

110 年特種考試地方政府公務人員考試試題

等 別：四等考試

類 科：食品衛生檢驗

科 目：食品微生物學概要

一、請說明細菌、黴菌與酵母菌細胞壁主要成分為何？並說明革蘭氏染色法之操作原理。(20 分)

解題關鍵：食品微生物種類及特性

【擬答】

(一)細胞壁結構

1. 細菌細胞壁：主要為由肽聚糖製成，
2. 酵母菌細胞壁：主要成分為內層葡聚糖、外層甘露聚糖
3. 黴菌細胞壁：主要為幾丁質，為葡萄糖胺 (glucosamine) 的聚合物

(二)革蘭氏染色的對象是細菌的細胞壁。

1. 染色後細菌可在顯微鏡下觀察，將細菌分成革蘭氏陽性細菌與革蘭氏陰性細菌。
2. G(+)細菌細胞壁具有較厚 (20-80nm) 而緻密的肽聚糖層，多達 20 層，佔細胞壁成分的 60%~90%，它同細胞膜的外層緊密相連。有的 G(+)細菌細胞壁中含有磷壁酸 (teichoic-acid)，也稱胞壁質 (murein)，它是甘油和核糖醇的聚合物，磷壁酸通常以糖或氨基酸的酯而存在。由於磷壁酸帶負電荷，它在細胞表面能調節陽離子濃度。磷壁酸與細胞生長有關，細胞生長中有自溶素 (autolysins) 酶起作用，磷壁酸對自溶素有調節功能，阻止胞壁過度降解和壁溶。
3. G(-)菌細胞壁中肽聚糖含量低，而脂類含量高。當用乙醇處理時，脂類物質溶解，細胞壁通透性增強，使結晶紫極易被乙醇抽出而脫色；再度染上復染液番紅的時候，便呈現紅色了。

4. 格蘭氏染色過程、機制與關鍵步驟

革蘭氏染色流程：染色→媒染→脫色→復染。

(1)初染劑 (primary stain)：使用結晶紫(crystal violet)染色。

結晶紫 (crystal violet)是一種三苯甲烷系染料。使用於組織學染色，也用在革蘭氏染色以區別不同種類的細菌。

(2)媒染劑(mordant)：複方碘溶液或稱革蘭氏碘液(Gram's iodine)

加入複方碘溶液或稱革蘭氏碘液(Gram's iodine)後會形成不溶性的結晶紫-碘(CV-I)複合體，使細菌呈紫黑色。

這步驟是關鍵，它的目的是分辨細菌的革蘭氏染色特性。若為革蘭氏陽性菌，此複合體係結合於細菌細胞壁的鎂、核糖核酸(Magnesium ribonucleic acid)，形成鎂-核糖核酸-結晶紫-碘(Mg-RNA-CV-I)複合體，不易脫去。

(3)脫色劑 (decolor agent)：以酒精脫色

使用 95% 酒精脫色，試劑具脂溶劑 (lipid solvent) & 蛋白脫水劑(protein dehydrating agent)雙重功能。此步驟對革蘭氏陽性細菌無效，因為細胞壁上厚厚的細胞壁層阻隔了結晶紫-碘複合體的外滲，只能留在細菌體內。革蘭氏陰性菌細胞壁層薄，會被脫色而成為無色。

(4)復染劑 (counter stain)：番紅複染

加入番紅(Safranin)進行複染，革蘭氏陰性菌被染成紅色，而革蘭氏陽性菌仍保有原來

的紫色。番紅是鹼性染料，能溶於水和酒精。

5. 染色結果與鑒定：

- (1) 革蘭氏染色陽性菌 (G+) 細胞壁肽聚醣層數厚，且肽聚醣為空間網狀結構，再經乙醇脫水，網狀結構更為緻密，CV-I 染料複合物不易從細胞內漏出，仍為藍色。
- (2) 革蘭氏染色陽性菌 (G-) 細胞壁脂質含量多，肽聚糖少，易被乙醇溶解，使細胞壁通透性增高，細菌被脫色呈無色，經石炭酸復紅稀釋液復染成紅色。革蘭氏染色陰性菌 (G-) 細胞壁脂類含量多，肽聚醣薄，易被乙醇溶解，使細胞壁通透性增高，結合的 CV-I 染料複合物容易洩漏，細菌被脫色為無色，番紅複染成紅色。

二、以微生物的觀點，在儲存食品時，採用真空包裝是否絕對安全，請說明原因？何謂柵欄技術，請說明並舉例。(20 分)

解題關鍵：影響微生物在食品中生長之因素與控制_外在與內在因素

【擬答】

(一) 真空包裝食品

係指脫氣密封於密閉容器內之食品。此包裝方式隔絕空氣、抑制好氣性微生物生長，但是同時間卻營造了厭氧菌的生長環境。最皆為注意的兼性厭氧/厭氧菌，著名的菌株為肉毒桿菌，造成食品中毒最常見的毒素是 A、B、E 等型，中毒致命率占所有細菌性食品中毒的第一位。細菌特性：

本菌屬革蘭氏陽性、嫌氣性桿菌，有芽孢，非常耐熱且會產生毒素。

1. 革蘭氏陽性 (G(+)) 桿菌。
2. 菌體周邊有鞭毛，具運動性。
3. 厭氧菌，在缺氧狀態下易培養且產生毒素。
4. 可以產生芽孢。
5. 適合生長的 pH 值為 4.6~9.0。
6. 適合生長的溫度為 25~42°C。
7. 易被硝酸鹽/亞硝酸鹽抑制。

(二) 柵欄技術

1. 可稱為組合式的抑菌技術，是結合一種以上食品保藏因子(如水活性、pH 等)共同保障食品的穩定性和安全性。如果將每一種食品保藏因子看成是一個阻礙微生物跨越的柵欄，那麼微生物是否能跨越柵欄將是決定食品保存性的關鍵。在一個食品體系中，微生物是可以連續跨越許多個柵欄。如果我們適度的提高某些保藏因子的強度(亦即將某個柵欄的高度提高)，微生物便無法逾越，如此便確保了產品的品質，亦可避免單一處理條件較強，而傷害產品的情形。柵欄因子的合理組合應是既能抑制微生物活性，又盡可能地改進產品的感官質量、營養性和經濟效益。
2. 加工中各種防腐保鮮方法，不同種類的產品有其特有抑菌柵欄相互作用著，兩個或兩個以上之柵欄因子的作用有相乘的效果，而不僅僅是單一柵欄作用的累加，這即是「柵欄效應」(Hurdle Effect)的原理。其處理溫和，可產生口感好、營養佳之高品質食品。因此，我們即以食品中傳統的柵欄效應為基礎，探討在食品上之品質改進及衛生、貯存安全性之評估，以延長產品之保存性，提高產品之經濟效益。
3. 食品的加工過程中不可能每一種柵欄都使用，此外，同一種柵欄對食品品質具有正反面兩種效果，當柵欄強度超過某一種閾值時，反而會對食品品質造成不良的影響。
4. 舉例

公職王歷屆試題 (110 地方特考)

輕度加工 (minimum processed)，如生菜沙拉、鮮切蔬果，所影用到的柵欄技術概念如下：

- (1) 加熱處理 (heating)：殺滅微生物、破壞酵素活性
- (2) 冷凍冷藏 (cooling and freezing)：抑制微生物生長、抑制酵素活性
- (3) 包裝密封 (sealing)：隔絕空氣、抑制好氣性微生物生長
- (4) 調整 pH 值 (pH control)：抑制微生物生長與酵素活性

三、請說明並比較巴斯德殺菌法 (Pasteurization) 與超高溫瞬間殺菌 (Ultrahigh temperature) 對於牛奶品質與其中微生物之影響。(20 分)

解題關鍵：影響微生物在食品中生長之因素與控制_物理方法

【擬答】

- (一) 巴斯德殺菌法 (pasteurization) 係以 100°C 以下之溫度來加熱，以殺死病原菌及無芽孢細菌，但無法完全殺滅腐敗菌。巴斯德殺菌法一般使用的條件為 62°C、15-30 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、15 秒)。目的是殺滅牛乳中引起人類疾病的微生物，僅能於冷藏條件下短時間儲存。
- (二) 超高溫瞬間殺菌 (ultra high temperature, UHT) 殺菌條件為 130~140°C，2 秒、150°C，0.75 秒，可使產品達到無菌狀態。對牛奶的風味和營養價值較不易造成損失，同時可使不易死滅的耐熱性孢子死亡。

四、請舉例並說明微生物生長過程中之代謝物分類與其在生長過程中所扮演的角色為何？(20 分)

解題關鍵：影響微生物在食品中生長之因素與控制_外在與內在因素

【擬答】

- (一) 微生物生長過程中會產生多種代謝產物。代謝產物與微生物生長繁殖的關係，可分為初級代謝物和次級代謝物。
- (二) 初級代謝產物接涉及到正常生長、發育與生殖的代謝產物，如胺基酸、核苷酸、多糖、脂質、維生素等。不同種類的微生物中，初級代謝產物的種類基本相同。初級代謝物通常都是為生物生存必不可少的物質，只要在這些物質的合成過程的某個環節上發生障礙，則會引起生長停止，導致機體發生突變或死亡，為一種基本代謝類型。初級代謝自始至終存在於生活的菌體中，同菌體的生長過程呈平行關係，只有微生物大量生長，才能積累大量初級代謝產物。
- (三) 次級代謝物不直接涉及到生命正常生長、發育或繁殖的有機化合物，為微生物生長到一定階段才產生的產物，對該微生物無明顯生理功能，並非是微生物生長和繁殖所必須的物質，如抗生素、毒素、激素、色素等。不同種類的微生物所產生的次級代謝產物不相同，它們可能積累在細胞內，也可能排到外環境中。次級代謝則是在菌體生長到穩定期內 (對數生長期、穩定期) 而產生的，與機體的生長不呈平行關係，可明顯地表現為菌體的生長期和次級代謝產物形成期二個不同的時期。

五、何謂乳酸菌之 ABC 菌並說明同型乳酸發酵與異型乳酸發酵？乳酸菌對於食品加工與儲藏之角色為何？(20 分)

解題關鍵：食品微生物的利用_發酵原理

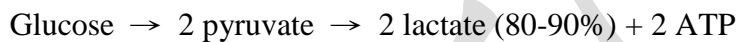
【擬答】

(一) 乳酸菌之 ABC 菌

1. A 菌：嗜乳酸桿菌 (*Lactobacillus acidophilus*)，生存在小腸的乳酸菌，代謝產生乳酸與醋酸，調整腸道環境，避免壞菌增殖，調節免疫、調節腸道菌叢等功能。
2. B 菌：比菲德氏菌 (*Bifidobacterium bifidum*)，亦稱雙歧乳酸桿菌，於腸道粘膜形成保護層，避免壞菌增殖，主要功效訴求為調整腸道菌叢生態。
3. C 菌：乾酪乳桿菌 (*Lactobacillus casei*)，於腸道存留較長的時間，功效為調節免疫、預防腸道不適與過敏。

(二) 同型乳酸發酵與異型乳酸發酵

1. 同質乳酸發酵：醱解作用伴隨乳酸發酵後，產生 2 分子 ATP，主要代謝副產物為乳酸，產量達 80-90%，其他化合物的產量甚少。



常見的菌體為乳酸球菌屬 (*Lactococcus spp.*)、鏈球菌屬 (*Streptococcus spp.*)、小球菌屬 (*Pediococcus spp.*) 及部分的乳酸桿菌 (*Lactobacillus spp.*)。

2. 異質乳酸發酵：

代謝過程除了產生乳酸外，還會產生醋酸、酒精、CO₂ 等副產物。產生較多的乙醯乙醛 (acetyl aldehyde) 及雙乙醯 (diacetyl) 等香氣物質。乳酸產率只有 50%，此種乳酸發酵又稱異型(雜)乳酸發酵。

常見的菌屬為白念珠菌屬 (*Leuconostoc spp.*) 及短乳酸桿菌 (*Lactobacillus brevis*)。如乾酪 (cheese) 製作，在過程中以異質乳酸發酵產生乳酸，造成凝乳，而白念珠菌屬會促使風味產生。

(三) 乳酸菌對於食品加工與儲藏之角色

主要為應用於製造醱乳品，另外在各種火腿等肉製品之製造，也常添加乳酸菌，以加強保存性及風味，各種醃製品、醬油、麵包的製造過程中，乳酸菌也扮演重要角色。將多種蔬果穀類豆類混合以乳酸菌、酵母菌等微生物長時間發酵熟成，於熟成過程中，提增風味，其所產生的乳酸也提供產品保存的特性。