

# 市售苜蓿芽之微生物品質調查

葉全益  
經國管理暨健康學院食品衛生系

## 摘 要

調查基隆和台北地區傳統市場和超市販售苜蓿芽之微生物品質，結果顯示總生菌數不符合生食用食品類衛生標準的比率為 95.5%。大腸桿菌群和沙門氏桿菌的檢出率分別是 95.5 和 72.7%。而大腸桿菌和腸炎沙門氏桿菌則均呈陰性。大腸桿菌群檢測結果比先前之調查為低。超市之總生菌數，大腸桿菌群的菌數範圍均比傳統市場低，顯示超市苜蓿芽的衛生狀況較傳統市場好。在 22 件樣品中只有一件完全符合生食用食品類衛生標準。

結果顯示基隆及台北的苜蓿芽仍需加以注意。

**關鍵字：** 苜蓿芽，微生物品質。

# Microbiological Quality Survey of Alfalfa Sprout on the Market

Chuan-Yi Yeh

Department of Food Health, Ching Kuo Institute of Management and Health

## Abstract

Microbiological quality of alfalfa sprouts from local markets and supermarkets of Keelung and Taipei were surveyed. The results showed that 95.5% of total bacterial counts did not meet the “Sanitary Standard for Raw-eaten Food”. The detectable percentage of coliform and *Salmonella* spp. were 95.5 and 72.7%, respectively. Both of the *E. coli* and *S. enteritidis* were negative in all samples. The results of coliform were lower than the survey conducted before. The range of microbial counts of total bacteria count and coliform of samples from supermarkets were lower than local markets. It indicates that the sanitary condition of alfalfa sprouts from supermarkets were better than local markets. In 22 samples, there was only one sample totally meet the “Sanitary Standard for Raw-eaten Food”. The results above showed that the microbiological quality of alfalfa sprouts in the Keelung and Taipei still should be concerned.

**Key words :** alfalfa sprout, microbiological quality

## 前言

苜蓿芽(Alfalfa sprout)，學名 *Medicago sativa* L，一般食用狀態為『生食』因此其衛生狀況引起注意。近來民眾因為怕一般蔬菜含過量農藥而使得有機蔬菜大受歡迎；在這些有機蔬菜中，苜蓿芽因為是製作精力湯（生機飲食的一種，使用多種生鮮蔬菜、水果混合打汁而成）的基本素材、也是沙拉吧食材之一，可在一般市場及超市購買、也可自行培育，是用途較多也最普遍的一種。根據衛生署的統計資料顯示，民國九十一年發生食物中毒原因依次分別是(一)交互污染(二)加熱不足(三)放室溫過久及(四)人為污染(例如手部不潔)等，佔 46.47%<sup>(1)</sup>。苜蓿芽正暴露在這幾項危險因子之下。依據衛生署所訂『生食用食品類衛生標準』中之「生食用蔬菜類」規定每公克中生菌數十萬 ( $10^5$  CFU/g) 以下，每公克中大腸桿菌(*E. coli*)最確數 10 以下<sup>(2)</sup>。自 1973 年以來，全世界的芽菜中毒事件開始被報導，其中以沙門氏桿菌最多，其次是致病性大腸桿菌，仙人掌桿菌也有少數報導。在沙門氏桿菌方面有瑞典及芬蘭<sup>(3)</sup>，美國及澳洲<sup>(4,5)</sup>；致病性大腸桿菌方面最有名的是 1996 年在日本發生 6,000 件與蘿蔔嬰有關的出血性大腸桿菌 O157:H7 的芽菜中毒事件，以及 1997 年美國密西根州和維吉尼亞州發生的因苜蓿芽造成出血性大腸桿菌 O157:H7 的中毒事件<sup>(6)</sup>。荷蘭 2000 年時發生芽菜因腸炎沙門氏桿菌 *Salmonella enterica* serotype Enteritidis phage type 4b 污染而造成中毒事件<sup>(7)</sup>，而致病性腸炎沙門氏桿菌在台灣也逐漸成為主要的致病菌之一<sup>(8)</sup>。美國藥物食品管理局 (FDA) 在 1999 年要求對每一批芽菜的灌溉孵育用水要做包括沙門氏桿菌和致病性大腸桿菌 O157:H7 的檢測，種子的消毒，並遵循良好農業作業規範來操作<sup>(9)</sup>。苜蓿芽的衛生狀況在台灣也已受到注意<sup>(10)</sup>。但是，近來國外發現苜蓿芽中的沙門氏桿菌的污染，國內並未有報告。本試驗以基隆及台北為抽驗範圍，檢測苜蓿芽所含生菌數、大腸桿菌群及大腸桿菌情形，探討苜蓿芽之微生物品質是否有改善，同時亦探討沙門氏桿菌及致病性腸炎沙門氏桿菌分佈情形。

## 材料與方法

### 一、材料

#### 1. 苜蓿芽

取樣以包裝(密封式塑膠盒裝)完整未破壞為原則，並儘速取回實驗室 7°C 冷藏待檢。取樣時間在民國九十年九月間。包括基隆及台北不同的傳統市場及超市。

2. 生菌數檢定試紙(Aerobic Petrifilm, 3M)、大腸桿菌群/大腸桿菌檢定試紙(Coliform/*E. coli* Petrifilm, 3M) 均購自安晶股份有限公司，台北，台灣。

3. Reveal for *Salmonella* Test System, 和 Reveal for *Salmonella enteritidis* Test System 等兩種套組均購自啟新醫療股份有限公司，台北，台灣。



## 二、方法

### 1. 生菌數之檢測

參考 Curiale 等人<sup>(11)</sup> 方法，於無菌操作台稱取苜蓿芽 25 g 至鐵胃袋中，以鐵胃機 (SEWARD STOMACHER 400) 200 rpm 攪拌 2 分鐘，取均質液為檢液，以無菌水做一系列稀釋至適當濃度，取 1 ml 稀釋液置於 Aerobic Petrifilm 試紙中，經 35 °C 培養 2 天後計算其菌落數。每一樣品均作雙重覆加以平均。

### 2. 大腸桿菌群/大腸桿菌之檢測

參考 Curiale 等人<sup>(12)</sup> 方法，於無菌操作台稱取苜蓿芽 25 g 至鐵胃袋中，以鐵胃機 (SEWARD STOMACHER 400) 200 rpm 攪拌 2 分鐘，取均質液為檢液，檢液以無菌水稀釋至適當濃度，取 1 ml 稀釋液置於 Coliform /E.coli Petrifilm 試紙中，經 35 °C 培養 24 小時後，觀察是否含有大腸桿菌群/大腸桿菌菌落。菌落呈紅色且周圍有氣泡者則判定為大腸桿菌群，菌落呈藍色且周圍有氣泡者則判定為大腸桿菌。每一樣品均作雙重覆加以平均。

### 3. 沙門氏桿菌之檢測

將套組所附 Reveal medium 倒入鐵胃袋中，加入無菌水 200 ml，搖均勻。於無菌操作台稱取苜蓿芽 25 g 至鐵胃袋中，以鐵胃機 (SEWARD STOMACHER 400) 200 rpm 攪拌 2 分鐘，置 36 °C 培養 2 到 4 小時。於無菌操作台取一瓶套組所附 SC (selenite cystine) 培養液加入鐵胃袋中，繼續於 42 °C 培養 18 到 24 小時。取 120 μl 培養液加入套組所附測試卡的圓形小孔中，計時 15 分鐘，觀察在套組測試卡 C 端和 T 端是否出現沉澱線。C 端和 T 端均出現沉澱線表示陽性反應，若只有 C 端出現沉澱線，表示陰性反應。

### 4. 腸炎沙門氏桿菌(*Salmonella enteritidis*; SE)之檢測

將套組所附 4.5 ml 碘化鉀溶液及 2.25 ml BG (brilliant green) 溶液加入 218 ml Tetrathionate broth，混合均勻，加入鐵胃袋中。於無菌操作台稱取苜蓿芽 25 g 至鐵胃袋中，以鐵胃機 (SEWARD STOMACHER 400) 200 rpm 攪拌 2 分鐘，置 36 °C 培養 20 到 24 小時。取 2ml 培養液到試管中，水浴煮沸 15 分鐘。冷卻後取 120 μl 培養液加入套組所附測試卡的圓形小孔中，計時 15 分鐘，觀察在套組測試卡 C 端和 T 端是否出現沉澱線。C 端和 T 端均出現沉澱線表示陽性反應，若只有 C 端出現沉澱線，表示陰性反應。

## 結果與討論

表一結果顯示，基隆和台北苜蓿芽不符合「生食用食品類衛生標準」的每公克中生菌數十萬( $10^5$  CFU/g)以上的比例佔 95.5%，與葉<sup>(10)</sup>的 93.8% 相近。合格比率 4.5%，總生菌數範圍在  $10^4$  -  $10^5$  CFU/g。大腸桿菌群方面有一件(4.5%)未檢出， $10^2$  到  $< 10^3$  佔 9.1%， $10^3$  到  $< 10^4$  佔 31.8%， $10^4$  到  $< 10^5$

佔 31.8%， $\geq 10^5$  佔 22.7%。由表一中與葉<sup>(10)</sup>的比較可發現大腸桿菌群的檢出範圍降低很多，顯示生產苜蓿芽的環境衛生已稍有改善，但是仍與衛生標準規範的 10 MPN 差距很大。

基隆及台北苜蓿芽中不同微生物檢出百分比如圖一。大腸桿菌群和沙門氏桿菌的檢出率分別是 95.5 和 72.7%，「生食用食品類衛生標準」規定大腸桿菌和沙門氏桿菌均應為陰性，所以沙門氏桿菌的檢出率即為不合格率。而大腸桿菌以及致病性腸炎沙門氏桿菌則均呈陰性。根據葉<sup>(10)</sup>報告指出基隆與台北苜蓿芽種子污染沙門氏桿菌比率為 29.4%，而圖一顯示污染比率為 72.7%，顯示污染不只來自種子，在培育生長、收穫、加工、貯存、運送途中也可能受到污染<sup>(4)</sup>。由此可知只遵循美國藥物食品管理局 (FDA) 在 1999 年的要求對每一批芽菜的灌溉孵育用水做檢測，種子做消毒，並遵循良好農業作業規範來操作<sup>(9)</sup>，似乎仍嫌不足，對最終市售產品的監測檢驗應列為重點。雖未檢出致病菌，但是整體菌數及衛生指標菌均超出法規限量甚多，顯示基隆及台北苜蓿芽仍暴露在危險中。

比較傳統市場和超市苜蓿芽總生菌數和大腸桿菌群的菌數範圍如表二。總生菌數方面，傳統市場苜蓿芽不合格率 100%，菌數範圍在  $10^7$ - $10^9$  CFU/g。超市稍好，但也有 93% 不合格，菌數範圍在  $10^4$ - $10^8$  CFU/g。超市苜蓿芽衛生狀況優於傳統市場。根據先前報告指出，在一般零售商店的芽菜菌數可能高達  $10^9$  CFU/g<sup>(13)</sup>。傳統市場苜蓿芽大腸桿菌群檢出率 100%，菌數範圍在  $10^3$ - $10^5$  CFU/g，而超市有 93% 檢出率，菌數範圍在  $10^2$ - $10^5$  CFU/g。有一個樣品未檢出，顯示販售環境和條件對苜蓿芽衛生狀況有影響。超市由於有較佳的陳列環境和溫度控制，所以衛生狀況較佳，檢測結果也較好。值得一提的是有一超市樣品總生菌數低於  $10^5$  CFU/g 且大腸桿菌群也未檢出，顯示已有業者注意到苜蓿芽之衛生狀況而加以處理。

傳統市場和超市苜蓿芽中不同微生物的檢出率如圖二。大腸桿菌及腸炎沙門氏桿菌均為未檢出，但是其他檢出率均偏高。傳統市場和超市總生菌數檢出率分別為 100%，93%。大腸桿菌群亦分別為 100%，93%。沙門氏桿菌的檢出率分別為 71%，73%。由檢出率顯示除了指標菌大腸桿菌群和大腸桿菌外，沙門氏桿菌也可以考慮作為苜蓿芽的污染指標菌。這也可由 FDA 在 1999 年的指導規範中規定要檢測孵育用水中的沙門氏桿菌和大腸桿菌 O157:H7 獲得佐證。

本調查研究顯示，近幾年來基隆及台北地區的首蓿芽微生物品質狀況有改善，但是離衛生單位所規範的衛生標準仍有一段距離。首蓿芽的食用安全仍需繼續加強及關注。



### 參 考 文 獻

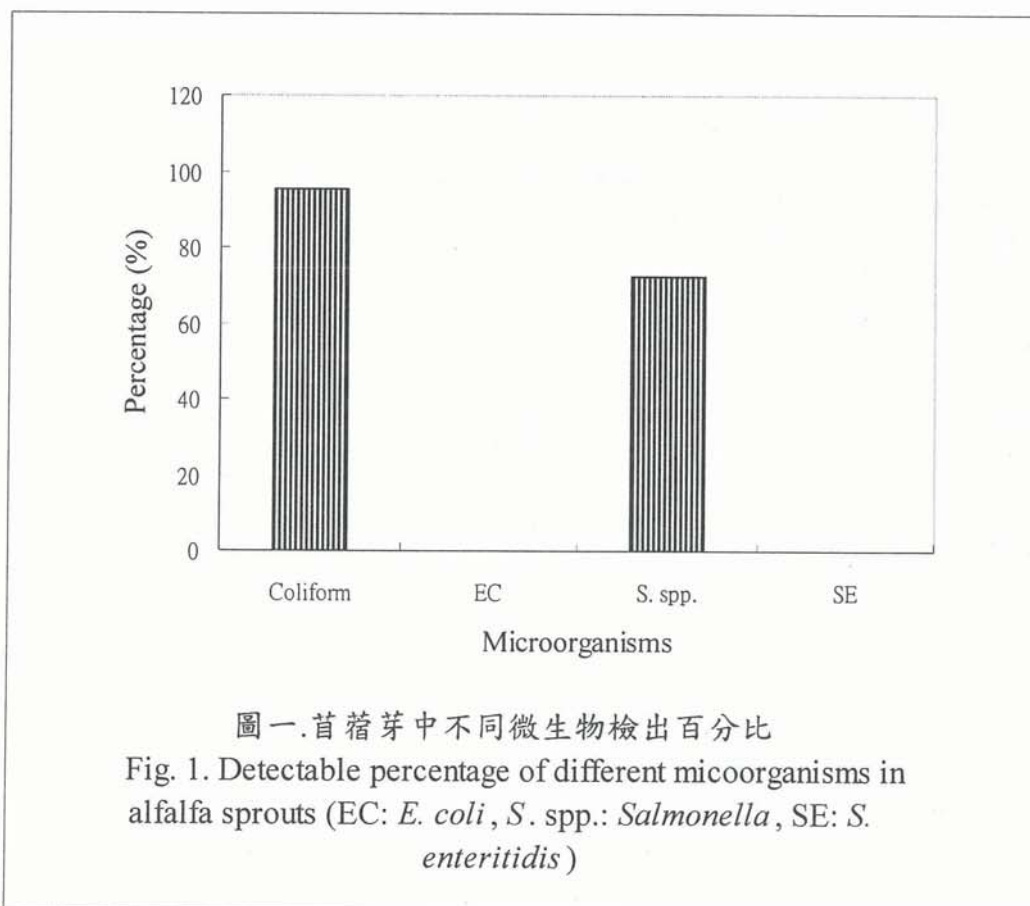
1. 行政院衛生署: 91 食品中毒發生狀況，台北市。
2. 行政院衛生署: 81.8.26. 衛署食字第 8143635 號公告修正“生食用食品類衛生標準”。
3. Beuchat, L. R. 1997 Comparison of chemical treatments to kill *Salmonella* on alfalfa seeds destined for sprout production. *Int. J. Food Microbiology*, 34: 329-333.
4. Mahon, B. E., Ponka, A., Hall, W. N., Komatsu, K., Dietrich, S. E., Cage, A., Siitonen, G., Hayes, P. S., Lambert-Fair, M. A., Bean, N. H., Griffin, P. M. and Slutsker L. 1997 An international outbreak of *Salmonella* infections caused by alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. *J. Infect. Dis.*, 175: 876-882.
5. Taormina, P. J., Beuchat, L. R. and Slutsker, L. 1999 Infections associated with eating seed sprouts: an international concern. *Emerg. Infect. Dis.*, 5: 626-634.
6. Como, K. S., Reagan, S., Allaire, S., Parrott, K., Simonds, C. M., Hrabowy, S., Ritter, B., Hall, W., Altamirano, J., Martin, R., Downes, F., Jennings, G. Barrie, R., Dorman, M. F., Keon, N., Kucab, M., Al-Shab, A., Robinson, D. B., Dietrich, S., Moshur, L., Reese, L., Smith, J., Wilcox, K., Tilden, J., Wojtala, G., Park, J. D., Winnett, M., Petrilack, L., Vasquez, L., Jenkins, S. Barrett, E., Linn, M., Woolard, D., Hackler, R., Martin, H., McWilliams, D., Rouse, B., Willis, S., Rullan, J., Miller Jr., G. Henderson, S., Pearson, J., Beers, J. Davis, R. and Saunders, D. 1997 Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with eating alfalfa sprouts. *MMWR*, 46 (32): 741- 744 .
7. Yvonne, T. H. P. D., Widdowson, M. A., Carolien, M., Teresa, F., Sabine, N., Winette, B., Wim, J. B. W., Jan, A. K., Henk J. M. R. and Wilfrid P. 2002 *Salmonella enterica* serotype Enteritidis phage type 4b outbreak associated with bean sprouts. *Emerg. Infect. Dis.*, 8 (4): 440-443.
8. Pan, T. M., Wang, T. K., Lee, C. L., Chien, S. W. and Horng C. B. 1997 Food-borne disease outbreaks due to bacteria in Taiwan, 1986 to 1995. *J. Clin. Microbiol.*, 35 (5): 1260-1262.
9. U.S. Food and Drug Administration 1999 Guidance for industry: reducing microbial food safety hazards for sprouted seeds and guidance for industry: sampling and microbial testing of spent irrigation water during sprout production. *Fed. Regist.*, 64: 57893-57902.
10. 葉全益 2001 市售苜蓿芽及苜蓿種子之微生物調查。台灣農業化學與食品科學 39 (3): 246-249。
11. Curiale, M. S. and Fahey, P. 1989 Dry rehydratable film for enumeration of coliforms and aerobic bacteria in dairy products: Collaborative Study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 72 (2): 312-318.
12. Curiale, M. S., Son, T. and Mciver, D. 1991 Dry rehydratable film for enumeration of total coliform and *Escherichia coli* in foods. Collaborative Study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 74 (4): 635-648.
13. Prokopowich, D. and Blank, G. 1991 Microbiological evaluation of vegetable sprouts and seeds. *J. Food Prot.*, 54: 560-562.

表一. 苜蓿芽中微生物的分佈情形

Table 1. Microbial distribution of alfalfa sprouts

Microorganisms	Percentage of samples in the following range(%)					
	ND	10 to < 10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> to < 10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> to < 10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> to < 10 <sup>5</sup>	≥ 10 <sup>5</sup>
Total count	0.0	0.0	0.0	0.0	4.5	95.5
	6.2 <sup>1</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	93.8
Coliform	4.5	0.0	9.1	31.8	31.8	22.7
	6.7 <sup>1</sup>	0.0	0.0	6.7	13.3	73.3

1: The value were adopted from reference 10



圖一.苜蓿芽中不同微生物檢出百分比

Fig. 1. Detectable percentage of different microorganisms in alfalfa sprouts (EC: *E. coli*, S. spp.: *Salmonella*, SE: *S. enteritidis*)

表二. 傳統市場和超市苜蓿芽中總生菌數和大腸桿菌群的範圍

Table 2. Detection range of total bacteria count and coliform of alfalfa sprouts in local markets and supermarkets.

Places	No. of samples	Range of microbial count (log CFU/g)	
		Total bacteria count	Coliform
Supermarket	15	4.6 – 8.8 (93) <sup>1</sup>	ND – 5.8 (93) <sup>2</sup>
Local market	7	7.2 – 9.0 (100)	3.4 – 5.8 (100)

1: Number in parentheses indicate percentage of samples that did not meet the requirement of “Sanitary Standard for Raw-eaten Food”.

2: Number in parentheses indicate percentage of positive samples

