

107 年專門職業及技術人員高等考試第一次食品技師考試考試題

類 科：食品技師

科 目：食品微生物學

一、培養微生物時需要提供微生物生長需要的碳源 (carbon source) 與氮源 (nitrogen source)，請說明微生物為何需要碳源與氮源？食品中那些成分可做為微生物的碳源或氮源？(20 分)

【擬答】

提供微生物生長需要的碳源 (carbon source) 與氮源 (nitrogen source) 是影響微生物生長的內在因素之一。

微生物在食品上增殖必須進行能量代謝及生長合成作用，食物所含的營養成分之種類與比例，對食品中微生物的生長會有很重要的影響，這些營養成分可以提供微生物生長時的需求。

1. 碳源 Carbon source

碳水化合物通常是提供微生物生長能量的主要來源，稱為碳源，其他的含碳化合物也可以被微生物利用而產生能量，例如：酯類、醇類、胺類、有機酸類等，但是如纖維素類的複雜碳水化合物，則只有少數的微生物可利用之。

並非所有的微生物都可以利用各式各樣的單醣或雙醣，例如許多微生物無法利用乳糖，因此就不能在牛奶中生存，或某些酵母菌無法利用麥芽糖，但大部分的微生物都能利用葡萄糖。食物中的碳水化合物與含碳化合物可提供能量來源，微生物利用碳水化合物當做能源，但其能力會受到氮源存在多寡的影響，當氮源較多時，也可以提高微生物利用碳水化合物的能力。其濃度過高也會改變食物環境的滲透壓與可被利用的水分含量。

微生物生長所需碳原：

(1) 細菌 0.5-2.0 %

(2) 酵母與黴菌：2.0-5.0%，黴菌能在較高的糖濃度中生長，而細菌比較喜歡在較低濃度的糖中生長。

(3) 食品發酵工業微生物生長所需碳原：10-15% 或更高。

2. 氮源 Nitrogen source

微生物除了需要利用食物所含的營養成分來提供能量外，也需要從食物中獲取其生長與生殖所需的材料，這些材料大部分是各種含氮化合物，稱為氮源。食物中的含氮化合物主要有蛋白質、胺基酸、尿素、氨與其他含氮的分子。食物中很多微生物是沒有能力自行分解完整的蛋白質(例如酪蛋白)，它們只能利用比較簡單的含氮化合物，例如胺基酸、硝酸鹽等。不過，很多黴菌具有分解蛋白質的能力。一般培養基中氮源為 0.1-0.5%。

二、生鮮蔬果類的表面可能會含有那些微生物？這些微生物的來源為何？有那些處理方法可降低這些微生物的含量？(20 分)

【擬答】

蔬果類含水分較高，其微生物污染受蔬果的採收、採收後的處理條件，例如：清洗、切除等加工前處理的影響。

微生物來源主要為：(1) 新鮮蔬果表面 (2) 腐敗部位(decayed parts) (3) 土壤來源 (4) 水質來源等。

(一) 新鮮蔬果表面污染細菌量約在 $10^6/g$ ，水果的污染菌數比蔬菜少，以假單胞菌屬(*Pseudomonas*)、伊文氏桿菌屬(*Erwinia*)、黃單胞桿菌(*Xanthomonas*)、產鹼桿菌屬(*Alcaligenes*)及乳酸菌(*Lactic acid bacteria*)為主。

黴菌數在 $10^3\sim 10^4/g$ ，以 *Alternaria*、*Fusarium*、*Penicillium* 及 *Sclerotinia* 等為主。

1. 新鮮蔬菜中常見的微生物菌群包括有好氣菌、大腸桿菌群、糞便大腸桿菌群(fecal coliform)、乳酸菌等。

2. 蔬菜類之腐敗以存在蔬菜表面之微生物為主，來自土壤及空氣中，由於蔬菜之 pH 值大多屬於中性，因此細菌及真菌皆易造成腐敗。

常見蔬菜腐敗的部位以細菌性的 *Erwinia* 及 *Pseudomonas* 所造成的細菌性腐敗(bacterial soft rot)最常

公職王歷屆試題 (107 專技高考)

見。由於細菌性果膠分解作用(pectinolysis)引起的植物組織軟腐現象。黴菌引起的蔬菜腐敗以灰黴腐敗的 Botrytis、根黴軟腐(Rhizopus soft rot)的根黴菌(Rhizopus stolonifer)等常見。

3. 水果組織有機酸含量高, pH 值較低, 常在細菌的適宜生長的範圍之外。

水果的腐敗以黴菌為多, 如: Penicillium 的藍黴腐敗(blue mold rot)及 Botrytis 的灰黴腐敗(gray mold rot)。

4. 因為蔬菜中水分含量高, 碳水化合物及脂質含量較低, 所以水分多為微生物可利用的自由水, 加上營養成分和 pH 值大都在微生物可生長的範圍內, 故黴菌、酵母菌及細菌都可在蔬菜上生長, 並造成其腐敗。

5. 真菌造成的蔬菜腐敗現象主要包括下列幾種: 灰黴腐敗、酸腐、根黴軟腐、疫黴軟腐、炭疽病等。

(二)處理方法可降低這些微生物的含量

新鮮蔬果微生物的污染受採收後處理的方式影響, 包括:

1. 預冷藏(precooling)處理: 將抑制微生物的數量。
2. 清洗、噴水的處理: 將可能減少微生物, 或使微生物改變分布的狀態。
3. 選別或切除不良部位: 將導致微生物由機械物理受損部位重新繁殖生長。

三、以含有洋菜 (agar) 的培養基經由平板計數法 (plate count method) 檢測食品中微生物含量時, 常用到傾注平板法 (pour plate method) 或塗布平板法 (spread plate method), 請說明這兩種方法的實驗步驟, 並比較這兩種方法的優缺點。(20 分)

【擬答】

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。

(一)傾注平板法 (pour plate method)

將 1 ml 的製備後的樣品稀釋檢液注入無菌培養皿中, 再倒入約 12~15 ml 已滅菌且冷卻至 45~50°C 的液態洋菜培養基, 迅速搖動, 使樣品稀釋檢液與培養基混合均勻, 待其凝固後, 倒置於培養箱中進行培養, 菌落長在培養基表面及下層之間, 稱為傾注平板法。每一種稀釋檢液至少作二重複。

優點: (a)可分離菌液中數量多的微生物 (b)可作菌數測定

缺點: (a)無法分離嗜冷菌 (b)手續較不方便

(二)塗布平板法 (spread plate method)

將製備後的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。

優點: (a)可分離菌液中數量多的微生物 (b)可作菌數測定 (c)可分離嗜冷菌 (d)容易挑出菌落, 進一步鑑定。

缺點: (a)容易汙染 (b)無法分離較大個體的微生物如原蟲與藻類。

四、釀造酒在進行酒精發酵的過程中, 因為使用的原料及過程不同可分為單發酵 (simple fermentation)、並行複發酵 (multiple parallel fermentation) 及單行複發酵 (multiple sequential fermentation) 等三種形式。請敘述這三種酒精發酵的過程並各舉出實例加以說明。(20 分)

【擬答】

1. 單發酵 (simple fermentation)

單發酵酒, 以醴類為原料, 直接由酵母菌發酵產生酒精者, 如葡萄酒、蘋果酒。

2. 並行複發酵 (multiple parallel fermentation)

以澱粉為原料, 先經澱粉糖化, 再由酵母菌發酵產生酒精者複發酵, 並行複發酵酒為澱粉糖化與酒精發酵在同一發酵槽進行, 如紹興酒與日本。

3. 單行複發酵 (multiple sequential fermentation)

公職王歷屆試題 (107 專技高考)

以澱粉為原料，先經澱粉糖化，再由酵母菌發酵產生酒精者複發酵，單行複發酵酒為澱粉糖化與酒精發酵在不同發酵槽進行，如啤酒。

五、食物中天然或經過污染而存在的微生物種類相當多，因為無法逐一進行檢測，因而藉由測定「指標微生物 (Indicator Microorganisms)」的方式以代表食品微生物之品質。請說明在選擇某種或某類微生物作為「指標微生物」時，應該考慮那些因素？作為「指標微生物」需要那些特性？(20 分)

【擬答】

指標微生物是指某種具有代表性的特定種類或族群的微生物，檢查食品中是否有該等微生物污染，其存在可用以顯示水質或食品遭受污染之情況或消毒滅菌之效果者，例如大腸菌(E. coil)、糞便性大腸菌類(fecal coliforms)等，這些能顯示食品受到污染的代表性微生物稱為指標微生物 (indicator microbial)。

當無法監測食品中每一種有害微生物時，僅針對某些特定指標菌作為是否合乎衛生要求之指標。如：生菌數、大腸桿菌群、大腸桿菌。

指標微生物偵測的結果一般是用於反應食品存在之「微生物相可能現狀」，此微生物相可能現狀具有影響食品之儲藏期限，以及潛在造成食品危害因子的重要依據。

(一)作為食物指標微生物之條件 (需要考慮的因素)

用於食品安全衛生之指標微生物應符合下列七條件：

1. 容易從受檢之食物中檢測出來，縱使指標微生物含量極低，亦可以輕易地檢測與計數。
2. 容易與食物中其他之微生物相分辨，指標微生物在檢出過程中不會受到其他微生物生長繁殖時之抑制或干擾。
3. 指標微生物與食物中之腐敗菌或食物中毒菌有相當程度之正相關性，即指標微生物被檢出時可代表食物中之腐敗菌或食物中毒菌可能亦存在。
4. 當食物中之腐敗菌或食物中毒菌存在時，必然可從該食物之指標微生物之檢出中發現。
5. 食物之指標微生物的計數菌量與該食物之腐敗菌或食物中毒菌的計數菌量呈現正相關。
6. 受檢食物之指標微生物的生長增殖條件比該食物之腐敗菌或食物中毒菌的生長增殖條件佳或呈現正相關。
7. 受檢食物之指標微生物的致死速率比該食物之腐敗菌或食物中毒菌的致死速率慢或相似。亦即當病原菌不存在時，指標微生物亦必然不存在或只能存在極少量。

上述有關指標微生物七個條件可適合大部分有病原菌媒介之食品。

(二)指標微生物之特性

做為食品指標微生物之特性必須符合下列四項：

1. 受檢食品中檢出指標微生物存在，或其計數值超出正常管控之上限時，則可直接反應出該食品之安全性堪虞。
2. 當食物 (食品) 含有低量之指標微生物時，顯示該食物存在潛藏性之危害，因此在後續加工或儲藏運輸過程中，可以限制其生長條件而嚴加控制。
3. 食物 (食品) 含有低量可以控制其生長之指標微生物時，可以直接判定食物食用之安全衛生。
4. 在乾淨的食物或水中不存在或量很少，而被污染的食物或水中大量存在。