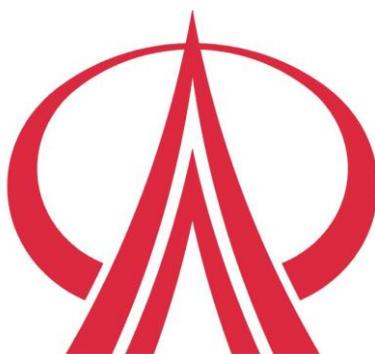


化學工程系

實務專題論文

乳酸發酵探討



指導老師：黃加正

班級：化四甲學號：BP97001 姓名：林淑芬

班級：化四甲學號：BP97007 姓名：林明龍

班級：化四甲學號：BP97010 姓名：林彥霖

班級：化四甲學號：BP97017 姓名：王啟運

班級：化四甲學號：BP97027 姓名：羅光佑

班級：化四甲學號：BP97046 姓名：詹文誠

修 平 科 技 大 學

中 華 民 國 1 0 0 年 1 2 月 2 1 日

修平科技大學化學工程系

實務專題報告

題目：乳酸發酵探討

指導老師：黃加正

姓名	學號	姓名	學號
林淑芬	BP97001	林明龍	BP97007
林彥霖	BP97010	王啟運	BP97017
羅光佑	BP97027	詹文誠	BP97046

口試委員：

_____	_____
_____	_____
_____	_____

口試及格日期：中華民國 年 月 日

致謝

謝謝黃加正老師不辭辛勞的教導，每當我們遇到問題時都能夠想到方法解決，最初實驗進行不是十分平順，但在大家合作下順利告一段落，在這由衷的感謝老師的指導，我們在這專題中學到了文獻搜索、實驗設計、儀器操作、結果整理、報告撰寫及上台報告等，最重要的是我們學會了團隊合作。另外感謝吳松君學長在當兵百忙中抽空回來指導實驗儀器的操作，在此致上誠摯的謝意。

目錄

目錄.....	I
表目錄.....	IV
圖目錄.....	V
第一章緒論.....	1
1.1 前言	1
第二章文獻整理.....	2
2.1 乳酸介紹	2
2.2 乳酸菌介紹	3
2.3 乳酸菌之用途及其特性.....	4
2.3.1 乳酸菌用途.....	4
2.3.2 乳酸菌特性	6
2.4 乳酸發酵之影響因子	8
2.4.1 碳源.....	8
2.4.2 氮源.....	8
2.4.3 維生素.....	8
2.4.4 發酵方法.....	8
2.4.5 pH 值之調控	9

第三章實驗儀器、菌種、藥品與步驟	10
3.1 儀器	10
3.2 菌種：	10
3.3 藥品	11
3.4 培養基	14
3.4.1 碳源：葡萄糖	14
3.4.2 碳源：糖蜜	14
3.4.3 碳源：牛奶	15
3.5 實驗步驟	15
3.5.1 菌種活化	15
3.5.2 錐形瓶小量培養	16
3.5.3 發酵槽大量培養(5 升)	16
第四章結果與討論	17
4.1 乳酸菌生長曲線	17
4.2 菌種前培養條件	18
4.3 培養基組成對乳酸發酵的影響	20
4.4 控制 pH 值對乳酸產量的影響	24
4.5 放大發酵	31
第五章結論	38

第六章 參考文獻..... 40

表目錄

表 2.1 乳酸之性質	3
表 4.2.1 菌種前培養相關條件	18
表 4.2.2 菌種前培養相關條件(續)	18
表 4.5.1 發酵溫度 25°C	33
表 4.5.2 發酵槽控制溫度約 35°C	35

圖目錄

圖 2.2 乳酸菌的醣類代謝。(A)同型發酵(B)異型發酵(C)混合酸發酵.....	4
圖 3.1.1 5 升發酵槽剛接種 (採用糖蜜).....	12
圖 3.1.2 以糖蜜發酵至 60 小時.....	13
圖 4.1 不同溫度下的乳酸菌生長曲線.....	17
圖 4.2 乳酸與酵母菌顯微鏡下相片.....	19
圖 4.3.1 0.1N NaOH 的消耗量與時間之關係.....	20
圖 4.3.2 乳酸發酵過程 pH 值變化與時間之關係.....	21
圖 4.3.3 乳酸發酵過程 pH 值變化與時間之關係.....	22
圖 4.3.4 乳酸發酵過程 pH 值變化與時間之關係.....	23
圖 4.4.1 0.1N NaOH 的消耗量與時間之關係.....	24
圖 4.4.2 0.1N NaOH 的消耗量與時間之關係.....	25
圖 4.4.3 發酵期間乳酸的 NaOH(0.1N)消耗量與時間之關係	26
圖 4.4.4 發酵期間調控 pH 值乳酸濃度與時間之關係 ...	27
圖 4.4.5 發酵期間調控 pH 值乳酸轉化率與時間之關係 .	28
圖 4.4.6 發酵期間調控 pH 值乳酸濃度與時間之關係 ...	29

圖 4.4.7 發酵期間調控 pH 值乳酸轉化率與時間之關係 .	30
圖 4.5.1 大型發酵槽 Yeast Extract 糖蜜培養基乳酸濃度與 時間圖(25°C).....	33
圖 4.5.2 大型發酵槽 Yeast Extract 糖蜜培養基乳酸轉化率 與時間圖(25°C).....	34
圖 4.5.3 大型發酵槽 Yeast Extract 糖蜜培養基乳酸濃度與 時間圖(35°C).....	36
圖 4.5.4 大型發酵槽 Yeast Extract 糖蜜培養基乳酸轉化率 與時間圖(35°C).....	37

第一章緒論

1.1 前言

乳酸在食品添加及保存、製藥、皮革及紡織工業上都有很大的用途，乳酸本身具有不同的光學異構物，即 L-lactic acid 及 D-lactic acid，在聚乳酸中兩種光學異構物不同的含量會影響成品的性質與結晶性，單一光學活性之乳酸比例越高 PLA(聚乳酸)的結晶程度越高，有較高玻璃轉移溫度及熔點。一般乳酸分析方法為使用碳 18 管柱，其無法分離異構物，聚乳酸中兩種型式乳酸含量不同，將賦予不同的物理性質與功能。

本實驗採用批式方法由酵母萃取物與葡萄糖或糖蜜提供氮源及碳源在發酵槽中進行發酵，觀察發酵期間菌體生長情形、乳酸產量、產率、糖蜜之消耗及轉化率等。批式發酵方法以不同起始葡萄糖濃度 10、25、50、100、150、200g/L 來探討對乳酸發酵的影響。

第二章文獻整理

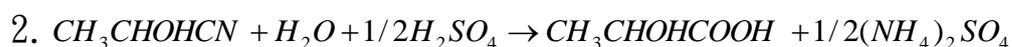
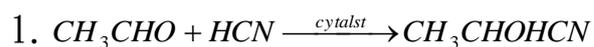
2.1 乳酸介紹

乳酸(2-hydroxypropionic acid,)，為同時具有-OH 與-COOH 基團之有機一元酸，可溶於水及與水互溶之有機溶劑，為低揮發性無臭的物質，在美國 FDA 將乳酸列為 GRAS 級(generally regarded as safe)。因乳酸具有不對稱碳原子，存在兩種不同光學活性之光學異構物，分別為 D(+)-Lactic acid、L(-)-Lactic acid，兩者參半混和後不具旋光性，稱為 DL-Lactic acid。

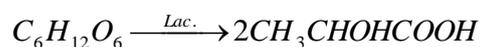
乳酸用途廣泛，包括食品添加及保存、化妝品、製藥、醫療工程、紡織工業、生物可分解材料等，生產成本較高是一缺點。其製造方法為化學合成與乳酸發酵。

一. 化學合成

化學合成過程中會同時產生兩種型式之乳酸，即 D-lactic acid 與 L-lactic acid 混合物，為不具旋光性之 DL-lactic acid。一般商業化的乳酸合成方法為利用製造丙烯腈的副產物—lactonitrile，在進行一連串的乳酸合成反應與純化，另外也可以經由乙醛(acetaldehyde)與氫氰酸(hydrogen cyanide)合成 lactonitrile，其合成乳酸的反應式如下：



二. 乳酸發酵



乳酸之性質：如表 2.1

分子量	90.08
熔點	16.8°C
沸點	82°C 在 0.5mmHg 122°C 在 14mmHg
解離係數(K _a , 25°C)	1.37×10 ⁻⁴
燃燒熱(ΔH _c)	1361KJ/mole
比熱(C _p , 20°C)	190J/mole/°C

表 2.1 乳酸之性質(Narayanan et al., 2004)[2]

2.2 乳酸菌介紹

1780 年卡爾·威廉·舍勒在酸奶中發現了乳酸。1808 年貝采利烏斯發現了肌肉內的乳酸，1873 年約翰內斯·威利森努斯澄清了其結構。1895 年柏林格殷格翰公司發明了使用細菌製造乳酸的方法，從而開始了工業化乳酸的生物製造技術。

在發酵過程中葡萄糖經由 EMP 代謝途徑生成丙酮酸，乳酸脫氫酶再將丙酮酸轉變為乳酸（如圖）。

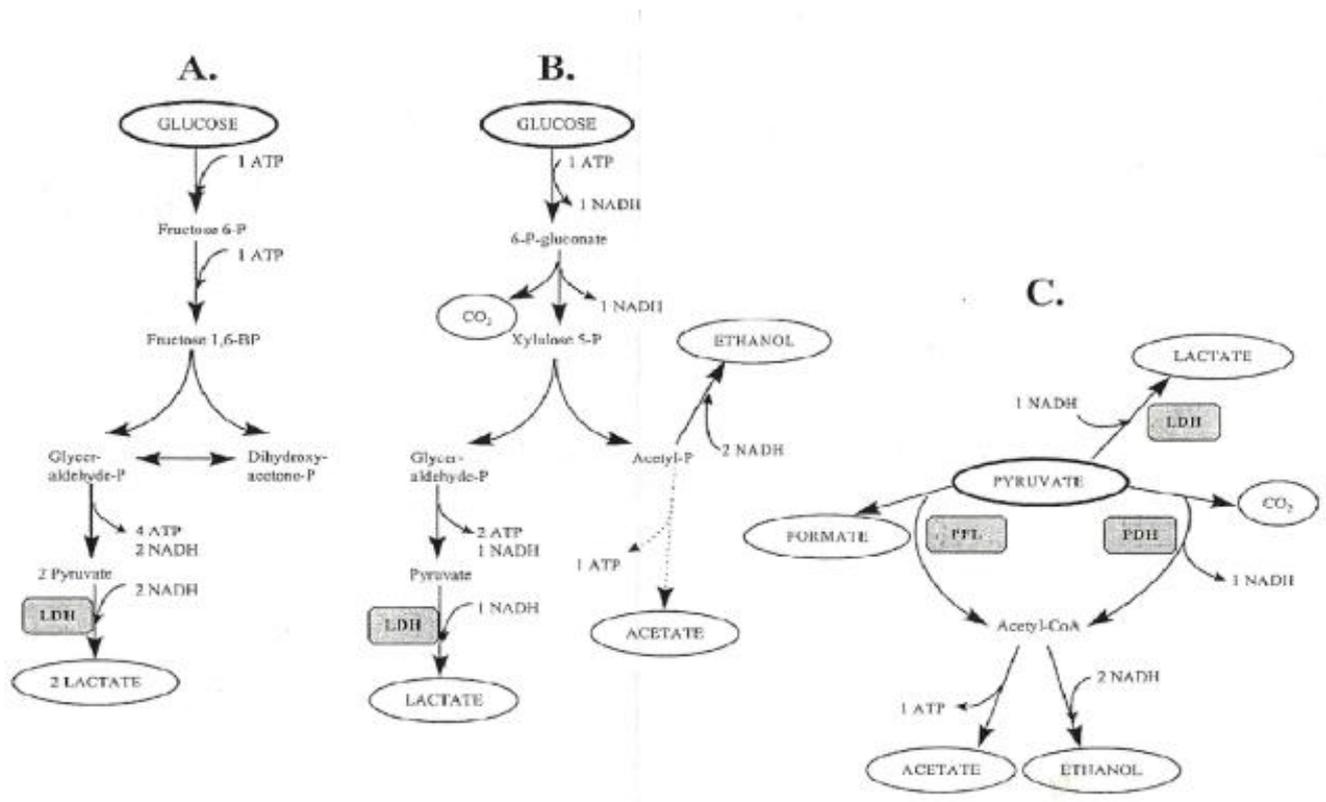


圖 2.2 乳酸菌的醣類代謝。(A)同型發酵(B)異型發酵(C)混合酸發酵

(Hofvendahl et al., 2000)

2.3 乳酸菌之用途及其特性

2.3.1 乳酸菌用途

一. 食品工業：

1. 產生香味: 乳酸菌在乳製品中可產生香味成分 diacetyl、acetoin、acetyldehyde、乳酸及蛋白質、脂肪裂解後之小分子，而於植物中亦可找到可產生香味之乳酸菌株。

2. 製造發酵加工產品: 當成菌種，廣泛應用於乳類、穀類、蔬菜及肉

類等之發酵，一般正型發酵菌常用於乳品加工，而異型發酵菌則多出現於醃製蔬果上，可使產品多樣化，如發酵乳、醃酸菜、香腸、醬油、酒、酸麵包等。並且因菌本身具蛋白質、胜肽水解活性，有助酪蛋白微粒中蛋白質之分解及其代謝產生維生素 B 群、胺基酸、脂肪酸之能力，因而可增加產品營養價值，有利消化吸收。

3. 代謝物之利用：

(1) 酵素：目前雖未有工業化者，但以固定化菌體利用其酵素系統，或純化由菌體製造之酵素以作用基質之研究甚多，如利用 *Lactobacillus brevis* 產生之葡萄糖異構酶，其生產之高果糖將可防止果糖再轉為其他糖類；多種乳酸菌具有乳糖分解酵素，深具開發高活性菌株以製造低乳糖產品之潛力。

(2) 代用血漿：

聚葡萄糖(dextran)可被用以製造代用血漿，而有些乳酸菌恰可合成生產此類物質，如 *Leuconostocmesenteroides*。

(3) 寡糖：*Bifidobacterium* 之不同菌種，利用其酵素系統可產生多種寡糖類如果寡糖及大豆寡糖等，*S. thermophilus* 可利用乳糖分解酶合成乳寡糖。因寡糖具有預防齲齒及便秘等營養健康效用，故此類產品及生產菌種正被熱絡研發中。

(4) 生物轉換：部分乳酸菌具有特殊轉換作用，如 *Lactobacillus* 菌種

可作用甘油變成丙烯醛；木糖變成異木糖，藉此生產高附加價值產物，其發展極有前途。

(5)食品保存:乳酸菌代謝產生二氧化碳、過氧化氫、雙乙醯及乳酸、醋酸等有機酸，並伴隨 pH 值下降，另有些菌種亦可分泌低分子量抗菌物如 reuterin 及產生多胜肽類蛋白質或含 lantibiotics 型之抑菌素(bacteriocin)，其分別有各自有效抑制之腐敗菌及致病菌範圍，對食品的安全及保存性極有助益。

二. 一般工業：

1. 一般 *Lactobacillus*、*Streptococcus* 及 *Leuconostoc* 均可產生工業用乳酸，但最常被使用的是 *Lactobacillus delbrueckii*。
2. 在製革、紡織、塑膠、畜牧業方面，乳酸可以去除皮革上的石灰、布料之處理、不同塑膠之製造以及作為飼料添加物(如乳酸鈣)等。
3. 乳酸銅為電鍍之成份。

三. 其他用途：

1. 益生菌
2. 添加 LP-33 乳酸菌優酪乳

上述兩種菌都有維持腸道菌群平衡、改善乳糖不耐症的代謝障礙

2.3.2 乳酸菌特性

一. 利用醣類經發酵作用產生能量，主要產物為乳酸。

- 二. 無法進行檸檬酸循環(TCA cycle)，因而不能藉由呼吸作用合成 ATP。
- 三. 格蘭氏陽性菌，無運動性，無莢膜，除 *Sporolactobacillus* 菌屬為產孢菌外，大多不產生孢子。
- 四. 因缺乏細胞色素(cytochrome)和紫質(porphyrins)而無過氧化氫酶(catalase)，即觸酶反應為陰性。
- 五. 耐酸性，可生存在 pH 值 5 甚至更低的環境下，使乳酸菌具有較佳的競爭優勢。
- 六. 最適生長溫度分布的範圍很廣，介於 20-45°C。
- 七. 菌體型態除了 *Lactobacillus* 及 *Carnobacterium* 菌屬為桿菌，其餘大部分為球菌。
- 八. 乳酸菌無氧氣的需求，大部分為兼性厭氧(facultative anaerobes)或耐氧厭氧(aerotolerant anaerobes)，少部分為絕對厭氧(obligate anaerobes)
- 九. 乳酸菌的生合成能力有限，生長之營養需求複雜，需有醣類、胺基酸、核酸衍生物、維生素等。

2.4 乳酸發酵之影響因子

2.4.1 碳源

在適合乳酸菌生長的條件下，葡萄糖作為碳源供應乳酸菌代謝產生乳酸，若能以價格低廉的副產物(如糖蜜)或者廢棄物製造乳酸而達到高轉化率，就能夠達到降低成本的目標。

大部分乳酸菌無法直接利用大分子醣類，必須先水解成葡萄糖。另外食品工業的副產物如糖蜜、玉米糖漿、乳清等價格便宜，許多文獻證明了這些原料在發酵上之可用性。

2.4.2 氮源

氮源的種類以及濃度會影響乳酸菌產生乳酸的效能，高濃度之氮源有利於乳酸菌生長與發酵，使用高濃度且複雜度高的小分子營養物如酵母萃取物、牛肉萃取物作為乳酸發酵的氮源有利於乳酸的產製。

2.4.3 維生素

乳酸菌生長需要胺基酸與維生素的供給，維生素的加入可提高乳酸轉化率，適當的添加維生素 B 對於乳酸發酵會有幫助。

2.4.4 發酵方法

批式培養是早期微生物培養已採用的方式，是其他培養操作方式的基

礎。生物體培養於一定體積的培養基中，在培養過程中，體積維持不變，不添加額外的培養基。隨著生物細胞的增加而營養源逐漸減少，細胞及產物會生長累積到一定濃度，最後再一次收穫細胞、產物及培養基。此種培養方式最大的缺點為常有產物抑制現象，但因為操作簡單、培養週期短而常被採用。

2.4.5 pH 值之調控

發酵過程的 pH 控制方式主要有兩種，發酵前的調整 pH，但隨著發酵 pH 逐漸下降影響產率，另一種是調控培養過程中的 pH 值於穩定目標 pH，可藉萃取、吸附、沉澱等方法移出乳酸，在實驗過程中控制濃度的乳酸濃度遠比沒有控制良好。最適合乳酸製造 pH 因菌種而異，而大多在 pH 5-7 之間。本實驗顯示未控制 pH 值時乳酸的生長期較為短暫產量也偏低，實驗結果控制 pH 落在 6 時乳酸生長效果最為突出。

第三章實驗儀器、菌種、藥品與步驟

3.1 儀器

儀器	型號	廠商	國家
分光光度計	LR45227	Thermo Milton Roy	法國
培養槽設備	FC5000	一升科技股份有限公司	台灣
高溫滅菌釜	TM-329	東明儀器有限公司	台灣
桌上型酸鹼度計	PH-211	HANNA Instrument	美國
烘箱	RHD452	日升儀器有限公司	台灣
低溫培養箱	RI100	一升科技股份有限公司	台灣

3.2 菌種：

Bifidobacterium Longum R023

Bifidobacterium infantis R071

Lactobacillus acidophilus R052

Lactobacillus casei R215

Lactobacillus plantarum R202

Leuconostoc rhamnosus R049

Streptococcus lactis R225

Streptococcus cremoris R108

Streptococcus diacetylactis R233

Sacchchromycesflorentinus

Fructooligosaccharides(FOS)

3.3 藥品

藥品名稱	品牌	公司	藥品級
Yeast Extract	PRONADISA	CONDA	1 級
K_2HPO_4	聯工化學試藥	聯工化學試藥	1 級
KH_2PO_4	聯工化學試藥	聯工化學試藥	1 級
CH_3COONa	聯工化學試藥	聯工化學試藥	1 級
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	SHIMADA CHEMICAL WORKS	島久藥品株式會 社	1 級
$MnSO_4 \cdot H_2O$	SHIMADA CHEMICAL WORKS	島久藥品株式會 社	1 級
$C_6H_{12}O_6$	FERAK	伯丰	
糖蜜			工業級



圖 3.1.1 5 升發酵槽剛接種（採用糖蜜）



圖 3.1.2 以糖蜜發酵至 60 小時

3.4 培養基

3.4.1 碳源：葡萄糖

葡萄糖 (g/L)	樣品 1	樣品 2	樣品 3	樣品 4	樣品 5	樣品 6
	10	25	50	100	150	200

組成成份	濃度(g/L)
Yeast Extract	10.0
K_2HPO_4	1.5
KH_2PO_4	1.5
CH_3COONa	0.5
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.038

3.4.2 碳源：糖蜜

糖蜜 (g/L)	樣品 1	樣品 2	樣品 3	樣品 4	樣品 5	樣品 6
	20	50	100	200	300	400

組成成份	濃度(g/L)
Yeast Extract	10.0

K_2HPO_4	1.5
KH_2PO_4	1.5
CH_3COONa	0.5
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.038

3.4.3 碳源：牛奶

葡萄糖 (g/L)	樣品 1	樣品 2	樣品 3	樣品 4	樣品 5	樣品 6
	10	25	50	100	150	200

組成成份	濃度(g/L)
牛奶	150 (ml/L)

3.5 實驗步驟

3.5.1 菌種活化

器具先以高溫滅菌釜殺菌(121°C，15分鐘)後，以蒸餾水配置

5.5g/100mL MRS broth，加入比菲德氏菌 0.2g 進入恆溫震盪培養箱

於 35°C 培養 18-20 小時後即可使用。

3.5.2 錐形瓶小量培養

準備 12 個 250mL 錐形瓶(滅菌過)在無菌操作台植入菌體，用微量吸管吸取活化菌體 5mL 加入已裝有培養基的各錐形瓶內(裝 150mL)，並置入恆溫震盪培養箱培養(35°C)。每三小時取出測定 pH 值、OD 值(600nm)、以氫氧化鈉滴定調整酸鹼度(pH 約至 6)，進行數十小時觀察生長曲線。

3.5.3 發酵槽大量培養(5 升)

先校正 pH 計，並將器具以高溫滅菌釜滅菌(121°C，15 分鐘)，加入事先配好的培養基 3 升(糖蜜約 400g/L)，並加入 100mL 活化菌體，開始培養，發酵槽調整轉速至 150rpm/min、溫度控制 35°C、pH 值控制範圍 5.9-6.1(用 3M 氫氧化鈉滴定)、每三小時觀察並記錄氫氧化鈉消耗量，直至氫氧化鈉不再消耗，代表乳酸發酵終止。

第四章結果與討論

4.1 乳酸菌生長曲線

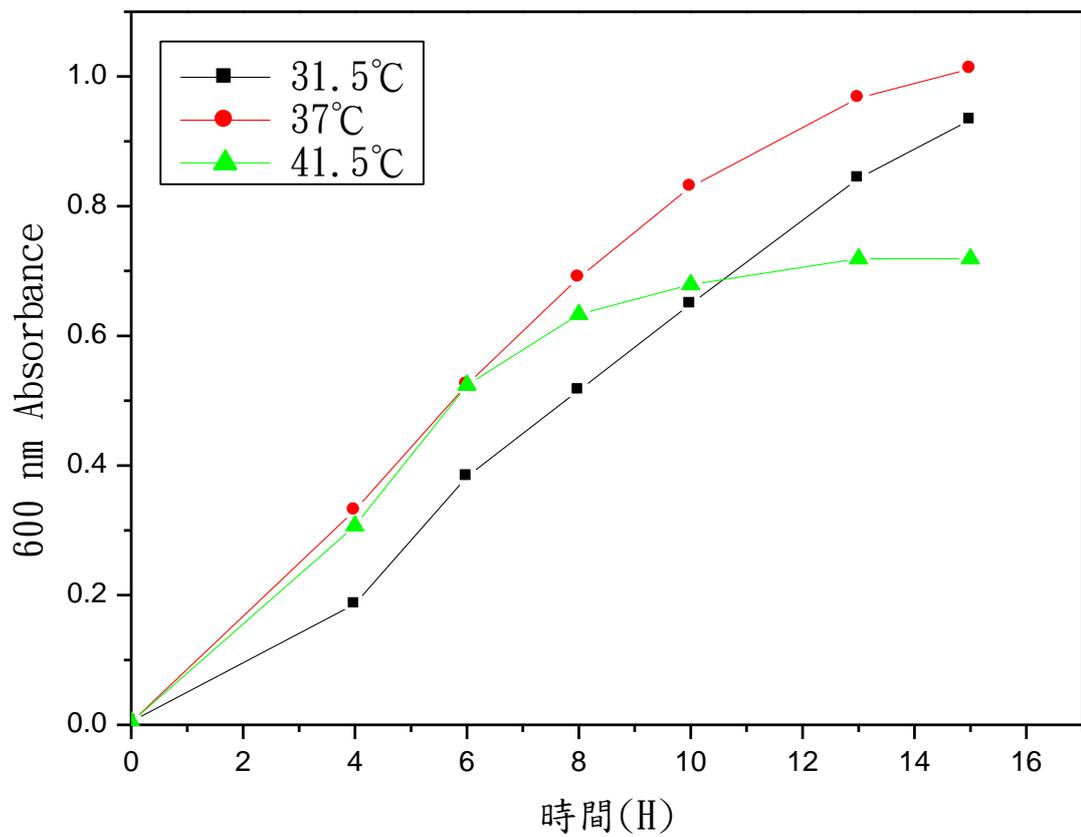


圖 4.1 不同溫度下的乳酸菌生長曲線

4.2 菌種前培養條件

編號	1	2	3	4	5	6	7	8
糖蜜(稀釋液)	4	4	4	4	4	4	4	6
酵母粉(試藥級)						0.3	2.5	0.3
酵母粉(飼料級)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5			
食鹽	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
OD 值(600nm)	0.216	0.239	0.274	0.259	0.170	0.355	0.651	0.420

編號	9	10	11	12	13	14	15
糖蜜(稀釋液)	8	10	12	6	8	10	12
酵母粉(試藥級)	0.3	0.3	0.3	2.5	2.5	2.5	2.5
酵母粉(飼料級)							
食鹽	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
OD 值(600nm)	0.465	0.486	0.489	0.648	0.702	0.758	0.716
照片	Fig 1	Fig 2			Fig 3	Fig 4	

表 4.2.1 菌種前培養相關條件

編號	16	23
糖蜜(稀釋液)	4	10
酵母粉(試藥級)		
酵母粉(飼料級)	0.2	3
食鹽	0.2	0.2
OD 值(600nm)		
照片	Fig 5	Fig 6

表 4.2.2 菌種前培養相關條件(續)

圖 4.2 乳酸與酵母菌顯微鏡下相片



Fig 1



Fig 2



Fig 3

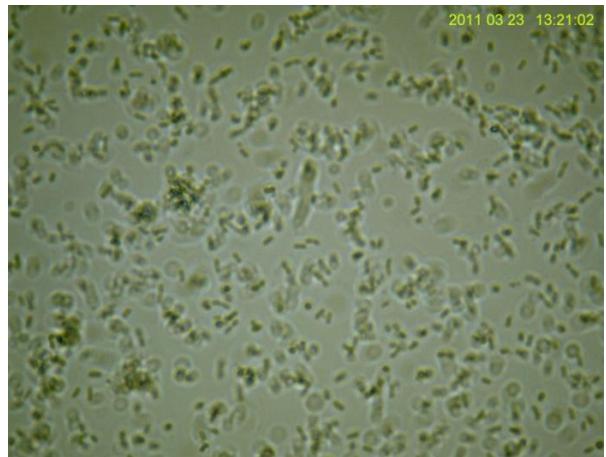


Fig 4

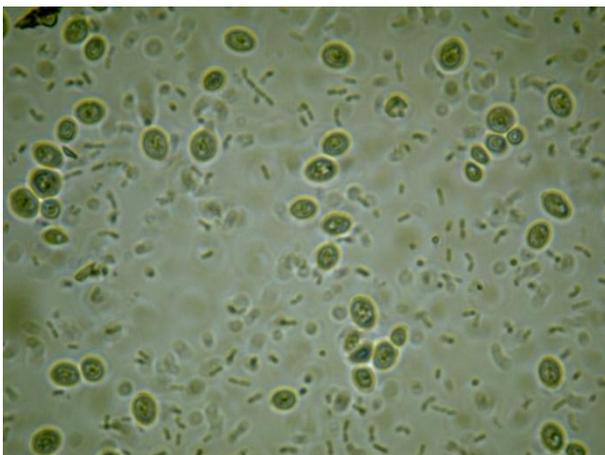


Fig 5

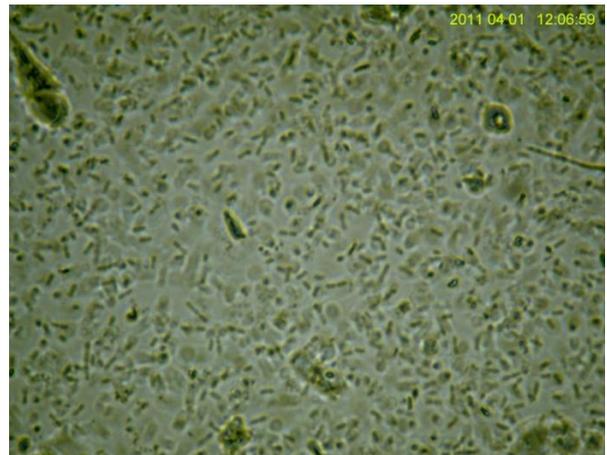


Fig 6

前培養條件：溫度以 37°C 最為理想，培養基以糖蜜濃度 $10\text{g}/100\text{mL}$ 、酵母萃取物(試藥級) $2.5\text{g}/100\text{mL}$ 最為理想。

4.3 培養基組成對乳酸發酵的影響

在實驗中我們改變培養基，使用 25g/L、50g/L、100g/L、150g/L、200g/L 等不同濃度的葡萄糖，我們採用基本的發酵基質以外我們還採用了以牛奶當培養基，以對照他們之間的差異性。另外糖蜜成本遠低於葡萄糖，部分培養基用糖蜜取代葡萄糖。

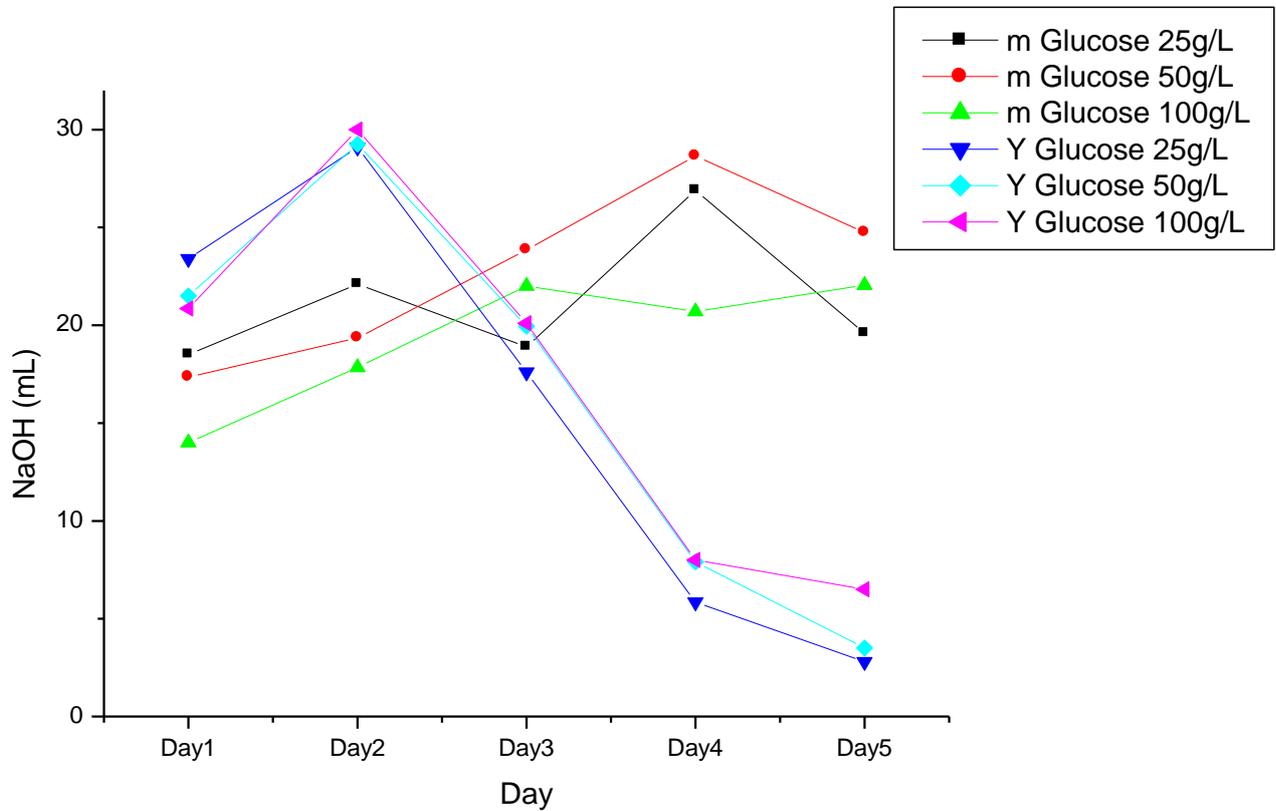


圖 4.3.1 0.1N NaOH 的消耗量與時間之關係

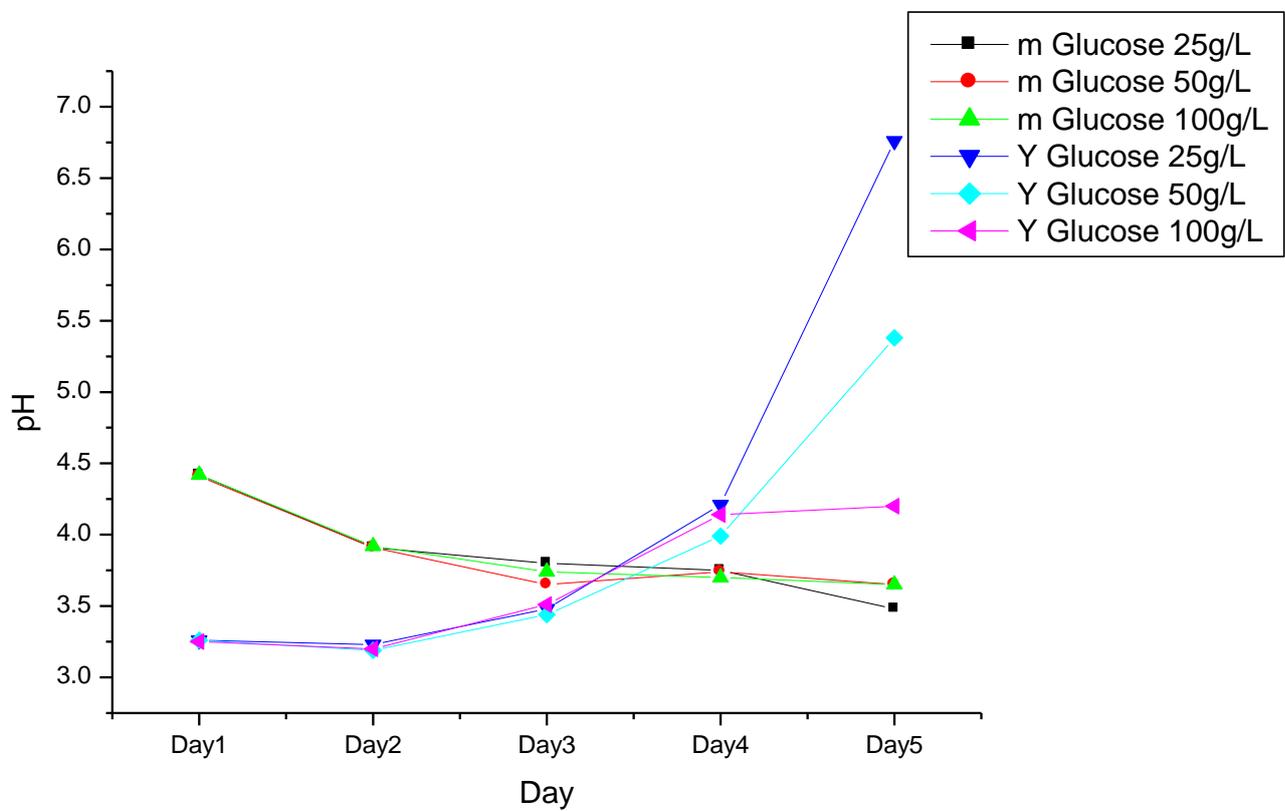


圖 4.3.2 乳酸發酵過程 pH 值變化與時間之關係

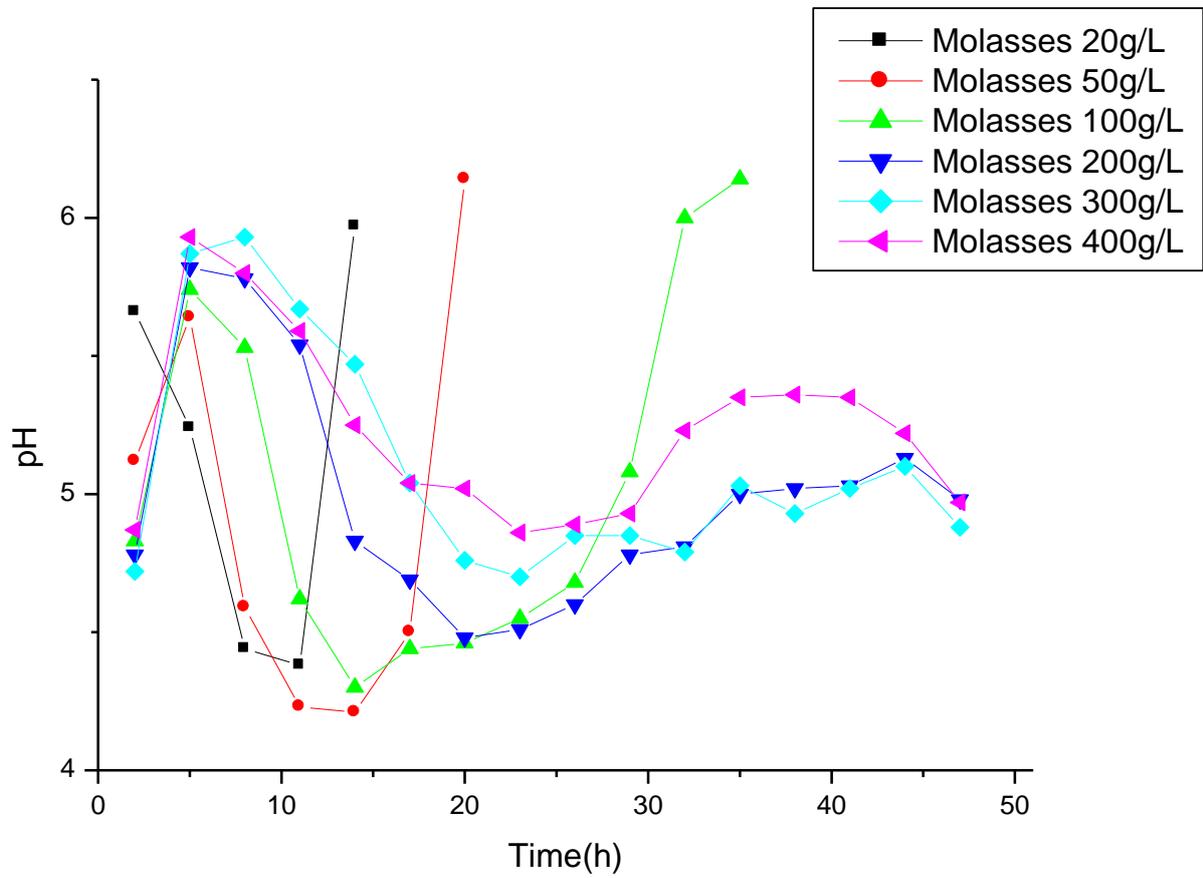


圖 4.3.3 乳酸發酵過程 pH 值變化與時間之關係

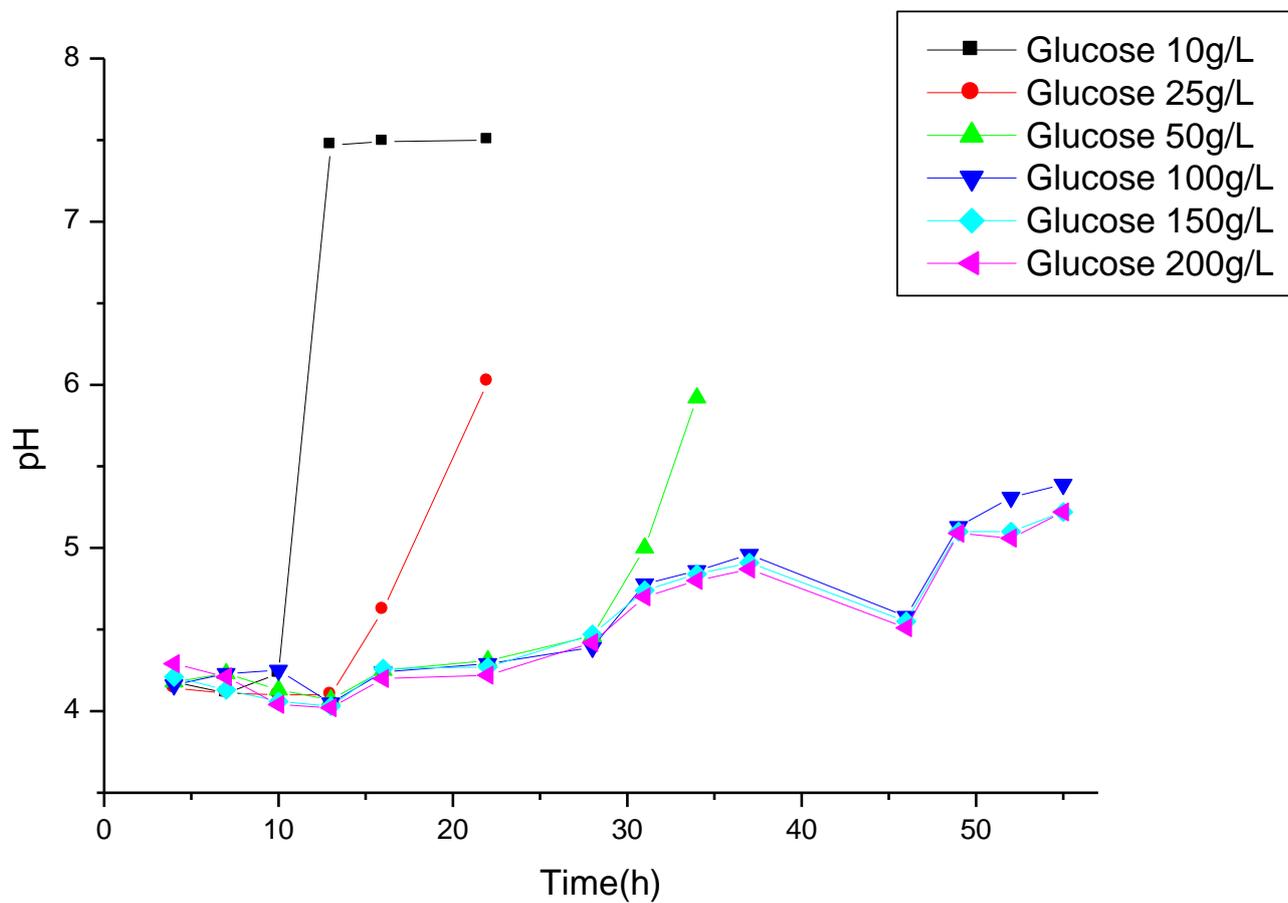


圖 4.3.4 乳酸發酵過程 pH 值變化與時間之關係

4.4 控制 pH 值對乳酸產量的影響

在前幾次實驗中我們並沒有特別調控 pH 值，所以乳酸發酵較差，而後幾次實驗中發現到控制 pH 值在 6 時較好，有較高的產能產率。

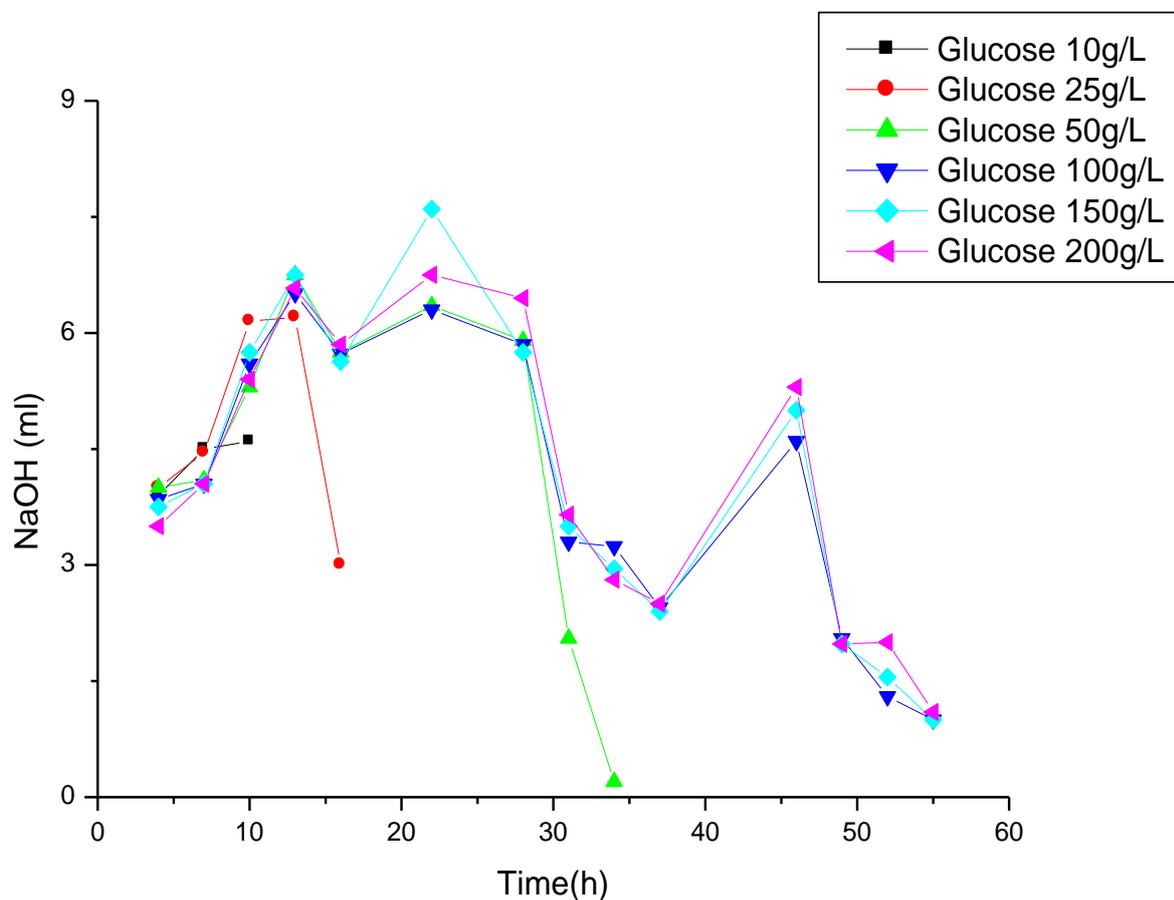


圖 4.4.1 0.1N NaOH 的消耗量與時間之關係

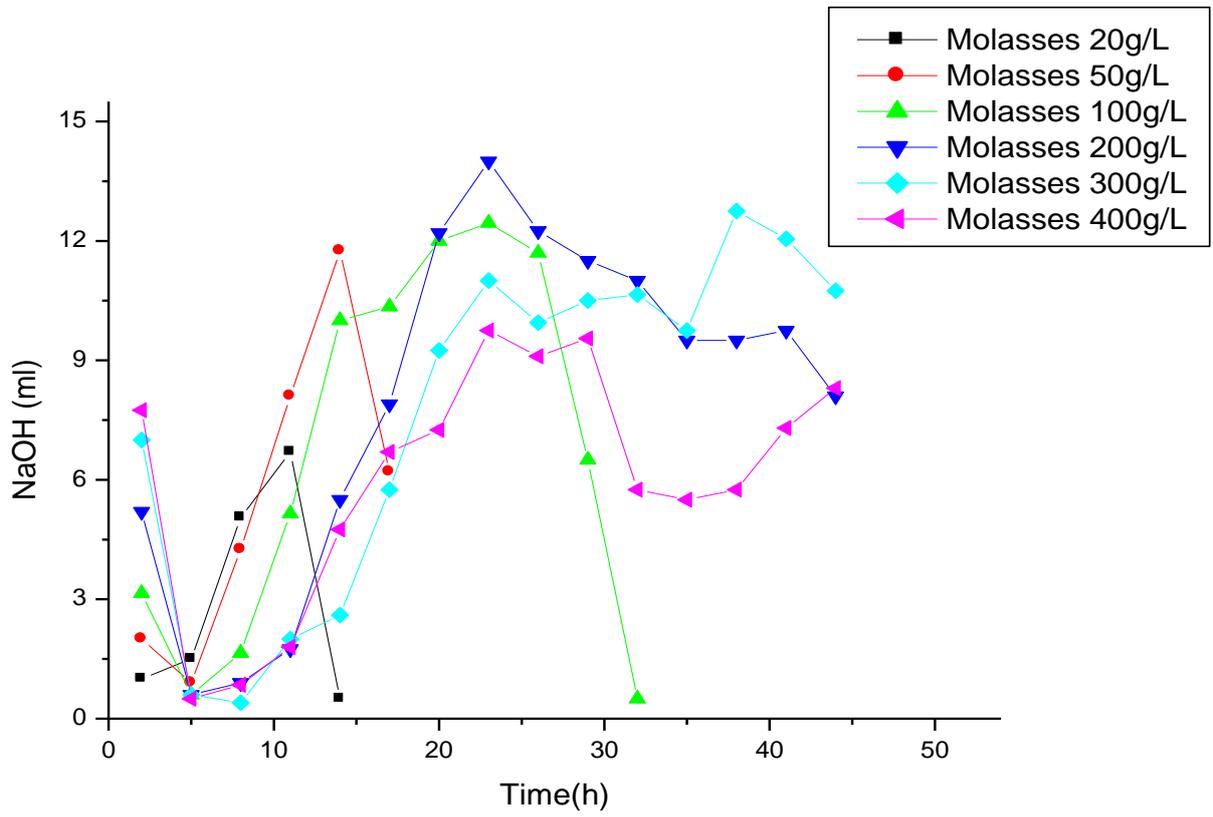


圖 4.4.2 0.1N NaOH 的消耗量與時間之關係

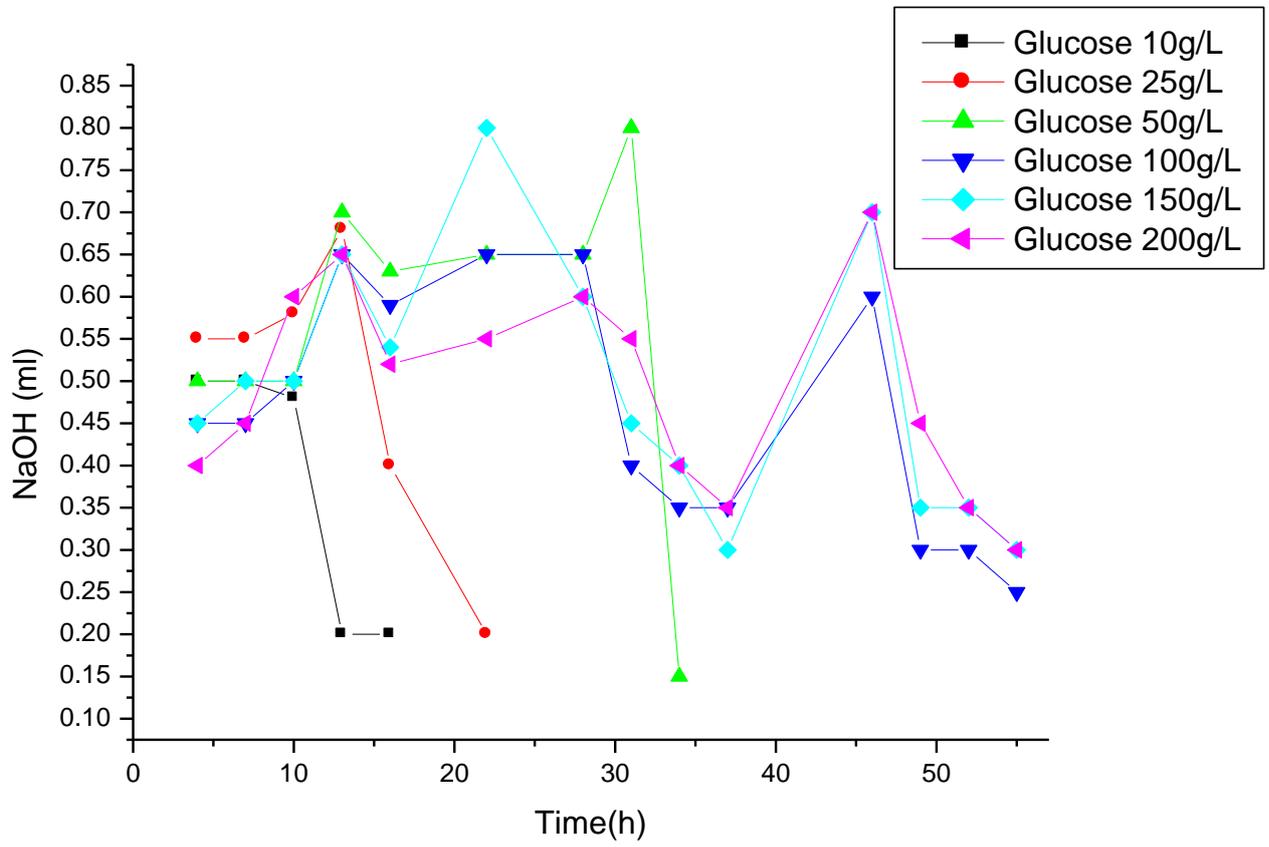


圖 4. 4. 3 發酵期間乳酸的 NaOH(0. 1N)消耗量與時間之關係

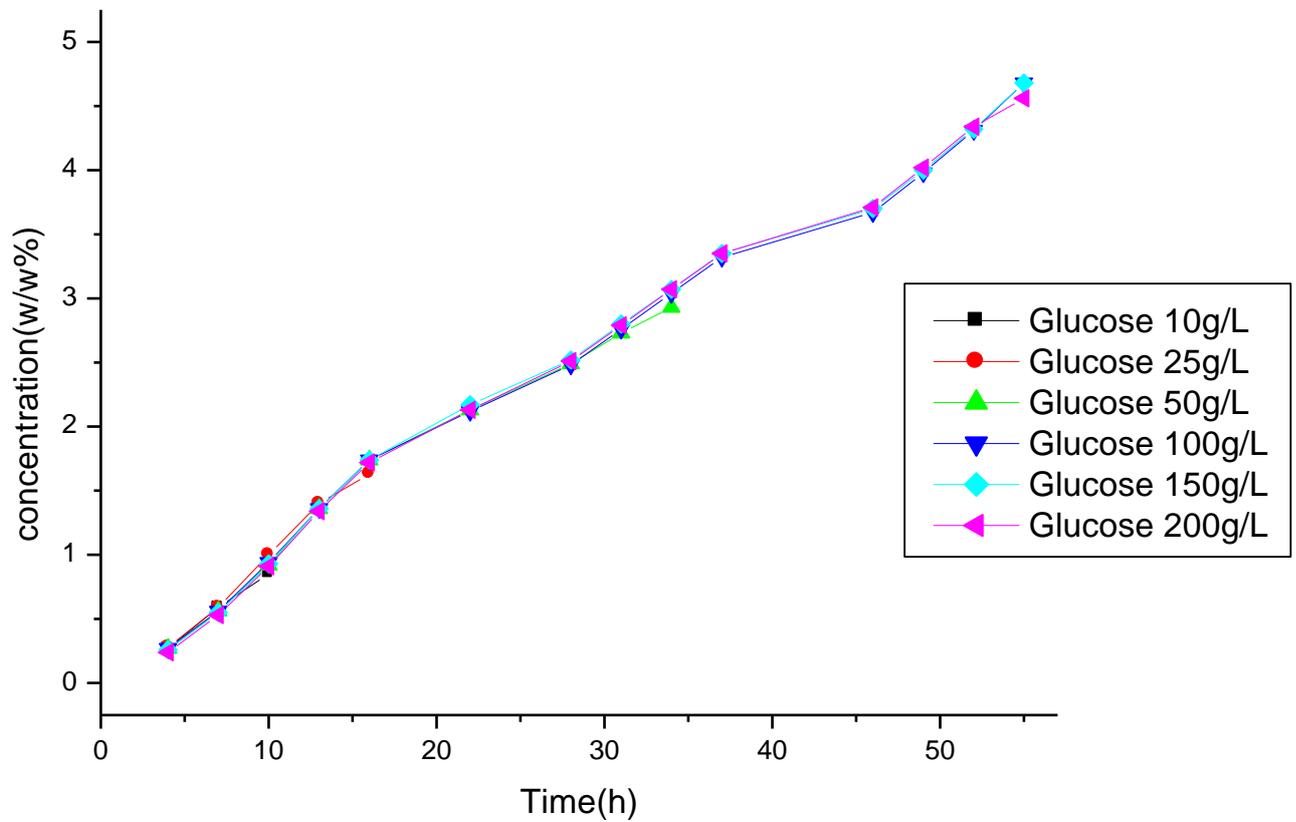


圖 4.4.4 發酵期間調控 pH 值乳酸濃度與時間之關係

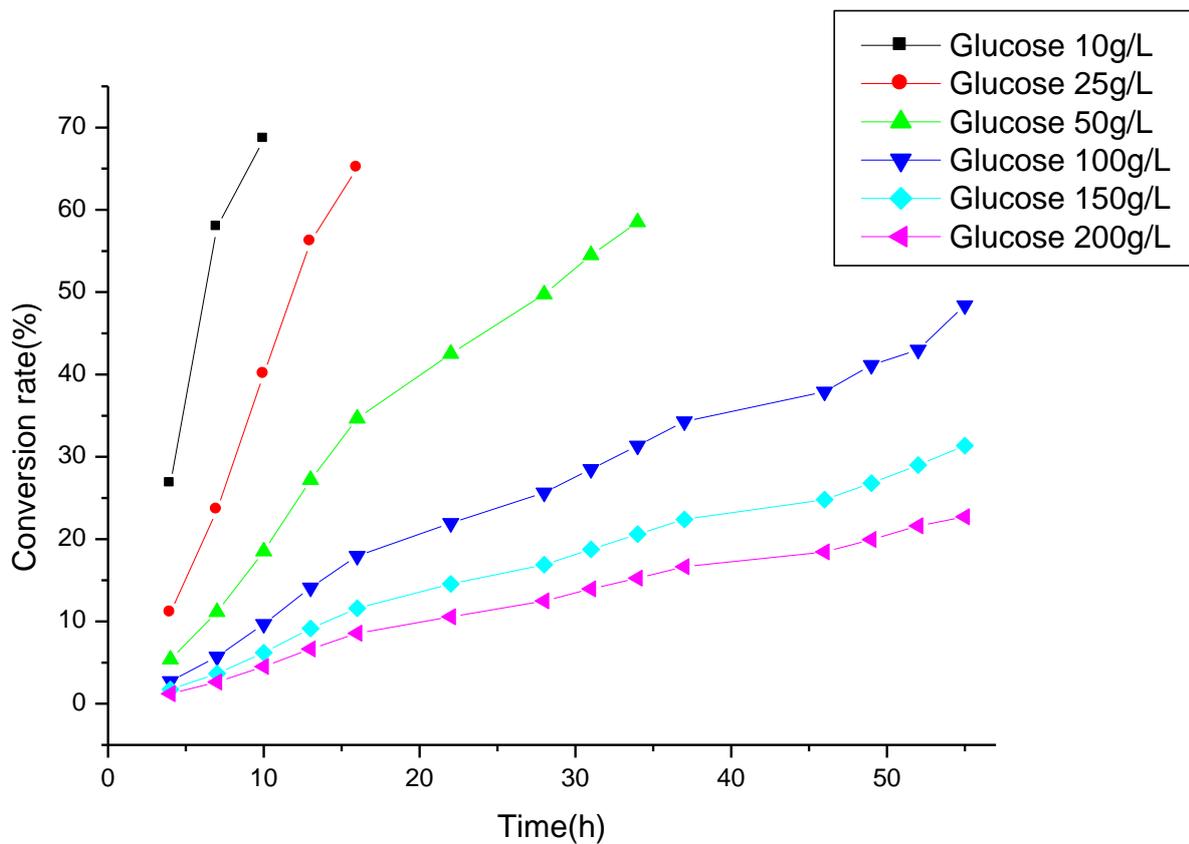


圖 4.4.5 發酵期間調控 pH 值乳酸轉化率與時間之關係

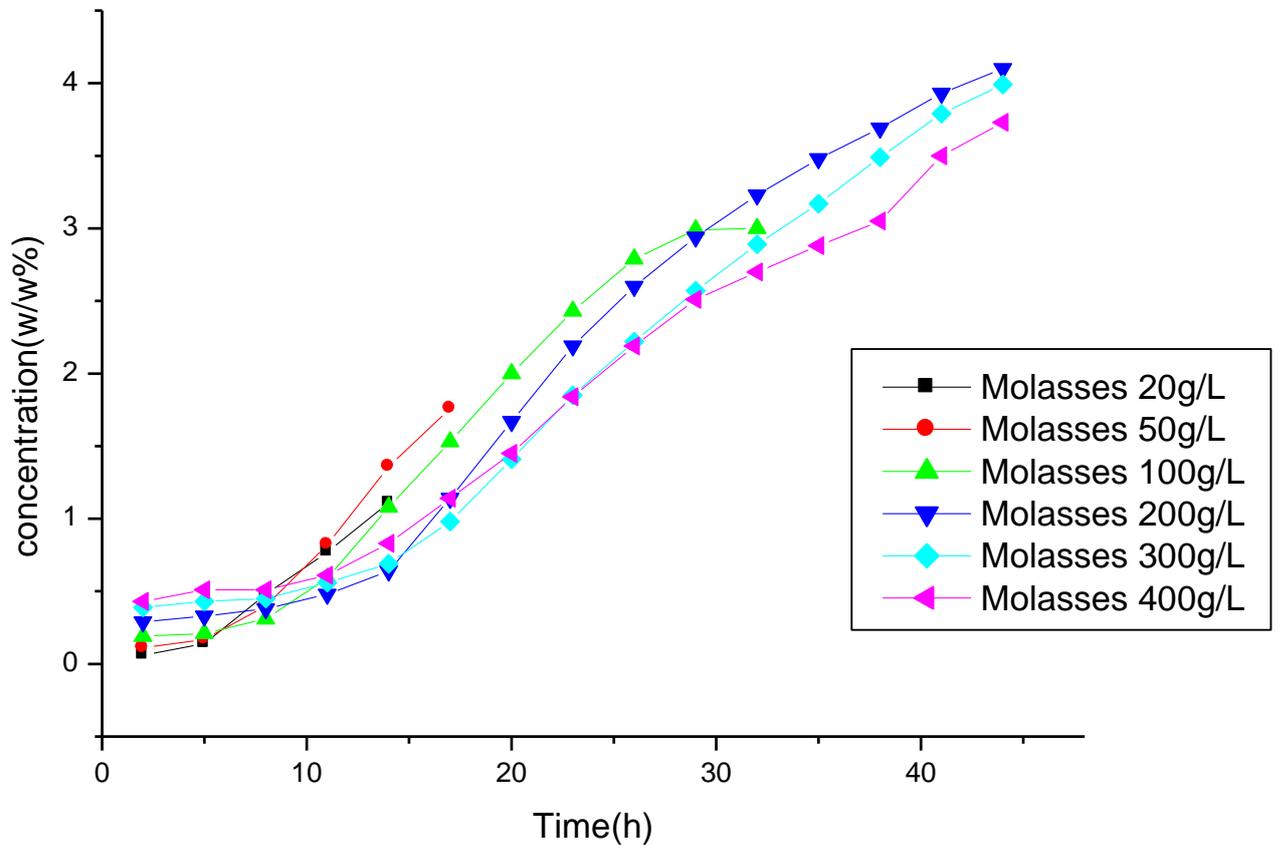


圖 4.4.6 發酵期間調控 pH 值乳酸濃度與時間之關係

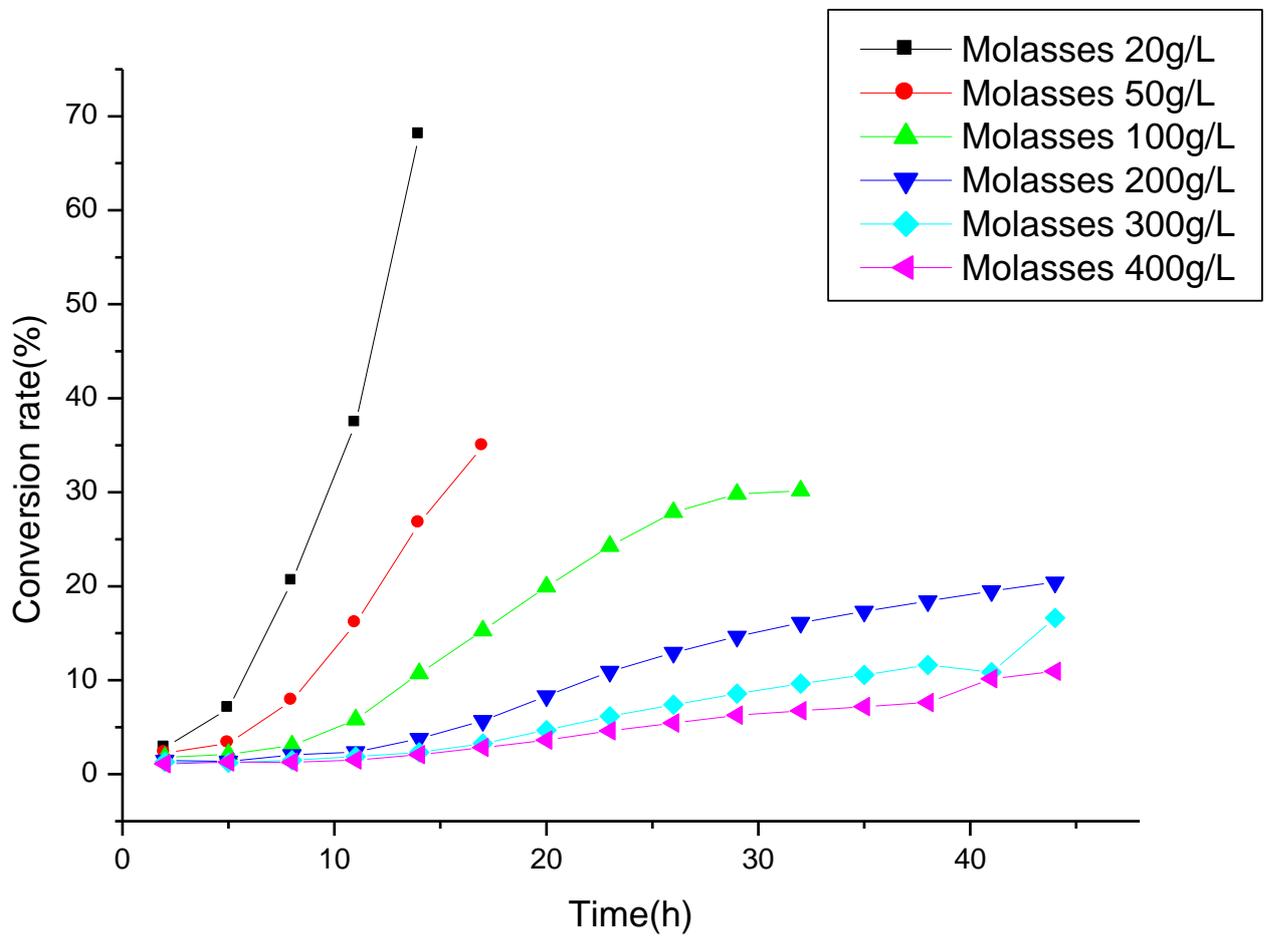


圖 4.4.7 發酵期間調控 pH 值乳酸轉化率與時間之關係

4.5 放大發酵

為探討放大培養情況，我們採用 5L 發酵槽發酵乳酸，和錐形瓶小量發酵比較，並且以 25°C 與 35°C 兩種溫度比較對乳酸發酵之差異。

日期&時間	NaOH 消耗量(mL)	累積總體積(mL)	累積 NaOH(mL)	H
11 月 27 日 11:30	0	3000	0	0
14:30	35	3035	35	3
17:30	20	3055	55	6
20:30	25	3080	80	9
23:30	38	3118	118	12
11 月 28 日 2:30	150	3268	268	15
5:30	142	3410	410	18
8:30	142	3552	552	21
11:30	78	3630	630	24
14:30	35	3665	665	27
17:30	30	3695	695	30
20:30	22	3717	717	33
23:30	21	3738	738	36
11 月 29 日 2:30	23	3761	761	39
5:30	22	3783	783	42
8:30	15	3798	798	45
11:30	15	3813	813	48
14:30	15	3828	828	51
17:30	20	3848	848	54
20:30	12	3860	860	57
23:30	15	3875	875	60
11 月 30 日 2:30	15	3890	890	63

5:30	13	3903	903	66
8:30	15	3918	918	69
11:30	10	3928	928	72

表 4.5.1 發酵溫度 25°C

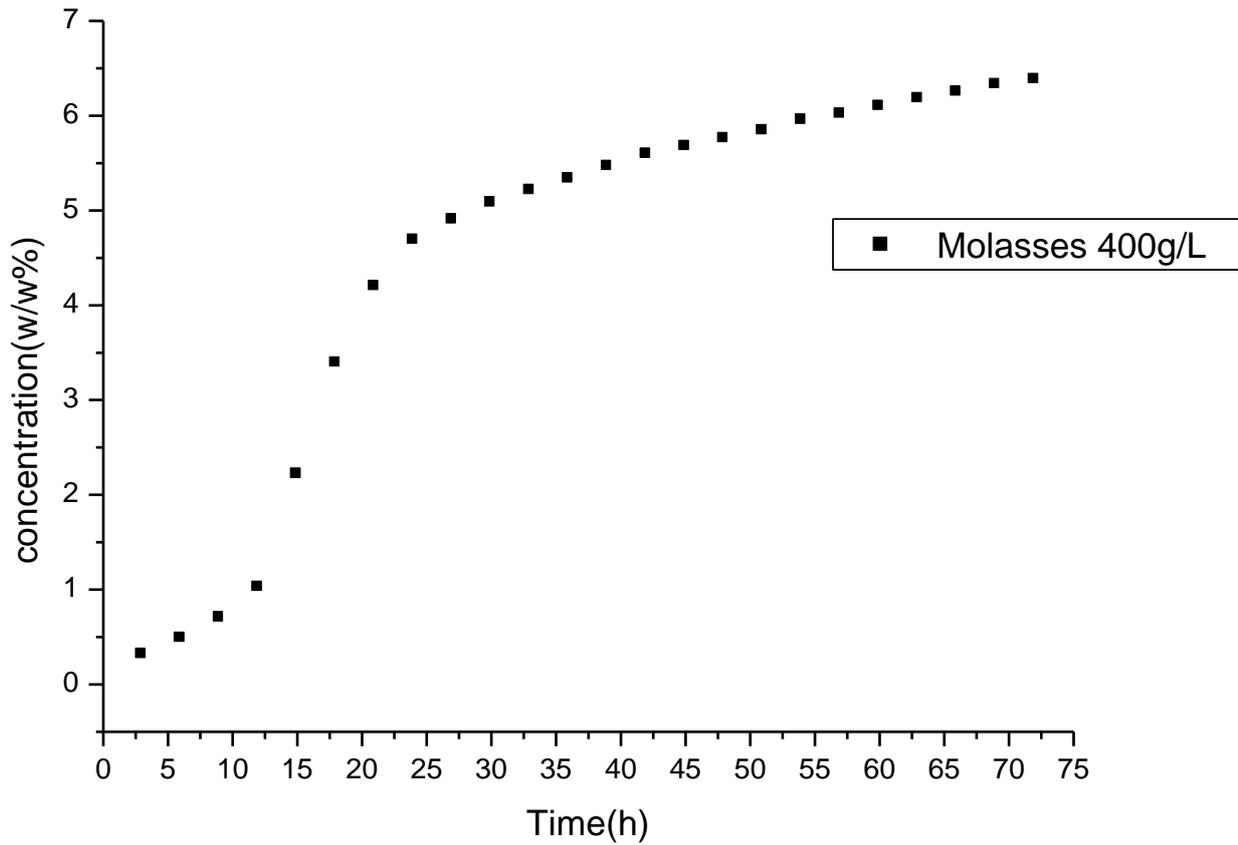


圖 4.5.1 大型發酵槽 Yeast Extract 糖蜜培養基乳酸濃度與時間圖(25°C)

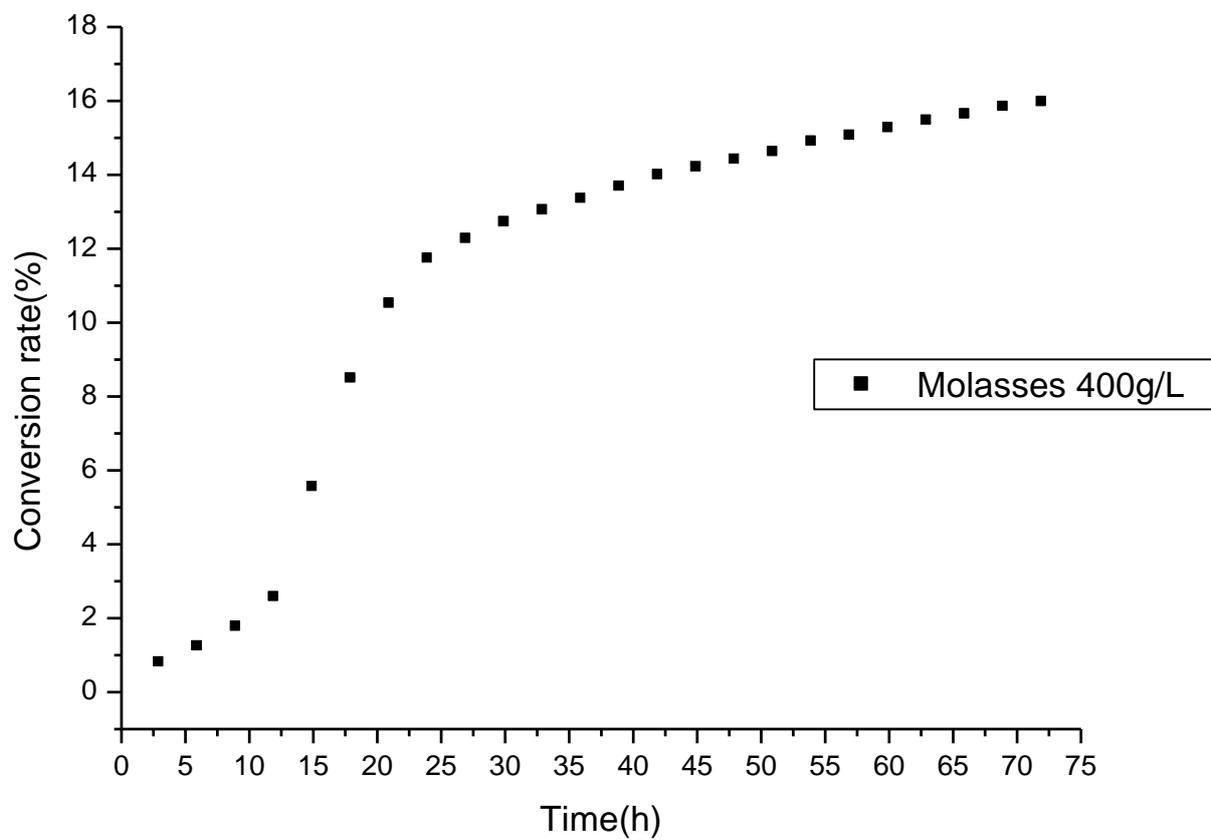


圖 4.5.2 大型發酵槽 Yeast Extract 糖蜜培養基乳酸轉化率與
時間圖(25°C)

日期&時間	NaOH 消耗量(mL)	累積總體積(mL)	累積 NaOH(mL)	H
12月6日 9:30	0	3000	0	0
12:30	68	3068	68	3
15:30	5	3073	73	6
18:30	22	3095	95	9
21:30	45	3140	140	12
12月7日 0:30	120	3260	260	15
3:30	120	3380	380	18
6:30	123	3503	503	21
9:30	64	3567	567	24
12:30	90	3657	657	27
15:30	80	3737	737	30
18:30	70	3807	807	33
21:30	60	3867	867	36
12月8日 0:30	60	3927	927	39
3:30	50	3977	977	42
6:30	43	4020	1020	45
9:30	35	4055	1055	48
12:30	31	4086	1086	51
15:30	6	4092	1092	54
18:30	6	4098	1098	57
21:30	6	4104	1104	60

表 4.5.2 發酵槽控制溫度 35^oC

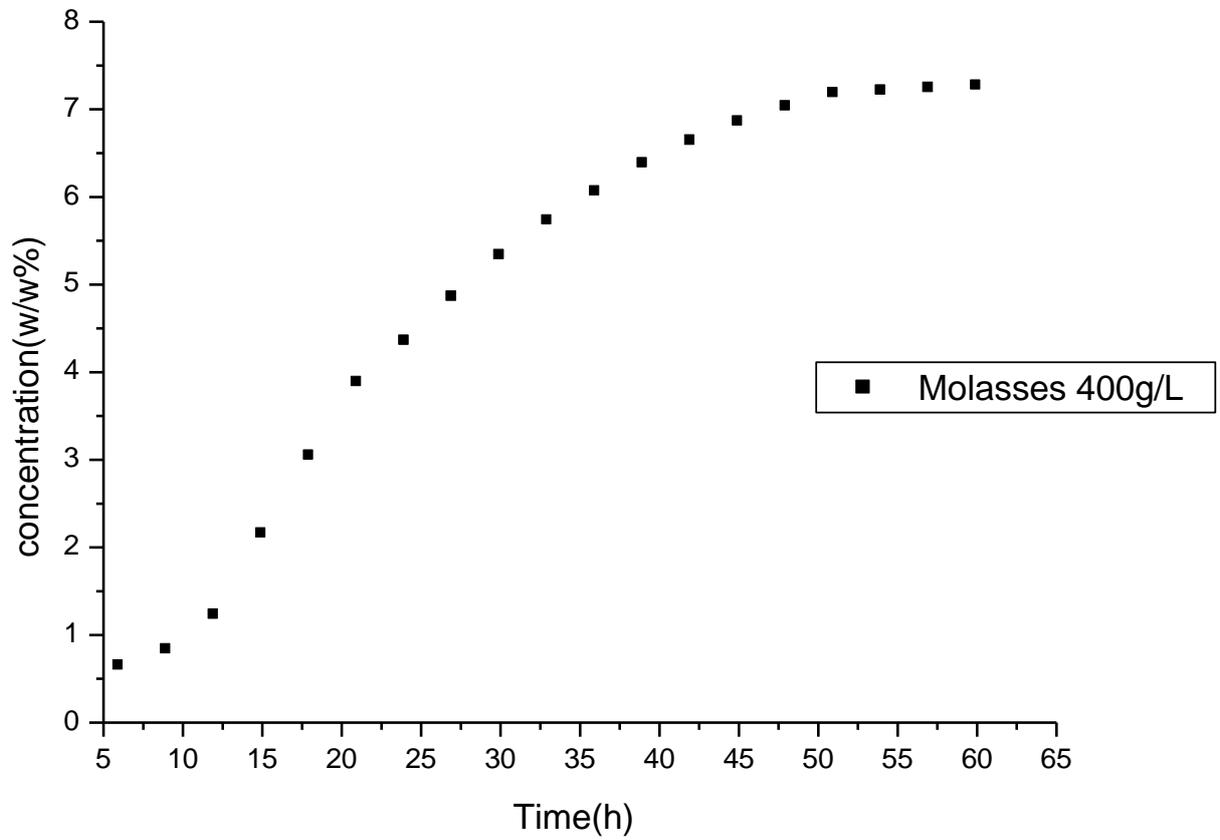


圖 4.5.3 大型發酵槽 Yeast Extract 糖蜜培養基乳酸濃度與
時間圖(35°C)

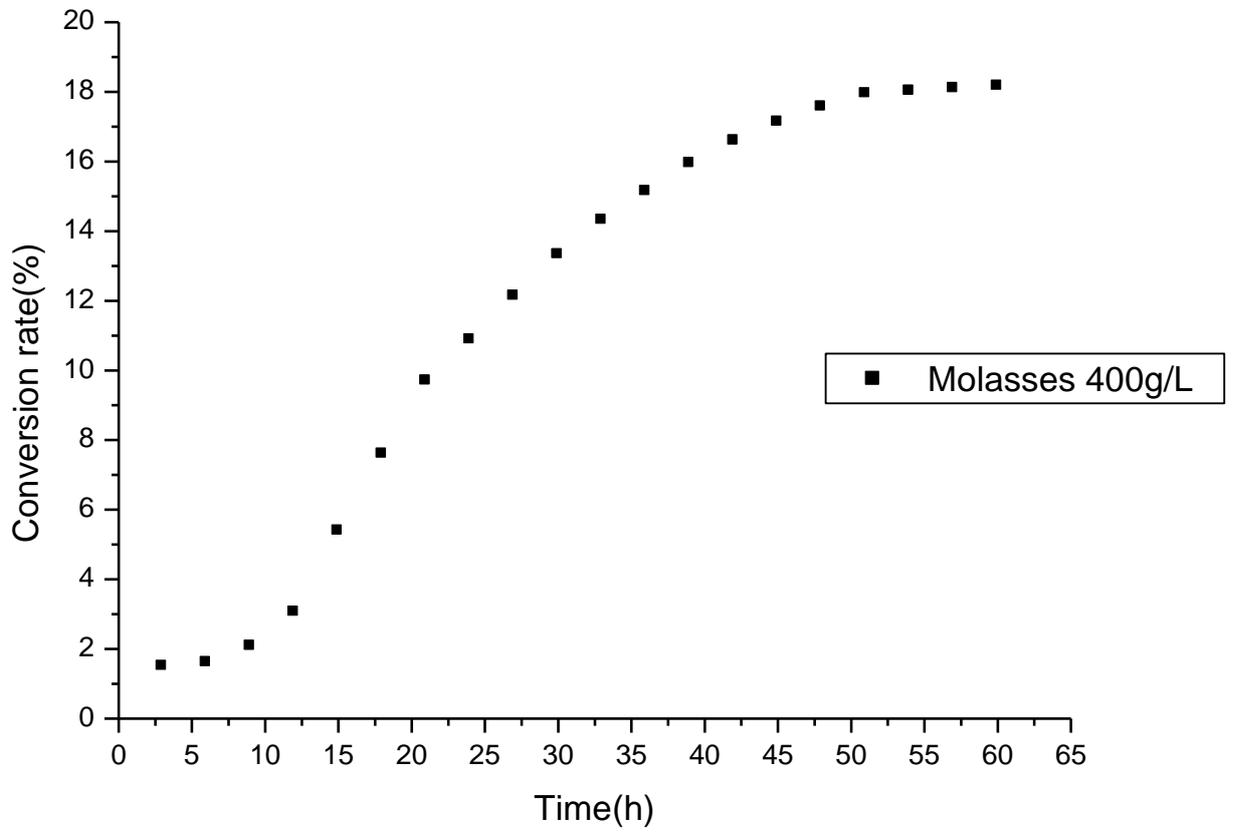


圖 4.5.4 大型發酵槽 Yeast Extract 糖蜜培養基乳酸轉化率與
時間圖(35°C)

第五章結論

本實驗採用批式方式針對 *Bifidobacterium longum* 由酵母萃取物與糖蜜提供氮源及碳源在發酵槽中進行發酵，觀察發酵期間菌體生長情形、乳酸產量、產率、糖蜜之消耗及轉化率等，進行最適條件之探討。

一、培養溫度在 31.5°C 時比增值速率較小，在 41.5 °C 時對數生長期過短，以 37 °C 時較好，比增值速率快約在 15 小時進入穩定期。

二、前培養培養基以糖蜜濃度 100g/L、酵母萃取物(試藥級)25g/L 最為理想。

三、在錐形瓶批式發酵中，培養基中葡萄糖濃度以 100g/L 時最佳。乳酸總量會隨著起始糖蜜量上升而增加，但受基質抑制效應之限制，當發酵環境中基質濃度過高時會降低乳酸產率及轉化率，其中以 100g/L 初始糖蜜量部分有較佳之產製效率；提升初始菌量可在較短的時間內達到相同的乳酸產量，有效將乳酸產率及轉化率提高。

四、pH 控制：1. 未控制 2. 每三小時恢復至 6 3. 連續控制在 6，以第 3 種最佳。

五、擴大培養溫度以 35°C 長得比較好，另外從氫氧化鈉消耗量裡也發現到乳酸在 12-21 小時裡長的最快最好，之後漸減，直至約 3

天時就停止成長了。

第六章參考文獻

1. NaraynanN, RoychoudhuryPK, Srivastava A. (2004)L(+)-Lactic acid fermentation and its product polymerization. *Elestr J Biotechnol* 7:167-179
2. 葉利雅：利用 *Lactobacillus casei* 在批式及饋料批式方法下產製乳酸並探討發酵期間成份之變化。國立中興大學食品暨應用生物科技學系(2009)。
3. 王吉彬等：乳酸菌專輯。食品工業發展研究所，10-12(2000)。