

## 112 年專門職業及技術人員 25 類科技師 (含第二次食品技師) 考試試題

等別：高等考試  
類科：食品技師  
科目：食品微生物學

零壹老師

一、高靜水壓加工技術已被應用在許多食品的加工。請說明何謂高靜水壓加工，並進一步說明高靜水壓加工技術過程對微生物生理的影響及其造成微生物致死的原理。(20 分)

《考題難易》★★

《破題關鍵》基礎題型，亦是考古題，清楚闡釋 HPP 之介入對於微生物的生長的影響，應能輕鬆取得分數

《使用法條》or《使用學說》微生物生長之需求

《命中特區》正課、總複習與考猜皆精準命中

【擬答】

高靜水壓技術(High Hydrostatic Pressure, HHP)

(一)高靜水壓技術(High Hydrostatic Pressure, HHP)亦可稱為高壓加工技術 (High Pressure Processing, HPP)，在 1000~10000 大氣壓的壓力下殺菌食品。操作過程中之高壓能使農產食品成分中的氫鍵、離子鍵和疏水鍵等非共價鍵被破壞或形成。

(二)高壓殺菌的作用機制包括破壞微生物細胞膜、使微生物生長所需蛋白質變性、破壞 DNA 轉錄及細胞膜上磷脂質固化等，使得生長中的微生物細胞產生重大變化而達到殺菌的效果，而對農產食品本身產生影響包括酵素失活、澱粉糊化及降低微生物含量等，進而延長產品保鮮期。

二、請說明在細菌生長時將培養基中巨分子（包括碳水化合物、蛋白質及脂質）轉換為 ATP 作為能量之反應程序。請分別說明這些巨分子的分解對食品腐敗的影響。(20 分)

《考題難易》★

《破題關鍵》此為基礎題型，亦是考古題，應能輕易取得分數

《使用法條》or《使用學說》微生物生長之內、外在因子

《命中特區》正課、總複習與考猜皆精準命中

【擬答】

(一)細菌生長時將培養基中巨分子（包括碳水化合物、蛋白質及脂質）轉換為 ATP 作為能量之反應程序

1. 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。呼吸作用是指細胞經由酵素催化一系列的氧化還原反應，將葡萄糖、脂肪酸等有機物分解，釋出的能量，一部分以熱能的形式散失，一部分以化學能的形式儲存在 ATP 中過程。三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 為細胞存活性 (viability) 之指標。ATP 產量因微生物不同而異，取決因素包括物種、細胞生長階段、營養狀態、細胞壓力或細胞年齡。

(1)碳源 Carbon source

①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。

②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。

葡萄糖是細胞內供應能量的主要物質；脂肪酸、甘油與胺基酸也可經由不同代謝路徑，參與有氧呼吸，產生 ATP；而呼吸作用的中間產物也能轉換成合成各種有機物的原料，醣類、蛋白質、脂肪三者之間可以互相轉變

(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、胜肽、胺基酸、尿素、氮與其他含氮的分子。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%。

(3) 脂質

脂質被分解後，分別為脂肪酸與甘油。其也調節碳水化合物與蛋白質之合成分解作用。

(二) 請分別說明這些巨分子的分解對食品腐敗的影響

1. 當碳水化合物、蛋白質、脂質被分解成小分子後，斷鏈變多，自由能變高，意即容易遭受到環境中因素影響，譬如氧化作用、水解作用等，食品品質急速下降，進而品質劣敗，失去儲存性。
2. 當碳水化合物、蛋白質、脂質被分解成小分子後，雜菌汙染的程度同時也提升，進而敗壞

三、請說明乾酪 (cheese) 的製造流程與製程中所使用主要之微生物與其在製程中之主要角色；並請說明微生物衛生標準中所規定乾酪之微生物及其毒素或代謝物之限量標準。(20 分)

《考題難易》★★★

《破題關鍵》此題型結合食品加工、食品微生物與食安管理法之內容，屬複合式題型，清楚個別闡述，應可輕鬆取分。

《使用法條》or《使用學說》食品加工、食品微生物與食安管理法

《命中特區》正課、總複習與考猜皆精準命中

【擬答】

(一) 乾酪製作時造成牛奶蛋白凝集的方法及原理

1. 乾酪是利用凝乳酶(chymosin, or rennin)或乳酸菌將乳汁中的乳糖代謝產生乳酸，乳蛋白因 pH 值下降而凝固，經脫水、加鹽與加入風味料進行熟成等步驟而製成之發酵乳製品。新鮮乾酪為牛乳的 9%。不同的乾酪有其特殊之製程：牛乳先經殺菌 (62.5°C, 30 分鐘)，迅速冷卻，再加入適當之菌種 (2%)，進行乳酸發酵，於酸度約 0.2~0.8% 時添加凝乳酵素(rennin)加速乳蛋白的凝結，凝乳經切割、燙洗、除水、成形、鹽漬、熟成後即為成品。
2. 牛奶蛋白凝集凝乳機轉：  
 $\kappa$ -酪蛋白經凝乳酶的作用，產生副  $\kappa$ -酪蛋白與糖聚胜肽，其中，副  $\kappa$ -酪蛋白在  $\text{Ca}^{2+}$  存在下，形成副酪蛋白鈣複合物而凝結成凝乳(curd)。乳汁中的乳糖代謝產生乳酸，乳蛋白因 pH 值下降而凝固。
3. 熟成，目的與組成變化：  
乾酪熟成指的是添加微生物以進行 >8 小時的發酵。常用微生物如下：  
嗜中溫菌之最適生長溫度為 30~40°C，工業上的應用溫度範圍在 20~40°C 間，以乳酸球菌屬(Lactococcus)與白色念珠菌屬(Leuconostoc)之菌株為代表，與嗜高溫菌之最適生長溫度為 40~45°C，工業上的應用溫度範圍在 30~50°C 間，以鏈球菌屬(Streptococcus)與乳酸桿菌屬(Lactobacillus)為代表。
  - (1) 乳酸發酵作用：產生乳酸、雙乙醯、二氧化碳等風味物質。
  - (2) 酪蛋白分解作用：凝乳酶作用，產生胜肽、胺基酸、質地、風味。
  - (3) 脂質分解作用：經乳酸菌分解為酪酸及其他產物。
  - (4) 調和作用：所有風味物質相互混合。

(二)微生物衛生標準中所規定乾酪之微生物及其毒素或代謝物之限量標準

食品中微生物衛生標準  
本標準依食品安全衛生管理法第十七條規定訂定之

	微生物及其毒素、代謝產物	限量	
		m	M
乾酪(Cheese)、奶油 (Butter)及乳脂 (Cream)	大腸桿菌	10 MPN/g (mL)	100 MPN/g (mL)
	沙門氏菌	陰性	
	單核球增多性李斯特菌	陰性	
	金黃色葡萄球菌腸毒素	陰性	

四、請說明革蘭氏染色 (Gramstain) 之原理與步驟，並說明其與細菌細胞壁結構及致病性之關聯。  
(20 分)

《考題難易》★★

《破題關鍵》微生物之基礎染色鑑別，亦是萬年考古題內容，應能輕鬆取分。

《使用法條》or《使用學說》微生物之染色鑑別法

《命中特區》正課、總複習與考猜皆精準命中

【擬答】

(一)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。酒精脫色原理：

(1) Gram (-)細菌之細胞壁脂質含量高，以酒精處理時會將部份脂質溶出，而使細胞壁結構鬆動，通透性增加，因此 CV-I 複合體被帶出細菌體外脫色而呈無色。

(2) Gram (+) 細菌之細胞壁幾乎不含脂質，酒精甚至會使細胞壁脫水，故結構更形緻密，CV-I 複合體就被留在細菌體內。

(3)酒精處理時，會使細胞壁的肽聚糖(peptidoglycan)空隙縮小，Gram(+)細菌之肽聚糖較厚而 Gram(-)者較薄，所以 Gram(-)染色時，CV-I 複合體離開細菌而脫色的機會較大。

4. 複染劑 (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：

革蘭氏染色陰性菌細胞壁脂類含量多，肽聚糖薄，且肽聚糖為平面片層結構，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，再番紅複染成紅色。革蘭氏陽性菌仍保有原來的紫色。革蘭氏陰性菌被染成紅色。

(二)革蘭氏染色與細菌細胞壁結構及致病性之關聯

## 公職王歷屆試題 (112 專技高考)

革蘭氏染色的對象是細菌的細胞壁。

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。

1. 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。
2. 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。
3. 革蘭氏陰性菌的病原能力通常與其細胞壁組成相關，具體說來有脂多糖(LPS, lipopolysaccharide 或者內毒素 endotoxin)層。在人體中，LPS 可以激發一種固有免疫反應(innate immune response)這種反應是通過細胞素製造和免疫系統活化等來描述其特徵的。比如，紅腫就是細胞素內毒產生並釋放導致的。因為脂多糖在革蘭氏陰性菌的細胞牆表皮，所以大多數或舊型抗生素都不能有效抑制此類細菌。

五、請說明何謂乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)，並請於我國健康食品目前已公告之保健功效中，列舉三種乳酸菌具有的保健功效並加以敘述說明。(20分)

《考題難易》★★★

《破題關鍵》乳酸菌之應用搭配時事的風向，出題機率高，亦是考古題型，清楚描述即可輕易取得分數。

《使用法條》or《使用學說》微生物之特性與健康食品管理法之宣稱

《命中特區》正課、總複習與考猜皆精準命中

【擬答】

(一)乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)廣泛存在自然界，泛指一群能發酵碳水化合物產生多量乳酸的細菌。乳酸菌的代謝產物包括有機酸(乳酸與醋酸)、二乙醯、過氧化氫、細菌素與低分子量的化合物等，這些具有抗菌能力的代謝產物是延長發酵食品保存時間的關鍵。這些乳酸菌代謝產物中，最具抑菌活性的是由細菌產生具有抑菌或殺菌活性的肽類或小分子化合物。乳酸菌亦是益生菌中重要的一群菌叢，能增進腸內菌叢的品質。乳酸菌一直被認為是非常安全的菌種(GRAS, Generally Recognized As Safe)，也是具有代表性的腸內有益菌。乳酸菌菌株應用於乳品、發酵果汁、豆製品、穀類食品與保健食品中。

(二)列舉三種乳酸菌具有的保健功效並加以敘述說明

1. 增加營養價值

乳酸菌於發酵過程中，將大分子分解成小分子，並具蛋白質的水解活性，使蛋白質凝固物粒子變細而擴大酵素作用面積，提高游離胺基酸含量，提升人體消化吸收力。

2. 抑制致病菌維持腸道內菌叢之平衡

健康人體腸道內存有複雜微生物菌叢，由於飲食生活習慣、藥物、精神壓力或病原菌之侵入，使得腸內菌相叢失去平衡，導致疾病發生，如下痢、腸胃炎等病症。乳酸菌及雙叉乳酸桿菌可抑制 *Salmonella typhimurium*、*Clostridium difficile*、*Escherichia coli* 及 *Shigella spp.* 等腸道內致病菌的生長，維持腸內正常菌相叢之平衡。

3. 緩和乳糖不耐症

乳糖不耐症(lactose intolerance)指體內缺乏乳糖酶，在食用含乳糖之牛乳製品後，無法消化而產生腹瀉現象，或因未分解之乳糖經腸道細菌分解利用產生氣體及短鏈脂肪酸，而引起脹氣和腹瀉之現象。乳酸菌可產生乳糖分解酵素，可對乳品中的乳糖先行分解，故可改善患有先天性腸黏膜 $\beta$ -galactosidase 缺乏症，或因胃腸炎導致的 lactase 活性不足者，對於乳品中的乳糖無法代謝而引起腹瀉，增加其對乳品的攝取。