

部 定 大 學 用 書

農 業 微 生 物 實 驗 法

國 立 編 譯 館 部 定 大 學 用 書 編 審 委 員 會 主 編

魏 張 岳 曙 壽 明 著

國 立 編 譯 館 出 版
正 中 書 局 印 行

部 定 大 學 用 書

農 業 微 生 物 實 驗 法

國 立 編 譯 館 大 學 用 書 編 審 委 員 會 主 編

魏 岳 壽 著
張 曙 明

國 立 編 譯 館 出 版
正 中 書 局 印 行

農業微生物實驗法

魏岳壽・張曙明撰 民國60年(1971) 台北市

正中書局印行

8.303面 有圖 21公分

附錄：微生物檢索表

I.魏岳壽撰 II.張曙明

60—1336

368
8563

基NT\$ 平2.50
精3.60

國立中央圖書館

農業微生物實驗法

目 錄

| | |
|-------------------------------|----|
| 第一章 微生物實驗室之設備及規則 | 1 |
| 第一節 實驗室之設置..... | 1 |
| 第二節 器具及器械..... | 5 |
| 第三節 玻璃器具之洗滌及殺菌..... | 18 |
| 第四節 實驗上注意..... | 19 |
| 第二章 顯微鏡之使用法 | 20 |
| 第一節 顯微鏡之使用法..... | 20 |
| 第二節 顯微鏡下觀察稻草汁..... | 21 |
| 第三節 微生物之繪圖法..... | 22 |
| 第四節 顯微鏡照相法..... | 23 |
| 第五節 位相顯微鏡操作法..... | 24 |
| 第六節 暗視野鏡檢法..... | 26 |
| 第七節 電子顯微鏡觀察法..... | 27 |
| 第八節 微生物之大小測定法..... | 30 |
| 第三章 標本製法及染色法 | 33 |
| 第一節 標本製法..... | 33 |
| 第二節 微生物之普通染色法..... | 34 |
| 第三節 革蘭氏染色法..... | 39 |
| 第四節 抗酸性細菌染色法..... | 41 |
| 第五節 內生孢子染色法..... | 45 |

| | | |
|------------|---------------|-----------|
| 第六節 | 包囊染色法 | 44 |
| 第七節 | 鞭毛染色法 | 45 |
| 第八節 | 細胞核染色法 | 49 |
| 第九節 | 細胞中貯藏物質之染色法 | 50 |
| 第十節 | 生體染色法 | 50 |
| 第四章 | 微生物之形態 | 52 |
| 第一節 | 細菌之染色法 | 52 |
| 第二節 | 細菌之運動 | 52 |
| 第三節 | 酵母菌之形態 | 53 |
| 第四節 | 酵母菌之內生孢子 | 53 |
| 第五節 | 黴菌之形態 | 54 |
| 第五章 | 培養基之調製 | 56 |
| 第一節 | 培養基之種類 | 56 |
| 第二節 | 培養基調製法 | 57 |
| 第三節 | 培養基之反應測定法 | 58 |
| 第四節 | 細菌培養用之普通培養基 | 60 |
| 第五節 | 細菌及絲狀菌之培養基 | 65 |
| 第六節 | 絲狀菌之培養基 | 68 |
| 第七節 | 酵母菌之培養基 | 74 |
| 第八節 | 特殊培養基 | 76 |
| 第九節 | 緩衝液 | 79 |
| 第六章 | 滅菌法 | 91 |

| | | |
|------------|-----------------|------------|
| 第一節 | 加熱滅菌法 | 91 |
| 第二節 | 化學藥品滅菌法 | 93 |
| 第三節 | 濾過法 | 93 |
| 第四節 | 光線滅菌法 | 97 |
| 第七章 | 微生物培養法 | 98 |
| 第一節 | 培養器 | 98 |
| 第二節 | 純粹培養法 | 100 |
| 第三節 | 普通培養法 | 107 |
| 第四節 | 生理的分離培養法 | 111 |
| 第五節 | 嫌氣性細菌培養法 | 112 |
| 第六節 | 菌種之保存 | 116 |
| 第七節 | 菌種之鑑定 | 119 |
| 第八章 | 微生物數量測定法 | 130 |
| 第一節 | 直接計算法 | 131 |
| 第二節 | 培養法 | 137 |
| 第三節 | 容量或重量分析法 | 141 |
| 第九章 | 微生物之生長因素 | 143 |
| 第一節 | 溫度之影響 | 143 |
| 第二節 | 死滅點之測定 | 143 |
| 第三節 | 紫外線之影響 | 144 |
| 第四節 | 滲透壓之影響 | 144 |

| | | |
|-------------|---------------------------|------------|
| 第五節 | 乾燥之影響 | 145 |
| 第六節 | 氫離子濃度之影響 | 146 |
| 第七節 | 表面張力之影響 | 147 |
| 第八節 | 重金屬之作用 | 147 |
| 第十章 | 微生物各種生理性質之試驗法 | 151 |
| 第一節 | 亞甲藍之還原作用 | 151 |
| 第二節 | 硝酸鹽之還原作用 | 152 |
| 第三節 | 色素之產生 | 153 |
| 第四節 | 吲哚之產生 | 154 |
| 第五節 | 硫化氫之生成 | 155 |
| 第六節 | 氧之需求量 | 156 |
| 第七節 | 氨之產生 | 157 |
| 第八節 | 醣類及多醇類之發酵 | 158 |
| 第十一章 | 微生物酵素之測定 | 160 |
| 第一節 | 澱粉之水解 | 160 |
| 第二節 | 精膠之液化 | 160 |
| 第三節 | 乾酪素之水解 | 161 |
| 第四節 | 油脂之水解 | 161 |
| 第五節 | 油脂分解酵素(Lipase) 活性之測定 | 162 |
| 第六節 | 凝乳蛋白酶(Chymotrypsin) 活性測定法 | 164 |
| 第七節 | 胰蛋白酶(Trypsin) 活性之測定 | 167 |
| 第八節 | 胃蛋白酶(Pepsin) 活性之測定 | 168 |

| | | |
|-------------|-------------------------------------------------|------------|
| 第九節 | 雙胜酶 (dipeptidase) 活性之測定..... | 169 |
| 第十節 | 羧基胜酶 (carboxypeptidase) 活性之測定..... | 170 |
| 第十一節 | 白胺酸胺基胜酶 (leucine aminopeptidase) 活性 之測定..... | 172 |
| 第十二節 | 纖維素分解酵素 (cellulase) 活性之測定..... | 174 |
| 第十三節 | 磷酸脂分解酵素 (phosphatase) 活性之測定..... | 176 |
| 第十四節 | 凝乳酵素 (rennin) 之檢出法..... | 178 |
| 第十五節 | 接觸酵素 (catalase) 之檢出法..... | 178 |
| 第十六節 | 糖類醱酵作用..... | 179 |
| 第十二章 | 防腐滅菌作用及防腐滅菌劑 | 180 |
| 第一節 | 結晶紫 (crystal violet) 之抑制作用..... | 180 |
| 第二節 | 酚係數..... | 181 |
| 第十三章 | 空氣及水中微生物檢查法 | 184 |
| 第一節 | 空氣中微生物檢查法..... | 184 |
| 第二節 | 水中微生物檢查法..... | 184 |
| 第三節 | 穀類及塵埃中微生物檢查法..... | 187 |
| 第四節 | 大腸菌型細菌之檢出法..... | 187 |
| 第五節 | 大腸菌型細菌之確定試驗(1)..... | 189 |
| 第六節 | 大腸菌型細菌之確定試驗(2)..... | 190 |
| 第七節 | 完全試驗法..... | 191 |
| 第八節 | 服潑二氏反應..... | 191 |
| 第九節 | 甲基紅試驗..... | 192 |

| | | |
|-------------|-----------------------------------------------------|------------|
| 第十節 | 尿酸試驗 | 193 |
| 第十一節 | 檸檬酸鈉試驗 | 194 |
| 第十四章 | 土壤微生物實驗法 | 195 |
| 第一節 | 試料土壤採集法 | 195 |
| 第二節 | 土壤微生物數測定法 | 195 |
| 第三節 | 氨生成作用檢定法 | 197 |
| 第四節 | 亞硝酸生成作用檢出法 | 198 |
| 第五節 | 硝酸生成作用檢出法 | 199 |
| 第六節 | 硫代硫酸鈉氧化作用檢出法 | 200 |
| 第七節 | 纖維素分解作用檢出法 | 201 |
| 第八節 | 氮固定作用檢定法 | 202 |
| 第十五章 | 牛乳及乳製品之微生物 | 204 |
| 第一節 | 牛乳中微生物數量之測定 | 204 |
| 第二節 | 貯存溫度對牛乳品質之影響 | 205 |
| 第三節 | 牛乳之低熱滅菌 | 206 |
| 第四節 | 牛乳之產酸作用 | 207 |
| 第五節 | 牛乳中產氣莢膜桿菌 (<i>Clostridium perfringens</i>) 之檢出 | 208 |
| 第六節 | 冰淇淋中微生物觀察 | 210 |
| 第十六章 | 微生物代謝產物之檢定 | 211 |
| 第一節 | 醱酵液之澄清 | 211 |

| | | |
|-------------|----------------------|------------|
| 第二節 | 揮發性酸類之蒸餾 | 212 |
| 第三節 | 乙醚浸提法 | 214 |
| 第四節 | 用色層分析法測定醱酵液中之酸類 | 216 |
| 第五節 | 用色層分析法測定揮發性酸類 | 220 |
| 第六節 | 用色層分析法測定醇類 | 221 |
| 第七節 | 用比色法測定糖總量 | 224 |
| 第八節 | 還原糖之比色測定法 | 224 |
| 第九節 | 還原糖之容量滴定法 | 226 |
| 第十節 | 甘油之比色測定法 | 227 |
| 第十一節 | 琥珀酸之測定法 | 229 |
| 第十二節 | 乳酸之容量測定法 | 231 |
| 第十三節 | 乳酸之比色測定法 | 233 |
| 第十四節 | 有機物之比色測定法 | 234 |
| 第十五節 | 用重鉻酸鹽測定乙醇 | 235 |
| 第十六節 | 醱酵液中總碳量之測定法 | 236 |
| 第十七節 | 醱酵液中二氧化碳含量之測定 | 240 |
| 第十八節 | 用微量擴散法測定乙醇之含量 | 241 |
| 第十九節 | 乙醛之測定 | 243 |
| 第十七章 | 用微生物測定維生素及胺基酸 | 245 |
| 第一節 | 使用菌株 | 245 |
| 第二節 | 保存菌株常用之培養基 | 248 |
| 第三節 | 各種維生素之分析培養基及其測定法 | 249 |
| 第四節 | 各種胺基酸之分析培養基及其測定法 | 259 |

| | |
|--------------------------|-----|
| 第十八章 微生物之分離及培養舉例..... | 266 |
| 附錄：微生物檢索表(酵母菌及長桿菌) | 281 |

第一章 微生物實驗室之設備及規則

第一節 實驗室之設置

關於微生物實驗室之設置，須注意光線平均及避免雜菌之侵入，實驗室之窗戶以向北爲佳，全室之色調，以淡綠色爲主，爲避免雜菌之侵入起見，務使室內空氣少有流動並時常拭去塵埃。於必要時，應另建無菌室，以供應用。

1. 實驗臺

實驗臺可置於實驗室之中央或置於窗邊靠壁處，臺面須使之水平，且能抵抗強酸或強鹼之腐蝕，可鋪磁磚或不銹鋼板，亦可塗苯胺黑(aniline black)於木質臺面，其法如下：

A. 華爾曼氏 (Wortman) 法：

| | | |
|------|------|------|
| 第一液： | 磷酸銅 | 100克 |
| | 氫液鉀 | 50克 |
| | 水 | 615克 |
| 第二液： | 鹽酸苯胺 | 100克 |
| | 氯化鋁 | 40克 |
| | 水 | 615克 |

先塗第一液於臺面，放置一夜，次日再塗第二液，待臺面乾燥後，復以第一液與第二液反覆塗於臺面上，如此須施行三至五回始可。

B. 格羅格氏 (Klöcker) 法：

| | | |
|-----|-----|-----|
| 第一液 | 氯化銅 | 86克 |
| | 氫酸鉀 | 67克 |

| | | |
|-----|------|-------|
| | 氯化鋁 | 33克 |
| | 水 | 1000克 |
| 第二液 | 鹽酸苯胺 | 600克 |
| | 水 | 4000克 |

取一份容量之第一液，混以四份容量之第二液，混合均勻後，塗於臺面上，待乾燥後再塗，如此反覆三至五回，其後再用溫水洗之，乾燥後，再塗以煮沸之胡麻油，放置少時，乃用砂紙擦之，再用肥皂水充分洗滌之。

2. 無菌室

在微生物移植或平面培養時，為避免空氣中雜菌之侵入起見，可於實驗室之一隅設置一小室，於此室內行實驗，則較為便利。室內可裝實驗臺，及通風設備，並設雙重門。室內常用噴霧器噴水，使微生物帶塵埃而落下，室內更可裝有殺菌燈，於使用前開此燈以紫外線照射。

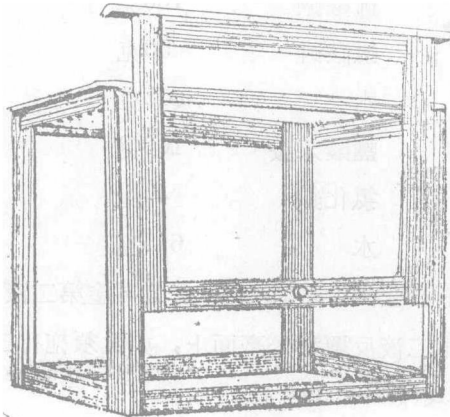


圖 1 漢遜氏無菌箱

如實驗室無設置此項無菌室之餘地，可於實驗臺上置漢遜氏無菌箱

(Hansen's sterilized box)。如圖1，寬約63cm，深50cm，高56cm，於使用前先用噴霧器噴入70%酒精，關閉約半小時後，才可使用。

3. 培養基室

此為配培養基及放置滅菌器具之室，須通風良好，並須裝有滅火機，以防火災。

4. 常溫箱室

此為放置常溫箱之室，須擇溫度變化甚少者，以向北為佳。

5. 暗室

此室中裝有顯微鏡照相機，如圖2，照相顯影沖洗等設備，暗視野裝置，偏光計，如圖3，及紫外光線發生器，如圖4等裝置。

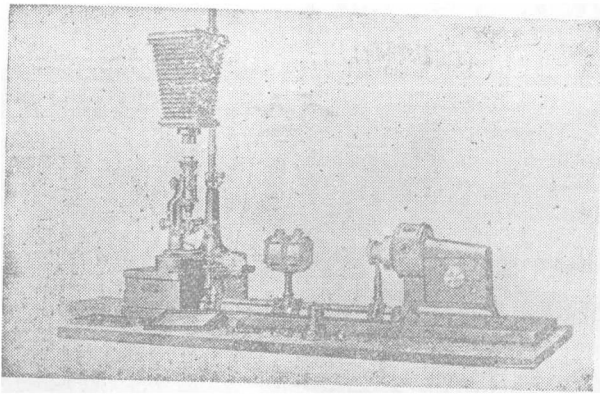
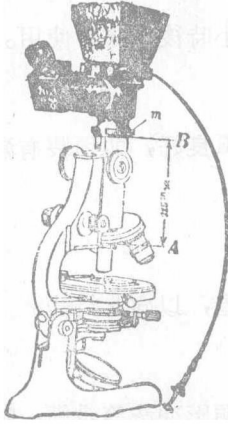


圖2 顯微鏡照相之裝置



顯微鏡照相之裝置

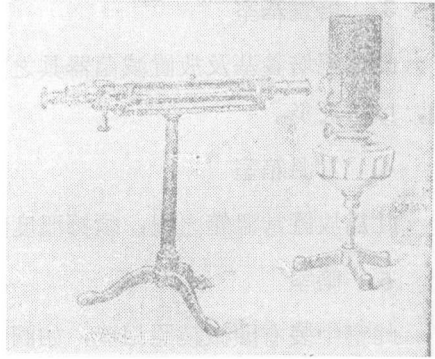


圖 3 偏光器

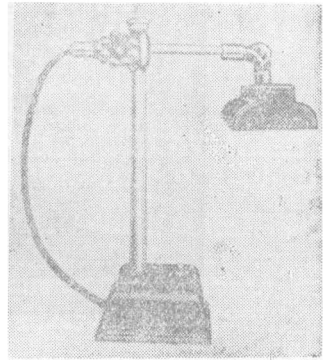
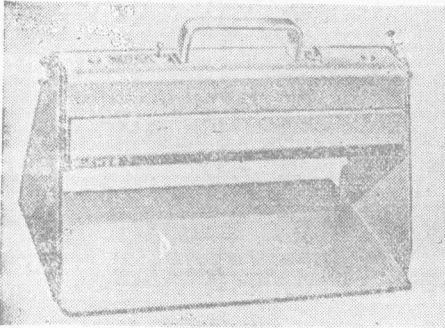


圖 4 紫外線發生裝置

第二節 器具及器械

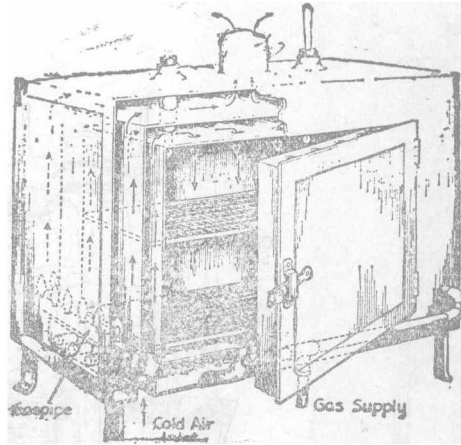


圖 5 乾熱滅菌器

1. 乾熱滅菌器 (hot air sterilizer)

此為鐵板製之四方形箱，外面有石綿板或塗著化學保溫漆，上面有熱氣出口及溫度計插入口，箱之下層為加熱器由許多電爐絲組成，箱內用有孔的不銹鋼板分隔成二或三層。三角瓶，培養皿，試管，濾紙等，均可滅菌。乾熱滅菌在 160°C ，需時15分鐘。

2. 蒸氣滅菌器 (steam sterilizer)

普通應用哥霍氏 (Koch) 蒸氣滅菌器，如圖 6，為一圓筒形之銅鍋，下面裝水，用煤氣在下面加熱，或用電熱，上頂為圓錐形蓋，並插有溫度計，利用水之沸騰所生的蒸汽殺菌，在 100°C 需時 40 分鐘。

此外尚有亞諾爾氏 (Arnold) 蒸氣滅菌器，如圖所示。

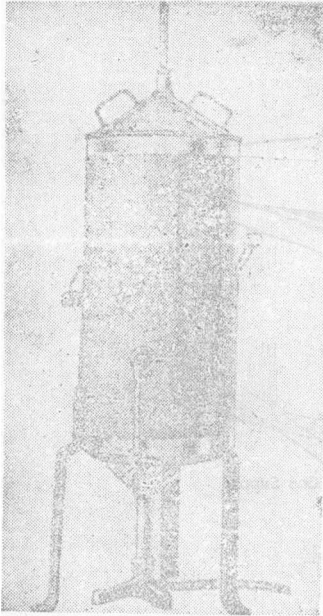


圖 6 哥霍氏蒸氣滅菌器

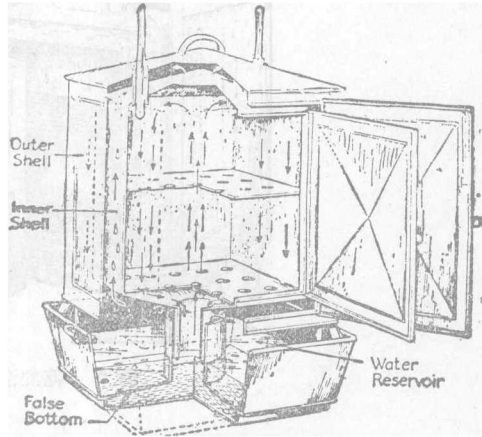


圖 7 亞諾爾氏蒸氣滅菌器

3. 加壓殺菌釜 (autoclave)

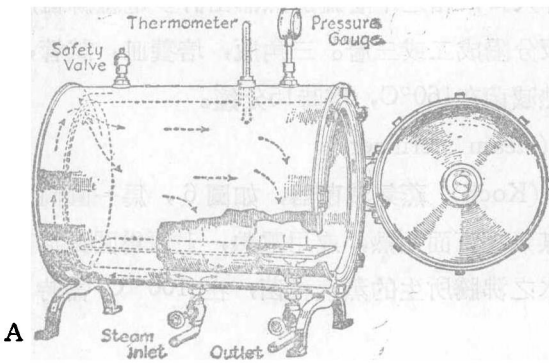


圖 8 加壓殺菌釜