

# 中華民國第 60 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國小組 生活與應用科學(二)科

082919

別「具」焔「腸」—自製分光光度計檢測生食  
中大腸桿菌數

學校名稱：新北市板橋區沙崙國民小學

|   |                             |
|---|-----------------------------|
| 作者：<br><br>小六 林芊妘<br><br>小六 彭子芸<br><br>小六 高于雅<br><br>小六 李岳霖 | 指導老師：<br><br>許皓鈞<br><br>沈昱穎 |
|---|-----------------------------|

關鍵詞：大腸桿菌、自製儀器、分光光度計

## 摘要

本實驗利用自製分光光度計來進行日常生食大腸桿菌之檢測，我們透過自製儀器所感測出的電壓值，與市售 3M 試片進行對照，已建立檢驗流程與標準，在自製儀器吸光值 0.3~0.7 區間，能有效推得生食中大腸桿菌可能之含量，且與衛服部食藥署檢驗大腸桿菌的方法相比，檢測速度大幅提升，等待時間從 24~48 小時縮短至 20 分鐘。本儀器的未來發展性是期望透過快速且準確檢驗微生物的原理，推廣到飲水機水質檢測以及洗碗機洗淨效能檢測等。

## 壹、研究動機

在生活中有許多大腸桿菌超標的新聞案例，例如：美國蘿蔓、涼麵等……過多的大腸桿菌出現在食物中，可能會使人嘔吐、拉肚子或發燒，甚至太嚴重可能會導致喪命。因此，我們想知道有哪些方法可以來檢測大腸桿菌，我們在網路上查詢到大腸桿菌可以用分光光度計或試片點數來檢測。我們也詢問老師及歷屆學長、姊是否有做過類似的科展，而得知他們能使用自製分光光度計檢測硝酸鹽，所以我們想自製分光光度計來檢測生食中的大腸桿菌量。

## 貳、研究目的

### 一、自製分光光度計檢測生食中之大腸桿菌數

- (一) 自製分光光度計並具有一定效度
- (二) 自製分光光度計與市售 3M 微生物試片之檢量線建立
- (三) 使用自製分光光度計進行日常生食之實測

## 參、 研究設備及器材



### 1. 分光光度計系列

自製分光光度計、PASCO SPECTROMETER、

材料：

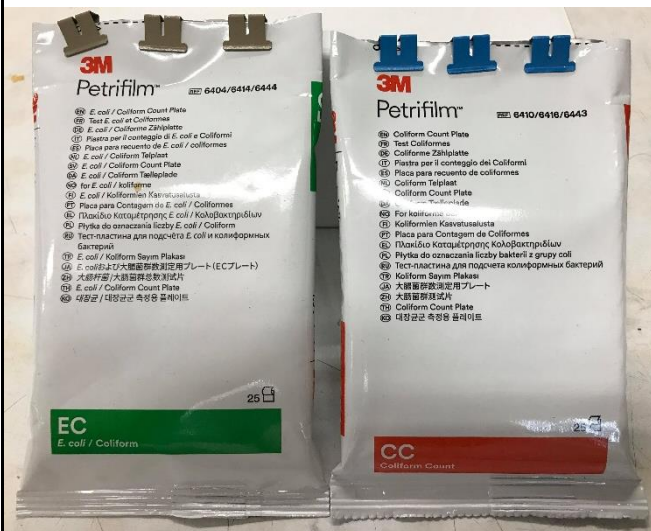
水管、三用電表、風扣版、LED 燈、  
LED 燈遙控器、電光偵檢器、光柵、方形試管



### 2. 恆溫培養箱

材料：

塑膠箱、燈泡(250W)、風扣板、溫控器



### 3. 大腸桿菌試片

EC: 大腸桿菌、CC: 大腸桿菌群

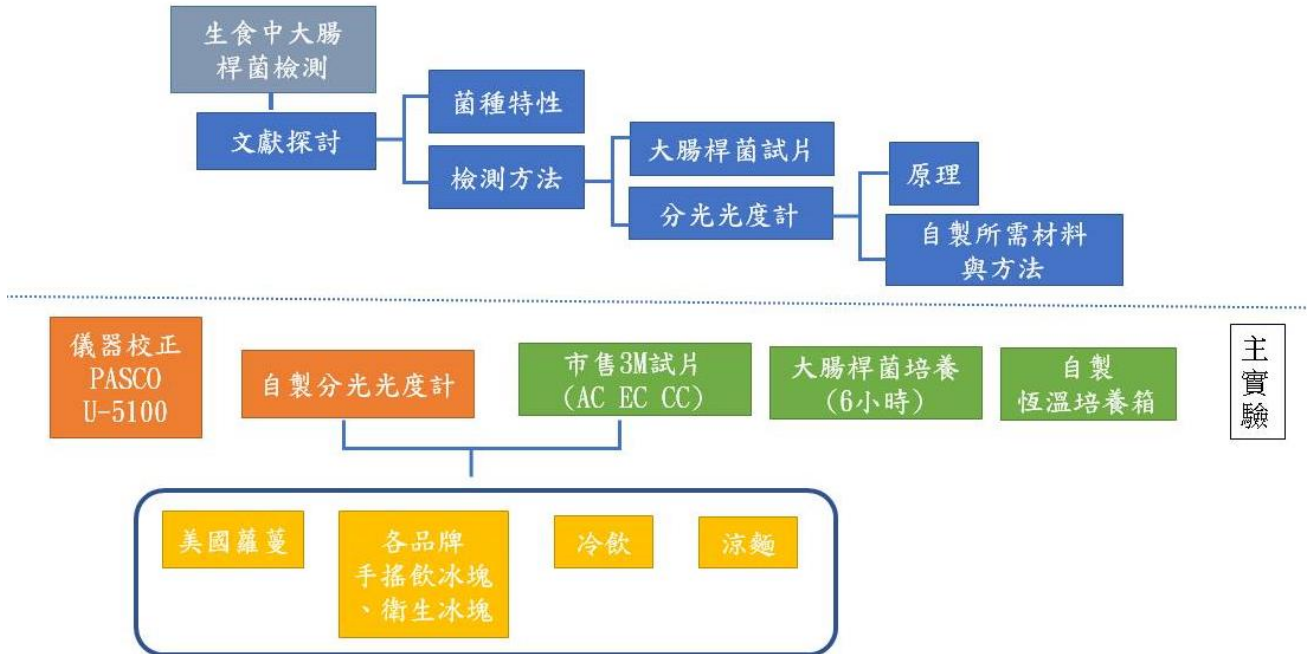


### 4. 檢測物與實驗用具

(紅茶、美羅曼、甘藍、生魚片、冰塊水、純水、涼麵) 果汁機、電子秤、量筒、量杯、滴管、塑膠杯、過濾紙、漏斗、離心機、離心管

## 肆、研究過程或方法

### 一、研究架構



[圖 1] 實驗架構圖

### 二、文獻探討

#### (一) 新聞提及生食內的大腸桿菌會導致人們腹瀉甚至中毒

我們於 2019 年 8 月的自由時報網路版，得知涼麵店家大腸桿菌超標的新聞。衛生局共計抽驗 50 件涼麵，檢驗衛生標準（大腸桿菌群、大腸桿菌），初抽結果有 17 件不符合規定，複抽結果仍有 2 件檢出大腸桿菌群超標。

對於大腸桿菌群超標，第一家店家表示可能當時中午來客數多，取出太多涼麵製作，才造成超標，已改採小量包裝，且快速製作完立刻冷藏。第二家則說，超標可能是電風扇不乾淨、產品處於常溫太久造成，整體環境已清理，未來也會做好冷藏。

另外，我們也在 2019 年 12 月自由時報網路版，看到生菜中大腸桿菌致病的新聞，提及美國疾病管制與預防中心（CDC）發出安全警告，提醒消費者不要食用來自加州薩利納斯的蘿蔓生菜，已傳出多

人因食用遭大腸桿菌污染的生菜而中毒，出現包括全身痙攣、出血性腹瀉和嘔吐、溶血性尿毒綜合症等。

這讓我們在後續的實驗中，設計以涼麵、美國羅蔓做為實驗探討的生食之一。

## (二)第五十八屆全國中小學科學展覽-簡易型分光光度計實作及驗證 發現使用白光檢測較合適

在此研究中，我們得知作者在白光所得數據與市面上分光光度計最為接近，因此白光波長在此實驗中是較為合適的。並且，自製裝置不但達成低價格的期望且能效能有一定程度上與市面置相符合。

作者也推論實驗結果與參考文獻提供之適合波長 600nm 有誤差的可能原因為白光涵蓋的波長範圍較廣，自然包含所有最適合檢測的色光波長；而相較之下，此作品通過玻璃紙的單色光波長範圍小，無涵蓋最合適的波長，無法測出精準數據。因此，我們採取白光、紅光、綠光、藍光進行後續實驗。

## (三) 第五十八屆全國中小學科學展覽-悄悄是離別的生「硝」—

食物中的硝酸鹽類減量方法與自製分光光度計檢測初探透過水管  
自製分光光度計並能透過電壓值轉換吸光值

在此研究中提到分光光度計的設計原理，是將燈源的光線分散成七彩色光，並從中擷取出某個「單一色光」，然後讓這個「單一色光」穿過樣品溶液之後，以光感測器量測這個單一色光的衰減程度，並將此衰減程度量化成數字。

而作者能利用水管進行製作分光光度計之研究，並能透過電壓值的變化來轉換成為吸光值，進而與市售分光光度計進行比較，其相關性達到 0.98，幾乎可取代市售之分光光度計。所以我們也利用他們的製作方法與材料進行自製儀器。

#### (四)大腸桿菌檢測標準以 CFU 與 MPN 為計數單位

我們從台美檢驗科技有限公司的官方網頁得知，執行微生物品管檢測時，常以細菌數目的多寡，搭配法規標準作為品質判斷的依據，進而決定該批產品是否合格，而微生物的數據呈現有 CFU 與 MPN 兩個不同的單位。

**CFU：菌落形成單位 (Colony-forming unit)** 的縮寫，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。

舉例：

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/cm<sup>2</sup>：每平方公分樣品中含有的細菌菌落總數。

此計算方式便於判別產品衛生狀況或微生物污染程度，數字越大表示樣品中微生物含量越多，數字越小表示越少微生物存在。

**MPN：最大可能數 (Most probable number)** 的縮寫，又稱稀釋培養計數法，結合微生物學與統計學的檢測數值表示法，數字並非實際細菌數目，而是藉由統計模型，推算實際菌數最可能落在信賴區間的位置，即該樣品最可能有多少細菌的估測值。(資料來源：台美檢驗科技有限公司)

#### 大腸桿菌數 測量方法 比較表

|        | Colony-forming unit               | Most probable number   |
|--------|-----------------------------------|--|
| 實驗方法說明 | 以傾注法或塗抹法在平板固態培養基滋長細菌，實際統計真實菌落數    | 觀察發酵管中的液態培養基細菌滋長情形，然後以統計學推估最可能的細菌數                                       |
| 實驗方法比較 | 實驗步驟較簡便                           | 實驗步驟複雜   |
| 數據判讀說明 | 預設每顆菌落皆由單一細菌繁殖形成，直接計數平板上的菌落數來推論菌數 | 樣品可使用範圍較大，可用於不可過濾之樣品。以「三階 3 支」稀釋培養之微生物生長正反應數目，比對 MPN 表（最大可能數表）查出微生物最可能數目 |
| 數據判讀比較 | CFU 為真實數值                         | MPN 為統計推估值   |

相較於 CFU 方法直接計算培養出來的真實菌落數，MPN 法必須將樣品備製成 3 個連續 10 倍稀釋的系列稀釋液，每稀釋系列進行 3 次重複的液體培養基的接種培養，即所謂的「三階 3 支」稀釋培養法，藉由培養後觀察到的微生物生長正反應數目，去比對 MPN 表（最大可能數表）查出該微生物最大機率的可能數目。

而本研究在自製儀器與專業試片的對照上，決定採用 CFU 菌落計數法為檢驗標準。

### (五)自製保溫培養箱可以提供大腸桿菌適合的生長環境

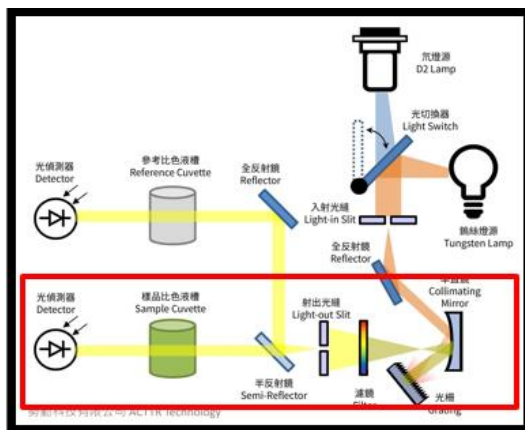
從經濟部發展計畫-食品中大腸桿菌快速檢測方法探討報告書中，得知大腸桿菌的培養，適合在攝氏 35~37 度的環境。

本實驗決定自製恆溫培養箱，提供此特定情況的生長環境，來對大腸桿菌進行體外培養的一種裝置。

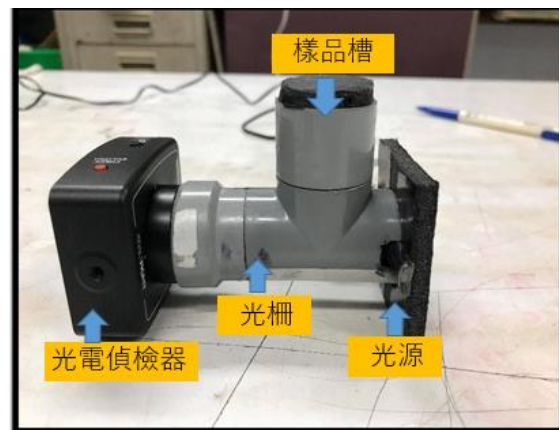
## 三、自製儀器與實驗操作流程

### (一)自製儀器介紹

#### 1. 原理與架構



分光光度計原理



自製儀器元件架構

分光光度計的設計原理，是將燈源的光線分散成七彩色光，並從中擷取出某個「單一色光」，然後讓這個「單一色光」穿過樣品溶液之後，以光感測器量測這個單一色光的衰減程度，並將此衰減程度量化成數字。最後，以單一色光被樣品溶液所吸收的比例，來呈現測量結果（也可以穿透的比例來呈現）。

| 兩者差異    | 分光光度計原理設計圖                                     | 自製分光光度計                           |
|---------|--|-----------------------------------|
| 光源產生機制  | 氙燈光源與鎢絲燈原能產生全波段之光源                             | RGB三單色光源LED混色呈白光，也能透過強弱調出所需波段光源   |
| 光柵位置與數量 | 比色槽前有雙重光縫與光柵篩選出指定波段之光源                         | 光源照射比色槽後光源透過光縫進到光電偵檢器             |
| 比色液槽數量  | 兩個，可同時進行比較                                     | 只有單一樣品槽，須先放入標準液校正                 |
| 元件與價格   | 鋁合金、氙燈、感測器、光電偵檢器<br>U-5100 約20萬<br>PASCO 約3~4萬 | 塑膠水管、光電偵檢器、可調顏色LED燈條1W、風扣板，約6500元 |

我們就是很便宜！

### 2. 全國科學展覽歷年來自製儀器比較表

| 本實驗研究之自製分光光度計         | 長度較短<br>4x4x10 cm | LED光源可調不同波段之色光 | 外接三用電表讀取數值需改善 |
|-----------------------|-------------------|----------------|---------------|
| 58屆 小化組<br>悄悄是離別的生硝   | 長度較長<br>4x4x27cm  | 單一紫外光波長        | 外接三用電表讀取數值需改善 |
| 58屆 中應科(一)<br>自製簡易光度計 | 體積較大<br>20x20x20  | 玻璃紙改變光源顏色      | 已程式化可即刻修改參數   |

### 3. 自製儀器與專業儀器及市售試片檢測成本比較表

| 品項   | Hitachi U-5100 | PASCO PS-2600   | 自製分光光度計    | 3M EE、EC測試片     |
|------|----------------|-----------------|------------|-----------------|
| 檢測向度 | 微量元素與吸光值變化     | 微量元素與吸光值變化      | 微量元素與吸光值變化 | 大腸桿菌與大腸桿菌群點數CFU |
| 檢測時間 | 一次，10分鐘/6組     | 一次，10分鐘/3組      | 一次，5分鐘/2組  | 一次，48小時/1組      |
| 重複使用 | 可重複使用          | 可重複使用           | 可重複使用      | 不可重複使用          |
| 器材成本 | 2000000 NTD ↑  | 30000~40000 NTD | 約6500 NTD  | 約2950 NTD       |



## (二)自製分光光度計操作步驟

1. 撕開無菌採樣袋，把檢測物取 25g 和 225ml 的水放入無菌採樣袋。
2. 將無菌採樣袋繞 3~4 圈，把鐵絲網內折，開始揉捏。
3. 把溶液放 1 分鐘沉澱。
4. 將溶液吸取至方形試管。
5. 開始檢測。

## (三)大腸桿菌與大腸桿菌群試片檢驗步驟

1. 把檢驗溶液稀釋成十分之一、一百分之一、千分之一。
2. 用滴管吸取 1ml，從試片中間滴入。
3. 將模輕輕放下，並寫上編號，放入培養箱進行培養 16 小時。

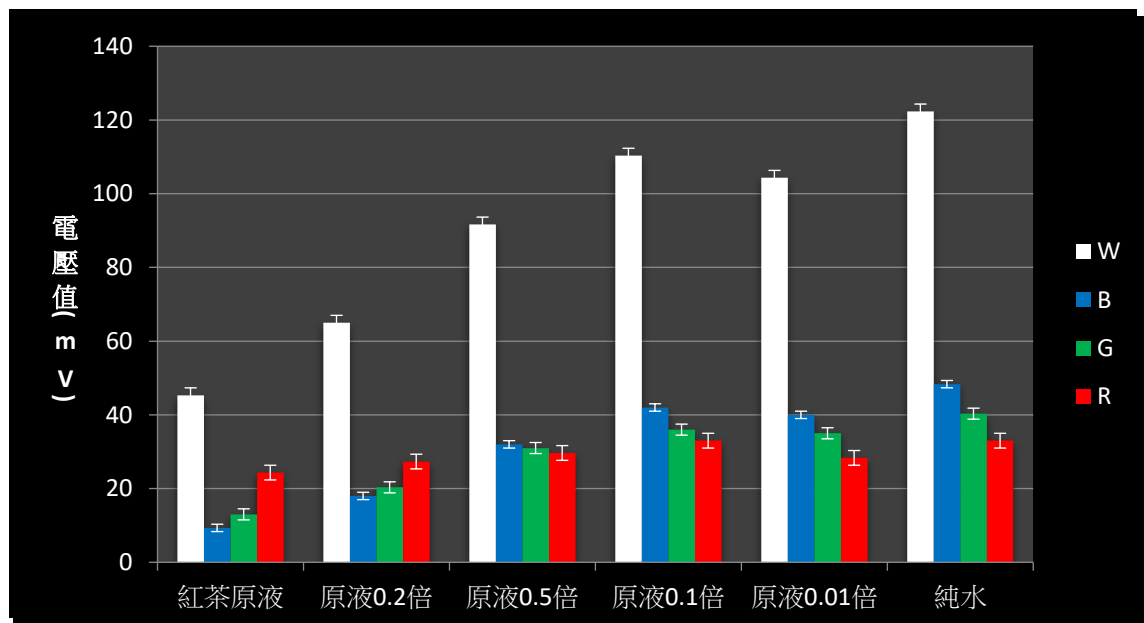
## 伍、研究結果與討論

### 一、自製分光光度計與專業儀器之比較效度達.99

為了確認自製儀器的準確度，我們利用老師最愛喝的紅茶進行分光光度計的試驗，來看看將紅茶稀釋後，我們的自製分光光度計是否能產生電壓值變化，進而轉換成吸光值變化。

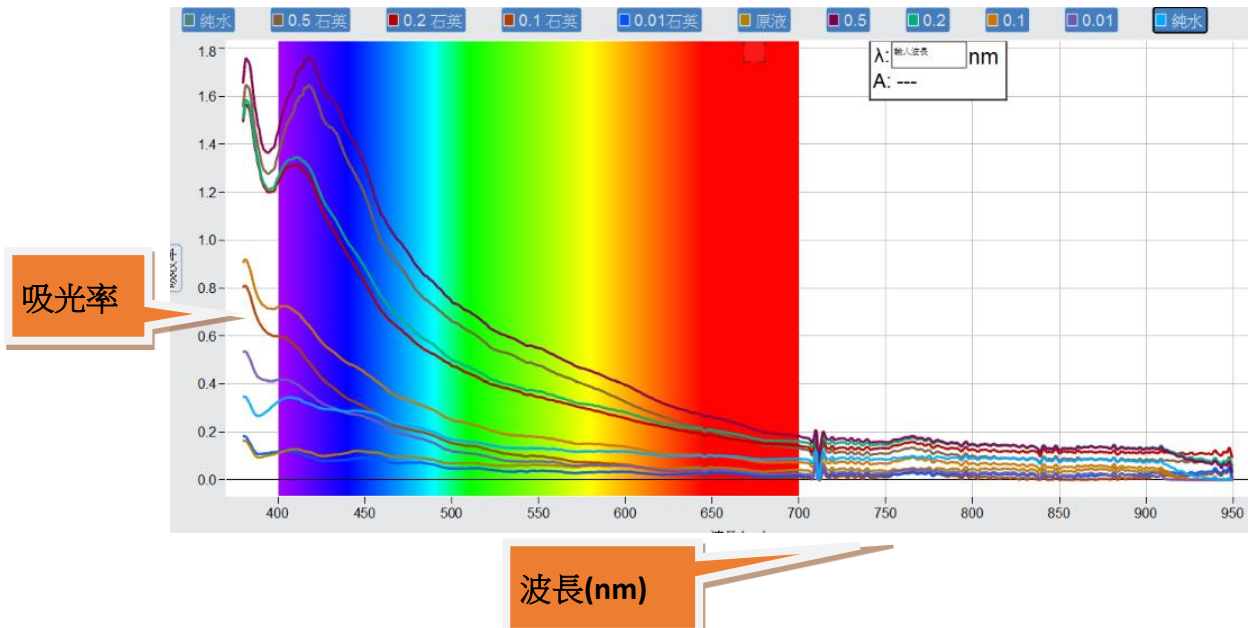
#### (一)自製分光光度計

[圖 3]自製分光光度計檢測紅茶電壓值曲線圖



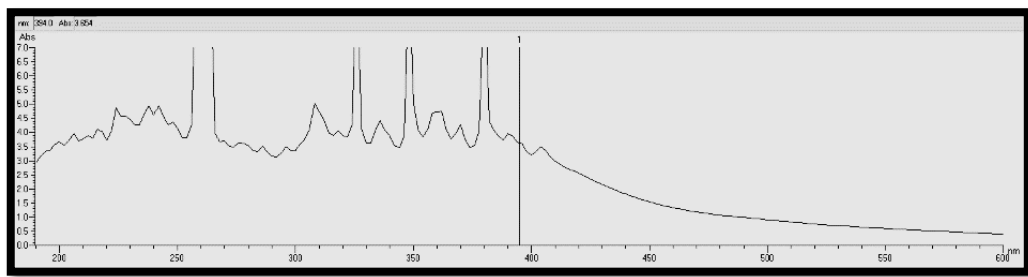
[圖 4]自製分光光度計檢測紅茶電壓值長條圖

## (二) PASCO 分光光度計

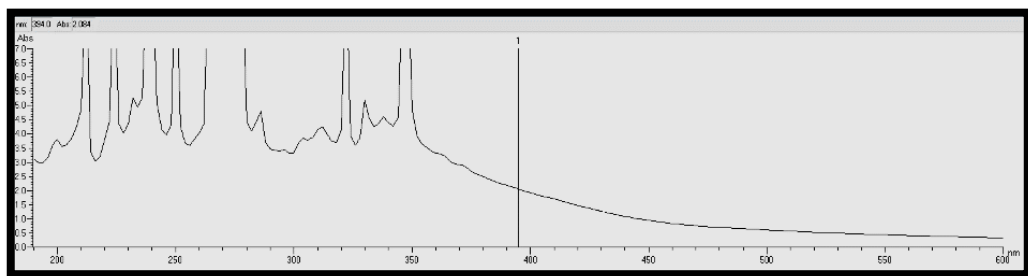


[圖 5] PASCO 分光光度計檢測紅茶吸光值曲線圖

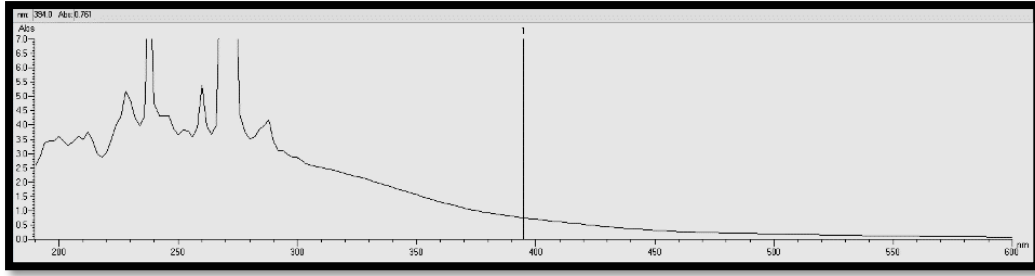
## (三) U-5100 分光光度計



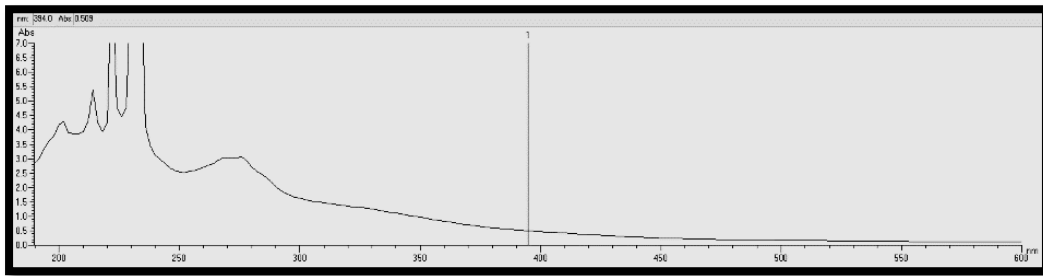
紅茶原液



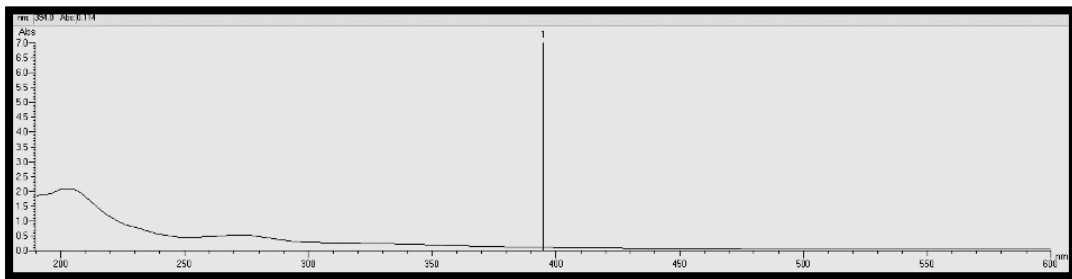
紅茶稀釋為 0.5 倍



紅茶原液濃度 0.2



紅茶稀釋為 0.1 倍



紅茶稀釋為 0.01 倍

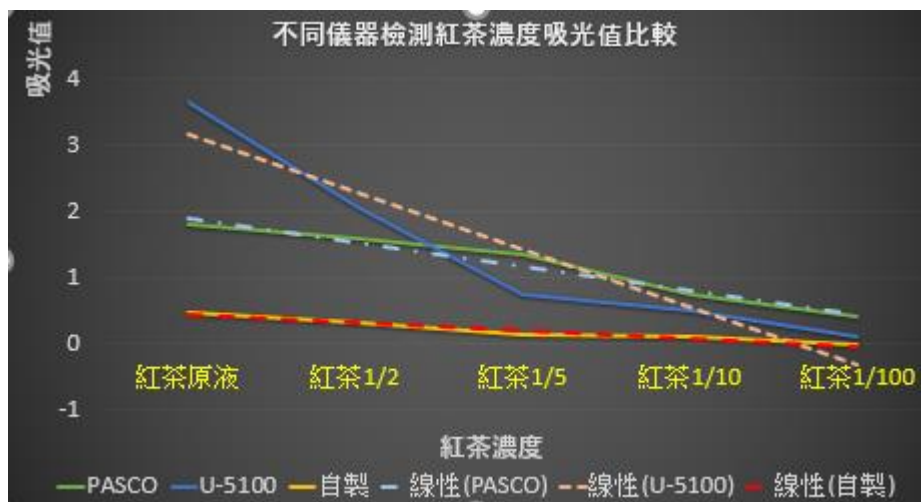
[圖 6]U-5100 分光光度計檢測紅茶吸光值曲線圖



結論：

從圖表與數據顯示，我們可以知道在自製分光光度計上所顯示的電壓會隨著紅茶的濃度變淡而上升，表示光被吸光的量隨濃度上升而減少；PASCO 及實驗室的分光光度計(U-5100)上所顯示的圖形也證明，若紅茶濃度越高，吸光值(abs)也越高。

[圖 7]三種分光光度計對於紅茶不同稀釋倍率的吸光值折線圖



[表 1]紅茶不同稀釋倍率之吸光值表格

|        | 紅茶原液 | 紅茶1/2 | 紅茶1/5 | 紅茶1/10 | 紅茶1/100 |
|--------|------|-------|-------|--------|---------|
| PASCO  | 1.8  | 1.6   | 1.35  | 0.75   | 0.4     |
| U-5100 | 3.65 | 2.08  | 0.76  | 0.51   | 0.11    |
| 自製儀器   | 0.48 | 0.33  | 0.15  | 0.1    | 0       |

[表 2]微量濃度對儀器檢測之吸光值相關係數比較表格

|                       |                  |
|-----------------------|------------------|
| PASCO和自製儀器的相關係數(微量)   | 0.9424519        |
| U-5100和自製儀器的相關係數(微量)  | <b>0.9983375</b> |
| U-5100和PASCO的相關係數(微量) | <b>0.9601562</b> |

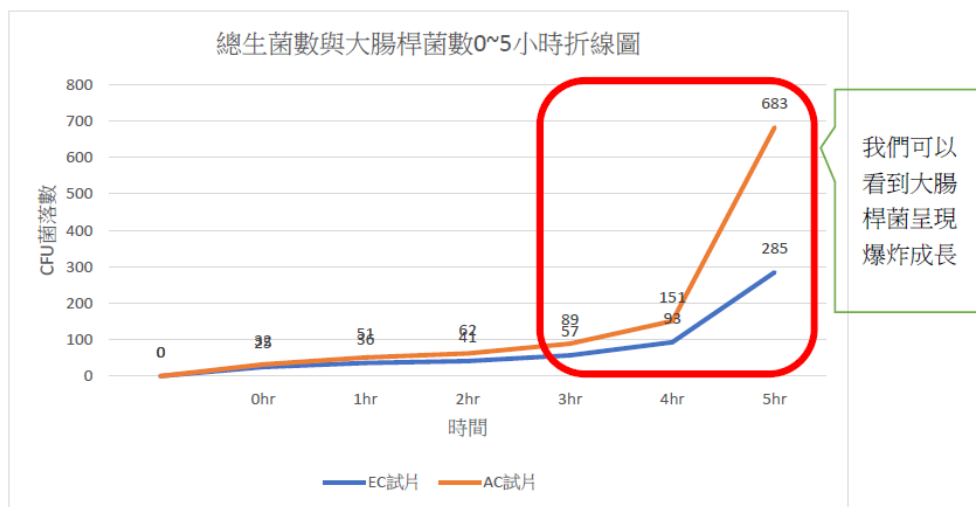
透過紅茶濃度的稀釋來檢驗自製儀器與實驗室的 U-5100 以及 PASCO 之效能比較，我們可以發現自製儀器對照兩台專業儀器，在稀釋倍率的吸光值變化中有一定準確性，其中以自製儀器對應實驗室的 U-5100 的相關性達到最高，相關係數達.99。

根據儀器商與檢測公司在量測微量元素的含量時的建議，分光光度計的適用範圍在吸光值(Abs) 0.3~0.7 之間，且專家建議吸光值大於 1 表示此檢測物濃度過高，儀器檢測會造成誤差。因此，在日後研究我們必須特別注意待測物樣本是否超過儀器檢測效能區間，若吸光值大於 1 必須進行稀釋。

根據研究結果，我們也發現白光效度較紅、藍、綠光高，所以後續實驗皆採用白光，但此實驗設計並未符合分光光度計利用‘分光(不同波長)’ 檢測特定物質的原理，很有可能檢測結果為生食中的總生菌數，並非大腸桿菌的多寡。有鑑於此，我們添購總生菌數(AC)的試片，希望透過總生菌數與大腸桿菌數以及自製分光光度計之間的相關性，進而達成利用自製分光光度計推估大腸桿菌數的研究目的。

## 二、自製分光光度計與市售 3M 微生物試片之對照

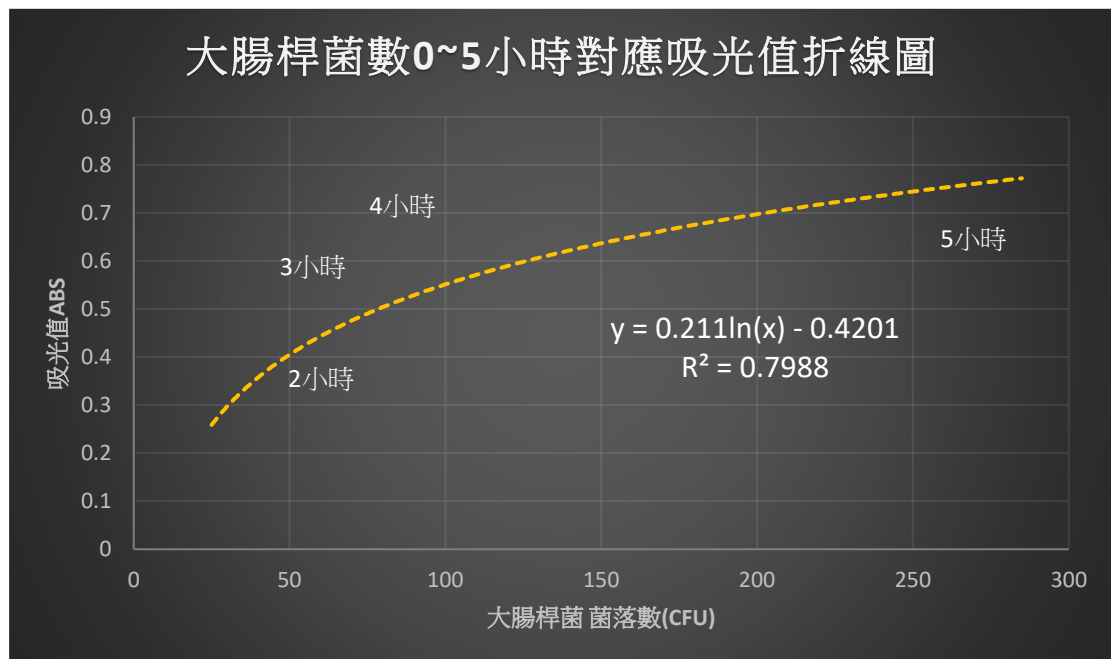
在研究結果一中，我們的自製分光光度計已經能夠檢測出紅茶在不同稀釋倍率下，吸光值所產生的變化。在此實驗二中，我們將要進行大腸桿菌檢測，因此必須透過市售 3M 微生物試片點數 CFU 值進行對照依據。



[圖 8] 總生菌數與大腸桿菌數 0~5 小時折線圖

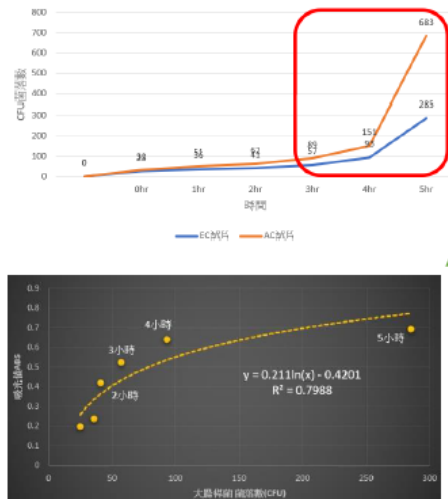
我們請輔仁大學食品科學系協助以培養液(LB)進行 0~5 小時之微生物培養檢測，透過自製分光光度計來檢驗其培養液的濃度變化對吸光值得影響，並以總生菌數、大腸桿菌群與大腸桿菌三種微生物檢測試片來進行佐證。

實驗結果可以發現微生物在 0~5 小時之間是呈現指數增加的，我們嘗試將總生菌數與大腸桿菌群試片來進行對照，我們可以發現有相同的成長趨勢。



[圖 9]大腸桿菌數 0~5 小時對應吸光值折線圖

在總生菌與自製儀器吸光值的對應中我們可以發現吸光值與總生菌數能透過線性回歸找出相關性，進而從吸光值得知總生菌數與大腸桿菌之數量，以[圖 12]甘藍為例，吸光值為 0.56，其大腸桿菌點 CFU 數值為 89(菌落數/毫升)，但我們必須換算回稀釋前的倍率(乘以 10)，其大腸桿菌約為 890(菌落數/毫升)。



從左邊兩圖上下對照，可推論出菌落數較少，吸光值較低；菌落數較多，吸光值較高。其中在我們發現在四小時後，菌落數成指數型成長，而吸光值呈現對數型與其對照之。經詢問教授後，得知前兩小時細菌仍在適應環境當中，而四小時後，可以發現大腸桿菌在此環境為優勢菌種，占據整個空間。

### 三、自製分光光度計對生食中之大腸桿菌檢測

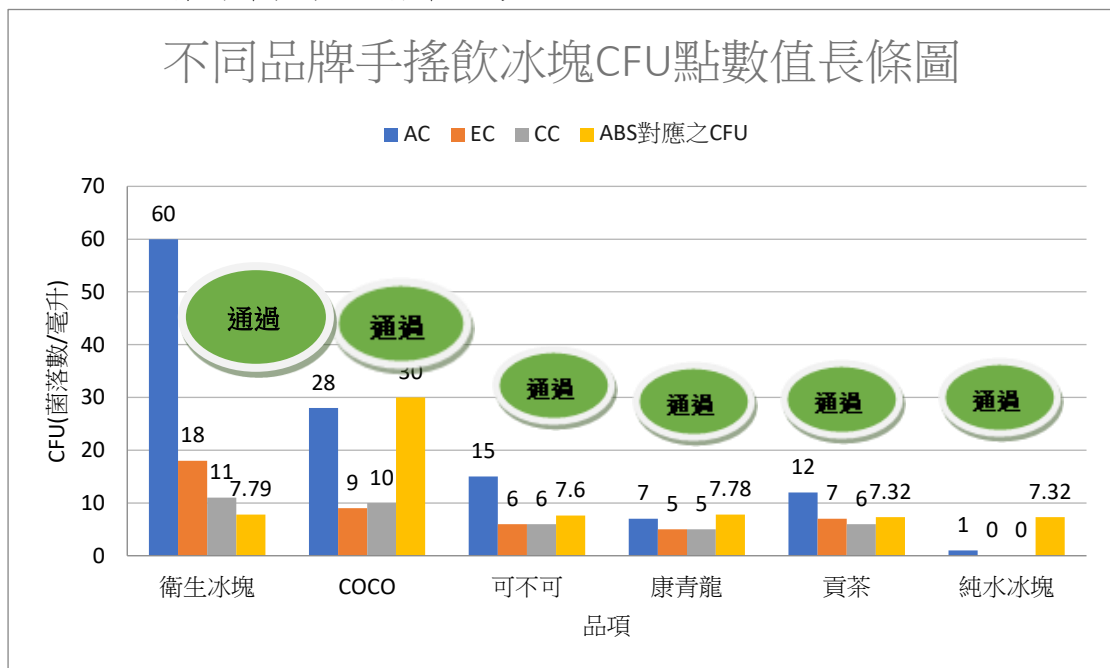
此實驗，我們透過研究結果二的對照標準，進行日常生食中的微生物檢測，進而推估大腸桿菌數是否超過衛服部食藥署的標準。以下，我們將取不同品項的生食進行測試。

#### (一) 飲料店的冰塊

食藥署標準對照：

生食冰塊總生菌數(AC)CFU 標準應為：100

大腸桿菌群(CC)CFU 標準應為:0



[圖 10] 不同品牌手搖飲冰塊 CFU 點數值長條圖

我們可以發現各飲料店家的冰塊在吸光值與總生菌數之對應中，幾乎都測不到其大腸桿菌之數值，根據衛服部食藥署標準對照，我們可以發現所有冰塊的大腸桿菌之含量都相當微量

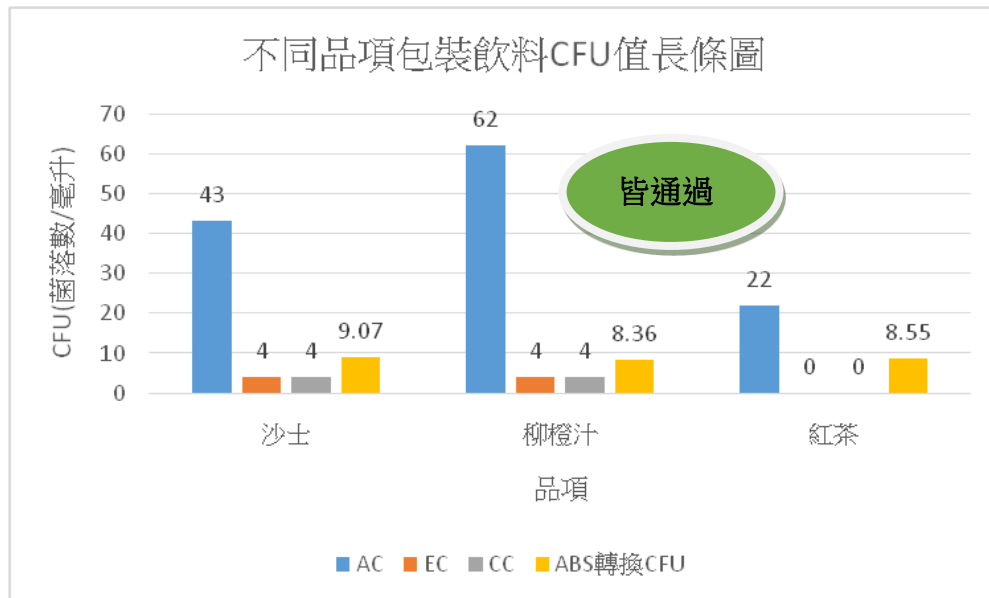
## (二)市售包裝飲料

食藥署標準對照：

碳酸飲料總生菌數(AC)CFU 標準應為： 100 大腸桿菌群(CC)CFU 標準應為:10

鮮榨果汁總生菌數(AC)CFU 標準應為： 1000 大腸桿菌群(CC)CFU 標準應為:1000

茶葉飲料 (AC)CFU 標準應為： 200 大腸桿菌群(CC)CFU 標準應為:10



[圖 11]不同品項包裝飲料 CFU 值長條圖

我們買了三種不同品項的包裝飲料進行實測，我們可以發現在吸光值與總生菌數之對應中，幾乎都測不到其大腸桿菌之數值，根據衛服部



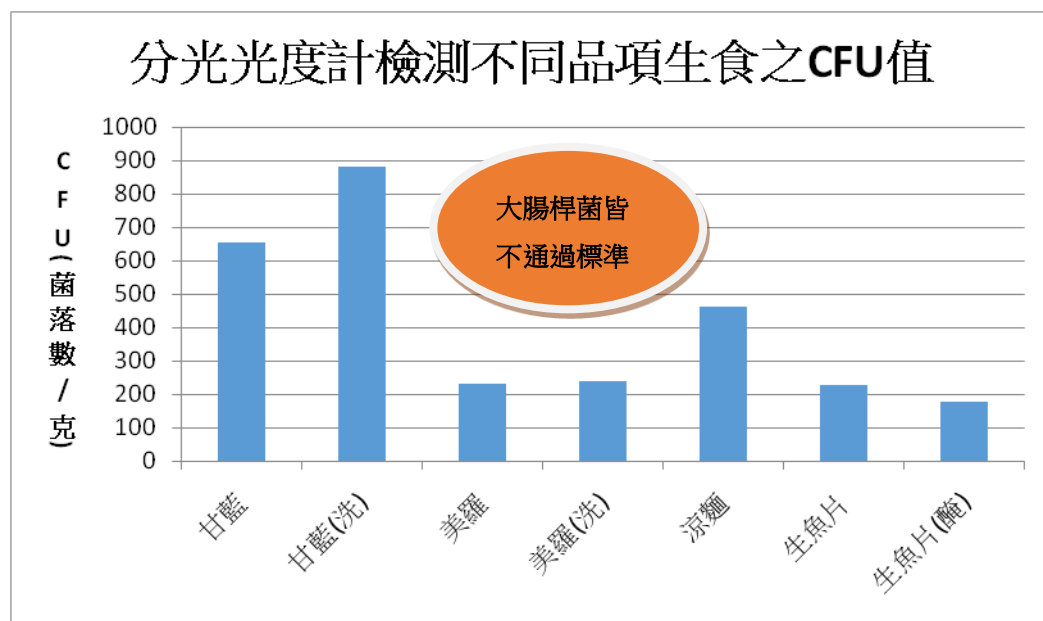
### (三)生食實測

食藥署標準對照：

冷凍蔬菜類總生菌數(AC)CFU 標準應為：10 萬 大腸桿菌群(CC)CFU 標準應為:10

冷凍魚類總生菌數(AC)CFU 標準應為：10 萬 大腸桿菌群(CC)CFU 標準應為:10

一般食品總生菌數(CC)MPN 標準應為：1000 大腸桿菌(EC)MPN 標準應為:陰性



[圖 12]不同品項生食吸光值長條圖

在經過冰塊與市售飲料的檢測後，我們決定以自製的分光光度計進行日常生食的檢測。透過感測出來電壓換算成吸光值轉換後我們發現甘藍真的很髒，藉由吸光值與大腸桿菌數換算後我們得知甘藍高達 890 菌落數/克。

## 陸、結論

本研究擬以自製分光光度計與溫控培養箱，並發展出檢驗標準與流程，透過比對市售大腸桿菌(群)試片之檢驗結果，實驗數據呈正相關。由此自製器材我們能快速有效地進行生食中大腸桿菌含量檢測，並透過研究結果，給予生活中飲食安全的參考建議。

自製儀器的部分，我們也期望未來能拓展到水質檢測，例如：飲水機的飲用水是否乾淨、洗碗機是否達到有效潔淨……等。

## 柒、參考資料及其他

### 全國中小學科學展覽

#### 1. 第五十八屆全國中小學科學展覽

悄悄是離別的生「硝」—

食物中的硝酸鹽類減量方法與自製分光光度計檢測初探

#### 2. 第五十八屆全國中小學科學展覽

簡易型分光光度計實作及驗證

### 網路新聞與資料

#### 1. 每次抽驗超標都是它！大腸桿菌很可怕嗎？ 109.10.12 取自：

<https://activity.ntsec.gov.tw/activity/race-1/52/pdf/030822.pdf>

#### 2. 每次抽驗超標都是它！大腸桿菌很可怕嗎？ 109.11.01 取自：

[https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.foodnext.net%2F1ife%2F1ifesafe%2Fpaper%2F4616162767%3Ffbclid%3DIwAR06vXm836hdT5PF1hkmfElgyJ\\_\\_\\_\\_\\_OPcIpmjc6ANZ-](https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.foodnext.net%2F1ife%2F1ifesafe%2Fpaper%2F4616162767%3Ffbclid%3DIwAR06vXm836hdT5PF1hkmfElgyJ_____OPcIpmjc6ANZ-)

[https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov.tw%2Ffile%2FGet%2FXjjJfPAWN-](https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov.tw%2Ffile%2FGet%2FXjjJfPAWN-eZHp3FERS7dw%3Ffbclid%3DIwAR2a0XyWoLZJe1S6oyNynxphhIHPJt1T2eQrHo8dtvfM-x1HWndtaXHVn8E&h=AT0MFAIPB6nPCGz039D6g7Dx4-sfGaRUg2Z10j9AC0ynpIx6GaFxxkz0FcfPL_HH33wvjpUR41CryU6qV58LG0pbPQ6knX0356rIf7WicADHvvyEp8bRU5nTaOi1Xt7cEImLIgdA-mkwTduJ61PtyBg)

#### 3. 台灣地區腹瀉型病原性大腸桿菌流行概況分析 109.10.14 取自：

[https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov.tw%2Ffile%2FGet%2FXjjJfPAWN-](https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov.tw%2Ffile%2FGet%2FXjjJfPAWN-eZHp3FERS7dw%3Ffbclid%3DIwAR2a0XyWoLZJe1S6oyNynxphhIHPJt1T2eQrHo8dtvfM-x1HWndtaXHVn8E&h=AT0MFAIPB6nPCGz039D6g7Dx4-sfGaRUg2Z10j9AC0ynpIx6GaFxxkz0FcfPL_HH33wvjpUR41CryU6qV58LG0pbPQ6knX0356rIf7WicADHvvyEp8bRU5nTaOi1Xt7cEImLIgdA-mkwTduJ61PtyBg)

[https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov.tw%2Ffile%2FGet%2FXjjJfPAWN-](https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov.tw%2Ffile%2FGet%2FXjjJfPAWN-eZHp3FERS7dw%3Ffbclid%3DIwAR2a0XyWoLZJe1S6oyNynxphhIHPJt1T2eQrHo8dtvfM-x1HWndtaXHVn8E&h=AT0MFAIPB6nPCGz039D6g7Dx4-sfGaRUg2Z10j9AC0ynpIx6GaFxxkz0FcfPL_HH33wvjpUR41CryU6qV58LG0pbPQ6knX0356rIf7WicADHvvyEp8bRU5nTaOi1Xt7cEImLIgdA-mkwTduJ61PtyBg)

[https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov.tw%2Ffile%2FGet%2FXjjJfPAWN-](https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov.tw%2Ffile%2FGet%2FXjjJfPAWN-eZHp3FERS7dw%3Ffbclid%3DIwAR2a0XyWoLZJe1S6oyNynxphhIHPJt1T2eQrHo8dtvfM-x1HWndtaXHVn8E&h=AT0MFAIPB6nPCGz039D6g7Dx4-sfGaRUg2Z10j9AC0ynpIx6GaFxxkz0FcfPL_HH33wvjpUR41CryU6qV58LG0pbPQ6knX0356rIf7WicADHvvyEp8bRU5nTaOi1Xt7cEImLIgdA-mkwTduJ61PtyBg)

#### 4. CFU 與 MPN 的差異比較 109.12.28 取自：

<https://www.superlab.com.tw/cfu-mpn/>

## 【評語】 082919

本研究改良前人的自製分光光度計，進行日常生食大腸桿菌與總生菌數檢測，運用市售的快篩試片較無法呈現出實驗的新穎性，建議可著重於儀器改良後的優點與信效度。

# 摘要

本實驗利用自製分光光度計來進行日常生食大腸桿菌之檢測，我們透過自製儀器所感測出的電壓值，與市售3M試片進行對照，已建立檢驗流程與標準，在自製儀器吸光值 0.3~0.7 區間，能有效推得生食中大腸桿菌可能之含量，且與衛服部食藥署檢驗大腸桿菌的方法相比，檢測速度大幅提升，等待時間從24~48小時縮短至20分鐘。本儀器的未來發展性是期望透過快速且準確檢驗微生物含量。

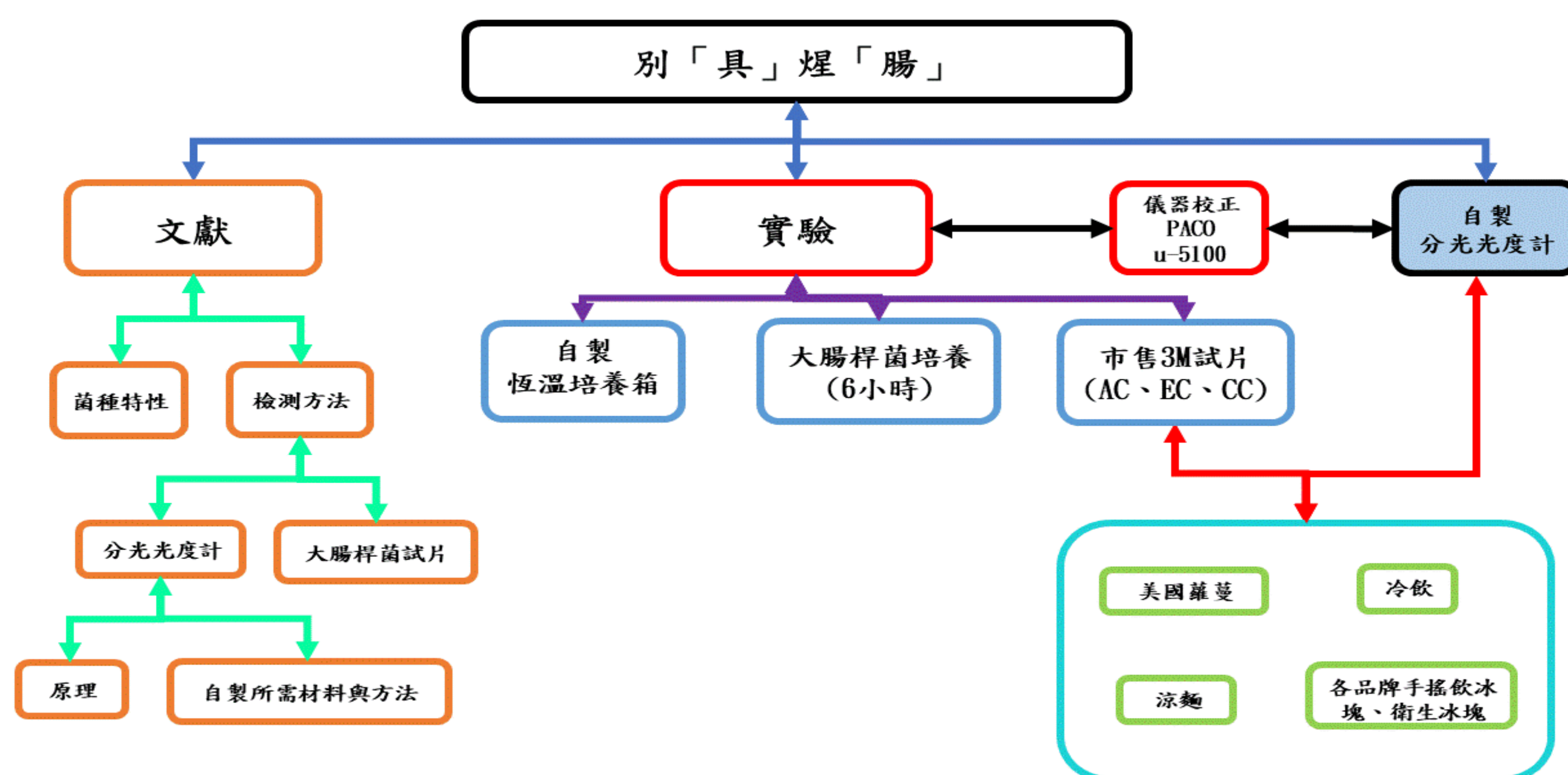
## 壹、動機

在生活中有許多大腸桿菌超標的新聞案例，例如：美國蘿蔓、涼麵等……過多的大腸桿菌出現在食物中，可能會使人嘔吐、拉肚子或發燒，甚至太嚴重可能會導致喪命。因此，我們想知道有哪些方法可以來檢測大腸桿菌，我們在網路上查詢到大腸桿菌可以用分光光度計或試片點數來檢測。我們也詢問老師及歷屆學長、姊是否有做過類似的科展，而得知他們能使用自製分光光度計檢測硝酸鹽，所以我們想自製分光光度計來檢測生食中的大腸桿菌量。

## 貳、研究目的

- 一、自製分光光度計檢測生食中之大腸桿菌數
  - (一)自製分光光度計並具有一定效度
  - (二)自製分光光度計與市售3M微生物試片之檢量線建立
  - (三)使用自製分光光度計進行日常生食之實測

## 參、研究過程或方法



### 一、自製分光光度計操作步驟

- (一)撕開無菌採樣袋，把檢測物取25g和225ml的水放入無菌採樣袋。
- (二)將無菌採樣袋繞3~4圈，把鐵絲網內折，開始揉捏。
- (三)把溶液放1分鐘沉澱。
- (四)將溶液吸取至方形試管。
- (五)開始檢測。

### 二、大腸桿菌與大腸桿菌群試片檢驗步驟

- (一)把檢驗溶液稀釋成十分之一、一百分之一、千分之一。
- (二)用滴管吸取1ml，從試片中間滴入。
- (三)將模輕輕放下，並寫上編號，放入培養箱進行培養16小時。

## 肆、研究器材

### 1. 分光光度計系列



### 2. 恆溫培養箱



### 3. 微生物檢測試片



### 4. 檢測物與實驗用具



## 伍、文獻探討

### 一、新聞提及生食內的大腸桿菌會導致人們腹瀉甚至中毒

我們於2019年8月的自由時報網路版，得知涼麵店家大腸桿菌超標的新聞。衛生局共計抽驗50件涼麵，檢驗衛生標準（大腸桿菌群、大腸桿菌），初抽結果有17件不符合規定，複抽結果仍有2件檢出大腸桿菌群超標。

### 二、第五十八屆全國中小學科學展覽-簡易型分光光度計實作及驗證

發現使用白光檢測較合適，在此研究中，我們得知作者在白光所得數據與市面上分光光度計最為接近，因此**白光波長在此實驗中是較為合適的**。並且，自製裝置不但達成低價格的期望且能效能有一定程度上與市面置相符合。

### 三、第五十八屆全國中小學科學展覽-悄悄是離別的生「硝」—食物中的硝酸鹽類減量方法與自製分光光度計檢測初探透過水管 自製分光光度計並能透過電壓值轉換吸光值

而作者能利用水管進行製作分光光度計之研究，**並能透過電壓值的變化來轉換成為吸光值，進而與市售分光光度計進行比較，其相關性達到0.98，幾乎可取代市售之分光光度計**。所以我們也利用他們的製作方法與材料進行自製儀器。

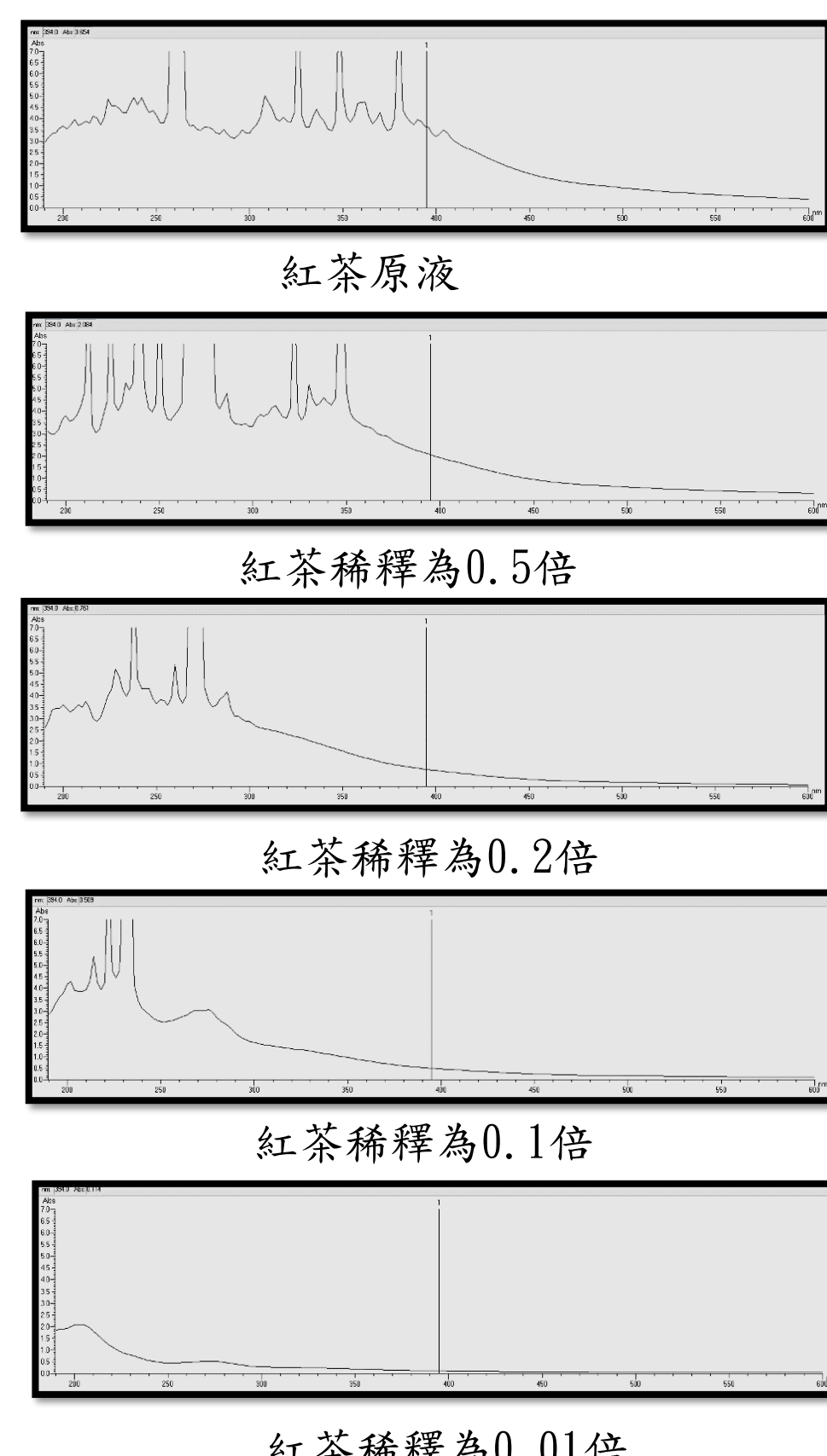
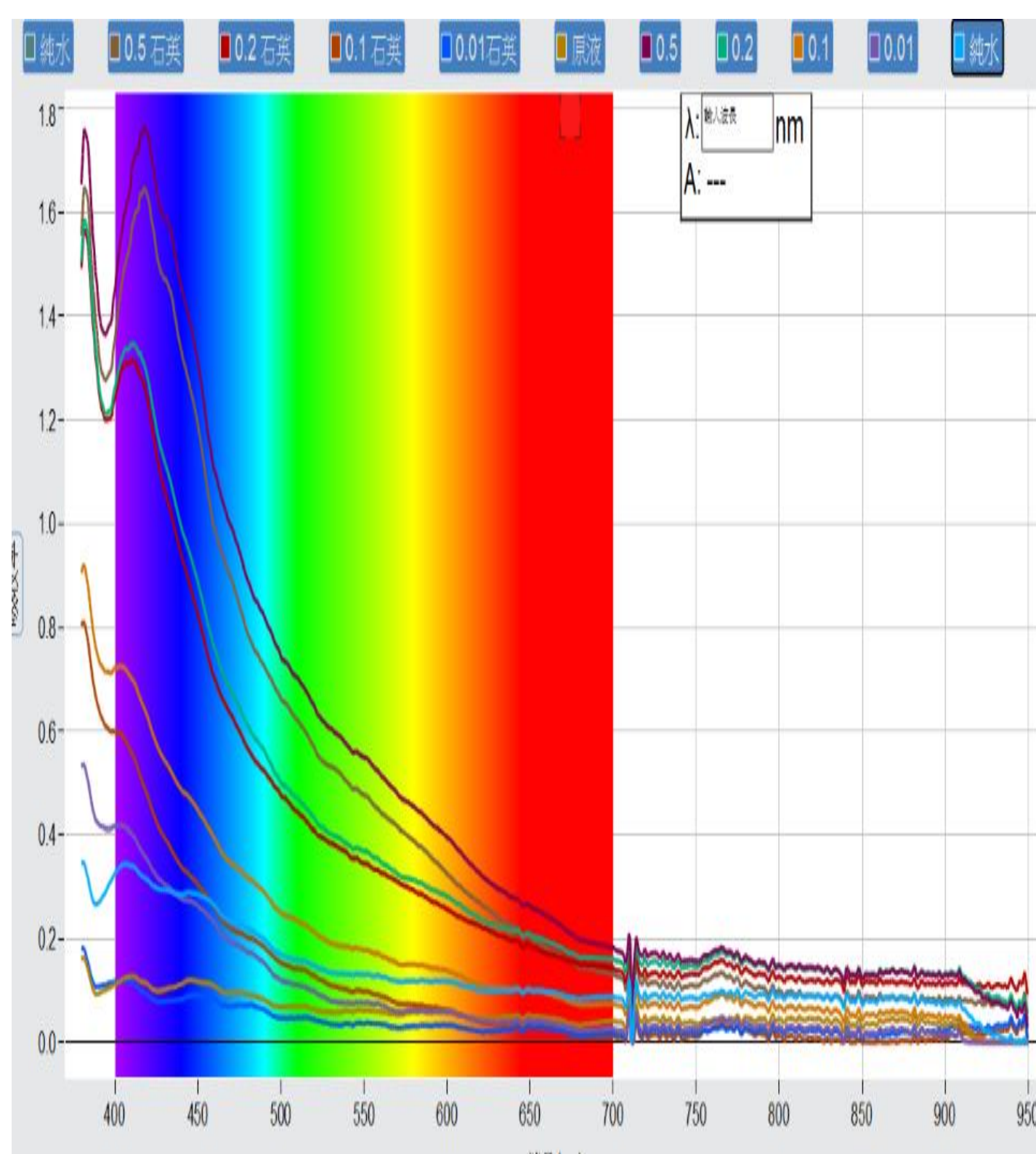
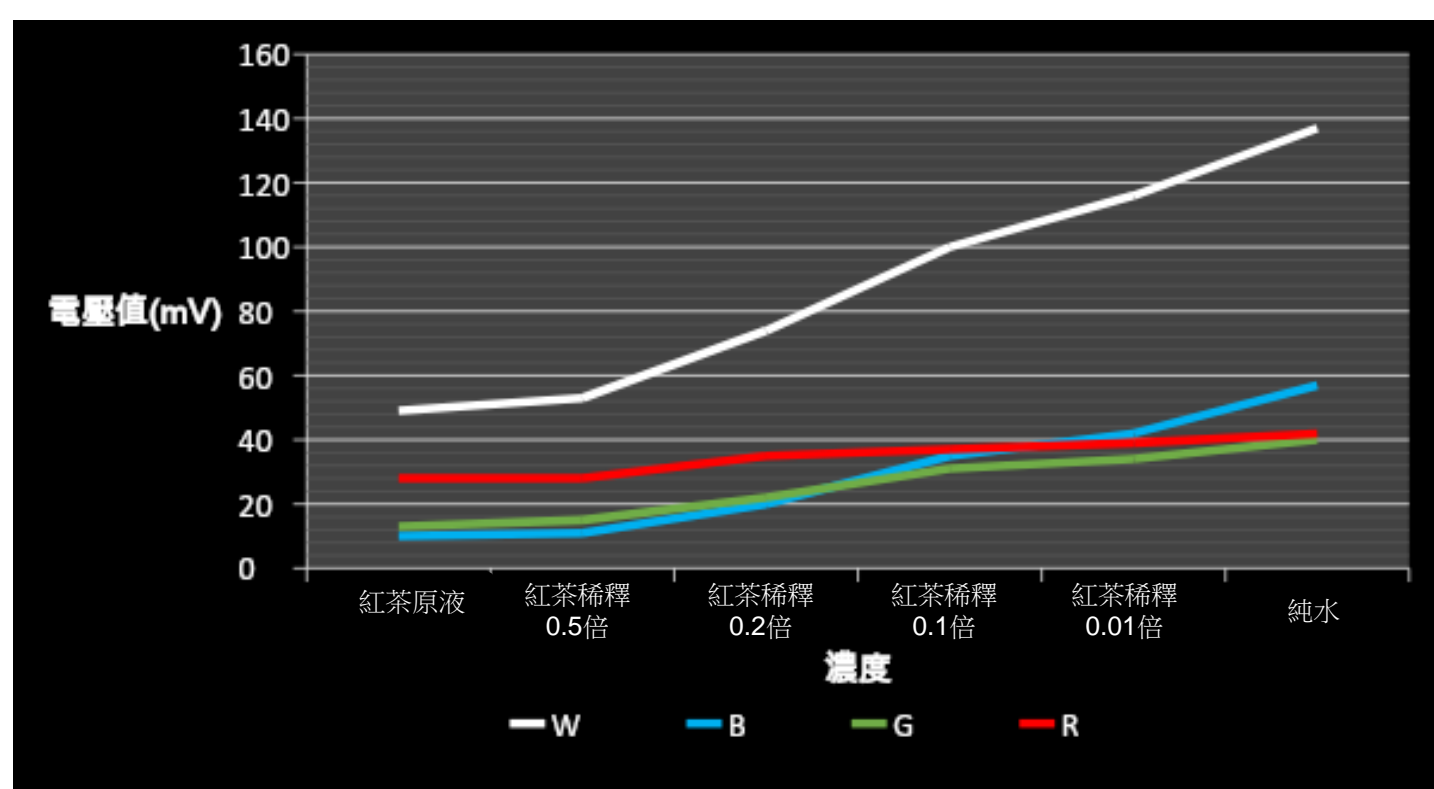
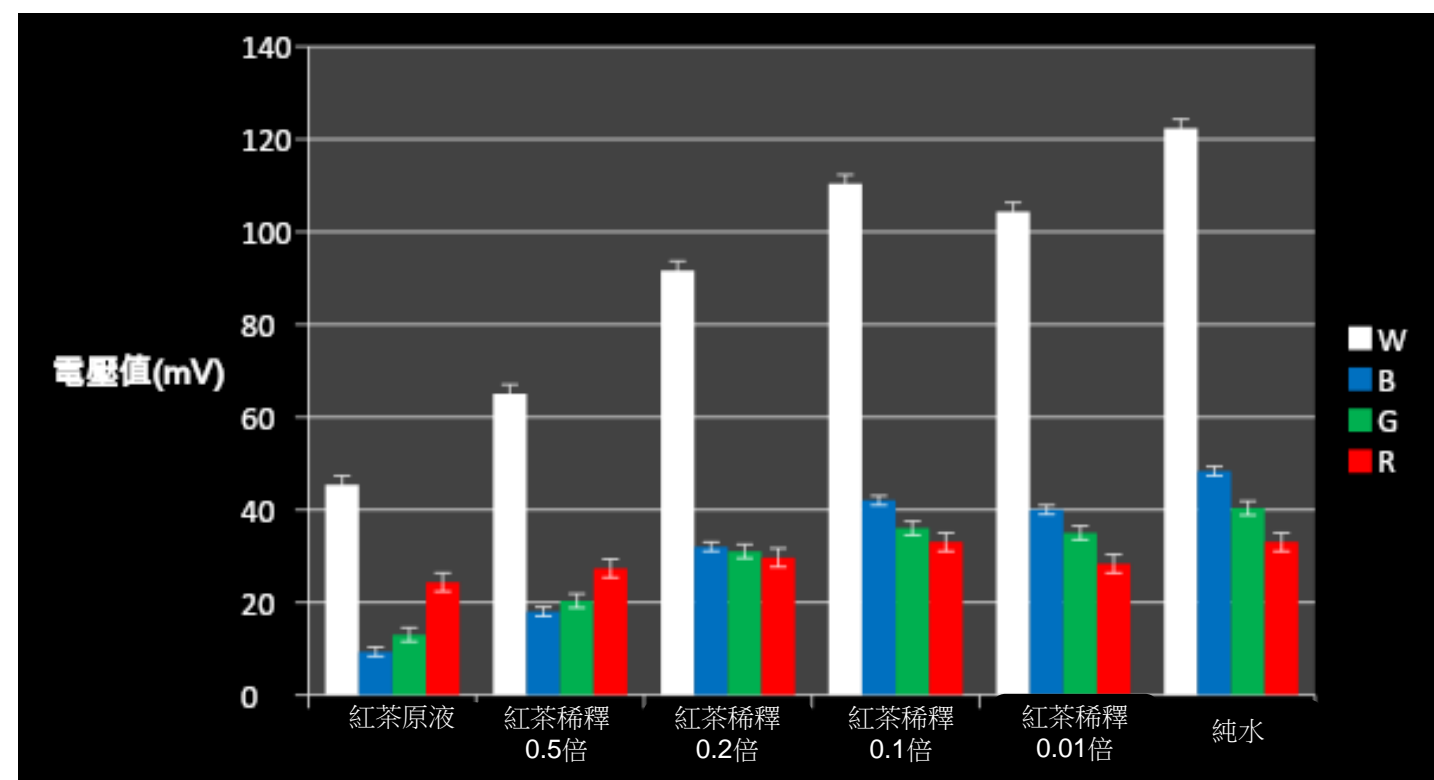
### 四、大腸桿菌檢測標準以CFU與MPN為計數單位

|        | Colony-forming unit               | Most probable number   |
|--------|-----------------------------------|--|
| 實驗方法說明 | 以傾注法或塗抹法在平板菌落形成，直接計數平板上的菌落數來推論菌數  | 觀察發酵管中的液態培養基細菌滋長情形，然後以統計學推估最可能的細菌數                                   |
| 實驗方法比較 | 實驗步驟較簡便                           | 實驗步驟複雜   |
| 數據判讀說明 | 預設每顆菌落皆由單一細菌繁殖形成，直接計數平板上的菌落數來推論菌數 | 樣品可使用範圍較大，可用於不可過濾之樣品，以「三階3支」稀釋培養之微生物生長正反應數目，比對MPN表（最大可能數表）查出微生物最可能數目 |
| 數據判讀比較 | CFU 為真實數值                         | MPN 為統計推估值   |

大腸桿菌數測量方法比較表

# 結果與討論

## 一、自製分光光度計與專業儀器之效度比較



| 儀器     | nm    | Abs   |
|--------|-------|-------|
| DaTa01 | 384.0 | 3.624 |
| DaTa02 | 384.0 | 2.084 |
| DaTa03 | 384.0 | 0.761 |
| DaTa04 | 384.0 | 0.509 |
| DaTa05 | 384.0 | 0.114 |

(一)自製分光光度計

(二)PASCO分光光度計

(三)U-5100分光光度計

[圖3]自製分光光度計檢測紅茶電壓值曲線圖

從圖表與數據顯示，我們可以知道在自製分光光度計上所顯示的電壓會隨著紅茶的濃度變淡而上升，表示光被吸光的量隨濃度上升而減少；PASCO及實驗室的分光光度計(U-5100)上所顯示的圖形也證明，若紅茶濃度越高，**吸光值(Abs)**也越高。

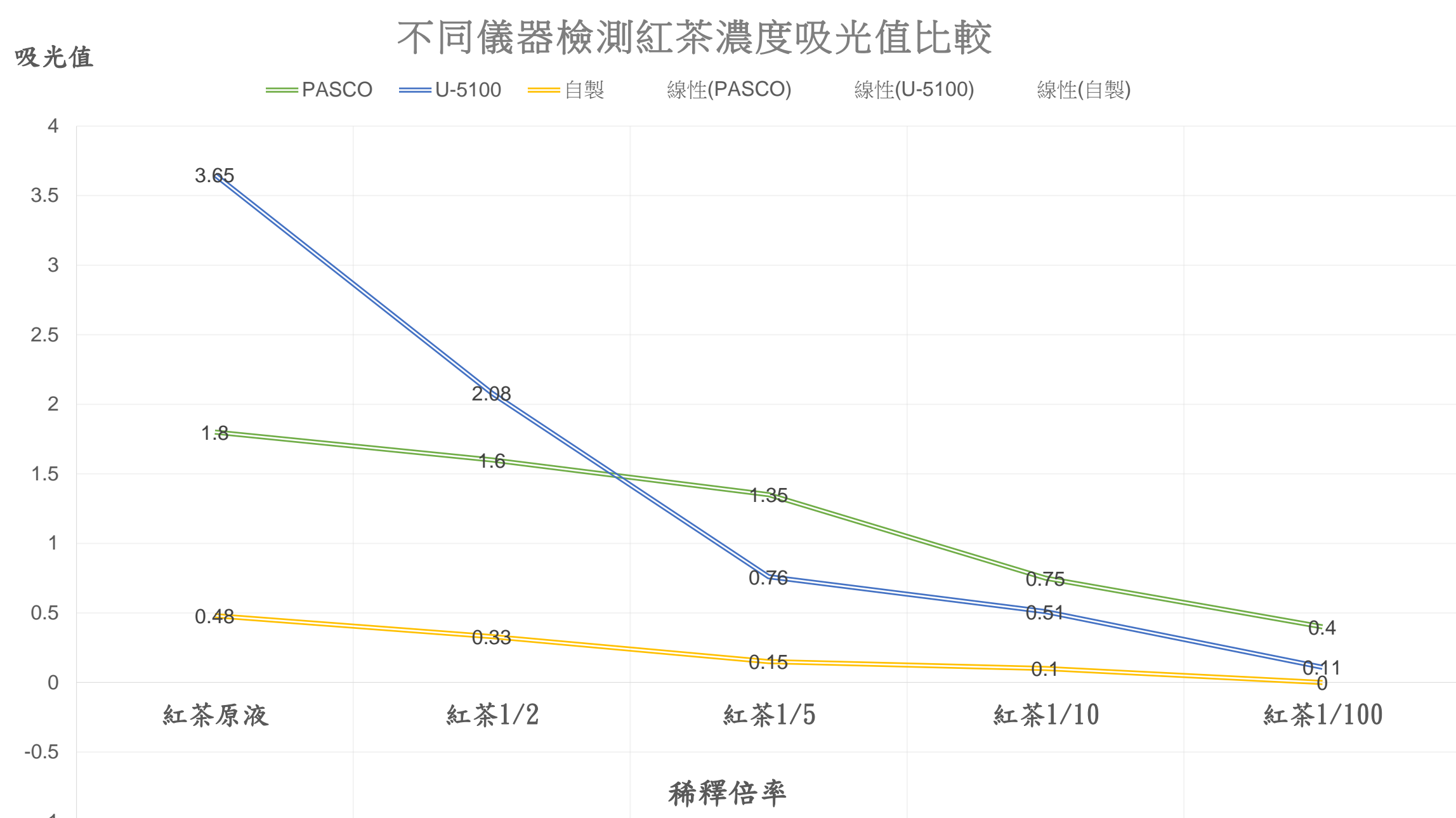
### 電壓與吸光值轉換公式

$$Abs = \log_{10} \frac{I_0}{I_t} = \log_{10} \frac{V_0}{V_t}$$

$I_0$ 入射光強度、 $I_t$ 透射光強度  $V_0$ 入射光電壓、 $V_t$ 透射光電壓

比爾-朗伯定律是吸光光度法、比色分析法和光電比色法的定量基礎。一束單色光照射於一吸收介質表面，在通過一定厚度的介質後，由於介質吸收了一部分光能，透射光的強度就要減弱。吸收介質的濃度愈大，介質的厚度愈大，則光強度的減弱愈顯著

### 三種儀器對紅茶濃度檢測之數據吸光值曲線圖



|        | 紅茶原液 | 紅茶1/2 | 紅茶1/5 | 紅茶1/10 | 紅茶1/100 |
|--------|------|-------|-------|--------|---------|
| PASCO  | 1.8  | 1.6   | 1.35  | 0.75   | 0.4     |
| U-5100 | 3.65 | 2.08  | 0.76  | 0.51   | 0.11    |
| 自製儀器   | 0.48 | 0.33  | 0.15  | 0.1    | 0       |

### 三種儀器對紅茶濃度檢測之相關係數

#### (1)所有濃度對儀器檢測之吸光值比較分析

|                  |                  |
|------------------|------------------|
| PASCO和自製儀器的相關係數  | 0.9283571        |
| U-5100和自製儀器的相關係數 | <b>0.9867996</b> |

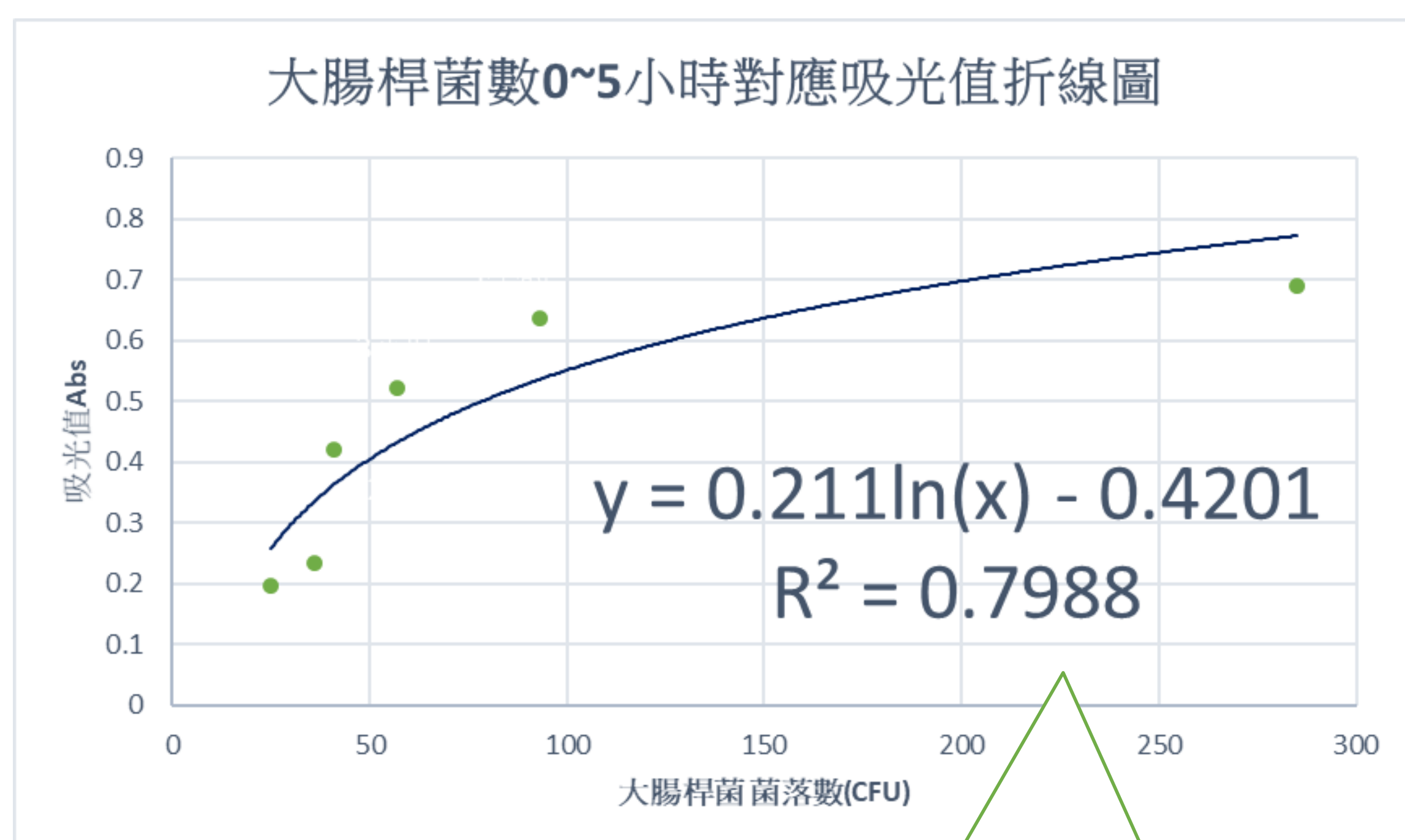
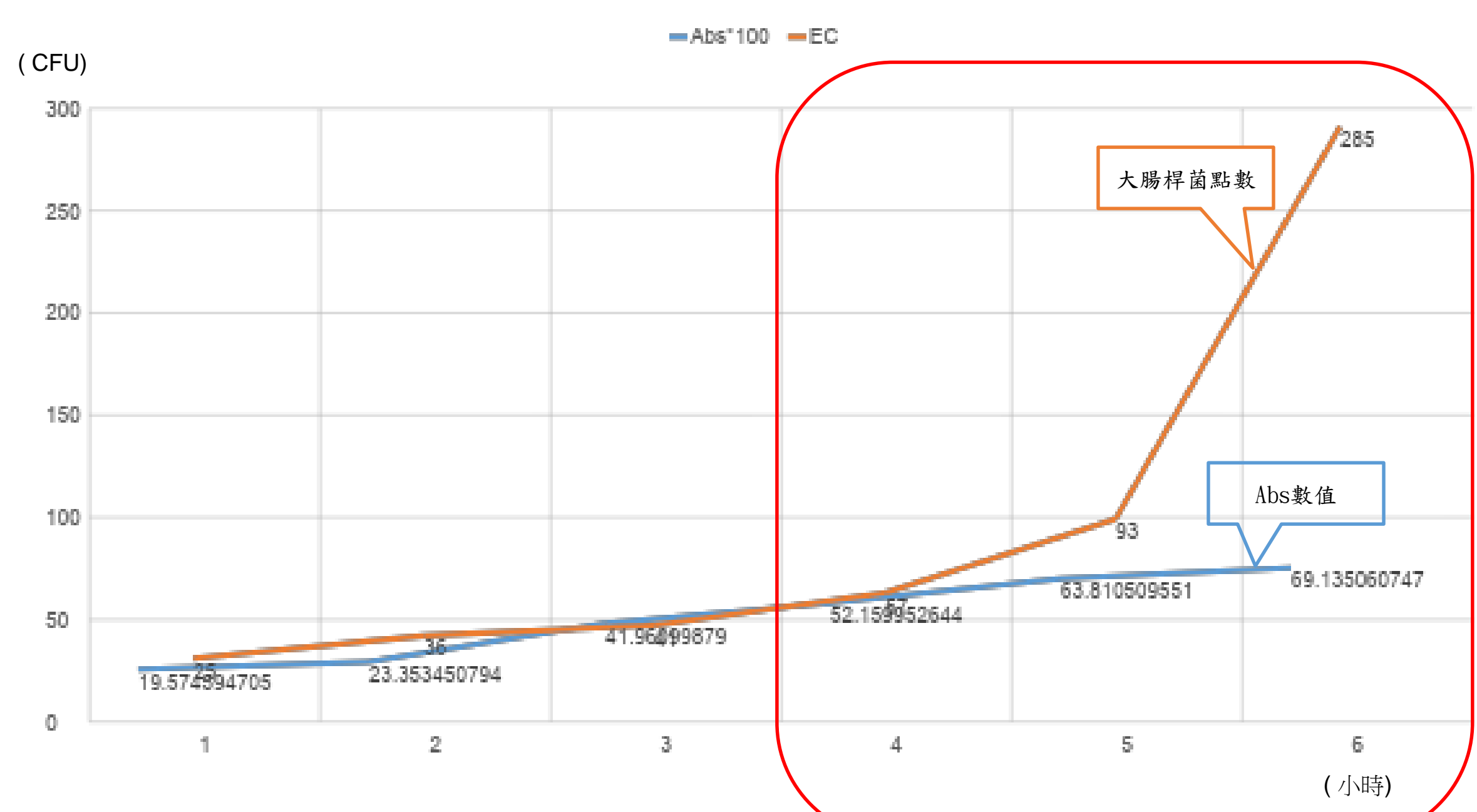
#### (2)微量濃度對儀器檢測之吸光值比較分析

|                      |                  |
|----------------------|------------------|
| PASCO和自製儀器的相關係數(微量)  | 0.9424519        |
| U-5100和自製儀器的相關係數(微量) | <b>0.9983375</b> |

#### (3)儀器檢測適用範圍與信、效度比較分析

根據儀器商與檢測公司在量測微量元素的含量時的建議，分光光度計的適用範圍在吸光值(Abs) 0.3~0.7之間。且三個不同的儀器在各自關連性之**相關係數皆達0.9以上**，**固可推測本實驗之自製分光光度計具有一定之效能與可信度**

## 二、自製分光光度計與市售3M微生物試片之對照



我們可以看到在大腸桿菌的試片上點數出的菌落數呈現爆炸成長(上圖**橘色線**)，且對應之吸光值也呈穩定上升(上圖**藍色線**)從兩圖照，可推論出菌落數較少，吸光值較低；菌落數較多，吸光值較高。其中在我們發現在第三小時開始，菌落數成指數型成長，而吸光值呈現對數型與其對照之。經詢問教授後，得知前兩小時細菌仍在適應環境當中，而四小時後，可以發現大腸桿菌在此環境為優勢菌種，占據整個空間。

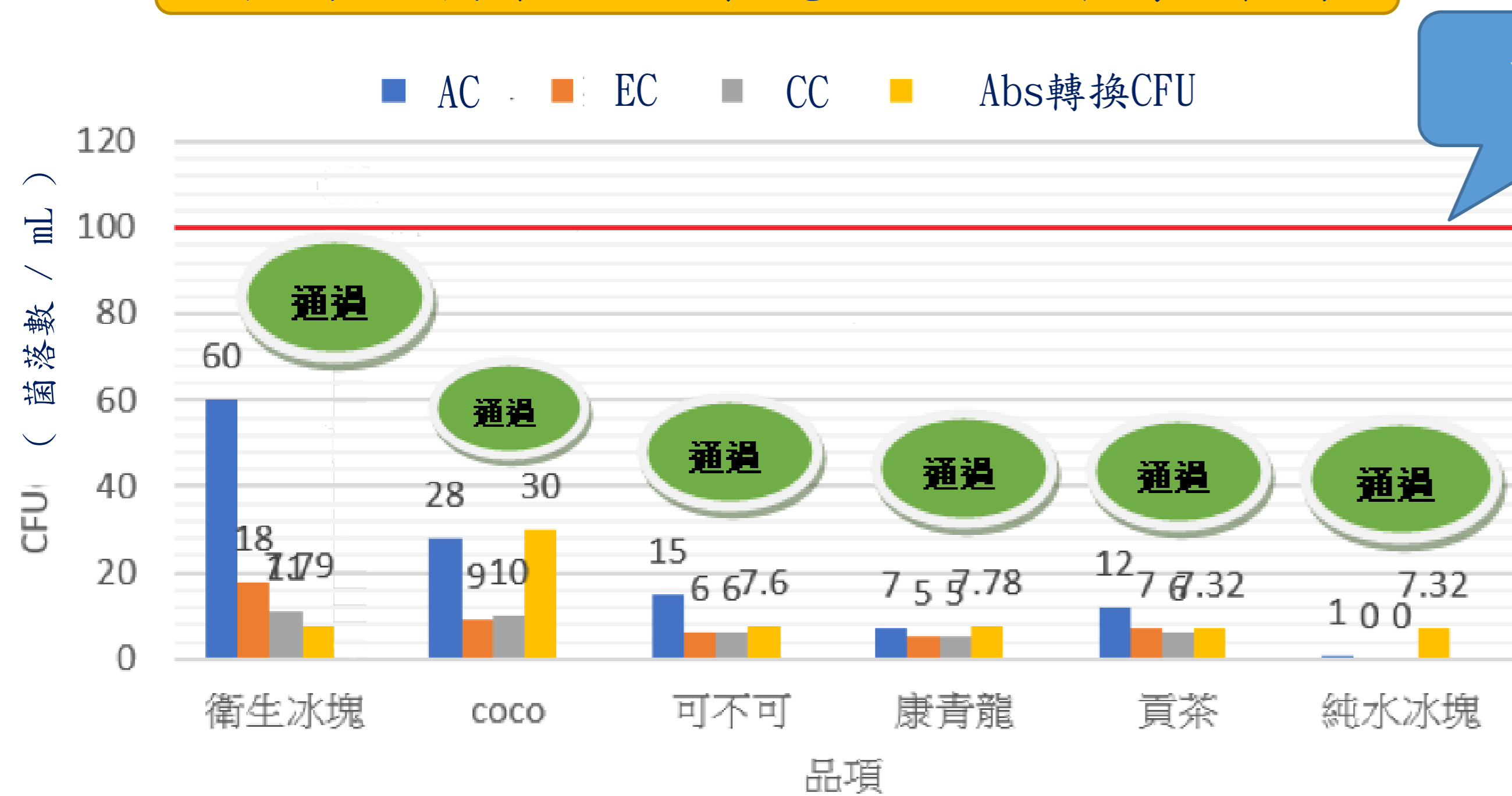
我們透過EXCEL找出吸光值與菌落數(CFU)之間的數學關係式

$$y = 0.211\ln(x) - 0.4201$$

其相關係數為  $R^2 = 0.7988$ ，因此未來我們只要將待測溶液放入比色管中，即可得到該溶液對應之(CFU)。

# 自製分光光度計對生食中之大腸桿菌檢測

## 不同品項手搖飲冰塊CFU點數值長條圖



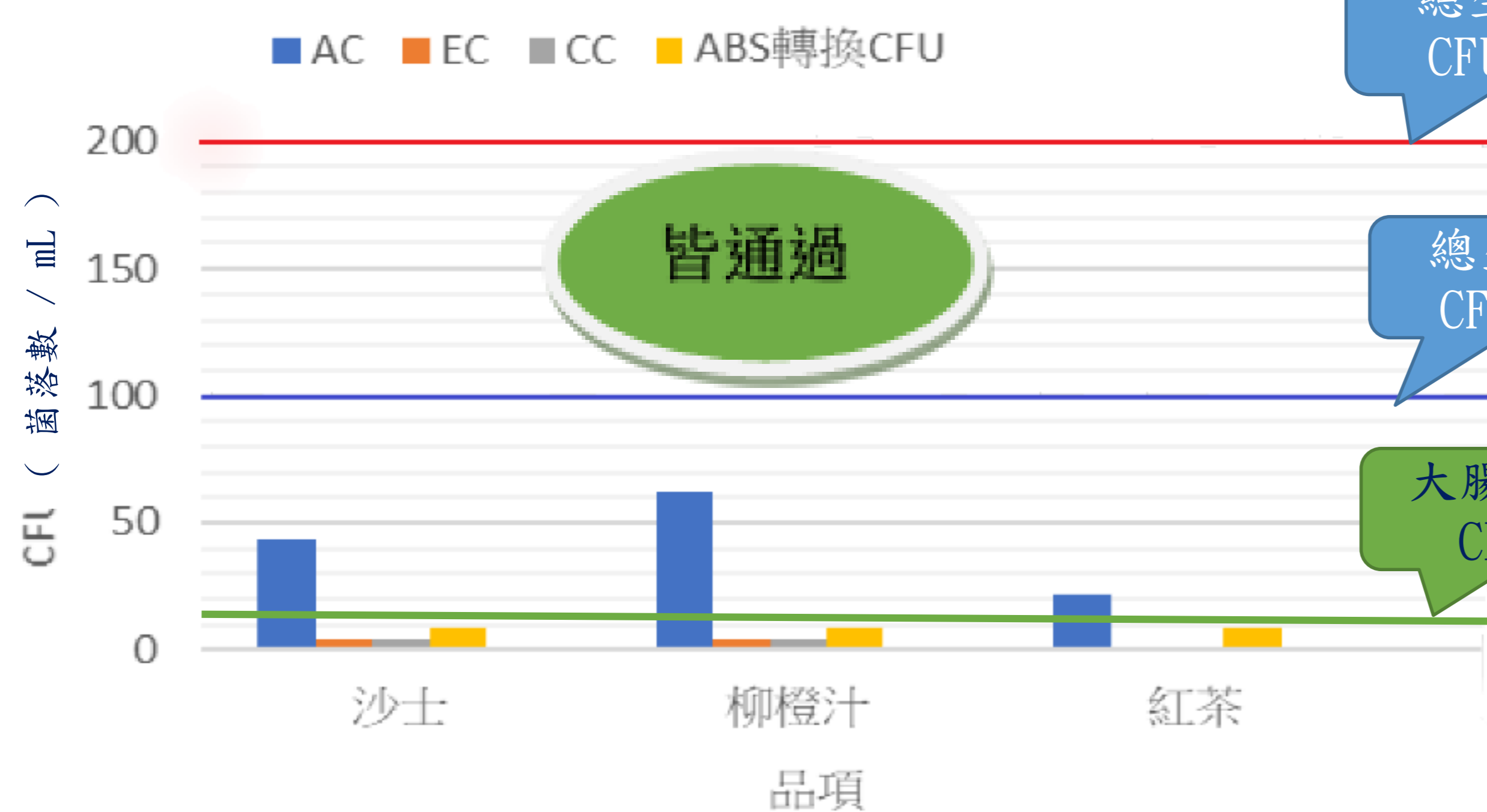
## (一) 飲料店的冰塊

總生菌數  
CFU=100

### 食藥署標準對照：生食冰塊

|                |     |
|----------------|-----|
| 總生菌數(AC)CFU標準  | 100 |
| 大腸桿菌群(CC)MPN標準 | 陰性  |

## 不同品項包裝飲料CFU點數值長條圖



總生菌數  
CFU=200

總生菌數  
CFU=100

大腸桿菌數  
CFU=10

## (二) 市售包裝飲料

### 食藥署標準對照：碳酸飲料

|                |     |
|----------------|-----|
| 總生菌數(AC)CFU標準  | 100 |
| 大腸桿菌群(CC)CFU標準 | 10  |

### 食藥署標準對照：鮮榨果汁

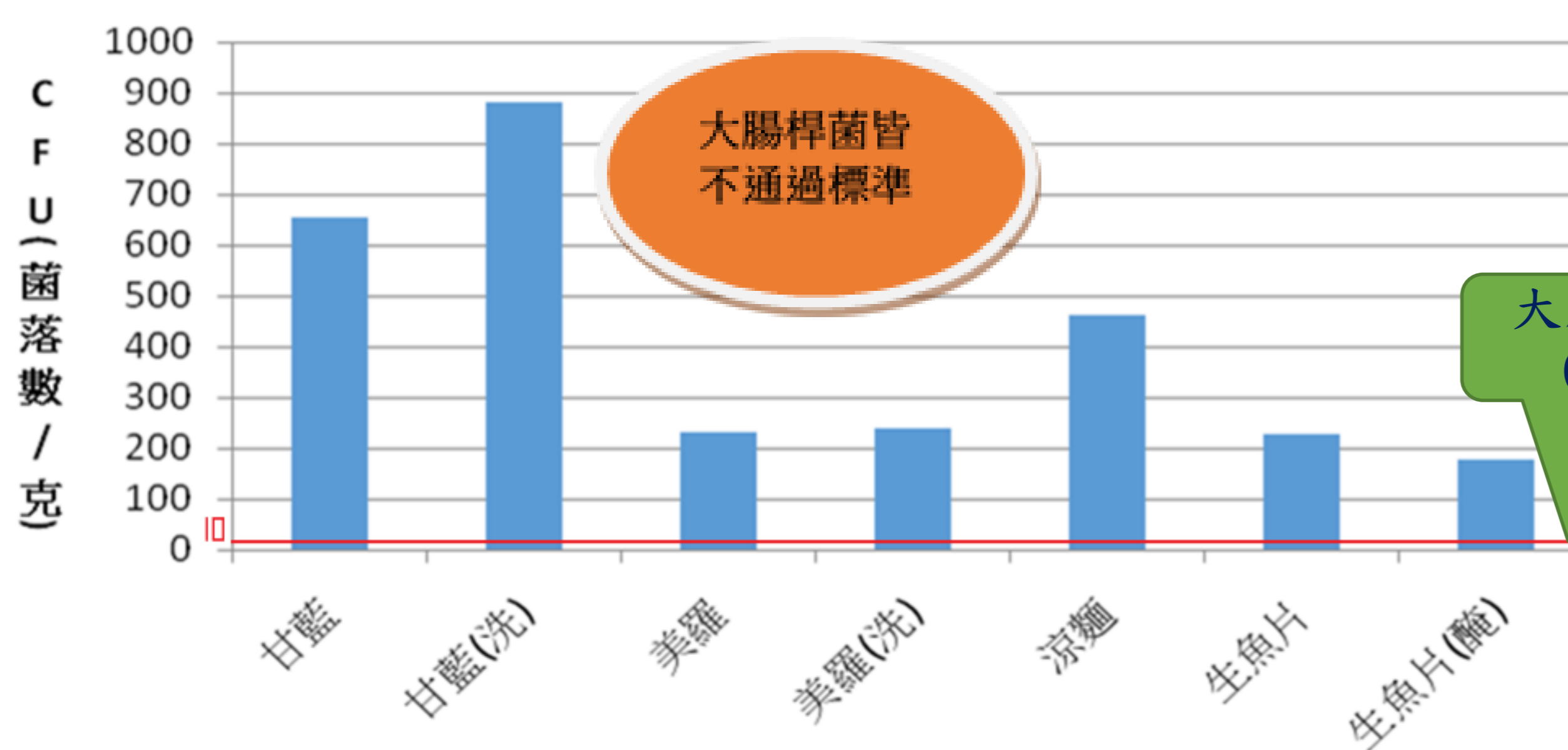
|                |      |
|----------------|------|
| 總生菌數(AC)CFU標準  | 1000 |
| 大腸桿菌群(CC)CFU標準 | 1000 |

### 食藥署標準對照：茶葉飲料

|                |     |
|----------------|-----|
| 總生菌數(AC)CFU標準  | 200 |
| 大腸桿菌群(CC)CFU標準 | 10  |

## (三) 生食實測

## 分光光度計檢測不同品項生食之Abs換算CFU值



大腸桿菌數  
CFU=10

### 食藥署標準對照：冷凍蔬菜

|                |        |
|----------------|--------|
| 總生菌數(AC)CFU標準  | 100000 |
| 大腸桿菌群(CC)CFU標準 | 10     |

### 食藥署標準對照：冷凍魚類

|                |        |
|----------------|--------|
| 總生菌數(AC)CFU標準  | 100000 |
| 大腸桿菌群(CC)CFU標準 | 10     |

### 食藥署標準對照：一般食品

|               |      |
|---------------|------|
| 總生菌數(AC)CFU標準 | 1000 |
| 大腸桿菌(EC)MPN標準 | 陰性   |

## 自製分光光度計、市售儀器、大腸桿菌試片效能對照圖

| 品項   | Hitachi U-5100 | PASCO PS-2600   | 自製分光光度計     | 3M 微生物檢測試片            |
|------|----------------|-----------------|-------------|-----------------------|
| 檢測向度 | 微量元素與吸光值變化     | 微量元素與吸光值變化      | 微量元素與吸光值變化  | 總生菌數、大腸桿菌、大腸桿菌群，點數CFU |
| 檢測時間 | 一次，10分鐘/6組     | 一次，10分鐘/3組      | 一次，2.5分鐘/1組 | 一次，48小時/1組            |
| 重複使用 | 可重複使用          | 可重複使用           | 可重複使用       | 不可重複使用                |
| 器材成本 | 200000 NTD ↑   | 30000~40000 NTD | 約6500 NTD   | 約2950 NTD             |

## 歷屆科展自製分光光度計差異比較

| 本實驗研究之自製分光光度計      | 長度較短<br>4x4x10 cm   | LED光源可調不同波段之色光 | 外接三用電表讀取數值需改善 |
|--------------------|---------------------|----------------|---------------|
| 58屆 小化組 悄悄是離別的生硝   | 長度較長<br>4x4x27 cm   | 單一紫外光波長        | 外接三用電表讀取數值需改善 |
| 58屆 中應科(一) 自製簡易光度計 | 體積較大<br>20x20x20 cm | 玻璃紙改變光源顏色      | 已程式化可即刻修改參數   |

## 柒、結論

本研究擬以自製分光光度計與溫控培養箱，並發展出檢驗標準與流程，透過比對市售大腸桿菌(群)試片之檢驗結果，實驗數據呈正相關。

由此自製器材我們能快速有效地進行生食中大腸桿菌含量檢測，並透過研究結果，給予生活中飲食安全的參考建議。

## 未來展望

自製儀器的部份，我們也期望未來能拓展到水質檢測，例如：飲水機的飲用水是否乾淨、洗碗機是否達到有效潔淨……等。