

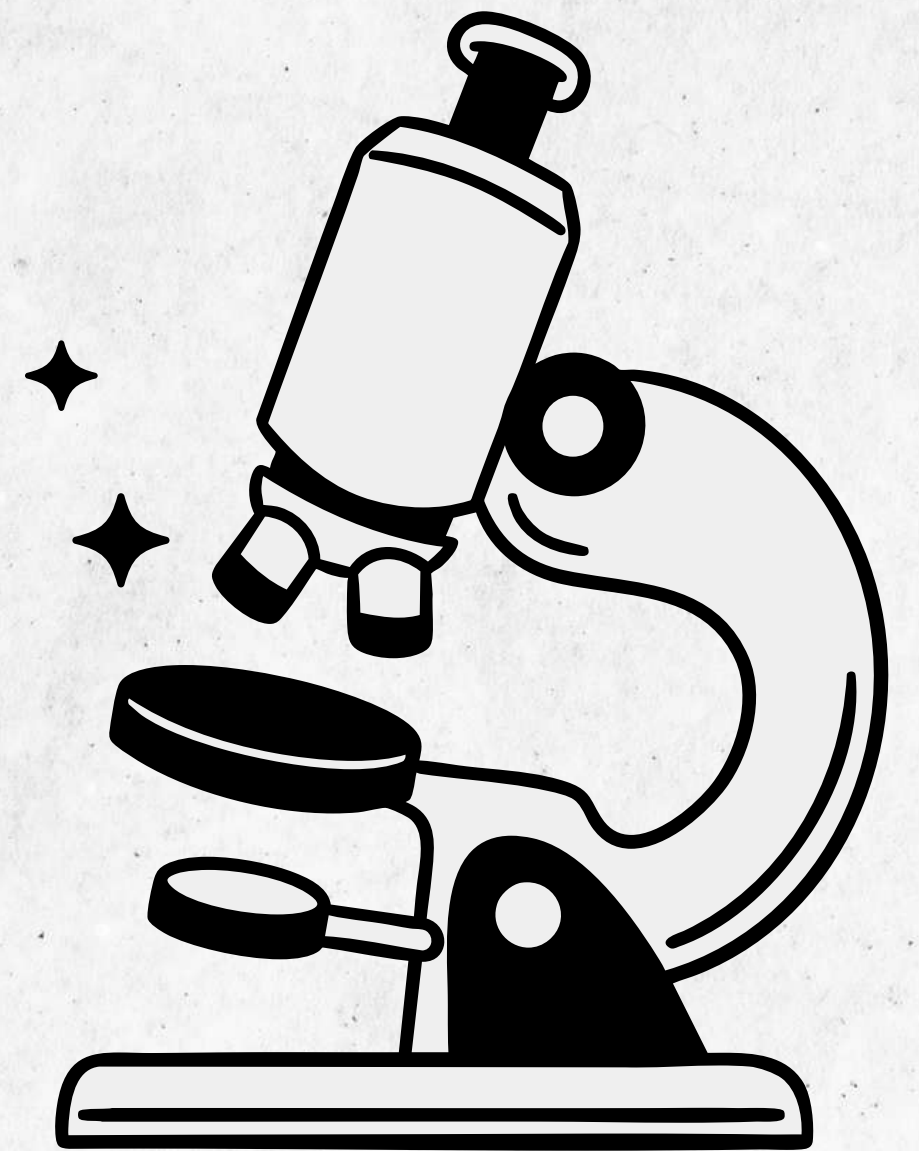
國立苗栗農工114學年度 第二學期 課程學習成果

食品微生物實習—光學顯微鏡油鏡的使用與細菌簡單染色法

就讀學校:苗栗農工

指導老師:劉碧雲 老師

簡報製作者:食品加工科 二年級 孫凡淇

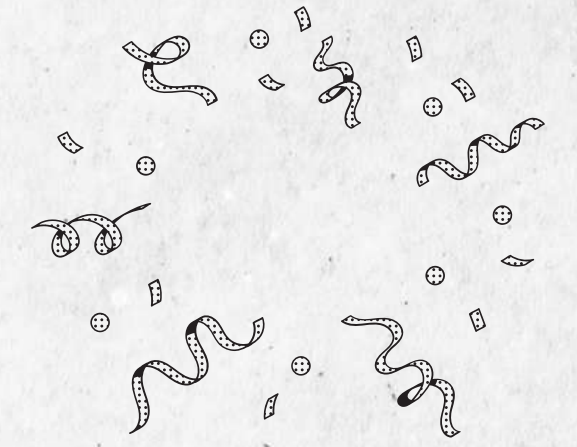


目錄

- 內容摘要
- 實驗動機
- 實驗內容
 - (1) 器具
 - (2) 光學顯微鏡
 - (3) 簡單染色法介紹
 - (4) 步驟
- 實驗成果
- 困難與解決
- 心得與反思



內容摘要



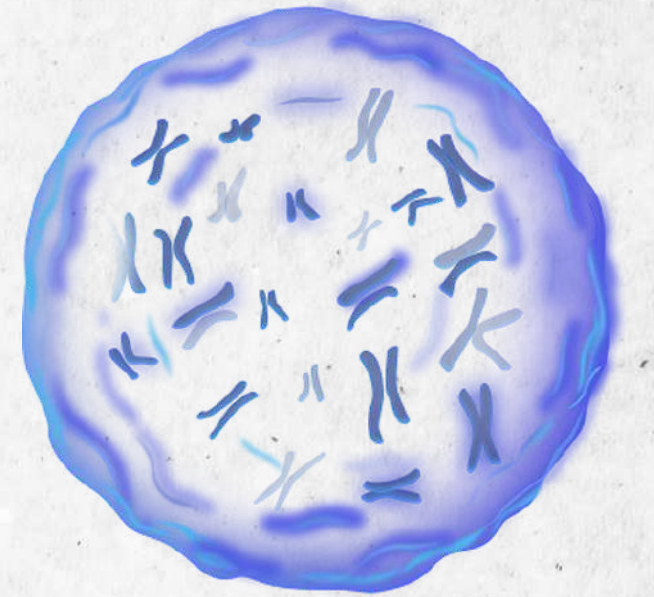
實驗說明

使用顯微鏡觀察細菌時,細菌的細胞壁顏色偏淡或接近透明不易觀察其形狀,可利用染色法將要觀察的細菌的細胞壁染色,以協助顯微鏡觀察並紀錄。

實驗目的

1. 學習並掌握普通光學顯微鏡油鏡的使用技術。
2. 學習微生物染色的基本技術,掌握細菌的簡單染色法及無菌操作技術。
3. 觀察細菌的基本形態。

實驗動機



方便觀察細菌型態

利用單一鹼性染劑（如結晶紫、亞甲藍）可快速使菌體染色，藉此確認細菌的細胞形狀（球菌、桿菌等）與排列方式（鏈狀、葡萄狀等）。

奠定未來專業基本技術

建立細菌染色基本功,以方便後續更進階的革蘭氏染色。

微生物的染色常會利用在未來大學或是工作上的食品微生物檢驗和食品安全衛生專業方面來檢驗食品汙染.釀造與發酵食品的菌種管理及食品環境衛生的檢測方法,是食品科必要的專業必修科目。

實驗內容-(1)器具

菌種:

大腸桿菌 (*E. coli*)

枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)

1.載玻片



2.蓋玻片



3.白金耳
(接種環)



4.酒精燈



8.拭鏡紙



5.去油劑:

95%酒精溶液: 乙醚=3:7
二甲苯(xylene)

9.彩色油性簽字筆

6.吸水紙

衛生紙

10.洋杉油



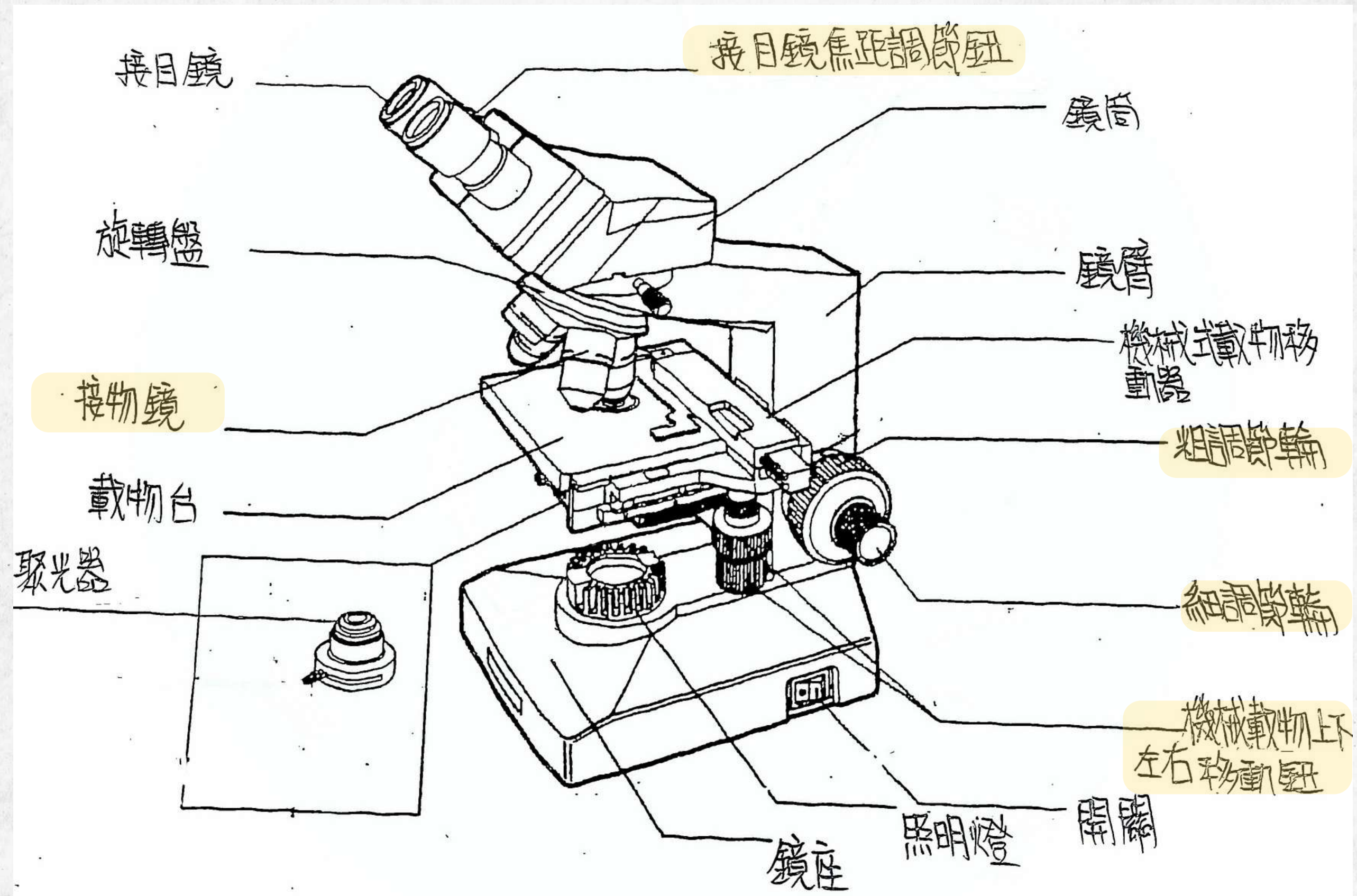
7.洗滌瓶



11.光學顯微鏡



實驗內容-(2)光學顯微鏡



實驗內容- (3)簡單染色法介紹

簡單染色法

是指只用一種染劑,使細菌著色以顯示其形態的染色法,簡單染色法不能辨別細菌細胞的結構(革蘭氏染色可以)。

染劑的選擇

因細菌培養時核酸與細胞壁某些成分常帶負電荷,所以簡單染色時通常選擇使用鹼性染劑(basic dye),常用的染劑為結晶紫。

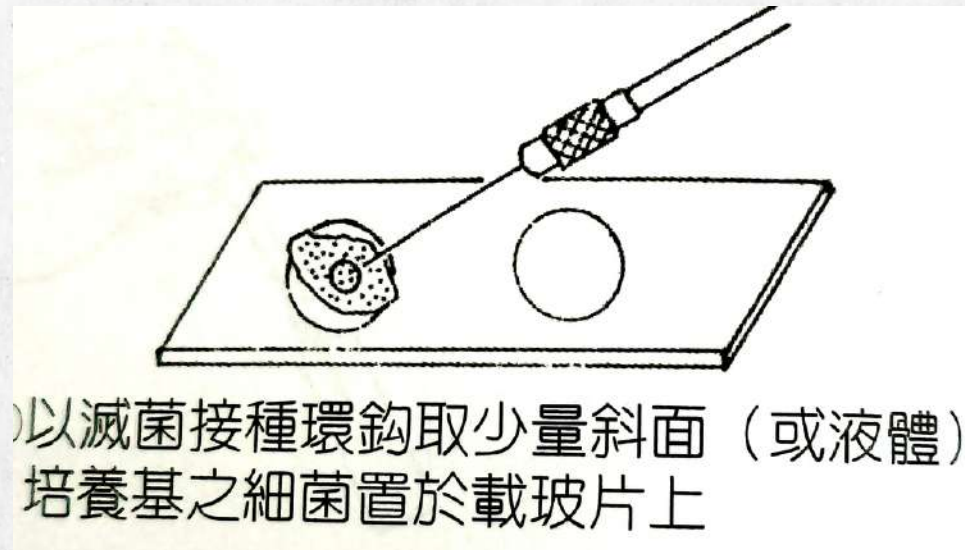


結晶紫

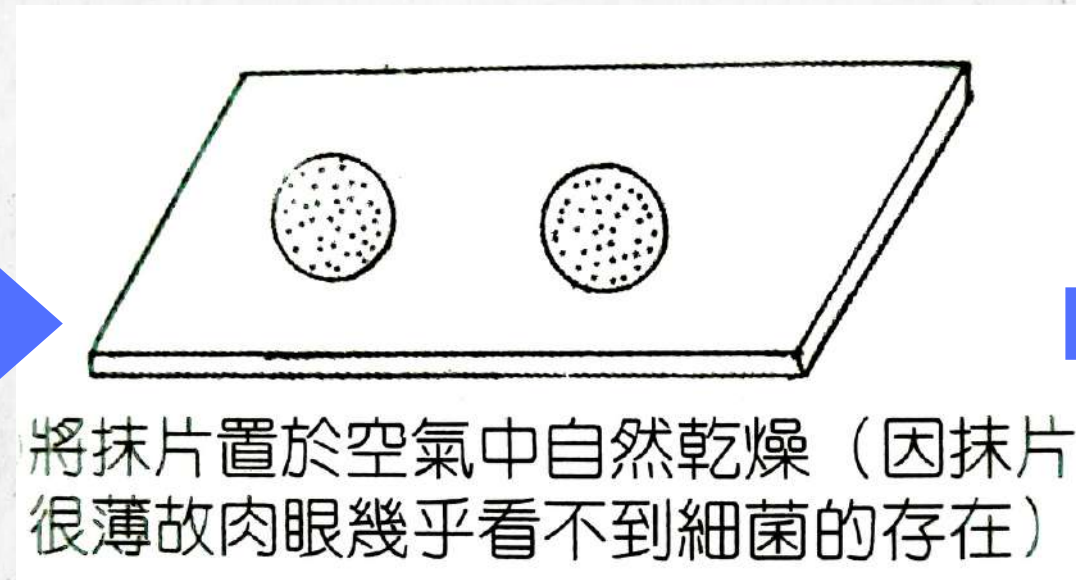


細菌染色後通常呈現桃粉色至粉色,顏色深淺取決於染色時間與滴入數量。

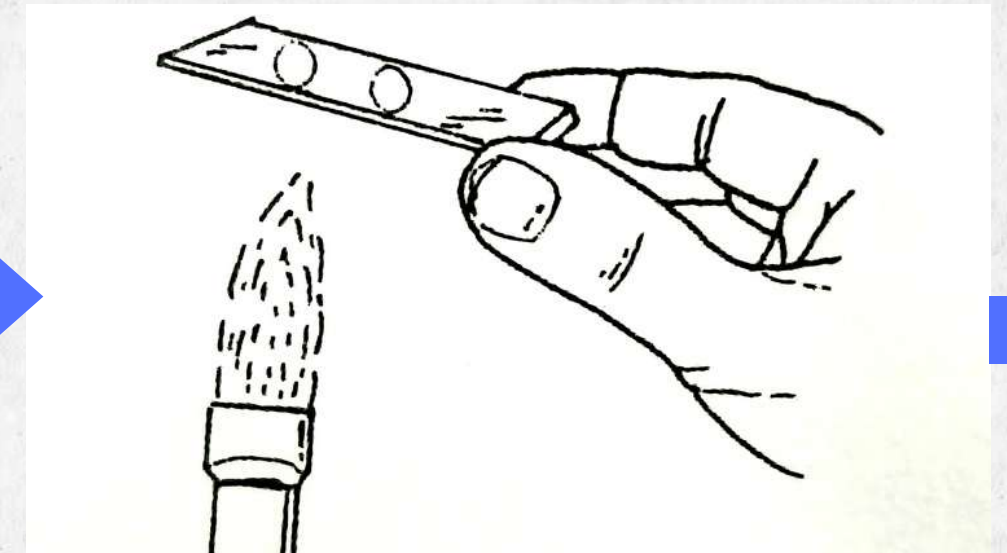
實驗內容-(4)步驟



塗片

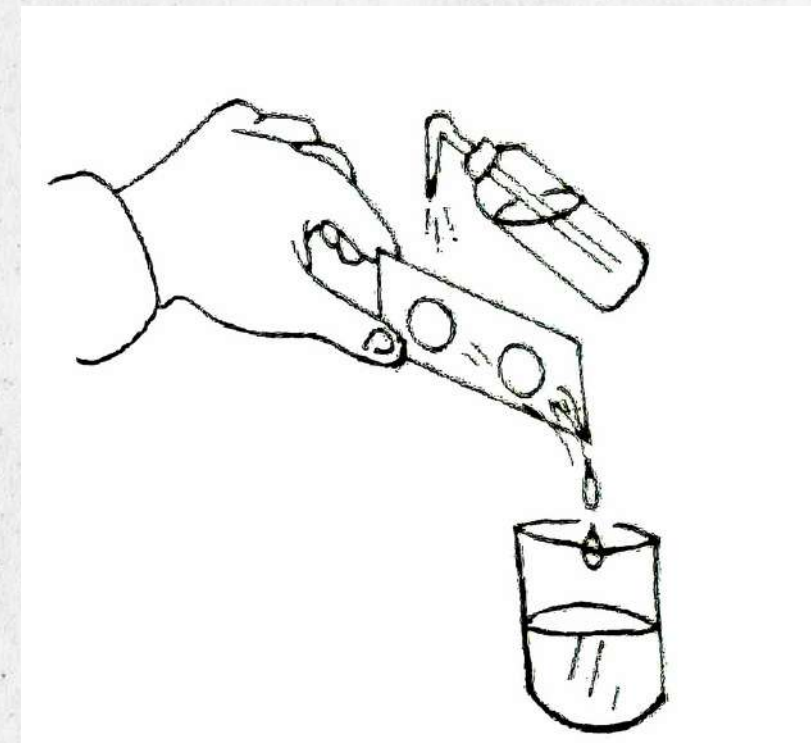
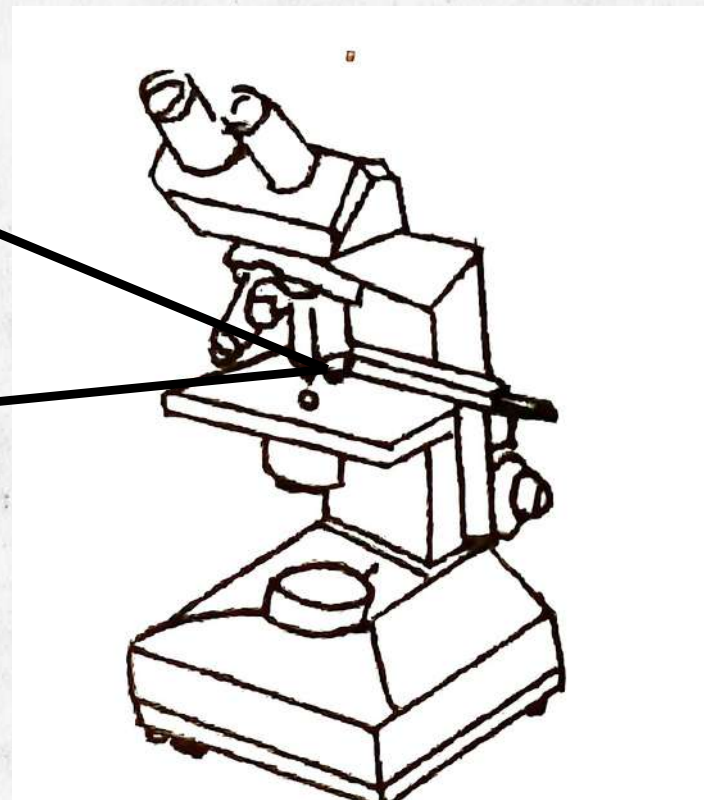


乾燥



油鏡

洋杉油

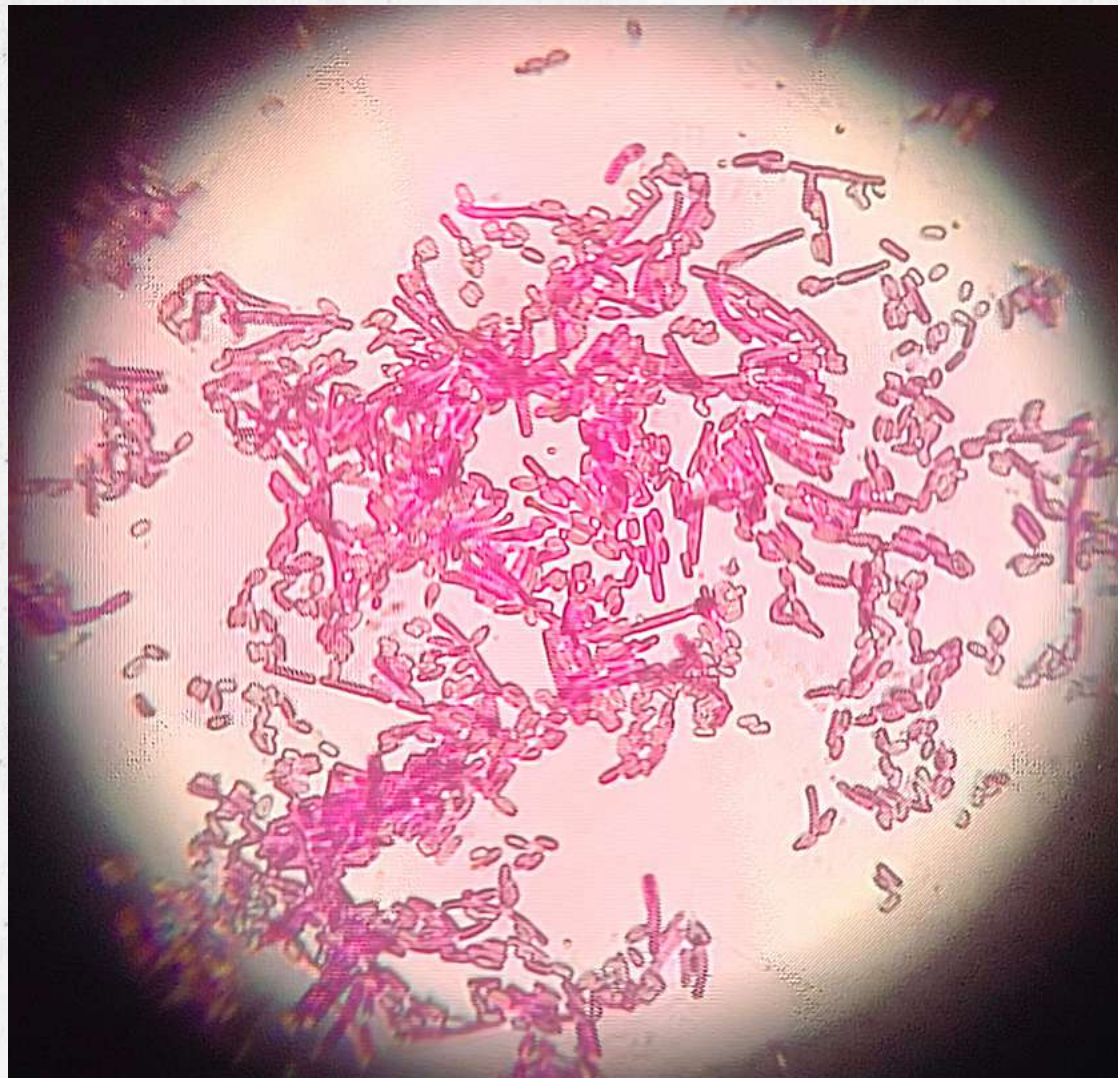


實驗成果

鏡檢圖

放大倍數: 10x 100x

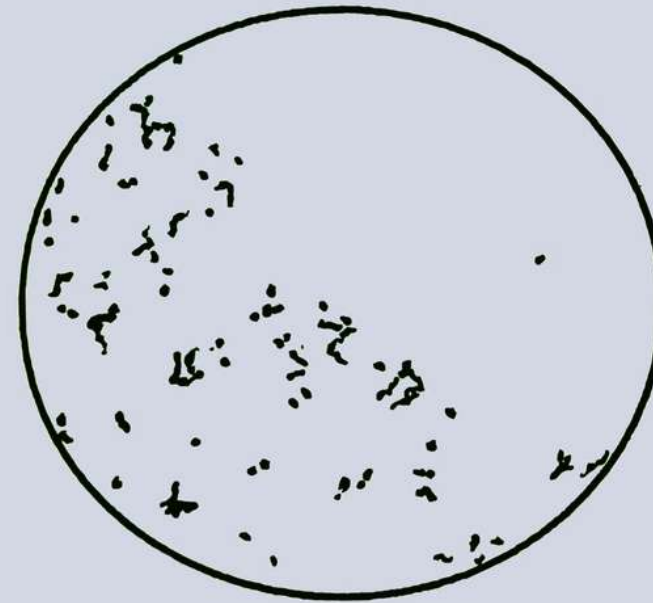
菌種: 枯草桿菌



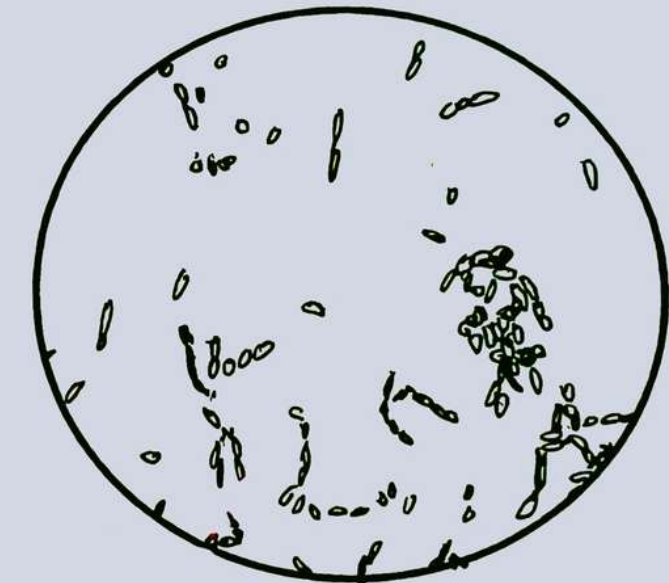
繪圖

四、結果

繪出簡單染色鏡檢圖：



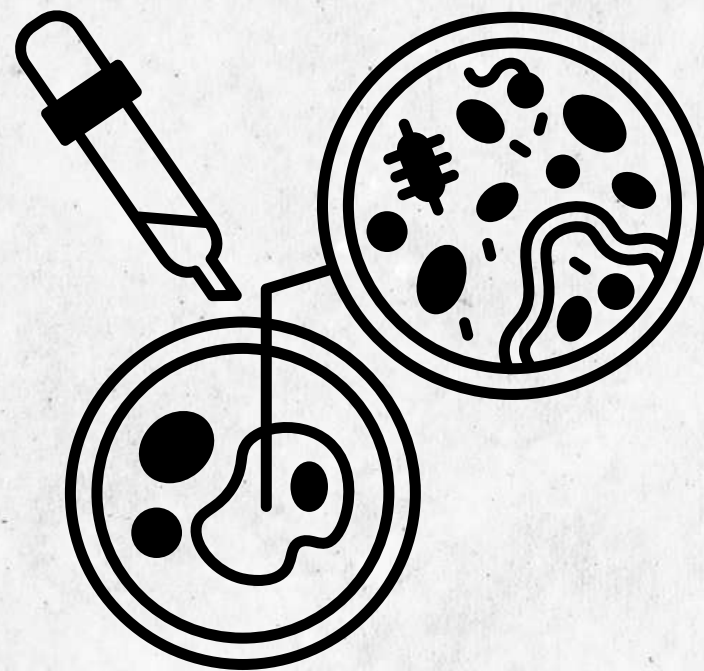
細菌名稱： 大腸桿菌
放大倍數： 10 x 100 x
細菌形狀： 短桿
座標位置： (138 , 20.5)



細菌名稱： 枯草桿菌
放大倍數： 10 x 100 x
細菌形狀： 長桿
座標位置： (140 , 20.5)

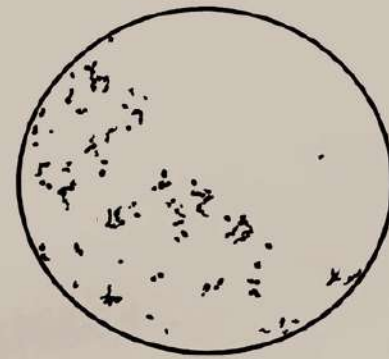
實驗成果

實驗筆記

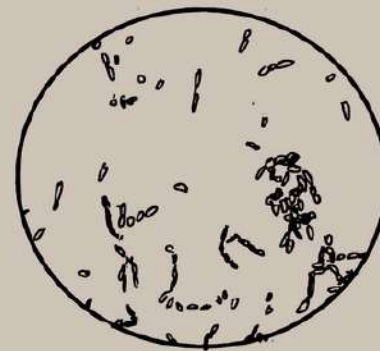


四、結果

1. 繪出簡單染色鏡檢圖：



細菌名稱：大腸桿菌
放大倍數：10 X 100 X
細菌形狀：短桿
座標位置：(138, 20.5)



細菌名稱：枯草桿菌
放大倍數：10 X 100 X
細菌形狀：長桿
座標位置：(140, 20.5)

五、問題

1. 細胞為何要染色？染色方法分幾種？

① 方便觀察形狀。

② 簡單染色法、複染色法。

2. 簡述細菌標本製作步驟？

塗片 → 乾燥 → 固定 → 染色 → 水洗 → 乾燥 → 鏡檢

實驗四 顯微鏡的使用及細菌的簡單染色法

一、實驗目的：

1. 學習並掌握普通光學顯微鏡的使用技術。
2. 學習微生物學，染色的基本技術，掌握細菌的簡單染色法及無菌操作技術。
3. 觀察細菌的基本形態。

二、實驗原理：

1. 染色原理：用於生物染色的染料主要有鹼性染料、酸性染料和中性染料三大類。鹼性染料的離子帶正電荷，能和帶負電荷的物質結合。通常採用鹼性染料。酸性染料的離子帶負電荷，能與帶正電荷的物質結合。中性染料是前兩者的結合物又稱複合染料。
2. 簡單染色法：是用一種染料使細菌着色以顯示其形態的染色法，簡單染色不能辨別細菌細胞的構造。
3. 顯微鏡的解析度是指顯微鏡能夠辨別兩點之間最小距離的能力。

三、實驗步驟：

1. 抹片的準備：載玻片滅菌用沙拉脫洗淨，再泡酒精火焰滅菌，油性簽字筆畫圈。
2. 塗片：取乾等載玻片一塊，在載玻片的左、右各加一滴蒸餾水，按無菌操作法取菌塗片。
3. 乾燥：讓塗片自然晾乾或者在酒精燈火焰上方文火烘乾。
4. 固定：手執玻片一端，讓菌膜朝上，通過火焰2-3次固定（以不燙手為宜）。
5. 染色：將固定過的塗片加複紅或美蘭染色1-2 min。
6. 水洗：將洗過的塗片放在空氣中晾乾或用吸水紙吸乾。
7. 鏡檢：先低倍觀察，再高倍觀察，並找出適當的視野後將高倍鏡轉出，在塗片上加香柏油一滴，將油鏡頭浸入油滴中仔細調焦觀察細菌的形態。
8. 繪圖。

困難與解決

困難	解決方法
顯微鏡觀察並放大菌的型態時,容易找到的是結晶紫染色劑的結晶而不是菌。	染色的菌: 粉色.桃粉色(較淡)  結晶紫染色劑的結晶: 粉紫色.紫色(較深) 
使用顯微鏡倍數放大時,鏡檢會過於模糊或無法清晰看到菌的型態。	1.轉動粗調節輪:使菌體影像出現。 2.轉動細調節輪:使菌體型態清晰。 3.再放大倍數重複動作1.2。
如何最快去辨別自己是否做對放大倍數的調整?	當轉到10x100x時,接物鏡與載玻片應完全貼上無縫隙,並且可以清晰看到菌體的型態,則表示操作正確。

心得與反思

細微的觀察力

- 能分辨出雜菌、結晶體以及辨認各種細菌的細胞形狀（球菌、桿菌等）與排列方式（鏈狀、葡萄狀等）。

實作能力提升

- 熟悉顯微鏡操作、細菌型態繪圖、菌落觀察。

科學態度養成

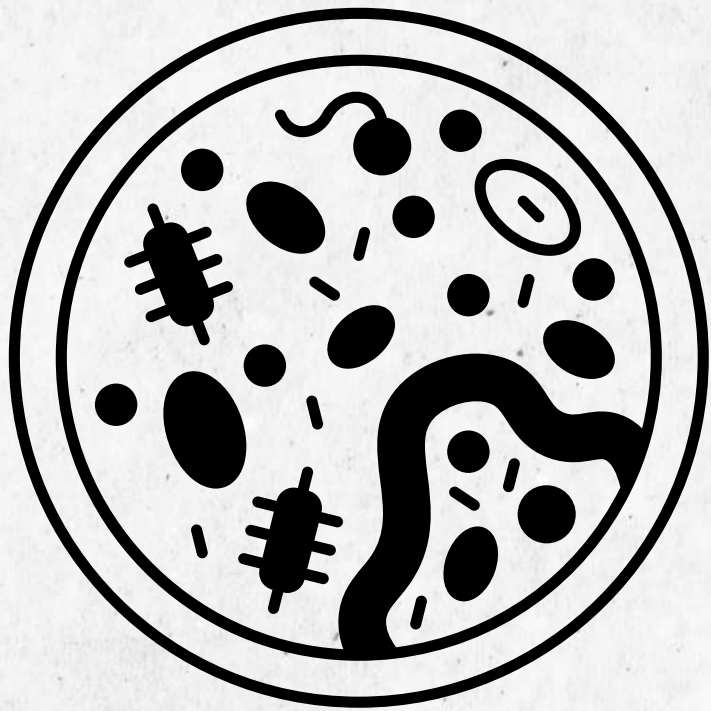
- 面對尋找不出細菌或過程失誤不逃避,而是尋找原因。

反思能力加強

- 懂得從失誤中反省自己原因累積經驗並加以精進。

這次實驗讓我從一個「照著做」的學生,逐漸成為能「理解、提問、分析、驗證」的人,雖然操作仍有不足,但正因為不完美,我才清楚知道下一次該怎麼進步。





Thank You

