

澎湖縣政府九十九年度自行研究計畫

澎湖縣市售冷飲冰品
微生物檢測之探討

研究單位：澎湖縣政府衛生局

研究人員：鄭圳男、顏惠敏

完成日期：九十九年八月

摘要

於民國 98 年 5 月至民國 99 年 6 月間，自澎湖縣轄區內登記有案之冷飲店家、製冰業者、市場攤位、風景區攤販抽驗各式冷飲冰品，包括飲料類 122 件，果汁類 25 件，食用冰塊 14 件，刨冰類 27 件，共計 188 件產品。依據行政院衛生署食品藥物管理局公告檢驗方法進行生菌數、大腸桿菌群、大腸桿菌之檢驗，其中飲料類 24 件、果汁類 9 件、食用冰塊 4 件、刨冰類 6 件，共計有 43 件超出食品衛生標準，不合格率為 22.9%。

衛生標準是一個警訊，雖然說超出標準並不一定會致病，但是超出衛生標準所代表的是飲食物品遭受汙染。所以消費者在選購產品時，應多注意觀察業者製作食材是否新鮮？環境設施是否清潔衛生？現場製作是否衛生？盛裝容器是否衛生？工作人員衛生是否良好？櫥櫃是否有防止病媒措施？儲存冰品冷飲溫度（冷藏溫度不得高於 7°C，冷凍溫度不得高於 -18°C）？如有容器包裝之產品其外標示應清楚完整（有效日期、廠商名稱、地址、電話、.....等）並須作營養標示，以維護消費者健康權益。

本研究計畫，歸納出幾個重點：首先是衛生冰塊的問題，再來是盛裝容器的問題，最後是食材及原料的儲存問題。澎湖夏季氣候炎熱乾燥，冷飲冰品成為民眾主要的消暑良方，在加上夏季為澎湖的觀光旺季，到澎湖旅遊的旅客人數眾多，因此冷飲冰品是否符合衛生標準，衛生單位應該嚴格把關，而業者也要擔負安全衛生的提供者，讓民眾吃的安全、吃的健康，對澎湖的整體觀光才是有加乘作用。

目錄

摘要	I
壹 緒論	1
貳 材料與方法	2
一. 檢體來源	2
二. 檢驗方法	2
三. 試劑與培養基配置	2
四. 檢驗流程及確認試驗	5
參 結果與討論	9
肆 結論及建議	10
參考文獻	11
附表一	12
附表二	13
附表三	14

壹 緒論

檢驗冷飲冰品的衛生檢定指標一般為生菌數、大腸桿菌群、大腸桿菌。其中含量如果超出標準，表示冷飲冰品在還沒有食用之前，就已經有大量的微生物存在於其中，並有可能已造成食品變質及腐壞，民眾食用後會導致身體不適、腹瀉或是食物中毒等症狀。

大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 是一種兩端鈍圓、能運動、無芽孢的革蘭氏陰性短桿菌，屬於大腸桿菌群中的一種。為人和動物腸道的正常菌種，所以食品一旦出現大腸桿菌，即意味著食品直接或間接的被糞便污染，故在衛生學上，常被用做飲水、食品的衛生檢定指標。

雖然說大腸桿菌是屬於人體腸道的常在菌，不僅能抑制其他病菌的生長，同時還能提供人體所需的維生素 B 養分，實屬有益菌群之一。但大部分的大腸桿菌屬於“非病原性的”，只有少部分大腸桿菌會引起人和動物的下痢、腹痛等疾病，例如其中一種大腸桿菌 O157:H7 血清型 (*E. coli* O157:H7) 卻是會在腸內產生類志賀型毒素 (Shiga-like toxins, SLTs)，直接損傷腸道黏膜和腸壁上血管內皮細胞，造成出血性結腸炎 (hemorrhagic colitis) 及溶血性尿毒症 (hemolytic uremic syndrome, HUS)，對老年人及幼童之生命威脅尤鉅。

貳 材料與方法

一．檢體來源：

本研究計畫自民國 98 年 5 月至 99 年 6 月間，由各鄉市轄區稽查員以稽查方式於轄區內登記有案之冷飲店家、製冰業者、市場攤位、風景區攤販等場所，抽驗飲料、果汁、冰品、食用冰塊等產品共計 188 件，進行生菌數、大腸桿菌群、大腸桿菌等微生物之檢驗。

二．檢驗方法：

(一)生菌數：

依據行政院衛生署 90 年 01 月 09 日衛署食字第 0900002652 字號公告指定中國國家標準 CNS 總號 10890 類號 N6186 號食品微生物檢驗法-生菌數之檢驗。

(二)大腸桿菌群：

依據行政院衛生署 90 年 01 月 09 日衛署食字第 0900002652 字號公告指定中國國家標準 CNS 總號 10984 類號 N6194 號食品微生物檢驗法-大腸桿菌群之檢驗。

(三)大腸桿菌：

依據行政院衛生署 90 年 04 月 20 日衛署食字第 0900025538 字號公告指定中國國家標準 CNS 總號 10951 類號 N6192 號食品微生物檢驗法-大腸桿菌之檢驗。

三．試劑與培養基配製：

(一)稀釋液：

每 1L 蒸餾水加入 8.5 g NaCl 製備，溶解後，以 121℃ 滅菌 15 分鐘，冷卻至室溫備用。每件檢體需要的量約 630 ml 蒸餾水計算（第一次 10 倍稀釋 450 ml、第二次 100 倍稀釋 90 ml、第三次 1000 倍稀釋 90 ml，共 630 ml）。檢體如果操作生菌數、大腸桿菌群、大腸桿菌其中一種以上檢驗時，所需稀釋液以計算一次量即可，因為相同稀釋倍數，檢體取得之來源相同。

(二)平板計數培養基（Plate count agar）：

胰化蛋白 (Tryptone)	5 g
酵母抽出物 (Yeast extract)	2.5 g
葡萄糖 (Glucose)	1 g
洋菜 (Agar)	15 g
蒸餾水	1000 ml

加熱溶解後，分裝於適當之容器中，經 121°C 滅菌 15 分鐘，最後 pH 值為 7.0±0.2。冷卻至 45±1°C 備用（避免溫度太低而凝固）。

(三) 硫酸月桂酸胰化蛋白胨肉羹 (LST - Lauryl Sulfate Tryptose Broth) :

胰化蛋白胨 (Tryptose)	20 g
乳糖 (Lactose)	5 g
磷酸氫二鉀 (K ₂ HPO ₄)	2.75 g
磷酸二氫鉀 (KH ₂ PO ₄)	2.75 g
氯化鈉 (NaCl)	5 g
硫酸月桂酸鈉 (Sodium lauryl sulfate)	0.1 g
蒸餾水	1000 ml

加熱溶解後，分取 9 ml 注入裝有發酵管 (Durham fermentation tube) 之試管內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最後 pH 值為 6.8±0.2。

(四) 大腸桿菌肉羹 (Escherichia coli Broth, 簡稱 EC Broth) :

胰化蛋白胨 (Tryptone)	20 g
乳糖 (Lactose)	5 g
膽汁鹽 (Bacto bile salt)	1.5 g
磷酸氫二鉀 (K ₂ HPO ₄)	4 g
磷酸二氫鉀 (KH ₂ PO ₄)	1.5 g
氯化鈉 (NaCl)	5 g
蒸餾水	1000 ml

溶解後，分取 5 ml 注入裝有發酵管之試管內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最後 pH 值為 6.9±0.1。

(五) 伊紅亞甲基藍瓊脂培養基 (EMB - Eosin Methylene Blue Agar) :

蛋白胨 (Peptone)	10 g
乳糖 (Lactose)	10 g
磷酸氫二鉀 (K ₂ HPO ₄)	2 g
洋菜 (Agar)	15 g
伊紅 Y (Eosin Y)	0.4 g
亞甲基藍 (Methylene Blue)	0.065 g

蒸餾水 1000 ml

加熱沸騰溶解後，分裝於試管或三角瓶內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最後 pH 值為 7.1±0.1。培養基注入培養皿前，應搖動混合，使絮狀沉澱物分散均勻，搖動時應避免產生氣泡，每一培養皿約倒入 15 ~ 21 ml，凝固後打開皿蓋約 1/2 ~ 1/4，使培養基之表面乾燥。已注入培養皿之培養基以當天使用最佳，在冰箱中貯存者應於使用前先檢查有無雜菌之污染。

(六)營養瓊脂 (Nutrient Agar)：

牛肉抽出物 (Beef extract) 3 g

蛋白胨 (Peptone) 5 g

洋菜 (Agar) 15 g

蒸餾水 1000 ml

加熱沸騰溶解後，分裝於試管或三角瓶內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最後 pH 值為 6.8±0.2；分裝於試管者，做成斜面培養基。

(七)甲基紅 - 歐普式培養基 (MR - VP Medium)：

蛋白胨 (Peptone) 7 g

葡萄糖 (Dextrose) 5 g

磷酸氫二鉀 (K_2HPO_4) 5 g

蒸餾水 1000 ml

溶解後，分取 5 ml 注入試管內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最後 pH 值為 6.9±0.2。

(八)柯塞爾氏檸檬酸鹽肉羹 (Koser's Citrate Broth)：

磷酸氫銨納 ($NaNH_4HPO_4 \cdot 4H_2O$) 1.5 g

磷酸氫二鉀 (K_2HPO_4) 1 g

硫酸鎂 ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.2 g

檸檬酸鈉 ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$) 3 g

蒸餾水 1000 ml

溶解後，分取 5 ml 注入試管內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最後 pH 值為 6.7±0.2。

(九)煌綠乳糖膽汁肉羹 (BGLB - Brilliant Green Lactose Bile Broth)

蛋白胨 (Peptone) 10 g

乳糖 (Lactose) 10 g

牛膽粉 (Oxgall powder) 20 g

煌綠色試劑 (Brilliant green) 0.0133 g

蒸餾水 1000 ml
溶解後，分取 9 ml 注入裝有發酵管之試管內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最後 pH 值為 7.2±0.1。

(十)胰化蛋白朊肉羹 (Tryptone of Tryptophane Broth)

胰化蛋白朊 (Tryptone) 10 g
蒸餾水 1000 ml
溶解後，分取 5 ml 注入試管內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最後 pH 值為 6.9±0.2。

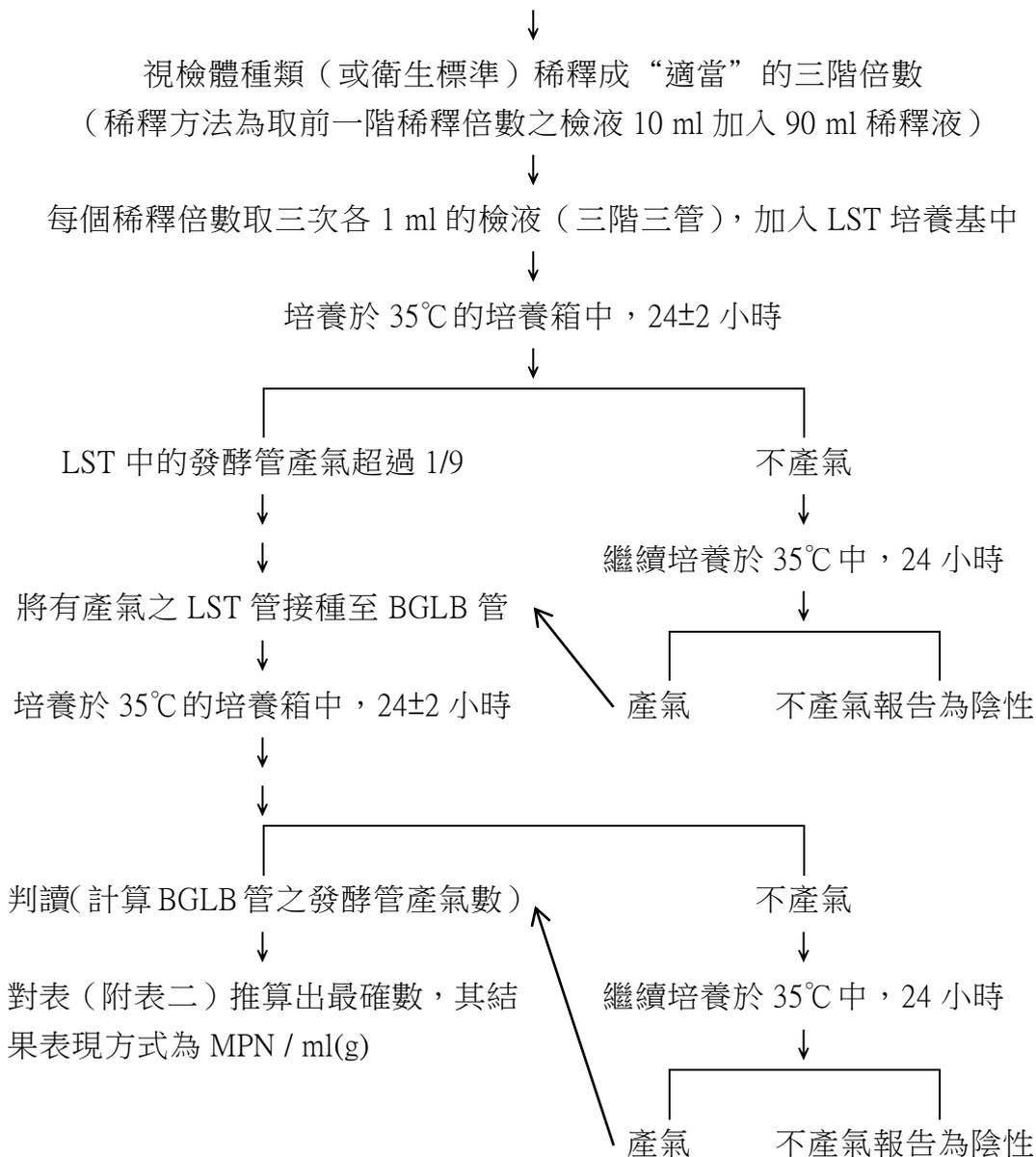
四．檢驗流程及確認試驗：

(一)生菌數：

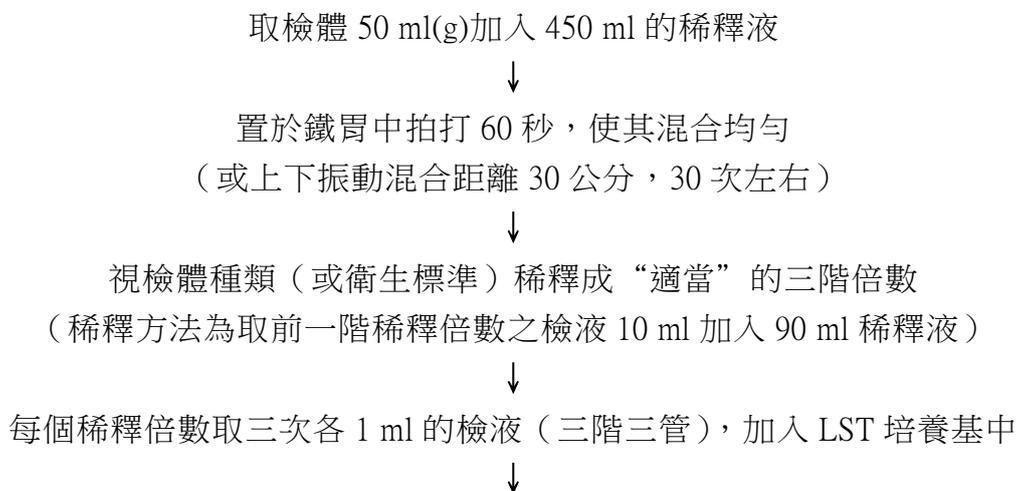
取檢體 50 ml(g)加入 450 ml 的稀釋液
↓
置於鐵胃中拍打 60 秒，使其混合均勻
(或上下振動混合距離 30 公分，30 次左右)
↓
視檢體種類 (或衛生標準) 稀釋成 “適當” 的三階倍數
(稀釋方法為取前一階稀釋倍數之檢液 10 ml 加入 90 ml 稀釋液)
↓
取 1 ml 稀釋液置於無菌培養皿中 (每一稀釋倍數均做 “二重覆”)
↓
倒入已冷卻至 45±1°C 的培養基 (Plate count agar)，約 15~20 ml
↓
迅即輕輕搖動培養皿，使稀釋檢液與培養基混合均勻
(自檢液之調製至此步驟應於 15 分鐘內完成)
↓
靜置培養皿，待培養基凝固後，倒置於 35°C 的培養箱中，培養 48±2 小時
↓
判讀，其結果表現方式為 CFU / ml(g)

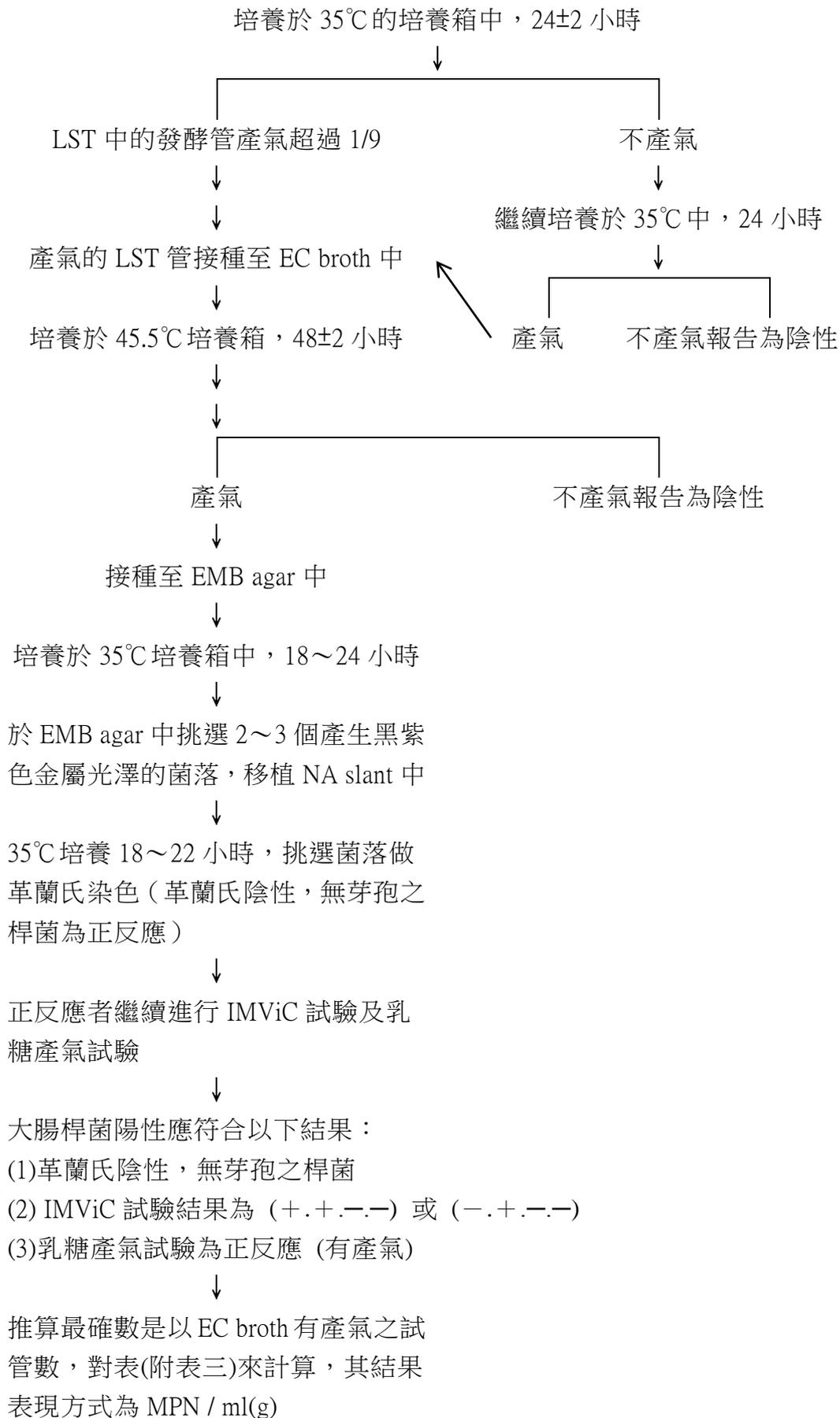
(二)大腸桿菌群：

取檢體 50 ml(g)加入 450 ml 的稀釋液
↓
置於鐵胃中拍打 60 秒，使其混合均勻
(或上下振動混合距離 30 公分，30 次左右)



(三)大腸桿菌：





(四) IMViC 試驗：

1. 吲哚試驗 (Indole test)：

自營養瓊脂斜面上鈎菌接種至胰化蛋白朊肉羹中，並置於 35°C 培養箱中培養 24±2 小時後，加入 0.2 ml 科瓦克氏試劑，輕輕搖動後靜置 10 分鐘，若上層呈現紅色，則為正反應 (+)；否則為負反應 (-)。

2. 甲基紅試驗 (Methyl red test)：

自營養瓊脂斜面上鈎菌接種至甲基紅—歐普式培養基中，並置於 35°C 培養箱培養 48±2 小時後，加入 0.3 ml 甲基紅指示劑，輕輕搖勻，若仍為紅色，則為正反應 (+)；否則為負反應 (-)。

3. 歐普氏試驗 (Voges - Proskauer test)：

自營養瓊脂斜面上鈎菌接種於甲基紅—歐普式培養基中，並置於 35°C 培養箱培養 48±2 小時後，取 1 ml 培養液至另一已滅菌之試管中，加入 0.6 ml 歐普氏試劑之溶液 A 及 0.2 ml 歐普氏試劑之溶液 B 後，再加入少許肌酸，輕輕搖勻，經 2~4 小時後觀察結果，若呈現粉紅色，則為正反應 (+)；否則為負反應 (-)。

4. 檸檬酸鹽利用試驗 (Citrate utilization test)：

自營養瓊脂斜面上鈎菌接種至柯塞爾氏檸檬酸鹽肉羹中，並置於 35°C 培養箱培養 96±2 小時後，若呈現混濁狀，則為正反應 (+)；若仍維持原澄清狀，則為負反應 (-)。

(五) 乳糖產氣試驗：

自營養瓊脂斜面上鈎菌接種於硫酸月桂酸胰化蛋白朊肉羹中，並置於 35°C 培養箱培養 48±2 小時後，若產生氣體者，則為正反應 (+)；若未產生氣體者，則為負反應 (-)。

參 結果與討論

本研究計畫有關澎湖縣市售冷飲冰品微生物檢測的檢驗結果，共計自轄區內登記有案之冷飲店家、製冰業者、市場攤位、風景區攤販抽驗各式冷飲冰品 188 件，檢體類別包括飲料類 122 件；果汁類 25 件；食用冰塊 14 件；刨冰類 27 件。結果計有 43 件(飲料類 24 件、果汁類 9 件、食用冰塊 4 件、刨冰類 6 件)不符合食品衛生標準，不合格率為 22.9%。

冷飲冰品不符合衛生指標，表示產品受到汙染，其主要原因為營業場所的環境衛生不佳、儲存產品不妥、員工個人衛生不良、食物容器洗滌不確實、使用不潔的食用冰塊等所導致。尤其冰塊是製作冰品飲料的必要元素，許多業者都備有製冰機自行製作，從水的過濾、冰塊製造、貯存、拿取等過程中，一不小心便可能造成汙染及細菌滋生，進而影響其他使用冰塊產品的衛生。

衛生標準是一個警訊，雖然說超出標準並不一定會致病，可是卻能反映出業者對於自己產品的重視及要求。所以民眾在選購產品時，應多注意觀察業者製作食材是否新鮮？環境設施是否清潔衛生？現場製作是否衛生？盛裝容器是否衛生？工作人員衛生是否良好？櫥櫃是否有防止病媒措施？儲存冰品冷飲溫度（冷藏溫度不得高於 7°C，冷凍溫度不得高於 -18°C）？如有容器包裝之產品其外標示應清楚完整(有效日期、廠商名稱、地址、電話、.....等)並須作營養標示，以維護消費者健康權益。

肆 結論及建議

本研究計畫的檢驗結果中，可以歸納出幾個重點。首先是衛生冰塊的問題，因為並不是每一家冷飲業者都是自行備有製冰機器，所使用的衛生冰塊大多是向製冰業者訂購，所以如果製冰業者本身生產的就已經是不合格產品，那麼作為下游的商家所生產的產品又如何會合格呢？所以建議冷飲業者最好能自行備有製冰機器，如此一來在控管產品的品質上會較有保障，但如在經費上有困難，也盡量要挑選合格的製冰業者來訂購。

第二是盛裝容器的問題，在一般有店面的冷飲店家大多是塑膠杯或是保利龍杯，都是單次使用的，不過一些在風景區的攤販，所使用的盛裝容器大多是取已使用過寶特瓶，經簡易的清水清洗後，就拿來盛裝冷飲冰品，這在衛生條件上基本就無法達到要求。建議消費者在選購時，可以選購使用全新寶特瓶盛裝的產品，在衛生條件上會較有保障。

最後是食材及原料的儲存，有些店家在儲存及放置調配飲料時所需的食材和原料的環境位置上不妥，這些東西應該要放置在有蓋容器中，並放置在冰箱中保存才對，才不會導致食材原料變質及受到污染。另外儲存物品的冰箱最好也要有做溫度紀錄，這樣才能確保食材原料的新鮮。

澎湖夏季氣候炎熱乾燥，冷飲冰品成為民眾主要的消暑良方，在加上夏季為澎湖的觀光旺季，到澎湖旅遊的旅客人數眾多，因此冷飲冰品是否符合衛生標準，衛生單位應該嚴格把關，而業者也要擔負安全衛生的提供者，讓民眾吃的安全、吃的健康，對澎湖的整體觀光才是有加乘作用。

參考文獻

1. 蔡文城(民 85)，實用臨床微生物診斷學，台北市，九州圖書文物有限公司。
2. 經濟部中央標準局(民 80)，食品微生物之檢驗法 - 生菌數之檢驗，中國國家標準 CNS 總號 10890 類號 N 6186。
3. 經濟部中央標準局(民 87)，食品微生物之檢驗法 - 大腸桿菌群之檢驗，中國國家標準 CNS 總號 10984 類號 N 6194。
4. 經濟部中央標準局(民 77)，食品微生物之檢驗法 - 大腸桿菌之檢驗，中國國家標準 CNS 總號 10951 類號 N 6192。
5. 行政院衛生署食品資訊網(民 88)，食品衛生標準 - 冰類衛生標準，衛署食字第 88027006 號公告修正。
6. 行政院衛生署食品資訊網(民 96)，食品衛生標準 - 飲料類衛生標準，衛署食字第 0960404584 號令公告。
7. 張文政(民 78)，微生物學實驗，高雄市，前程出版社。
8. 蔡文城(民 88)，微生物學，台北市，藝軒圖書出版社。

附表一：飲料冰品衛生標準

類別	內容	限 量		
		每公撮中生菌數	每公撮中大腸桿菌群最確數	每公撮中大腸桿菌最確數
飲料	一、含有碳酸之飲料： 1.汽水。 2.果實水、果實汁、果實蜜及其他類似品。 3.可樂飲料。	10,000 以下；但有容器或包裝者應在 100 以下。	10 以下；但有容器或包裝者應為陰性。	陰 性。
	二不含碳酸之飲料： 1.果實水、果實汁、果實蜜及其他類似製品。 2. 含有咖啡、可可、茶或其他植物性原料之飲料。	10,000 以下；但有容器或包裝者應在 200 以下。		
	三、含有乳成分或乳製品之酸性飲料。	30,000 以下。		
冰類	一、食用冰塊。	(融解水) 100 以下。	(融解水) 陰性。	(融解水) 陰 性
	二、刨冰、冰棒、冰磚及其他類似製品： 1.含有果實水、果實汁、果實香精及其他類似製品。 2.含有咖啡、可可、穀物、紅豆、綠豆、花生或其他植物性原料者。	(融解水) 100,000 以下。	(融解水) 100 以下。	
	三、冷凍冰果： 1.含有乾果、蜜餞、糕點等冷品與冰混製之各種液體冷凍冰果。 2.含有鮮果實、鮮果醬之各種冷凍冰果。			
	四、含有乳成分或乳製品之各種冰類製品與冷凍冰果。			

附表二：大腸桿菌群最確數表

正 反 應 試 管 數			MPN / ml(g)	95%信賴界限	
0.1 ml	0.01ml	0.001ml		下限	上限
0	0	0	0.00	0.00	9.50
0	0	1	3.01	0.15	9.60
0	1	0	3.05	0.15	10.7
0	1	1	6.11	1.24	18.0
0	2	0	6.19	1.24	18.1
0	3	0	9.44	3.56	37.5
1	0	0	3.57	0.17	18.1
1	0	1	7.23	1.26	18.2
1	0	2	11.0	3.56	37.5
1	1	0	7.36	1.26	20.3
1	1	1	11.2	3.56	38.0
1	2	0	11.4	3.56	42.0
1	2	1	15.4	4.50	42.0
1	3	0	15.7	4.52	42.0
2	0	0	9.18	1.44	37.5
2	0	1	14.3	3.62	42.0
2	0	2	19.9	4.52	42.0
2	1	0	14.7	3.68	42.0
2	1	1	20.5	4.52	42.0
2	1	2	26.8	8.70	94.5
2	2	0	21.1	4.52	42.5
2	2	1	27.6	8.70	94.5
2	2	2	34.8	8.70	94.5
2	3	0	28.6	8.70	94.5
2	3	1	36.0	8.70	94.5
3	0	0	23.1	4.58	94.5
3	0	1	38.5	8.70	105
3	0	2	63.6	16.8	183
3	1	0	42.7	9.00	183
3	1	1	74.9	16.9	200
3	1	2	115	37.0	425
3	1	3	159	40.0	425
3	2	0	93.3	18.1	425
3	2	1	149	37.0	425
3	2	2	215	40.0	427
3	2	3	292	90.0	1000
3	3	0	240	42.0	1000
3	3	1	462	90.0	2000
3	3	2	1100	180	4100
3	3	3	> 1100	425	-

附表三：大腸桿菌最確數表

正 反 應 試 管 數			MPN / ml(g)	95%信賴界限	
0.1 ml	0.01ml	0.001ml		下限	上限
0	0	0	<3.6	-	9.5
0	0	1	3.0	0.15	9.6
0	1	0	3.0	0.15	11
0	1	1	6.1	1.2	18
0	2	0	6.2	1.2	18
0	3	0	9.4	3.6	38
1	0	0	3.6	0.17	18
1	0	1	7.2	1.3	18
1	0	2	11	3.6	38
1	1	0	7.4	1.3	20
1	1	1	11	3.6	38
1	2	0	11	3.6	42
1	2	1	15	4.5	42
1	3	0	16	4.5	42
2	0	0	9.2	1.4	38
2	0	1	14	3.6	42
2	0	2	20	4.5	42
2	1	0	15	3.7	42
2	1	1	20	4.5	42
2	1	2	27	8.7	94
2	2	0	21	4.5	42
2	2	1	28	8.7	94
2	2	2	35	8.7	94
2	3	0	29	8.7	94
2	3	1	36	8.7	94
3	0	0	23	4.6	94
3	0	1	38	8.7	110
3	0	2	64	17	180
3	1	0	43	9	180
3	1	1	75	17	200
3	1	2	120	37	420
3	1	3	160	40	420
3	2	0	93	18	420
3	2	1	150	37	420
3	2	2	210	40	430
3	2	3	290	90	1000
3	3	0	240	42	1000
3	3	1	460	90	2000
3	3	2	1100	180	4100
3	3	3	> 1100	420	-

