

2022年【全國科學探究競賽】

高中(職)組 成果報告表單

明道中學

題目名稱: 麻麻:那個水很髒不要給我碰!@#\$\$%^&*

成員:

高二〇七班蔡佳霓

高二十二班洪筠喬

指導教師:謝惠娟老師

一、摘要:

本次實驗以微觀的角度來觀察、檢測相異水域裡其微生物的差異,來探究不同流動性水域中微生物的差異。其中選取了封閉水域、半封閉水域、流動性水域等三種區域中的細菌樣本,在pca中以相同的實驗條件,同時對此三種水樣進行培養。

二、探究題目與動機

在我們的生活中,水是生物生存的必需品。然而,各個地方的水來自的地方都不盡相同,所擁有的菌種也所不一,同時也很好奇從小媽媽總是提醒著"別碰池裡的水"這句話是否有它的道理在。

因此,我們藉由培養出水中的細菌們的多寡來比較封閉(明道正門口旁水池)、半封閉(明道童軍營地旁的生態池)以及流動性(明道後方的某條小溪)的水域。

三、探究目的與假設

我們預期明道校園後方的小溪因為流域廣、上游可能有些許被汙染,細菌含量最高;正門口旁水池相較於童軍營地旁的生態池,沒有小瀑布,所以細菌含量最低。因此,我們所提出的假設為流動性高的水域所擁有的菌落較多。

四、探究方法與驗證步驟

一、方法概要

本方法係用以檢測能在培養皿計數培養基 (plate count agar; PCA) 中生長，並形成菌落之水中好氧及兼性厭氧異營菌。

二、干擾

- (一) 水樣中含有抑制或促進細菌生長物質。
- (二) 檢測使用的玻璃器皿及設備含有抑制或促進細菌生長物質。

三、設備及材料

(表一) 材料列表

量筒(250mL、1000 mL)	血清瓶(1000mL、500mL)
培養皿	離心管(50ml)
燒杯(1000mL)	微型滴管、尖端
大小約 90 × 15 mm 之無菌玻璃培養皿或無菌塑膠培養皿	容量 45mL 無菌之硼矽玻璃或塑膠有蓋容器
冰箱(溫度能保持在 $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$)	水浴槽(溫度能保持在約 50°C)
高壓滅菌釜 溫度能保持在 121°C (壓力約 15 lb/in ² 或 1.05 kg/cm ²) 滅菌 15 分鐘以上	高溫乾熱烘箱 如用於玻璃器皿等用具之滅菌，溫度須能保持在 $170 \pm 10^{\circ}\text{C}$ 達 2 小時以上
無菌操作檯 正壓式無菌操作檯或垂直循環負壓式無菌操作檯 (Class II 生物安全櫃)	pH 計 精確度達 0.1 pH 單位。用於內含瓊脂培養基之 pH 值測定時，應搭配表面電極 (Surface probe)
電子秤	加熱板 (攪拌)、磁石
試劑水(18.2)	分度吸量管、分度吸量管輔助器

四、步驟：

本方法所使用的化學藥品須為試藥級以上，培養基為微生物級製品。

(一) 試劑水：導電度在 25°C 時小於 2 $\mu\text{mho/cm}$ ($\mu\text{S/cm}$)。

(二) 配置培養基

(表二) 培養基配置所需

葡萄糖	0.4ml
胰化蛋白酶	0.5ml
酵母提取物	1.0ml
瓊脂	6.0ml
純水	400ml

將上表格中的材料倒入血清瓶中，不必攪拌(瓊脂不太溶於水中，但經過高壓滅菌釜滅菌後會成微膠狀)，經 121°C 滅菌 15 分鐘後，冷卻至約 50°C，並於無菌操作檯內分裝至無菌培養皿中，使培養基厚度約 2 至 4 mm，室溫下凝固。

製備之培養基保存於 $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ，保存期限為 14 天。可根據檢驗需求量，依配方比例配製培養基。

(二) 無菌稀釋液

1. 磷酸二氫鉀儲備溶液

取 3.4 g 磷酸二氫鉀 (KH_2PO_4) 和 50 mL 之試劑水倒入 500 mL 的燒杯中，置於加熱板上並放入磁石攪拌。

待完全溶解後，以 1 N 氫氧化鈉 (NaOH) 溶液調整其 pH 值為 7.2 ± 0.1 。然後加試劑水至全量為 1000 mL。

2. 氯化鎂儲備溶液

取 3.8 g 無水氯化鎂 (MgCl_2)，先溶於少量試劑水中，待完全溶解後，再加試劑水至全量為 100 mL。

3.分別取 10 mL 氯化鎂儲備溶液和 2.5 mL 磷酸二氫鉀儲備溶液，加入試劑水至全量為 2000 mL，混搖均勻後，分裝於血清瓶中，經 121°C 高溫高壓滅菌 15 分鐘以上，作為無菌稀釋液備用。

(三)取水

- 1.明道正門口旁水池(編號O)
- 2.明道童軍營地旁的生態池(編號S)
- 3.明道後方的某條小溪(編號R)

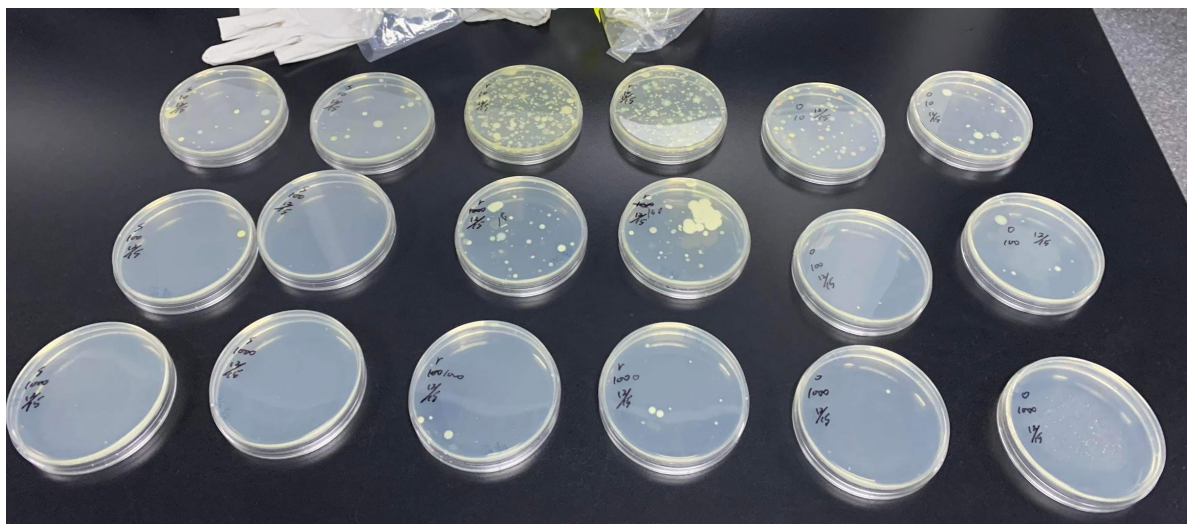
(四)稀釋水樣

水樣在進行檢測或稀釋之前必須劇烈搖晃 25 次以上，以使樣品充分混搖均勻。使用分度吸量管裝上輔助器並吸取 5 mL 之水樣至 45 mL 之無菌稀釋液中形成 10 倍稀釋度之水樣，混合均勻，而後自 0 倍稀釋度水樣以相同操作方式進行一系列適當之 10、100、1000 倍等稀釋水樣並混搖均勻(進行稀釋步驟時，均需更換分度吸量管)。

(五)養菌

以微量吸管吸取 0.2 mL 的各稀釋水樣滴在培養基上，同一區域相同濃度者皆養兩盤。將無菌之滾珠放在培養基上，再用手搖動培養皿至水樣均勻分佈於培養基表面、完全被培養基吸收為止，再將滾珠倒出來回收。最後將培養皿倒置於培養箱內 (35 ± 1°C 培養 48 ± 3 小時)。

五、結果處理



(圖一)經48小時左右後的培養皿(由左至右分別為S、R、O)

經過兩天的等待，我們發現雖然編號R培養皿中的菌落相較於其他兩者來的多，但是皆為米白色之菌落，由此可推知流動性高的水域中，其細菌含量是應該在本次實驗中較為統一的。而編號S、編號O中的顏色卻是五彩繽紛，其中又為編號O的雜色最多，如果以菌種的危險程度來辨別水的乾淨程度，能看得出封閉水域的水質比其他水域來的還要髒。



(圖二、三、四)由左至右分別為編號R、編號O、編號S之稀釋10倍後的培養皿

雖然本來我們預計可以加16s到培養皿中測水中的菌種，但因為彩色的菌非常有高機率為危險的菌種(可能為黃金葡萄球菌之類的)，和基於實驗室能處理哪些菌種的等級，我們不能冒這個風險，因此我們決定選擇以肉眼觀察。

五、結論與生活應用

- 一、流動性高的水域中，其細菌含量是較為統一
- 二、儘管半封閉水域的菌落數為最少，其菌種仍比流動性水域來的多
- 三、封閉水域因流動性不高而導致水中的細菌越長越多，且種類繁多
- 四、儘管本次的實驗結果和我們預期中的假設有些許的差異，但也讓我們大開眼界，那些媽媽們常常警告我們別亂碰不明的水域裡，其實有著我們無法想像的微生物。

參考資料

- 一、水中總菌落數檢測方法－塗抹法(環境檢驗所)
<https://www.cdc.gov.tw/File/Get/71A30FvNLR7VZWmsXLCiFA>
- 二、水中總菌落數檢測方法－混合稀釋法(環境檢驗所)
<https://www.epa.gov.tw/niea/39D8AD28BF13CCCE>
- 三、水中生物檢測－濾膜法(洛恩生物科技有限公司)
https://www.rone.com.tw/tw/index.asp?au_id=61&sub_id=80
- 四、水質總菌落數檢驗分析-混合稀釋/塗抹/濾膜法等檢測方法與法規(台美檢驗)
<https://www.superlab.com.tw/s194/>