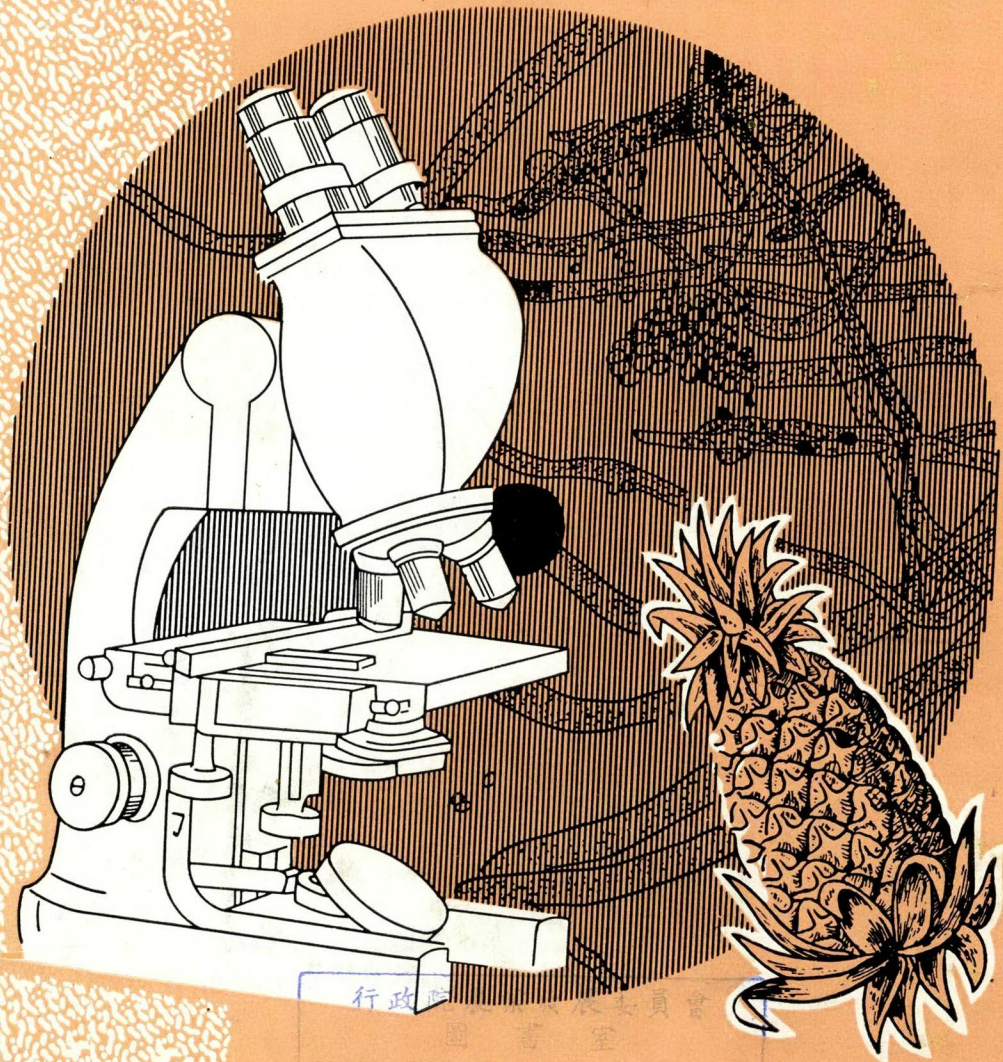


# 罐頭食品 微生物檢查法

罐頭食品叢書之二



行政院

圖書室

COUNCIL FOR AGRICULTURAL PLANNING AND  
DEVELOPMENT, EXECUTIVE YUAN  
TECHNICAL LIBRARY

中國農村復興聯合委員會編印



# 罐頭食品微生物檢查法

## 目 錄

一 顯微鏡操作法 (Operation of Microscope)	
(一)顯微鏡之構造 (Construction of the microscope) .....	1
(二)尋找目的物 (Finding the object) .....	2
(三)調節雙眼顯微鏡 (Adjustment of Binocular Microscope) .....	3
(四)保養顯微鏡應注意之事項 (Care of the Microscope) .....	3
二 酵母及黴孢子之計算法 (Spores count method of Yeasts and Molds)	
(一)器具 (Equipment Required) .....	4
(二)實驗步驟 (Examination Procedure) .....	4
(三)計算法 (Count method) .....	4
三 細菌檢查法 (Bacterial Examination)	
(一)器具 (Materials Required) .....	5
(二)實驗步驟 (Examination Procedure) .....	5
(三)計算法 (Count method) .....	5
四 腐敗與未腐罐頭食品之細菌觀察 (Bacterial examination for canned foods)	
(一)腐敗罐頭食品之細菌觀察 (Bacterial examination for canned foods for spoilage) ..	6
1. 簡介 (General remarks) .....	6
2. 應用器具藥品與培養基 (Materials Required) .....	6
3. 實驗步驟 (Examination Procedure) .....	7
(二)未腐敗罐頭食品之微生物檢驗 (Microbiological examination of unspoiled commercially canned foods) .....	11
1. 簡介 (General Remarks) .....	11
2. 應用器具及藥品 (Equipment Materials required) .....	12
3. 實驗步驟 (Examination Procedure) .....	12
五 鳳梨及蕃茄果實之組織 (Texture of Pineapple and Tomata)	
(一)鳳梨果實之組織 (Pineapple Histology) .....	14
1. 簡介 (General Remarks) .....	14
2. 鳳梨果實組織之觀察法 (Method of microscope examination of the texture of pineapple fruit) .....	16

3. 實習作業 (Exercise problems) .....	17
4. 參考書 (Selected references books) .....	17
(二) 蕃茄果實之組織 (Texture of Tomato) .....	18

## 六 鳳梨罐頭中常見之黴菌 (Molds frequently Found in pineapple and tomato products)

(一) 鳳梨罐頭中常見之黴菌 (Molds frequently found during canning process of pineapple) .....	24
1. 簡介 (General Remarks) .....	24
2. 樣品採取法 (Sampling) .....	24
3. 器具 (Equipment Materials required) .....	24
4. 實驗方法 (Examination procedure) .....	24
5. 黴菌鑑別法 (The identification of Molds) .....	24
6. 鳳梨罐頭製罐過程常見之黴菌 (Molds frequently found during canning process of pineapple) .....	25
(二) 蕃茄罐頭中常見之黴菌 (Molds in tomato products) .....	28
1. 簡介 (General Remarks) .....	28
2. 常見之黴菌 (Molds frequently found) .....	36

## 七 Howard 氏黴菌計算法 (The Howard Mold Count method)

(一) 簡介 (General Remarks) .....	41
(二) 應用器具及樣品 (Materials Required) .....	41
(三) 實驗方法 (Procedure) .....	43
1. 膠質溶液之配法 (Preparation of pectin solution) .....	43
2. 調節顯微鏡之視野 (Standardization of Microscope) .....	43
3. 準備試料 (Preparation of sample) .....	43
4. Howard 黴菌計算法板之用法 (The use of Howard Mold counting chamber) .....	43
5. 觀察 (Observation) .....	47
6. 視野後之計算法 (Calculating Results) .....	47

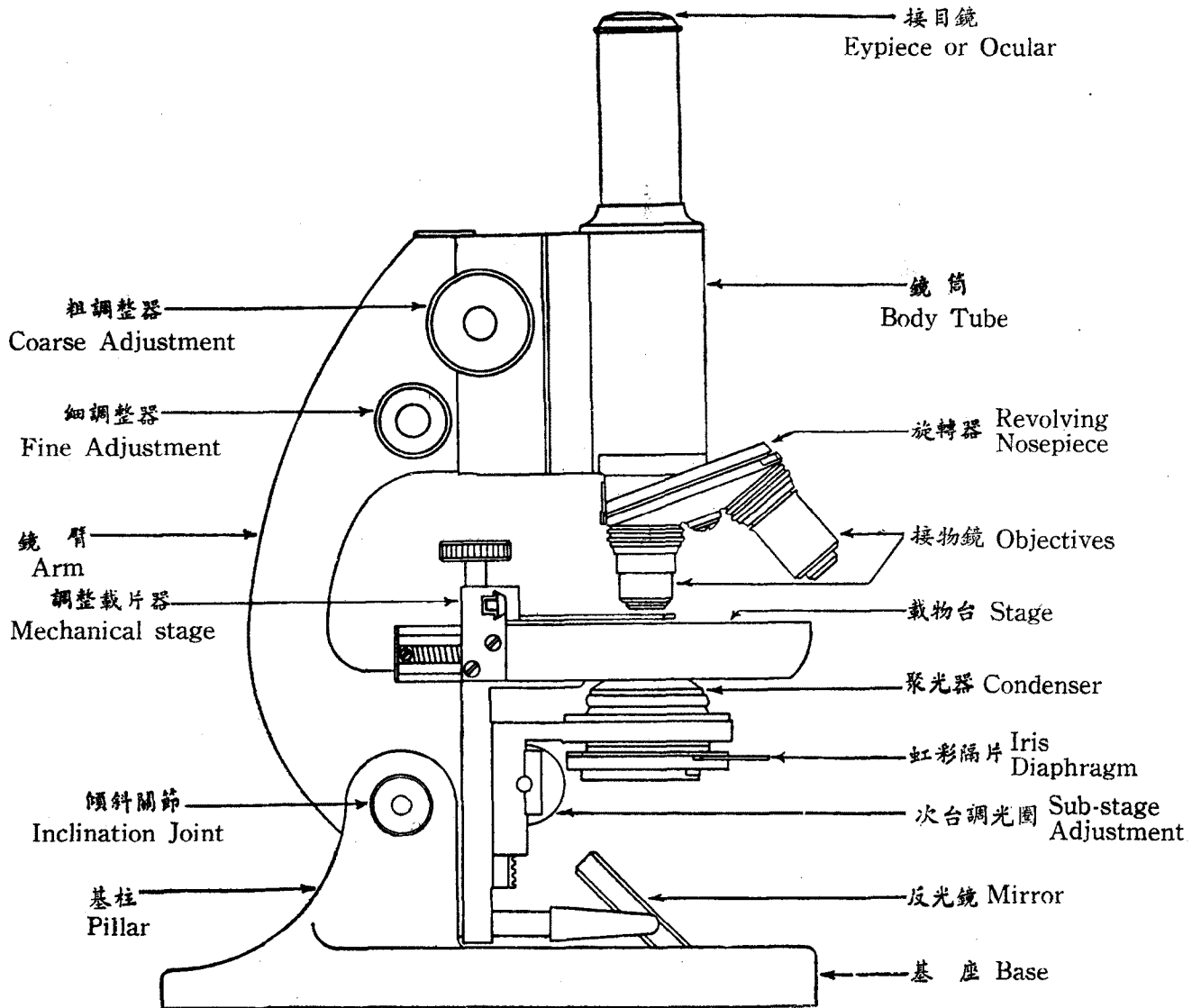
## 八 參考文選 (Selected References books)

# 一 顯微鏡操作法

## (Operation of microscope)

在顯微鏡移動以前，先要注意其箱內之位置。小心取出使其跟 (Heel) 靠近桌之邊緣 (而平穩放置於桌上) 若要使顯微鏡傾斜則須稍離邊緣。而桌椅之高度須調節至檢鏡者能得最舒服之位置及高度以便觀察，平常穩坐後將左肘置於桌上，左手支持頭部而得檢鏡。

### (一) 顯微鏡之構造 (Construction of the microscope)



1. 底座 (The Base): ——顯微鏡底座通常為馬蹄型之變樣，[註] 且有相當重量以防止上部傾斜時不致發生整個儀器翻倒之危險，而底座之形狀與重量均依顯微鏡而不同，故傾斜顯微鏡時必須小心試查其穩定性。
2. 鏡柱 (Pillar) 與傾斜關節 [註] (Inclination Joint): ——



顯微鏡柱為基座伸出之一部份，支持載物台 (Stage) 與整個顯微鏡之透鏡 (Lens) 與鏡筒 (Tube) 系統。鏡柱上部有傾斜關節點 (Inclination Point) 使得整個顯微鏡能夠傾斜。顯微鏡之傾斜使檢鏡者不致過度彎腰，因此可減少長時間使用後所發生之疲勞。

### 3. 鏡臂 (Arm)

鏡臂中央部份形成便於搬運顯微鏡之柄，其上部為支持體筒 (body tube) 與調節裝置 (Adjustment mechanism) 下部則為支持載物台 (Stage) 與次台 (Sub-stage) 等儀器之架子。

### 4. 次台 (Sub-stage)

次台係統由下列各部構成：——

#### (1) 反射鏡 (Mirror)

反射鏡有兩個折射面，一為平面，另一為凹面，前者使光線反射互相平行，後者則使光線集聚。所以平面鏡用以低倍放大率檢鏡。凹面鏡可形成強烈照射，因此用於高倍放大率鏡檢。無論在什麼時候平面鏡與集光器 (Condenser) 並用。

#### (2) 次台調光圈 (The substage Iris diaphragm)

調光圈 (Diaphragm) 之目的在於改變光量。使光線照射透過量對於眼睛明視舒適。熟巧的運用調光圈對於檢鏡甚有幫助。

#### (3) 集光鏡 (Condenser)

此為一面透鏡 (Lens) 置於反射鏡 (Mirror) 與玻璃片 (Slide) 之間。能使光線調節至適當之角度。傾斜圓錐形 (Illumination cone) 為補助視野之照射。架台 (rach) 與小齒輪 Pinion deuse 使得集光鏡 (Condenser) 能上下移動，以便調節適應之光量，在放大率10倍以下，通常不需用集光器。(Condenser)。

### 5. 載物台 (Stage)

為顯微鏡放置檢鏡物體之一部份。在載物台上裝有縱橫轉動物機 (Mechanical stage)，以便需要時可移動載物，當移動載物時必須注意當顯微鏡視野內看物體向左移動，實際在載物台上之物體向右移動，此為接目鏡 (Ocular) 上生成之像 (Image) 與原物體倒立所致。

### 6. 粗，細調節器 (The coarse and Fine Adjustments)

粗調節器齒輪頭 (Coarse adjustment pinion head) 與精細調節器，為調準焦距之機構，附有測微尺 (Micrometer) 組成。均位於鏡臂 (arm) 上部。如果細調節器不能向任一方向回轉，便表明細調節器已達此方向之限度。平時細調節器必須保持在中點，在粗調節器未找到焦點 (focus) 以前不得使用。在檢鏡時隨時轉動細調節器以便視察檢鏡而獲得正確的結果。

### 7. 體筒與抽筒系統 (The body and Draw tube system)

放大系統 (magnificative system) 由兩端附有透鏡 (lens) 的一枝圓筒構成。有些顯微鏡附有可以調節之抽筒 (draw tube)，這些抽筒在邊上刻有公毫 (millimeters)，對於計算微坦為重要之任務。

## (二) 尋找目的物 (Finding the object)

置載有載物玻片 (slides) 於機動載物台 (mechanical stage) 上，移至載物台開孔之中央。調節平面鏡，導入次台燈 (substage lamp) 之光線使經過載物。開調光圈 (Iris diaphragm) 與集光鏡 (condenser) 使經過接目鏡 (Eye-piece) 與接物鏡 (objective) 有均勻之光照

(illumination)，看到視野 (field)。用粗調節器 (coarse adjustment) 由顯微鏡傍邊注視載物台的高度而緩慢放低10倍接物鏡 (objective) 到快要接觸載物處。然後由於接目鏡 (eyepiece) 觀察，緩慢的轉動粗調節器 (coarse adjustment) 以提高接物鏡 (objective) 至略能視到物像 (image) 為止。但提高操作必須非常緩慢才不致失去物像。然後轉動粗調節器 (fine adjustment) 以找粗明的物像。如果需要時，可用機動載物台 (mechanical stage) 移動載物。並隨時注意經過接目鏡對準焦點時只能往上提，以避免發生破裂現象。

### (三) 調節雙眼顯微鏡 (Adjustment of Binocular microscope)

在操作時，雙眼顯微鏡在原理上與單眼顯微鏡 (monocular microscope) 不相同，因為每隻眼睛要看到一個視野，而兩視野之物像要合成為一個像形。因此必須再加上兩個調節器，首先用簡單調節器 (simple adjustment) 調節兩個接目鏡以適合檢鏡者觀鏡，有時因兩眼焦距不同，便要分別調節各個接物鏡。為了後者一個接目鏡上附有調準焦點之頸圈 (collar)。以便一隻眼睛獨立調節試看時，可用一張卡片先遮去一隻，然後再用另一隻在接目鏡上行使。

### (四) 保養顯微鏡應注意之事項 (Care of the microscope)

1. 顯微鏡不使用時，須放置在箱內或玻璃鐘內或以網目較密的布覆蓋，以避免受塵埃。
2. 如果儀器之金屬部份受到塵埃染污，首先以駱駝毛刷刷過，再以鹿皮小心拭淨。
3. 視野中之污點往往為接目鏡上的塵埃，可由接目鏡而辨別。清潔鏡面時先呼氣於其上，而以拭鏡紙 (lens paper) 拭淨。
4. 搬運顯微鏡時握住臂柄 (handle arm) 而保持其直立位置，顯微鏡要移動任何距離都先放於箱內才可。
5. 不讓任何對於顯微鏡沒有經驗者操作。
6. 在各季節之間要把顯微鏡檢查，清潔，調節。如有需要則修理。
7. 保存於不受塵埃沒有振動的地方。
8. 高倍率之透鏡宜放置於乾燥器 (Desiccator) 內，以防黴菌之污染。



## 二 酵母及黴孢子之計算法

### (Sporos count method of yeasts and Molds)

#### (一) 器具 (Equipment Required)

1. Thoma-zeiss 氏血球測定用平玻璃片。
2. 玻璃蓋片。(Cover glass)
3. 顯微鏡。(Microscope)
4. 三角瓶(經過殺菌)
5. 量筒。(Moss cylinder)
6. 無菌水。(Sterile water)

#### (二) 實驗步驟 (Examination procedure)

1. 取 10 c.c. 試料放在無菌三角瓶內。
2. 加 20 c.c. 無菌水，用刀振盪，使其充分混合。
3. 取一滴於 Thoma-zeiss 氏玻璃片之中央細長平面上。
4. 加玻璃蓋片。
5. 置於顯微鏡下，放大 300~400 倍[註1]觀察之。

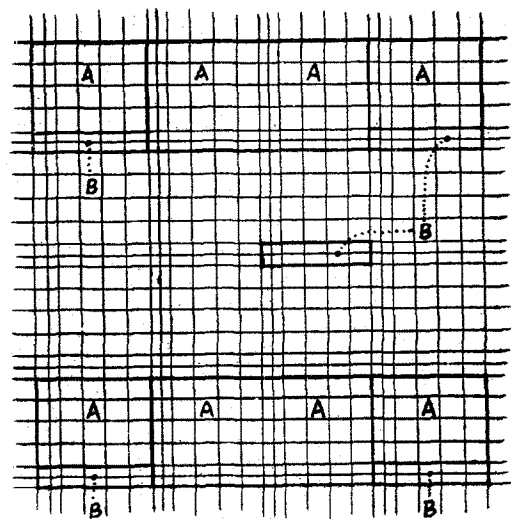
#### (三) 計算法 (Count method)

Thoma-Zeiss 氏血球測定用平玻璃片中央有細長的平面，兩邊有高出 0.1mm 的堤 (shoulder) 中間有溝 (Moat)，在細長平面中央有長  $1\text{mm}^2$  之正方形，此正方形再細分為 400 個小正方形，每一小正方形之面積為  $\frac{1}{400}\text{mm}^2$ 。

自邊上數，每第五個正方形中間有橫線以示區別，即每 25 小正方形為一區域，通常是數八個區域的酵母或孢子數，(見圖二) 此數目相當於  $\frac{1}{20}\text{mm}^3$  中的數目，由於試料以兩倍水沖稀，故此數目亦即為  $\frac{1}{40}\text{mm}^3$  [註2] 中的數目表示。

註 1. 遠山等著之食品衛生ハンドブック (朝倉書店) 1957 p.90 所記載者為放大 180 倍觀察之結果。

註 2. A<sub>0</sub>A<sub>c</sub>——上所記載者：酵母數與孢子數以每 c.c. 試料或每克試料中之數目表示之。



A. 酵母與黴菌之孢子觀察面積

B. 細菌觀察面積

# 三 細菌檢查法

## (Bacterial Examination)

### (一) 器具 (Equipment Required)

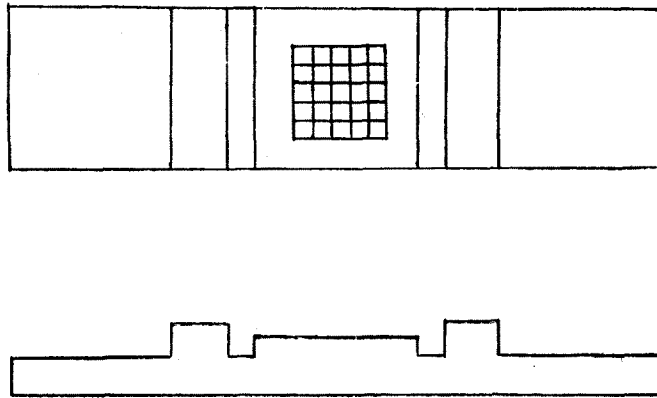
與第二章酵母及微孢子檢查法同。

### (二) 實驗步驟 (Examination procedure)

與前同，惟放大倍數越大越好，通常是用油心 (oil immersion) 以外之最高倍數。

### (三) 計算法 (Count method)

數中央的五個小正方形及每個角落之五小正方形中之數目 (附圖)，取其平均值，再換算為試料 1c.c. 中之數目。



Thoma-Zeiss 氏血球測定用玻璃片



# 四 腐敗與未腐罐頭食品之細菌觀察

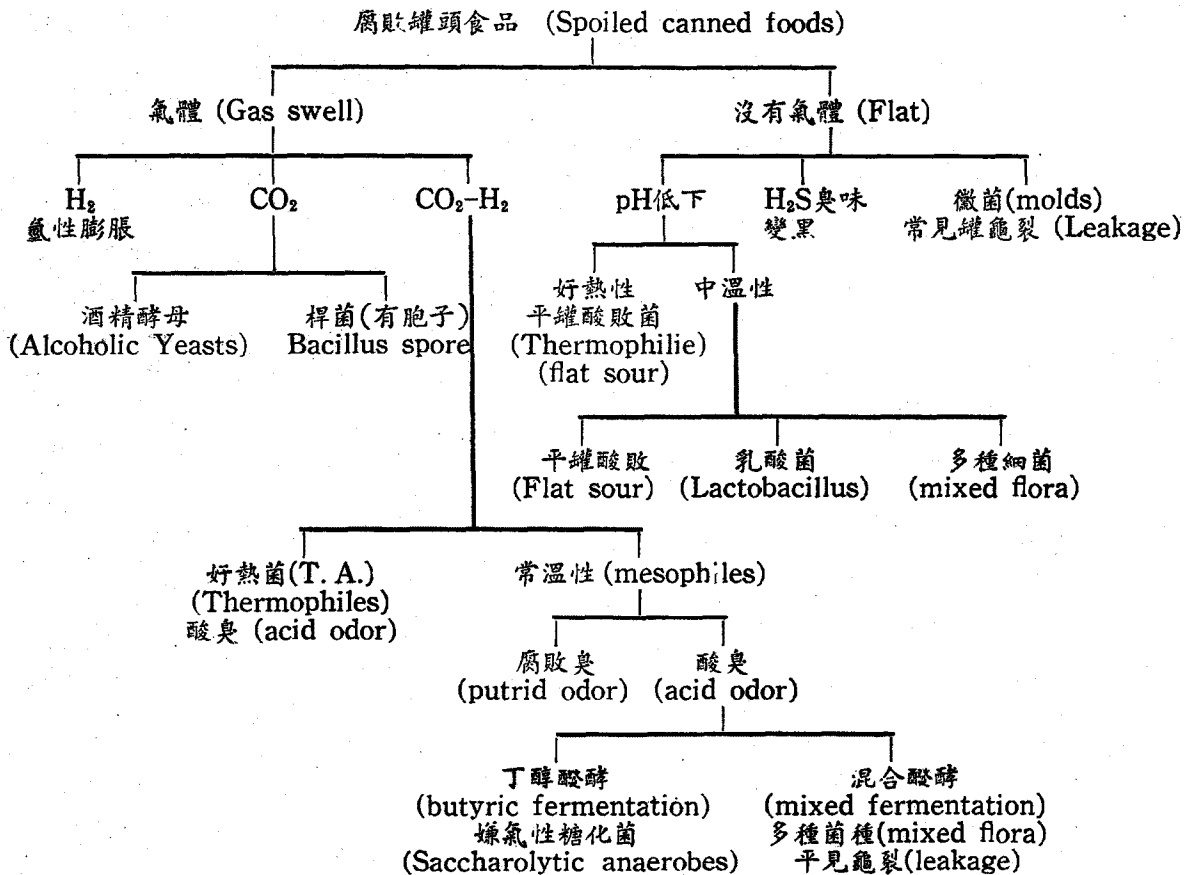
## (Bacterial examination for Canned foods)

### (一) 腐敗罐頭食品之細菌觀察

#### (Bacterial examination for canned foods for spoilage)

##### 1. 簡介 (General remarks)

腐敗罐頭食品之檢查，按其氣體 [註1] 的存在與否可分為兩種。先觀察有無氣體，外觀 (Appearance)，pH 反應，做直接塗抹 (Direct smears) 於玻璃片 (Slides)。然後接種於數種培養基保溫於 37°C 及 55°C，每 24 小時以顯微鏡觀察培養基之變化 (酸或氣體之存在) 細菌之形態。所用培養基是按各種腐敗原因而定。(參考下圖)



本實驗法是定性性質的。如要定量其細菌數目時，可以平板培養測定好氣性的細菌。又可以 MPN (看大腸菌檢查法) 來計算嫌氣菌。

##### 2. 應用器具，藥品與培養基 (Equipment materials required)

- 肥皂 (soap)
- 紗布 (gauze)

5%石灰酸溶液 (phenol solution)

酒精燈 (Alcohol lamp)

二重皿 (petri dish)——乾熱滅菌 [註2] (Dry sterilization) 過無菌水 [註3] (sterile water) 90ml 1支

5ml 1支

天秤 (Balance)

接種環 (Inoculation loop)

開罐器 (Can opener)——在加壓釜 (Autoclave) 滅菌30分/121°C

沸水槽 (Boiling water bath)

顯微鏡 (microscope)

pH試驗紙 (pH test paper)

吸管, 10ml (pipette, 10ml)

玻璃片 (Slide)

油鏡用油 (Cedar oil)

玻璃棒 (glass rod)

保溫箱, 37°C 1個

, 55°C 1個

, 25°C 1個

培養基 (media)

BCP 葡萄糖肉汁 [註4] (BCP Dextrose broth) 8支

肝汁上覆以洋菜者 [註5] (Stratified liver broth) 4支

BCP 葡萄糖重覆以葡萄糖洋菜 [註6] (BCP dextrose broth stratified with BCP dextrose agar) 4支

麴汁或麥芽汁 [註7] (Koji juice or malt juice) 4支

亞硫酸培養基 (Sulfite medium)

### 3. 實驗步驟 (Procedure)

(1) 首先用肥皂及自來水度兩手完全沖洗乾淨

(2) 穿上乾淨實驗衣

(3) 開罐方法

a 以水與肥皂把罐頭外圍洗乾淨。萬一罐外有油脂沾污則要用適當的溶劑, 酒精或石油醚 (petroleum ether)

b 要開之一端的滅菌, 可用手拿另一端, 在苯生燈 (bunsen burner) 或酒精燈之火焰上慢慢回轉使熱分布。萬不可倒立苯生燈於罐頭上致使熱度集中於一處, 以致內容物燒焦, 而在開罐時會因此發生爆發。 (spurting)。如果罐頭膨脹得厲害, 為了安全起見, 最好以氯化汞溶液 (HgCl<sub>2</sub> solution) (1:1000) 滅菌數秒鐘, 以滅菌過的紗布或面巾擦乾, 而不要用火焰滅菌。或者就用60%酒精將整個罐頭完全擦乾淨。

c 以滅菌過的開罐器在火焰旁邊打開罐頭。注意打開包布時勿將開罐柄以外的部份觸及任何物或手指。

d 迅速地倒內容物於滅菌過的二重皿 (petri dish)。



(4)製玻璃片而以顯微鏡觀察 (microscopic observation)

- a 取一乾淨玻璃片 (slide)，以乾熱殺菌過的吸管放數滴無菌水 (sterile water)。
- b 用接種環 (Inoculation loop) 由二重皿取試料與無菌水混合均勻。
- c 由此玻璃再以接種環取適當量塗抹於另一乾淨玻璃片上使成為一薄膜 (Film) 任其自然乾燥。
- d 在火焰上通過三次以固定薄膜 (請看染色法)
- e 以 gentian violet [註8] 染色
  - (a) 以 gentian violet 溶液倒於所固定的薄膜上染色半分鐘至一分半鐘。
  - (b) 用自來水洗去過多的染液
  - (c) 在空氣中風乾或以濾紙壓乾。
  - (d) 滴下一滴油鏡用油 (Cedar oil) 於其上
- f 直接塗抹而觀察時，可看到加工以前殺死的菌體及加工後感染的菌體。

(5)試pH反應 (參考培養基的配法一節)

(6)注意臭味 (odor) 與外觀 (appearance)

(7)培養

a 接種 (Inoculation)

- (a) 依照要檢查的食品的形狀，先決定要用於接種的儀器。液體或流動的食品可用不延細的吸管 [註9]。固體食品則可用穿孔鑽 (cork bore) 或黃銅採樣管 (Brass sampling tube)。或是加無菌水以 (waring blender) 來磨碎，這些儀器都要先以油紙包好在加壓釜內121°C滅菌30分鐘後才能使用。
- (b) 取適當量 (至少15克) 的試料放於一個滅菌過的容器 (有棉栓的試管或三角瓶)，而可供接種於各培養基 (每一種培養基一支。請看下面步驟)

b 培養 (incubation)

(a) 對於發生龜裂 (Leakage) 的罐頭

i 依1的方法取罐頭內容物接種於：——

4支 BCP 葡萄糖肉汁 (BCP dextrose broth)

4支 先接種於肝汁培養液 Liver froth 後上覆以洋菜者。

ii 然後各取兩支保溫於37°C及55°C 72小時

(b) 對於平罐酸敗 (Flat spoilage) 的罐頭

i 4支 BCP 葡萄糖肉汁

4支 先接種於BCP 葡萄糖肉汁培養液後上覆以BCP 葡萄糖菜者。

或4支 BCP 麴洋菜 (koji agar) 或麥芽洋菜 (malt agar)

ii 各取兩支保溫於37°C及55°C，48小時

(c) 對於酸性食品罐頭 (Canned acid foods)

i 2支酸性緩衝肉汁 [註1] (Buffered acid meat medium) 培養於37°C 48小時至7天。

ii 2支麵汁或麥芽汁

培養於25°C 48~96小時

(8)觀察 (Observation)；每24小時觀察一次

- a 龜裂 (Leakage)——試料為非酸性食品，例如含有糖類的蔬菜培養出來的結果平常是很

可靠的。平常在37°C可培養出來球菌 (Cocci)，非耐熱性的短桿菌 (Non-heat resistant short rods) 與球菌 (Cocci)。

- (a) 外觀 (Appearance)——通常呈泡沫狀 (Foamy) 或粘狀 (Slimg)。
- (b) 臭味 (odor)——酸性 (Sour)
- (c) pH反應——BCP呈酸性 (呈黃色)
- (d) 直接塗抹 (Direct smear) 於玻璃片 (Slides) 而以顯微鏡觀察——可見球菌或球菌與桿菌
- (e) 保溫於37°C者——產生酸 (acid) (即 BCP 呈黃色) 或酸 (acid) 與氣體 (gas) (即可見氣泡浮中於加覆的洋菜)。
- (f) 由保溫於37°C的兩種培養基 (Dextrose broth與Liver broth) 做的玻璃片 (Slides) 而觀察時，可見球菌 (Cocci) 或球菌 (cocci) 與桿菌 (pods)。
- (g) 保溫於55°C者可以不注意之。

b 嫌氣性腐敗菌 (Putrifaactive anaerofes)

- (a) 臭味 (odor)——腐爛臭味 (putrid)
- (b) pH——對於BCP不為酸性 (即呈紫色而不變)
- (c) 直接塗抹 (Direct smear) 於玻璃片而顯微鏡觀察——桿菌 (Pods) 與鼓棒狀孢子 (Drum stick spores)
- (d) 肝汁培養液保溫37°C——產生氣體而不產生酸。
- (e) 保溫於55°C者 (肝汁與葡萄糖肉汁培養基——沒有生長可見)。
- (f) 葡萄糖肉汁培養液 (Dextrose broth)——保溫在37°C者——所接種的種 (Inoculum) 較多，而可生成充分的嫌氣性時也許可見生長。
- (g) 由肝汁培養液 (保溫於37°C) 做玻璃片時，可見到桿菌與鼓棒狀孢子。

c 好熱性嫌氣菌 (Thermophilic anaerofes)

- (a) 臭味 (odor)——乳酪味 (cheesy odor)
- (b) pH——BCP稍為酸性
- (c) 直接塗抹 (Direct smears) 於玻璃片，而以顯微鏡觀察——桿菌 (Pods)
- (d) 重覆肝汁培養液 (Stratified liver broth) 保溫於55°C者——產生氣體
- (e) 重覆肝汁培養液保溫37°C者——也許有慢慢的生長。
- (f) 葡萄糖肉汁培養液 (Dextrose broth)——平常沒有生長。所接種的種 (Inoculum) 較多，而可生成充分的嫌氣狀態時方有生長。

d 平罐酸敗 (Flat sour)

- (a) 臭味——酸 (Sour)
- (b) pH——BCP 呈酸性
- (c) 直接塗抹 (Direct smears) 於玻璃片而以顯微鏡觀察——桿菌 (Pods)
- (d) 培養結果 (Cultural results)——引起平罐酸敗 (Flat sour) 的細菌可分三種，中溫性 (mesophilic) 通性好熱性 (Facultative thermophilic) 與絕對好熱性 (obligate thermophilic) 的桿菌。

故培養結果如下：

細菌	培養溫度	葡萄糖肉汁 (Dextrose broth)	肝汁 (Liver broth)
中溫性 (mesophilic)	37°C	酸性(acid)	生長(growth)
	55°C	不變(Negative)	沒有生長(negative)
通性好熱性 (Facultative thermophilic)	37°C	酸性(acid)	生長(growth)
	55°C	酸性(acid)	生長(growth)
絕對好熱性 (Obligate thermophilic)	37°C	不變(Negative)	沒有生長(Negative)
	55°C	酸性(acid)	生長(growth)

註1：膨罐罐頭氣體定性檢查法：——

以適當容器收集腐敗罐頭之氣體，分於5,6支試管以下列方法檢查氫及二氧化碳。

- a. 二氧化碳——加稀 KOH 液，以手指栓住管口振盪之，然後查看手指上有無抽氣之力（真空）。
- b. 氫：——將點燃之火柴靠近氣體容器之管口，同時將蓋子打開接解之，若發生「碰」之聲音，表示氫氣存在。

註2.3：參考「附」培養基之配法

註4：BCP 葡萄糖肉汁 (BCP Dextrose broth)——用於平罐酸敗的探知。其配法如下——

- a. Bacto-tryptone 10克(gms)
- b. Bacto-dextrose 5克
- c. 水 1000ML
- d. 加20ml的0.2%BCP指示劑(參考培養基之配法)調節pH為7.0~7.4(看f)
- e. 在加壓釜 (autoclave) 以15磅 (lbs) 121°C 殺菌20分鐘。
- f. 最後pH為6.7

註5：肝汁上覆以洋菜者(重覆肝汁培養液)(stratified liver broth)——用於培養嫌氣菌(anaerobes)與好熱性嫌氣菌(Thermophilic anaerobes)。

配法：

- a. 取500克磨碎的牛肝(先除去油分的牛肝)
- b. 加水1000ml
- c. 緩緩煮沸一個鐘頭，以紗布 (gauze) 擠出肝汁後(留殘滓於分裝時使用)加  
百補登(peptone) 10克(gms)  
K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1克  
調節pH為7.8
- d. 將先前磨碎的肝殘滓(2~3塊)裝於每一支試管內。
- e. 加10ml肝汁(c)於每一支試管內
- f. 用加壓釜 121°C 20分鐘殺菌
- g. 如果培養基不是新做的，在使用前必須在流動蒸氣內(即用 Koch 或 Arnold 滅菌器)蒸氣20分鐘。
- h. 接種以後以無菌操作(即用滅菌過的吸管)重覆2~½''的50°C左右的溶解的肉汁洋菜

(Nutrient agar) 看培養基之配法)。

註6: 接種於製好的BCP葡萄糖肉汁 (BCP Dextrose broth, 註4) 後重覆 (Stratify) BCP葡萄糖洋菜, (BCP Dextrose agar, 配法如下)

- a. Bacto-tryptone 10克
- b. Bacto-dextrose 5克
- c. 洋菜 (Agar) 15克
- d. 水 1000ml
- e. 加20ml 0.2% BCP調節pH為7.2~7.4使加壓殺菌後為6.7
- f. 在121°C殺菌20分。

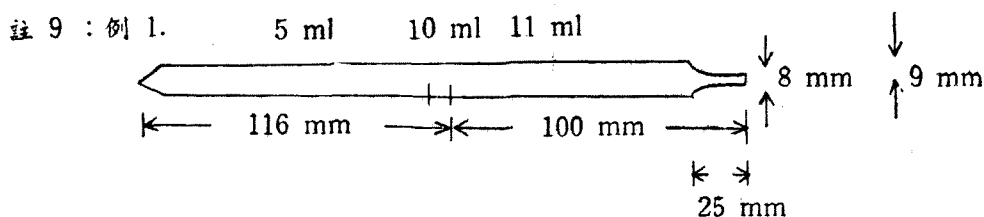
註7: 用於檢查酵母之存在——

- a. 麵汁 (koji juice)——看培養基之配法
- b. 麥芽汁 (malt juice)——取麥芽1kg, 粉碎之。加水 1000ml, 照麵汁配法之方法, 加溫, 保溫60°C使糖化。以後步驟照麵汁配法做。

註8: Gentian violet 溶液之配法——

- a. Gentian violet 之酒精飽和溶液 10ml
  - b. 1%石灰酸水溶液 100ml
- 混 a,b 兩種溶液

註9: 例1. 5ml 10ml 11ml



例2. 可用普通的吸管。但吸管尖端要切開一點使不延細。因其所切開的容量很小可忽視。

註10: 酸性緩衝肉汁培養基 (Buffered acid meat medium)——供於酸性食品之平罐酸敗菌檢查, 配法如下。

- a. 取磨碎牛肉 (除去油分的) 500g加水1000ml放置冰箱一夜
- b. 煮沸30分, 以紗布擠出肉汁。留肉殘滓取肉汁加水到1000ml
- c. 加百補登 (Peptone) 5g, 煮沸10分, 過濾, 取濾液加食鹽5g, 檸檬酸鉀 (K-citrate) 12g 檸檬酸 (Citric acid) 11g, 而 pH 為4.6
- d. 加葡萄糖10g, 過濾, 取濾液
- e. 取肉殘滓 (b.) 大約2g 放於每一試管, 加所配的肉汁液10ml
- f. 於121°C殺菌20分鐘
- g. 使用前煮沸培養基10分, 後以水冷却。

## (二) 未腐敗罐頭食品之微生物檢驗 (Microbiological examination of unspoiled commercially canned foods)

1. 簡介 (General remarks): 未腐敗罐頭食品可以檢驗其滅菌度 (Sterility) 或保存性 (keeping

quality)。滅菌度之試驗，須直接採取樣品，而保存性之測定，就得將未打開容器內之食品保溫。(請參閱腐敗罐頭檢查)

## 2. 應用器具及藥品：(Equipment materials required)

- a. 開罐刀
- b. 吸管
- c. 匙子或鑽孔器
- d. 玻璃棒
- e. 顯微鏡
- f. 肉汁培液(meat medium) [註1] 或酵母蕃茄汁(yeast tomato juice) [註2]
- g. 麥芽汁培养基 (malt extract medium) [註3]
- h. Bromcresol purple-dextrose-tryptone agar 及 broth
- i. 肝質培液 (Liver broth)
- j. 玻璃片 (Slide)
- k. 蓋片 (Cover glass)
- l. Crystal violet
- m. Carbol fuchsin
- n. 石臘 (paraffin)
- o. 滅菌過的混合器 (例如 waring blender)

## 3. 實驗步驟

### (1) 蔬菜罐頭滅菌度之檢驗

#### a. 樣品之調製：

##### (a) 開罐：

- (I) 用火焰將欲開孔部分滅菌
- (II) 以火焰滅菌過之開罐刀開孔 [註4]
- (III) 將打開之罐頭立即以滅菌過的二重皿蓋住。

##### (b) 提出菌種：

提出15gr (或ml) 食品 [註5]

#### b. 培养基之接種：

- (a) 對於固體食品，在接種前先與等量的無菌水混合於滅菌過的混合器中。
- (b) 由 15ml (或gr) 之樣品中以吸管採取適當量於三支或更多支的試管內之培养基中。 [註6]

#### c. 保溫與檢驗： (參閱腐敗罐頭檢查)

- (a) 於37°C保溫48~72小時。
- (b) 觀察生長情形
- (c) 做染色標本，用顯微鏡檢查

### (2) 果實或其他酸性食品罐頭之滅菌度檢驗此檢驗之目的在決定滅菌度或檢出以非酸性食物為主要成份而酸性食品為調味料之罐頭中能引起腐敗之細菌。

#### a. 樣品之調製：

開罐頭及取樣本與1~1項同

#### b. 滅菌度之測定

##### (a) 培养基之接種：

分注15ml (或gr) 之樣品於含有培养基之試管3支或更多支中。 [註7]

(b) 保溫：將接種過之培养基於30°C下保溫72小時。

### (3) 非酸性腐敗細菌 (non-acid spoilage bacteria) 之檢驗：

- a. 分注30ml (或gr) 樣品於含有 brom cresol purple-dextrose-tryptone agar 或 broth



及肝汁培液 (Liver broth) 各 6 支中。

- b. 各試管再加一層洋菜。
- c. 各種培養液中取 3 支保溫於 37°C 48~72 小時。
- d. 各種培養液中取 3 支保溫於 55°C 48 小時。
- e. 觀察有無平罐酸敗 (flat soures) 菌，好熱嫌氣菌 (T.A.) 及嫌氣腐敗菌 (Putrefactive anaerobes)——參閱腐敗罐頭檢查。
- f. 食品各部之檢驗：如果罐頭中含有液體及固體兩部分，則分別依 1~2 及 1~3 法採樣，接種檢驗之。

(4) 保存性 (Keeping quality) 之檢驗：

a. 蔬菜罐頭：

- (a) 將罐頭放在 37°C 下保溫 30 天以檢查有無常溫菌 (mesophiles) 之存在。
- (b) 將罐頭放在 55°C 下 10 天以檢查有無好熱菌 (Thermophiles) 之存在。
- (c) 打開各罐頭，觀察有無腐敗徵象。
- (d) 測定內容物之 pH
- (e) 用 crystal violet 或石炭酸福克新 (carbol fuchsin) 做染色標本，於顯微鏡下檢查之。

b. 酸性食品罐頭：

- 4-2-1 如果食品被包裝後沒有經過 14 天以上，則放在 30°C 下保溫 14 天。
- 4-2-2 依 4~1 項檢驗之。

c. 各種微生物更進一步的檢驗可以 2 項進行。

[註]：

1. Meat medium 即肉汁培養基

2. 酵母蕃茄汁 (Yeast tomato juice)

tryptone 10克

酵母粉 10克

蒸餾水 800ml

加熱至 100°C 調節 pH 至 7.2 再加入蕃茄汁 (pH 7.0) 250ml

裝管於高壓釜內於 121°C 殺菌 15 分鐘。

3. 麥芽汁培養基 (malt extract medium)

4. 對於固體或半固體食用螺旋形或圓形開罐刀打開，對於液體食品用尖銳器具 (如錐子或長釘) 打開。

5. 對於液體或半固體，用無尖端吸管或倒用 10ml 吸管取樣。

6. 培養基用下列培養基之一種或一種以上 (配法參閱腐敗罐頭檢驗)

(i) Brom cresol purple-dextrose-tryptone agar 或 broth

(ii) 肝汁培液 (liver-broth)

(iii) Sulfite agar (亞硫酸鹽洋菜培養基)

7. 對於 acid bacteria 之檢驗用 buffered acid meat medium 或 digest-yeast-tomato juice。對於酵母之檢驗，則用 meat extract medium. (配法參閱腐敗罐頭檢查)

# 五 鳳梨及蕃茄果實之組織

## (Texture of Pineapple and Tomato)

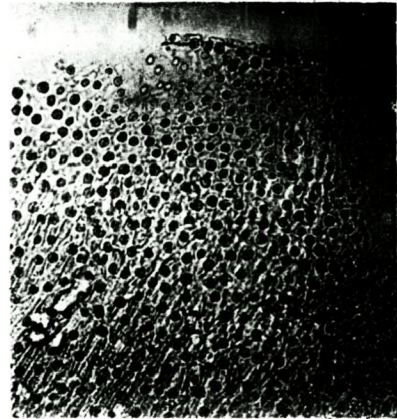
### (一) 鳳梨果實之組織 (Pineapple Histology)

#### 1. 簡介 (General remarks.)

檢查鳳梨製品中有無夾雜物之存在，須先了解鳳梨果實各部細胞之構造，則鏡檢時方易區別何者為鳳梨果實之細胞，何者為夾雜物。有效可靠之鏡檢工作有賴於顯微鏡下能作迅速正確之辨認。本節目的即為認識鳳梨果實各部細胞之構造。茲概述如下。

#### (1) 表皮細胞 (Epidermal or skin cells.)

鳳梨之外皮係由苞片及萼片組合而成，苞片及萼片之表皮細胞之形狀大小均不規則，細胞壁 (Cell wall) 為波紋狀，每一細胞內均有明顯之矽體 (Silica body.) 為一明顯之特徵。



#### (2) 果肉細胞 (Flesh cells):

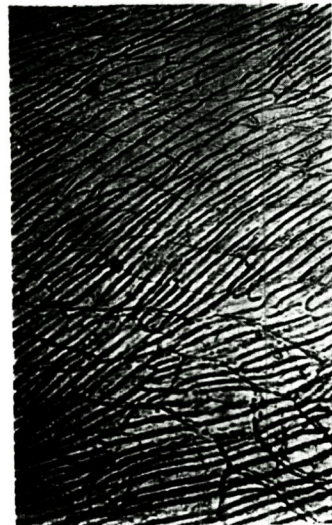
鳳梨之果肉細胞為大形透明之柔膜細胞 (Parenchyma cells), 其大小形狀變化極大。果肉細胞內含原



形體 (protoplast) 及空胞 (Vacuole)。果肉細胞之細胞壁極薄，在顯微鏡下觀察時因壓縮而重疊。細胞壁形成平行之境界，於鏡檢時須注意識別。鳳梨果肉部與芯部之細胞並無大差異。

#### (3) 子室壁表被細胞 (Seed cavity lining cells):

子室壁表被為透明之薄膜，係由大小不同重疊而排列之兩層細胞組成，一層之細胞極為細

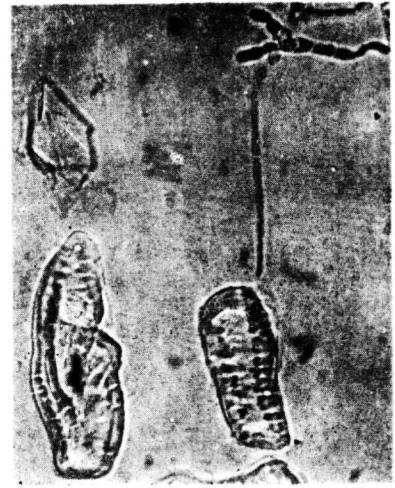


長，其細胞壁平行，一層則較肥大，二層之細胞均為柔膜細胞具有薄細胞壁。

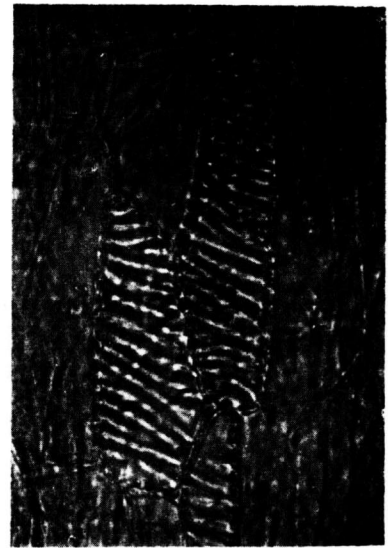
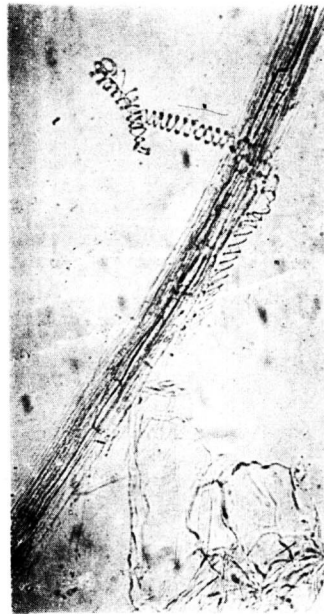
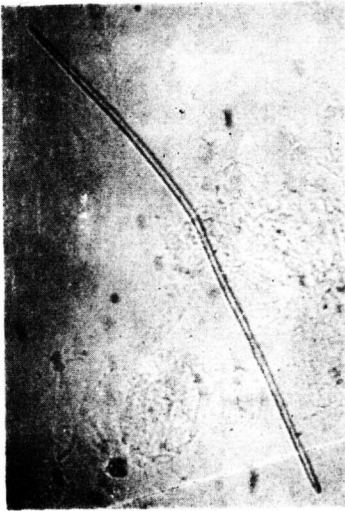
(4) 雄蕊室表被細胞 (Stamen cavity lining cells)



鳳梨小果頂部由萼片包被覆蓋雄蕊或雄蕊室。其表面為褐色之厚壁細胞 (Sclerids) 組成之革質層所包被。此層細胞之大小形狀變化亦大，但其細胞壁均顯著加厚而木質化，有明顯之加厚層次及孔 (pits) 之存在。



(5) 維管束 (Vascular bundles)



在鳳梨之果肉內及芯部，一般稱為纖維者實係維管束之木質部 (Xylem)，包括各種導管 (Vessels)，纖維 (fiber) 及相連之細胞。

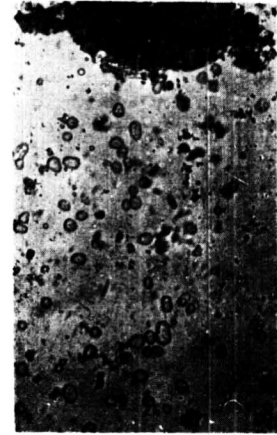
- a. 纖維細胞極為細長，兩壁平行，兩端漸尖，其細胞壁有明顯之加厚及孔之存在。
- b. 導管形較短粗，兩壁平行，其細胞壁有不同形式之加厚，如旋紋 (helical) 及網紋 (veticulate) 者。導管上之孔形大，構造亦複雜。

(6) 種皮細胞 (Seed coat cells):

鳳梨之種子有褐色之種皮，係由兩層細胞構成，一層為細長之細胞，其細胞壁特厚已分化成厚壁細胞重疊構成種皮，種皮上有透明之縱向溝紋。

(7) 種子內之胚乳細胞 (Endosperm cells)

鳳梨之種子內具有白色之胚乳，為柔膜細胞，其中充滿大小不同圓形及長圓形之澱粉粒。



2. 鳳梨果實組織之觀察法 (method of microscopic examination of the tissues of Pineapple fruit)

鏡檢時為識別鳳梨果實各部個別細胞之構造，故以採用組織離解法 (maceration of tissue) 為適宜，因為應用游離之細胞觀察，對於細胞之形態可得一立體之概念。此為切片法 (sectioning) 所不及者。另就鏡檢工作之本身觀之亦以用離解之組織為適宜。所需用之藥品，材料及實施步驟如下：

(1) 需用器具 (Materials required)

- a. 顯微鏡 (Microscope) 1架及顯微鏡燈 1台
- b. 載玻璃 (slide) 50片 (25×75mm)
- c. 蓋玻璃 (cover glass) 100片 (22×22mm)
- d. 解剖刀 (scalpel) 1把
- e. 解剖針 (Dissecting needle) 1支
- f. 鑷子 (Forceps) 眼科用細尖彎頭及大形直頭各一
- g. 直形管 (Vials) 附木栓25支 (直徑20mm長50mm)
- h. 玻璃棒 (Glass rod) 10支 (直徑4mm長90mm)
- i. 吸管 (Pipette) 5c.c.及小形附橡皮吸頭各一
- j. 量筒 (measuring cylinder) 2支 (100c.c. 50c.c.各一)
- k. 酒精燈 (Alcohol lamp) 1台
- l. 吸水紙 (Absorbent paper) 1疊
- m. 玻璃標記鉛筆 (Glass marking pencil) 1支
- n. 手巾 (Towel) 2塊
- o. 醫用離心機 (Clinical centrifuge) 1台 (可省去)
- p. 濾紙 (filter paper) 若干
- q. 漏斗 (Funnel) 1支
- r. 培養皿 (Petri dish) 10付 (直徑6cm)

(2) 應用藥品及處方 (Chemicals needed & formulas)

- a. 組織離解用液 (Jeffrey's fluid)
  - 10% 硝酸 (10% nitric acid)
  - 10% 鉻酸 (10% chromic acid)兩液等量混合供用，另需蒸餾水及50%酒精供洗滌及保存組織用。
- b. 標本封藏用 glycerine jelly

{	Gelatin	5g
	Water	30c.c.
	Glycerine	35c.c.
	Phenol	5g

先將 Gelatin 溶於水中 (35°C) 可在定溫箱中或水浴槽中保持所需溫度，候完全溶解後加入甘油及石炭酸，在溫熱中經濾紙過濾，冷後即凝固，加熱後可再溶解，但以每次取出一小部溶解供用為適宜。

(3) 樣品 (Sample) 鳳梨鮮果實或罐頭製品。

(4) 組織離解觀察法 (Procedure for making preparation of macerated tissue)

- a. 將欲觀察之果實之果肉組織用解剖刀切成 1<sup>2</sup>mm 方塊，以吸水紙吸去汁液，然後放置於直形管內之離解液中，將直形管置於 30~40°C 定溫箱內。
- b. 經 24~48 小時後，以玻璃棒輕壓組織即成糊狀時為組織已充分離解，可用玻璃棒攪拌成組織之懸游液 (Suspension)。如組織不能破碎則須換新液使繼續進行離解作用。
- c. 將已充分離解之組織用蒸餾水充分洗滌，除去殘留之離解液。可將懸游液靜置，等細胞沉澱後，以吸管吸去上部之水，再加蒸餾水，如此反復行 5~6 次，然後以 50% 酒精保存供用。為縮短水洗及沉澱之過程，可使用小型之離心機。
- d. 以玻璃棒攪拌組織之懸游液，並以少許滴於載玻片上，微熱之，使酒精蒸發，然後加 Glycerine jelly 1 滴，再加蓋玻璃，等 Glycerine jelly 凝固後，即可觀察。須注意勿使 Glycerine jelly 之量過多或過少。此項製品可供兩三日內觀察之用，如善加保存可供二三週內之用。貯放時應置於無塵埃遺落之處。

3. 實習作業 (Exercise problems)

(1) 練習鳳梨果實組織離解之操作。

(2) 利用已離解之組織，觀察鳳梨果實各部細胞之構造，繪圖並附簡單說明，須包括下列各種細胞：

- a. 果肉細胞，b. 纖維，導管，c. 子室壁表被細胞，d. 雄蕊室表被細胞。

4. 參考書：

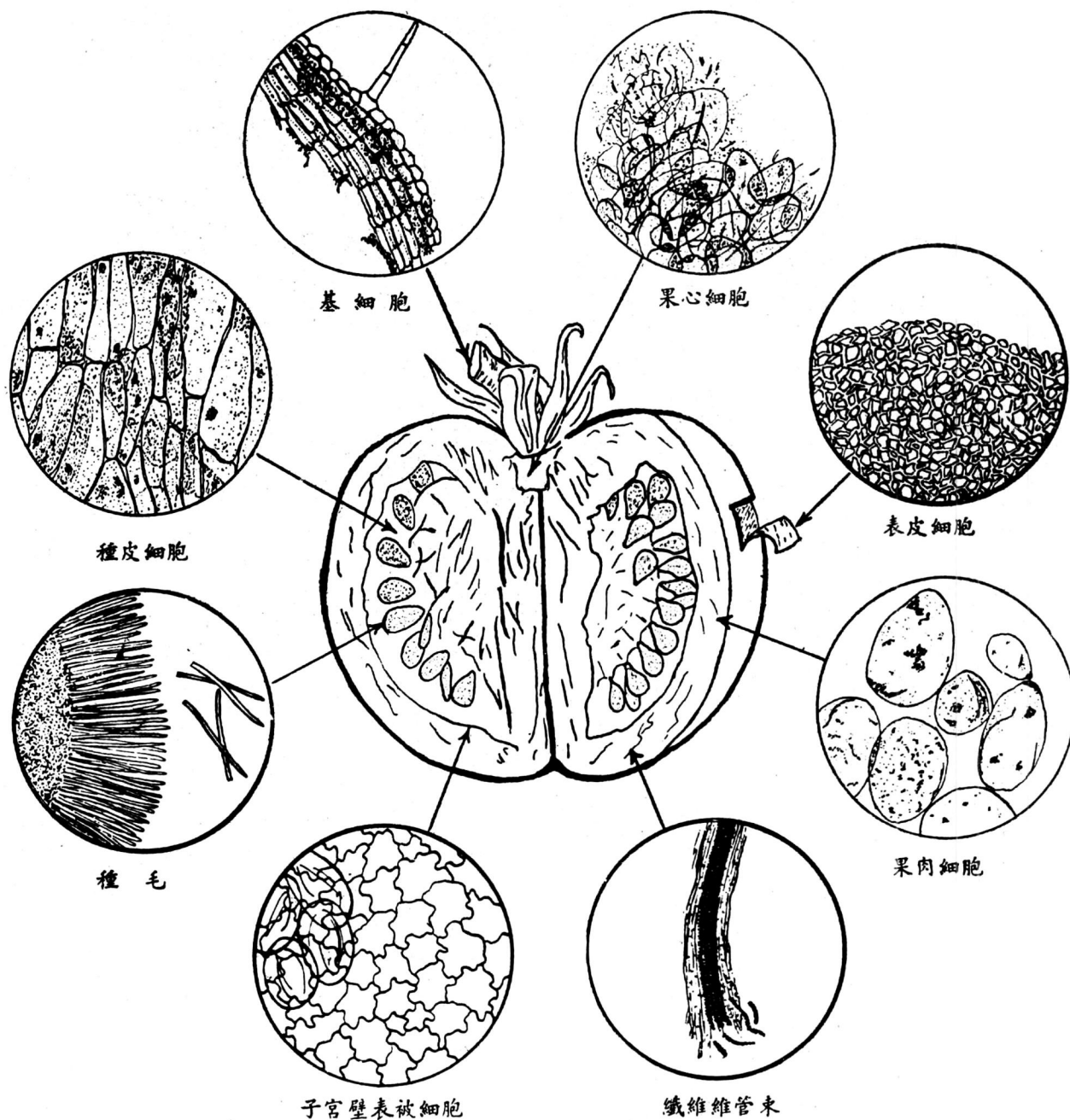
- (1) Sass. J. E. 1951 Botanical Microtechnique P. 102~109  
The Iowa state Univ. Press. Amer Iowa. USA.
- (2) Foster. A.F. 1951 Practical Plant anatomy P. 214~216.  
D. Van Nostrand co. New. York.
- (3) Easn. K. 1953 Plant anatomy P. 139. 176. 178. 213. 224~236  
John Wiley & Sons New York.

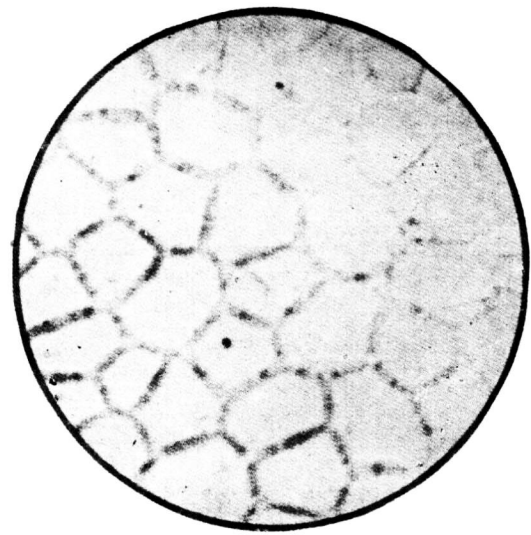
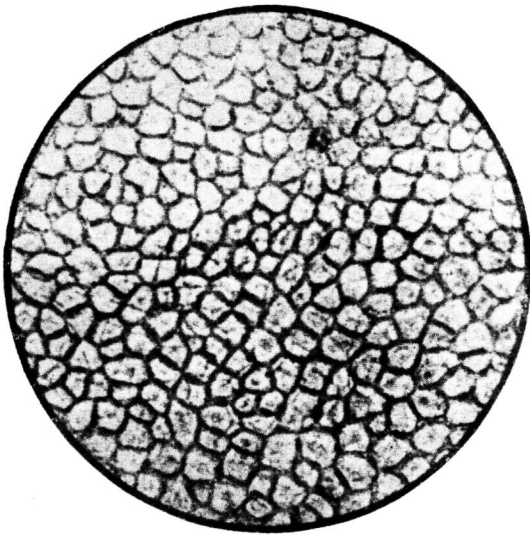


## (二) 蕃茄果實之組織 (Texture of tomato)

### 1. 表皮細胞 (Epidermal or skin cells)

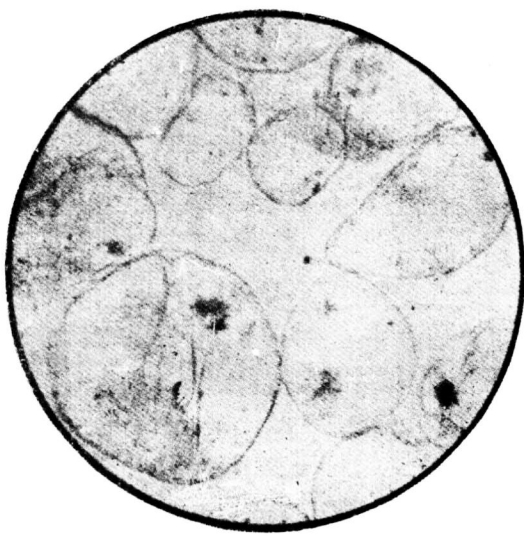
蕃茄的表皮細胞呈不規則之多角形並帶有黃綠色，極易辨認。細胞間離夾有，Middle lamella，但各細胞緊聚且有明顯之細胞壁。在顯微鏡下觀察，表皮細胞有一片扁平的鋸片。製標本時須除去附着的果肉細胞。





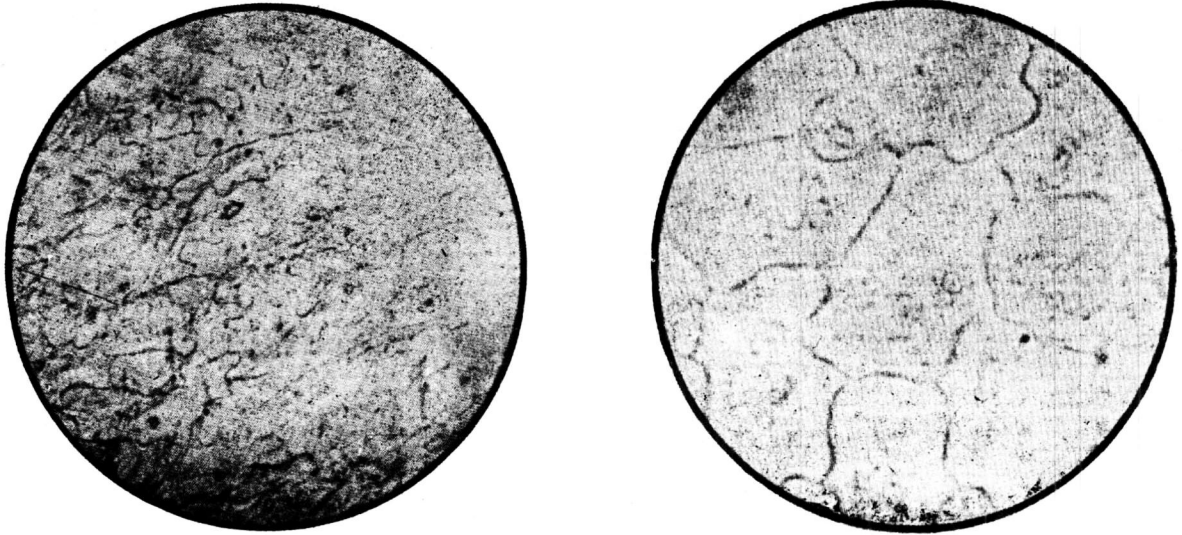
## 2. 果肉細胞 (Flesh cells)

細胞透明，細胞壁極薄，呈卵形，形狀類似。果肉細胞通常比表皮細胞大，形狀也不一致。由於其形狀的特殊，有時叫做 Cellophane foot ball 果肉細胞常由於重疊或呈細胞壁之迴轉，而影響黴菌 (Mold) 數目之計算。



### 3. 子宮壁表被細胞 (Seed cavity lining cells)

子宮壁表被之厚度僅為一細胞，這些細胞通常為薄膜且形狀不規則如鋸齒狀。在細胞中可見到細胞質粒及細胞核。由於此組織僅有一細胞厚，欲製標本極為困難，故此標本通常連果肉標本。



### 4. 纖維維管束 (Fibrovascular Bundles)

散佈於果肉中白色之線或脈即纖維維管束。養分由此運送至果實，在顯微鏡下呈黑色，類似一組捲繞的彈簧。同時可見到長方形磚形之細胞常附着於這些捲繞的維管束，可紛亂鏡檢，但由於其為小輪環狀或端末膨大或一端較尖或一端受磨損可與黴菌區別之。



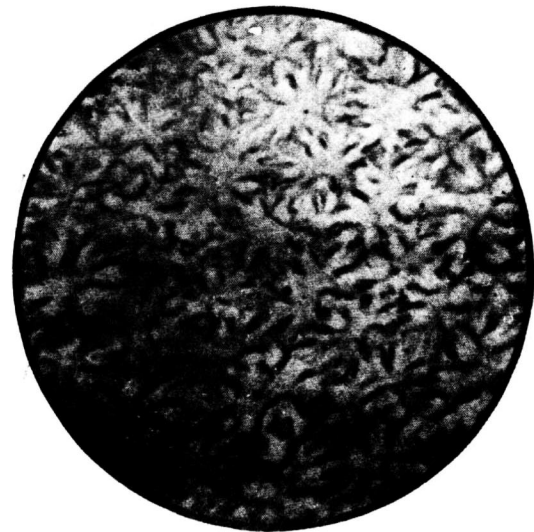
### 5. 種毛 (Seed hairs)

種毛是覆在種子外表的鬚狀突出部  
◦ 形狀為長錐狀，有尖端，類似劍狀  
◦ 在顯微鏡下觀察時成透明藍色類似  
冰柱。如果尖端部未被破壞，則不引  
起檢查之困難。



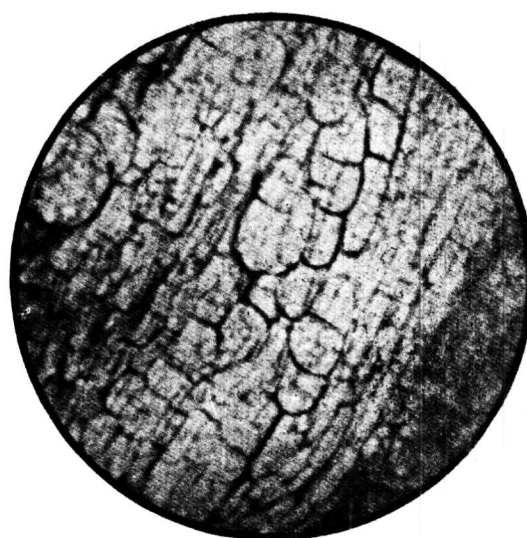
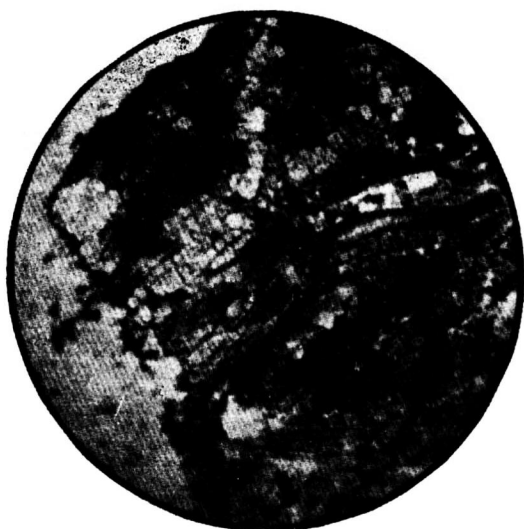
### 6. 種皮細胞 (Seed coat cells)

種皮由小而壁厚之細胞組成，如前述子宮壁表被細胞及種皮細胞，雖大小不一但亦成  
鋸齒狀。



### 7. 內胚乳 (Internal seed cells Endosperm)

形狀如長方形、紅磚形、立方形、橢圓形、卵形等，細胞構造緊密度及細胞之內容物多少而使內胚乳之顏色不同，黑色為細胞較密內容物多之原因。

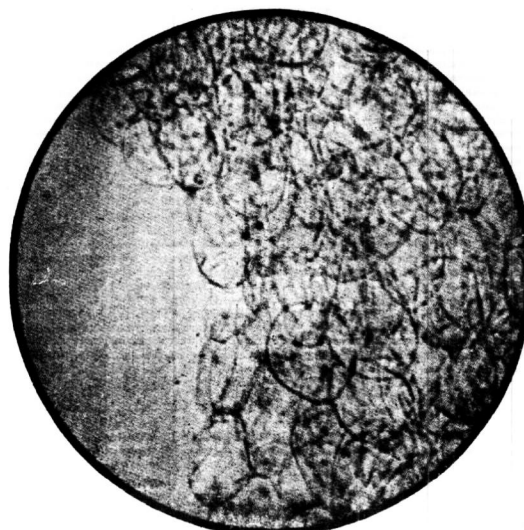


### 8. 基細胞 (Stem cells)

基細胞的形狀與大小以在莖上位置的不同而異，但大都為長方形或紅磚形，因莖上之 Epidermal hairs 形狀長為環狀及弓狀，因此引起檢查的困難，但此細胞在細碎製品中少見之。

### 9. 核細胞 (Core cells)

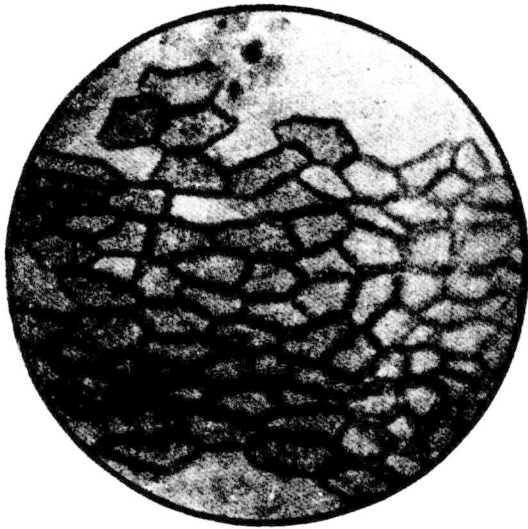
形態同果肉細胞，但較小，較圓。





10. 有孔導管 (Pitted vessels)

呈暗色，形狀不規則，有較厚之細胞壁，存在於蕃茄果柄之末端，在細碎之製品中少見之。



## 六 鳳梨與蕃茄罐頭中常見之黴菌

### (Molds frequently found in Pineapple and Tomato products)

#### (一)鳳梨罐頭中常見之黴菌 (Molds frequently found during canning proces of Pineapple)

##### 1. 簡介 (General Remarks)

黴菌滲入罐中之原因，可能由 a.空氣中 b.果實表皮 c.工作人員之污染 d.其他等。吾人欲窺見其污染之情形程度，可照下述方法實施，惟黴菌之菌絲與鳳梨之果肉，纖維以及草酸鈣結晶等混淆在一起，有時不易分別，故須細心觀察鑑別之。

##### 2. 樣品採取法 (Sample & sampling).

將下列之樣品用70%酒精拭淨，經火焰上殺菌之小刀或類似物，由現場採取適量，供作實驗用。

- (1)鳳梨罐頭，或鳳梨碎片
- (2)附於皮帶上的黏液物質，或工作人員所用之工具上附着物等。
- (3)受病害或損傷之鳳梨切片。
- (4)其他。

##### 3. 器具 (Equipment Materials required)

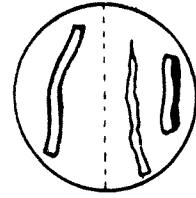
- (1)玻璃片 (slides) 及蓋玻璃 (Cover glass.)。
- (2)吸管 (約1~2c.c.者) 或滴管均可。

##### 4. 實驗方法 (Procedure)

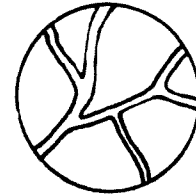
- (1)取上述之樣品，若為固體如片，碎片，則擠出其果汁。
- (2)以乾淨之吸管吸取少量液體，滴於玻璃片上或用 Howand counting chamber 上。
- (3)蓋上玻璃蓋片。
- (4)在低倍鏡下觀察黴菌絲體之存在。

##### 5. 黴菌之鑑別法：(The identification of molds)

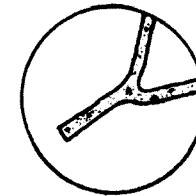
(1)具有較平行之細胞壁，而其兩端有錐狀 (Blunt) 者。



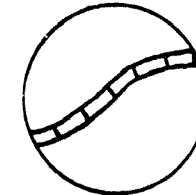
(2)具有平行之細胞壁，而有明顯分枝者。(Branching)



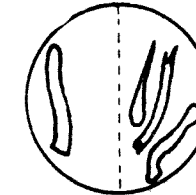
(3)具有平行之細胞壁，而內有顯明之特徵性顆粒狀物 (Granulation) 生成者。



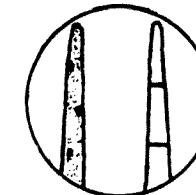
(4)具有平行之細胞壁，而有顯明之分隔生成者。(Septation)



(5)具有一端為錐狀，而另一端為圓球狀 (Rounded) 者。



(6)具有漸次變為細狀之細胞壁，而其中有顆粒狀物或分隔之特徵者。



6. 鳳梨罐頭製罐過程常見之微菌。

(Molds frequently found during canning proces of pineapple)





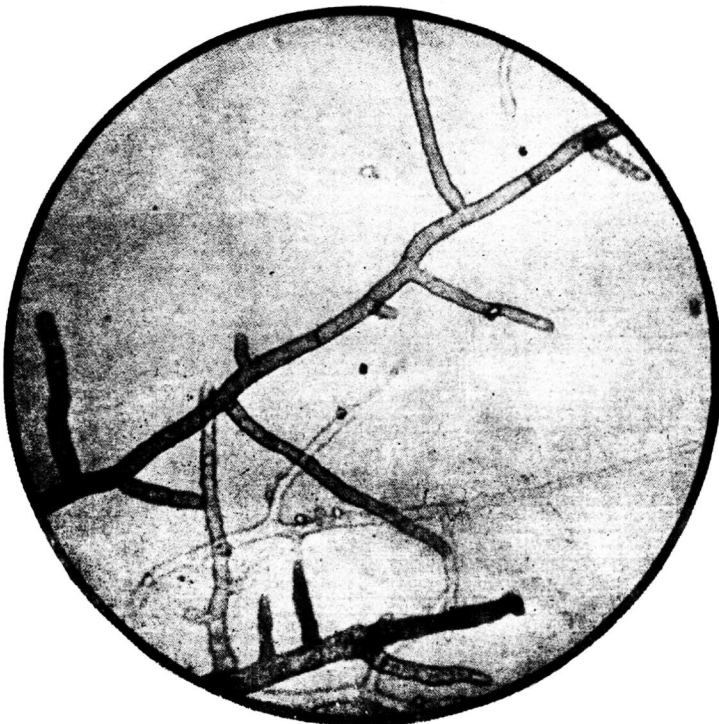
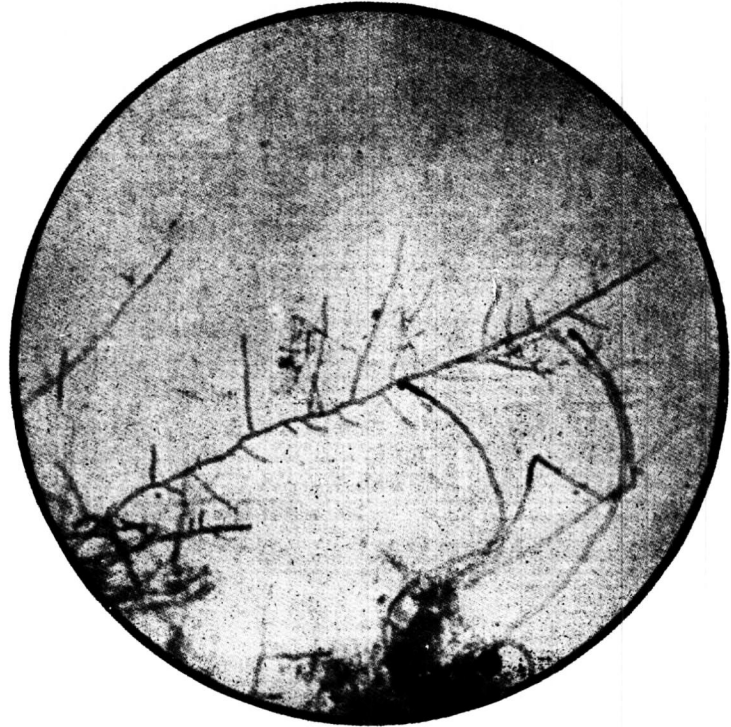


## 二蕃茄罐頭中常見之黴菌 (Molds in tomato products)

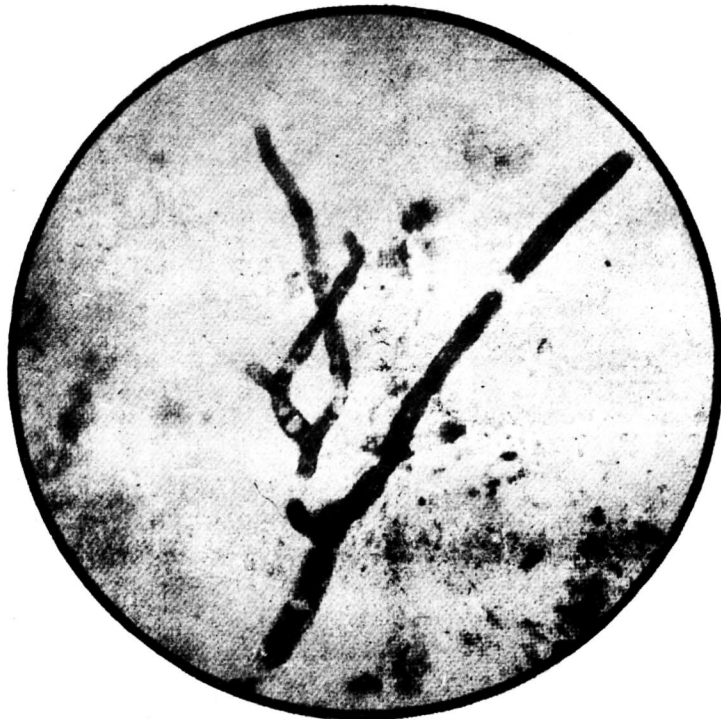
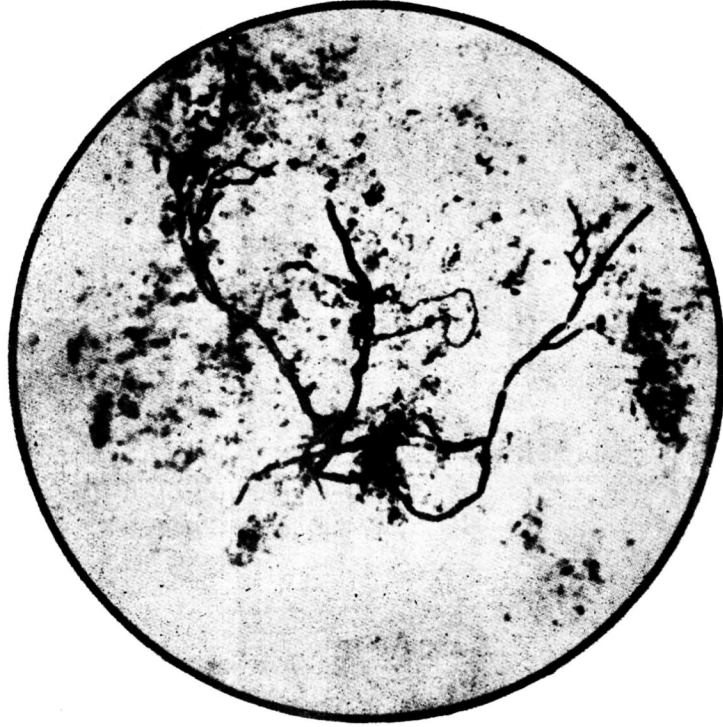
### 1. 簡介 (General Remarks)

當一旦黴菌之菌絲體或孢子落於蕃茄果實上在適宜的環境下，就發芽生長以至蔓延至整體，通常黴菌可分二部份，即營養器官與子實器官。子實器官都長在表面上，經製罐前之揀選及沖洗工作後多半可除去，但營養器官由於其滲透入內部致使在工作過程中很容易隨果肉而進入罐內，吾人欲觀察罐中之內容物為黴菌污染之情形及程度，可用 Howard 計算器計算之。

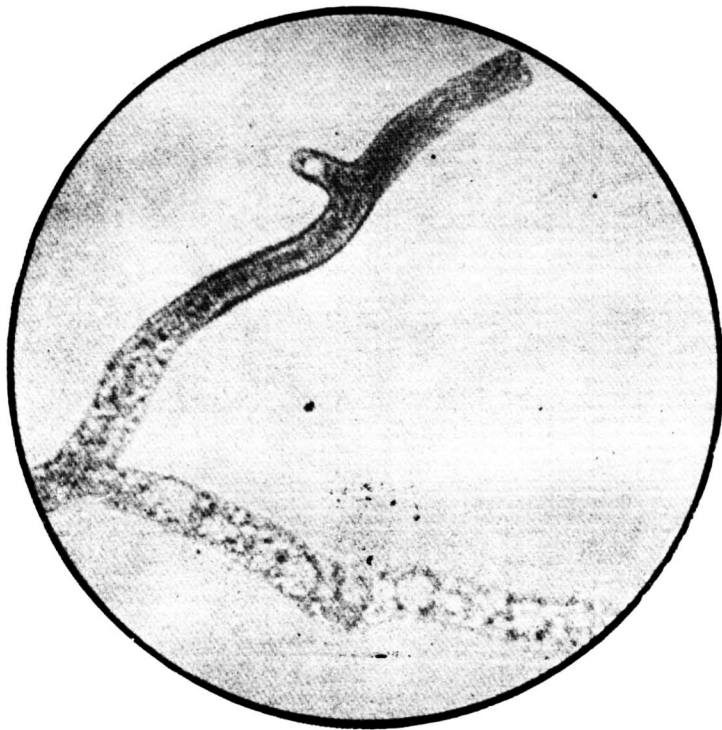
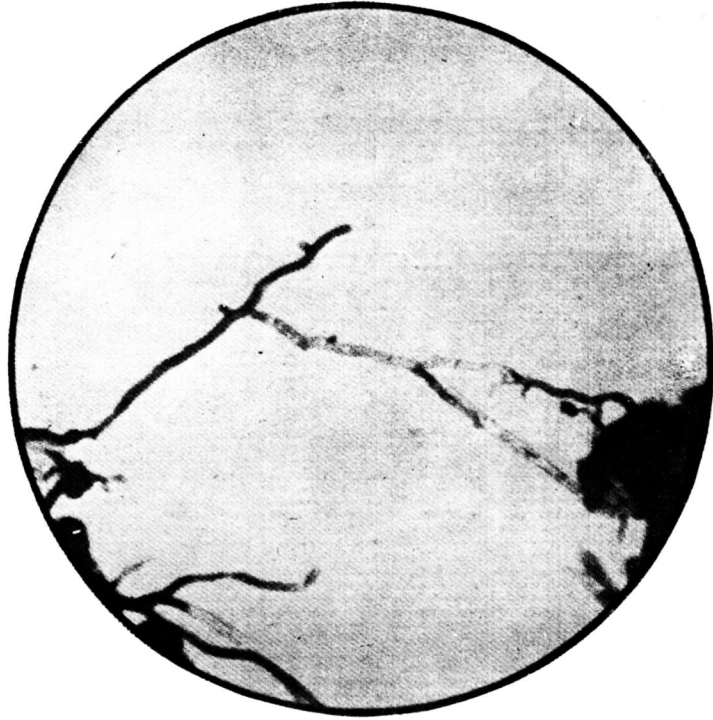
細小黴菌菌絲表明  
強度相同之平行細胞壁  
，橫隔及分枝。



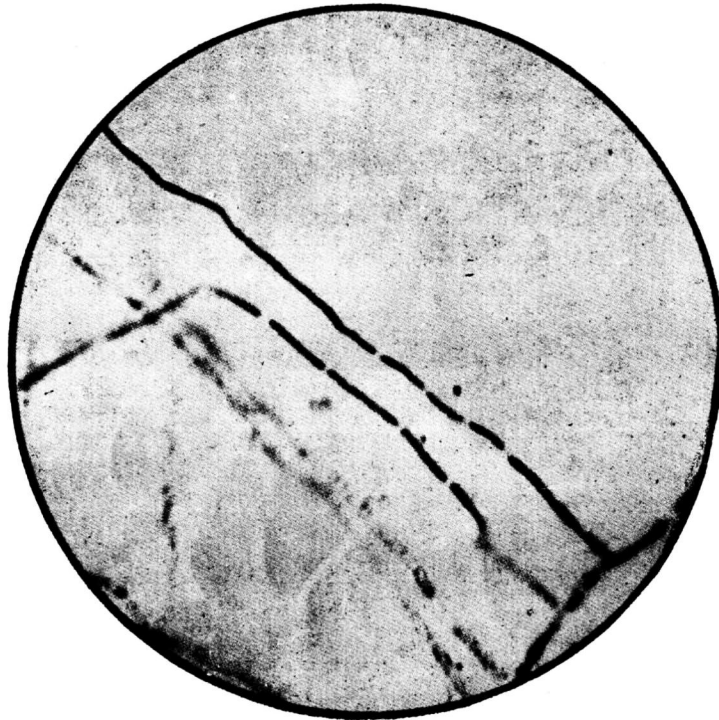
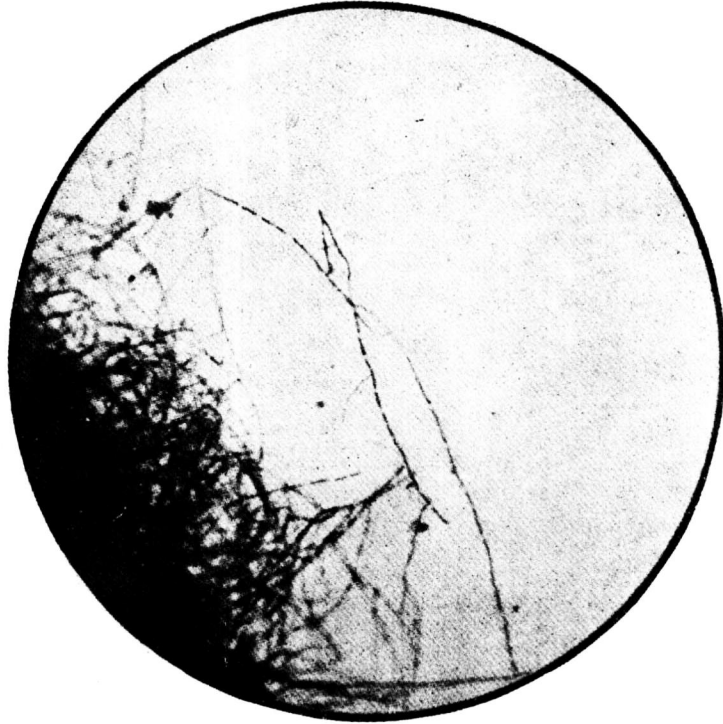
大黴菌之絲表明粒狀或粒，分枝及稍變圓形的生長細胞。



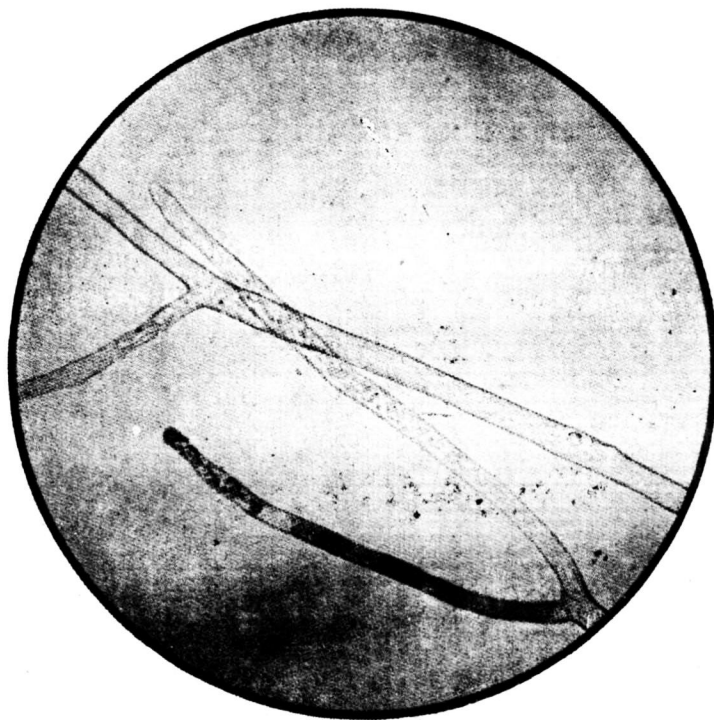
表明破碎細絲的粗齒的末端，成粒及分枝。



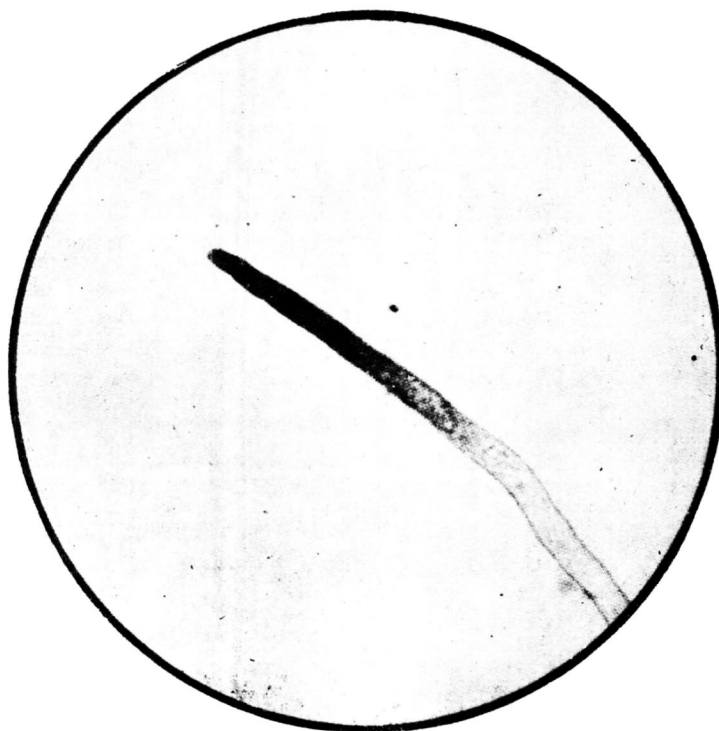
表明破碎的徽菌注意在圖47的徽菌細絲叢狀物。



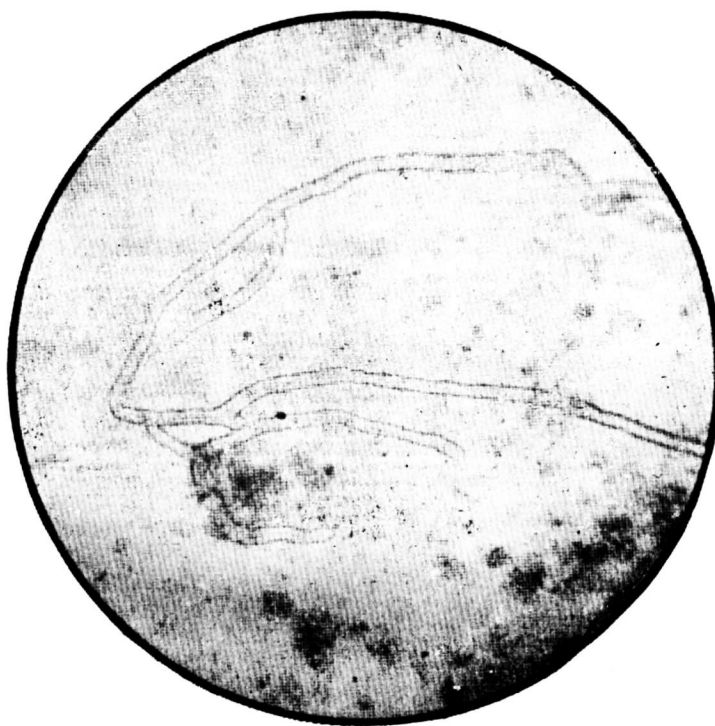
已分枝的黴菌細絲，表示成粒及強度相同的平行細胞壁。



微菌細菌表示正漸漸變細的細胞壁及稍變圓形的生長尖端。

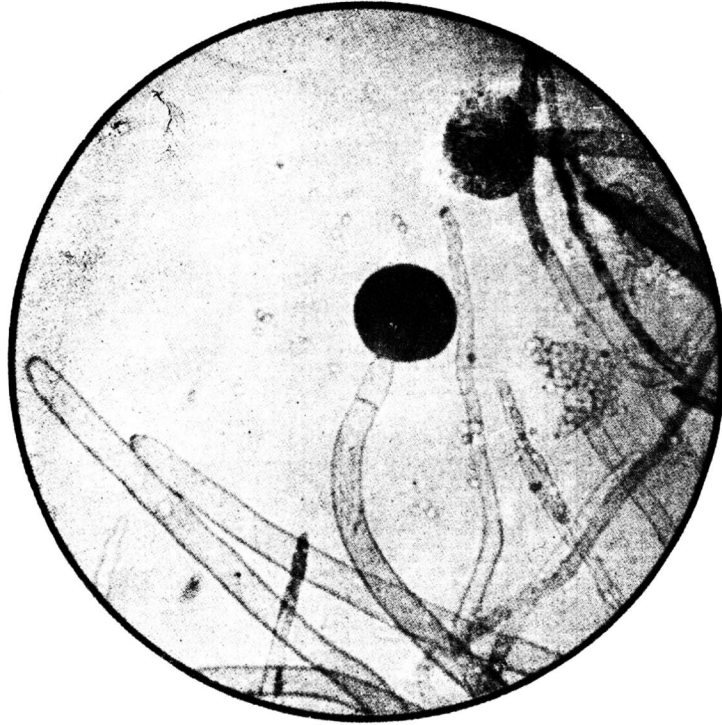


已分枝微菌菌絲的稍變圓形的正生長着的末端。

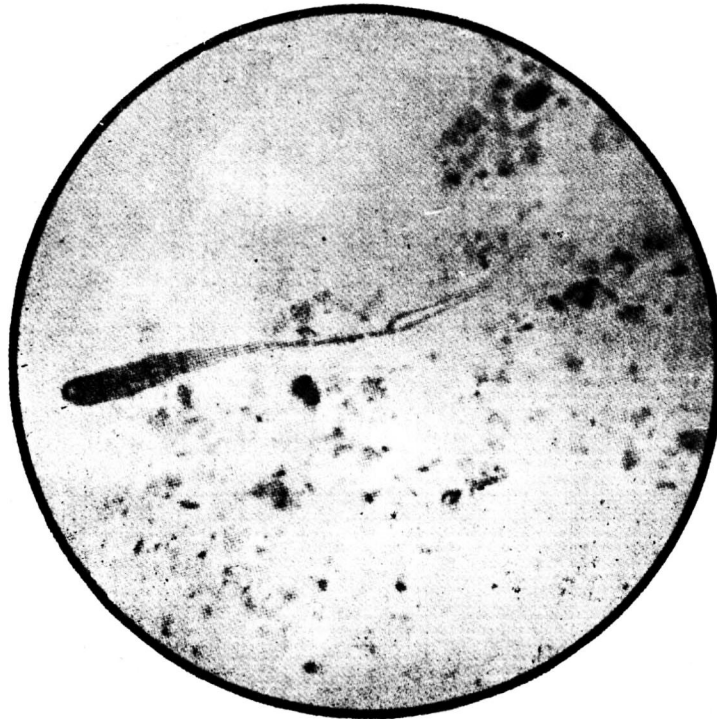




根微的可生殖氣生菌絲表示孢子囊及孢子。

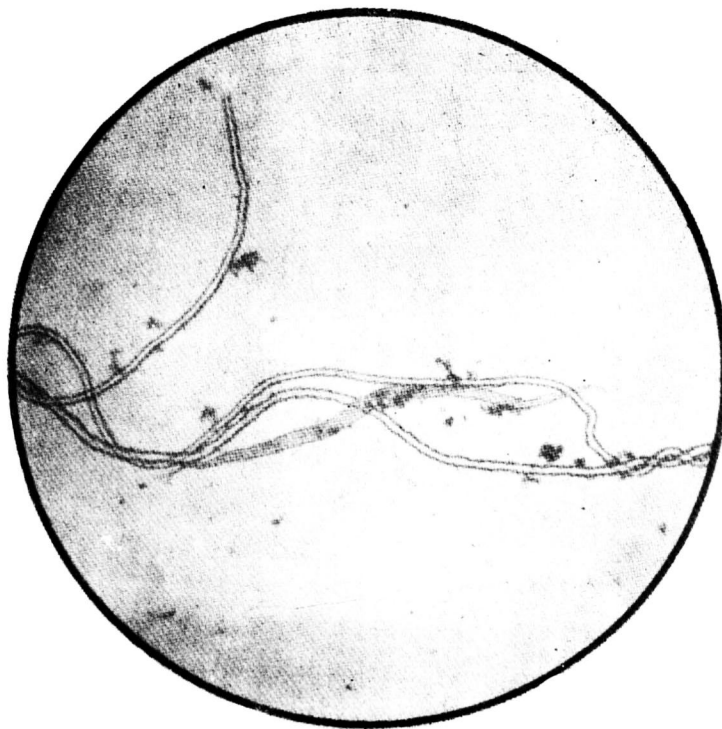
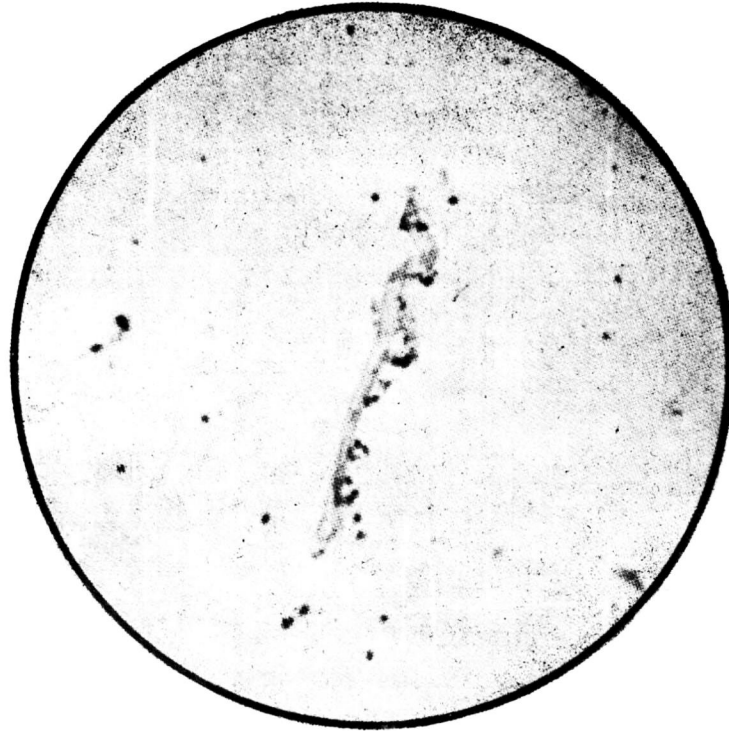


*Alternaria* 微菌的孢子。





表明易與微菌混淆的構造，注意被磨損有點狀的末端及強度不同的細胞壁。



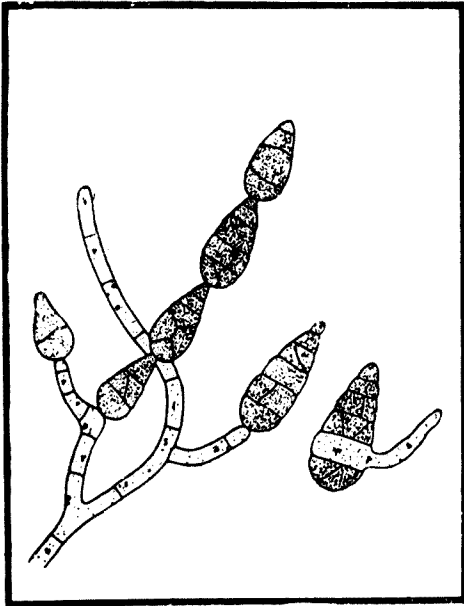
## 2. 常見之黴菌

### (1) *Alternaria*

菌絲體生長於蕃茄表皮下而孢子却出現於表面上，使蕃茄組織呈現暗色，具有琥珀色 Indian-club 狀，大形之多細胞分生子呈倒棍棒狀，建成鏈形。有時在孢子間有短菌絲之伸出，菌絲體有分隔。

如 *Alternaria tomato*：在果實上形成釘頭狀斑點。

*Alternaria solani*：形成早期植物枯萎症 (Early blight) (附圖)

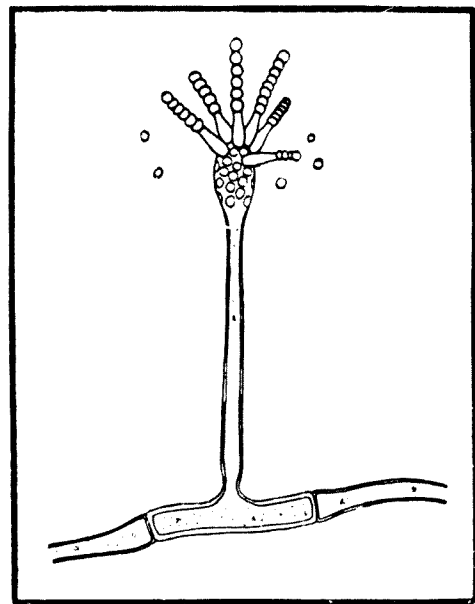


菌絲體有分隔。

如 *Asp. niger*：可生黑色之分生孢子。(附圖)

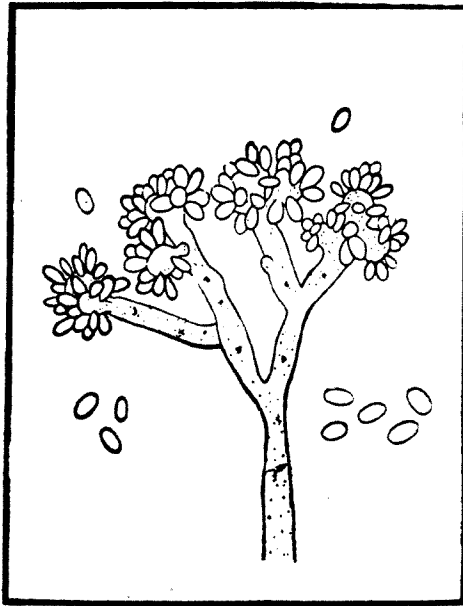
### (2) 麴菌 *Aspergillus*

自營養菌絲之一膨大細胞 columella 上生出一分生子柄 (conidiophore)，由此頂端生出許多瓶狀之小梗 (Sterigmata)，在小梗之尖端即可發現有一串鏈狀之分生孢子 (conidia)



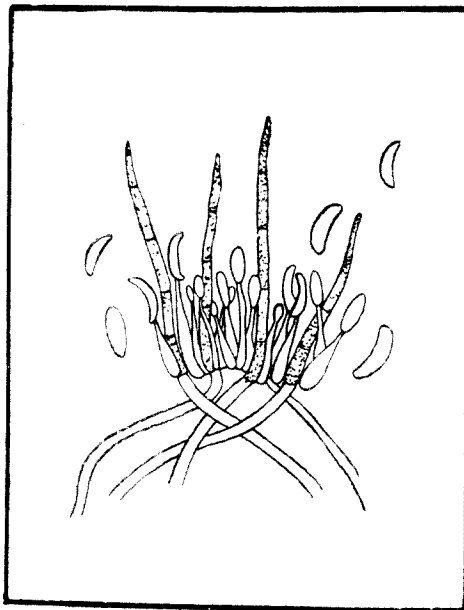
(3) Botrytis

此種菌絲可自果實之裂口或完好之表皮滲入，菌絲有橫隔，灰色橢圓形之孢子叢成葡萄狀球長於分枝之菌絲體上。(附圖)



(4) Colletotrichum

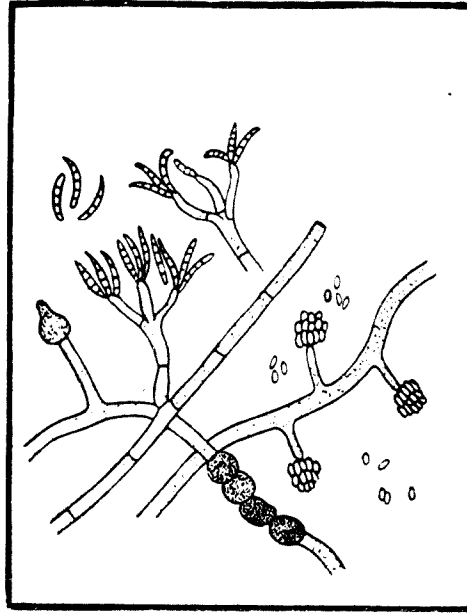
它常可侵入健全之果實內，先在蕃茄表皮下發展成一圓形小點，繼之迅速生成一小洞，此時菌絲體與孢子正密集於表皮下，而孢子又藉風雨之媒介去侵害其周圍之果實，該菌絲體細長且有節間孢子呈小橢圓形。(附圖)



(5) 镰刀菌 *Fusarium*

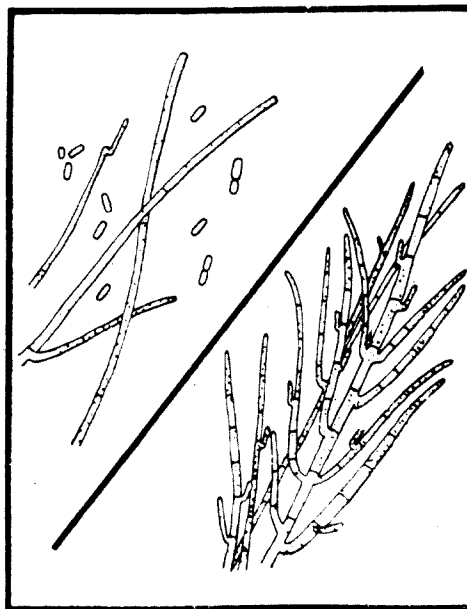
如 *Fusarium oxysporum flycopersici* 可侵害蕃茄於其每一生長階段，首先自根部侵入，繼而使莖葉憔悴，最後整個植物體枯萎果實部分由裂縫或損壞處侵入，使受害部變軟起趨，尤其在潮濕氣候下，僅數日即可使整個植物體枯萎。

菌絲有橫隔，孢子分大小二種，大孢子呈鐮刀狀且有節間厚膜，小孢子呈圓形或橢圓形。(附圖)



(6) Oospore (Oidium)

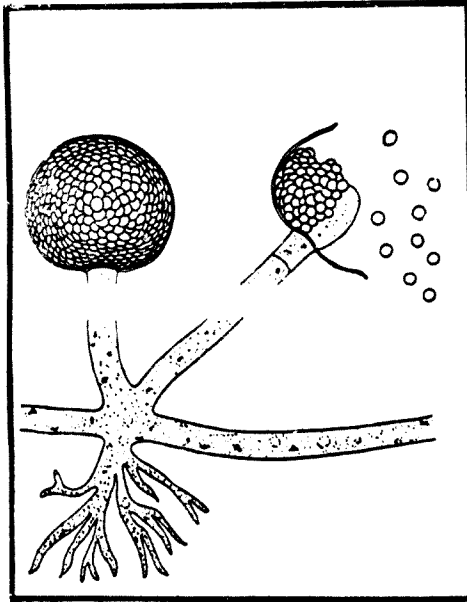
在顯微鏡下觀之如羽毛狀，由於它多少有點抗熱性及抗防腐劑，因此在製罐過程中，很易進入罐中，又因其有特殊臭味，故極易檢出，菌絲細長，有橫隔，菌絲任何部斷裂後都可繁殖故有 oidia 之稱，斷生孢子成圓角之長方形。(附圖)



(7) (毛黴與根黴) Mucor and Rhizopus

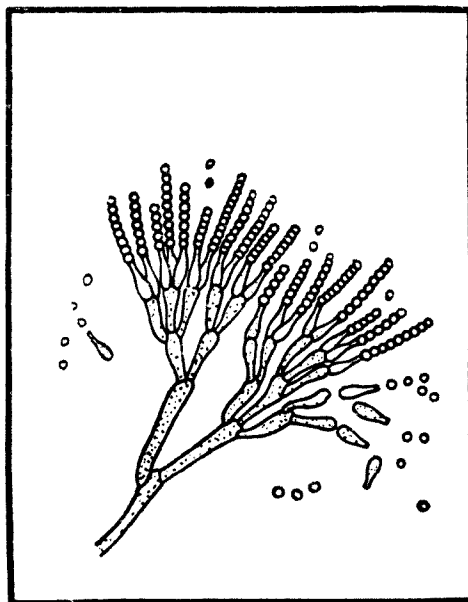
經毛黴與根黴菌侵入之蕃茄果實成為柔軟及浸水狀 (watery) 當處理及沖洗工作時，很易斷成碎片。

菌絲體呈灰白色較粗，可氣生 (aerially) 又可侵入生長 (Submerged) 分枝多而無橫隔，在氣生菌絲之頂端又有生產孢子之孢子囊，孢子呈黑色或棕色，圓形或橢圓形。(附圖)



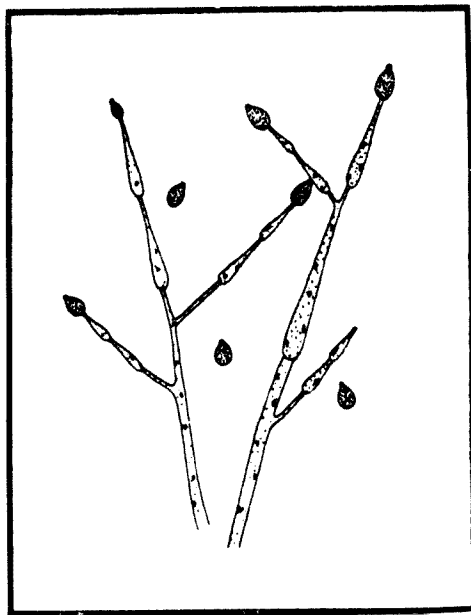
(8) 青黴菌 Penicillium

生殖菌絲成扇狀或手指狀鏈狀，孢子生長於手指狀伸展物之端點，菌絲有橫隔呈白色，有圓形或橢圓形之青色孢子，形成後遂使侵害處成為青藍色之斑點。(附圖)



(9) Phytophthora

如 *phytophthora infestans* 形成蕃茄之疾病 (late-blight) 其腐爛多半由莖尖發生而移至果實終於糜爛至整個果實，菌絲無橫隔，寬度不均，含有高度折射性之細胞質。(附圖)



# 七 Howard 氏黴菌計算法

## (The Howard Mold count method)

### 1. 簡介 (General remarks)

此法是測定罐頭食品中之菌絲濃度者。但其數目僅表示一種比較濃度，又因其數目可表示罐頭食品被污染之程度，所以又可利用於製造罐頭之管理。

### 2. 應用器具及樣品 (Materials required)

#### 1. 樣品 (Sample)

鳳梨罐 (碎片) (canned pineapple crushed)

鳳梨汁罐 (canned pineapple juice)

蕃茄漿 (Tomato catsap) 註

#### 2. 顯微鏡 (Microscope)

接物鏡 (objective  $\times 10 \times 45$ )

接目鏡 (ocular  $\times 10 \times 20$ )

虹彩遮光器之集光器 (condenser with iris diagram)

縱橫轉動載物器 (Mechanical Stage)

其他 (請看顯微鏡操作)

#### 3. 離心分離機 (centrifuge)

附50ml 刻度之錐形底分離管 (conical bottomed centrifugal tube 50ml graduated)

#### 4. 解剖用小刀 (Scalpel)

#### 5. 燒杯 (250~600~ml)

#### 6. 紗布 (Gauze or towel)

#### 7. 解剖用不銹鐵針 (Dissecting needle)

#### 8. 膠質溶液 (pectin solution)

#### 9. 開罐器 (can opener)

#### 10. 吸管 5 ml (Pipette 5ml Volumetric)

#### 11. Howard 黴菌計算板 (Howard Mold counting chamber & coverglass)

#### 12. Howard 顯微測定板 (Howard Micrometer disk)

#### 13. 記錄卡片 (附圖)



# 黴菌計算報告

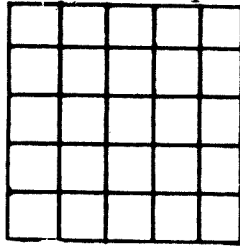
產 品 \_\_\_\_\_

整理號碼 \_\_\_\_\_ 每批號碼 \_\_\_\_\_

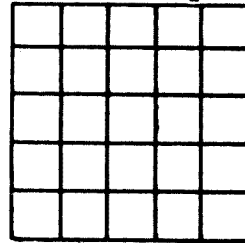
包裝日期 \_\_\_\_\_ 採取時間 \_\_\_\_\_

稀 釋 \_\_\_\_\_

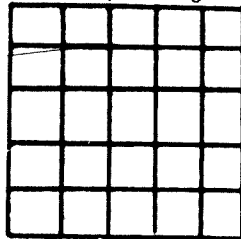
第一片 1



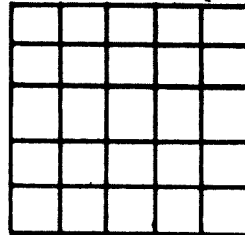
第二片 2



第三片 3



第四片 4



總視野 \_\_\_\_\_ 正視野 \_\_\_\_\_

% 黴菌正視野 \_\_\_\_\_

測定者 \_\_\_\_\_

### 3. 實驗方法 (Procedure)

#### 1. 膠質溶液之配法 (Preparation of pectin solution)

置水於攪拌器 (例 Waring blender) 中，當攪拌器開後直接加入需要量之穩定劑 (Stabilizer) 一克質或 Algir (膠質 3g 水 100ml Formalin 2ml)

以真空抽氣或加熱除去氣泡。

如無攪拌器，則 Pectin 先溶於少量酒精中，以促進其水和性。

#### 2. 調節顯微鏡之視野 (Standardization of Microscope)

放大倍率 90~125 倍。普通為 100 倍。

調節 Draw tube，使視野的直徑為 1.382mm 新型計算板有補正圓 (calibration circle) 或用顯微測尺 (Stage Micrometer) 也可測定之。

#### 3. 準備試料 (Preparation of Sample)

洗清罐外壁，開罐，倒汁入玻璃杯中，又倒回罐中，如此十二次以上，取 50ml 果汁倒入分離管中，在 2200r.p.m 離心分離機中分離 10 分鐘 (用 International S.B. 型 Sizer centrifugal tube 與 No. 2408 Place head)。如果無此型，則可採用任何型的，但其速度要依其離心臂之半徑來法定。其分法如下：

$$N^2 r = n_1^2 r_1 \quad N_1 N = \text{每分鐘旋轉次數 (可用速度計測定之)}。$$

$$r r_1 = \text{離心分離機之臂半徑。}$$

等離心分離機停止後，移去分離管，倒去上面之澄清液，加水到 7~8ml 加 0.5 ml couc. HCl. 最後加水到 10ml，再加 5ml 3% Pectin Solution，倒到小型燒杯中，然後又倒回分離管，來回六次以上。

#### 4. Howard 微菌計算板之用法 (The use of Howard Mold Counting Chamber)

Howard 計算板是一片玻璃形成的，中央有一 19mm 直徑的圓，兩邊則有肩 (Shoulders)，使蓋片與板距 1mm (附圖)

$$\text{圓面積} = \pi r^2 = \frac{1}{4} \pi d^2 = 0.7854$$

$d^2$

Howard 代微菌計算顯微鏡視野之面積

$$= \text{直徑}^2 \times 0.7854$$

$$= 1.382^2 \times 0.7854$$

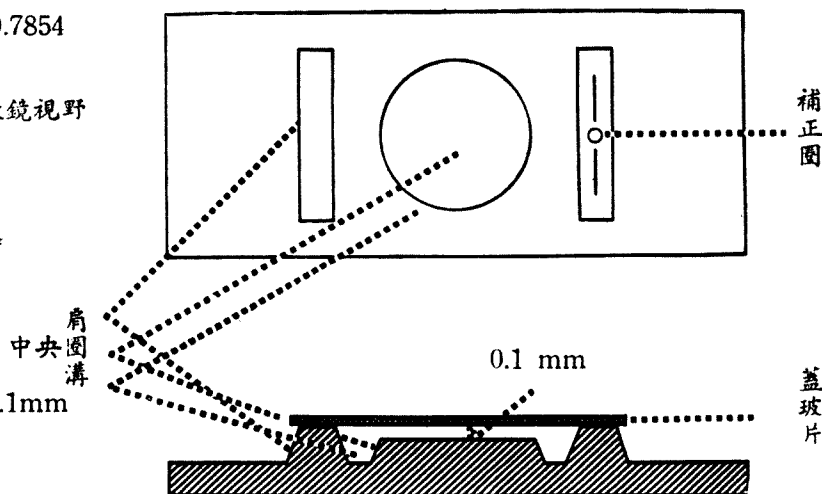
$$= 1.5 \text{sq. mm.}$$

顯微鏡視野之容量

$$= \text{面積} \times \text{高度}$$

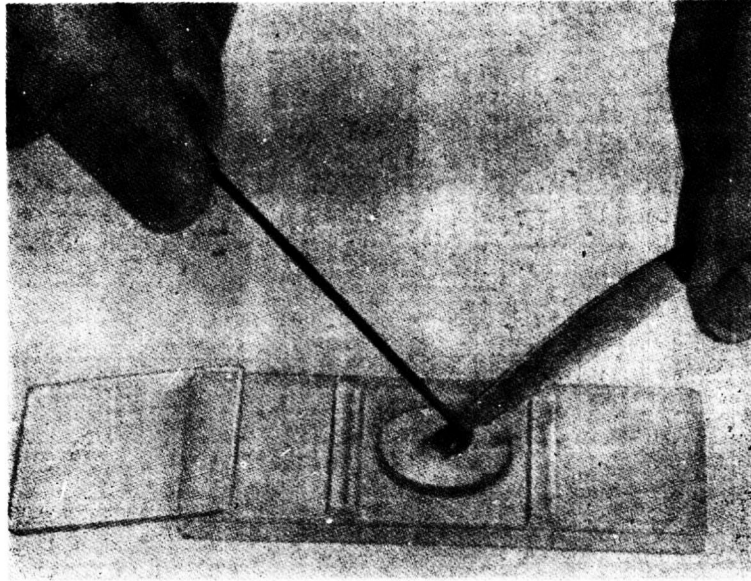
$$= 1.5 \text{sq. mm.} \times 0.1 \text{mm}$$

$$= 0.15 \text{cu. mm}$$

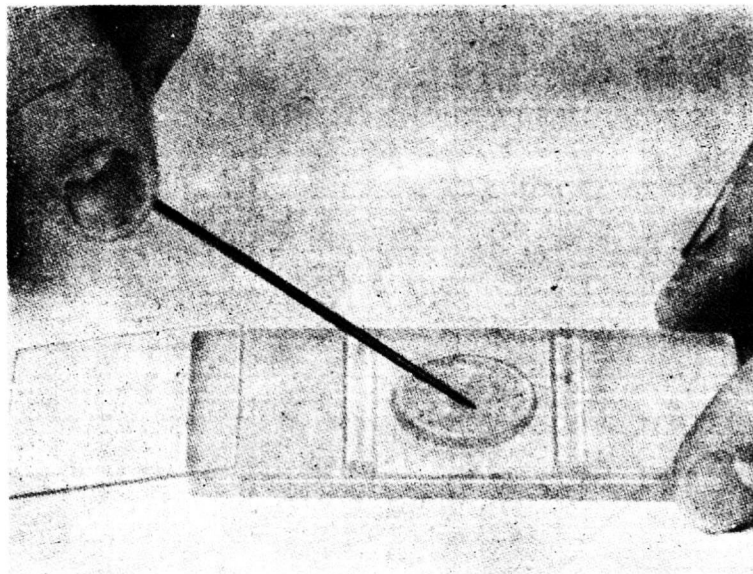


Howard 氏微菌計算板

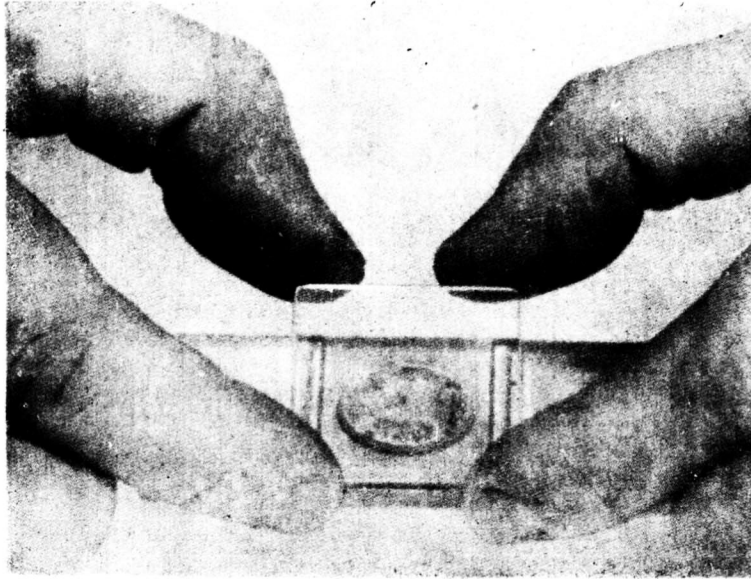
以酒精洗淨計算板及蓋片，使生牛頓圈，移蓋片，加入少量混合試液，使分佈均勻  
小心慢慢覆上蓋片，如果不生牛頓圈，則必需重做。(附圖)



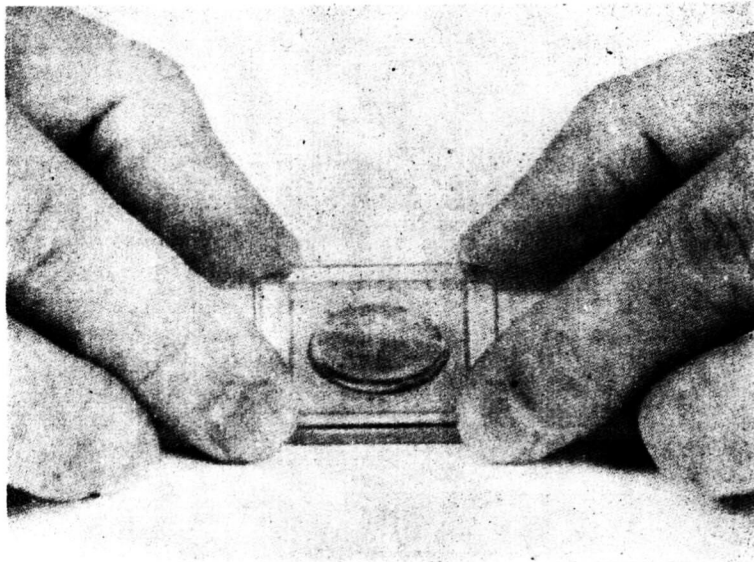
採取試料放於計算板



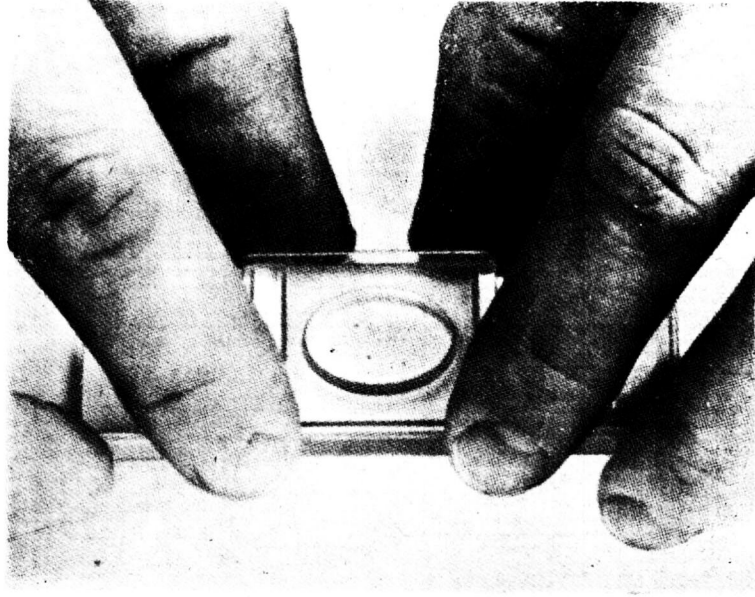
預備擴散試料於計算板中央



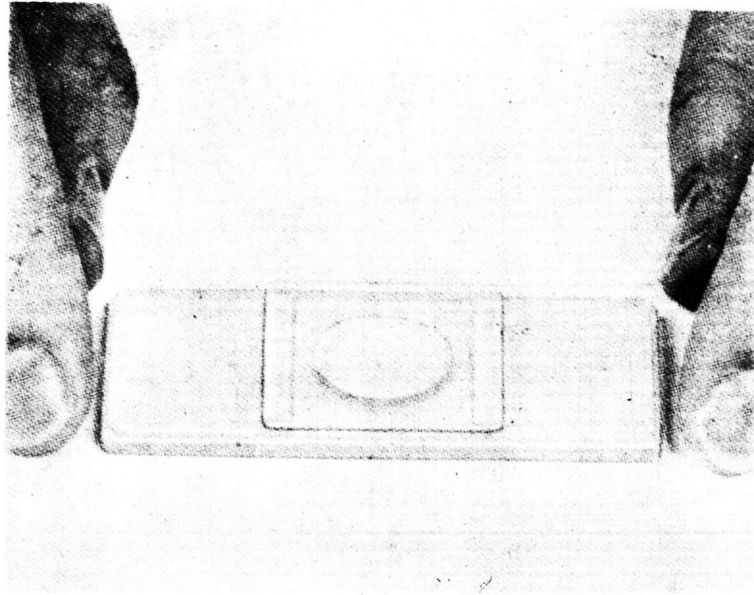
將蓋玻片對正計算板扇



將蓋玻片放下去



盖玻片放在正确的位置

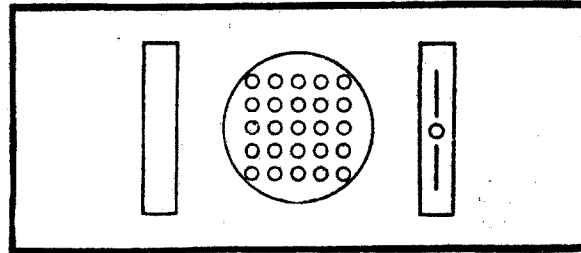


预 备 计 算

### 5. 觀察 (Observation)

用 100 倍鏡觀察之，每片必須觀察 25 視野，(其理想視野排列法在例圖)，至少看二張鏡片。結果記錄於記錄卡片。

例：理想視野排列 (Example of ideal field distribution pattern) (附圖) 說明：視野之理想排列法



觀察每一視野，注意黴菌菌絲或其破片之有無。a. 如果只有一條其長度超過  $\frac{1}{4}$  視野之直徑的則為正 (Positive)，b. 如果只有二條或三條則相加超過  $\frac{1}{4}$  視野的為正，c. 如果四條或以上則為正。

若二張片看完 25 視野後，其相差 3 視野以上時，則要看第三片，總之多看幾張才最正確。

### 6. 視野後之計算法 (Calculating Results)

$$\text{正視野} = \frac{\text{正視野的數目}}{\text{所觀察的視野數目}} \times 100$$

例：	例一	例二	例三
正視野之數目	5,7	3,5,4,	7,10,9,10,
所觀察的視野總數目	50	75	100
所用的玻璃片數目	2	3	4
正視野 / 所觀察視野	$\frac{5+7}{50}$	$\frac{3+5+4}{75}$	$\frac{7+10+9+10}{100}$
正視野 %	24	16	36

註 蕃茄漿試樣之準備：

照公定方法上記載，使用容器中之果汁或果醬 (catsup)，而不需經過稀釋。然而，固形物含量多的蕃茄加工品，用來觀察其中之黴系為一件困難的事，故事先須與水混合，使固形物之含量至浸漬折射計 (Immersion refractometer) 之量度在  $20^{\circ}$  下為 45.0-48.7 或折射度 (Refractive index) 在  $0^{\circ}\text{C}$  下為 1.3447-1.3450。故較上面的浸漬折射計量度或折射度高者應先行稀釋後使用之。

相當於不同濃度之果汁體積，可在表 6 (N.C.A Bulletin No. 27-L Revised July 1950) 中查到。吾人可利用此表查出。例如：比重 1.086 之濃厚汁 (Puree) 折射度為 1.3613，需用水稀釋至 2.504 倍於原來之體積，此時可得到比重 1.035 而相當於折射度 1.3446 之樣品。

就是說，10ml 之濃厚汁樣品，需要稀釋至 25ml ( $10\text{ml} \times 2.504 = 25.04\text{ml}$ )，或加 15ml 之水。

第二例，欲知 25ml 比重 1.063 (折射度為 1.3537) 之需要稀釋度，在此情形下，使比重成為 1.035，其因子 (Factor) 為原來之體積 25ml 者，需乘釋因子 1.816，結果變為 45.4ml (最後所需之體積)。換言之，樣品需要稀釋至 45ml，或應加 20ml 之水。

附樣之稀釋換算表如下：

蕃茄果汁之微菌計算稀釋表

直密度	直折射度	樣品量 (MI)	稀釋因子	稀釋後之總體積 (MI)	對100 ml 樣品所要加之水 (MI)
1.035	1.3446	100	1.000	100.0	0.0
1.040	1.3462	100	1.145	114.5	14.5
1.045	1.3478	100	1.292	129.2	29.2
1.050	1.3494	100	1.440	144.0	44.0
1.055	1.3511	100	1.585	158.5	58.5
1.060	1.3527	100	1.730	173.0	73.0
1.065	1.3544	100	1.876	187.6	87.6
1.070	1.3560	100	2.024	202.4	102.4
1.075	1.3577	100	2.172	217.2	117.2
1.080	1.3593	100	2.322	232.2	132.2

若 Comminuted tomato products 之濃度較 Table 6 (N.C.A. Bulletin No. 27-L) 者濃時，需要稀釋至上表之範圍內，再由此根據表稀釋至微菌計算之範圍內。

欲得代表性之樣品來計算，則樣品需要充分混合之，其方法為由一容器傾倒入另一容器中，這樣數次而成，但少量樣品則可用匙攪拌混合之。

混合是一種必要之操作，作每一片樣品前立刻重復行之。就對某一點之微菌數觀察，則所得之結果為不準確，故取一滴樣品時需要取代整個樣品者。



## 八 参 考 文 選

- (一) "The Howard Mold Count Method As Applied To Tomato Products"  
American Can Company Technical Service Division 1957
- (二) "Laboratory Manual For Food Microbiology"  
By W. C. Frazier & E. M. Foster 1949
- (三) "Laboratory Experiments in Food Bacteriology"  
By F. W. Fabian 1948
- (四) "Official Methods of Analysis of The Association of Official Agricultural  
Chemists"  
Eighth Edition 1955
- (五) 食品衛生(ハンドブック) 朝倉書店 昭和32年9月1日

行政院農委會圖書室



0012939