

107 年專門職業及技術人員高等考試第二次食品技師考試

類 科：食品技師

科 目：食品微生物學

一、請分別說明在動物、禽類及海鮮類食品中，其主要污染微生物存在於何部份以及該等微生物之種類為何？(20 分)

【擬答】100%來自於北志聖阮籍食品微生物學 A02, page 65, p. 73

(一)動物、禽類食品中，其主要污染微生物存在部位與微生物種類：

健康禽畜動物的活體內，一般僅含少量的微生物在其組織內部，因為健康動物其入侵體內的微生物，會被其免疫系統消滅。禽畜肉污染微生物的部位，由外至內為毛髮、皮膚、淋巴結及腸道系統。

禽畜肉的微生物分布種類與範圍，因肉品被進行不同的加工處理過程，將導致其原有的微生物呈現不同分布狀態的改變。

1. 健康新鮮禽畜動物肉品微生物分布

動物外部毛髮、皮膚、腳蹄部位通常含有大量微球菌屬 (*Micrococcus*)、葡萄球菌屬 (*Staphylococcus*)、鏈球菌屬 (*Streptococcus*)。

2. 動物內部組織

(1)動物呼吸道與外部皮膚組織相似，分布以前述三種球菌為主。(微球菌屬、葡萄球菌屬、鏈球菌屬)

(2)腸胃消化道細菌之分布含革蘭氏陰性的腸道菌如：大腸桿菌屬、沙門桿菌屬(*Salmonella*)及志賀桿菌屬(*Shigella*)等，以及假單胞菌屬(*Pseudomonas*)。

革蘭氏陽性菌則以厭氧且能產生內生孢子的梭孢芽孢桿菌屬(*Clostridium*)、乳酸菌(如 *Streptococcus* 及 *Lactobacillus* 等)、以及李斯特菌等在腸道系統中繁殖為主。

(二)海鮮類食品中，其主要污染微生物存在部位與微生物種類：

水產品包括溫水域或冷水域之海水和淡水中的魚類、蝦蟹貝類及軟體動物。

一般而言，新鮮水產品上的微生物來自水域中的微生物，魚類中微生物存在於外層黏液、鰓及腸道中。

淡水或溫帶水域魚類之細菌主要為中溫的革蘭氏陽性菌，寒帶水域魚類主要由革蘭氏陰性菌組成。

水生動物生長之水域衛生狀況影響最終水產品之微生物品質，除了水源外，加工過程如去皮、剝殼、去除內臟、裹麵包屑等操作可能導致微生物的污染。

新鮮冰藏魚類之腐敗主要由細菌所造成，而鹽醃魚及乾製魚則可能由真菌造成。魚類腐敗之微生物主要為非產孢性之革蘭氏陰性菌，例如：假單胞菌 *Pseudomonas*、鮑氏不動桿菌 *Acinetobacter*、奈瑟菌莫拉菌屬 *Moraxella*。

淡水魚和海水魚之腐敗現象相同，但微生物種類不同。

蝦蟹貝類和魚類組成不同，主要是含有 0.5% 碳水化合物，蝦類的游離胺基酸含量比魚類高，細胞自溶酵素含量也較高，故其蛋白質會迅速被分解。

許多新鮮魚類中存在的微生物亦存於甲殼類中，例如：假單胞菌 *Pseudomonas*、不動桿菌屬 (*Acinetobacter*)、莫拉克斯氏桿菌屬(*Moraxella*)及酵母菌為主要腐敗菌，其腐敗現象也與魚類相似。

二、試述 pH 值對下述防腐劑：苯甲酸、己二烯酸、亞硫酸及丙酸在食品中抑菌作用之影響。
(20 分)

【擬答】100%來自於北志聖阮籍食品微生物學 A02, pages 199-204

利用有機酸控制因微生物引起之食品腐敗已有多數歷史，這些有機酸部分是自然存在於食品中，有些是發酵聚積的終產物，有些則是故意添加於配方中，但作用通常只達到靜菌而非殺菌程度。

目前已實際應用於食品而一般被認為是安全(general recognized as safe, GRAS)之有機酸多為脂溶性弱酸。

一般認為弱酸之抑菌效果直接與未解離酸分子之多寡有關，而大部分有機酸之 pKa 值介於 3~5，因此降低 pH 值能增加未解離酸之濃度，增加抗菌效果。

常見有機酸對微生物抑菌效果之比較如表。

微生物 有機酸	細菌	酵母菌	黴菌
醋酸	++	++	+
丙酸	++	+++	+++
乳酸	+	-	-
己二烯酸	+++	++++	++++
苯甲酸	+++	++++	++++

1. 苯甲酸及其鹽類

此類添加物在中性 pH 值環境下對微生物的作用性不大，於低 pH 值時，抗微生物的活性較大，主要是因低 pH 值時，非解離度較高，如苯甲酸在 pH 4.0 時，60% 為非解離態；pH 6.0 時，非解離態只有 1.5%。

非解離態愈高，抗微生物活性愈大的現象，主要是因質子移動力之故。

在正常的微生物細胞，其細胞膜內外會形成電位差，因此一些營養素（如胺基酸）可藉主動運輸(active transport)的方式進入細胞內以供利用。

當細胞外有非解離態苯甲酸等有機酸存在時，會以擴散作用通過細胞膜後，在細胞內解離而降低細胞內的 pH 值，結果改變細胞膜內外的電位差，導致不利於主動運輸的進行，因而限制了微生物從外界獲得營養的途徑。

苯甲酸的作用機制為阻礙葡萄糖和丙酮酸氧化成乙酸，當被進行呼吸作用的微生物吸收時，會增加氧的消耗。另外，苯甲酸鹽會抑制微生物細胞攝取養分。

2. 己二烯酸

己二烯酸及其鉀鹽、鈉鹽、鈣鹽均為我國允許使用的食品添加物，其允許添加量較苯甲酸鹽高。主要應用於乳酪、果汁、脫水水果、飲料等食品。對酵母菌、黴菌的抑制能力較佳，但對金黃色葡萄球菌、大腸桿菌、腸炎弧菌及沙門桿菌屬亦有抑制效果。

己二烯酸對黴菌的作用，可能是抑制了脫氫酵素系統，此外亦會抑制內孢子的萌發。對微生物的抑制作用機制亦與質子移動力的改變有關。

己二烯酸在 pH 4.0 時，86% 為非解離態；pH 6.0 時，非解離態為 6%，因此，在 pH 6.0 以下的抑制能力最好，通常 pH 值高於 6.5 以上即無效用。在 pH 4.0~6.0 之間，己二烯酸的效果比苯甲酸鹽好。

3. 亞硫酸鹽

亞硫酸鹽在「食品添加物使用範圍及用量標準」中屬於漂白劑，除此作用之外，亞硫酸鹽及二氧化硫對部分微生物亦有抑制效果。在果汁及飲料中添加 100~200 ppm 之二氧化硫時，對醋酸菌及乳酸菌有靜菌效果。沙門氏菌 Salmonella 對亞硫酸鹽最敏感，在 pH 7.0 下

公職王歷屆試題 (107 專技高考)

只要 15~110 ppm 即被抑制。

亞硫酸鹽及二氧化硫對微生物的作用機制，有以下幾種可能：

- (1)非解離態的作用：亞硫酸鹽及二氧化硫在低 pH 值時，非解離態較多，對微生物的作用效果愈佳。
- (2)降低 pH 值：如同加酸到食品中，藉由降低 pH 值而達到保存的效果。
- (3)將氧還原，使氧的壓力低到無法被好氣菌利用。
- (4)亞硫酸鹽(SO_3^{2-})與雙硫鍵作用，使得酵素受到抑制。

4. 丙酸鹽

丙酸及其鈣鹽、鈉鹽一般應用在麵包及糕餅，我國的用量標準為 2.5 g/kg (以丙酸計算)，主要作為黴菌抑制劑。

丙酸鹽在 pH 4.0 時有 88% 為非解離態，因此其作用 pH 值與苯甲酸鹽及己二烯酸鹽相同，均為對低 pH 值食品才有較佳的抑菌活性。

研究指出，在漢堡麵包中添加 0.33% 丙酸鈣即具抑菌效果，且在室溫下儲存六天，黴菌及總生菌數仍符合衛生品質要求。

三、試述如何進行食品中總好氧菌與總厭氧菌數之測定？(20 分)

【擬答】100%來自於北志聖阮籍食品微生物學 A01, page 149-155, A02, p.131-131

1. 總好氧菌數之測定

標準平板計數法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。

標準平板計數的原理是(1)將樣品適當稀釋後，(2)接種在固體洋菜培養基上，經(3)培養後，根據培養基上長出的可見菌落(colony)數來推算樣品中所含細菌量，並以菌落形成單位(colony forming unit, CFU)來做為計算的單位。

將稀釋檢液與洋菜培養基製成平板的方式，常見的方式有：(1)傾注平板法(pour plate method)、塗佈平板法(spread plate method)與螺旋平板法 (Spiral plate method)。

正常菌落的計數與樣品含菌量之計算：

菌落的計數除以肉眼直接計算之外，亦可使用菌落計數器(colony counter)或暗視野(dark field)計數器輔助之。平板計數法的單位是 CFU/g 或 CFU/mL，CFU 全名是 colony forming units (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 (CFU/ml) = 菌落數/稀釋液濃度

2. 總厭氧菌數之測定

總厭氧菌數之測定與好氧性平板計數 (APC) 差異在於厭氧培養。

- (1)製備厭氧培養基：設法除去培養基中的氧氣，並使之與空氣隔絕，厭氧菌即能生長。
- (2)厭氧培養：造成無氧環境的方法很多，如下：

①化學試劑

利用 pyrogalllic acid 與 NaOH 作用會消耗氧氣之原理，在密閉容器中，促使此反應進行而造成厭氧條件，但須避免 NaOH 接觸菌體。

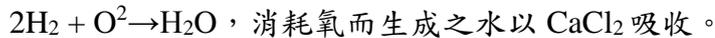
②特殊裝置

(a) Gas-Pak system

加水至 GasPak 發生器：內附產氣包、金屬鈀(palladium)及氧化還原指示劑甲烯藍， H_2 能在常溫下將缸中的 O_2 經由金屬鈀的催化作用，形成水氣，藉由指示劑甲烯藍的顏色改變，有氧狀況(藍色)→無氧狀況(白色)，瞭解缸中含氧狀況。

(b) Brewer 無氧瓶

瓶內通入 H_2 後密閉，再通電流促使下列反應：



在厭氧培養基與厭氧培養後，同樣進行菌落的計數與樣品含菌量之計算。

四、試述食品生物技術之定義及其在確保食品品質、衛生安全與延長儲存期限之應用。(20分)

【擬答】100%來自於北志聖阮籍食品微生物學 A02, pages 140-143

(一)食品生物技術之定義

生物技術(biotechnology)係指利用生物(動物、植物或微生物)或其產物，來生產對人類醫學或農業有用的物質或生物。在生物技術中之植物生物技術、動物生物技術、酵素生物技術與微生物生物技術等領域，應用於食品科技者稱為食品生物技術(Food biotechnology)。

應用在食品上的生物技術，至少應包含下列條件之一：

1. 直接修改生物性食物原料的基因，生產轉基因改良食品(GMF)。
2. 使用微生物或微生物產物作為食品或食品添加劑。
3. 使用以 DNA 或蛋白質為基礎的方法檢測食品中微生物或微生物的產物。

根據上述條件，食品生物技術所包括的範疇如下：

1. 基因工程技術。
2. 酵素的應用。
3. 食品安全相關檢驗技術。
4. 細胞工程 (cell culture)。
5. 食品廢棄物的處理。

(二)食品生物技術在確保食品品質、衛生安全與延長儲存期限之應用：

1. 確保食品品質

- (1) 改進發酵產品的品質：傳統發酵食品之改良、發酵工業產品之改良、基因改造商品化微生物。
- (2) 發展新加工技術
- (3) 開發新產品：利用微生物生物技術開發出的新產品，未來將在人類的生活中扮演重要角色。

2. 衛生安全與延長儲存期限

- (1) 改進食品的安全：利用微生物生物技術於食品加工上，可改進食品安全。
- (2) 基因轉殖乳酸桿菌：含有轉殖之細菌素合成基因可用於乳製品生產、無汙染物質生產。
- (3) 基因轉殖乳酸球菌
- (4) 含有轉殖溶菌酶合成基因，於乾酪生產時，可預防雜菌感染。
- (5) 避免噬菌體感染，提高菌種穩定性。
- (6) 生物技術應用於食品安全檢驗：食品微生物的檢驗，是要確保食品的衛生、品質與安全，傳統檢驗方法要相當長時間才知道結果，為此，生物技術用於食品微生物的檢測上，利用微生物菌種的特異性生理生化反應，作為菌種的測定，經濟、快速、準確。
- (7) 利用轉基因技術，延長蔬果果膠水解，延長儲存期限與延長運輸時間水果軟化。

五、請試述下列名詞之意涵：D value、z value、F value 及 12-D concept。(20 分)

【擬答】100%來自於北志聖阮籍食品化學 A02, p. 114, p. 195

D value、Z value、F value 及 12-D concept 都是評定微生物耐熱的數值，是為了解食品保存與有關微生物之熱致死的一些基本概念。

1. D value

D 值是測定微生物的耐熱性。在特定溫度下(121°C)使細菌死滅一對數值(90%)所需要的時間(以分鐘計)。所以 D 值是在某一溫度下，細菌死滅的快慢，溫度越高，細菌死滅越快，D 值越小。細菌耐熱性大 D 值大。同一細菌，在不同溫度下，D 值不同： $D_{70°C} = 14$ ； $D_{110°C} = 5$ 。

2. Z value

若以某一細菌孢子之 D 值的常用對數為縱軸，加熱處理溫度為橫軸，則可製作成該細菌的耐熱性曲線(thermal resistance curve)。細菌耐熱性曲線穿過一對數週期所需溫度的差距稱為 Z 值(Z-value)，亦即某細菌的 D 值變化 10 倍或 1/10 時之溫度差距，通常以 $^{\circ}F$ 表示。在某一特定的加熱致死時間曲線中，通過一個對數週期所需改變的溫度，亦稱為 Z 值。Z 值所代表的意義如下：

- (1)代表細菌的 D 值會因加熱溫度的上升而減少(亦即細菌的耐熱能力會因殺菌溫度的提高而減弱)。
- (2)代表細菌加熱致死速率 D 值的溫度係數。
- (3)代表細菌對不同致死溫度之相對抵抗力，Z 值愈大，表示耐熱性愈高。
- (4)不同微生物之 Z 值不同；相同微生物在不同食品中，Z 值不同。

3. F value

F 值是指在一定致死溫度下(121°C)，殺死所有細菌或孢子，所需要時間(min)。目前所用之 F 值為比較性數值，以 F_0 值為 1 當標準。所謂 F_0 值係指以 121°C 殺死 Z 值等於 10°C 之一定數目微生物所需的分鐘數。不同溫度下，加熱不同的時間，也具有相同的致死力(lethality)。

一般為高溫短時間，而低溫則需長時間，但以高溫短時間的加熱處理較能確保食品之品質。食品應加熱至何種程度，須視加熱處理前瞬間微生物之含量(initial count 代號為 a)，以及預期達成之殘留微生物含量(survival count 代號為 b)而定，其關係如下： $F = D(\log a - \log b)$ 。因此，F 值可用來測定熱處理之殺菌能力。

4. 12-D concept

12D 的熱處理法，即將每 ml 含 10^{12} 個孢子減至(10^0)1 個孢子。12-D Concept 為 12D 概念，用於低酸性(pH4.6)罐頭食品中肉毒桿菌(*C. botulinum*)耐熱孢子控制的概念：在 121°C (250°F)加熱過程中，需要將每 mL 中含有 10^{12} 的耐熱孢子降低 10^0 個孢子 ($10^0=1$) 的概念。因此 12-D concept： $F_0 = D_r(\log a - \log b)$; $D_r = 0.21$ & $\log a - \log b = 12 - 0 = 12$ ，在 121°C (250°F)加熱過程中，由 10^{12} 的耐熱孢子降到 1 孢子的時間為： $F_0 = 2.52$ min。