

低水分活性食品之指標微生物

郭鴻均

水產食品科學系

一、食品與微生物

微生物是無所不在，固然少數微生物可能引起食品的腐敗，或造成有害動物健康的疾病，且可能未能達到以感官可以察覺的程度(嗅、味覺等)，而食用後卻會引起食品中毒。雖然如此，但有些微生物對改善食品品質有很大的幫助，例如麵包、乾酪、酸菜、豆腐乳及乳酸菌醱酵乳等發酵性食品之生產，不僅使食品增加色、香、味或是生產維他命亦增加食品之利用性，此外亦可利用微生物來生產酵素、有機酸、藥物或利用它來分解有機廢棄物等等功能。

1. 食品中微生物種類與菌相分布食品中的微生物族群組成一般可分成下列三種：

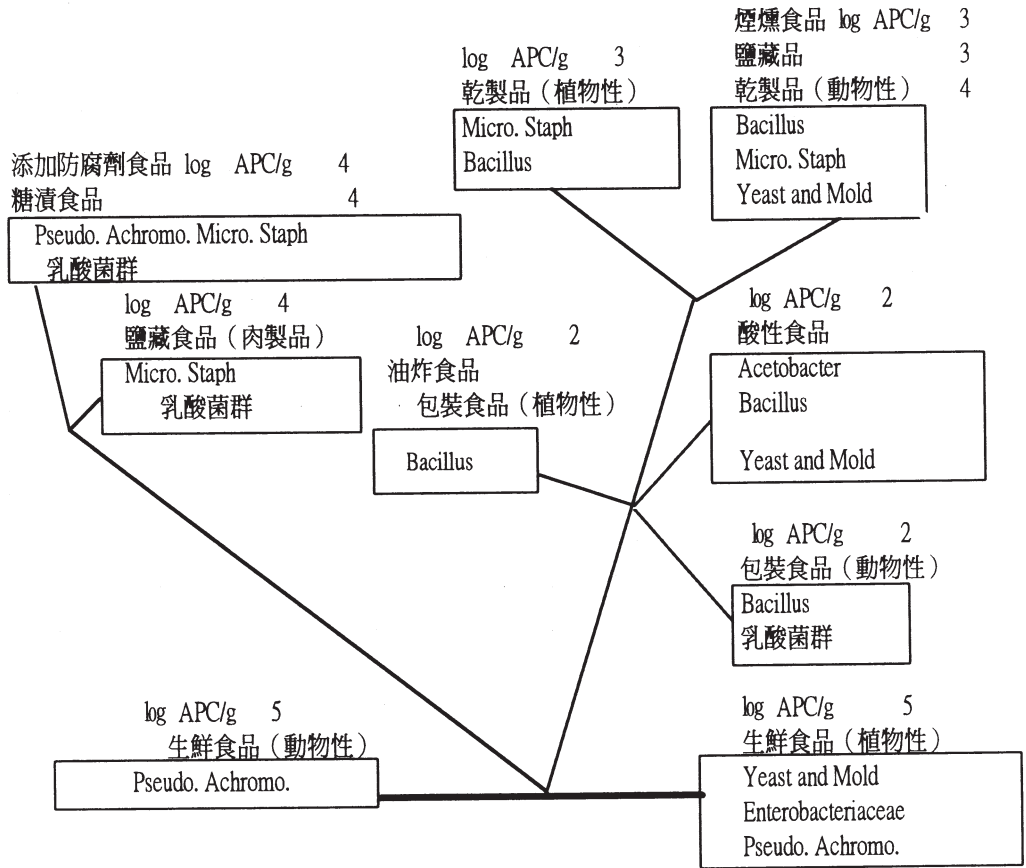
- a. 污染微生物：指造成食品污染的微生物族群。可分成一次污染與二次污染兩種通常包含與食品原料、加工或儲存環境有關之微生物。
- b. 優勢微生物：食品中所含數量最多的微生物族群。但食品中毒並不一定由優勢的微生物族群引起，可能會因時間、溫度而改變優勢微生物的種類。
- c. 腐敗微生物：不一定數量占最多，和微生物之生理活性有關，例如有些可以具有很強的蛋白分解酵素，有些則具有脂肪分解酵素，微生物的腐敗亦因環境條件不同而有所改變。

食品中微生物受到食品來源、污染微生物增殖、加工技術、儲藏環境等因素之影響，因而形成特有的微生物組成-菌相（圖一）。

表一 食品加工方法與主要微生物種類

	食 品 種 類	主 要 微 生 物
加 熱 食 品	魚漿製品	Bacillus, Staphylococcus
	肉製品	Bacillus, lactic acid bacteria
烘 焙 製 品	蛋糕、麵包類	lactic acid bacteria, Micrococcus, Yeast
	漢餅類	Bacillus, Micrococcus, Lactic acid bacteria, Yeast
鹽 藏 品	香腸、培根類	Micrococcus, lactic acid bacteria, Achromobacter
	醬菜類	Lactic acid bacteria, Bacillus, Yeast, Micrococcus
乾 製 品	香辛料	Bacillus, Enterobacteriaceae, Micrococcus, Lactic acid bacteria
	蔬果類	Bacillus, Micrococcus, Lactic acid bacteria
冷 凍 食 品	加熱調理食品	Bacillus, Micrococcus, Lactic acid bacteria
	非加熱調理食品	Streptococcus, Leuconostoc, Micrococcus
酸 性 化 食 品	清涼飲料	Bacillus, Yeast, Acetobacter, Lactic acid bacteria
	醃漬蔬菜	Lactic acid bacteria, Yeast, Achromobacter, Micrococcus
煙 燻 製 品	魚類	Bacillus, Micrococcus, Staphylococcus
添 加 防 腐	麵類（冷藏）	Lactic acid bacteria, Yeast, Mold
劑 製 品	豆腐（冷藏）	Lactic acid bacteria
薄 膜 包	肉製品（冷藏）	Pseudomonas, Achromobacter
裝 製 品	（真空包裝）	Microbacterium, Lactic acid bacteria

圖一 食品種類與代表性微生物



2. 影響食品中微生物生長之因子

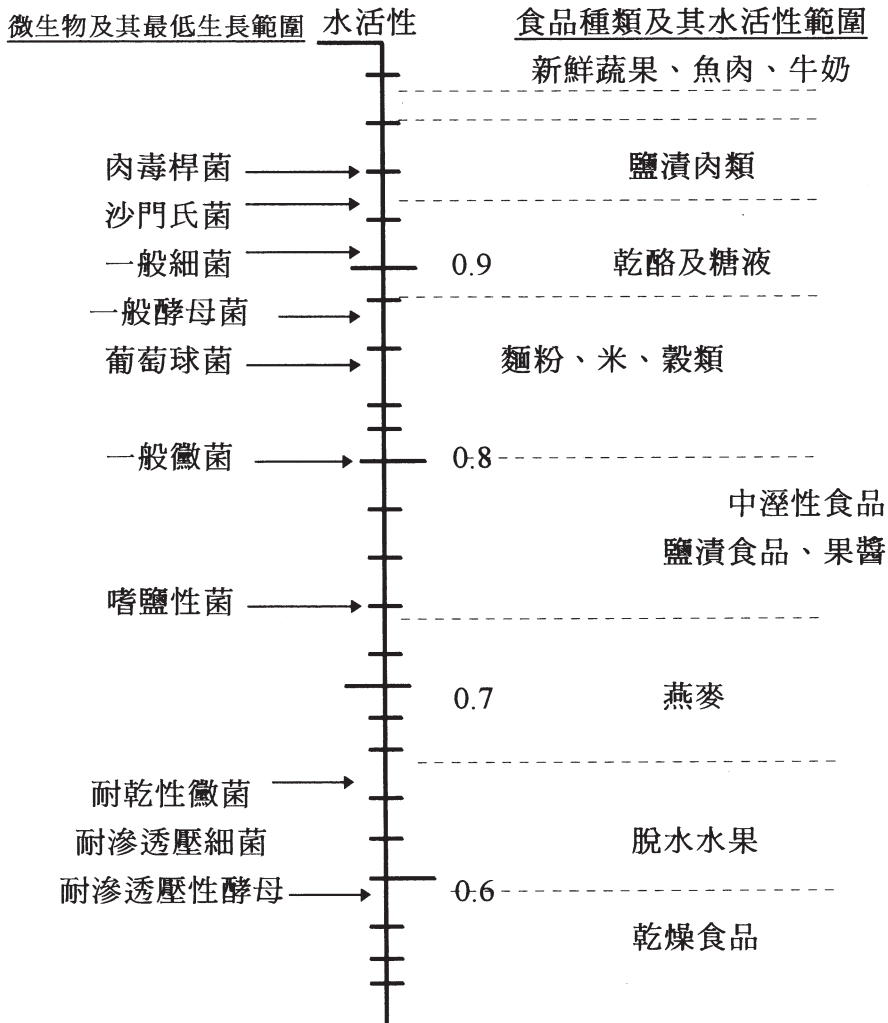
食品儲存環境－外在因子，與食品加工時之條件－加工因子等諸多因子之影響，其中最常見之影響因子如下：

- ①溫度：不同微生物其適合生長之溫度範圍亦不同（表二），依其對溫度需求可概略分為低溫菌、中溫菌與高溫菌三大類。
- ②水活性：水活性，並不意謂水分含量，而是指食品中自由水含量高低的一種表示方式，可決定微生物生長利用之水的最低限制，大部份細菌在 $a_w = 0.91$ 以下，酵母菌在 $a_w = 0.88$ 以下而大部份黴菌則在 $a_w = 0.8$ 就不會生長，但仍有少部分微生物可在水活性0.7 以下生長，有關微生物生長與水活性之關係可由圖二表示。

表二 微生物之生長溫度範圍（℃）

微生物類	別	最低溫度	最適溫度	最高溫度
細菌	高溫性菌 (好熱菌)	30~45	50~70	70~90
	中溫性菌	5~15	30~45	45~55
	低溫性菌	-5~5	25~30	30~35
	嗜冷菌	-10~5	12~15	15~25
黴菌	高溫性黴菌	12~31	35~53	50~61
	中溫性黴菌	5~13	25~45	30~52
	低溫性黴菌	-10~5	5~25	30~40
酵母菌	中溫性酵母菌	0~5	20~35	30~47
	低溫性酵母菌	-12.5~8	—	19~44

圖二 微生物生長所需最低水活性與典型食品的水活性範圍



③pH：不同微生物生長之pH範圍不同，一般細菌之最適生長pH在中性或弱鹼性間（pH 7~8），黴菌與酵母菌則在弱酸性間（pH 6~7）。一般細菌與食物中毒病原菌在pH 4.6以下生長即受阻，黴菌，酵母菌及乳酸菌等耐酸性菌則可耐受pH 2之強酸環境。

二、指標微生物

指標微生物係用以指示食品在處理過程中是否合乎要求的一種指標，是一種藉由檢驗食品中特定微生物群(種)的數量多寡來間接表示欲知該食品之微生物狀況。雖然無法作為直接證實之用但基於實用性、方便性、經濟性與時效性等理由，仍廣泛應用於食品工業中。

三、常見之指標微生物

目前常用的指標微生物包括 Total plate count、Coliform、fecal coliform、E. coli、乳酸菌、fecal streptococci等，近來亦常用腸球菌（enterococci）作為衛生指標微生物檢查用。衛生指標微生物的檢查除可作為食品衛生狀況的推論，並可作為衛生管理的參考依據。明瞭食品是否遭受下列污染情形：a. 糞便污染，b. 製造過程中受到微生物或病原菌污染，c. 水源是否受到病原菌污染。以下就常用之指標微生物意義說明如下：

1. 生菌數 (Aerobic (Total) Plate Count APC, TPC)：

總生菌數(Aerobic mesophilic bacteria)，常以好氣性平盤菌數 (Aerobic Plate Counts, APC) 表示，是一種最常用之一種指標微生物，其不只反映處理過程，亦可說明食品新鮮度，有些時候亦可反映出食品的衛生品質。一般食品之腐敗常和微生物數量有關，當食品含菌量在 10^6 至 10^9 CFU/g，便可發覺其有腐敗的狀況。並可作為對設定新鮮食品貯存期限標準 (shelf life) 的指引。以總生菌數作為指標時可顯示出食品在加工或貯存過程狀況如下：

- a. 原料是否遭受污染。
- b. 衛生條件。
- c. 加工（貯存）時溫度與時間配合。

但總生菌數的檢查其限制及缺點如下所列：

- ①. 特殊處理食品：如發酵食品會造成總生菌數偏高，加熱處理的食品總生菌數偏低，只能表示其加熱的程度，則無衛生品質上的代表意義。
- ②. 乾燥食品、冷凍食品：則由於其上的微生物死亡，無法反映總生菌所代表的衛生意義。
- ③. 冷藏食品：總生菌數的意義小易造成低估現象，因為這些好氣性中溫菌在 5°C - 15°C 時生長緩慢，所以總生菌數值偏小。
- ④. 安全性：總生菌數無法直接表示該產品是否安全無虞的，有些食品的總生菌數低，但卻含可產生毒素之菌體或致病菌。

2. 糞便污染指標微生物：

a. 大腸菌群 (coliform)

大腸(桿)菌群(Coliforms)往往用來作為可能遭糞便污染的指標菌，大腸(桿)菌群是一群屬於腸內細菌的革蘭氏陰性菌，可以發酵乳糖並產生氣體，可在有氧或厭氧狀態下生長，非孢子形成菌。大腸桿菌群包括有E. coli、Citrobacter freundii、Enterobacter aerogenes、Enterobacter cloacae、Klebsiella pneumonia等菌，因自然界中廣布Colioform，舉凡人及動物的消化道及排泄

物、植物、蔬果、蛋、牛奶及屠宰時摘除動物內臟等污染；在3-10°C尚可繁殖、在自然狀態下可抗乾燥，但在冷凍情況下無法生長，為其生長特性。

大腸桿菌群作為衛生指標意義為：

- ①. 最保守的指標，因其範圍大，並且包括了非糞便污染的範圍，安全界限的顧慮少。
- ②. 可作為不適當的加工處理或加工後再污染的指標。
- ③. 不耐低溫，不適合作為冷凍食品的衛生指標。
- ④. 以其作為衛生指標雖然受到置疑，但一般尚可接受，
- ⑤. 與食品病原菌存在的相關性不高。

b. 糞便大腸桿菌群(Fecal coliforms)

糞便大腸桿菌群(Fecal coliforms)是為求迅速找到可確信糞便污染指標而無須去純化、鑑定大腸桿菌。是一群革蘭氏陰性桿菌，兼性好氧且在44.5°C可以發酵乳糖，包括以E. coli為主，少數Enterobacter. Klebsiella strains的細菌，對溫血動物之糞便具專一性，在腸道外的環境亦可分離到，但一般的烹調溫度或以巴斯德滅菌便可將其殺死，而且在冷凍食品中死滅較快，在凍藏食品中幾乎不存在。其作為衛生指標菌的意義在於a. 比以Coliform作為遭受糞便污染的指標上更為適當b. 更可反映加工設施的衛生品質。

c. 大腸桿菌 (E.coli)

大腸桿菌主要寄生在許多溫血動物之腸道中，有時亦見於空氣、塵埃、手及許多食物表面及內部。以大腸桿菌(*Escherichia coli*)作為指標微生物，因大腸桿菌佔coliform中數目最多，且在糞便污染指標上較coliform及fecal coliform更好，同時大腸桿菌與沙門氏菌在噴霧乾燥食品中之存活時間及對熱抵抗性等，兩者大致相同，所以是糞便污染的最好指標。檢查大腸桿菌需經過IMViC的生化試驗(如表三)，可以簡易而明確的將其辨別出來，因此檢查大腸桿菌比糞便大腸菌群、大腸桿菌群等作為糞便污染之指標更佳。

d. 腸球菌 (enterococci)

Enterococci(腸球菌)及fecal streptococci(糞便鏈球菌)，它們來自人及溫血動物之腸道，最適生長溫度在32°C，可在巴斯德殺菌法60-65°C，30分鐘下存活，可以在10-45°C生長，在含鹽6.5%及pH 9.6之條件生長，並且可以在40%高膽鹽條件下生存。於冷凍食品及酸性食品中比大腸桿菌存活久，而在噴霧乾燥食品和蛋粉中亦比coliform及E. coli存活時間長，所以腸球菌及糞便鏈球菌作為指標微生物可以直接或間接的推論食品遭受糞便污染的情

況，但因其廣泛存在於自然界中，因此縱然被檢查出來亦往往無法證明含有病原菌，故尚無法成爲一良好的指標微生物。

表三 大腸桿菌群IMViC鑑別系統

細菌名稱	I n d o l e	甲基紅(MR)	歐普氏(VP)	檸檬酸 (Citrate)	44 °C	明膠(Gelatin)
E. coli I	+	+	-	-	+	-
E. coli II	-	-	+	-	-	-
E. coli III	+	+	-	-	-	-
C. freundii I	-	+	-	+	-	-
C. freundii II	+	+	-	+	-	-
K. aerogenes I	-	-	+	+	-	-
K. aerogenes II	+	-	+	+	-	-
K. cloacae	-	-	+	+	-	+
Erw. arotovora	-	-	+	+	-	+

e. 大腸桿菌噬菌體 (coliphage)

大腸桿菌噬菌體 (coliphage) 爲寄生於大腸菌之噬菌體，近來被提出當作水質污染之指標(有人認爲較優於大腸菌之指標者)，但是大腸桿菌噬菌體之寄主特異性及其來自排泄物污染之可能性，使得以大腸桿菌噬菌體做爲指標菌至目前爲止仍尚未被普遍接受，不過由於它可被快速檢出 (4 -6小時)，因此對於食品衛生之檢測上仍有其意義的。有些報告指出， coliphage 與糞便指標菌 (fecal indicator bacteria) 之間，及大腸桿菌噬菌體與腸病毒 (enterovirus) 間具有高度顯著相關性且呈直線關係。大腸桿菌噬菌體通常依其不同感染溫度範圍，分爲：

- ①. 高溫性大腸桿菌噬菌體—來自溫血動物之腸道；可在30°C或以上之溫度生長。
- ②. 中溫性大腸桿菌噬菌體—來自腸道或水中；可在20-40°C生長。
- ③. 低溫性大腸桿菌噬菌體—只來自水中；可在20°C或以下之溫度生長。

3. 病原性微生物：

雖可直接顯示食品之衛生狀況，但由於具有檢驗耗時長、成本高、效率低等缺點，在現代世界追求時效的要求下，使用衛生指標微生物此直接檢查食品病原菌更爲實際、有效率。有關我國食品衛生管理規定食物中毒病原菌種類與

檢出規定如表五所示，而美國國家科學院食品保護學會依食物中毒病原菌危害性將其分為三大類：

- a. 嚴重危害性：此類如肉毒桿菌、霍亂弧菌、沙門氏菌與黴菌毒素。
- b. 中度且具廣泛擴散危害性：此類如病原性大腸桿菌。
- c. 中等但有限擴散之危害性：此類如腸炎弧菌、金黃色葡萄球菌、產氣莢膜桿菌、仙人掌桿菌。

表四 食品衛生指標菌（大腸桿菌群與腸球菌）之比較

特 性	大 腸 桿 菌 群	腸 球 菌
形態	桿菌	球菌
革蘭氏反應	陰性	陽性
腸道中存在情形	$10^7 \sim 10^9$ / 每克糞便	$10^5 \sim 10^8$ / 每克糞便
動物糞便存在情形	少數動物無	多數有
腸道外存在情形	量少	量高
分離、鑑定難易度	易	難
環境耐抗性	弱	強
對冷凍之抵抗性	弱	強
冷凍食品中之殘存率	低	高
乾燥食品中之殘存率	低	高
生鮮蔬菜檢出率	低	高
新鮮肉類檢出率	低	低
醃漬肉中檢出率	低或無	高
與食品腸道病原菌之相關性	高	低
與食品非腸道病原菌之相關性	低	低

表五 污染食品或食品添加物食品中毒原因菌

中文名稱	英文名稱	食品衛生管理法 規定最大容許量
腸炎弧菌	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (VP)	不得檢出(或含有)
病原性葡萄球菌	Pathogenic <i>Staphylococcus</i>	不得檢出(或含有)
A群鏈球菌	<i>Streptococcus</i> Group A	不得檢出(或含有)
布魯氏桿菌	<i>Brucella</i>	不得檢出(或含有)
肉毒桿菌	<i>Cl. botulinum</i>	不得檢出(或含有)
產氣莢膜桿菌	<i>Cl. perfringens</i>	每公克食品100個以下
病原性沙門氏菌	Pathogenic <i>Salmonella</i>	不得檢出(或含有)
志賀氏桿菌	<i>Shigella</i>	不得檢出(或含有)
病原性大腸桿菌	Pathogenic <i>E. coli</i>	不得檢出(或含有)
曲狀桿菌	<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	不得檢出(或含有)
仙人掌桿菌	<i>B. cereus</i>	每100公克食品 100個以下
耶辛尼氏腸炎桿菌	<i>Yersinia enterocolitica</i>	不得檢出(或含有)
其他病原性微生物	other pathogenic microorganism	不得檢出(或含有)

表六 細菌性食物中毒原因菌

傳統中毒細菌	新中毒細菌
沙門氏菌 (<i>Salmonella</i>)	NAG vibrio (非O1型霍亂弧菌和 <i>Vibrio mimicus</i>)
腸炎弧菌 (<i>V. parahaemolyticus</i>)	耶氏腸炎桿菌 (<i>Yersinia enterocolitica</i>)
金黃色葡萄球菌 (<i>Staph. aureus</i>)	彎曲性桿菌 (<i>Campylobacter jejuni/coli</i>)
肉毒桿菌 (<i>Cl. botulinum</i>)	<i>Aeromonas hydrophila</i>
產氣莢膜桿菌 (<i>Cl. perfringens</i>)	<i>Aeromonas sobria</i>
病原性大腸桿菌 (<i>E. coli</i>)	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
仙人掌桿菌 (<i>B. cereus</i>)	<i>Vibrio fluvialis</i>

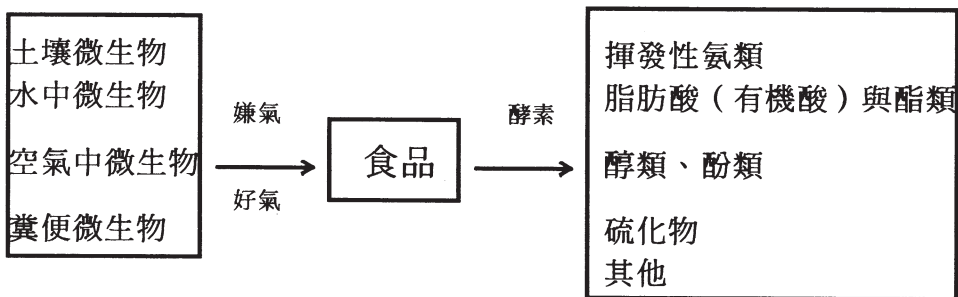
4. 腐敗性微生物

腐敗性微生物雖然與食品衛生無直接相關，但與食品品質卻有莫大關連。尤其在低水活性食品中，一般中毒微生物不易繁殖，故此類產品通常並無安全上之顧慮，此時與品質有關之腐敗性微生物反而扮演較重要角色。食品腐敗與微生物關係如圖三所示，常見之腐敗性指標微生物如下列所示：

- a. 偽單胞菌 (*Pseudomonaden*)
- b. 乳酸菌 (*lactic acid bacteria*)
- c. 小球菌 (*Micrococci*)

- d. 嗜熱性孢子(total thermophilic spore count)
- e. 平酸孢子 (flat sour spores)
- f. 嗜熱性厭氣孢子 (thermophilic anaerobe spore)
- g. 硫化物腐敗孢子 (sulfide spoilage spore)
- h. 真菌 (mold count)
- i. 酵母菌(yeast)

圖三 食品腐敗與微生物



四、如何選定指標微生物

指標微生物選訂時，由於作為指標用時，須對指標微生物之意義與適用標準性應慎重考慮，選擇時須有下列幾點考量：

- (1)專一性 (specificity)，必須可以用來推論是否與糞便污染或水源污染之微生物有關。
- (2)代表性，必須是非自然存在於該項食品中。
- (3)易於培養、判別，檢驗簡單快速且最好有標準的檢查方法。
- (4)外在環境高度抵抗性，須考慮其在受檢食品中的生長及存活情形，如Coliform在低溫下易於死亡，則其檢查結果便失去判斷的意義。

因此選擇指標微生物，除依據食品來源、加工條件、貯藏運輸狀況、食用前處理條件等要素下考慮外，更要注意下列兩項原則：

- 1.一般原則：應包括a. 流行病學資料。b. 原料中微生物狀況。c. 食品加工及貯藏過程微生物污染或生長之影響。d. 對於消費者危害程度。e. 執行規定時之成本與效益。
- 2.參考原則：a. 擬檢驗微生物種類(或毒素)。 b. 檢驗方法。c. 取樣的規劃。d. 不同食品中的最大容許量。e. 取樣量所適合之範圍。

期使所選訂指標微生物具有實質衛生或品質管理上之意義，以提供消費大眾的食品衛生安全的保障。