

不同濃度的單一碳源及混合碳源對酵母菌發酵速率的影響

張雋亞¹ 張恩維² 林存恩¹ 吳少愚³ 房樹生^{4*}

¹ 私立港明高級中學

² 國立臺南女子高級中學

³ 國立臺南第一高級中學

⁴ 國立臺南家齊高級中學

壹、前言

在 108 新課綱龍騰版高中選修生物細胞篇的課本中，多了一個舊課綱不曾出現的實驗：影響酵母菌發酵速率的因子（陳俊宏，2020）。實驗內容探討的其中一個操縱變因是醣的種類（葡萄糖、果糖及蔗糖）對於酵母菌發酵速率的影響。由於同學們做出來的結果五花八門，部分同學的結果是酵母菌利用葡萄糖的發酵速率最快，部分是果糖最快，有的則是蔗糖最快，這讓我想深入了解，除了人為因素造成的誤差外，是否還有其他原因造成實驗結果的差異。

我在文獻中發現，若將醬油耐鹽性酵母菌 *Zygosaccharomyces rouxii* BCRC22499 在 5% 的單一醣濃度培養 36 小時後，其菌液吸光值大小為：蔗糖 > 果糖 > 葡萄糖（詹子瑄，2014）。若將酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 在 5g/L 的單一醣濃度培養 36 小時後，其乙醇產生量大小為：果糖

> 葡萄糖 > 蔗糖（V. M. Nascimento & G. G. Fonseca, 2019）。若將酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* 248 UNSW 703100 在 10g/L 的單一醣濃度培養 36 小時後，其生長速率大小為：蔗糖 > 葡萄糖 > 果糖（J. H. Orłowski & J. P. Barford, 1991）。

由以上的文獻回顧可以推論，酵母菌品種及醣濃度等因素確實會影響酵母菌對不同醣類的利用效率。因此，我選用了市面上常見的法國燕子牌即發高糖酵母作為實驗菌種，看看這隻酵母菌在不同濃度的單一醣類培養下，對於三種醣類（葡萄糖、果糖及蔗糖）的利用效率是否會有差異。另外，我也會探討此酵母菌在兩種醣類的混合培養下，其生長速率與單一醣類培養的差異。

貳、目的

- 一、探討酵母菌在不同濃度的單一碳源（葡萄糖、果糖、蔗糖）的發酵速率差異。
- 二、探討酵母菌利用不同比例混合碳源（葡萄糖+果糖）的發酵速率差異。

*為本文通訊作者

參、藥品及器材

法國燕子牌即發高糖酵母、葡萄糖、果糖、蔗糖、蒸餾水、電子秤、10 mL 發酵管、100 mL 燒杯、塑膠滴管、25 mL 量筒

肆、步驟與方法

一、不同濃度的單一碳源

- (一) 各秤取 1g 葡萄糖、果糖或蔗糖，分別放入 3 個 100 mL 燒杯中。
- (二) 各秤取 1g 酵母菌，分別放入上述 3 個 100 mL 燒杯中。
- (三) 各量取 20 mL 蒸餾水，分別加入上述 3 個 100 mL 燒杯中，並利用塑膠滴管做吸放動作，充分攪拌 1 分鐘（需確認酵母菌及醴有均勻溶解）。
- (四) 將燒杯中的溶液分別注入發酵管中（需確認直管內沒有氣泡），開始計時 25 分鐘，並在適當時間讀取直管內的氣體體積。
- (五) 重複以上步驟(一)~(四)，但醴重量分別改為 0.5g、0.25g、0.15g、2g、0.8g，而酵母菌重量及蒸餾水體積則維持不變。
- (六) 以上的實驗條件都需重複操作三次，以求得平均值及標準差。

二、混合碳源

- (一) 秤取 0.15g 葡萄糖及 1g 果糖，兩者同時放入 100 mL 燒杯中。
- (二) 秤取 0.5g 葡萄糖及 0.5g 果糖，兩者同時放入另一個 100 mL 燒杯中。

- (三) 秤取 1g 葡萄糖及 0.15g 果糖，兩者同時放入另一個 100 mL 燒杯中。
- (四) 各秤取 1g 酵母菌，分別放入上述 3 個 100 mL 燒杯中。
- (五) 各量取 20 mL 蒸餾水，分別加入上述 3 個 100 mL 燒杯中，並利用塑膠滴管做吸放動作，充分攪拌 1 分鐘（需確認酵母菌及醴有均勻溶解）。
- (六) 將燒杯中的溶液分別注入發酵管中（需確認直管內沒有氣泡），開始計時 25 分鐘，並在適當時間讀取直管內的氣體體積。

伍、結果與討論

一、不同濃度的單一碳源

我先利用生物課本的醴濃度（1g 醴、1g 酵母菌、20mL 水），比較酵母菌利用葡萄糖、果糖及蔗糖發酵速率的差異，實驗結果如圖 1 所示。我原本預期酵母菌會優先利用單醴，而單醴中的葡萄糖是生物進行呼吸作用的主要原料，因此，我原來假設酵母菌利用醴類為單一碳源的發酵速率應該是：葡萄糖 > 果糖 > 蔗糖，但實際做出來的結果卻是：果糖 > 蔗糖 > 葡萄糖（圖 1）。

針對這個實驗結果，我認為可以從醴類的代謝路徑來探討原因。圖 2 是各種醴類進行糖解作用的代謝路徑，果糖的代謝路徑比葡萄糖短，這或許可以解釋為何果糖的發酵速率比葡萄糖快。至於為何蔗糖比葡萄糖快呢？有文獻指出，蔗糖可以直

接被酵母菌吸收後，再經胞內的轉化酶 (invertase) 水解成葡萄糖及果糖 (J. H. Orłowski & J. P. Barford, 1991)，如果酵母

菌內的轉化酶可以快速地協助蔗糖水解的話，便可以解釋為何酵母菌利用蔗糖進行發酵作用的速率會比利用葡萄糖快。

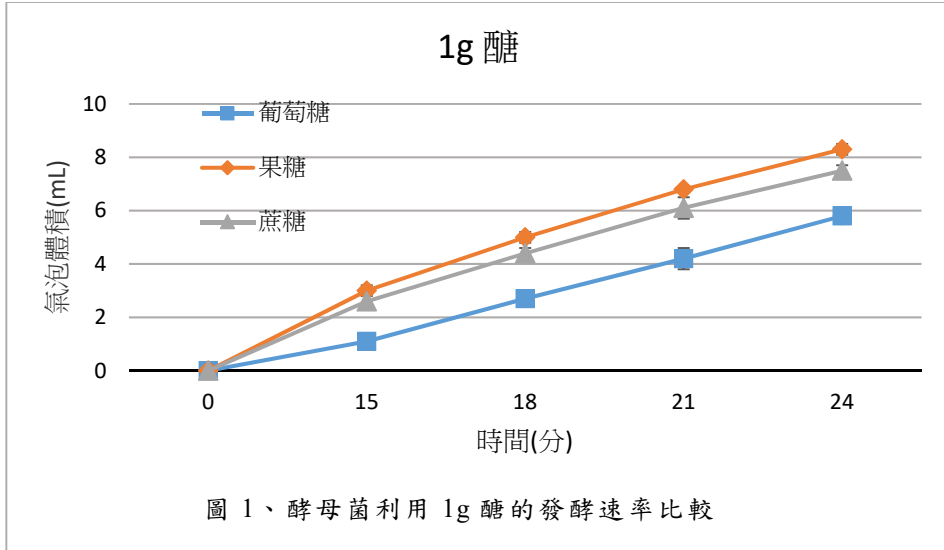


圖 1、酵母菌利用 1g 醣的發酵速率比較

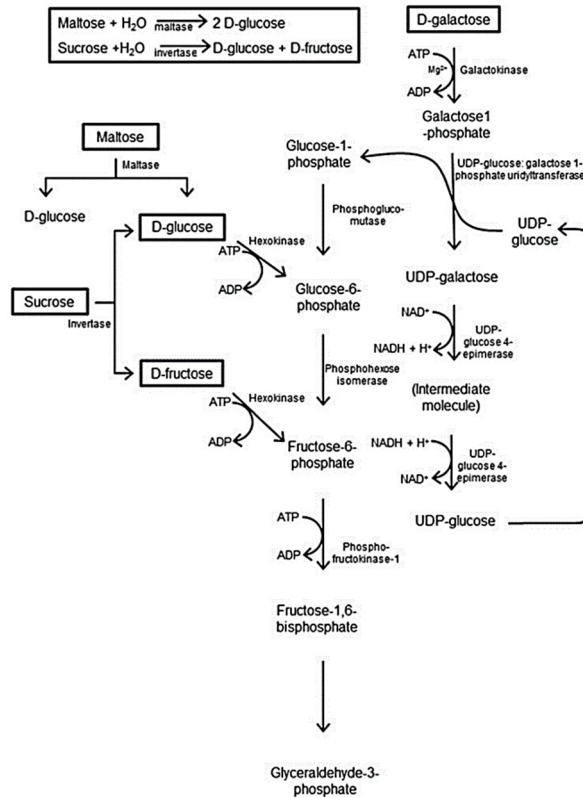


圖 2、葡萄糖 (D-glucose)、果糖 (D-fructose) 與蔗糖 (Sucrose) 的代謝路徑 (資料來源: V. M. Nascimento & G. G. Fonseca, 2019)

接下來我想看看酵母菌在單一碳源的不同醣濃度下，其發酵速率是否仍然是果糖最快。我測試了兩種醣濃度：0.5g 及 0.25g (酵母菌量及蒸餾水量不變)，實驗結

果如圖 3 所示。這兩種醣濃度的結果都和 1g 相同，也就是酵母菌利用醣類為單一碳源的發酵速率都是：果糖 > 蔗糖 > 葡萄糖 (圖 3)。

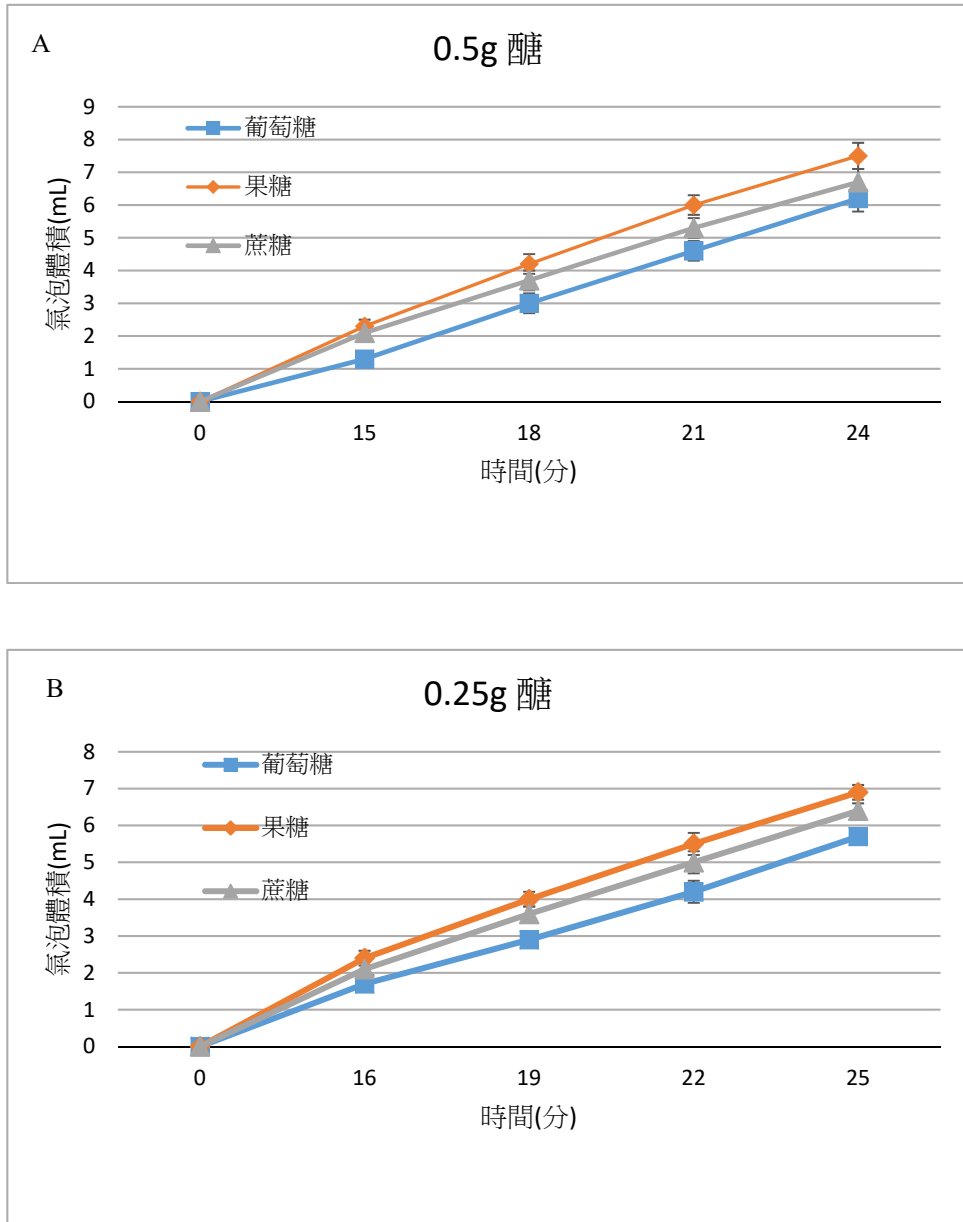


圖 3、酵母菌利用(A) 0.5g 及(B)0.25g 醣的發酵速率比較

以上圖 1 及圖 3 的結果明確地指出：酵母菌在單一碳源的醴類培養下，利用果糖進行發酵的速率比其他兩種醴類來的快。但我仍然懷疑，酵母菌在所有的醴濃度培養下，結果都是如此嗎？因此，我繼續嘗試更低的醴濃度條件：0.15g 醴(酵母菌量及蒸餾水量不變)，實驗結果如圖四所示。實驗結果讓人出乎意料，在 0.15g 醴的培養條件下，酵母菌的發酵速率：葡萄糖 > 蔗糖 > 果糖 (圖 4)。這個結果代表，醴的濃度會影響酵母菌利用不同種醴類的發酵速率。在單一碳源醴濃度 0.25g (1.18%) 以上時，酵母菌的發酵速率是：果糖 > 蔗糖 > 葡萄糖；但在單一碳源醴濃度 0.15g (0.71%) 以下時，酵母菌的發酵速率是：葡萄糖 > 蔗糖 > 果糖。

為什麼醴濃度下降到 0.15g (0.71%) 時，酵母菌利用葡萄糖進行發酵的速率會比果糖快呢？我的猜測可能與酵母菌膜上的醴類運輸蛋白有關。當醴濃度下降到某個特定值時，不同醴類的運輸蛋白的運輸效率可能會有明顯地差異，便有可能影響酵母菌進行發酵的速率，但這個假說必須等待進一步的實驗驗證。

如果以上的結論是正確的話，我們便可推論當酵母菌在 2g 醴(酵母菌量及蒸餾水量不變)的培養條件下，其發酵速率是：果糖 > 蔗糖 > 葡萄糖；當酵母菌在 0.08g 醴(酵母菌量及蒸餾水量不變)的培養條件下，其發酵速率是：葡萄糖 > 蔗糖 > 果糖。我們的驗證結果如圖 5 所示，這個結果與我們的推論完全吻合。

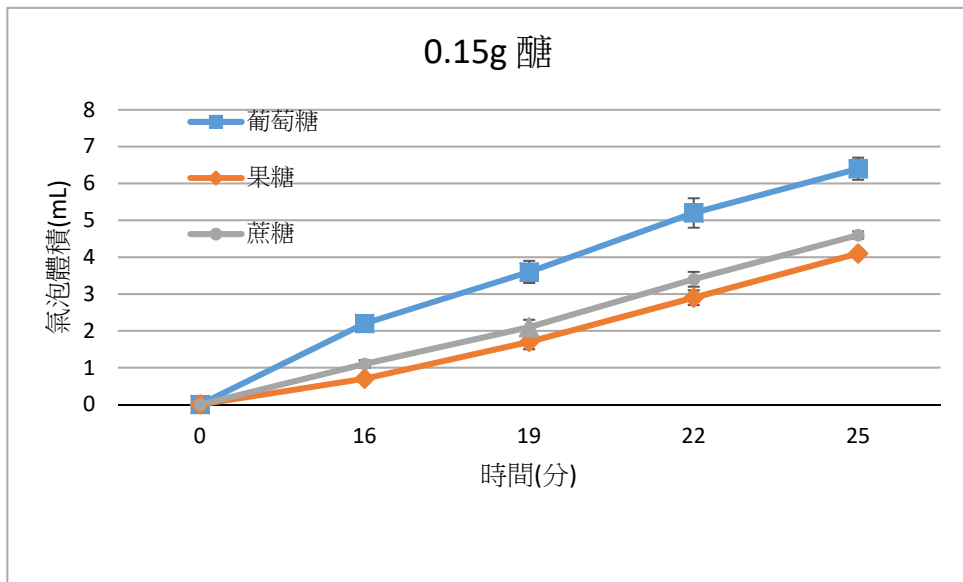


圖 4、酵母菌利用 0.15g 醴的發酵速率比較

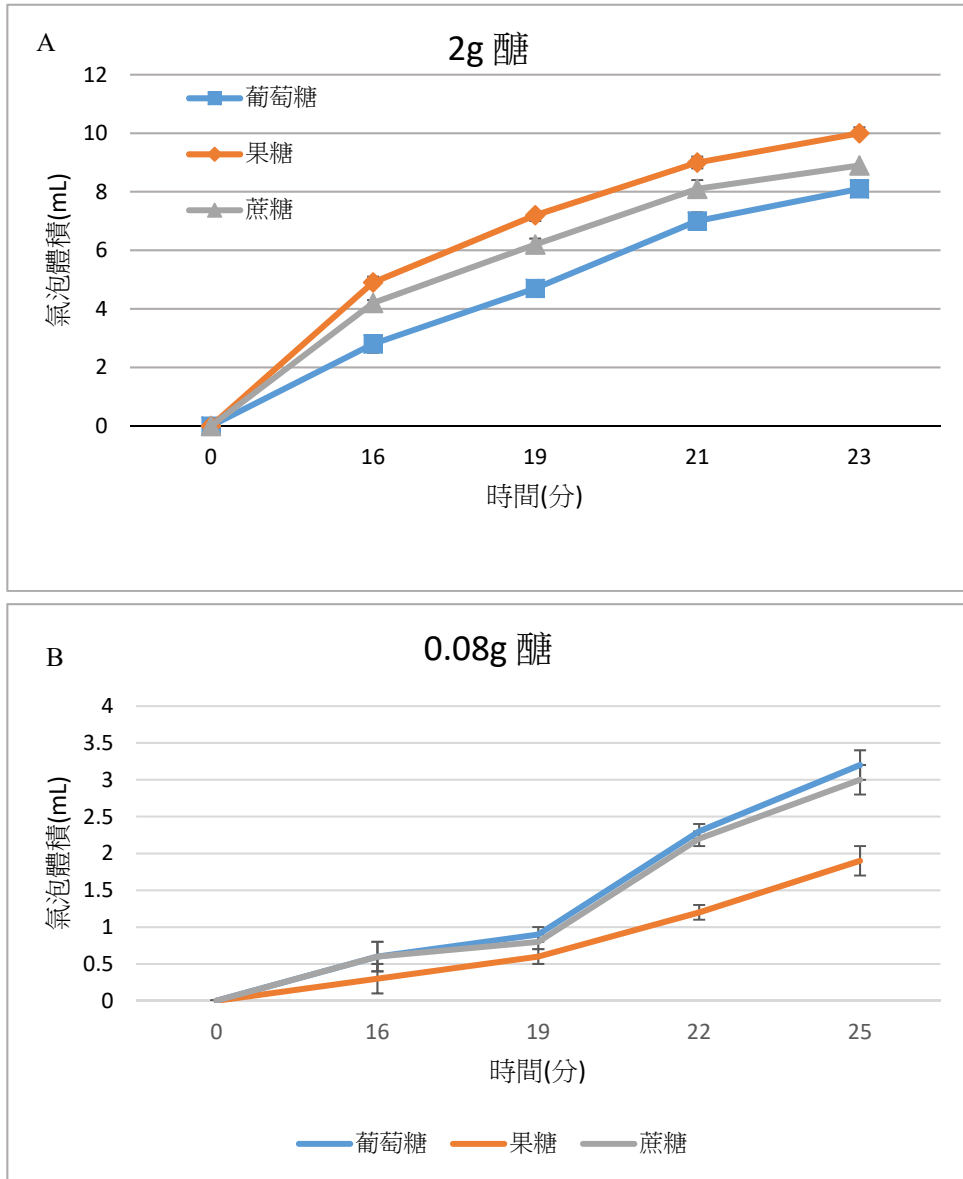


圖 5、酵母菌利用(A)2g 及(B)0.08g 醴的發酵速率比較

當酵母菌在不同濃度的單一碳源進行發酵作用時，似乎存在著一個醴濃度的臨界值，在醴濃度 0.25g (1.18%)以上時，酵母菌的發酵速率是：果糖 > 蔗糖 > 葡萄糖；

在醴濃度 0.15g (0.71%)以下時，酵母菌的發酵速率是：葡萄糖 > 蔗糖 > 果糖。我們將以上所有的實驗結果整理成表一。

表一、酵母菌在不同濃度的單一碳源進行發酵作用的速率比較

醣重量	醣重量百分比	發酵速率
2g 醣	8.70%	果糖 > 蔗糖 > 葡萄糖
1g 醣	4.55%	果糖 > 蔗糖 > 葡萄糖
0.5g 醣	2.32%	果糖 > 蔗糖 > 葡萄糖
0.25g 醣	1.18%	果糖 > 蔗糖 > 葡萄糖
0.15g 醣	0.71%	葡萄糖 > 蔗糖 > 果糖
0.08g 醣	0.38%	葡萄糖 > 蔗糖 > 果糖

二、混合碳源

當培養基中同時含有葡萄糖和其他醣類時，細菌或酵母菌會優先利用葡萄糖作為能量來源，其他醣類的代謝會被抑制而暫停進行，如此可確保能量的有效利用與轉換，這種現象稱為分解代謝物抑制 (catabolite repression)。

我設計了三種不同濃度比例的葡萄糖與果糖混合碳源：0.15g 葡萄糖+1g 果糖、0.5g 葡萄糖+0.5g 果糖、1g 葡萄糖+0.15g 果糖

糖，希望能進一步證實酵母菌的發酵速率與醣的種類及濃度都有關係。由於分解代謝物抑制現象，當培養基中同時含有葡萄糖和果糖時，酵母菌會優先利用葡萄糖，直到葡萄糖用盡才會利用果糖，因此酵母菌利用混合碳源進行發酵的速率大小預測為：0.15g 葡萄糖+1g 果糖 > 0.5g 葡萄糖+0.5g 果糖 > 1g 葡萄糖+0.15g 果糖，我們的驗證結果如圖 6 所示，這個結果與我們的推論完全吻合 (圖 6)。

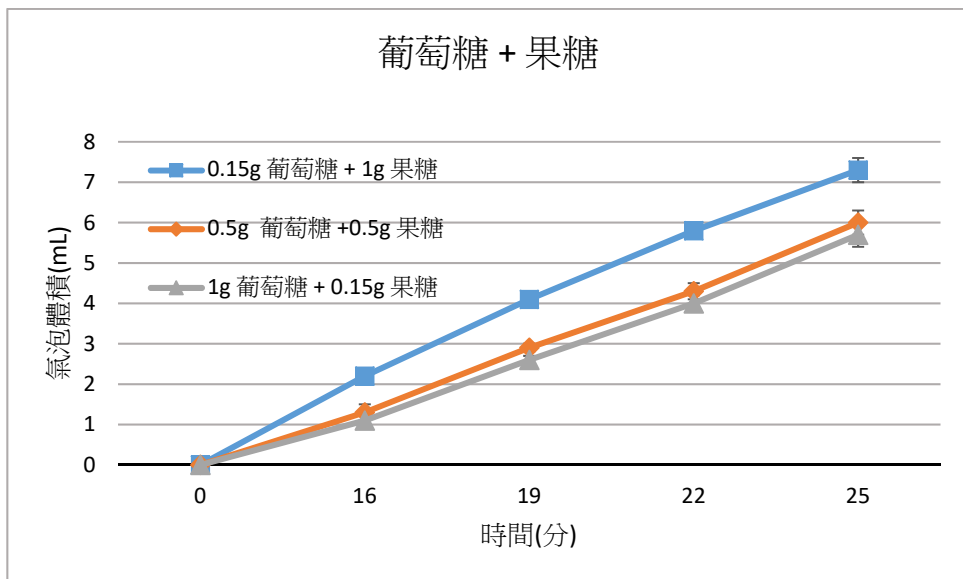


圖 6、酵母菌利用三種不同濃度比例葡萄糖與果糖混合碳源的發酵速率比較

當酵母菌利用單一碳源為葡萄糖培養時，其發酵速率為： $0.15\text{g} > 0.5\text{g} > 1\text{g}$ (圖 7)。當酵母菌利用單一碳源為果糖培養時，其發酵速率為： $1\text{g} > 0.5\text{g} > 0.15\text{g}$ (圖 8)。當酵母菌利用不同濃度比例葡萄糖加果糖混合碳源培養時，其發酵速率為： 0.15g 葡萄糖+ 1g 果糖 $>$ 0.5g 葡萄糖+ 0.5g 果糖 $>$ 1g

葡萄糖+ 0.15g 果糖 (圖 6)，我們推測是因為分解代謝物抑制現象，酵母菌優先利用葡萄糖，導致酵母菌利用不同濃度比例葡萄糖加果糖混合碳源培養的發酵速率，和利用單一碳源為葡萄糖培養的發酵速率是一致的。

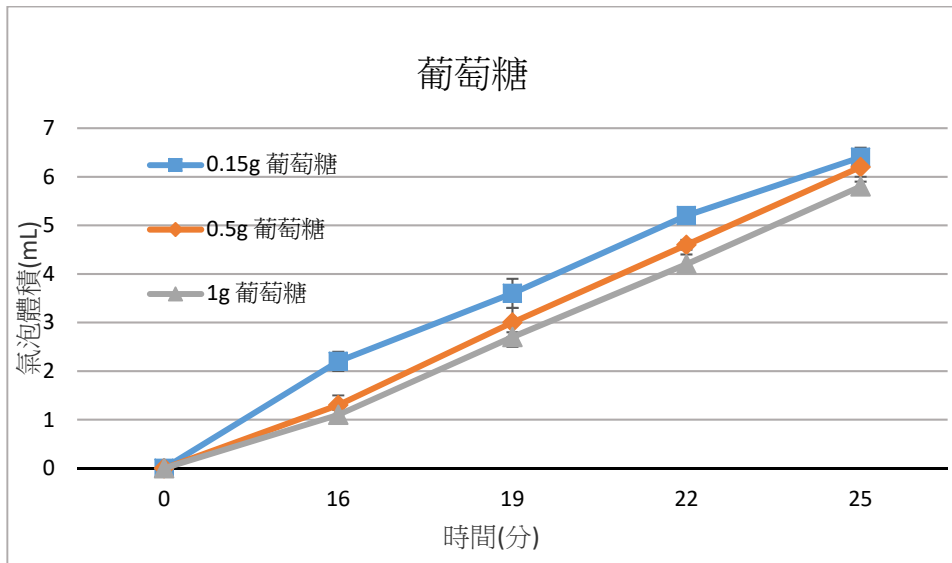


圖 7、酵母菌利用 0.15g、0.5g、1g 葡萄糖的發酵速率比較

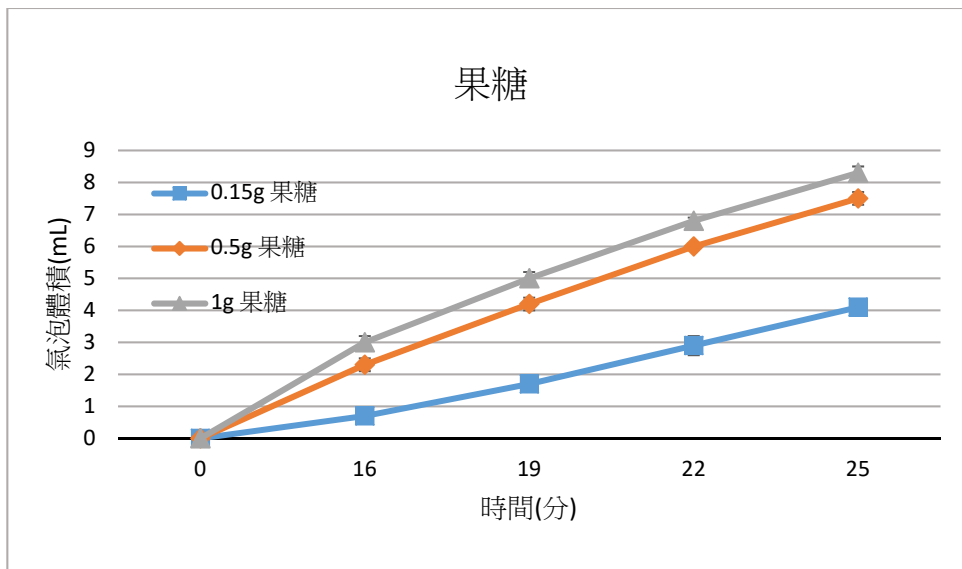


圖 8、酵母菌利用 0.15g、0.5g、1g 果糖的發酵速率比較

陸、結論

- 一、酵母菌利用單一碳源進行發酵作用時，其發酵速率與醴的種類及濃度有關。在醴濃度 1.18% 以上時，酵母菌的發酵速率是：果糖 > 蔗糖 > 葡萄糖；在醴濃度 0.71% 以下時，酵母菌的發酵速率是：葡萄糖 > 蔗糖 > 果糖。
- 二、酵母菌利用葡萄糖加果糖混合碳源的發酵速率與單獨只用葡萄糖的發酵速率一致，這代表在混合碳源中，酵母菌會優先利用葡萄糖。

參考文獻

- 陳俊宏主編(2020)。高中選修生物細胞篇。龍騰文化出版社：新北市。
- 詹子瑢 (2014)。醬油耐鹽性酵母菌 *Zygosaccharomyces rouxii* BCRC22499 之工業化最適培養基探討。國立中興大學食品暨應用生物科技學系：碩士論文。
- Valkirea Matos Nascimento & Gustavo Graciano Fonseca (2019). Effects of the carbon source and the interaction between carbon sources on the physiology of the industrial *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1, *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, DOI: 10.1080/10826068.2019.1703192
- J. H. Orłowski & J. P. Barford (1991) .Direct uptake of sucrose by *Saccharomyces cerevisiae* in batch and continuous culture. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 37, 215-218