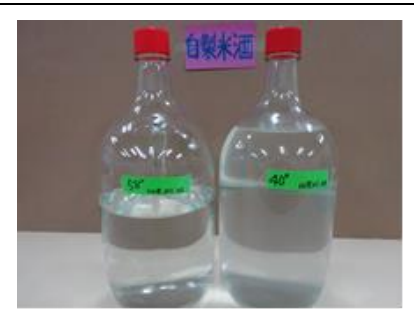
	
<p>a. 收集學校營養午餐廚餘</p>	<p>b. 加水除去魚骨等雜質</p>
	
<p>c. 依比例秤重</p>	<p>d. 加入酒麴攪拌</p>
	
<p>e. 加水攪拌</p>	<p>f. 充分攪拌後加蓋</p>
	
<p>g. 放入玻璃缸內加排氣閥</p>	<p>h. 倒入蒸餾器中蒸餾</p>
	
<p>I. 開始蒸餾</p>	<p>j. 米酒產品</p>

圖 3. 米酒製造實際操作情形(3a-j)

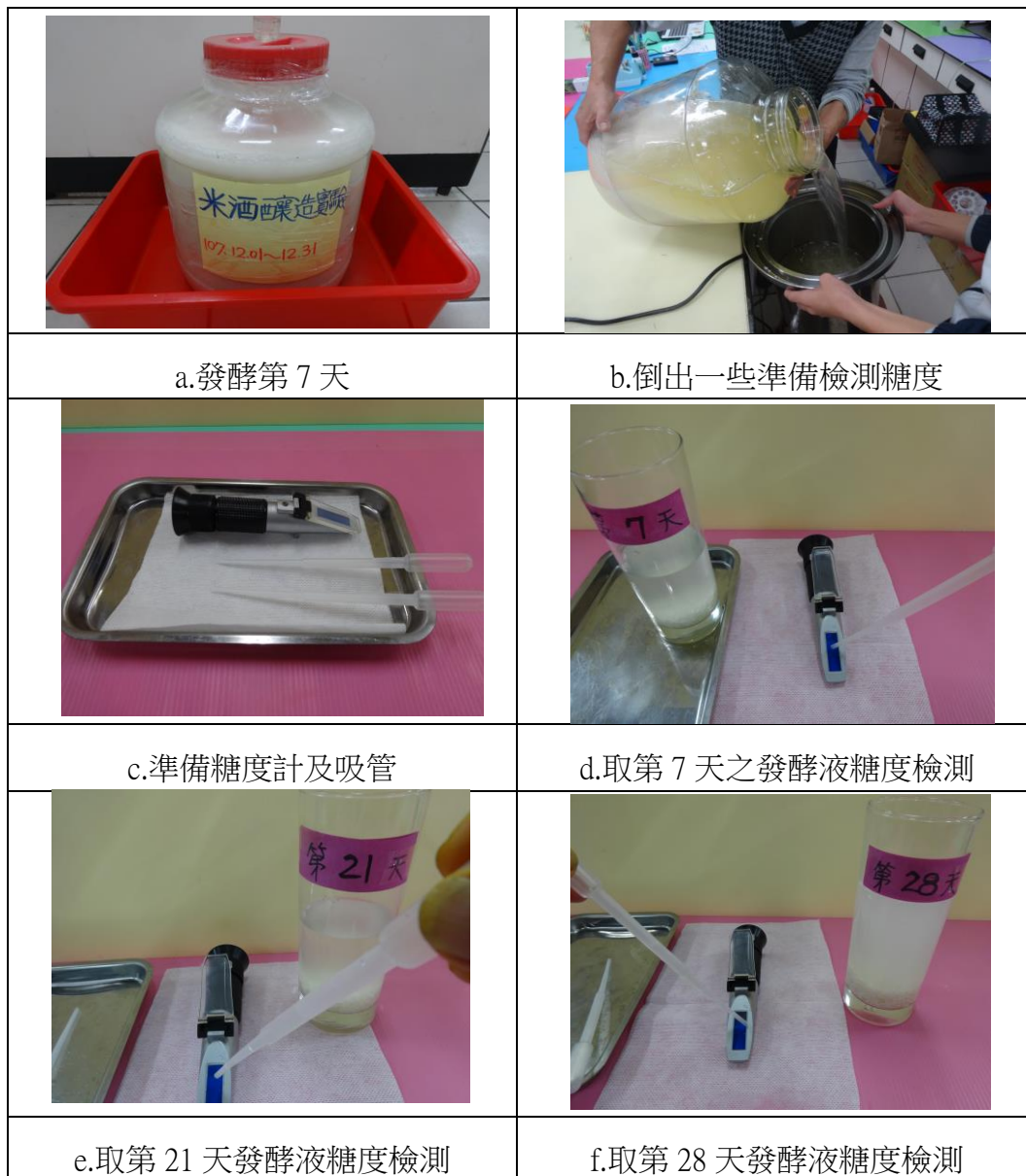


圖 4.米酒製造過程糖度之測量情形

五、發酵過程酒精度檢測

(一)實驗步驟：

1. 準備酒精度計。
2. 倒出發酵液。
3. 在開始發酵後每週檢測一次，至酒精度不再增加，可停止檢驗。
4. 檢測液之酒精度不再增加，表示米飯已發酵結束，準備蒸餾。

(二)實驗情形：(圖 5.)



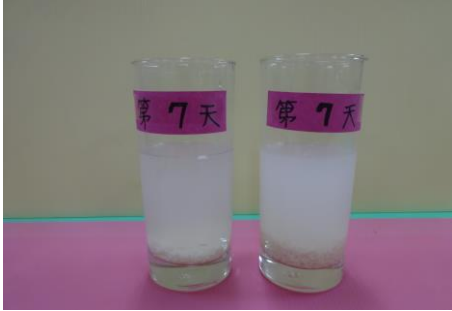

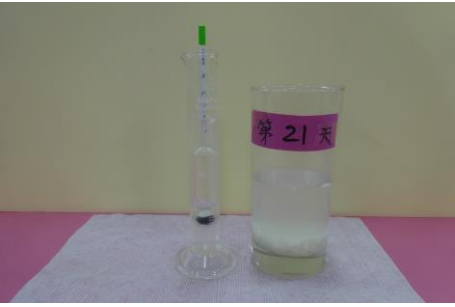

	
<p>a. 發酵第 7 天</p>	<p>b. 準備酒精度計</p>
	
<p>c. 倒出一些準備酒精度計及量筒</p>	<p>d. 取第 7 天發酵液酒精度檢測</p>
	
<p>e. 取第 21 天發酵液酒精度檢測</p>	<p>f. 取第 28 天發酵液酒精度檢測</p>

圖 5. 米酒製造過程酒精度之測量情形

第二部分：米酒中甲醇檢測

第一種方法：比色管比色法

(一) 說明： 利用比色管，配製一定範圍濃度之甲醇標準液，加入顯色劑會呈現一系列的由淺至深的紫色(標準液濃度由低至高排列)，再將待檢的酒樣，與之比色即概略可知是否含甲醇，並了解其大約的濃度。

(二) 步驟：

1. 甲醇標準液配製：以甲醇原液用乙醇稀釋成 10 種濃度(由低至高濃度排列)的甲醇標準液，置入試管中約九分滿，加入 3%過錳酸鉀試劑 2ml，於 30°C 水浴中反應 15 分鐘，加 5%草酸溶液 2ml 脫色，再加入亞硫酸-對玫瑰苯胺鹽酸鹽溶液 5ml，置入 30°C 水浴中 30 分鐘，取出後觀察呈色反應，含甲醇呈紫色，含甲醇量越多，顏色越深。
2. 準備試管盛入已準備好的待測米酒，如上述步驟操作。
3. 待測米酒若有呈色，與上列甲醇標準液比色，及知道含甲醇之概略濃度。

(三)實驗情形：圖 6。



圖 6. 比色管比色法實驗情形

第二種方法：分光光度計比色法

一、製作甲醇檢量線

1. 含 0.1% 甲醇之 5% 乙醇溶液：稱取甲醇 0.1 g，精確稱定，加入無甲醇之 95% 乙醇溶液 5.26 mL，以水定容至 100 mL。
2. 標準溶液之配製：
以含 0.1% 甲醇之 5% 乙醇溶液、無甲醇之 95% 乙醇溶液及水依下表配製，使成 5% 乙醇溶液中甲醇含量 0.02~0.20 mg/mL 之甲醇標準溶液(表 1)。

表 1. 檢量線標準溶液之配製

含 0.1% 甲醇之 5% 乙醇溶液 (mL)	無甲醇之 95% 乙醇溶液 (mL)	水 (mL)	甲醇含量 (mg/mL)
0.10	0.25	4.65	0.02(20ppm)
0.15	0.25	4.60	0.03(30ppm)
0.20	0.25	4.55	0.04(40ppm)
0.30	0.25	4.45	0.06(60ppm)
0.40	0.25	4.35	0.08(80ppm)
0.50	0.25	4.25	0.10(100ppm)
0.60	0.25	4.15	0.12(120ppm)
0.70	0.25	4.05	0.14(140ppm)
1.00	0.25	3.75	0.20(200ppm)

3. 取上表之甲醇標準溶液各 5ml 加入試管中，加 3% 過錳酸鉀溶液 2mL，於 30 °C 放置 15 分鐘後，加 5% 草酸溶液 2 mL 脫色，再加亞硫酸-對玫瑰苯胺溶液 5mL，搖勻，於 30°C 保持 30 分鐘。
4. 於波長 590 nm 測定吸光度。製作標準曲線。

二、假酒之檢驗

1. 將蒸餾後的酒精濃度視為 95%，配製濃度 5% 的乙醇 2mL，供作檢液。
2. 精確量取三種蒸餾酒商品檢液(A、B、C)，置入試管中。
3. 分別加 3% 過錳酸鉀溶液 1mL，於 30~40°C 水浴中放置 15 分鐘，至過錳酸鉀退色(紫色變棕色)。
4. 分別加 5% 草酸溶液 1mL 脫色，再加亞硫酸-對玫瑰苯胺鹽酸鹽溶液 2ml，攪拌均勻，於 30°C 水浴中靜置，若有呈現藍紫色者為假酒。
5. 商品檢液(A、B、C) 於波長 590 nm 測定吸光度，可由檢量線之迴歸方程式計算甲醇含量。

伍、研究結果

第一部分：米飯釀造米酒

(一)實驗數據：(表 2)

(二)實驗結果：

1.最佳原料組合比例，酒麴發酵方法製造米酒：米飯、酒麴與水之最佳重量比例為 1：0.3%：3，整個製程需 28 天左右，平均酒精度約 40%，平均產率約 20%。

2.自製米酒成品：(圖 7)

表 2. 以酒麴發酵方法製造米酒結果

項目 實驗組別	米飯/酒麴/ 水 (kg/kg/kg)	完全發 酵天數 (天)	蒸餾成品 米酒重量 (Kg)	米酒成品 平均產率 (%)	米酒成品平 均 酒精度 (%)
S1	1/2/1x0.2%/3	30	0.187	18.7	36
S2	1/2/1x0.3%/3	28	0.202	20.2	40
S3	1/2/1x0.4%/3	28	0.198	19.8	36
S4	1/2/1x0.3%/4	30	0.190	19.0	36
S5	1/2/1x0.3%/5	35	0.185	18.5	34
平均	-----	30	0.192	19.2	37



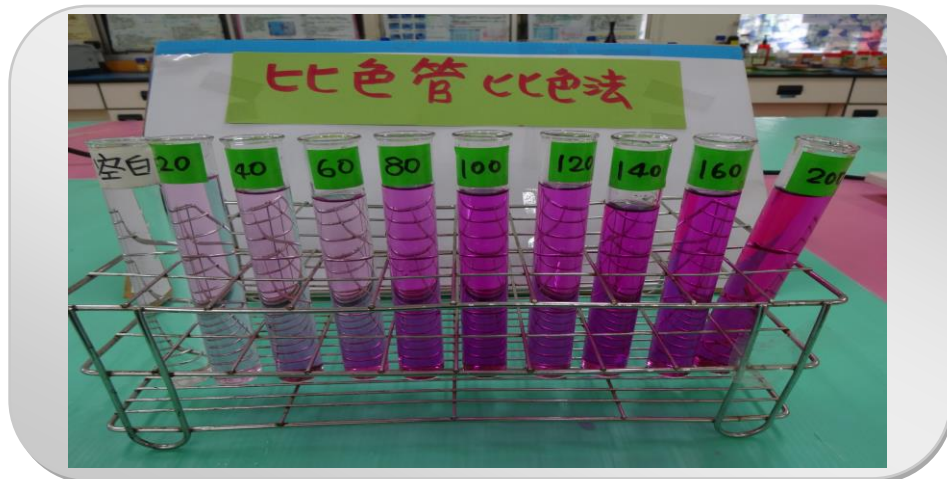
圖 7. 自製米酒成品

第二部分：米酒中甲醇檢測

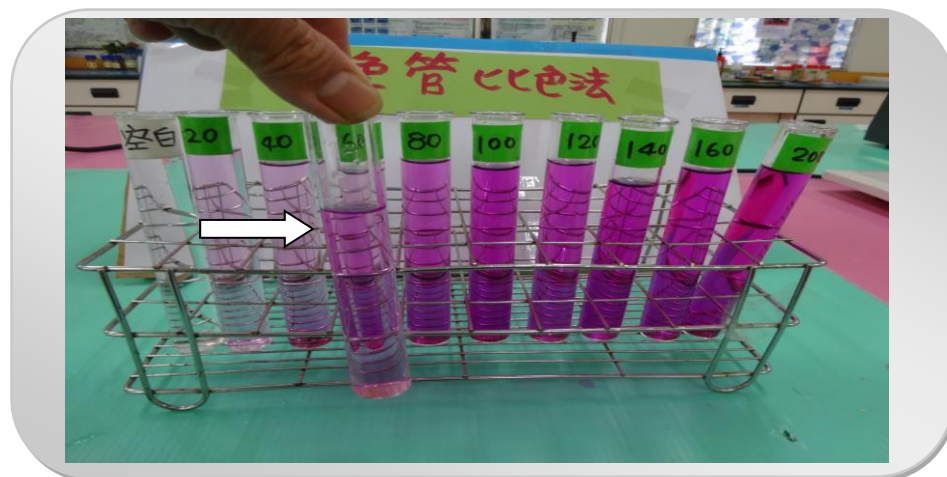
第一種方法：比色管比色法

(一)比色裝置設計：調製 0、20、40、60、80、100、120、140、160、200ppm 等十種階梯濃度的甲醇標準液。圖(8)

(二)實驗結果：取未知濃度檢測液比色，得知其顏色介於 60~80ppm 試管之間。可以概略知道含甲醇量是介於 60~80ppm.之間。圖(9)



↑ 圖 8.比色裝置設計：十種階梯濃度的甲醇標準液(0~200ppm.)



↑ 圖 9.未知濃度以比色管比色測定濃度

第二種方法：分光光度計比色法

一、甲醇標準檢量線製作

(一)實驗記錄：表 3

(二)實驗說明：1.本檢量線是配製甲醇標準溶液，由低濃度至高濃度序列稀釋成 0，20，40，80，120，140 mg/L 六組不同濃度（含空白）之檢

量線備用溶液。

2.依檢量線製備步驟操作，並讀取吸光度，以標準溶液濃

度(ppm.)為 X 軸，吸光度(ABS)為 Y 軸，繪製成檢量線。(圖 10)

表 3.甲醇標準液測定吸光值紀錄

濃度(ppm)	0(空白組)	20	40	80	120	140	
吸光值	1	0.739	0.305	0.336	0.390	0.446	0.468
	2	0.737	0.306	0.334	0.386	0.444	0.475
	3	0.735	0.307	0.332	0.388	0.439	0.470
平均吸光值	0.737	0.306	0.334	0.388	0.443	0.471	

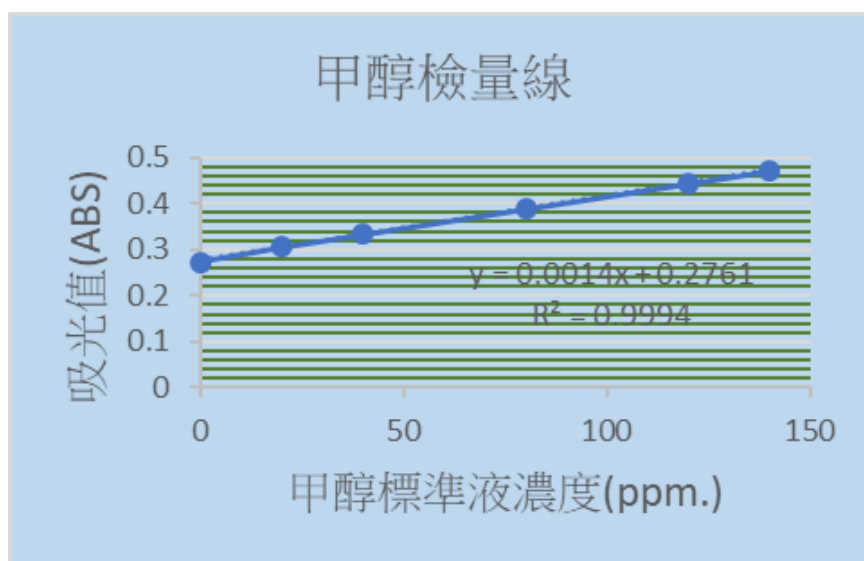


圖 10. 甲醇標準檢量線

二、酒精製品中甲醇之檢測結果：(表 4)

(1)所配製之甲醇標準液加入檢測試劑呈紫色，甲醇含量越多，其呈色反應越深。

(2)由營養午餐剩餘米飯所製得之米酒，經檢測結果均呈無色，亦即不含甲醇，假若有之，其含量亦在 20ppm 以下(依行政院衛生署公告酒類含甲醇不得超過 1000ppm，資料來源：行政院衛生署食品檢驗局網站)。

(3)市售三種蒸餾酒商品(A, B, C)檢測結果：A, C 商品不含甲醇(或低於 20ppm)；

C 商品以分光光度計，測得吸光值為 0.3880，由迴歸方程式

$y=0.0014x+0.2761$ ，計算得 $X=80(\text{ppm})$ ，即含甲醇 80ppm。

表 4：酒精製品中甲醇之檢測結果(甲醇比色標準液濃度範圍 20~200ppm.)

酒精製品	空白組 (蒸餾水)(100ppm)	對照組	市售 米酒 A	市售 米酒 B	市售 米酒 C	34% 自製 米酒	36% 自製 米酒	40% 自製 米酒
呈色反應	無色	紫色	無色	紫色	無色	無色	無色	無色
甲醇含量	無色	紫色	無	80ppm	無	無	無	無

陸、討論

第一部分：米飯釀造米酒

- 一、本實驗，利用發酵法製酒（乙醇）。酵母細胞生長過程中，產生酵素。酵素使反應開始，將蔗糖分解變成較簡單的葡萄糖與果糖。兩者的分子式都是。隨後又有不同的酵素反應，最後變成酒。反應的最後一步是乙醛還原成乙醇。
- 二、酵素使反應在室溫下進行，全程反應中，沒有空氣是很重要的一環。氧氣充足，酵母以醣為營養，迅速繁殖，醇的產量少。缺氧下，少量糖供應酵母繁殖，大部分變成酒精。在缺氧下，反應式發酵反應繼續進行，至乙醇濃度約為 14% 為止。欲提高酒精度，需再蒸餾提高酒精度，第一次蒸餾酒精度最高可達 60%。
- 三、發酵過程米醱糖度與酒精度之變化恰好相反，發酵越完全，糖度越低，酒精度越高。發酵過程中米醱濃度漸漸變稀，透明度漸高，變成清澈透明之茶色，且不再生成二氧化碳氣體時，即表示米醱已發酵完全。
- 四、廚餘米飯以固態酒麴發酵之傳統方法製造酒精，糖化(酒麴中的黴菌將澱粉分解成糖)過程需四天，接著酒化(酒麴中的酵母菌將糖分解成酒精)過程則需約三星期，整個製酒流程需 25 天左右，若是冬天需 30 天左右。
- 五、營養午餐剩下之米飯，宜分開收集，可以免除檢除蔬菜、骨頭或其他雜質的手續，可得到清醇香濃美味的米酒；米飯更要注意不能含有油脂成分，否則發酵不易成功。
- 六、米飯原料加水應適量，加水若太少，澱粉水解不完全，造成出酒率降低，浪費原料；加水若太多，發酵時會造成酒精濃度過低，無法抑制有害細菌（如醋酸菌）的生長，以致造成酒精有異味或帶有酸味，更因為水量的增加，也增加了蒸餾時能源的損耗（陳,民 78）。
- 七、米飯製酒於糖化過程中，澱粉酵素作用時適宜的 pH 值為 4.0~7.0，宜加入約米飯重量的 0.1% 檸檬酸；而加入 1% 蔗糖及 0.1% 活性酵母粉，可促進酵母菌的發酵作用，提高產值(郭,民 81)。

第二部分：米酒中甲醇檢測

- 八、甲醇的性質： CH_3OH 稱為甲醇， $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 稱為乙醇，俗稱酒精；甲醇與乙醇都是醇類，對人身而言卻大不相同，甲醇劇毒，即使蒸氣也高度危險。醇類進入人體，其氧化反應在肝臟內進行。甲醇第一次氧化為甲醛，接著再氧化為甲酸，這一連串產物都有毒，破壞代謝系統；乙醇在人體先氧化成乙醛，毒性為甲醛的 1/60，再氧化成醋酸。人體代謝反應，醋酸是一正常產物，與蛋白質的形成有關。最後醋酸再氧化得二氧化碳和水。
- 九、假酒檢驗過程是先讓甲醇氧化成甲醛，甲醛再與亞硫酸-對玫瑰苯胺鹽酸鹽溶液反應成紫紅色，則證明酒含有甲醇。
- 十、依民國 95 年，行政院衛生署行政院衛署食字第 0950403402 號公告，酒類飲品含甲醇不得超過 1000ppm。(資料來源：行政院衛生署食品檢驗局網站)

柒、結論

假酒事件時有所聞，其危害身體健康之影響不容忽視，本實驗研究的比色管檢驗方法，只要幾根試管和配製好的3%過錳酸鉀溶液，5%草酸溶液及亞硫酸對玫瑰苯胺之顯色溶液；居家隨時都可備用，且操作簡易迅速，一小時內即可檢出結果，只要最後檢測酒樣若成紫色，初步知道含有甲醇。再提示檢驗機關做進一步檢驗確認，對居家食用酒類製品，做為提前警示的作用，對保障飲食安全很有助益。

將剩餘米飯發酵製造成米酒，大大的提升了經濟價值；米飯製得之低濃度酒精之米酒，可提供廚房做為菜餚調理之用，而再蒸餾之高濃度之生質酒精)可作為汽油之替代能源，在石油能源日益減少，燃油價格日益高漲的今日，廚餘米飯再利用，所提升的經濟價值，值得大家重視。

捌、參考資料

- 一、國中自然與生活科技，翰林出版社，民國 107 年 8 月。
- 二、黃得時，2017，高中基礎化學實驗(一)，龍騰出版社。
- 三、陳國誠，微生物-發酵工程學，藝軒出版社，民國 78 年。
- 四、郭俊欽，發酵食品，徐氏出版社，民國 81 年。
- 五、酒類衛生標準修正條文，行政院衛署食字第 0950403402 號，民國 95 年。