

# 中華民國第 52 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 生活與應用科學科

030803

我家的柳橙也會長椰果

學校名稱：嘉義市私立嘉華高級中學

作者：  國一 張峰瑋  國一 李 峻  國一 何承翰	指導老師：  林籐旺
---	------------------

關鍵詞：細菌性纖維素、發酵

# 我家的柳橙也會長椰果

## ~~~細菌性纖維素的製造與應用研究~~~

### 摘要

本研究利用當季產量過剩之柳橙，及其他具高糖度、高氮量、生質廢棄物，如豆渣等原料，以製造細菌性纖維素(俗稱椰果)，並探討椰果製造之最佳條件、主副產品特性分析及其在生活上之應用。

研究結果發現：(1) 細菌性纖維素生長之最佳條件為氮源(peptone)0.6g/L，PH 值 4.5，醋酸濃度 0.8%(v/v)，醋酸菌接菌量 25%(v/v)，糖度 14°Brix。椰果產率達 400g/L (2) 本產品含水量達 98%，椰果粉之吸水率達 327%；副產品-醋酸菌發酵液，具有良好抗氧化活性，有再利用價值。(3) 細菌性纖維素富含水分，具彈性有保濕效果等特性，可做面膜；食用後具有飽足感，可製成低熱量的膳食纖維食品或食品原料；未來或可開發成生醫或工業材料等，用途廣泛，經濟價值高，是值得開發的新食品科技產品。

### 壹、研究動機

在去年總統選舉期間，多家媒體報導一則新聞：嘉義縣的竹崎與番路地區所生產的柿子 1 斤 2 元，這顯示農民的無奈，也讓我們聯想起了，嘉雲地區常因柳橙生產過剩，因供需失衡，造成農民血本無歸，而這些生產過剩的柳橙是否另有其他利用價值呢？在自然與生活科技的四冊的教科書中，論及食品加工一節，因此邀集同學，在老師的指導之下，多方收集資料，將生產過剩的柳橙，經加工以生產椰果或其他製品，開發農產品的附加價值，減少農民損失。

### 貳、研究目的

- 一、研發細菌性纖維素的製造方法，並探討最適合的生產條件。
- 二、探討細菌性纖維素的特性。
- 三、探討細菌性纖維素在生活上之應用。
- 四、激發同學對科學研究的精神。

### 參、研究設備及器材

pH 計、微量吸管、恆溫箱、滅菌釜、無菌操作台、電子天平、燒杯、量筒、滴定管、試管、醋酸菌(BCRC 14148)、紙錠、盤尼西尼(penicillin)、氮源(peptone)、氫氧化鈉、純水、培養基、培養皿、柳橙汁、豆粕、果糖、保鮮盒、吸水紙、濾網、糖度計、測微尺。



a.滅菌釜



b.無菌操作台



c.微量吸管



d.震盪器



e.測微尺



f.糖度計



g.恆溫培養箱



h. 醋酸菌(BCRC 14148)

圖 1.研究設備與器材

## 肆、研究過程及方法

### 一、文獻探討

#### (一)細菌纖維素簡介

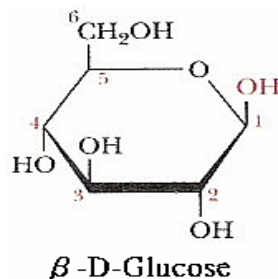
細菌纖維素為培養木質醋酸菌於含糖類及有機酸的椰水或果汁中，經發酵後在培養表面所形成不溶於水的凝膠狀產品，其厚度可達數公分的纖維質。細菌纖維素的水分含量隨發酵基質不同而有差異，但大部分都佔90%以上。椰子凝膠，又稱椰子凝膠，屬於微生物的發酵產物，是木質醋酸菌在液態培養基中生長所形成的代謝產物。

#### (二)細菌纖維素(Bacterial cellulose)之形成

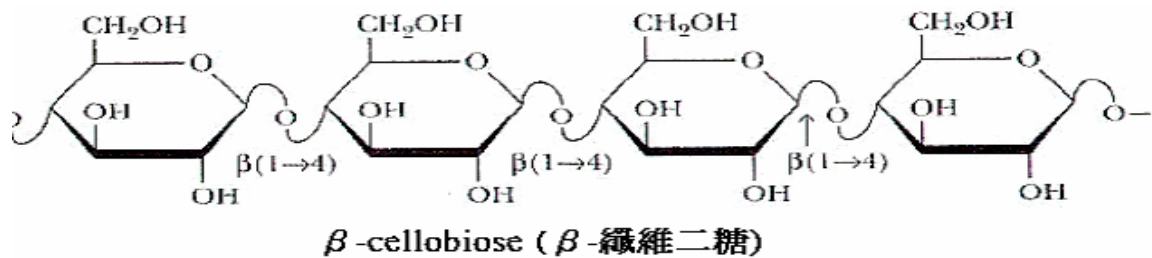
木質醋酸菌之菌體先合成數十條微纖維(microfibrils)，細纖維彼此藉氫鍵結合成原纖維(fibrils)，各菌體間的原纖維相互交錯形成肉眼可以見的纖維束。

#### (三)細菌纖維素的組成

##### 1. $\beta$ -D-葡萄糖結構：



##### 2. 細菌纖維素結構：細菌纖維素是以葡萄糖為單位經由 $\beta$ -1,4 glucan聚合而成，構造如下：



#### (四)細菌纖維素生產方法

1.傳統方法：果汁經調糖與酸度後，接種木質醋酸菌(*A. xylinum*)，在28~31°C下靜置培養2週。

2.二階段式發酵法：培養液接菌後振盪培養三天，再靜置培養16天，可提升產率(李，2010)。

(五)醋酸菌：為革蘭氏陰性細菌，細胞呈短桿狀，最適生長溫度為25-30°C，而其代謝產物主要為醋酸；某些菌株會產生細菌纖維素(bacterial cellulose)，醋酸菌於有氧環境中，能將基質中的酒精氧化而產生醋酸(李，2010)。

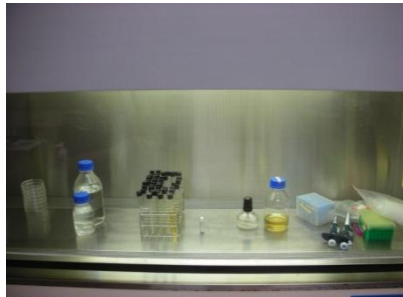
### 二、細菌性纖維素的製造方法並探討最佳的生產條件

#### (一)前置實驗(醋酸菌之菌種開管與活化)

1.醋酸菌之菌種開管過程：本實驗所使用的醋酸菌是購買自食工所之醋酸菌  
(*Gluconacetobacter xylinus*, BCRC14148)菌粉凍乾管，使用前需經開  
管程序(圖 2)。



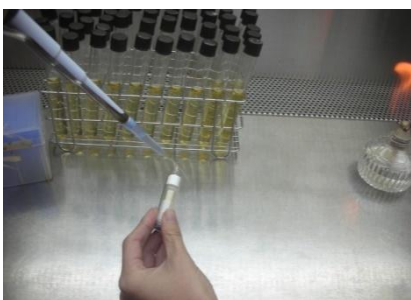
a.購自食品工業發展所之醋酸菌菌粉凍乾管(*Gluconacetobacter xylinus*, BCRC 14148)



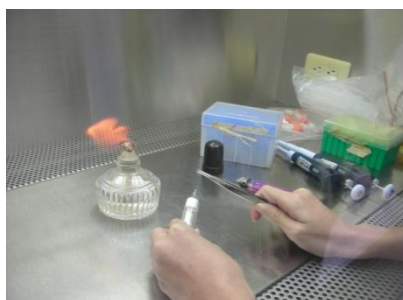
b.實驗耗材準備：培養皿、無菌水、螺旋蓋試管、菌粉凍乾管等



c.凍乾管頂部以酒精燈加熱



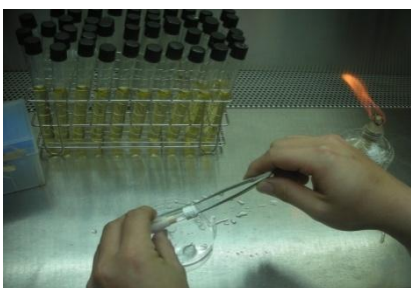
d.迅速以無菌水澆滴高溫的凍乾管頂部，使頂部因熱漲冷縮產生裂痕



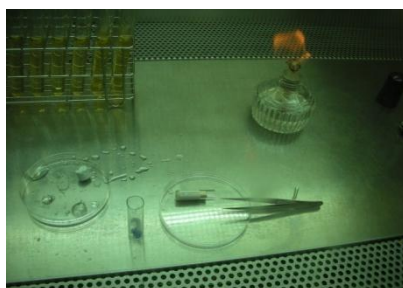
e.以經過酒精燈殺菌之鑷子，敲破凍乾管上部龜裂處



f.鑷子經過酒精燈高溫消毒



g.以鑷子取出凍乾管的紙塞



h.以鑷子取出內管



i.以鑷子取出內管之棉花塞



j.內管底部即為菌粉



k.滴入液體培養基，震盪使菌粉均勻懸浮並溶解



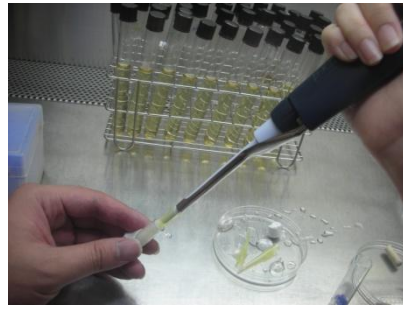
l.以微量吸管輕微震盪內管，菌粉均勻懸浮並溶解

圖 2. 醋酸菌菌種開管過程

2.醋酸菌之活化過程：醋酸菌開管後，緊接著需再經活化程序(圖 3)，才能使用在細菌性纖維素的發酵作用。



a. 含液體培養基試管瓶蓋過火消毒



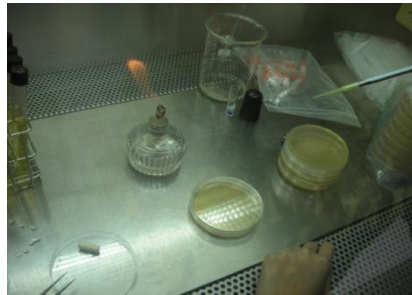
b. 取 0.2 ml 已均勻懸浮的菌液



c. 將定量菌液加入含液體培養基之試管中



d. 蓋上螺旋蓋試管過火消毒



e. 取用培養皿(內含固體培養基)



f. 取 0.2 ml 已經均勻懸浮的菌液



g. 取用已浸泡於酒精內之 L 型玻棒



h. 使用完畢，放入酒精中備用



i. 取固定長度石蠟膜



j. 以石蠟膜密封植入菌種之試管



k. 以石蠟膜密封植入菌種之培養皿



l. 置入 30°C 培養箱 1 天後試管變濁  
培養皿長出菌落，菌體活化完成

圖 3. 醋酸菌菌種活化過程 (a-l)

## (二)細菌性纖維素的製造方法

實驗步驟(以柳橙汁為例)(圖 4)：

- 1.保鮮盒、燒杯、玻棒等實驗器具，以滅菌釜滅菌約 30 分鐘後取出備用。
- 2.柳橙去皮榨汁，紗布過濾除去多餘的果肉。
- 3.取數個含蓋的保鮮盒，倒入定量柳橙汁至液面高度約 2.5 cm。
- 4.每盒調整添加醋酸濃度 0.4%~1.0% (v/v)、糖度 12°~18° Brix。
- 5.調整 pH 值 3.5~5.0 及添加氮源(peptone)0~1.0g/l。
- 6.倒入 20~35%柳橙液體積的醋酸菌，保鮮盒內之液體總體積調整為 140ml 攪拌均勻後，加蓋。
- 7.放入 30°C 培養箱中，靜置培養 10 天後，即可生成細菌性纖維素產品。
- 8.取出細菌性纖維素產品，以 1MNaOH 溶液煮沸，浸洗殘留在椰果上的醋酸液。
- 9.再以清水多次漂洗，以擦手紙吸乾表面水份，秤重後記錄。

## (三)氮源的替代實驗(圖 4)

說明：peptone 氮源價格昂貴，可收集製造豆腐或豆漿廢棄的豆粕取代 peptone 氮源來製造細菌纖維素，經濟又環保。

方法：產製豆腐或豆漿所剩之豆粕或其他含氮量高的食品廢棄物，可取代昂貴的 Peptone，再依照如前述之(1)~(9)實驗步驟進行製造細菌性纖維素。



a. 實驗器材置入滅菌釜消毒



b. 將柳橙洗淨後拭乾



c. 削皮後榨汁並過濾備用



d. 準備果糖、氮源、醋酸菌及柳橙汁等原料



e. 量計測柳橙汁之酸鹼度



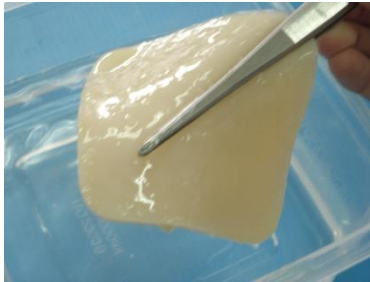
f. 以 0.5M NaOH 調整 pH



g. 調製完成之培養液置入 30°C 恆溫培養箱中



h. 靜置培養 10 天後之細菌性纖維素產品



i. 取出細菌性纖維素產品



j. 產品以清水漂洗後，用擦手紙或濾紙吸乾表面水份



k. 測量產品厚度



l. 產品稱重後記錄

圖 4. 細菌性纖維素(椰果)製造過程



#### (四)探討細菌性纖維素生產的最佳條件(圖 5)

說明：以柳橙汁為培養基質，採用逐步固定變因方法，探討細菌性纖維素生產的最佳條件。

##### Test1：最佳氮源用量及柳橙汁培養基質初始 pH 值實驗

說明：以氮源用量及柳橙汁培養基質初始 pH 值為操縱變因，其餘之醋酸濃度、醋酸菌接菌量及糖度為控制變因。

方法：(1)氮源用量分別以 0、0.3、0.6 及 1.0g/l；pH 值分別以 5.0、4.5、4.0 及 3.5 為操縱變因，控制變因之各項用量為醋酸濃度(v/v)1.0%、醋酸菌接菌量(v/v)30%及糖度 12°Brix，兩者共 16 個組合實驗(表 1)。

(2)取相同容積保鮮盒(9x9x4cm)16 個，依表 1 之 16 個組合實驗，各別加入柳橙汁、peptone 氮源、醋酸、醋酸菌及果糖等液體後，調整總體積為 140ml，液面高度為 2.5 cm。

(3)依細菌性纖維素製造實驗步驟，於 30°C 恆溫培養箱中，靜置培養 10 天，取出椰果成品稱種，以產出椰果重量最多者，即是最佳氮源用量及 PH 值。

表 1：氮源用量及溶液初始 pH 值之實驗組合

氮源 (peptone )		0 g/L	0.3 g/L	0.6g/L	1.0 g/L
初 始 pH 值	5.0	樣品 1	樣品 5	樣品 9	樣品 13
	4.5	樣品 2	樣品 6	樣品 10	樣品 14
	4.0	樣品 3	樣品 7	樣品 11	樣品 15
	3.5	樣品 4	樣品 8	樣品 12	樣品 16

##### Test 2：最佳醋酸濃度實驗

說明：以醋酸濃度(v/v)為操縱變因，由 Test1 得知最佳氮源、pH 值及其餘之醋酸菌接菌量及糖度為控制變因。

方法：(1)醋酸濃度(v/v)用量分別以 0.4%、0.6%、0.8% 及 1.0% 為操縱變因，控制變因之各項用量為醋酸菌接菌量(v/v)30%、糖度 12°Brix，而氮源、pH 值是應用 Test1 實驗所得之最佳數值。

(2)取相同保鮮盒 12 個，重複實驗三次，共 12 個組合參數，各別加入柳橙汁、peptone、醋酸、醋酸菌及果糖等液體後，調整總體積為 140ml，液面高度為 2.5 cm。

(3)依細菌性纖維素的製造實驗步驟，於 30°C 恆溫培養箱中，靜置培養 10 天取出椰果成品稱種，以椰果產出重量最多者，即是最佳醋酸濃度。

### Test 3：最佳醋酸菌接菌量實驗

說明：以醋酸菌接菌量(v/v)為操縱變因，由 Test1 及 Test2 實驗得知之最佳氮源、pH 值、醋酸濃度用量及糖度為控制變因。

方法：(1)醋酸菌接菌量(v/v)用量分別以柳橙溶液用量的 20%、25%、30% 及 35% 為操縱變因，控制變因之各項用量為糖度 12°Brix，而氮源、pH 值及醋酸濃度是應用 Test1 及 Test 實驗得知之最佳數值。

(2)取相同保鮮盒 12 個，重複實驗三次，共 12 個組合參數，各別加入柳橙汁、peptone、醋酸菌、醋酸菌液及果糖等液體後，調整總體積為 140ml，液面高度為 2.5 cm。

(3)椰果成品稱種，以椰果產出重量最多者，即是醋酸菌接菌量之最佳數值。

### Test 4：最佳柳橙液糖度實驗

說明：以柳橙液糖度為操縱變因，由 Test1、Test2 及 Test3 實驗得知之最佳氮源、pH 值、醋酸濃度、醋酸菌接菌量參數為控制變因。

方法：(1)柳橙液糖度以外加果糖，調整柳橙溶液糖度分別為 12°、14°、16° 及 18°Brix 為操縱變因數，而氮源、pH 值、醋酸濃度、醋酸菌接菌量等控制變因之各項用量是應用 Test1、Test2 及 Test3 實驗所得之最佳條件。

(2)取相同 12 個，重複實驗三次，共 12 個組合參數，各別加柳橙汁、peptone、醋酸菌、醋酸菌液及果糖等液體後，調整總體積為 140ml，液面高度為 2.5 cm。

(3)依細菌性纖維素的製造實驗步驟，於 30°C 恆溫培養箱中，靜置培養 10 天取出椰果成品稱種，以椰果產出重量最多者，即是最佳柳橙液糖度。



a. 準備柳橙、豆粕等原料篩選適合的培養基質



b. 以廢棄的豆粕代替氮源 (peptone) 環保又經濟



c. 豆粕攪拌後過濾去除殘渣



d. 各種參數配方實驗



e. 調整溶液的糖度變因



f. 調整溶液的 PH 值變因



g. 椰果製造最佳參數實驗



h. 完成參數配方置入 30°C 恆溫箱培養 10 天



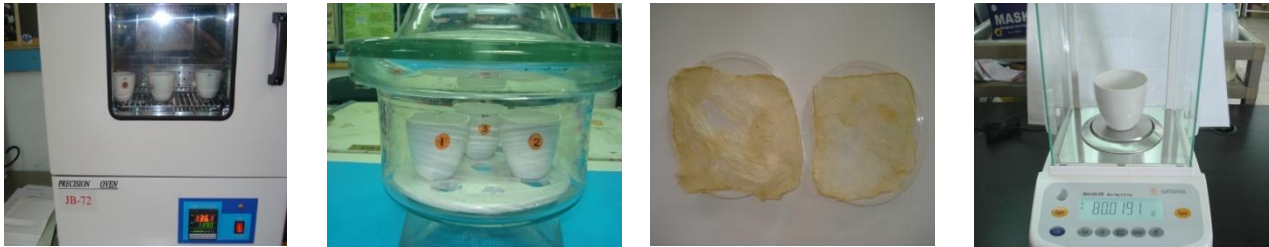
i. 由最佳配方參數配方所得之實驗成品(椰果)

圖 5. 椰果製造的氮源替代實驗及最佳參數之實驗情形

### 三、細菌纖維素的特性研究

#### (一)含水量分析(圖 6a-d)

方法：取柳橙椰果成品，以擦手紙吸乾表面水份後，置入陶瓷坩鍋內稱重；放入烘箱，以 102℃ 恆溫乾燥，每隔 2 小時取出，置入乾燥器中，待冷卻稱重後，再放回烘箱中乾燥，直至重量不再減少時，取出稱重，計算含水量。



a. 椰果放入烘箱乾燥      b. 烘乾置入乾燥器中冷卻      c. 完全乾燥後的椰果      d. 乾燥的椰果稱重

圖 6. 椰果含水量分析之實驗情形

#### (二)吸水性分析(圖 7a-d)

方法：取完全乾燥的椰果以研鉢磨成細粉，裝入微離心試管中稱重，加入 1ml 的純水，靜置浸泡 24hr. 後過濾，傾倒上層水分後稱重，計算吸水量。重複實驗三次。



a. 取乾燥的椰果備用      b. 乾燥椰果磨成細粉      c. 粉末稱種置入微離心管後加水浸泡 24hr.      d. 浸泡後取出過濾去除水分後再稱重

圖 7. 椰果粉吸水性分析實驗情形

#### (三)發酵液的抗氧化實驗

方法一：碘滴定法

1. 實驗原理：碘為一種氧化劑，椰果製造剩餘之副產品-發酵液，若會與一定濃度的碘液反應，可證明其具有還原性，若消耗碘液的量愈多，其還原性愈強。

2. 實驗步驟(圖 8a-c)：

- (1) 配製 0.020M 碘液。
- (2) 取發酵液 10.00ml 置入錐形瓶中，加 1ml, 6M 硫酸並滴入 1ml 澱粉液為指示劑。
- (3) 以 0.020M 碘液滴定至變為藍色即為滴定終點。
- (4) 讀取用去之碘液之毫升數，重複實驗三次。

## 方法二：清除 DPPH 自由基能力測定

1.實驗原理：DPPH 是較為安定的自由基，實驗所採用的 DPPH 甲醇溶液在 517nm 下有強的吸光值；若與發酵液反應，會降低吸光值，表示有清除 DPPH 自由基能力，亦即具有抗氧化性能。

2.實驗步驟(圖 8d-f)：

(1)以甲醇為溶劑配製 0.05m DPPH 溶液。

(2)取 0.05mM 的 DPPH 溶液 2.500ml、以及發酵液 0.5ml，混合均勻後，於室溫下避光靜置 30 分鐘。

(3)以分光光度計測其 517nm 之吸光值，重複實驗三次。

(4)取甲醇做空白實驗，計算清除 DPPH 自由基能力(百分率)。



a.準備藥品做碘滴定實驗



b.碘滴定實驗操作情形



c.滴定前無色滴定終點藍色



d.清除 DPPH 自由基能力測定  
實驗藥品及儀器



e.發酵液檢樣震盪混合均勻



f.以分光光度計測定發酵液  
之吸光值

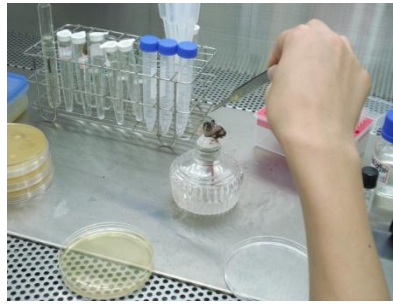
圖 8.細菌纖維素發酵液的抗氧化實驗

## (四)細菌性纖維素吸收發酵液或精油對 *E. coli* 的抑菌實驗

方法：以細菌性纖維素(椰果)浸在發酵液中，或 1%之茶樹精油中，靜置隔夜取出，椰果會吸取發酵液及茶樹精油，對 *E. coli*(大腸桿菌)做抑菌實驗(圖 9)。



a. 準備抑菌實驗器材與藥品



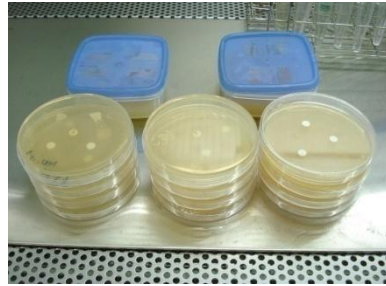
b. 儀器滅菌後以酒精燈過火



c. 以無菌的棉花棒沾取菌液



d. 以微量吸管吸取醋酸菌發酵液滴在紙錠上



e. 做好的紙錠培養皿以石蠟膜封好



f. 置入 37°C 培養箱培養 48hr.

圖 9. 細菌性纖維素發酵液對 *E. coli* 的抑菌實驗

## 四、細菌纖維素在生活上的應用研究

### (一) 製成一般面膜

1. 說明：細菌性纖維素富含水分，有彈性有保濕效果，很適合製成面膜使用。

2. 方法：

- (1) 利用柳橙或豆粕基質產製纖維膜後，配製 1M NaOH 加熱至沸騰。
- (2) 將膜放入浸泡數分鐘，以中和殘留在面膜表面的醋酸菌液。
- (3) 取出纖維膜以水清洗完成後，再利用純水沖洗數次，最後用冰水浴浸泡 24 時，纖維膜成品呈淡黃色或白色。
- (4) 依面敷部位，經適當剪裁纖維膜大小，即可使用。

### (二) 製成特殊面膜

1. 說明：濕膜可吸收特殊功能成分，如具抗氧化及抑菌成分之澳洲茶樹精油等製成特殊面膜。

2. 方法(以澳洲茶樹面膜為例)：

- (1) 配製 1~2% 之茶樹精油溶液 500ml，倒入容器中。
- (2) 將豆粕濕膜或柳橙濕膜放入，浸泡 24 小時使充分吸收。
- (3) 取出適當剪裁後，即成具抑菌及抗氧化作用的茶樹面膜。

### (三) 製成食品原料

1. 說明：細菌性纖維素(椰果)，經水洗後即可食用，或可加工製成食品原料；食用後具有飽足感，可作為低熱量之膳食纖維食品。

## 2.方法：

- (1)椰果經水洗後即可切塊食用，濕膜冷凍乾燥後可作為食品原料。
- (2)以 80°C 溫度烘乾後磨粉，可加入五穀粉或咖啡中混合食用。。
- (3)椰果經水洗切塊後加入飲料中，可調製成椰果綠茶、椰果紅茶、及椰果醋飲及椰果奶茶等多種飲品。

## (四)其他

細菌性纖維素在工業上未來可研發成超細濾膜等材料，此外如配合生醫、美容等各領域之專業技術人員研發，在未來應有前瞻性的發展。

# 伍、研究結果

## 一、細菌性纖維素的製造並找出最佳的生產條件

### (一)細菌性纖維素的製造

實驗結果：

- 1.以柳橙汁為培養基質製造的椰果(圖 10a)：本產品是以柳橙汁為培養基質、氮源 0.6 g/L，pH=4.5，醋酸濃度(v/v)0.8%，醋酸菌接菌量(v/v)25%，糖度 14°Brix 等最佳之生產配方組合，調整液體總體積為 140ml，液面高度 2.5 cm，靜置於 30°C 恆溫培養箱中培養 10 天所生成之細菌性纖維素(柳橙椰果)成品，產率達 400g/L。
- 2.以豆粕為培養基質製造的椰果(圖 10b)：製法配方同上，豆粕椰果成品，產率達 350g/L。



圖 10a.柳橙椰果



圖 10b.豆粕椰果

### (二)細菌性纖維素生產的最佳條件

Test 1：最佳氮源用量及柳橙初始 pH 值實驗

- (1) 實驗紀錄(表 2)：是以不同的 peptone(蛋白胨)用量及柳橙培養基質溶液之初始酸鹼度為變因，使用醋酸濃度(v/v)1.0%、醋酸菌接菌量(v/v)30%及糖度 12°Brix 為控制變因。

表 2：不同氮源(peptone)及初始 pH 值對椰果生成之差異

單位：g

初始 pH 值	氮源 (peptone) g/l			
	0	0.3	0.6	1.0
5	0	34.0	50.4	50.2
4.5	0	34.0	53.0	53.2
4	0	30.5	48.8	48.7
3.5	0	28.6	43.0	43.8

註：表中 0 表示無椰果生成

(2) 實驗結果：以 pH=4.5，氮源(peptone)=0.6 g/L，為生產細菌性纖維素最佳的氮源用量及柳橙培養基質溶液初始酸鹼度。

#### Test 2：最佳醋酸濃度實驗

(1) 實驗紀錄(表 3)：是以不同的醋酸濃度用量為操縱變因，使用醋酸菌接菌量(v/v)30%、糖度 12°Brix，及 Test 1 所得之最佳氮源(0.6 g/L)、pH(4.5)用量為控制變因。

表 3：不同醋酸濃度對椰果生成量之影響

單位：g

醋酸濃度	0.4	0.6	0.8	1.0
重複	%			
1	45.8	48.0	51.6	51.0
2	44.0	47.8	52.0	52.0
3	43.5	47.6	53.0	52.5
平均	44.4	47.8	52.2	51.8

(2)實驗結果：醋酸濃度(v/v)% = 0.8%，平均生成之椰果重量最多，為生產細菌性纖維素最佳的醋酸濃度。

#### Test 3：最佳醋酸菌接菌量實驗

(1) 實驗紀錄(表 4)：是以不同的醋酸菌接菌量為操縱變因，使用糖度 12°Brix，及 Test 1、Test 2 所得之最佳氮源(0.6 g/L)、pH(4.5)與醋酸濃度(0.8%)用量為控制變因。



表 4：不同醋酸菌接菌量對椰果生成量之影響

單位：g

醋酸菌接菌量	20	25	30	35
重複	%			
1	47.8	53.5	53.4	53.9
2	48.2	53.6	54.3	54.0
3	47.0	53.7	53.5	53.8
平均	47.7	53.6	53.7	53.9

(2)實驗結果：由表 4 實驗結果得知，醋酸菌接菌量若超過 25%，椰果產量增加甚微，考量購買醋酸菌之成本，故接菌量以 25% 用量為宜，選為生產細菌性纖維素之最佳用量。

#### Test 4：最佳柳橙液糖度實驗

(1) 實驗紀錄(表 5)：是以不同的柳橙液糖度為操縱變因，使用 Test 1、Test 2 及 Test 3 所得之最佳氮源(0.6 g/L)、pH(4.5)、醋酸濃度(0.8%)及醋酸菌接菌量 25% 為控制變因。

表 5：不同糖度對椰果生成量(g)之影響

單位：g

糖度	12	14	16	18
重複	°Brix			
1	48.0	54.0	54.3	55.0
2	46.8	54.3	54.6	54.4
3	50.6	54.0	55.0	54.8
平均	48.5	54.1	54.6	54.7

(2)實驗結果：糖度 14°~18° 椰果生成量相當接近，為節省添加果糖等成本，故糖度以 14°Brix 為宜，選為生產細菌性纖維素的最佳糖度。綜合 Test 1~4 實驗，細菌纖維素最佳的生產條件為：氮源 0.6 g/L，pH=4.5，醋酸濃度(v/v)0.8%，醋酸菌接菌量(v/v)25%，糖度 14°Brix。

## 二、細菌纖維素的特性研究

### (一)含水量分析

(1)實驗紀錄(表 6)：烘乾前稱種，每烘乾 2hr 後再稱種，直至重量不再減少為止。

表 6：烘乾時間對細菌纖維素(椰果)之失水量之影響

處理	烘乾前 重量(g)	烘乾 2hr 後		烘乾 4hr 後		烘乾 6hr 後		烘乾 8hr 後	
		重量 (g)	失重 (%)	重量 (g)	失重 (%)	重量 (g)	失重 (%)	重量 (g)	失重 (%)
椰果樣品 1	9.147	0.786	91.4	0.325	96.4	0.324	96.5	0.324	96.5
椰果樣品 2	9.808	0.853	91.3	0.311	96.8	0.196	98.0	0.196	98.0
椰果樣品 3	8.407	0.548	93.5	0.135	98.4	0.103	98.8	0.102	98.8
平均	9.121	0.729	92.1	0.256	97.2	0.200	97.8	0.200	97.8

(2)實驗結果：平均含水率達 98%，烘乾前椰果(圖 11a)厚度約 1cm，烘乾 8hr 後厚度如一張白紙厚度(圖 11b)。

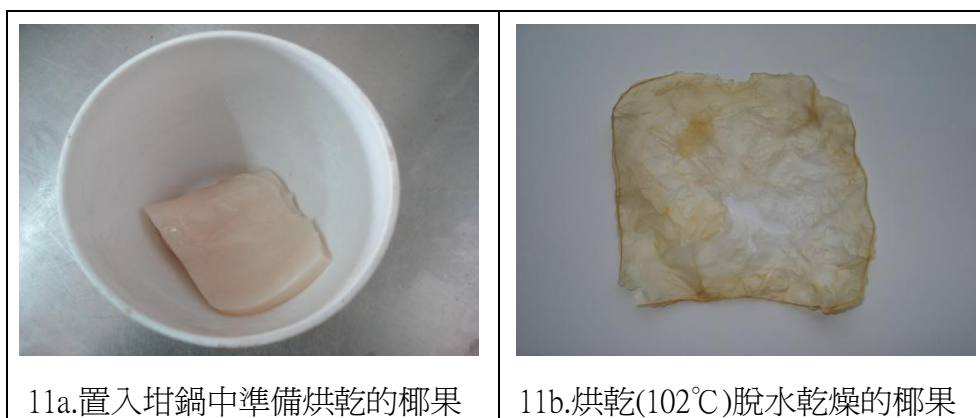


圖 11. 椰果含水量分析

## (二)吸水性分析

(1) 實驗紀錄：分別測試柳橙與豆粕乾粉之吸水情形(表 7、8)

表 7：柳橙椰果乾粉之吸水性分析

實驗項目	微離心管 加樣品重	微離心管重	樣品重	吸水後重 <sup>(註)</sup>	吸水率
重複	g				%
1	1.1271	1.1029	0.0242	1.2026	311.98
2	1.1515	1.1268	0.0247	1.2465	384.62
3	1.1336	1.1095	0.0241	1.2334	414.11
平均	<b>1.1374</b>	<b>1.1131</b>	<b>0.0243</b>	<b>1.2275</b>	<b>370.24</b>

註：吸水後重指微量離心管加吸水後樣品總重量

表 8：豆粕椰果乾粉之吸水性分析

實驗項目	微離心管 加樣品重	微離心管重	樣品重	吸水後重 <sup>(註)</sup>	吸水率
重複	g				%
1	1.1380	1.1116	0.0264	1.2067	260.23
2	1.1337	1.1103	0.0234	1.2082	318.38
3	1.1194	1.0958	0.0236	1.1838	272.88
平均	<b>1.1304</b>	<b>1.1059</b>	<b>0.0245</b>	<b>1.1996</b>	<b>283.83</b>

註：吸水後重指微量離心管加吸水後樣品總重量

(2)實驗結果：柳橙椰果乾粉平均吸水率約 370%，較豆粕椰果乾粉平均吸水率 283%高。  
平均吸水率約 327%。

## (三)發酵液的抗氧化實驗

### 1.碘滴定法

實驗結果：

(1)發酵液試樣 10.00ml，滴定時平均用去 0.020M 碘液 3.37ml，表示細菌性纖維素製造後之發酵液具有抗氧化力。

(2)滴定終點呈藍色，反應終點靈敏。

### 2.清除 DPPH 自由基能力測定

(1)實驗紀錄(表 9)：以 DPPH 甲醇溶液在波長 517nm 下與發酵液反應測定吸光值。

表 9.發酵液清除 DPPH 自由基能力測定

實驗次數	空白組 (甲醇)	試樣 1	試樣 2	試樣 3	平均
1	0.845	0.490 <sup>(註)</sup>	0.607	0.587	0.632
2	0.810	0.584	0.640	0.620	0.664
3	0.896	0.589	0.665	0.608	0.690
平均吸光值	0.850	0.554	0.637	0.605	0.662
清除自由基 (DPPH)能力(%)		35	25	29	30

註：表示吸收度，若為 0，所代表的意義即為完全無吸收。

(2) 實驗結果：清除自由基(DPPH)能力% = (空白組於 517nm 吸光值 - 樣品反應後於 517nm 吸光值) / (空白組於 517nm 吸光值) × 100；以柳橙汁製造椰果後，剩下之發酵液，清除自由基(DPPH)能力約 30%，清除自由基(DPPH)能力雖未超過 50%，但可表示發酵液具有抗氧化力，有應用價值。

(四)細菌性纖維素吸收發酵液或精油對 *E. coli* 的抑菌實驗，結果如圖 12：

1. 抑菌圈大小量測：空白紙錠 6mm、penicillin 15mm、椰果滴茶樹精油 14mm、椰果滴發酵液 13mm、紙錠滴發酵液 8mm。
2. 由抑菌實驗得知椰果吸收發酵液、或吸收茶樹精油，皆有抑菌圈形成，可證明發酵液、椰果吸附發酵液或茶樹精油後，皆具有抑菌作用，抑菌圈直徑愈大，抑菌能力愈強。



圖 12.細菌性纖維素對 *E. coli* 的抑菌實驗

### 三、細菌纖維素在生活上的應用研究

#### (一) 製成一般面膜

實驗結果：本產品是在學校實驗中，於無菌操作台之操作環境下，於 30°C 恆溫培養箱中，靜置培養 10 天所生成細菌性纖維素產品。培養基質溶液發酵時；若適當控制液面高度及生長條件，可製成約 2~4mm 濕膜，適合製成面膜(圖 13)，經濟實惠。

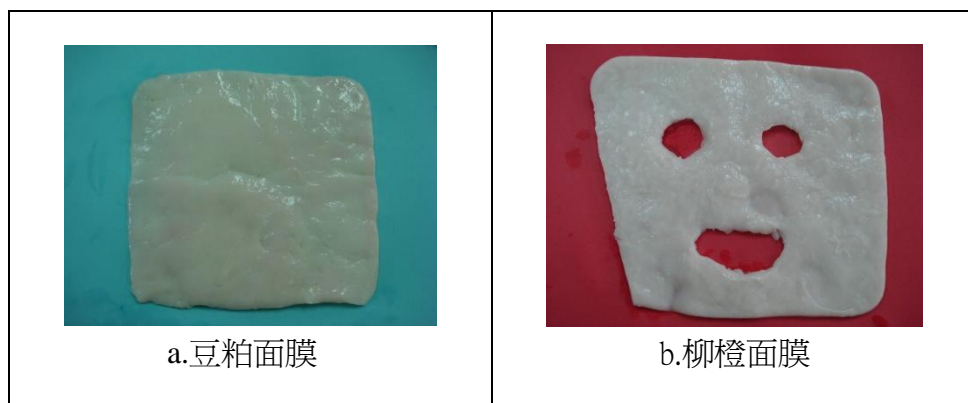


圖 13.一般面膜成品

#### (二) 製成特殊面膜

實驗結果：油精油對 *E. coli* 的抑菌實驗得知，細菌性纖維素吸附茶澳洲茶樹精油後，具有抑菌作用。因此可將豆粕濕膜或柳橙濕膜置入 1~2% 茶樹精油或迷迭香精油中，充分浸泡吸收，經適當剪裁後，即成為具有抑菌的茶樹面膜及迷迭香面膜 (圖 14)。另可加入對肌膚具美白或防痘等功效成份之添加物，研發更具多方面特色的面膜。

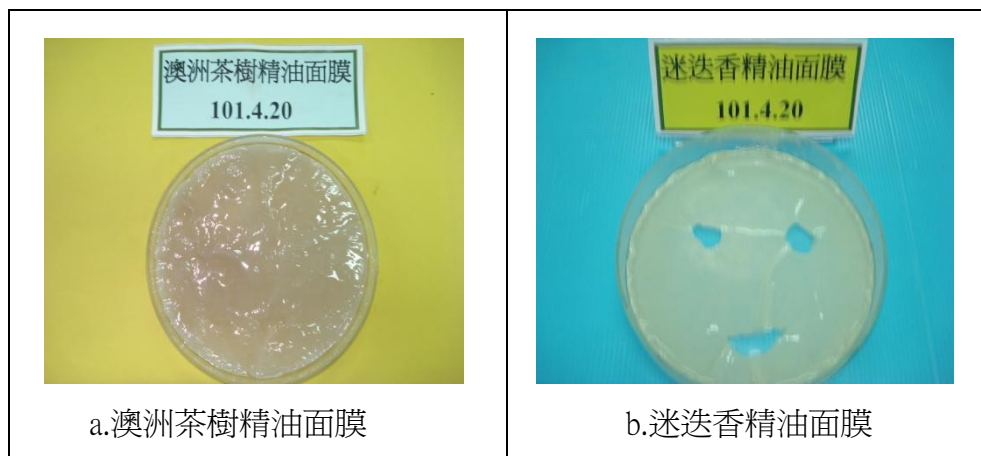


圖14.特殊面膜成品

### (三)製成食品原料

實驗結果：椰果製品經以溫水煮沸並多次水洗後，即可切塊食用。濕膜冷凍乾燥後可作為食品原料。另可以約 80°C 的溫度，將濕膜製品烘乾後磨粉(圖 15)，並可加入五穀粉、杏仁粉或咖啡中混合食用，是一種很好的食品加工原料。又椰果經煮沸水洗處理後加入各種飲料中，可調製成椰果綠茶、椰果紅茶、及椰果醋飲、椰果奶茶等飲品(圖 16)，增加口感種，其食用後又具有飽足感，可開發成減肥食品，潛力與商機無限。

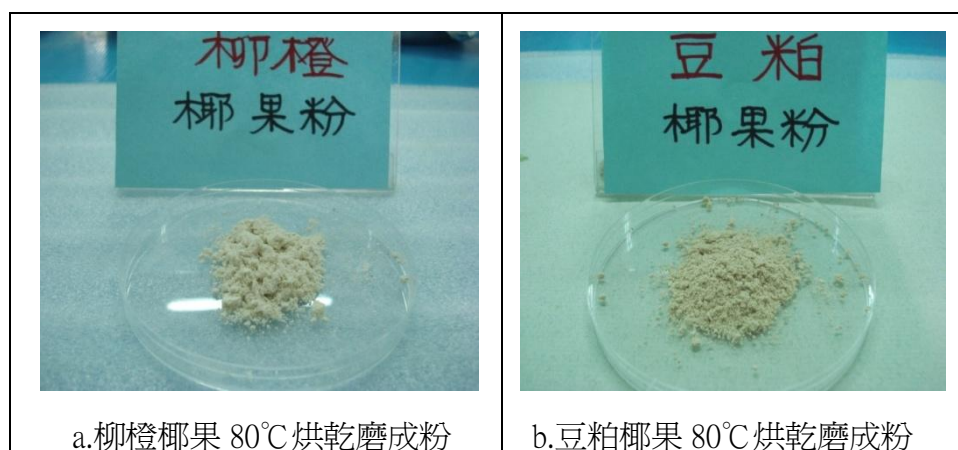


圖 15.椰果加工成食品原料

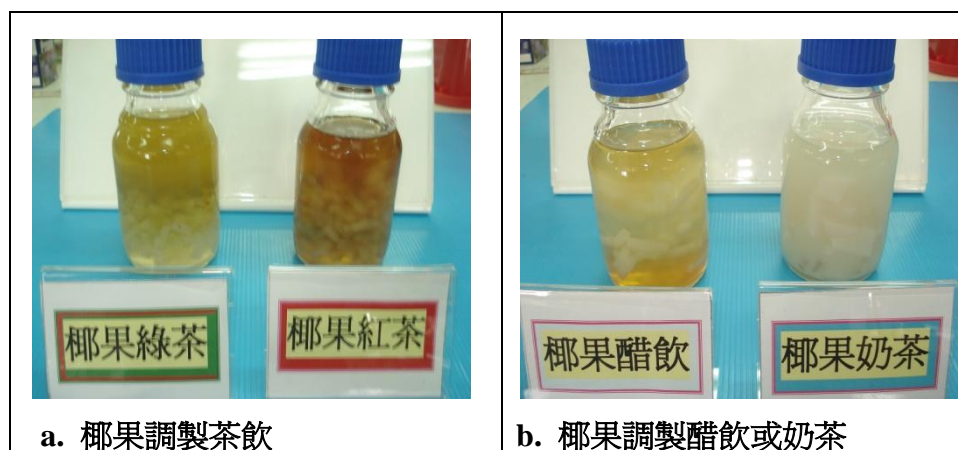


圖 16.椰果飲料成品

## 陸、討論

### 一、細菌性纖維素的製造

製造細菌性纖維素的三種主要原料是碳源、氮源及醋酸菌，本實驗是以去年嘉義縣竹崎鄉盛產的柳橙榨汁以替代傳統使用的椰子水做為碳源，以蛋白胨(peptone)為氮源；並收集豆腐製造商家廢棄的豆粕做為替代氮源以節省製造成本；醋酸菌是購買自食工所之醋酸菌(*Gluconacetobacter xylinus*, BCRC 14148)菌粉凍乾管，需於無菌操作台環境下，開管

後加入液體培養基(Yeast Glucose Agar : Yeast extract 10g、Glucose 20g、Agar 15g、H<sub>2</sub>O)，並植入菌種，長出菌落使菌體活化後才能使用。

製造細菌性纖維素時，使用器具必須事先置入滅菌釜中消毒，以避免樣本受汙染，而影響產品的生成。細菌性纖維素在發酵過程中，有少許的氣泡產生，因此當氮源與碳源的培養基質完成組合置入恆溫培養箱時，塑膠盒必須有小孔使反應過程中氧氣可進出。

實驗過程中我們選用豆粕取代 peptone 氮源，以柳橙為碳源取代椰子水，所產出之椰果最合乎經濟利益，產率雖略遜於以 peptone 為氮源和以柳橙為碳源的組合，由於豆粕是取自於製造豆漿或豆腐所剩下的殘渣，不用成本，值得多加利用，環保又節能省碳。

Test 1 探討細菌性纖維素生產的最佳氮源用量及柳橙初始 pH 值實驗結果發現以 pH 4.5，peptone 氮源 0.6 g/L，為生產細菌性纖維素最適的用量若 pH 值提升至 5.0，peptone 氮源用量提升至 1.0g/L，生成之椰果產量並無顯著的增加。Test 2 探討最佳醋酸濃度，實驗結果發現使用醋酸濃度(v/v)=0.8%，平均生成之椰果重量最多，若使用醋酸濃度 1% 生成之椰果產量反略為減少。Test 3 最佳醋酸菌接菌量實驗，結果發現用菌量超過 25% 生成之椰果產量無顯著增加。Test 4：最佳糖度實驗結果發現使用糖度超過 14°Brix，產量增加有限，外加果糖或蔗糖等，需增加製造成本費用，故糖度以不超過 14°Brix 為宜。

以柳橙汁、氮源 0.6 g/L，pH=4.5，醋酸濃度(v/v)0.8%，醋酸菌接菌量(v/v)25%，糖度 14°Brix 等最佳配方組合製造柳橙椰果成品，產率達 400g/L。改以豆粕液經再濃縮後，取代 peptone 氮源製造椰果，產率亦可達 350g/L，收集廢棄的豆粕製造椰果，節能又環保。

## 二、細菌性纖維素的特性研究

### (一)含水量分析

測定細菌性纖維素的含水量實驗，溫度宜在 102~103°C 進行，溫度過高，失水後之椰果僅剩纖維素成分，易變成焦黃而失去實驗的準確性；另烘乾稱重前應放入玻璃乾燥器中(圖 6b)待冷卻後再稱重，以免暴露在空氣中又吸收水分，而造成實驗誤差。經測定柳橙椰果之含水量達 98%。若使用不同的培養基質(椰水、柳橙等)，其含水量亦不同，通常在 90%~99%範圍(許，2004)。

### (二)吸水性分析

乾燥椰粉可做為食品原料，經吸水性分析，椰果乾粉平均吸水率約 327%，吸水性的多寡可做為椰果乾粉用以搭配其他食材加工之參考。

### (三)發酵液的抗氧化實驗

具有抗氧化作用的物質，其本身可視為一種還原劑，因此在探討發酵液的抗氧化的作用時，是應用在自然課所學的氧化還原方法(陳，2011)測定發酵液的抗氧化作用。  
方法一：碘滴定法，實驗時取製造椰果的副產品-發酵液，以澱粉溶液當指示劑，碘遇澱粉液呈藍色，當發酵液與碘反應完全，滴定終點時溶液會由無色變成藍色滴定終點明顯。  
方法二：清除 DPPH 自由基能力，其原理是 DPPH(2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)為一種較穩定的自由基，抗氧化物質與 DPPH 作用時，抗氧化物質提供電子或氫質子而可清除自由基，因而 DPPH 自由基就會失去本身藍紫色特性而造成吸光值的下降，當 DPPH 自由基

被清除愈多時，其吸光值下降愈多，利用吸光值減少百分比可判斷發酵液清除 DPPH 自由基能力之強弱；以柳橙汁製造椰果後，剩餘之發酵液，經實驗得知發酵液具抗氧化力。

#### (四)細菌性纖維素吸收發酵液或精油對 *E. coli* 的抑菌實驗

抑菌實驗使用器具需於實驗前，置入滅菌釜中消毒，以免實驗樣品遭受汙染；另操作前後，操作者手部須噴灑酒精消毒。實驗得知副產品-發酵液、椰果吸收發酵液或茶樹精油後皆具有抑菌作用。

### 三、細菌纖維素在生活上的應用研究

#### (一)製成一般面膜

細菌性纖維素富含水分，具彈性有保濕效果，當培養基質溶液發酵時，若適當控制培養液面高度，可製成約 2~4mm 濕膜，適合做面膜，成本低，經濟效益高。

#### (二)製成特殊面膜

經前述之細菌性纖維素吸收精油對 *E. coli* 的抑菌實驗，證實細菌性纖維素吸附茶樹精油後，具有抑菌作用。因此可將豆粕濕膜或柳橙濕膜置入 1~2% 茶樹精油或迷迭香精油中，浸泡 24 小時使充分吸收，取出依使用部位經適當剪裁後，即成具有抑菌及抗氧化的茶樹面膜及迷迭香面膜，若要延長保存期限，需經滅菌等必要的衛生處理。另可加入對肌膚具美白、防痘等功效成份之添加物，研發更具多方特色的面膜，唯此為生醫技術範圍，待他日再繼續鑽研探討。

#### (三)製成食品原料

椰果製品經充分水洗後即可切塊食用，濕膜冷凍乾燥後可作為食品原料。另可以以 80°C 溫度烘乾後磨粉，可加入五穀粉或三合一咖啡中混合食用。又椰果經水洗切塊後加入飲料中，調製成椰果綠茶、椰果紅茶、及椰果醋飲、椰果奶茶等飲品。椰果是一種低熱量食材，食用後具有飽足感可開發成膳食纖維食品。

#### (四)其他

做為食品原料、燒傷保護膜、動物細胞皮膚培養基、複合纖維、超細濾膜、生醫材料等用途廣泛，及具開發與經濟價值(李，2008)。

## 柒、結論

現代人類生活品質日益提升，開發兼具安全與衛生，天然與抗氧化機能性的食品，而細菌性纖維素及其具有抗氧化之副產品-醋酸發酵液，正符合此條件的新興食品。它是一種高纖維之低熱量食品，因食用後具有飽足感，可開發成頗具潛力的優良減肥或膳食纖維食品；又其自身具有的保水性、彈性及超細纖維結構等特性，未來可應用開發為生物醫學材料或多用途之工業產品。在柳橙過剩時期，大量收購予以製造成椰果及附加產品，提昇了柳橙的經濟價值，不但解決農產品生產過剩，農民賤價出售的窘境，更是開啓了無限的商機。再者，若能利用廢棄的豆粕來取代昂貴的氮源，更符合節能減碳，環保的理念，真是一舉兩得。



## 捌、參考資料

- 一、郭重吉，2011，國中自然與生活科技(四)，實驗活動手冊，南一出版社。
- 二、陳雅玲，2011，高中基礎化學(一)，氧化還原反應，龍騰出版社。
- 三、黃業建，2011，高中基礎化學(二)，生物科技，翰林出版社。
- 四、賴滋漢，1992，食品分析檢驗，富林出版社。
- 五、續光清，1991，食品工業，徐氏出版社。
- 六、廖芳瑜，1992，化學實驗手冊，台灣西書出版社。
- 七、李振綱，2008，細菌纖維素特性與應用，生化專題研究。
- 八、許啓南，2004，細菌性纖維素之生產條件與物理性質，國立台灣海洋大學食品科學系碩士論文。
- 九、李福臨，2010，綜論醋酸菌之分類與應用，食品工業研究專刊42(7):1~2。

## 【評語】 030803

1. 本作品旨在研究柳橙加入醋酸菌，以期產製細菌性纖維素，及其應用。
2. 本研究結果未來可開發成生醫、工業材料或食品產品，值得嘉許。