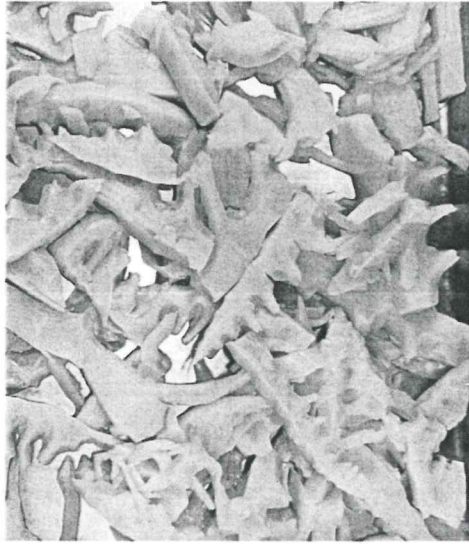


請問麻竹筍乾的筍節處,為什麼有時會有藍綠色的斑點呢?



**答覆：**關於所詢問之筍乾的筍節處出現藍綠色斑點，經資料檢索，可參考農業試驗所特刊第 56 號「酸筍發酵過程中綠色斑點產生之探討與防治」一文，綠色斑點為黴菌汙染所造成，且經微生物分離、純化及 DNA 分析，鑑定結果為 *Aspergillus versicolor*。因無法得知產品製作流程，推測可能是筍乾於發酵或乾燥加工過程中原料受到微生物汙染(如黴菌)所產生之菌落。

因上述菌株在厭氣環境下可被抑制，建議發酵過程可以重物加壓等方式，確保物料於發酵浸泡液面下，保持厭氣狀態；進行日曬或以設備乾燥時應及時降低物料水分，並控管筍乾產品之水活性及水分含量，以降低微生物生長之風險。

參考資料：

鄭大青、賴珊瑚、蔡維鐘、黃錦城與王西華(1995) 酸筍發酵過程中綠色斑點產生之探討與防治。農業試驗所特刊第 56 號。頁 337-344

<https://scholars.tari.gov.tw/handle/123456789/7185>



TE buffer 溶解，以作為PCR模版。

### (3)PCR放大

由於真核在核醣體RNA基因上有許多重覆，且18S，5.8S和26S核醣體RNA基因上的核苷酸序列具高度保守性，其中以插入間隔(inter transcribed spacer,ITS)隔開，因此以White等人(1990)所使用對真菌具有的一對引子ITS1和ITS2，其中ITS1位於18S rRNA終點的19個核苷酸序列，5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGC-3'，ITS2位於5.8S rRNA起始點的20個核苷酸序列5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'(如圖2)，將抽取之DNA稀釋至40ng/uL，10uL的真菌DNA抽出液加入10uL的緩衝溶液(100mM Tris.HCl(pH 8.3，25°C)，500mM KCl，15mM MgCl<sub>2</sub>，0.01%gelatin)，各2uL的各種dNTP，各5uL的約20個鹽基的各種primers和61.5uL的去離子水，2.5 unit DNA polymerase 0.5uL，混合液於95°C加熱3分鐘將雙股DNA去活化，然後在94°C/1min，62°C/1min，72°C/1min處理，共40循環，最後步驟於72°C維持5分鐘。

### (4)電泳與影像分

PCR產品取5uL，與1uL的loading buffer混合，於1.4%agarose之電泳中(Mupid II，50V，60分鐘)進行分析，然後以UV影像分析儀(Alpha. Innotech Corproation，IS-1000 Digital Imaging System)照相。

### (5)PCR產品之分子量

以GIBCO BRL(15628-019)100bp DNA ladder進行分析，其具有100至1500之base pairs(bp)。

## (五)分離黴菌的生長特性

### 1.氧氣需求的影響

以無菌接種環勾取黴菌菌落，直接畫線於PDA平板上，分別培養於室溫下之好氧環境(大氣中的氧氣含量約為19-21%)；以及二個放入嫌氣瓶(Merck)中，一個嫌氣瓶內放入anaerocult A(Merck)嫌氣包(約在30分鐘內，氧氣含量低於2%，而二氧化碳已達16%，持續至50分鐘氧氣幾乎已到達零的環境)作為嫌氣的環境；另一個嫌氣瓶內放入anaerocult C(Merck)微好氧包(約30分鐘便能達到氧氣及二養化碳含量皆為8%的環境)，達成微好氧的環境。一星期後觀察生長情形。

### 2.乳酸濃度對其生長的影響

添加不同濃度無菌的乳酸於PDA培養基，使其最終濃度為0、0.1%、0.2%、0.5%、1.0%、2.0%、3.0%(El-Gazzar,1987)，作成平板，每個平板滴入0.05mL的10<sup>6</sup> spores/mL孢子懸浮液，待其乾後，置於室溫下培養5-7天，觀察結果。

## 結 果

### 一、酸筍筍節上的綠斑

酸筍在發酵過程中，偶而發現筍節處會有綠色斑點的產生，撕開後可看到沿著筍節產生綠色斑點，將綠色斑點取出，以位相差顯微鏡觀察，發現疑似黴菌菌絲，經過分離、純化培養，確認為黴菌，將其接種回未發酵的麻竹筍內，經發酵15天之後，此分離黴菌會在筍節處產生綠色斑點(圖3)，故此分離黴菌即為造成酸筍綠色斑點的微生物。

### 二、菌種鑑定

#### (一)傳統形態特徵

將測定的菌株培養於三種不同培養基中，經過一星期後，其菌落直徑分別為CYA中23-24mm、MEA/14-16mm、G25N/9-11.5mm，菌絲皆呈白色；不會產生游孢子(zooospore)或黏菌變形體；菌絲具橫隔(septem)，無扣子體(clamp connection)；不具有性世代；不會產生分生孢子器(pycnidium)；

桶發酵槽，以保留發酵時所產生的酸液，由於乾式發酵與浸漬發酵對酸筍品質影響不大(黃，1985)，故此法可採行。此外加壓重石以去除殘留於竹筍裡的空氣，以達到較好的嫌氣效果，如此也能達到防治措施。

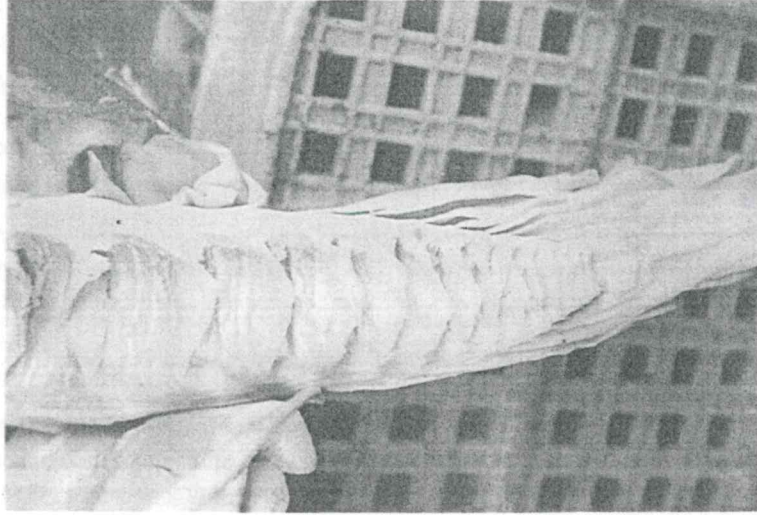


圖 1. 酸筍在發酵過程中，在筍節處發現有綠色斑點

Fig 1. Green spots are sometimes found during fermentation of bamboo shoots.

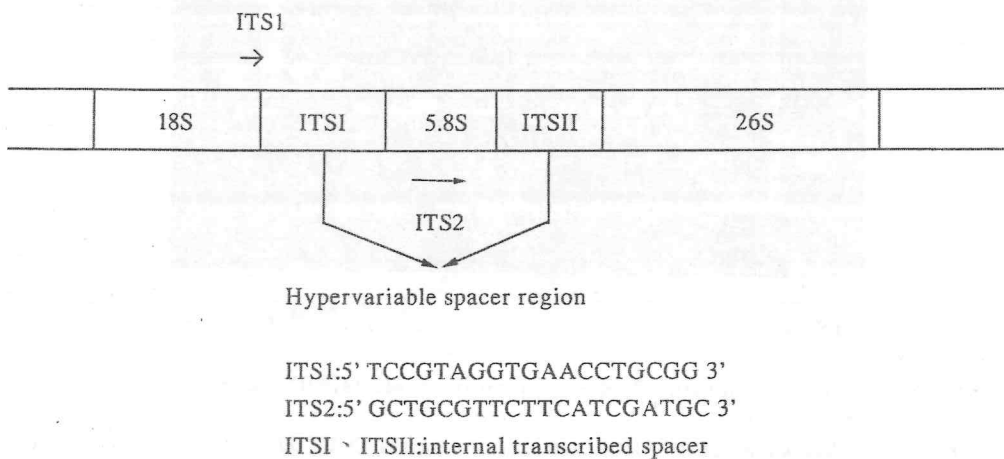


圖 2. 真菌DNA上轉錄rRNA之18S—5.8S rRNA之位置及其上保守基因作成的一對引子位置

Fig 2. Schematic representation of an rRNA operon showing the approximate priming sites for the PCR amplification of the 18-5.8S region in the fungal rDNA unit.

## 誌 謝

本研究承蒙農委會(83農建-3.5-糧-02(1))經費補助，特致謝意。

## 參考文獻

- 1.中央標準局。1991。中國國家標準,總號 12925, N6233。食品微生物之檢驗法—黴菌及酵母菌之檢驗 經濟部中央標準局。
- 2.黃錦城、陳文亮、江伯源。1985。筍干品質改進之研究。食品工業發展研究所研究報告第198號
- 3.Chow, T. Y. K. and E. Kafer. 1993. A rapid method for isolated of total nucleic acids from *Aspergillus nidulans*. Fungal Genetics Newsletter. 40:25-26.
- 4.El-Gazzar, F. E., G. Rusul and E. H. Marth. 1987. Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 in the presence of lactic acid and at different initial pH value. Journal of Food Protection. 50(11):940-944.
- 5.Holm, G., D. W. Meeks-Wagner, W. L. Fangman, and D. Botstein. 1986. A rapid efficient method for isolating DNA from yeast. Gene. 42:169-173.
- 6.Klich, M. A. and J. I. Pitt. 1988. A laboratory guide to common by *Aspergillus parasiticus* species and their teleomorphs. CSIRO, Division of Food Processing, North Ryode, p116.
- 7.Raper, K. B. and D. I. Fennll. 1965. The genus *Aspergillus*. Williams & Wilkins, Baltimore, p686.
- 8.Sharma, A., S. R. Padwal-Desal, and P. M. Nair. 1990. Aflatoxin-producing ability of spores of by *Aspergillus parasiticus* exposed to gamma radiation. Journal of Food Science. 55(1):275-276.
- 9.von Arx, J. A. 1970. The genera of fungi sporulating in pure culture. Verlag von J. Cramer, Lehre, p288.
- 10.White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, p315-322. In:Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White(ed.), PCR protocols. Academic Press, Inc., San Diego, California.

## Study on the Prevention of Green Spot Formed during the Fermentation of Bamboo Shoots.

T. C. Cheng<sup>1</sup>, S. H. Lai<sup>1</sup>, and W.C. Tsai<sup>1</sup>

C. C. Huang<sup>2</sup>, and H. H. Wang<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Food Industry Research and Development Institute

<sup>2</sup> Graduate Institute of Agricultural Chemistry, National Taiwan University

### Abstract

The green spots of fermented bamboo shoots were caused by contaminating fungus. The fungal species were isolated and identified to be *Aspergillus versicolor* by morphological, physiological and molecular biological methods. *Aspergillus versicolor* can grow under aerobic and microaerobic conditions, whereas under anaerobic conditions, the growth of the fungus is inhibited. In addition, lactic acid with concentrations higher than 2% can strongly inhibit the growth of the microorganism. For these reasons, bamboo shoots should be kept under anaerobic conditions during fermentation by putting heavy stones on top of the basket; this would favor the growth of lactic acid bacteria to produce typical flavors and at the same time prevent the fungal growth. Furthermore, instead of bamboo baskets, plastic baskets are recommended as containers during the fermentation process to keep under the anaerobic condition.

Key words : fermented bamboo shoot, lactic acid fermentation, *Aspergillus versicolor*