廚房中的科學

喝大冰奶總是「烙賽」?

飲料生菌數檢測

許哲瑜　編著



**時間分配**

第1週課程

　生菌數檢測原理介紹與實作。

第2週課程

　實驗結果分析與分組口頭報告。



**學習目標**

第1週課程

1. 能正確使用「微量吸管pipette」。

2. 能理解無菌操作的原理，並正確執行簡易無菌操作流程。

3. 能形成可驗證的假設，並設計解決方法或驗證的實驗步驟。

4. 能積極參與團隊分工與討論，建立良好互動關係與討論氛圍。

第2週課程

1. 能有條理的表達自身的想法，並適當回應聽眾的提問或質疑。

2. 能製作有條理、且能夠協助聽眾掌握口頭報告重點的海報或投影片。

3. 能積極參與團隊分工與討論，建立良好互動關係與討論氛圍。

4. 能了解生菌數檢測結果所代表的意義，並指出媒體資訊未盡說明之處。



第1週課程

生菌數檢測原理介紹與實作

課前準備實驗器材&藥品

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 班級共用器材與藥品 | |  | 各小組器材（每組4人） | | | |
| 滅菌水 | 2公升 |  | 微量吸管（1000 μl） | 1支 | 麥克筆 | 1支 |
| 石蠟封膜 | 1捲 |  | 滅菌tips | 1盒 |  |  |
| 恆溫生長箱 | 1臺 |  | 滅菌eppendorf | 8個 |  |  |
| 飲料  （根據實驗調整形式） | 視課程設計調整用量 |  | 酒精燈 | 1座 |  |  |
|  | L型玻棒 | 1支 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **教學流程**  一、引起動機  5 min  P1、2  以生活經驗（喝大冰奶總是害你烙賽？）與學生問答互動來引起動機。  參考提問：  1 什麼原因害你拉肚子？  2 生菌數超標的意涵為何？  3 超標的飲料，喝了就一定會拉肚子嗎？  4 怎樣的飲料，生菌數容易超標？  5 生菌數怎麼樣估算？ | ◀ |  | 教學策略與建議  學生可能會認為「乳糖不耐症」是拉肚子的原因，但實際上早餐店奶茶的奶精沒有乳糖成分。教師若遇學生提問，時間許可情況下，可引導學生進行資料搜尋。 |
| 二、探究活動  1. 課程架構建立  15min  P3  引導學生閱讀文章或新聞片段後，找出關鍵詞並分析相關字詞的關聯性。請學生將想法謄寫在小白板上，5分鐘後進行小組發表（每組1分鐘）。  參考新聞網址：  <http://news.ltn.com.tw/news/life/breakingnews/2482586>  〈配合第1週課程學習單（想法）任務一〉 | ◀ |  | a. 教師可提示學生利用「心智圖」、「概念圖」等方式呈現，並於教室中巡視協助。  b. 教師應強調小組發表的時間規則，讓學生有意識的練習在有限時間內清楚表達。若課程時間不足，則挑選數組學生回答。  c. 小組發表結束後，由教師總結說明本次實驗的目的與方法。 |
| 2. 實驗結果預測  10min  P4、5  請學生預測生菌數檢測的結果，並於學習單寫下預測的理由，再由各組發表。（每組發表時間為1分鐘）   |  | | --- | | 1 溫奶茶 v.s.常溫奶茶 v.s. 冰奶茶 | | 2 有封膜 v.s.未封膜的奶茶（均為常溫） |   〈配合第1週課程學習單（想法）任務二〉 | ◀ |  | a. 由教師於課前準備，並說明這些飲料的取得方法。（例如：將封膜撕除後置於實驗桌上2小時，即為未封膜的奶茶）  b. 教師亦可在學生發表後，提出幾個預測理由，讓學生判斷合理性，但不說明答案。（例如：溫度較高，細菌滋生速度較快，所以溫奶茶生菌數最高） |
| 3. 生菌數檢測原理與相關技術教學  1 微量吸管使用教學  20min  P6~8  由教師介紹微量吸管（pipette）的構造原理後，實際示範使用方法，並特別說明常見的錯誤使用方式。讓學生配合學習單完成該項技巧的練習。  〈配合第1週課程學習單（技巧）技巧一〉  2 無菌操作原理流程&稀釋塗抹法  15min  P9~11  由教師說明無菌操作的原理與意義，並示範在無菌操作狀態下，進行稀釋塗抹法的方法。  〈配合第1週課程學習單（技巧）技巧二〉  3 序列稀釋原理介紹&實作  15min  P12  說明序列稀釋的原理與應用後。請學生根據學習單及教師指示，完成序列稀釋工作。  〈配合第1週課程學習單（技巧）技巧三〉 | ◀ |  | a. 強烈建議透過實際練習（例如：以微量吸管吸取蒸餾水），讓學生熟悉微量吸管的使用方式。  b. 常見的錯誤使用方式：  ˙ 忘記插tip就吸取液體。  ˙ 按壓至底（第二段）後吸取液體。  ˙ 快速鬆開按壓處，使液體上衝。  ˙ 吐出液體時，僅按壓至第一段，液體未完全排出。 |
| 4. 實驗操作  20min  P13  各組分別在簡易無菌操作模式下，開始塗盤作業。塗抹完成的培養皿，利用石蠟膜彌封，再以美工刀割出一塊小縫隙以利通氣。最終將處理完成之培養皿置於生長箱過夜，並與學生約定時間來看結果。  〈配合第1週課程學習單（想法）任務三〉  學生以照片記錄塗盤結果。將照片浮貼於學習單上，並根據指示計算菌落數目。隔週將結果帶來課堂，進行第二週的課程討論。 | ◀ |  | a. 若校內有無菌操作檯，塗盤作業可在此進行。但仍可以介紹沒有無菌操作檯的折衷辦法（即本次實驗採用的方式）。  b. 說明後，可讓學生利用空培養皿練習在轉動培養皿的狀態下進行塗盤作業。 |
| 三、活動總結  5 min  P14  1. 收拾器材，清理實驗室。  2. 提醒學生必須於隔天來收集實驗結果，並拍照記錄。 |  |  |  |

喝大冰奶總是「烙賽」？－飲料生菌數檢測

第1週課程 學習單（想法）

班級：　　　　　　座號：　　　　　　組別：　　　　　　姓名：

原理介紹與實作

任務一

　　觀看文章與新聞片段後，嘗試分析下列字詞的關聯性，將你們的分析結果呈現在下方空間與小白板上，並思考如何利用1分鐘說明你們的想法。（提示：可條列式說明，或嘗試利用心智圖或概念圖呈現。可以從網路中收集資料，亦可以聯結其他字詞。）

|  |
| --- |
| 待分析的字詞：冷飲、生菌數超標、大腸桿菌、無菌操作、序列稀釋。  （由學生自由發揮） |

任務二　飲料生菌數檢測結果預測

　　以下為來自同一家店，不同條件的飲料。利用下列三個引導問題，寫下生菌數檢測的預測結果，並思考如何利用1分鐘說明你們的想法：（可以利用小白板輔助呈現你們的想法）

1 下列兩組實驗，分別假設哪個條件影響生菌數檢測的原因？

2 兩個組別中，哪種處理的生菌數檢測量會最高？ 請寫下你們的預測結果。

3 你們依據什麼理由形成這些推論？ 請寫下你們推論的理由。

|  |  |
| --- | --- |
| 溫奶茶v.s.常溫奶茶v.s.冰奶茶  影響條件：溫度  （以下列出學生曾經提出的想法）  例如：  1 溫奶茶因為溫度較適合細菌生長，所以生菌數應該為三者中最多。  2 覺得冰奶茶應該生菌數最多，因為新聞常常看到都是冷飲出問題。 | 有封膜v.s.無封膜的常溫奶茶  影響條件：有無封膜（在空氣中的暴露時間）  （以下列出學生曾經提出的想法）  例如：無封膜的奶茶可能會有空氣中的細菌掉進去，所以生菌數應該較多。 |

任務三　在簡易無菌操作模式下，執行稀釋塗盤法。〈參考第1週課程學習單（技巧）P.2〉

任務四　拍照記錄塗盤結果，將照片浮貼於下方表格，並計算菌落數目。（應註明處理組別與稀釋倍率）

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| 處理組別： 稀釋倍率： | 處理組別： 稀釋倍率： |
|  |  |
| 處理組別： 稀釋倍率： | 處理組別： 稀釋倍率： |
|  |  |
| 處理組別： 稀釋倍率： | 處理組別： 稀釋倍率： |

喝大冰奶總是「烙賽」？－飲料生菌數檢測

第1週課程 學習單（技巧）

班級：　　　　　　座號：　　　　　　組別：　　　　　　姓名：

原理介紹與實作

技巧一　微量吸管使用

|  |  |
| --- | --- |
|  | 調整刻度，並選用適當大小的tip。  例1：吸取1000 μl，應調整刻度至　　　　。  例2：吸取 520 μl，應調整刻度至　　　　。 |
|  | 安插tip至微量吸管上。  注意：1根據吸取液體量選用適當大小的tip。  NOTIC2切勿以手去調整tip的鬆緊。 |
| 按壓至第一段  緩慢鬆開  垂直插入  液體內 | 吸取液體  1 在液體外，按壓至第一段，準備吸取液體。  2 將tip尖端垂直插入液體內，緩慢鬆開按壓處，使液體逐漸被吸入tip內。  注意：1切忌快速鬆開按壓處，使液體上沖。  NOTIC2吸取液體時，tip尖端應保持在液面下。 |
| 按壓至  第二段  鬆開  按壓處 | 吐出液體  1 緩慢按壓，使吸取的液體離開tip，注入容器。  2 按壓第一段至底處後，需再施力按壓第二段將所有液體排除。  3 在按壓狀態下，tip尖端離開容器的液面後，才可以鬆開按壓處。 |
| 退除tip 按壓處 與 吸吐液體  按壓處不同 | 退除tip  1 按壓圖中位置構造，將tip退除在垃圾桶中。  2 吸取不同液體時，需更換tip，以避免污染。 |

※ 技巧練習活動：以正確方式使用微量吸管，每人每次吸取200 μl的蒸餾水放至eppendorf中，共執行10次吸取動作後（重複步驟、共10次），再將tip退除。

技巧二　簡易無菌操作流程 & 稀釋平板塗抹法

|  |  |
| --- | --- |
| 將待塗抹的LB培養基，以及浸泡於酒精的L玻棒/塗菌棒置於本生燈（亦可用酒精燈）周邊。打開本生燈，利用其製造的上升氣流營造簡易的無菌操作空間。 | 在手上噴灑75%酒精，完成簡易的清潔工作。待酒精快完全揮發後，再開始塗盤作業。 |
| 將塗菌棒從浸泡的酒精取出，於本生燈火焰上來回移動數次後移開，置於無菌操作空間靜待其冷卻至適當溫度。（注意：靜置時，不可讓塗菌棒塗抹區接觸到其他物體） | 1 以微量吸管吸取100μl待測液體，置於LB培養基中。  2 以左手旋轉培養皿，右手則取塗菌棒來回移動，以達到均勻塗抹之目的。 |

技巧三　序列稀釋原理介紹與實作



100 l B管溶液

＋

900 l蒸餾水

C管溶液

（稀釋　　　倍）



100 l A管溶液

＋

900 l蒸餾水

B管溶液

（稀釋　　　倍）



100 l待測液體

＋

900 l蒸餾水

A管溶液

（稀釋　　　倍）

以微量吸管吸取900 μl 蒸餾水，置於eppendorf（A管）中。

替換tip後，再以微量吸管吸取100 μl待測液體，加入A管中，蓋上蓋子，上下轉動混合液體，即完成A管溶液置備。

依照右圖完成序列稀釋工作。