

一、 主題：微生物的分離與篩選及應用：

微生物乃指一群微小的生物，十八世紀以前，人們相信世界上有一種神奇的力量，能使果汁變成酒，或使健康的人生病，甚至在幾天之內就死亡。直到 Antony van Leeuwenhook 利用自製的顯微鏡觀察到雨水中的一些 "小動物"，人們才開始對這些小蟲子產生興趣。這些小生物就是我們現在所稱的微生物。按照現在大家接受的分類，微生物可分成五大類，分別為細菌、真菌、病毒、藻類和原生蟲，在我們日常生活中扮演重要的角色。

微生物與人類的生產、生活和生存息息相關。有很多食品（如醬油、醋、味精、酒、酸奶、乳酪、蘑菇）、工業品（如皮革、紡織、石化）、藥品（如抗生素、疫苗、維生素、生態農藥）是依賴於微生物製造的；微生物在礦產探測與開採、廢物處理（如水淨化、沼氣發酵）等各種領域中也發揮重要作用。微生物是自然界唯一認知的固氮者（如大豆根瘤菌）與動植物殘體降解者（如纖維素的降解），同時位於常見生物鏈的首末兩端，從而完成碳、氮、硫、磷等生物質在大循環中的銜接。若沒有微生物，眾多生物就失去必需的營養來源、植物的纖維質殘體就無法分解而無限堆積，就沒有自然界當前的繁榮與秩序或人類的產生與繼續。

此外，微生物對地球上氣候的變化也起著重要作用。許多微生物直接參與了溫室氣體的排放或者吸收，而也有很多微生物可以成為未來的生物燃料。

微生物與人類健康密切相關。多數微生物對人體是無害的。實際上，人體的外表面（如皮膚）和內表面（如腸道）生活著很多正常、有益的菌群。它們佔據這些表面併產生天然的抗生素，抑制有害菌的著落與生長；它們也協助吸收或親自製造一些人體必需的營養物質，如維生素和胺基酸。這些菌群的失調（如抗生素濫用）可以導致感染發生或營養缺失。然而另一方面，人類與動植物的疾病也有很多是由微生物引起，這些微生物叫做病原微生物或病原。

現代生物學的若干基礎性的重大發現與理論，是在研究微生物的過程中或以微生物為實驗材料與工具取得的。這些理論包括：

- 證明 DNA（脫氧核糖核酸）是遺傳信息的載體（三大經典實驗：肺炎球菌的轉化實驗、噬菌體實驗、植物病毒的重組實驗）。
- DNA 的半保留複製方式（雙螺旋的每一條子鏈分別、都是複製模板）。
- 遺傳密碼子的解讀（64 個密碼子各對應 20 種胺基酸及終止信號的哪一種）。

- 基因的轉錄調節（operon, promoter, operator, repressor, activator 的概念與調節方式）。
- 信使 RNA 的翻譯調節（terminator）。

現在，很多常用、通用的生物學研究技術依賴於微生物，比如：

- 分子選殖。
- 重組蛋白在細菌或酵母中的表達。
- 以病毒為載體的基因治療等。

但是，由於它的體積非常小，無法以肉眼觀察，所以常被人所忽略。本實驗即藉由培養基中細菌菌落狀況可以了解手及空氣中微生物分布的情形；另也實際自土壤中進行微生物的分離與篩選；最後也讓同學進行優酪乳的製造，以了解微生物的應用。

二、 目的：

1. 讓同學了解空氣中微生物的分布情形。
2. 了解日常生活中，如何正常的洗手以去除微生物，並加強衛生觀念。
3. 培養同學無菌操作的觀念與技術，並活用於環境中微生物的分離。
4. 讓同學進行優酪乳的製造，以了解微生物的應用。

三、 實驗材料：

1. 營養培養基平盤，其組成包括如下（1% beef extract；1% peptone；0.5 % NaCl；1.5% Agar）。
2. 無菌衛生紙（擦手用）。
3. 無菌稀釋水。
4. 滅菌 tip 及滅菌試管。
5. L 型塗抹棒。
6. 70%消毒酒精。
7. 市售原味優酪乳。
8. 市售原味鮮乳。
9. 有蓋寬口瓶。
10. 湯匙。

四、 實驗步驟：

1. 空氣中的微生物：

- a. 自由選擇實驗室的一個角落。
- b. 打開培養皿的蓋子，在空氣中暴露 30 分。
- c. 蓋上蓋子。

2. 洗手前後的微生物：

- a. 先在培養皿底盤劃一條線將其分為兩部分(W/N)。
- b. 在洗手前，打開培養皿的蓋子以一根手指在 N 部分的培養基上，輕作 Z 字狀劃線後，蓋上蓋子。
- c. 同樣的請這位同學以肥皂洗手後，用無菌衛生紙擦乾，以步驟 b 中相同的一根手指，在 W 部分的培養基上輕作 Z 字狀劃線，蓋上蓋子。
- d. 將以上的培養皿倒置，並放入 30°C 的培養箱中，18-24 小時後觀察微生物生長的結果，並記錄之。

3. 土壤中微生物的分離與篩選：

- a. 稱取 1 克的土壤置入試管中。
- b. 加 10 毫升的無菌水，以試管攪拌器振盪攪拌，使均勻懸浮，靜置數分鐘使大顆粒沈降底部後。
- c. 取上清液 0.1 毫升再加 0.9 毫升無菌水，如此重覆數次之 10 倍連續稀釋。
- d. 10 倍連續稀釋各取 0.1 毫升，灑在各營養培養基平盤表面，以 L 型塗抹棒在培養皿上，均勻塗抹後，於 30°C 培養 18-24 小時後觀察微生物生長的結果，並記錄之。

4. 優酪乳的製造：

- a. 將固體狀之優格以洗淨之湯匙攪拌成液狀。
- b. 將市售原味鮮乳倒入寬口瓶中（約八分滿），接著以攪拌成液狀之優格倒入瓶中，充分的攪拌混合，注意二者之比率約為 8:1（鮮乳:優格）。
- c. 攪拌完成後將寬口瓶蓋上蓋子，置入恆溫培養箱中以 30°C 培養 18-24 小時。
- d. 取出寬口瓶，檢查是否有凝固，若製作成功便可食用，放入冷藏箱冷藏後，味道更好。也可添加果糖、水果一起使用。

五、 觀察結果：

1. 觀察並記錄菌落的大小、數目、形狀及顏色等特點。

2. 比較各組實驗結果的差異性。
3. 觀察並記錄每克土壤所含的生菌種類及菌量。
4. 觀察並記錄優酪乳的凝固情形及其氣味的變化。

六、 問題與討論：

1. 比較洗手前後的結果，並加以討論可能的原因。
2. 若想知道不同形態的菌落是何種細菌，應如何做進一步的實驗？
3. 對東方人而言，食用優格又有何益處。