

中華民國第四十六屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組 生物及地球科學科
最佳團隊合作獎

031716

酵母國度的產氣之道

學校名稱： 高雄市立五福國民中學

作者：	指導老師：
國二 楊曜彰	許峰銘
國二 吳冠融	陳冠廷
國二 鄭丞舜	
國二 陳璽元	

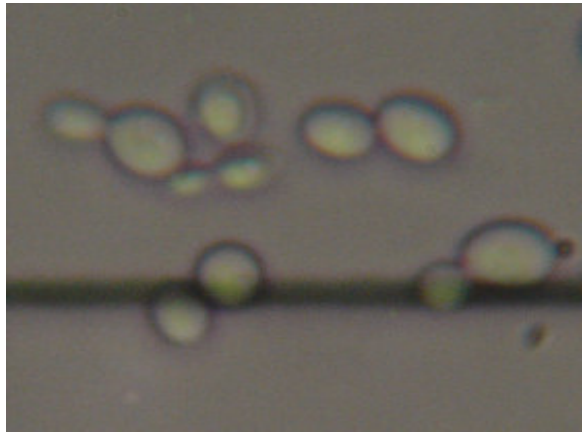
關 鍵 詞：酵母菌、產氣速率、葡萄糖

摘 要

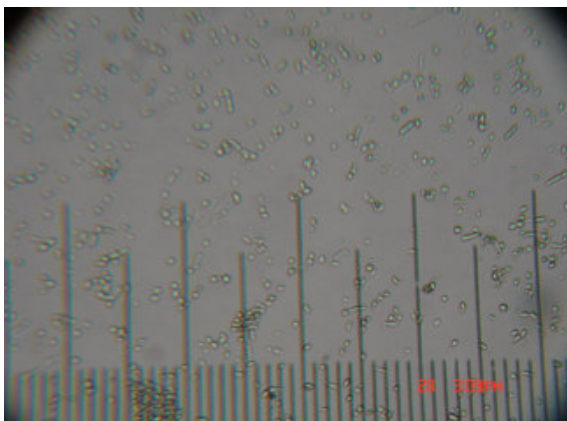
本研究的目的是在於發展一套偵測酵母菌產氣速率的新方法，藉由魚缸恆溫槽、攪拌器與吸量管的組合，除了能在數分鐘內測出產氣速率外，更克服了舊設計產氣速率測量不穩定的缺點。與糖度、酸鹼度、酵母菌數比較，此法對酵母菌活動力偵測有更高敏銳度。在實驗變因上：糖種類、糖濃度、酵母菌重都會對產氣速率造成影響。添加酒精、硝酸銨與亞鈷、亞鎳、銅、鋅離子會終止或減緩產氣，少量 NaOH 則會加快產氣。應用在環境偵測上，也證明了磁場與 CRT 螢幕的輻射對酵母菌產氣影響不大。在酵母菌型態上：產氣初期是以能快速增加個體的出芽無性生殖為主，產氣高峰過後因環境惡化(pH 值最低)，可以看見長尾巴，預備進行接合有性生殖的酵母菌在顯微鏡下出現。



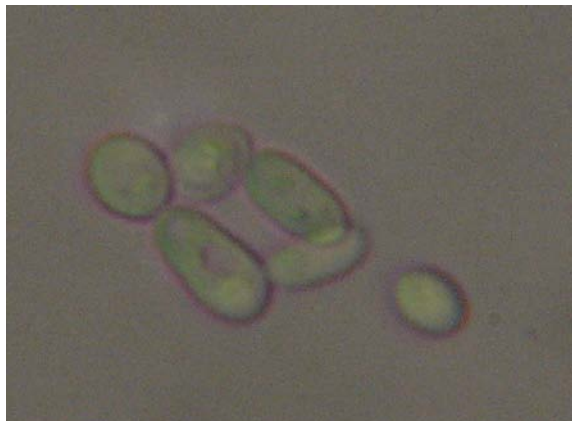
產氣中的酵母菌(格寬 50 微米)



出芽生殖



果糖中的酵母菌(每小格寬 10 微米)



長尾巴的酵母菌

壹. 研究動機：

國一自然課本中，酵母菌的出芽生殖，是無性生殖的必備範例。在許多的食品、健康節目、國內外的微生物研究中，也都可以看到酵母菌的蹤影。實際上，酵母菌在發麵的過程中，也有其舉足輕重的地位。1996 年 4 月第一個真核生物 *Saccharomyces cerevisiae*(酵母菌的一種)，16 條染色體完整的基因序列被研究發表出來(Dujon,1996)，使得在現今遺傳系統的研究與 DNA 轉型技術發展上，酵母菌被用來作為模式系統，來研究真核生物的細胞功能。在醫學方面，酵母菌在身體內累積過多也容易造成腸胃方面的疾病。人類大約在 6000 年前就開始將酵母菌應用至食品工業，但是研究酵母菌產氣速率的變化與形態改變的報告，卻不易找到，我們希望可以藉由此次實驗對酵母菌有更深一層的認識，同時也發展出一種新的產氣速率測量方法，能提供基因生物學家在研究酵母菌某段基因功能時，產氣性狀表現的測量參考。

貳. 研究目的：

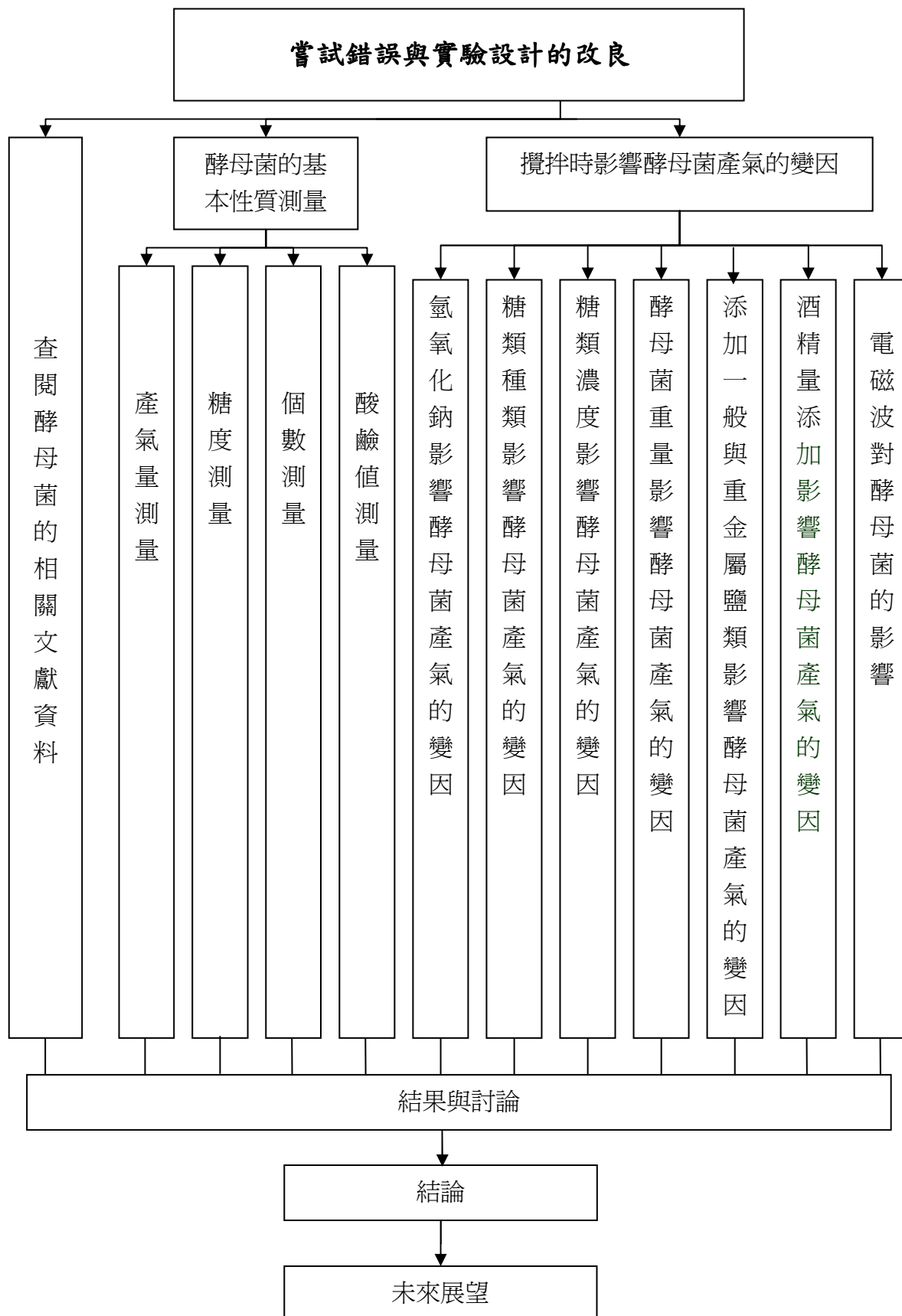
- 一、自行設計實驗裝置，控制各可能影響酵母菌發酵產氣變因，改良原發酵管測量酵母菌產氣量的設計，使能更準確的測量數分鐘內的產氣速率變化，以便能藉由產氣速率的測量結果，了解此發酵生化反應的機制。
- 二、不同葡萄糖溶液的濃度，對酵母菌產氣速率的影響。
- 三、不同酵母粉的重量，對酵母菌產氣速率的影響。
- 四、試管中葡萄糖溶液的高度，對酵母菌產氣速率的影響。
- 五、加入固定莫耳數的鹽類溶液，測量其對酵母菌產氣速率的影響。
- 六、裝置放於磁場與電腦 CRT 螢幕前，實驗這兩者因素對酵母菌產氣速率的影響。
- 七、以相機與顯微鏡拍攝酵母菌產氣時的活動與繁殖情形，與產氣速率結果比較其現象異同。

參. 研究設備和器材：

NO	研究設備.器材	NO	研究設備.器材	NO	藥品
1	針筒	13	顯微鏡	1	硫酸鈷
2	恆溫槽	14	載玻片	2	硫酸銅
3	水槽	15	橡皮塞	3	硫酸鎳
4	電子溫度計	16	碼表	4	硫酸鋅
5	攪拌子	17	糖度計	5	硫酸鐵
6	攪拌器	18	量筒	6	丙酮
7	試管	19	量瓶	7	酵母粉
8	吸量管 (2ml)	20	超音波震動器	8	葡萄糖
9	微量天平	21	鑷子		
10	蓋玻片	22	刮杓		
11	顯微鏡	23	濾紙		

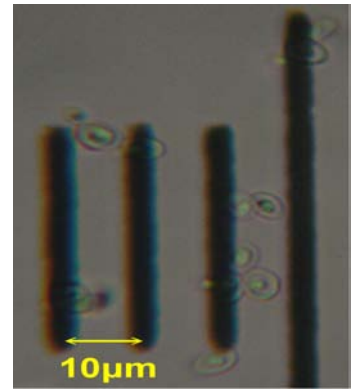
肆、研究方法與過程：

一、研究架構：

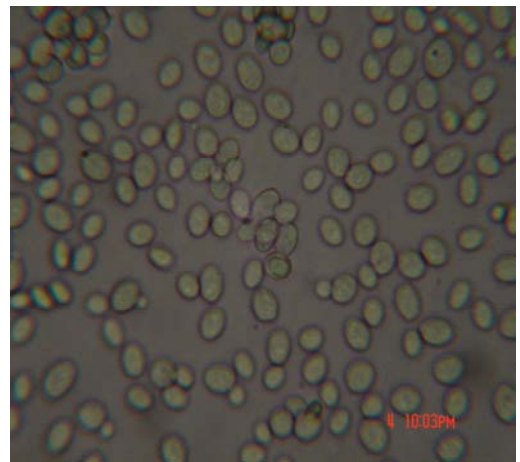


二、研究對象：

酵母菌是一群圓形或橢圓形單細胞生物，具有一個明顯的細胞核及大型的液泡（自行拍攝的照片，如右圖），在分類上是屬於菌物界。它們細胞的大小（直徑）約比細菌大十倍，大多以「出芽」的方式來繁殖；但也有少數的酵母菌是以細胞均等分裂為二的方式繁殖。由於不具有葉綠素，所以不能行光合作用，而必須自周遭環境中攝取有機物質來進行其生理代謝。



目前人類應用最廣且瞭解最清楚的酵母菌，是「釀酒酵母」(*Saccharomyces cerevisiae*) (高濃度的酵母菌群，如右圖)，也有人將之稱為「麵包酵母」，這是因為此菌種被廣泛地應用於釀酒及烘焙發酵麵製品之故。它有二套代謝醣類的本領：「有氧代謝」與「無氧代謝」。當在有氧的環境下生長時，酵母菌可利用氧氣進行**呼吸作用**，將糖轉化成大量能量及二氧化碳，以快速進行細胞的生長與繁殖。而在無氧的環境下，則利用**發酵作用**將醣類轉化成酒精與二氧化碳，同時可釋放出較少的能量以進行必須的基本代謝作用。



本實驗使用的酵母菌材料為**活性乾酵母**，使用前要復水。在糖水中加入活性乾酵母，使酵母菌進行無氧發酵，反應如下：



本研究即是以此反應為主軸，探討酵母菌進行發酵作用時，在各種不同變因下的產氣速率的變化程度與形態改變。



圖一：活性乾酵母復水開始產氣

三、實驗設計的改良過程：

- (一) 將葡萄糖水溶液滴入活性乾酵母中，觀察其產氣狀況。少量糖水就會使活性乾酵母復水，開始產氣，冒出泡狀粉膏（如圖一）。

(二) 實驗設計一：

使用針筒吸取酵母菌加葡萄糖水溶液，並將針頭插入橡皮塞，達到密閉狀態，放入恆溫槽，反應產生的二氧化碳氣體將針筒的塞子往外推，藉此測量二氧化碳產氣量。（如圖二）。



圖二：針筒產氣設計

1.步驟：測試裝置可行性

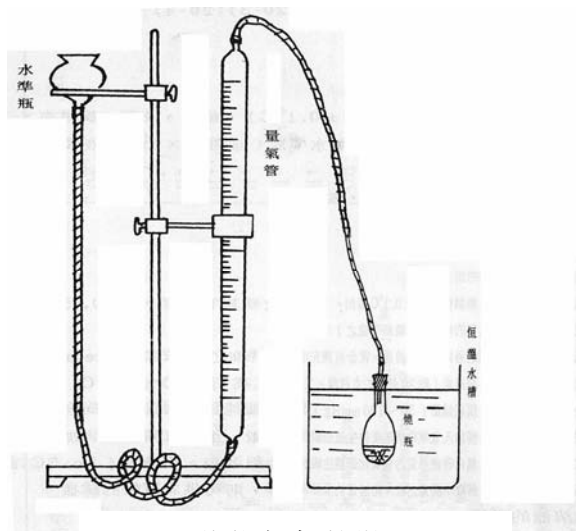
- (1) 分別以 1M、0.8M、0.5M、0.1M，50.C.C 的葡萄糖溶液加入 0.1 克的酵母菌，並充分攪拌。
- (2) 每種濃度的溶液各以五支針筒吸取 0.3 ml，插入橡皮塞後至於恆溫槽中控制溫度，相隔一定時間（每節下課）紀錄針筒塞子上升的刻度。

2.結果分析：

由於針筒與塞子間會有摩擦力（每支針筒不同），導致內部壓力過大，降低氣體產生速率，因此未能真正顯示出二氧化碳產氣量，數據並不平穩，實驗再現性不佳，相同控制變因的針筒差異過大。

（三）實驗設計二：

爲了除去針筒摩擦力的影響，我們由學校圖書館「普通化學實驗」一書中找到收集氧氣的裝置（如圖三與圖四），須注意測量時，管內的水滴柱須處於平衡等高狀態。



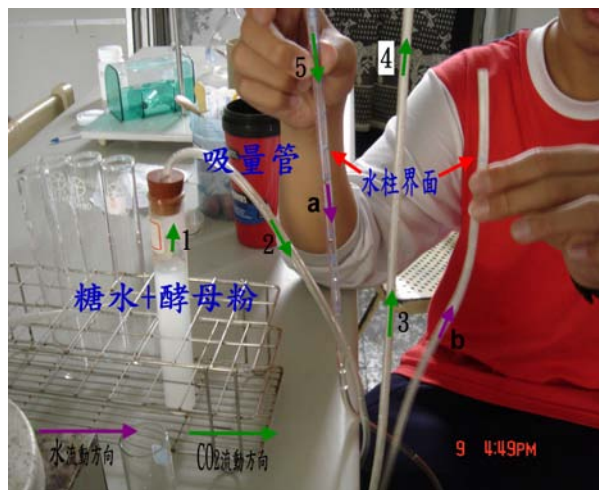
圖三：收集氧氣的裝置

1.步驟：測試裝置可行性

- (1) 以 1M，50.C.C 的葡萄糖水溶液加入 0.1 克的酵母菌，並充分攪拌，倒入試管中。
- (2) 當裝置中的水柱界面處於平衡狀態後，將溶液倒入裝置中，觀察吸量管水滴柱液面的下降情形。

2. 結果與討論

- (1) 當實驗開始後，發現水滴柱並沒有下降而是上下晃動，但是試管內能觀察到有氣泡產生，推測應是裝置本身爲排水集氣法，當反應剛開始時，產生的二氧化碳，會因爲裝置裡的水太多而溶解於水裡，所以需要較長的時間才能觀察，使反應產氣不明顯。



圖四：實驗設計二

- (2) 此實驗由於裝置太長，極佔空間且無法於魚缸恆溫槽內進行實驗，因此溫度的變因無法控制（吸量管與試管溫度相差大）。

（四）實驗設計三：

爲了消除二氧化碳在反應時所受到的溶解等其他因素，以免影響實驗結果，因此要縮短與減少裝置的長度與水量，自行設計了試管上裝設了吸量管的新的實

驗裝置(如圖五)。以與實驗設計二相同溶液進行測試，經過以下小改良終於得到再現性高且穩定的產氣率。

- 1.實驗設計 3-1：單純試管加吸量管。(如圖五-1)：產氣量起伏大。
- 2.實驗設計 3-2：設計 3-1 加磁性攪拌器與攪拌子(如圖五-2)，產氣量起伏略為改善，但易受早晚溫差大影響。



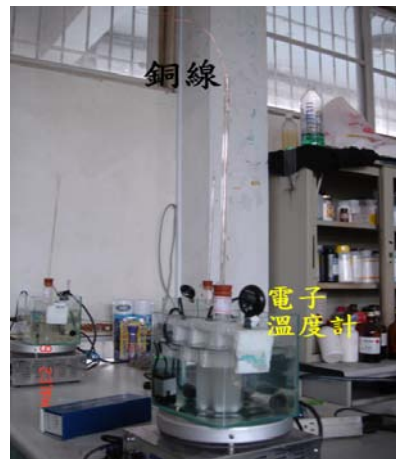
圖五-1：實驗設計 3-1



圖五-2：實驗設計 3-2



圖五-3：實驗設計 3-3

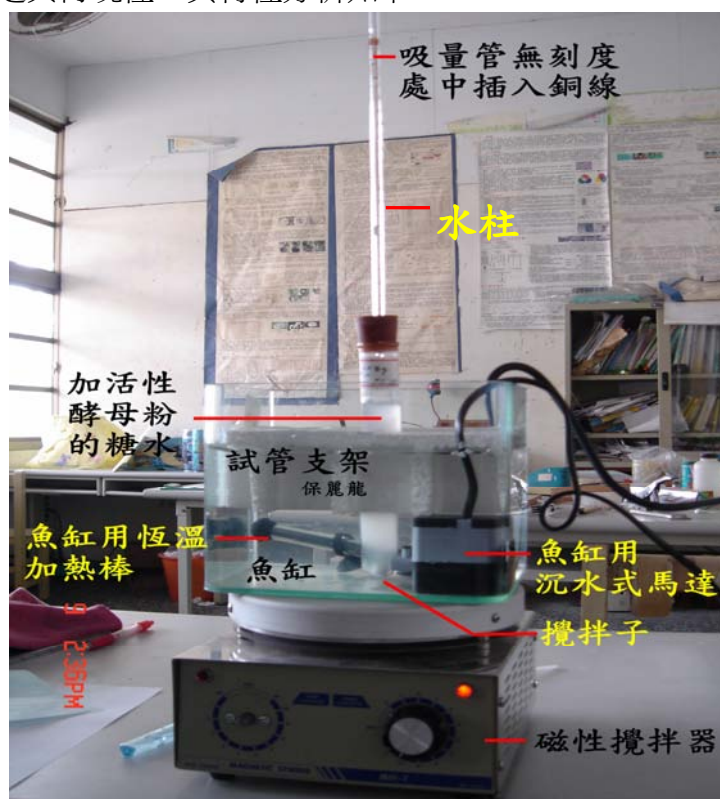


圖五-4：實驗設計 3-4

圖五：實驗設計三的小改良

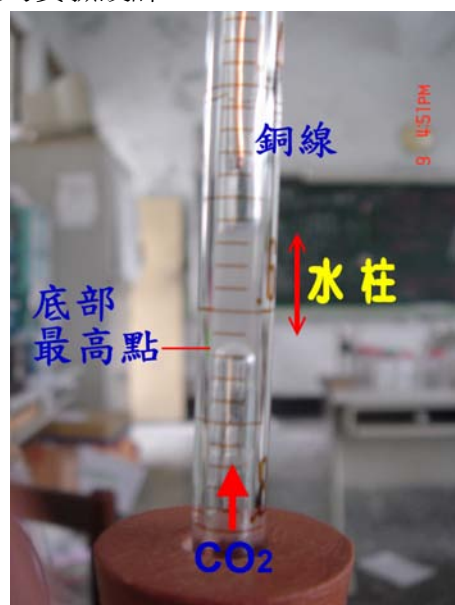
- 3.實驗設計 3-3：設計 3-2 加魚缸用恆溫加熱棒與沉水式馬達。維持水槽溫度 (如圖五-3)，產氣量起伏改善極多，但每次測量須重裝水柱，拔出(塞入)橡皮塞後，產氣量一段時間後才穩定，不能馬上測量。(預判是和空氣接觸會影響產氣)。
- 4.實驗設計 3-4：設計 3-2 加銅線，使水柱能自動來回上下，減少接觸空氣機會(如圖五-4)(可見展示的錄影過程)。此實驗裝置測量的短時間產氣量變化最穩定，再現性高，故以此裝置來進行以下的實驗。

(五) 最終改良後結果：爲了避免酵母菌在無氧代謝產生二氧化碳時，受到其他因素影響，進而影響到我們觀察的實驗結果，在二個月的摸索改進實驗裝置後，自行設計新的測排氣實驗裝置（如圖六），可明顯顯示產氣的結果，且加強了產氣速率的穩定與再現性。其特性分析如下：



圖六：最終改良後的實驗設計

1. 磁性攪拌器與攪拌子：維持試管內溫度、酵母菌與糖水濃度均勻。
2. 魚缸用恆溫加熱棒與沉水式馬達：維持水槽溫度爲 32~33°C。
3. 水柱、吸量管與銅線：利用水柱的上升高度差，配合碼表，測量數分鐘內的產氣速率變化。利用水柱上升遇銅線，水內聚力被破壞，水柱變水流流下，快速地在下方另一細處重新形成水柱，儘可能維持試管密閉性，控制酵母菌無氧代謝，與進行反覆多次的實驗測量。



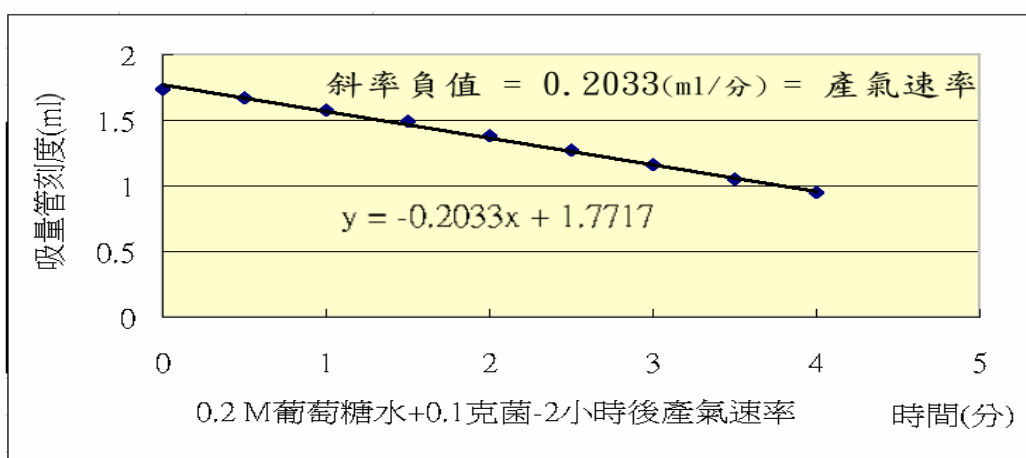
圖七：水柱底部凸起在吸量管上的刻度

四、實驗步驟：以不同葡萄糖溶液的濃度，對酵母菌產氣速率的影響爲例。

- (一) 將 1M, 50.C.C 的葡萄糖水溶液倒入試管中，加入 0.1 克的活性乾酵母，並以洗眼鏡用的超音波洗淨器，將試管中粉末震碎分散 5 分鐘，使成均勻溶液。
- (二) 試管口插上事先設計好的測量用吸量管裝置。

- (三) 放入魚缸恆溫槽中控制溫度，並以攪拌子攪拌使糖濃度與酵母菌持續均勻分布於溶液中。
- (四) 以碼表定時，記錄實驗開始時間與計算在測量水柱上升時的發酵時間差。
- (五) 每 30 秒記錄一次水柱底部向上凸起最高點（見圖七）在吸量管上的刻度，填入如下的表格中（圖八）。產氣速率為以吸量管上的刻度（氣體體積增加量）為 y 軸，測量時間為 x 軸作圖之斜率值。

配置時間 1月25日 9點55分配製 <1M50C.C +0.07克酵母粉>		加藥種類 =	溫度 ℃	測量時間(分)											
日期	測量時間	加藥時間		0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5	產氣速率
1月25日	10點12	無	33.1度												



圖八：實驗記錄表格與產氣速率計算作圖

- (六) 不同變因實驗，除操縱變因改變外，均以這種方法測量。
- (七) 以顯微鏡觀察酵母菌的形態變化。



顯微鏡觀察酵母菌拍照



市售酵母粉（*Saccharomyces cerevisiae*）

伍、研究結果：

一、分別以糖度計、酸鹼度計、自行設計新的測排氣實驗裝置與顯微鏡拍照算菌數，測量酵母菌的活動狀態，以不同的四個角度觀察、比較實驗結果，驗證排氣實驗裝置的可行性。

(一) 糖度計 (如右圖) 測量因發酵作用而減少的糖度變化量：



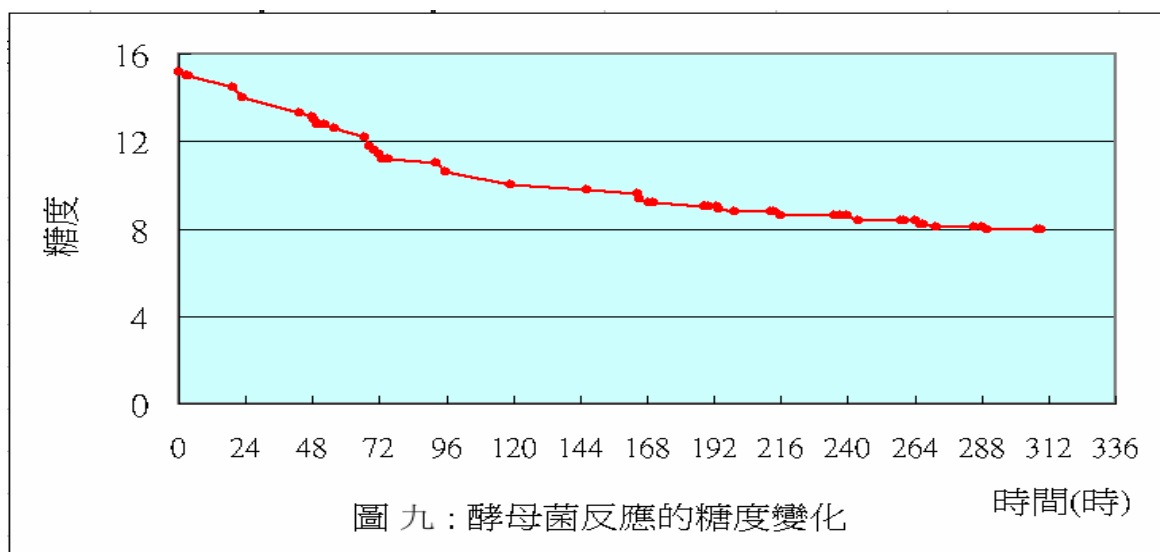
1. 控制變因：

溫度	33°C	裝置	自行設計的 排氣實驗裝置	葡萄糖溶液體積	50 ml
酵母粉重	0.1g			葡萄糖溶液濃度	1 M

2. 每日平均糖度：

日數	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
每日平均糖度值	15.1	14.3	12.9	11.6	10.8	10.0	9.8	9.4	9.0	8.7	8.6	8.3	8.1	8.0

3. 每小時糖度變化趨勢：



4. 分析：隨著酵母菌的發酵作用開始，糖度逐漸減少，但到糖度 8 時，數值僅呈現極緩慢的下降，最後趨向水平。

(二) 酸鹼度計測量因發酵作用而產生的酸鹼度變化：

1. 控制變因：

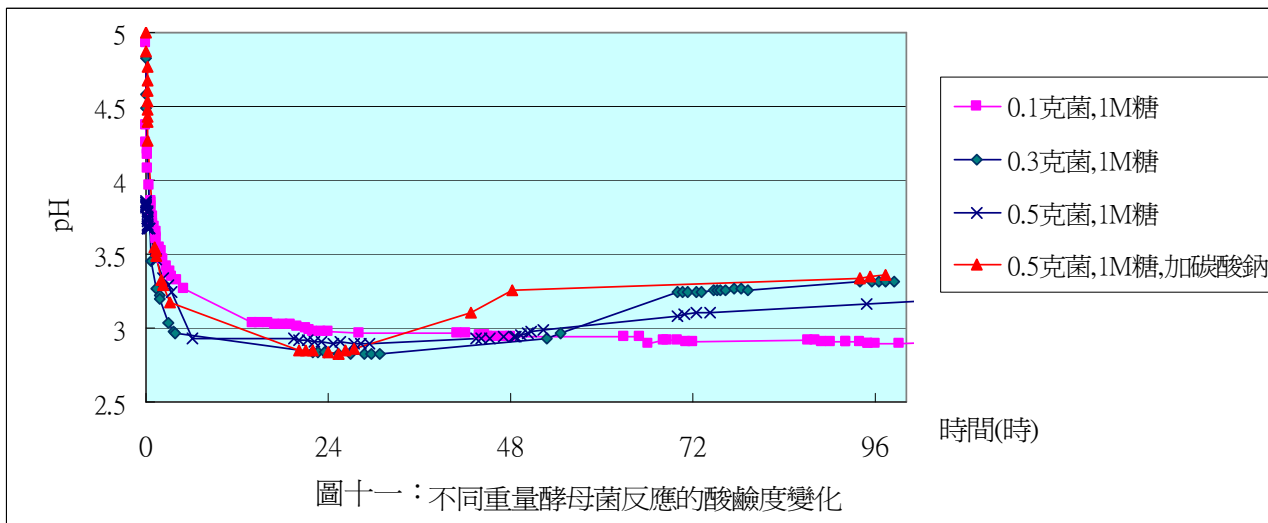
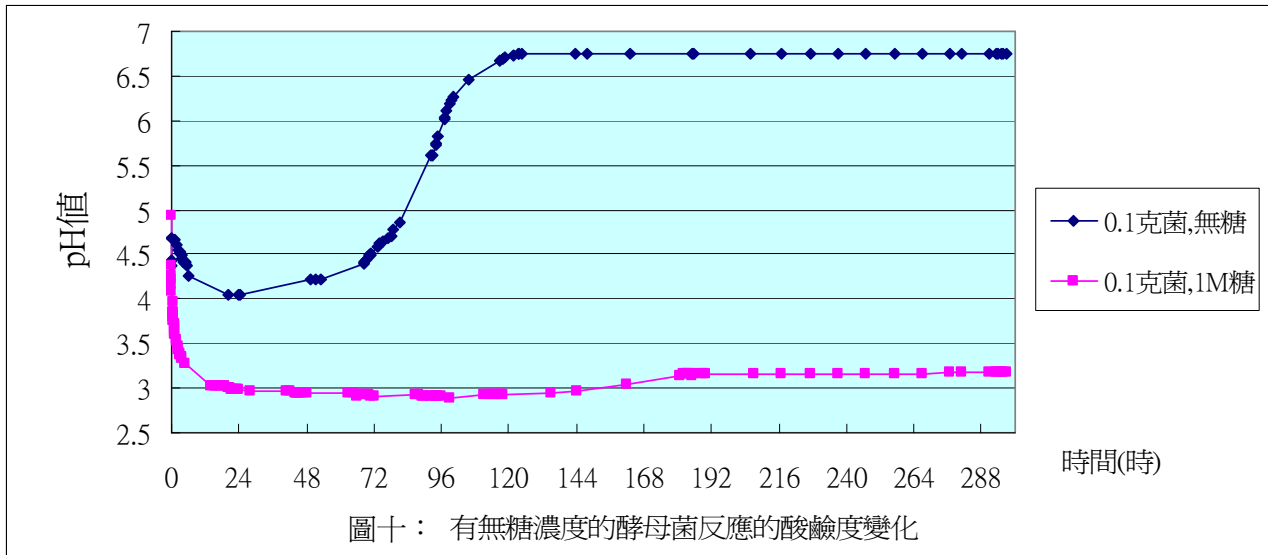
溫度	33°C	裝置	自行設計的 排氣實驗裝置
葡萄糖溶液體積		50 ml	



2.每日酸鹼度(pH 值)平均：以 0.1 克酵母菌+1M 葡萄糖水 50ml 為例。

日數	反應前	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
每日酸鹼度 平均值	4.93	3.77	3.00	2.95	2.92	2.91	2.92	2.96	3.04	3.15	3.16	3.17

3.每小時酸鹼度變化趨勢：



3.分析：無糖酵母菌溶液 pH 值，在 2 天後開始急速爬升至接近中性，有糖的酵母菌則會持續十數天 2.8~3.5 間的酸性環境。

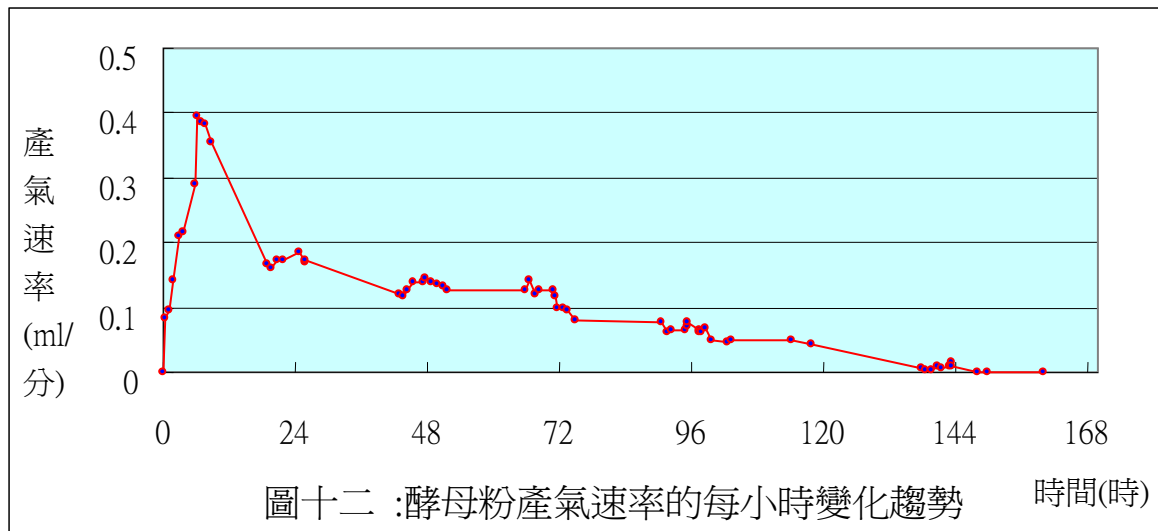
(三) 自行設計新的測排氣實驗裝置測量因發酵作用而產生的產氣速率變化：

1.控制變因：同糖度計實驗

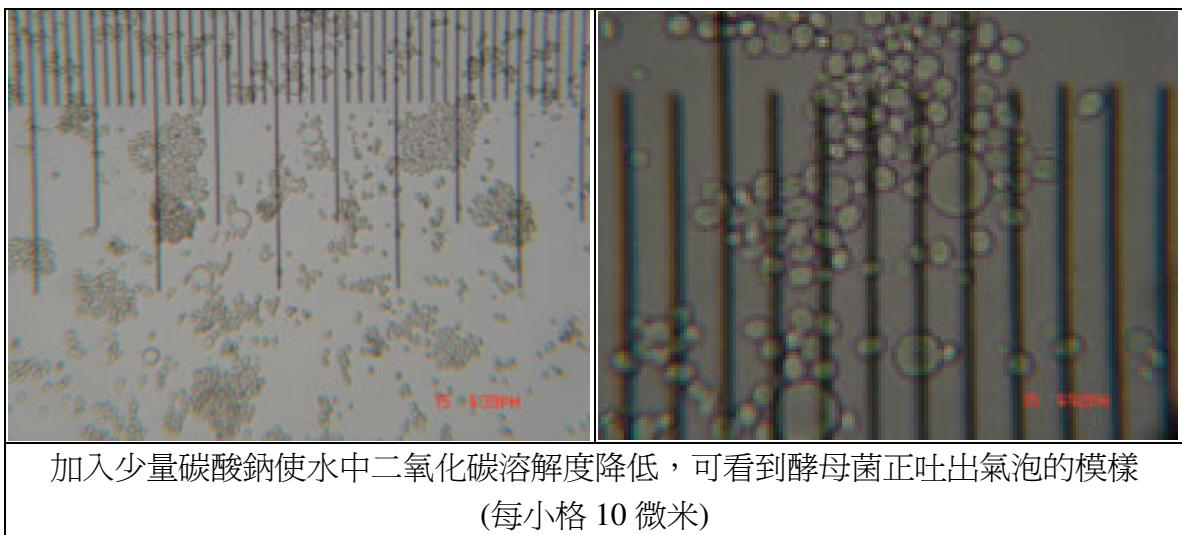
2.每日平均產氣速率：

日數	1	2	3	4	5	6	7
每日產氣速率 平均值(ml/分)	0.2116	0.1459	0.1264	0.0769	0.0548	0.0075	0.0000

3.每小時產氣速率變化趨勢：



4.分析：在剛開始發酵的 7 個小時內，產氣速率向上急升，過了高峰後，又快速下降，一天以後，下降趨緩，直到第七天，才幾乎不產氣。

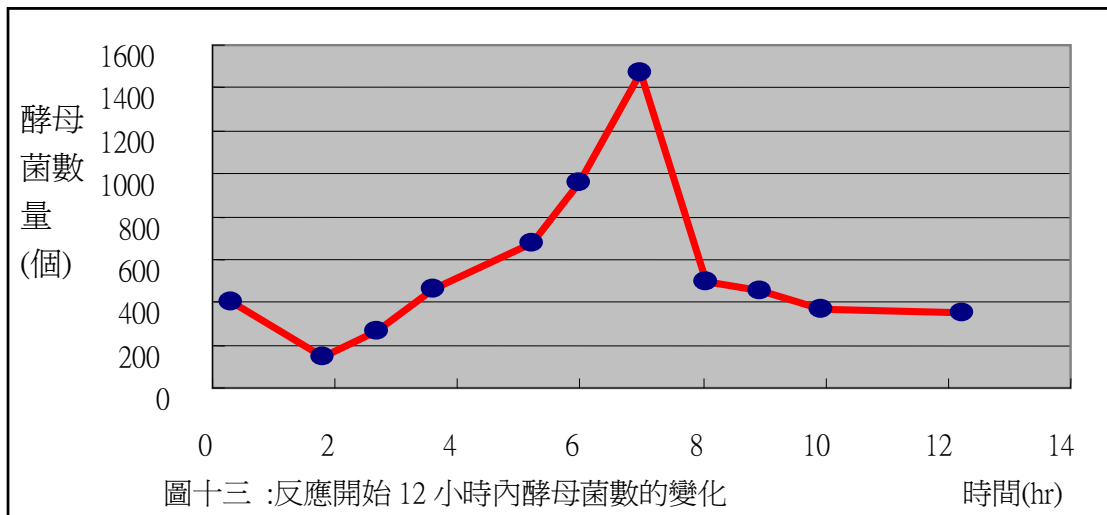


(四) 以顯微鏡搭配數位相機作固定視野大小拍照，計算酵母菌隨時間的數量變化：

1.控制變因：同糖度計實驗，(數位相機：500 百萬像素，ZOOM=3)

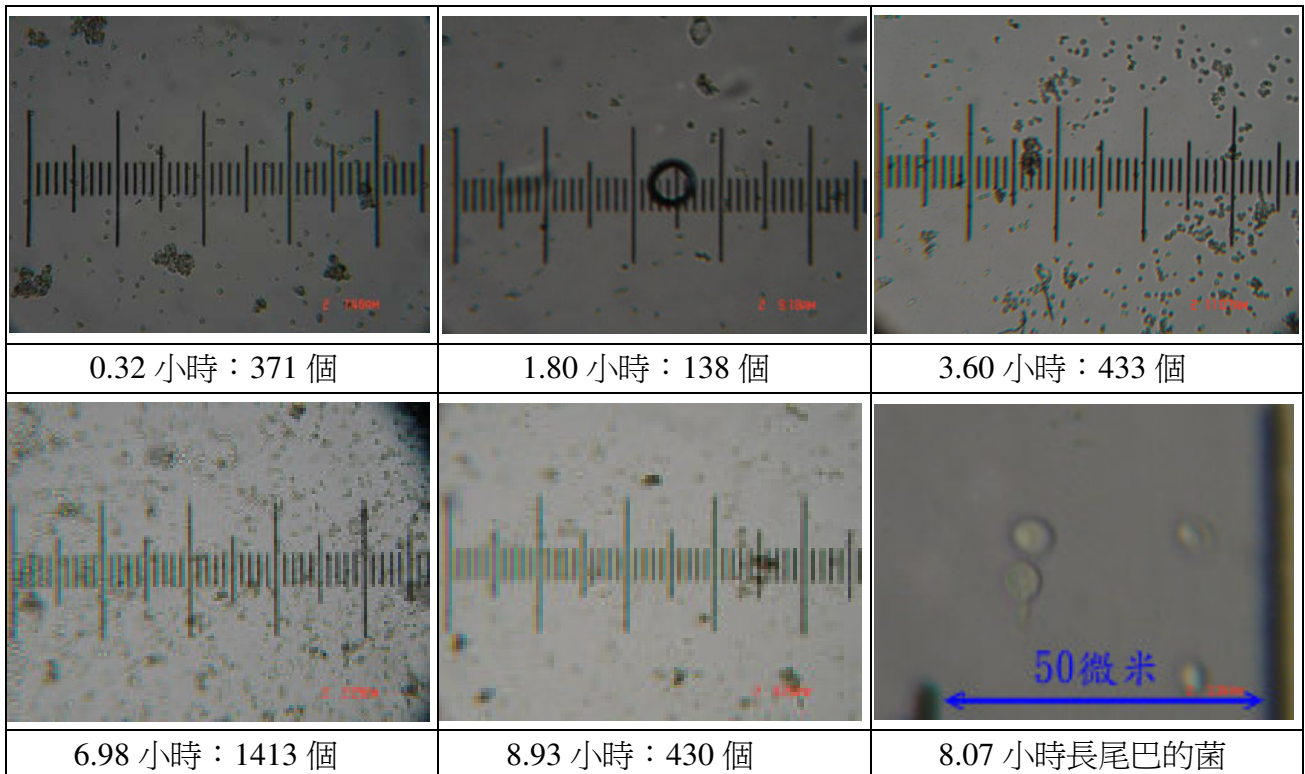
2.每小時平均酵母菌數變化：

相片時間(hr)	7.82	9.30	10.17	11.10	12.70	13.50	14.48	15.55	16.43	17.43	19.75
距開始反應時間(hr)	0.32	1.80	2.67	3.60	5.20	6.00	6.98	8.05	8.93	9.93	12.25
酵母菌數	371	138	235	433	593	978	1413	448	430	354	345
	451	152	252	452	685	1052	1352	498	450	365	335
	385	145	298	498	746	854	1654	547	487	387	375
酵母菌數平均(個)	402.3	145.0	261.7	461.0	674.7	961.3	1473.0	497.7	455.7	368.7	351.7



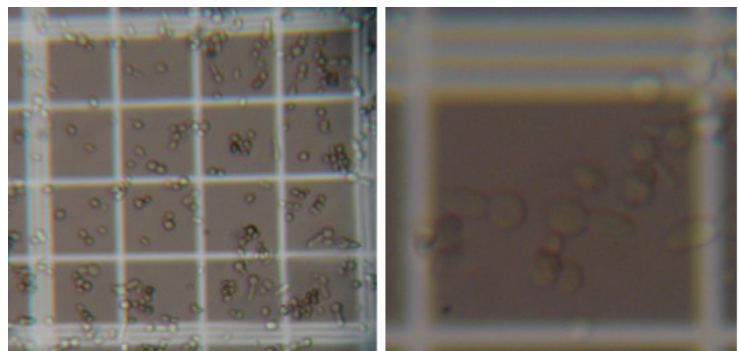
3.分析：剛開始發酵時酵母粉末完全分散，2~7 個小時內，酵母菌數量逐漸增加至最多，而後始下降。

4.實際影像：每次拍照以測微尺刻度固定畫面寬約為 0.45mm(每小格 10 微米)



5.分析：發酵開始時酵母粉末完全分散，2~7 個小時內，酵母菌數量逐漸增加至最多，而後才下降。

6.新進度：在市展教授建議下，正以血球計數器重作這部份實驗，已獲部份影像如右圖（每小格邊長為 0.05mm，將於展示會上呈現成果）。

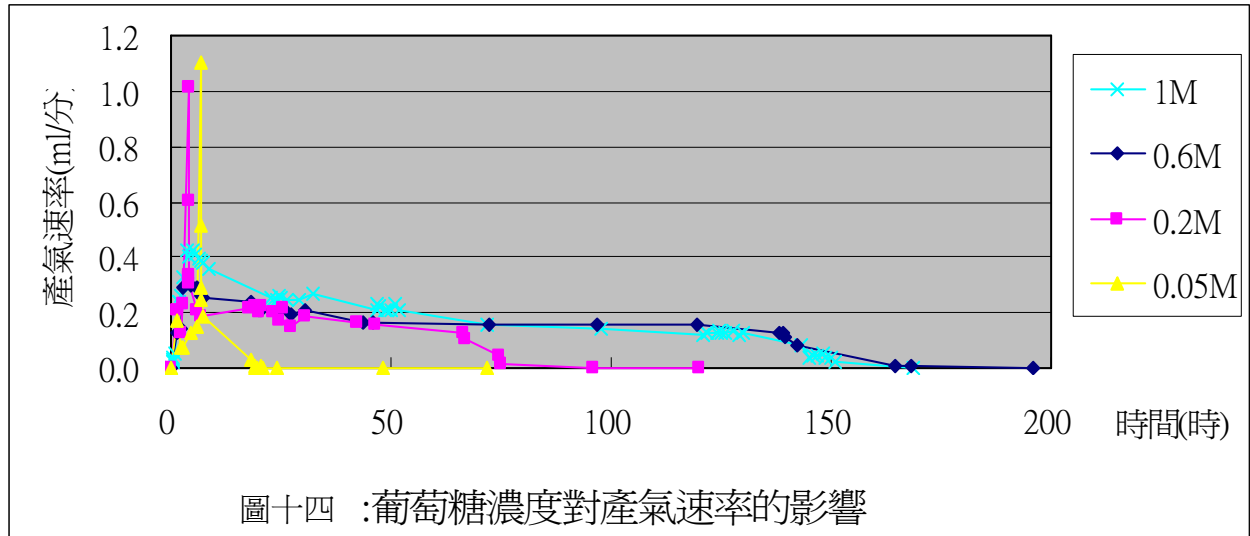


二、使用產氣實驗裝置，實驗不同濃度的葡萄糖液，對酵母菌產氣速率與形態的影響：

(一) 控制變因：

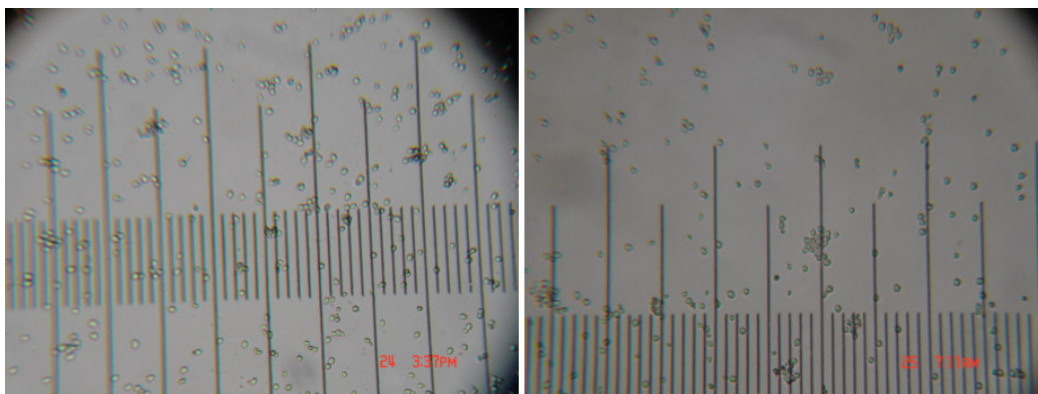
溫度	33℃	葡萄糖溶液體積	50ml
酵母粉重	0.1g	裝置	如圖

(二) 操縱變因：不同濃度（1M、0.6M、0.2M、0.05M）的葡萄糖溶液



(三) 不同濃度的葡萄糖液中的酵母菌形態：（每小格 10 微米）

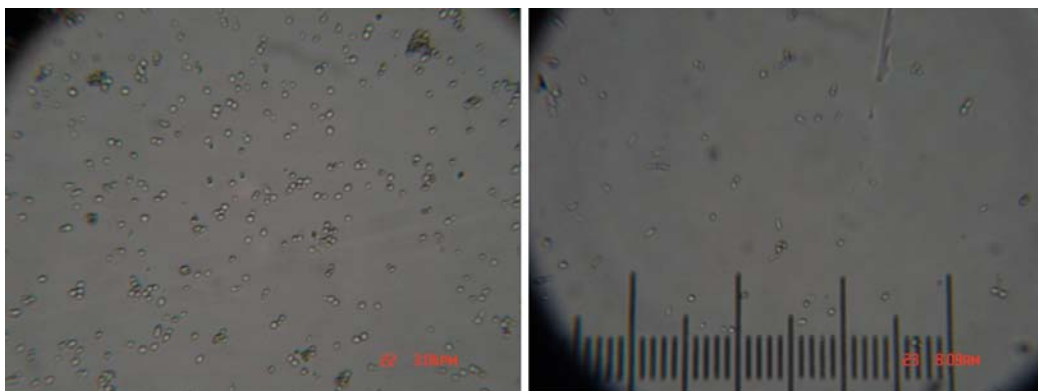
1. 0.05M 葡萄糖溶液 + 0.1 克酵母粉：



2 小時後

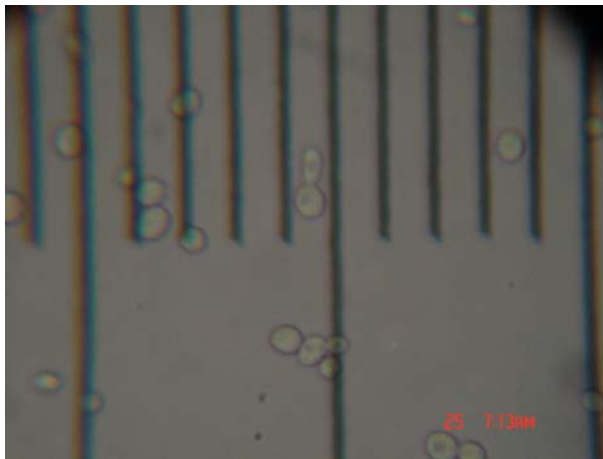
18 小時後

2. 1M 葡萄糖溶液 + 0.1 克酵母粉：

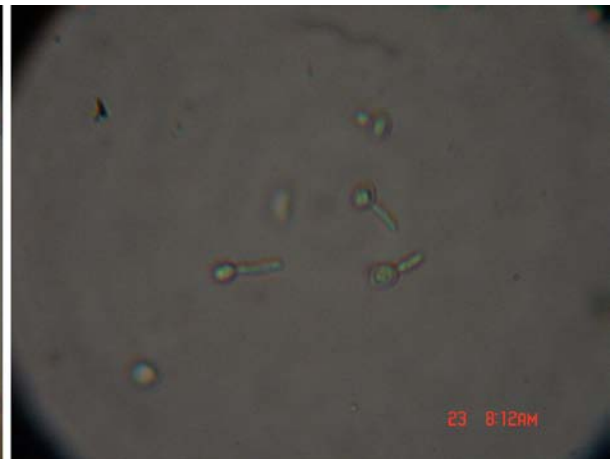


4 小時後

18 小時後



0.05M 葡萄糖溶液，18 小時後



1 M 葡萄糖溶液，18 小時後

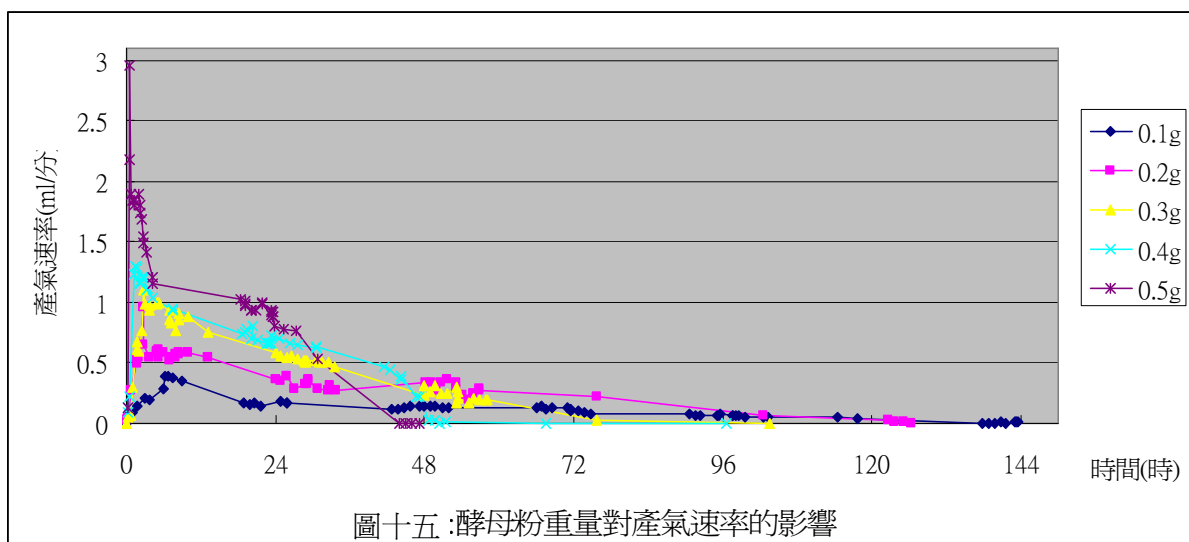
(四) 分析：酵母菌產氣初期，0.05M 溶液酵母菌產氣速率衝的最高，1M 溶液酵母菌則相對最低。產氣後期各濃度產氣速率皆達到緩慢下降後，1M 濃度的溶液則能維持最久，表示糖水濃度高者較濃度低者持久

三、使用產氣實驗裝置，實驗不同酵母粉的重量，對酵母菌產氣速率與形態的影響：

(一) 控制變因：

溫度	33°C	葡萄糖溶液體積	50ml
葡萄糖溶液濃度	1.0 M	裝置	如圖

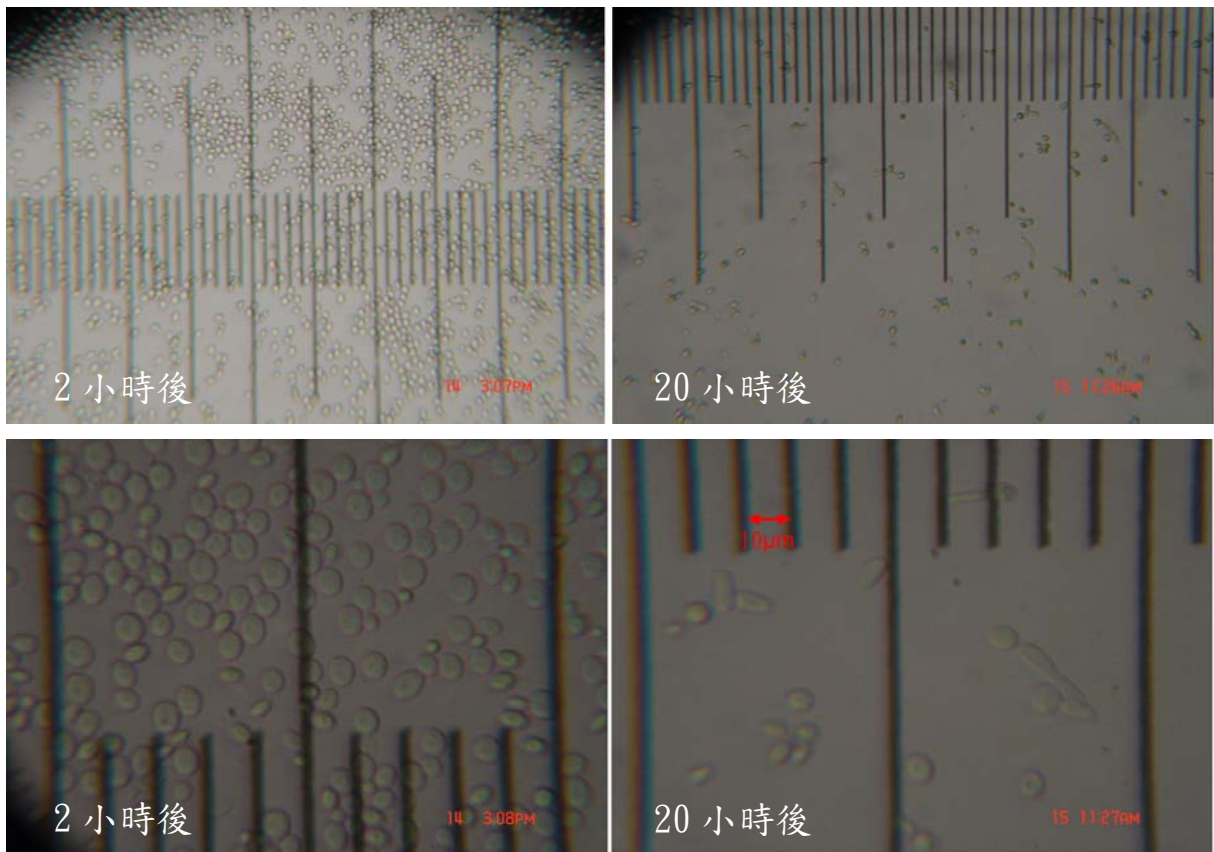
(二) 操縱變因：反應開始前，添加不同酵母粉的重量



(三) 分析：酵母菌產氣初期，0.5 克酵母菌產氣速率最高，0.1 克則最低，顯示酵母菌越多，其產氣量越高。但較重者不能維持長期的產氣時間，反而是重量較輕能有較長的產氣時間。

(四) 不同酵母粉的重量的酵母菌形態：(0.1 克酵母粉見前頁)

1M 葡萄糖溶液 + 0.5 克酵母粉：(每小格 10 微米)



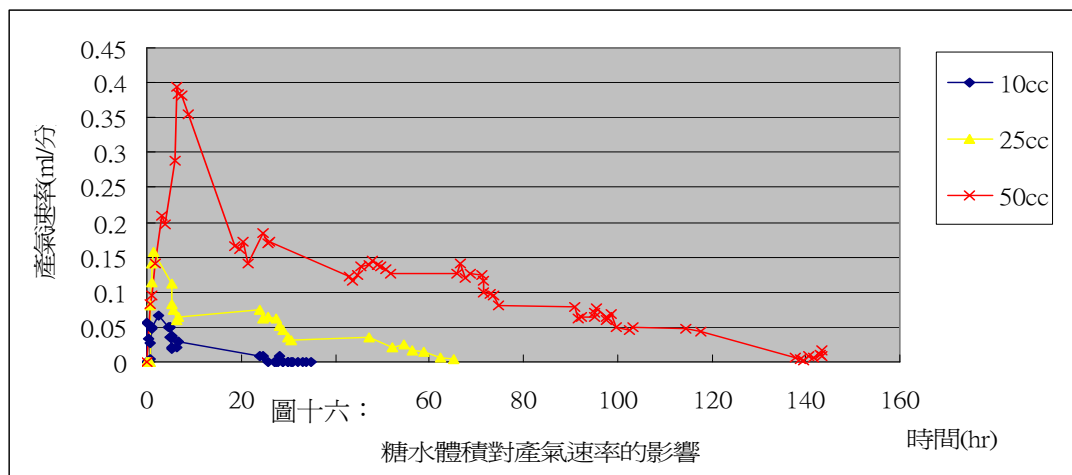
分析：可以明顯看出過產氣高峰（5 小時）後，菌數的明顯減少。

四. 使用產氣實驗裝置，實驗試管中葡萄糖溶液的體積，對酵母菌產氣速率的影響

(一) 控制變因：

溫度	33°C	酵母粉重：溶液體積	0.1g：50 ml
葡萄糖溶液濃度	1.0 M	裝置	如圖

(二) 操縱變因：不同空氣體積



(三) 分析：在固定酵母粉重與溶液體積的比例下，溶液體積越小，產氣速率越慢，也越提早結束。

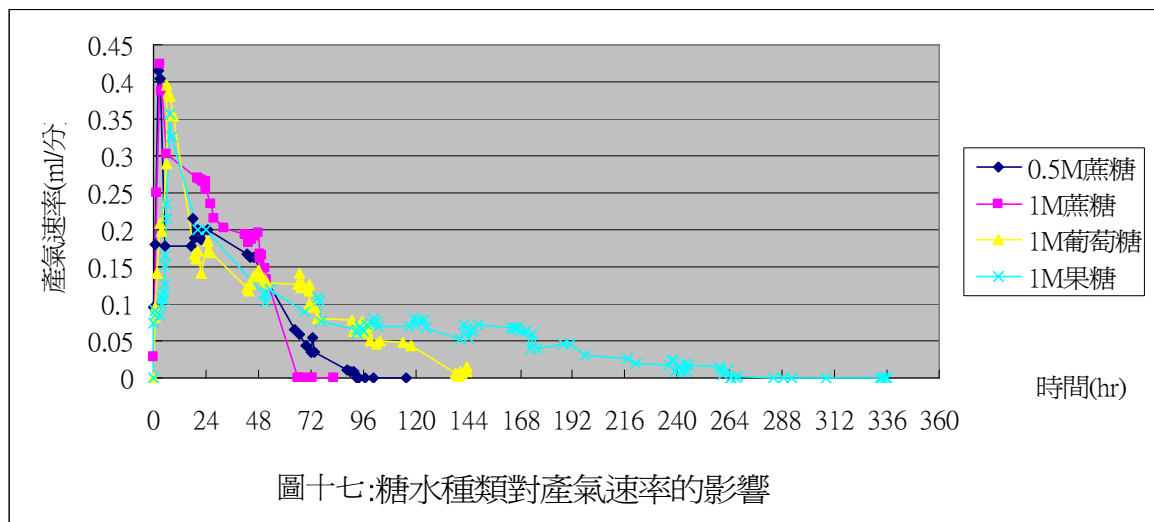
五、使用產氣實驗裝置，實驗不同種類的葡萄糖、蔗糖、果糖溶液，對酵母菌產氣速率與形態的影響：

(一) 控制變因：

溫度	33℃	裝置	自行設計的 排氣實驗裝置	糖類溶液體積	50 ml
酵母粉重	0.1g			糖類溶液濃度	1 M

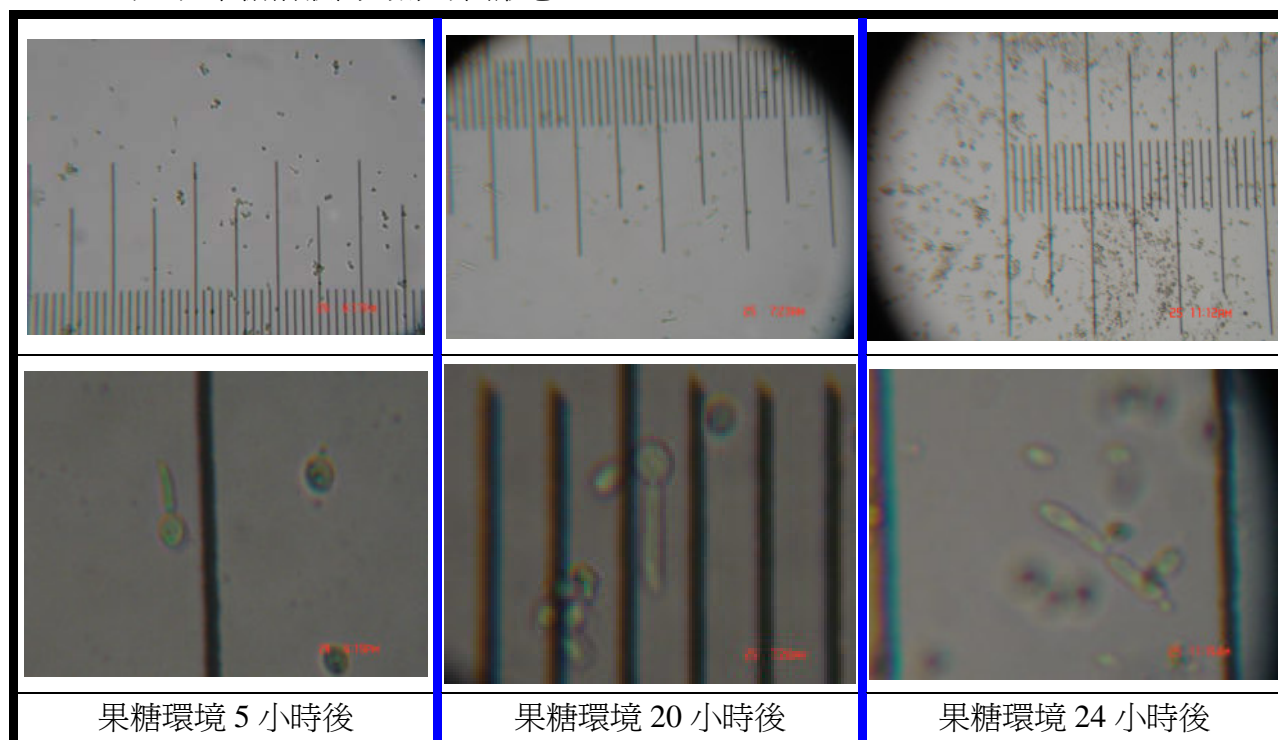
操縱變因：不同種類的糖溶液。(因蔗糖為雙糖，實驗 1M，0.5M 比較)

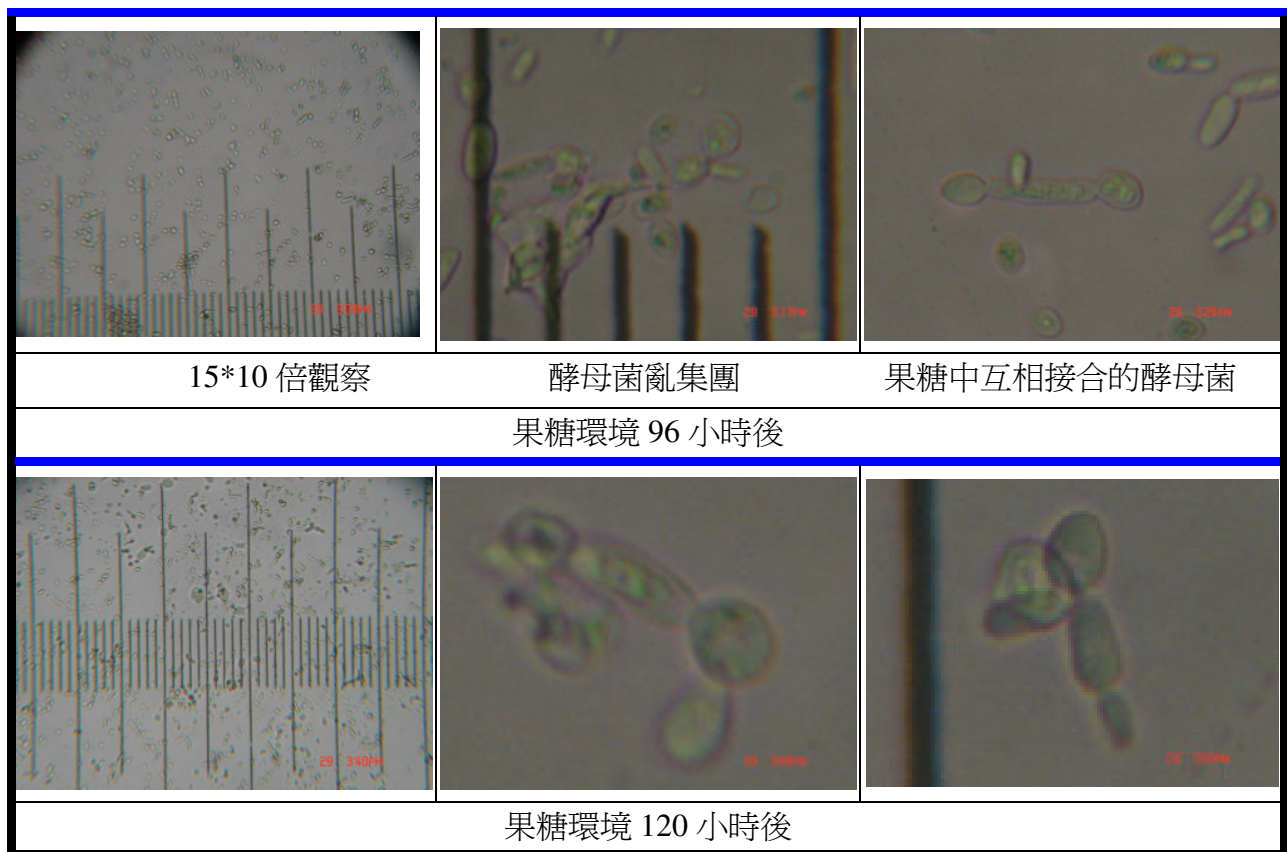
(二) 實驗結果：



(三) 分析：不同種類的糖溶液，在產氣初期有類似的衝高峰現象。1M 蔗糖產氣最早結束，1M 果糖對產氣量有相當好的延長效果。

(四) 果糖溶液內的酵母菌形態：





(五) 圖形分析：與其它條件一樣，酵母菌在 5~7 個小時後，開始出現有長尾巴的個體，其間有各種不同的個體與繁殖型態，值得進一步研究。

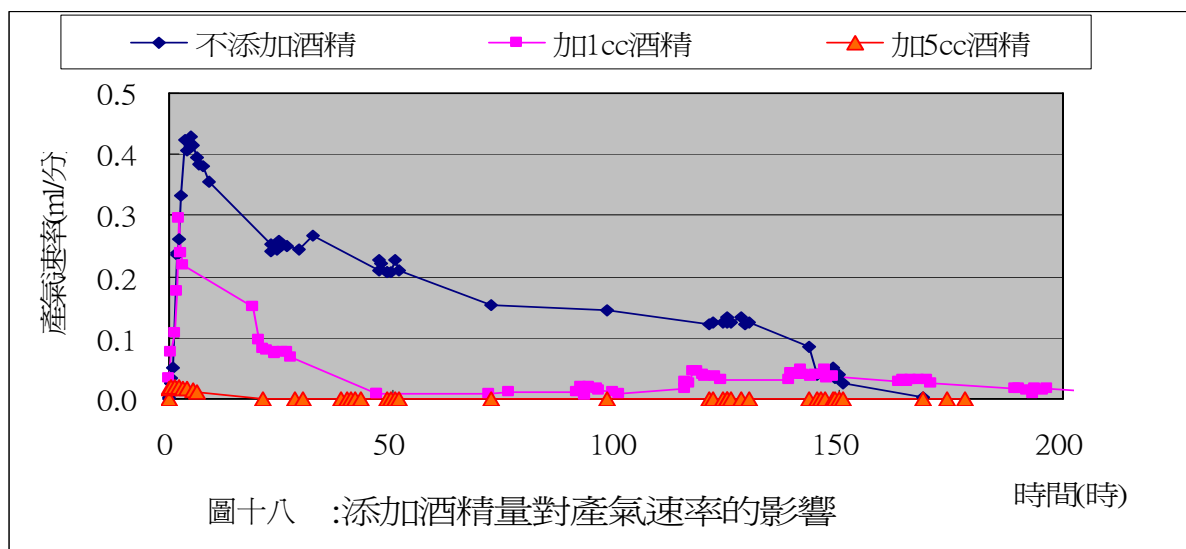
六、使用產氣實驗裝置，實驗加入不同重量的酒精，對酵母菌產氣速率的影響：

(一) 控制變因：

溫度	33℃	裝置	自行設計的 排氣實驗裝置	葡萄糖溶液體積	50 ml
酵母粉重	0.1g			葡萄糖溶液濃度	1 M

操縱變因：添加不同體積的酒精。

(二) 實驗結果：



(三) 分析：酒精的添加，強烈的降低酵母菌的產氣速率

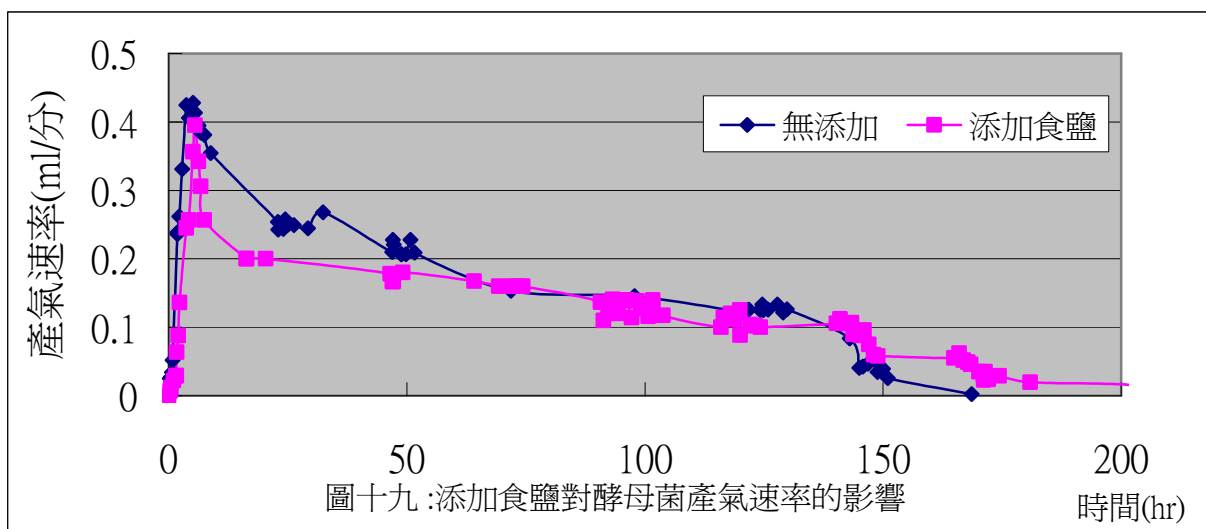
七、使用產氣實驗裝置，實驗不同種類的鹽類添加，對酵母菌產氣速率的影響：

(一) 控制變因：

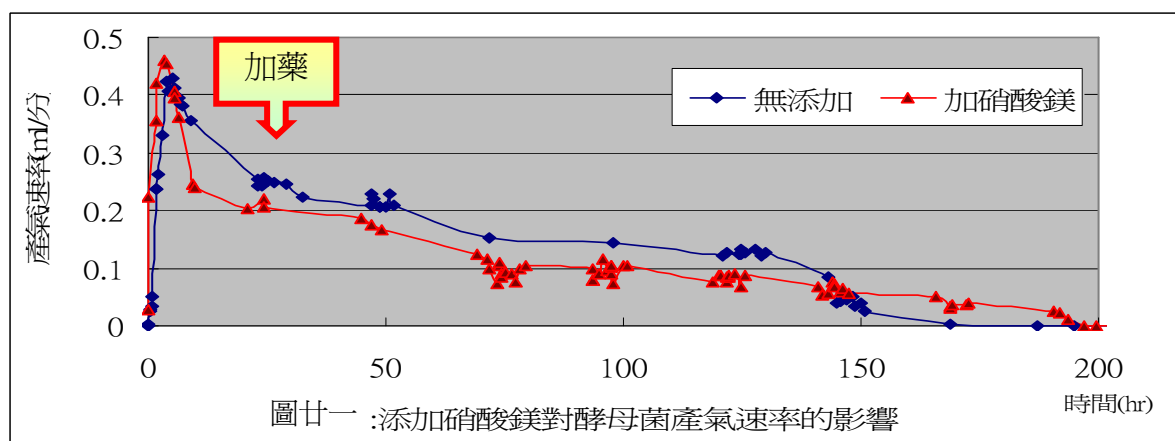
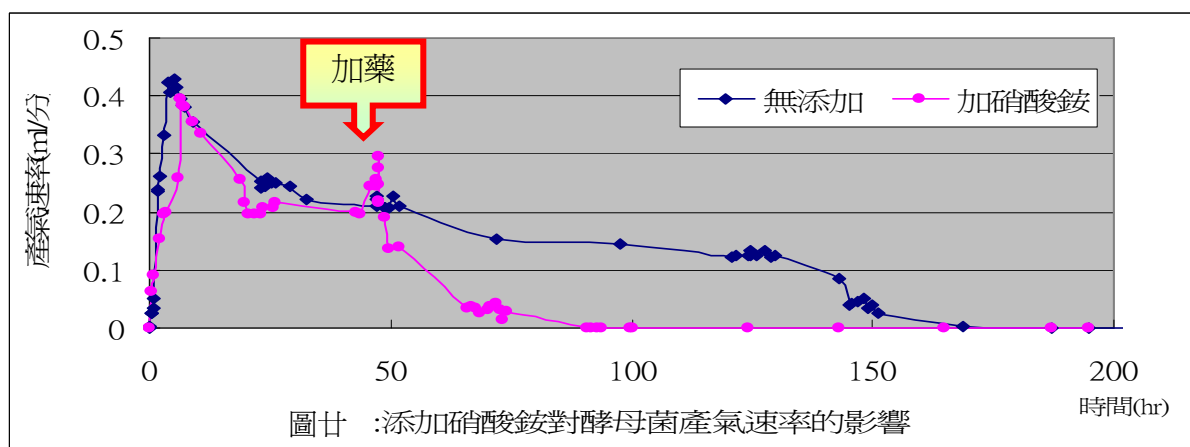
溫度	33℃	裝置	自行設計的 排氣實驗裝置	糖類溶液濃度、體積	1M、50 ml
酵母粉重	0.1g			添加鹽類量	0.0005mole

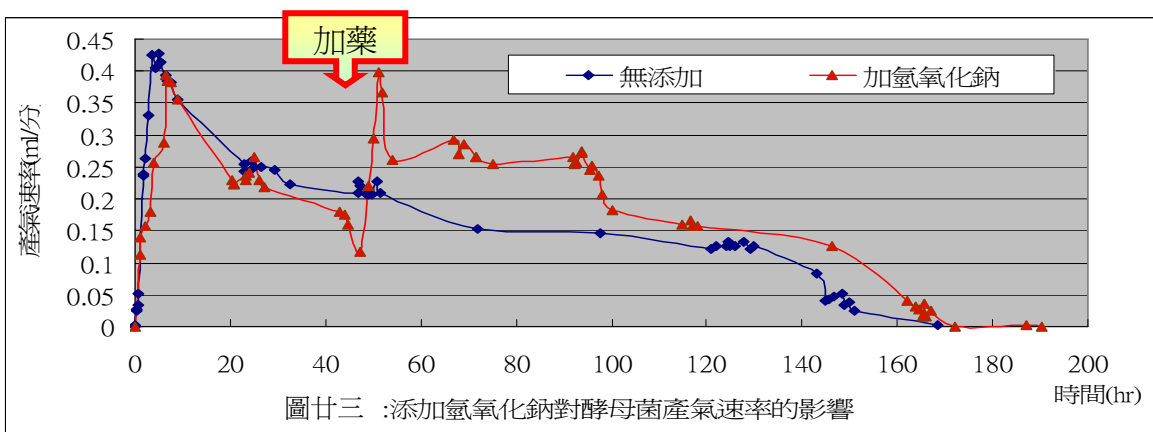
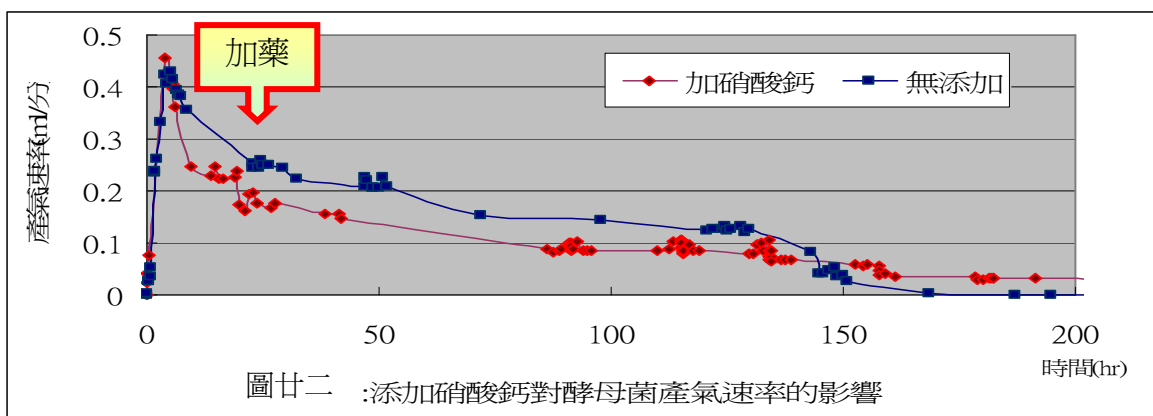
操縱變因：不同種類的鹽。

(二)反應開始時就加入食鹽：

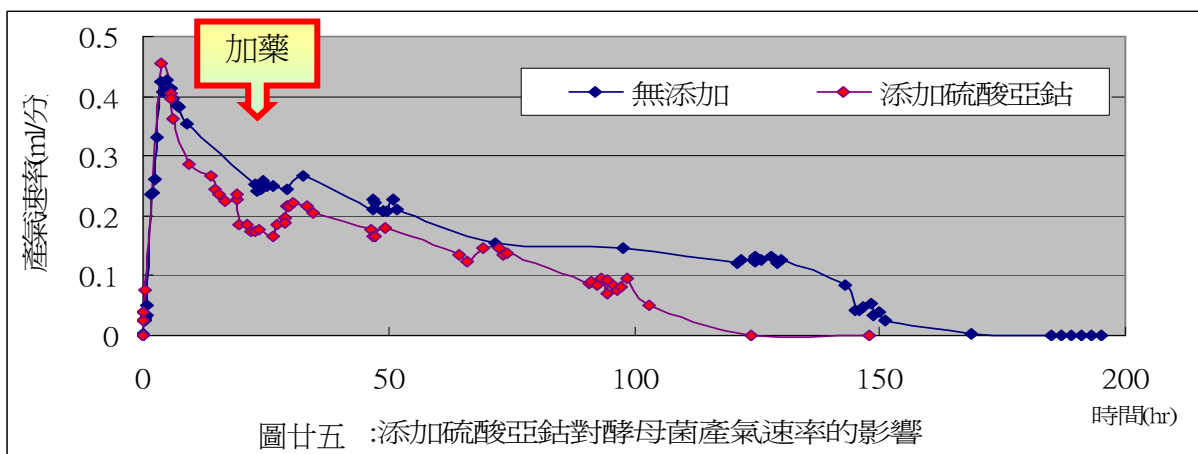
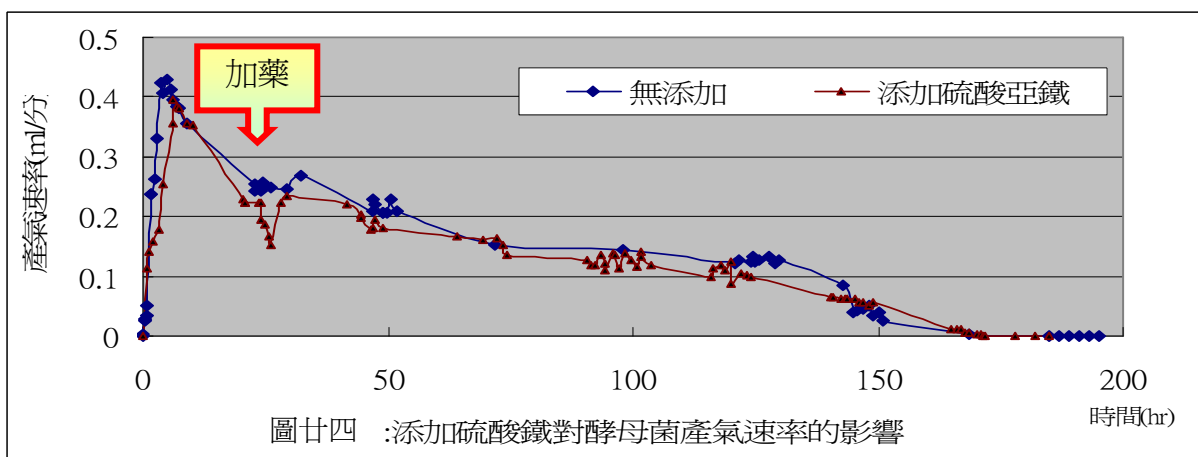


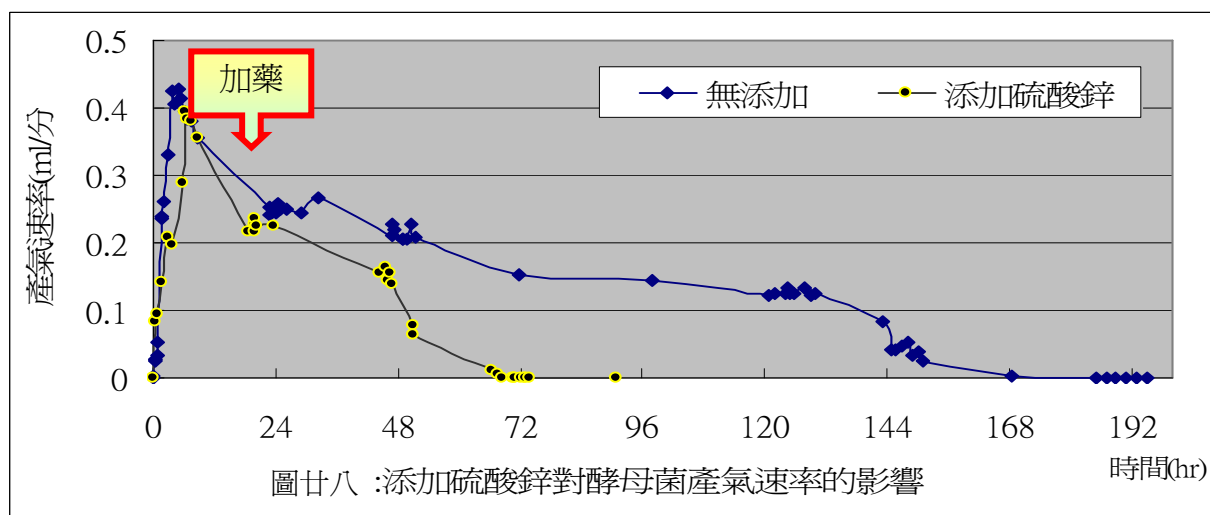
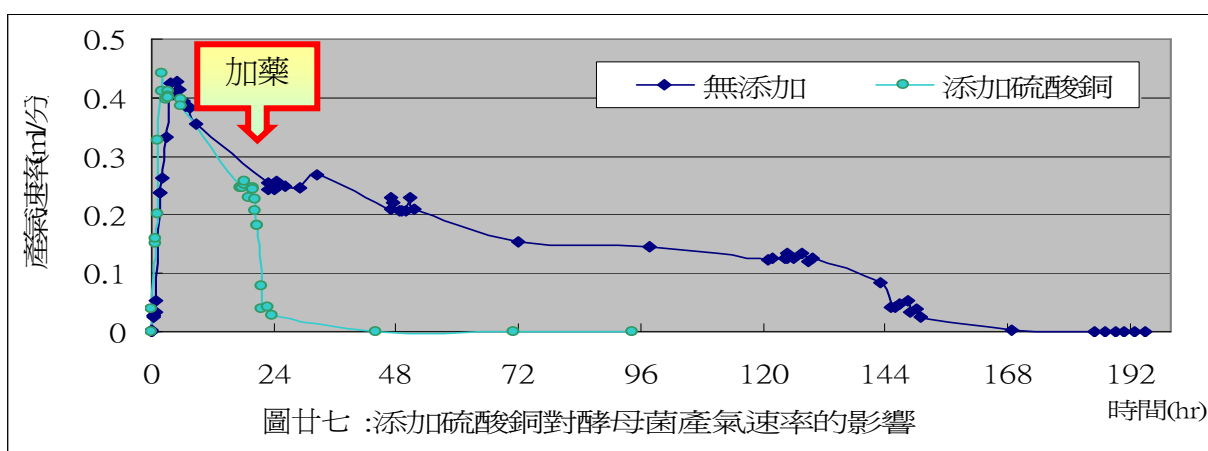
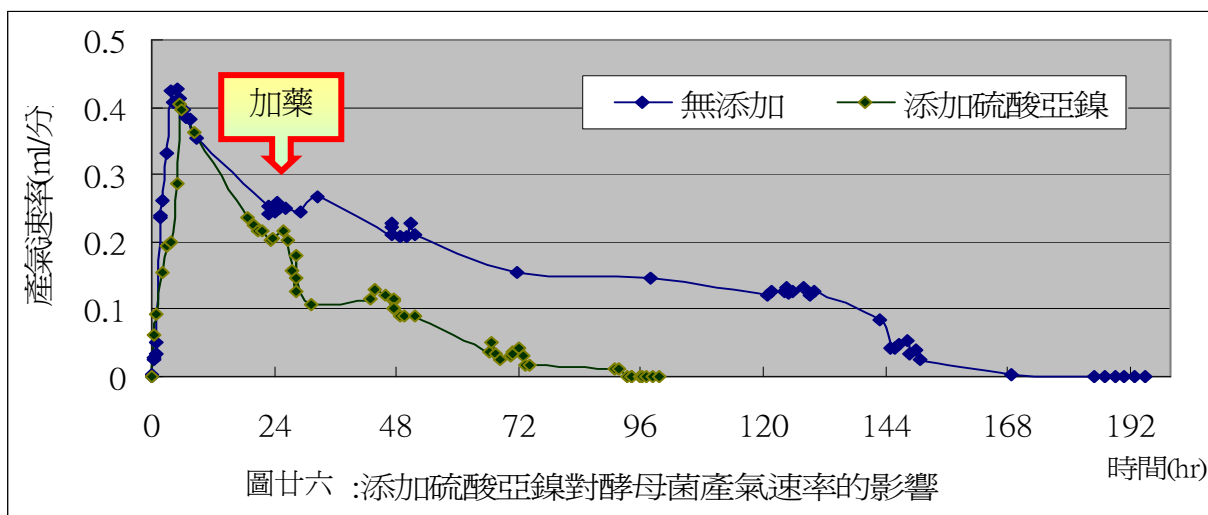
(三)反應中段加入：硝酸鉍、硝酸鎂、硝酸鈣、氫氧化鈉





(四)反應中段加入重金屬硫酸鹽：硫酸亞鐵、硫酸亞鈷、硫酸亞鎳、硫酸銅、硫酸鋅





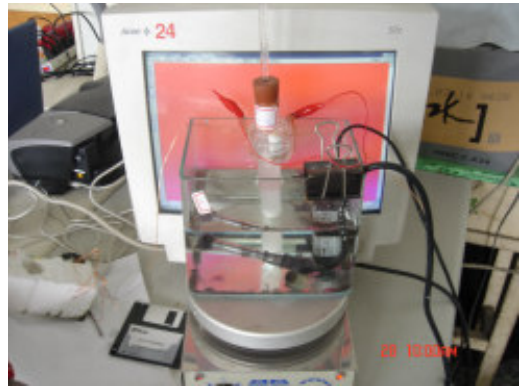
(五) 結果分析：添加鹽類量 0.0005mole 於 50ml 的酵母菌溶液中

產氣速率變大	產氣速率降低(停止)	產氣速率沒有改變
氫氧化鈉	硝酸鉍、硫酸亞鉍、 硫酸亞錳、硫酸銅、硫酸鋅	食鹽、硝酸鎂、硝酸鈣、 硫酸亞鐵

八、使用產氣實驗裝置，將裝置放於電腦 CRT 螢幕前，實驗螢幕的輻射對酵母菌產氣速率的影響：

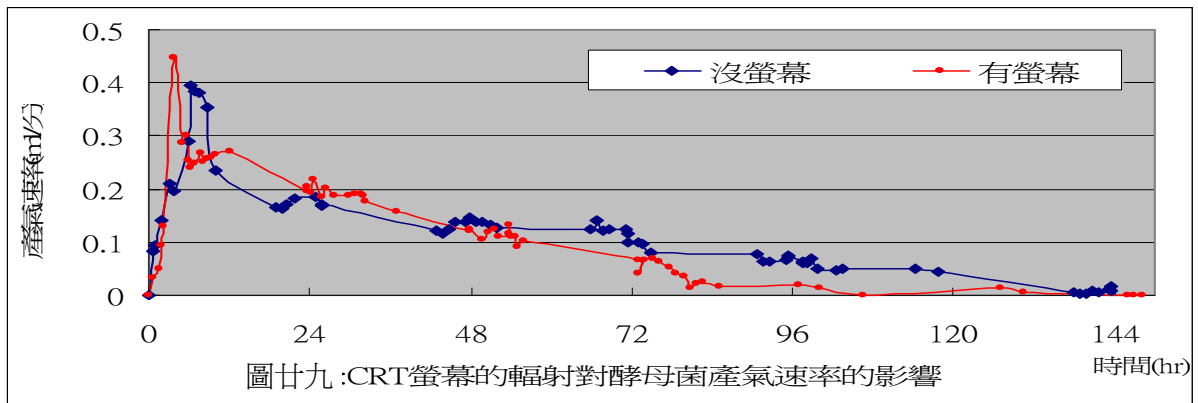
(一) 控制變因：

溫度	33℃	裝置	自行設計的 排氣實驗裝置
酵母粉重	0.1g		
葡萄糖溶液			



操縱變因：是否放於電腦 CRT 螢幕前

(二) 實驗結果：

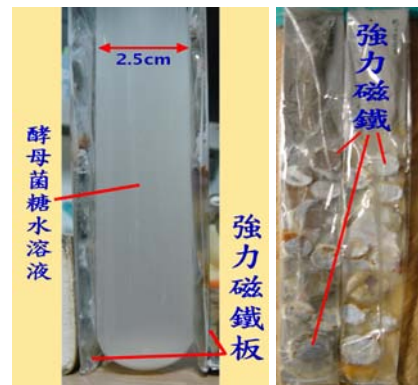


(三) 結果分析：放於電腦 CRT 螢幕前的實驗組，產氣量高峰提前出現，三天後產氣量才略為偏少

九、使用產氣實驗裝置，將試管兩側放置 2 組平行相吸強力磁鐵，實驗磁場對酵母菌產氣速率的影響：

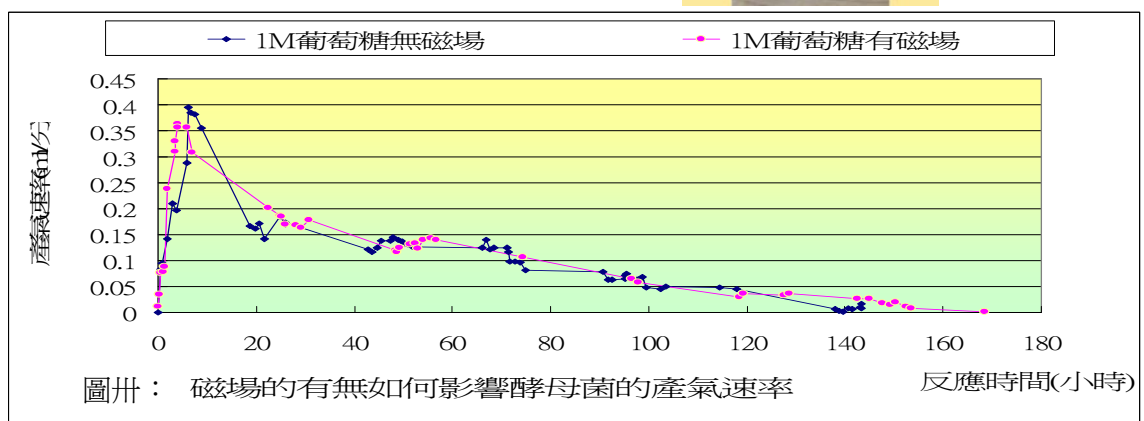
(一) 控制變因：

溫度	33℃	裝置	自行設計的 排氣實驗裝置
酵母粉重	0.1g		
葡萄糖溶液		1 M ， 50 ml	



操縱變因：是否有平行相吸強力磁鐵

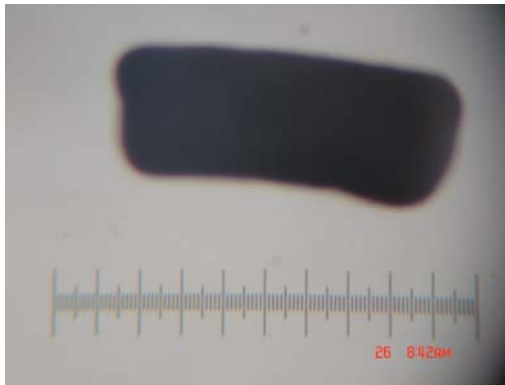
(二) 實驗結果：



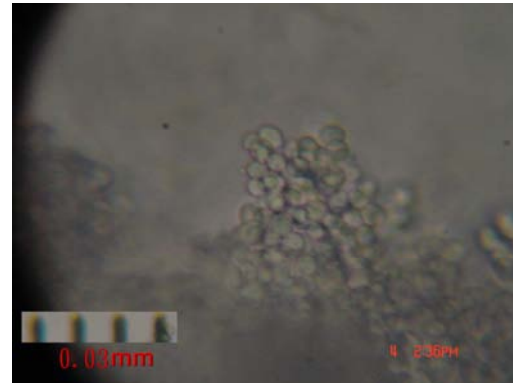
(三) 結果分析：放於磁場間的實驗組，產氣高峰也提前出現，但產氣終止時間略為延長。

十、在凹槽載玻片上加入 1 顆活性酵母粉，再加入不同濃度的葡萄糖溶液，在高密度的生長條件下，對酵母菌形態的影響：【以 900 倍(15*60)的顯微鏡配合數位相機(room=3.0)拍攝】

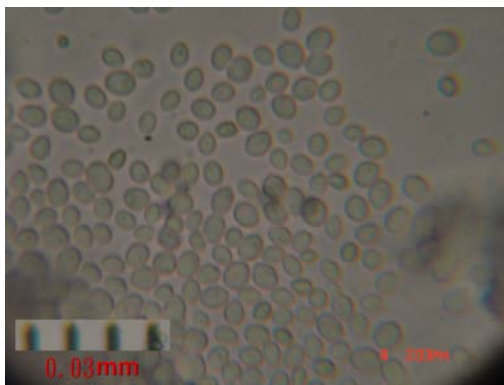
(一) 高密度的生長條件下，純水中酵母菌的復水情形：



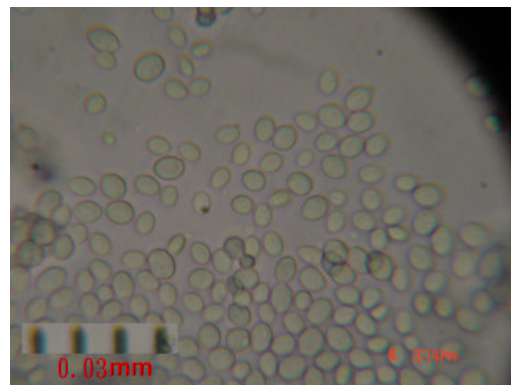
加水前的活性酵母粉(最小刻度 0.01mm)



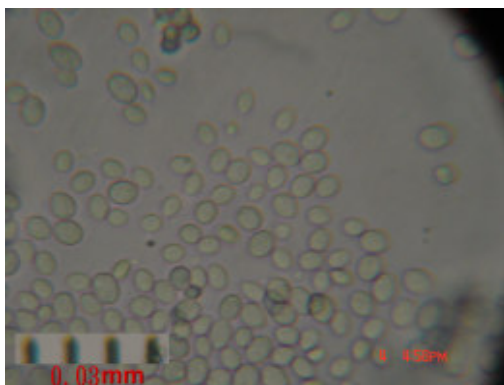
加水後 1 分鐘的活性酵母粉邊緣



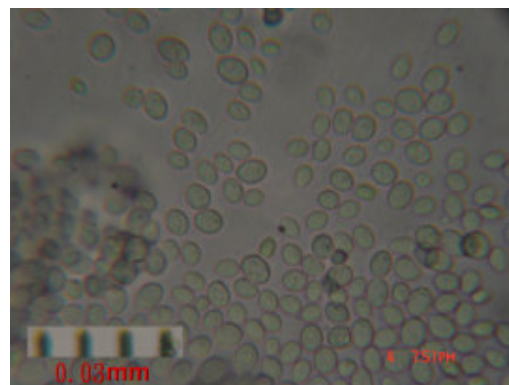
27 分鐘後，水中的酵母菌



38 分鐘後，水中的酵母菌



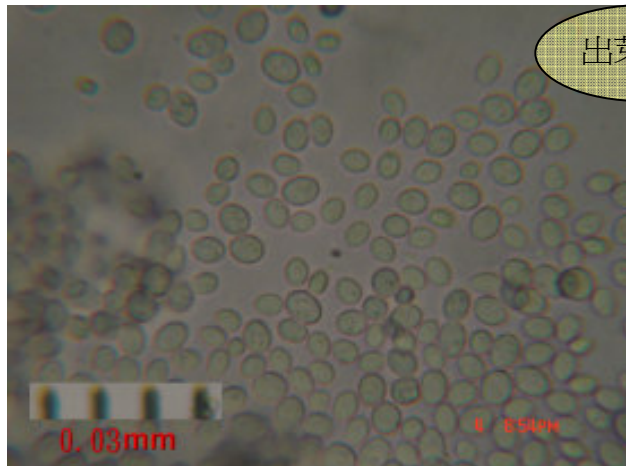
142 分鐘後，水中的酵母菌



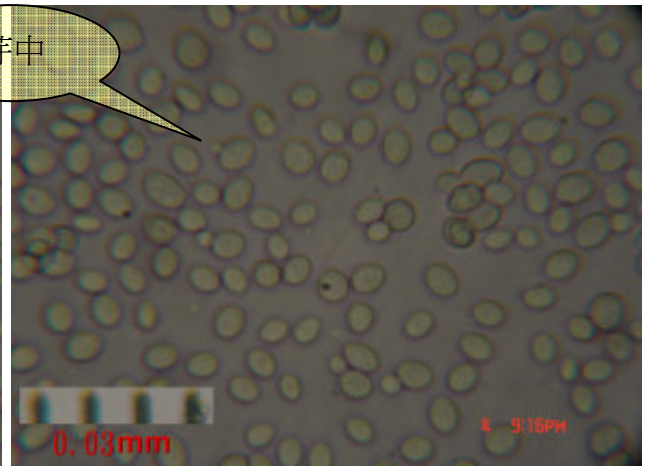
315 分鐘後，水中的酵母

分析：只加水，水中酵母菌無出芽生殖現象

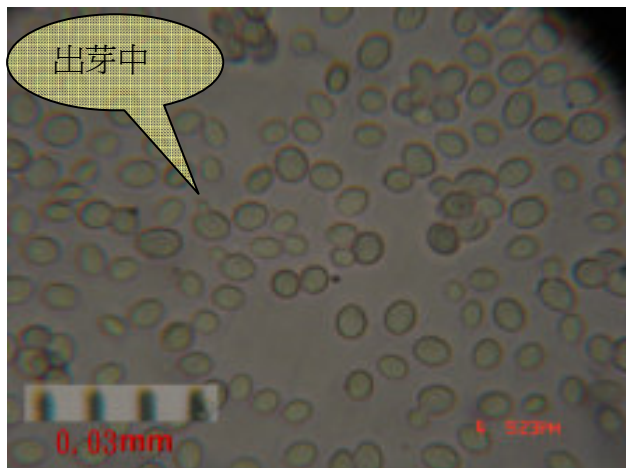
(二) 高密度的生長條件下，1.0M 葡萄糖溶液中的酵母菌的復水生長情形：



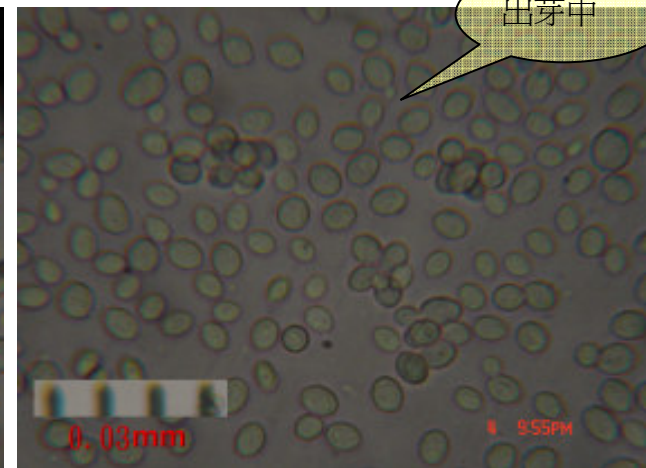
剛加入糖水的酵母菌



22 分鐘後的酵母菌（有出芽生殖）

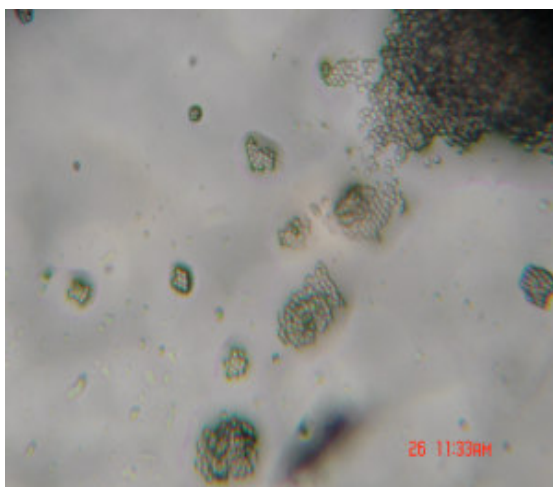


31 分鐘後，水中的酵母菌

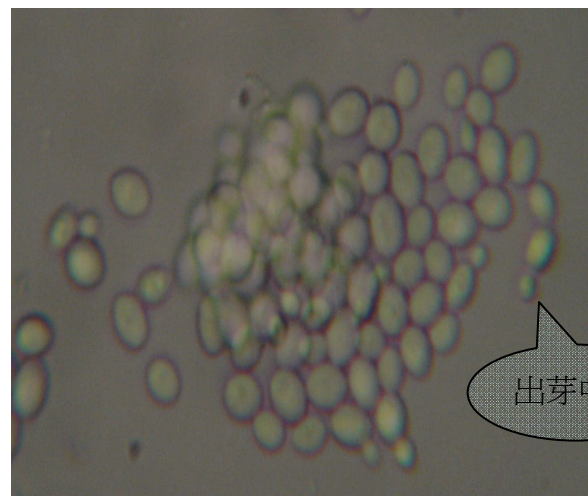


63 分鐘後，水中的酵母菌

分析：加 1.0M 葡萄糖溶液後水中酵母菌有出芽生殖現象



酵母菌團 600 倍



酵母菌團 900 倍

分析：由活性酵母粉移出的葡萄糖溶液中的酵母菌團，外側也有明顯的出芽現象

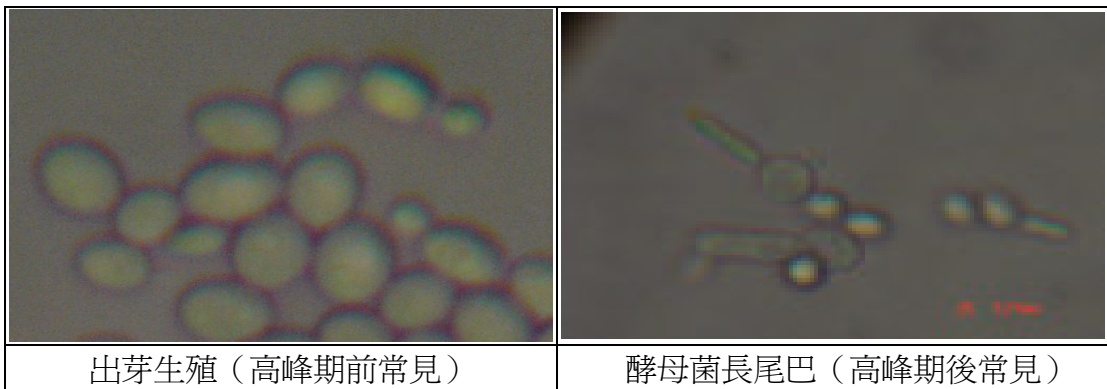
陸、討論：

一、從針筒改良成為新的實驗設計裝置（右圖），有以下優點：

- （一）吸量管能夠清楚地觀測產氣情形，是因為吸量管較細，刻度較準且能形成水柱。大氣壓力會影響氣體體積，水柱的移動能維持內部與外部的大氣壓力相同。
- （二）未攪拌前，酵母菌易沉澱於試管底部，使得每個酵母菌與葡萄糖分子接觸機會不均，導致產氣速率不固定。24 小時全天的攪拌，葡萄糖分子與酵母菌能均勻分布於溶液中，使產氣速率較為穩定，也能使試管上部與底部的溫度相同，控制溫度的變因。
- （三）吸量管出口加裝銅線，由於金屬可破壞水的內聚力，管內的水柱不易跑出，使整個實驗裝置在大部分時間為密閉系統。而水柱在被破壞內聚力的同時，極短時間的開放系統，使二氧化碳逸出，不致於因濃度太高，管內氣壓大，使產氣速率減緩。

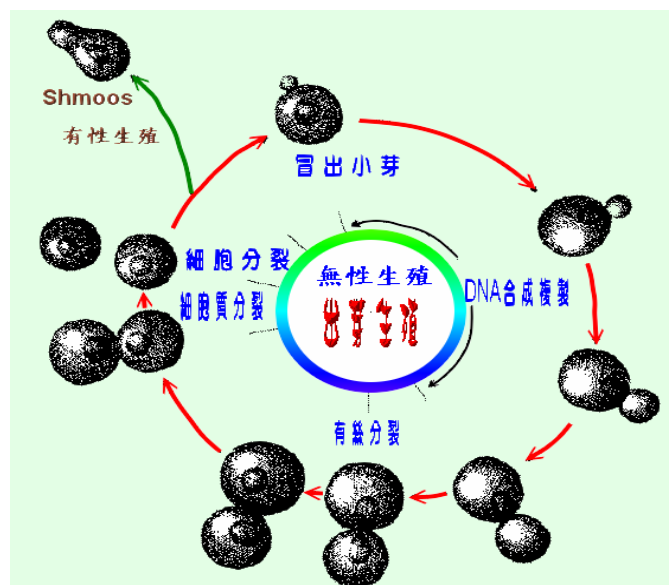


二、以酸鹼度計、新的測排氣實驗裝置與顯微鏡拍照算菌數，測量酵母菌的活動狀態，結果均顯示酵母菌活動與出芽生殖，在 5~8 小時內會達到最高峰，菌數最多、酸鹼度最低、產氣量最高。到達最高峰後，菌的產氣率會開始下降、酸鹼度維持不變，菌數開始變少，酵母菌也開始長尾巴（如下圖）。

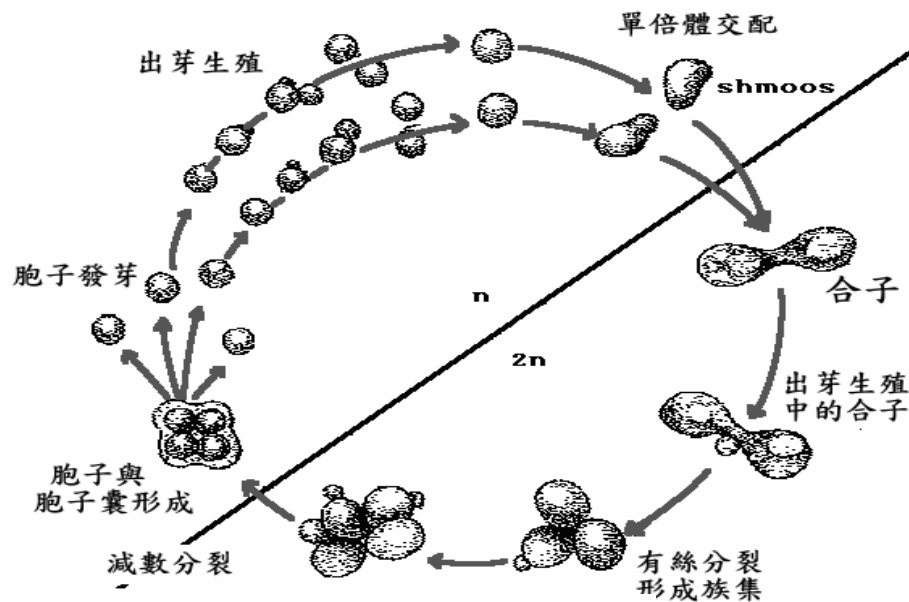


- （一）當酵母菌在初期時，會進行出芽生殖（如圖卅一），大量繁殖，細胞的數量呈指數增加，使得產氣量快速升高，但因為環境負荷量的緣故，酵母菌並不會無限制繁殖，所以又會下降，達到一個平衡。

圖卅一：酵母菌出芽生殖週期



- (二) 到達高峰期後，因為酸鹼度最酸，菌活動空間窄小，又已有酒精生成，對酵母菌的生存有所阻礙，除了數目減少外，長尾巴酵母菌的出現，應是代表著酵母菌有性生殖的開始（文獻中有類似長尾圖像，酵母菌以尾末端作有性接合生殖）。同時產氣量也平緩下來。
- (三) 由文獻中查出酵母菌的生活史：酵母菌屬真菌界，被分類為子囊菌類，生活史中可分為單倍與雙倍體兩種時期。(參見圖卅二)。

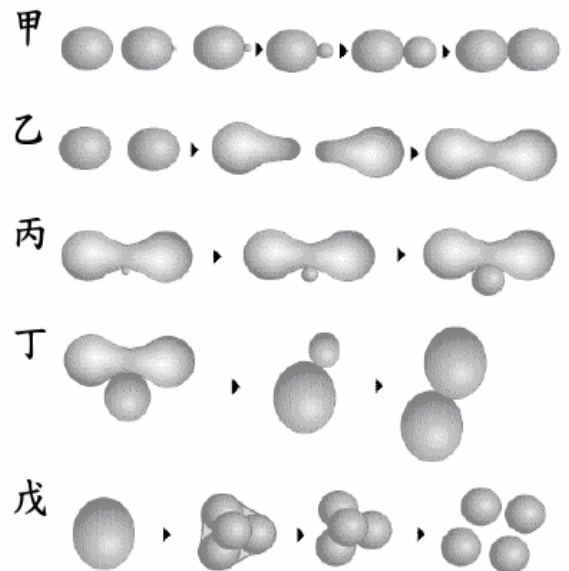


圖卅二：酵母菌生活史

二個 shmoos 融化其末端，形成合子。合子再發芽，形成一個典型"三葉草葉子"形象。成熟後進行減數分裂形成孢子囊，再釋放孢子。

(四) 酵母菌細胞形態：(見圖卅三)

- 甲：單一酵母細胞發芽
- 乙：單一的細胞形成配子，再接合為合子
- 丙：合子的發芽生成二倍體（有絲分裂）
- 丁：二倍體發芽
- 戊：二倍體減數分裂形成孢子囊與孢子；孢子再被釋放單一個體

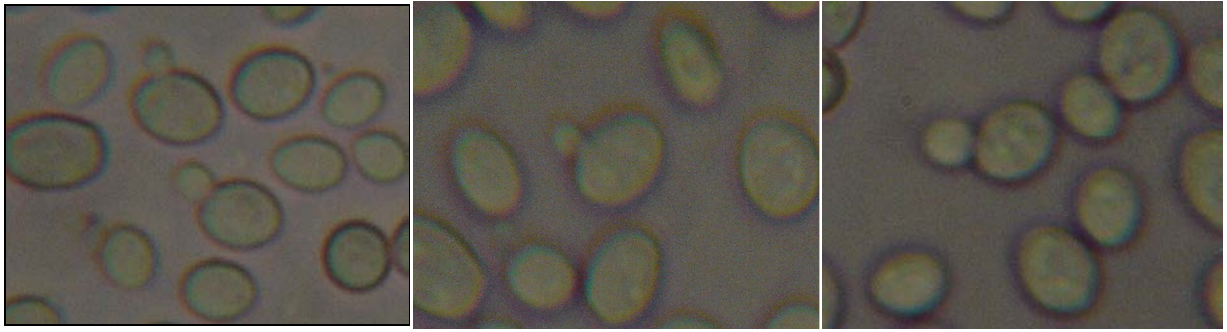


圖卅三：酵母菌細胞形態

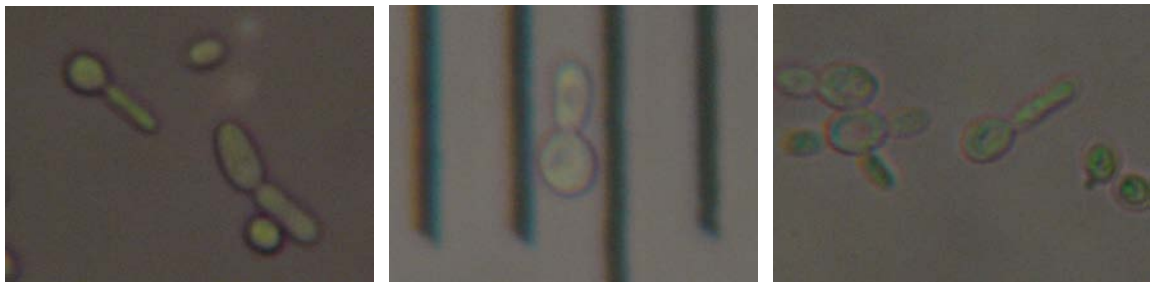
圖卅一、卅二、卅三的資料來源：<http://www.phys.ksu.edu/gene/a1.html>
再經奇摩搜尋翻譯整理而得：
[http://203.84.199.31/language/translatedPage?lp=en_zt&intl=tw&tt=url
&text=http%3a%2f%2fwww.phys.ksu.edu%2fgene%2fa1.html](http://203.84.199.31/language/translatedPage?lp=en_zt&intl=tw&tt=url&text=http%3a%2f%2fwww.phys.ksu.edu%2fgene%2fa1.html)

(五) 根據查得之資料，將本研究拍到的酵母菌生活史各階段細胞形態分類：

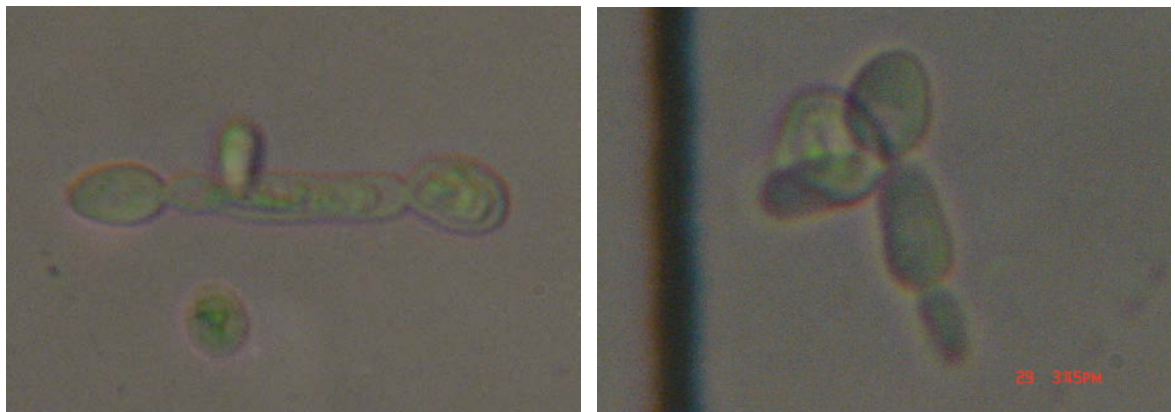
1. 單一酵母細胞發芽（出芽生殖）



2. 單一的細胞形成配子（shmoos）：

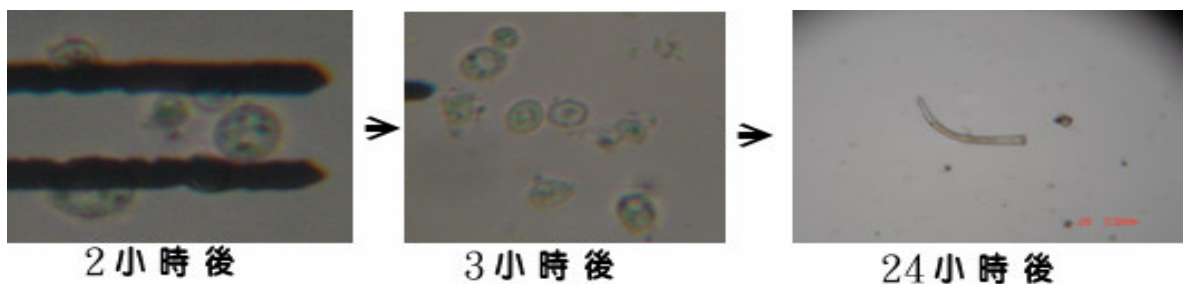


3. 配子再接合為合子，合子發芽，形成一個典型"三葉草葉子"形象：



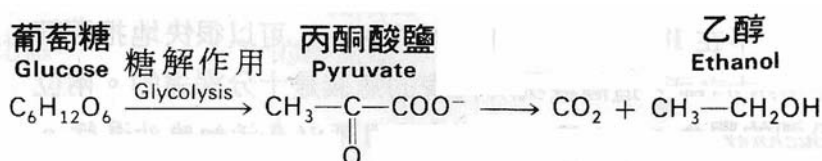
三、酵母菌未加入溶液中時，糖水糖度約為 15 度左右，數天後，酵母菌停止產氣時，糖度會降至 8 度左右，糖度再變化極緩。雖然有糖份但停止產氣，因試管內成為一個不利於酵母菌的生長環境，阻礙酵母菌的發酵。

四、酸鹼值測量：無糖份的酵母菌發酵產氣不明顯（實際影像如下），最低酸鹼值 4（較不酸），三天後酸鹼值回升至 7，顯微鏡下找不到酵母菌。加入不同重量的酵母菌，對最低酸鹼值影響不大，原因應該是都達到 CO_2 變成碳酸的飽和狀態。



酵母菌細胞本身的 pH 值在 5.1 到 6.3(Barton 等 1980)，其細胞膜能有效的使細胞內與環境隔離，使細胞內的 pH 值仍然能維持在生理的範圍；這種情形尤其在酵母菌生長於含大量糖的溶液中，產生溶於水會更酸的二氧化碳時時更加顯著。在停止生長前，溶液的 pH 值可低至 pH 2.2(Hartelius 1934)，本研究中，以 0.5 克酵母粉，在 1.0M 葡萄糖的溶液中，出現最低 pH 值(2.8)。此外也嘗試將鹼類物質（中和酸性）加入酵母菌發酵，產氣速率有暴增現象。

五、糖度在發酵過程中如預料的減少，酵母菌發酵過程的化學變化，產生二氧化碳，從葡萄糖開始，牽涉一連串的酵素反應，全部反應的總和，可用下列的反應式表示：



依此方程式，發酵 1 公克的葡萄糖大約釋放出 0.49 克二氧化碳（在標準狀態下 270ml），但酒精發酵期間總是會產生一些副產物（主要是甘油和丁二酸），因此二氧化碳的實際產量低於上述的值。但產氣量的變化較糖度明顯許多，酒精的測量又容易受干擾，所以用本研究設計來判斷酵母菌的活動能力較為實用準確。

- 六、三種不同糖類對酵母菌的產氣影響，極為相似。分子結構不同，果糖發酵持續時間較長。原本預期蔗糖要先水解成單糖，產氣會較慢，結果不符。這暗示酵母菌中蔗糖酶的含量，以較快的速率水解蔗糖成葡萄糖和果糖，超過葡萄糖和果糖被酵母菌發酵的速率。
- 七、不同濃度葡萄糖只影響酵母菌產氣持續時間，產氣速率差異不大。一日後，產氣量開始維持接近水平的緩降段，濃度高，水平段產氣時間長。經過長期產氣以後，因為酵母菌的壽命與繁殖代數有它時間上的限制，因此糖度雖尚未歸零，但是酵母菌已經不產氣了。
- 八、不同菌重在開始產氣的一日內，有很明顯的產氣速率差，菌數多有高產氣速率，總產氣時間較短。因此酵母菌數目才是提升產氣速率的重點。但就像生物課本中提到的：族群的密度增加，會使可利用的資源變少，而提早族群的滅亡（如人類的人口問題）。
- 九、實驗顯示：在發酵期間加入酒精，會使產氣速率降低，總產氣時間縮短，酵母菌的生長和發酵作用會逐漸停止，因此發酵產生的酒精，在水中濃度的升高，就會抑制酵母菌的活動，只要加入足量的酒精，產氣會立刻結束。
- 十、所有添加的鹼金屬、鹼土金屬鹽類，硝酸鈉、硝酸鎂、硝酸鈣及食鹽皆不會對酵母菌的產氣情形有太大的影響（硝酸鎂、鈣略延長產氣時間），唯獨硝酸銨再添加的瞬間產氣速率徒增再降回原速率，但硝酸銨對酵母菌的活動有妨礙，產氣會提早結束，原因尚需查閱相關資料。在文獻中記載：糖解作用包含十個反應步驟（均有酵素參與），金屬離子會影響酵素的活性，如二價陽離子會增強酵素活性，硝酸鎂、鈣能略為延長產氣時間，可能與此有關，須再作實驗證實。

- 十一、酵母菌受到重金屬硫酸鹽(亞鐵、亞鉛、銅、亞鎳、鋅離子)的干擾後，反應不同：
- (一) 加入硫酸亞鐵後，產氣在 5 小時後恢復原來速率，沒有太多的影響。
 - (二) 加入硫酸亞鉛、硫酸亞鎳、硫酸鋅，酵母菌的產氣略為恢復後，產氣量開始緩下降，產氣歷程較不加任何藥品之實驗提早結束。
 - (三) 加入硫酸銅後，產氣速率會明顯的陡降，而不會恢復，產氣驟然停止。
- 重金屬離子對酵母菌的毒性，抑制了代謝產氣。這發現應可作為水質檢驗的參考。
- 十二、電腦 CRT 螢幕，使酵母菌產氣量高峰提前出現，三天後產氣量才略為偏少，整體影響不大。CRT 就是陰極射線管，在國家檢驗標準中：螢幕 30 厘米以內輻射需接近於 0。本研究以 5 厘米的距離實驗，CRT 螢幕輻射，並不如預期可怕。
- 十三、磁場對生物的影響，科學界並沒有一定的共識，但在本研究中，磁力已經強到很難用手扳開的兩組磁鐵，依然對酵母菌產氣影響不大，縮短磁鐵距離與加大磁鐵顆數，是接下來要努力研究的方向，才能了解磁場對酵母菌的影響為何。

柒、結論：

- 一、以酸鹼度計、自行設計的測量產氣實驗裝置與顯微鏡拍照算菌數，測量酵母菌的活動狀態，結果均顯示酵母菌活動與出芽生殖，在五到八小時內會達到最高峰，但相較於酸鹼值與個數短時間內無法及時反映出各種變因對酵母菌發酵的影響，自行設計的實驗裝置測量出的實驗結果較明顯，而且能及時反應酵母菌的各種變化，測量效果較好。
- 二、酵母菌停止產氣後，糖度並未歸零，顯示酵母菌發酵是受到某種因素的抑制根據其他實驗顯示極可能是因為酸度過高或酒精濃度升高，環境惡化。酵母菌的外型也顯示在高峰過後出現疑是有性接合生殖的長尾巴。
- 三、利用新的產氣裝置進行各變因影響酵母菌產氣速率的實驗方面，我們發現：
 - (一) 濃度越高產氣速率並未隨之增大，只是延長酵母菌的產氣時間
 - (二) 酵母菌重量越重，產氣速率也隨之增大，但產氣時間越短
 - (三) 不同的糖類以果糖使酵母菌的產氣時間最長，產氣時間大小順序：
 $1M \text{ 果糖} > 1M \text{ 葡萄糖} > 0.5M \text{ 蔗糖} > 1M \text{ 蔗糖}$
 - (四) 酒精的濃度越高，抑制酵母菌產氣速率能力越強。
 - (五) 在產氣中段加入不同藥品，氫氧化鈉有中和酸性的功能，使產氣速率增加，重金屬離子裡的亞鎳離子、銅離子、亞鉛離子、鋅離子由於其重金屬毒性的關係，使產氣速率減少或產氣時間提早結束，其中以銅離子最毒，在短時間內使產氣完全中止。
 - (六) 硝酸銨加入酵母菌溶液中時，產氣突然衝高而後提早結束，硝酸鎂、硝酸鈣有略為延長產氣的效果。
 - (七) 實際應用新的產氣裝置檢測環境不利於生物生存的因素，磁場與 CRT 的紅色螢幕輻射對酵母菌的產氣影響不大，只有後者在三天後使產氣略為偏少。
 - (八) 我們可以應用這裝置去偵測生活中被懷疑是有害的因素，例如：基地台電磁波、過強的電磁場、有害輻射、水質受污染程度。若能以此建立一個生物監測的標準，來保護我們的生活品質，這將是我們的研究最有意義的地方。

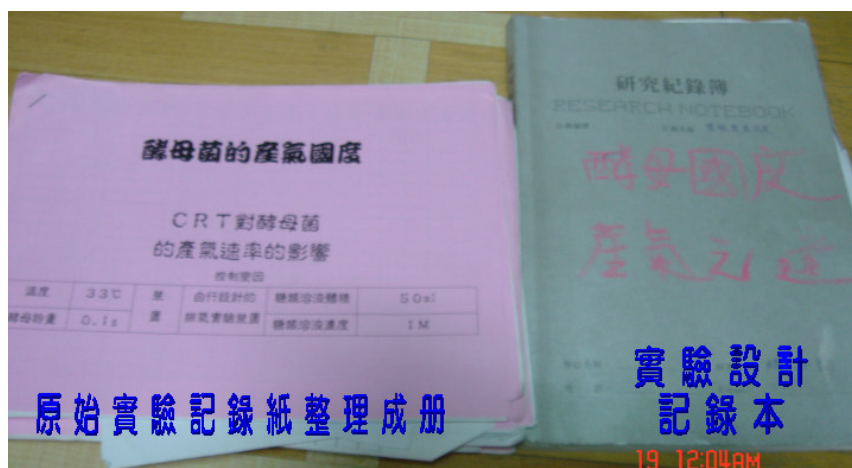
捌、參考資料

- 1.郭俊欽(民 89)。發酵食品。台北市:徐氏文教基金會。
- 2.Cecie Starr(原著) Ralph Taggart(原著) (民 91)。丁澤民，王偉，張世玲，連慧瑞(編譯)。生物學。台北市:憶萱圖書。
- 3.余岳川(民 91)。生活與化學 2。台北市:眾光文化事業。
- 4.李千毅(民 91)。觀念生物學。台北市:天下遠見出版股份有限公司。
- 5.曾國輝(民 86)。水。台北縣：建宏出版社。
- 6.曾國輝(民 86)。化學。台北市：藝軒圖書出版社。
- 7.郭重吉(民 93)。自然與生活科技(二)。台南市：南一書局企業股份有限公司。
- 8.Lubert Stryer(原著)，曾國輝(編譯) (民 72)。大學生物化學。台北市：藝軒圖書出版社。
9. 郭重興(民 78)。牛頓生物辭典。台北市：牛頓出版股份有限公司。
10. 張碧芬、袁紹英、游呈祥(民 95)。微生物學的世界。台北市:天下遠見出版股份有限公司。

玖、未來展望：

去年暑假當我們決定要進行獨立研究時，我們就知道這是一項艱鉅的任務。原來，我們想看看馬鈴薯發芽產生的龍葵素會不會對其他生物（酵母菌）造成影響，卻在一連串的薯塊變臭的過程中一次次的失敗。在經過一段時間的思考後，我們決定研究最簡單的酵母菌，11 月開始著手進行實驗設計，二氧化碳產氣量的不穩定，讓我們一次次的更新實驗裝置，想辦法設計出能測得穩定產氣量的裝置。

在經過一次次失敗後，我們終於做出了全新的實驗裝置，能使我們的實驗順利進行，過程中，每節下課都到實驗室測量我們的數據，也設計了許多不同的實驗，而至今實驗也順利的完成，回想這五個月裡，我們對酵母菌有了深入的了解，而未來我們希望能夠針對電磁波及磁場等因素是否影響酵母菌的產氣再作研究；看看是否能與正在進行研究改造酵母菌某段基因功能的生物研究室合作，進一步測量酵母菌在各種不同條件下的產氣速率，對生物科技研究盡一份心力。



拾、附錄：原始數據數量甚多，限於頁數，只列部份，其餘見現場展示

(一) 糖度測量原始數據

(直接輸入電腦)

日期	測量時間(時)	時間差(小時)	糖度	糖度每日平均值
2月27日	12.5	0.00	15.2	15.1
	15.25	2.58	15	
	16.3	3.67	15	
2月28日	8.25	19.58	14.5	14.3
	11.4	22.83	14	
	3月1日	43.41	13.3	
3月1日	12.3	47.66	13.1	12.9
	13.2	48.50	13	
	14.25	49.58	12.8	
	15.25	50.58	12.8	
	17.25	52.58	12.8	
	20.45	55.91	12.6	
	3月2日	66.78	12.2	
3月2日	9.15	68.41	11.8	11.6
	11	70.16	11.6	
	12.3	71.66	11.4	
	13.3	72.66	11.2	
	16	75.16	11.2	
3月3日	8.5	92.00	11	10.8
	12.3	95.67	10.6	
3月4日	11.25	118.75	10	10.0
3月5日	15	146.17	9.8	9.8

(二) 酸鹼度測量原始數據

日期	時間	酸鹼度	溫度	糖度
2月27日	12:35	4.93	15.2	15.1
	12:37	4.97	15.2	15.1
	12:40	4.96	15.2	15.1
	12:43	4.91	15.2	15.1
	12:45	4.97	15.2	15.1
	12:50	4.98	15.2	15.1
	12:55	4.99	15.2	15.1
	13:02	4.94	15.2	15.1
	13:09	4.95	15.2	15.1
	13:11	4.95	15.2	15.1
2月28日	13:15	4.93	15.2	15.1
	13:21	4.99	15.2	15.1
	13:25	4.96	15.2	15.1
	13:35	4.97	15.2	15.1
	13:43	4.99	15.2	15.1
	13:45	4.97	15.2	15.1
	13:55	4.98	15.2	15.1
	14:05	4.98	15.2	15.1
	14:10	4.97	15.2	15.1
	14:15	4.98	15.2	15.1

(三) 產氣速率測量原始數據

日期	時間	產氣速率	溫度	糖度
2月27日	12:35	1.15	15.2	15.1
	12:37	1.15	15.2	15.1
	12:40	1.15	15.2	15.1
	12:43	1.15	15.2	15.1
	12:45	1.15	15.2	15.1
	12:50	1.15	15.2	15.1
	12:55	1.15	15.2	15.1
	13:02	1.15	15.2	15.1
	13:09	1.15	15.2	15.1
	13:11	1.15	15.2	15.1

(四) 針筒產氣速率測量原始數據

日期	時間	針筒產氣速率	溫度	糖度
2月27日	12:35	1.15	15.2	15.1
	12:37	1.15	15.2	15.1
	12:40	1.15	15.2	15.1
	12:43	1.15	15.2	15.1
	12:45	1.15	15.2	15.1
	12:50	1.15	15.2	15.1
	12:55	1.15	15.2	15.1
	13:02	1.15	15.2	15.1
	13:09	1.15	15.2	15.1
	13:11	1.15	15.2	15.1

日期	時間	產氣速率	溫度	糖度
2月27日	12:35	1.15	15.2	15.1
	12:37	1.15	15.2	15.1
	12:40	1.15	15.2	15.1
	12:43	1.15	15.2	15.1
	12:45	1.15	15.2	15.1
	12:50	1.15	15.2	15.1
	12:55	1.15	15.2	15.1
	13:02	1.15	15.2	15.1
	13:09	1.15	15.2	15.1
	13:11	1.15	15.2	15.1



評語

031716 酵母國度的產氣之道

本實驗以“產氣”評估酵母菌的生長與生殖，文獻探討周延，實驗設計亦有創意，團隊合作良好。唯此係初期的實驗，變因測試繁複，以致略見失焦，若能有所針對，則更見清晰可用。