

中華民國第四十六屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物(生命科學)科

040721

吃葡萄不吐葡萄皮？(揭開葡萄果粉之謎)

學校名稱： 國立卓蘭實驗高級中學

作者：	指導老師：
高二 李巧雯	張郁涵
高二 郭婉婷	吳慕偉
高二 羅飛文	
高二 黃士漢	

關 鍵 詞：葡萄果粉、酵母菌、生長曲線

作品名稱：吃葡萄不吐葡萄皮？——揭開葡萄果粉之謎

壹、 摘要：

葡萄果粉指的是葡萄外一層白霧狀的粉末，根據文獻的說明(梁小娥、張大鵬，2000)，葡萄果粉是酵母菌的聚集，葡萄上有多種酵母菌，於成熟後不同含量、不同品種的酵母菌可以釀出不同風味的葡萄酒。

於是我們使用可以培養酵母菌的培養基(glucose-yeast extract-peptone broth)來進行果粉的培養。在過程中，我們發現果粉的培養是比較容易的，但要如何比較不同條件下，葡萄果粉生長情形，這一點就是一個大難題。過程中我們想了很多方法，最後找到一個方法，可以較客觀的進行不同條件下果粉生長比較。我們使用的是單位面積上的果粉含量。利用阿基米德原理，測量出葡萄的體積，再使用球體體積與表面積的關係，推算出葡萄表面積的近似值。(詳見實驗方法)



葡萄果粉經過培養之後，我們可以分離出五種微生物，分別是拋孢酵母(*Sporobolomyces roseus*)、芽枝枝孢黴(*Cladosporium chadosporioides*)、發酵型結合酵母(*Zygosaccharomyces fermentati*)、泛菌(*Pantoea agglomerans*)、仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)，其中芽枝枝孢黴與仙人掌桿菌是屬於對人體可能有害的，因此吃葡萄還是要吐葡萄皮，而且最好是要經過清洗。

另外，我們設計了三種條件——勃激素組(使葡萄生長得好)、正常組、鐵絲組(以鐵絲綁緊枝條，使韌皮部運送養分困難)，來觀察葡萄生長的好壞與果粉生長的情形有無關係。我們發現勃激素組與正常組的果粉生長速度與密度相似，且以勃激素組略佳，而鐵絲組的果粉生長情形則是不佳。於是我們推論葡萄生長的好壞會影響果粉生長的情形。另外，我們將葡萄上的果粉大致除去，並以手指沾取，經過一星期觀察新長出來的果粉，我們發現手指的細菌無法生長於葡萄上，而且新長出來的果粉仍是五種已發現的微生物。以上兩實驗給我們一個結論，證明了葡萄與果粉之間有某種程度的依存關係，但深入的機制我們還無法得知。

貳、 研究動機：

常常在吃葡萄時，思考著到底葡萄上白白的粉末到底是什麼？吃了對身體是好是壞呢？由於，我們的家鄉——卓蘭鎮，正是全台最有名的巨峰葡萄產地，居民大多以種植葡萄及其他水果維生，幾經左右鄰居、親戚朋友詢問，有人說那吃了不好，絕對要洗的乾淨，最好用刷子刷掉，或是用清潔劑洗掉；有人說葡萄從小套袋，農藥噴不到上面，那些是葡萄的營養物質，吃了抗氧化、抗癌。有趣的是，即使身處葡萄產地，也無法對葡萄外那層果粉說出個所以然，爲了揭開葡萄果粉之謎，我們投入了此次的實驗研究。

參、 研究目的：

- 一、 葡萄果粉包含哪些微生物？
- 二、 葡萄果粉與葡萄之間的關係探討
- 三、 葡萄果粉吃了之後對人體健康是否有影響？

肆、 研究設備與器材：

一、實驗中所使用培養基配方：(1 L)

(一)、 酵母抽出物		10g
(二)、 洋菜膠粉		18g
(三)、 葡萄糖		10g
(四)、 蛋白胨		20g

二、葡萄與果粉之間的關係(對照組、勃激素組、鐵絲組、去果粉組)

(一)、 無菌水		
(二)、 葡萄 (同一株葡萄樹)		20 串
(三)、 農用鐵絲		10 支
(四)、 勃激素		稀釋 800 倍
(五)、 50 西西(ml)含蓋離心管		20 個
(六)、 離心機		
(七)、 離心管		
(八)、 培養皿		
(九)、 培養基		
(十)、 自製挑菌針		
(十一)、 恆溫箱		
(十二)、 高壓滅菌爐		
(十三)、 無菌操作台		
(十四)、 顯微鏡		
(十五)、 冰箱		
(十六)、 蒸便當箱(乾燥用)		

伍、 研究過程與方法：

一、實驗零：測試葡萄果粉含量

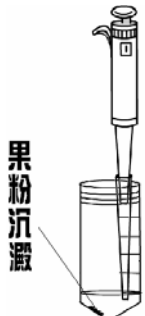
由於國內外文獻中均無查詢到相關文獻作葡萄果粉的深入探討，因此一開始的實驗均需一一測試。

(一)、 如何取得葡萄果粉：

方法一	方法二
 以針刺住，再用螺絲起子刮掉 (1) 以自製竹筷-針固定葡萄，然後使用可以刮下葡萄果粉的器具(如扁頭的螺絲起子) (2) 將刮下的果粉沾入無菌水中 (3) 將此果粉液以吸量管混合均勻，再置入離心機中離心，觀察果粉沉澱情形 (4) 反覆數次，所得到的果粉是足夠觀察的。 (5) 此方法雖方便，但在第一步驟事實上葡萄會被我們弄爛，且在刮取時，也容易自竹筷-針掉落，這樣反而會增加更多實驗誤差，故不採用。	 (1) 在消毒過的 50ml 離心管裡，加入 10ml 無菌水，使葡萄泡在無菌水中 (2) 將整個離心管蓋上蓋子，並搖晃之，持續十分鐘，將果粉與水混合(老師說若能使用均質機震盪，則是最佳的選擇，可惜校內並無此設備) (3) 取出葡萄，並將剩下的液體使用吸量管混合均勻，吸出 5ml 置入另外一支離心管離心 (4) 離心之後觀察底下的沉澱物(果粉)是否足夠多 (5) 反覆數次，發現上述方法所得到的果粉足夠拿來培養。

(二)、 葡萄果粉中的微生物大概需要稀釋多少倍才會比較好觀察？

一開始我們擔心所得到的果粉，雖然沉澱多，但經過培養搞不好會不易觀察，因此我們想出一個濃縮果粉液的方式

項目	說明
 果粉沉澱	(1) 一開始的果粉液是使用 10ml，經過離心之後，小心吸出 5ml 的澄清液 (2) 剩下的果粉液混合均勻後，取出 1ml 拿去培養，結果發現微生物會生長得太密集

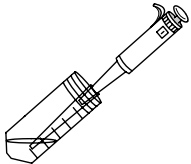
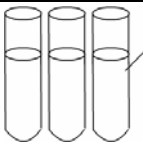
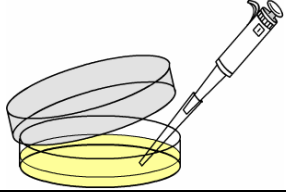
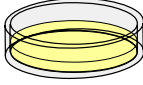
(三)、後來經過反覆的實驗，我們發現：

我們將葡萄生長期自結果至成熟的過程，分成第零期到第十期，每期的間隔為兩禮拜，整個生長期為五個月。我們從第三期開始觀察，直到第十期成熟結束。

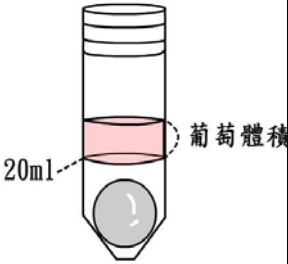
生長期	稀釋倍數
第三期至第四期	使用 10x 稀釋液培養
第五期	使用 15x 稀釋液培養
第六期	使用 100x 稀釋液培養
第七期至第八期	使用 1000x 稀釋液培養
第九期至第十期	使用 10000x 稀釋液培養

二、實驗一：葡萄果粉中的微生物生長曲線

(一)、推算葡萄果粉總量

步驟	說明	備註
	將 50ml 離心管使用消毒高壓爐消毒	90min
	加入 10ml 的無菌水	
	放入採下的葡萄，並蓋上蓋子，開始上下搖晃	10min
	吸出 1ml 的果粉液	
	進行連續稀釋	
	吸取最後稀釋液 1ml 加入培養基	
	放進恆溫培養箱培養	兩天
說明：自培養那天起，為第一天，到第三天時，就可觀察培養皿中的情形。		
	數菌落數，並加以記錄	

(二)、計算葡萄表面積

步驟	說明	備註
1	 加入 在有刻度的 50ml 離心管中加入 20ml 水	
2	 20ml 葡萄體積 加入葡萄，葡萄佔用水的體積，會使水面上升	
3	 10ml 的量筒 以 20ml 為基準，多出來的水以吸量管注入 10ml 大小的量筒中，利用阿基米德原理，測量出葡萄體積	
說明： 假設葡萄接近正球體，因為球體體積(V) = $\frac{4}{3} \pi r^3$，且表面積(A) = $4 \pi r^2$ 由此可推知： $\frac{V^2}{A^3} = \frac{1}{36\pi}$ 利用此關係式，即可推算出葡萄的表面積。		

說明：

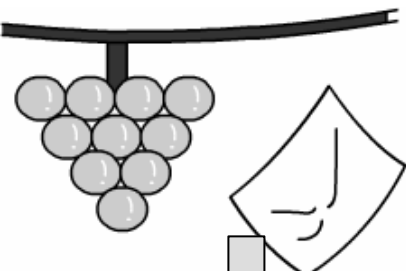
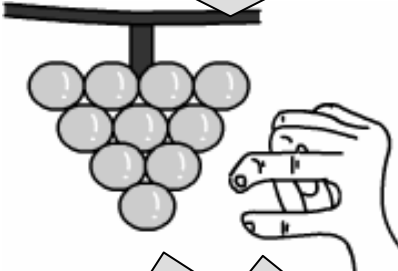
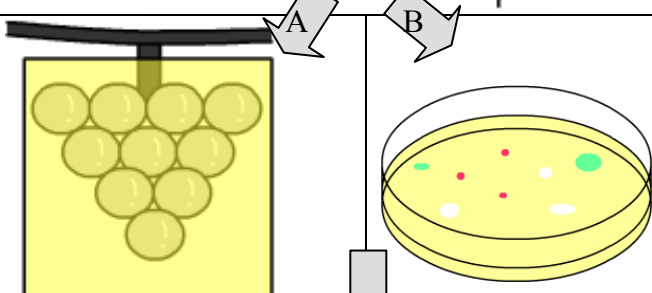
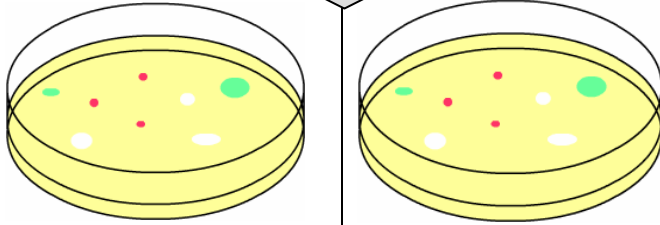
由第一點可推算出一顆葡萄的果粉上總微生物總量，而第二點可知一顆葡萄的表面積為何，由這兩個結果可得知：

$$\text{微生物總量} / \text{表面積 (cm}^3\text{)} = \text{單位面積微生物數量} = \text{葡萄果粉微生物密度}$$

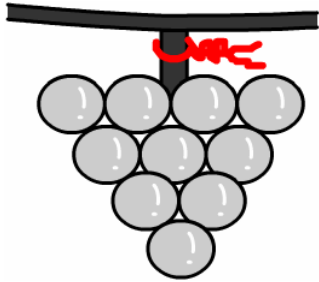
我們就是利用上述方式，將不同生長時期葡萄上所得到的微生物密度，繪製成生長曲線圖，以作記錄。

三、實驗二：葡萄果粉與葡萄之間的關係探討

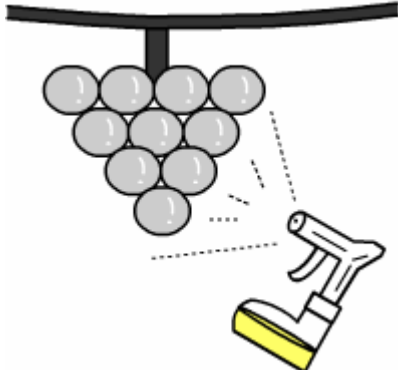
(一)、葡萄果粉與葡萄是否有依存關係？

項目	說明
	把葡萄上的果粉以衛生紙抹去，並使用無菌水沖洗
	以手指沾上葡萄表面
	(A) 將葡萄套袋，並於三天後觀察 (B) 培養手指上的微生物
	比較(A) (B)兩盤的微生物種類，並記錄之。

(二)、 當葡萄長的不好時，是否影響果粉？(鐵絲組)

項目	說明
	在葡萄生長時，使用鐵線緊緊綁住葡萄的枝條，為的是要減少韌皮部運送來自葉片行光合作用的養分
↓	
之後重複實驗一，作此種條件下葡萄果粉的生長曲線。	

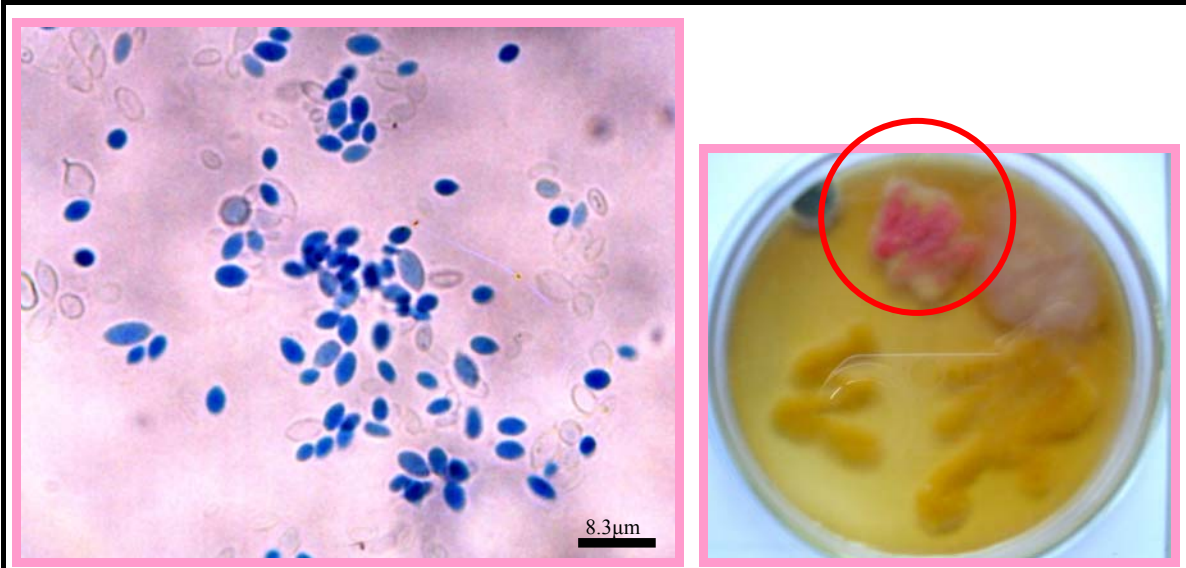
(三)、 當葡萄長的好時，是否影響果粉？(勃激素組)

項目	說明
	在葡萄第三期噴灑勃激素，會使葡萄果粒較大、生長情況較佳。 (林嘉興等人。1995。葡萄產業發展之探討。)
↓	
之後重複實驗一，作此種條件下葡萄果粉的生長曲線。	

陸、研究結果：

- 一、葡萄果粉經過培養之後，我們發現在各個生長期中，若使用 yeast-glucose extract-peptone 培養基，一共只會出現五種微生物，其中三種為真菌類，兩種為細菌。真菌類是經由專家鑑定，細菌送至生技公司進行基因定序，其結果介紹如下：

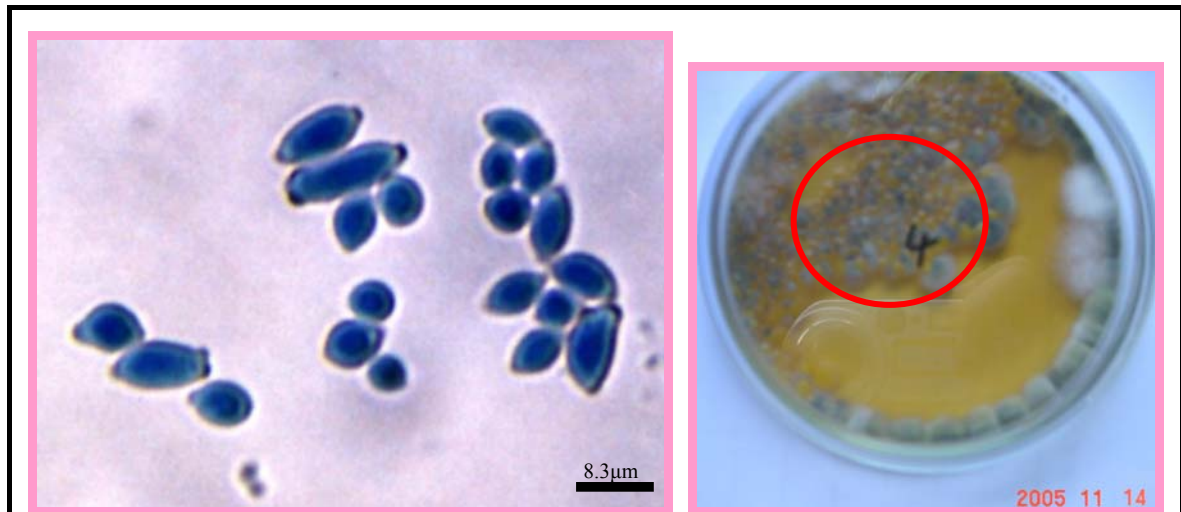
(一)、 拋孢酵母菌(*Sporobolomyces roseus*)



拋孢酵母(*Sporobolomyces roseus*)：

又稱鏡酵母(Mirror-image yeast)，為奶油狀、粉紅色或是紅色的菌落；出芽生殖的芽體朝極性方向以線狀排列，有些是沒有假菌絲的，有些有簡單的假菌絲，另外有的是具有隔膜的菌絲。具有不對稱的彈力分生孢子，完全以無性生殖進行繁殖。

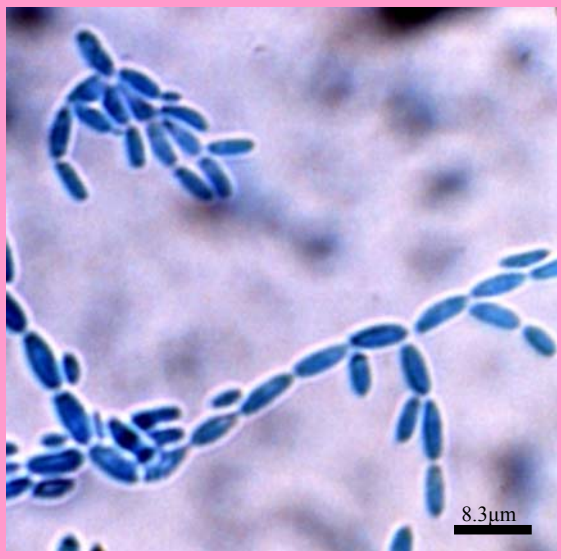
(二)、 芽枝枝孢黴菌(*Cladosporium chadosporiodes*)



芽枝枝孢黴(*Cladosporium chadosporiodes*)

直立呈黃褐色的分生孢子在樹狀的前端有分枝的芽生孢子，這就是芽枝枝孢黴的特徵。這個種類常常可藉由小分生孢子兩端所形成的暗黑色痕跡區分出來，而且這種黴菌常常在大小形態上有不同的變化。

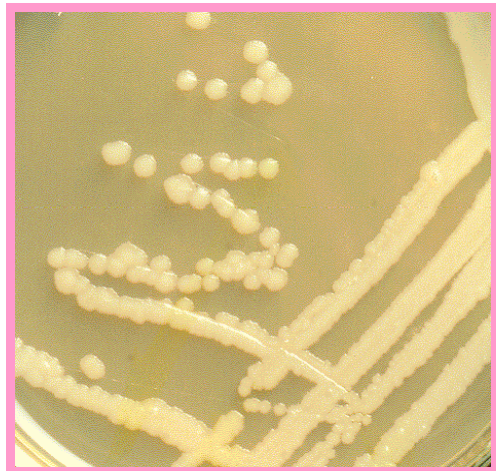
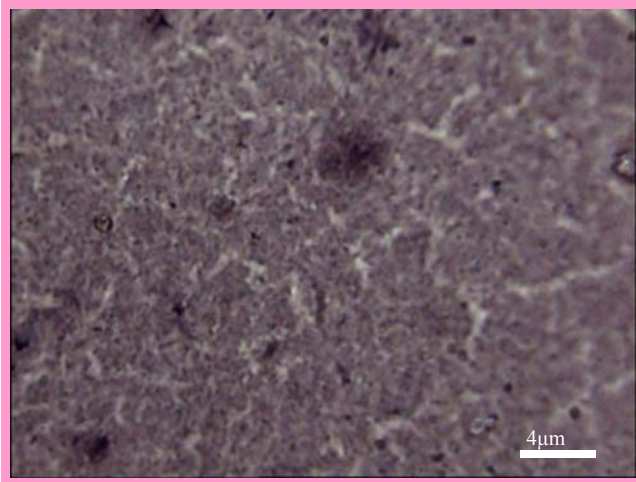
(三)、 發酵型結合酵母菌



發酵型結合酵母(*Zygosaccharomyces fermentati*)

菌落為白色的且是奶油狀，出芽生殖的方向是不固定的，沒有菌絲或是有些種類會有很簡單的假菌絲，屬於永久的囊狀體，包含有 1 到 4 個平滑且圓形的囊孢子。

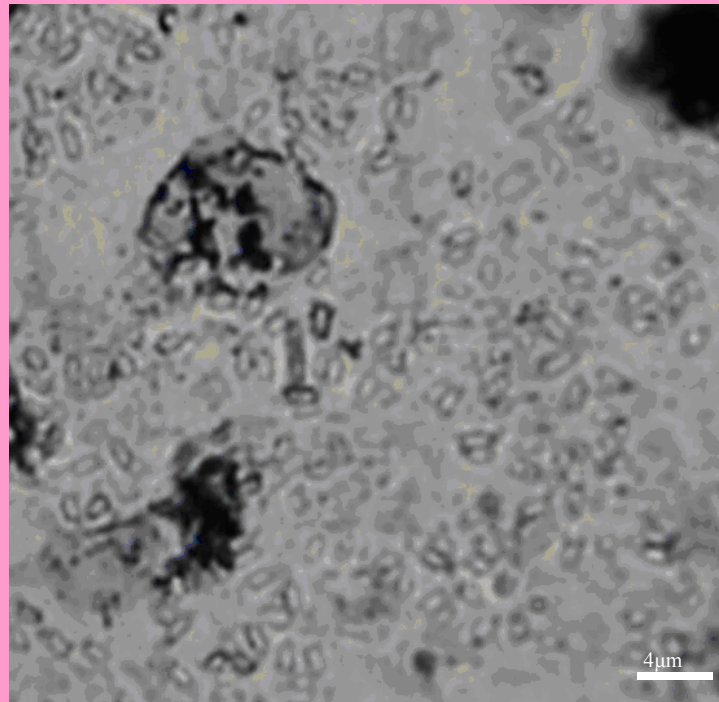
(四)、 泛菌(*Pantoea agglomerans*)



泛菌(*Pantoea agglomerans*)

又稱為 *E. herbicola*，是植物葉面上常見的一種細菌。該菌株於 10 °C 至 40 °C 的溫度範圍內皆可生長，最適合的生長溫度為 35 °C 左右；生長的 pH 值範圍為 pH5 - pH 9，最適合生長的 pH 值則是 pH 7。有彈性的生長溫度與酸鹼值，使其能在田間自然環境的變化下持續存活。部分 *E. herbicola* 菌株還可以產生抗生素抑制其他細菌或真菌的生長；例如 *E. herbicola* 菌株 Eh318 會產生抗生素 pantocin A 和 pantocin B，抑制引起火燒病病原菌(*E. amylovora*)的生長。

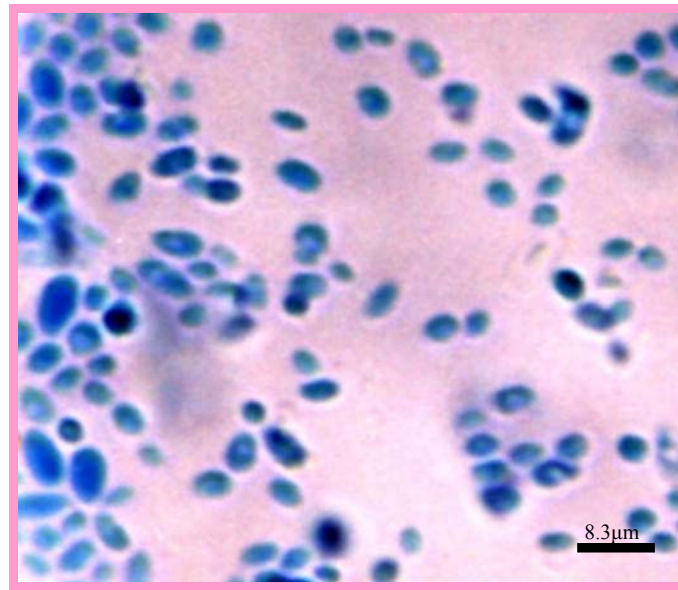
(五)、 仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)



仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)

Bacillus 包含有 51 種，此屬為好氧或兼性厭氧、產內孢子、革蘭氏陽性桿菌。在拉丁文中 *bacillus* 是短桿狀的，*cereus* 是蠟色的。*Bacillus cereus* 能產生孢子，廣泛分佈於自然界中；分佈的食品包括米飯類、乳製品及肉類等；至於香料、藥品和調味料、脫水乾燥食品也發現有 *B. cereus* 之存在。內孢子的萌發會產生毒素造成人體腹瀉與嘔吐，因此許多學者便針對如何抑制內孢子萌發方面，做了許多的研究。

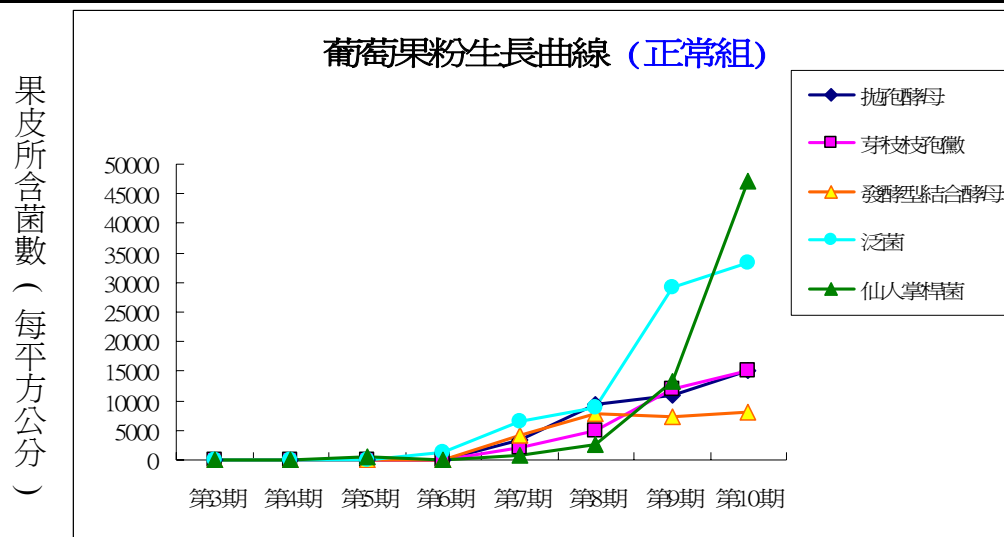
(六)、 在最後收成時，我們把葡萄採摘下來並作保存，約隔兩個禮拜，我們再做一次果粉培養，意外發現到了“釀酒酵母菌” (*Sacharomyces cerevisiae*)：



釀酒酵母菌(*Sacharomyces cerevisiae*)：

為白色奶油狀的菌落，形狀為多邊形，沒有假菌絲，永遠都是囊狀體，包含有 1 至 12 平滑卵形的囊孢子。此種酵母菌最有名的就是可以將單糖類無氧發酵生成酒精。此種酵母可加入麥芽汁中製成啤酒，但是在自然的情況下，釀酒酵母無法在葡萄表面自然的發酵，因為在有氧的情況下，只會進行快速的繁殖。

二、三種條件下葡萄果粉的生長曲線(正常組、鐵線組、勃激素組)

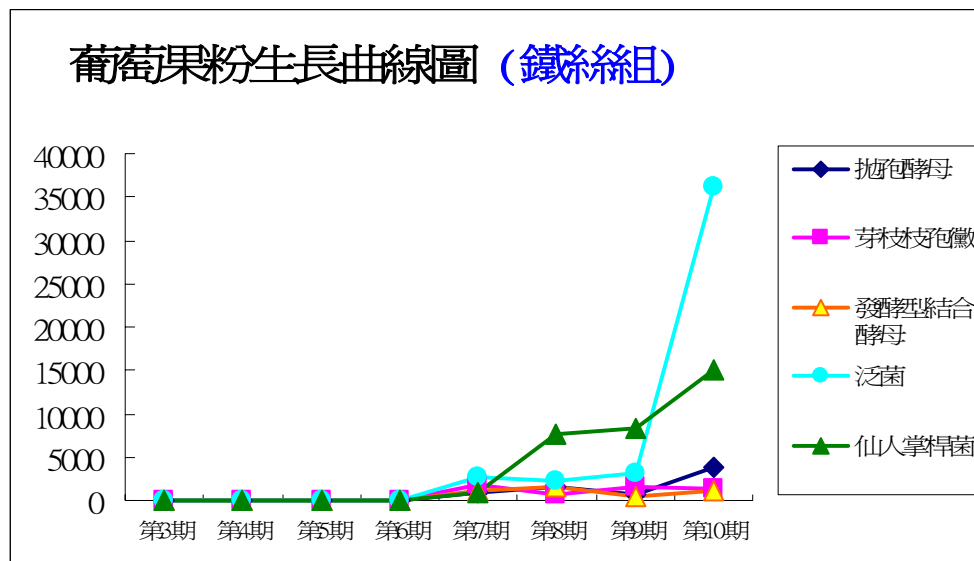


圖一

圖一說明：

- (一)、 正常條件下，葡萄果粉從第三期至第六期，五種微生物的含量均低。而其中仙人掌桿菌與泛菌在第八期後生長快速，第十期時兩者也是五種微生物中含量最多的。
- (二)、 拋孢酵母與芽枝枝孢黴、發酵型結合酵母則是呈現較穩定的成長，第六期後，成長速度增加；第十期時，芽枝枝孢黴與拋孢酵母的含量相似，以發酵型結合酵母含量最低。(附件一)

果皮所含菌數（每平方公分）

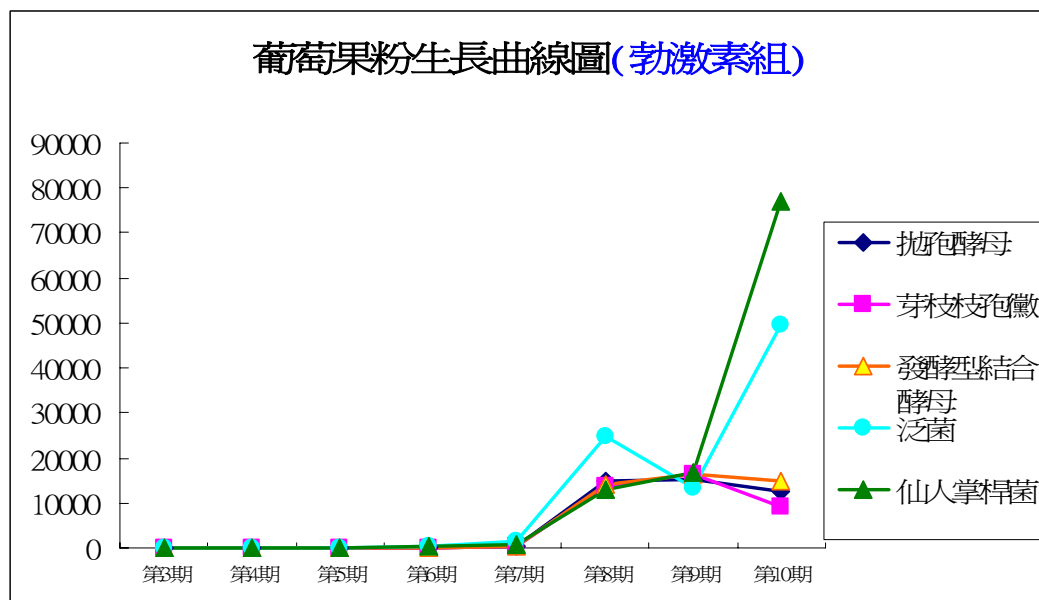


圖二

圖二說明：

- (一)、鐵絲組中果粉自第三期至第七期中，各種微生物含量均低，其中仙人掌桿菌在第七期之後生長速度較同時期其他微生物快速；而泛菌則在第九期之後呈現快速成長，第十期時，以泛菌與仙人掌桿菌含量最多。
- (二)、拋孢型酵母、芽枝枝孢黴、發酵型結合酵母三種真菌則是自第三期至第十期中，含量都偏少。(附件二)

果皮所含菌數（每平方公分）

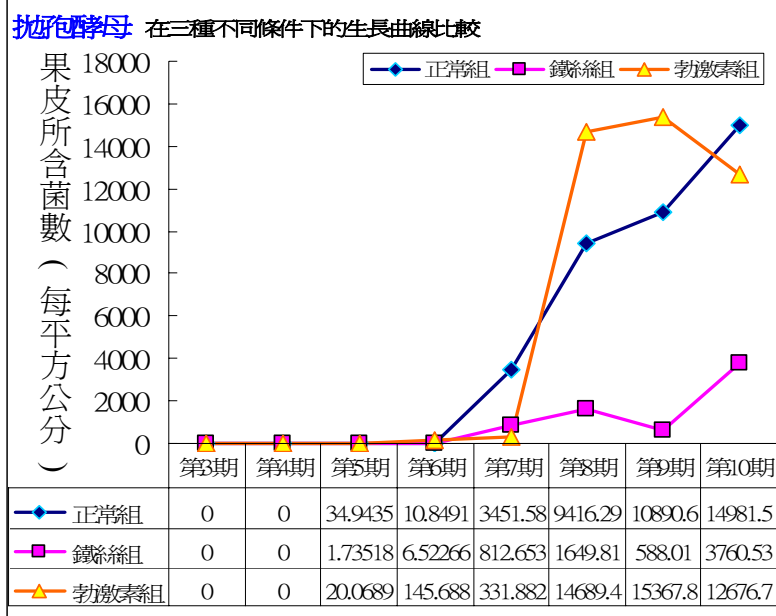


圖三

(圖三)說明：

- (一)、在使用勃激素的條件下，自第三期至第七期中，五種微生物含量均低，在第七期之後，五種微生物含量均提高。於第十期中，以仙人掌桿菌與泛菌含量較多
- (二)、拋孢酵母、芽枝枝孢黴與發酵型結合酵母在第八期至第十期含量已臻穩定，第十期時，以芽枝枝孢黴含量最低。(附件三)

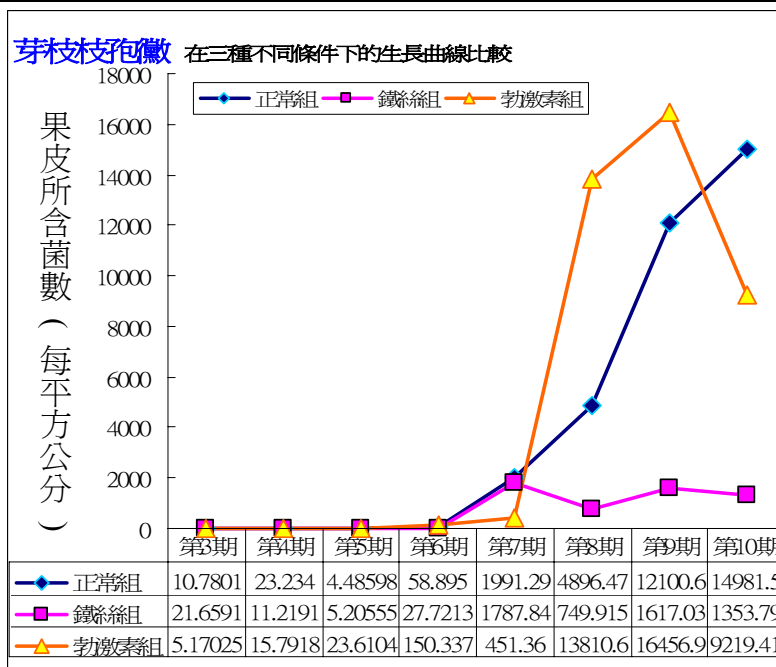
三、在不同情況下，各種微生物生長曲線的比較



圖四

圖四說明：

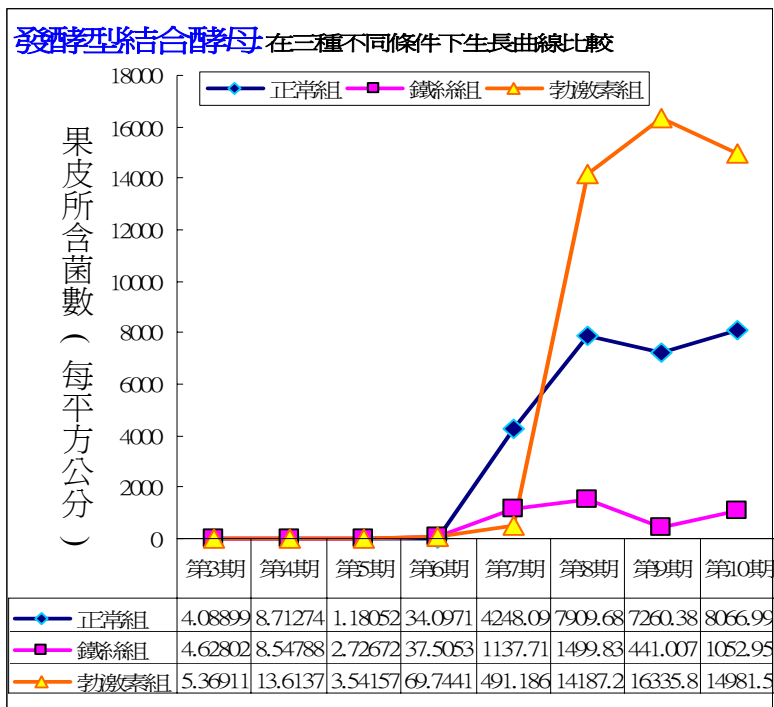
- (一)、拋孢酵母在三種條件下，皆是自第五期才出現，並非一開始就有。
- (二)、第七期後，在正常組與勃激素組中，呈現快速的成長，到第十期時，在正常組與勃激素組含量接近。
- (三)、鐵絲組則是成長較為緩慢，最後的含量也約為其他兩組的三分之一。
- (四)、以 Kruskal Wallis 檢定，顯示在三種不同條件下的生長有顯著差異($p < 0.05$)(附件四)



圖五

圖五說明：

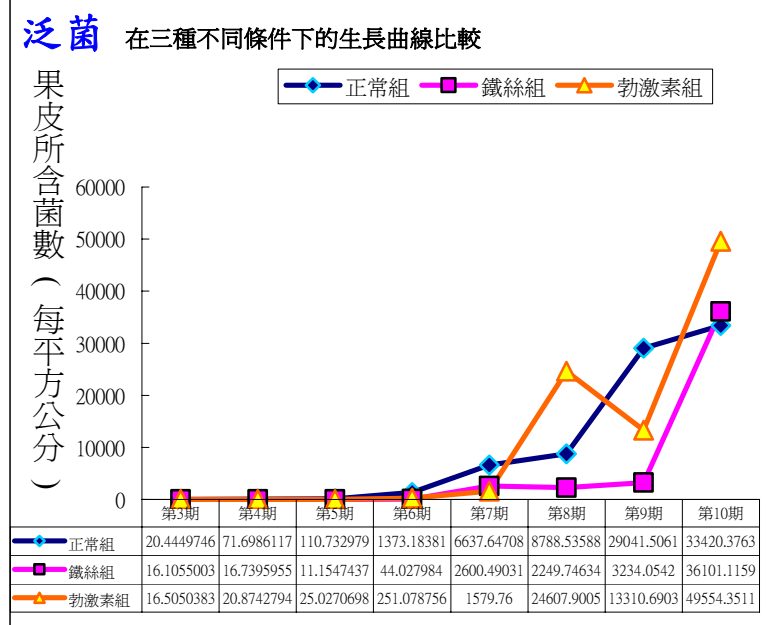
- (一)、芽枝枝孢黴在三種條件下，自第三期至第七期含量偏少，而在第八期後，於正常組與鐵線組中含量均提高。
- (二)、在鐵線組中的芽枝枝孢黴自始至終含量均偏少。
- (三)、以 Kruskal Wallis 檢定，顯示在三種不同條件下的生長有顯著差異($p < 0.05$)(附件五)



圖六

圖六說明：

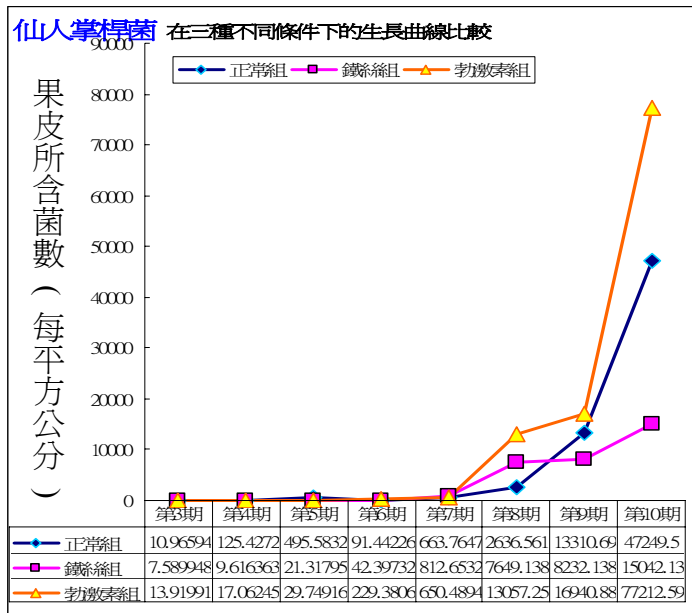
- (一)、發酵型酵母在三種條件下，幾乎符合原本我們一開始所預測的生長情形，在勃激素的組別中，成長的情形較正常組佳；在鐵線組中，成長情形則是較其他兩組不佳。
- (二)、以 Kruskal Wallis 檢定，顯示在三種不同條件下的生長有顯著差異($p < 0.05$)(附件六)



圖七

圖七說明：

- (一)、泛菌在三種情形下，成長的情形相似，在第十期時，含量以勃激素組的最多，鐵絲組與正常組的差異不大，
- (二)、以 Kruskal Wallis 檢定，顯示在三種不同條件下的生長有顯著差異($p < 0.05$)(附件七)



圖八

圖八說明：

- (一)、在正常組與勃激素組中，仙人掌桿菌呈現對數成長，而在鐵絲組的成長則較平緩。
- (二)、以 Kruskal Wallis 檢定，顯示在三種不同條件下的生長有顯著差異($p < 0.05$)(附件八)

四、去果粉組的結果。

將葡萄上果粉除去，並以手指沾葡萄表面，經過一個星期，觀察新長出來的果粉與手指微生物作比較

新長出來的果粉	以手指塗抹培養基所長出來的情形
此組的結果以觀察菌落的方式作簡單的鑑定。經過比較，發現新長出來的果粉與之前正常組所能培養出來的微生物種類是一樣的含有——拋孢酵母(<i>Sporobolomyces roseus</i>)、芽枝枝孢黴(<i>Cladosporium chadosporiodes</i>)、發酵型結合酵母(<i>Zygosaccharomyces fermentati</i>)、泛菌(<i>Pantoea agglomerans</i>)、仙人掌桿菌(<i>Bacillus cereus</i>)；手指上的微生物以肉眼觀察菌落，發現只有一種的菌落與仙人掌桿菌的菌落相似。	

柒、討論：

- 一、文獻中記載(梁小娥、張大鵬，2000)，葡萄果粉是酵母菌的聚集，因此釀酒時可以自然發酵成酒，這促使我們一開始便使用適合酵母菌生長的培養基，來培養果粉。然而，我們發現葡萄生長的前幾期中，拋孢酵母菌在第五期才出現，而發酵型結合酵母菌則是含量不多，至於釀酒酵母(*Sacharomyces cerevisiae*)，在生長期中則是沒有發現，反而在採下來保存三星期的葡萄上，意外的培養出釀酒酵母(*Sacharomyces cerevisiae*)。文獻沒有記載酵母菌何時出現在葡萄上，但經由我們實驗可以證明，酵母菌並非一開始即生長在葡萄果實上，須等到第五期(結果後兩個半月)，酵母菌才算正式登場。關於釀酒酵母，我們做了推論，由於葡萄果實屬漿果類，於成熟階段才會具有甜味，釀酒酵母也就因此生長其上。
- 二、果粉中我們所培養出來的五種微生物，包括兩種細菌與三種真菌，我們首先來探討兩種細菌。其中一種是仙人掌桿菌，當孢子萌發時會分泌出有毒蛋白，吃多了會導致上吐下瀉；另外一種細菌是泛菌，泛菌是植物葉表面常見的表生菌，基本上算是無害的細菌，目前還沒看到文獻指出泛菌造成人類健康的損害。對於此，我們做了一項推論，葡萄果粉上具有有毒微生物，或許是爲了保護自己，以免被攝食。(蔡孟佐，2002)(林志輝，2002)
- 三、葡萄果粉中的剩下三種微生物，都是屬於真菌類的，其中兩種是拋孢酵母菌與發酵型結合酵母菌，兩種酵母菌經查詢，並沒有發現任何有關食用之後會發生損害健康的記載；而芽枝枝黴菌在少量的情況下可能會引起氣喘與過敏，在食用過量的情況下，會造成人類身體不適。(王進琦，1990)
- 四、我們在三種不同條件下，觀察果粉與葡萄間的關係。發現勃激素與正常組兩組的果粉生長情形，差異不大，但在勃激素組的五種微生物生長速度與含量都較正常組略佳；由鐵絲組與正常組的比較可以看出，鐵絲組葡萄果粉中的微生物生長情形大致都不如正常組，在最後成熟時(第十期)果粉的含量也是三組中最低的，我們推論葡萄果實對果粉的生長是具有影響力的。
- 五、實驗中，我們將葡萄果粉抹去，並使用無菌水沖洗，將果粉大致除去，最後以手指沾在乾淨的葡萄表面，於一星期後觀察果粉生長情形，並將之與手指細菌作比較。我們發現新長出來的果粉微生物種類，仍然只有之前所觀察到的五種微生物——拋孢酵母(*Sporobolomyces roseus*)、芽枝枝孢黴(*Cladosporium chadosporiodes*)、發酵型結合酵母(*Zygosaccharomyces fermentati*)、泛菌(*Pantoea agglomerans*)、仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)，然而我們培養手指上的細菌，經過比較，發現即使手指表面上含有多種微生物，卻無一在葡萄果實上生存。我們推論果粉對於葡萄是具有專一性的。
- 六、經過整個實驗，我們提出以下兩點，是仍需改進的地方：
 - (一)、器材限制：取得果粉的方法，我們將葡萄果實放入有蓋的 50ml 離心管中，旋緊蓋子以手動方式，上下搖晃離心管使果粉與水分混合。但是以手動的方式並不是很客觀，若是能使用“均質機”則不管是搖動的力道與方向都能統一。
 - (二)、培養基來源：這個實驗中所使用的培養基，都是葡萄糖—酵母萃取物—蛋白胨培養基，會使用這個培養基，主要是因爲一開始查到的文獻指出果粉是酵母菌的聚集，但在培養過程中，我們發現果粉中不只含有酵母菌，也含有其他微生物，因此，只使用此種培養基，恐無法作出最完整的結果。

捌、結論：

- 一、從去果粉實驗中，我們發現果粉微生物對於葡萄具有專一性；另外，在三種條件下的葡萄(勃激素組、正常組、鐵絲組)，發現葡萄生長的好壞對於果粉的含量是具有影響力的，因此我們推論葡萄果實與果粉間確實具有生存上的專一關係，但深入的機制需經過更進一步的實驗，方能得知。
- 二、過去文獻中(梁小娥、張大鵬，2000)指出葡萄果粉其實就是酵母菌的聚集，經由我們的實驗證明：
 - (一)、 酵母菌不是自葡萄果粉開始生成即出現的，而是在第五期生長期(結果後兩個半月)才出現
 - (二)、 而其中可以專門用來釀酒的釀酒酵母(*Sacharomyces cerevisiae*)，則是在成熟後採摘下來保存一段時間，才生長在葡萄果實上的
 - (三)、 同時，葡萄果粉中不只含有酵母菌，還有其他的微生物
 - (四)、 另外葡萄果粉中含量最多的並非酵母菌以上四點推翻了文獻中所指出的“葡萄果粉其實就是酵母菌的聚集”。
- 三、葡萄的果粉到底要不要洗呢？就我們發現葡萄果粉中的五種微生物裡，有三種是對人體無害的——拋孢酵母(*Sporobolomyces roseus*)、發酵型結合酵母(*Zygosaccharomyces fermentati*)、泛菌 (*Pantoea agglomerans*)。但有兩種是吃多了可能會讓人類上吐下瀉的——仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)、芽枝枝孢黴 (*Cladosporium chadosporiodes*)。且以含量來說，當成熟時，仙人掌桿菌的含量是葡萄果實中含量最多的(每平方公分有47249個菌)，而芽枝枝孢黴是含量最少的，若是食用果粉過量而引起身體不適，仙人掌桿菌可能為主因。因此，本實驗最終的結論告訴我們，吃葡萄最好還是吐葡萄皮，並且請清洗果粉之後再吃葡萄，這樣才有益健康。
- 四、這個實驗雖無法囊括所有地區的葡萄，但我們能非常自豪地說，我們提供了一套科學思維方式：以阿基米得原理算出葡萄體積，再以球體體積與表面積的關係，推算出葡萄表面積，最後以葡萄果粉微生物總量除以表面積，我們算出了葡萄果粉密度(每平方公分果皮所含微生物數量)，並以此繪出果粉中微生物生長曲線。希望此方法能提供其他研究者做一個參考。

玖、參考資料及其他：

王進琦。1990。食物的微生物毒素中毒。食品微生物學。p471-473。

林志輝等人。2002。含蘇力菌毒素基因 *cry1Aa1* 之轉形葉表生菌 *Erwinia herbicola* 的殺蟲活性與質體留存之分析。植物保護學會會刊 44：第 21 - 36 頁

林嘉興、張致盛、張林仁。1995。葡萄產業發展之探討。台灣農業 31(4):119-126。

林金富、張志超、姚幼蓀、黃景義、劉素玉。2005。常見食品中毒病原菌之快速診斷方法之研發—聚合酵素連鎖反應(PCR)方法。台北市政府衛生局 94 年度成果報告書：25-33。

- 張致盛、張林仁、林嘉興。2004。由評鑑與競賽看巨峰葡萄果實品質之提昇。葡萄栽培技術研討會專集。第 171~179 頁
- 梁小娥、張大鵬。2000。蘋果和葡萄果實發育過程中蛋白激酶特性的比較研究。植物學報(42(11)：1131-1136
- 蔡孟佐。2002。仙人掌桿菌 (*Bacillus cereus*) 所產嘔吐毒素 (emetic toxin) 特性及對細胞之作用
- 楊耀祥。1984。套袋對巨峰葡萄果實品質之影響。臺灣農業 20(2)：29~33
- 【KingNet 國家網路醫院】。2002。健康 KABINAI—防黴有絕招，菌種不入侵！
- Barnett, J.A. et al., 1983. Yeasts: Characteristic and identification. Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K., 494 and 532 pp.
- Barnett, J.A. et al., 1983. Yeasts: Characteristic and identification. Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K., 494 p.
- Brauron, G.L. 196-. The genera of Hyphomycetes from soil, Williams and Wilkins, Baltimore, p. 130.
- Meyen ex E.C. Hansen, 1983, Carlsberg Laboratories *Saccharomyces cerevisiae* ; 29-86 pp.
- Tzean, S.S. 2005, Fungal Flora of Taiwan. 1st edi., vol.2, 947-945 pp.

附件一

正常組〔果皮所含菌數（每平方公分）〕

	拋孢酵母	芽枝枝孢黴	發酵型結合酵母	泛菌	仙人掌桿菌
第3期	0	10.7800775	4.088994921	20.44497	10.96594
第4期	0	23.2339805	8.71274269	71.69861	125.4272
第5期	34.94346	4.4859842	1.180522159	110.733	495.5832
第6期	10.84908	58.8950168	34.09711498	1373.184	91.44226
第7期	3451.576	1991.29412	4248.09413	6637.647	663.7647
第8期	9416.288	4896.46999	7909.682291	8788.536	2636.561
第9期	10890.56	12100.6276	7260.376531	29041.51	13310.69
第10期	14981.55	14981.548	8066.987381	33420.38	47249.5

附件二

鐵絲組〔果皮所含菌數（每平方公分）〕

	拋孢酵母	芽枝枝孢黴	發酵型結合酵母	泛菌	仙人掌桿菌
第3期	0	21.6591211	4.628017333	16.1055	7.589948
第4期	0	11.2190906	8.547878532	16.7396	9.616363
第5期	1.735182	5.20554705	2.72671512	11.15474	21.31795
第6期	6.522664	27.7213233	37.50531972	44.02798	42.39732
第7期	812.6532	1787.83709	1137.71451	2600.49	812.6532
第8期	1649.814	749.915445	1499.83089	2249.746	7649.138
第9期	588.0099	1617.0271	441.0073913	3234.054	8232.138
第10期	3760.533	1353.79185	1052.949213	36101.12	15042.13

附件三

勃激素組〔果皮所含菌數（每平方公分）〕

	拋孢酵母	芽枝枝孢黴	發酵型結合酵母	泛菌	仙人掌桿菌
第3期	0	5.17025295	5.36910883	16.50504	13.91991
第4期	0	15.7918461	13.61366045	20.87428	17.06245
第5期	20.06888	23.6104432	3.541566477	25.02707	29.74916
第6期	145.6877	150.33728	69.74409881	251.0788	229.3806
第7期	331.8824	451.360001	491.1858838	1579.76	650.4894
第8期	14689.41	13810.5564	14187.20792	24607.9	13057.25
第9期	15367.8	16456.8535	16335.84719	13310.69	16940.88
第10期	12676.69	9219.41415	14981.54799	49554.35	77212.59

附件四

拋孢酵母(*Sporobolomyces roseus*)：

NPar 檢定

Kruskal-Wallis 檢定

等級

	組別	個數	等級平均數
數據	1	5	8.60
	2	5	3.40
	3	5	12.00
	總和	15	

檢定統計量^{a,b}

	數據
卡方	9.380
自由度	2
漸近顯著性	.009

a. Kruskal Wallis 檢定

b. 分組變數：組別

附件五

芽枝枝孢黴 (*Cladosporium chadosporiodes*)：

NPar 檢定

Kruskal-Wallis 檢定

等級

	組別	個數	等級平均數
數據	1	5	8.00
	2	5	3.00
	3	5	13.00
	總和	15	

檢定統計量^{a,b}

	數據
卡方	12.500
自由度	2
漸近顯著性	.002

a. Kruskal Wallis 檢定

b. 分組變數：組別

附件六

發酵型結合酵母(*Zygosaccharomyces fermentati*)：

NPar 檢定

Kruskal-Wallis 檢定

等級

	組別	個數	等級平均數
數據	1	5	9.40
	2	5	4.00
	3	5	10.60
	總和	15	

檢定統計量^{a,b}

	數據
卡方	6.180
自由度	2
漸近顯著性	.046

a. Kruskal Wallis 檢定

b. 分組變數：組別

附件七

泛菌(*Pantoea agglomerans*)

NPar 檢定

Kruskal-Wallis 檢定

等級

	組別	個數	等級平均數
數據	1	5	6.80
	2	5	4.40
	3	5	12.80
	總和	15	

檢定統計量^{a,b}

	數據
卡方	9.360
自由度	2
漸近顯著性	.009

a. Kruskal Wallis 檢定

b. 分組變數：組別

附件八

仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)

NPar 檢定

Kruskal-Wallis 檢定

等級

	組別	個數	等級平均數
數據	1	5	3.00
	2	5	8.00
	3	5	13.00
	總和	15	

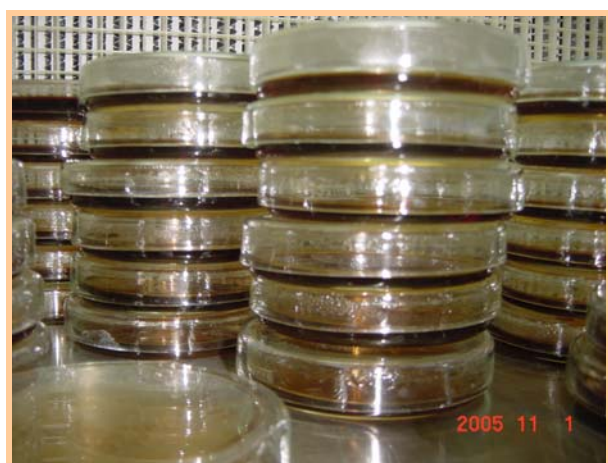
檢定統計量^{a,b}

	數據
卡方	12.500
自由度	2
漸近顯著性	.002

a. Kruskal Wallis 檢定

b. 分組變數：組別

附件九 (實驗圖片)



▲ 培養皿堆 (圖 1)



▲ 葡萄果園 (圖 2)



▲ 樹上未成熟葡萄 (圖 3)



▲ 套袋葡萄果園 (圖 4)



▲ 採樣過程 (圖 5)



▲ 果粉培養情形 (圖 6)



▲ 測葡萄體積過程 (圖 7)



▲ 觀察果粉微生物過程 (圖 8)



▲ 數菌落數過程 (圖 9)



▲ 記錄實驗結果 (圖 10)



▲ 噴藥器 (圖 11)



▲ 滅菌器 (圖 12)



▲ 乾燥用蒸便當箱 (圖 13)



▲ 離心機 (圖 14)

評語

040721 吃葡萄不吐葡萄皮？(揭開葡萄果粉之謎)

1. 能選用鄉土材料設計實驗。
2. 建議詳細探討果蒂、果粉、果皮上之菌相，及其真正的毒性測試。
3. 建議加入精確的定量統計分析。