

國立苗栗農工114學年度 第二學期 課程學習成果

食品微生物實習——劃線平板法

就讀學校:苗栗農工

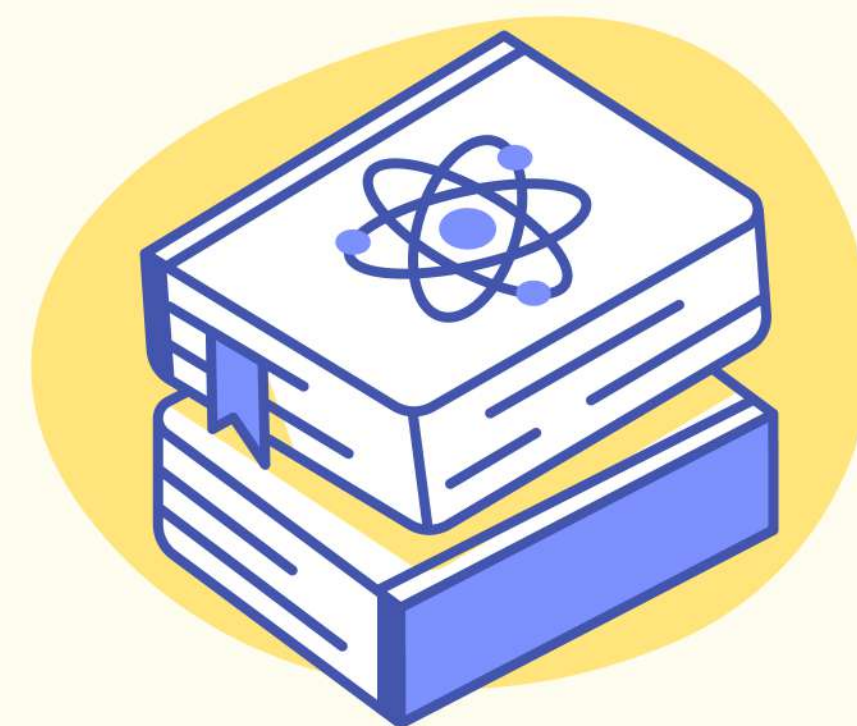
指導老師:鍾茗慧 老師

簡報製作者:食品加工科 二年級 孫凡淇



目錄

- 內容摘要
- 實驗動機
- 實驗內容
 - (1) 器具
 - (2) 大腸桿菌介紹
 - (3) 步驟
- 實驗成果
- 困難問題與解決方法
- 心得與反思



內容摘要

實驗介紹

1870年,細菌學之父科赫(Robert Koch)在煮熟的馬鈴薯切面上發現許多有顏色的奇怪小點,每一小點分別鏡檢後發現“同一小點裡的細菌都具有相同的形狀!”後來發明在膠質和牛肉汁混合製成的固體培養基表面培養出完全由同一種微生物組成的漂亮聚落。



細菌學之父科赫(Robert Koch)

內容摘要

實驗介紹

常用的固體培養基分離菌株的方法

(一) 劃線平板(streak plate)

(二) 塗抹平板(spread plate)

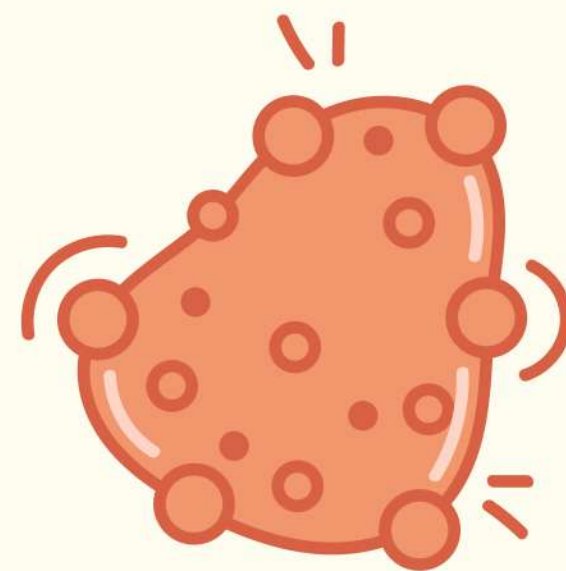
(三) 傾注平板(pour plate)。

塗抹和傾注平板法除了可分離菌株外,並可做為樣品細菌(黴菌、酵母)數的計數。



細菌學之父科赫(Robert Koch)

實驗動機



從中能學習什麼

1. 了解細菌分離與純化的原理。
2. 練習正確的無菌操作，避免培養基受到污染。
3. 觀察菌落生長情形與細菌分布狀態。

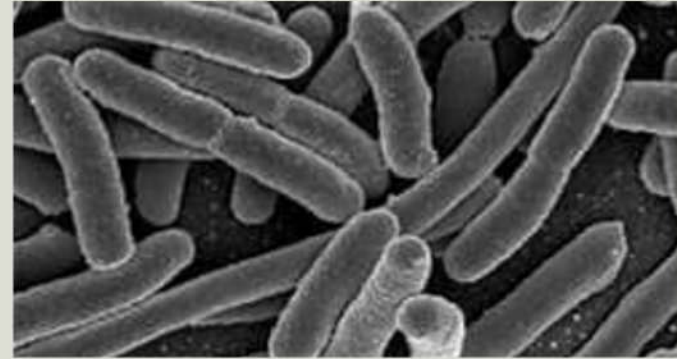
奠定未來專業基本技術

培養微生物實驗的基本能力，作為後續菌種培養的基礎。

應用在未來從事食品加工、**食品檢驗**、烘焙製作、**生技產業**或實驗室工作的基礎技能，例如食品工廠的**衛生品質檢測**、**菌種培養**、**生產環境微生物監測**，以及**產品安全管理**等，都需要具備劃線平板法與無菌操作的能力。

實驗內容-(1)器具

菌種:大腸桿菌
(*E. coli*)



1.白金耳
(接種環)



2.酒精燈



3. 75%酒精



4. NA培養基



5. 已滅菌培養皿



實驗內容- (2)大腸桿菌介紹

大腸桿菌 (Escherichia coli, E. coli)



介紹

是一種常見的細菌，主要存在於人類與動物的腸道中，大部分屬於無害菌，能幫助腸道維持正常功能。不過，部分致病型大腸桿菌可能引起腹瀉、腹痛、嘔吐等食物中毒症狀。

應用

大腸桿菌常被視作為食品衛生檢驗的重要指標，因為若在食品或飲用水中檢測到大量大腸桿菌，可能代表受到糞便污染或衛生管理不良。

在食品科與微生物實驗中，常利用培養基與劃線平板法觀察大腸桿菌的菌落生長情形，作為學習微生物培養與食品安全管理的基礎。

實驗內容- (4)步驟



圖一

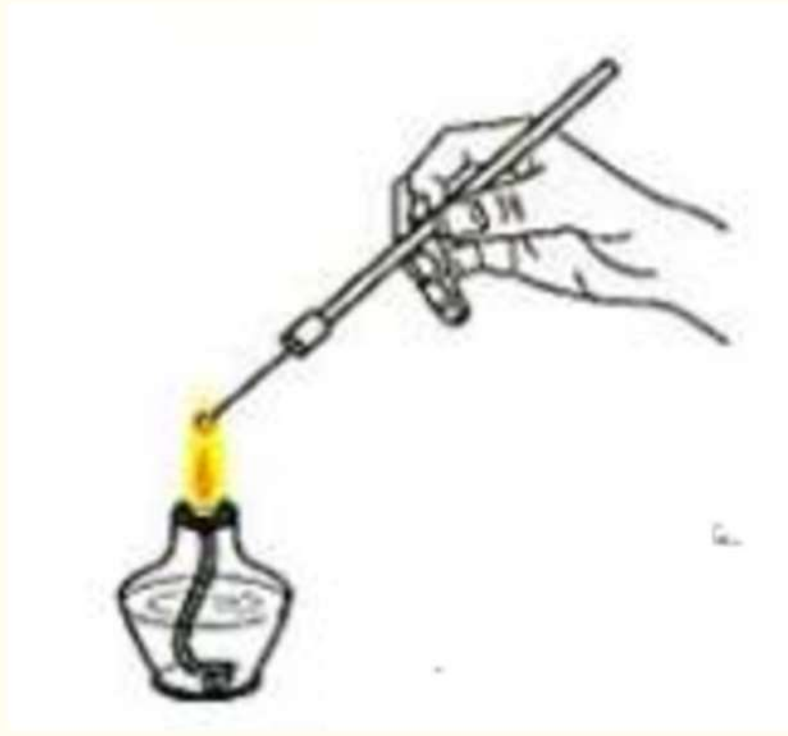
(一)培養基的準備

- 1.將已滅菌熔融之NA培養基12-15ml於無菌操作台內,倒入已滅菌培養皿內,待凝固。
- 2.除去培養皿上凝結水:將上述培養基之皿蓋半開,放置於無菌操作台 15-20分鐘。

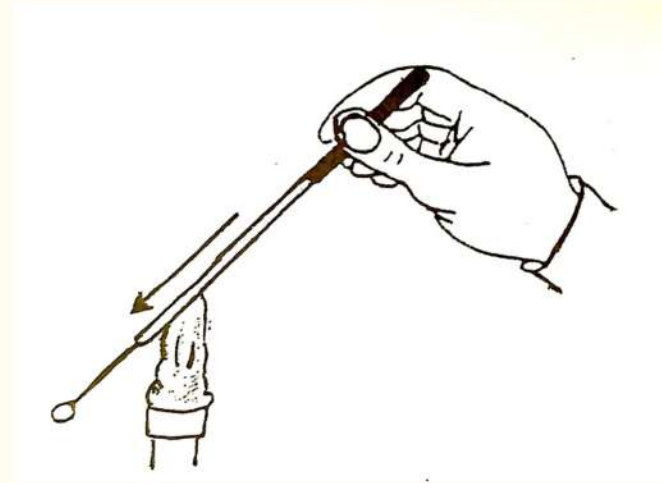


實驗內容-(4)步驟

(二)接種環火焰滅菌



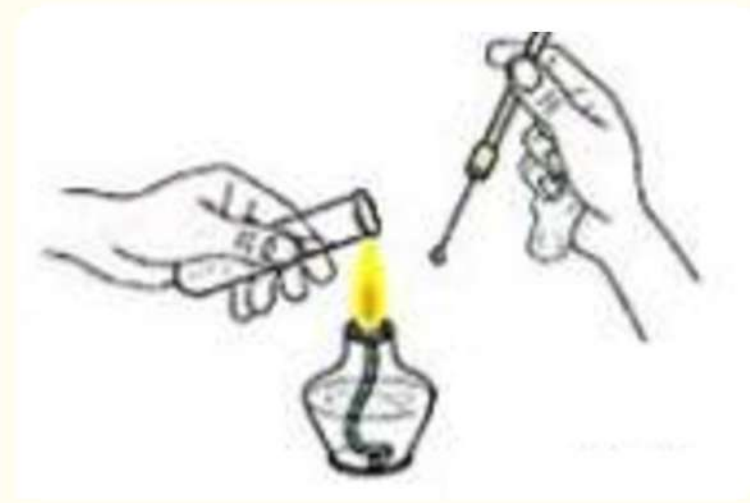
圖二



圖三

1. 將接種環的前端在火焰中燒紅。
2. 接種環緩緩向前推, 至整支白金絲全紅。
3. 再將金屬柄火焰向前後徐徐通過3次(不可燒紅)。
4. 接種環冷卻後使用。

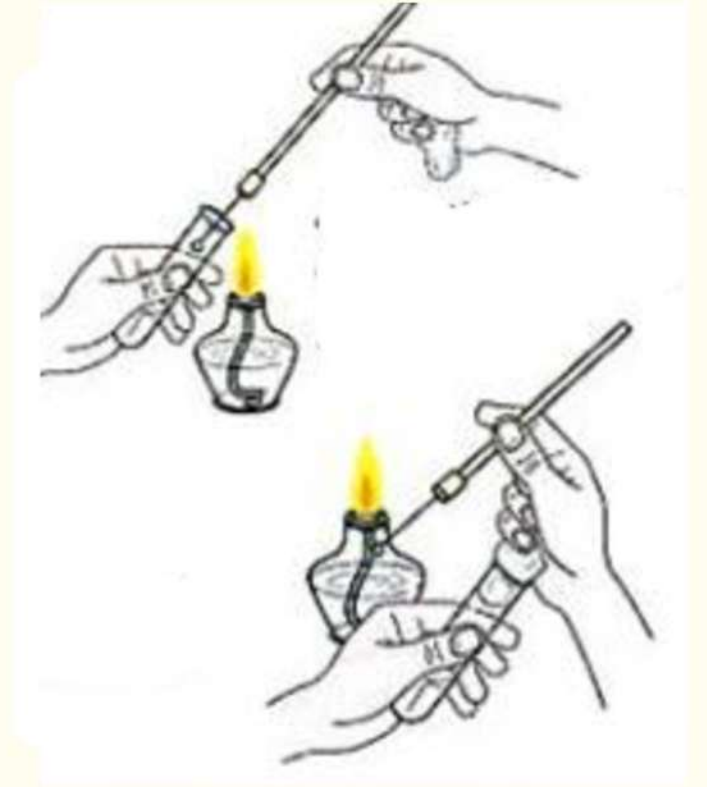
(三)試管口火焰滅菌



圖四

1. 將試管口向前後徐徐通過。

(四)接種環取培養基

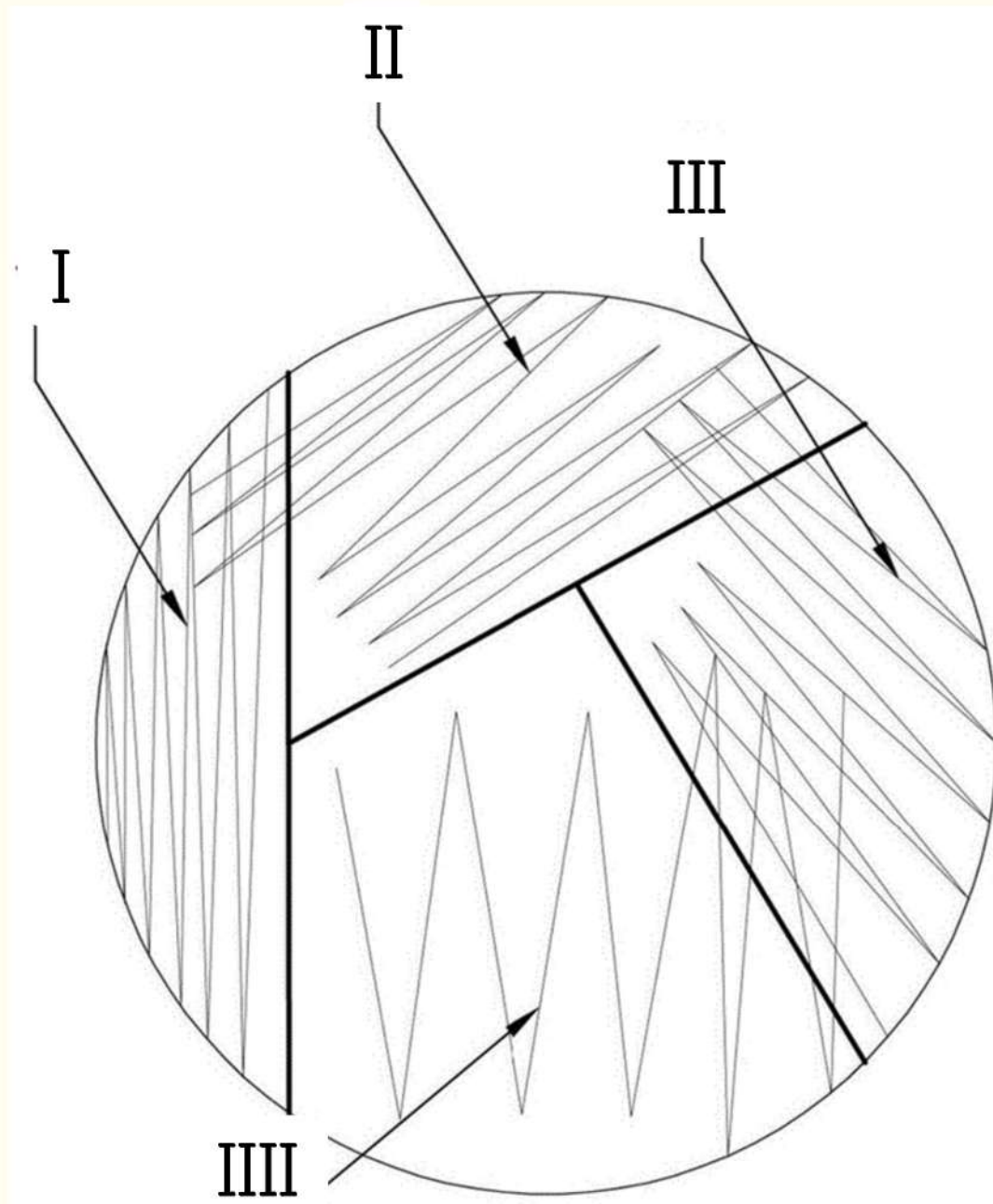
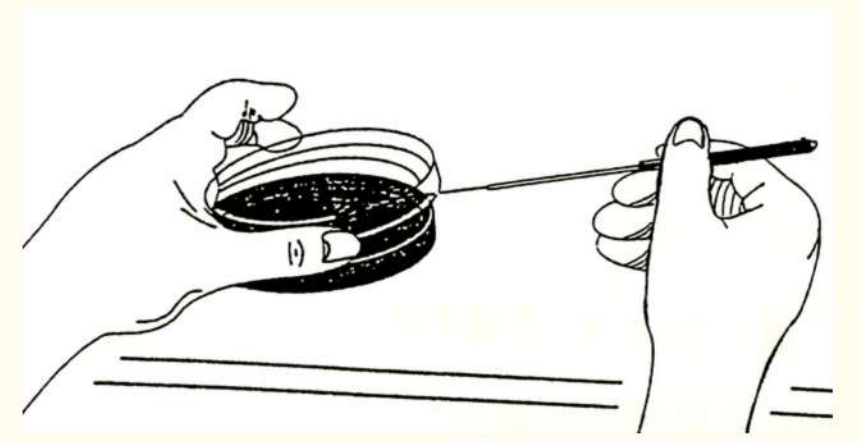


圖五

1. 取白菌耳的菌種。

實驗內容-(4)步驟

(五)劃線



圖六

1. 打開培養皿、以第I區輕輕來回塗抹均勻,大約劃8-10條線,蓋上培養皿。再將接種環用酒精燈燒紅,冷卻。
2. 打開培養皿,將培養皿逆時針轉約60-90度,自第I區的尾部,單方向劃線托住第II區,大約劃8-10條線。蓋上培養皿,再將接種環用酒精燈燒變紅,冷卻。
3. 打開培養皿,將培養皿逆時針轉約60-90度,自第II區的尾部,單方面劃線托住第III區,大約劃8-10條線。
4. 接種環不燒紅,培養皿再逆時針轉約60-90度,直接從第III區的尾部以Z字形拉線到第四區。接種環需再燒紅一次滅菌。放入35度恆溫培養箱中24~48小時。

實驗成果

劃菌結果

III

II



最終得到的單一菌落

I

實驗成果

實驗筆記

實驗四：劃線平板法

一、目的：

以劃線分離方法得到單一菌落，方便日後做進一步的鑑定測試。

二、原理：

將含有菌種的接種環在倒有固體培養基的培養皿的表面劃線。在劃線過程中，細菌會逐漸稀釋分散，最後經培養後形成單一的純菌株。

三、器材：

1. NA
2. 接種環
3. 酒精燈
4. 75%酒精
5. 已滅菌培養皿
6. 菌種：大腸桿菌

四、步驟：

(一) 培養基的準備

1. 將已滅菌熔融之NA培養基12-15mL於無菌操作檯內，倒入已滅菌培養皿內，待凝固。
2. 除去培養皿上凝結水：將上述培養基之皿蓋半開，放置於無菌操作檯15-20分鐘。

(二) 接種環火焰滅菌

1. 將接種環的前端在火焰中燒紅。
2. 接種環緩緩向前推，至整支白金絲全紅。
3. 再將金屬柄火焰向前後徐徐通過3次(不燒紅)。
4. 接種環冷卻後使用。

(三) 混勻液體培養基之菌種

1. 振盪液體培養基之菌種，使之成為均勻懸浮液。

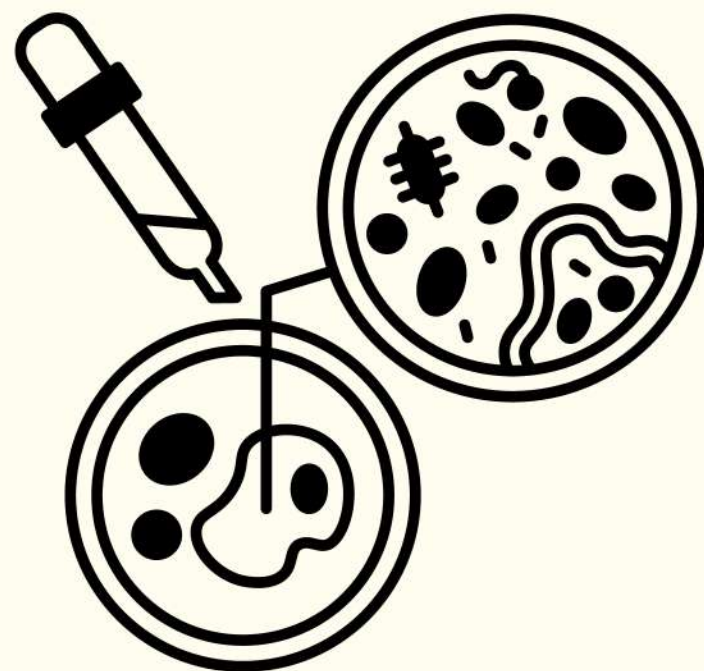
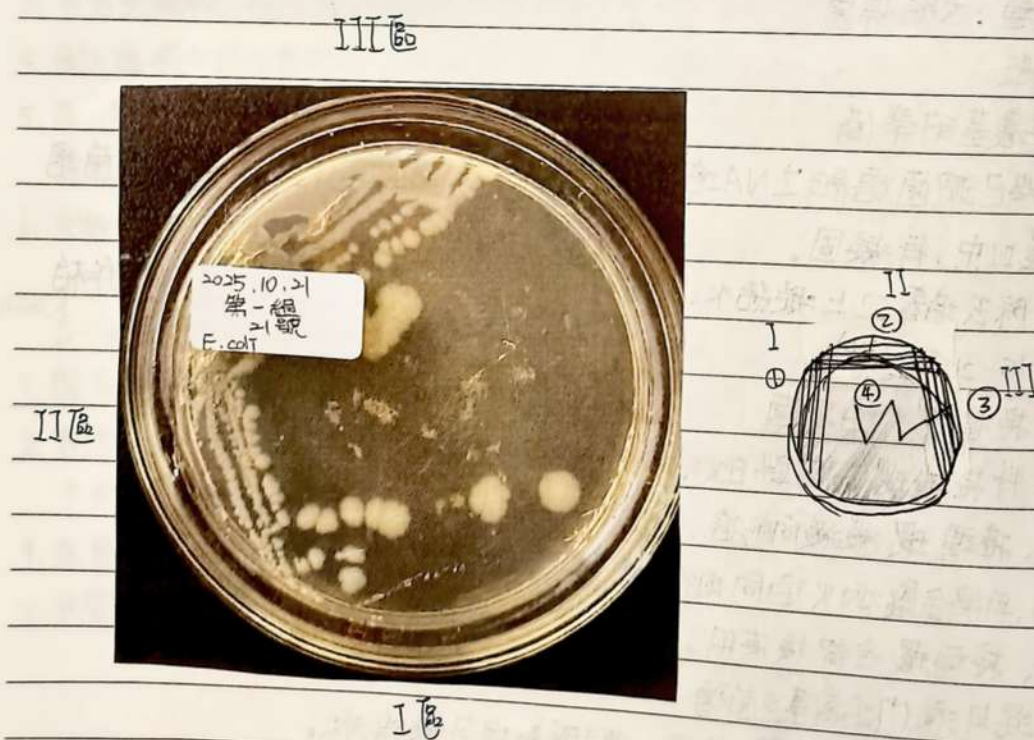
(四) 試管培養基之試管口之火焰滅菌

(五) 以滅菌接種環取液體培養基——白菌耳的菌種

(六) 劃線

1. 打開培養皿，以第I區輕輕來回塗抹均勻，蓋上培養皿。再將接種環用酒精燈燒紅，冷卻。
2. 打開培養皿，將培養皿逆時針轉約60-90度，自第I區的尾部，單方向劃線拉往第II區，大約劃8-10條線。蓋上培養皿，再將接種環用酒精燈燒紅，冷卻。
3. 打開培養皿，將培養皿逆時針轉約60-90度，自第II區的尾部，單方向劃線拉往第III區，大約劃5-10條線。
4. 接種環不燒紅，培養皿再逆時針轉約60-90度，直接從第III區的尾部以Z字形拉線到第四區。接種環需再燒紅一次滅菌。

五、結果：



困難問題與解決方法

困難問題	解決方法
用接種環劃培養基時,培養基一直破掉,怎麼辦?	操作方式 劃線時,接種環面與培養基要保持平貼,輕輕劃過。 培養基 倒入培養基時要倒多點時其凝固後表面較厚,不易劃破。添加洋菜比例增加,讓它變得更堅硬。
倒培養基時要倒到多少才算剛好?	需倒入約5mm~10mm左右的厚度即可。 讓接種環可平貼於培養基上,不至於產生切角,導致劃菌時破掉。
如何最快去辨別自己是否有把菌液劃在培養基上面?	菌液顏色呈現透明,所以劃菌後可將其對準有光處查看菌液是否有劃線成功。

心得與反思

專注力

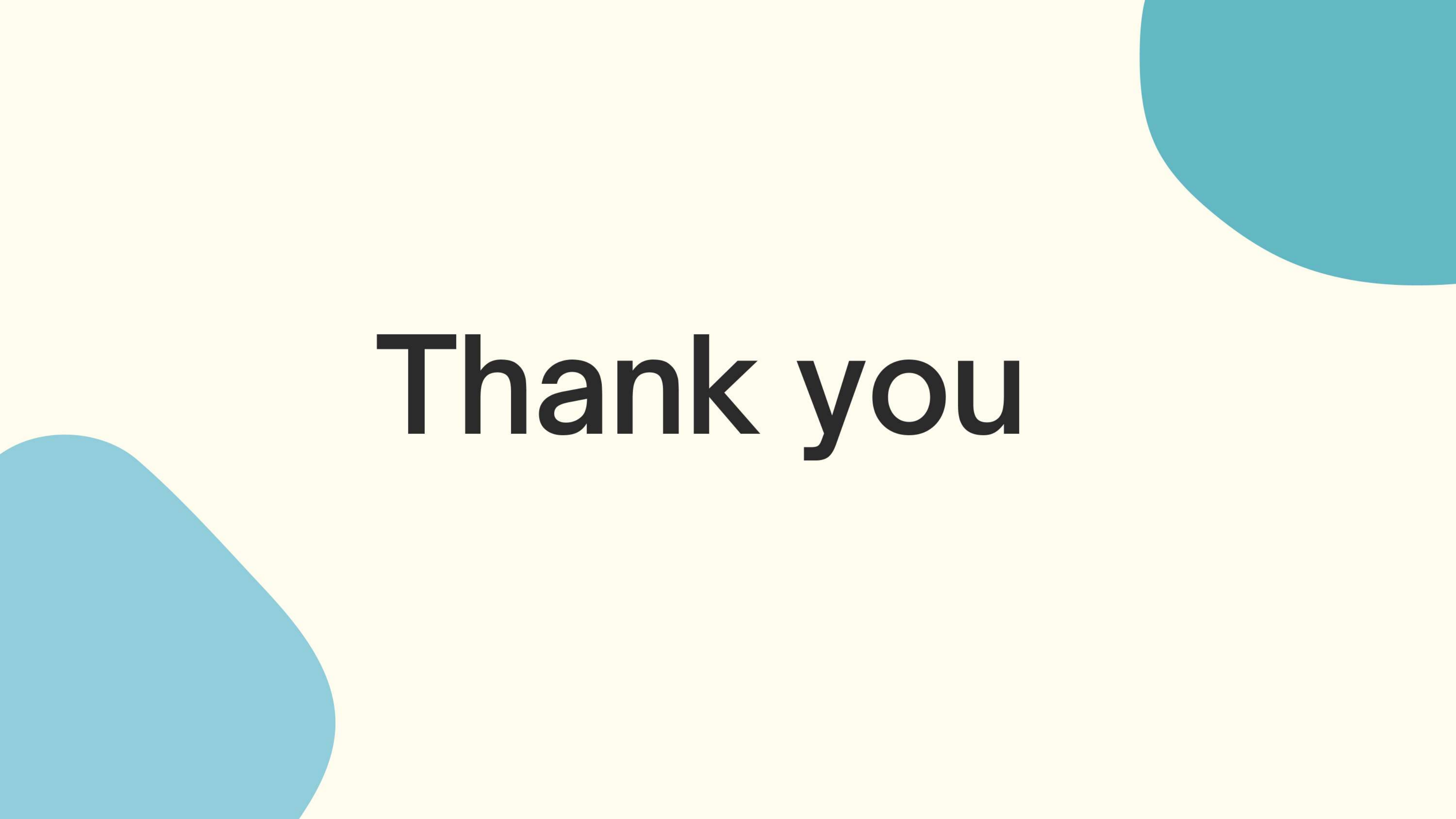
透過這次實驗，我提升了自己的專注力。因為劃線平板法與無菌操作的每個步驟都需要仔細進行，只要稍微分心，就可能造成污染或影響實驗結果。因此，在操作過程中，我必須持續保持注意力，仔細觀察每個細節，讓我學習到在實驗中保持冷靜與專心的重要性。

操作穩定性

使用接種環進行劃線時，我能控制手的力度與協調能力，避免刮破培養基或手抖造成菌落重疊以及沾取菌液時造成汙染。穩定地完成每個實驗步驟，提升了實驗操作的準確度。

觀察與分析能力

我學會透過觀察實驗結果與分析菌落生長情況，在培養細菌的過程中，也能仔細觀察菌落的大小、形狀、顏色與分布情形，再分析實驗是否成功或是否受到污染。透過比較不同結果，我學會從實驗結果中找出原因，並培養判斷與思考能力。

The background is a solid light cream color. There are two large, abstract teal shapes: one in the top right corner and one in the bottom left corner, both partially cut off by the edges of the frame.

Thank you