

# 【2021 全國科學探究競賽-這樣教我就懂】

## 高中（職）組成果報告表單

**題目名稱：**攜菜帶菌~探討洗菜時間和購買來源對葉菜表面生菌數的影響

### 一、摘要：

每個人都吃過蔬菜，也有很多人認為吃生菜沙拉更為健康。但怎樣的生菜才叫做乾淨可食呢？本研究旨在設計實驗來探討茼蒿和萵苣的沖洗時間長短、以及不同購買來源，對葉菜表面生菌數量的影響。初步結論為沖洗 5 分鐘可以減少茼蒿葉表面一半以上的細菌量，且不同購買來源之茼蒿葉菜原始生菌數有差異趨勢。但同一購買來源的菌數差異大，不能明確說出超市的葉菜菌數就顯著較少。

### 二、探究題目與動機

平常在家看媽媽洗菜，都開著水龍頭在沖菜，沖的時間也很久，但是和同學討論時發現每個媽媽沖水的時間都不一樣。上網查如何洗菜才會比較乾淨，發現網站上寫洗 5~10 分鐘是最好的。我們也詢問一些老師，發現大多數人對於「洗乾淨」的定義相當模糊，也有人提出自來水內本來就有細菌的看法。新聞不時出現食品、飲料抽驗生菌數超標的報導，但平常我們對於洗菜，或是洗生菜和一般要煮的菜的洗菜時間，多是長輩教導的經驗值傳承，鮮少有人真的去了解生菜洗過之後，細菌數多寡是否有改變。因此，為了找出這個問題的答案，我們設計一個初步的實驗想要了解到底生菜經過沖洗後，上面的細菌量有多少。

### 三、探究目的與假設

目的(一):比較不同浸泡沖洗時間生菜的葉表面細菌數

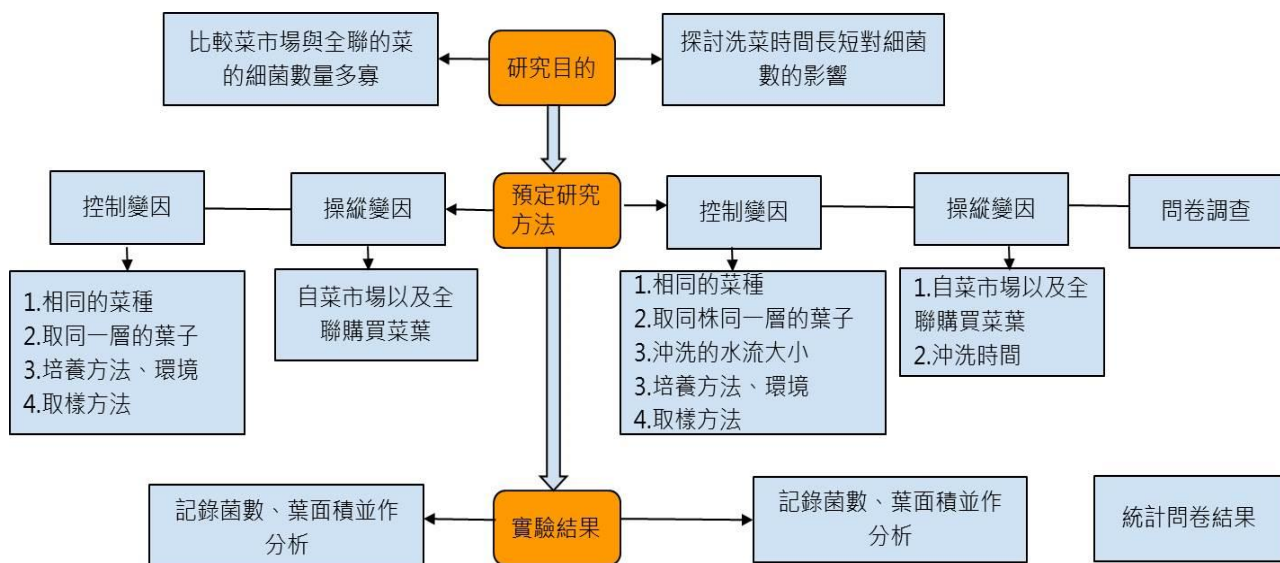
目的(二):比較菜市場與全聯購買之相同生菜葉表面細菌數

假設(一):浸泡沖洗時間越長，生菜的葉表面減少之菌數越多

假設(二):全聯購買之生菜葉表面細菌數少於菜市場購買之相同生菜葉表面細菌數

### 四、探究方法與驗證步驟

#### 一、實驗說明:



## 二、實驗器材:

菜市場紅葉萵苣、全聯萵蒿、菜市場萵蒿、3吋無菌棉花棒、自來水、高壓消毒滅菌鍋、小離心管、生長箱、剪刀、L型玻棒、燒杯、微量吸取器、95%酒精、打火機、酒精燈、計時器、LB 培養基

## 三、實驗步驟與探究:

### (一)葉表面菌數計算測試:

#### 1.採取面積的原因

根據衛生署公布之固態檢體的食品生菌數檢測方法，是要把檢體切碎，其生菌數的單位為 CFU/g 或 MPN/g。但是我們認為洗菜主要影響葉表面，故進行紅葉萵苣葉表面採檢步驟測試(以棉花棒沾無菌水塗抹整片或部分葉面，再均勻塗於培養基上，待預計時間後計算菌落的顆數)。

#### 2.稀釋倍率的測試

從測試結果我們發現無論是整片或半片葉片取樣、培養時間從 6、19、24 小時，菌落都黏在一起無法計算(圖 1)。因此以菜市場購買之萵苣，進行整片葉面積取樣菌的系列稀釋，以找出適合計算菌落數之稀釋倍率。稀釋倍率分為  $10^1$ 、 $10^2$ 、 $10^3$ ...至  $10^7$  倍。



圖 1:萵苣沖洗五分鐘後取樣

#### 3.菜葉表面積的計算方式

一開始使用手描秤重，利用比例來算出面積(葉子在紙上的重量\*半徑為 2cm 的圓形面積/此圖的重量=葉的表面積)。但真正實作後我們覺得不太容易描和剪，因此就找了一個電腦計算面積的軟體(將葉片攤平貼於白紙上，放一支尺於紙張旁，再拍照匯入 imageJ 軟體計算面積)(圖 2 圖 3)。計算比較方便且算出的結果跟手描的一樣(表 1)，之後的實驗也都是用這種方法計算。



圖 2:萵蒿計算面積



圖 3:萵苣計算面積

表 1: 面積計算方式比較

樣本	紙片秤重 比例計算 葉面積 cm <sup>2</sup>	imageJ 拍照計算 cm <sup>2</sup>
1	38.27	38.30
2	32.92	32.92
3	57.75	57.74

## (二)洗菜方式與時間問卷調查

我們總共發放 36 份問卷給校內老師。問卷內容調查性別、年齡、認為洗菜如何洗乾淨的方式、認為洗菜所需的時間、以及生吃或會烹煮的菜清洗時間比較的問題。

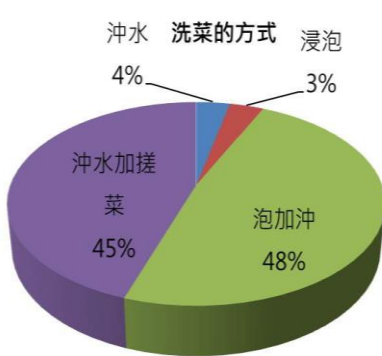


圖 4:洗菜方式調查

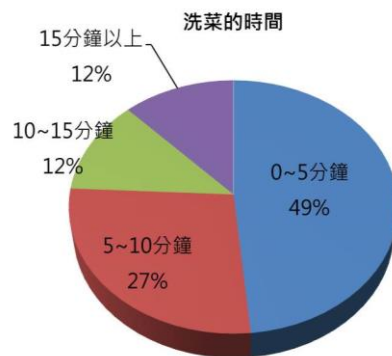


圖 5:洗菜時間調查

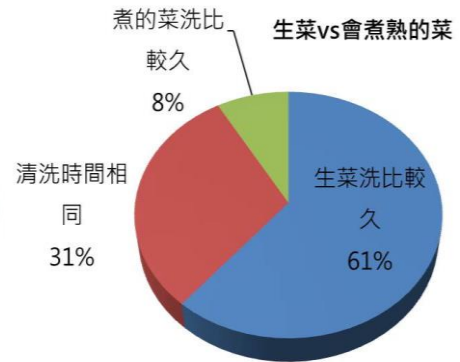


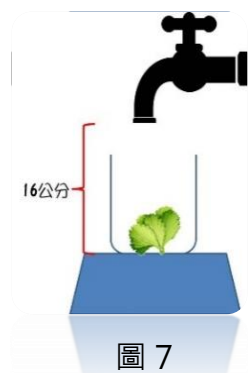
圖 6:生菜與會烹煮的菜

根據問卷結果，發現到大部分人對於洗菜方式，都是泡 + 沖，或是沖水 + 搓洗兩種方式。口頭詢問的結果多數人認為流動的水可以將髒東西沖走。根據圖 5 約有一半的老師認為洗菜時間低於 5 分鐘，有近 4 成的老師認為 5~15 分鐘之間。

## (三)洗菜時間對於葉表面生菌數的影響

### 1.研究方法

- (1)實驗前皆須將所需的器材經過高壓滅菌後再使用。
- (2)於旗山菜市場購買常見的生菜沙拉原料:紅葉萵苣。本實驗進行三次重複(三株萵苣)。
- (3)取樣時葉柄基部有明顯的土，故擦拭後，從葉柄基部 3 公分剪掉不取樣。
- (4)利用棉花棒沾無菌水後，塗抹整片葉子上表皮。
- (5)將取樣完之棉棒沾入裝有 1000 $\mu$ l (1ml)無菌水的小離心管內，上下抖動 20 下成為原菌液。
- (6)將原菌液稀釋 1000 倍與 10000 倍後，以微量吸取器吸取 50 $\mu$ l 於 LB 培養基上，用過火冷卻之 L 玻棒塗勻。過火 L 玻棒為 L 玻棒先置於 95% 酒精中，取出後以火焰燃燒玻棒進行滅菌，待冷卻(至少 30 秒)再進行塗盤。
- (7)以微量吸取器吸取同一水龍頭之自來水 50 $\mu$ l 於 LB 培養基上，用過火冷卻之 L 玻棒進行塗盤，作為對照組。
- (8)置於 35 度生長箱中過夜(17 小時)。
- (9)將同株同層，但不同片之葉子，分別沖洗 0、5、10、15 分鐘後，以上述方式採樣稀釋塗菌。沖水定義為將葉片至於燒杯底部(以玻棒壓住)，打開水龍頭至底並開始計時，燒杯水滿出仍繼續計時，直到預計時間關水，再將葉子甩乾後取樣(圖 7)。並利用碼錶與量筒計算水龍頭沖水之流速。
- (10)以照相並匯入 imageJ 的方式計算葉表面積。並以稀釋後之菌落數回推，原菌液之菌落數。計算公式為:(稀釋後之菌落數/0.05)\*稀釋倍率。



## 2.實驗結果與數據

### (1)水流流速計算




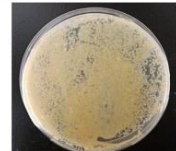




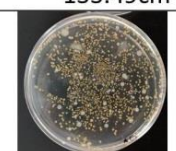
我們所用的水龍頭為省水水龍頭。總共測量八次，沖水水流速平均為 35.70ml/秒。

### (2)菜市場紅葉萵苣

表 2:菜市場萵苣沖水時間與生菌數變化

菜市場紅葉萵苣 沖水時間長短	5分鐘	10分鐘	15分鐘
CFU/葉面積cm <sup>2</sup>			
A	2205.39	1786.24	2868.05
B	278.73	1048.80	16080.23
C	42922.74	981.93	110.89
自來水CFU/1ml	20		

表 3:菜市場萵苣不同沖水時間原菌液培養基

沖水	0分鐘(未稀釋)	5分鐘(未稀釋)	10分鐘(未稀釋)
A			
葉面積	143.27cm <sup>2</sup>	172.31cm <sup>2</sup>	111.97cm <sup>2</sup>
B			
葉面積	151.96cm <sup>2</sup>	143.51cm <sup>2</sup>	133.49cm <sup>2</sup>
C			
葉面積	107cm <sup>2</sup>	140.25cm <sup>2</sup>	162.95cm <sup>2</sup>

從實驗結果，我們發現紅葉萵苣三次沖水結果變化差距極大(表 2)。然觀察 0 分鐘跟 5 分鐘之菌盤生長狀況，粗略可以發現菌落數量有減少。而原本以為自來水會貢獻很多細菌，結果發現自來水的菌落顯著低於生菜葉。從 0 分鐘~5 分鐘的菌落照片(表 3)，可看出即使葉面積較大，沖水五分鐘過後菌落數仍有減少。

我們開始進行探究時已經是 2 月底 3 月初，萵苣的習性不耐乾燥也不能太濕，適合生長在涼爽的環境下(約 16°C~20°C)。由於南部溫度偏高，導致我們旗山美濃到三月之後，農家已經不太種植紅葉萵苣，多次尋覓不到全聯萵苣，而萵苣目前在我們這個地區供應量充足，因此我們使用萵苣來接續實驗。

### (3)萵苣

表 4:全聯萵苣沖水時間與生菌數變化

全聯萵苣 沖水時間長短	0分鐘	5分鐘	10分鐘	15分鐘
CFU/葉面積cm <sup>2</sup>				
A	453.09	37.22	386.86	0
B	1451.02	231.40	34.46	11.46
C	252.01	59.74	40.37	81.06
自來水CFU/1ml	20			

表 5: 全聯萵苣沖水時間與生菌數變化百分比

全聯萵苣 葉表面生菌數 百分比%	0分鐘	5分鐘	10分鐘	15分鐘
A	100	8.21	85.38	0
B	100	15.95	2.37	0.79
C	100	23.71	16.02	32.17
平均		15.96	34.59	10.98
標準差		7.75	44.51	18.35



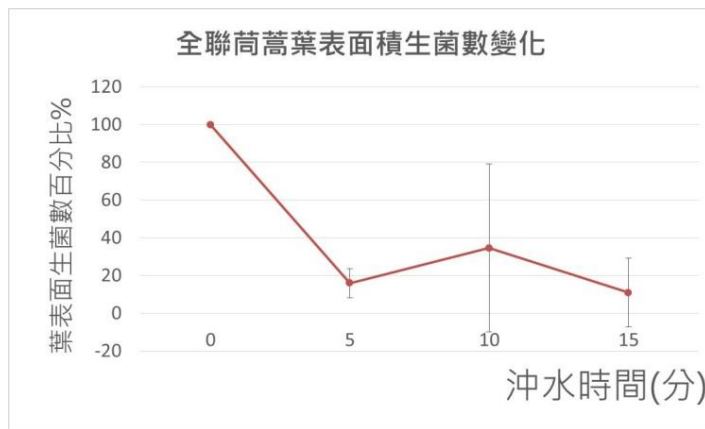


圖 8: 全聯茼蒿葉表面平均生菌數變化百分比

根據實驗初步結果，我們發現在沖洗 5 分鐘後，細菌量明顯的下降(表 4)，而 BC 組菌落數從 0~10 分鐘皆有下降的趨勢。以 0 分鐘(未沖水)做為基準將表 4 的數據化成葉表面生菌數百分比(表 5、圖 8)更可以明顯看出。因此我們由數據初步推論 5 分鐘的洗菜時間，便可以有效減少茼蒿葉表的細菌量。

### 3.討論

進行三個重複，實驗結果變化都很大，我們思考影響實驗結果的操作步驟，推測有兩個可能的原因。第一，紅葉茼蒿葉子有許多裂葉和立體皺褶，在取樣時我們雖然盡量將菜葉攤平，棉花棒使用同個角度去塗抹，但可能有些非常皺的地方沒有塗到。第二，在稀釋過程中 1ml 只吸取 50 $\mu$ l (0.05ml)。雖然吸取前我們都有利用手進行搖晃均勻，但可能實際上均勻度不夠，造成取到細菌量較多或較少的地方。

#### (四)不同來源之茼蒿的生菌數比較

##### 1.研究方法:

- (1)分別以全聯茼蒿與菜市場茼蒿作為樣本。取樣方式同實驗(三)1.~5.步驟。
- (6)根據之前實驗調整，將原菌液稀釋 100 倍與 1000 倍
- (7)~(10)步驟同實驗三。

##### 2.實驗結果與數據

圖 9:不同來源茼蒿葉表面生菌數

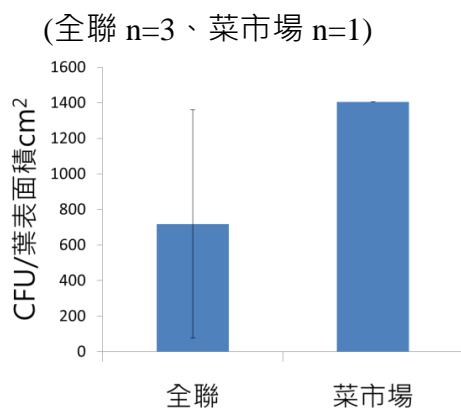


表 6: 不同來源茼蒿葉表面生菌數測量

全聯茼蒿	CFU/葉面積cm <sup>2</sup>	菜市場茼蒿	CFU/葉面積cm <sup>2</sup>
A	453.09	A	即使稀釋還是長太多
B	1451.02	B	1404.98
C	252.01	C	即使稀釋還是長太多
平均	718.71		
標準差	642.13		

由圖表可看出，即使是同一包全聯購買之不同株茼蒿菜葉，其每平方公分葉表面之菌落數還是有顯著差異。然而菜市場的茼蒿有兩個樣本，是取樣稀釋到 1000 倍仍因菌落過多長成一片而無法計算。從實驗結果，推論菜市場的茼蒿葉表面積生菌數有較全聯購買為多的趨勢。

### 3.討論

我們觀察到，菜市場買到的菜上面多少都有些土，可能是因為土耕且菜農通常都是採收之後就直接賣了。而全聯裝袋的茼蒿可能是因為他們買到菜之後，會先經過沖洗或浸泡的處理，再放到架上賣，或是原本就是水耕蔬菜，因此菜市場茼蒿之平均菌落數較全聯茼蒿多。

然而我們最一開始進行實驗測試的時候，我們有買到過全聯的茼蒿。由於茼蒿本身葉緣裂葉較多，加上立體的皺褶，其菌落亦長滿整片培養基。故我們認為，葉菜本身的形狀跟特性也會影響實驗結果，並非全聯購買的蔬菜生菌數一定比菜市場購買的蔬菜較少。這部分還可以進行更進一步多種蔬菜的實驗來驗證。

## 五、結論與生活應用

根據我們實驗結果，我們得到的結論是：

(一)浸泡沖洗時間和茼蒿葉表面減少之菌數並沒有呈現正比關係。根據實驗結果，在水龍頭開到底的狀態下，洗菜時間 0~5 分鐘能夠減少原本菜葉上細菌量一半以上。

(二)全聯購買之茼蒿葉表面細菌數，有少於菜市場購買之相同茼蒿葉表面細菌數的趨勢。然全聯所購買的茼蒿葉表面生菌數個體差異大。

根據我們茼蒿與茼蒿的數據和測試實驗過程的觀察，越多皺褶的葉菜類，越會卡一些細細的砂土(例如茼蒿之裂葉比茼蒿複雜)，而砂土內存在許多細菌，故無論是從哪裡買的菜葉，即使看似乾淨的超市，還是要將菜上的細土沖洗乾淨。我們建議使用省水的噴灑式水龍頭，開到最大的情況下，洗菜時間約 5 分鐘便可以節省又有效的方式去洗菜。畢竟台灣南部這幾年春天常處於缺水的狀況，今年尤其嚴重，洗菜的時間大可不必拉的過長而導致浪費水的現象。

## 參考資料

1. 教育部高中生物科學資優生培育計畫高雄區 微生物學實驗

<http://www2.nsysu.edu.tw/Bio/images/commen/microbio-ex10011.pdf>

2. 食品微生物之檢驗方法 - 生菌數之檢驗 102 年 9 月 6 日部授食字第 1021950329 號公告修正

<https://is.gd/qR27Z3>

3.衛生福利部發布訂定「食品中微生物衛生標準」。建檔日期：109-10-06

<https://www.mohw.gov.tw/cp-16-55918-1.html>

4. CFU 與 MPN 的差異比較

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