

Mikrobiologické hodnocení sójových výrobků na trhu v České republice

JARMILA VYTRÁSOVÁ - LIBOR ČERVENKA
- PETRA MRKVIČKOVÁ - PAVEL BŘEZINA

SOUHRN. Byla hodnocena mikrobiologická kvalita 30 druhů sójových výrobků zakoupených v ČR. Zjišťován byl celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformních mikroorganismů, kvasinek a plísní a přítomnost *Staphylococcus aureus*. Z celkového počtu vzorků nevyhovělo vyhlášce 297 MZ ČR 16 % pro zvýšený počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů a 13 % pro zvýšený počet koliformních mikroorganismů. Výrobky s nejvyšším počtem KTJ na 1 g potraviny byly tofu, tempeh a natto. Ve vzorcích sójových potravin nebyly nalezeny žádné patogenní druhy.

KLÍČOVÁ SLOVA: sója; koliformní bakterie; *Staphylococcus*

Se zvyšujícím se zájmem konzumentů o své zdraví se mnoho lidí obrací k racionální výživě, jejíž součástí je sója (*Glycine max*). Obyvatelé východní Asie ji používají již po staletí k výrobě mnoha rozličných produktů. Jsou bohatým zdrojem proteinů a nenasycených mastných kyselin [1]. Širokou popularitu sója získává i díky tomu, že existují údaje o snížení hladiny celkového cholesterolu v krvi konzumací sójových proteinů [2] a díky antikarcinogennímu efektu sójových izoflavonů [3].

Většina sójových potravin, jako součást racionální výživy, neobsahuje žádné přídatné látky neboli aditiva, které by mohly zabránit růstu nežádoucích mikroorganismů a tím prodloužit trvanlivost těchto výrobků. Často proto obsahují vysoké počty kontaminující mikroflóry, což má za následek ovlivnění kvality potravin [4-7]. Sójové potraviny jsou díky vysokému obsahu

Ing. Jarmila VYTRÁSOVÁ, CSc., Ing. Libor ČERVENKA, Ing. Petra MRKVIČKOVÁ, Katedra biologických a biochemických věd, Chemickotechnologická fakulta, Univerzita Pardubice, Štrossova 239, 530 03 Pardubice, Česká republika.
Prof. Ing. Pavel BŘEZINA, CSc., Katedra ekonomiky a hygieny výživy, Fakulta ekonomiky obrany státu, Vysoká vojenská škola pozemního vojska, Víta Nejedlého, 682 03 Vyškov 3, Česká republika.

proteinů vhodným substrátem pro rychlý rozvoj mikroflóry včetně mikroflóry patogenní. V sójových výrobcích byli nalezeni zástupci rodu *Salmonella* [4,5,8,] *Klebsiella pneumoniae* [9], *Bacillus cereus* [4,10], *Staphylococcus aureus* [11] a dokonce i *Yersinia enterocolitica* [11,12] způsobující vážná alimentární onemocnění. Častý je také výskyt *Enterobacter* spp. [4,13] a *Pseudomonas* spp. [14]. Kromě toho se v sójových výrobcích často vyskytují různé druhy kvasinek a plísní [15] a mohou obsahovat i metabolity plísní, mykotoxiny [16].

Tato studie hodnotí mikrobiologickou kvalitu vybraných sójových produktů, které by mohly být kontaminovány mikroorganismy způsobujícími nejen zkázu potravin, ale i alimentární onemocnění.

Materiál a metody

Vzorky

Kolekce vzorků obsahuje 30 různých druhů sójových výrobků zakoupených v obchodní síti v České republice. Některé obsahovaly ochucovadla jako je koření, kousky zeleniny, jiné byly dodatečně upraveny např. uzením, marinováním nebo fermentací pomocí čistých plísňových či bakteriálních kultur. Všechny byly zpracovány v období platné záruční lhůty.

Mikrobiologická analýza

Na mikrobiologickou analýzu jsme navázili příslušné množství vzorku (10 g resp. 25 g) a analyzovali ve dvou paralelních stanoveních. Každý druh sójového výrobku byl odebrán třikrát v různých časových intervalech ($n = 3$). Vzorky byly homogenizovány s 90 ml fyziologického roztoku s peptonem s využitím homogenizátoru typu Stomacher (Dezintegrátor MB fy Sedláček) a dále byly zpracovány následovně:

Počet aerobních a fakultativně anaerobních mezofilních mikroorganismů (CPM) byl stanoven dle ČSN ISO 4833 [17] na půdě s glukózou, tryptonem a kvasničným extraktem (GTK; Imuna, Šarišské Michaľany, SR).

Počet koliformních mikroorganismů byl stanoven dle ČSN ISO 4832 [18] na půdě s krystalovou violetí, neutrální červení, laktózou a žlučovými solemi (VČŽL; Imuna, Šarišské Michaľany, SR).

U výrobků s vysokým počtem KTJ na 1 g byla dále zjišťována přítomnost bakterií rodů *Salmonella* dle ČSN ISO 6579 [19], *Listeria* dle ČSN EN ISO 11290-1 [20] a *Yersinia* dle ČSN ISO 10273 [21].

Počty stafylokoků byly stanoveny dle ČSN ISO 6888 [22] na půdě Baird-Parker (BP; HiMedia, Bombay, India).

Počty kvasinek a plísní byly stanoveny dle ČSN ISO 7954 [23] na půdě s kvasničným extraktem, glukózou a chloramfenikolem (GKCH; Imuna, Šarišské Michaľany, SR).

Jednotlivé druhy byly identifikovány pomocí mikrotestů Enterotest24, Staphytest a dalších pomocných biochemických testů (Lachema, Brno, ČR). Vyhodnoceny byly počítačovým programem TNW verze 5.1. (Čs. sbírka mikroorganismů, Brno, ČR).

Výsledky a diskuse

V tabulce 1 jsou uvedeny výsledky průměrného počtu ($n = 3$) vybraných skupin mikroorganismů nacházejících se v sójových výrobcích. Celkový počet aerobních a fakultativně anaerobních mezofilních mikroorganismů byl u 77 % výrobků v rozsahu 10^3 – 10^6 KTJ.g⁻¹ a u 13 % byla denzita vyšší než 10^6 KTJ.g⁻¹. Koliformní bakterie byly nalezeny ve 23 % vzorcích a vyhláška MZ ČR byla překročena u 13 % zkoumaných sójových výrobků. Tyto nálezy jsou v souladu s jinými pracemi zabývajícími se mikrobiologickou kvalitou výrobků ze sójových bobů, kde tak vysoké počty a taková frekvence výskytu mikroorganismů byla často uváděna [4,5,11]. U výrobků tofu, stejně jako v našem případě, byly publikované počty mikroorganismů ve srovnání s ostatními výrobky značně vysoké [5,7,13,14]. Je to způsobeno charakterem potravin, vysokým obsahem proteinů, neutrálním pH a vysokou vlhkostí. Tento tradiční výrobek asijské kuchyně je v našich podmínkách vakuově balený s doporučenou teplotou skladování 1–5 °C. Skladování tofu je doménou západních trhů, protože v zemích svého původu je konzumováno ihned po přípravě. Aby se zjistilo, zda příčinou vyšších počtů mikroorganismů jsou nevyhovující podmínky skladování a distribuce, nebo zda jsou vyšší počty mikroorganismů obsaženy už v čerstvě vyrobeném tofu, byly mikrobiologické počty tofu sledovány i 24 h po výrobě. Zjištěné celkové počty aerobních a fakultativně anaerobních mezofilních, jakož i koliformních mikroorganismů byly $7 \cdot 10^4$ KTJ.g⁻¹ resp. $1 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹. Skladováním při chladničkové teplotě se zvýšil za 11 dní celkový počet mikroorganismů o 5 řádů, u koliformních dokonce o 6 řádů (obr. 1). Pokud by výrobek nebyl skladován při teplotách nižších než 5 °C, došlo by ještě k vyššímu nárůstu počtu mikrobů a ke zkáze potravin. V literatuře se uvádí, že byla zjištěna také silná tvorba toxických látek produkovaných některými druhy bakterií [16]. Rozvoji mikroorganismů lze zabránit přidávkou koření pod podmínkou, že není také kontaminováno, dále uzením či marinováním. Jak je patrné z tab. 1, počty mikroorganismů u takto ošetřených výrobků jsou nižší přibližně o 1 řád.

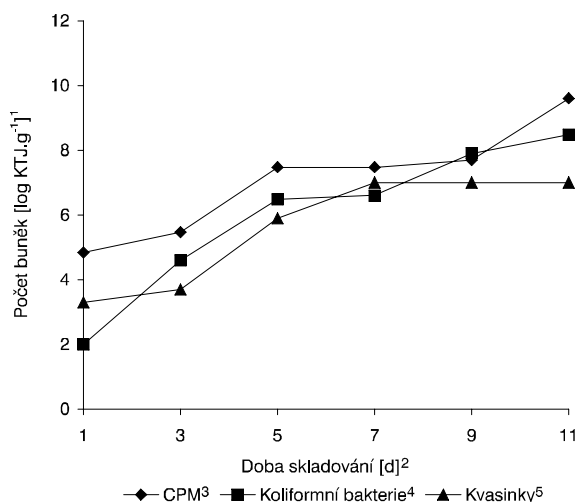
TABULKA 1. Kontaminace sójových výrobků [KTJ.g⁻¹].
TABLE 1. Contamination of soya products [CFU.g⁻¹].

Sójové produkty ¹	CPM	Celkové koliformní ²	Stafylokoky ³	Kvasinky a plísňe ⁴
Tofu přírodní ⁵	5.10 ⁶	7.10 ⁵	3.10 ³	6.10 ²
Tofu česnekové ⁶	2.10 ⁶	1.10 ⁵	5.10 ⁴	5.10 ²
Tofu marinované ⁷	6.10 ⁴	8.10 ²	7.10 ³	1.10 ³
Tofu kořeněné ⁸	9.10 ³	4.10 ²	2.10 ³	7.10 ³
Tofu uzené ⁹	6.10 ¹	<1	<1	<1
Tofu uzené s pórkem ¹⁰	4.10 ²	3.10 ¹	5.10 ²	<1
Tempeh přírodní ¹¹	1.10 ⁶	<1	5.10 ⁴	7.10 ⁴
Tempeh uzený ¹²	1.10 ²	<1	5.10 ¹	<1
Natto přírodní ¹³	1.10 ⁶	8.10 ⁵	3.10 ⁴	4.10 ¹
Tofu karbanátky ¹⁴	9.10 ³	<1	<1	7.10 ¹
Sójové karbanátky ¹⁵	7.10 ³	<1	<1	3.10 ¹
Okara ¹⁶	5.10 ³	<1	5.10 ¹	2.10 ³
Sójanéza ¹⁷	3.10 ³	<1	<1	3.10 ³
Tofunéza ¹⁸	5.10 ²	1.10 ¹	<1	6.10 ²
Tofu salám paprikový ¹⁹	6.10 ⁴	<1	<1	<1
Tofu salám cibulový ²⁰	1.10 ⁴	<1	<1	<1
Tofu salám bylinkový ²¹	1.10 ⁴	<1	<1	2.10 ¹
Tofu salám pikantní ²²	7.10 ²	<1	<1	<1
Tofu salám mozaika ²³	3.10 ²	<1	<1	<1
Tofu salám česnekový ²⁴	2.10 ²	<1	<1	<1
Tofu lahůdka ²⁵	2.10 ²	<1	<1	<1
Sójový dezert karamelový ²⁶	7.10 ⁴	<1	<1	<1
SNF bílý ²⁷	4.10 ³	<1	<1	<1
SNF vanilkový ²⁸	8.10 ³	<1	<1	2.10 ²
SNF borůvkový ²⁹	7.10 ³	<1	<1	<1
SNF meruňkový ³⁰	5.10 ⁴	<1	<1	8.10 ²
SNF jahodový ³¹	4.10 ³	<1	<1	2.10 ²
SN instantní ³²	8.10 ¹	<1	5.10 ¹	<1
Sójové boby ³³	2.10 ¹	<1	<1	1.10 ¹
Sójové extrudáty ³⁴	<1	<1	<1	<1

CPM - celkový počet aerobních a fakultativně anaerobních mezofilních mikroorganismů, SNF - sójový nápoj fermentovaný.

CPM - total aerobic and facultative anaerobic mesophilic bacterial counts, SNF - soya fermented beverage.

1 - soya product, 2 - total coliforms, 3 - staphylococci, 4 - yeasts and moulds, 5 - tofu natural, 6 - garlic tofu, 7 - marinated tofu, 8 - spiced tofu, 9 - smoked tofu, 10 - smoked tofu with leek, 11 - tempeh natural, 12 - smoked tempeh, 13 - natto natural, 14 - tofu burger, 15 - soya burger, 16 - okara, 17 - soya mayonnaise, 18 - tofu mayonnaise, 19 - cayenne tofu sausage, 20 - onion tofu sausage, 21 - herb tofu sausage, 22 - piquant tofu sausage, 23 - mosaic tofu sausage, 24 - garlic tofu sausage, 25 - tofu delicacy, 26 - soya caramel dessert, 27 - SNF white, 28 - SNF vanilla, 29 - SNF blueberry, 30 - SNF apricot, 31 - SNF strawberry, 32 - instant soy milk, 33 - soya beans, 34 - soya extrudates.



OBR. 1. Sledování růstu mikroorganismů v přírodním tofu během skladování při teplotě chladničky.

FIG. 1. Growth of microorganisms during storage of a tofu natural sample at a refrigerator temperature.

1 - microbial counts [log CFU.g⁻¹], 2 - time of storage [d], 3 - total aerobic and facultative anaerobic mesophilic counts, 4 - coliforms, 5 - yeasts.

Mezi nejčastěji izolované zástupce čeledi *Enterobacteriaceae* v zkoumaných sójových výrobcích patřili *Enterobacter* spp. (32 %) a *Buttiauxella* spp. (16 %), u níž bylo publikováno, že byla izolována např. z čerstvé vody [24]. Dále byli nalezeni zástupci rodu *Klebsiella* (16 %) a *Citrobacter* (7 %). Tyto dva rody jsou uváděny v souvislosti s tvorbou vitamínu B₁₂ při fermentaci sójových bobů [25].

V žádném výrobku nebyly nalezeny patogenní mikroorganismy, přestože by jejich výskyt mohl být předpokládán s ohledem na tak vysokou kontaminaci koliformními mikroorganismy. U výrobků tempeh a natto, které představují fermentované produkty sójových bobů pomocí čistých bakteriálních a plísňových kultur [26], převládaly především koliformní bakterie, hlavně *Enterobacter* spp.

U fermentovaných sójových nápojů převládala aerobní mezofilní mikroflóra rodu *Bacillus*. Velmi frekventovaný byl také výskyt stafylokoků, z nichž převládal druh *S. warneri* (29 %), o němž bylo publikováno, že byl izolován také z jiných potravinářských provozů [27]. Kvasinky byly objeveny u 49 % výrobků, přičemž u 20 % byla denzita vyšší než 10³ KTJ.g⁻¹. Plísně byly nalezeny pouze u 13 % sójových výrobků a vždy se jednalo o zástupce rodu *Aspergillus* nebo *Penicillium*. U tofu salámu byla zjištěna pouze mezofilní aerobní a fakultativně anaerobní mikroflóra (CPM). Fermentované sójové nápoje s přídavkem ovocného džemu obsahovaly hlavně kvasinky. Nízké pH, kterého bylo docíleno pomocí čistých kultur, zabraňuje sice růstu bakterií, ale přítomnost samotných kvasinek stačí k tomu, aby u tohoto výrobku došlo

po týdnů skladování při chladničkové teplotě ke zkáze. U extrudátů nebyla nalezena žádná kontaminující mikroflóra, i když přežívání sporotvorných mikroorganismů během extrudace bylo v literatuře dokumentováno [10].

Z celkového počtu analyzovaných vzorků sójových potravin byl v 16 % vzorků u CPM a v 13 % vzorků u koliformních mikroorganismů překročen hygienický limit daný vyhláškou Ministerstva zdravotnictví ČR č. 294/1997 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení [28]. Jednalo se převážně o výrobky sortimentu tofu a tempeh.

Závěr

Základem sójových výrobků jsou izoláty ze sóji. Jak je však patrné z prezentovaných výsledků, některé sójové výrobky jsou značně kontaminovány, což závisí zejména na podmínkách výroby a distribuce. Výroba je často realizována v malých výrobních, které používají vlastní technologie, přičemž aplikace systému HACCP v těchto výrobních prakticky neexistuje.

Patogenní mikroorganismy v žádném ze sójových výrobků nebyly nalezeny, avšak vzhledem k vysokému počtu ostatních mikrobů není jejich přítomnost vyloučena.

Při skladování vakuově balených sójových výrobků při chladničkové teplotě docházelo již po 7–9 dnech k výrazným senzorickým změnám, ačkoliv záruční doba je 3–6 týdnů.

Sójové výrobky jakožto součást zdravé či racionální výživy by bylo možno doporučit pouze za předpokladu, že budou mikrobiologicky nezávadné. To je možné zabezpečit jen tehdy, když budou kromě použití kvalitní suroviny dodrženy předepsané technologické procesy a všechny zásady hygieny a sanitace.

Práce vznikla za podpory grantu GAČR č. 203/99/0044 a MŠMT VS-96058.

Literatura

1. MESSINA, M. J.: Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects 1, 2. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 1999, č. 3, s. 439-450.
2. WONG, W. W. - SMITH, E. O. - STUFF, J. E. - HACHEY, D. L. - HEIRD, W. C. - POWNELL, H. J.: Cholesterol-lowering effect of soy protein in normocholesterolemic and hypercholesterolemic men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 1998, č. 6 Suppl., s. 1385-1389.

3. SETCHELL, K. D.: Phytoestrogens: the biochemistry, physiology and implications for human health of soy isoflavones. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 1998, č. 6 Suppl., s. 1333-1346.
4. WARBURTON, D. W. - HARRISON, B. - CRAWFORD, C. - FOSTER, R. - FOX, C. - GOUR, L. - PURVIS, U.: Current microbiological status of „health foods“ sold in Canada. *International Journal of Food Microbiology*, 42, 1998, č. 1-2, s. 1-7.
5. ANDREWS, W. H. - WILSON, C. R. - POELMA, P. L. - ROMERO, A. - MISLIVEC, P. B.: Bacteriological survey of sixty health foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 37, 1979, č. 3, s. 559-566.
6. REHBERGER, T. G. - WILSON, L. A. - GLATZ, B. A.: Microbiological quality of commercial tofu. *Journal of Food Protection*, 47, 1984, č. 3, s. 177-181.
7. ASHRAF, H. R. - WHITE, M. - KLUBEK, B.: Microbiological survey of tofu sold in rural Illinois county. *Food Protection*, 62, 1999, č. 9, s. 1050-1053.
8. SURDY, T. E. - HAAS, S. O.: Modified enrichment-serology procedures for detection of salmonellae in soy products. *Applied and Environmental Microbiology*, 42, 1981, č. 4, s. 704-707.
9. MULYOWIDARSO, R. K. - FLEET, G. H. - BUCKLE, K. A.: The microbial ecology of soybeans soaking for tempeh production. *International Journal of Food Microbiology*, 8, 1989, č. 1, s. 35-46.
10. LIKIMANI, T. A. - SOFOS, J. N.: Bacterial spore injury during extrusion cooking of corn/soybean mixtures. *International Journal of Food Microbiology*, 11, 1990, č. 3-4, s. 243-249.
11. SZABO, R. A. - JARVIS, G. A. - WEISS, K. F. - RAYMAN, K. - LACHAPPELLE, G. - JEAN, A.: Microbiological quality of tofu and related products in Canada. *Journal of Food Protection*, 52, 1989, č. 10, s. 727-730.
12. TACKET, C. O. - BALLARD, J. - HARRIS, N. - ALLARD, J. - NOLAN, C. - QUAN, T. - COHEN, M. L.: An outbreak of *Yersinia enterocolitica* infections caused by contaminated tofu (soybean curd). *American Journal of Epidemiology*, 121, 1985, č. 5, s. 705-711.
13. ASHENAFI, M.: Microbiological evaluation of tofu and tempeh during processing and storage. *Plant Foods for Human Nutrition*, 45, 1994, č. 2, s. 183-189.
14. FOUAD, K. E. - HEGEMAN, G. D.: Microbial spoilage of tofu (soybean curd). *Journal of Food Protection*, 56, 1993, č. 2, s. 157-164.
15. ŠIMUNEK, J. - BŘEZINA, P.: Mykotoxiny. Výškov : Vysoká vojenská škola pozemního vojska, 1996. 70 s.
16. KOVATS, S. K. - DOYLE, M. P. - TANAKA, N.: Evaluation of the microbiological safety of tofu. *Journal of Food Protection*, 47, 1984, č. 8, s. 618-622.
17. ČSN ISO 4833 (560083). Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení celkového počtu mikroorganismů. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C. 1995.
18. ČSN ISO 4832 (560085). Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu koliformních bakterií. Technika počítání kolonií. 1995.
19. ČSN ISO 6579 (560088). Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro metody průkazu bakterií rodu *Salmonella*. 1995.
20. ČSN EN ISO 11290 - 1 (560093). Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu *Listeria monocytogenes* - Část 1: Metoda průkazu. 1999.
21. ČSN ISO 10273 (560110). Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro průkaz suspektních patogenních kmenů *Yersinia enterocolitica*. 1996.
22. ČSN ISO 6888 (560089). Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu *Staphylococcus aureus*. Technika počítání kolonií. 1994.
23. ČSN ISO 7954 (560087). Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu kvasinek a plísní. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 25 °C. 1994.

24. Bergey's Manual of determinative bacteriology. 9. vyd. Baltimore : Williams & Wilkins, 1994. 787 s.
25. KEUTH, S. - BISPING, B.: Vitamin B₁₂ production by *Citrobacter freundii* or *Klebsiella pneumoniae* during tempeh fermentation and proof of enterotoxin absence by PCR. Applied and Environmental Microbiology, 60, 1994, č. 5, s. 1459-1499.
26. GOLBITZ, P.: Traditional soyfoods: processing and products. Journal of Nutrition, 125, 1995, č. 3, s. 570S-572S.
27. MĚRKOVÁ, Z.: Studium výskytu *Listeria* spp. v procesu výroby olomouckých tvarůžků a problematika jejich stanovení. [Diplomová práce.] Pardubice : Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, 1999. 58 s.
28. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 294/1997 Sb. ze dne 28.11.1997 o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení. Sbírka zákonů č. 294, 1997, částka 98, s. 5428-5461.

Do redakcie došlo 4.7.2000.

Microbiological evaluation of soya products on the market in Czech Republic

VYTRÁSOVÁ, J. - ČERVENKA, L. - MRKVIČKOVÁ, P. - BŘEZINA, P.:
Bull. potrav. Výsk., 39, 2000, p. 195-202.

SUMMARY. Microbiological quality of 30 soya products from the market in Czech Republic was evaluated. Total counts of aerobic and facultative anaerobic mesophiles, coliforms, yeasts and moulds and the presence of *Staphylococcus aureus* were determined. Guidelines of intimation 294/1997 MZ ČR were exceeded for 16 % of the lots at total aerobic and facultative anaerobic mesophiles, and for 13 % of the lots at coliforms. Tofu, tempeh and natto samples had greatest bacterial loads per gram. No pathogens were detected in the samples of soya food products.

KEYWORDS: Soya; coliform bacteria; *Staphylococcus*