

增訂新編

食品加工用書

食品微生物學實習法

微生物的染色法・鏡檢法・培養法・分離法・檢查法

林耕丰 編著



復文書局

食品加工用書

食品微生物學實習法

林耕丰編著

復文書局

食品微生物學實驗操作法

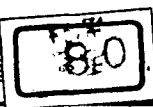
版權所有



翻印必究

中華民國六十七年七月增修訂初版

特價



著 作 者： 林 耕 年

發 行 者： 吳 主 和

發 行 所： 復 文 書 局

地址：臺南市東門路421巷28號

電 號：(062)370003 號

郵政劃撥帳戶 32104 號

No.28. LANE421 DONG-MEN
ROAD TAINA TAIWAN REPU-
BLIC OF CHINA
TEL: 370003

行政院新聞局登記證局版台業字第 0370 號

編輯大意

- (一)食品微生物學實習法是根據六十三年二月教育部修訂公佈之高農課程標準編訂的，適合於食品加工科二年級配合食品微生物學課本，為全學年教學之用。
- (二)本書內容豐富，有實習、有解說、有習題，圖片說明清楚，可供每週三小時實習之用，是參考中、英、日最新資料編撰而成。故亦為食品加工從業者之良好參考資料。
- (三)本書付印倉促，疏漏欠妥之處，在所難免，竭誠歡迎專家學者惠予指正是幸！

食品微生物學實習法

目次

第一章 微生物實習的根本認識

第一節 實驗室注意事項	339
第二節 實驗報告的寫法	340
第三節 實驗室各種設備之認識	340
§ 1. 實驗設備	340
§ 2. 實驗儀器	341
〔實習一〕 實驗的根本認識	345

第二章 觀察微生物的顯微鏡

第一節 顯微鏡的構造	346
第二節 顯微鏡的檢查檢術	350
§ 1. 明界顯微鏡檢術	351
§ 2. 暗界顯微鏡檢術	354
§ 3. 紫外線顯微鏡檢術	355
§ 4. 螢光顯微鏡檢術	356
§ 5. 位相差顯微鏡檢術	356
§ 6. 電子顯微鏡檢術	356
第三節 普通顯微鏡的附件	358
〔實習二〕 顯微鏡的使用操作	365
〔實習三〕 顯滴標本 (Hanging drop preparation) 之觀察法	371
〔實習四〕 油鏡頭檢查法	373

第三章 微生物的培養法 (殺菌法，培養基及培養法)

第一節 殺菌法	376
---------------	-----

2 微生物學實習法

§ 1. 濾過除菌法	376
§ 2. 加熱殺菌法	377
§ 3. 化學藥劑殺菌法	379
§ 4. 其他殺菌法	380
§ 5. 實驗室一般物件之殺菌法	381
〔實習五〕 各種殺菌儀器及藥品之認識及用法	383
〔實習六〕 酚之殺菌作用：	384
第二節 培養基	386
§ 1 培養基調製有關的一般事項	386
(1) 過濾	386
(2) 培養基中 PH 值之修正	386
(3) 分注	390
(4) 斜面及平面之處理	390
(5) 培養基之保存	390
§ 2. 各種培養基之調製法	390
(1) 天然培養基	390
(2) 合成培養基	392
(3) 固體培養基	394
§ 3. 數種自然培養基之營養成分	396
〔實習七〕 培養基之調製	397
〔實習八〕 殺菌法	398
第三節 微生物的培養法	399
§ 1. 純粹培養	399
(A) 純粹培養的種類	399
(B) 培養的孵育	400
(C) 純粹培養的操作法	400
(D) 實驗室中純粹培養之保存法	401
§ 2. 純粹培養性質之觀察	402
(A) 形態上的性質	403

(B)培養性質	403
§ 3. 分離培養法	405
(A)扁平培養法 (Plate cultures)	405
(B)斜面分離法 (streak slant method)	407
(C)生理分離法	408
§ 4. 嫌氣培養法	410
〔實習九〕 穿刺培養法及斜面培養法	412
〔實習十〕 液體培養法	413
〔實習十一〕 傾注扁平分離法	413
〔實習十二〕 劃線扁平分離法	413
〔實習十三〕 玻器清潔法	414
第四章 微生物之檢查法 (鏡檢法)	
(染色法及菌體大小, 數量測定)	
第一節 生物學染劑 (Biological stains)	416
§ 1. 染劑 (Dyes)	417
§ 2. 染劑之種類	418
§ 3. 酸性染劑及鹼性染劑	419
§ 4. 染色之原理	419
§ 5. 脫色液	420
第二節 微生物的染色檢查法	421
§ 1. 普通染色檢查法	422
〔實習十四〕 普通染色檢查法	424
§ 2. 識別染色	425
(1)革蘭氏染色法	425
(2)耐酸性染色法(3)姬姆薩氏染色法	427
(4)染色檢示細胞構造法(5)菌類生死識別法	427
§ 3. 負染色法 (negative staining)	428
〔實習十五〕 革蘭氏染色法	428
〔實習十六〕 耐酸性染色法	430

4. 微生物學實習法

〔實習十七〕 細菌之被膜染色法	431
〔實習十八〕 孢子染色法	432
〔實習十九〕 細菌的鞭毛染色法	432
〔實習二十〕 負染色法	433
〔實習二十一〕 菌類生死識別法	435
第三節 微生物的非染色檢查法	435
第四節 微生物的測定法	435
§ 1. 微生物的大小測定法	435
〔實習二十二〕 菌體大小之測量	436
§ 2. 微生物數量之測定	437
(A)非染色計算法	437
〔實習二十三〕 顯微鏡直接測菌數法	438
(B)染色計數法	440
(C)間接測定法(稀釋法)	440

第五章 微生物的生理實驗(發酵實驗)

(含酵母及微菌之培養觀察)

第一節 酵母	441
§ 1. 酵母的生理性質有關之實驗	441
§ 2. 酵母酒精發酵力之實驗	442
〔實習二十四〕 酵母之生理實驗	444
〔實習二十五〕 酵母的大量培養及檢查	444
〔實習二十六〕 酵母孢子之形成及檢查	446
第二節 微菌	447
§ 1. 微菌之分離培養及觀察	447
〔實習二十七〕 微菌之分離培養及觀察	449
〔實習二十八〕 微菌的液體培養	451
§ 2. 微菌的顯微鏡觀察	452
§ 3. 微菌有關的生理實驗	453
第三節 細菌的生理實驗	456

〔實習二十九〕	PH對細菌之影響	456
〔實習三十〕	緩衝作用	457
〔實習三十一〕	微生物的滲透壓反應	459
〔實習三十二〕	動物膠之液化(蛋白分解性)	461
〔實習三十三〕	細菌之其他生理實驗	461
第四節	發酵實驗	463
§ 1	醋酸發酵	463
§ 2	葡萄糖酸發酵	464
§ 3	檸檬酸發酵	467
第六章	微生物檢查法	471
第一節	水中微生物之檢查	471
§ 1	水中菌數的檢查法	471
§ 2	水中大腸菌型細菌之檢查法	473
第二節	穀類微生物檢查法	480
〔實習三十四〕	飼料中細菌檢驗法	481
第三節	牛乳中及乳製品中微生物之檢查	485
〔實習三十五〕	乳品細菌之檢驗	486
第四節	肉類及其製品微生物之檢查	498
第五節	海產魚類等微生物檢查	498
第六節	糖果、麵點微生物之檢查	498
第七節	罐製品微生物之檢查	498
第八節	其他食品的微生物學檢查法	499
〔實習三十六〕	葡萄球菌	499
〔實習三十七〕	鏈球菌	501
〔實習三十八〕	腸內細菌	502
〔實習三十九〕	梭形芽胞桿菌	504
附篇一	各科培養基之配製	507

(一)細菌培養基..... 501

(二)酵母及絲狀菌培養基的種類與製法..... 510

附篇二 澱粉液化的測定 514

(一)澱粉液化力的測定..... 515

附篇三 染色液之配製 517

乙篇 實習部份

第 1 章 微生物實習的根本認識

第一節 實驗室注意事項

在微生物實習中，因你與細菌為伍，常有致病之可能，故必需特別注意培養的控制，載玻片，等任何微生物所接觸之物件，以下是微生物實習應注意的事項：

1. 未進試驗室以前須了解實習內容。
2. 試驗內容由指導老師先以口試方式，使全班了解後，方開始實驗。
3. 實驗室內不得飲食，不得吸烟。
4. 試驗室桌面，顯微鏡以及各種用具應盡量保持清潔。
5. 紙張、鉛筆、手指以及其他物件不宜持近口邊。不要用口水貼標籤。
6. 藥品及貯藥瓶用畢即放回原處，取用藥品如超過需要量，則棄去剩餘之藥品，不可重行放回原瓶。
7. 培養基調製完畢，須將玻璃皿及用具洗滌清淨，桌面地面如為溢出液所污染時，必須洗滌之。
8. 一切固態損耗品如棉花、紙屑、試藥、石蜡、火柴等須納入設置之容器內，勿投入溝中。
9. 自來水，電用畢宜即關閉，酒精灯用畢即須熄滅。
10. 有雜菌混生之培養基切勿久置，有雜菌混生之材料，切勿攜入實驗室內。
11. 培養工作進行之前後，須以千倍昇汞水清拭桌面。
12. 培養皿在培養前須書寫目的，菌名，日期，組別及自己姓名，保持於孵育箱中。
13. 儀器用具在不熟悉其性能及用法前，切勿擅自取用，使用時應

特別注意，如有損毀照價賠償。

14. 離開實驗室前須將實驗用具及桌面一概清理完畢，始可準備離開。

15. 離開時，必須洗手消毒。實驗室物品不可攜出室外。

第二節 實驗報告的寫法

在實驗過程當中，必須準備一雜記簿，把實驗重點狀況及結果記錄下來。而後詳細地把全部經過或記錄連同繪圖，填寫於報告簿（紙）中。

填寫報告簿（紙）時，須注意下列項目：

- (1) 書明實驗名稱。
- (2) 書明實驗目的。
- (3) 記錄所得之結果。
- (4) 如屬可能則寫出結論。
- (5) 字句簡明，一目了然，繪圖須求整潔精確。
- (6) 按實習指導先生規定之時間交報告，過期不予補交，否則作缺席論。

第三節 實驗室各種設備之認識

§ 1. 實驗設備：

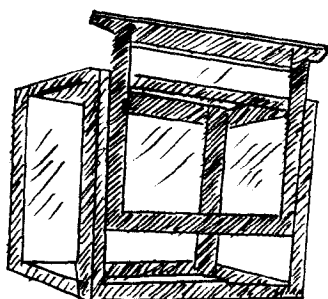
(1) 實驗室；應選擇塵埃較少之處，力求清潔，以免雜菌之侵入。光線溫和，向北為佳。不使用之培養物及各種裝置，應密閉放置小室中，使用時，才可取出。

(2) 實驗桌；桌高 90 cm，長 240 cm，寬 60 cm，桌面厚 3.5 cm，桌面水平，一般塗布苯胺黑（aniline black）而可抗強酸及強鹼。

(3) 無菌室；移植菌種，或行扁平等純粹培養之時，為避免空氣中雜菌之侵入而設置的，一般位於實驗室之一隅，設置一小室，廣 90×90，至 120×120 cm，高約 2—3 m，自離地面上 90 cm 之高

處起，俱裝以玻璃，直達室頂，室內置有小實驗桌及煤氣燈等設備，常使用噴霧法或殺菌燈以滅菌，周圍之玻窗常以昇汞水拭之。

(4)無菌箱；較小之實驗室，無法設備無菌室，則常以無菌箱代替之。此箱為漢松氏首創，稱之為漢松氏無菌箱(Hansen's sterile box)如圖(1-1)



圖(1-1) 漢松氏無菌箱

(5)培養室；室內設置一恒溫箱及培養櫥，有溫度之自動控制設備，可為純粹培養用。

(6)殺菌室；裝置各種滅菌器之室，有防火設備，通風良好。

(7)暗室：此暗室中放置紫外線發生器，偏光計，以及顯微鏡照像器材等。

§2. 實驗儀器：

(A)殺菌用之儀器：

(1)乾熱殺菌箱(hot air sterilizer) 如圖(1-9)

(2)蒸氣殺菌器(steam sterilizer) 如圖(1-2)

(3)高壓殺菌器(autoclave) 如圖(1-10)

(B)培養用之儀器

(1)培養箱 (incubator) ; 如圖 : (1—3) , 爲二重壁之四方形箱, 中貯以水或油等, 可使溫度固定, 有溫度調節器, 其熱之來源有電, 煤氣, 等各種形態, 一般以電爲主。

(2)乾燥箱 (oven) ; 有火力、蒸汽及電氣三種, 如圖 (1—4)

(3)乾燥器: 爲玻璃製者: 分上下二層, 下層裝有 CaCl_2 或 H_2SO_4 , 如圖 (1—5)

(4)冷藏箱; 可保存各種生活材料, 或行低溫實驗用之。

(C)檢查用之儀器:

有顯微鏡、測微器、加溫器、描畫器、照像器……等等將於第二章詳述之

(D)實驗用的其他儀器, 種類非常之多, 如各種試管、各種燒杯、酒精燈、過濾器、天平、離心機如圖(1—8)、坩堝、蒸餾瓶、冷凝管, 比重計, PH值測定器如圖(1—6)、發酵管如圖(1—7)、分液漏斗……等等。



4-454

圖 (1—2) Koch's 殺菌器

銅製直徑 30 cm, 高 70 cm, 電氣加熱式

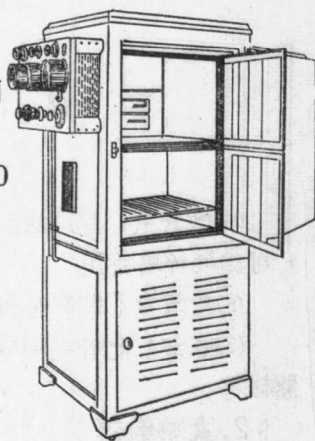


圖 (1—3) , 低溫培養箱。



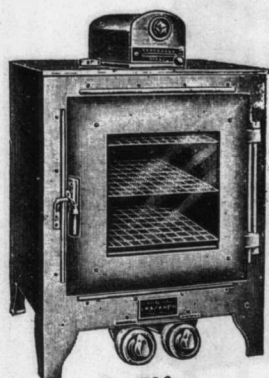
圖(1-6)

PH計：測定範圍1.0～
1.4.0 (電氣式) 附PH
電極及 KCl 飽和溶液。



2-510

圖(1-5)：乾燥器



2-520

圖(1-4A)：電氣定溫乾燥器(
electric drying
oven)

(內面大小30 × 30
× 30 cm)

自動溫度調節；交流
100 V最高溫度
150°C



2-530

圖(1-4B) 電氣真空定溫乾燥器(
electric vacuum drying
oven)

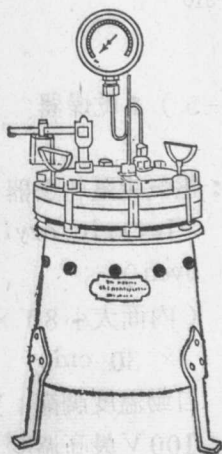
附自動溫度調節
最高溫150°C，內徑25 ×
40 cm



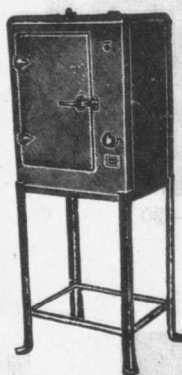
圖(1—7) 發酵管
(ferment tube)
玻製有刻度



圖(1—8) 為離心器之一種



圖(1—10) 高壓殺菌釜



4—458

圖(1—9) : 電氣乾熱滅菌器(electric hot air sterilizer)最高溫度 200°C , 交流 100v , 用內徑 $30 \times 30 \times 30\text{cm}$



- (1)寫出實驗室應注意事項。
- (2)實驗報告如何寫法？

實 習 1 實驗的根本認識

由老師帶領同學進入實驗室，講解實驗室各種注意事項，實驗報告書寫方法以及各種設備儀器的簡單說明。同學須劃下各種儀器之圖形及註明名稱用途。