【2021 全國科學探究競賽-這樣教我就懂】

高中（職）組成果報告表單

題目名稱： 平凡無奇的抑菌小尖兵

一、摘要

本研究旨在探討常見的飲品原料如綠茶、蜂蜜、檸檬對口腔內細菌的抑菌效果比較。利用液態培養基進行各個實驗樣品的試驗，並以分光光度儀測量各個樣品的吸光值數據，發現抑菌效果強弱為：市售漱口水 > 2%氯己定溶液 > 檸檬 > 綠茶 > 蜂蜜，與假設符合。也利用固態培養基培養於口腔採集的細菌，並進行格蘭氏染色，實驗結果為格蘭氏陰性菌。

二、探究題目與動機

現代飲食與過去相差甚多，許多新型多元的餐廳也如雨後春筍般出現，使得人們的飲食習慣改變，飲料也幾乎是餐餐必備，市面上常見的飲料有手搖飲，較健康的有茶類。但這種飲食習慣卻也讓人們的口腔變得不健康，若沒有適當的清潔口腔便容易導致蛀牙、牙周病等口腔疾病。因此我們想要探討食物成分與口腔內細菌的關係。透過查詢專業論文，我們發現，食材如蜂蜜、檸檬、薄荷、蔓越莓等，以及無糖飲料如綠茶、紅茶、咖啡等對口腔有抑菌效果。

從古代藥典到與現代醫學的接軌；從預防保健到臨床醫療上運用，天然藥物的研究如雨後春筍般在世界各研究單位發表，天然抗生素在醫學治療上，經過一連串的臨床試驗與嚴格規範控管製程，已有許多在市面上流通，包括大蒜、薑黃、香草科植物、醋、蜂蜜等，而在這次研究中，我們希望進一步連結生活與天然抑菌劑，從已經成為飲食習慣的「喝飲料」下手，比對飲品原料對口腔內細菌的抑菌效果。

三、探究目的與假設

探討常見的飲品原料如綠茶、蜂蜜、檸檬對口腔內細菌的抑菌效果比較。

1. 綠茶、檸檬、蜂蜜有抑菌效果。
2. 抑菌效果：市售漱口水 > 氯己定漱口水 > 天然成分漱口水。
3. 含有化學成分漱口水的抑菌作用時長較天然成分久。
4. 口腔內的細菌大多為格蘭氏陽性菌（推測為口腔鏈球菌，口腔中數量最多的細菌）。

四、探究方法與驗證步驟

一、前置作業：配置固態及液態 LB 培養基

- 液態培養基：不同樣品對口腔細菌的抑菌效果。
- 固態培養基：培養於口腔中採集的細菌。

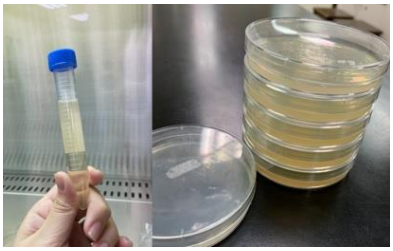
1.實驗步驟

配置 100ml 的液態或固態培養基，材料如下表一。

（表一）配置 100ml 固態及液態 LB 培養基所需材料

蒸餾水	蛋白腖	酵母萃取物	氯化鈉	洋菜(固態用)
100ml	1g	0.5g	1g	2g

（1） 將所有材料加入蒸餾水中並攪拌均勻。
（2） 滅菌 121℃ 1.2kg/cm² 20 分鐘。
（3） 放入水中待冷卻至 40～50℃ 放入無菌操作台。
（4） 分裝到試管及塑膠培養皿，每管 10ml。
（5） 開 UV 燈殺菌 30 分鐘。
（6） 寫上日期與名稱，儲存於冰箱。



（圖一）配置固態及液態的 LB 培養基

2.實驗結果

第一次： 失敗，因放入高溫釜滅菌時忘記加水，導致培養基放置時間過長而沉澱。

第二次：如下圖一，實驗結果為成功。

二、比較市售漱口水、2%氯己定溶液、綠茶、蜂蜜及稀釋檸檬原汁的抑菌效果

1.實驗步驟

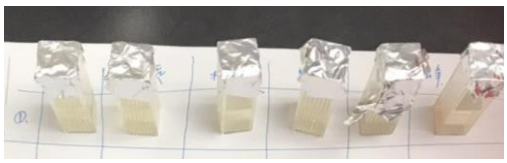
（1）配置溶液

溶液分別為：2%氯己定溶液、綠茶、稀釋檸檬原汁、蜂蜜水、和市售漱口水。稀釋檸檬原汁、蜂蜜水是以我們日常的酸、甜度作為濃度標準。綠茶則是使用茶包，並用熱水泡 3 分鐘。將溶液放置於燒杯中，並用鋁箔紙蓋住，靜置 10 分鐘，讓裡面的雜質慢慢沈澱，也防止細菌掉入汙染溶液。如圖三。

（2） 取出歸零數據做為後續測定的基準值

為確保實驗的準確性，我們在未加入細菌前先從各個培養基（共五個）內取出 2 ml 的培養基分別放入不同的石英管內，作為後續測定的基準值。如圖四。

（圖三）配置實驗樣品



（圖四）進行吸光值測量

（3） 加入口腔細菌

我們利用無菌棉花棒採取口腔內的細菌。先在口腔內刮三下，再放入液態培養基內並轉兩圈，以確保培養基中的細菌濃度沒有明顯誤差，放置 20 分鐘待細菌分裂。

（4） 利用分光光度儀測量吸光值

待 20 分鐘後細菌分裂，使用微量滴管從各個培養基中取出 2 ml 的樣品放入不同石英管內。將分光光度儀的的波長設定至可見光波段（600nm），把先前取出的歸零培養基放入儀器裡作為基準值，再把裝有分裂後細菌的石英管放入儀器中測量吸光值。吸光值越高，表示樣品內細菌濃度越高。如圖六。

（5） 加入抑菌溶液

將 2ml 的抑菌溶液分別加入培養基中，並均勻搖晃。

（6） 利用分光光度儀測量吸光值。

如步驟四。共測量 4 次吸光值，每次測量相隔 20 分鐘待細菌分裂增殖。

2.實驗結果

如下表二：

（1） 市售漱口水的數據資料在 40～60 分鐘間有明顯的下降，顯示其具有良好的殺菌效果。

（2） 2%氯己定溶液的數據在 40～60 分鐘間與市售漱口水一樣具有殺菌效果，但在 80 分鐘時有小幅度的上升，可推測其殺菌效果的維持的時長較市售漱口水低，但仍有抑菌效果。

（3） 檸檬、綠茶、蜂蜜在數據上皆維持在穩定的狀態，可推知他們雖沒有殺菌效果卻有良好的抑菌效果。

（表二）各個樣品的吸光值數據

	市售漱口水	2%氯己定溶液	檸檬	綠茶	蜂蜜
20 分鐘（加抑菌劑前）	0.455	0.012	0.004	0.192	0.042
40 分鐘（加抑菌劑後）	0.472	0.448	0.034	0.093	0.037
60 分鐘	0.138	0.017	0.031	0.093	0.010
80 分鐘	0.006	0.111	0.051	0.101	0.078

三、實驗二：製作口腔細菌塗盤

1.實驗步驟

（1） 將先前配置好的固態培養基放入無菌操作台內。

（2） 利用無菌棉花棒在口中刮取細菌。

（3） 用沾有細菌的棉花棒以之字形在培養基上塗抹。

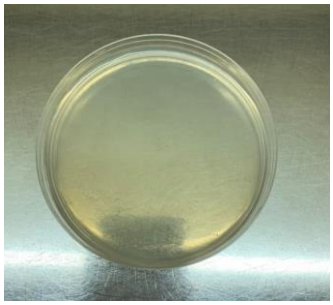
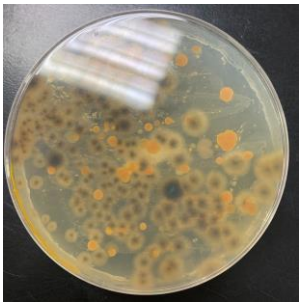
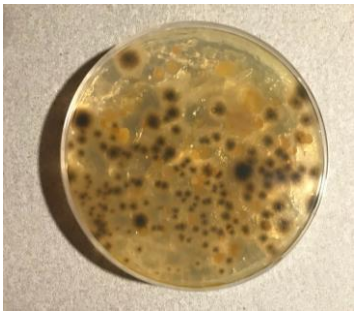
（4） 使用封條密封培養基，並放置在陰涼處讓細菌生長。

2.實驗結果

如下表三，有黃色菌落沿之字型生長。

可觀察到有黴菌汙染。

（表三）口腔細菌塗盤培養成果

塗盤前	培養一週	培養兩週
		

四、實驗三：以格蘭氏染色法確認所培養的細菌是否為假設的格蘭氏陽性菌

1.實驗步驟

（1） 拭淨載玻片，並以無菌操作。

（2） 用棉花棒沾取固態培養基中的口腔細菌並塗抹至載玻片上。於空氣中乾燥，固定後備用。

（3） 將標本覆以結晶紫，靜置 1 分鐘，再以蒸餾水清洗。

（4） 覆以格蘭氏碘液媒染劑，靜置 1 分鐘，再以蒸餾水清洗。

（5） 以 95%乙醇脫色，勿脫色過度，逐滴滴下，至發現結晶紫未自塗抹中釋出為度，再以蒸餾水清洗。

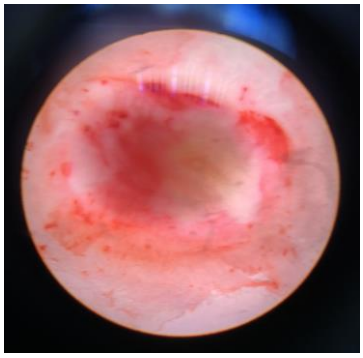
（6） 以番紅複染 45 秒。

（7） 以蒸餾水清洗。

（8） 以吸水紙吸乾，並用油鏡觀察。

2.實驗結果

染色結果呈現紅色，為格蘭氏陰性菌，如右圖五。



（圖五）格蘭氏染色結果

此實驗結果與先前假設不符，我們推論可能原因如下：

1. 採集的細菌不是 24 小時內培養的細菌，導致菌齡老化而使原應為格蘭氏陽性菌的細菌失去保留初染之能力，而呈現紅色的染色結果。

2. 所採集的細菌為格蘭氏陰性菌。

五、結論與生活應用

一、 結論

1. 市售漱口水及 2%氯己定溶液的抑菌效果最佳，可在短時間內殺死大量細菌並維持抑菌效果。

2. 天然成分中，綠茶的抑菌效果為三者中最佳，其次為檸檬，最後是蜂蜜。

- 但我們的實驗結果仍和我們的假設有些許落差：

1. 同為 20 分鐘時，市售漱口水的細菌濃度卻遠高於其他樣品。
2. 2%氯己定溶液在加入抑菌溶液後 20 分鐘的效果並不顯著。
3. 可能原因為時間管控不當，因為我們需要和其他組共用分光光度儀，有時無法掌控在預定時間內進行測量。

二、生活應用：

根據實驗結果，綠茶、檸檬和蜂蜜都有抑菌效果，可讓口腔保持在較乾淨健康的環境，因此下次在購買飲料時，不妨選擇無糖的綠茶，或是含少量蜂蜜或檸檬的飲料，如此一來，既可滿足喝飲料的需求，又不會對口腔環境造成負面影響。

參考資料

臺灣博碩士論文知識加值系統：珍珠芭樂、蔓越莓、及檸檬抑菌性之探討 檢索日期：2021/03/21
https://hdl.handle.net/11296/5nj7af

臺灣博碩士論文知識加值系統：台灣蜂蜜與綠蜂膠對臨床抗藥性菌株之抑菌活性 檢索日期：2021/3/21
https://hdl.handle.net/11296/846685

臺灣博碩士論文知識加值系統：台灣產蜂蜜抑菌活性探討 檢索日期：2021/03/24
https://hdl.handle.net/11296/35a9r9

臺灣博碩士論文知識加值系統：綠茶及 EGCG 對 Pg 及其蛋白酶之影響 檢索日期：2021/03/18
https://hdl.handle.net/11296/3g9g8q