全國高級中等學校109學年度農業類學生技藝競賽
食品檢驗分析職種-食品微生物術科解答卷

說明：食品微生物術科題目共分五大題。第一大題為不需實作的筆試；其餘四大題須配合實作將答案書寫於對應的答案卷上。評判委員考察選手實作與選手寫在答案卷上的觀察紀錄、計算與回答，合計共100分。

第一大題：請於術科答案卷上回答下列問題。(20 分)

1. 接種鉤的殺菌方法及條件？ (2 分)(出處：復文食品微生物實習 I，第 28~29 頁)
   答： 接種鉤可利用火焰殺菌：在本生燈或酒精燈焰中加熱至紅。

2. 載玻片的殺菌方法及條件？ (2 分)(出處：復文食品微生物實習 I，第 29 頁)
   答： 載玻片可利用火焰殺菌：浸 95%酒精後燃燒，無須加熱至紅。

3. 玻璃培養皿的殺菌方法及條件？ (2 分)(出處：復文食品微生物實習 I，第 29 頁)
   答： 玻璃培養皿殺菌可利用乾熱滅菌法：170℃下 1 小時或 160℃下 2 小時。

4. 含血清或抗生素之液體培養基的除菌方法及條件？ (2 分)
   答： 含血清或抗生素支液體培養基除菌可利用物理方法如過濾、吸附法等移除雜菌以達無菌狀態。例如用先行滅菌處理過之小口徑濾膜過濾器（孔徑 0.22-0.45 μm）抽氣過濾。(出處：復文食品微生物實習 I，第 26-27 頁)

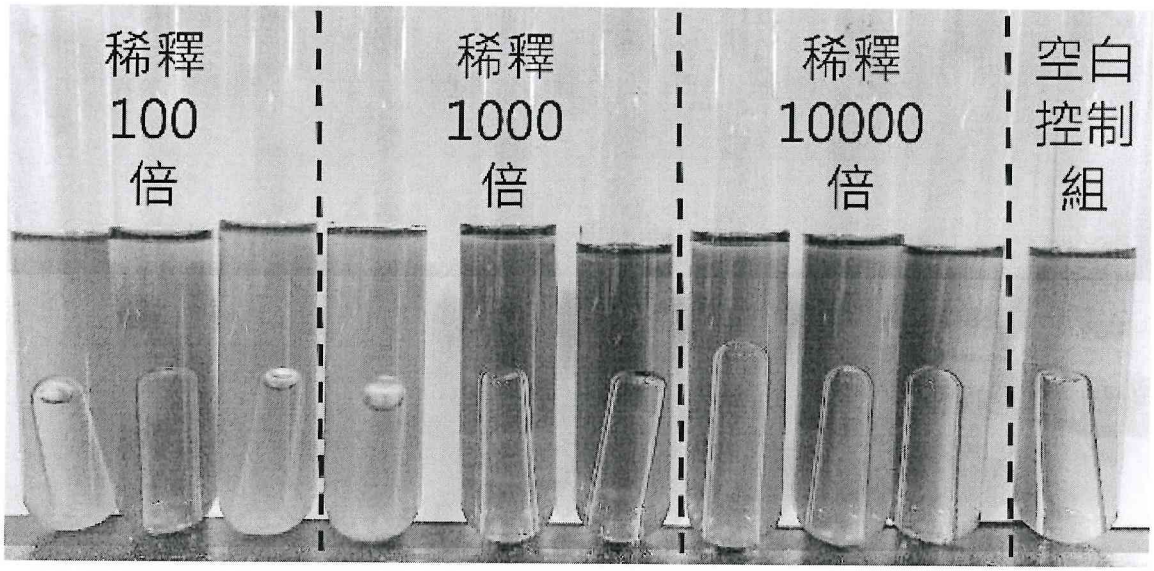
5. 送風式無菌無塵操作枱其工作枱面之殺菌方法及條件？ (2 分)
   答： 送風式無菌無塵操作枱操作前先開紫外燈 10-20 分鐘，次以浸 70-75%酒精之消毒棉擦拭工作枱面。(出處：復文食品微生物實習 I，第 27~28 頁)

6. 酵母菌之孢子形成之環境因素有哪些？ (四個因素，每個 0.5 分，合計 2 分)
   答： 6.1 培養基成分
   6.2 溫度
   6.3 空氣的環境
   6.4 水的環境 (出處：復文食品微生物實習 II，第 34 頁)

7. 酵母菌孢子染色結果的顏色？酵母菌細胞染色結果的顏色？ (4 分)
   答： 7.1 酵母菌孢子染色所用之染劑是 品紅石炭酸
   7.2 酵母菌孢子染色結果為 紅 色
   7.3 酵母菌細胞染色結果為 無 色
   7.4 酵母菌之孢子形狀為 圓形 (出處：復文食品微生物實習 II，第 34 頁)

全國高級中等學校
109學年度
競賽委員會
(甲)
農業類學生技藝競賽

8. 請參考提供的 BGLB broth 確定實驗培養結果照片及最確數表，估算原有樣品的大腸桿菌群之最確數？ (4 分) (出處：復文食品微生物實習 II，第 146~148 頁)
照片結果如下：



正反應試管數			最確數 (MPN/mL)	正反應試管數			最確數 (MPN/mL)	正反應試管數			最確數 (MPN/mL)
0.1*	0.01	0.001		0.1	0.01	0.001		0.1	0.01	0.001	
0	0	0	<3.0	2	0	0	9.2	3	1	0	43
0	0	1	3.0	2	0	1	14	3	1	1	75
0	1	0	3.0	2	0	2	20	3	1	2	120
0	1	1	6.1	2	1	0	15	3	1	3	160
0	2	0	6.2	2	1	1	20	3	2	0	93
0	3	0	9.4	2	1	2	27	3	2	1	150
1	0	0	3.6	2	2	0	21	3	2	2	210
1	0	1	7.2	2	2	1	28	3	2	3	290
1	0	2	11	2	2	2	35	3	3	0	240
1	1	0	7.4	2	3	0	29	3	3	1	460
1	1	1	11	2	3	1	36	3	3	2	1100
1	2	0	11	3	0	0	23	3	3	3	>1100
1	2	1	15	3	0	1	38				
1	3	0	16	3	0	2	64				

*各階試管中所含檢體量

答：8.1 照片中的正反應試管數為__2__－__1__－__0__ (1 分)
8.2 對照最確數為_____15_____ (1 分)
8.3 將最確數還原稀釋倍數，原始樣品之大腸桿菌群最確數為__150__ MPN/mL (2 分)

全國高級中等學校 109學年度 競賽委員會 (甲) 教育部國中技藝競賽

第二大題：微生物菌種之鑑定 (20 分)

某實驗室兩天前以「營養瓊脂培養基(nutrient agar, NA)」培養「枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)」及「大腸桿菌 (*Escherichia coli*)」。因某項疏失，接菌後未能於培養皿上正確標示菌名。 (出處：復文食品微生物實習 I，第 157~158 頁)

實作部分 (10 分)

1 請查點關鍵材料：

2 實驗桌面有標示 A 及 B 兩個培養皿。將培養皿 A 及培養皿 B 之菌種分別製作抹片，利用實驗桌面上提供之「初染劑」、「媒染劑」、「脫色劑」及「複染劑」進行革蘭氏染色，以革蘭氏染色法及顯微鏡觀察判定兩株菌種分別為何。(顯微鏡對焦操作完成請留置靜待評判老師評分)

3 於術科**答案卷**上繪出所觀察到的菌體形態，並將觀察結果填寫於相關欄位，最後判定菌種。

評分標的：

1. 抹片製作與革蘭氏染色操作手法流暢度、各種藥品使用是否適當、實驗桌檯面整潔程度等，均為評分之參考依據(配分 2 分)。
2. 於答案卷繪出培養皿 A 及培養皿 B 之菌種顯微鏡觀察結果，並於相關欄位作答，培養皿 A 及培養皿 B 各 4 分(配分 8 分)。

術科答案卷解答

			配分
培養皿 A	(鏡檢繪圖區，2 分)	顯微鏡觀測倍率：400 或 1000 倍 染色結果：紫 色 菌體形態：桿菌 菌種名稱：枯草桿菌 (每格 0.5 分，共 2 分)	4
培養皿 B	(鏡檢繪圖區，2 分)	顯微鏡觀測倍率：400 或 1000 倍 染色結果：紅 色 菌體形態：桿菌 菌種名稱：大腸桿菌 (每格 0.5 分，共 2 分)	4

填充題(每格 1 分，共 10 分)

4.1 革蘭氏染色的「初染劑(primary stain)」是 赫克氏結晶紫 溶液，能使細菌著色成為 紫 色。

4.2 革蘭氏染色的「媒染劑(mordant)」是 革蘭氏碘液 ，此時菌體呈現 紫黑 色。

4.3 革蘭氏染色的「脫色劑」是 95%酒精 ，經脫色劑處理後，革蘭氏陽性菌為 紫 色，而革蘭氏陰性菌為 無 色。

4.4 革蘭氏染色的「複染劑(counterstain)」是 赫克氏番紅 溶液，經複染劑處理後革蘭氏陽性菌為 紫 色，而革蘭氏陰性菌為 紅 色。

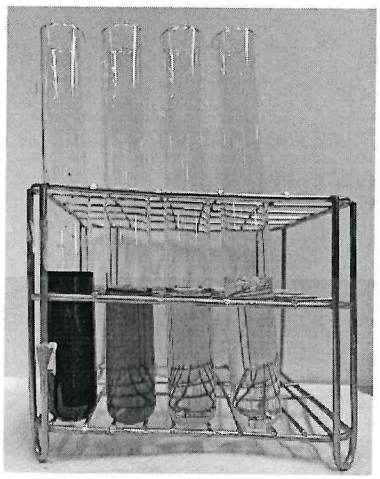
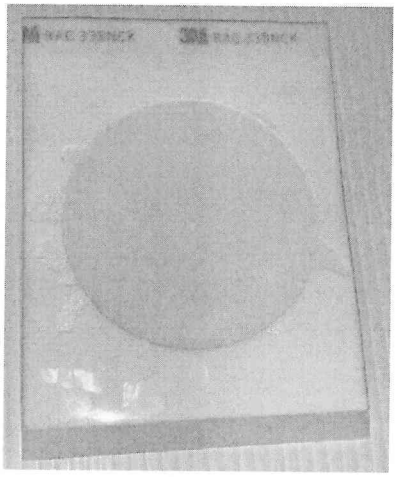
全國高級中等學校 109學年度 競賽委員會 (甲) 食品製造學生共通競賽

第三大題：總生菌數快速檢驗 (20 分)

利用快速檢驗測試片檢驗液態樣品之總生菌數
(出處：復文食品微生物實習 II，第 182~187 頁)

實作部分(10 分)

1. 請查點以下關鍵材料
2. 請利用材料製備：空白對照組(無菌稀釋液)、10 倍稀釋樣品、100 倍稀釋樣品、1000 倍稀釋樣品。(操作完成請將成品留置於試管架上靜待評判老師評分)
3. 請將稀釋好的 100 倍稀釋樣品接種於快速測定片上。
4. 工作完成後靜候評判老師檢視評分。

	
正確稀釋後色階應如照片左。原液、10 倍稀釋樣品、100 倍稀釋樣品、1000 倍稀釋樣品。(由左至右)	正確接種 100 倍稀釋樣品於快速測定片呈色應如照片右。

評分標的

	配分
1. 適當進行個人、器材及環境清潔。	2
2. 樣品稀釋處理	3
3. 接種正確體積樣品至測試片正中央	1
4. 使用壓片正確分散樣品	2
5. 操作熟練度與順暢度	2

全國高級中等學校
109學年度
競賽委員會
(甲)
食品衛生與營養
學生技藝競賽

填充題(10 分)

5. 請依模擬的培養結果估算原有樣品的總生菌數，並將答案寫在術科答案卷上。

5.1 請分別計數六個培養皿上的菌落數目，並記載於此。(4 分)

答：

	10^{-3} (A)	10^{-3} (B)	10^{-2} (A)	10^{-2} (B)	10^{-1} (A)	10^{-1} (B)
菌落計數(個)	26	28	266	233	TNTC	TNTC

5.2 請以上述計數結果計算原有樣品的總生菌數，以 CFU/mL 表示。計算過程需明列。(6 分)

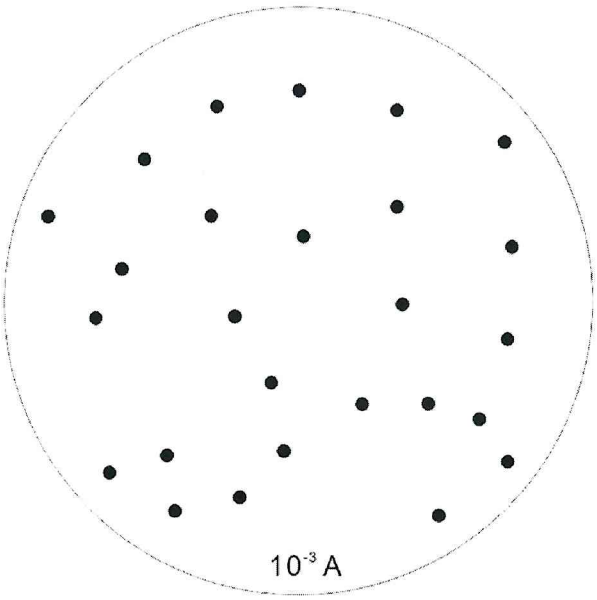
答： (26+28)/2=27　　27*1000=27000

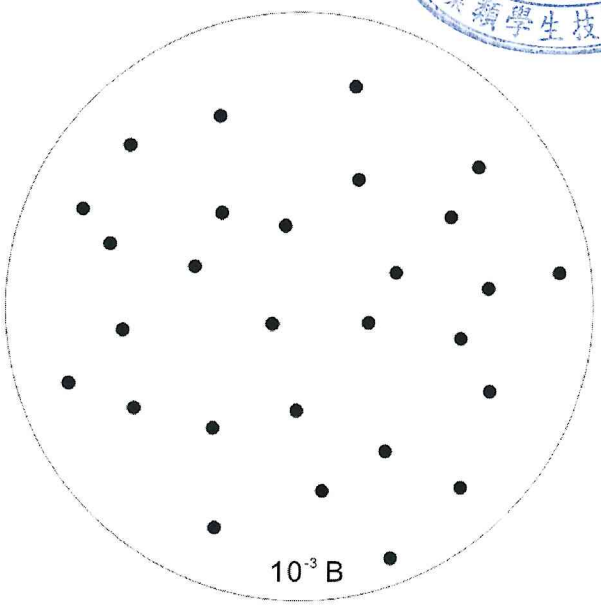
(266+233)/2=249.5　　249.5*100=24950

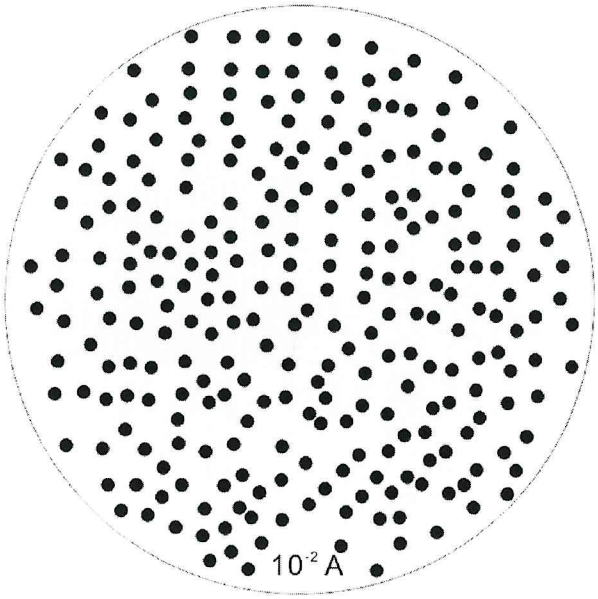
(27000+24950)/2=25975=$2.6*10^4$ CFU/mL

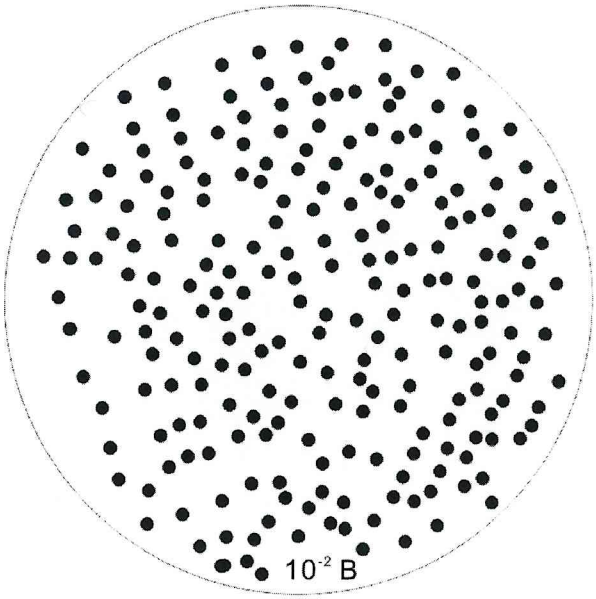
全國高級中等學校
109學年度
競賽委員會
(甲)
農業類學生技藝競賽

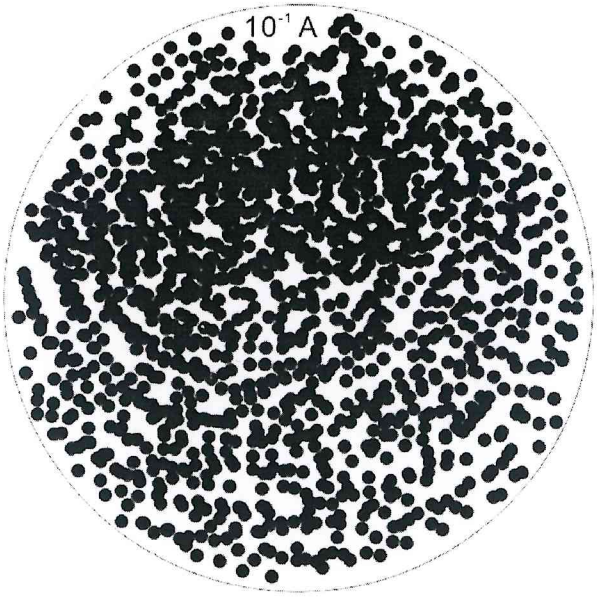
全國高級中等學校
109學年度
競賽委員會
(甲)
農業類學生技藝競賽

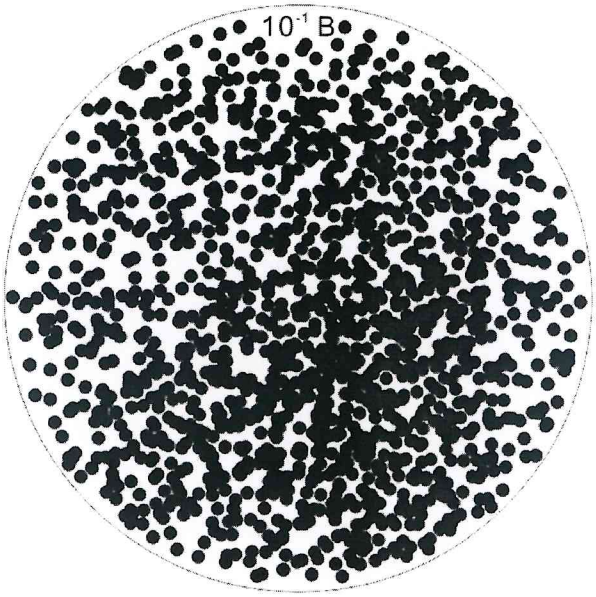












第四大題：微生物的分離與培養 (20 分)

桌上有一腐敗之肉湯樣品。請假設你的實驗桌是無菌無塵操作枱，依提示著手自肉湯樣品中分離一株具動物膠（gelatin）解膠能力之細菌。(請取得評判老師同意後開始操作)
(出處：復文食品微生物實習 I，第 99~131 頁)

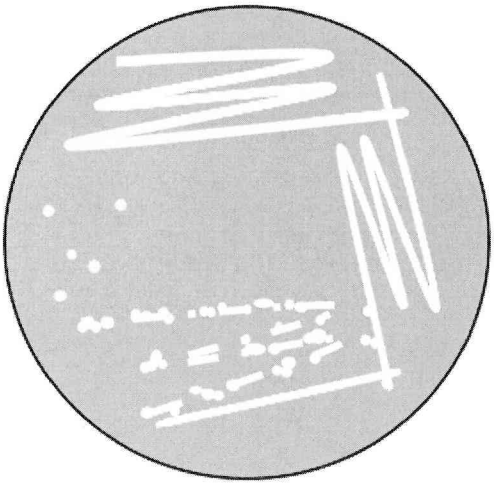
實作部分(10 分)

1 請查點以下關鍵材料

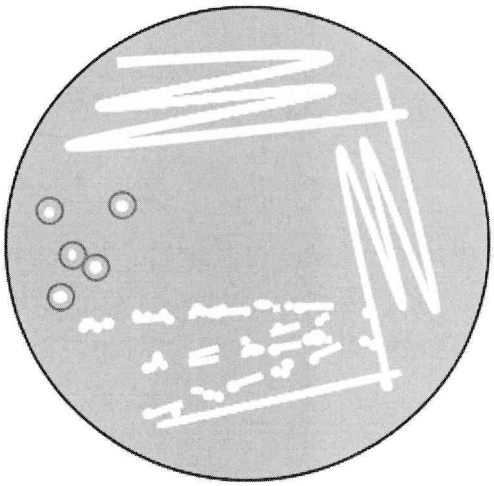
2 假設你面前的實驗桌是無菌操作台，首先用**四區劃線平板法**將肉湯樣品接種於桌上準備好的已滅菌平板培養基上。

3 答案卷上有模擬你已接種培養二天後的平板培養基圖片，從中挑選單一菌落，並以筆於答案卷上**圈選標示**。

題目



解答



紅圈內的菌落即為單一菌落

4 再模擬將該單獨菌落移植至桌上準備好的已滅菌**固體斜面培養基**上。

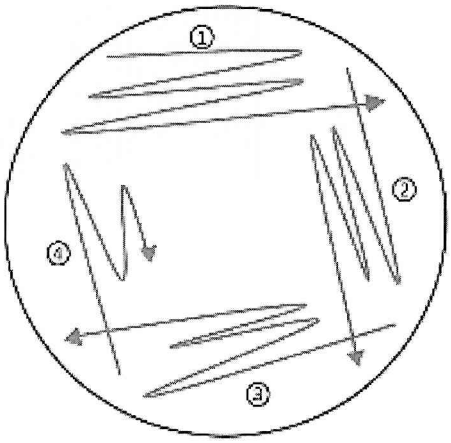
5 最後從已經培養好的模擬菌液試管中，用**穿刺培養法**接種於桌上準備好的已添加 20% 動物膠之營養肉羹培養基（NBG）。

6 培養兩天後，觀察培養基外觀變化。

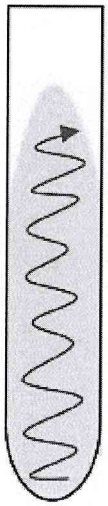
全國高級中等學校
109學年度
競賽委員會
（甲）
農業類學生技藝競賽

評分標的

名稱	評分項目	配分
	1. 適當進行個人、器材及環境清潔。 2. 操作流暢度。	2
四區劃線	1. 接種環取菌時，以前端沾到菌即可 2. 畫完一區，接種環需火焰殺菌，冷卻後再畫下一區。起始點需與前區相連 3. 避免畫破培養基	2
挑選菌落	1. 正確從答案卷圖上選取單獨菌落。	2
斜面培養	2. 以接種環從培養皿中勾取單獨菌落，以蛇行劃線接種於斜面培養基上。 3. 打開或蓋上試管蓋時，應進行火焰殺菌。	2
穿刺培養	1. 以接種工具從試管中勾取適量樣品 ，穿刺接種於以 20%動物膠營養肉羹（NBG）深層培養基試管中。 2. 打開或蓋上試管蓋時，應進行火焰殺菌。	2



四區劃線範例



蛇行畫線範例

全國高級中等學校
109學年度
競賽委員會
（甲）
農業類學生技藝競賽

問答題(10 分)

7.1 營養肉羹培養基（NB）的殺菌方法及條件？(2 分)

答： 營養肉羹培養基殺菌可用高壓濕熱滅菌法：121℃下 15 分鐘。
(出處：復文食品微生物實習 I，第 70~71 頁)

7.2 以 20%動物膠營養肉羹（NBG）深層培養基，其殺菌方法及殺菌條件如何？(2 分)

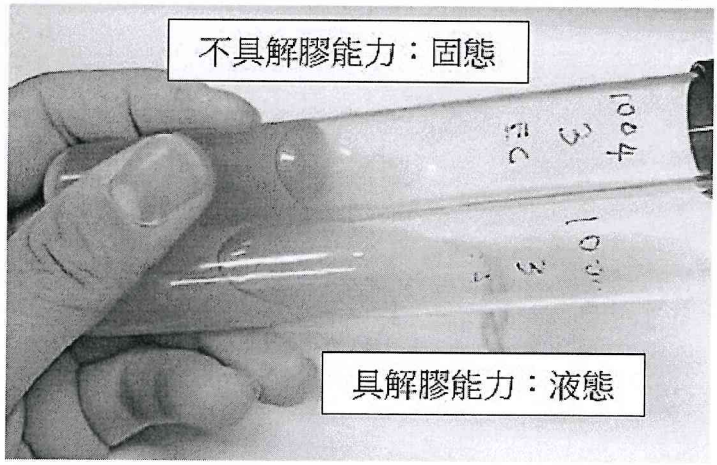
答： 動物膠營養肉羹（NBG）深層培養基殺菌可利用間歇滅菌法：100℃蒸氣加熱 30 分鐘後冷卻一天，連續做三次。(出處：復文食品微生物實習 I，第 29~30 頁)

7.3 進行畫線培養、斜面培養與穿刺培養時所使用之接種工具分別如何？(3 分)

答： 畫線培養用＿＿接種環＿＿
斜面培養用＿＿接種環＿＿
穿刺培養用＿＿接種針＿＿ (出處：復文食品微生物實習 I，第 23, 138 頁)

7.4 如何判斷該分離菌株具有分解動物膠能力？(3 分)

答： 培養過程中如觀察到固態的動物膠營養肉羹液化，可說明此菌株具有分解動物膠能力。(出處：復文食品微生物實習 I，第 136 頁)



全國高級中等學校
109學年度
競賽委員會
（甲）
農業類學生技藝競賽

第五大題：菇類的分離培養 (20 分)

利用菇類分離培養之組織(子實體)分離法技術，從生鮮香菇的子實體中分離母菌之組織。
(出處：復文食品微生物實習 II，第 88~89 頁)

實作部分(10 分)

1 請查點以下關鍵材料：
2 假設你面前的實驗桌是無菌操作台，請參考以下順序將香菇之子實體進行處理。
3 取新鮮香菇樣品浸泡酒精 30 秒至 1 分鐘。
4 以空的滅菌培養皿為切除砧板，用滅菌解剖刀切取菇傘與菇柄接觸的之菇體。
5 將切下之菇體再浸泡酒精 30-45 秒。
6 在空的滅菌培養皿上進行無菌操作，切除外表浸到酒精之組織，約剩 2-3 mm^3。
7 以滅菌接種針挑取小組織。
8 將小組織植入桌上準備好的滅菌培養基 1/2，即完成。
9 工作完成後靜候評判老師檢視評分。

評分標的

	配分
1.香菇子實體之消毒處理	2
2.切下小組織之厚度(越細越佳)	2
3.置入培養基之位置(中央)	1
4.置入培養基之深度(小組織之長度 1/2)	2
5.操作熟練度與順暢度	3

填空題(10 分)

10.1 一般菇類的構造分為 菌絲體 和 子實體 二大部分。 (2 分)
(出處：復文食品微生物實習 II，第 97 頁)

10.2 菇類的分離培養方法有哪四種？ (4 分) (出處：復文食品微生物實習 II，第 84 頁)
1. 孢子分離法 ；2. 子實體組織分離法 ；3. 菌絲分離法 ；4. 菇木分離法

10.3 浸泡酒精消毒滅菌的濃度為 70~75% (1 分)
(出處：復文食品微生物實習 II，第 88 頁)

10.4 自菇類切下要分離之組織，以下列何者為佳？ (a) (1 分)
(a) 1-2 mm^3 ， (b) 2-3 mm^3 (出處：復文食品微生物實習 II，第 89 頁)

10.5 將分離之組織置入培養箱中培養，其在最初 2-3 天長成之菌絲顏色為 白 色
(2 分) (出處：復文食品微生物實習 II，第 88~90 頁)

全國高級中等學校 109學年度 競賽委員會 (甲) 農業類學生技藝競賽