

102 年專門職業及技術人員高等考試第 2 次食品技師考試

等別：高等考試

類科：食品技師

科目：食品微生物學

一、請各寫出一個微生物的屬名，說明下列各名詞的意義及對食品的影響：

(每小題 5 分，共 20 分)

(一)Lactic acid bacteria

(二)Proteolytic bacteria

(三)Psychrotrophic bacteria

(四)Enteric pathogens

【擬答】

(一)Lactic acid bacteria

能夠代謝糖類產生乳酸的細菌，統稱為乳酸細菌 (lactic acid bacteria)。例如：乳酸桿菌屬 (*Lactobacillus*)，是一群能發酵醣類產生乳酸的桿狀細菌的總稱。多屬於微好氣或厭氣菌。由乳製品、牛乳、植物產品中分離出來，有很強的醣分解能力。是一種存在於人類體內的益生菌，可用於製造優酪乳、乳酪、德國酸菜、啤酒、葡萄酒、泡菜、醃漬食品和其他發酵食品。益生菌能夠幫助消化，有助人體腸道的健康，被視為健康食品。其他的乳酸球菌(*Lactococcus*)與部分鏈球菌屬(*Streptococcus*)都屬於乳酸細菌。

(二)Proteolytic bacteria

能夠產生及分泌蛋白質水解酶之細菌，統稱為蛋白質水解細菌(proteolytic bacteria)。例如枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)可分泌蛋白質水解酶 subtilisin 與澱粉水解酶，用於 subtilisin 製造。會造成蛋白質與澱粉食品如麵包腐敗，也是基因工程常用菌種。

(三)Psychrotrophic bacteria

各種微生物的生長與繁殖皆有其最適宜的溫度範圍，有最高生長溫度與最低生長溫度。低溫菌 (psychrotrophic bacteria)指的是最適生長溫度 20~30°C，可於 15°C 以下生長的微生物。常見低溫菌如：李斯特菌屬 *Listeria monocytogenes*，已知目前低溫冷藏鮮奶其高溫短時間(HTST)之巴斯德殺菌條件 72°C/15 秒無法殺死李斯特菌。

(四)Enteric pathogens

存在人類及動物腸道，對人類有著病原性微生物的總稱，包括細菌、真菌、寄生蟲、病毒等。在細菌性腸球菌屬(*Enterococcus*)中，對人類有著病原性的有糞腸球菌 (*Enterococcus faecalis*) 是食品受糞便污染的指標，為冷藏食品專用指標菌。

二、食品中微生物之間有加乘成長(或稱互助共生)(synergistic growth)與後繼共生(metabiotic growth)的現象，請舉例說明之。(20分)

【擬答】

(一)加乘生長或互助共生 (synergistic growth)

共生作用，指的是微生物之間的生長可以互助互利，或者微生物之間可以同時存在生長，但彼此不會幫助或阻礙各自的生長。某些微生物發酵過程需要二種微生物同時存在，其中任何一種微生物都不能單獨進行，這二種微生物彼此稱為協同微生物(synergistic microorganisms)，例如：成藍假單孢菌 (*Pseudomonas syncyanea*)單獨在牛奶中生長，只會產生淡棕色外觀，而乳酸

鏈球菌(*Streptococcus lactis*)單獨在牛奶中生長，不會產生任何的顏色，但當這二種微生物同時在牛奶中生長，則會產生淡藍色的外觀。

(二)後繼共生 (metabiotic growth)

後續共生(metabiosis)，或稱片利(偏利)共生，共存時只有單方獲利。是指在生物界中，某兩物種間的生態關係，其中一種的微生物會因這個關係而獲得生存上的利益，但是，另一方的微生物在這個關係中，並沒有獲得任何益處，但也沒有獲得任何害處，只是帶動對方去獲取利益。例如：德式酸菜製程上，需要腸膜白色念珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)與短乳酸桿菌(*Lactobacillus brevis*)的前後發酵共生，當酸菜發酵初期稱異質發酵或產氣階段，腸膜白念珠菌快速生長，代謝白菜中的糖分產生乳酸、醋酸及二氧化碳，使 pH 快速下降而能抑制革蘭氏陰性菌的生長，二氧化碳所形成的厭氧環境則可減緩白菜的褐變與維生素 C 的氧化。但腸膜白念珠菌對酸敏感性較強且世代週期較短，當發酵進入第二週後其菌數即快速下降，繼而興起的是耐酸性短乳酸桿菌，此時稱同質發酵或不產氣階段，菌體利用剩餘的碳水化合物繼續產生乳酸，將 pH 值降至 3.5 以下。

三、請分別說明熱失活 (thermal inactivation) 與冷失活 (cold inactivation) 抑制微生物生長的機制。(20 分)

【擬答】

(一)熱失活 (thermal inactivation)

污染食品的微生物可以利用加熱來控制，甚至將其殺滅。加熱滅菌的原理在使微生物的蛋白質變性，尤其是使代謝所需的酵素活性消失，稱為熱失活 (thermal inactivation)。

由加熱處理程度的不同，可決定只殺死部分或大部分 (或全部) 的微生物。前者如只將飲用牛乳中對人體有害的細菌殺滅的巴斯德殺菌法(pasteurization)，後者如罐頭加熱，將微生物完全殺滅的滅菌(sterilization)。巴斯德殺菌法一般使用的條件為 62°C、30 分鐘，現在則利用一種稱為高溫短時(high temperature short time; HTST)的方法 (72°C、8~15 秒)。滅菌的條件最少須 100°C 或以上的溫度加熱，使污染食品的微生物喪失活性甚或死滅。

(二)冷失活 (cold inactivation)

低溫儲存食品是利用冷藏溫度可降低食品媒介病原菌活性及冷凍溫度可停止其活性之原理，稱為冷失活 (cold inactivation)。微生物之代謝反應經由酵素催化，而酵素催化反應之速率則受溫度影響，溫度越低其活性越低。

農產品採收後其呼吸作用仍在進行，自我消化酵素也繼續作用，漁獲或禽畜屠體中亦有自我消化酵素進行，還有外來微生物之作用，使食品發生分解及腐敗。

由於低溫能延緩呼吸作用及食品中的化學反應及酵素反應，因此由微生物的繁殖及酵素作用所導致的腐敗，以及因油脂的氧化及變色等所引起的化學反應，皆會受到抑制。

溫度愈低，此種抑制效果就愈顯著，目前低溫處理已廣泛地被利用在食品加工、保存及流通上面。

酵素作用屬於化學反應的一種，依溫度係數(Q10)之法則，溫度愈低其分解作用愈微弱，約至 -20°C 時分解作用幾已停頓，但脂肪分解酵素於 -20°C 時，仍能緩慢發生分解作用。

四、醬油的製造包含前段與後段發酵，請說明餐與各階段發酵的微生物名稱、主要生化反應及其代謝產物對醬油品質的影響。(20分)

【擬答】

將煮過的黃豆與大麥粉以 3:2 比例混合，壓成餅狀，置於房中待黃色黴菌長滿後，將此麴餅與鹽水混合，於太陽下曝曬一段時間，再擠壓出來的液體即為醬油。

(一)前段發酵

在前段發酵中，醬醪發酵初期乳酸菌(*Lactobacillus*)生長繁殖，伴隨乳酸產生，而使 pH 值降至 5.0，其後乳酸菌菌數急劇下降。

生化反應：醣類→ 乳酸、醋酸、CO₂

(二)後段發酵

在後段發酵中，耐滲耐壓酵母菌(*Saccharomyces rouxii*)及念珠酵母菌屬(*Candida*)開始大量生長，進行酒精發酵，產生之酒精與有機酸酯化致使生成各種香氣成分。雖然發酵越久，醬油越香醇，但在醬醪初期應該避免過速的乳酸發酵或酒精發酵，因為乳酸和酒精會降低鹼性蛋白酶活性。

在發酵過程中須使乳酸發酵和酒精發酵得到適當的平衡，方可得到良好品質之醬油。

生化反應：乳酸、醋酸→ 酒精發酵、香味生成。

五、請分別說明由操作檯表面與冷凍熱狗二種檢體進行生菌數 (aerobic plate count) 檢測的前處理步驟與操作流程。(20分)

【擬答】

標準平板計數法(standard plate count, SPC)是食品檢驗中最常用來測定細菌數量的方法，將樣品打碎均質後，經一系列稀釋，再塗於滅菌的平板計數培養基(plate count agar, PCA)上培養，計算活菌菌落數的方法。因培養細菌時通常置於有氧環境下，故又稱為好氧性平板計數 (aerobic plate count, APC)。測得總平板菌落數(total plate count, TPC)，一般稱為總菌數、生菌數。並以菌落形成單位(colony forming unit, CFU)來做為計算的單位。

(一)生菌數檢測的前處理

1. 操作台表面

擦拭或洗落檢體：操作台表面需採用表面擦拭法 (swab method)，採取樣品液，從操作台隨機採取 5 個樣品，各檢體的數個部位依下述方法取得檢查樣品。

(1)進行檢體採樣時，以已滅菌的鑷子自容器取出紗布，將擦拭採樣用的金屬框(內徑 113×高度 5mm)置於個體表面，以紗布強力擦拭框內的個體表面，再將擦拭後的紗布放回原來的容器內，此時紗布所擦拭的菌數為每 100 cm² 面積的菌數。

(2)本擦拭採樣法也可應用於表面凹凸不平的調理器具或設備等的檢查，將含有 Tween 80 等界面活性劑之水溶液分裝至螺旋試管後，於 121°C 高壓滅菌 15 分鐘，接著以滅菌之棉花棒沾取此溶液後，於調理器具或設備上用力擦拭一定面積的表面，再將棉花棒放回原螺旋試管中。

2. 冷凍熱狗

凍結的檢體，則以滅菌的刀及鐵鎚切取檢體約 200g，裝入滅菌過的試樣瓶。

(二)生菌數檢測的操作流程

標準平板生菌數計數的操作步驟，包括下列幾項：

(1)採樣與前處理，如上述

- (2)樣品稀釋檢液的製備：固態者以均質機或鐵胃研磨打碎。
- (3)樣品稀釋檢液的連續稀釋：
以無菌緩衝液，以 10、100、1000、10000 倍作系列稀釋。需注意所有稀釋檢液皆要充分振搖混合均勻後才可吸出，且整個稀釋過程需於 15 分鐘內完成，避免菌體增殖而影響正確性。
- (4)平板的製備：
塗佈平板法(spread plate method)：將一系列的樣品稀釋檢液，準確吸取 0.1ml 置入已凝固的洋菜培養基表面，利用 L-型玻璃無菌塗抹棒在平板上均勻進行塗佈，菌落只生長在培養基表面，稱為塗佈平板法。
每一種稀釋檢液至少作二重複。
- (5)平板的培養：
製備完成的平板，需以倒置方式置入培養箱中培養，以避免培養基內的水蒸汽凝聚滴落在培養基表面，而影響菌落計數。至於培養的溫度、時間及需氧程度，則依所欲計數微生物的族群而有所不同。一般而言，中溫菌於 35~37°C 培養，低溫菌於 18~25°C 之間，而嗜熱菌則於 50~55°C 之間培養。
- (6)菌落的計數與樣品含菌量之計算：
菌落的計數除肉眼直接計算之外，亦可使用菌落計數器(colony counter)或暗視野(dark field)計數器輔助之。近年來，更有所謂數位影像擷取及分析系統的開發，具有自動計數菌落之功能。而根據平板上的菌落數計算原樣品含菌量之原則，並配合表說明：
平板計數法的單位是 CFU/g 或 CFU/mL (菌落形成數)。
培養後，取稀釋倍數的菌落數為 25~250 CFU/平板來計數，小於 25 菌落數，可能有 4% 污染誤差(因此不採計)。記錄菌數時 取二位有效數字，並以 CFU/g、CFU/ml 或 CFU/cm² 表示。
每毫升細菌數 = 菌落數 / 稀釋液濃度

志聖 食品技師助您金榜題名!