

AGNIESZKA NOWAK

JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA SERA TOFU PAKOWANEGO PRÓŻNIOWO

Streszczenie

Celem badań była ocena stanu mikrobiologicznego próżniowo pakowanego sera tofu oraz określenie dominujących rodzajów drobnoustrojów w zależności od temperatury przechowywania. Tofu przechowywano w temperaturze 4, 10 i 20°C. W trakcie przechowywania oznaczano ogólną liczbę drobnoustrojów z uwzględnieniem psychrotrofów oraz bakterii kwaszących. Dominujące bakterie były izolowane w celu określenia ich przynależności gatunkowej. Jakość mikrobiologiczna produktu przechowywanego chłodniczo, przez cały okres przydatności do spożycia, była właściwa. W produkcie przechowywanym w temp. 10 i 20°C zaobserwowano nadmierny wzrost liczby mikroorganizmów już podczas pierwszego tygodnia przechowywania. W produkcie zepsutym dominowały cztery gatunki bakterii *Bacillus marinus*, *B. licheniformis*, *B. firmus* i *B. alvei*.

Słowa kluczowe: tofu, jakość mikrobiologiczna, pakowanie próżniowe

Wprowadzenie

Tofu, w wielu krajach, jest jednym z najpopularniejszych wysokobiałkowych niefermentowanych produktów sojowych, o utrwalonej tradycją metodzie wytwarzania. Mleczko sojowe poddawane jest koagulacji, najczęściej z użyciem siarczanu(VI) magnezu, siarczanu(VI) wapnia, chlorku wapnia, glukonolaktonu. Powstały po tym procesie supernatant jest usuwany, a ser przenoszony do perforowanych pojemników i prasowany w celu uzyskania jednolitych bloków. W zależności od końcowej zawartości wody oraz rodzaju koagulanta produkt może mieć odmienną strukturę. Koagulacja z użyciem siarczanu(VI) wapnia prowadzi do uzyskania produktu o silnie ziarnistej strukturze, z kolei wykorzystanie związków magnezu przyczynia się do otrzymania tofu o strukturze żelowej [9]. Jeszcze inną, bardziej delikatną odmianę stanowi tzw. tofu jedwabiste, uzyskiwane dzięki zastosowaniu glukonolaktonu oraz przez nie oddzielanie serwatki [1]. W Polsce tofu nie należy do produktów popularnych, jednak zmieniające się upodobania dietetyczne

Dr inż. A. Nowak, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka, 90-924 Łódź,
ul. Wólczańska 171/173, anowak@p.lodz.pl a

naszych konsumentów i coraz częstszy wybór żywienia wegetariańskiego przyczynia się do wzrostu zainteresowania tym produktem. Tofu ze względu na swój skład chemiczny (wysoka zawartość białka), jak również pH bliskie obojętnemu, stanowi doskonałe środowisko rozwoju mikroorganizmów. Z tego względu producent dbający o jakość i bezpieczeństwo produktu zobligowany jest do stosowania nowych technologii, gwarantujących przedłużenie jego trwałości. Równocześnie konsument oczekuje wyrobu pozbawionego dodatków konserwujących. W praktyce uzyskanie właściwej trwałości produktu spożywczego, bez konieczności stosowania wysokiego poziomu jednego czynnika utrwalającego, możliwe jest dzięki wykorzystaniu teorii płotków Leistnera [4]. Produkowany w Polsce ser tofu utrwalany jest dzięki kombinacji trzech czynników: temperatury podczas obróbki termicznej (pasteryzacja lub sterylizacja), zmiany atmosfery gazowej wokół produktu (pakowanie próżniowe), temperatury w procesie przechowywania (przechowywanie chłodnicze). Właściwy dobór wielkości poszczególnych czynników utrwalających pozwala na maksymalne wydłużenie terminu przydatności do spożycia, przy jednoczesnym obniżeniu kosztów ekonomicznych.

Ze względu na powyższe przesłanki podjęto badania mające na celu ocenę stanu mikrobiologicznego próżniowo pakowanego sera tofu oraz określenie dominujących rodzajów drobnoustrojów w zależności od temperatury przechowywania.

Wyniki poddano analizie statystycznej, obliczając wartości średnie, odchylenia standardowe oraz istotność różnic testem t-Studenta na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowił ser tofu wytworzony z mleczka sojowego, zakupiony bezpośrednio od producenta, pochodzący z jednej partii produkcyjnej. W celu przedłużenia trwałości produktu producent zastosował pasteryzację surowca (temp. 90°C, 30 min) oraz pakowanie próżniowe sera w wysokobarierową, wielowarstwową folię PAPE. W przeprowadzonych badaniach czynnikiem zmiennym była temperatura składowania - tofu przechowywano w temp. 4, 10 i 20°C przez deklarowany przez producenta okres przydatności do spożycia, wynoszący 8 tygodni. W odstępach siedmiodniowych, metodami normatywnymi [5, 6, 7], określano ogólną liczbę drobnoustrojów (OLD) z uwzględnieniem grupy bakterii psychrotrofowych oraz kwaszących. Wszystkie oznaczenia powtarzano trzykrotnie, a poziom detekcji wynosił 10 jtk/g. W trakcie przechowywania dokonywano również oceny sensorycznej produktu - struktury, barwy oraz zapachu.

Prowadzono wstępną diagnostykę wyizolowanej mikroflory. Obejmowała ona określenie cech morfologicznych, hodowlanych, metabolizmu glukozy, barwienie metodą Grama, test na obecność oksydazy oraz katalazy. Ocenie poddawano typy morfologiczne reprezentujące ponad 10% ogólnej populacji (5 kolonii z każdej płytki).

Przynależność gatunkową dominujących bakterii określano stosując testy API50CH oraz API 20E.

Wyniki i dyskusja

Wyjściowy stan mikrobiologiczny tofu cechowała niewielka ogólna liczba drobnoustrojów, która wynosiła $1,3 \cdot 10^2$ jtk/g. Na założonym poziomie detekcji (>10 jtk/g) nie stwierdzono obecności psychrotrofów oraz bakterii kwaszających (tab. 1). Przechowywanie badanego materiału w temp. 4°C w pełni zabezpieczało produkt przed namnożeniem mikroflory zanieczyszczającej. Po niewielkim przyroście ogólnej liczby drobnoustrojów (o jeden rząd logarytmiczny) w ciągu pierwszych dni przechowywania w tej temperaturze nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian liczby badanych grup drobnoustrojów. Przez cały okres przydatności do spożycia ser charakteryzował się właściwą strukturą, barwą oraz zapachem (tab. 2). Uzyskanych wyników nie można porównać z wymaganiami normatywnymi, ponieważ w chwili obecnej w Polsce brak jest stosownych regulacji dla tego typu produktów.

OLD w tofu przechowywanym w temp. 10°C już po siedmiu dniach wzrosła o 4 cykle logarytmiczne, a w produkcie przechowywanym w temp. 20°C o 6 cykli log. Maksymalne namnożenie drobnoustrojów (do poziomu 10^{10} jtk/g) oznaczono po dwutygodniowym przechowywaniu produktu w temp. 20°C . W tych warunkach temperaturowych stopniowo wzrastał również procentowy udział bakterii kwaszających w ogólnej liczbie drobnoustrojów. Pod koniec okresu przydatności do spożycia liczebność tej grupy była rzędu $10^4 - 10^6$ jtk/g, w zależności od warunków przechowywania. Wyższe wartości temperatury (10 i 20°C) stymulowały również rozwój bakterii psychrotrofowych, których końcowa liczba wynosiła 10^3 jtk/g (tab. 1). Nadmierne namnożenie się mikroorganizmów przyczyniło się do niekorzystnych zmian wyróżników jakości sensorycznej produktu – struktury, konsystencji oraz zapachu. Na podstawie uzyskanych wyników (tab. 1 i 2) można przypuszczać, że niekorzystne zmiany sensoryczne pojawią się przy namnożeniu bakterii kwaszających rzędu $10^3 - 10^4$ jtk/g. Ashraf i wsp. [1] przebadali 60 prób tofu pochodzących z handlu detalicznego. Próby różniły się między sobą sposobem pakowania i przechowywania. Ogólna liczba drobnoustrojów wahała się w zakresie od 0 do $7,8 \cdot 10^7$ jtk/g, przy czym największą liczebność drobnoustroje osiągnęły w próbach nieopakowanych, nie zaobserwowano natomiast istotnych różnic pomiędzy próbami zapakowanymi w różnego typu materiały opakowaniowe. W literaturze spotyka się również informacje na temat obecności bakterii z grupy coli w serze tofu [8], czy przypadkach shigellozy związanych ze spożyciem tego produktu [3].

Jakość mikrobiologiczna tofu podczas przechowywania.
Microbial quality of the tofu stored.

Temperatura przechowywania Storage temperature [°C]	Okres przechowywania [dni] Storage period [days]	Ogólna liczba mikroorganizmów Total count of micro-organisms	Psychrotrofy Psychrotrophs	Bakterie kwaszące Acidifying bacteria
		X _{sr} ±SD log [jtk/g] log [cfu/g]		
4	0	2,12±0,28	nd	nd
	7	3,21±0,44	nd	nd
	14	3,47±0,25	nd	nd
	21	3,11±0,38	nd	nd
	28	3,25±0,31	nd	nd
	35	3,45±0,29	nd	nd
	42	3,22±0,38	nd	nd
	49	2,96±0,31	nd	nd
10	0	2,12±0,28	nd	nd
	7	6,85±0,41	nd	1,73±0,12
	14	9,08±0,66	nd	2,52±0,15
	21	8,76±0,39	nd	3,00±0,27
	28	8,81±0,65	nd	3,54±0,27
	35	8,83±0,72	nd	3,82±0,33
	42	9,11±0,67	1,95±0,06	3,95±0,41
	49	8,99±0,95	3,18±0,25	4,54±0,35
20	0	2,12±0,28	nd	nd
	7	8,37±0,42	nd	3,91±0,25
	14	10,31±0,97	nd	4,57±0,38
	21	9,53±0,88	nd	5,30±0,21
	28	9,57±0,65	nd	5,71±0,44
	35	9,87±0,78	nd	5,55±0,48
	42	10,03±0,73	1,35±0,12	5,62±0,51
	49	9,82±0,88	3,61±0,32	6,00±0,52
56	9,56±0,71	3,97±0,25	6,43±0,66	

Objaśnienia: / Explanatory notes:

x_{sr} wartość średnia / mean value; SD odchylenie standardowe / standard deviation; nd – nie wykryto / not detected.

Tabela 2

Cechy sensoryczne tofu.

Sensory characteristics of the tofu.

Temperatura przechowywania Storage temperatures [°C]	Okres przechowywania [dni] Storage period [days]	Cecha Characteristics			
		Struktura Structure	Barwa Colour	Zapach Odour	
4	0	Zwarta Dense	Typowa dla produktu (jasnokremowa) Typical for the product (light-beige)	Typowy dla produktu Typical for the product	
	7				
	14				
	21				
	28				
	35				
	42				
	49				
10	0	Zwarta Dense	Typowa dla produktu Typical for the product	Typowy dla produktu Typical for the product	
	7				
	14				
	21				
	35	Luźna Loose	Typowa dla produktu Typical for the product	Lekko kwaśny Lightly sour	
					42
					49
					56
20	0	Zwarta Dense	Typowa dla produktu Typical for the product	Typowy dla produktu Typical for the product	
	7	Luźna Loose	Typowa dla produktu Typical for the product	Lekko kwaśny Lightly sour	
	14				
	21				
	28				
	35	Bardzo luźna Very loose	Typowa dla produktu Typical for the product	Kwaśny Sour	
					42
					49
					56
	49	Bardzo luźna Very loose	Typowa dla produktu Typical for the product	Bardzo kwaśny Very sour	
					56
					56
56					

Dominującą mikroflorę tofu przed upływem terminu przydatności do spożycia, niezależnie od temperatury przechowywania, stanowiły laseczki z rodzaju *Bacillus* (tab. 3). W produkcie tym stwierdzono również obecność ziarniaków z rodzaju *Micrococcus* oraz pałeczek *Propionibacterium* sp. Rodzaj *Bacillus* reprezentowany był przez cztery gatunki – *B. marinus*, *B. licheniformis*, *B. firmus* i *B. alvei*.

Tabela 3

Mikroflora [%] wyizolowana z tofu po 56 dniach przechowywania w różnych wartościach temperatury.
Microflora [%] isolated from the tofu after it has been stored for 56 days at different temperatures.

Mikroorganizm Micro-organism	Temperatura przechowywania [°C] Storage temperature		
	4	10	20
<i>Micrococcus</i> sp.	20	10	-
<i>Propionibacterium</i> sp.	5	7	5
<i>Bacillus marinus</i>	32	15	10
<i>Bacillus licheniformis</i>	43	44	45
<i>Bacillus firmus</i>	-	26	35
<i>Bacillus alvei</i>	-	-	5

Końcowy skład mikroflory zdeterminowany jest niewątpliwie jakością surowca, czystością mikrobiologiczną powietrza w otoczeniu produkcyjnym, parametrami procesu pasteryzacji oraz temperaturą przechowywania gotowego produktu. Laseczki *Bacillus* sp., jako fakultatywne tlenowce, są zdolne do wzrostu w produkcie pakowanym próżniowo, jednocześnie dzięki zdolności do tworzenia przetrwalników mogą przeżywać proces pasteryzacji. Zauważyć należy, że w tofu przechowywanym w temp. 4°C nie stwierdzono obecności laseczek *B. firmus* i *B. alvei*, ten ostatni gatunek został zidentyfikowany jedynie w produkcie przechowywanym w temp. 20°C. Gatunki *B. licheniformis* oraz *B. firmus* zostały wykryte również przez Dakwa i wsp. [2], jako dominująca mikroflora innego produktu sojowego o nazwie dawadawa. Produkt ten powstaje w wyniku spontanicznej fermentacji gotowanego uprzednio ziarna sojowego.

Wnioski

1. Podwyższona temperatura przechowywania tofu powodowała nadmierne namnożenie drobnoustrojów, dlatego standardem powinno być chłodnicze składowanie tego sera w łańcuchu dystrybucji.
2. Produkt przechowywany w temp. 4°C zachował wysoką jakość mikrobiologiczną przez cały okres przydatności do spożycia.
3. W serze zepsutym dominowały laseczki z gatunków *Bacillus marinus*, *B. licheniformis*, *B. firmus* i *B. alvei*.

Literatura

- [1] Ashraf H. R., White M., Klubek B.: Microbiological survey of tofu sold in rural Illinois country. J. Food Prot., 1999, **62**, 1050-1053.

- [2] Dakwa S., Sakyi-Dawson E., Diako C., Annan N. T., Amoa-Awua W. K.: Effect of boiling and roasting on the fermentation of soybeans into dawadawa (soy-dawadawa). *Int. J. Food Microb.*, 2005, **104**, 69-73.
- [3] Lee L. A., Stephen M. O., McGee H. B., Johson D. R., Downes F. P., Cameron D. N., Bean N. H., Griffin P. M.: An outbreak of shigellosis at an outdoor music festival. *Am. J. Epid.*, 1991, **133** (6), 608-615.
- [4] Leistner L., Gould G. W.: *Hurdle Technologies: Combination Treatment for Food Stability, Safety and Quality*. Ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002.
- [5] PN-EN ISO 4833:2004 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów - Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
- [6] PN-ISO 15214:2002 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej – Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
- [7] PN-ISO 17410:2004 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych.
- [8] Rehberger T. G., Wilson L. A., Glatz B. A.: Microbial quality of commercial tofu. *J. Food Prot.*, 1984, **47**, 177-181.
- [9] Wang H. L.: Tofu and tempeh as potential protein source in the western diet. *J. Am. Oil Chem. Assoc.*, 1984, **61**, 528-534.

MICROBIAL QUALITY OF VACUUM PACKED TOFU

S u m m a r y

The objective of the investigation was to assess the microbiological state of a vacuum packed tofu and to determine the predominating species of micro-organisms depending on the storage temperature. The tofu was stored at 4°C, 10°C, and 20°C. Whilst storing the tofu, the total count of micro-organisms was determined including the psychrotrophic bacteria and acidifying bacteria. The predominant colonies were isolated for the purpose of determining to what species they belonged. The microbial quality of tofu that was cold stored during its entire shelf life was proper. In the product stored at 10°C and 20°C, an excessive increase in the count of micro-organisms was noted as early as during the first week of storing the tofu. In the spoiled product, four species: *Bacillus marinus*, *B. licheniformis*, *B. firmus*, and *B. alvei* predominated.

Key words: tofu, microbial quality, vacuum packaging ☒