

V. 미생물 실습



- 1. 현미경 사용법**
- 2. 미생물의 종류**
- 3. 멸균 소독**
- 4. 미생물의 배지 제조**
- 5. 미생물의 분리 및 배양**

미생물은 현미경으로 볼 수 있을 정도로 크기가 작은 생물이지만 물, 공기, 흙, 동물, 식물 등 우리 주변 어디에나 존재한다.

이 단원에서는 현미경 사용법을 익혀 미생물을 관찰하여 미생물의 종류를 확인하고, 실습에 사용되는 기구를 멸균하고 미생물 성장에 필요한 영양분인 배지를 만들어 미생물을 분리 및 배양하는 기술을 익힐 수 있다.

1. 현미경 사용법

가. 실습 목표

- 1) 현미경의 구조와 원리를 이해할 수 있다.
- 2) 표본을 이용하여 물체를 관찰할 수 있다.
- 3) 현미경의 종류와 그에 따른 용도를 알 수 있다.

나. 실습 재료

양파, 렌즈용 오일(immersion oil), 렌즈 페이퍼(lens paper)

다. 기기 및 기구

현미경, 프레파라트, 슬라이드 글라스, 커버 글라스, 핀셋, 스폴이드

라. 관계 이론

1) 현미경의 구조

현미경은 크게 렌즈 부분, 광원과 광의 세기를 조절하는 조명 부분, 렌즈와 시료의 거리를 조절하는 기계부분으로 나눌 수 있다.

일반 현미경은 제조 회사와 기능에 따라 다소의 차이가 있을 수 있으나 기본적인 원리와 광학계는 거의 비슷하며 그 구조는 <그림 V-1>에 나타내었다.

가) 렌즈 부분

렌즈 부분은 현미경에서 가장 중요한 부분으로, 대안렌즈(eye pieces)와 대물렌즈(objective lens)로 구성된다.

(1) 대안렌즈 : 접안렌즈라고도 하며 경통의 가장 상단에 위치하고 배율은 일반적으로 $\times 10$, $\times 15$ 가 있다. 접안렌즈는 대물렌즈에 의해 만들어진 물체의 확대상을 더 한층 크게 확대하는 역할을 한다.

(2) 대물렌즈 : 경통의 하단에 있는 대물렌즈 회전판에 부착되어 있고 물체를 일차로 확대하여 실상을 만들며 배율은 보통 \times

10 , $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$ 으로 되어 있다.

나) 조명 장치 부분

좋은 해상력과 좋은상을 얻기 위해서는 적절한 조명이 이루어져야 한다. 조명 장치로는 일반적으로 광원(light source), 반사경(mirror), 조리개(diaphragm), 집광기(condenser) 등으로 구분된다.

(1) 광원(light source) : 현미경의 광원으로 다양한 종류의 램프가 사용되는데 이상적인 현미경의 광원은 집중 조명 광원(spotlight source)이다.

자연광을 사용할 경우에는 백색광이어야 하며 실내에서 사용되는 백열등은 적색광이 많아 상의 색이 자연스럽지 못하고 시료가 열을 받기 쉽기 때문에 청색 광선 여과판을 사용하여 적색광을 줄인다.

이러한 단점 때문에 근래에는 광원이 현미경의 몸체에 내장되어 있으며 광원으로 할로겐 램프(halogen lamp)나 수은 증기등이 사용되며, 광원 조절 장치와 조리개가 함께 부착되어 있다.

(2) 반사경(mirror) : 대부분의 현미경에는 자체에 광원이 내장되어 있어 반사경이 필요하지 않지만 천연 광이나 전등을 광원으로 이용할 경우에는 집광을 하기 위하여 반사경을 사용한다. 반사경은 둑근 모양으로서 한 면은 평면거울이고 다른 면은 오목거울로 되어 있어 필요에 따라 돌려 사용할 수 있다. 저배율로 관찰할 때에는 평면경을 사용하지만 고배율로 관찰할 때에는 오목거울이 사용된다.

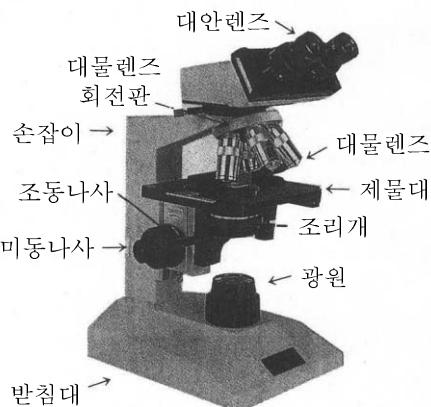


그림 V-1 현미경의 구조

(3) 조리개(diaphragm) : 광원으로부터 들어온 광선은 너무 강하여 현미경의 상을 흐리게 하기 때문에 광량을 줄여 그 광도를 적당히 조절한다.

(4) 집광기(condenser) : 대물렌즈에 적절한 밝기를 주는 장치로

여러 개의 렌즈로 구성되었으며 전체가 볼록렌즈의 역할을 한다.

다) 기계 부분

현미경의 몸체를 구성하는 받침대와 손잡이, 조준을 정확하게 하여 명확한 관찰을 할 수 있는 조준장치, 검체를 이동할 수 있는 장치들이 있다.

(1) 받침대(base) : 현미경의 바닥을 말하며 현미경 전체를 지탱하여 준다.

(2) 손잡이(arm) : 받침대 위에 수직으로 서 있으며 현미경의 여러 부분을 지탱해 주는 역할을 한다.

(3) 재물대(stage) : 관찰할 물체를 올려놓는 수평으로 된 판으로, 그 위에 검체를 고정하고 전후좌우로 수평 이동할 수 있는 슬라이드 고정판(mechanical stage)이 있다.

(4) 조준장치(focusing adjustment) : 대물렌즈와 물체의 거리를 조절하여 선명한상을 얻을 수 있는 장치이다.

현미경에는 대략의 조준을 맞추기 위한 조동나사(coarse adjustment screw)와 조준을 정밀하게 하기 위한 미동나사(find adjustment screw)로 구성되어 있다.

(5) 대물렌즈 회전판(objective revolver) : 현미경을 사용할 때 배율이 다른 렌즈로 교환할 경우 대물렌즈를 회전시켜 교환하는 장치이다.

2) 현미경의 원리

현미경은 아주 작은 물체나 가는 조직을 대물렌즈와 대안렌즈에 의하

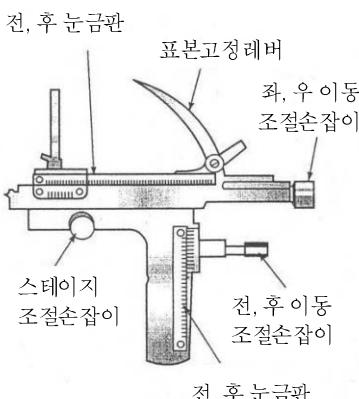


그림 V-2 슬라이드 고정판

<표 V-1> 현미경의 확대 배율

대안렌즈	대안렌즈 배율	
	×10	×15
대물 렌즈의 배율	×10	100
	×20	200
	×40	400
	×100	1000
		1500

여 두 번 확대하여 보는 장치이다. 즉 대물렌즈에 의해 확대된 실상을 다시 한 번 대안렌즈로 확대하여 관찰한다.

따라서 현미경의 확대배율은 대물렌즈의 배율과 대안렌즈의 배율을 곱하여 구한다.

$$m = m_1 \times m_2$$

여기서, m : 현미경의 확대배율

m_1 : 대물렌즈의 배율

m_2 : 대안렌즈의 배율이다.

마. 주의 사항

- 1) 현미경은 진동이 없는 안정한 실습대에 올려놓고 사용한다.
- 2) 현미경 사용 장소는 직사광선이 직접 닿지 않는 밝은 곳이 좋다.
- 3) 렌즈가 더러워졌을 때는 부드러운 솔이나 렌즈 페이퍼로 가볍게 닦아 낸다.
- 4) 현미경을 운반할 때는 한 손으로 손잡이를 잡고 다른 손으로 받침대를 받쳐 듦다.
- 5) 조동나사를 사용할 때는 렌즈와 슬라이드의 표면이 직접 충돌하지 않도록 한다.
- 6) 현미경을 사용한 후에는 반드시 커버를 덮어 지정된 장소에 보관하여야 한다.
- 7) 현미경 보관 장소의 온도는 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 하고 습도는 $40 \pm 5\%$ 가 적당하다.

바. 실습 순서

1) 일반적인 관찰

- 가) 현미경을 안정된 작업대에 올려놓고 수평을 맞춘다.
- 나) 회전판을 돌려 배율이 가장 작은 대물렌즈($\times 10$)가 재물대에 오도록 한다.
- 다) 광원이 내장된 경우에는 전원 스위치를 켜고, 자연광이나 백열광을 이용할 경우에는 반사경을 집광기에 광선이 통과하도록 조절한다.

- 라) 얇은 양파 조직이나 프레파라트(preparat)의 표면이 위로 오도록 채물대에 올려놓고 슬라이드 고정판을 이용하여 표본이 중앙에 오도록 한다.
- 마) 대안렌즈를 보면서 조리개를 조절하고 조동나사를 서서히 돌려 채물대를 상하로 이동시켜 물체가 보이도록 한다.
- 바) 물체가 확인되면 대물렌즈 회전판을 돌려 고배율 대물렌즈($\times 40$)로 돌린 후 미동나사를 돌려 선명한상을 찾아 물체를 관찰한다.
- 사) 현미경을 관찰할 때는 양쪽 눈을 뜨고 관찰하되, 한쪽 눈으로는 현미경을 관찰하고 다른 쪽 눈으로는 그 모양을 그림으로 나타낸다.

2) 고배율 렌즈에 의한 관찰

- 가) 저배율에서 물체의 상이 뚜렷이 보일 때 회전판을 반정도 돌린다.
- 나) 표본이나 프레파라트 위에 렌즈용 오일(immersion oil)을 한 방울 떨어뜨린다.
- 다) 고배율 렌즈($\times 100$)를 돌려 렌즈와 오일이 닿게 한 다음 미동나사를 돌려 선명한상을 찾는다.
- 라) 슬라이드 고정판을 앞뒤로 움직여 표본을 관찰하고 물체의상을 그린다.
- 마) 관찰이 끝나면 렌즈 페이퍼에 자일렌(xylene)을 약간 적셔 렌즈를 깨끗이 닦아낸 다음, 렌즈 페이퍼로 닦고 비닐을 써워 보관한다

사. 실습 보고서

실습 일	200년 월 일	요일	날씨:	기온: °C
실습 단원	현미경 사용법			
실습 제목				
실습자	과	학년	반	번 이름: 조

1) 실습재료 및 기구

재료	
기구	

2) 일반적인 관찰

대안렌즈 배율	대물렌즈 배율	현미경의 확대 배율
관찰한 물체의 그림		

3) 고배율 렌즈에 의한 관찰

대안렌즈 배율	대물렌즈 배율	현미경의 확대 배율
관찰한 물체의 그림		

아. 수행 평가

실습명	항목	번호	항목별 채점 방법	배점
현미경 사용법	실험수행 전반	1	- 실험복, 보고서철, 교과서, 실험 워크북, 계산기, 필기구, 자 등 실험에 필요한 준비물을 제대로 갖추었는가? - 기구 파손이 없고 실험태도가 성실한가? - 실험기구를 용도에 적합하게 사용하는가? - 실험 후 사용한 기구나 실험실을 정리정돈 하였는가?	10
			매우 우수 : 10점, 우수 : 8점, 양호 : 6점, 보통 : 4점, 불량 : 2점, 매우 불량 : 0점	
	일반적인 관찰	2	현미경을 작업에 올려놓고 수평을 맞추었으면 5점, 그 외는 0점	5
		3	대물렌즈를 올바르게 조절하였으면 5점, 그 외는 0점	5
		4	프레파라트를 재물대에 올려놓고 제대로 고정하였으면 5점, 그 외는 0점	5
		5	대안렌즈, 조동나사, 미동나사를 올바르게 조절하였으면 5점, 그 외는 0점	5
		6	현미경 관찰 태도가 바르고 관찰한 물체를 제대로 그렸으면 10점, 그 외는 0점	10
	고배율 렌즈에 의한 관찰	7	렌즈용 오일을 프레파라트 위에 제대로 떨어뜨렸으면 5점, 그 외는 0점	5
		8	고배율 렌즈와 렌즈용 오일의 밀착, 미동나사의 조절을 바르게 하였으면 10점, 그 외는 0점	10
		9	현미경 관찰 태도가 바르고 관찰한 물체를 제대로 그렸으면 10점, 그 외는 0점	10
		10	렌즈 페이퍼에 자일렌을 적셔 렌즈를 깨끗이 닦아 보관하였으면 5점, 그 외는 0점	5

실습 일	200 년 월 일	평가 결과	총 평
실습자			
지도교사	(인)		

자. 평가 문제

- 1) 현미경의 구조에서 조명장치 부분에 속하지 않는 것은?
 ① 광원 ② 반사경 ③ 조리개
 ④ 집광기 ⑤ 대안렌즈
- 2) 경통의 가장 상단에 위치하여 대물렌즈에 의해 만들어진 물체의 확대상을 더 한층 크게 확대하는 역할을 하는 현미경의 구성 요소는?
 ① 조리개 ② 조동 나사 ③ 미동 나사
 ④ 대안 렌즈 ⑤ 슬라이드 고정판
- 3) 대안렌즈의 배율이 $\times 10$ 이고, 대물렌즈의 배율이 $\times 40$ 로 하여 미생물 표본을 현미경으로 관찰하였다. 이 현미경의 확대배율은 얼마인가?
 ① 50 ② 100 ③ 200
 ④ 400 ⑤ 600
- 4) 현미경의 고배율 렌즈로 관찰할 때 미생물 표본이나 프레파라트 위에 떨어뜨려 주는 물질은?
 ① 에탄올 ② 메탄올 ③ 자일렌
 ④ 식용유 ⑤ 렌즈용 오일
- 5) 현미경 몸체에 내장된 광원으로 일반적으로 사용되고 있는 것은?

차. 쑤어가기

전자현미경과 광학현미경의 차이점

1924년 프랑스의 물리학자 드 브로이(Louis de Broglie)는 전자빔이 빛보다 더 짧은 파장을 갖는 파동의 형태로 운동할 수도 있음을 보여주었다. 이러한 차상에 근거하여 관찰재료가 정전기 또는 전자기장에 의해 초점이 조절되는 전자빔을 활용한 전자 현미경이 개발되었던 것이다.

오늘날 전자현미경은 관찰재료의 상을 5만 배 또는 그 이상으로 확대할 정도의 해상력을 갖고 있다. 전자현미경은 진공 상태에서의 전자빔을 필요로 하는데, 그것은 상온의 대기압 아래서는 전자들이 잘 움직일 수가 없기 때문이다.

광학현미경과 전자현미경 사이에는 차이점이 많이 있다. 우선 광학현미경과는 달리 전자현미경은 렌즈 혹은 초점거리를 조절하는데 중요한 차이를 보인다.

광학현미경에서는 초점이 고정된 렌즈를 사용하며 대물렌즈와 관찰재료 사이의 거리를 변화시키는 방법으로 관찰한다. 반면에, 전자현미경은 초점거리를 변화시킬 수 있는 렌즈를 사용하며, 대물렌즈와 관찰재료 사이의 거리와 렌즈들 사이의 거리는 고정된 채로 사용한다.

또 다른 차이는 광학현미경은 눈으로 렌즈를 통해 대상을 직접 보도록 되어 있으나, 전자현미경은 형광스크린에 상이 나타나도록 하거나 연구를 위해 특별히 설치된 감광판에 표시된다는 점이다.

광학현미경에서 상은 관찰재료 내로 빛을 흡수함으로써 형성되지만 전자현미경에서는 관찰재료 내의 원자들에 의해 전자들이 산란됨으로써 상이 생긴다.

무거운 원자는 낮은 원자번호를 가진 가벼운 원자보다 산란을 더욱 효과적으로 만들어 상을 더욱 뚜렷하게 해준다. 따라서 전자현미경을 쓰는 연구자들은 이러한 목적을 위해서 더욱 원자들을 관찰재료와 결합시키려고 노력하고 있다.

(출처 : http://middle.creazio.com/main/science/part01_03.htm)