

中華民國第 62 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國小組 生活與應用科學(二)科

082908

黃豆的華麗轉身～微生物發酵研究

學校名稱：國立嘉義大學附設實驗國民小學

| | |
|---------------|---------------------|
| 作者： 小六 王子岳 | 指導老師： 翁秀玉 陳威廷 |
|---------------|---------------------|

關鍵詞：根黴菌、乳酸菌、營養成分

摘要

延續「穿上一身白雪的黃豆～天貝的研究」，今年探討黃豆微生物發酵天貝對營養成分的影響。我利用黃豆粉加少孢根黴菌、植物乳酸菌或兩菌混合菌粉，製成天貝豆泥作為麵包蟲飼料。與餵養未發酵豆泥比較，乳酸菌豆泥飼養組持續增重，而根黴菌或混合菌豆泥則先減輕後迅速增加。我懷疑麵包蟲不喜根黴菌味道，Y型岔路測驗結果顯示無嗅覺偏好，體重變化與味道無關。微生物發酵分解蛋白質成胺基酸，我透過薄層色層分析檢查樣本中游離胺基酸，結果顯示混合菌組產生最多的游離胺基酸，可解釋它們增重速度超越乳酸菌組。總結來說，我發現根黴菌與乳酸菌共同發酵時，可產生易吸收營養並提高體重增加速度，酵素分解蛋白質產生胺基酸的能力扮演重要角色。

壹、前言

一、研究動機

在 109 年我曾做過天貝的研究，第一年是探討製作天貝時影響黑色孢子產生的因素。研究過程中發現後續還有可以研究的內容，所以我思考少孢根黴菌的菌粉可以發酵製成天貝，那乳酸菌的菌粉可以製作天貝嗎？也想測試要用什麼方法才能讓天貝更營養。

二、研究目的

本研究探討不同微生物發酵天貝時對餵養麵包蟲體重增加的影響，有以下研究項目：

- 研究一：製作不同菌粉發酵的天貝飼料餵養麵包蟲
- 研究二：麵包蟲嗅覺實驗
- 研究三：分離發酵天貝產物水溶性物質
- 研究四：不同發酵對大豆蛋白分解成胺基酸的影響

三、文獻資料

(一)天貝 - 少孢根黴菌發酵產品

各種豆類種子富含營養成分，但是也會有抑制吸收的抗營養因子，例如胰蛋白酶抑制劑、凝集素、植酸、寡糖等，而人們常利用加熱或是微生物發酵來去除抗營養因子的活性。黃豆製成的食品中，常見有豆漿、豆腐等相關產品，而東南亞的印尼傳統食物中的天貝也是黃豆的發酵食品。少孢根黴菌是製造印尼天貝的主要菌種，蛋白酶與脂肪酶

的活性強，適合蛋白質含量高的黃豆為發酵基質，澱粉酶活性較弱，不適合將澱粉含量高的原料分解，例如綠豆。

天貝是將黃豆煮熟後去除種皮，讓少孢根黴菌可以在黃豆豆子上快速生長，靠著少孢根黴菌的很多酵素作用，將黃豆中的蛋白質、油脂分解成為容易被人類吸收的小分子，也可以防止其他造成腐敗或疾病的微生物汙染天貝中的黃豆，成為印尼人民傳統的高營養食物。

(二)天貝-將蛋白質分解成胺基酸

天貝(tempeh)也稱為丹貝，是印尼的傳統食品，黃豆發酵生產成為天貝後，蛋白質分解後的胺基酸含量增加，變得易於消化吸收，是素食者重要的蛋白質食物。

(三)乳酸菌

乳酸菌在生長時所產生的代謝產物會使環境呈酸性，而少孢根黴菌在酸性環境下生長的更好，其中又以利用植物乳酸菌共同發酵的效果更為良好。植物乳酸菌是一種適應力強大的乳酸菌，常在酸菜、醃橄欖等植物來源發酵產品中被發現的乳酸菌，而且可以減少黃豆的過敏性物質，是人類或動物應用中非常優秀的益生菌。




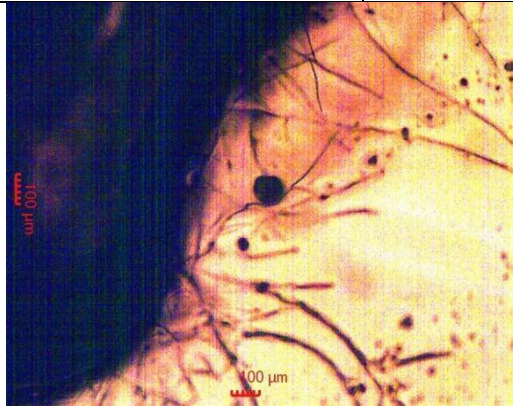
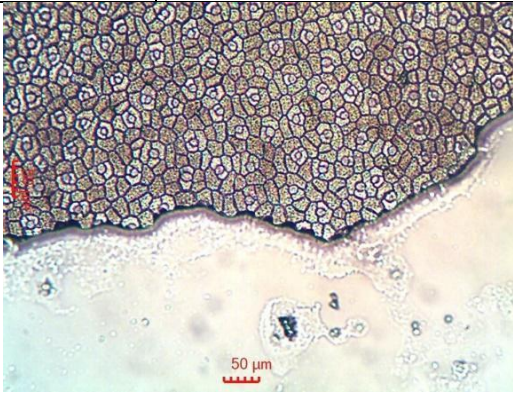
(四)第一年作品說明(109年科展)

查詢歷屆全國科展，沒有出現有關「天貝」的作品。民國109年本作者第一年開始進行天貝研究，作品名稱為「穿上一身白雪的黃豆~天貝的研究」，研究方向為「探討製作天貝時，影響黑色孢子產生的因素」。但今年(111年)的作品方向為「如何製作更營養的天貝」。

第一年作品說明如下：

1. 研究一：用泰國長香米製作天貝菌米麩

- (1)我將煮熟長香米加入10 mL醋、5 g天貝菌，混合均勻，分三組放入甲乙丙三種環境，【甲：錐形瓶、室溫26度】、【乙：錐形瓶、35度恆溫箱】、【丙：攤平並蓋上鋁箔紙、35度恆溫箱】，其中錐形瓶有加上可通氣的蓋子。觀察55小時。
- (2)甲乙組是不同溫度的比較，結果是高溫組(乙)的白色菌絲生長較快且多。
- (3)乙丙組不同溼度的比較，結果是乙組有足夠的溼度，能成功生長天貝米麩，丙組水分蒸散，米變乾燥，菌絲無法順利生長。
- (4)綜合以上，菌絲在溫度35度及高溼度條件下，會大量產生白色匍匐菌絲。

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| 圖 1：肉眼觀察甲組:32 小時培養後，白色菌絲生長量較少。 | 圖 2：肉眼觀察乙組:32 小時培養後，白色菌絲生長量較快且多。 | 圖 3：肉眼觀察丙組:7 小時後，沒看到任何菌絲(米粒乾掉了)。 |
|  | |  |
| 圖 4：顯微鏡下觀察乙組：除了透明菌絲，也有灰色菌絲以及黑色的小球形（孢子囊）。 | | 圖 5：顯微鏡下觀察丙組：只見米粒結構，沒見到菌絲。保濕不當，米粒之間水分蒸散，菌絲無法順利發展。 |

2. 研究二：製作天貝與觀察

(1) 天貝製作流程

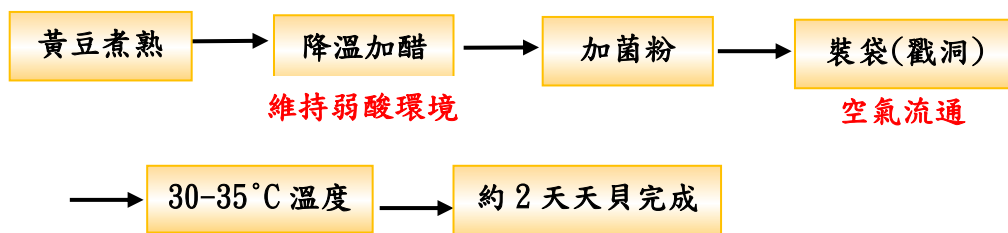
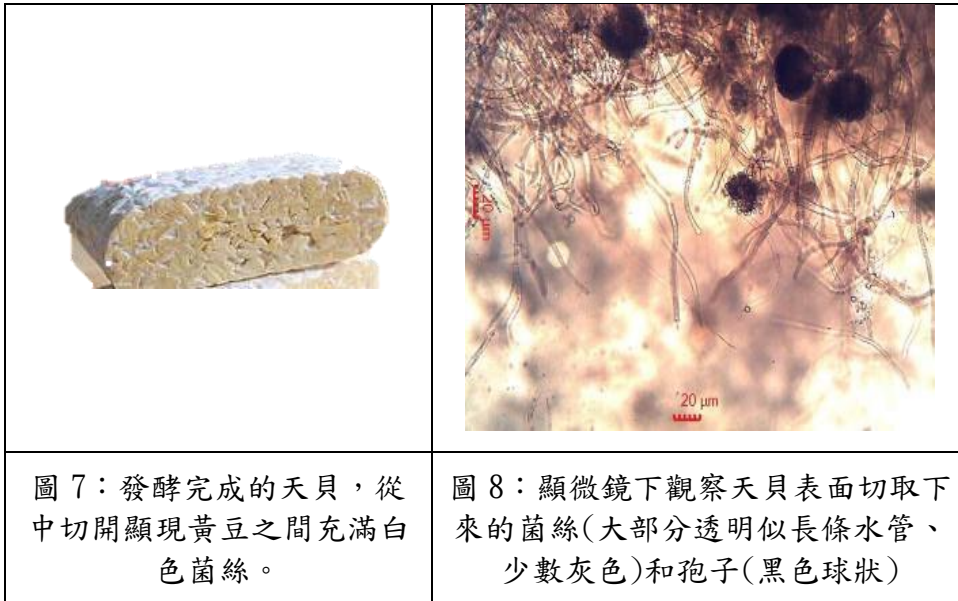


圖 6：天貝製作流程

(2) 製作完成的天貝呈現雪白綿綿的樣子(圖 7)，用顯微鏡觀察白色菌絲，可以看到大部分透明、少數灰色的菌絲(圖 8)，菌絲沒有分隔，好像一長條水管，更特別的是有一顆顆很大的黑色球狀，應該是少孢根黴菌的孢子。



(3) 當做好的天貝繼續放著就會在角落出現不好看的黑色孢子，而且味道變得有一點酸臭味，放著時間更長，黑色孢子更多、酸臭味更明顯，我們推論黑色孢子的出現表示天貝已經超過「賞味期限」白色的天貝中夾雜黑色斑點，賣相較差，我想研究哪些因素會促使黑色孢子生長，所以接續做以下研究。

3. 研究三：重力環境對天貝黑色孢子生長的影響

- (1) 我將天貝以不同方式放置【甲：平放】、【乙：直立】、【丙：旋轉】，不同的放置方式使天貝產生空洞縫隙。
- (2) 結果發現，縫隙處會有空氣(圖 9)，是最主要產生黑色孢子的因素，而重力是較次之的影響因素。

4. 研究四：光線環境對天貝黑色孢子生長的影響

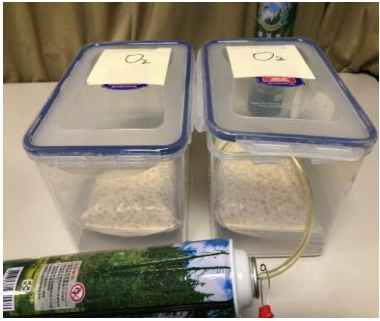

- (1) 我將天貝分別放置光暗不同的環境，以鋁箔紙遮蓋製造暗的環境。
- (2) 結果雖然在乙組暗的環境黑色孢子較多，有可能是因為鋁箔紙遮蓋時，影響氣體的流通性，導致黑色孢子較多。總結是黑色孢子的生長與光照關係並不直接關係。



5. 研究五：不同氣體環境對天貝黑色孢子生長的影響

(1) 我將天貝分別放置在氧氣、二氧化碳不同的環境。

(2) 觀察到，天貝生長情況是：白色菌絲→灰色菌絲→黑色孢子。CO₂組比O₂組中的菌絲更早產生可被看見的黑色孢子。

| | |
|---|--|
|  |  |
| <p>甲：加入罐裝氧氣</p> | <p>乙：密封盒放進裝有約2克乾冰(二氧化碳)塑膠試管後蓋子密封</p> |

6. 綜合以上，透過研究三～研究五，分析產生黑色孢子的可能變因：重力、光照、氣體，最後發現，氣體中高濃度CO₂會讓天貝提早出現黑色孢子。因此製作完成的天貝的儲藏環境要能通風，避免CO₂累積，就能延長漂亮雪白的樣子。

(五)今年作品主題-測試哪一種菌粉發酵的天貝最營養

今年的研究主題決定更進一步，用不同菌粉，測試哪一種天貝比較營養。因為每種菌粉發酵的形式不同，像屬於真菌的少孢根黴菌發酵的天貝就有白色菌絲覆蓋在黃豆上；屬於細菌的乳酸菌發酵的天貝卻沒有。這次的實驗我想測試哪一種發酵形式的天貝最營養，能讓麵包蟲長得更好。

表 1：本作品與第一年作品差異表

| 比較項目 | 109 年我們的舊作品內容 | 111 年新作品 |
|------|--|-----------------------------------|
| 研究內容 | 研究三：重力環境對孢子生長的影響 研究四：光線環境對孢子生長的影響 研究五：不同氣體環境對孢子生長的影響 | 不再探討孢子出現的因素，轉為不同菌種製做天貝及營養成分測試的實驗。 |
| 天貝菌種 | 少孢根黴菌 | 1. 少孢根黴菌 2. 植物乳桿菌 3. 混合菌 |
| 實驗方向 | 研究孢子出現的因素 | 麵包蟲增重、嗅覺、薄層色層分析 |

貳、研究器材與設備

黃豆、白醋、矽膠蓋玻璃保鮮盒、根黴菌粉、乳酸菌粉、攪拌藥匙、恆溫箱、養蟲用分裝藥盒、黃色麵包蟲幼蟲、精密電子天秤、3D 列印機、縮時錄影手機、咖啡濾紙、無菌塑膠管、旋轉振盪器。

參、研究過程、結果與討論

一、研究一：製作不同菌粉發酵的天貝飼料餵養麵包蟲

因為麵包蟲很小，飼量相對也要小，但天貝與菌粉混合均勻是重要的動作，而且天貝發酵後會黏在一起，不易切割為等量的飼料。因此我想到使用針筒，使豆泥接觸天貝菌粉的面積增大，另一個優點是，天貝擠出成長條狀的飼料，再切割長度。

(一) 天貝飼料製作流程(根黴菌、乳酸菌、混合菌粉)

(1) 秤量三份各 10 公克市售大豆粉放入無菌玻璃保鮮盒。(圖 1-2)

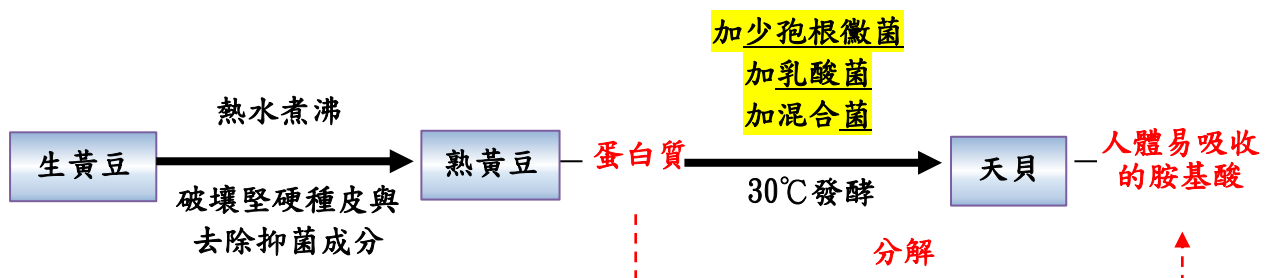


圖 1-1：製作本研究天貝流程圖

(2) 將不同的菌粉 0.5 克(根黴菌、乳酸菌、根黴菌混合乳酸菌)撒入玻璃保鮮盒中大豆粉，分別用殺菌後藥匙將粉狀物質攪拌均勻。(圖 1-3)

(3) 各玻璃保鮮盒滴加 5 ml 稀釋 10 倍工研醋攪拌、再加 5 ml 混成泥狀(接種菌大豆泥)。(圖 1-4、5、6)

(4) 用 10 ml 針筒將各接種菌大豆泥壓擠成條狀放入三個電鍋蒸煮後無菌玻璃保鮮盒(用針筒擠出來會使豆泥接觸天貝菌粉的面積增大)。(圖 1-7、8)

(5) 蓋上矽膠蓋後，放入 30 度恆溫培養箱培養 3-5 天。(圖 1-9)

(6) 放入電鍋中蒸煮 15-30 分鐘殺菌。(圖 1-10)

(7)加入 10 公克麥麩，攪拌後即為培養麵包蟲飼料。

| | | |
|--|--|--|
|  |  |  |
| <p>圖 1-2：大豆粉放入無菌玻璃保鮮盒</p> | <p>圖 1-3：灑菌粉</p> | <p>圖 1-4：加 5 ml 醋</p> |
|  |  |  |
| <p>圖 1-5：攪拌</p> | <p>圖 1-6：混成泥狀</p> | <p>圖 1-7：豆泥裝入針筒裡</p> |
|  |  |  |
| <p>圖 1-8：擠壓成條狀</p> | <p>圖 1-9：放入恆溫箱 3-5 天</p> | <p>圖 1-10：蒸煮 15 分鐘殺菌冷卻後作飼料</p> |

(二) 飼養麵包蟲

【實驗一-1】第一次實驗每組飼養 5 隻(5 隻一起秤重)

1. 步驟：

挑選 20 隻體型較小的麵包蟲(圖 1-13)，平均分配在分裝藥盒 4 個格子中，每組(每格)有 5 隻。將 4 種飼料：麥麩(圖 1-12)、混合菌種大豆泥、根黴菌大豆泥和乳酸菌大豆泥分別擠成長條飼料(圖 1-14)，每天給麵包蟲餵食麥麩或 6 公分長度飼料(圖 1-15)，定期測量麵包蟲重量(圖 1-16)。

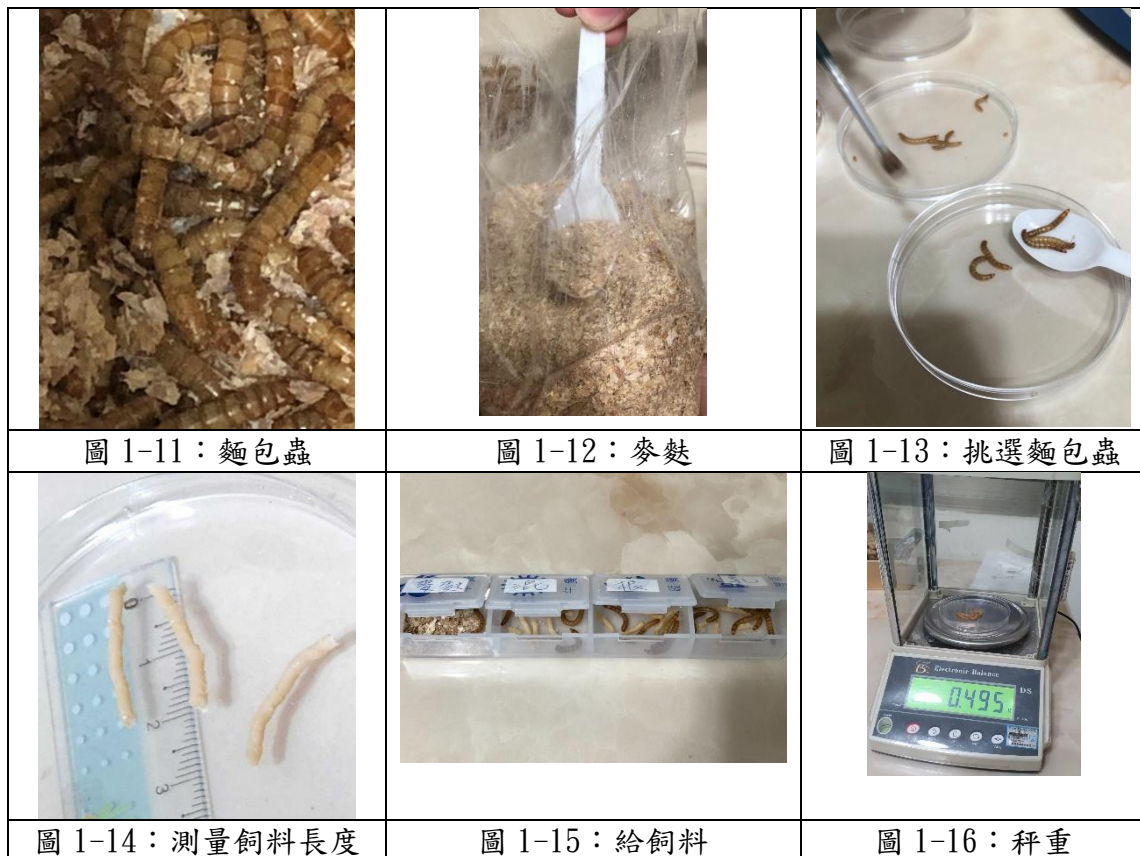


圖 1-11：麵包蟲 圖 1-12：麥麩 圖 1-13：挑選麵包蟲
 圖 1-14：測量飼料長度 圖 1-15：給飼料 圖 1-16：秤重

2. 結果

表 2：麵包蟲體重變化

| 飼料種類 \ 重量(g) | | 第 6 天 | 第 9 天 | 第 12 天 | 第 15 天 | 第 18 天 | 第 21 天 | 第 24 天 | 第 27 天 |
|--------------|----|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | 麥麩 | 蟲重 | 0.495 | 0.51 | 0.515 | 0.575 | 0.695 | 0.705 |
| | 變化 | 0.000 | 0.015 | 0.020 | 0.080 | 0.200 | 0.210 | 0.230 | 0.255 |
| 根黴菌 | 蟲重 | 0.495 | 0.48 | 0.56 | 0.605 | 0.605 | 0.565 | 0.555 | 0.575 |
| | 變化 | 0.000 | -0.015 | 0.065 | 0.110 | 0.110 | 0.211 | 0.199 | 0.224 |
| 乳酸菌 | 蟲重 | 0.495 | 0.51 | 0.535 | 0.62 | 0.68 | 0.69 | 0.735 | 0.75 |
| | 變化 | 0.000 | 0.015 | 0.040 | 0.125 | 0.185 | 0.195 | 0.240 | 0.255 |
| 混合菌種 | 蟲重 | 0.495 | 0.475 | 0.545 | 0.66 | 0.685 | 0.735 | 0.74 | 0.755 |
| | 變化 | 0.000 | -0.020 | 0.050 | 0.165 | 0.190 | 0.240 | 0.245 | 0.260 |

表 3：麵包蟲脫皮紀錄

| 蟲重(g) \ 脫皮數量 | 第 6 天 | 第 9 天 | 第 12 天 | 第 15 天 | 第 18 天 | 第 21 天 | 第 24 天 | 第 27 天 |
|--------------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 麥麩 | | | 3 | | | | | |
| 根黴菌 | | 2 | | | | 七 1 | | |
| 乳酸菌 | | 1 | | | 1 | 1 | | |
| 混合菌種 | | 1 | | | | | | |

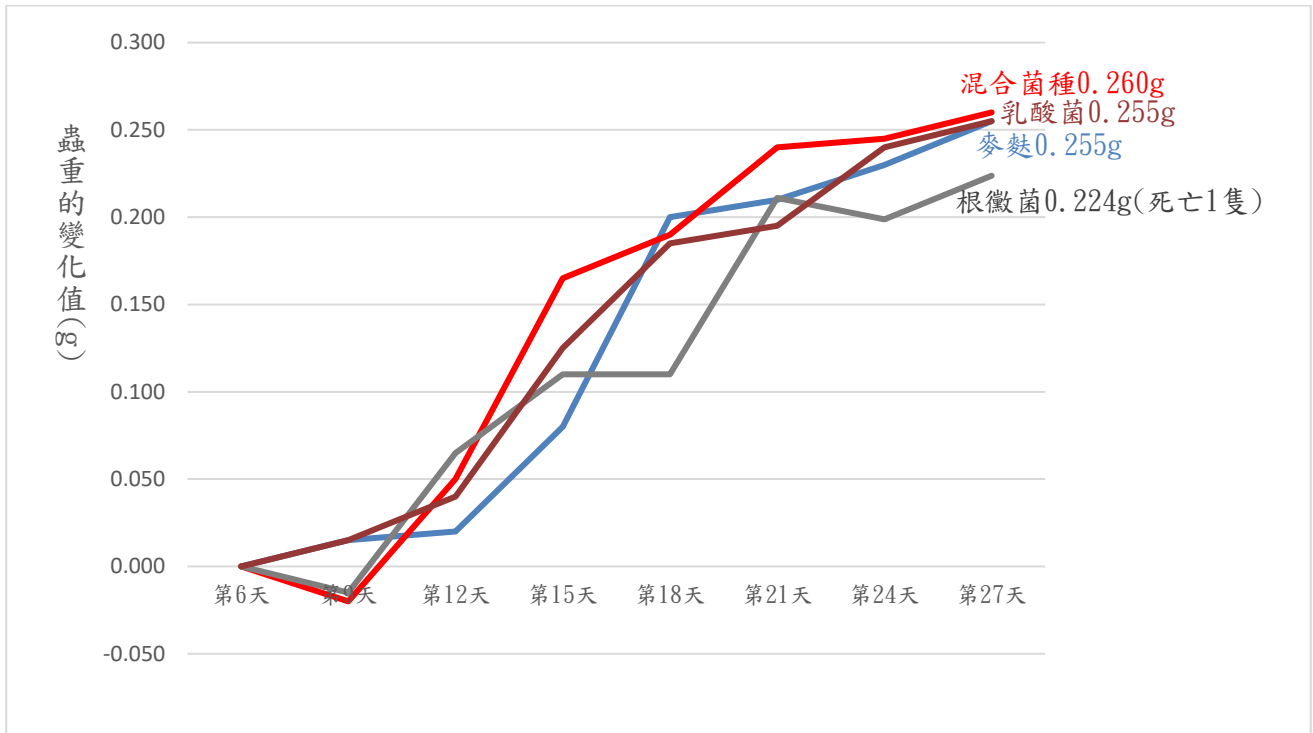


圖 1-17：第一次實驗麵包蟲平均重量的變化值

3. 討論

由於各組是五隻麵包蟲平均重量，雖然結果顯示平均每隻蟲生長重量相似，但是同一格內每隻重量有些不同，可能看不出變化，因此下個實驗將改良採用每組飼養試驗重複三格，每格 2 隻蟲的方式飼養，且秤重時一次 2 隻。而且對照組原是麥麩，下一次實驗改為未發酵的大豆泥。

【實驗一-2】第二次實驗每組飼養 6 隻(每格飼養 2 隻一起秤重，共 3 格重複相同試驗)

1. 實驗步驟

1. 將飼料分成四組(未發酵大豆、根黴菌豆泥、乳酸菌豆泥、根黴菌混合乳酸菌豆泥)，每組有 3 格，每格放 2 隻麵包蟲。(圖 1-18)
2. 每兩天餵飼料，因為天平靈敏度的關係，只秤 1 隻蟲，重量感應有時會出現 0 g，因此是 2 隻蟲一起秤重(圖 1-19、圖 1-20)。計算蟲重變化。

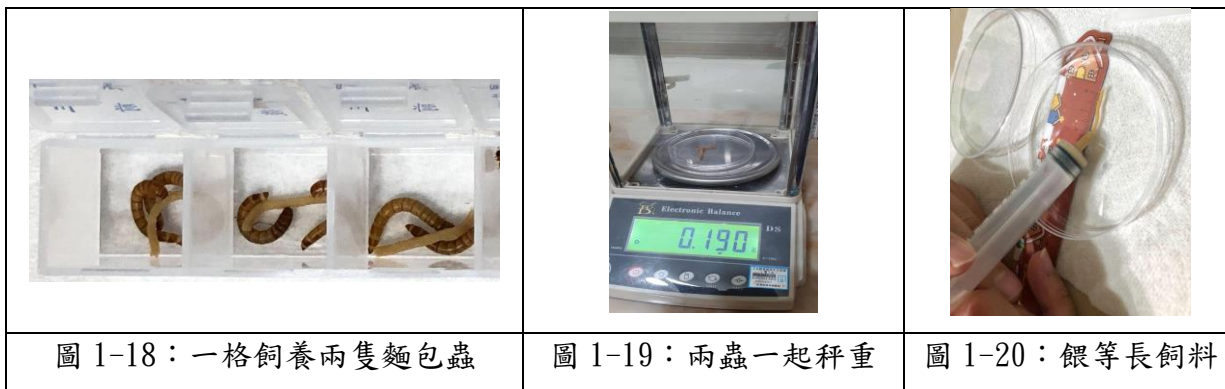


圖 1-18：一格飼養兩隻麵包蟲

圖 1-19：兩蟲一起秤重

圖 1-20：餵等長飼料

(二)結果與討論

表 4：3 重複的平均蟲重變化如下：

| 蟲重變化(g) | 第 2 天 | 第 4 天 | 第 6 天 | 第 8 天 | 第 10 天 | 第 12 天 |
|---------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|
| 飼料種類 | | | | | | |
| 未發酵大豆 | 0 | -0.005 | -0.025 | -0.01 | -0.005 | -0.012 |
| 根黴菌 | 0 | -0.027 | 0.005 | 0.01 | 0.033 | 0.030 |
| 乳酸菌 | 0 | -0.002 | 0.005 | 0.022 | 0.022 | 0.048 |
| 混合菌種 | 0 | -0.035 | 0.005 | 0.025 | 0.045 | 0.023 |

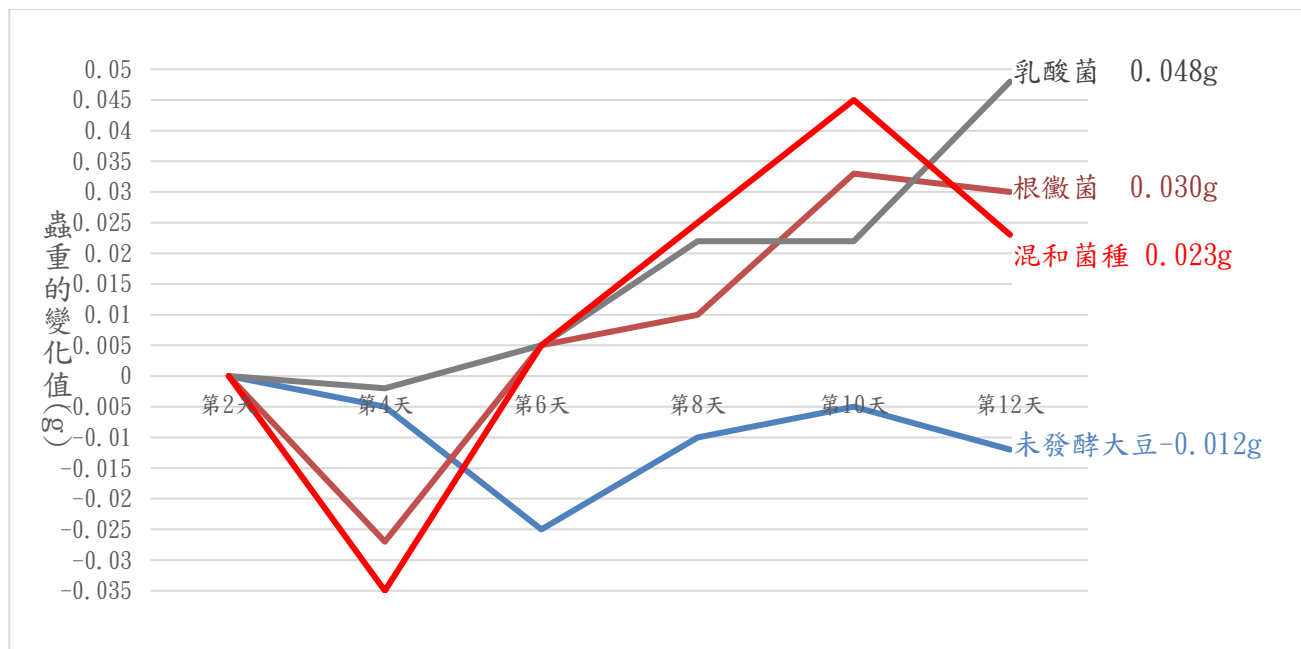


圖 1-21：第二次實驗平均蟲重的變化值

由此圖可見，根黴菌、混合菌剛開始掉的比較多，可能是因為麵包蟲還沒適應根黴菌。但是後來適應了飼料味道或是營養成分被有效地吸收，所以日漸上升。

因為大豆和各種發酵豆泥的味道差異很大，懷疑麵包蟲有可能因嗅覺選擇飼料才一開始不喜歡根黴菌或混合菌的發酵豆泥，所以下一個研究決定測試麵包蟲有無嗅覺。

二、研究二：麵包蟲嗅覺實驗

(一)實驗二-1：一次十隻蟲

1. 實驗步驟

- (1)使用三D列印製作一個Y字型岔路。(圖 2-1)
- (2)將根黴菌、乳酸菌兩種飼料分別擠進兩個小圓盤裡。(圖 2-2)
- (3)用保鮮膜蓋住兩條小型通道及兩個小圓盤。
- (4)將十隻麵包蟲同時放入大圓盤中。(圖 2-3)
- (5)記錄每隻蟲第一次選擇的飼料(根黴菌、乳酸菌)。(圖 2-4)



圖 2-1：Y 字型岔路



圖 2-2：擠飼料



圖 2-3：十隻麵包蟲



圖 2-4：紀錄(麵包蟲全部選擇根黴菌)

2. 結果與討論

我發現如果十隻一起放的話，只要第一隻蟲子走進通道，蟲群就會跟著牠走，因此改良實驗，下一個實驗一次只放一隻蟲。還有因為麵包蟲不喜歡燈光，可能前幾隻打前鋒選擇陰影較多通道，下次室內關燈只開遠處小燈避免光線干擾，將手機攝影調到最敏感。

(二)實驗二-2：一次一隻蟲

1. 實驗步驟

實驗方法同實驗二-1，但改為一次只放一隻麵包蟲放入大圓盤中，同時用厚紙板製作蓋子遮蔽光線。紀錄每隻蟲第一次選擇的飼料(根黴菌、乳酸菌)，重複2次，第1、2次故意交換左右小圓盤飼料種類。

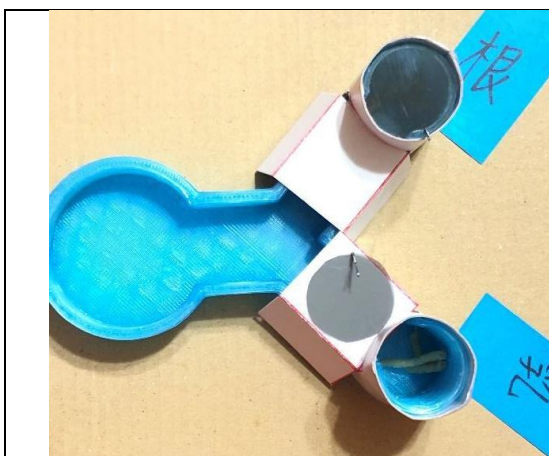


圖 2-5：Y 字型岔路放入飼料



圖 2-6：麵包蟲

2. 結果與討論

(1) 第 1 次結果：根黴菌(左側)5 隻、乳酸菌(右側)5 隻。

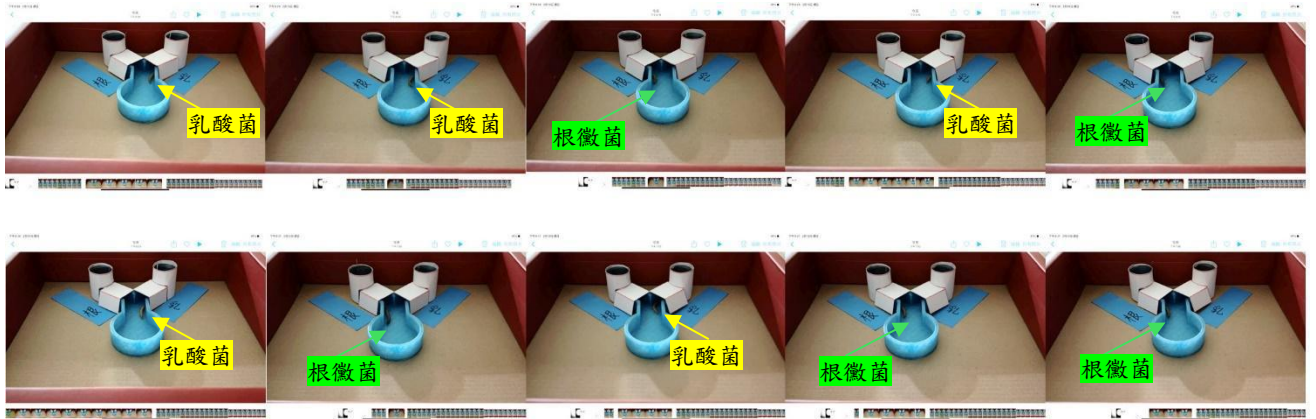


圖 2-7：1 次放 1 隻的第 1 次結果

(2) 第 2 次結果：乳酸菌(左側)1 隻、根黴菌(右側)4 隻、5 隻無法判斷。(故意交換左右小圓盤飼料種類)

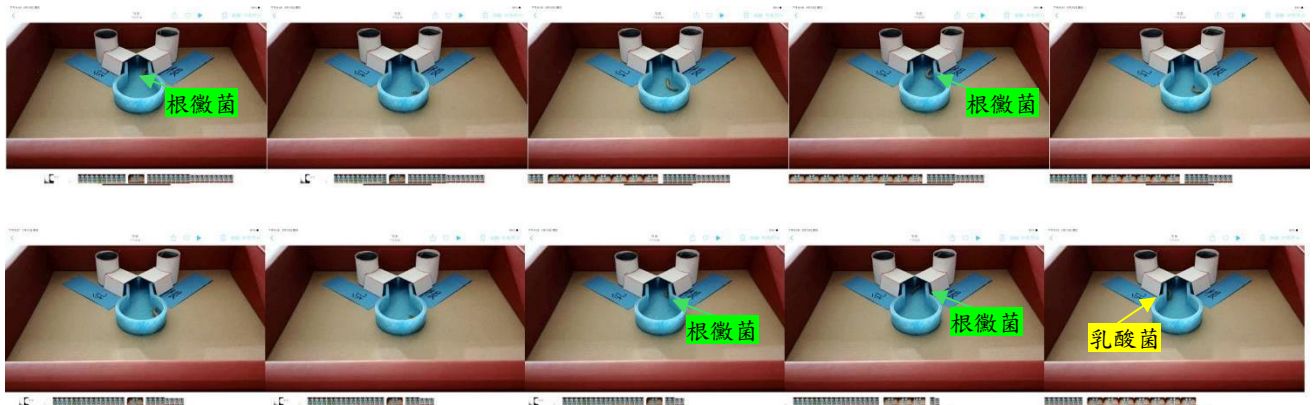


圖 2-8：1 次放 1 隻的第 2 次結果

3. 討論

因為麵包蟲選擇的飼料無法判斷特別喜歡哪一種，我推測麵包蟲幼蟲沒有嗅覺偏好。雖然嗅覺對於昆蟲很重要，不管找食物或找配偶都要靠嗅覺，但那是成蟲。查資料時發現法布爾的《昆蟲記》中文版描述天牛幼蟲時，寫著「牠有嗅覺嗎?各方面都顯示牠沒有嗅覺」。麵包蟲學名為 *Tenebrio molitor*，與天牛同樣是昆蟲綱，很可能麵包蟲也是沒嗅覺。

三、研究三：分離發酵天貝產物水溶性物質

(一)步驟

1. 秤量四份各 10 公克市售黃豆粉放入玻璃保鮮盒。(圖 4-1)
2. 電鍋蒸煮 15 分鐘殺菌並加 5 ml 稀釋 10 倍工研醋。(圖 4-1)
3. 三個玻璃保鮮盒依序撒入 0.5 公克的根黴菌粉、乳酸菌粉、混合根黴菌粉與乳酸菌粉。(圖 4-2)
4. 再加 2 ml 稀釋醋水後，混合均勻填入針筒並擠壓成條狀，放入 30 度恆溫箱培養 5 天。(圖 4-3)
5. 將長成的天貝放入電鍋蒸煮殺菌。
6. 將黃豆發酵樣本加入 20 mL 去離子水攪拌均勻。
7. 放入 50 度恆溫箱中，震動 45 分鐘來萃取游離胺基酸。(圖 4-4)
8. 用咖啡濾紙過濾，取得液體樣本(圖 4-5)



圖 4-1：10 克黃豆粉放入玻璃保鮮盒煮 15 分殺菌。

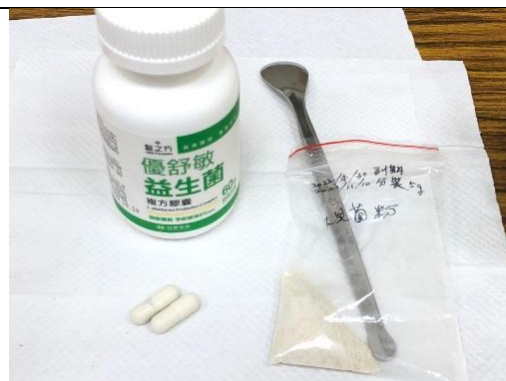


圖 4-2：撒入 0.5 公克的菌粉。



圖 4-3：用針筒擠壓成條狀後放入 30 度恆溫箱發酵 5 天。



圖 4-4：50 度震動 45 分鐘萃取游離胺基酸

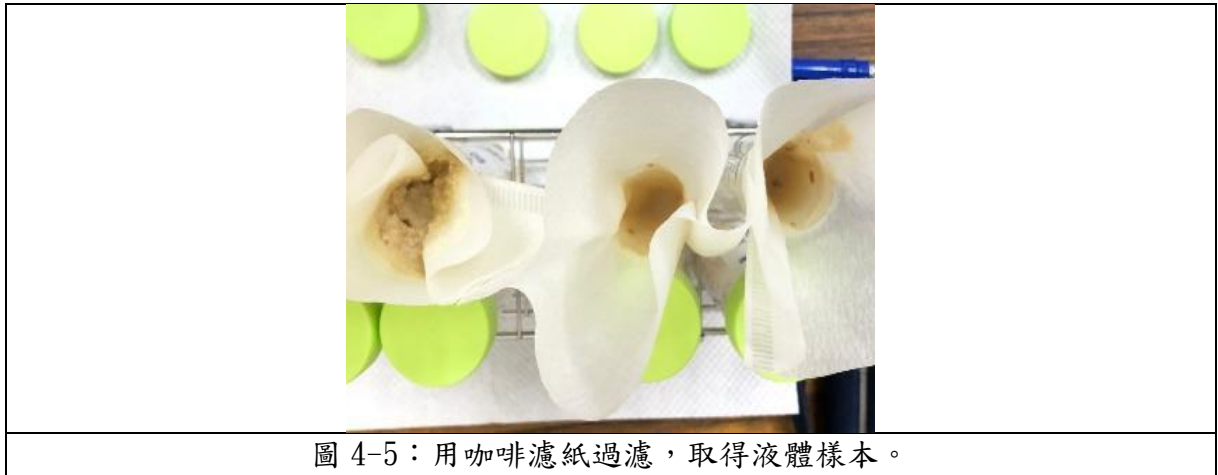






圖 4-5：用咖啡濾紙過濾，取得液體樣本。

(二)結果

| 菌種 | 未發酵大豆 | 根黴菌 | 乳酸菌 | 混合 |
|--------|--|--|---|--|
| 照片 |  |  |  |  |
| 分離過濾效果 | 差 | 差 | 好 | 好 |

(三)討論


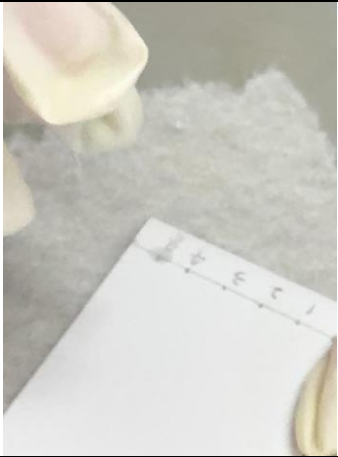

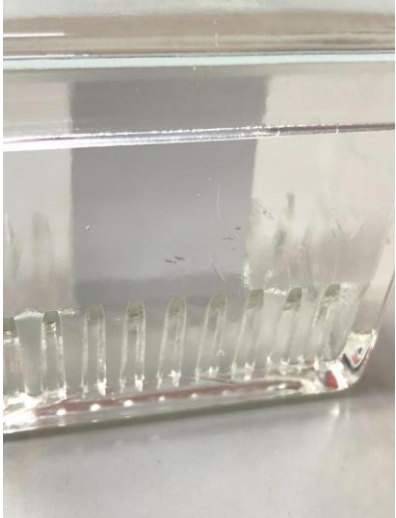


不同天貝萃取狀況，以乳酸菌與混合組發酵樣本的分離過濾效果較好，沒加乳酸菌的根黴菌和未發酵大豆組出現像膠狀物質，導致分離過濾效果較差，可能是因為乳酸菌分解多醣速度較根黴菌快、又或許酸性環境可幫忙分離過濾。

四、研究四：不同發酵對大豆蛋白分解成胺基酸的影響

(一)實驗步驟

1. 先在薄層色層板底部 1 公分用鉛筆畫線標示起跑線(圖 4-1)。
2. 將不同飼料的萃取物樣本用微量吸管取 2 微升放在微試管中。
3. 用 TLC 毛細管吸取全部液體，分二次滴到色層板起跑線上(圖 4-2)。
4. 以吹風機將色層板滴點樣本烘乾(圖 4-3)。
5. 將玻璃展開槽加入少量展開液(正丁醇：醋酸：水=3：1：1)(圖 4-4)。

6. 把烘乾色層板垂直放入槽中(圖 4-4)，等展開液在色層板因毛細作用上升 30 分鐘。
7. 取出色層板先用鉛筆在展開液毛細作用頂端標示
8. 使用吹風機烘乾整片色層板(圖 4-5)，再把呈色劑節三酮噴到色層板上(圖 4-6)。
9. 用烤麵包機 200 度烘烤色層板約 5 分鐘進行呈色作用。
10. 觀察結果(圖 4-7)。

| | |
|---|--|
|  |  |
| <p>圖 4-1：標示起跑線</p> | <p>圖 4-2：滴樣本 (1:未發酵大豆；2:混合菌；3:根黴菌；4:乳酸菌)</p> |
|  |  |
| <p>圖 4-3：烘乾</p> | <p>圖 4-4：加入展開液</p> |
|  |  |
| <p>圖 4-5：烘乾</p> | <p>圖 4-6：噴節三酮</p> |

(二)結果

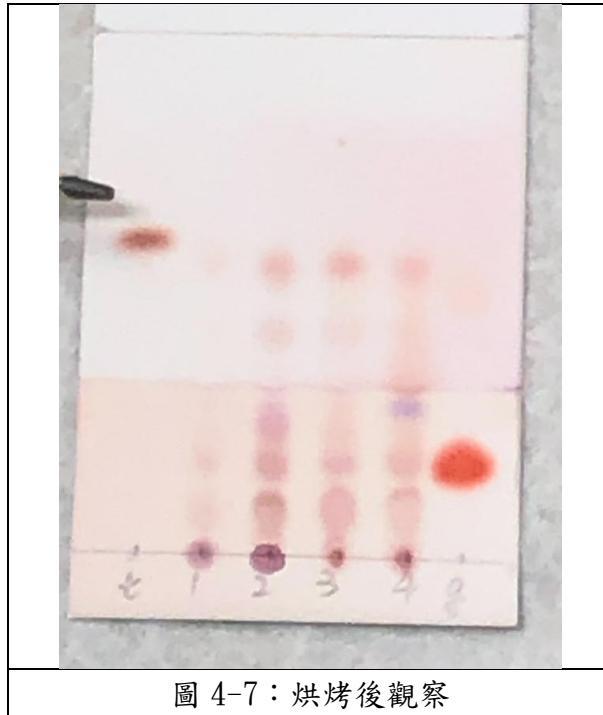


圖 4-7：烘烤後觀察

(三)討論

根據實驗結果，可觀察到不同菌發酵的萃取物深色斑點出現在左右兩側兩胺基酸標準品垂直距離之間(t: 色胺酸；g: 甘胺酸)。我猜測由於各組分解之後的成份具有不同的移動速率，會在不同位置產生分離，而呈色劑只會跟胺基酸反應產生顏色，所以出現在兩胺基酸垂直距離之間的有色斑點，應該就是分解大豆蛋白完全成為胺基酸的證據。根據薄層色層分析結果，可看到(1)未發酵豆泥含有的游離胺基酸的種類還有顏色深淺最弱，而(2)混合菌豆泥則是最濃又最多種，支持我在【實驗一-2】觀察到餵給混合菌發酵飼料的麵包蟲在第6~10天成長增重最明顯。

肆、結論

(一) 製作不同菌粉發酵的天貝飼料餵養麵包蟲

以少孢根黴菌菌粉或是植物乳桿菌菌粉發酵黃豆粉所產生的飼料，無論是單獨或是混合菌粉都可以讓麵包蟲體重明顯增加。其中的根黴菌組以及含有根黴菌的混合組麵包蟲都出現體重先下降再迅速增加，甚至快過乳酸菌組，表示麵包蟲餵養含有根黴菌產物可能需要適應期。

(二) 麵包蟲嗅覺實驗

經過利用 Y 字型岔路的選擇測驗，發現麵包蟲沒有嗅覺偏好。測試過程發現麵包蟲不喜歡光線，而且常常看到跟隨前面麵包蟲的毛毛蟲效應(從眾現象)。

(三) 分離發酵天貝產物水溶性物質

利用溫水震盪各菌粉發酵產物來萃取水溶性物質，可將大豆蛋白質分解出來的游離胺基酸溶解於水溶液，再經過咖啡濾紙來過濾去掉不可溶物質，就得到游離胺基酸等易吸收成分。含有乳酸菌粉的發酵產物較容易過濾，可能酵素分解類似澱粉的多醣或是酸性幫助蛋白質沉澱分離。

(四) 不同發酵對大豆蛋白分解成胺基酸的影響

利用薄層色層分析及茚三酮呈色劑，胺基酸可以在色層板被分開且產生顏色被觀察到。根黴菌與乳酸菌混合發酵豆泥能溶解出較多又較濃的胺基酸，提供易吸收的營養。

綜合以上，我從研究一～研究二中，我發現根黴菌與乳酸菌的混合發酵可以提供可增重的易吸收營養成分。同時，我也證明利用麵包蟲做為動物試驗可以用來簡單的分析天貝的營養價值。雖然麵包蟲與人類或哺乳類動物的腸道吸收方式差異很大，但是我開發出好用又有效的動物分析方式。

為了進一步了解是否真的在微生物發酵下將大豆蛋白質分解成可溶於水的胺基酸，我查閱文獻及科展資料，發現第 59 屆科展作品—「膠」情「非」淺—探討魚鱗膠原蛋白的凝聚及水解分析研究利用薄層色層分析來研究酵素分解膠原蛋白質成胺基酸，因此我設法找到設備與老師教我進行實驗。經過研究三～研究四，我分離水溶性物質後以薄層色層分析分析黃豆分解出來的胺基酸，證明沒有發酵就不太有胺基酸，而混合菌粉組可看到最多種又最深的胺基酸。經過此研究，我相信只要找到合適的益生菌，例如少孢根黴菌和植物乳酸菌，就可以幫忙把不容易消化的高蛋白原料，製成適合老人或病人的蛋白營養補充品。

伍、參考資料

- 王也珍 (2017)。菌類學習資源：少孢根霉 *Rhizopus oligosporus* Saito。數位典藏國家型科技計畫。線上檢索日期：2021 年 8 月 7 日。國立自然科學博物館。網址：
<http://digimuse.nmns.edu.tw/Default.aspx?Domin=f&Field=mt&Language=CHI&objectId=0b00000181e47730&tabid=406>
- 吳柏樺 (2017)。乳酸菌共同發酵天貝對於第二型糖尿病鼠生理活性影響之探討。全國博碩士論文資訊網，105NPUS5253021。
- 客家新聞·潘成旺 (2017)。特殊菌種製作「天貝」 增國產黃豆新價值。線上檢索日期：2021 年 8 月 7 日。網址：<http://www.hakkatv.org.tw/news/150150>。
- 胡毓華 (譯) (2018)。異國蔬食料理教室。新北市：瑞昇文化事業股份有限公司。
(庄司 いずみ，2017)
- 財團法人禮食公益飲食文化教育基金會 (2019)。天貝是什麼？。線上檢索日期：2021 年 8 月 7 日。網址：<https://www.fullfoods.org/news/天貝是什麼？/>。
- 張少懷;吳昱瑤;林睦潔;聶瑋君 (2019)。第 59 屆中小學科學展覽國小組化學科作品—「膠」情「非」淺—探討魚鱗膠原蛋白的凝聚及水解分析研究。線上檢索日期：2021 年 8 月 14 日。臺灣網路科教館資源網站。網址：
<https://www.ntsec.edu.tw/Science-Content.aspx?cat=53&a=6821&fld=&key=&isd=1&icop=10&p=5&sid=16043>
- 鄒衍 (譯) (2002)。法布爾昆蟲記全集 4 第十七章天牛。臺北市：遠流出版事業股份有限公司。(Jean-Henri Fabre, 1951)
- 維基百科 (2021)。天貝。線上檢索日期：2021 年 8 月 7 日。網址：
<https://zh.wikipedia.org/w/index.php?title=%E5%A4%A9%E8%B2%9D&oldid=71154195>

陸、心得

我從四年級開始做科展當時是做天貝的研究，五年級是將台灣紅藜製作成麥芽糖。我六年級了，這是我小學最後一次科展了，當時一直在決定要做哪個題目，經過思索後，看了一些文獻，最後決定做天貝的延續研究。

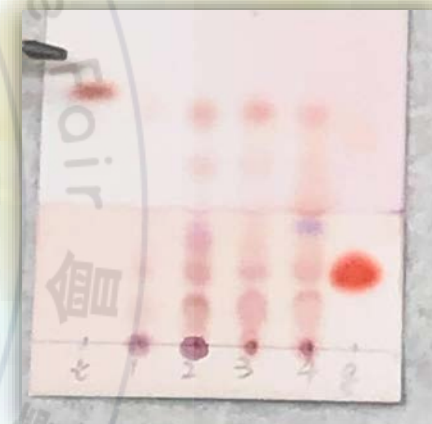
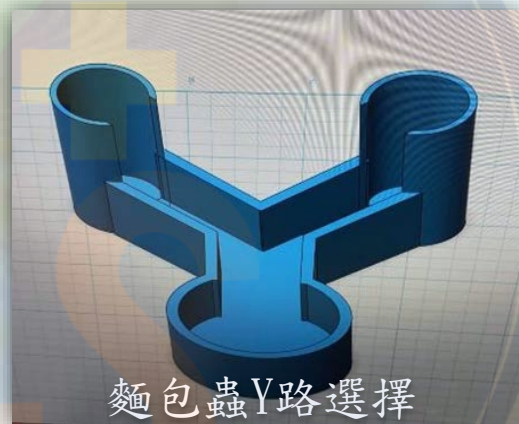
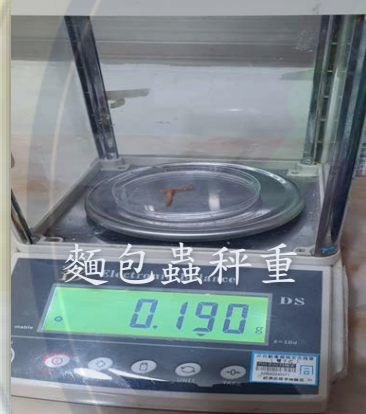
這是我小學的最後一次科展了。一如往常，我這次也學到了很多，比如怎麼做圖表、薄層色層分析…等等。一開始我本來想用家畜來做科展實驗，後來覺得實驗操作不好控制，所以經過一番思考後就想用麵包蟲來做實驗，結果竟然看出麵包蟲一開始並不適應（消化根黴菌製作的飼料），適應後，體重竟然快速增重。我懷疑牠是因為擁有嗅覺才這樣，因此我想實驗判斷麵包蟲是否擁有嗅覺，於是利用 3D 列印出了一個叉路，兩邊擺放不同飼料，來測試牠有無嗅覺。而麵包蟲能快速消化飼料，可能是製作飼料時，大豆所含的蛋白被分解成胺基酸，我想知道用不同菌種發酵的飼料裡面的胺基酸含量多寡，因此上網查一下胺基酸的特性以及歷屆科展是否有做過類似的實驗，結果發現：胺基酸能夠溶於水，所以可以用薄層色層分析來測試不同飼料的游離胺基酸含量多寡。為了達成目的，我還特地找大學教授尋求幫助，在教授指導下，親手完成實驗。看到漂亮的結果，得知混合菌種（兩種菌放一起）的游離胺基酸種類最多且含量最高，這一切讓我感到努力與辛苦都值得了，也要謝謝教導我的所有老師，讓我能參加這次科展，我也很慶幸能夠在小學的最後一年一個人獨立完成這個特別的任務。

【評語】 082908

本作品為 109 作品的延伸，運用不同菌種製作天貝，此次作品試圖比較根黴菌和乳酸菌發酵後的營養成份，以餵食麵包蟲的效果作為比較依據，也嘗試使用薄層色層分析檢驗胺基酸含量。探究的主題很多，有些過於發散，其中研究目的二的麵包蟲嗅覺實驗，藉由細心觀察並修正各種生物實驗的誤差值，對於麵包蟲嗅覺的推測除了法布爾的紀錄外，也許可以再找更多資料佐證。進行菌種實驗的麵包蟲數量略少，且實驗數據採兩隻蟲體合併秤重，使得分析的數據代表性不足，另建議可再增加麵包蟲長度變化的量測。

作品簡報

黃豆的華麗轉身～微生物發酵研究



科 別：生活與應用科學科(二)
組 別：國小組
關鍵詞：根黴菌、乳酸菌、營養成分
編號：082908

壹、研究動機

109年我的研究結果

➢ 109年曾分析濕度、溫度對天貝的影響，再以重力(放置方式)、光照與氣體等實驗分析產生黑色孢子的因素，發現高濃度CO₂會讓天貝提早出現孢子。



天貝

一、生長條件

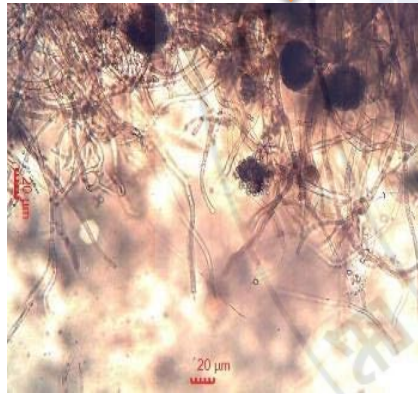
溫暖

潮濕



白色菌絲

二、顯微鏡下的天貝



天貝菌絲

- 大部分透明
- 少數灰色
- 孢子(黑色球狀)

賣相變差

四、重力(放置方式)實驗



發現縫隙處會產生孢子

五、氣體實驗

O₂
CO₂

CO₂ 讓天貝提早產生孢子

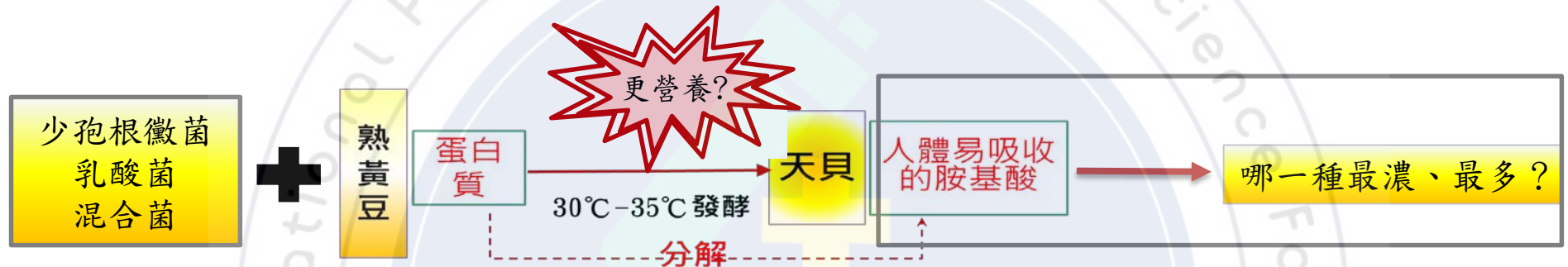
三、光照實驗



不影響孢子的產生

壹、研究動機

- 第二年(今年)研究測試哪一種發酵形式的天貝更營養，讓麵包蟲長得更好。



貳、研究目的

- 研究一：製作不同菌粉發酵的天貝飼料餵養麵包蟲
- 研究二：麵包蟲嗅覺實驗
- 研究三：分離發酵天貝產物水溶性物質
- 研究四：不同發酵對大豆蛋白分解成胺基酸的影響

參、文獻資料

- 天貝是利用少孢根黴菌將黃豆發酵而成的印尼傳統食品。
- 乳酸菌生長時會使環境呈酸性。
- 而少孢根黴菌在酸性環境長得更好。
- 其中又以酸菜、醃橄欖發現的植物乳酸菌共同發酵效果更為良好。

肆、研究過程、結果與討論

研究一：製作不同菌粉發酵的天貝飼料餵養麵包蟲

麵包蟲很小，飼量相對也小。豆泥與菌粉混合均勻是重要動作，且發酵後會黏住不易切割成等量飼料。利用針筒能使豆泥接觸菌粉的面積增大，也能擠出長條狀飼料。

飼料製作流程



豆粉放入玻璃保鮮盒



灑菌粉



加 5 ml 醋



攪拌



混成泥狀



豆泥裝入針筒



擠壓成條狀



放入恆溫箱5天



蒸煮15分鐘殺菌冷卻



擠出6cm飼料

【實驗一-1】每組飼養5隻

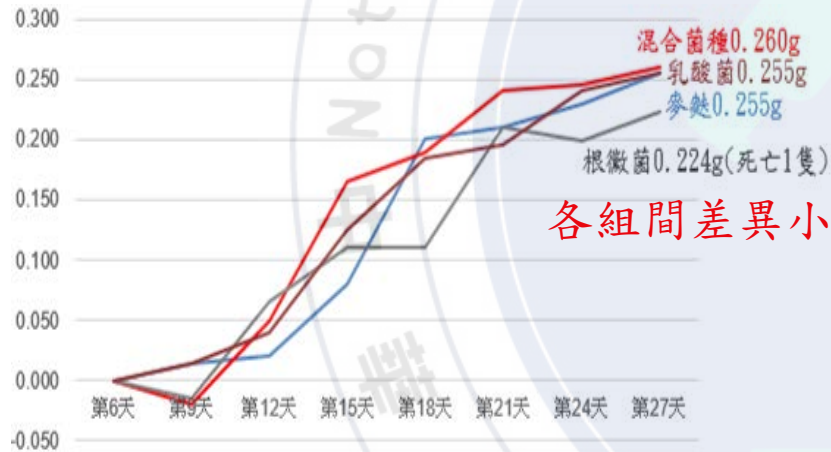
對照組：麥麩

實驗組：混合菌(根黴菌+乳酸菌)、少孢根黴菌、乳酸菌

5隻 5隻 5隻 5隻



給飼料餵養



各組間差異小

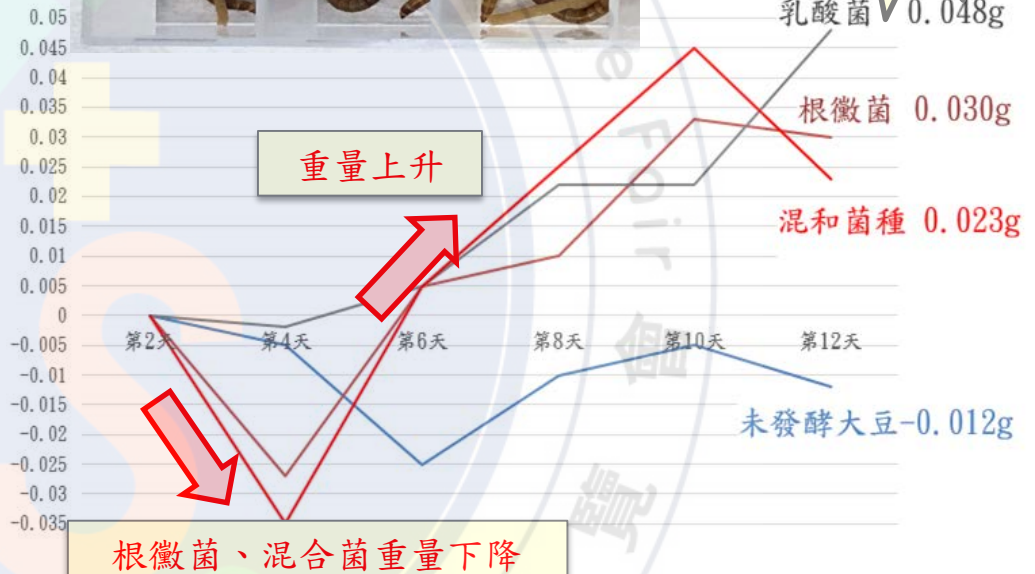
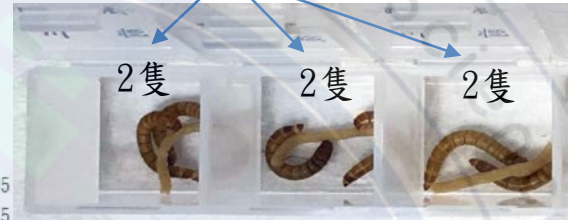
【討論】：

結果顯示平均每隻蟲生長重量相似，但同一格每隻蟲重量不同而看不出變化，因此改良採用三次重複每格試驗，每格2隻蟲飼養且秤重時一起秤。對照組則把麥麩改為未發酵的豆泥。

【實驗一-2】每組6隻 (3格，各2隻)

對照組：未發酵大豆

實驗組：少孢根黴菌、乳酸菌、混合菌(根黴菌+乳酸菌)



【討論】：

平均每隻蟲重量變化如上圖。根黴菌、混合菌開始掉的多，可能沒適應根黴菌產物。適應後有效地吸收養分，平均重量日漸上升。

大豆和各種發酵豆泥的味道差異很大，懷疑麵包蟲可能因嗅覺選擇飼料，才一開始不喜歡有根黴菌的發酵豆泥，下一個研究決定測試麵包蟲有無嗅覺⁵

二、研究二：麵包蟲嗅覺實驗

【實驗二-1】一次十隻蟲

- 1) 使用3D列印製作一個Y字型岔路。
- 2) 將根黴菌、乳酸菌兩種飼料分別擠進兩個小圓盤裡。
- 3) 用保鮮膜蓋住兩條小型通道及兩個小圓盤。

- 1) 10隻麵包蟲同時放入大圓盤中。
- 2) 記錄每隻蟲首擇（根黴菌或乳酸菌）。



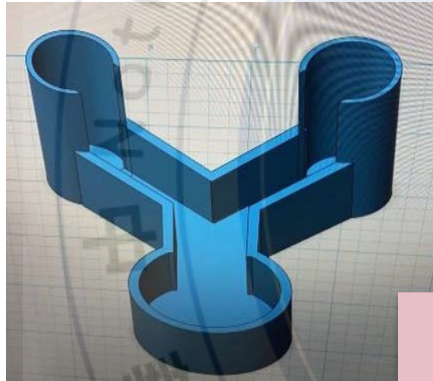
10隻麵包蟲



麵包蟲全選
根黴菌

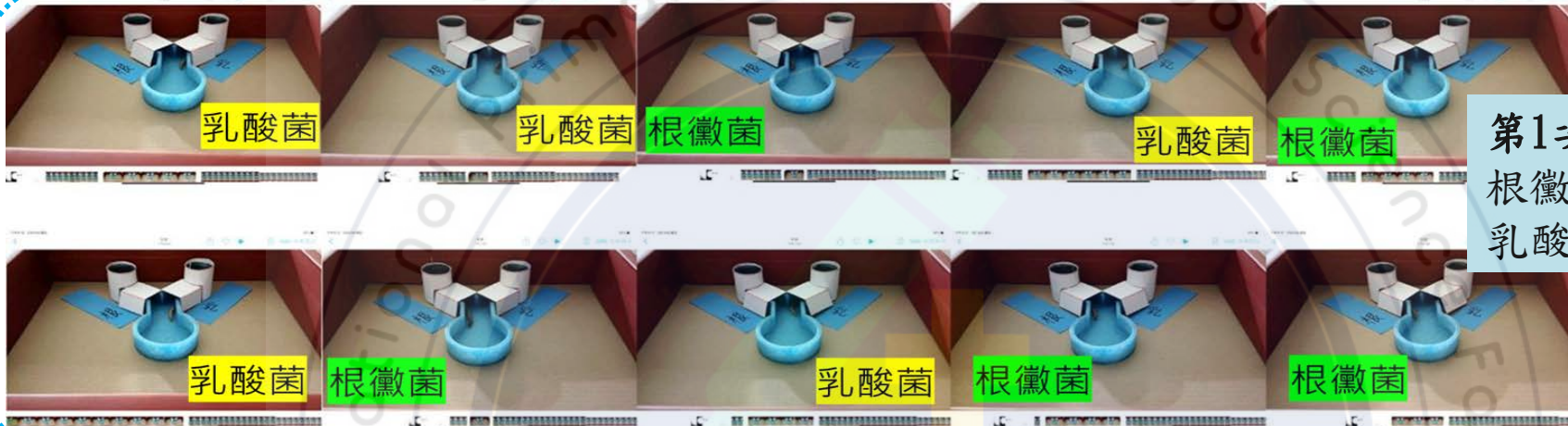
- ▶ 如果10隻一起放，只要第1隻蟲子走進通道，蟲群就會跟著牠走。
- ▶ 因此改良實驗，改為一次只放1隻蟲。

製作Y字型岔路

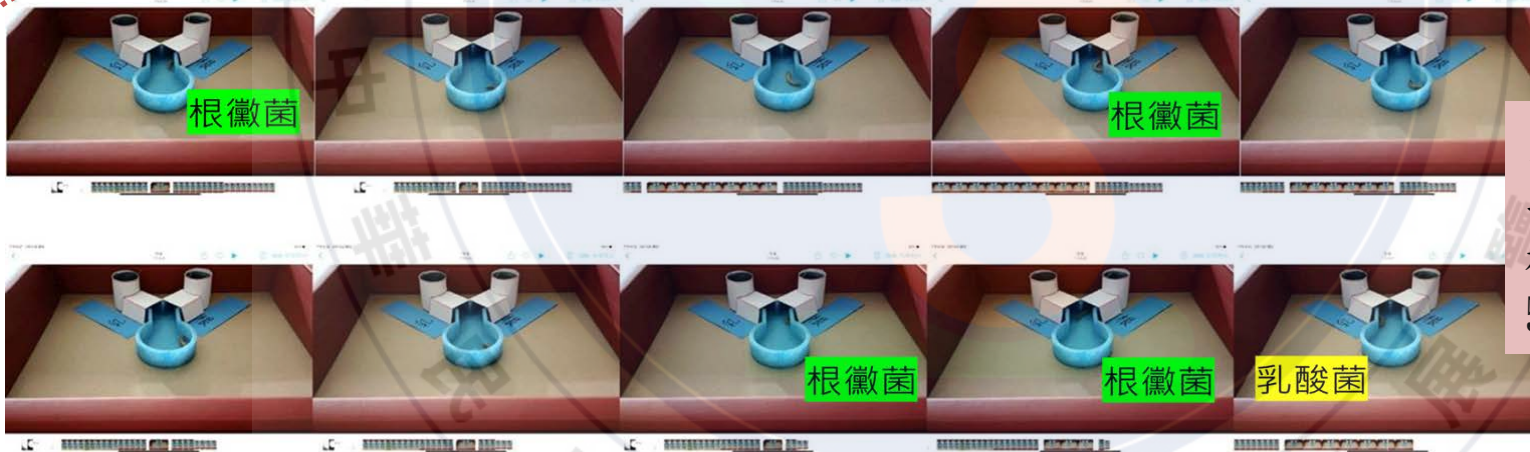


【實驗二-2】一次一隻蟲

方法同左，但改為一次只放一隻蟲入大圓盤，同時用厚紙板遮蔽光線。重複2次並交換左右飼料。



第1次結果：
根黴菌(左側)5隻、
乳酸菌(右側)5隻。



第2次結果：
乳酸菌(左側)1隻、
根黴菌(右側)4隻、
5隻無法判斷。

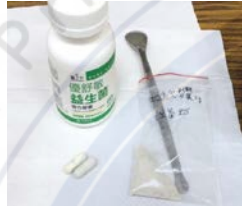
- 無法判斷麵包蟲特別喜歡哪一種飼料，推測麵包蟲幼蟲沒有嗅覺偏好。
- 法布爾《昆蟲記》描述天牛幼蟲時，寫著「牠有嗅覺嗎?各方面都顯示牠沒有嗅覺」。麵包蟲與天牛同樣是昆蟲綱，很可能麵包蟲也是沒嗅覺。

三、研究三：分離發酵天貝產物水溶性物質

實驗步驟



10克黃豆粉放入保鮮盒殺菌15分。



撒入0.5公克的菌粉。



針筒擠壓成條狀放入30度恆溫箱發酵5天。



50度震動45分鐘萃取出游離胺基酸。



咖啡濾紙過濾取得液體樣本。

實驗結果



未發酵大豆



根黴菌

過濾效果較差



乳酸菌



混合菌

過濾效果較好

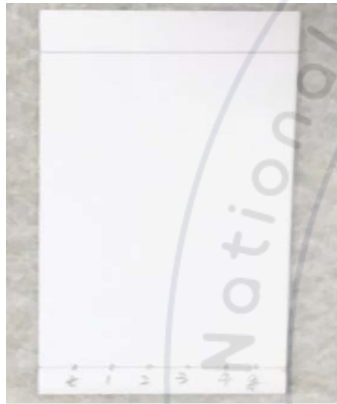
- ▶ 根黴菌和未發酵豆泥組過濾效果差。
- ▶ 乳酸菌與混合組發酵樣本的分離過濾效果較好。
- ▶ 可能乳酸菌分解多醣較根黴菌快、或乳酸菌的酸性可幫助分離。

四、研究四：不同發酵對大豆蛋白分解成胺基酸的影響

實驗步驟

1. 大豆 2. 混合菌 3. 根黴菌 4. 乳酸菌

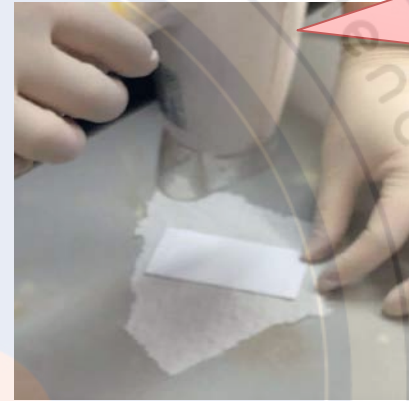
進行
薄層色層
分析



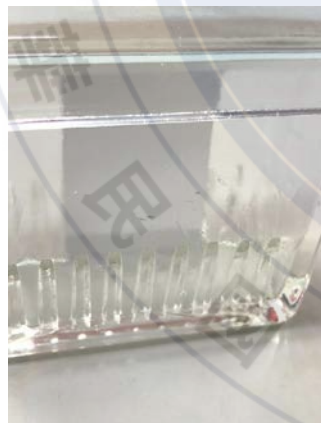
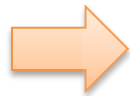
標示起跑線



滴樣本



烘乾



加入展開液



烘乾



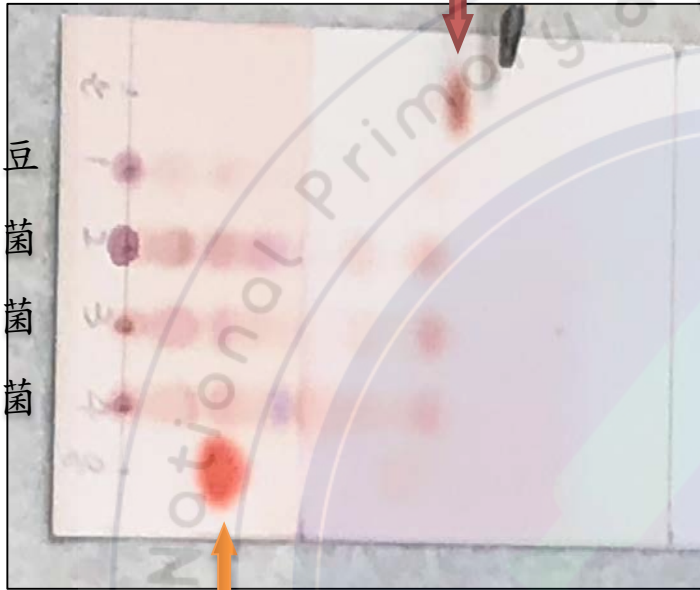
噴茚三酮

色胺酸

薄層色層分析實驗結果



大豆
混合菌
根黴菌
乳酸菌



甘氨酸

- 1) 各組分解成份具有不同移動速率，會在不同位置產生分離，呈色劑只跟胺基酸反應產生顏色。
- 2) 兩胺基酸垂直距離間的有色斑點，就是分解大豆蛋白成為胺基酸的證據。
- 3) 未發酵豆泥游離胺基酸種類和深淺最弱。
- 4) 混合菌豆泥則是最濃又最多種，支持我在【實驗一-2】觀察到飼混合菌飼料的麵包蟲成長增重最明顯。

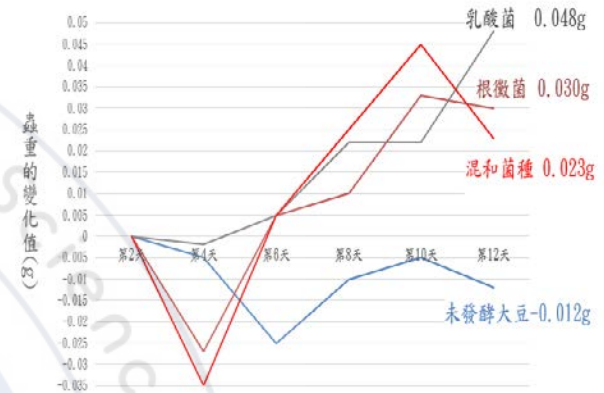
混合菌
增重最明顯



伍、結論

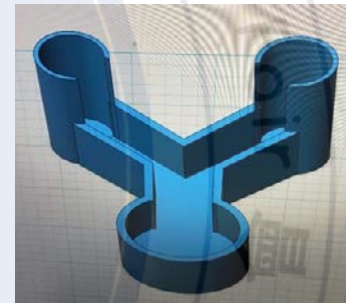
(一) 製作不同菌粉發酵的天貝飼料餵養麵包蟲

1. 混合根黴菌及乳酸菌的飼料能提供最多的養份。
2. 麵包蟲需要適應期來適應含有根黴菌的飼料。



(二) 麵包蟲嗅覺實驗

1. 麵包蟲沒有嗅覺偏好。
2. 麵包蟲會出現毛毛蟲效應(從眾現象)。






- 從研究一～研究二中，發現根黴菌與乳酸菌的混合發酵提供可增重易吸收營養成分。同時證明，利用麵包蟲做為動物試驗可簡單分析天貝的營養價值。
- 雖然麵包蟲與人類或哺乳類動物的腸道吸收方式差異很大，麵包蟲仍是好用又有效的動物分析方式。

伍、結論

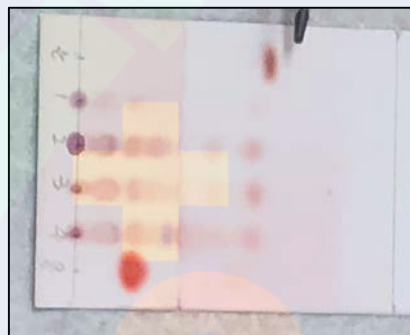
(三) 分離發酵天貝產物水溶性物質

1. 可能乳酸菌分解速度較快。
2. 酸性環境可能幫助過濾。

| 菌種 | 未發酵豆泥 | 根黴菌 | 乳酸菌 | 混合 |
|--------|---|---|---|---|
| 照片 |  |  |  |  |
| 分離過濾效果 | 差 | 差 | 好 | 好 |

(四) 不同發酵對大豆蛋白分解成胺基酸的影響

1. 大豆組含有的游離胺基酸種類及深淺皆最弱。
2. 混合組最營養。



- 查閱文獻及科展資料，發現第59屆【「膠」情「非」淺—探討魚鱗膠原蛋白的凝聚及水解分析研究】利用薄層色層分析研究膠原蛋白質被分解成胺基酸。我設法找到設備與老師教我進行實驗。
- 研究三～研究四，分離水溶性物質後以薄層色層分析分析大豆分解出來的胺基酸，證明沒有發酵就不太有游離胺基酸。混合菌粉組可看到最多種又最濃的胺基酸。
- 這整個研究證明，只要利用合適的益生菌，例如少孢根黴菌和植物乳酸菌，可以幫忙把不容易消化的高蛋白原料，製成適合老人或病人的蛋白營養補充品。