

## 細菌生長

### 目的

利用“Borderless Lab 365”平台，瞭解溫度對細菌生長的影響；通過觀察菌落的外觀和培養基的顏色變化；利用選擇性和差異性培養基識別細菌種類。

### 背景

- 細菌通過一個細菌分裂成兩個子細胞的方式來生長，這個過程稱為二分裂。所有細菌都有自己的最佳生長溫度。根據其**最佳生長溫度**，細菌分成 5 類，包括嗜冷菌、耐冷菌、嗜中溫菌、嗜熱菌和嗜超熱菌。大多數人類病原體是嗜中溫菌，在 25-40°C 之間生長最好。大腸桿菌 ( *E. coli* ) 和金黃色葡萄球菌 ( *S. aureus* ) 是嗜中溫菌的例子，將在本實驗中使用。
- **選擇性培養基**含有化學物質，可以抑制不需要的微生物的生長或鼓勵需要的微生物的生長。差異性培養基可用於根據細菌的形態和生化相關的生物群體來區分細菌，使細菌生長和/或菌落周圍的培養基的外觀發生特徵性變化，從而允許進行區分。本實驗中使用甘露醇鹽瓊脂和麥康凱瓊脂。
- **甘露醇鹽瓊脂**：它含有高濃度的鹽，7.5%的氯化鈉，可以抑制除葡萄球菌以外的大多數細菌的生長。它也有一個區別功能，因為它含有碳水化合物「甘露醇」，一些葡萄球菌能夠發酵，我們可以用酚紅（一種 pH 指示劑）來檢測甘露醇發酵葡萄球菌產生的酸。發酵甘露醇的葡萄球菌在其生長周圍表現出一個黃色區域，而不發酵甘露醇的葡萄球菌不會產生顏色變化。
- **麥康凱瓊脂**：它含有結晶紫，可以阻止革蘭氏陽性生物的生長，因此我們可以通過將其接種到麥康凱瓊脂中來分離革蘭氏陰性細菌。它含有碳水化合物乳糖、膽汁鹽和 pH 值指示劑中性紅，允許根據腸道細菌發酵乳糖的能力來區分它們。在此基礎上，腸道細菌被分為兩組。能夠發酵乳糖的細菌使菌落生長呈現粉紅色或紅色。

## 實驗材料

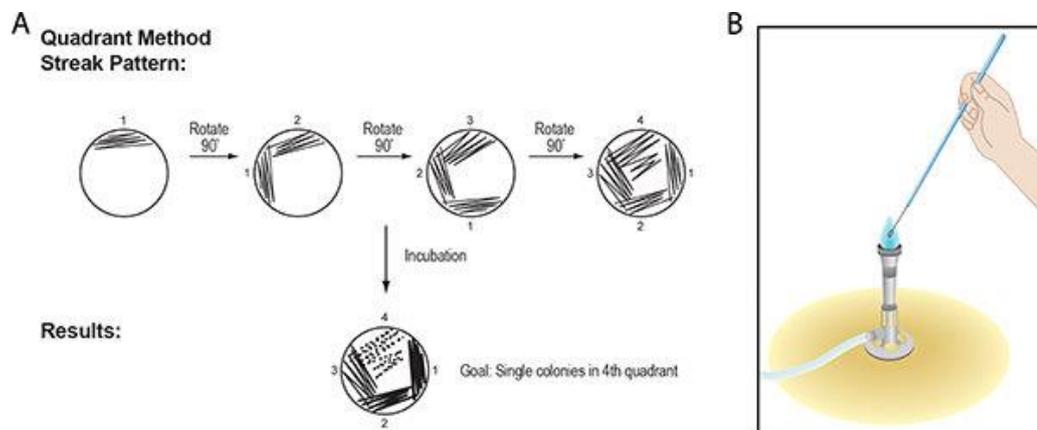
- 甘露醇鹽瓊脂和麥康凱瓊脂
- 8 個培養皿 ( 直徑 60 毫米 )
- 大腸桿菌 ( *E. coli* )
- 金黃色葡萄球菌 ( *S. aureus* )
- 電子磅
- 稱重盤
- 刮鏟
- 250mL 量筒
- 蒸餾水
- 2 個 250mL 培養基瓶
- 水浴鍋
- 本生燈燃燒器
- 接種環
- 2 個 20°C 和 37°C 的恆溫培養箱

## 步驟

### 準備工作 [ 由理工大學員工預備 ]

1. 用 70% 的乙醇清潔工作台表面。
2. 準備 4 個甘露醇鹽瓊脂平板和 4 個麥康凱瓊脂平板。
  - a. 將 27.75 克甘露醇鹽瓊脂粉溶解在 250 毫升蒸餾水中，置於 250 毫升培養瓶中。
  - b. 將 12.875 克麥康凱瓊脂粉溶解在 250 毫升蒸餾水中。
  - c. 攪拌並在燒瓶上貼上高壓滅菌膠帶。
  - d. 將甘露醇鹽瓊脂溶液和麥康凱瓊脂溶液在 121°C 下高壓滅菌 20 分鐘。
  - e. 準備好水浴，將溫度設定為 50°C。
  - f. 滅菌后，將玻璃瓶放入 50°C 水浴中，冷卻瓊脂溶液 5 分鐘。
  - g. 打開本生燈。
  - h. 在培養皿上貼上瓊脂、細菌和溫度的名稱。將大約 15mL 的瓊脂溶液倒入每個培養皿中。確保環境是無菌的 ( 工作臺用 70% 的乙醇清洗，工作在本生燈附近進行 ) 。
  - i. 讓溶液在室溫下冷卻和凝固約 20 分鐘，並翻轉以避免瓊脂上的凝結。
  - j. 培養皿放在 37°C 的培養箱中 2-3 小時，或室溫下 2-3 天，使其乾燥。如果不立即使用培養皿，請將其保存在 4°C 的冰箱中。
3. 將細菌轉移到所有 8 個培養皿中。
  - a. 用 70% 的乙醇清潔工作臺。
  - b. 打開本生燈。
  - c. 取出準備好的平板，檢查平板。如果平板被污染，則重複步驟 2。
  - d. 使用本生燈對接種環進行灼燒，直到其呈紅色，以進行消毒。
  - e. 將接種環冷卻幾秒鐘。

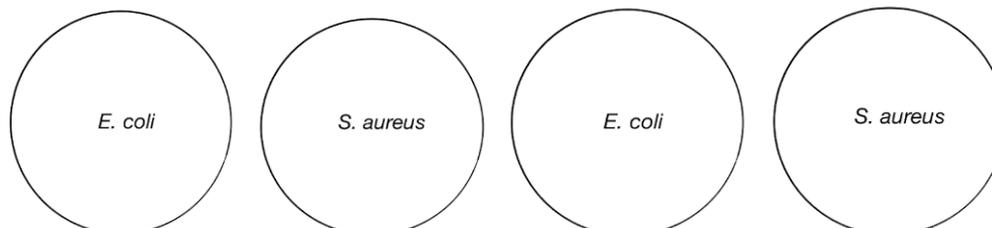
- f. 從細菌培養板中選擇一個大腸桿菌和金黃色葡萄球菌的菌落，用接種環將它們轉移到瓊脂平板上。（每種類型的細菌轉移到 2 個甘露醇鹽瓊脂平板和 2 個麥康凱瓊脂平板上）。
- g. 用畫條紋的方式擴散細菌。



- h. 將培養皿放入 37°C 和 20°C 的培養箱中 24 小時。

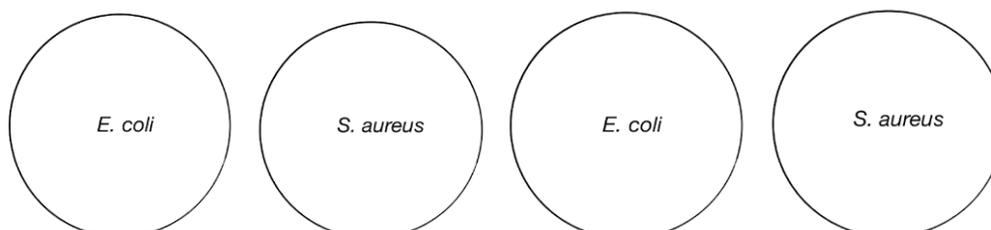
箱子 1 ( 37°C )

培養皿 1, 2 : 甘露醇鹽瓊脂平板 ; 培養皿 3, 4 : 麥康凱瓊脂平板



箱子 2 ( 20°C )

培養皿 1, 2 : 甘露醇鹽瓊脂培養板 ; 培養皿 3, 4 : 麥康凱瓊脂培養板



進行實驗

1. 在“Borderless Lab 365”平台選取實驗“細菌生長”。  
<https://stem-ap.polyu.edu.hk/remotelab/>
2. 每小時觀察一次樣品。
3. 下載所有照片。
4. 測試完成後，按“LOGOUT”登出賬號。

**結果**

觀察實驗結果，填寫以下表格

箱子 1 (37°C)

	甘露醇鹽瓊脂		麥康凱瓊脂	
	大腸桿菌	金黃色葡萄 球菌	大腸桿菌	金黃色葡萄 球菌
是否出現菌落	<i>是/否</i>			
細菌菌落數目	<i>很多/較少/沒有</i>			
菌落顏色				
凝膠顏色				

箱子 2 (20°C)

	甘露醇鹽瓊脂		麥康凱瓊脂	
	大腸桿菌	金黃色葡萄 球菌	大腸桿菌	金黃色葡萄 球菌
是否出現菌落				
細菌菌落數目				
菌落顏色				
凝膠顏色				

**問題**

1. 大腸桿菌和金黃色葡萄球菌生長的最佳溫度是多少？
2. 革蘭氏陽性菌和革蘭氏陰性菌之間有什麼區別？
3. 大腸桿菌是革蘭氏陽性還是革蘭氏陰性細菌？
4. 金黃色葡萄球菌是革蘭氏陽性菌還是革蘭氏陰性菌？
5. 大腸桿菌是發酵乳糖還是發酵甘露糖醇？
6. 金黃色葡萄球菌是發酵乳糖還是發酵甘露糖醇？
7. 舉出其他兩個革蘭氏陽性細菌的例子。
8. 舉出另外兩個革蘭氏陰性菌的例子。