

113 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

零壹老師解題

一、在食品微生物衛生標準規定中，若需檢驗疑似沙門氏桿菌污染，請說明其檢驗方法與限量標準，及其常見之發生原因。(20 分)

【考題難易】：★★★

【解題關鍵】：命中率 100%! 再三強調之必考題，務必記住時勢議題，仔細應答，確保實拿分數。

【擬答】

(一)檢驗方法

1. 檢液之調製與增菌培養

(1) 檢液之調製 (舉例: 帶殼蛋)

帶殼蛋：先以刷子清洗蛋表面並瀝乾。浸於含 0.1% 硫酸月桂酸鈉之氯水溶液約 30 分鐘。以無菌操作取出蛋黃及蛋白，混合均勻後稱取 25 g，置於已滅菌廣口瓶內。添加含硫酸亞鐵胰化酪蛋白大豆培養液 225 mL 並混合均勻，在室溫靜置 60 ± 5 分鐘。先以 pH 試紙測其 pH 值，必要時，以無菌之 1N 氫氧化鈉溶液或 1N 鹽酸溶液將 pH 值調至 6.8 ± 0.2 。於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。

(2) 選擇性增菌培養：

假設檢體為高度污染食品：將 Rappaport-Vassiliadis(RV) 培養液置於 42°C 水浴培養 24 ± 2 小時。另將增菌培養液置於 43°C 水浴培養 24 ± 2 小時。於增菌培養液中取一接種環量，在 Hektoen enteric agar (HE)、Xylose lysine deoxycholate agar (XLD) 及 Bismuth sulfite agar (BS) 培養基表面作劃線後，於 35°C 培養 24 ± 2 小時，觀察所形成菌落型態。

2. 鑑定試驗

(1) 混合菌株(Mixed culture)之純化：將 Triple sugar iron agar (TSI) 斜面培養基上未純化菌株劃線培養於麥康奇、HE 或 XLD 培養基，於 35°C 培養 24 ± 2 小時。觀察是否有疑似沙門氏桿菌菌落。

(2) 純菌株(Pure culture)：以無菌接種針挑取 TSI 斜面培養基上可疑菌株，接種於尿素培養液內，於 35°C 培養 24 ± 2 小時。由於未接種之尿素培養液偶爾會轉變為紫紅色，故試驗時應包括未接種之培養液作為對照用。培養液由橘紅色轉變為紫紅色者為正反應，顏色不變者為負反應，沙門氏桿菌為負反應。

3. 其它生化反應：沙門氏桿菌典型反應結果不符者，繼續進行下列生化反應：

(1) 乳糖發酵試驗 (Lactose fermentation test)：將菌株接種於酚紅乳糖培養液或紫色乳糖培養液，於 35°C 培養 24 小時後開始觀察直至 48 ± 2 小時，產酸(顏色變黃)並有氣體產生者為正反應；只有產酸者亦視為正反應。大部份的沙門氏桿菌為負反應。將乳糖試驗為正反應之非沙門氏桿菌菌株丟棄，惟在 TSI 培養基上呈酸性反應，並在 LIA 培養基上呈正反應，或丙二酸鹽培養基上呈正反應之菌株保留，進行下列試驗，以判定是否為 *S. arizonae*。

(2) 蔗糖發酵試驗(Sucrose fermentation test)：將菌株接種於酚紅蔗糖培養液或紫色蔗糖培養液，再依之步驟培養及觀察。將正反應之菌株丟棄；惟在 TSI 培養基上呈酸性反應，

且在 LIA 培養基上呈正反應之菌株則保留。

(3) MR-VP 試驗：鉤菌接種於 MR-VP 培養液，置於 35°C 培養 48 ± 2 小時。

(4) 歐普氏試驗(VP test)：取培養 48 小時菌液 1 mL 至另一試管中(剩餘之 MR-VP 培養液於 35°C 再培養 48 ± 2 小時)，加入歐普氏試劑之溶液 A 約 0.6 mL 並振搖均勻。再添加溶液 B 約 0.2 mL，並振搖均勻，加入少許肌酸以加速反應。4 小時後觀察結果，呈現粉紅至鮮紅色者為正反應，大部份沙門氏桿菌為負反應。

(5) 甲基紅試驗(MR test)：取已培養 96 小時菌液 5 mL 至試管中，加入甲基紅指示劑 5 至 6 滴，立即觀察反應結果，培養液呈紅色者為正反應，呈黃色者為負反應。大部份沙門氏桿菌為正反應。將氰化鉀試驗呈正反應，歐普氏試驗呈正反應，甲基紅試驗呈負反應之非沙門氏桿菌丟棄。

(6) 檸檬酸鹽利用試驗(Citrate utilization test)：鉤菌接種於辛蒙斯檸檬酸鹽培養基，須在斜面上作劃線及穿刺培養，於 35°C 培養 96 ± 2 小時。斜面上有菌體生長且培養基顏色由綠色變為藍色者為正反應，大部份沙門氏桿菌為正反應。

4. 判定：沙門氏桿菌陽性者，應符合表一所列之結果。與表二之結果相同者，則被歸類為非沙門氏桿菌。菌株不是以上二類者，則須進行其他試驗

表一. 沙門氏桿菌之生化及血清反應

試驗或基質	正反應(+)	負反應(-)	沙門氏桿菌之反應 ^a
1. 葡萄糖(TSI)	黃色底部	紅色底部	+
2. 離胺酸脫羧酶試驗(LIA)	紫色底部	黃色底部	+
3. 硫化氫 (TSI 和 LIA)	變黑	無變黑	+
4. 尿素酶試驗	紫紅色	顏色不變	-
5. 離胺酸脫羧酶培養液	紫色	黃色	+
6. 酚紅 (或紫色) 半乳糖醇培養液	黃色，產氣	顏色不變，不產氣	+ ^b
7. 氰化鉀培養液	混濁(生長)	澄清(不生長)	-
8. 丙二酸鹽培養液	藍色	顏色不變	- ^c
9. 吡啶試驗	表面呈深紅色或紫色	表面呈黃色	-
10. 多價本體及鞭毛血清試驗	凝集	無凝集	+
11. 酚紅 (或紫色) 乳糖及蔗糖培養液	黃色，產氣	不產氣，顏色不變	- ^c
12. 酚紅 (或紫色) 蔗糖培養液	黃色，產氣	不產氣，顏色不變	-
13. 歐普氏試驗	粉紅或紅色	顏色不變	-
14. 甲基紅試驗	紅色	黃色	+
15. 辛蒙斯檸檬酸鹽培養基	生長，藍色	不生長，顏色不變	V

a. “+”表示90%以上在1~2天內均為正反應，“-”表示90%以上在1~2天內均為負反應；“V”表示不一定。

b. 大部分的 *S. arizonae* 為負反應。

c. 大部分的 *S. arizonae* 為正反應。

表二. 非沙門氏桿菌菌株之判定標準

試驗或基質	結果
1. 尿素酶	正反應(紫紅色~紅色)
2. 吡啶試驗及多價鞭毛抗血清試驗	正反應(表面呈深紅色或紫色) 負反應(無凝集)
3. 離胺酸脫羧酶及氰化鉀培養液	負反應(黃色) 正反應(混濁)
4. 酚紅(或紫色)乳糖培養液	正反應(黃色，產氣) ^{a,b}
5. 酚紅(或紫色)蔗糖培養液	正反應(黃色，產氣) ^b
6. 氰化鉀培養液	正反應(混濁)
歐普氏試驗及甲基紅試驗	正反應(粉紅至紅色) 負反應(黃色)

a. 測試丙二酸鹽試驗為陽性之菌株須再試驗是否為 *S. arizonae*

b. 如 LIA 為正反應之菌株不應丟棄，應繼續測試看是否為沙門氏桿菌。

(二) 限量標準

在所有的食品類別，乳及乳製品類、嬰兒食品類、生鮮即食食品及生熟食混和即食食品類、包裝/盛裝飲用水及飲料類、冷凍食品及冰類、液蛋類與其他即食食品類，沙門氏桿菌限量

標準皆為陰性。

(三)常見之發生原因

沙門氏桿菌廣泛存於動物界，可經由人、貓、狗、蟑螂、老鼠等途徑污染食品。所引起的食品中毒事件，世界各地常居首位或第二位，2018 年歐盟因沙門氏桿菌造成食源性疾病之比例約為三分之一，在台灣排名第 4，主要是因為飲食型態不同所致。

發生原因

1. 主要中毒原因食品為受污染的畜肉、禽肉、鮮蛋、乳品、魚肉煉製品等動物性食品。
2. 豆餡、豆製品等蛋白質含量較高的植物性食品。
3. 可由環境媒介或由人、貓、狗、蟑螂、老鼠等接觸食品而產生二次污染。
4. 在 2018 年歐盟引起沙門氏桿菌感染主要原因為食用「雞蛋與蛋製品」，其次為烘焙製品及複合調理食品。

TFDA 整理出近年實際病例

1. 111 年基隆市有多名民眾食用某早餐店提供之餐點後，陸續發生嘔吐、腹痛、腹瀉及發燒等症狀，經調查，患者檢體驗出沙門氏桿菌，且環境檢體(盛裝容器)亦檢出該菌，研判此案為食材保存不當，而遭沙門氏桿菌污染。
2. 112 年高雄市有多名民眾於某冰店食用冰品後，陸續出現腹瀉、發燒、嘔吐等症狀，經調查，患者、廚工以及食品檢體皆檢出沙門氏桿菌，此案可能為食品製售過程中發生交叉污染，加上保存方式不當，而導致該菌孳生。
3. 112 年桃園市有多名民眾至某市場攤販購買越南法國麵包，食用後陸續出現腹瀉、嘔吐、發燒等不適症狀，經調查，患者及食餘檢體皆檢出沙門氏桿菌，研判此案為食材製備及運輸過程未保持低溫，且製備時未落實清潔，導致交叉污染。

二、魚類醃酵製品中所產生的香味與風味成分來源為何？為何去鰓與內臟後較不容易產生微生物性腐敗？(20 分)

【考題難易】：★★

【解題關鍵】：基礎題型，魚體相關的製品、加工甚至腐敗情況也是考古題型中常見到的，細心佈答，分數輕鬆取得。

【擬答】

(一)原料先經煮熟後再利用燻煙乾燥者，柴魚(經節)為其代表產品。

原料魚(鰹魚、鯖魚) → 去頭、尾、內臟、脊骨 → 煮熟 → 放冷 → 燻乾 → 整形 → 修削 → 發黴(*Aspergillus*) → 曬乾 → 分級 → 成品

其中典型的香味與風味成分，主要來自於發黴的過程中，由於黴菌的生長作用產製出的代謝產物，進一步分解魚體中之游離胺基酸與核苷酸化合物，進而增加典型的柴魚呈味成分。同時也由於黴菌產生的脂肪分解酶，進一步減少魚體自身之油脂含量；同時也由於燻製的過程，降低了產品的水分

(二)為何去鰓與內臟後較不容易產生微生物性腐敗？

1. 每種魚類產品有其自己特定的腐敗細菌，相較於總菌數，其數量與貯藏壽命(shelf life)有關。

2. 大致上可以分為內在因素與外在因素來探討：

魚體死後變化過程：死後僵直→解僵→熟成(自體消化)→腐敗。

細菌為造成鮮鮮度下降之主因。存在於鰓、體表、粘液及腸道等處的細菌即開始侵襲魚肉

公職王歷屆試題 (113 專技高考)

(1)外在因素包括：遠洋漁業船上保鮮技術簡單，因此也加速魚體腐敗速度。

(2)內在因素包括：魚體自身含有豐富的酵素，魚體死亡後，酵素即將魚體進行分解作用，魚肉結締組織少，肌纖維短，脂肪少，水分含量高且加上細菌在魚死後於常溫下繁殖迅速。

三、何謂食物媒介性中毒 (foodborne intoxications)？請列舉一種引起媒介性中毒之細菌 (學名)，並說明其菌種特性、致病因子以及發病症狀。(20 分)

【考題難易】：★★★★

【解題關鍵】：命中率 100%！基礎問答題，舉例的部分需要同學細心闡述，內容較細節，但也不難取分。

【擬答】

(一)何謂食物媒介性中毒 (foodborne intoxications)

食媒性疾病或稱食源性疾病 (foodborne illness or foodborne disease)，指的是經由吃進被汙染的食物或飲水等所致的疾病，俗稱食物中毒。常見的急性症狀包含噁心、嘔吐、腹痛及腹瀉等，也可能造成癌症、肝臟與腎臟衰竭、大腦與神經系統疾病，甚至死亡。食物在種植 (或養殖、牧養)、採收、儲存、運送、製造、加工、包裝、烹調、盛裝等任一個階段都有可能被汙染。

(二)常見的食媒性疾病病原可分為以下四種類型：「細菌類」、「寄生蟲類」、「病毒類」以及「天然毒素類」。例如：肉毒桿菌

1. 菌種特性：肉毒桿菌廣泛分布於自然界，在土壤或是有水的環境中都可以生存，在環境壓力下會產生孢子，其孢子也可以存在於湖水、海水植物或動物腸道中。
2. 致病因子：肉毒桿菌會分泌毒素，大部分肉毒桿菌中毒案件發生是因食品加工過程受汙染、殺菌條件不足、未低溫貯藏等因素，造成肉毒桿菌生長並產生毒素。
3. 發病症狀：屬中樞神經毒。症狀包含便秘、昏睡、倦怠、食慾不振、眼瞼下垂、吞嚥困難、失去頭部控制能力、肌肉張力低下及全身性虛弱，有時會發展至呼吸無力衰竭，甚至死亡。

四、請試述下列名詞之意涵：(每小題 5 分，共 20 分)

(一)活性包裝 (active packaging)

(二)次級代謝物 (secondary metabolites)

(三)藻類毒素 (algal toxin)

(四)益菌生 (prebiotics)

【考題難易】：★★

【解題關鍵】：命中率 100%！簡單基礎的解釋名詞，細心應答，挹注分數滿滿。

【擬答】

(一)活性包裝 (active packaging)

活性包裝是利用食品成分、包裝材料以及包材內部氣體之間的相互作用，進一步而產生新功能，如氣體調控、抗菌活性、水分調控、乙烯氣體緩釋與去除乙醇等功能，提供食品的防腐保鮮條件，延長包裝食品的架售期。

(二)次級代謝物 (secondary metabolites)

微生物的二次代謝產物是指微生物生長到一定階段才產生的物質，對該微生物無明顯生理功能，或並非是微生物生長和繁殖所必須的物質，如色素、抗生素、

毒素、激素等。

(三)藻類毒素 (algal toxin)

藻類是海洋生物中初級生產者的食物來源，濾食性貝類（如西施舌貝、牡蠣、文蛤、淡菜、海瓜子等）以藻類為主食。當有毒渦鞭毛藻大量增生而造成紅潮時，二枚貝濾食這些有毒渦鞭毛藻，毒素不會排出體外而蓄積在體內，民眾攝食被毒化的二枚貝後就會引起神經性食物中毒。

(四)益菌生 (prebiotics)

天然食物中不易被人體酵素消化的多糖成分，但是可被消化系統尤其是大腸中的益生菌 (probiotics) 利用於菌群生長擴張和代謝生成短鏈脂肪酸。近幾年也被廣用於保健食品領域，其理論基礎為是活化腸道之益生菌，同時提供其營養來源。

五、請說明苯甲酸主要用於抑制何種類型微生物及其抑制微生物之機制，以及質子移動力 (proton motive force) 與該機制之關聯為何？(20 分)

【考題難易】：★★★★

【解題關鍵】：食品添加物之理論與應用面題型，考題並不刁鑽，考題已經強調“質子移動力與機制”的關係，針對此部分要能聚焦闡述，最後再將內容收斂回溯到“如何抑制微生物生長之能力”，起承轉合之佈答破題，完美取分。

【擬答】

(一)抑制何種類型微生物與其相關機制

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%。

(二)質子移動力與機制的關係

1. 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。
2. 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。
3. 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。