

第二章 微生物與低溫關係

第一節 殺菌作用 (sterilization) 與 靜菌作用 (Bacteriostatic)

表 1 食品保藏方法與細菌狀態的關係

保藏方法	細菌的狀態	靜菌	殺菌
冷藏	靜菌的狀態	✓	×
冷凍	主要靜菌的狀態	✓	✓
乾燥	"	✓	✓
鹽漬	殺菌的狀態	✓	✓
*糖漬	"	✓	✓
防腐劑	主要為殺菌的狀態	✓	✓
抗生物質	殺菌的狀態	×	✓
罐製	"	×	✓
燻製	"	✓	✓
照射	"	×	✓

* 視糖漬時溫度而定

1

第二節 低溫與酵母菌、黴菌之關係

微生物發育的最低水活性

微生物	發育之最低水活性
一般細菌	0.90
一般酵母	0.88
一般黴菌	0.80
好鹽性細菌	≤ 0.75
耐乾燥性黴菌	0.65
耐滲透壓性酵母	0.61

3

絕對滅菌 (absolute sterilization)、商業殺菌 (commercial sterilization)、高溫高壓殺菌 (high temperature high pressure sterilization)、低溫殺菌 (low temperature sterilization)、巴斯德殺菌 (pasteurization)

靜菌作用 (Bacteriostatic)

微生物停止生長、發育的現象稱之

2

有的酵母在 10~20°C 即失去發酵力

有的在 3~5°C 仍有發酵力。

Saccharomyces 屬酵母菌具有較強的低溫耐性，

於 -90°C 仍不致死滅。其低溫耐性隨酵母菌種類、成熟度、培養基種類不同而異。

黴菌亦有低溫耐性，在零下 6~10°C 下仍會緩慢繁殖。凍藏溫度下酵母與黴菌呈靜菌作用，解凍後仍會引起發酵或發黴。

4

第三節 低溫與細菌關係

一、食品腐敗細菌

表2 常見的食品腐敗細菌

好 氣 性 菌		
孢子形成細菌	無孢子細菌	嫌氣性孢子形成菌
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Clostridium putrificum</i>
<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Aerobacter cloacae</i>	<i>Clostridium sporogenes</i>
	<i>Proteus vulgaris</i>	
<i>Bacillus vulgatus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
	<i>Serratia marcescens</i>	

5

TABLE 3.2. GENERIC DISTRIBUTION OF THE MICROBIAL FLORA OF ENGLISH SOLE STORED IN ICE²

	Days in ice					
	3 days		9 days		16 days	
	Skin	Flesh	Skin	Flesh	Skin	Flesh
<i>Pseudomonas</i>	28	0	72	83	98	87
<i>Achromobacter</i>	18	50	5	3	1	1
<i>Flavobacterium</i>	3	25	3	2	0	0
<i>Alcaligenes</i>	3	0	7	2	1	4
Cocci (gram +)	33	0	0	0	0	0
Rods (gram +)	10	25	13	3	0	7
Yeasts	5	0	0	0	0	1
Total %	100	100	100	100	100	100
Total no. of isolates	39	4	64	68	85	82

Source: Bannerjee (1967).

¹ Values given in percentage.

7

表3 常見的魚類初期腐敗細菌

<i>Pseudomonas</i> 屬	<i>Flavobacterium</i>	<i>Achromobacter</i>
<i>P. fluorescens</i>	<i>F. fucatum</i>	<i>A. litorale</i>
<i>P. putida</i>	<i>F. turcosum</i>	<i>A. sinussum</i>
<i>P. schuykilliensis</i>		<i>A. pellucidum</i>
		<i>A. ambigunm</i>
		<i>A. geniculatum</i>
		<i>A. tabificum</i>

*Micrococcus*及*Mycobacteria*除了分解蛋白質外，尚可分解魚蝦外殼的幾丁質。

6

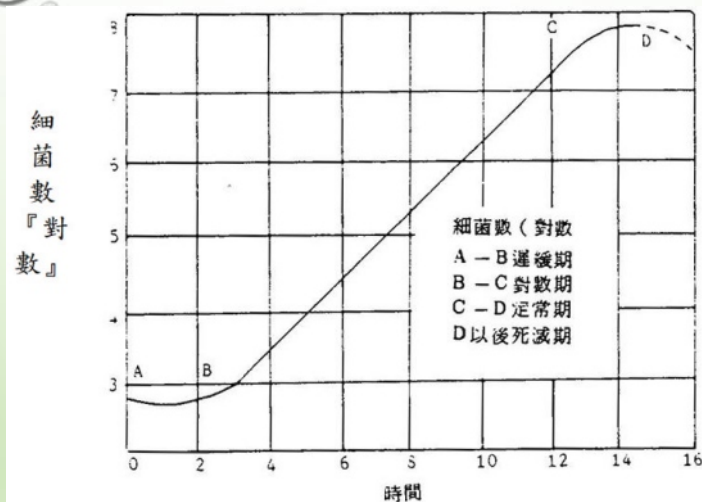


圖1 純粹培養細菌的發育曲線

8

表 11. 新鮮和輕度保存海產食品的特定腐敗生物群

海產食品	常態的特定腐敗微生物	產生的代謝物
新鮮冷藏於大氣中的產品		
各種類，特別是含 TMAO*和 pH > 6	硫化氫產生的希瓦氏菌屬 (<i>Shewanella</i>) ^a	TMA*、硫化氫及其它硫化化合物、次黃嘌呤
各種類，包括 TMAO 產生很少或不產生和 pH 約 6 附近	假單胞菌屬(<i>Pseudomonas</i> spp.)	氨、酯類、硫化化合物但不含硫化氫
新鮮冷藏於調氣包裝中的產品		
來自海水溫度低於-15°C 的含 TMAO 的種類	磷光發光菌(<i>Photobacterium phosphoreum</i>)	TMA、次黃嘌呤、醇類、酮類和生物胺
來自溫暖水體的種類，特別是 TMAO 很少或無的種類	乳酸菌和熱殺環螺 ^b	醋酸、氨、酰胺、乙醯甲基甲醇(acetoin)、丁二酮、硫化氫
來自熱帶淡水體的種類	氣單胞菌屬(<i>Aeromonas</i> spp.)	?
新鮮及輕度保藏產品貯藏於室溫	氣單胞菌屬 弧菌屬(<i>Vibrio</i> spp.)發光桿菌屬(<i>Photobacterium</i> spp.) 腸道細菌科(<i>Enterobacteriaceae</i>) 糞腸球菌(<i>Enterococcus faecalis</i>)	TMA、硫化化合物、生物胺
輕度保存與冷藏產品 鹽漬、加香羊料及煙燻產品，包含魚卵	乳酸菌 ^c 和熱殺環螺 磷光發光菌、弧菌屬和腸道細菌科 ^d	醋酸、氨、酰胺、乙醯甲基甲醇、丁二酮、硫化化合物 TMA、生物胺、醇類、醛類、硫化化合物

^a 腐敗希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*)、波羅的海希瓦氏菌(*Shewanella baltica*)和其它密切相關的硫化氫產生革蘭氏陰性菌。
^b 熱殺環螺(*Brochothrix thermosphacta*)對在含氧調氣環境中的產品是重要的。
^c 包括彎曲乳酸桿菌(*Lactobacillus curvatus*)、清酒乳酸桿菌(*Lactobacillus sake*)和明串珠菌屬(*Leuconostoc* spp.)。
^d 包括聚團腸桿菌(*Enterobacter agglomerans*)、蜂房哈夫尼亞菌(*Hafnia alvei*)和液化沙雷菌(*Serratia liquefaciens*)。* TMAO = 氧化三甲胺(trimethylamine oxide); TMA = 三甲胺(trimethylamine)。
 資料來源：修改自 Dalgaard (2006)。

二、溫度與細菌繁殖及分解作用之關係

表 4 細菌的發育與溫度的關係

區 別	溫 度 範 圍 (°C)			細 菌 種 類
	最 低	最 適	最 高	
低 溫 細 菌 (Psychrophiles)	-5~5	20~30	35~45	發光菌，水中菌
中 溫 細 菌 (Mesophiles)	10~15	35~40	40~50	病原菌，腐敗菌
高 溫 細 菌 (Thermophiles)	35~40	55~60	65~75	溫泉及堆肥中細菌

微生物大都存在於魚體外部表面(如魚皮、鰓部)和腸道，皮膚 $10^2 \sim 10^5$ cfu/cm²，鰓部 $10^3 \sim 10^7$ cfu/g，腸道 $>10^8$ cfu/g，腸道微生物的濃度變動大，與水生動物的食物攝取有關。主要的革蘭氏陰性菌群為：(1)不動桿菌屬(*Acinetobacter*)和莫拉氏菌屬/冷桿菌屬(*Moraxella/Psychrobacter*)，(2)假單胞菌屬(*Pseudomonas*)和希瓦氏菌屬(*Shewanella*)，(3)黃桿菌屬(*Flavobacterium*)和嗜胞菌屬(*Cytophaga*)，(4)弧菌屬(*Vibrio*)和發光桿菌屬(*Photobacterium*)，(5)氣單胞菌屬(*Aeromonas*)，(6)腸桿菌科(*Enterobacteriaceae*)。優勢的革蘭氏陽性菌群為球菌類(cocci)，主要是微球菌屬(*Micrococcus*)、棒狀桿菌屬(*Coryneforms*)和枯草桿菌屬(*Bacillus*)、梭菌屬(*Clostridium*)和乳酸菌之桿菌(rods)。通常，海產食品的腐敗大部分是由和產生生物胺(biogenic amines)、醇類、組織胺、腐胺(putrescine)、硫化物、有機酸、醛類和酮類等關連的微生物的生長和代謝引起。嗜冷菌(psychrophilic bacteria)是造成冷藏或冷凍海產食品的腐敗的主要微生物群。由於水生動物腸道中的微生物濃度高，加工過程中產品的污染就顯得重要且難以避免。消化道發達的海洋魚類含有特定的腸道微生物菌群，由包括發光發光菌(*Photobacterium phosphoreum*)的海洋弧菌屬(vibriosis)組成。弧菌屬/發光桿菌屬、假單胞菌屬和腸桿菌科在海洋魚類的腸道菌群中占主導地位，反之腸桿菌科、氣單胞菌屬和假單胞菌屬在淡水種類的腸內含量中占多數。

表 5 低溫細菌的發育與死滅溫度

屬 名	發 育 溫 度 (°C)			死滅溫度 (°C)
	最 低	最 適	最 高	
<i>Micrococcus</i>	-7.5	20~25	30	37
<i>Serratia</i>	-5.0	20	30	37
<i>Flavobacterium</i>	-5.0	20	37	40
<i>Pseudomonas</i>	-8.0	20~37	—	—
<i>Achromobacter</i>	-7.5	20~25	30	37
海 洋 細 菌	-7.5	20~30	—	—

TABLE 1
Optimum and Maximum Growth Temperatures for Some Psychrophilic Bacteria

Isolate	Optimal growth temperature (°C)	Maximum growth temperature (°C)	Reference
<i>Vibrio marinus</i> MP-1	15	20	Morita & Haight (1964)
Ant-300 (<i>Vibrio</i> sp.)	7	13	Geesey & Morita (1975)
<i>Pseudomonas</i> spp.	14	19	Harder & Veldkamp (1967)
<i>Vibrio</i> AF-1	15	21	Bell (1976)
<i>Vibrio</i> AM-1	6	16	Bell (1976)
<i>Vibrio</i> BM-2	4	14	Bell (1976)
<i>Vibrio</i> BM-4	8	17	Bell (1976)

13

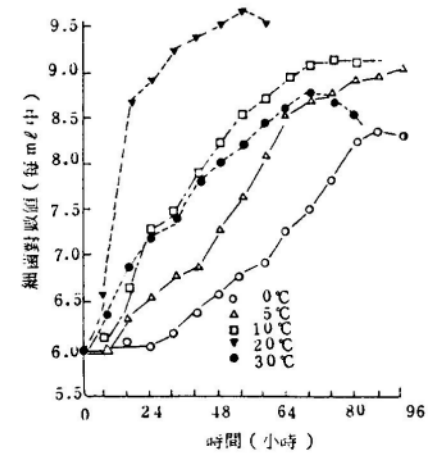


圖2 *pseudomonas fluorescens* 在各種溫度下的繁殖情形

15

由圖可知，低溫下，細菌繁殖速度較慢，其遲滯期較長。溫度越高，溫度分裂的時間越短，繁殖越快。

低溫菌又分好冷菌 (Obligate psychrophile) 及耐冷菌 (Facultative)，好冷菌最適生長溫度在0°C附近，耐冷菌在零下5°C下尚能生長。

絕大部分的病原菌屬於中溫菌，中溫菌置於低溫時慢慢具備低溫菌的特性，這種現象稱為溫度馴化(Acclimatization)。

與食品腐敗有關的微生物涵蓋高、中、低溫細菌皆有。魚肉中的腐敗菌如 *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* (表5) 屬於耐冷菌。

14

表6 不同溫度下低溫細菌菌落的發生與時間的關係

溫度 (°C)	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Flavobacterium decidiosum</i>	<i>Achromobacter</i> sp.
20	2天	2天	2天
5	4	4	4
0	15	15	46
-3	29	29	65
-6.5	100	100	120 (不發育)
-10	100 (不發育)	100 (不發育)	120 (不發育)

由圖可知，低溫下，細菌繁殖速度變慢，在零下10°C下即失去繁殖能力。*Pseudomonas* 在零下6.5°C下仍然可以繁殖，*Achromobacter*則無法繁殖。一般認為0°C下細菌尚能發育，但會失去脂肪及蛋白質分解能力，僅保有微弱的碳水化合物發酵能力。

16

三、細菌的低溫耐性

表8 細菌的低溫耐性

菌名	溫度 (°C)	時間	基質
<i>Salmonella enteritidis</i>	- 23.2	2~3年	冰淇淋中
<i>S. aertrycke</i>	"	"	"
<i>Brusella abortus</i>	"	"	"
<i>B. meletinis</i>	"	"	"
<i>Micobacterium tuberculosis</i>	"	"	"
<i>M. avium</i>	"	"	"
<i>Schwine-Abortus</i>	"	"	"
<i>Aerobacter aerogenes</i>	- 9.4	2年以上	豆
<i>Lactobacillus cucumeris</i>	"	"	"
<i>Aerobacter aerogenes</i>	- 20	—	—
<i>Aerobacter aerogenes</i>	-190	—	液態空氣
<i>Aerobacter aerogenes</i>	-253	—	液態氧

由表可知，細菌在低溫能部分生存相當長的時間。

表10 螢光菌在 - 6°C 凍藏中的死亡率

凍藏時間 (天)	死亡率 (%)
8	71
16	70
32	89
64	96
128	98
250	99.9

凍藏時間越長，低溫耐性越差，死亡率越高。

表9 螢光菌在低溫時的死亡率

培養期間	死亡率 (%)
1天	72
8.5週	41
14週	0

細菌的低溫耐性與培養時間、冷卻溫度時間、最初菌數、食品種類有關。由表9可知，培養時間越短，低溫耐性越差。

表11 不同溫度下螢光菌的死亡率

溫度 (°C)	死亡率 (%)	凍結所需時間 (分)
0	26	未經凍結
- 3	27	25
-6.5	35	25
-10	93	1
-16	98	1

凍藏溫度越低，低溫耐性越差，死亡率越高。

第四節、冷凍食品與微生物

一、凍結對微生物細胞之影響

表12 大腸菌的低溫耐性

凍藏溫度 (°C)	凍藏時間(天)中的細菌數				
	11	18	25	32	42
-20	417,000	250,000	315,000	398,000	367,000
-10	314,000	154,000	135,000	136,000	110,000
-5	45,800	14,000	5,500	9,000	8,300
-3	57,300	7,000	2,120	1,800	790
-2	17,350	—	—	1,000	160
-1	91,000	2,900	4,500	1,490	1,300

最大冰晶生成帶，細菌的死亡率反而比零下20°C為高。低溫可使微生物部分死滅，但無法達到完全殺菌效果。

表13 凍結對食品細菌數含量的影響

食 品	每克食品所含細菌數	
	凍結前	凍結後
鱈魚片 (<i>Haddock fillet</i>)	77,000	32,000
肉餅 (<i>Hamburger steak</i>)	11,600,000	2,200,000

於魚片中細菌數殘存約41.5%，於肉餅中細菌數殘存約19%。

四、低溫對細菌細胞之影響

凍藏初期細菌出現代謝障礙的機率較大

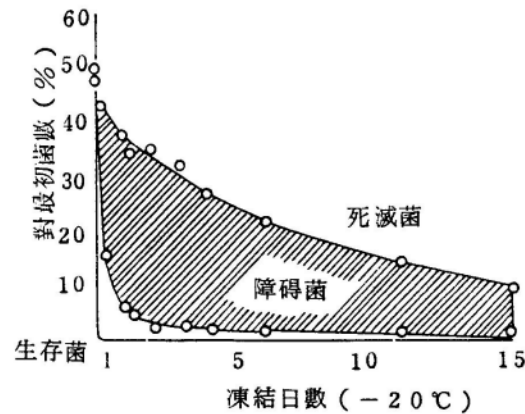


圖5 大腸菌在-20°C凍藏中之代謝障礙

一般認為0°C下細菌尚能發育，但會失去脂肪及蛋白質分解能力，僅保有微弱的碳水化合物發酵能力。故低溫對細菌代謝會形成**障礙**

低溫可能造成細菌細胞膜損傷，改變其調整滲透壓能力

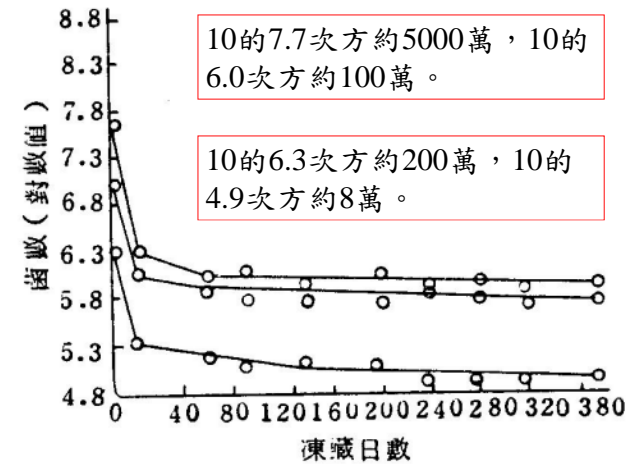


圖6 -40°C凍結之凍蝦在-20°C凍藏中生菌數之變化

二、凍藏速度對微生物死亡率之影響

凍結造成微生物死亡的原因係微生物細胞膜受到冰晶的機械損傷、蛋白質變性等。

慢速凍結微生物的死亡率較高，快速凍結微生物的死亡率反而較少。可能原因為慢速凍結形成的冰結晶對細菌的損傷較大，或是凍結速度較慢時，微生物曝露在因凍結濃縮之溶質中的時間較長，故而引起障害或死滅。

25

表14 最初細菌數與凍藏中細菌死亡率之關係

海水 1ml 中 Pseudomonas fluorescens 的含量	-16°C凍藏中之死亡率 (%)
81×10^6	11
79×10^4	30
78×10^2	50

最初菌數越高則細菌凍藏中的死亡率越低，故，冷凍原料進場前應盡量維持其新鮮度及低溫以降低其細菌數。

27

三、最初細菌數對凍藏中微生物死亡率之影響

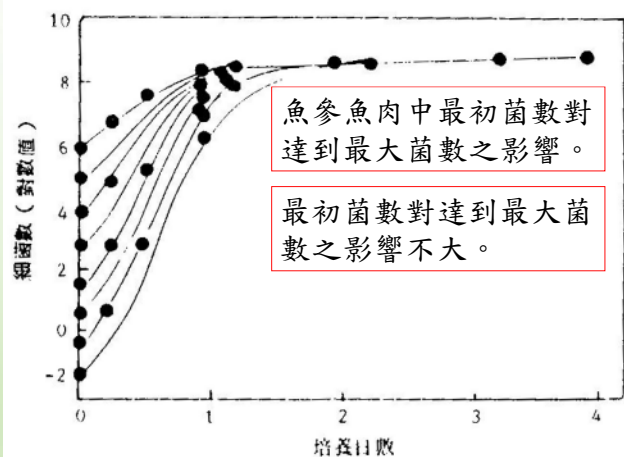


圖7 最初污染菌數與微生物繁殖之關係

26

四、pH與基質與凍藏中微生物死亡率之關係

表15 不同基質繁殖的病原菌的低溫耐性

細菌別	基質		
	水	酒	糞便
傷寒菌	40~50天	40~50天	40~50天
霍亂菌	2~4	3~6	6~30
大腸菌	30	100天以上	100天以上

細菌在中性最容易發育，但若貯存於低溫環境下，則不易死滅。偏酸、鹼較不容易發育，但若貯存於低溫環境下，則容易死滅。不同基質下存活天數亦不同(表15)。霍亂弧菌於海水中可存活7天，肉汁中可存活12~28天。

28

五、食品種類與凍藏中微生物死亡率之關係

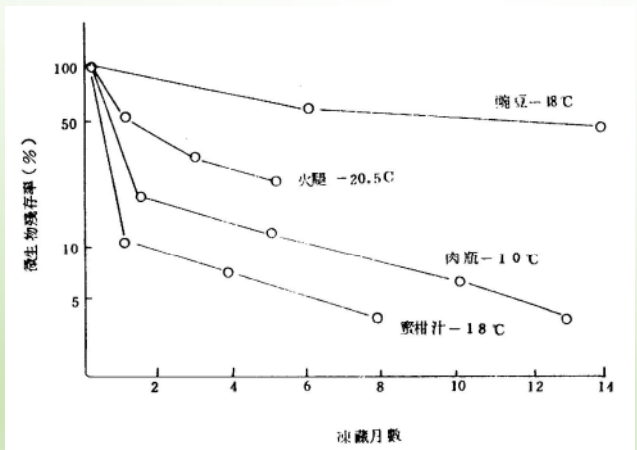


圖 8 不同凍結食品在凍藏中微生物的殘存率

不同食品中的微生物之死亡率也不同，可能因其**基質**與**pH**不同所致。

表16 不同溫度下猪肉及其製品中旋毛蟲 (*Trichinella spiralis*) 的死滅時間

溫度 (°C)	死滅時間 (天)	
	第一組	第二組
-15	20	30
-23	10	20
-29	6	12

美國農業部(USDA)對肉品中寄生蟲提出的建議如表16。第1組為厚度不超過6吋者，第二組為厚度6~27吋者。此外，所有加工製程應維持在4.4°C以下。

*Streptococcus*在濃縮果汁或敏豆中，於零下18°C下貯存147天之菌數並無減少；但若是*E. Coli*中，貯存於同樣條件下，則菌數大幅減少。

*Salmonella*在櫻桃中，於零下18及40°C下可耐2~3個月；但在雞肉中，於零下25°C下可耐9個月。

六、凍藏時間及溫度與凍藏中微生物死亡率之關係

食品中的微生物因凍藏時間的增加而**減少**。

表17 冷凍加糖草莓在冷藏中 (-18°C) 細菌的生存期間

細菌名	生存期間(月)
<i>Eberthella typhosa</i>	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	5
<i>Salmonella aertrycke</i>	1
<i>S. schottmii</i>	1
<i>S. paratyphi</i>	沒有生存發現

凍藏時間越久，微生物死亡率增加。

表18 液卵在凍藏中 (-18~-29°C) 細菌的減少情形

冷藏日數	減少率 (%)
12	55
30	62
60	87
400	90

表19 在-20°C凍藏中冰淇淋中傷寒菌的減少情形

日數	細菌數 (×1000)	日數	細菌數 (×1000)
製造前	25,000	200	60
製造後	51,000	290	53
5	10,000	342	51
12	7,000	430	30
20	2,000	544	13
70	660	648	11
134	210	2年4個月	存在

凍藏時間越久，微生物死亡率增加。

七、反覆凍結及解凍與微生物低溫死亡率之關係

表20 反覆凍結及解凍對細菌的影響

凍藏時間	凍結狀態	凍結及解凍次數
0	40,896	40,896(0次)
24小時	29,780	90(3次)
3天	1,800	0(5次)
4天	9,500	0(6次)

※ 1cc試料中的細菌數(傷寒菌)

凍結及解凍次數越多，微生物死亡率越大。

於零下4°C微生物之死亡率較其他低溫為高。零下193°C微生物之死亡率與其他低溫者相當。

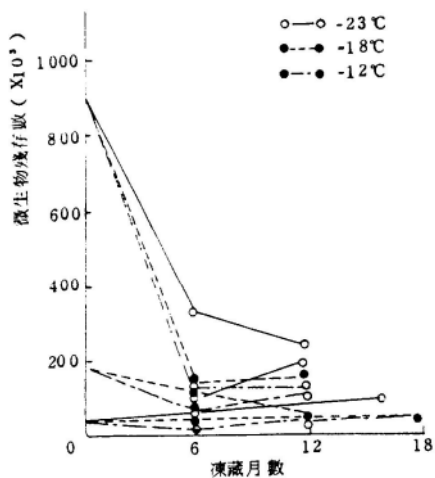


圖9 冷凍四季豆在凍藏中微生物的死滅情形

微生物死亡並非越低溫死亡率越高，於零下12°C反而較零下18或23°C為大。

七、解凍放置溫度與微生物繁殖之關係

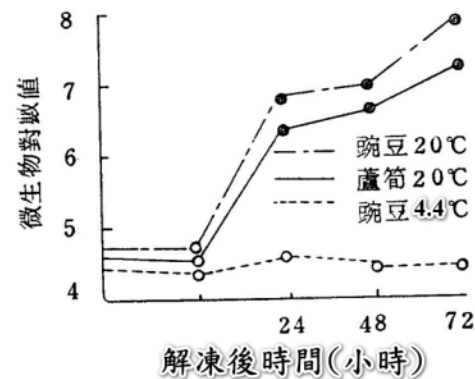


圖10 冷凍豌豆及蘆筍解凍後 micrococci 為含量變變化

解凍後放置溫度越高微生物易增生。

水產品解凍至凍結點以上，須注意低溫菌的繁殖。