

Bacillus cereus, *B. licheniformis* 與 *B. subtilis* 在醃漬食品中的分佈

*林旭陽 朱淑儀 方紹威 施養志

行政院衛生署藥物食品檢驗局

摘 要

自民國79年10月至80年6月間，在台北縣市各超級市場、傳統市場及食品商店等，抽購醃漬食品120件（包括30件葉菜類製品，38件根莖類製品，39件瓜果類製品，13件黃豆製品），進行 *Bacillus cereus* 病原菌、*B. subtilis* 及 *B. licheniformis* 機會性病原菌檢驗，計有47件檢體被檢出至少含有 *B. cereus*、*B. subtilis* 及 *B. licheniformis* 等三株細菌之一，其中葉菜類製品之檢出率為30.0%，根莖類為31.6%，瓜果類為48.7%，黃豆製品為53.8%；以細菌的種類而言，則以 *B. subtilis* 之檢出率最高，共計26件（21.7%）。

前 言

醃漬物(Pickle)的種類很多，依原料、配料的種類，食鹽濃度，加工程度，微生物作用的方法等，大致上可分為糖漬、醬油漬、粕漬、醋漬、鹽漬、味噌漬、芥末漬、麴漬和醪漬等九種。在製造過程中，有微生物作用顯著，和微生物幾乎不作用的兩種。前者包括長期鹽漬、米糠漬、米糠味噌漬、醱酵醃漬物(Pickle)和酸泡菜等。後者包括短期鹽漬、粕漬、味噌漬、醬油漬、麴漬、醋漬、芥末漬、山葵漬等，利用蔬菜原料與配料之間成分的轉移以及酵素作用而製成產品⁽¹⁾。

在醃漬物中，由於微生物的作用，會產生有機酸可以防腐，並會產生良好風味。但不良的微生物作用則產生酸敗、膨脹、酪酸臭、組織軟化、退化、變色等之變質或腐敗，有時也會有黴菌及病原菌的生長⁽¹⁾。一般醃漬物的最終pH值為4.6或更低，水活性(A_w)>0.85⁽²⁾。大部分的病原菌，無法在其中生長⁽¹⁾。但中毒菌 *Bacillus cereus* 生長的最低pH值範

圍為4.35~4.90，最高pH值則為9.30，水活性介於0.912~0.950之間⁽³⁾，故有可能在醃漬物中生長也不一定。在國外並曾發生過由 *B. subtilis* 所引起的食品中毒案，其涉及食品為醃漬洋蔥⁽⁶⁾。同時，醃漬物若污染 *B. licheniformis* 和 *B. subtilis* 時，這些菌會分泌蛋白質分解酵素和糖類分解酵素，引起食品加工上的變質和腐敗問題，事實上這兩株菌亦曾造成一些酸性食品(pH4.1~4.6)的腐敗^(1,2,3)。這些長桿菌屬細菌主要是從土壤和植物而，可能會跟隨醃漬原料一起被醃漬，且它們在不良環境下能形成孢子而存活，因此很可能繼續存在於醃漬最終產品中。綜合以上幾點的論述，醃漬物中若污染有 *B. cereus* 病原菌或 *B. licheniformis* 和 *B. subtilis* 等機會性病原菌(Opportunistic pathogens)，並且大量繁殖，則極可能造成食品的腐敗，甚至引起食品中毒案的發生。所以有必要進行市面上醃漬物中 *B. cereus*、*B. licheniformis* 和 *B. subtilis* 之調查，以了解它們在醃漬食品中的分布情形。本計畫欲針對市售醃漬食品，如酸菜、筍干和醬油漬的瓜類等製品，抽購120件，依據相關資料進行上述三株細菌之檢驗。

材料與方法

一、檢體來源

*現任職行政院衛生署檢疫總所基隆分所

於79年10月至80年6月，至台北縣、市各超級市場、傳統市場及食品商店等，抽購市售各種醃漬品，包括酸菜、醬瓜、醃筍、榨菜、醃蘿蔔、醃薑、醃蒜、落蕎、豆腐乳等合計120件。檢體分別包裝冷藏後，攜回本局實驗室予以檢驗。

二、微生物檢驗

檢體適當切碎，均勻混合後，取25 g加至225 ml 0.85%生理食鹽水中均勻混合為檢液，依據中國國家標準中有關食品中 *Bacillus cereus* 檢驗法進行檢驗⁽⁴⁾，生化試驗部份以產孢菌屬生化測定卡片 (Bacillus Biochemical Card, BAC-VITEK System, U. S. A) 配合 VITEK 微生物自動鑑定儀 (VITEK JR. Systems, McDOMELL DOUGLAS HEALTH SYSTEMS company, U. S. A) 檢測分析。

三、水活性、酸鹼度與鹽度測定

將檢體均勻細切後，置於測定皿內，直接以水活性測定儀 (Model WA-14 TH, Rotronic Hygro-skop DT, Swiss)，以恆溫 25°C 測定。以酸鹼度計 (691 pH meter, Metrohm AG, Herisau, Swiss) 進行 pH 值測定。以鹽度計 (No.12350, BINKO, Japan) 進行鹽度測定。

結果與討論

由市面上抽購120件醃漬食品，進行 *B. cereus*、*B. subtilis* 和 *B. licheniformis* 之檢驗，發現有8件檢出 *B. cereus* (6.7%)；26件檢出 *B. subtilis* (21.7%)；13件檢出 *B. licheniformis* (10.8%)，共計47件檢出

以上這三株細菌(39.2%)(表一)，表示超過三成以上的醃漬食品檢體污染有三株 *Bacillus* 屬細菌。蔡等⁽⁵⁾曾抽購253件的真空包裝食品桿菌屬細菌之污染情形，共計有89件(35.2%)檢體檢出含 *Bacillus* spp.，此與本調查報告之檢出率大約相同。若將抽購的醃漬食品種類分成蔬菜類、根莖類、瓜果類及黃豆製品等四大類，則此四類醃漬食品檢出 *B. cereus*、*B. subtilis* 和 *B. licheniformis* 等三株長桿菌屬細菌之檢出率分別為30.0%、31.6%、48.7%和53.8%

(表一)。在各類醃漬食品中以 *B. subtilis* 檢出最高。

能檢出 *Bacillus* spp. 的各類檢體最低之 Aw 值和 pH 值，與鹽度示如表二。根莖類食品中的薑，其 pH 值雖低至 3.4，但仍可檢出 *B. cereus*。Raevuori et al.⁽⁷⁾ 發現 *B. cereus* 的營養細胞，在肉類食品中能生長的之最低 pH 值為 4.35，最低 Aw 值為 0.95；Goepfert et al.⁽⁸⁾ 則表示在一般實驗室培養基中，*B. cereus* 營養細胞能生長之最低 pH 值為 4.9；但根據游等⁽⁹⁾ 實驗顯示：在 2% 鹽度下，醃漬泡菜之醃漬液之 pH 值降至 3.8 時，*B. cereus* 仍有生長情形。在蔬菜類醃漬食品中的淡榨菜，其 pH 值雖低至 4.1，仍可檢出 *B. subtilis*。另外，除了有一件辣蘿蔔檢體的鹽度高達 14.6%，仍可檢出 *B. subtilis* 和 *B. licheniformis* 外；尚有一件良京檢體的 pH 值低至 4.1，鹽度高達 11.0%，Aw 為 0.88，猶可檢出 *B. subtilis*。依據 Kramer et al.⁽⁶⁾ 統計英國地區媒介 *B. subtilis* 和 *B. licheniformis* 而引起食品中毒的食物，蔬菜類被認為是其中一項重要的媒介食物。因此在製造這一類醃漬產品時，仍須注意 *Bacillus* spp. 的污染問題。在瓜果類食品中的玫瑰李製品，其 pH 值低至 2.8，鹽度更高達 33.2%，Aw 值為 0.73 仍可檢出 *B. subtilis*；另外有一件青辣椒的製品其 pH 值為 4.0，鹽度為 19.2%，Aw 值為 0.88，尚可檢出 *B. subtilis* 和 *B.*

Table 1. Incidence of *B. cereus*, *B. subtilis* and *B. licheniformis* in pickles

Species	NO. of positive samples (%)				Total(%)
	Leaf vegetables n=30	Earth vegetables n=38	Fruit vegetables n=39	Soybean products n=13	
<i>B. cereus</i>	6.7	5.3	5.1	15.4	6.7
<i>B. subtilis</i>	20.0	15.8	25.6	30.8	21.7
<i>B. licheniformis</i>	3.3	10.5	17.9	7.7	10.8
Total	30.0	31.6	48.6	53.9	39.2

n, number of samples examined.

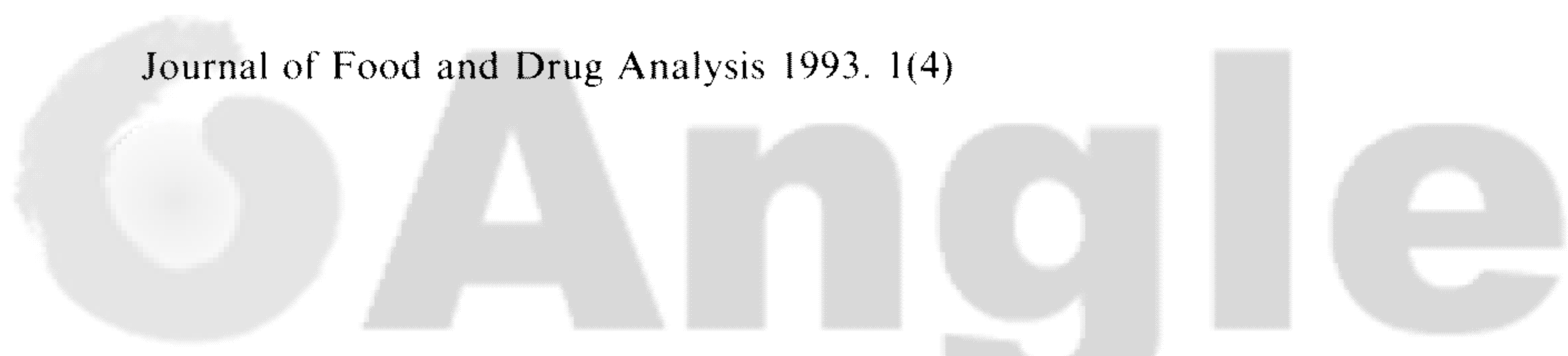
Table 2. The highest salt content, the lowest water activity (A_w) and pH of pickles with *B. cereus*, *B. subtilis* and *B. licheniformis*

Species	Leaf vegetables			Earth vegetables			Fruit vegetables			Soybean products		
	Salt			Salt			Salt			Salt		
	A_w	content	pH	A_w	content	pH	A_w	content	pH	A_w	content	pH
<i>B. cereus</i>	0.95	4.8	4.6	0.94	10.8	3.4	0.91	11.6	4.2	0.81	46.0	4.8
	(Szuchuan cabbage)			(Paper preserved radish)			(Garlic)			(Salted (Pickled (Salted (Soybean curd with peper) cucumber) peper) miso)		
<i>B. subtilis</i>	0.94	5.6	4.1	0.88	14.6	4.1	0.73	33.2	2.8	0.71	46.0	4.8
	(Szuchuan cabbage)			(Sweet (Peper (Sweet (Preserved plum) (Gluten) (Soybean curd with scallion) preserved scallion) radish)			(Soybean curd with miso)					
<i>B. licheniformis</i>	0.96	4.7	4.6	0.92	14.6	3.9	0.85	19.2	4.0	0.95	12.0	5.7
	(Szuchuan cabbage)			(Sweet (Peper (Sweet (Pickled (Green peper) (Soybean curd with garlic) preserved garlic) cucumber) sesame oil)			(Soybean curd with sesame oil)					

licheniformis。黃豆製品中，有一件米醬豆腐乳的鹽度高達46%， A_w 為0.81，也可檢出 *B. cereus* 和 *B. subtilis*。

參考文獻

1. 李福臨. 1983. 醃漬物的微生物. 食品工業. 15(2): 31-38.
2. Speck, M. L. (ed.). 1984. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 2nd ed. American Public Health Association, Washington, D. C., pp. 664-665.
3. Doyle, M. P. 1989. Foodborne bacterial pathogens. Marcel Dekker, Inc., N. Y., pp. 58-63.
4. 經濟部中央標準. 1989. 食品微生物之檢驗法—仙人掌桿菌之檢驗. 中國國家標準 12540. N6212.
5. 蔡淑貞, 張睿昇, 施養志, 陳陸宏. 1992. 真空包裝食品中長桿菌屬細菌之污染. 食品科學. 19: 68.
6. Kramer, J. H. and Gilbert, R. J. 1989. *Bacillus cereus* and other *bacillus* species. In "Foodborne Bacterial Pathogens". p. 21. Ed. Doyle, M. P. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel.
7. Raevuori, M. and Genigeorgis C. 1975. Effect of pH and sodium chloride on growth of *Bacillus cereus* in laboratory medium and certain foods. Appl. Microbiol. 29: 68.
8. Goepfert, J. M., Spira W.M. and Kim H. U. 1972. *Bacillus cereus*: food poisoning organism. A review. J. Milk Food Technol. 35: 231.
9. 游淑玲, 周正俊, 1987. 不同鹽度下醃漬泡菜時一些食品中毒菌之存活. 食品科學. 14: 119.



Distribution of *Bacillus cereus*, *B. licheniformis* and *B. subtilis* in Marketed Pickles

HSU-YANG LIN, SU-YI CHU, SHAO-WEI FANG AND DANIEL YANG-CHIH SHIH

National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan

ABSTRACT

From Oct. 1990 to Jun. 1991, 120 samples of pickles (including 30 leaf vegetables, 38 earth vegetables, 39 fruit vegetables and 13 soybean products) were purchased from supermarkets, traditional markets and food retail stores in Taipei area and examined for the presence of *Bacillus cereus* (pathogen), *B. subtilis* and *B. licheniformis* (opportunistic pathogen). A total of 47

samples contained at least one of the three *Bacillus* species. *Bacillus* spp. was detected in 30.0% of leaf vegetables, 31.6% of earth vegetables, 48.7% of fruit vegetable and 53.8% of soybean products. The detection rate *B. subtilis* was 21.7%, which was the highest one among the three *Bacillus* species.

Key words : Pickles, Pathogen, *Bacillus* spp.