

SVENSKA INSTITUTET FÖR KONSERVERINGSFORSKNING, GÖTEBORG

SIK - Rapport

1966

Nr 198

Livsmedelsmikrobiologisk forskning i USA
(Reserapport från studieresa våren 1966)

av

Nils Molin

Livsmedelsmikrobiologisk forskning i USA

(Reserapport från studieresa våren 1966)

av

Nils Molin

Föreliggande reseberättelse bygger på erfarenheter från en studieresa i USA våren 1966. Avsikten med resan var i första hand att få information om metodik, arbetsinriktning och målsättning för pågående livsmedelsmikrobiologisk forskning i USA.

Resan omfattade bl.a. deltagande i årsmötena för American Society of Microbiology, 1-5 maj i Los Angeles och i årsmötet för Institute of Food Technologists, 22-26 maj i Portland. Jag deltog även i ett symposium om *Clostridium botulinum* anordnat av National Canner Ass. 9 maj i Albany.

En förteckning över besökta institutioner har sammanställts i bilaga 1.

Värmeesterilisering av livsmedel

12-D begreppet: Det synes vara en allmän uppfattning bland livsmedelsmikrobiologer som sysslar med värmeesterilisering att de avancerade matematiska utredningarna bakom de allmänt accepterade steriliseringsföreskrifterna för livsmedel bygger på ett mycket ofullständigt och delvis inte representativt experimentellt underlag.

Det grundläggande mikrobiologiska arbetet för värmeesterilisering av livsmedel presenterades redan 1922 av Easty och Meyer och har alltsedan dess använts som en referenspunkt i alla värmeesteriliseringsprocesser. Easty och Meyer använde en initialkoncentration av *Clostridium botulinum* av $6 \cdot 10^{10}$ sporer eller approximativt 10^{11} sporer per tub i sina försök och kalkylerade med en överlevnadsnivå av 10^{-1} sporer per tub, vilket alltså gav en total avdödning av 12 log cyklar. Deras tid och temperaturdata i M/15 fosfatbuffert har använts för att konstruera en thermal death time (TDT) kurva. Från denna kurva har F-värdet (tid i min. för 12 log cyklars inaktivering vid 250°F) beräknats till 2,78. Senare har den korrigerats till 2,45 och igen korrigerats till 3,0 med hänsyn taget till skyddseffekter av vissa livsmedelskomponenter.

Om Easty och Meyer i stället använt en initial population av t.ex. 10^4 , hade kanske industrin i dag använt andra steriliseringstider. I den aktuella diskussionen har frågan ställts om det är vetenskapligt rationellt att basera värmesteriliseringsprocesser på antagandet om förekomst av så höga infektionsnivåer som man gör idag när man tror sig veta att Clostridier förekommer i ett antal som understiger 100/gr i de flesta livsmedel och när åkerjord har en total infektionsnivå av c:a 10^6 organismer/gr.

En rätt livlig diskussion om det berättigade i l2-D begreppet pågår för närvarande i USA och detta har även stimulerat till igångsättning av omfattande undersökningar som syftar till en bättre kännedom om infektionsnivåer av framför allt Clostridier i livsmedel som sedan skall undergå värme eller strålbehandling.

Tillsatser: På forskningsnivå pågår även ett intensivt arbete att försöka utreda hur olika kemiska substanser, naturligt förekommande i livsmedel eller tillsatta till livsmedel påverkar värmeavdödning av bakteriesporer. Detta kan bl.a. utläsas ur det stora intresset för tylosin som en potentiell tillsats till värmebehandlade produkter för att möjliggöra en snabbare och effektivare sterilisering.

En tillsats till vissa värmebehandlade konserver (skinka) som fått förnyad aktualitet är nitrit. Trots att denna substans använts under lång tid vet man ännu mycket lite om på vilket sätt den verkar i samband med värmebehandling. Det har föreslagits att natriumnitrit i kombination med värme bildar nitrosaminer som antas ha en avdödande effekt på sporer. Ett stigande intresse för nitrit, dess reaktionsmekanism och effekt på sporer i olika system kan utläsas från redogörelser för planerade forskningsprojekt. Det bör också framhållas att natriumnitritets toxikologiska ofarlighet nyligen har satts i fråga av en expertkommitté inom FAO/WHO. Detta har förorsakat en del nervositet hos industrin. Om nitrit skulle helt förbjudas skulle enligt vissa bedömare "luncheon meat" inte kunna tillverkas. Detta förhållande utgör sannolikt en sporre för de företag och forskare som sysslar med utveckling av nya konserveringsmedel för livsmedelsindustrin. Kemiska konserveringsmedel har dock under de senaste åren fått en dålig klang och notarbetas generellt sett av ansvariga myndigheter i USA.

Storförpackningar: Ett relativt nytt mikrobiologiskt forskningsproblem utgör s.k. "bulkstorage" av framför allt steriliserade grönsaker. Dessa produkter skall efter sterilisering lagras och transporteras till andra fabriker för tillverkning av soppor och liknande produkter. En konventionell burksterilisering blir här onödigt dyr och sterilisering av

större kvantiteter följt av lagring och transport i tankvagnar eller stora behållare av annat slag ger stora ekonomiska vinster.

Mikrobiologiska problem i samband med sådana processer studeras ingående vid bl.a. University of California. I detta sammanhang är man även intresserad av tillsats av kemiska inhibitorer i samband med värmebehandlingen för att minska steriliseringstiderna. Det framhålls också att övergången till mekanisk skörd av allt flera grönsaker anses väsentligt ha ökat frekvensen av mikroorganismer på råvarorna och att därigenom också ökade fordringar på steriliseringstekniken uppkommit.

Strålbehandling av livsmedel

En mycket intensiv forskningsaktivitet pågår i USA inom området strålbehandling av livsmedel och mikrobiologiska problem i samband med denna process.

Typer av forskningsproblem som bearbetas är t.ex. undersökningar som syftar till en kartläggning av strålresistensen av patogener i livsmedel av olika typ. Extremt resistenta organismer ägnas naturligt nog speciell uppmärksamhet. Sålunda har en stam av Staphylococcus aureus visats kunna tolerera 2,5 Mrad eller mera. Strålresistensen av olika organismer vid låga temperaturer ägnas också stort intresse beroende på att vissa livsmedel har visats kunna tåla höga stråldoser utan kvalitetsförlust vid temperaturer mellan 0 - -20°C medan strålresistensen hos mikroorganismer inte ökar i motsvarande grad inom samma temperaturintervall. Detta bedömes vara den mest hoppningivande utvecklingen för strålsterilisering av livsmedel.

En stor del av den forskning som bedrivs inom området strålkonservering av livsmedel understödjes ekonomiskt av Army Material Command, Natick, och Atomic Energy Commission. För en utomstående iakttagare förefaller det tveksamt om den våldsamma satsningen på forskning och utvecklingsarbete för strålbehandlade livsmedel som försiggår i USA är motiverad från vetenskapliga och kommersiella utgångspunkter. Även om militära synpunkter utgör ett viktigt motiv kan man inte frigöra sig från intrycket att en olycklig mängd prestige blivit inblandad och skapat ett onaturligt förhållande mellan forskningsintensiteten inom området strålkonservering kontra övrig livsmedelsmikrobiologisk forskning. Flera prominenta mikrobiologer menar dock att det är väl motiverat att använda strålkonservering som ett modellsystem för undersökningar som har generell betydelse för andra konserveringsprocesser.

Det kan heller inte bestridas att strålkonserveringsforskningen tillfört livsmedelsmikrobiologin nya och värdefulla erfarenheter inom området "wholesomeness testing" av livsmedel, frekvens av patogener i livsmedel och interferens mellan olika mikroorganismer som utvecklas i livsmedel.

Environmental diseases

Vid University of California, Davis, byggs för närvarande upp ett s.k. "Environmental health center" som skall forska inom alla grenar av livsmedelshygien: toxikologi, näringsvärde, smittoöverförare, pesticider. En tendens att vilja ägna större intresse åt råvarorna gör sig märkbar i dessa forskningsgrupper. Detta kan t.ex. ta sig uttryck i att man försöker studera och påverka frekvensen av patogena mikroorganismer i naturen. Forskning planeras sålunda för att söka studera inverkan av agrikulturell praxis på frekvens av Salmonella i jord och foder. Som ett exempel på differentieringen inom forskningsgrupperna i Davis kan nämnas att Dr H. Riemann (tidigare forskningschef för Roskilde Köttforskningsinstitut) förväntas bli utnämnd till professor i "foodborne diseases". Denna allt mer långtgående specialisering av livsmedelsmikrobiologerna på universitetsnivå medför ofta även en snabbare adaptering av resultat från den mikrobiologiska grundforskningen till livsmedelsmikrobiologiska tillämpningar.

Mikrobiologiska standards

Det förefaller vara en tendens att djupfrysta livsmedel i allt större utsträckning säljes för vidare bearbetning till andra tillverkare. Dessa köpare ställer då ofta krav på bakteriologiska normer som ibland djupfrysningindustrin har svårigheter att klara. Detta har aktualiserat intresset för bakteriologiska standards av djupfrysta livsmedel liksom metodik för att på billigast möjliga sätt kunna experimentellt utvärdera infektionsfrekvens och mikrofloras sammansättning. Flera institutioner arbetar med okonventionella metoder för att upptäcka och kvantitativt uppskatta antalet mikroorganismer i livsmedel. Fluorescerande antikroppsmetodiken är ett exempel på sådan ny metodik som i princip nedger en snabb art och frekvensbestämning. Denna metodik har stor potentialitet och kan redan nu användas för att upptäcka Salmonella, fecala streptococcer, staphylococcer och clostridier i vissa livsmedel. Andra forskare försöker utveckla metoder för att bestämma mängden av vissa metaboliter som utsöndras av mikroorganismer och hoppas på så sätt på indirekt väg få ett index på mikrobiell aktivitet.

Denna forskning har även anknytning till ryndbiologernas ansträngningar att söka upptäcka och registrera mikroorganismer genom deras metaboliska aktivitet.

Vira i livsmedel

Livsmedel som potentiella överförare av ricksettia och vira har under senare tid fått ökad aktualitet i USA. För närvarande bearbetas problemet endast av några forskningsgrupper men det anses allmänt att ökad forskning inom detta område är ytterst välmotiverad inte minst med tanke på de mer eller mindre väl bestyrkta misstankarna om att livsmedelsburna vira kan ha förorsakat epidemier av olika slag. Sålunda har polio och gulsot i vissa fall satts i samband med livsmedel. Vid University of Chicago är en grupp sysselsatt med att utarbeta metoder för isolering och kvantitativ bestämning av vira i livsmedel och de ämnar i ett senare skede studera inverkan av olika konserveringsmetoder på överlevnad av olika vira.

Bakteriesporer

En livaktig forskning inriktad på att försöka klarlägga mekanismen för avdödning av mikroorganismer och då speciellt bakteriesporer pågår vid flera laboratorier. Olika forskare har funnit att flera parametrar korrelerar mer eller mindre väl med avdödningsförlopp hos sporer och försöker med utgångspunkt från dessa förhållanden ställa upp hypoteser över vad som betingar avdödning respektive resistens mot värme- eller γ -strålning.

Grecz (University of Chicago) har formulerat teorin att värnestabiliteten av proteinet i sporer beror av bindningen till kalcium-dipikolin-syrakomplex. Detta komplex skulle hindra att vatten bindes till proteinet. När Ca och DPA frigöres i samband med värmeupphettning bindes i stället vatten och proteinet blir värmekänsligare och eventuellt sker en irreversibel inaktivering. Indikationer som talar för denna teori anser sig Grecz ha funnit i följande observationer:

- 1/ Värmekänsligare sporer tappar lättare Ca och DPA
- 2/ En ökad mängd Ca och DPA läcker ut under uppvärmning till dess sporen dör.
- 3/ Vid låga och höga pH har man en ökad Ca- och DPA-avgivning och även en ökad värmeavdödning.
- 4/ Värmeresistenta torkade celler har en lägre vattenupptagning än värmekänsliga när de överföres till en fuktig miljö.
- 5/ Det synes finnas ett samband mellan sporers värmeresistens och relativa fuktigheten i den miljö under vilka sporererna upphettas.

En annan utgångspunkt för undersökningar över mekanismen för bakteriesporers resistens mot värme respektive strålresistens representeras av Andersons grupp (Oregon State University) som menar att värme- och strålresistens hos sporer reflekteras i deras fetthalt och i fettsyresammansättningen.

Clostridium botulinum

De för några år sedan i USA inträffade fallen av botulism efter föräring av rökt fisk och de i fjol inträffade förgiftningsfallen av "tuna"-konserver har starkt stimulerat den livsmedelsmikrobiologiska forskningen i USA och då naturligtvis alldeles särskilt Cl. botulinumforskningen.

Anslag för Clostridium botulinumforskning förefaller för närvarande vara lätt att få och detta har förorsakat något av en inflation i forskningsprojekt. En stor del av dessa projekt är dock konventionellt upplagda och är mera upplagda för att söka bekräfta tidigare erhållna resultat med nya stammar och i något modifierade system. Det är uppenbart att man nu skunnat grädden av detta forskningsproblem och att nya och betydelsefulla forskningsresultat erfordrar stark specialisering och ofta sofistikerad metodik för att ge avsedda resultat.

"Tuna" fiskförgiftningen: "Tuna" fiskförgiftningen har naturligt nog startat en omfattande undersökning av hur detta kunde hända. Den officiella förklaringen är kort och gott att den förorsakats av läckage i burkar som i sig självt fått en tillfredsställande sterilisering.

En viss återhållsamhet i detaljer präglar kommentarerna omkring denna affär. Eftersom denna olyckshändelse kan anses ha stort intresse för livsmedelsindustrin har jag försökt intervjua en del personer om deras vetenskap respektive åsikter om detta fall. Bl.a. har framhållits:

1) Den fabrik som tillverkade de aktuella "tuna"-konserverna var en helt ny fabrik under inkörning. Den hade den bästa och mest hygieniska utrustningen som går att få. I deras gamla fabrik hade de under en följd av år tillverkat "tuna"-konserver utan olyckshändelse trots att denna ur hygienisk synpunkt inte var tillfredsställande. Bland hygieniker anses nya fabriker med en husflora som ännu inte kommit i jämvikt utgöra ett speciellt problem eftersom en ny infektion som eventuellt vinner inträde kan ha möjlighet att utvecklas snabbare än i en gammal fabrik med en mikroflora i ekologisk jämvikt.

2) Fabriken använde burkar från en fabrikant som de ej tidigare anlitat

med en förslutningsmaskin avsedd för en annan fabrikants burkar. Dessa burkar var inte helt lämpade för förslutningsmaskinen och ett onormalt stort antal burkar med mindre falsfel kunde upptäckas vid en efterkontroll (1%). Bakgrunden till detta uppgavs vara att det bolag som tidigare hyrt ut sina förpackningsmaskiner med föreskrift att endast deras burkar fick användas, genom domstolsutslag i mitten på 50-talet tvingades sälja sina förpackningsmaskiner (konflikt med antitrustlagen). Tidigare hade service och underhåll skötts av detta bolag men efter domstolsutslag och övertag av förslutningsmaskinerna fick fabriken själva sköta underhåll och justeringar. I samband med "tunafiskförgiftningarna" fick Public Health klart för sig att denna detalj missköttes av många livsmedelstillverkare. I Californien har man nu en överenskommelse att endast personer som genomgått speciell utbildning och fått licens får sköta förslutningsmaskinerna. Dessa personer är ansvariga för att alla föreskrifter följes och att maskinerna ger ett gott arbetsresultat. Liknande arrangemang har redan tidigare genomförts för autoklavskötare.

3) I fabriken som tillverkat "tuna"-konserverna som gav upphov till botulism har man konstaterat att ett utskjutande hörn på transportbandet efter autoklavering och kylning kunde skada och eventuellt punktera burkarna. Denna skada kunde sedan under olyckliga omständigheter döljas av etiketten.

4) Burkarna som förorsakade förgiftningen tillverkades under dec.-jan. när det var ovanligt kallt och det är tänkbart att detta bidragit till att man inte upptäckte några svällda burkar i buffertlagret innan de levererades till olika delar av landet.

5) Fabriken stängdes efter olyckshändelsen och rengjordes med desinfektionsmedel. Efter 2 månader fick man göra en provtillverkning på 5.000 burkar som alla undersöktes utan anmärkning. Fabriken fick ett federalt lån och är nu i drift under nytt namn. Det har beräknats att "tunafisk"-industrin förlorade c:a 50 milj. dollar på detta enda utbrott.

6) Den officiella kommunikén om orsaken till förgiftningarna menar att konserverna var korrekt steriliserade i fabriken med tillfredsställande hygien men att burkarna infekterats genom infekterat kylvatten.

Hur infektionen kommer in i burkarna diskuteras inte officiellt utan i det avseendet spekuleras mer eller mindre friskt. Det bör dock framhållas att även i burkar med falsfel har man beräknat att högst 0.1 ml kylvatten per burk har under olyckliga omständigheter kunnat läcka in och i det kylvatten som användes kunde man efteråt inte upptäcka en enda Clostridie spor.

Aktuell Clostridium botulinum forskning: Följande exempel på aktuell Clostridium botulinum forskning kan nämnas:

I en stor undersökning omfattande såväl USA som Canada uppgavs 5.000 prov från nyslaktade kor ha undersökts för Clostridier. I genomsnitt fann man 3 clostridiesporer per gram kött. 70 % av proven hade mindre än 3 sporer per gram. Endast ur ett prov hade Clostridium botulinum (typ C) kunnat isoleras. Dessa undersökningar har initierats av U.S. Army Lab. Natick och är ett led i deras arbete att kartlägga risker i samband med en eventuell strålbehandling av kött.

Liknande undersökningar över den naturliga förekomsten av Clostridium botulinum i fisk, och i potentiella spor-reservoarer som avloppsvatten och jord pågår på flera håll. I samband med undersökningarna av förekomsten av Clostridier i fisk har ytterligare en isolering av Clostridium botulinum typ F gjorts.

Enligt vad som meddelats mig i andra hand (prof. C.Schmidt, Chicago) har en organism som liknar Clostridium botulinum men ej bildar toxin visats kunna hämma sporgroning och tillväxt av Clostridium botulinum, typ E. Detta kan vara förklaringen till att man misslyckats vid isolering av Clostridium botulinum i vissa områden och i vissa substrat.

En av de mest kontroversiella problemen inom Clostridium botulinum forskningen just nu är frågan om huruvida det finns kulturer av Clostridium botulinum som ej bildar toxin, varifrån dessa i så fall härrör - spontan mutation eller selektion.

Vissa forskningsresultat synes tyda på att alla s.k. renkulturer av Clostridium botulinum innehåller två typer av celler, varav endast den ena typen kan bilda toxin. Andra forskningsgrupper har dock ifrågasatt riktigheten av dessa resultat. Så när som på detta delproblem har jag det intrycket att för närvarande endast ett fåtal forskningsgrupper bedriver forskning direkt inriktad på metaboliska studier av organismen. Ett av skälen är troligen svårigheterna att odla Clostridium botulinum under kemiskt definierade förhållanden.

SIK:s forskningsproblem som inriktats på Clostridium botulinums näringsfysiologi och metabolism bearbetades ej av någon av de forskningsgrupper jag besökte.

Ett intressant arbete har påbörjats av Dr A. Andersons grupp vid Oregon State University vilket syftar till att klassificera och definiera olika Clostridier efter deras proteinstruktur. Dr Anderson har vidare utvecklat och modifierat en s.k. diskelektroforesmetod för separering

av proteiner som ursprungligen beskrivits av Orstein och Davies. Metoden går i princip ut på att man i en kolonn av fotopolymeriserad acrylamid tillsätter provet uppblandat med en låg koncentration av acrylamid och en buffert. Provet diffunderar ner i pelaren allteftersom bufferten ändrar pH på plasten. Analysen tar c:a 30 min. Metoden har använts för att bestämma:

- a) proteinbilden i bakterier, sporer och fraktioner av celler
- b) bakteriella toxiner
- c) esteras-aktiviteten i insekter
- d) lipas
- e) proteintyp i livsmedel (bestämning av hästkött i korv)

Staphylococcus aureus

En rutinmetod för bestämning av Staphylococcus enterotoxin i livsmedel har utarbetats av C. Genigeorgis, University of California. Metoden grundar sig på geldiffusion i agar innehållande antitoxin, varvid extrakt innehållande toxin ger precipitationslinjer. Samma forskare har också studerat bildningen av toxin och menar att toxinet bildas på ytan av cellen troligen från en precursor genom en enzymatisk process. Man har vidare funnit att vissa stammar kan bilda toxin i medier med upptill 10 % salt. Toxinproduktionen uppges ej kunna äga rum vid ett pH lägre än 5 och salt kombinerat med lågt pH ökar säkerhetsmarginalen.

Svårigheten med att använda Genigeorgis metodik för rutinändamål hänger på att det för närvarande inte finns något kommersiellt framställt antitoxin tillgängligt. Amerikanska armén framställer det dock i rätt stor skala och håller det tillgängligt för forskningsändamål.

Salmonella

Enligt nyligen offentliggjorda forskningsresultat har man starka indikationer för att isolerade lipopolysackarider från cellväggar av Salmonella kan om de tillföres försöksdjur förorsaka symptom identiska med salmonellos. Om detta kan bekräftas kan detta medföra att man även måste ta hänsyn till avdödade celler av Salmonella vid en hygienisk bedömning av livsmedel.

Sammanfattning

Avslutningsvis skulle jag vilja framhålla följande observationer som karakteristiska för aktuell livsmedelsmikrobiologisk forskning i USA.

1. En mycket stark specialisering hos de enskilda forskarna sysselsatta med livsmedelsmikrobiologi och en tvärvetenskaplig uppbyggnad av de nya forskningsinstitutionerna som underlättar kontakten mellan forskare med olika utbildning.

2. En relativt sett mycket stark satsning på livsmedelshygienisk forskning som i USA i högre grad än i Europa ses som en integrerande del i problemkomplexet - Environmental diseases - och som utöver hygien i klassisk mening innefattar toxicologi, näringsvärde, smittoöverföring och pesticider i relation till livsmedel.

3. Inom olika fält är det en trend att försöka omvärdera den vetenskapliga bakgrunden till livsmedelsteknisk praxis. Sålunda är det s.k. 12-D begreppet för värmesterilisering under diskussion och man försöker som en forskare uttryckte saken ta reda på "How safe is safe". Man menar att det ofta är lång erfarenhet av en riskfri livsmedelsteknisk praxis snarare än kännedom om säkerhetsfaktorerna som åberopas som garanti. Vidare saknas kunskaper om hur olika säkerhetsfaktorer samverkar med varandra.

4. Egenskaperna hos den normala nedbrytningsfloran hos livsmedel studeras intensivt utifrån olika utgångspunkter. Speciellt ägnas uppmärksamhet åt inverkan av den normala nedbrytningsfloran på tillväxt och toxinbildning av patogena mikroorganismer. Ett stigande intresse kan också noteras för att använda mikroorganismer i konserverande syfte. S.k. "controlled fermentation" av grönsaker av olika typ synes vara på väg från småindustri till storproduktion.

5. En fascinerande forskning med anknytning till ryndbiologin pågår på flera håll i USA. En del av denna kommer sannolikt på längre sikt att ge livsmedelstekniska tillämpningar. Exempel på sådana problem är:

a/ Forskning avsedda att möjliggöra "microdetection of life". Dessa metoder, som närmast syftar till att kunna upptäcka liv på främmande planeter, kommer kanske, även att kunna användas för att upptäcka begynnande metabolisk aktivitet i steriliserade livsmedel.

b/ Odling av grönsaker bl.a. tomater och gröna ärter i form av encellkulturer i kemiskt definierade media och med glykos som kolkälla.

c/ Algodlingar, i vilka man nu uppges kunna erhålla ett utbyte av upp till 25 gr torrsvikt/l

6. Det är en växande oro för och därav föranledd intensifierad forskning rörande toxinproduktion hos vissa mögelsvampar, framför allt *Aspergillus* spp.

7. Det finns ett begynnande intresse för vira i relation till livsmedel.

8. Ett synnerligen intensivt forskningsarbete pågår för att utveckla metoder för snabb bestämning av bakteriella enterotoxiner i livsmedel.

9. *Clostridium botulinum* forskningen liksom Clostridier i relation till livsmedel ges en frapperande stark prioritet vid anslagsbeviljning. Antal pågående projekt inom detta område är mycket stort men förefaller i vissa fall inte vara av högsta kvalitet.

Bilaga 1.

Besökta institutioner.

School of Veterinary Medicine
University of California
Davis, Calif.

Department of Food Science and Technology
University of California
Davis, Calif.

National Canner Association
Berkeley, Calif.

Western Reg. Res. Lab.
Albany, Calif.

Hooper Foundation, Medical Center
University of California
San Francisco, Calif.

Massachusetts Institute of Food Technology
Cambridge, Mass.

U.S. Army Natick Laboratories
Natick, Mass.

Food Research Institute
University of Chicago
Chicago, Ill.

Institute of Food Technology
Chicago, Ill.

Continental Can. Comp.
Chicago, Ill.

The Research Laboratories
Ely Lilly & Co
Indianapolis, Indiana

Department of Microbiology
Oregon State University
Corvallis, Oregon