

微生物

Microbiology Experiments

實驗

李丹昂 何若瑄 陳星光 劉建功 合著



微生物實驗

Microbiology Experiments

發行所/Publishing House：華格那企業有限公司/Wagner Co. Ltd

作者/Author：李丹昂/Lee, Tang-Ang、何若瑄/Ho, Ruo-Syuan、陳星光/Chen, Shin-Kuang、
劉建功/Liu, Jiang-Gong

董事長/President：南山先生/Mr. Nanshan

發行人兼社長/Publisher & Managing Director：蔡小萍/Tsai, Hsiao-Ping

推廣部經理/Marketing Manager：吳為鈺/Wu, Wei-Yuh

推廣部副理/Marketing Vice-Manager：蔡健發/Tsai, Chien-Fa

推廣部主任/Marketing Supervisor：周東賢/Chou, Don-Hsien、賴君維/Lai, Chun-Wei

總編輯/Editor-In-Chief：紀巧屏/Chi, Chiao-Ping

執行編輯/Executive Editor：李悅鳳/Li, Yue-Fong

企劃/Project Director：劉曉玲/Liu, Hsiao-Ling

電腦排版/Typesetting：潘育苹/Pan, Yu-Ping

封面設計/Cover Designer：侯愛慈/Hou, Ai-Tzu

電腦顧問/Computer Consultant：大葉大學資管系講師吳為聖/Wu, Wei-Shen

地址/Add：台中市南區 402 仁義街 21 號

/No.21, Renyi St., South District, Taichung City, 402, Taiwan (R.O.C.)

電話/Tel：886-4-2285-7299

傳真/Fax：886-4-2285-9783

網址/Website：<http://www.wagners.com.tw>

電子信箱/E-mail：wagners@ms28.hinet.net

郵政劃撥帳號/Account Number：22183873

戶名/Account Name：華格那企業有限公司

出版日期/Publishing Date：2008 年 6 月初版

定價/Price：NT120 元

登記字號/Registration Number：局版臺省業字第 928 號

出版序

微生物廣泛存在於日常生活環境中，不管是食、衣、住、行都可以發現它的蹤影。藉由本書各項實驗的設計，不只可了解微生物之相關操作方法及應用原理，更能作為日後其他各項技術的延伸基礎。

本書特別敦請李丹昂、何若瑄、陳星光、劉建功老師就其專業領域之精華，將微生物實驗藉由深入淺出的方式編纂成冊，以利學校教學及學生之學習，承蒙 諸位先進慨然應允，特於教學中，抽空執筆付梓，使本書得以順利出版，本公司特此謹致謝忱。

本書雖經審慎編撰，亦難免有疏漏之處，尚祈各先進與讀者不吝指正、賜教，以供再版更正，使本書更臻完美，嘉惠後輩。

華格那出版社 編輯部

李悅鳳 謹致

作者簡介

李丹昂

台灣大學動物科學技術學系研究所碩士

曾任味全食品工業股份有限公司中央研究所副研究員

現任稻江科技暨管理學院兼任講師

何若瑄

日本東京海洋大學（原名日本東京水產大學）食品生產學博士

曾任味全食品工業股份有限公司中央研究所研究員

現任稻江科技暨管理學院專任助理教授

陳星光

中山醫學院醫學分子毒理學研究所碩士

曾任台大醫院臨床試驗中心專任助理

現任實踐大學兼任講師

劉建功

台灣大學食品科技研究所碩士

曾任食品工業發展研究所副研究員

現任元培科技大學食品科學系專任講師

（作者依章節次序排列）

國家圖書館出版品預行編目資料

微生物實驗 / 李丹昂等合著. -- 臺中市：華
格那企業, 2008. 06
面；公分

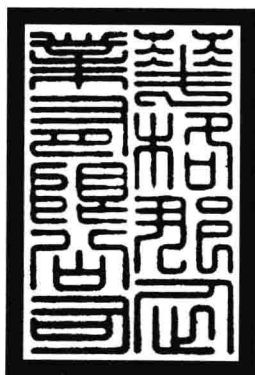
ISBN 978-986-6680-37-3(平裝)

1. 微生物學 2. 實驗

369.034

97010752

版權所有



翻印必究

目錄

實驗 一	微生物實驗安全須知與常見器材介紹… 李丹昂	1
實驗 二	光學顯微鏡的使用及微生物的觀察…… 李丹昂	11
實驗 三	簡單染色法與陰性染色法…………… 李丹昂	19
實驗 四	革蘭氏染色法…………… 李丹昂	25
實驗 五	菌體構形觀察：內孢子染色法與莢膜染色法 …………… 何若瑄	31
實驗 六	培養基配製與細菌接種…………… 何若瑄	39
實驗 七	菌種分離與純培養…………… 何若瑄	47
實驗 八	總生菌數測定 I：MPN 試驗法與過濾法 …………… 何若瑄	55
實驗 九	總生菌數測定 II：稀釋法…………… 何若瑄	65
實驗 十	微生物生長之影響因子…………… 陳星光	69
實驗十一	微生物之控制－物理滅菌法 I： 加熱處理、高壓蒸氣處理…………… 陳星光	75
實驗十二	微生物之控制－物理滅菌法 II： 過濾法處理…………… 陳星光	79
實驗十三	微生物之控制－化學滅菌法： 石碳酸與染劑處理…………… 陳星光	81
實驗十四	微生物細胞之生長與計數…………… 劉建功	85
實驗十五	微生物之相互作用－抗生素感受性試驗 …………… 劉建功	89
實驗十六	酵母與黴菌之計數技術…………… 劉建功	93
實驗十七	微生物生化特性鑑定：IMViC 試驗 … 劉建功	97
參考文獻	……………	101
彩圖花絮	……………	A-1

實驗一

微生物實驗安全須知與常見器材介紹

*General Rules and Regulations in Laboratory Safety
and Overview to Instruments*

李丹昂 編著



目的

認識實驗室安全須知及常見器材是做為微生物實驗的入門基礎，本章將介紹微生物實驗室安全須知及常見的實驗器具設備。



實驗室安全須知

實驗前

1. 進行微生物實驗時不可在實驗檯上放置任何非實驗必須的物品，個人用品應放於檯面下抽屜或置物櫃中。
2. 每次實驗課程開始及結束時，皆需進行實驗檯面的清理及殺菌（殺菌時可使用 75% 之酒精溶液）。
3. 實驗課程進行時，不可於實驗室內飲食或嘻鬧。
4. 研習實驗課程之同學須著整齊之實驗衣，且不可穿著拖鞋，若長髮者則須將長髮束起，並著乾淨之實驗衣以進行實驗的操作。

實驗中

1. 在處理微生物樣品時，切記不可以口直接接觸吸管吸取任何一種微生物樣品。如果微生物樣品不慎打翻，需先以 75% 酒精消毒後，依照一般微生物實驗室的廢棄物加以處理。另外，在室內搬移任何微生物樣品時都必須加蓋，以防汙染。
2. 在每項實驗課程開始前及結束後，每位實驗者之雙手都必須以肥皂或清潔劑清洗乾淨。
3. 機器運轉中如有不正常現象，應立即與任課老師或助教報告反映。
4. 若發現儀器故障者，應在該儀器上清楚標示，盡到告知義務，以免下一位使用者發生危險。

5. 使用任何藥品前需詳知其性質及使用方法，例如在配製或使用有毒物品時需配戴手套、護目鏡及口罩等防護裝備再進行操作；揮發性溶劑則需於通風櫃內使用，以免發生危險。
6. 揮發性溶劑如酒精、丙酮、苯醚等均具易燃特性，使用時應特別注意，切勿靠近火源。
7. 不得隨意將紙屑、玻璃碎片及實驗廢棄物等物品直接流入排水管，否則易造成環境汙染及管路阻塞。
8. 進行需加熱試管內物質之實驗時，為避免試管破裂或致使試管內之物質噴出，宜常旋轉及活動試管以避免長時間加熱同一位置，且勿將試管口對著自己或他人，以免試管內物質噴出濺及自身或其他人。
9. 進行微生物實驗時，不論是何種操作過程或樣品、廢棄物的處理，都應以無菌操作技術為最基本的工作原則。

實驗後

1. 實驗後請將實驗結果與問題討論詳細記錄並整理，於規定時間內交予任課老師或教學助教。
2. 實驗結束後，應確認所有儀器藥品確實歸位且電源關閉，並保持環境之清潔，離開實驗室時勿將私人物品留於實驗室中。
3. 實驗使用後之藥品皆需要依照化學廢棄物處理進行正確的分類倒入廢液桶中。
4. 實驗後所有接觸過之微生物樣品或器具（如菌液、微生物培養基、試管等）皆須經滅菌過程，才可丟棄或回收使用。
5. 微生物實驗室中之各種藥品、培養基及菌種皆須在實驗內進行操作，不可任意帶出實驗室外。

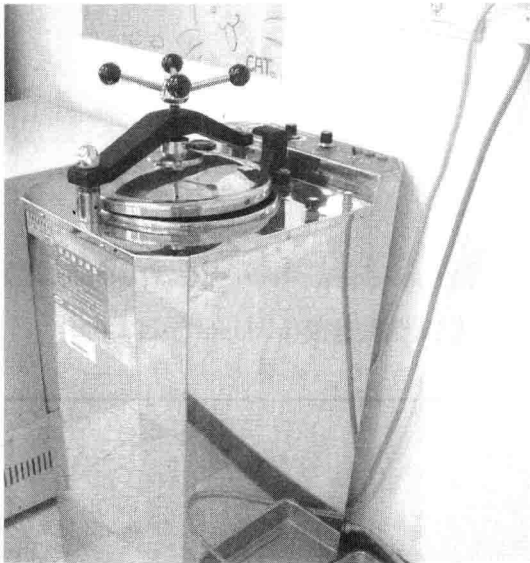
💡 微生物實驗室常見設備及器材介紹



藥品櫃(medical cabinet) (彩圖 1)



無菌操作台(laminar flow) (彩圖 2)



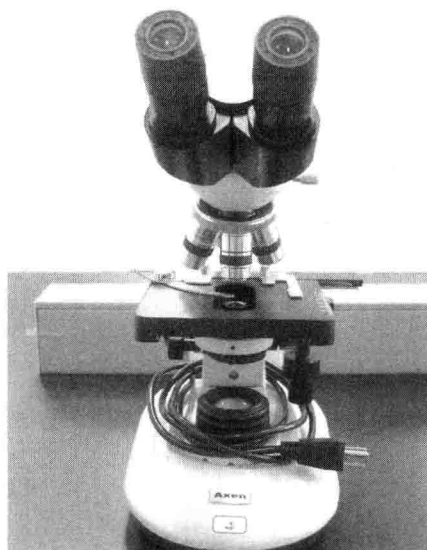
高壓高溫滅菌釜(autoclave) (彩圖 3)



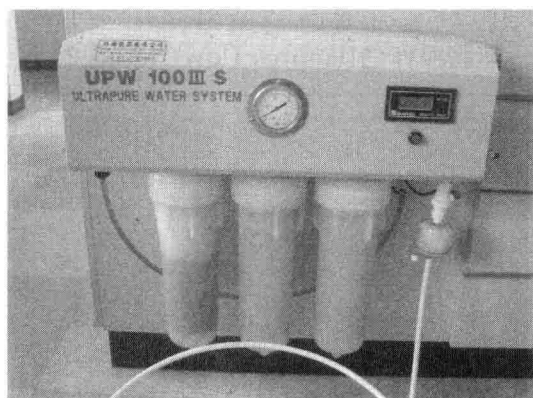
恆溫培養箱(incubator) (彩圖 4)



菌落計數器(colony counter) (彩圖 5)



光學顯微鏡(microscope) (彩圖 6)



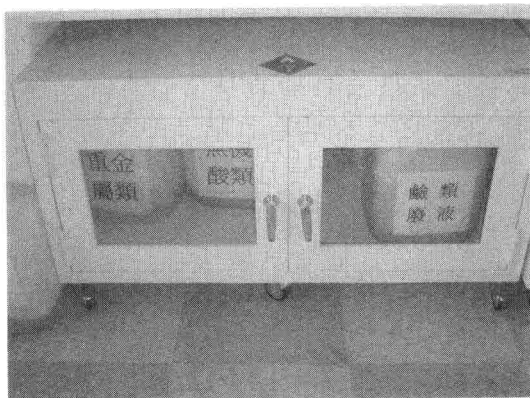
純水製造機(ultrapure water system)
(彩圖 7)



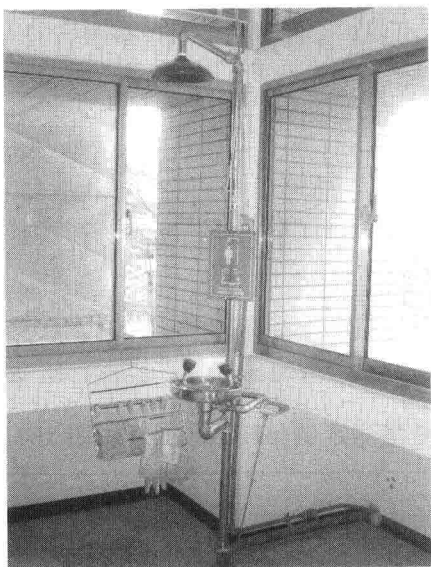
超音波震盪機(ultrasonic cleaner)
(彩圖 8)



抽氣櫃(hood) (彩圖 9)



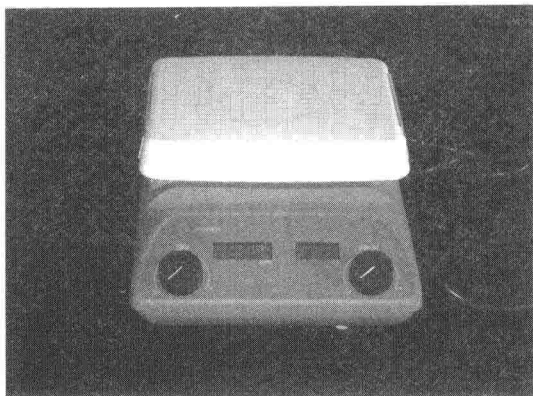
廢液儲存槽(waste solvent cabinet)
(彩圖 10)



緊急沖水設備(emergency safety wash station)
(彩圖 11)



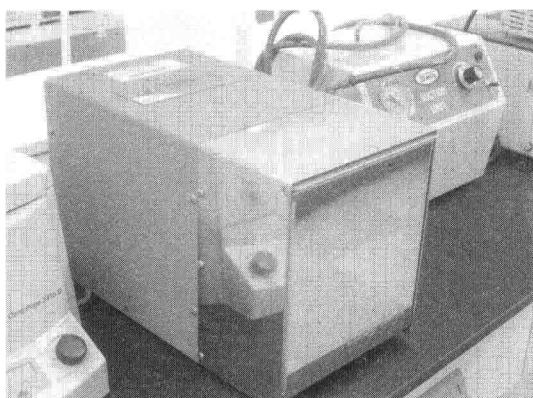
冷藏櫃(freezer) (彩圖 12)



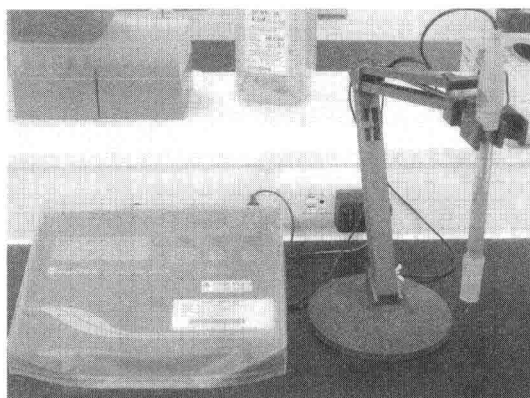
電磁加熱攪拌器(magnetic stirrer) (彩圖 13)



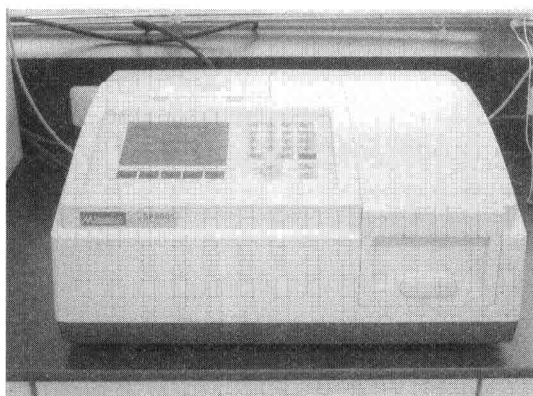
電子天平(electric balance) (彩圖 14)



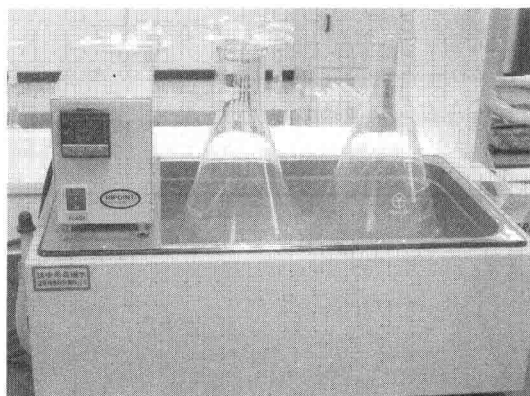
鐵胃(stomacher) (彩圖 15)



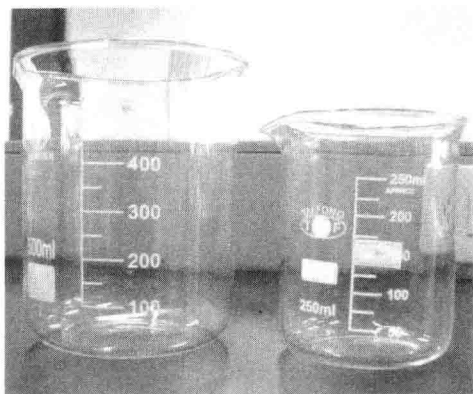
酸鹼測定儀(pH meter) (彩圖 16)



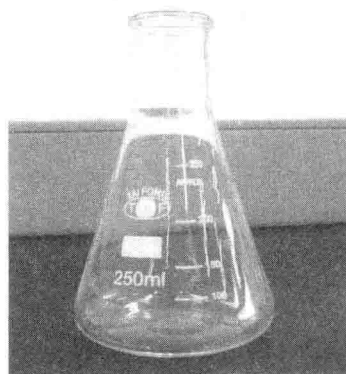
紫外光－可見光分光光度計(spectrophotometer)
(彩圖 17)



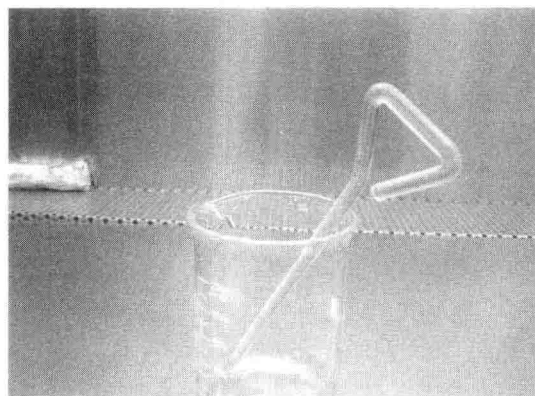
恆溫水浴槽(water bath) (彩圖 18)



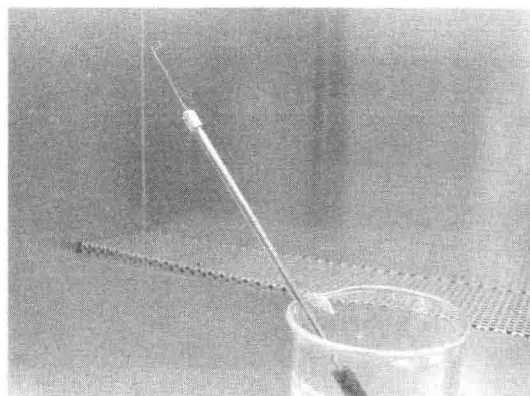
玻璃燒杯(glass beaker) (彩圖 19)



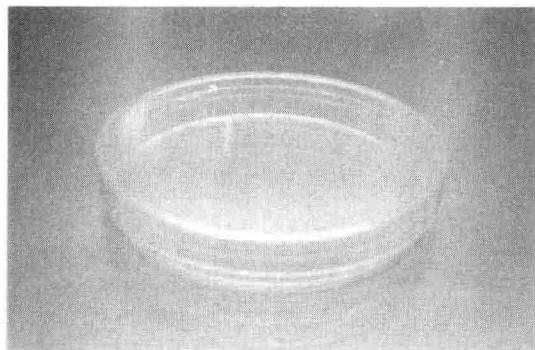
三角瓶(flask) (彩圖 20)



玻璃塗抹棒(bent glass rod) (彩圖 21)



接種環(incubation loop) (彩圖 22)



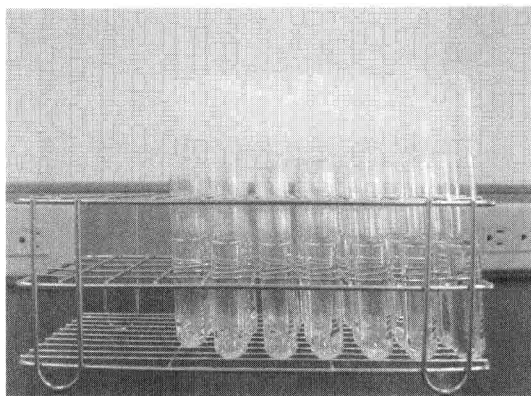
培養皿(dish) (彩圖 23)



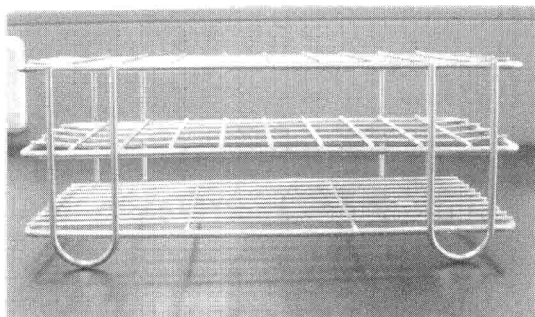
酒精燈(alcohol burner) (彩圖 24)



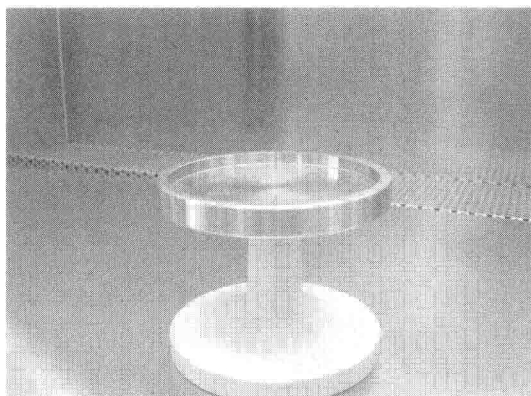
血清瓶(serum bottle) (彩圖 25)



玻璃試管(tube) (彩圖 26)



試管架(test tube rack) (彩圖 27)



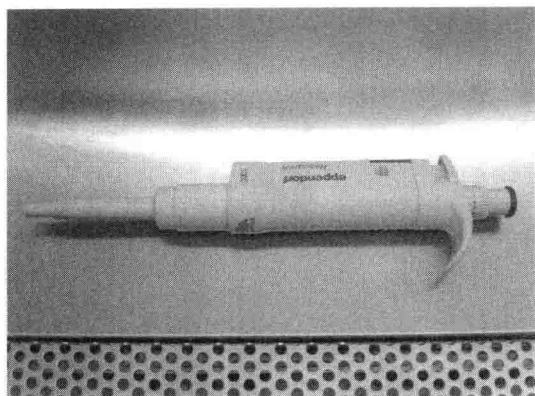
旋轉台(turn table) (彩圖 28)



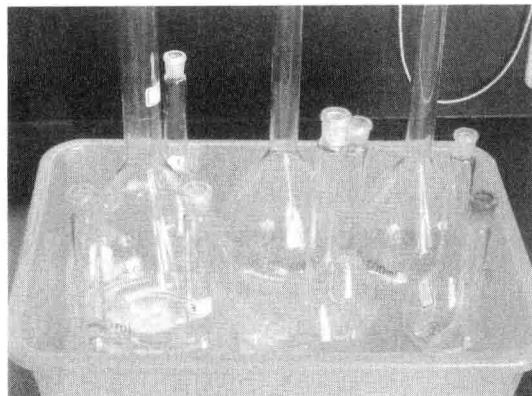
安全吸球(safety pipette filler) (彩圖 29)



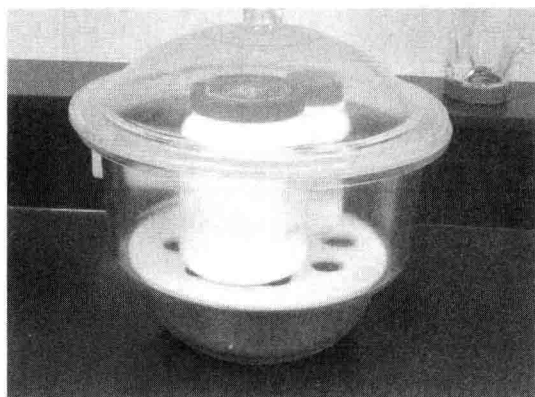
電動吸管(electric pipette) (彩圖 30)



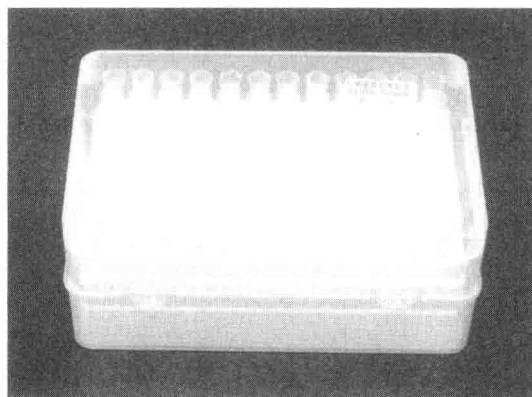
微量吸管(micropipette) (彩圖 31)



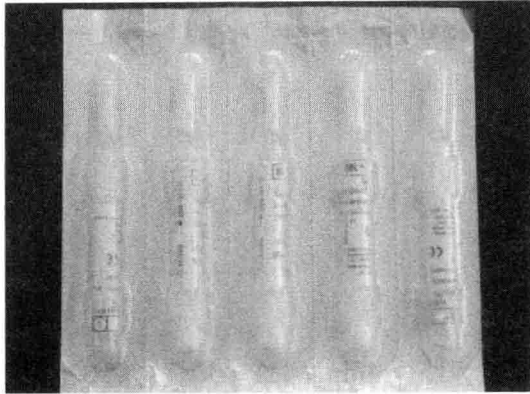
定量瓶(volumetric flask) (彩圖 32)



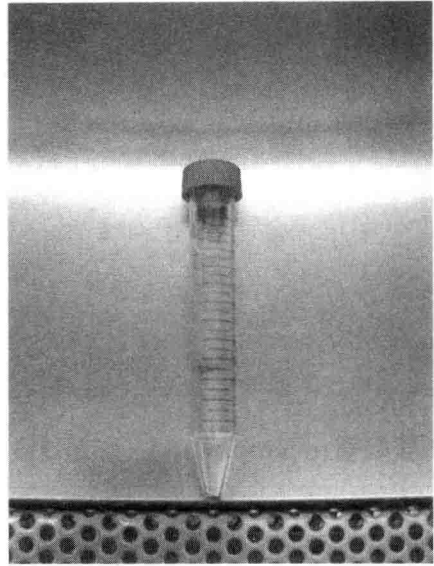
乾燥器(dryer) (彩圖 33)



塑膠吸管(plastic pipette) (彩圖 34)



抗生素試驗套組
(antimicrobial susceptibility test discs)
(彩圖 35)



離心管(centrifuge tube) (彩圖 36)



微生物培養基(agar and broth) (彩圖 37)

實驗二

光學顯微鏡的使用及微生物的觀察

Use of Light Microscopy and Observation Microorganism 李丹昂 編著

目的

藉由了解光學顯微鏡的構造及使用方法，同時並教導讀者能夠正確的使用顯微鏡來觀察微生物的外型及大小，以便後續微生物實驗的應用。

原理

光學顯微鏡主要是利用光學的原理將物品放大，使得物品得以讓人們可以透過肉眼觀察到。光學顯微鏡是由載物台、物鏡、目鏡、調節輪及照明設備等構成基本結構，利用目鏡及物鏡此兩種光學透鏡將微小物體放大到足以利用肉眼觀察的尺寸，再藉由調節輪系統調整載物台的上升或下降並搭配照明設備來使觀察的物體影像清晰的呈現於視野中，由於其構造簡單及使用便利，故常被用來當作微生物觀察之第一步驟。

材料與儀器

菌種

- 金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)
- 枯草芽孢桿菌(*Bacillus subtilis*)
- 青黴菌(*Penicillium notatum*)
- 啤酒酵母菌(*Sacchromyces cerevisiae*)

設備儀器及其他用具

- 光學顯微鏡
- 載玻片
- 蓋玻片
- 接種環