

草履蟲攝食與消化實驗方法的改進

高中組生物第三名

省立新竹高級中學

作者：鍾國棟、曾煥裕等四名

指導老師：陳清德



一、研究動機：

「老師！我們已經花了快兩個鐘頭的時間，而且標本片也換了三、四片了，就是看不到草履蟲的食泡由紅色變成藍色，怎麼辦？」

當我們做「草履蟲的營養與調節」的實驗時，若依照實驗指導的方法，用剛果紅粉末加酵母菌懸浮液一起煮沸，經草履蟲攝食後，形成鮮紅色的食泡。我們觀察了數十分鐘，食泡依然呈現

紅色，並沒有變成藍色或其他顏色，與課本的理論不相符合。所以同學們都抱怨實驗做不出來而白白浪費時間，難道這是理論有錯誤嗎？

因此我們懷疑這個實驗的設計可能有不妥之處，需要加以改進。

二、研究目的：

(一)尋求一種可行的辦法，以便能順利完成實驗，以免浪費時間，並使同學們更深入的了解課本的理論，而消除對課本理論的懷疑。

(二)找出課本上實驗方法的缺點，並提供給課本編者做為修正的參考。

三、實驗器材：

顯微鏡	酒精燈	pH 值測定器	三腳架
定溫箱	溫度計	電磁攪拌器	石綿網
照相機	燒杯	電動天平	棉花
剛果紅	漏斗	甲基纖維素	濾紙
酵母菌	鹽酸	葡萄糖	滴管
蛋白脲	牙籤	蒸餾水	量筒

四、實驗方法：

(一)剛果紅溶液 pH 值改變之呈色反應：

1 將 0.1gm 的剛果紅粉末溶於 50ml 的蒸餾水中充分攪拌，使其溶解，並過濾之。

2 取 30 ml 剛果紅溶液，用已經調整好之 pH 值測定器，測出其 pH 值。

3 用 1 % 稀鹽酸緩緩加入液中，並充分混合。注意 pH 值的改變，同時觀察剛果紅顏色的變化。

(二)用 HCl 滴定剛果紅溶液：

1. 取剛果紅溶液 50ml (如上述配製) ，置於 200 ml 之燒杯中，放在電磁攪拌器上，並插入 PH 值測定器之電極。
2. 用 1 ml 滴管吸取 1 % HCl ，每次滴入 0.05 ml ，並充分混合。
3. 讀取 pH 值，繪出其反應曲線。

(三) 酵母菌之染色實驗：

1. 取乾燥酵母菌 10gm 加水 400 ml ，另外加入蛋白胨 1 gm ，葡萄糖 10gm ，攪拌後置於 25 °C 定溫箱中一天。
2. 取剛果紅粉末 1 gm 加蒸餾水 100ml ，溶解後用濾紙過濾之。
3. 取燒杯 3 個，標上 A 、 B 、 C ，做如下處理：
 - A 、酵母菌液 30ml 將之煮沸，加入剛果紅溶液 6ml ，共煮 8 分鐘 (微火煮沸，以免燒焦) 。
 - B 、酵母菌液 30ml 煮沸後加入剛果紅溶液 6ml ，攪拌均勻後靜置冷卻。
 - C 、酵母菌液 30 ml ，加入 6 ml 剛果紅溶液，不加熱。
4. 待 A 、 B 、 C 三杯酵母菌之剛果紅溶液染色 30 分鐘後，用顯微鏡觀察其染色情形。
5. 另取 D 、 E 、 F 三燒杯，以 0.06gm 剛果紅粉末替代 6ml 的剛果紅溶液，做如上的實驗。

(四) 草履蟲食泡顏色變化的觀察：

1. [酵母菌甲液] 之製備：取乾燥酵母菌 30gm 加水 200 ml 置於 25 °C 之定溫箱中一天 (參照實驗指導) 。
2. [酵母菌乙液] 之製備：取乾燥酵母菌 10gm 加水 400 ml ，並加入蛋白胨 1 gm 及葡萄糖 10gm ，攪拌後置於 25 °C 的定溫箱中二天。
3. 取燒杯八個，分別標記 A₁A₂A₃A₄B₁B₂B₃B₄ 並做如下處理
[A₁] : 酵母菌甲液 30ml 煮沸後加入剛果紅溶液 6ml ，再一起煮沸 8 分鐘。

[A₂]：酵母菌甲液 30ml 煮沸後加入剛果紅溶液 6ml，攪拌均勻放置冷卻。

[A₃]：酵母菌甲液 30ml 煮沸後加入剛果紅粉末 0.06 gm 再一起煮沸 8 分鐘。

[A₄]：酵母菌甲液 30ml 煮沸後加入剛果紅粉末 0.06 gm 混合均勻放置冷卻。

[B₁]：酵母菌乙液 30ml 煮沸後加入剛果紅溶液 6ml，再一起煮沸 8 分鐘。

[B₂]：酵母菌乙液 30ml 煮沸後加入剛果紅溶液 6ml，攪拌均勻放置冷卻。

[B₃]：酵母菌乙液 30ml 煮沸後加入剛果紅粉末 0.06 gm 再一起煮沸 8 分鐘。

[B₄]：酵母菌乙液 30ml 煮沸後加入剛果紅粉末 0.06 gm 混合均勻放置冷卻。

4. 用 pH 值測定器分別測定酵母菌甲液、酵母菌乙液及 A₁A₂A₃A₄B₁B₂B₃B₄ 之 pH 值。

5. 用甲基纖維素在載玻片上塗一小圈（或用少許棉花放置於載玻片上），滴一滴草履蟲培養液並加一小滴 A₁ 之酵母菌懸浮液，蓋上蓋玻片，以顯微鏡觀察食泡顏色的變化。

6. 仿 A₁ 之方法做 A₂A₃A₄B₁B₂B₃B₄ 之實驗。

7. 紀錄食泡由紅色轉變成藍色所需要的時間。

(五) 利用「改進實驗方法」觀察草履蟲食泡消化：

1. 草履蟲之收集：

(1) 取低壓直流電源器一個，將電壓調整在 3 伏特左右（或用兩個乾電池串連），並接上一條 50 公分之導線（附電極夾）。

(2) 將導線之兩極距離 5 公分左右插入培養草履蟲之燒杯中（如圖所示）。

(3) 經 30 秒後用吸管在“負極”附近，吸取密集在負極附近的草履蟲，放入試管中備用（利用其趨向負極的特性，將

草履蟲濃縮，收集時間不要超過 5 分鐘，否則草履蟲即開始往下沉）。

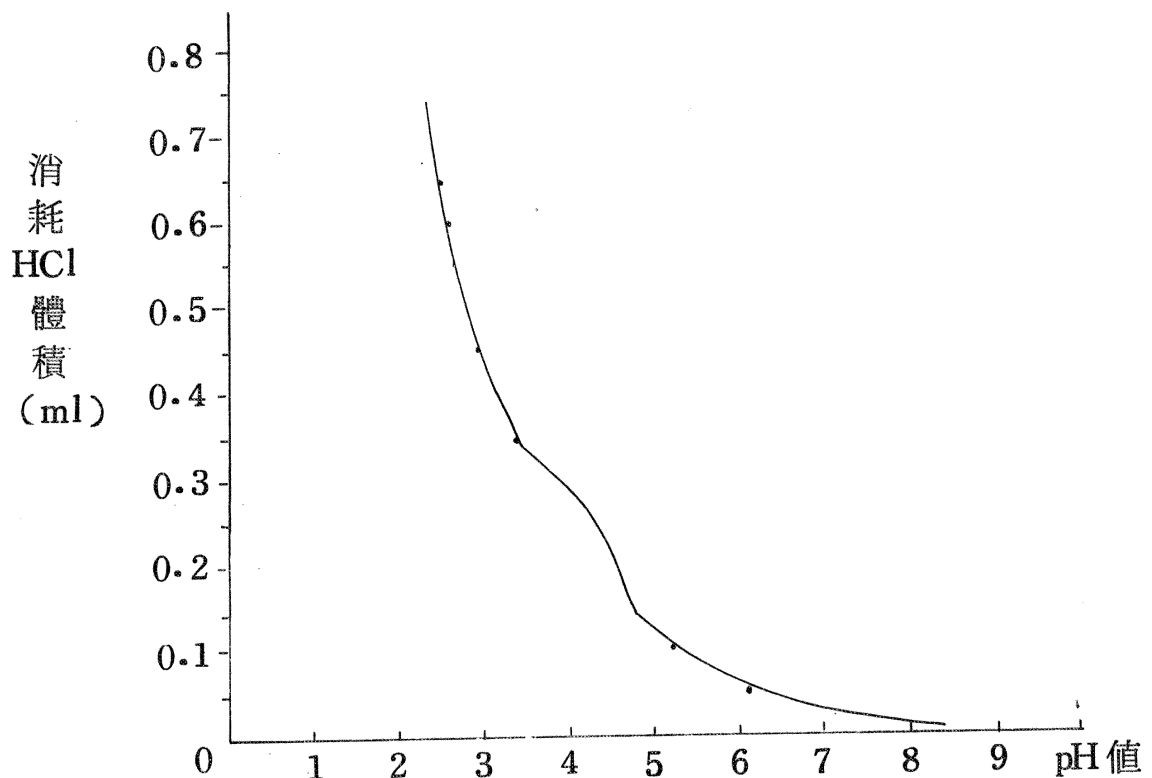
2. 將濃縮之草履蟲液一滴，滴在一乾淨的載玻片上（通常有10隻以上的草履蟲）覆上少許攤開之棉絮。
3. 加上一小滴經過改進方法配製的剛果紅酵母菌液，蓋上蓋玻片。
4. 立即放在顯微鏡下找出被卡在棉絮中的草履蟲，觀察其食泡的消化過程。

五、實驗結果：

(一)剛果紅溶液 pH 值改變之呈色反應：

	未加 HCl	用 HCl 滴定				
pH 值	9.6	9.6 → 5.3 → 3.4 → 3.0 → 2.8 → 2.1				
顏色	紅色	紅	紅	紫	藍紫	藍

(二)用 HCl 滴定剛果紅溶液：



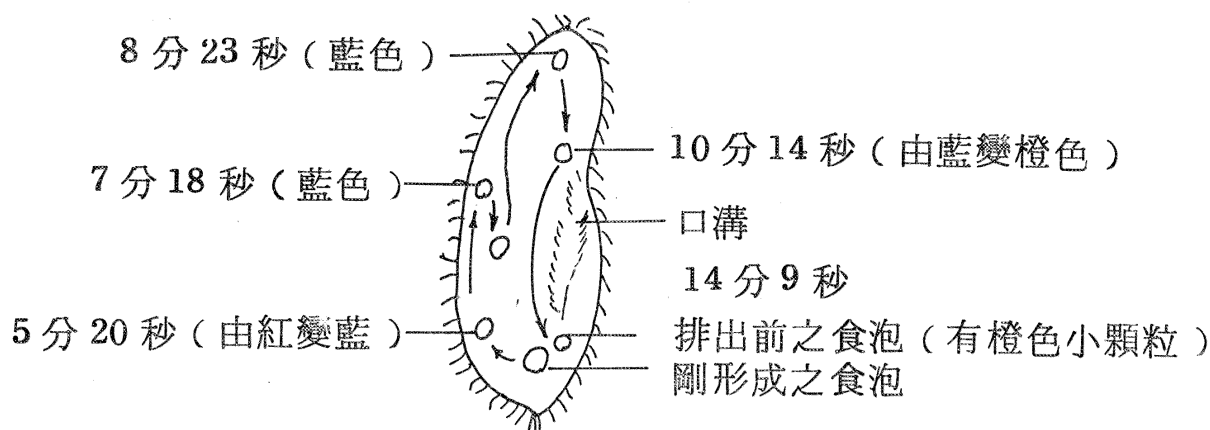
(三) 酵母菌之染色實驗：

	酵母菌液的顏色	顯微鏡下的觀察
A 酵母菌煮沸+剛果液 紅溶液一起煮	鮮紅色	酵母菌染成紅色或橙紅色
B 酵母菌煮沸+剛果液 紅溶液不再煮	鮮紅色	少數酵母菌染成紅色，大部分為橙紅色
C 酵母菌煮沸+剛果液 紅溶液，不煮	鮮紅色	少數酵母菌染成橙紅，大部分未染上顏色
D 酵母菌煮沸+剛果液 紅粉末一起煮	鮮紅色	酵母菌染成紅色或橙紅色
E 酵母菌煮沸+剛果液 紅粉末不再煮	鮮紅色	少數酵母菌染成紅色，大部分為橙紅色
F 酵母菌不煮+剛果液 紅粉末，不煮	鮮紅色	少數酵母菌染成橙紅，大部分未染上顏色

(四)草履蟲食泡顏色變化的觀察：

	pH 值	
酵母菌甲液 (只加水酵母菌濃度低)	5.4	
酵母菌乙液 (加葡萄糖, 蛋白, 酵母菌濃度高)	4.7	
A ₁ (酵母菌甲液煮沸後+剛果紅溶液, 再一起煮。)	6.0	10 分鐘後有少數草履蟲 (食泡較小) 出現紫色食泡, 30 分鐘後仍無藍色食泡出現 (因酵母菌濃度高形成食泡大)。
A ₂ (酵母菌甲液煮沸後+剛果紅溶液, 不再煮沸。)	6.0	8 分鐘後有少數草履蟲出現紫色食泡 (小食泡變藍色), 30 分鐘後, 大食泡都保持紅色。
A ₃ (酵母菌甲液煮沸後+剛果紅粉末, 再一起煮。)	6.0	60 分鐘後, 未發現食泡變色藍色。
A ₄ (酵母菌甲液煮沸後+剛果紅粉末, 不再煮。)	6.0	60 分鐘後, 未發現食泡變色藍色。
B ₁ (酵母菌乙液煮沸後+剛果紅溶液一起煮。)	5.1	5 分鐘後, 發現食泡由紅變藍, 部分草履蟲尚未變色, 8 分鐘後大部分草履蟲皆有藍色食泡出現 (食泡較小者先變色)
B ₂ (酵母菌乙液煮沸後+剛果紅溶液不再煮。)	5.1	3 分鐘後, 發現食泡由紅變藍, 部分草履蟲尚未變色, 7 分鐘後, 所有草履蟲皆有藍色食泡出現。
B ₃ (酵母菌乙液煮沸後+剛果紅粉末, 再一起煮。)	5.1	42 分鐘後, 有少數草履蟲形成藍色食泡。
B ₄ (酵母菌乙液煮沸後+剛果紅粉末, 不再煮。)	5.1	13 分鐘後, 有少數草履蟲有藍色食泡出現。 30 分鐘後仍有部分草履蟲的食泡未變成藍色

(五)利用「改進實驗方法」觀察草履蟲食泡消化：



1 食泡顏色及體積之變化：

食泡剛形成時體積較大，由後端向前運行，逐漸變小一點，在後端即已變成藍色。食泡流動時有滯留不動現象，或作小範圍來回流動，再向前移，然後由前端向後移動，此時顏色漸變橙色，體積並無明顯變化。(如上圖所示)

2 未消化食物排除情形：

當食泡移近口溝下方而靠近細胞邊緣時，食泡中仍可看到少數橙色顆粒及無色顆粒，食泡體積仍然未變小。此時蟲體突作順時方方向旋轉(在原地)，此食泡消失不見，而在體外多出一團顆粒狀物質，肛孔之確實位置應位於口溝下方近側，可惜未能明顯地看出來。

六、討論：

(一)測量剛果紅 pH 值之呈色反應，其目的在檢定所用之指示劑本身並無問題，並瞭解剛果紅由紅色變藍色所需的 pH 值。

(二)根據實驗指導說明，是用 0.1gm 剛果紅粉末加入於 50ml 的酵母菌溶液中，我們改用 1 gm 剛果紅粉末加入於 100 ml 的蒸餾水中，經過濾以除去未溶解之顆粒，再取濾液 10ml 加入酵母菌溶液 50ml 中，兩者之剛果紅濃度近似。

(三)直接將剛果紅粉末加入酵母菌溶液中，經草履蟲攝食後所形成

- 的食泡較大，呈現一團紅色，無法清楚地分辨出食泡中一粒粒的酵母菌，而用剛果紅溶液加入酵母菌溶液中則形成的食泡內之酵母菌一粒粒清晰可見。
- (四)若酵母菌液所含的酵母菌密度高時經草履蟲攝食後所形成的食泡較大，反之則形成較小的食泡，食泡太大時不易由紅色變藍色。
- (五)用葡萄糖培養的酵母菌，一天後可聞到一股酸味（ pH 值=5.3）放置愈多天則酸味愈濃，且 pH 值愈低（三天後 pH 值=3.7）而只加水於酵母菌液者，則 pH 值無大改變。
- (六)用甲基纖維使草履蟲運動速度減慢便於觀察，但當蓋玻片蓋下時酵母菌染色液容易向四方散開在甲基纖維素上，所以草履蟲極不易攝食而形成食泡，且經約20分鐘後即相繼死亡。（缺水）但改用棉絮處理，不僅能將草履蟲羈限在一定的小範圍中且在一分鐘內即可看到形成之紅色食泡，且草履蟲不致缺水而死（可以在棉絮上加水使其滲透進去）故能觀察較長的時間。
- (七)剛果紅溶液呈鹼性，故不宜加太多數量於酵母菌溶液中，以免 pH 值太高，致使草履蟲的食泡不易變色但亦不可太少，否則酵母菌染上的紅色很淡，不易觀察。
- (八)根據實驗指導：將酵母菌溶液煮沸後，加入剛果紅粉末再煮沸（或保持近於沸點）八分鐘，在顯微鏡下觀察，酵母菌成鮮紅色，整個溶液之 pH 值雖未見升高，但可能酵母菌染上較多的剛果紅，經草履蟲攝食後形成食泡，其消化時所分泌之酸液不足以使剛果紅由紅色轉變為藍色，所以食泡不能變為藍色，或只有小食泡變為紫色而已（此種情形與食泡過大而不能變色之情況一樣）。
- (九)將剛果紅酵母菌懸浮液加1 / 100 HCl使其顏色近於暗紅色時（ pH =5.4）滴入草履蟲培養液，放在顯微鏡下觀察，發現草履蟲皆死亡且蟲體破裂，顯然不宜用酸來降低酵母菌懸浮液之 pH 值。
- (十)用剛果紅溶液及剛果紅粉末來染酵母菌其結果大致相同，但用

粉末來染色，可能酵母菌液會帶有顆粒，經草履蟲攝食後較難變色，故不宜用粉末染色。

七、結論：

由實驗的結果及實驗的過程所發現的問題可知，做草履蟲的消化實驗時，若要在短時間內就能觀察到食泡由紅色變為藍色，則在實驗材料的準備上，必須做以下的改進：

(一)設法降低酵母菌懸浮液的 pH 值：

在培養酵母菌時不要只加清水，應再加入少量的葡萄糖及蛋白胨，做為其生長所需要的養分，並放置一天以上，當酵母菌進行代謝時放出二氧化碳或其他物質可以使酵母菌溶液之 pH 值降低，則當其煮沸而再加入剛果紅溶液後，pH 值較只加清水之酵母菌液低，有利於食泡顏色變化的觀察。

(二)減少酵母菌懸浮液中酵母菌之密度：

將實驗指導所記載的酵母菌用量減低到十分之一較為恰當（100 ml 的水加入酵母菌 2 到 3 克），以免草履蟲一下子因攝食太多的酵母而形成大食泡，使得食泡內的 pH 值難以下降，導致食泡無法變色。

(三)不要使酵母菌染色過度：

1. 活的酵母菌不易被剛果紅染色，故應先將酵母菌懸浮液煮沸後，再加入剛果紅，使其冷卻，可得適當的染色，如果再煮沸（或保持近沸騰）8 分鐘，則造成過度染色的現象，以致食泡 pH 值不易下降。

2. 用剛果紅過濾液，不要用剛果紅粉末直接加入酵母菌溶液內，以防有未溶解的剛果紅顆粒連同酵母菌一起被草履蟲攝食而產生較高的 pH 值之食泡，致使食泡不能由紅色變為藍色

八、參考資料：

(一)梁潤生等編著新復興高中生物實驗下冊，實驗十七—草履蟲的觀察，中華民國六十八年，九版。

(二)陳兼善·于名振編著，新編開明高中選修生物實驗，實驗三一
細胞膜的透過性(二)，中華民國六十二年八月初版。

(三)陳兼善·于名振編著，開明高中生物實驗下冊，實驗十九—草
履蟲營養與調節，中華民國六十九年十二月八版。

(四)東方書店編輯部，實用化學工業全書第六冊染料篇，P.364 中
華民國五十三年，台灣東方書店。

評語：1 本作品針對實驗草履蟲消化時方法上之缺點加以改進、研究
方法及態度尚稱嚴謹。

2 所得結果可以廣泛應用於一般實驗課程。

3 參考資料有待加強。