

不同濃度之糖蜜對酵母菌生長的影響

Effect of different concentrations of molasses on yeast growth

林沛絲、詹鴻得

元培醫事技術大學 食品科學系

摘要

生質能源是由生物質透過物理、化學或生物技術生產可做為燃料用途的能源，而生物質是指任何動、植物或微生物中所含的有機物質，而本研究利用甘蔗糖蜜作為微生物生長所需的有機物質，利用酵母菌發酵生產生質酒精製成生質能源。實驗探討已經滅菌之不同濃度的糖蜜配製成培養基，接種酵母菌*Saccharomyces cerevisiae*後，觀察酵母菌的生長情形和檢測生質濃度的變化。本實驗設計3組實驗組和1組空白實驗對照(未接種酵母菌)，實驗組包括已滅菌的糖蜜80%(w/v)並加酵母抽出物培養酵母菌，和40%(W/V)糖蜜培養至80%(W/V)糖蜜，和從YMB培養至80%(W/V)糖蜜中，以固定時間取樣10 ml培養液，經離心後以分光光度計在波長540 nm下測定吸光值，試驗結果發現以40%(W/V)糖蜜預培養後，再接種至80%(W/V)糖蜜的實驗組，酵母菌的生長情形最佳。

前言

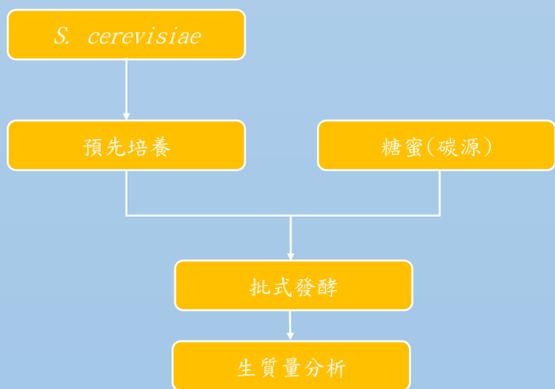
由於生質能源需求提高，在世界人口增長、各種資源日漸缺乏的情況下，「循環利用」的概念會日益受到重視，若將食品工廠廢棄物做為原料，可增加其附加價值並減少廢棄物處理的問題。而酒精可被用作車用替代燃料之一，生質能源依使用原料和程序可以分成第一代和第二代生質燃料，第一代生質燃料是指利用植物的油脂、糖分或澱粉，透過化學或生物化學途徑，轉化為生質柴油或產生生質酒精。第二代生質燃料則利用非糧食料源，以農產廢棄物為原料，生產的纖維酒精，可解決食品廢棄物處理問題。

一般酵母菌在無氧或微氧情況下產生酒精，可以調整轉速及使用通氣設備達到溶氧效果。溫度變化也是影響微生物重要因子，大部分酵母菌可生長範圍為0-40℃，最適生長範圍為25-30℃。溫度隨微生物生長發酵過程逐漸提高，溫度提高反而讓酒精產量下降，必須控制溫度使酵母菌不受高溫影響。

糖蜜是甘蔗或甜菜製成糖加工過程的副產品，糖蜜主要成分有蔗糖(佔32%)、果糖(佔16%)、葡萄糖(佔14%)，主要的發酵糖為蔗糖。以高濃度發酵技術降低本增加生質酒精，觀察以不同濃度糖蜜對酵母菌生長濃度狀況。本實驗使用滅菌糖蜜作為碳源以高濃度批式發酵方式培養*Saccharomyces cerevisiae*使生質酒精觀察酵母菌濃度變化。

材料與方法

- 實驗菌株：**
使用酵母為*Saccharomyces cerevisiae* BCRC 21812，購於食品工業發展研究所生物資源中心。
- 菌種活化：**
勾取在固態培養基上的*S. cerevisiae* BCRC 21812單一菌落培養2天，至經高壓滅菌釜121℃滅菌15分鐘之YM Broth液態培養基，在25℃及100 rpm 下震盪培養。
- 培養液：**
批式發酵培養液，分別取糖蜜40 g、80 g 溶於100 ml 蒸餾水中，經7200 rpm、4℃下離心10分鐘，去除殘渣後倒於三角錐瓶內配置成40%糖蜜(100ml)、80%糖蜜6瓶(100 ml/瓶)，其中兩瓶加入0.5 g的YE(酵母取出物)，及1瓶空白，將糖蜜發酵培養基以121℃、15分鐘滅菌。
- 方法：**
將菌接入培養液內，酵母接菌濃度為 1×10^7 cells/ml，於恆溫震盪培養箱培養，轉速為100 rpm、25℃，固定時間取樣10 ml。
第一組，將已培養好之酵母菌接至40%糖蜜中培養24 hr，取樣10ml至80%糖蜜培養24 hr、42 hr、72 hr後，取樣10 ml分析酵母菌生質量，試驗流程如圖一所示。
第二、三組，將已培養好之酵母菌接至YMB培養液培養24 hr，分別取樣10ml至80%糖蜜、80%糖蜜含酵母抽出物，各培養24 hr、42 hr、72 hr，取樣10 ml分析酵母菌生質量。
5. **酵母菌生質量濃度測定：**
將定時取樣發酵液，在7200 rpm、4℃下離心10分鐘，取上清液在在以分光光度計，波長540 nm 下測定吸光值濃度。



圖一：實驗流程圖

實驗結果

由表一培養液的吸光值測定結果顯示，空白對照組無效菌體生長，吸光值為0，三組實驗組皆有酵母菌生長的現象，吸光值隨觀察培養時間有增加的趨勢。表二中第一組實驗組所測到的平均吸光值高於第二和第三組，此結果顯示酵母菌預先培養於較低濃度的糖蜜培養基，在接種至高濃度的糖蜜培養基，有利於酵母菌在發酵培養基的生長及提高酵母菌的生質量。

表一、利用滅菌糖蜜進行批式發酵培養*S. cerevisiae*之酵母菌量，樣品使用分光光度計以波長540 nm測定結果

時間	組別	空白實驗		第一組		第二組		第三組	
		0	0	0.426	0.456	0.311	0.077	0.298	0.411
24hr		0	0	0.426	0.456	0.311	0.077	0.298	0.411
48hr		0	0	0.389	0.641	0.222	0.336	0.439	0.563
72hr		0	0	0.699	0.310	0.413	0.49	0.563	0.333

顯示的數據為波長540 nm下所測定的吸光值，每組實驗皆為二重覆。

空白實驗只有糖蜜未接種酵母菌

第一組：從40%(w/v)糖蜜中培養酵母菌後接至80%(w/v)糖蜜中培養

第二組：糖蜜80%(w/v)添加酵母抽出物培養酵母菌

第三組：糖蜜80%(w/v)培養酵母菌

表二、利用滅菌糖蜜進行批式發酵培養*S. cerevisiae*之酵母菌量，樣品使用分光光度計以波長540 nm測定之二重覆平均結果

時間	組別	空白實驗	第一組	第二組	第三組
24hr		0	0.441	0.204	0.355
48hr		0	0.515	0.279	0.501
72hr		0	0.505	0.501	0.423

顯示的數據為波長540 nm下所測定的吸光值。

空白實驗只有糖蜜未接種酵母菌

第一組：從40%(w/v)糖蜜中培養酵母菌後接至80%(w/v)糖蜜中培養

第二組：糖蜜80%(w/v)添加酵母抽出物培養酵母菌

第三組：糖蜜80%(w/v)培養酵母菌



圖二：為利用滅菌糖蜜進行批式發酵培養*Saccharomyces cerevisiae*之酵母菌量，使用分光光度計以波長540nm測定二重覆平均之結果。

空白實驗只有糖蜜未接種酵母菌

第一組：從40%(w/v)糖蜜中培養酵母菌後接至80%(w/v)糖蜜中培養

第二組：糖蜜80%(w/v)添加酵母抽出物培養酵母菌

第三組：糖蜜80%(w/v)培養酵母菌

由圖二可知，除了空白對照組之外，酵母菌生質量在糖蜜培養液中均有增加，第一組和第二組實驗組微生物生質量隨著培養時間而增加，在培養48-72 小時後吸光值達到最高，而第三組中微生物的生質量在培養48小時後達到最高，但在培養72小時後吸光值顯著下降，此結果顯示未添加酵母抽出物的培養基，在高濃度的糖蜜培養基批式培養，培養後期可能造成酵母菌的生長受到限制。

結論

在實驗結果中可得知，預先在40%(w/v)糖蜜中培養酵母菌，再接種至80%(w/v)糖蜜培養基的實驗組，酵母菌的生質量濃度較另外兩組實驗組高，而培養於80%(w/v)糖蜜添加酵母抽出物培養基，酵母菌生質量又高於未添加酵母抽出物的實驗組。酵母菌培養於高濃度的糖蜜培養基，容易產生培養基基質抑制微生物生長的現象，如將酵母菌預培養於較低濃度糖蜜培養基，再接種至高濃度糖蜜培養基，有利於酵母菌在高濃度有機碳源的環境下生長，進而有助於酵母菌將高濃度糖蜜發酵生成生質酒精。