

中華民國第 65 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國小組 生活與應用科學科(二)

佳作

082906

自製益生菌-水克菲爾菌生長影響因素之研究

學校名稱： 國立嘉義大學附設實驗國民小學

作者：	指導老師：
小五 張寓森	翁秀玉
小五 王韻喬	
小五 簡奕聞	
小五 林恩樂	
小四 何奕辰	

關鍵詞： 水克菲爾菌、礦物質、糖

摘要

水克菲爾菌是一種可於2~3天內自行培養的益生菌飲品，本研究旨在探討影響其生長的關鍵因素，透過針筒定期測量產氣量，並記錄pH值與最終菌重。結果顯示，富含礦物質的黑糖與椰糖最有助於菌體生長。查閱文獻後推測鈣離子為關鍵因素，進一步實驗亦證實添加鈣粉能顯著促進生長。使用如煮沸放涼的自來水，因富含鈣離子，菌的生長優於其他水源，再次印證鈣離子的成效。此外，當【菌：糖：水】= 1:2:4時，產量最高。養菌過程建議保持通氣；溫度25°C時菌的生長最佳；菌若曾處於低溫(1°C)或高溫(30°C)環境一週，即使後續置於25°C，其活性仍受抑制。本研究成果可應用於水克菲爾飲品製程條件之優化，提升其品質與穩定性。

壹、前言

一、研究動機

在尋找科展題目時，我們希望延續前一年大葉欖仁紅葉製作康普茶的研究方向，決定繼續研究發酵飲品，所以選擇水克菲爾菌作為主題。起初，因為黑糖較貴，我們沿用前一年教室剩下的白糖進行培養，卻發現菌粒生長不良。為釐清原因，我們回頭查閱資料並觀察多部影片，發現皆使用黑糖養菌。這引發我們的興趣，於是展開研究，追查影響水克菲爾菌飲品菌生長的影響因素。（教材相關性：康軒版三上自然單元4廚房裡的科學）



圖1：水克菲爾菌
(出處詳圖片來源1)

二、研究目的

本研究旨在探討影響水克菲爾菌生長的各種因素，具體目的如下：

(一)研究一：糖的處理條件之研究

研究一-1：**糖的種類**對水克菲爾菌生長的影響

研究一-2：**糖量**對水克菲爾菌生長的影響

研究一-3：**混合糖比例**對水克菲爾菌生長的影響

(二)研究二：鈣的角色驗證

研究二-1：**鈣粉**對水克菲爾菌生長的影響

(三)研究三：水質的處理條件之研究

研究三-1：**水質**對水克菲爾菌生長的影響

(四)研究四：其他物理性環境條件之研究

研究四-1：**空氣量**對水克菲爾菌生長的影響

研究四-2：**溫度**對水克菲爾菌生長的影響

研究四-3：**先期培養溫度**對水克菲爾菌生長的影響

三、文獻回顧

(一) 水克菲爾菌的特性與發酵過程

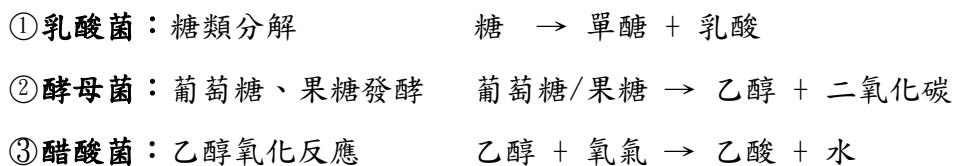
水克菲爾菌是一種可食用的益生菌，菌粒外觀呈現不規則顆粒狀，顏色半透明淺黃色，有不同大小。水克菲爾(Water Kefir)，也稱為緹比菌(Tibicos)、雪蓮等。

發酵過程是活菌與糖水的相互作用。將調配好的糖水與水克菲爾菌粒混合後，蓋上透氣布，在室溫環境下靜置 2-3 天，即可得到略酸與氣泡感的發酵飲品。

(二)水克菲爾菌飲品的成分及發酵原理

水克菲爾菌是微生物組成，包含乳酸菌、酵母菌及醋酸菌等形成的生態系統。水克菲爾菌粒是由微生物間相互作用下產生的多醣體所形成。

其中，乳酸菌會將糖類分解為單醣與乳酸(反應 ①)；而酵母菌代謝單醣（如葡萄糖、果糖）的時候會產生酒精和二氧化碳，因此有氣泡產生(反應 ②)；然後醋酸菌使酒精產生氧化反應，產出醋酸，因此會變酸(反應 ③)。而乳酸與醋酸形成的酸性環境，有助於抑制雜菌入侵，提升菌粒的適應性與抵抗力。反應如下：



(三)鈣離子對水克菲爾菌的影響

在研究進行過程中，我們發現使用黑糖或椰糖的效果明顯優於白糖或紅糖。然而，中文資料大多僅簡單指出是因為「礦物質」的緣故。進一步請教專家後，並參考國外一篇文獻得知：當水中鈣離子濃度超過一定門檻（例如 200 mg/L Ca^{2+} ）時，能夠促進菌粒的生長。

這是因為酵母菌會分泌一種名為「葡聚醣酶」的酵素，促使菌粒長大。不過，若菌液過酸 (pH 值過低)，會降低酵素的活性。此時，鈣離子有二項功能：

1. 如同保護者的角色，能穩定酵素結構，使其在酸性環境下仍維持功能，繼續幫助菌粒生長。
 2. 鈣離子能提高 pH 值，避免菌液過酸。

後續再進一步請教微生物教授後，我們得知葡聚醣酶的結構中活性區域含有二個鈣離子結合位置（圖 2），證實鈣離子是影響其活性的關鍵因素。

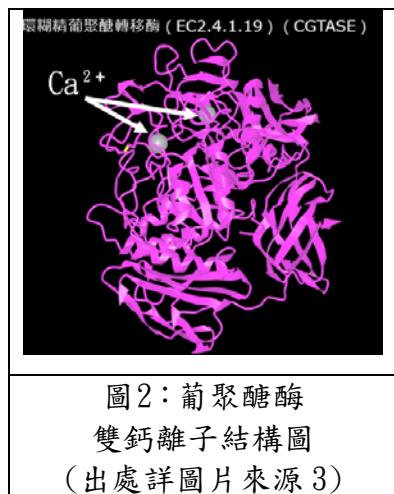


圖2：葡聚糖酶
雙鈣離子結構圖
(出處詳圖片來源3)

(四)pH值對水克菲爾菌生長的影響

文獻中有提到葡聚醣酶是水克非爾菌粒成長的關鍵酵素，該酵素的活性在 pH 3.6 時有 60% 活性，但當 pH 降到 3.2 時只剩 10% 活性。由此得知 pH 值不是降越低越好。

(五)製作方法

一次發酵

(1)網路上有不同的糖水配方比例，我們整理為

【菌:糖:飲用水】=1:(0.25~1):(4~10)，其中糖的種類幾乎是黑糖，有些網站上會加入椰糖、少量黑糖蜜混合。

(2)在玻璃杯上套上餐巾紙，以防異物進入，但仍保持通風。

(3)建議將罐子放在約 20~28°C 靜置 2~3 天，冬天如果有太陽的話可放置於陽光下。



圖3：冬天可放置於陽光下
(出處詳圖片來源 1)

二次發酵：取出菌液可添加水果密封放置室溫 12~24hr，使氣泡增加，再冷藏，風味最佳，可於 3~5 天內飲用。

本研究中決定採用 **【菌:糖:飲用水】=1:1:4** (糖量實驗除外)；
以及只做一次發酵的探究，不進行二次發酵的研究。

(六)飲用水克菲爾菌飲品的優點與價值

1. **低糖**：大部分糖分在發酵過程中被微生物分解，甜味會降低，發酵越久，則越沒有甜味。
2. **營養豐富**：製作水克菲爾菌時建議添加富含礦物質的糖(例如：黑糖、椰糖等)，可使水克菲爾菌生長更好，而且提升飲品中的營養價值。
3. **易於吸收**：微生物會將糖水中的營養分解為小分子，使其更容易被人體吸收與利用，特別適合消化功能較弱的人群。

(七)歷屆科展與本研究之差異

查詢到全國科展化學科「糖水裡怎有會生氣的水晶寶寶？」，與本作品益生菌飲品比較如下：

表1：歷屆科展與本研究之差異

項目	第54屆作品(化學科)	本研究(生活應用2-食品科學)
研究項目	<ul style="list-style-type: none">●檢驗雪蓮寶寶是否含酵素、蛋白質、碳。並檢驗產生的氣體。●進行上下層菌、有無菌粒、溫度、糖類、添加氫氧化鈉、添加鹽的實驗。●測量抗氧化力、製作成麵包。	<ul style="list-style-type: none">●從糖種類→鈣粉→水質方向探討，依序追查出礦物質中的鈣是關鍵因素，並以水質實驗再次證實鈣的重要。●其他影響因素：溫度、空氣量等。有別於第54屆作品。
研究方法	<ul style="list-style-type: none">●多數實驗是測量糖度及pH值。●只有上下層菌實驗改用產氣量。	<ul style="list-style-type: none">●測量產氣量、菌重、pH值。●糖種類、水質、鈣粉實驗，加測總溶解固體量(TDS)。●不使用糖度計：原本有使用，但發現無規律數據，詢問專家得知，菌液中不單只含糖，有其他物質干擾糖度計。
	<ul style="list-style-type: none">●用錐形瓶或玻璃瓶進行實驗，用菌量大。	<ul style="list-style-type: none">●器材微型化：使用針筒測量產氣量，可三次重複。
	<ul style="list-style-type: none">●只做前後測量，無時間軸。	<ul style="list-style-type: none">●可以定期測量，得到時間軸的數據，看出趨勢。

貳、研究器材與設備

水克菲爾菌、塑膠湯匙、玻璃罐、小玻璃瓶、灌食針筒、塑膠軟管、電子天平、TDS計、pH計、溫度計、燒杯、餐巾紙、恆溫箱、濾網、滴管、糖(黑糖、紅糖、白糖、椰糖、黑糖蜜)、水(礦泉水、煮過自來水、RO水)。

參、研究過程、結果與討論

一、研究方法與低溫克服策略

(一)研究流程 (圖 1-1)

1. 繁殖菌階段：113.11.06 ~113.11.28

我們在蝦皮上購買到水克菲爾菌，因價位不便宜，只能購買少量，在此期間用玻璃瓶來繁殖菌，希望能培養出足夠實驗用的菌量。

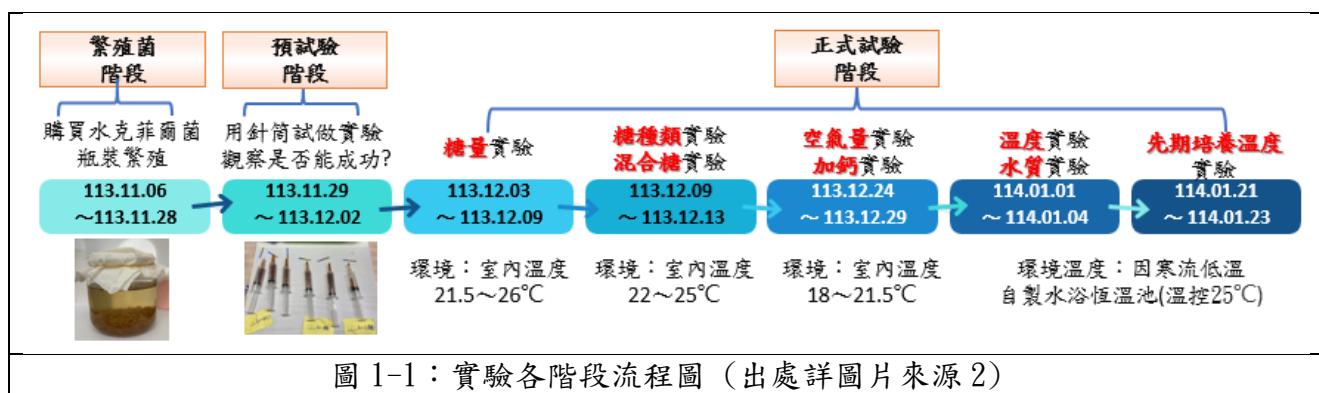
2. 預試驗階段：113.11.29 ~ 113.12.02

我們決定使用針筒來測產氣量，但是(1)菌重、糖量、空氣量應該抓多少量還不確定，菌過少可能會使各組產氣量差距不大；但菌多，又怕我們的存量不夠；(2)產氣量應該多久觀察一次？時間過長，針筒內的空間會不足，可能會爆管。因此我們先試做 2.5g 菌，做為預試驗量，成功可行後，才進入正式實驗。

3. 正式試驗階段：113.12.03 ~114.01.23

我們分五個時段進行不同批的實驗，前三批的環境溫度皆為室內氣溫。其中，前兩次實驗時，氣溫均在 20°C 以上，而在進行第三批實驗（空氣量及添加鈣粉）時，氣溫下降至 18°C，此時產氣量明顯減少，顯示低溫對水克菲爾菌的生長有影響，因此我們需要克服低溫帶來的挑戰。

在後續的實驗中，我們嘗試自製「水浴恆溫池」（使用養魚用的加熱控溫棒），將水溫穩定控制在 25°C，結果順利成功，確保了菌的正常生長與產氣量。



(二)實驗方法

1. 針筒裝置用來測量**產氣量**及**菌重**：(每個實驗都測得 3 次數據，再取平均值)

(1)在針筒裡加入 2.5g 的水克菲爾菌，再將糖+10mL 水的糖水加入針筒。

(2)活塞調整針筒內的空氣量為 20mL，在活塞位置的初始刻度作記號(圖 1-4)。

			
圖 1-2：針筒放 2.5g 菌 (出處詳圖片來源 1)	圖 1-3：糖+10mL 水的糖水 加入針筒 (出處詳圖片來源 1)	圖 1-4：空氣量為 20mL (出處詳圖片來源 1)	圖 1-5：1 支針 筒實驗使用蓋子 (出處詳圖片來源 1)

(3)測量產氣量

因為針筒空間有限，所以定期測量完，活塞會來回推動進行換氣，再推回初始刻度，預留下一次可產氣的空間；每次紀錄的產氣量再利用 Excel 進行累加計算。

以下有分為 1 支針筒及 2 支針筒的設計：

① 1 支針筒

在最初進行糖類型與糖量等實驗時，我們僅使用一支針筒，並直接套上蓋子以達到密閉效果(測試多家品牌，只有某個品牌的針筒能密閉)，同時標示初始刻度的位置(圖 1-4)。然而，每次測量需耗時約 1.5 小時，而單支針筒的容量有限，若產氣量過多，可能導致爆管風險，因此需密集進行觀測與排空，每日須安排約三次測量。由於平日需要上課，頻繁測量對我們造成相當大的負擔，因此在後續實驗中進行了改良。

② 2 支針筒

使用連接管連接 2 支針筒(圖 1-6)，以增加氣體儲存空間。同時，我們在活塞處用油性筆做記號，標示初始刻度位置。每次測量產氣量時，先將活塞推至初始刻度，在另一支針筒即可快速看到產氣量的數據(圖 1-7)。

		
圖 1-6：改良實驗，中間使 用塑膠管使 2 支針筒連接。 (出處詳圖片來源 1)	圖 1-7:活塞推到初始刻度，並觀察產氣量數據。 (出處詳圖片來源 1)	

(4) 測量菌重

最後一次測量數據時，使用濾網將菌過濾（統一甩 10 下）（圖 1-8），取出菌，並秤重（圖 1-9）。



2. pH 值測量裝置測量 pH 值

(1) 在小玻璃瓶中加入 2.5g 水克菲爾菌、2.5g 黑糖及 10mL 水（本研究中糖量皆採用 2.5g，但只有糖量實驗是使用不同糖量）。

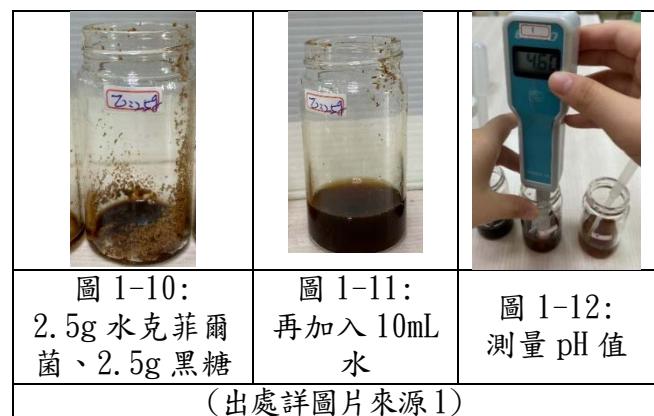


圖 1-10:
2.5g 水克菲爾菌、2.5g 黑糖

圖 1-11:
再加入 10mL 水

（出處詳圖片來源 1）

因為 30 頁頁數限制，pH 值數據、菌增重（3 重複）、產氣量（3 重複）只放統計圖，詳細數據的表格將會帶到會場。

（三）克服氣溫太低的方法

1. 困難：遇到寒流

我們在前幾個實驗是從 11 月開始進行，當時氣溫大約在 20°C 以上。但是 12 月中旬之後開始寒流來襲，我們發現，低於 20°C 時，菌的產氣量變得極少，生長不好，而教室的恆溫箱最低溫是 30°C，經過測試，菌也是生長不好，不適合來做實驗。

2. 解決方法：自製水浴恆溫箱

我們採用魚缸專用的加熱控溫棒，將水溫設定為 25°C，並搭配沉水式馬達以產生水流，使水溫均勻穩定。

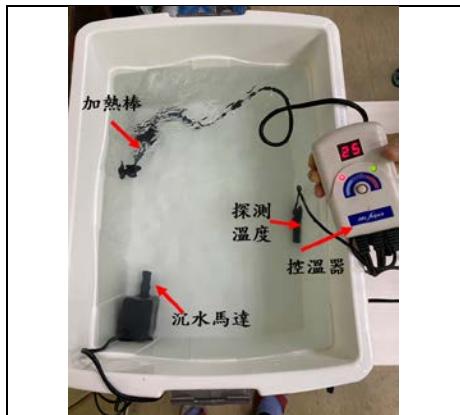


圖 1-13:自製水浴恆溫箱零件
（出處詳圖片來源 1）



圖 1-14:菌液的針筒都在水底下
（出處詳圖片來源 1）

二、研究一：糖的處理條件之研究

研究一-1：糖的種類對水克菲爾菌生長情況的影響

一開始使用教室剩下的白糖進行養菌，卻發現菌粒生長不佳，又改買紅糖，還是生長不佳。為釐清原因，我們查閱資料並觀察多部影片，發現多數案例皆使用黑糖養菌，有的添加椰糖。因此設計以下四種糖類的實驗。

(一)變因

操縱變因：糖的種類

甲：白糖 乙：紅糖 丙：黑糖 丁：椰糖

應變變因：測量產氣量(mL)、菌重、pH值

不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、糖量(2.5g)、水種類(學校RO水)、水量(10g)、空氣量(20mL)、環境溫度氣溫(22~25°C)。

(二)實驗步驟

1. 調整改變不同種類的糖，甲：白糖 乙：紅糖 丙：黑糖 丁：椰糖。

其中 0hr~70hr 之間是使用 ① 1 支針筒的方法(圖 2-8)，但後來產氣量可能會發生爆管現象，70hr 測量完之後，改使用 ② 2 支針筒的方法(圖 2-9)。

2. 定期記錄氣溫，測量產氣量、pH值，最後一次加測菌重。(方法 p. 4~p. 6)

3. 加測 TDS 數值：各類糖 2.5g 加上 10mL 水，糖溶解後，測量 TDS 數值。

				 白糖：39ppm 紅糖：247ppm 黑糖：1628ppm 椰糖：> 2000ppm
圖 2-1：白糖	圖 2-2：紅糖	圖 2-3：黑糖	圖 2-4：椰糖	圖 2-5：測量各種糖水的 TDS (出處詳圖片來源 1)

(三)結果

1. pH 值：四組的酸鹼值都往下降，數據介於 3.25~4.00。

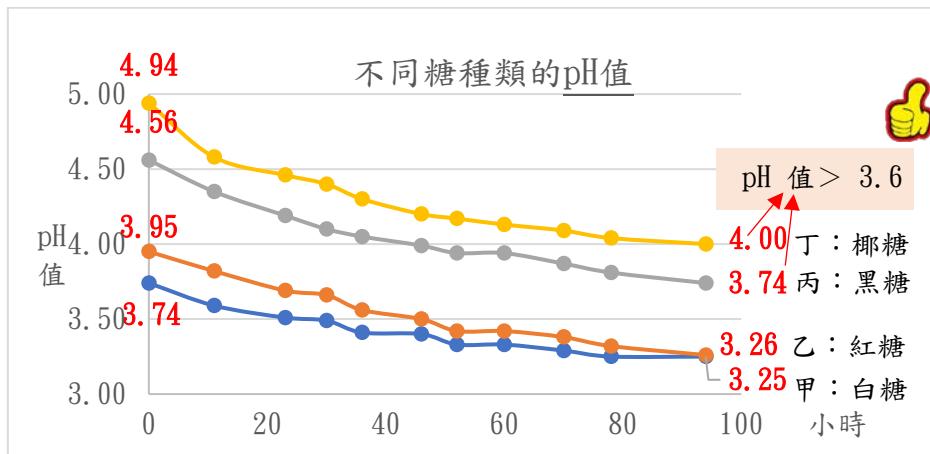


圖 2-6：糖的種類對水克菲爾菌 pH 值的比較（出處詳圖片來源 1）

2. 菌增重：在 94hr 後，不同糖量，在三管數據取平均後，增重分別為：2.57g、2.73g、3.57g、3.49g，以丙組黑糖 3.57g 的平均增重最多。

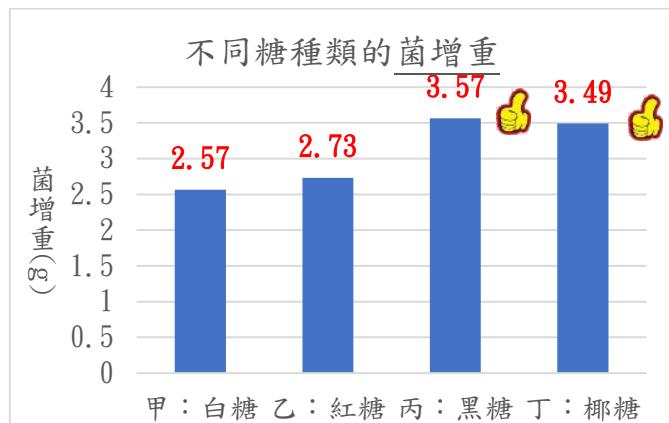


圖 2-7：糖的種類對菌增重的比較（出處詳圖片來源 1）

3. 產氣量：在 94hr 後，在三管數據取平均後，不同糖類產氣量分別為：96.7mL、106.0mL、189.2mL、298.5mL，以丁組椰糖平均產氣量最多。

<p>圖 2-8: 甲乙丙丁 0 小時使用 ① 1 支針筒的方法 (出處詳圖片來源 1)</p>	<p>圖 2-9: 甲乙丙丁 94 小時 70hr 之後改使用 ② 2 支針筒的方法 (出處詳圖片來源 1)</p>
--	--

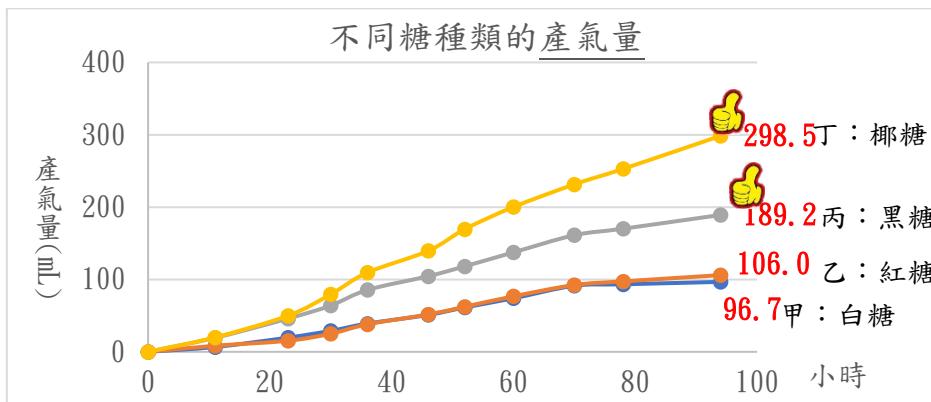


圖 2-10：糖的種類對水克菲爾菌產氣量的比較（出處詳圖片來源 1）

(四)討論

1. 糖的種類分別是甲組白糖、乙組紅糖、丙組黑糖、丁組椰糖，整理數據如下：

菌的增重：甲組 $2.57\text{g} < \text{乙組 } 2.73\text{g} < \text{丁組 } 3.49\text{g} < \text{丙組 } 3.57\text{g}$ ；

產氣量：甲組 $96.7\text{mL} < \text{乙組 } 106\text{mL} < \text{丙組 } 189.2\text{mL} < \text{丁組 } 298.5\text{mL}$ ；

pH 值：甲組白糖 $3.25 < \text{乙組紅糖 } 3.26 < \text{丙組黑糖 } 3.74 < \text{丁組椰糖 } 4.00$ ；

TDS 值：甲組 $39\text{ppm} < \text{乙組 } 247\text{ppm} < \text{丙組 } 1628\text{ppm} < \text{丁組 大於 } 2000\text{ppm}$ 。

2. 礦物質與菌活性之間的關係

(1) 礦物質：在本實驗中，我們測量了不同糖類的總溶解固體 (TDS，圖 2-5)，用以間接推估礦物質含量。結果顯示，礦物質含量為：丁組 (椰糖) $>$ 丙組 (黑糖) $>$ 乙組 (紅糖) $>$ 甲組 (白糖)。由實驗結果，丙組 (黑糖) 及丁組 (椰糖) 不論是產氣量或菌粒增重皆為較高，顯示其礦物質含量可能與菌生長有助益。

(2) 鈣：在許多網路教學影片與網站中，常提到製作水克非爾菌時建議使用黑糖，原因是黑糖富含礦物質。然而，未進一步說明礦物質如何實際影響菌的活性。

網路上只有一則提到可加入蛋殼粉，因此我們決定進一步設計研究二添加鈣粉的實驗，以驗證鈣離子是否為提升菌活性的主要因素。後續詢問專家，從國外文獻資料才得知，礦物質中的鈣離子對水克非爾菌粒的生成具有關鍵作用。(詳細說明請參考 p.1 中鈣離子對水克菲爾菌的影響)。

3. pH 值對菌的影響

(1) 黑糖與椰糖在本實驗中的產氣量與菌粒增重效果均優於其他糖類。根據文獻指出，當菌液酸性過低 (pH 值低於 3.6 時)，不利菌的生長。

(2) 對照本實驗 94 小時後的數據，黑糖組的 pH 值為 3.74，椰糖為 4.00，皆維持在酵素活性較佳的範圍；而白糖與紅糖組則分別降至 3.25 與 3.26，已低於理想值。

(3) 由此得知，黑糖與椰糖較不易使菌液過度酸化，有助於維持良好的菌粒生成能力，與文獻所述結果相符。

研究一-2：黑糖糖量對水克菲爾菌生長情況的影響

(一) 變因

操縱變因：黑糖糖量 甲:0.5g 乙:2.5g 丙:5.0g

應變變因：測量產氣量(mL)、菌重、pH值

不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、糖種類(黑糖)、水種類(學校RO水)、水量(10g)、空氣量(20mL)、氣溫(21.5~26°C)。

(二) 實驗步驟

- 調整黑糖添加量，分為三組：甲組 0.5g、乙組 2.5g、丙組 5.0g。
- 定期記錄氣溫，測量產氣量、pH值，最後一次加測菌重。(方法 p. 4~p. 6)

	
圖 2-11:不同重量的黑糖 (出處詳圖片來源1)	圖 2-12:加上10mL RO水 (出處詳圖片來源1)

圖 2-13: 甲乙丙組在 0hr 各 3 管
(出處詳圖片來源1)

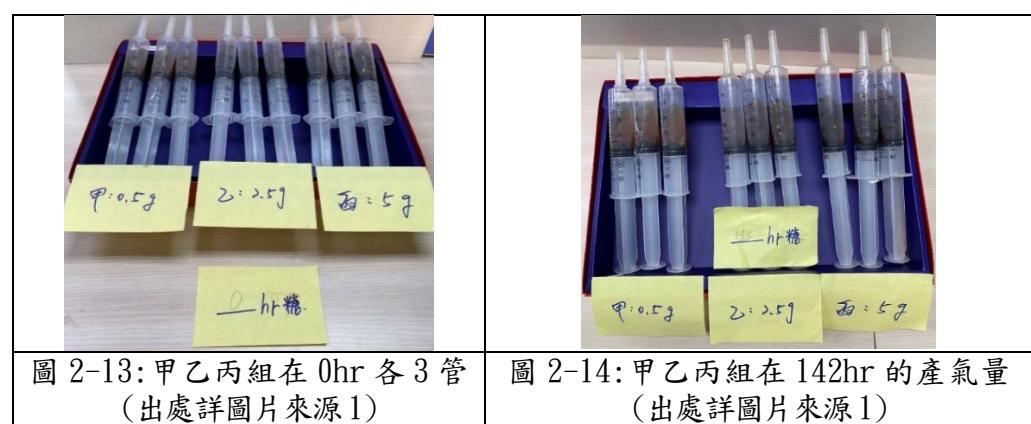


圖 2-14: 甲乙丙組在 142hr 的產氣量
(出處詳圖片來源1)

(三) 結果

1. pH值

因為加的黑糖量不同，所以影響了初始糖水的 pH 值；而三組的酸鹼值都會往下降低，在 2.5 天(60hr 前)下降較快，之後就變慢；總下降 pH 差值是甲組：4.39→3.15，下降 1.24。乙組：4.60→3.45，下降 1.15。丙組：4.79→3.75，下降 1.04。

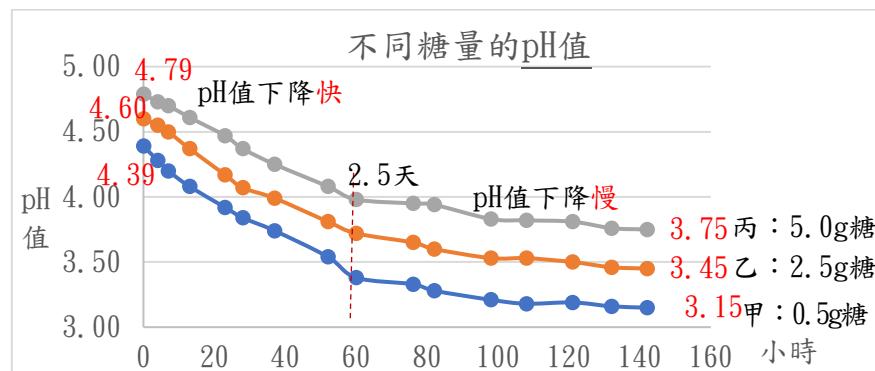


圖 2-15：黑糖糖量對水克菲爾菌 pH 值的比較 (出處詳圖片來源1)

2. 水克菲爾菌的增重：在 142hr 後，在三管數據取平均後，增重分別為：0.87g、1.07g、1.30g，以丙組糖量 5.0g 的的平均增重最多。

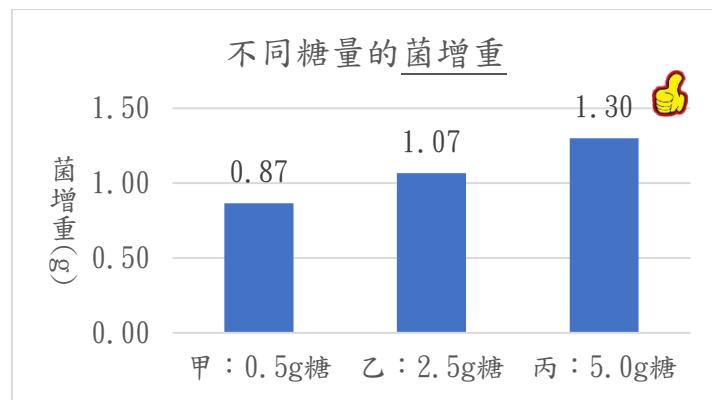


圖 2-16：黑糖糖量對菌增重的比較（出處詳圖片來源1）

3. 產氣量：在 142hr 後，在三管數據取平均後，產氣量分別為：142.5mL、152.3mL、205mL，以丙組糖量 5.0g 的平均產氣量最多。

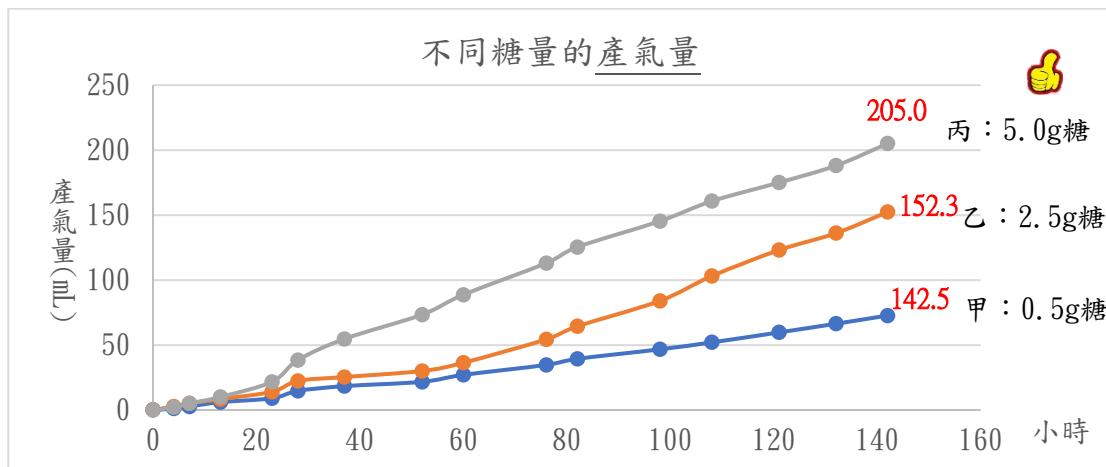


圖 2-17：黑糖糖量對水克菲爾菌產氣量的比較（出處詳圖片來源1）

(四) 討論

1. 黑糖糖量分別是甲組 0.5g、乙組 2.5g、丙組 5.0g，整理數據如下：

菌的增重：甲組 0.87g < 乙組 1.07g < 丙組 1.30g；

產氣量：甲組 142.5 mL < 乙組 152.3 mL < 丙組 205.0 mL；

pH 值：甲組 3.15 < 乙組 3.45 < 丙組 3.75。

2. 氣體證實是二氧化碳

本實驗所產生氣體可使澄清石灰水變為白色混濁，證實其為二氧化碳。

3. 菌的增重與產氣量關係

糖是水克菲爾菌的能量來源，發酵時會產生二氧化碳（氣體）、乳酸和少量酒精，同時菌量也會增加。在丙組，因為糖量最多，菌群可以用於發酵的能量越多，因此產氣量與菌增重就越多。

3. pH 值

(1) 從圖 2-15 觀察到黑糖量越多，則初始 pH 值就越高，從統計圖可見，三條線呈現平行下降。在 142hr 後，糖量越高，則 pH 值也是越高(丙組糖量 5.0g，pH 值 3.75)。再比對菌增重與產氣量發現，較不酸的環境，菌的產能較佳。

(2) 60hr(約 2.5 天)之前 pH 值下降速度較快，而 2.5 天之後下降速度變慢，由此得知，當氣溫在 21.5~26°C 之間時，發酵在 2.5 天左右就能飲用。網路上的資料也是建議 2~3 天。

4. 糖量的比例是可以增加為菌的 2 倍

(1) 網路上對於養菌比例的說明並不一致，查到的資料大多為【菌：糖：水】=1：(0.25~1)：(4~10)。

(2) 原本以為糖水濃度太高會抑制菌的生長，然而實驗結果卻出乎意料：在丙組中，糖的比例為菌的兩倍，糖水濃度相當高，卻反而促進了菌的生長，這是一個在現有文獻與資料中未曾提及的發現。

研究一-3：混合糖類實驗對水克菲爾菌生長情況的影響

因為網路上養菌影片中有人添加少量的椰糖、黑糖蜜，因此引起我們的興趣，設計以下混合糖類的實驗。

(一) 變因

操縱變因：混合糖類比例

甲：黑糖 2.5g

乙：黑糖 2.0g+椰糖 0.5g

丙：黑糖 1.5g+椰糖 1.0g

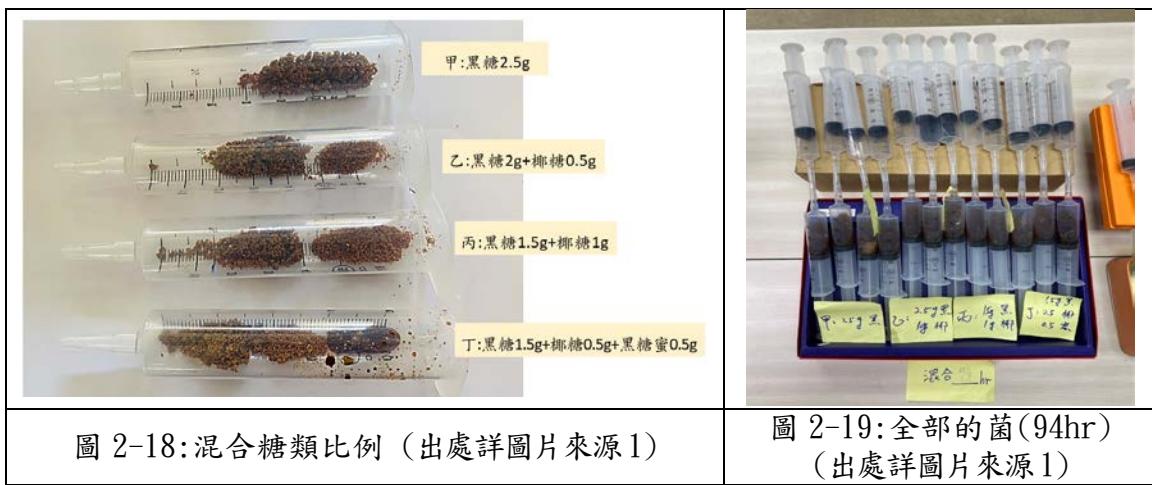
丁：黑糖 1.5g+椰糖 0.5g+黑糖蜜 0.5g

應變變因：測量產氣(mL)、菌重、pH 值

不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、水種類(Ro 水)、水量(10g)、空氣量(20mL)、環境溫度氣溫(22~25°C)。

(二) 實驗步驟

1. 調整混合糖類比例，甲：黑糖 2.5g 乙：黑糖 2.0g+椰糖 0.5g
丙：黑糖 1.5g+椰糖 1.0g 丁：黑糖 1.5g+椰糖 0.5g+黑糖蜜 0.5g
2. 定期記錄氣溫，測量產氣量、pH 值，最後一次加測菌重。(方法 p. 4~p. 6)



(三)結果：混合糖類的比例不同時，觀察水克菲爾菌變化情形：

1. pH 值

因為加糖種類不同，所以影響了初始糖水的 pH 值；這四組的酸鹼值都會往下降，這四組的 pH 值落在 3.74~3.93 之間，差異不大。

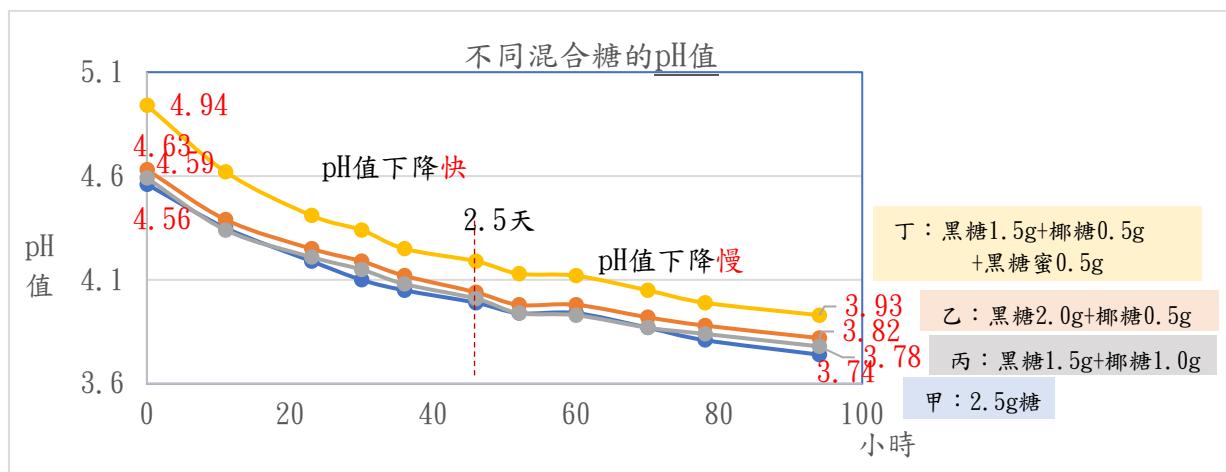


圖 2-20：混合糖對水克菲爾菌 pH 值的比較 (出處詳圖片來源 1)

2. 水克菲爾菌的增重:在 94hr 後，在三管數據取平均後，甲乙丙丁組的增重分別為：

3.57g、3.60g、3.73g、3.70g，丙組椰糖 1.0g 的平均增重較多。

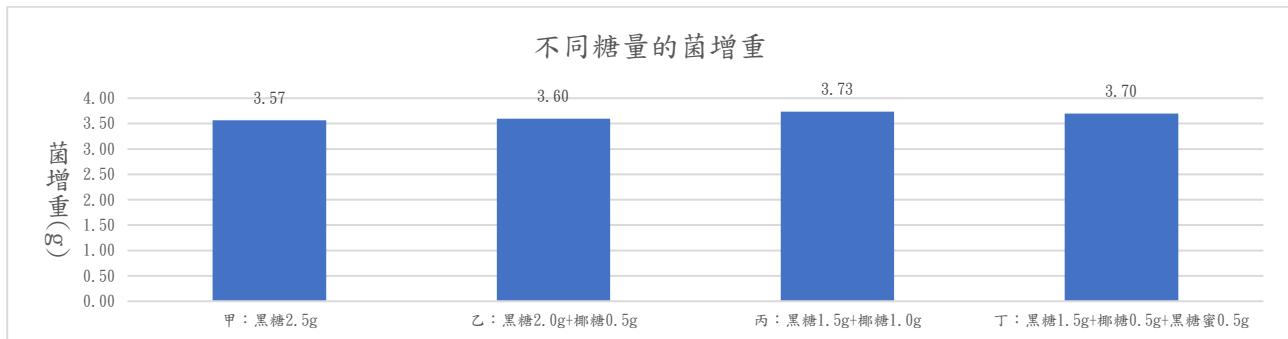


圖 2-21：混合糖對菌增重的比較 (出處詳圖片來源 1)

3. 產氣量：在 94hr 後，不同糖量產氣量分別為：189.2mL、193.0mL、203.3mL、197.67mL，以丙組黑糖 1.5g+椰糖 1.0g 的平均產氣量最多。

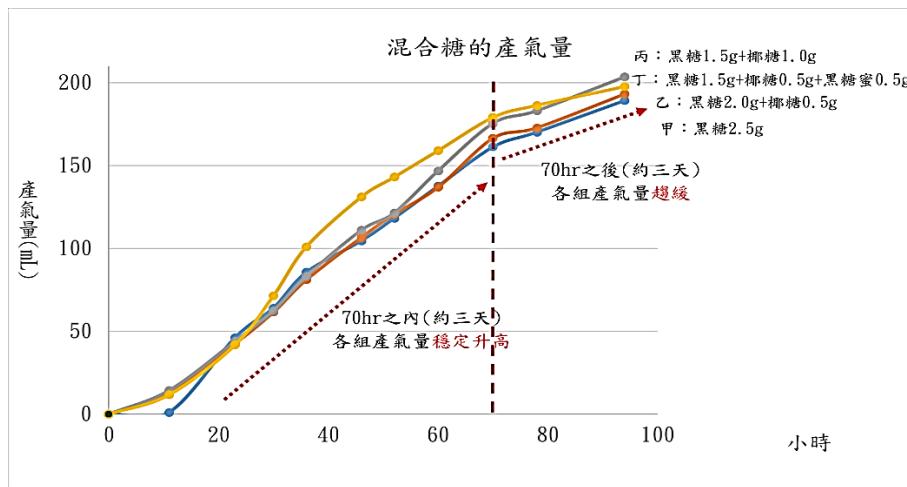


圖 2-22：混合糖對水克菲爾菌產氣量的比較（出處詳圖片來源 1）

(四) 討論

1. 混合糖類比例分別是甲：黑糖 2.5g、乙：黑糖 2.0g+椰糖 0.5g、丙：黑糖 1.5g+椰糖

1.0g、丁：黑糖 1.5g+椰糖 0.5g+黑糖蜜 0.5g，整理數據如下：

菌的增重：甲組 3.57g < 乙組 3.60g < 丁組 3.70g < 丙組 3.73g

產氣量：甲組 189.2mL < 乙組 193mL < 丁組 197.67mL < 丙組 203.3mL

pH 值：甲組 3.74 < 丙組 3.78 < 乙組 3.82 < 丁組 3.93

2. 菌的增重與產氣量關係

(1) 添加椰糖比例：比較甲乙丙三組

①隨著椰糖比例增加，而黑糖比例減少，結果發現，水克菲爾菌的產氣量及增重也隨之略為升高。

②椰糖是由椰子花蜜經慢火熬煮而凝結成的糖粒，過程中僅去除水分，保留了許多精製糖所缺乏的礦物質。由於椰糖與黑糖一樣富含礦物質，甚至椰糖的 TDS 數值比黑糖更高(p. 7 或 p. 9 TDS 數值，黑糖(1628ppm)、椰糖(>2000ppm))，由本實驗得知，適量增加椰糖的比例，可能有助於水克菲爾菌的生長。而我們在網路上也有看到使用椰糖，添加的比例是黑糖 3 匙+椰糖 1 匙。

(2) 添加黑糖蜜比例：比較丙丁二組

①增加黑糖蜜的添加量，同時減少椰糖比例，結果發現水克菲爾菌的產氣量與增重略有下降（差異極小）。

②本實驗結果顯示，增加黑糖蜜的比例並未促進水克菲爾菌的生長。儘管部分網路配

方建議可加入少量黑糖蜜，我們推測，由於黑糖蜜是以黑糖與水煉製而成，實際上增加了配方中的水分，並未對菌的生長產生明顯助益。這點與網路配方的建議有所不同。

三、研究二：鈣的角色驗證

研究二-1：鈣粉量對水克菲爾菌生長情況的影響

研究一-1 的結果證實富含礦物質的黑糖與椰糖對菌的生長最佳，但沒有說明為什麼？後來我們看到網路上有人提到可加入蛋殼粉可以增加鈣離子，家中正好有可食用的鈣粉，因此我們決定使用鈣粉來進行實驗。

(一) 變因

操縱變因：鈣粉量

甲：0g 乙：半匙鈣 丙：一匙鈣

(由於每管鈣粉的重量過輕，無法使用電子天平秤得精確數值，因此改以「匙」為單位。)

應變變因：測量產氣量(mL)、菌重、pH 值、TDS

不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、糖種類(黑糖)、水量(10g)、空氣量(20mL)、溫度(25°C)。

(二) 實驗步驟

- 調整放入不同的鈣粉，甲：0g 乙：半匙鈣 丙：一匙鈣。
- 因氣溫太低，因此自製水浴恆溫池(25°C)，甲乙丙 3 組各三管，定期測量產氣量、pH 值，最後一次加測菌重。(方法 p. 4~p. 6)，並加測 TDS(水 10mL+不同量的鈣粉)。



		
圖 3-2:自製水浴恆溫池(25°C)，0hr 甲乙丙 3 組各三管 (出處詳圖片來源 1)	圖 3-3:乙組半匙鈣粉	圖 3-4:丙組一匙鈣粉

(三)結果

(1) pH 值

加鈣粉會造成 pH 值升高，所以在 0hr 時，有加鈣粉的乙丙組 pH 值會比甲組對照組高；不過隨著時間增加，這三組的酸鹼值都會往下降，在 144hr 時，三組的 pH 值介在 3.6~4.04 之間。

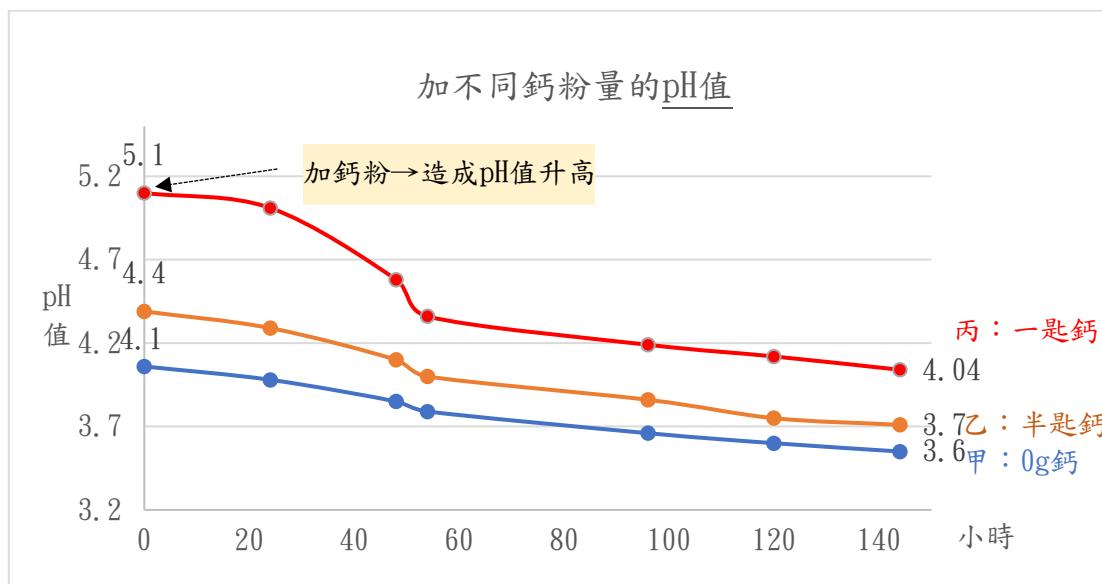


圖 3-5：鈣粉量對水克菲爾菌 pH 值的比較（出處詳圖片來源 1）

(2)水克菲爾菌的增重

在 144hr 後，不同鈣粉量的菌增重分別為：4.5g、4.6g、5.0g，以丙組加 1 匙鈣粉量的平均增重最多。

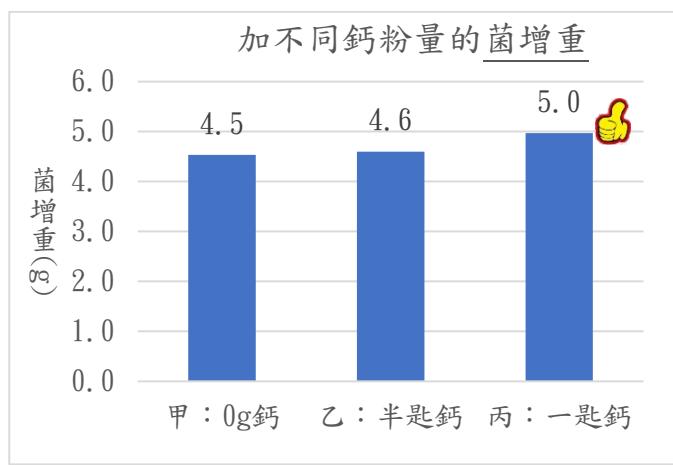


圖 3-6:鈣粉量對菌增重的比較（出處詳圖片來源 1）

(3)產氣量：在 144hr 後，加不同鈣粉量情況下，菌的產氣量分別為：74.7mL、81.5mL、142.7mL，以丙組加 1 匝鈣粉的平均產氣量最多。

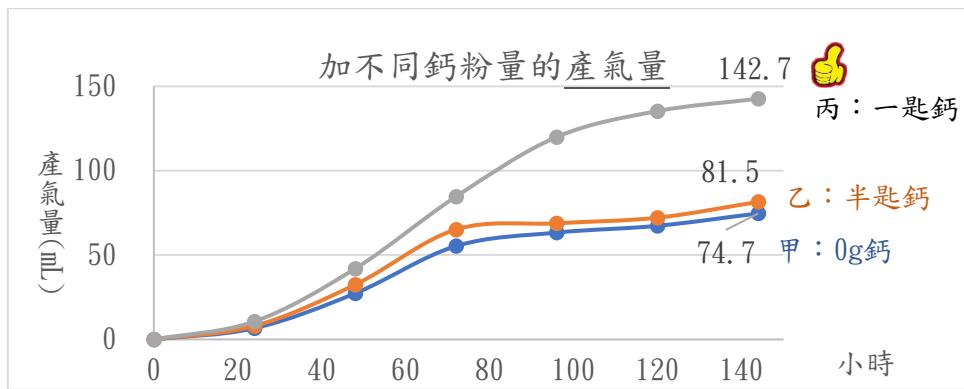


圖 3-7：鈣粉量對水克菲爾菌的產氣量的比較（出處詳圖片來源 1）

(四) 討論

1. 添加不同的鈣粉量，分別是甲組 0g 鈣、乙組半匙鈣、丙組一匙鈣，整理數據如下：

總溶解固體量(TDS)：甲組 17 ppm < 乙組 41 ppm < 丙組 95 ppm；

菌的增重：甲組 4.5g < 乙組 4.6g < 丙組 5.0g；

產氣量：甲組 74.7 mL < 乙組 81.5 mL < 丙組 142.7 mL；

pH 值：甲組 3.55 < 乙組 3.71 < 丙組 4.04。

2. 比較菌的增重與產氣量的結果後發現，隨著鈣粉添加量的增加，水中的總溶解固體(TDS) 數值也相對提高，同時菌粒的增重與產氣量也明顯上升，這顯示鈣粉有助於水克菲爾菌的生長。本實驗證實，鈣粉能有效補充鈣離子，促進菌的生長。

3. 甲、乙、丙三組（添加不同量的鈣粉）的 pH 值介於 3.55~4.04 之間。雖然添加鈣粉會使 pH 值略微上升，但乙、丙組（有添加鈣粉）的菌增重與產氣量皆高於甲組（未添加鈣粉）。這表示 pH 值的升高並未對菌的生長產生負面影響，與文獻中提及「避免過酸環境有助於菌生長」的觀點一致。

四、研究三：水的處理條件之研究

研究三-1：水質對水克菲爾菌生長情況的影響

(一) 變因

操縱變因：水質 甲: RO 水 乙: 礦泉水 丙: 煮開的自來水

應變變因：測量產氣量(mL)、菌重、pH 值、TDS

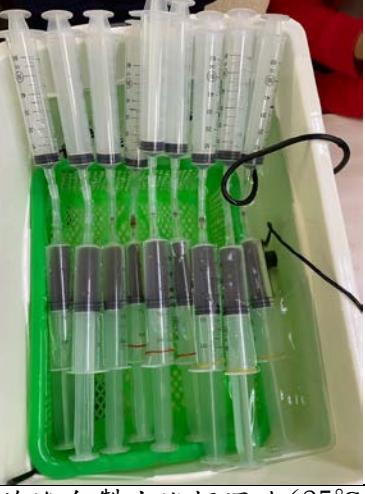
不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、糖種類(黑糖)、水量(10g)、空氣量(20mL)、溫度(25°C)。

(二) 實驗步驟

1. 調整不同的水質 甲: RO 水、乙: 礦泉水、丙: 煮開的自來水。

2. TDS 測試筆測量三種水質總溶解固體量 (TDS)，其中鈣為水中常見的溶解固體之一。

3. 定期記錄氣溫，測量產氣量、pH 值，最後一次加測菌重。(方法 p. 4~p. 6)

		
<p>圖 4-1: 甲組 RO 水 TDS 33ppm (出處詳圖片來源 1)</p>	<p>圖 4-2: 乙:組礦泉水 TDS 31ppm (出處詳圖片來源 1)</p>	<p>圖 4-3: 丙組煮開的自來水 TDS 403ppm (出處詳圖片來源 1)</p>
		
<p>圖 4-4: 放進自製水浴恆溫池(25°C), 0hr 甲乙丙 3 組各三管(出處詳圖片來源 1)</p>		<p>圖 4-5: 96hr 各組的產氣量 (出處詳圖片來源 1)</p>

(三)結果

1. pH 值

因為加的水質不同，所以影響了初始糖水的 pH 值；其中乙丙組的酸鹼值都會往下降，在 2.5 天(96hr 前)下降較快，之後就變慢；總下降 pH 差值是甲組：4.18→3.60，下降 0.58；乙組：5.49→3.56；下降 1.93；丙組：5.89→3.59，下降 2.30。

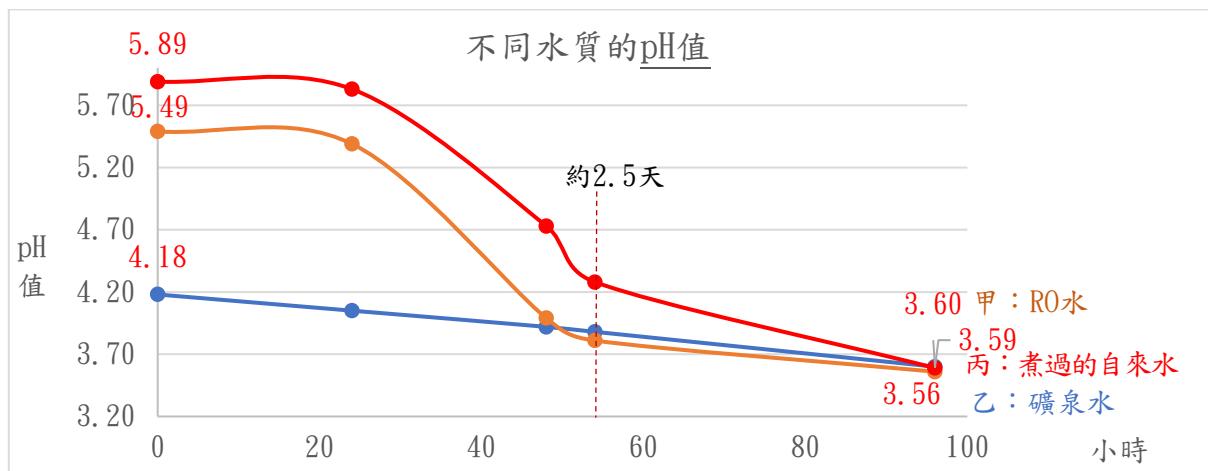


圖 4-6:水質對水克菲爾菌 pH 值的比較 (出處詳圖片來源 1)

(2)水克菲爾菌的增重：

在 96hr 後，不同水質分別為：2.77g、2.73g、3.17g，以丙組煮過的自來水水質的平均增重最多。

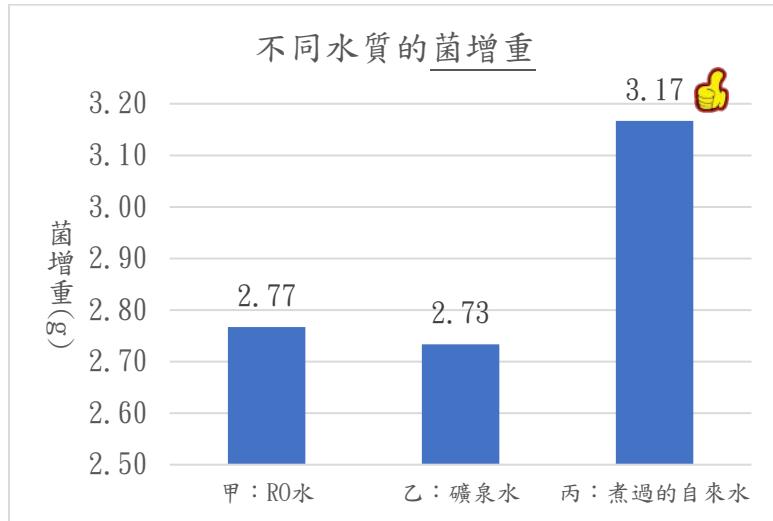


圖 4-7：水質對菌增重的比較（出處詳圖片來源1）

(3)產氣量：在 96hr 後，不同水質產氣量分別為：71.0mL、71.5mL、145.7mL，以丙組煮過的自來水水質的平均產氣量最多。

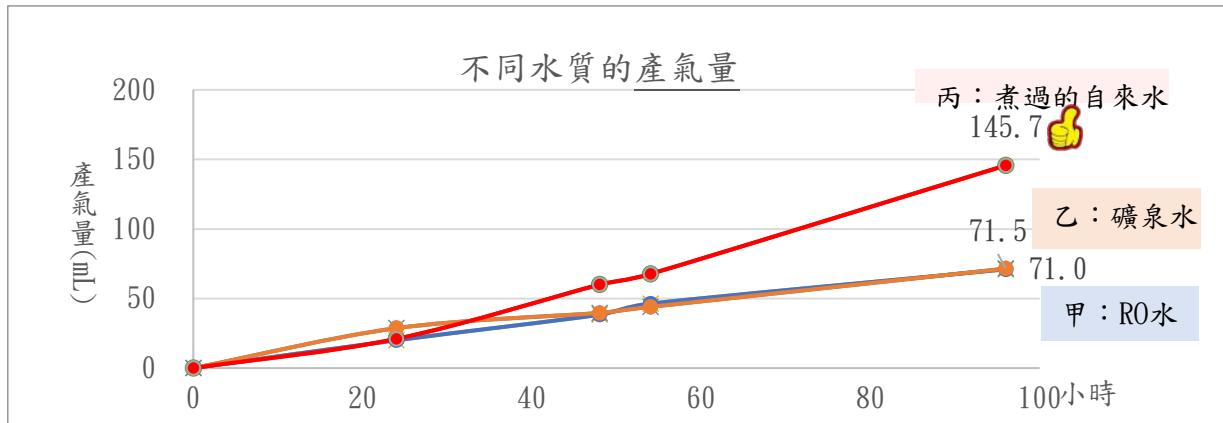


圖 4-8：水質對水克菲爾菌產氣量的比較（出處詳圖片來源1）

(四)討論

1. 水質分別是甲組 RO 水、乙組礦泉水、丙組煮過的自來水，整理數據如下：

總溶解固體量(TDS)：乙組 31ppm < 甲組 33ppm < 丙組 403ppm

菌的增重：乙組 2.73g < 甲組 2.77g < 丙組 3.15g；

產氣量：甲組 71.0mL < 乙組 71.5mL < 丙組 145.7 mL；

pH 值：乙組 3.56 < 丙組 3.59 < 甲組 3.60。

2. 總溶解固體量 (TDS)、菌的增重與產氣量之關係

(1)根據查詢資料，礦物質會影響水克菲爾菌的生長，而不同水質的礦物質含量可能有

所不同。因此，我們測量了總溶解固體量 (TDS)，結果顯示：甲組 (RO 水) 為 33 ppm、乙組 (礦泉水) 為 31 ppm、丙組 (煮過的自來水) 為 409 ppm。丙組的礦物質含量最高，約為甲、乙組的 12.8 倍。令人意外的是，市售的礦泉水本應含有較多礦物質，實測結果卻與 RO 水相近。

(2)進一步將菌的增重與產氣量數據與 TDS 值進行比對後發現，丙組 (煮過的自來水) TDS 值最高，而菌增重與產氣量也是最高，我們推測是因為含有豐富的鈣，此結果再次驗證鈣對水克菲爾菌生長具有關鍵作用。建議使用煮沸後放涼的自來水作為培養水源 (可掀蓋煮沸數分鐘以去除氯)，是適合水克菲爾菌培養的選擇。

五、研究四：其他物理性環境條件之研究

研究四-1：空氣量對水克菲爾菌生長情況的影響

(一) 變因

操縱變因：空氣量 甲:0mL 乙:20mL

應變變因：測量產氣量 (mL)、菌重

不變變因：水克菲爾菌 (2.5g)、水種類 (RO 水)、環境溫度氣溫 (18~21.5°C)、糖量 (2.5g)。

(二) 實驗步驟

1. 調整空氣量分成兩組，甲:0mL 乙:20mL。

2. 定期記錄氣溫，測量產氣量，最後一次加測菌重。(方法 p. 4~p. 6)

	
圖 5-1: 空氣量不同的甲乙組 (出處詳圖片來源 1)	圖 5-2: 空氣量甲乙組 (96hr) (出處詳圖片來源 1)

(三) 結果

(1) 水克菲爾菌的增重：在 144hr 後，甲乙組的增重分別為：4.10g、4.53g，乙組 20mL 的菌增重較多。

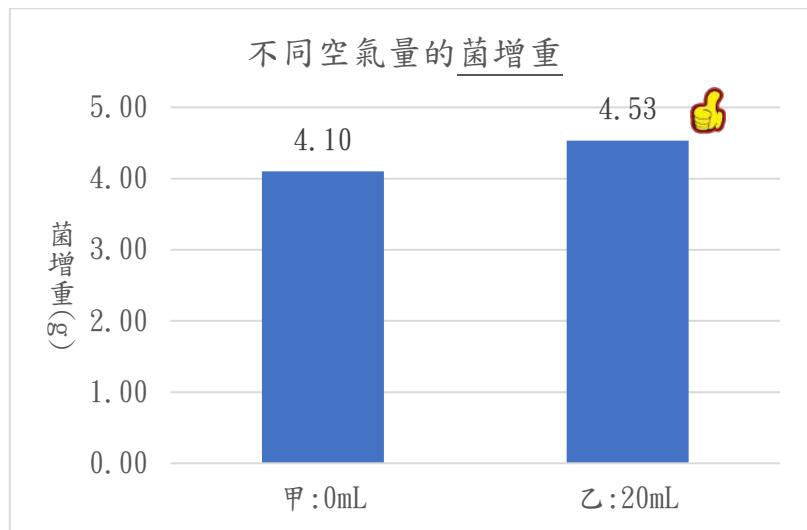


圖 5-3：空氣量對菌增重的比較（出處詳圖片來源1）

(2)產氣量：在 144hr 後，不同糖量產氣量分別為：47.2mL、74.7mL，以乙組空氣量 20mL 的平均產氣量最多。

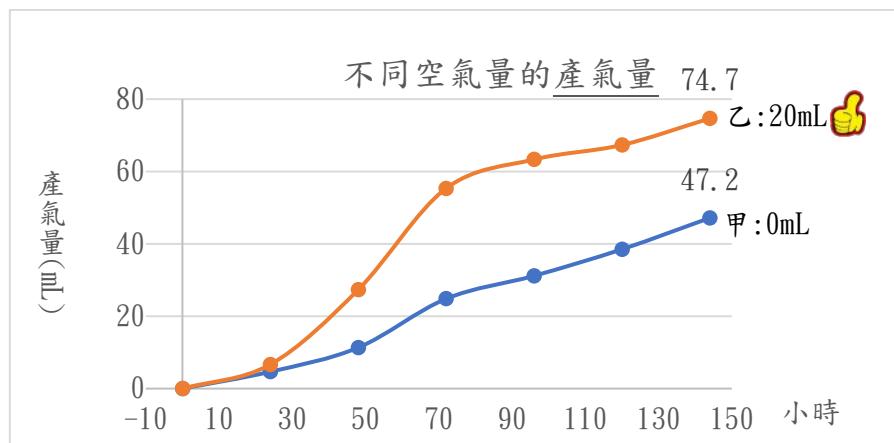


圖 5-4：空氣量對水克菲爾菌產氣量的比較（出處詳圖片來源1）

(四)討論

1. 空氣量分別是甲組 0mL、乙組 20mL，整理數據如下：

菌的增重：甲組 4.10g < 乙組 4.53 g

產氣量：甲組 47.2 mL < 乙組 74.7 mL。

2. 菌的增重與產氣量之關係

菌的增重與產氣量都是乙組 20mL 較多。由此可知，水克菲爾菌的生長需要空氣。這與網路上建議使用透氣布或餐巾紙覆蓋容器，以保持透氣的做法相符。

研究四-2：溫度對水克菲爾菌生長情況的影響

(一) 變因

操縱變因：溫度

甲：低溫($19^{\circ}\text{C} \sim 21^{\circ}\text{C}$) 乙： 25°C 丙： 30°C

應變變因：測量產氣量(mL)、菌重、pH值

不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、糖種類(黑糖)、黑糖量(2.5g)、水種類(R0水)、水量(10g)、空氣量(20mL)。

(二) 實驗步驟

1. 調整不同溫度環境：

甲：低溫(教室室溫 $19^{\circ}\text{C} \sim 21^{\circ}\text{C}$)、乙： 25°C (自製水浴恆溫箱)、丙： 30°C (恆溫箱)。

2. 定期記錄氣溫，測量產氣量、pH值，最後一次加測菌重。(方法 p. 4~p. 6)

註：自製水浴恆溫箱的方法，是利用養魚用的加熱棒及 IC 電子控溫器就可以設定水溫，再加上沉水馬達就能使整個水箱的溫度一致。

圖 5-5: 甲組低溫 ($19^{\circ}\text{C} \sim 21^{\circ}\text{C}$)	圖 5-6: 乙組 25°C	圖 5-7: 丙組 30°C
(出處詳圖片來源 1)		

(三) 結果

(1) pH 值

這三組的酸鹼值都會往下降，其中甲組低溫、丙組 30°C 高溫在 2.5 天(54hr 前)下降較快，之後就變慢，而乙組 25°C 是持續穩定下降；總下降 pH 差值是甲組： $4.20 \rightarrow 3.87$ ，下降 0.33；乙組： $4.18 \rightarrow 3.6$ ，下降 0.58；丙組： $4.08 \rightarrow 3.69$ ，下降 0.39。

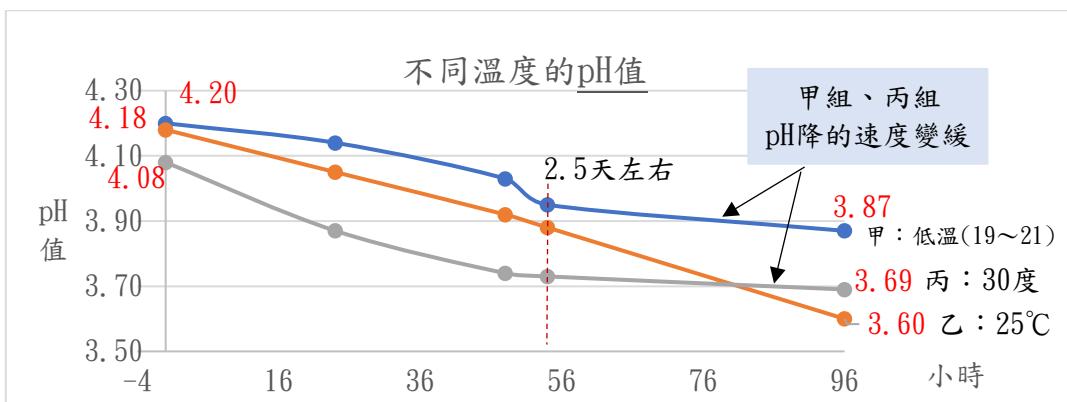


圖 5-8：溫度對水克菲爾菌的 pH 值 (出處詳圖片來源 1)

(2)水克菲爾菌的增重:在 96hr 後，三組的增重量分別為：2.13g、2.77g、2.63g，以甲組低溫的菌，平均增重最少，乙組 25°C 最多。

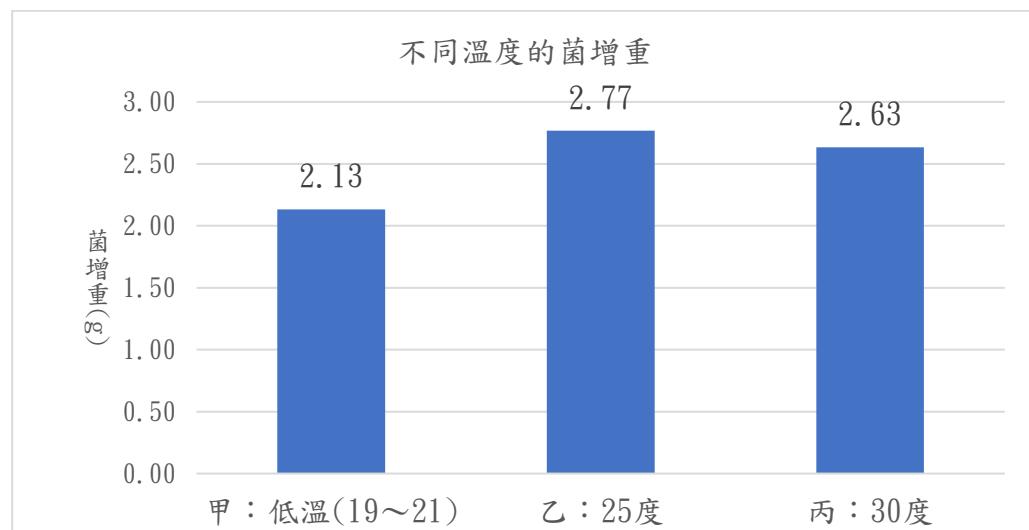


圖 5-9：溫度對菌增重的比較 (出處詳圖片來源 1)

(3)產氣量

在 96hr 後，甲乙丙組產氣量分別為：13.0mL、71.0mL、47.0mL，以乙組 25 °C 的菌產氣量會穩定上升，而且產氣量最多。

在 2.5 天(54hr 前)產氣速度都較快速，之後產氣速度較緩。

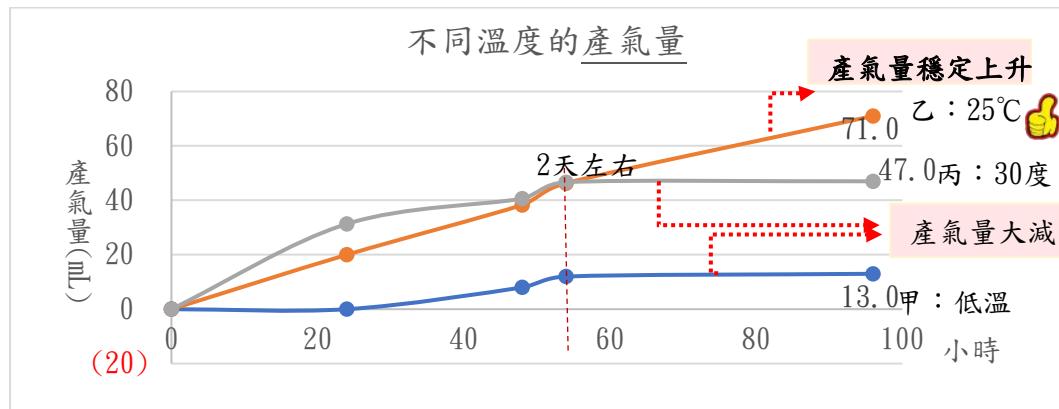


圖 5-10：溫度對水克菲爾菌的產氣量 (出處詳圖片來源 1)

(四)討論

1. 溫度分別是甲組低溫($19^{\circ}\text{C} \sim 21^{\circ}\text{C}$)、乙組 25°C 、丙組 30°C ，整理數據如下：

菌的增重：甲組 $2.13\text{g} < \text{丙組 } 2.63\text{g} < \text{乙組 } 2.77\text{g}$ ；

產氣量：甲組 $13\text{mL} < \text{丙組 } 47\text{mL} < \text{乙組 } 71\text{mL}$ ；

pH 值：乙組 $3.60 < \text{丙組 } 3.69 < \text{甲組 } 3.87$ 。

2. 菌的增重與產氣量關係

乙組 25°C 的產氣量與菌增重都最多，由本實驗得知，在 25°C 的環境下，菌生長得最好。

研究四-3：先期培養溫度對水克菲爾菌生長情況的影響

網路上有資料提到放在冰箱的話，菌會停止生長，因此我們想知道，從冰箱拿出來的菌，馬上就會恢復生長能力嗎？還是需要一段時間適應？

(一)變因

操縱變因：不同先期培養溫度 甲：冰箱 乙：室溫($15 \sim 20^{\circ}\text{C}$) 丙： 25°C 丁： 30°C

應變變因：測量產氣量(mL)、菌重、pH 值

不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、糖種類(黑糖)、水量(10g)、空氣量(20mL)、溫度(25°C)。

(二)實驗步驟

1. 事先馴養一週：將菌分成四批，分別放在不同溫度下，一週後取出使用。甲：冰箱 乙：室溫($15 \sim 20^{\circ}\text{C}$) 丙： 25°C (自製水浴恆溫池) 丁： 30°C (恆溫箱)。

2. 依據 p. 4~p. 6 所述的 2 支針筒裝置以及 pH 值測量裝置，各組針筒都在自製水浴恆溫池(25°C)。

3. 定期記錄氣溫，測量產氣量、pH 值，最後一次加測菌重。(方法 p. 4~p. 6)

			
圖 5-11: 甲組冰箱	圖 5-12: 乙組室溫($15 \sim 20^{\circ}\text{C}$)	圖 5-13: 丙組 25°C	圖 5-14: 丁組 30°C
(出處詳圖片來源 1)			

(三)結果

菌在不同溫度下放置一週後，再取出在同溫度下(25°C)進行實驗時，觀察水克菲爾菌變化情形：

(1) pH 值

菌在不同溫度下放置一週後，pH 值一開始就會不同，最後三組的 pH 值介在 3.05~3.66 之間。

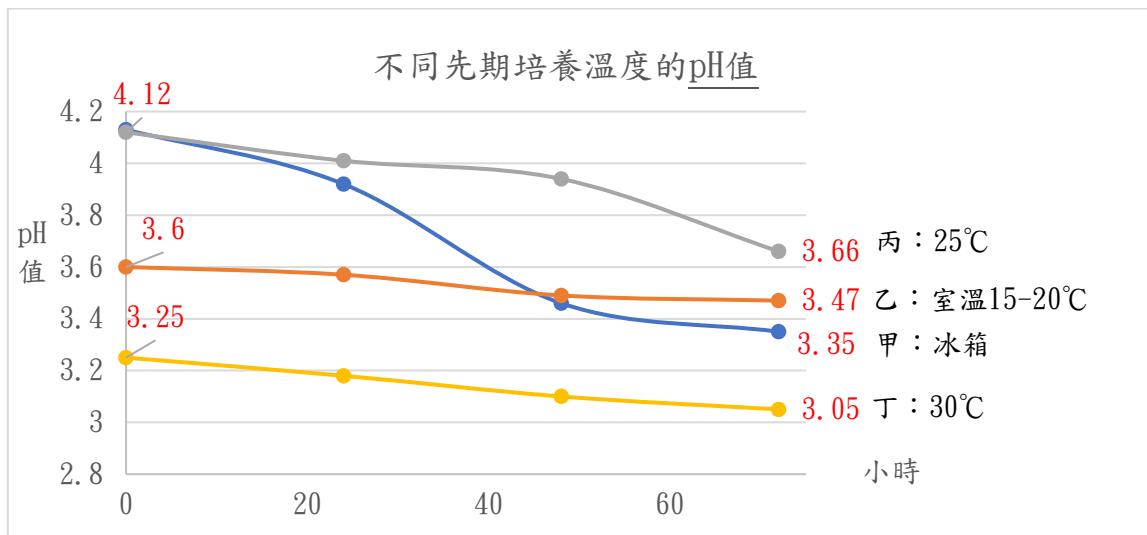


圖 5-15：不同先期培養溫度對水克菲爾菌的 pH 值（出處詳圖片來源 1）

(2) 菌重：在 72hr，不同先期培養溫度菌增重為：0.50g、0.97g、1.37g、0.80g， 25°C 增重最多。

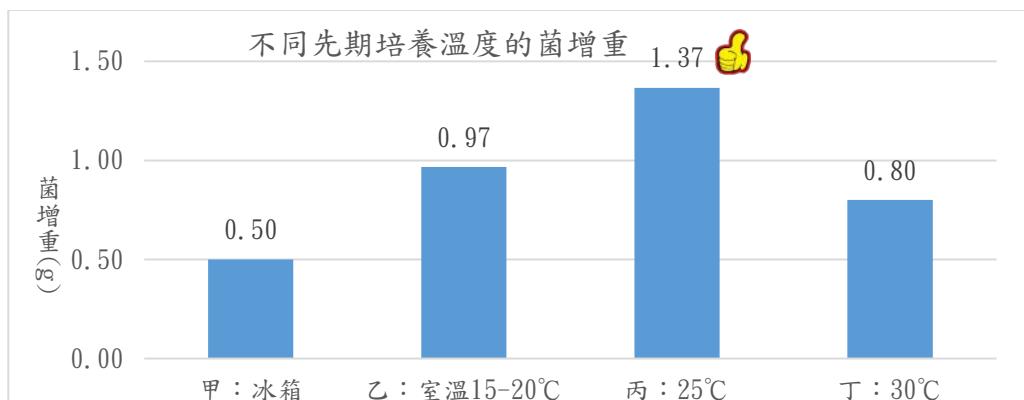


圖 5-16：不同先期培養溫度對菌增重的比較（出處詳圖片來源 1）

(3) 產氣量：在 72hr 後，不同先期培養溫度情況下，菌的產氣量分別為：19.0mL、48.8mL、50.0mL、24.3mL，以 25°C 平均產氣量最多。

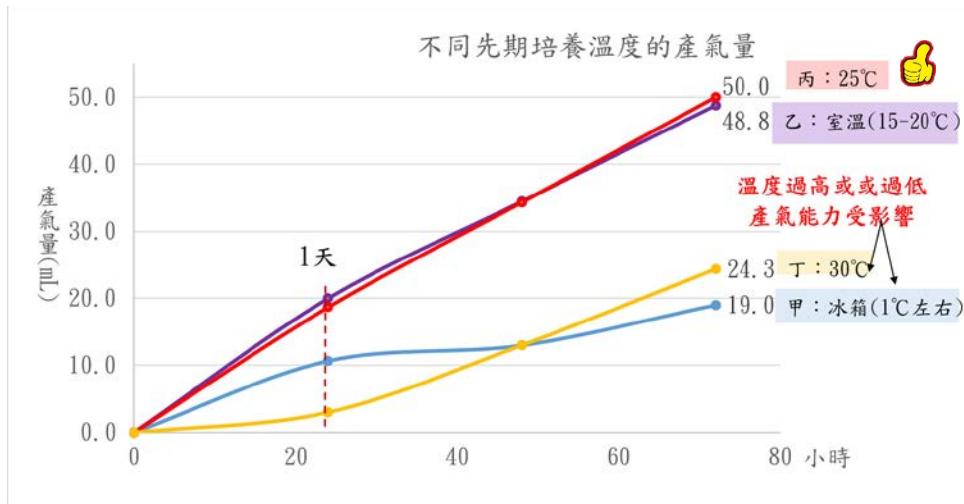


圖 5-17：不同先期培養溫度對水克菲爾菌的產氣量（出處詳圖片來源1）

(四)討論

- 不同先期培養溫度一週後的菌，甲組冰箱、乙組室溫($15\sim 20^{\circ}\text{C}$)、丙組 25°C 、丁組 30°C ，整理數據如下：

菌的增重：甲組 $3.00\text{g} < \text{丁組 } 3.30\text{g} < \text{乙組 } 3.49\text{g} < \text{丙組 } 3.87\text{g}$ ；

產氣量：甲組 $19.0\text{ mL} < \text{丁組 } 24.3\text{mL} < \text{乙組 } 48.8\text{mL} < \text{丙組 } 50.0\text{mL}$ ；

pH 值：丁組 $3.05 < \text{甲組 } 3.35 < \text{乙組 } 3.47 < \text{丙組 } 3.66$ 。

2. 菌的增重與產氣量關係

(1)比較菌的增重與產氣量，都是丙組 25°C 最好，其次是乙組室溫($15\sim 20^{\circ}\text{C}$)，再來是丁組 30°C ，而甲組冰箱最差。

(2) $15\sim 20^{\circ}\text{C}$ 對菌體活性影響較小：當菌體在乙組室溫（約 $15\sim 20^{\circ}\text{C}$ ）下培養一週後，再移至 25°C 環境，其產氣能力並未受到先期低溫的影響，仍可維持穩定的產能；菌增重則稍有降低。顯示此範圍內的溫度變化對菌體活性影響較小。

(3)過高(30°C)或過低(1°C)溫度對菌體活性影響大：若菌先於過高（丁組， 30°C ）或過低（甲組，約 1°C ）的溫度環境下培養一週後再移至 25°C ，其菌增重與產氣量皆顯著下降。由此推論，極端溫度可能對菌活性造成抑制，且影響在回復至適溫(25°C)後仍可能持續。

伍、結論

一、糖的處理條件方面

研究一-1 糖的種類

- 使用不同糖類時，實驗結果顯示椰糖與黑糖的產氣量與菌粒增重效果皆優於紅糖與白

糖。同時，TDS 測量結果顯示，椰糖與黑糖的礦物質含量較高，紅糖與白糖則較低。整體結果顯示，礦物質有助於提升水克非爾菌的生長。

2. 綜合實驗與成本考量，建議選用黑糖，既能提供足夠礦物質，又較經濟實惠。

研究一-2 黑糖糖量

1. 網路上對於黑糖的添加量沒有固定標準。本實驗測試在 10mL 水中分別加入 0.5g、2.5g、5.0g 黑糖，結果顯示，當黑糖量為 5.0g (即【菌：糖：水】= 1:2:4) 時，水克菲爾菌的生長狀況最佳。
2. 當氣溫維持在 21.5~26°C 之間時，我們發現前 2.5 天內 pH 值下降速度較快，之後則趨緩。因此，建議發酵時間可估算為 2~3 天左右，即可取出飲用。

研究一-3 混合糖比例

1. 添加椰糖比例：椰糖比例增加，而黑糖比例減少，水克菲爾菌的生長也隨之提升。
2. 添加黑糖蜜比例：增加黑糖蜜的比例並未促進水克菲爾菌的生長。

二、鈣的角色驗證

研究二-1 鈣粉

添加較多鈣粉時，菌的增重與產氣量都相對增加，可見鈣粉確實有助於水克菲爾菌的生長。這是因為鈣離子具有穩定酵素結構，以及提高 pH 值，避免菌液過酸的功能。

三、水質的處理條件之研究

研究三-1 水質

實驗結果證實，煮過的自來水放涼後仍保有豐富的礦物質，使菌的生長表現最佳，是適合培養水克菲爾菌的水源。

四、其他物理性環境條件之研究

研究四-1 空氣量

水克菲爾菌的生長需要空氣。這與網路上建議使用透氣布或餐巾紙覆蓋容器，以保持透氣的做法相符。

研究四-2 溫度

1. 水克非爾菌在 25°C 的環境下生長最佳，其菌粒增重與產氣量優於 30°C 與 19~21°C 的組別，推論 25°C 為最適發酵溫度。
2. 建議夏天可將發酵瓶放置於冷氣房或進行隔水降溫，冬天則可置於日照處保溫，以維持適宜溫度，促進菌的生長。

研究四-3 先期培養溫度

將水克菲爾菌在不同溫度下放置一週後，再統一於 25°C 進行培養，結果顯示：

1. 25°C 是最適宜的溫度：菌的產能最佳。

2. 15~20°C 的影響較小：若菌原本存放於 15~20°C 一週後，再到 25°C 環境時，產氣量可迅速恢復，但菌增重有些微降低。

3. 過高(30°C)或過低(1°C)溫度影響大：過高(30°C)或過低(1°C)溫度環境下一週後，再到 25°C 環境時，產氣量與增重皆顯著下降，仍會持續抑制菌的活性，表示處於極端溫度會對菌造成較持久的影響，不易快速恢復。

五、pH 值對水克非爾菌產氣量與增重的影響

根據八組實驗結果分析，多數在 pH 值大於或等於 3.6 的條件下，菌體的產氣量與增重表現較佳，顯示偏酸性但不過酸的環境有助於菌的活性。

僅有水質實驗中使用「煮過的自來水」的 pH 值為 3.59，以及空氣量實驗中「20mL 空氣」的 pH 值為 3.55 略低於 3.6，未完全符合此規則。整體而言，此結果與文獻中指出「pH 值 3.6 時活性較高、pH 值降至 3.2 時活性降低」(p. 2)的發現相符。

六、綜合結論

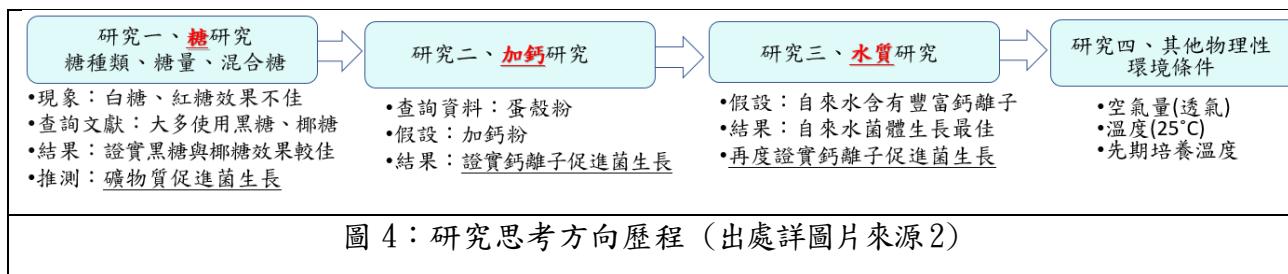


圖 4：研究思考方向歷程（出處詳圖片來源 2）

由圖 4，本研究自探討糖種類對水克菲爾菌飲品生長的影響為起始，發現黑糖與椰糖的產氣量與菌粒增重表現最佳，推測與其礦物質含量較高有關。查閱文獻後得知，礦物質中的鈣離子是關鍵因素，不僅能穩定菌的酵素結構，還能調節菌液的酸鹼度，避免過度酸化。為驗證此推論，我們設計了添加鈣粉的實驗，結果證實鈣能有效提升菌的活性與產能。

進一步進行水質實驗，發現煮沸放涼的自來水最有助於菌的生長，推論與其鈣含量較高有關，再次確認鈣離子在菌生長中的重要角色。

此外，我們也探討了其他物理環境因素，發現水克菲爾菌的生長需要空氣，且最適發酵溫度為 25°C，過高 (30°C) 或過低 (1°C) 都會抑制其產氣與增重表現。

綜合以上結果，若要自製健康的水克菲爾菌飲品，建議採用【菌：糖】 = 1:2 的比例，使用富含礦物質的黑糖或椰糖，搭配煮沸放涼的自來水，適量添加鈣粉，置於通風環境中以 25°C 發酵 2~3 天，即可製作出略帶酸味與黑糖香的水克菲爾飲品。

七、未來展望

未來可進一步探討水克非爾菌的保存方式，例如停止養菌時是否可透過乾燥或冷藏方式延長保存期限。此外，除了菌的生長與發酵表現外，也可進行風味評比，比較其對口感與接

受度的影響。更進一步可朝向二次發酵方向發展，加入不同水果進行調味與二次發酵，提升飲品多樣性與應用價值。

陸、參考資料

蔡昀珊、林子倫、邱筱涵、李亭葳、陳育祺、廖文賢（2015）。糖水裡怎有會生氣的水晶寶寶？收錄於中華民國第 54 屆中小學科學展覽會參展作品集。取自 <https://reurl.cc/mRE8v1>。

Laureys, D., Cnockaert, M., & De Vuyst, L. (2019). The buffer capacity and calcium concentration of water influence the microbial species diversity, grain growth, and metabolite production during water kefir fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 2876. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02876> .

提琉比長壽村（2016）。kefir 問答討論區。取自 <https://reurl.cc/Q5zvdo>。

舒活媽咪·幸福派（2023）。水克菲爾（Water Kefir）的製作與保存方式。取自 <https://reurl.cc/WA16R7>。

Ki 酵 Bar (2017)。水克菲爾 Water Kefir 教學-Ki 酵 BaR。取自 <https://reurl.cc/KdN7Xg>。

馮慧中(2009) 營養素與健康：碳水化合物糖 食物安全中心。取自：
<https://reurl.cc/7KEXbb>。

Medium 網站(2023)。Water kefir (Tibicos) 水克菲爾。取自：
<https://medium.com/@justasmallpotato/water-kefir-tibicos-%E6%B0%B4%E5%85%8B%E8%8F%B2%E7%88%BE-fec6de42c2b0>。

美國國家生物技術資訊中心（NCBI）結構資料庫，iCn3D 互動式三維結構檢視工具。檢索編號 MMDB ID: 55879，2025 年 5 月 6 日取自：
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/icn3d/full.html?&mmdbid=55879&bu=1&showanno=1&source=full-feature>。

圖片來源

1. 本圖片由作者親自拍攝或編輯。
2. 本圖片由指導老師親自拍攝或編輯。
3. 本圖片引自 NCBI 結構資料庫再由作者補字編輯，網址
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/icn3d/full.html?&mmdbid=55879&bu=1&showanno=1&source=full-feature>。

【評語】082906

1. 本研究以不同糖種類、水質、糖量、空氣量及溫度等因素找出最佳水克菲爾菌生長影響因素，詳述實驗原理，實驗內容明確反應主題，實驗數據說明清楚。實驗結果顯示鈣為影響其生長一大關鍵並行驗證。
2. 本研究成果可應用於水克菲爾飲品製程條件之優化，提升其品質與穩定性，具實用價值，並有構思未來展望。
3. 利用生活週遭可取得器材自製測量檢測工具，例如：連接兩針筒測氧氣量，進行量化結果記錄，具有創意。
4. 提醒網路參考資料應補充網址。
5. 測量菌種的方式不夠客觀，建議可經離心、過濾再行量秤。
6. 實驗中煮過的自來水效果最好，但煮過主要是除微生物及氯，礦物質在煮過後應該會沈澱，RO水則是除礦物質，所以理論上應該自來水的礦物質含量最多，然而實驗結果是煮過自來水效果最好，建議更深入討論可能原因。

作品海報

自製益生菌-水克菲爾菌



生長影響因素之研究



摘要

水克菲爾菌是一種可於2~3天內自行培養的益生菌飲品，本研究旨在探討影響其生長的關鍵因素，透過針筒定期測量產氣量，並記錄pH值與最終菌重。結果顯示，富含礦物質的黑糖與椰糖最有助於菌體生長。查閱文獻後推測鈣離子為關鍵因素，進一步實驗亦證實添加鈣粉能顯著促進生長。使用如煮沸放涼的自來水，因富含鈣離子，菌的生長優於其他水源，再次印證鈣離子的功效。此外，當【菌：糖：水】=1:2:4時，產量最高。養菌過程建議保持通氣；溫度25°C時菌的生長最佳；菌若曾處於低溫(1°C)或高溫(30°C)環境一週，即使後續置於25°C，其活性仍受抑制。本研究成果可應用於水克菲爾飲品製程條件之優化，提升其品質與穩定性。

一、研究動機

我們延續去年探討康普茶發酵的研究，改以水克菲爾菌為主題。初期以白糖培養菌種，發現生長不佳，經查資料多建議使用黑糖。為釐清影響因素，我們展開本研究，系統性探討影響水克菲爾菌生長的條件。

壹、前言

(二)水克菲爾菌成分及發酵原理

水克菲爾菌是微生物組成，包含乳酸菌、酵母菌及醋酸菌等形成的生態系統。菌粒是由微生物間相互作用下產生的多醣體所形成。



水克菲爾菌
(出處詳圖片來源1)

發酵過程中的主要化學反應流程：

乳酸菌：糖 → 單醣 + 乳酸 (糖類分解)
酵母菌：葡萄糖/果糖 → 乙醇 + CO₂ (葡萄糖、果糖發酵)
醋酸菌：乙醇 + 氧氣 → 乙酸 + 水 (乙醇氧化反應)

(三)鈣離子對水克菲爾菌的影響

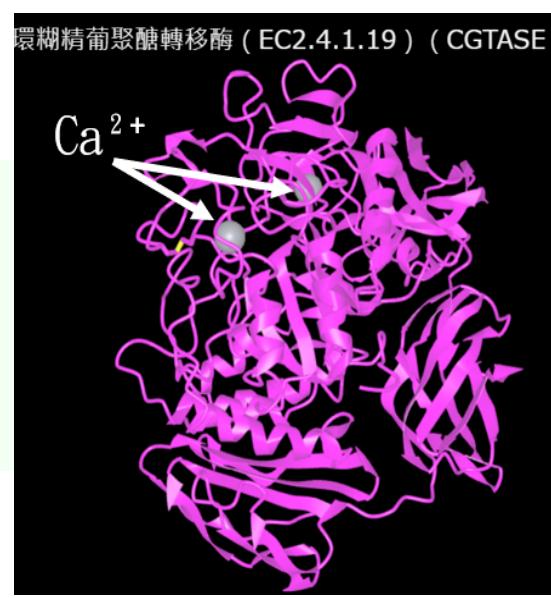
•參考國外一篇文獻，我們得知：當水中鈣離子濃度超過一定門檻(例如 200 mg/L Ca²⁺)時，能夠促進菌粒的生長。

•酵母菌會分泌一種名為「葡聚糖酶」的酵素，促使菌粒長大。

•鈣離子有二項功能：

1. 如同保護者的角色，能穩定酵素結構，使其在酸性環境下仍維持功能，繼續幫助菌粒生長。
2. 鈣離子能提高pH值，避免菌液過酸。

•後續再進一步請教微生物教授後，我們確認葡聚糖酶的結構中含有兩個鈣離子的結合位置，證實鈣離子是影響其活性的關鍵因素。



葡聚糖酶
雙鈣離子的結合位置
(出處詳圖片來源3)

(四)pH值對水克菲爾菌生長的影響

文獻中有提到葡聚糖酶是水克非爾菌粒成長的關鍵酵素，該酵素的活性在pH 3.6時有60%活性，但當pH降到3.2時只剩10%活性。由此得知pH值不是越低越好。

(1)網路上有不同的配方比例，我們整理為

【菌:糖:飲用水】=1:(0.25~1):(4~10)。其中糖的種類幾乎是黑糖，有些會加入椰糖、少量黑糖蜜混合。

(2)套上餐巾紙，以防異物進入，保持通風。

(3)建議將罐子放在約20~28°C靜置2~3天，冬天如果有太陽的話可放置於陽光下。

三、文獻回顧

(一)水克菲爾菌的特性與發酵過程

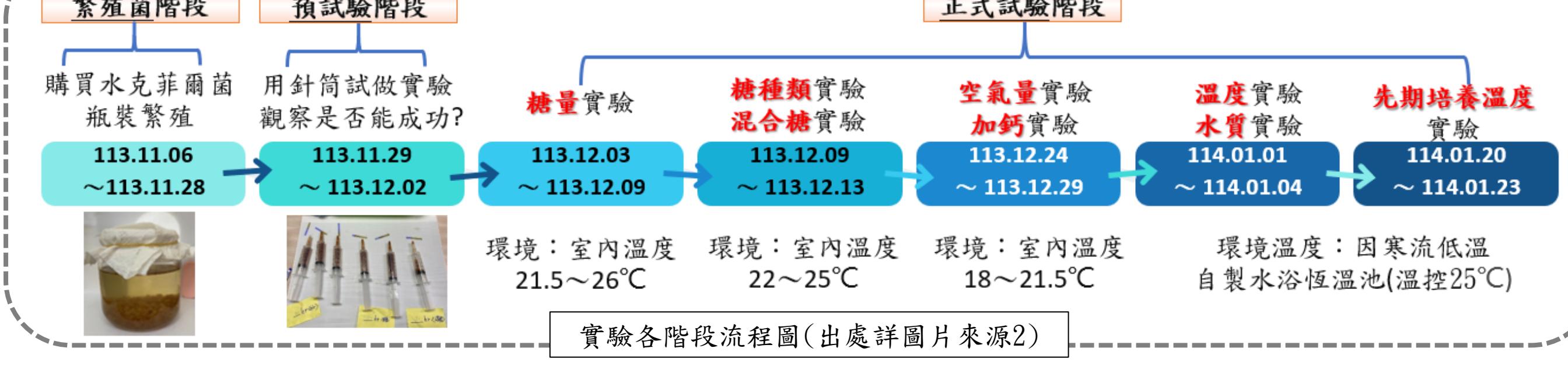
- 水克菲爾(Water Kefir)，也稱為緹比菌(Tibicos)、雪蓮等。
- 菌粒外觀呈現不規則顆粒狀，顏色半透明淺黃色。
- 糖水與水克菲爾菌粒混合後，在室溫環境下靜置2~3天，即可得到略酸與氣泡感的發酵飲品，是一種可食用的益生菌飲料。

貳、研究設備與器材

水克菲爾菌、塑膠湯匙、鐵湯匙、玻璃罐、玻璃瓶、灌食針筒、塑膠軟管、電子天平、量杯、錐形瓶、TDS計、pH計、溫度計、燒杯、餐巾紙、相機、恆溫箱、濾網、滴管、糖(黑糖、紅糖、白糖、椰糖、黑糖蜜)、水(礦泉水、煮過自來水、RO水)。

一、研究方法與低溫克服策略

(一)實驗各階段流程圖

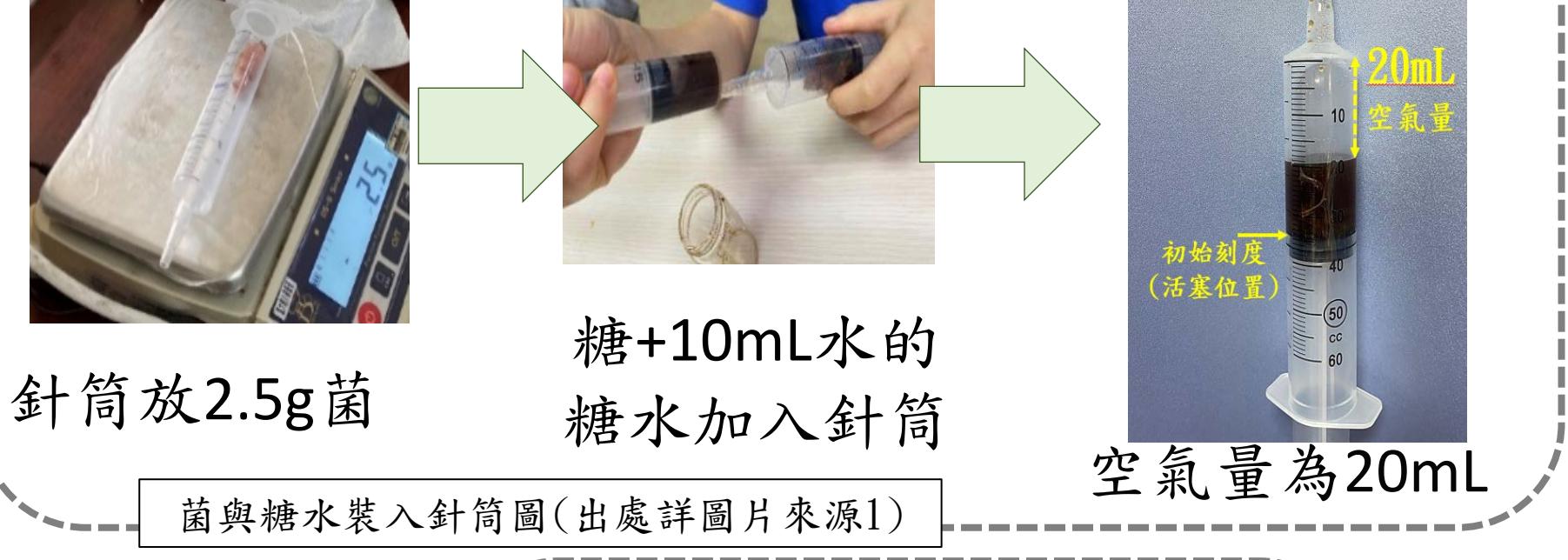


(三)測量方法

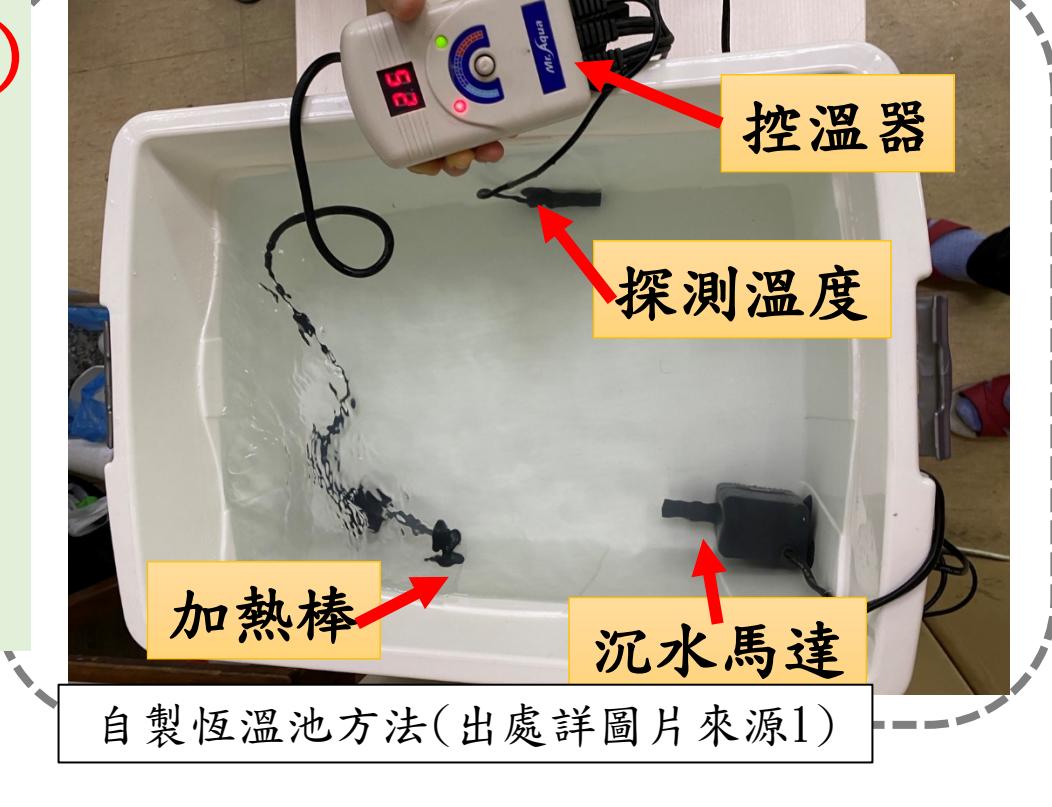


參、研究過程、結果與討論

(二)實驗設計



(四)自製恆溫池



二、研究一：糖的處理條件之研究

研究一-1：糖的種類對水克菲爾菌生長情況的影響

操縱變因：糖的種類 甲：白糖 乙：紅糖 丙：黑糖 丁：椰糖

應變變因：測量產氣量(mL)、菌重、pH值

不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、糖量(2.5g)、水種類(RO水)、水量(10g)、空氣量(20mL)、環境溫度氣溫(22~25°C)。

結果

產氣量：甲組96.7mL<乙組106mL<丙組189.2mL<丁組298.5mL

菌的增重：甲組2.57g<乙組2.73g<丙組3.49g<丁組3.57g

pH值：甲組3.25<乙組3.26<丙組3.74<丁組4.00

討論

1. 矿物質與菌活性之間的關係

- 礦物質：黑糖及椰糖不論是產氣量或菌粒增重皆為較高，顯示其礦物質含量可能與菌生長有助益。
- 鈣：網路上只有一則提到可加入蛋殼粉，所以進一步設計研究二添加鈣粉實驗。後續從國外文獻資料才得知，鈣離子具有關鍵作用。

2. pH值對菌的影響

- 本實驗94小時後黑糖組pH值3.74，椰糖4.00；而白糖與紅糖組則分別降至3.25與3.26，pH值較低。
- 黑糖與椰糖較不易使菌液過度酸化，有助於維持良好的菌粒生成能力，與文獻所述結果相符。

研究一-2：黑糖糖量對水克菲爾菌生長情況的影響

變因 操縱變因：黑糖糖量 甲:0.5g 乙:2.5g 丙:5.0g

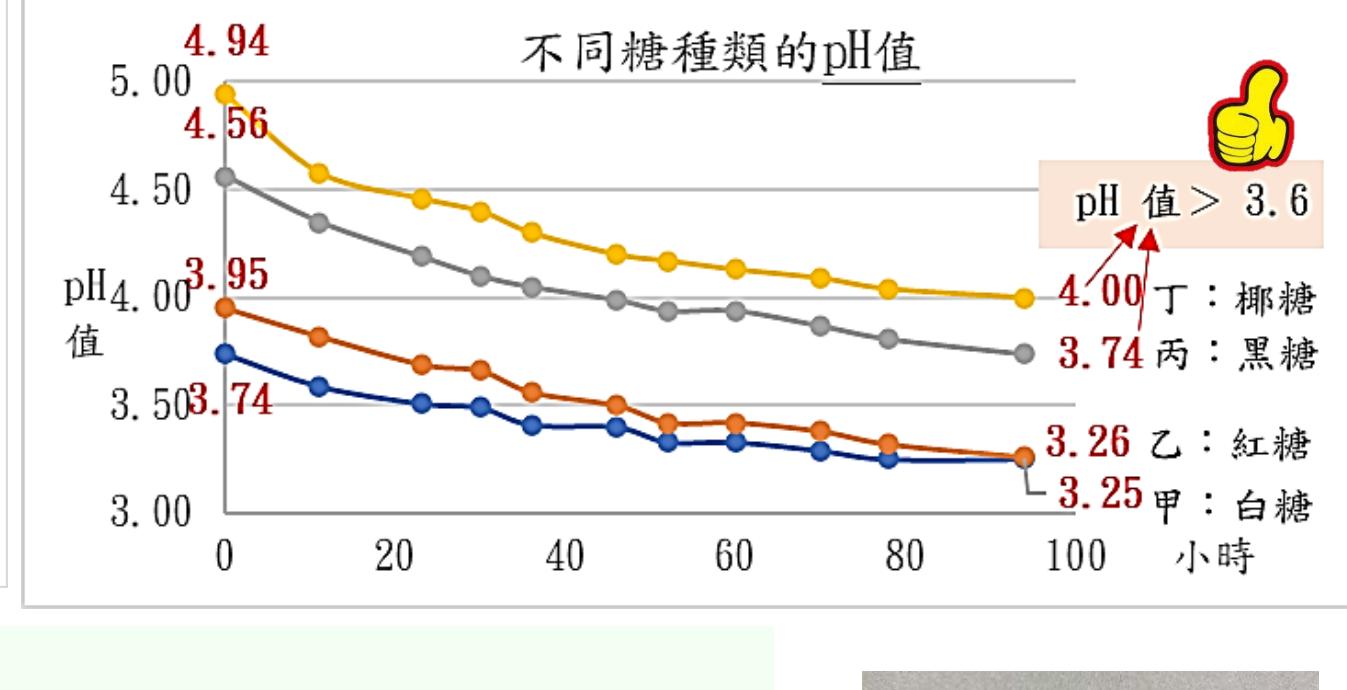
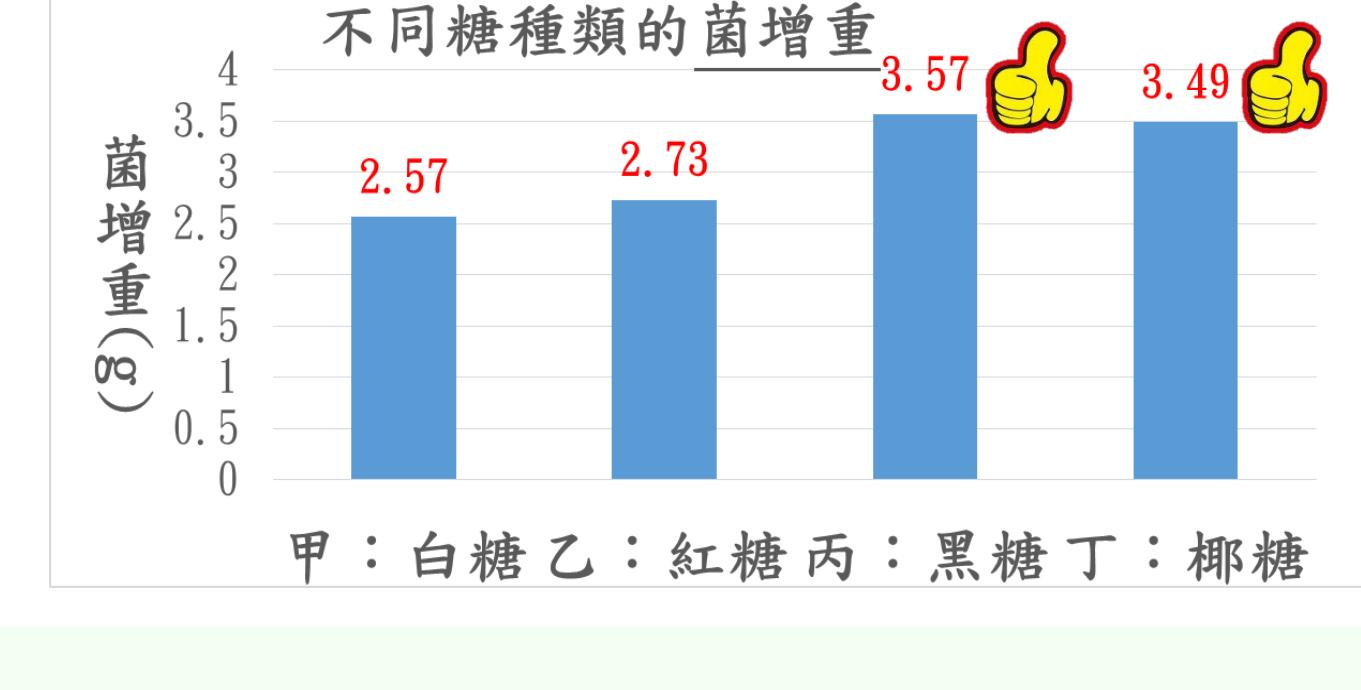
應變變因：測量產氣量(mL)、菌重、pH值

不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、糖種類(黑糖)、水種類(RO水)、水量(10g)、空氣量(20mL)、氣溫(21.5~26°C)。

圖片來源

1. 本圖片由作者親自拍攝或編輯。
2. 本圖片由指導老師親自拍攝或編輯。
3. 本圖片引自NCBI結構資料庫再由作者編輯，網址

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cn3d/full.html?&mmdbid=55879&bu=1&showanno=1&source=full-feature>



自製恆溫池方法
(出處詳圖片來源1)



白糖



紅糖



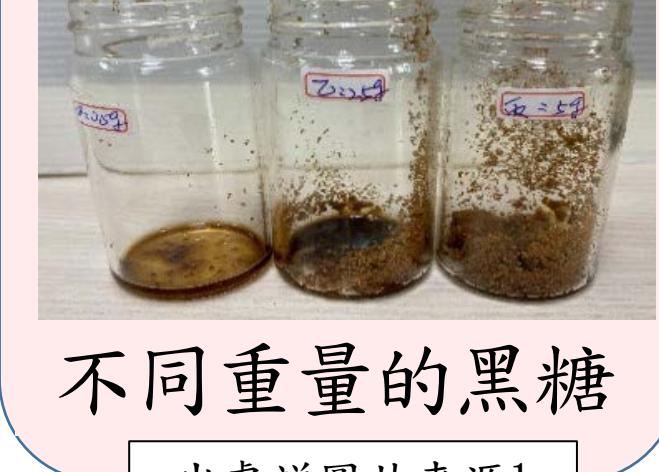
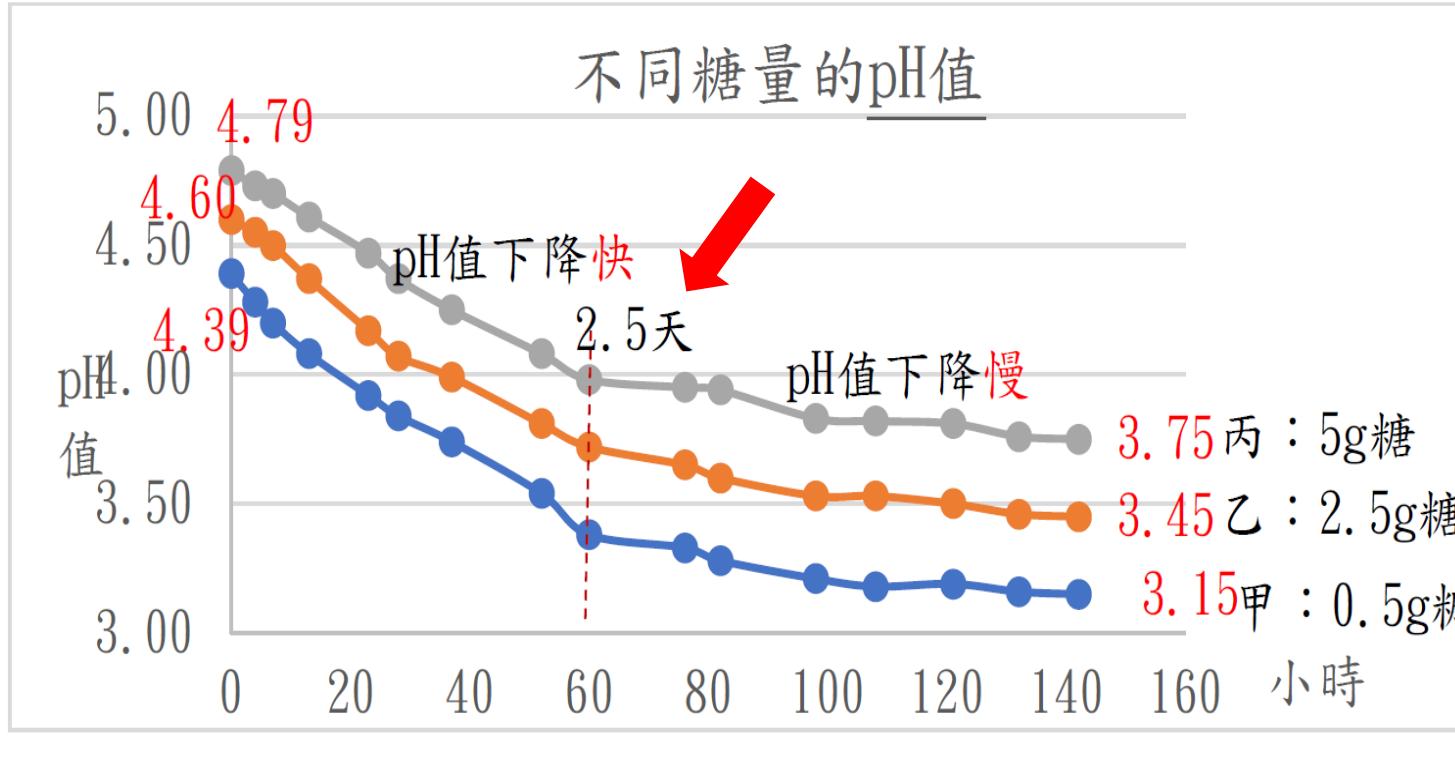
黑糖



椰糖

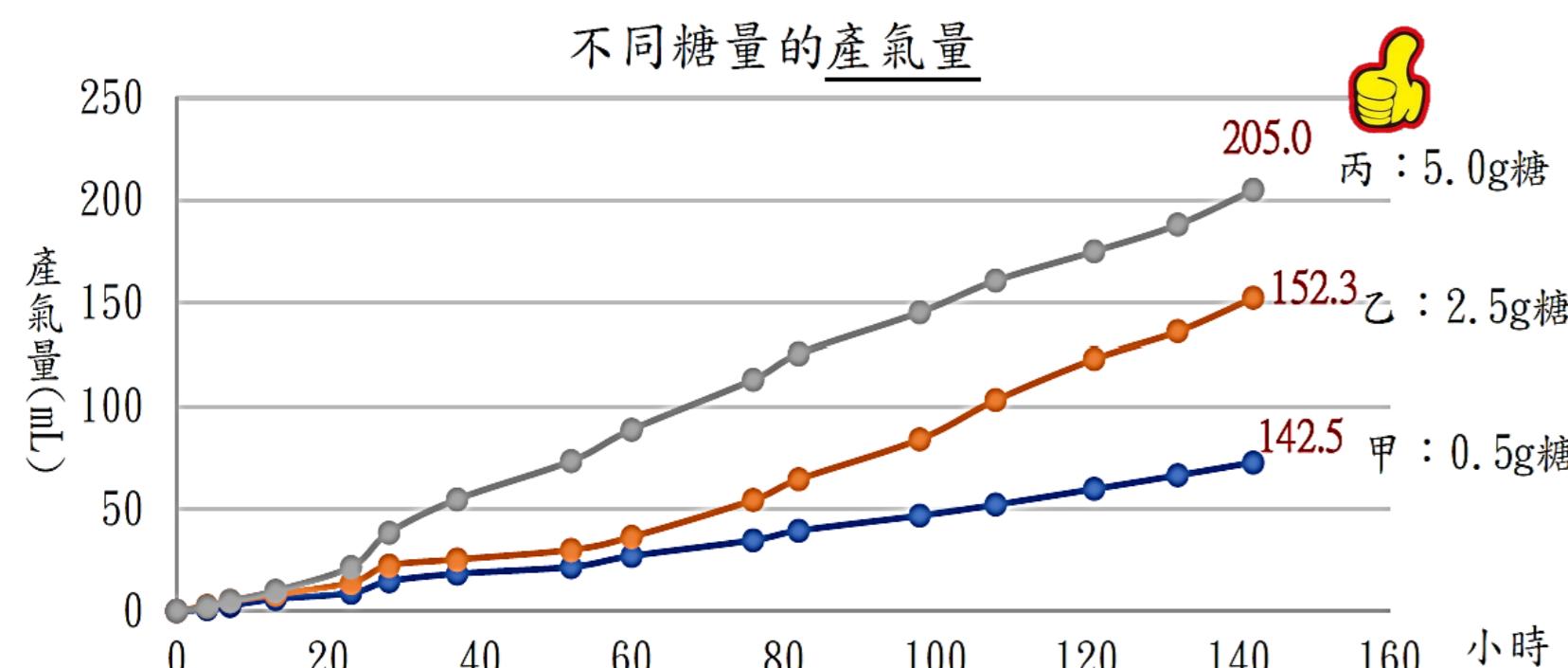
結果

pH值：甲組3.15<乙組3.45<丙組3.75

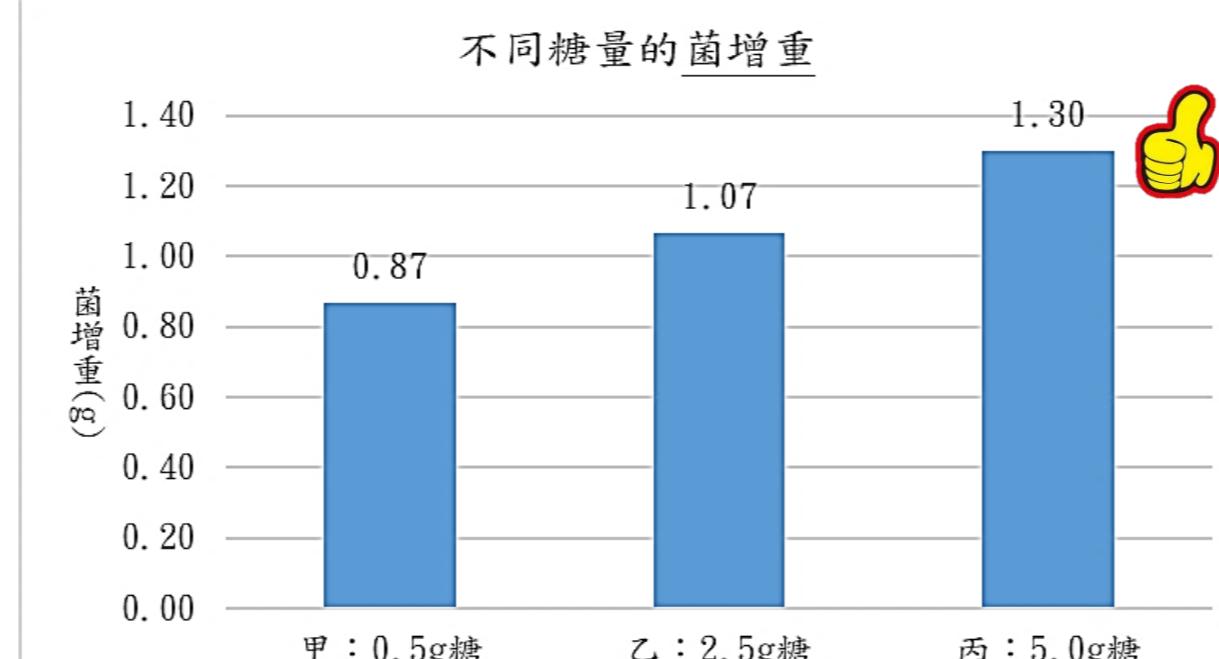


不同重量的黑糖
(出處詳圖片來源1)

產氣量：甲組142.5mL < 乙組152.3mL < 丙組205.0mL



菌的增重：甲組0.87g < 乙組1.07g < 丙組1.30g



• 本實驗所產生氣體可使澄清石灰水變為白色混濁，證實其為二氧化碳。

• 約2.5天之前pH值下降速度較快，發酵天數可以估算在2~3天左右，網路資料也是如此建議。

• 原本以為糖水濃度太高會抑制菌的生長，然而實驗結果卻出乎意料：在丙組中，糖的比例為菌的兩倍，糖水濃度相當高，卻反而促進了菌的生長，這是一個在現有文獻與資料中未曾提及的發現。★

研究一-3：混合糖類實驗對水克菲爾菌生長情況的影響

變因

操縱變因：混合糖類比例

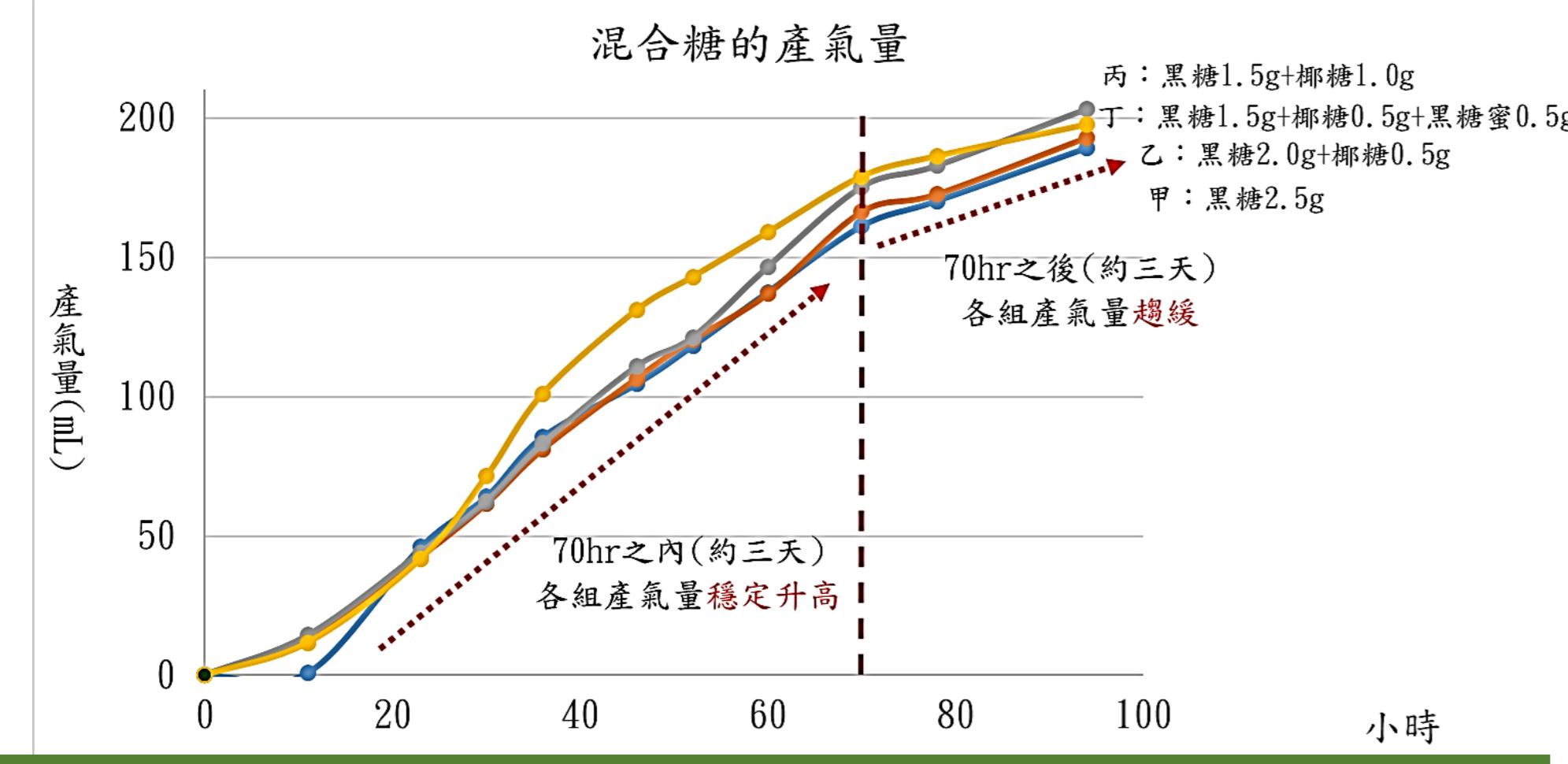
甲：黑糖2.5g 乙：黑糖2.0g+椰糖0.5g 丙：黑糖1.5g+椰糖1.0g
丁：黑糖1.5g+椰糖0.5g+黑糖蜜0.5g

應變變因：測量產氣量(mL)、pH值

不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、水種類(Ro水)、水量(10g)、空氣量(20mL)、環境溫度氣溫(22~25°C)。

結果

產氣量：甲組189.2mL < 乙組193mL < 丁組197.67mL < 丙組203.3mL



討論

討論

討論

三、研究二：鈣的角色驗證之研究

研究二-1：鈣粉對水克菲爾菌生長的影響

變因

操縱變因：鈣粉量 甲: 0g 乙: 半匙鈣 丙: 一匙鈣

應變變因：測量產氣量(mL)、pH值、TDS、菌重

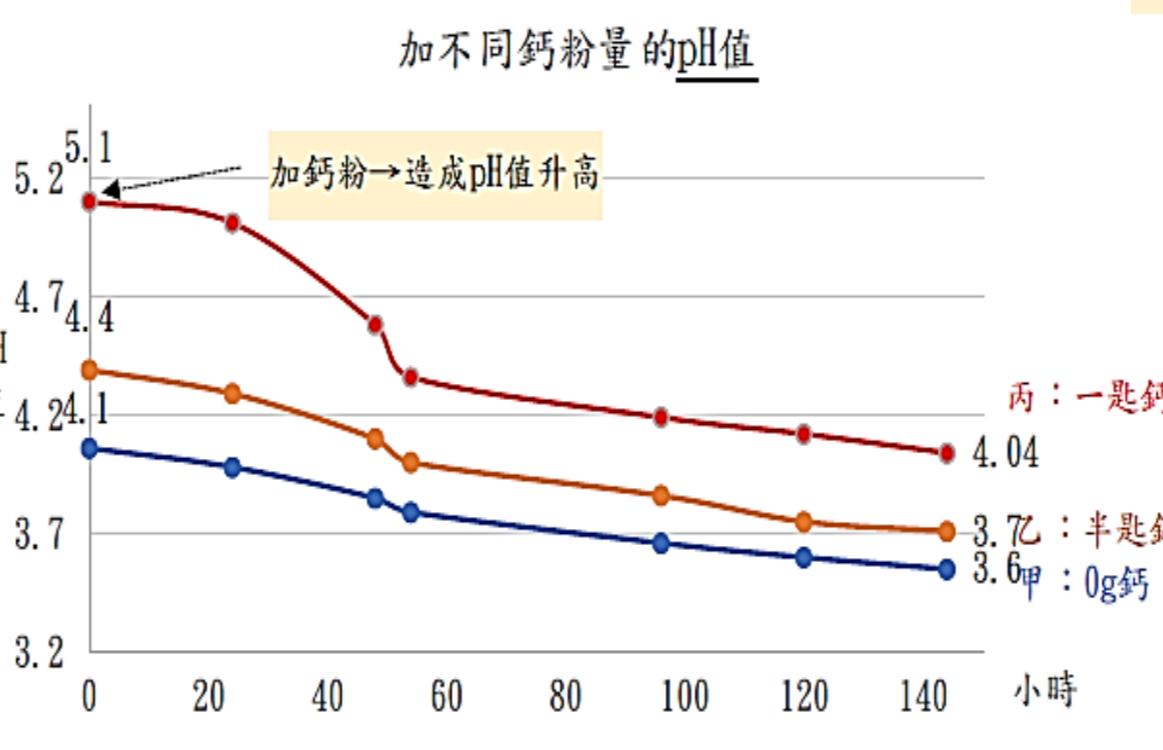
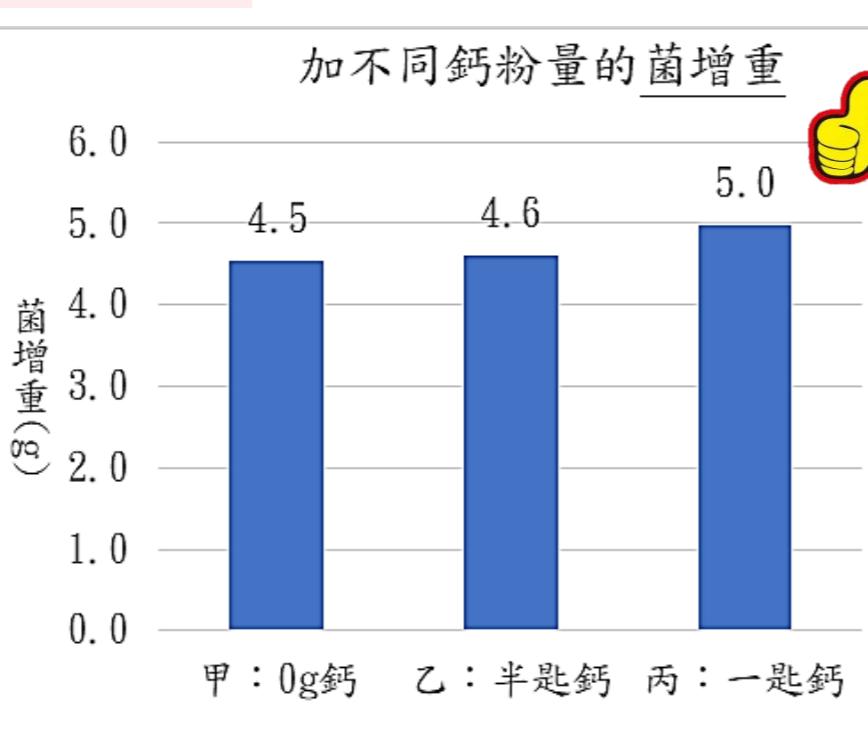
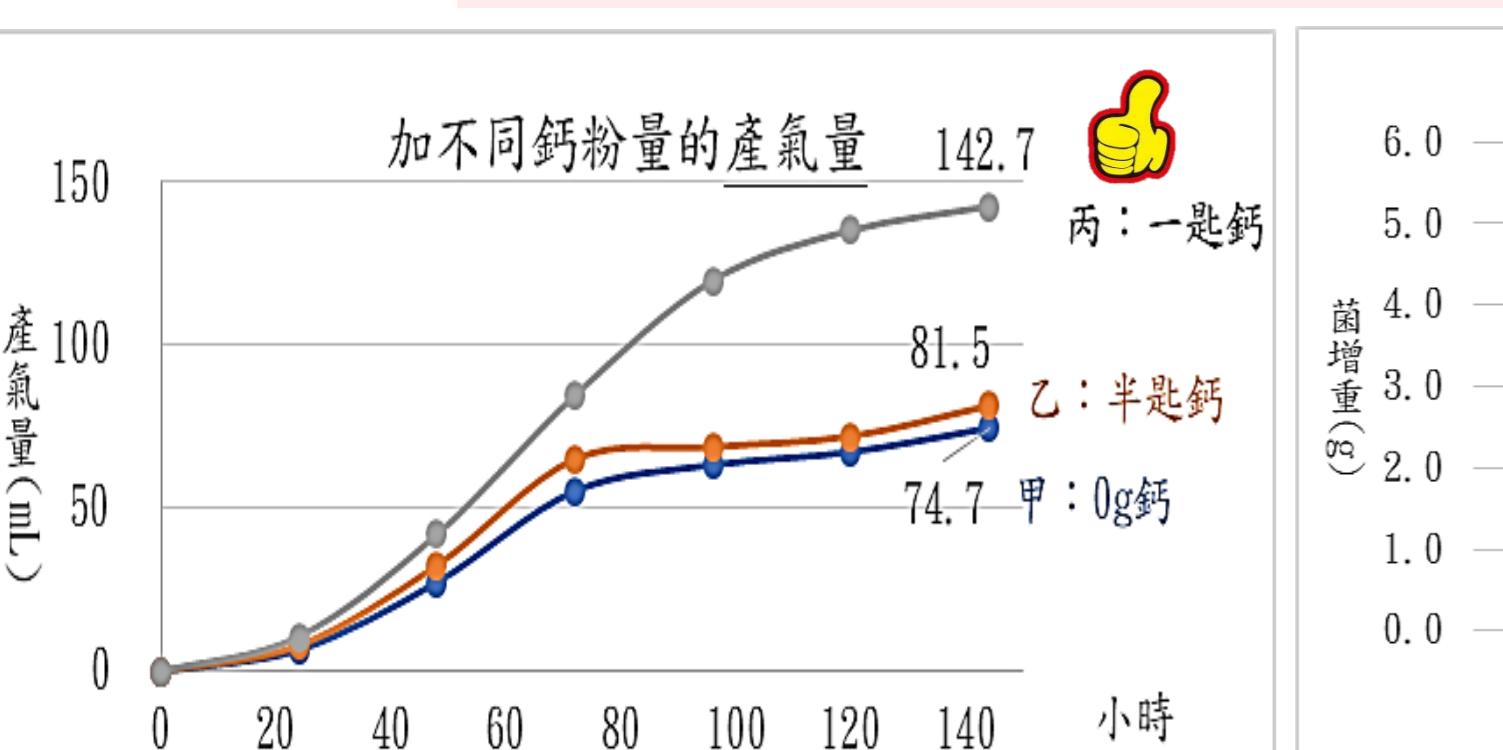
不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、糖種類(黑糖)、水量(10g)、空氣量(20mL)、溫度(25°C)。

結果

產氣量：甲組74.7 mL < 乙組81.5mL < 丙組142.7mL

菌的增重：甲組4.5g < 乙組4.6g < 丙組5g

pH值：甲組3.55 < 乙組3.71 < 丙組4.04



四、研究三：水的處理條件之研究

研究三-1：水質對水克菲爾菌生長情況的影響

變因

操縱變因：水質 甲：RO水 乙：礦泉水 丙：煮開降溫的自來水

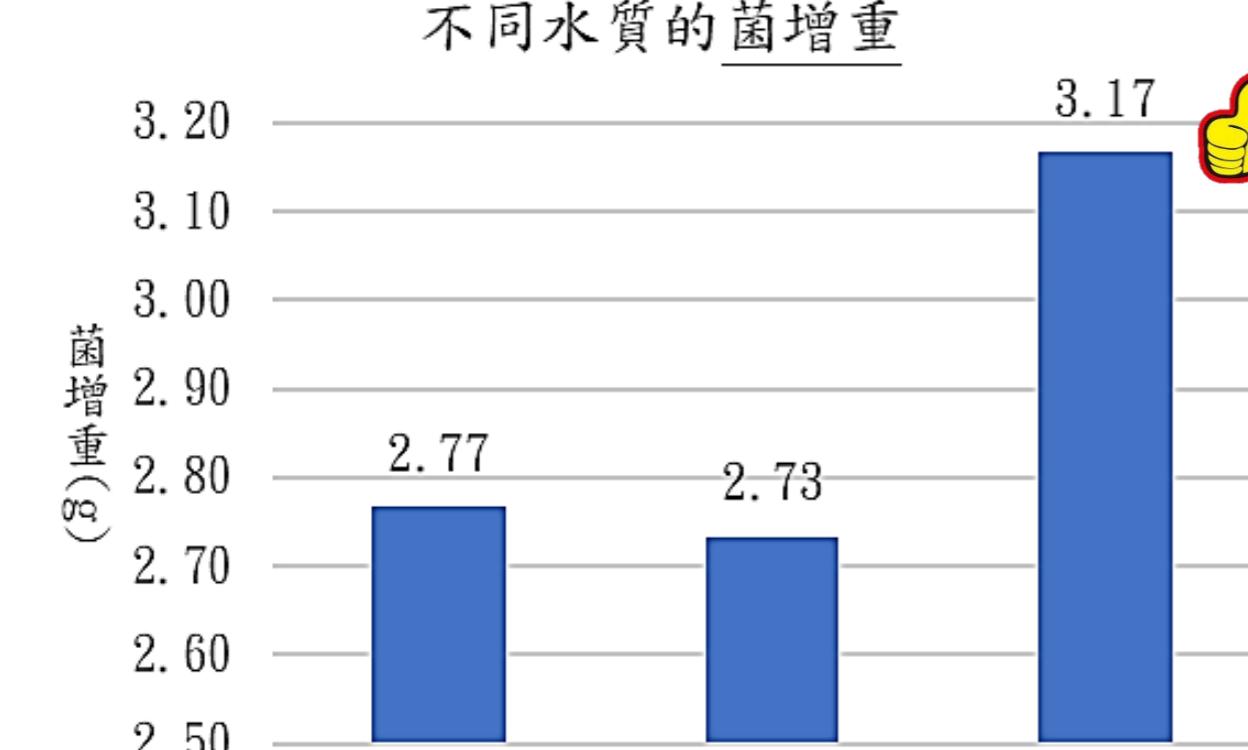
應變變因：測量產氣量(mL)、pH值、菌重

不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、糖種類(黑糖)、水量(10g)、空氣量(20mL)、溫度(25°C)。

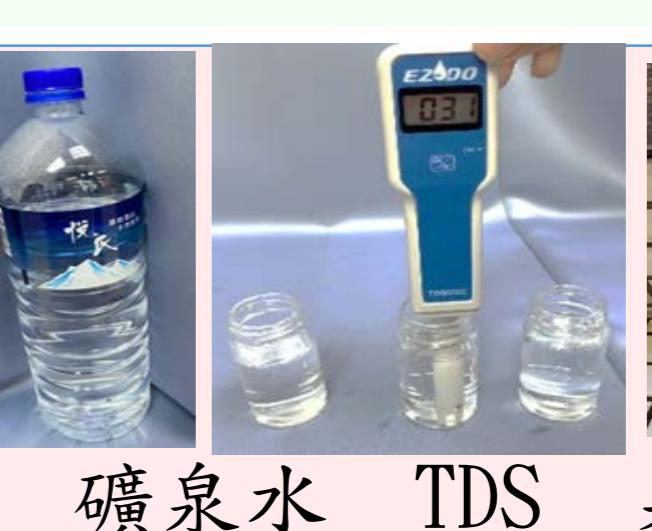
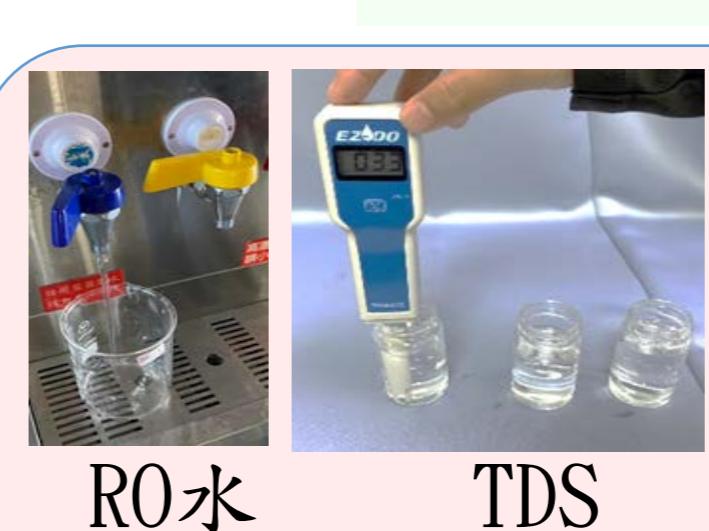
結果

增重：乙組2.73g < 甲組2.77g < 丙組3.15g

不同水質的菌增重



產氣量：甲組71.0mL < 乙組71.5mL < 丙組145.7mL



• 測量TDS結果：甲組(RO水)33 ppm、乙組(礦泉水)31 ppm、丙組(煮過的自來水)409 ppm，丙組礦物質含量約為甲、乙組的12.8倍。

• 進一步將菌的增重與產氣量數據與TDS值進行比對後發現，丙組(煮過的自來水)TDS值最高，而菌增重與產氣量也是最高，也就是最有助於菌的生長，我們推論與其鈣含量較高有關，再次確認了鈣離子在菌生長中的重要角色。

• 在網路上未曾有人建議使用富含鈣質的自來水做為水源，由本實驗發現自來水是適合的飼養菌的水源。★

五、研究四：其他物理性環境條件之研究

變因

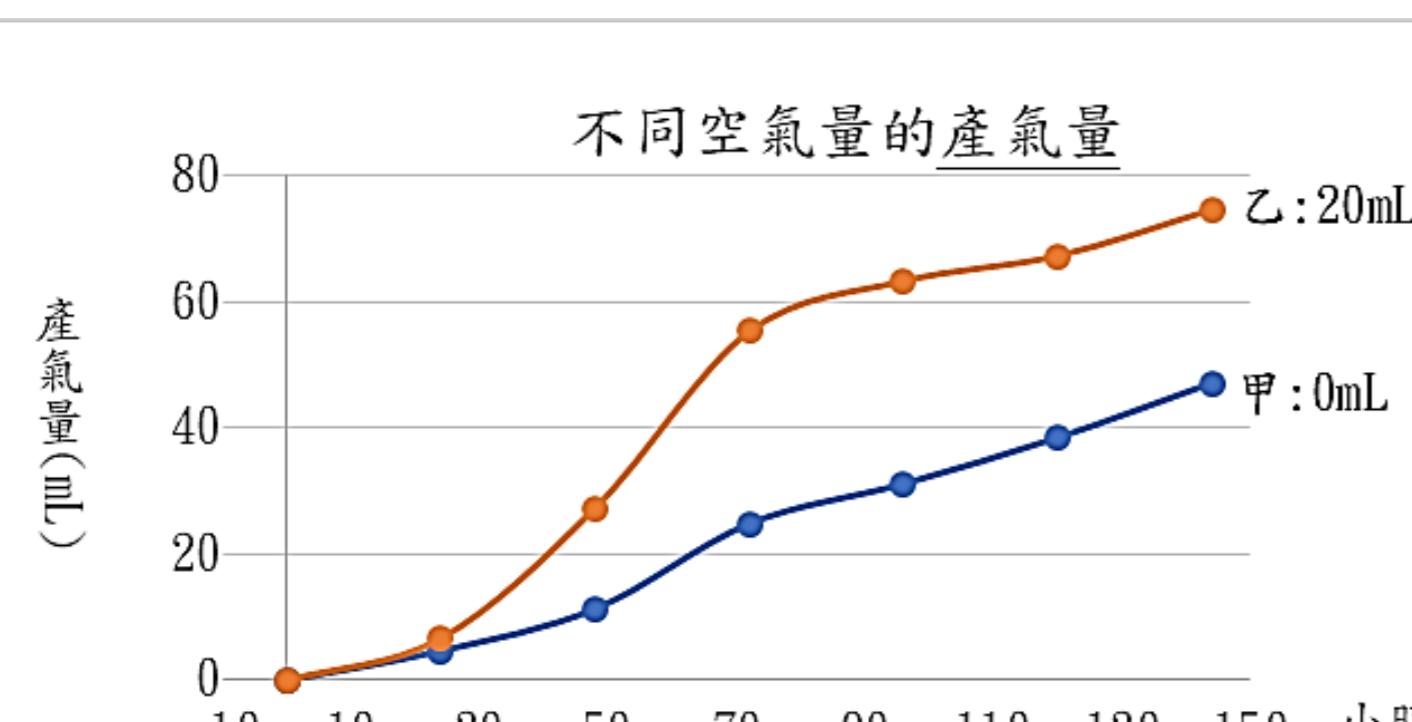
操縱變因：空氣量 甲: 0mL(接近0，但仍有少量空氣) 乙: 20mL

應變變因：測量產氣量(mL)、菌重

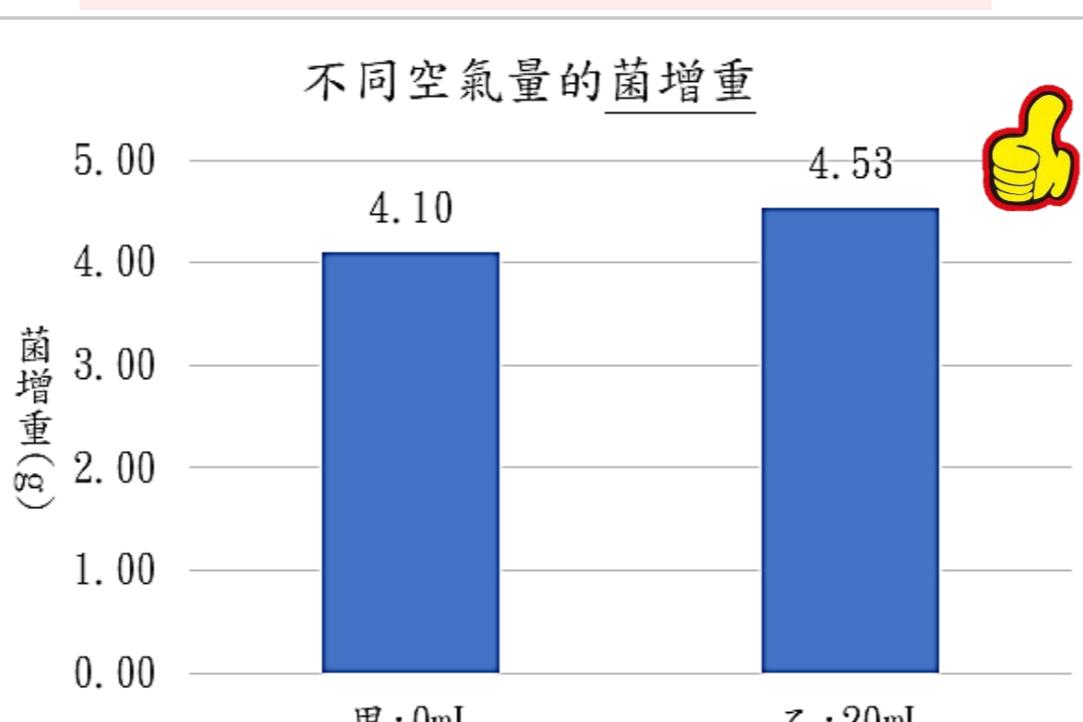
不變變因：水克菲爾菌(2.5g)、水種類(Ro水)、環境溫度氣溫(18~21.5°C)、糖量(2.5g)。

結果

產氣量：甲組47.2 mL < 乙組74.7 mL



菌的增重：甲組4.10g < 乙組4.53g



討論

討論

討論



• 菌的增重與產氣量都是乙組20mL較多。由此可知，菌的生長需要空氣。

• 這與網路上建議使用透氣布或餐巾紙覆蓋容器，以保持透氣的作法相符。

• 未測pH值，因為如果使用TDS探測棒，就需要打開玻璃瓶，就會接觸到空氣了，因此本實驗未測pH值。

研究四-2：溫度對水克非爾菌生長情況的影響

變因

操縱變因：溫度

甲：低溫(19°C~21°C) 乙：25°C 丙：30°C

應變變因：測量產氣量(mL)、菌重、pH值

不變變因：水克非爾菌(2.5g)、糖種類(黑糖)、黑糖量(2.5g)、水種類(R0水)、水量(10g)、空氣量(20mL)。



甲組低溫
(19°C~21°C)

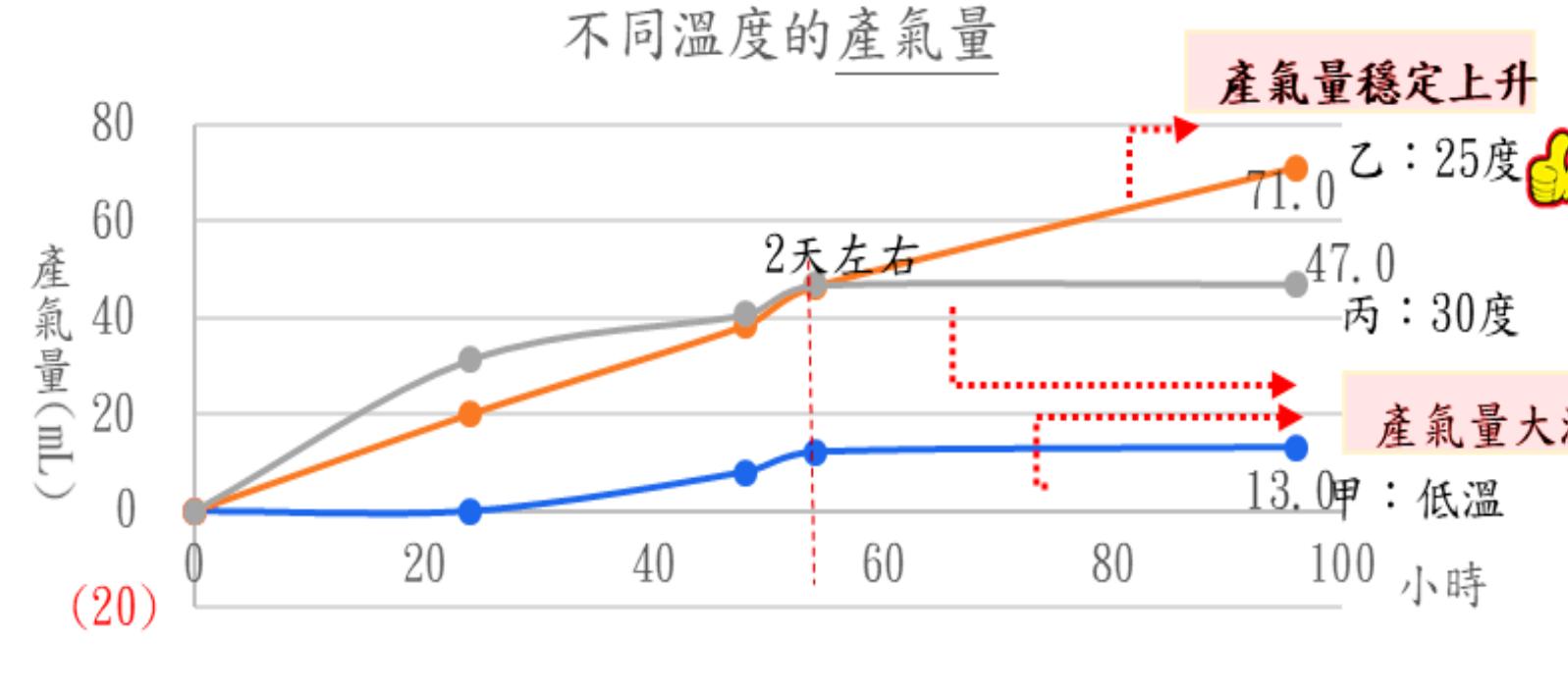
乙組25°C

丙組30°C

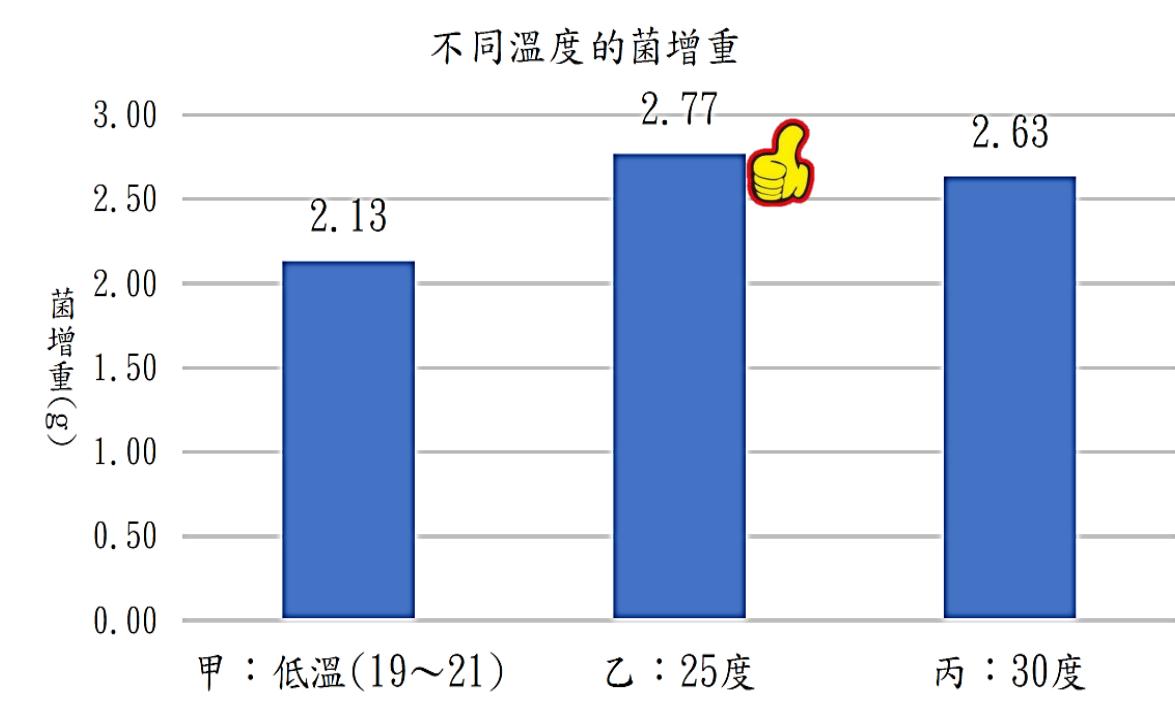
出處詳圖片來源1

結果

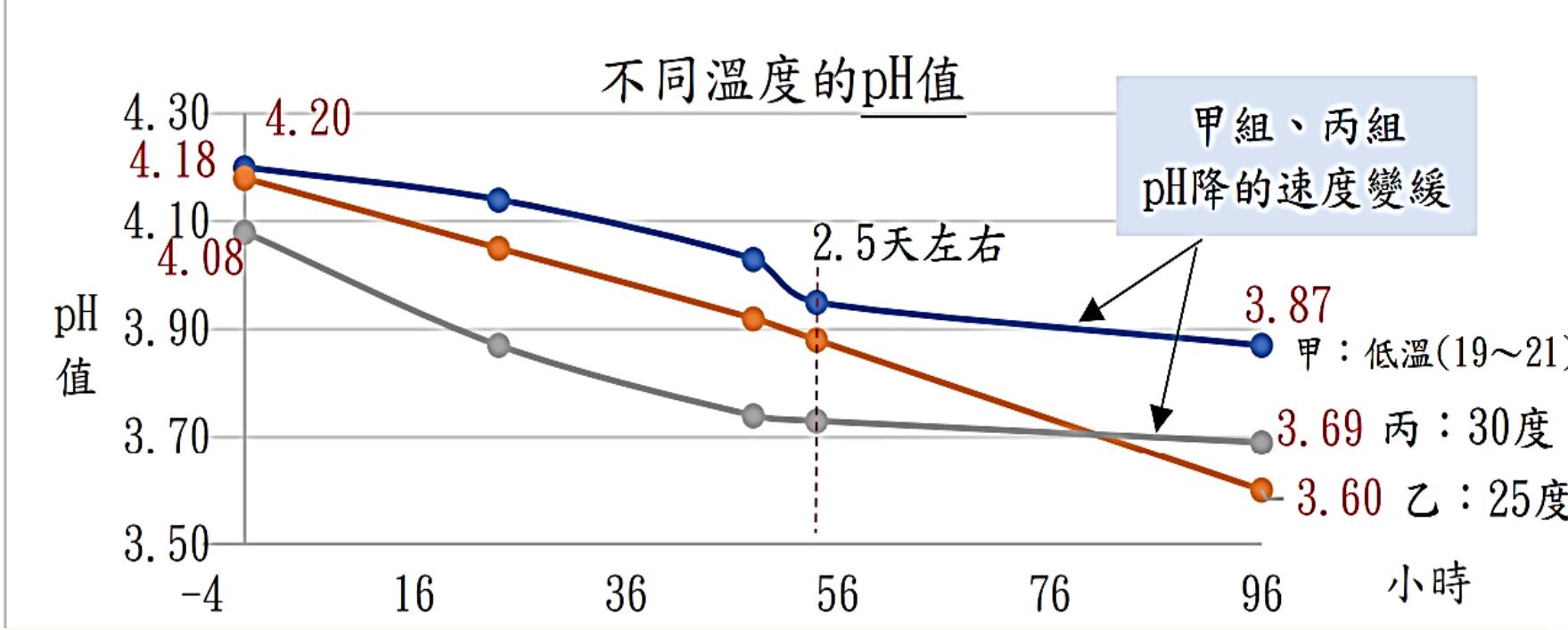
菌的增重：甲組2.13g < 丙組2.63g < 乙組2.77g



產氣量：甲組13mL < 丙組47mL < 乙組71mL



pH值：乙組3.60 < 丙組3.69 < 甲組3.87



討論

- 乙組25°C的產氣量與菌增重都最多，由本實驗得知，在25°C的環境下，菌生長得最好。
- 建議夏天可將發酵瓶放置於冷氣房或進行隔水降溫，冬天則可置於日照處保溫，以維持適宜溫度，促進菌的生長。

變因

研究四-3：先期培養溫度對水克非爾菌生長情況的影響

操縱變因：不同先期培養溫度

甲：冰箱 乙：室溫(15~20°C) 丙：25°C 丁：30°C

應變變因：測量產氣量(mL)、pH值、菌重

不變變因：水克非爾菌(2.5g)、糖種類(黑糖)、水量(10g)、空氣量(20mL)、溫度(25°C)。

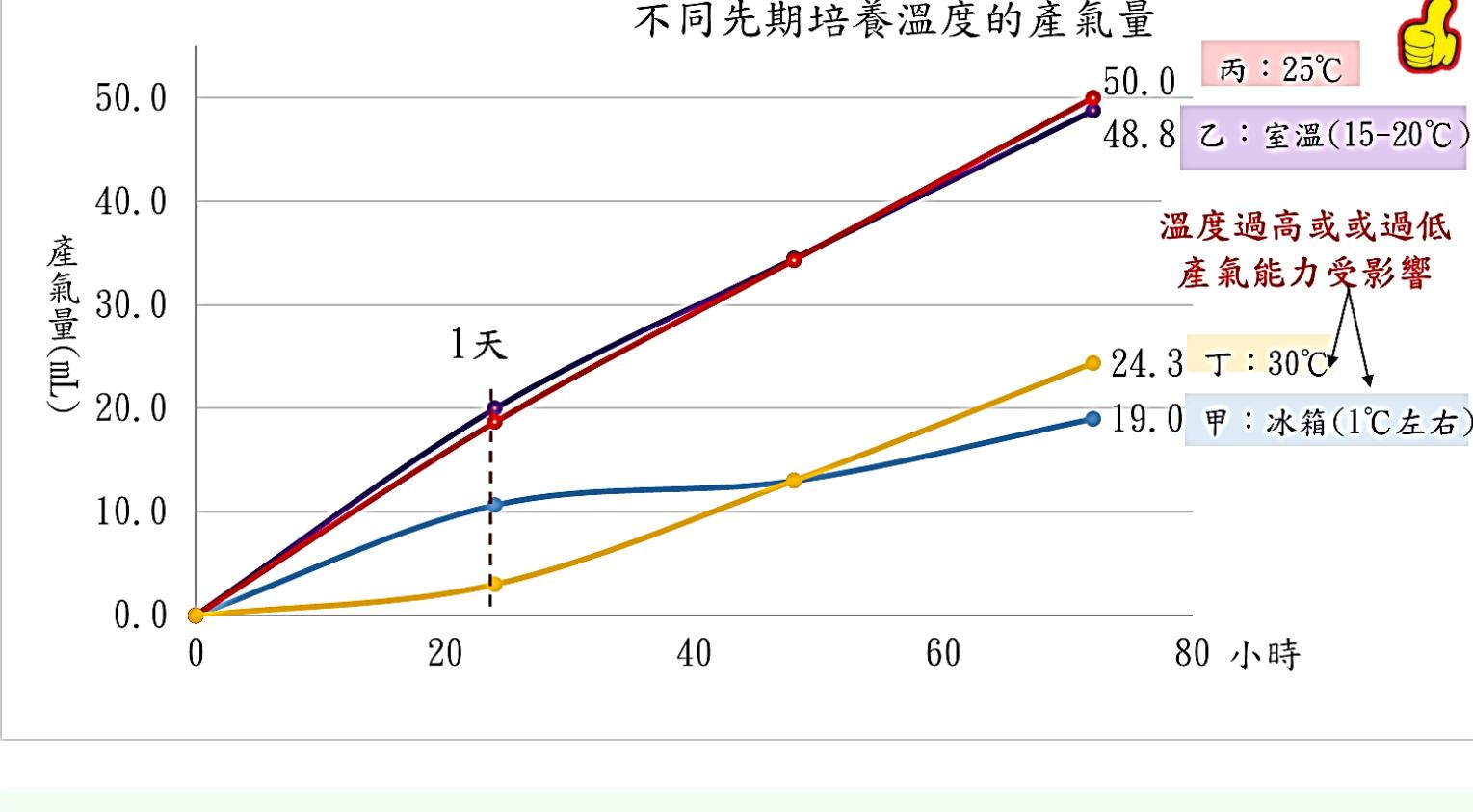


甲：冰箱 乙：室溫(15~20°C) 丙：25°C 丁：30°C

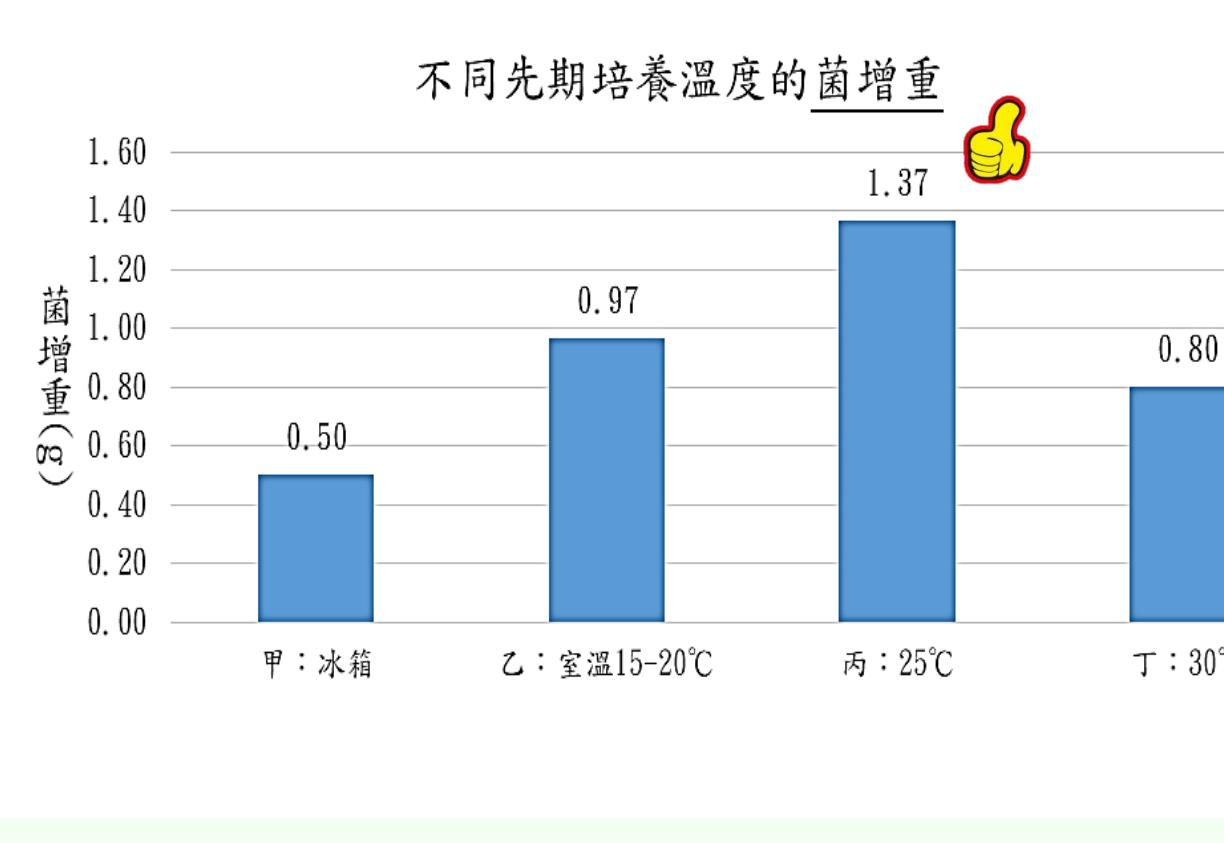
出處詳圖片來源1

結果

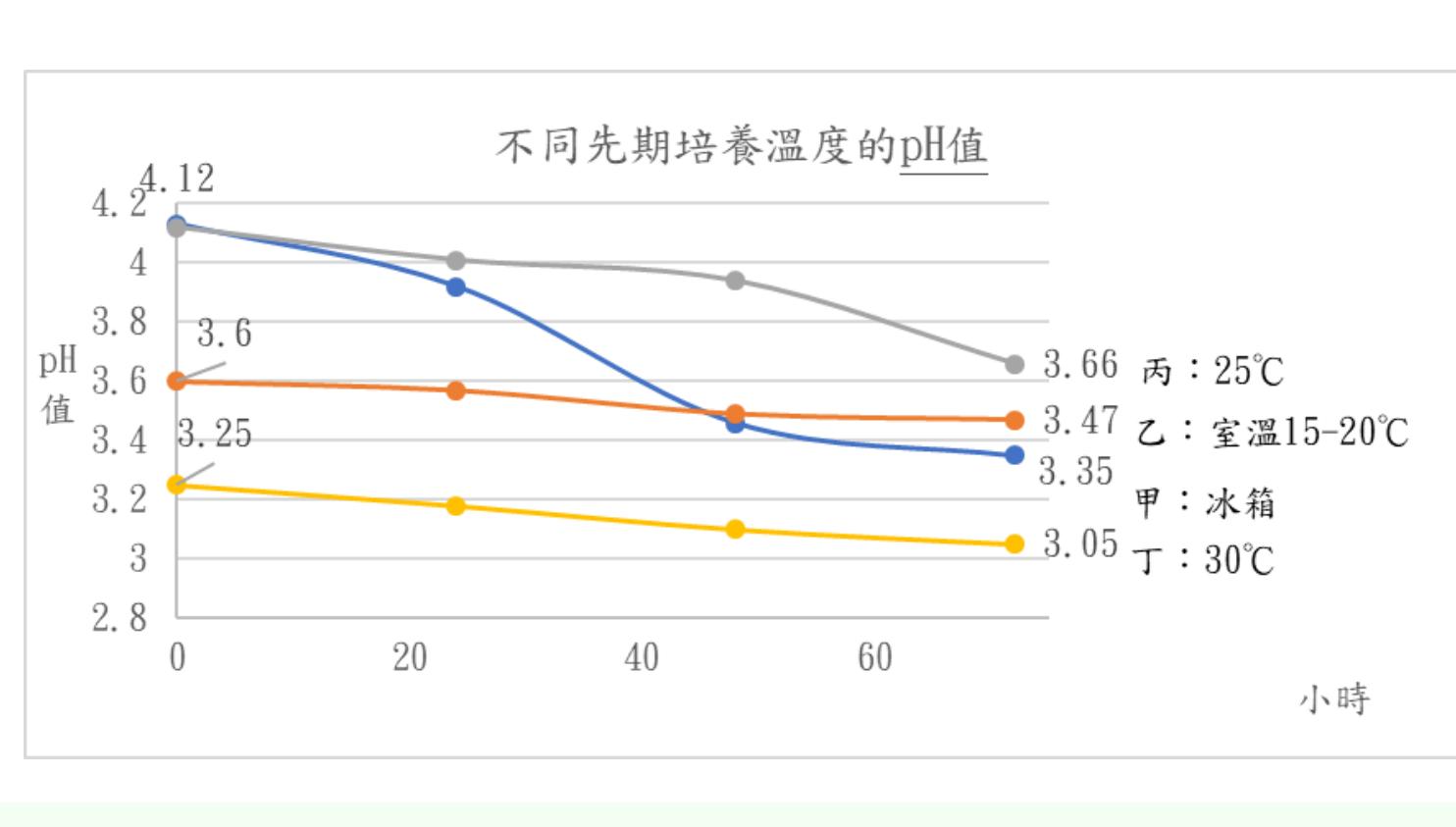
產氣量：甲組19 mL < 丁組24.3mL < 乙組48.8mL < 丙組50mL



菌的增重：甲組0.5g < 丁組0.8g < 乙組0.97g < 丙組1.37g



pH值：丁組3.05 < 甲組3.35 < 乙組3.47 < 丙組3.66



- 比較菌的增重與產氣量，都是丙組25°C最好，其次是乙組室溫(15~20°C)，再來是丁組30°C，而甲組冰箱最差。
- 15~20°C對菌體活性影響較小：當菌體在乙組室溫(約15~20°C)下培養一週後，再移至25°C環境，其產氣能力並未受到先期低溫的影響，仍可維持穩定的產能；菌增重則稍有降低。顯示此範圍內的溫度變化對菌體活性影響較小。
- 過高(30°C)或過低(1°C)溫度對菌的活性影響大：若菌先於過高(丁組，30°C)或過低(甲組，約1°C)的溫度環境下培養一週後再移至25°C，其菌增重與產氣量皆顯著下降。由此推論，過高(30°C)或過低(1°C)溫度可能對菌的生長造成抑制，且影響在回復至適溫(25°C)後仍可能持續。
- 30°C對菌的活性抑制效果比15~20°C更為顯著：由於夏天7~8月白天長期30°C以上，建議菌要放置在冷氣房或玻璃瓶隔水降溫。

肆、結論

一、糖的處理條件方面

(一)研究一-1：糖的種類

1. 使用不同糖類時，實驗結果顯示椰糖與黑糖的產氣量與菌粒增重效果皆優於紅糖與白糖。同時，TDS 測量結果顯示，椰糖與黑糖的礦物質含量較高，紅糖與白糖則較低。整體結果顯示，礦物質有助於提升水克非爾菌的生長。

2. 綜合實驗與成本考量，建議選用黑糖，既能提供足夠礦物質，又較經濟實惠。

(二)研究一-2：黑糖糖量

1. 網路上對於黑糖的添加量沒有固定標準。本實驗測試在 10mL 水中分別加入 0.5g、2.5g、5.0g 黑糖，結果顯示，當黑糖量為 5.0g (即【菌：糖：水】= 1:2:4) 時，水克非爾菌的生長狀況最佳。

2. 當氣溫維持在 21.5~26°C 之間時，我們發現前 2.5 天內 pH 值下降速度較快，之後則趨緩。因此，建議發酵時間可估算為 2~3 天左右，即可取出飲用。

(三)研究一-3：混合糖比例

1. 添加椰糖比例：椰糖比例增加，而黑糖比例減少，水克非爾菌的生長也隨之提升。

2. 添加黑糖蜜比例：增加黑糖蜜的比例並未促進水克非爾菌的生長。

二、鈣的角色驗證

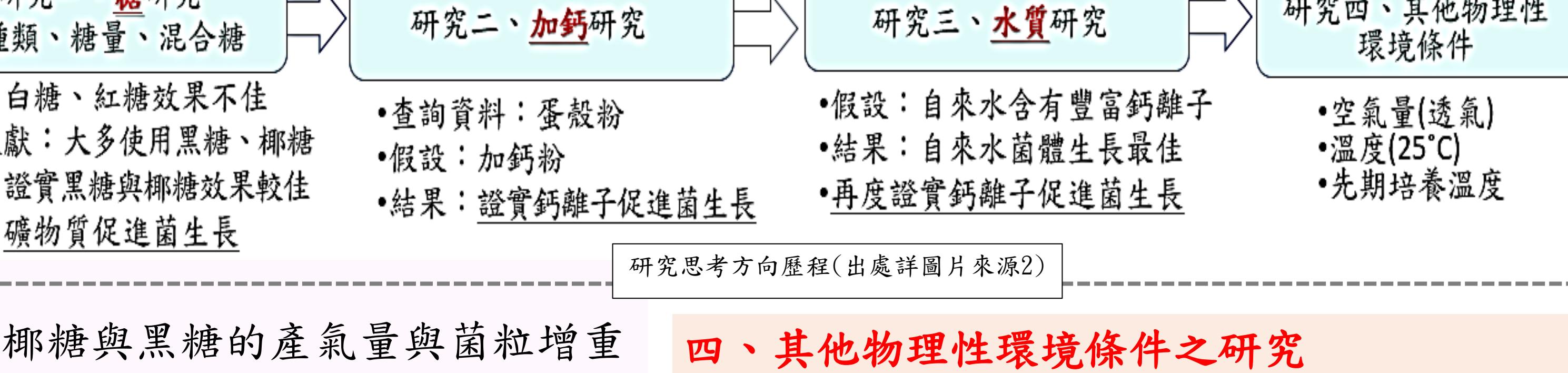
(一)研究二-1鈣粉

添加較多鈣粉時，菌的增重與產氣量都相對增加，可見鈣粉確實有助於水克非爾菌的生長。這是因為鈣離子具有穩定酵素結構，以及提高pH值，避免菌液過酸的功能。

三、水質的處理條件之研究

(一)研究三-1：水質

實驗結果證實，煮過的自來水放涼後仍保有豐富的礦物質，使菌的生長表現最佳，是適合培養水克非爾菌的水源。



研究思考方向歷程(出處詳圖片來源2)

四、其他物理性環境條件之研究

(一)研究四-1空氣量

水克非爾菌的生長需要空氣。這與網路上建議使用透氣布或餐巾紙覆蓋容器，以保持透氣的作法相符。

(二)研究四-2 溫度

在不同溫度下，菌的生長是乙組(25°C) > 丙組(30°C) > 甲組(19°C~21°C)，顯示 25°C 是最佳培養環境。在炎熱的夏天，建議將發酵玻璃瓶放置於水中降溫或冷氣房；在寒冷的冬天，則可放置於陽光下以維持適宜的發酵溫度。

(三)研究四-3先期培養溫度

將水克非爾菌在不同溫度下放置一週後，再統一於 25°C 進行培養，結果顯示：

- 25°C是最適宜的溫度：菌的產能最佳。
- 15~20°C的影響較小：若菌原本存放於冬天室溫(15~20°C)一週後，產氣量可迅速恢復，但菌增重有些微降低。
- 過高(30°C)或過低(1°C)溫度影響大：過高(30°C)或過低(1°C)溫度環境下一週後，即使回復至適溫(25°C)後，仍會持續抑制菌的活性，產氣量與增重皆顯著下降。
- 30°C對菌的活性抑制效果比15~20°C更為顯著。

五、pH值對水克非爾菌產氣量與增重的影響

根據八組實驗結果分析，多數在 pH 值 ≥ 3.6 的條件下，菌的產氣量與增重表現較佳，顯示偏酸性但不過酸的環境有助於菌的活性。整體而言，此結果與文獻中指出「pH 值 3.6 時活性較高、pH 值降至 3.2 時活性會降低」的發現相符。

六、綜合結論

若要自製健康的水克非爾菌飲品，建議採用【菌：糖】= 1:2 的比例，使用富含礦物質的黑糖或椰糖，搭配煮沸放涼的自來水，適量添加鈣粉，置於通風環境中以 25°C 發酵 2~3 天，即可製作出略帶酸味與黑糖香的水克非爾飲品。

七、未來展望

未來可朝向保存方式的研究；在口味上，日後也可增加飲品口味的評比；也可朝向二次發酵(加入不同水果)的方向研究。



水克非爾菌(出處詳圖片來源2)

請看作品說明書

伍、參考資料