市售蛋糕微生物之檢測

Microbial examination of commercially available cakes

黃惠瑩 詹鴻得

元培醫事科技大學 食品科學系

● 緒論

本研究針對市售蛋糕微生物品質進行檢測，檢測項目包括總生菌數、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、沙門氏桿菌及李斯特菌。總生菌數檢測結果發現其中有6種樣品有微生物生長，總生菌數介於1.9×10^1 CFU/ml～3.2×10^3 CFU/ml之間，生菌數越高表示樣品可能在製作、運輸與儲存過程受到感染；大腸桿菌是食品主要的衛生指標，試驗結果發現其中有2個樣品檢測出來是為大腸桿菌群；12種樣品中金黃色葡萄球菌皆未檢出，而沙門氏桿菌檢出率相當高(83.3%)，共計有10種樣品檢出含有沙門氏桿菌；李斯特菌檢驗結果中，有3種樣品檢出。市售蛋糕在加工製造、產品保存或銷售過程，微生物易在溫度控制不當環境中生長，產品有可能受到感染。

● 前言

食品衛生安全問題，影響層面廣泛，嚴重威脅國民健康與國家安全，其中食因性病原菌引發食媒性疾病的最大宗原因，也造成多起特殊群眾事件的發生，皆突顯食品安全管理的重要性。每年食品中毒案件數呈日漸上升的趨勢，欲達成預防食品中毒之食品衛生管理重要工作，需由民眾、業者與政府三方面互相搭配：食品衛生 由種植、收成、加工到被人消費食用止，為長每一階段，都能達成確保食品安全性、完整性與健全性等而必須採取的一切手段。

在食品檢驗中，微生物檢驗是評價食品安全的重要衛生指標之一，同時為疾病控制、防治等的，因此加強食品衛生。成為了食品質量安全控制方面的重要，對控制微生物引起的食源性疾病具重要。隨著社會經濟的發展，我们對食品微生物檢驗的質量控制的要求越來越高，食品微生物檢驗的質量控制對於一個食品企業來說非常的重要，也隨著人們生活水平的提高，食品安 全問題成為了熱門的話題，食品微生物檢驗也日益得到重視，為了确保人們身體健康，是保證食品安全的一道重要防線。

本研究抽樣檢驗新竹市之市售蛋糕類食品的微生物品質，依照衛生標準進行食品微生物之檢驗，以瞭解其衛生狀態，以及食品遭受食因性病原微生物之汙染情形，供消費者選購、業者提升產品品質。

● 材料與方法

1. 材料:

(1)微生物培養基: Plate count agar、Lauryl sulfate tryptose broth、EC broth、LEMB、BLEB、Brain heart infusion broth、Baird-Parker medium、Trypticase soy agar、Tetrathionate broth、Xyloose lysine deoxcholate agar、Bismuth sulfite agar、Triple sugar iron agar、Lysine iron agar。

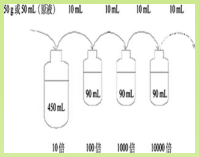
(2)化學試劑: 過氧化氫、甲基紅指示劑、柯瓦氏試劑、歐普氏試劑。

2. 檢測樣品:

本研究檢測樣品共12種，都是在新竹市東區採樣的樣品，樣品分別標號為1-12。

3. 微生物檢驗

一、 總生菌數:樣品25 g 經在LB培養液混合均勻後系列稀釋，再以平板計數培養基培養37℃下24小時後，計算樣品菌落數及總生菌數。



二、 大腸桿菌之檢驗:以系列稀釋過後的檢體，各取1ml至LST(37℃培養24小時)

↓

將有產氣的LST的接到EC(水浴45℃，培養24小時)

↓

將有產氣的接到LEMB畫線培養(培養37℃24小時)

↓

LEMB有長出來的黑金屬菌落接在PCA平板上2片

↓ (生化試驗)

吲哚試驗 (Indole test) PCA培養基接菌到胰化蛋白胨培養液中，在35℃培養24小時

歐普氏試驗(VP test) PCA培養基接菌於MR-VP培養液中，35℃培養48小時

檸檬酸鹽利用試驗(Citrate utilization test) PCA培養基上接菌於柯雷爾氏檸檬酸鹽培養液中35℃培養96小時

乳糖產氣試驗 PCA培養基接菌到LST試管中在35℃培養48小時

三、 金黃色葡萄球菌之檢驗:取總生菌數以稀釋好的，0.1ml放入BP培養基，用L行玻棒塗抹

↓

在BP上選取菌(菌數要20～200)，再接單一菌落至1ml BHI(培養37℃24小時)

↓

加兔子血0.1ml至BHI中培養(室溫培養)

四、 沙門氏桿菌之檢驗:樣品25 g 經過LB培養液培養後(培養37℃24小時)

↓

取1ml LB至TT(水浴45℃，培養24小時)

↓

再將混濁的TT接在XLD和BS上畫線培養(培養37℃24小時)

↓

XLD 已有紅色菌落，有或無黑色中心菌落；BS 典型菌落為褐色、灰色或黑色，有時會產生金屬光澤

↓

再從XLD和BS個挑2個菌落接種穿刺，再來在TSI和LIA斜面培養

↓

吲哚試驗 (Indole test) 取胰化蛋白胨培養液5 mL 置入空試管，在35℃培養24小時

歐普氏試驗(VP test) 鈎菌接種於 MR-VP 培養液，於35℃培養48±2

尿素酶(Urease test)以無菌接種針挑取 TSI 斜面培養基，接種於尿素培養液內(培養37℃24小時)

五、李斯特菌之檢驗:樣品25 g 經過BLEB增菌培養(培養37℃48小時)

↓

再從BLEB接到PALCAM平板(培養37℃24至48小時)

↓

典型李斯特菌為黑色，部分生長慢(培養37℃24-48小時)

↓

取可疑菌落接到TSA+0.6%YE平板

↓

歐普氏試驗(VP test) 取TSA +0.6%YE 平板上鈎菌在MR-VP培養液(於35℃培養48±2小時)

觸酶試驗 (Catalase test) 取TSA +0.6%YE 平板上鈎菌在載玻片上，加1-2滴3%過氧化氫，觀察有無氣泡，產生氣泡正反應，否則為負反應，大都為正反應

● 結果與討論

1. 總生菌數

以檢體系列稀釋10^2～10^4後，分別個吸取1ml至平版中，以PCA平板計數培養基 混合均勻，計數平板菌落算總生菌數，菌落數要25-250 CFU/ml，計數平板中菌落數後，利用下列生菌數公式算出總生菌數，結果如表一所示。在12種樣品中，共有6種樣品(樣品編號6-10及12)檢測出生菌數，檢出率為50%，檢出樣品總生菌數總生菌數介於1.9×10^1 CFU/ml～3.2×10^3 CFU/ml 之間；在一般食品中總生菌數的菌量與食品受到細菌汙染的程度息息相關，此數值的高低可以做為食品衛生狀況的依據。

表一、蛋糕樣品總生菌數檢驗結果

樣品	總生菌	計算式	(CFU/ml
樣品1	總生菌		0
樣品2	總生菌		0
樣品3	總生菌		0
樣品4	總生菌		0
樣品5	總生菌		0
樣品6	總生菌	19 *10^1	1.9*10^1
樣品7	總生菌	59 *10^1	5.9*10^1
樣品8	總生菌	[(35-40)/2 *10^1 +(30-35)/ 2 *10^2] / 2	1.8*10^3
樣品9	總生菌	(25+30)/2 *10^1	2.8*10^2
樣品10	總生菌	(16+18)/2 *10^1	1.7*10^2
樣品11	總生菌		0
樣品12	總生菌	[(225+240)/2 *10^1 + (40-45)/2 *10^2] / 2	3.2*10^3

$$\text{生菌數(CFU/g 或 CFU/mL)} = \left[\left(\frac{Aa+Ab}{2}\right) \times A + \left(\frac{Ba+Bb}{2}\right) \times B\right] \times \frac{1}{2}$$

Aa、Ab：A稀釋倍數各平板內之菌落數。

Ba、Bb：B稀釋倍數各平板內之菌落數。

A、B：稀釋倍數。

2. 大腸桿菌之檢驗

大腸桿菌($E\ coli$)經革蘭氏染色為革蘭氏陰性菌，以三階三支進行培養是否有無產氣、氣泡，再利用MPN法計數和鑑別培養是否出現形成典型菌落後者再做生化試驗，若否定為陰性。在12種樣品中，其中有2種樣品(樣品編號8和樣品10)檢測出含有大腸桿菌(表二)，檢出率為16.7%；大腸桿菌是衛生指標菌，如果超過標準，雖不至於影響身體健康直接致病，卻會足以顯示該產品衛生狀況不佳，需被用來作為監測食品是否遭受汙染，或是製程有無衛生缺失重要指標之一，而食品保存溫度不良亦容易造成微生物的生長。

表二、蛋糕樣品大腸桿菌($E\ coli$)檢驗結果

樣品	染色	Indole test	VP test	MR test	Citrate test	是否為大
樣品1	紅色	負反應	負反應	正反應	正反應	正反應	否
樣品2	紅色	負反應	負反應	正反應	正反應	正反應	否
樣品3	紅色	負反應	負反應	正反應	正反應	正反應	否
樣品4	紅色	負反應	負反應	正反應	正反應	正反應	否
樣品5	紅色	負反應	負反應	正反應	正反應	正反應	否
樣品6	紅色	負反應	負反應	正反應	正反應	正反應	否
樣品7	紅色	負反應	負反應	正反應	正反應	正反應	否
樣品8	紅色	負反應	負反應	正反應	負反應	正反應	是
樣品9	紅色	負反應	正反應	正反應	負反應	正反應	否
樣品10	紅色	負反應	正反應	正反應	負反應	正反應	是
樣品11	紅色	負反應	正反應	正反應	負反應	正反應	否
樣品12	紅色	負反應	正反應	正反應	正反應	正反應	否

2.5.1. 大腸桿菌陽性者，應符合下表所列之結果：

試驗成基質	正反應	負反應	大腸桿菌之反應
革蘭氏染色	陽性(深紫色)	陰性(粉紅色)	−
吲哚試驗	紅色	原色	+/−
甲基紅試驗	紅色	黃色	+
歐普氏試驗	粉紅色	原色	−
檸檬酸鹽利用試驗	混濁狀	澄清	−
乳糖產氣試驗	氣體產生	無氣體產生	+

3. 金黃色葡萄球菌之檢驗

金黃色葡萄球菌尤其是在化膿的傷口，極易經由人體而汙染食品，在台灣夏季最容易引起集體食品中毒，儲存在高溫環境下容易快速生長而產生毒素，都可能會引發金黃色葡萄球菌性食品中毒。樣品經過培養液培養後，後續以選擇性培養基培養及計數，再以血漿凝固酶試驗和測試是否產生毒素以確認是否有金黃色葡萄球菌汙染。表三中檢測結果發現，12種樣品中金黃色葡萄球菌皆未檢出，顯示樣品未經人為操作汙染。

表三、蛋糕樣品中金黃色葡萄球菌($Staphylococcus\ aureus$)檢測結果

樣品	凝固酶試	是否金黃
樣品1	無	否
樣品2	負反應	否
樣品3	負反應	否
樣品4	無	否
樣品5	無	否
樣品6	無	否
樣品7	無	否
樣品8	無	否
樣品9	無	否
樣品10	無	否
樣品11	無	否
樣品12	無	否

4. 沙門氏桿菌之檢驗

樣品經過培養液培養後，後續以選擇性培養基培養，再以生化試驗鑑定確認是否有沙門氏桿菌汙染。12種樣品中，共計有10種樣品檢出含有沙門氏桿菌(樣品編號1-3、5、7-12)，沙門氏桿菌檢出率高達83.3%（表四），有可能在製程中蛋品與乳品的沙門氏桿菌汙染了蛋糕樣品。

表四、蛋糕樣品中沙門氏桿菌($Salmonella$ sp.)檢驗結果

樣品	染色	在TSI上	在LIA上	Indole test	VP test	MR test	Pure cult	是否為沙
樣品1	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	負反應	正反應	負反應	是
樣品2	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	負反應	正反應	負反應	是
樣品3	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	負反應	正反應	負反應	是
樣品4	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	負反應	正反應	正反應	否
樣品5	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	負反應	正反應	負反應	是
樣品6	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	負反應	正反應	正反應	否
樣品7	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	負反應	正反應	負反應	是
樣品8	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	負反應	正反應	負反應	是
樣品9	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	正反應	正反應	負反應	是
樣品10	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	正反應	正反應	負反應	是
樣品11	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	正反應	正反應	負反應	是
樣品12	紅色	無酸性	鹼性	鹼性	正反應	正反應	正反應	是

表一、沙門氏桿菌之生化及血清反應

試驗成基質	正反應(+)	負反應(-)	沙門氏桿菌之反應*
1. 葡萄糖(TSI)	黃色底部	紅色底部	+
2. 醇酸酸胺酸酸試驗(LIA)	紫色底部	黃色底部	+
3. 硫化氫(TSI 和 LIA)	變黑	無變黑	+
4. 尿素酶試驗	紫紅色	顏色不變	-
5. 醇酸酸胺酸酸培養液	紫色	黃色	+
6. 粉紅(或紫色)半乳糖醇培養液	黃色，產氣	顏色不變 不產氣	+*
7. 氧化鉀培養液	混濁 (生長)	澄清 (不生長)	-
8. 內二酸鹽培養液	藍色	顏色不變	-*
9. 吲哚試驗	表面呈深紅色成環色	表面呈黃色	-
10.多價血漿及糖色血清試驗	凝集	無凝集	+
11.粉紅(或紫色)乳糖及蔗糖培養液	黃色，產氣	不產氣 顏色不變	-*
12.粉紅(或紫色)蔗糖培養液	黃色，產氣	不產氣 顏色不變	-
13.歐普氏試驗	粉紅或紅色	顏色不變	-
14.甲基紅試驗	紅色	黃色	+
15.半固態檸檬酸鹽培養基	生長，藍色	不生長 顏色不變	V

5. 李斯特菌之檢驗

樣品經過增菌培養後，後續以選擇性培養基培養，再以生化試驗鑑定確認是否有李斯特菌汙染。表五為李斯特菌檢驗結果中，有3種樣品(編號7、10和12)檢出李斯特菌， 其檢樣品各測試後被判定為不是李斯特菌，樣品檢出率為25%，可能樣品在製造過程中所添加的乳品未經適當殺菌而汙染。

表五、蛋糕樣品中李斯特菌($Listeria\ monocytogenes$)檢驗結果

樣品	染色	選擇性培	鑑酶試驗	MR test	VP test	是否李斯
樣品1	紫色	黑(正反應	正反應	正反應	負反應	否
樣品2	紫色	負反應	正反應	正反應	負反應	否
樣品3	紫色	負反應	正反應	正反應	負反應	否
樣品4	紫色	黑(正反應	正反應	正反應	負反應	否
樣品5	紫色	黑(正反應	正反應	正反應	負反應	否
樣品6	紫色	負反應	負反應	正反應	負反應	否
樣品7	紫色	黑(正反應	負反應	正反應	正反應	是
樣品8	紫色	負反應	負反應	正反應	正反應	否
樣品9	紫色	負反應	負反應	正反應	正反應	否
樣品10	紫色	黑(正反應	正反應	正反應	正反應	是
樣品11	紫色	負反應	負反應	正反應	負反應	否
樣品12	紫色	黑(正反應	正反應	正反應	正反應	是

單核球增多性李斯特菌陽性者，應符合下表所列之結果

試驗成基質	正反應	負反應	單核球增多性李斯特菌之反應
1. 生長於MOX培養基之典型菌落外觀特徵	小圓落，周邊產生黑色沉澱	菌落周邊無黑色沉澱產生	+
2. 李斯特菌選擇性呈色培養基	國家衛生研究院呈色指標列舉典型菌落	無典型菌落	+
3. 觸酶試驗	氣泡產生	無氣泡產生	+
4. 革蘭氏染色	陽性(深紫色)，無芽孢，短桿狀	無生長現象	+
5. 金鈉運動試驗	培養基上端下3～5 mm出現金鈉	無生長現象	+
6. CAMP試驗	與X. xanrus特徵溶血現象，與R. equi特徵成對形	無生長現象	+
7. 硝酸鹽還原反應	紅紫色	原色	-
8. 氧化酶試驗	深藍色	非深藍色	-
9. 脲酶反應試驗	紅紫色	原色	-
10. 甲基紅試驗	紅色	黃色	+
11. 乳糖利用試驗	黃色	紫色	+
12. 麥芽糖利用試驗	黃色	紫色	-
13. 甘露醇利用試驗	黃色	紫色	+
14. 葡糖苷利用試驗	黃色	紫色	+
15. 鼠李糖利用試驗	黃色	紫色	+
16. 山梨醇利用試驗	黃色	紫色	+
17. 溶血試驗	具微弱溶血透明現象	無生長現象	+

表六、蛋糕樣品微生物品質檢驗結果

樣品	(CFU/ml	大腸桿菌	金黃葡萄	沙門氏菌	李斯特菌
樣品1	0	否	否	是	否
樣品2	0	否	否	是	否
樣品3	0	否	否	是	否
樣品4	0	否	否	否	否
樣品5	0	否	否	是	否
樣品6	1.9*10^1	否	否	否	否
樣品7	5.9*10^1	否	否	是	否
樣品8	1.8*10^3	是	否	是	否
樣品9	2.8*10^2	否	否	是	否
樣品10	1.7*10^2	是	否	是	是
樣品11	0	否	否	是	否
樣品12	3.2*10^3	否	否	是	是

● 結論

市售蛋糕樣品微生物品質檢測結果整理如表六所示，得到以下結論:

1. 總生菌數:

樣品編號6、7、8、9、10、12檢測出生菌數，有可能是在包裝區環境空氣中菌落總生菌，若生菌數越高表示樣品可能在製作、運輸與儲存過程受到感染。

2. 大腸桿菌:

樣品編號8和樣品10檢測出含有大腸桿菌，顯示該產品衛生狀況不佳，可能是蛋糕製程或保存溫度不良造成大腸桿菌的汙染。

3. 金黃色葡萄球菌:

樣品中金黃色葡萄球菌皆未檢出，顯示樣品未經人為操作汙染。

4.沙門氏桿菌:

樣品中共計有10種樣品檢出含有沙門氏桿菌，檢出率高達83.3% ，顯示蛋糕樣品有可能在製程中受到蛋品與乳品中沙門氏桿菌汙染。

5.李斯特菌:

樣品編號7、10和12檢出李斯特菌，樣品檢出率為25%，可能樣品在製造過程中所添加的乳品未經適當殺菌而汙染。

由市售蛋糕樣品微生物品質檢驗發現，部分商家所販售的蛋糕微生物品質不佳，應加強其製程或保存環境的衛生管理，避免消費者因食用有問題的蛋糕產品，避免造成食品中毒的事件發生。