蘆筍罐頭的平酸腐敗細菌及其熱死滅時間

Flat Sour Spoilage Bacteria in Canned Asparagus and the Thermal Death Time

林朝京、吳碧鏗、林達寬

by

C. C. Lin B. K. Wu and D. K. Lin

摘 要

台灣蘆筍罐頭之腐敗，經發現係由Bacillus stearothermophilus 所致，本試驗分離此種細菌之F_{250}值爲14.2 分，Z值爲17.8°F。

前 言

平酸腐敗，主要發生於低酸性食品，如豌豆、玉米及皇帝豆[6] 等，但亦可發生於中酸性食品，如菠菜、四季豆、蘆筍及甜菜等。

台灣之罐頭蘆筍自從1963 年開始大量生產以後，發生了平酸腐敗現象。本報告係就平酸腐敗之蘆筍罐頭或有關材料分離出之Bacillus stearothermophilus 菌株之生物特性及耐熱性，提出報告。

試驗材料與方法

一、細菌之分離：自蘆筍栽培床之土壤，蘆筍原料，封罐前之罐頭蘆筍以及酸敗之罐頭蘆筍中分離有無B. Stearothermophilus 之存在，本試驗之分離方法，係依據Knock[8] 氏方法及美國公共衛生協會[1] 所建議之方法，加以改變者。平酸細菌的分離，使用單倍及雙倍DT 培養基（Dextrose-tryptone Agar 加bromcresol purple），其保存則使用YD 培養基（Nutrient agar 加yeast extract dextrose）[13]。

菌株之分離方法如下：將土壤浸出液（一份土壤加四份水）用紗布過濾，混和以等量雙倍濃度之熔融DT 培養基，冷却前在110°C 加熱十分鐘，然後倒入二重皿中；將蘆筍原料與等體積之水煮開二十分鐘，取其上層清液，混合以等量雙倍濃度之熔融DT 培養基，然後倒入二重皿中；封罐前之筍罐鹽液，與等量雙倍濃度之DT 培養基混合，100°C 加熱二十分鐘，倒入二重皿中；在55°C 保溫七天發生酸敗蘆筍罐之湯液，先煮沸二十分鐘，取2 ml 與10 ml ，單倍濃度之DT 培養基混合；俟培養基固化後，以同樣之培養基覆蓋之。

所有二重皿均置於55°C 保溫72 小時，分離帶有黃色暈輪之菌株，供試驗之用。

二、蘆筍罐頭之接種：取分離所得細菌之24 小時培養液10ml，接種於100 ml DT 培養液中，在55°C 保溫三天後，以100°C 加熱20 分鐘，殺死營養細胞以獲得其芽胞，再將此芽胞接種於蘆筍罐頭（內容量425g，固形量280g，糖份0.3%，鹽2.0%，pH 5.4）中，每罐芽胞10^6個，重予密封，並在120°C，加熱6，11及16分或116°C 12，18及24 分各殺菌二罐。

本文原載于61年3月食品工業發展研究所研究報告第23號（食品微生物之4）

三、分離細菌之鑑定：分離菌株之形態與生態依Manual of Microbiological Methods[13]及Fundamental Principles of Bacteriology[12]二書之方法鑑定之。

四、熱死滅時間（TDT ）之測定：將上述方法產生之芽胞懸浮於DT 培養液（pH6.8 ）中，以滅菌棉過濾之。取2ml ，置於TDT 管（內徑7 mm ，外徑9 mm ，長150 mm ）中，以火焰密封之[3]，本試驗以菌株FRI 131 行之，每一試驗條件使用TDT 管十支，以自動控制溫度之油槽（Oil bath）加熱，加熱完畢，以水冷却，置於55°C 保溫四天，觀察其是否生長。

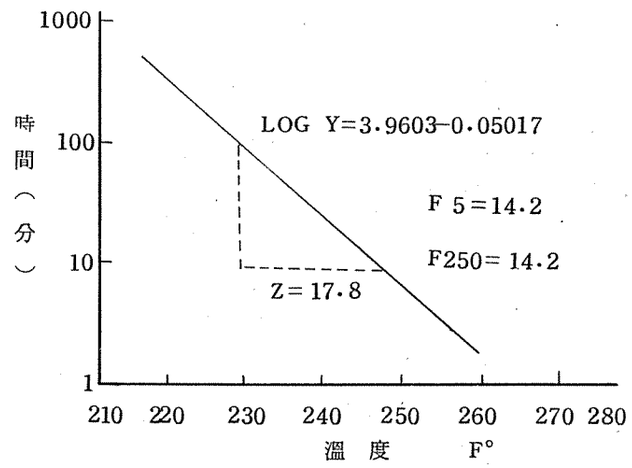
結 果

本試驗自蘆筍罐頭及有關材料中分出菌株六株（FRI 211及212 分離自蘆筍罐頭，131及132自鹽液，133自原料，660自蘆筍園泥土），所有這些菌株接種蘆筍罐頭行殺菌不足（120°C，6分或116°C 12 分）者，並在55°C 保溫六天後均引起平酸腐敗，腐敗罐之湯液混濁，有酸臭，pH 在4.4至4.6之間，經相同時間保溫之未腐敗罐湯液澄清，嘗味正常，pH 爲5.0。

分離之菌株爲短桿狀，大小爲0.5×1.5至5.0μ，有中度之活動性，胞子大小爲1.0×1.5至2.0μ，在極端或靠極端之處形成之部份細胞形成，並爲格蘭氏陰性染色反應。

所有菌株均能水解澱粉及骨膠（Gelatin），但不產生indole 或acetylmethylcarbinol 。僅菌株FRI 212 一株不還元硝酸爲亞硝酸，所有菌株均可從glucose，mannose，fructose，sucrose，maltose，starch 及salicin 產生酸而不產生氣體，但不能以Xylose，arabinose，rhamnose，lactose，inulin，cellulose，mannitol 或glycerol 產生酸，最適生長溫度爲55 至65°C ，最高生長溫度爲72°C ，在37°C 均不生長。

FRI 菌株之131 TDT 曲線（胞子濃度爲1.4×10^3/ml，DT Broth，pH 6.8）如圖一，由本圖資料求得F_{250} = 14.2 分，Z = 17.8°F。



圖一 TDT曲線

討 論

平酸腐敗主要係由耐熱胞子形成細菌，如B. thermoacidurans，B. coagulans，B. stearothermophilus 及B. pepo 等所引起[6,7] ，但本試驗分離之菌株，依Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 鑑定係B. stearothermophilus。

本試驗分離之菌株，其發酵特性，（如表一所示）與Cameron 及Esty[4] 所報告者略有不同。

食品腐敗細菌及其胞子之耐熱性，前人曾有甚多之研究，在文獻上，B. stearothermophilus 之F 值亦有許多不同之記載。Bigelow[2] 發現B. stearothermophilus NCA 1518之F 值爲5.2分（250°F或121°C），Reed，Bohrer，及Cameron[10]等所發表之數字爲25.3 分（在pH 7.0 磷酸緩衝液中）及44 分（在豌豆泥中）。Fields 及Finley[5] 以NCA 1518 胞子懸浮液所求得之數字爲250°F，7.0分。本試驗（FRI 131）之結果爲250°F（121°C），14.2 分，Z 值爲17.8°F。這些差異可能係一般所公認之因素，如pH ，鹽液濃度，糖及碳水化合物濃度，脂肪濃度，水份，胞子濃度及老、幼程度，以及殺菌方法等之不同所致[9,11] ，最近Rotman 和Fields[11] 等發現，甚至同一B.

stearothermophilus菌株，其平滑與粗糙變異孢子之D_{250F} 值各爲2.32及1.42分。

表一　本試驗分離菌株與Cameron及Esty報告資料之比較

是否能就下列培養基產生酸	本試驗分離之菌株	Cameron及Esty分離菌株			
		1792	1592	1476	1356
Arabinose	−	+	+	+	−
Fructose	+	+	+	−	+
Lactose	−	−	−	+	−
Salicin	+	−	−	+	−
Glycerol	−	+	+	−	+

參考文獻

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1958. Recommended methods for the microbiological examination of foods, p. 32-39. American Public Health Assoc., New York.
2. BIGELOW, W. D. 1921. The logarithmic nature of thermal death time curves J. Infect. Diseases 29: 528.
3. BIGELOW, W. D., AND J. R. ESTY. 1920. The thermal death point in relation to time of typical thermophilic organisms. J. Infect. Diseases 27: 602.
4. CAMERON, E. J., AND J. R. ESTY. 1926. The examination of spoiled canned foods. 2. Classification of flat sour spoilage organisms from nonacid foods. J. Infect. Diseases 39: 89-105.
5. FIELDS, M. L., AND N. FINLEY. 1962. Studies on heat responses of bacterial spores causing flat sour spoilage in canned foods. III. Effect of storage time on activation and thermal destruction responses. Missouri Univ. Agri Expt. Sta. Res. Bull. No. 807.
6. FRAZIER, W. C. 1958. Food microbiology, p. 319-329. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.
7. JAPANESE MINISTRY OF WELFARE AND HEALTH. 1950. The direction to sanitary examination (Japanese). 3(1): 82.
8. KNOCK, G. G. 1954. A technique for the approximate quantitative prediction of flat souring in canned peas. J. Sci. Food Agr. 5: 113-119.
9. MARK, E. M., AND G. F. STEWART. 1949. Advan. Food Res. 2: 47-115.
10. REED, J. M., C. W. BOHRER, AND J. E. CAMERON. 1951. Spore destruction rate studies on organism of significance in the processing of canned foods. Food Res. 16: 383.
11. RØTMAN, Y., AND M. L. FIELDS. 1966. J. Food Sci. 31: 437-440.
12. SALLE, A. J. 1961. Fundamental principles of bacteriology, p. 218-231. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.
13. SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS. 1957. Manual of microbiological methods. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.

Summary

Bacillus stearothermophilus was found to be a cause of spoilage of asparagus canned in Taiwan. The F_{250} and Z values of the isolates were 14.2 min and 17.8 F, respectively.