

屏東縣第61屆國中小學科學展覽會 作品說明書

科別：生物科

組別：國小組

作品名稱：我喝的水有細菌嗎!!??

關鍵詞：生菌數、培養基、飲用水

編號：A4055

摘要

飲用水是日常生活中重要的飲食之一，過高的生菌數會影響身體健康，因此我們想要試著用現成的東西，自行製作培養箱，加上市售培養基，進行飲水中生菌數的培養實驗，用最簡易的方式能了解到貼近自己生活中的水好壞與否，讓我們也能夠看到細菌的真面目。

本次研究我們想利用生活中簡易的物品進行飲用水的菌數分析，首先是取用六位同學家的飲用水做為樣本，並和未開封的礦泉水總共七個樣品進行比較，我們購買市面上可購得的三種培養基，分別是生菌數培養(PCA plate)、大腸桿菌群培養(EMB plate)及黴菌培養(SDA plate)進行塗盤，每組樣品皆為三重複，並以自製的培養箱進行培養，結果發現我們所自製的培養箱可使培養基長出微生物，雖然生長速度較慢，但還是可觀察到微生物菌落的產生；另外觀察結果我們發現 12 位同學家的飲用水三種培養基都長出菌落，而有 1 位同學家的飲水則是在生菌數及大腸桿菌群培養都長出菌落，也讓學生檢視自己的生活環境，這樣的實驗，讓學生能將生活實務與科學理論作結合，與讓學生看到了不同的細菌世界。

壹、研究動機：

一、前言：

水是我們人體中進行代謝時的溶劑，乾淨的水對人體來說是很重要的，若長期飲用不乾淨的水，短時間內引起腸胃不適，長期下來造成慢性發炎亦使身體產生病變，因此政府衛生單位對此也有一套既定的準則標準以保護國人的健康。

二、研究動機：

老師曾經告訴我們關於細菌的知識，她告訴我們即使是我們日常生活中喝的水，裡面也會有細菌的生長，雖然在生活中常聽到這些名詞，如現在流行的「新型冠狀病毒」的疫情、食物放在外面太久會有「細菌」造成腐壞以及食用後會拉肚子、傷口表面會有「細菌」等，而我們最常喝的水裏面也有「細菌」，這是一種很常出現在生活的名詞跟知識，但我們從來不知道細菌到底長什麼樣子，在我們對老師提出了這樣的疑問之後並跟老師討論，後來老師決定我們以日常中的飲用水進行細菌培養，讓我們瞧瞧細菌的樣子，對於細菌與我們生活之間用水的相關性能有更深一層的了解。

三、文獻探討：

(一) 飲用水質檢驗指標：

1. 生菌數(Total Bacterial Count):又稱為總生菌數，指食品及生活飲用水檢樣經過處理，在一定條件下經過培養後，所得 1 克或 1 毫升檢樣中所含細菌菌落個數，是判斷食品及生活飲用水被汙染程度的重要指標。
2. 大腸桿菌群 (Coliform) :系指一群在 37°C 培養 24 小時能發酵乳糖、產配、產氣、需氧或兼性厭氧的革蘭氏染色陰性無芽孢桿菌。其主要來源是人和牲畜的糞便，所以研究中經常採用糞便汙染指標菌來評價生活飲用水及食品的衛生質量。
3. 水質檢驗標準值如下
 - (1) 大腸桿菌群：6 (CFU/100 毫升)。
 - (2) 總菌落數：100 (CFU/100 毫升)。

4. 4. CFU 是菌落形成單位

CFU 是菌落形成單位 (Colony-forming unit) 的縮寫，係指樣品在適當的稀釋狀態下，每一個細菌細胞在培養基上，生長繁殖所形成的單一易區別菌落，每菌落單位稱為 1 CFU。

CFU/g：每公克樣品中含有的細菌菌落總數。

CFU/mL：每毫升樣品中含有的細菌菌落總數。

CFU/cm²：每平方公分樣品中含有的細菌菌落總數。

貳、研究目的

本研究以自製的培養箱探討來自不同的六位同學家飲用水水源，其生菌數、大腸桿菌群、及黴菌的生長狀況的觀察，觀察自製的培養箱中細菌是否能順利長出。我們以三種不同的培養盤，分別是培養生菌數(PCA plate)、大腸桿菌群(EMB plate)及黴菌(SDA plate)的培養盤，取出適量水樣品進行塗盤，對三種菌群進行培養，培養箱以紙箱鋪上鋁箔紙進行保溫，討論自製的培養箱的培養效率及保存飲用水的方式是否會影響生菌數、大腸桿菌群、及黴菌的生長及影響生菌數、大腸桿菌群、及黴菌數量的多寡

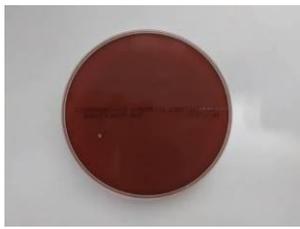
- 一、 觀察每組樣品中生菌數的數量多寡。
- 二、 觀察每組樣品中大腸桿菌群的數量多寡。
- 三、 觀察每組樣品中黴菌的數量多寡。
- 四、 空白組:未塗抹任何樣品。

參、研究設備與器材

一、 研究設備及器材：

- | | |
|--|---|
| <p>(一) *生菌數培養盤(PCA plate)；</p> <p>(二) *大腸桿菌群培養盤(EMB plate)；</p> <p>(三) *黴菌培養盤(SDA plate)；</p> <p>(四) 滴管(隨培養盤附贈)；</p> <p>(五) 塗盤棒(隨培養盤附贈)；</p> <p>(六) 鋁箔紙；</p> | <p>(七) 紙箱；</p> <p>(八) 附蓋玻璃罐(取樣用)</p> <p>(九) 附座燈泡；</p> <p>(十) 溫度計；</p> <p>(十一) 計數器；</p> <p>(十二) 75%酒精。</p> |
|--|---|

註:*三種培養盤皆購自「友樂儀器」。

(一) 生菌數培養盤	(二) 大腸桿菌群培養盤	(三) 黴菌培養盤	(四) 滴管
			
(五) 塗盤棒	(六) 鋁箔紙	(七) 紙箱	(八) 附蓋玻璃罐
			
(九) 附座燈泡	(十) 溫度計	(十一) 計數器	(十二) 75%酒精
			

肆、研究過程與方法

一、實驗流程：

(一) 本次研究是取六位同學家平時所飲用的水，以玻璃罐裝取，跟市面上所售未開封的礦泉水進行比較。將這七個樣品以市面上購得的培養基進行塗盤培養；我們以滴管吸取樣品後，將培養基蓋子打開，分別滴四滴水樣於四個角落(四滴約莫 0.1ml)，以塗盤棒進行圓形方式的塗盤，將水樣塗抹至乾為止，然後將蓋子蓋上後放置自製培養箱進行培養觀察。

(二) 培養箱製作：

1. 我們將取一形狀方正的紙箱以鋁箔紙包覆，使其具有保溫隔熱的功能；再將紙箱內放置兩座傳統鎢絲燈泡，傳統鎢絲燈泡能夠產熱，讓整體的溫度能夠提高。
2. 我們所使用的培養盤的最適培養溫度為 25~35 度，現在適逢春天的季節，早晚溫差大，白天可達到 30 度高溫左右，但入夜後則只剩 17~19 度左右，因此我們需要讓自製的培養箱維持在適當溫度，因此接入鎢絲燈泡讓培養箱維持在適當溫度

(三) 樣品數:(表一)

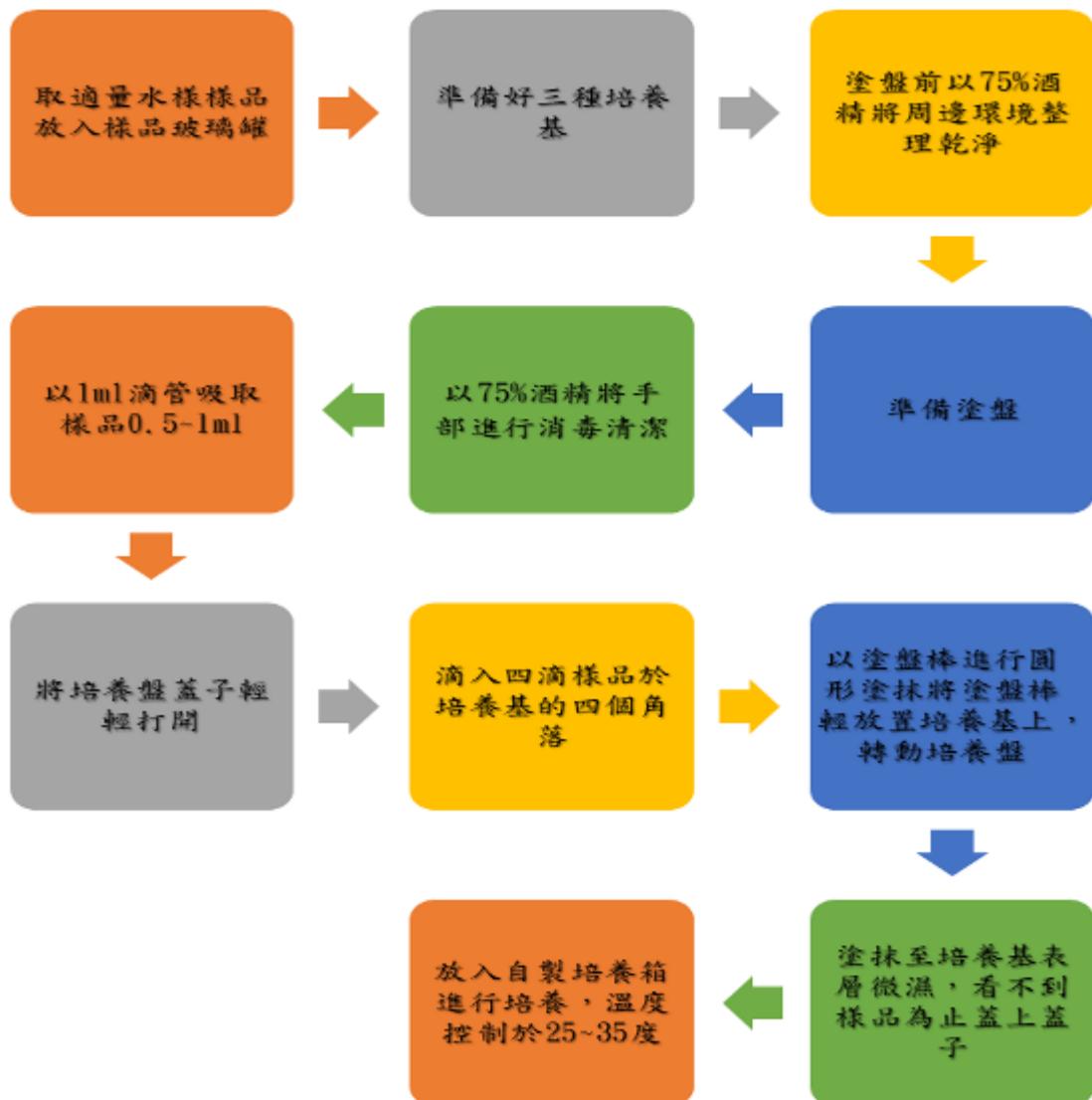
1. 樣品組:每個樣品皆測試三種菌數:(1)生菌數(2)大腸桿菌群(3)黴菌，每種為三重複，總共有七個樣品，因此共有 21 個培養盤
2. 空白組:每種微生物種類(1)生菌數(2)大腸桿菌群(3)黴菌皆放置一空白組的培養基，即未塗抹任何樣品，但仍與樣品於同樣條件下培養，其目的是為證明之後樣品培養基所長出的微生物是來自樣品的，而不是來自原本培養基受到汙染而長出。

表一:樣品數

	(1)生菌數	(2)大腸桿菌群	(3)黴菌
1. 空白組	1(盤)	1(盤)	1(盤)
2. 樣品組:礦泉水	3(盤)	3(盤)	3(盤)

3. 樣品組:宗天宇	3(盤)	3(盤)	3(盤)
4. 樣品組:郭佳恩	3(盤)	3(盤)	3(盤)
5. 樣品組:曾詠棋	3(盤)	3(盤)	3(盤)
6. 樣品組:周韓俊	3(盤)	3(盤)	3(盤)
7. 樣品組:林治恩	3(盤)	3(盤)	3(盤)
8. 樣品組:謝天宇	3(盤)	3(盤)	3(盤)
共計(盤)	22(盤)	22(盤)	22(盤)

(四) 實驗流程圖



二、研究過程說明:

(一)自製培養箱:

取一形狀方正的紙箱，在紙箱內外皆鋪上鋁箔紙，放入兩具具燈座的鎢絲燈泡，由於進行實驗的季節適逢春天，早晚溫差大，白天高溫可至 28 度左右，入夜後溫度則滴至 18 度左右，溫差間距大，而本次實驗培養基的最佳培養溫度為 25~35 度之間，為了讓確保溫度一致，因此我們參考養雞燈讓小雞取暖的方式，使用傳統鎢絲燈泡，鎢絲燈泡會產熱，能讓紙箱內溫度提高，因此讓紙箱內維持一定的溫度；而紙箱內鋪上鋁箔紙，除了可保持溫度外，也可隔熱，以免鎢絲燈泡溫度過高而使紙箱燃燒起來產生危險；依此製作方式就完成了自製培養箱的步驟及成品。(圖一、圖二)



圖一:將紙箱包覆鋁箔紙



圖二:放入鎢絲燈進行培養

(二)培養基

本此使用三種培養基，分別是培養 1. 總生菌數的 Plate Count Agar plate 平板計數瓊脂(PCA agar plate)、2. 大腸桿菌群的 Eosin Methylene Blue agar plate 伊紅美藍瓊脂培養基(EMB agar plate)及 3. 黴菌的 Sabouraud Dextrose Agar plate 沙氏葡萄糖瓊脂(SDA agar plate)；每個樣品在每種培養基皆進行三重複試驗

(三) 每個樣品來源有不同的保存方式如下表:(表二)

表二:樣品來源及保存方式

	飲用水來源及保存方式
1. 樣品組-1:宗○宇	自市面上購買水後以熱水器加熱後於冷水瓶中保存。
4. 樣品組-2:郭○恩	自市面上購買水後以開飲機加熱保存。
5. 樣品組-3:曾○棋	自市面上購買水後以開飲機加熱保存。
6. 樣品組-4:周○俊	自市面上購買水後以開飲機加熱保存。
7. 樣品組-5:林○恩	剛開封之礦泉水，放置時間未超過 2 小時
8. 樣品組-6:謝○宇	已開封之礦泉水，放置時間超過 5 天以上

(四) 研究設計

1. 空白組:每種微生物種類(1)生菌數(2)大腸桿菌群(3)黴菌皆放置一空白組的培養基，即未塗抹任何樣品，但仍與樣品於同樣條件下培養，其目的是為證明之後樣品培養基所長出的微生物是來自樣品的，而不是來自原本培養基受到污染而長出的微生物。
2. 總生菌數(Total Bacterial Count)實驗:
 - (1) A. 此項變因共有八組；一組空白組，一組控制組，其他六個樣品，每組相同條件下進行三重複；
 - B. 以 Plate Count Agar plate 平板計數瓊脂(PCA agar plate)進行培養。

(表三)

表三:總生菌數(Total Bacterial Count)實驗

	(1)生菌數-1	(2) 生菌數-1	(3) 生菌數-1
1. 空白組	1(盤)	-	-
2. 控制組-礦泉水	1(盤)	1(盤)	1(盤)
3. 樣品組-1:宗○宇	1(盤)	1(盤)	1(盤)

4. 樣品組-2:郭○恩	1(盤)	1(盤)	1(盤)
5. 樣品組-3:曾○棋	1(盤)	1(盤)	1(盤)
6. 樣品組-4:周○俊	1(盤)	1(盤)	1(盤)
7. 樣品組-5:林○恩	1(盤)	1(盤)	1(盤)
8. 樣品組-6:謝○宇	1(盤)	1(盤)	1(盤)
共計(盤)	8(盤)	7(盤)	7(盤)

(2) 實驗記錄:於塗盤後於 24 小時及 48 小時後進行觀察與紀錄

3. 大腸桿菌群(Coliform group)實驗:

(1) A. 此項變因共有八組；一組空白組，一組控制組，其他六個樣品，每組相同條件下進行三重複；

B. 使用 Eosin Methylene Blue agar plate 伊紅美藍瓊脂培養基(EMB agar plate)進行細菌培養。(表四)

表四:大腸桿菌群(Coliform group)實驗

	(1)大腸桿菌群-1	(2) 大腸桿菌群-2	(3) 大腸桿菌群-3
1. 空白組	1(盤)	-	-
2. 控制組:礦泉水	1(盤)	1(盤)	1(盤)
3. 樣品組-1:宗○宇	1(盤)	1(盤)	1(盤)
4. 樣品組-2:郭○恩	1(盤)	1(盤)	1(盤)
5. 樣品組-3:曾○棋	1(盤)	1(盤)	1(盤)
6. 樣品組-4:周○俊	1(盤)	1(盤)	1(盤)
7. 樣品組-5:林○恩	1(盤)	1(盤)	1(盤)
8. 樣品組-6:謝○宇	1(盤)	1(盤)	1(盤)
共計(盤)	8(盤)	7(盤)	7(盤)

(2) 實驗記錄:於塗盤後於 24 小時及 48 小時後進行觀察與紀錄

4. 黴菌數(fungi)實驗:

(1) A. 此項變因共有八組；一組空白組，一組控制組，其他六個樣品，每組相同條件下進行三重複；

B. 使用黴菌的 Sabouraud Dextrose Agar plate 沙氏葡萄糖瓊脂(SDA agar plate)進行黴菌培養。(表五)

表五:黴菌(fungi)實驗

	(1)黴菌數-1	(2)黴菌數-1	(3)黴菌數-1
1. 空白組	1(盤)	-	-
2. 樣品組:礦泉水	1(盤)	1(盤)	1(盤)
3. 樣品組-1:宗天宇	1(盤)	1(盤)	1(盤)
4. 樣品組-2:郭佳恩	1(盤)	1(盤)	1(盤)
5. 樣品組-3:曾詠棋	1(盤)	1(盤)	1(盤)
6. 樣品組-4:周韓俊	1(盤)	1(盤)	1(盤)
7. 樣品組-5:林治恩	1(盤)	1(盤)	1(盤)
8. 樣品組-6:謝天宇	1(盤)	1(盤)	1(盤)
共計(盤)	8(盤)	7(盤)	7(盤)

(2) 實驗記錄:於塗盤後於 24 小時及 48 小時後進行觀察與紀錄

5. 結果觀察:

(1) 將培養基至於光線下進行觀察,看是否有產生菌落:依照培養基提供廠商的資料:

A. 生菌數(PCA agar plate):會產生白色圓形菌落

B. 大腸桿菌群(EMB agar plate): 會產生金屬色圓形菌落

C. 黴菌(SDA agar plate): 會產生白色或灰色圓形菌落

(2) 微生物計數:

培養過 24 及 48 小時後的培養基於光線下觀察，若有產生菌落，則以奇異筆圈起來，並編上號碼；計算單位以 CFU/ml 為主，一個菌落就是一個 CFU，而我們是以約 0.1ml 的樣品量進行塗盤，因此在計數完菌落數後，要在乘上 10，才會得到每 ml 的水樣中含有多少的菌落數(CFU/ml)。

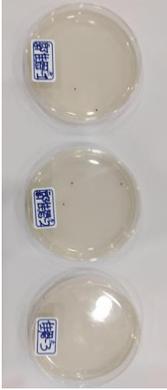
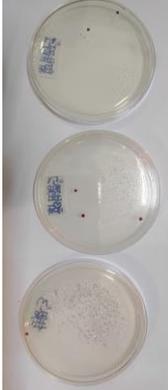
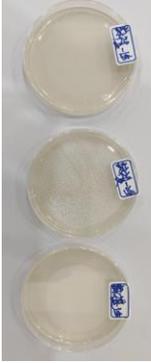
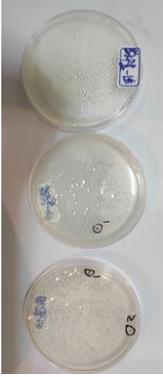
伍、研究結果

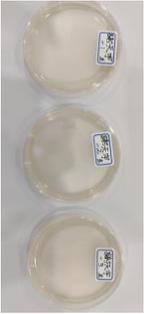
一、總生菌研究結果

(一) 總生菌數量及圖像結果：

(二) 計算方式：每個樣品的菌落數量再乘上 10 → CFU/ml

時間	24 小時	48 小時	說明
溫度	29 度	30 度	
1. 空白組			空白組皆未長菌
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	0 CFU/ml；未長菌	
2. 樣品組：礦泉水			礦泉水皆未長菌
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	0 CFU/ml；未長菌	
3. 樣品組：宗○宇			48 小時後，三個培養基中，其中兩個分別長出 1 個菌落。取其平均值
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	1 CFU/ml	

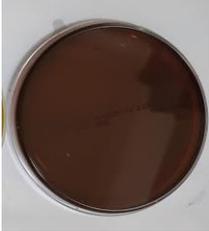
4. 樣品組: 郭○恩			24 小時後二個培養基中，分別長出 2 和 3 個菌落，取其平均值。 2. 48 小時後三個培養基中，分別長出 1、2 和 3 個菌落，取平均值。
平均菌落數	17 CFU/ml	20 CFU/ml	
5. 樣品組: 曾○棋			48 小時後，三個培養基中，其中兩個分別長出 1、2 個菌落，取其平均值。
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	10 CFU/ml	
6. 樣品組: 周○俊			第三個培養基長出 12 個菌落，取其平均值
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	40 CFU/ml	
7. 樣品組: 林○恩			48 小時後，三個培養基中，皆無生菌數菌落產生。
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	0 CFU/ml；未長菌	

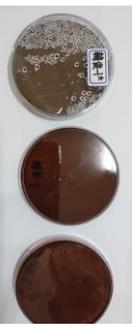
8. 樣品組:謝○宇			48 小時後，三個培養基內分別長出 50 個以上的菌落數，取其平均值
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	580 CFU/ml	

二、大腸桿菌群研究結果

(一)大腸桿菌群數量及圖像結果：

(二)計算方式:每個樣品的菌落數量再乘上 10 → CFU/ml

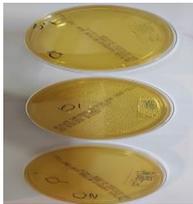
時間	24 小時	48 小時	說明
溫度	29 度	30 度	
1. 空白組			空白組皆未長菌
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	0 CFU/ml；未長菌	
2. 樣品組:礦泉水			礦泉水皆未長菌
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	0 CFU/ml；未長菌	
3. 樣品組:宗○宇			48 小時候，三個培養基中，皆無大腸桿菌群菌落產生。
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	0 CFU/ml；未長菌	
4. 樣品組:郭○恩			48 小時候，三個培養基中，分別長出 1、3、1 個菌落，取其平均值
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	17 CFU/ml；	

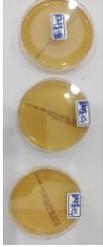
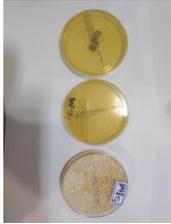
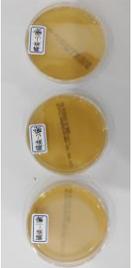
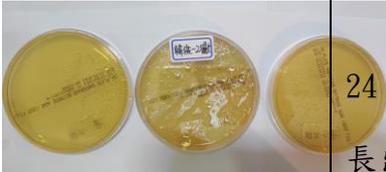
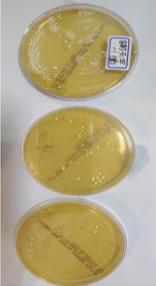
5. 樣品組:曾○棋			48 小時候，三個培養基中，皆無大腸桿菌群菌落產生。
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	0 CFU/ml；未長菌	
6. 樣品組:周○俊			48 小時候，三個培養基中，皆無大腸桿菌群菌落產生。
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	0 CFU/ml；未長菌	
7. 樣品組:林○恩			48 小時候，三個培養基中，皆無大腸桿菌群菌落產生。
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	0 CFU/ml；未長菌	
8. 樣品組:謝○宇			48 小時候，三個培養基內其中一個長出約 25 個菌落，取其平均值
平均菌落數	0 CFU/ml；未長菌	76 CFU/ml；	

三、黴菌研究結果

(一) 黴菌數量及圖像結果:

(二) 計算方式: 每個樣品的菌落數量再乘上 10 → CFU/ml

時間	24 小時	48 小時	說明
溫度	29 度	30 度	
1. 空白組			空白組皆未長菌
平均菌落數	0 CFU/ml ; 未長菌	0 CFU/ml ; 未長菌	
2. 樣品組: 礦泉水			其中一盤長出 1 個菌落，取其平均值
平均菌落數	0 CFU/ml ; 未長菌	3 CFU/ml ;	
3. 樣品組: 宗○宇			24 小時及 48 小時皆未長出菌落。
平均菌落數	0 CFU/ml ; 未長菌	0 CFU/ml ; 未長菌	
4. 樣品組: 郭○恩			三個培養基上分別長出 2、1、2 個菌落，取其平均值
平均菌落數	0 CFU/ml ; 未長菌	17 CFU/ml ;	

5. 樣品組:曾○棋			24 小時及 48 小時皆未 長出菌落
平均菌落數	0 CFU/ml ; 未長菌	0 CFU/ml ; 未長菌	
6. 樣品組:周○俊			24 小時及 48 小時皆未 長出菌落
平均菌落數	0 CFU/ml ; 未長菌	0 CFU/ml ; 未長菌	
7. 樣品組:林○恩			48 小時後三盤中有一 盤長出一個菌落
平均菌落數	0 CFU/ml ; 未長菌	10 CFU/ml ; 長出一個 菌落	
8. 樣品組:謝○宇			24 小時及 48 小時皆未 長出菌落
平均菌落數	0 CFU/ml ; 未長菌	0 CFU/ml ; 未長菌	

陸、研究討論

一、結果討論：

- (一) 空白組試驗在培養至 48 小時為止都沒有長出菌落，沒有被汙染。
- (二) 生菌數試驗中，宗○宇同學的水在 3 個培養基中在 48 小時只有一個培養基長出 1 個菌落，其值為 1 CFU/ml，是在檢驗標準值內(6 CFU/ml)。但由於 3 個培養基只有一個長出來，因此有兩個可能性，第一點是實驗的汙染造成的誤差而產生菌落，第二點可能是宗○宇同學的水本身生菌數就不高，因此塗盤後所生長的細菌就不多。若宗○宇同學的水本身生菌數就不高，而他們保存水的方式是先用熱水器煮過後再冷卻，這樣則表示他們家裡的保存方式對生菌數是有效的，且保存容器可能也維持得很乾淨。
- (三) 郭○恩同學的水在 48 小時後，三個培養基分別長出 1~3 菌落，平均值約 20CFU/ml 左右，有超出檢驗標準值內(6 CFU/ml)。郭○恩同學的水的生菌數有點高，他們的飲水方式是買礦泉水後倒入開飲機內煮，再從開飲機中取水，生菌數過高可能是因開飲機較髒，因而造成水的汙染。因此建議同學家要定期將開飲機進行清洗，以保水源乾淨。
- (四) 曾○棋同學的水在 48 小時後，其中兩個培養基分別長出 2、3 個菌落，平均值約 10CFU/ml 左右，有超出檢驗標準值內(6 CFU/ml)。他們的飲水方式是買水後倒入開飲機內煮，再從開飲機中取水，生菌數過高可能是因盛水的桶子或開飲機較髒，因而造成水的汙染。因此建議同學家要定期將盛水的桶子或開飲機進行清洗，以保水源乾淨。
- (五) 周○俊同學的水在 48 小時後，其中一個培養基長出個 12 菌落，平均值約 40CFU/ml 左右，遠超出檢驗標準值內(6 CFU/ml)。他們的飲水方式是買水後倒入開飲機內煮，再從開飲機中取水，生菌數過高可能是因盛水的桶子或開飲機較髒，因而造成水的汙染。因此建議同學家要定期將盛水的桶子或開飲機進行清洗，以保水源乾淨。
- (六) 謝○宇同學的水在 48 小時後，其中一個培養基長找出 50 個以上的菌落，平均

值約 480CFU/ml 左右，遠超出檢驗標準值內(6 CFU/ml)。他們的飲水方式是購買礦泉水直接喝，而他開的水可能已放置過久，而產生很高的生菌數，因此建議她更換新的水喝。

- (七) 在大腸桿菌群試驗中，郭○恩及謝○宇同學都有生成菌落，且都超過標準值。
- (八) 在黴菌試驗中，林○恩的礦泉水及未開封礦泉水都長了一個黴菌菌落，而郭○恩也有長出黴菌菌落。結果看來，礦泉水似乎生菌數低，但反而是會長黴菌；但也有可能是實驗過程的污染而早的。
- (九) 另一個值得注意的是謝○宇同學在生菌數及大腸桿菌中都有很高的菌數，郭○恩在生菌數及大腸桿菌中都有很高的菌數及黴菌也有產生，因此這兩位同學家裡的水受到汙染的機會很高，要提醒注意自身的用水安全及觀念。

二、總結：

飲用水是我們人體及生活中不可或缺的，相關的名詞學生雖然常聽到，但從未真的見到，我們這次利用容易取得的生活用品及實驗用品，讓學生以自己家的飲用水作為樣品，觀察到不同的細菌型態，更了解自己生活上和科學不可分的相關性。

柒、參考文獻：

- 一、 南投縣政府衛生局 <https://www.ntshb.gov.tw/business/index.aspx?uid=6&bid=1389>
- 二、 台美檢驗：<https://www.superlab.com.tw/cfu-mpn/>