

101 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、請說明下列可能存在於相關食品中之微生物的來源及其重要影響：

(一)生啤酒中的乳酸菌 (Lactic acid bacteria)，(5 分)

(二)螃蟹中的諾羅病毒 (Norovirus)，(5 分)

(三)三角飯糰中的糞便大腸桿菌群 (Fecal coliform)，(5 分)

(四)鮮乳中的麵包酵母 (Baker's yeast)，(5 分)

【擬答】

(一)生啤酒中的乳酸菌(Lactic acid bacteria)：

乳酸菌因為產生乳酸、雙乙醃、混濁等，導致啤酒不能飲用，是最常見的啤酒腐敗菌。純生啤酒沒有經過巴氏殺菌，很容易感染乳酸菌而變質。主要的汙染微生物是短桿菌乳酸桿菌 (Lactobacillus brevis)、Lactobacillus lindneri (此二者造成絲狀混濁與酸奶油不良氣味)、Pediococcus damnosus(產生雙乙醃、絲狀物與酸奶油味)、Zymomonas mobilis (產生蘋果腐敗味)、Pectinatus spp (產生酸、二氧化硫及混濁)等。

(二)螃蟹中的諾羅病毒(Norovirus)：

諾羅病毒(Norovirus, NV)是一種引起非細菌性急性胃腸炎的病毒。諾羅病毒的特徵是感染人口密度較高和衛生環境差的地方，諾羅病毒是由糞便、口水傳染，人若吃了被感染的海鮮類如螃蟹、生蠔、蚌類等也會感染。生食海貝類、牡蠣等食品是該病毒的主要傳播途徑。

(三)三角飯糰中的糞便大腸桿菌群(Fecal coliform)：

大腸桿菌群 (Coliform) 是人類和熱血動物腸道內常見的細菌。通常在動物糞便內發現的主要菌種是糞便大腸桿菌 (Faecal Coliform)及大腸桿菌(E. coli)，雖然大腸桿菌對人類健康未必有直接影響，但它們的存在表示樣本已可能受到糞便污染。由於大腸桿菌在糞便數量非常多及比較容易檢測，因此大腸桿菌通常被選作污染程度的指示性物種。如發現糞便大腸桿菌或大腸桿菌，其他致病菌也很有可能存在，所以三角飯糰中檢測出糞便大腸桿菌群，可反映出三角飯糰對人類潛在的健康風險。

(四)鮮乳中的麵包酵母(Baker's yeast)：

麵包酵母(Baker's yeast) 可將單一糖轉換成二氧化碳、酒精、有機酸、酯等，鮮乳中出現麵包酵母，會造成鮮乳的酸化與酒精味，使鮮乳腐敗。

二、請簡短的說明：

(一)牛乳經低溫長時巴氏殺菌處理 (60°C、30min, LTLT) 所針對的目標微生物有那些？(6 分)

(二)為何已完成巴斯德滅菌處理的牛乳仍需要保存在冷藏 (4°C) 狀態下，且僅能儲存 10-14 天？

(三)請說明高溫短時巴氏殺菌法 (HTST) 與超高溫滅菌法 (UHT) 對於牛乳保存品質的影響？(8 分)

【擬答】

(一)LTLT 所針對的目標微生物：

低溫長時殺菌法(LTLT)也稱為巴氏殺菌法。相對於商業殺菌而言，巴氏殺菌是一種較溫和的熱殺菌形式，處理溫度通常在 100°C 以下，典型的巴氏殺菌的條件是 62.8°C/30min，達到同樣的巴氏殺菌效果，可以有不同的溫度、時間組合。用於徹底殺滅啤酒、酒、牛奶、血清白蛋白等液體食品中病原體。

由於巴氏消毒法所達到的溫度低，故達不到完全滅菌的程度。但是它可使布氏桿菌、結核桿菌、痢疾桿菌、傷寒桿菌等致病微生物死亡，可以使細菌總數減少 90%—95%，故能起到減少疾病傳播，延長食品的使用時間的作用。

(二)巴斯德滅菌處理牛乳仍需要保存在冷藏(4°C)，且僅能儲存 10-14 天的原因：

牛乳經巴氏殺菌是一種“低溫殺菌牛乳”，牛乳中的有害微生物一般都已經被殺死，但還會保留其他一些微生物，因此這種食品從離開生產線，到運輸、銷售、存儲等各個環節，都要求在 4°C 左右的環境中冷藏，防止牛乳中的微生物重新“活躍”，其保存期限只有 10-14 天。

巴氏殺菌是低溫長時間殺菌，其目的是殺滅牛乳中引起人類疾病的所有微生物，只能在冷藏條件下短時間儲存。巴氏殺菌法殺菌時間適中，能有效將細菌數量控制在每毫升 3 萬以內，並相對较好地保持牛奶的口感和營養。但由於牛奶中仍含有一定數量的細菌，因此對倉儲、運輸、銷售各環節的冷藏條件要求非常嚴格，一旦任何一個環節的冷藏條件不達標準化，細菌數量就會呈幾何級數增加，因此，巴氏牛乳即使在 4°C 環境中冷藏，其保存期限通常也只有 10-14 天而已。

(三)高溫短時巴氏殺菌法(HTST)與超高溫滅菌法(UHT)對牛乳保存品質的影響

1. 高溫短時間殺菌(HTST)

HTST 殺菌必須正確保持所定加熱溫度與時間，故為精密自動調節溫度裝置，主要由加熱部（牛乳經熱水加熱殺菌）熱交換部（未殺菌乳冷卻殺菌乳，同時殺菌乳預熱未殺菌乳）及冷卻部（冷水冷卻殺菌乳）三部份組成，72-75°C / >15 sec。

殺菌、滅菌法	溫度 (°C)	時 間
LTLT	62~65	30分鐘
HTST	72~75	15秒以上
UHT	130~135	2~3秒

HTST 常用熱交換器進行，過程多為自動操作，且在密閉處理，細菌污染機會低，適合大量生產，對牛乳品質影響小。

2. 超高溫滅菌法(UHT)：130~135 °C 滅菌 2~3 秒，可達到無菌狀態，且牛乳品質不被破壞。

三、請說明：(一)假設您現為某連鎖量販店生鮮食品部門的食品品質保證檢驗員，在目視供應商所送達之一批冷藏雞胸肉後，覺得可能有品質上的問題，即主動進行該批肉品的好氣性生菌數 (aerobic plate count, APC) 的測試，以決定是否因為肉品品質不合格（生菌數高於 1.0×10^6 CFU/gram），而需要將其退貨。您隨機自該批肉品中採得 24.2gram 樣品，並使用 225mL (gram) 0.85%NaCl 稀釋液混合均質。經 10 倍連續稀釋後，取 0.1mL 各稀釋倍數之稀釋均質液以塗抹培養方式所得試驗

結果如下，請計算該批冷藏雞胸肉的好氣性生菌數，並請說明算式中各項數字的意義，以及您認為是否應該予以退貨？（14分）

10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
TNTC	294	82	10
TNTC	326	98	6

(二)進行食品微生物學品質分析在採樣時最常用的2種均質方法(或技術)及其優劣點？(6分)

【擬答】

(一)此一檢測法，是利用連續稀釋，由稀釋 10^{-1} ~ 10^{-7} 倍數，分別取0.1mL塗抹於平面培養基(nutrient agar, NA)上，二重複，37°C分別在24至48小時計數，可得菌落數約25~250之間便可計數。小於25者有統計上誤差，超過250者CFU/g則計數較困難。因此，此一試驗中，選取 10^{-6} 稀釋倍數計算出總生菌數如下：

$$\text{總生菌數} = (82 + 98) / 2 \times 10^{-6} = 90 \times 10^{-6} = 9 \times 10^{-7} \text{ CFU/g}$$

CFU (colony forming unit)為菌落形成單位

由於冷藏雞胸肉好氣性生菌數不得高於 1.0×10^6 CFU/gram，而此批肉品的生菌數為 9×10^{-7} CFU/g，屬於品質不合格，應該給予退貨。

(二)採樣時最常用的2種均質處理：

1. 乾燥樣品：以磨粉均質機粉碎均質，優點是容易操作，經濟快速。

缺點是：只能研磨至20-40 mesh

2. 濕式樣品：以切碎機、超音波、組織研磨器(tissue grinder)研細均質。目前常用的均質機包括攪拌均質器(blender)與鐵胃二種。

優點是研細均質、均質食不會產生噪音、操作時間短(2 min)不影響分析成分、鐵胃無需清洗、均質後樣品可直接分析。缺點是：儀器較貴、攪拌均質器容易生熱、攪拌均質器破壞部分食品成分。

四、請簡述：

(一)同型發酵乳酸菌與異形發酵乳酸菌(Homo-and hetero-fermentative lactic acid bacteria)的同異點？以及一般乳酸發酵食品常混合使用做為菌醃(Starter)之目的為何？(10分)

(二)雙叉乳酸桿菌屬(Bifidobacterium)的細菌代謝葡萄糖所得到的主要發酵產物為何？以及與一般乳酸菌代謝葡萄糖所得到的主要發酵產物不完全相同的原因？(10分)

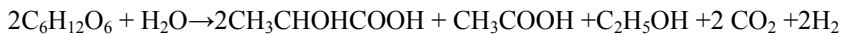
【擬答】

(一)同型發酵乳酸菌與異型發酵乳酸菌

乳酸菌對醣類的發酵可分為同型發酵(homo fermentation)及異型發酵(hetero fermentation)二種。

1. 同型發酵乳酸菌：此類乳酸菌可將葡萄糖經由糖解作用(glycolysis)代謝路徑，產生唯一的100%乳酸及微量氣體： $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2 CH_3CHOHCOOH$ 同型發酵乳酸菌含有酵素 aldolase 及 hexose isomerase 但缺乏 phosphoketolase，同型乳酸發酵的乳酸菌種有：小球菌屬 Pediococcus、雙鏈球菌 Streptococcus、乳酸球菌 Lactococcus 及部分乳酸桿菌 Lactobacillus。
2. 異型發酵乳酸菌：此類乳酸菌缺乏 aldolase 及 hexose isomerase，但有 phosphoketolase，經由五碳醣磷酸鹽代謝路徑(Hexose monophosphate, HMP)產生乳酸、醋酸、乙醇、二氧化

碳，也產生較多的乙醯乙醛(acetyl aldehyde)及雙乙醯(diacetyl)等香氣：



異型乳酸發酵的乳酸菌種：白念珠球菌屬 *Leuconostoc*、雙叉桿菌 *Bifidobacterium*、乳酸球菌 *Lactosphaera*、及部分乳酸桿菌 *Lactobacillus*。

同型乳酸發酵代謝能量是異型乳酸發酵的 2 倍。

3. 乳酸發酵食品的常混合使用菌元目的有二：(1)協力共生(symbiotic growth)，共同培養使彼此獲利(2)相乘生長(synergistic growth)，共同培養產生的菌量與乳酸量大於個別培養。

(二)雙叉乳酸桿菌代謝葡萄糖所得到的主要發酵產物：

雙叉乳酸桿菌為厭氧、不具運動性、形狀為不規則桿狀、不產孢子的革蘭氏陽性菌。進行異型乳酸發酵，發酵葡萄糖之最終產物為乳酸及醋酸為主，尚有乙醇、二氧化碳，也產生乙醯乙醛及雙乙醯等氣體香氣。

如上所述，因為乳酸菌種不同、所含酵素不同、因此對葡萄糖代謝路徑不同，使得最後發酵產生的產物也不完全相同。

五、請說明：

(一)何謂“指標微生物”(Indicator microorganisms)，(5分)

(二)在食品衛生安全檢驗上常使用下列指標微生物，其使用的場合與在食品衛生品質上代表的意義：

1. *Bifidobacteria* 2. *Coliphages* 3. *Enterococci*。(15分)

【擬答】

(一)指標微生物 (Indicator Microorganisms)：

所謂指標微生物(Indicator microorganism)：指的是在食品加工處理過程中，選擇具有代表性的微生物來檢驗，用以指示檢驗樣的食品是否符合衛生安全，此種檢測的微生物稱為指標微生物。指標微生物需要具備營養需求簡單、生長溫度範圍廣、會產生不良氣味等。

指標微生物的七特性：(1)含量極少也可被檢出(2)容易與其他菌種分離(3)與腐敗菌有恆定相關性(4)需與腐敗菌同時存在(5)與病原菌數量呈正相關性(6)生長需求、生長速率均與病原菌相同(7)致死速率與病原菌相似、但存活率要較病原菌稍佳。

主要指標微生物為：大腸菌群(coliform)、腸球菌(enterococci)、白地黴(*Geotrichum candidum*)、腸內細菌科(Enterobacteriaceae)、雙叉乳酸桿菌(bifidobacter)、大腸桿菌噬菌體(coliphages)、總生菌數(TBC)等。一旦指標微生物超過一定的限量，標示著食品檢品可能遭受到人、畜糞便的污染，而且有腸道病原微生物存在的可能性。

(二)指標微生物使用的場合與在食品衛生品質上代表的意義：

1. *Bifidobacteria*：是雙叉乳酸桿菌，可將複雜食物基質水解，做為糞便污染的指標。它也提供產氫菌種有較容易利用之簡單糖類，提升複雜基質產氫系統的產氫效能，為產氫系統的指標微生物族群。

2. Coliphages：是大腸桿菌噬菌體，由於腸病毒肆虐造成兒童死亡，而大腸桿菌群無法反應出水中腸病毒的存在，因此利用在水中與腸病毒有相同生長趨勢的大腸桿菌噬菌體，作為水污染與糞便指標微生物。也以大腸桿菌噬菌體做為評估水品質的一項微生物指標。
3. Enterococci：是腸球菌屬，腸球菌跟大腸桿菌同樣都是寄生在腸道的細菌族群之一，最常造成人體感染的腸球菌為糞便腸球菌，因為此菌對抗生素有很強之抗藥性，因此，糞便腸球菌會造成較多的感染。其菌數與生菌數相關性較大腸桿菌群為佳，在冷凍食品中，腸球菌菌數遠較大腸桿菌群為高，因此作為冷凍食品的指標微生物。

