

112 年專門職業及技術人員高等考試第一次食品技師考試試題

類別：高等考試

類科：食品技師

科目：食品微生物學

一、我國衛生福利部食品藥物管理署所公告與建議之各種食品微生物檢驗方法中，部分的檢驗方法可使用即時聚合酶鏈鎖反應 (real-time polymerase chain reaction, RT-PCR) 進行，請說明 RT-PCR 之原理，並舉出三項應用 RT-PCR 進行之公告或建議檢驗方法。(20 分)

【擬答】

(一)原理：Reverse Transcriptase PCR 技術原理為將一段待測的 RNA 序列經反轉錄酶的作用轉錄成 cDNA，再利用 PCR 技術將基因片段以幾何級數倍增的方式增加到數十萬倍，形成 PCR 基因產物化學作用後，進一步與 DNA 進行嵌合作用，經紫外燈照射時後，發生螢光現象，即在電泳膠片上會呈現具有特定分子量的 PCR 基因片段的產物

(二) RT-PCR 之應用食品病原菌檢測等項目

1. 病原性大腸桿菌之檢驗：

檢體之增菌液或經分離純化後之菌株，經 DNA 萃取後，以 real-time PCR 鑑別致病基因之方法。

2. 腸炎弧菌之檢驗：

檢體之增菌液或經分離純化後之菌株，經 DNA 萃取後，以 real-time PCR 進行鑑別之方法。

3. 諾羅病毒之檢驗：

諾羅病毒(Norovirus)為單鏈的 RNA 病毒，病毒顆粒大小約 27-32nm，歸類於人類杯狀病毒科(Caliciviruses)，係引起病毒性腸胃炎之常見病毒，檢體經 RNA 萃取後，以反轉錄聚合酶鏈鎖反應(reversetranscription polymerase chain reaction, RT-PCR)之方法偵測檢體中是否存有諾羅病毒之特定基因片段

二、微生物透過食品或農產品為媒介傳播疾病，請說明其藉由食品或農產品傳播疾病之途徑為何？並說明控制這類微生物感染，減少食因性疾病的防範措施。(20 分)

【擬答】

(一)微生物透過食品傳播疾病的途徑：

人體經由食物或水而攝取到具有感染能力的相關微生物、寄生蟲與毒素

(二)防範措施：

1. 針對食品原材料、半成品及成品進行微生物、寄生蟲與動植物來源的天然毒素檢驗
2. 食品充分加熱或殺菌以降低微生物、寄生蟲與毒素之風險
3. 加強生產、加工與製成環境的衛生
4. 食品從業人員應定期體檢並養成良好的個人衛生習慣

三、溫度為影響微生物生長的主要因子，且部分的微生物在冷藏及加熱過程中尚可存活；請分別說明何謂嗜冷菌 (psychrophiles) 與嗜熱菌 (thermophiles)？其分別可在低溫與高溫環境下生長的生理特性為何？(20 分)

【擬答】

(一)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，因此，食品儲存的溫度，會影響微生物的生長。依微生物生長的溫度範圍，微生物可分類為：

- 1.嗜冷菌(psychrophiles)：又稱 cryophiles，是一種 cold-loving 菌種，生長的溫度範圍 $-10^{\circ}\text{C} \sim 20^{\circ}\text{C}$ ，最低生長溫度 $\leq 0^{\circ}\text{C}$ ，最高生長溫度 20°C ，最適生長溫度在 15 至 20°C 的微生物稱為嗜冷菌，某些種類當曝露在室溫(25°C 以上)短時間即會死亡，理由可能是溫度太高會造成某些酵素或細胞膜的傷害。
- 2.嗜熱菌(thermophiles)：可以在 $40-70^{\circ}\text{C}$ 生長，最適生長溫度 $50-60^{\circ}\text{C}$ 。高溫菌與罐頭食品敗壞有關。如造成低酸性罐頭食品的腐敗—平酸腐敗(flat sour spoilage)的芽孢桿菌 *Bacillus stearothermophilus* 及罐頭食品產氣性腐敗的梭孢桿菌 *Clostridium thermosaccharolyticum*。

(二)生長的生理特性

1.嗜冷菌(psychrophiles)

胞內具有特殊的酵素，可以耐受低溫的衝擊，含有較多的疏水性胺基酸，幫助細胞中的酵素與蛋白質抵禦低溫環境，不會破壞蛋白質的功能特性；嗜冷微生物細胞膜的含有豐富的不飽和脂肪酸，幫助其在低溫下膜也能保持半流動之特性。

2.嗜熱菌(thermophiles)

為了適應高環的環境，其具有獨特的生理特性與高穩定的酵素組成，其細胞膜富含飽和脂肪酸及改變脂肪酸鏈的長度，促使細胞膜可以保持穩定。

四、請說明何謂生物危險群第二等級 (Risk Group 2, RG2) 微生物與生物安全第二等級實驗室；並請說明該實驗室中使用之生物安全操作櫃之運作原理及操作注意事項。(20 分)

【擬答】

(一)RG2 實驗室適用於可能對人員及環境造成中度危害的病原相關工作

(二)生物安全櫃操作原理

藉由櫃體內的高效濾網 (high efficiency particulate air filter, HEPA filter) 過濾進排氣並在櫃體內產生向下氣流的方式，避免感染性生物材料污染環境與感染實驗操作人員，並阻絕實驗操作材料間的交叉污染

(三)生物安全櫃注意事項

- 1.不可將生物安全櫃做為實驗室唯一的排氣通道
- 2.生物安全櫃之排氣管路(風管)以不可與實驗室之排氣共管為原則
- 3.生物安全櫃之排氣管路系統應裝設可密閉之風量調節風門，允許密封清消。並應確實遵守安全櫃供應商對於安全櫃安裝程序的建議
- 4.應採用第二級(Class II) A2、B1 及 B2 型式或以上等級之生物安全櫃
5. A2 型式生物安全櫃須採用集氣罩 (canopy hood) 排氣，其排氣罩應為可拆卸式，以利生物安全櫃排氣濾網洩漏測試
6. A2 型式生物安全櫃須於排氣集氣罩後方適當處加裝 HEPA 過濾器，並於開、關機之瞬間於集氣罩口間隙處以煙流測試證明無正壓產生之狀況(可拍照存證)；而運轉中或停機時，集氣罩口間隙處皆須保持負壓狀態
- 7.生物安全櫃之安裝位置應遠離門口，且位於不受進、排氣、和人員走動頻繁影響的實驗區域
- 8.生物安全櫃必須通過其原廠所依循之國家檢測標準、產品認證及現場安裝檢測
- 9.生物安全櫃以每年至少測試1次為原則，如為A2型式且採室內排氣之生物安全櫃，應每

五、微生物發酵 (microbial fermentation) 應用的範圍很廣，請舉二例以微生物發酵生產之產品並敘述其特性，另說明以微生物發酵生產食品及醫藥產品的優點為何？(20 分)

【擬答】

(一)舉二例

1. 納豆是大豆原料利用納豆菌(*Bacillus subtilis natto*)進行發酵，而使納豆具有獨特的氣味與黏性物質。

(1)製程

- ①洗好的黃豆在 3 倍左右的水中浸泡 10-12 小時
- ②膨脹到 2 倍左右的黃豆在高壓鍋中用高火煮 30 分鐘左右，一般鍋要煮 3 個小時左右
- ③在容器中鋪上 3-4 層紗布，放入 Natto 菌：可以用粉末 Natto 菌，也可以買一些市面上出售的 Natto 摻在一起。適合 Natto 菌增殖的溫度是 40°C，發酵 8 小時左右，置入低溫儲存。

(2)特性

納豆食品主要成分含有納豆激酶(natto kinase)、血管收縮素轉化酶抑制劑(angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEs)、抗菌物質比啶二梭酸、皂角甘(saponin)、卵磷脂(lecithin)、異黃酮(isoflavone)、維生素 B1、維生素 B2、維生素 K2、粘蛋白(mucin, γ -PGA)等具生理活性物質。

2. 天貝 (Tempeh)，東南亞人民長期食用的一種傳統黃豆發酵製品。

(1)製程

- ①黃豆煮熟去皮後接種真菌 (如 *Rhizopus oligosporus*) 再發酵而成。
- ②製作所需條件與其他一般發酵食品略有不同，需要 37~40°C，20~30 小時 (濕度控制 85% 以上)。

(2)特性

- ①生產成本低廉、加工時間短
- ②含豐富的植物性蛋白質、大豆異黃酮類，可降低膽固醇，含有豐富的胺基酸與維生素群

(二)以微生物發酵食品及醫藥產品的優點

1. 培養簡單，好控制
2. 體積小、表面積大
3. 繁殖迅速，世代時間短
4. 繁殖條件溫和
5. 菌株育種容易進行
6. 微生物種類多，差異性大，可以產製出多種、具有特色的產品