

MICROFLORA OF KETCHUP

Kozelková M.¹, Kalhotka L.²

¹Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkozelk2@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was assignment of microflora in ketchup and its growth in a process of storage under different conditions (room temperature, in refrigerator).

In selected ketchups purchased in the commercial network, were determined, during storage (i. e. 0. day, 14. day, 28. day, 42. day, 56. day, 70. day after opening) using plate method these groups of micro-organisms: total number of micro-organisms, lactic fermentation bacteria (LFB), coliform bacteria, sporulating bacteria, yeasts and fungies.

In any of the examined samples there were not detected any coliform bacterium, LFB, anaerobic sporulating bacteria and yeasts. The results of present categories of the micro-organisms were compared with appropriate legislation and marked as unexceptionable for all the time of storage.

Using statistical methods it was proved that for the ketchup samples filled in glass containers (ASk, BSk) occurred during storage to increase the number of all groups of micro-organisms. For ketchup samples filled into plastic containers (AP, BP) occurred to increasing the number of micro-organisms as a function of time only at the sporulated aerobic micro-organisms, while the total number of micro-organisms and mold during storage decreased. With the help of Tukey test it was proved that in most samples stored in the refrigerator there was a lower number of micro-organisms than in the same samples stored at room temperature.

Key words: micro-organisms, tomato purée, ketchup

ÚVOD

V průmyslovém měřítku se kečup vyrábí ředěním zahuštěného rajčatového protlaku o koncentraci refraktometrické sušiny 28 až 30 %. Rajčatový protlak se smíchá ve vhodné nádobě s vodou, ochucovadly, potřebnými aditivy a zahušťuje na požadovanou refraktometrickou sušinu. Po zahuštění následuje tepelné ošetření směsi při teplotě okolo 80 °C. Další fáze výroby se liší, podle plnění kečupů do různých typů spotřebitelských obalů. Zatímco kečupy plněné do skleněných obalů se konzervují opětovným tepelným ošetřením při teplotě okolo 90 °C, výrobky v plastu se již tepelně neošetřují, protože jsou stabilizovány chemickou konzervací (DOBIÁŠ, 2004).

Rajčatový kečup je považován za velmi stabilní produkt. Nízké pH získané většinou od solí kyseliny benzoové a tepelná sterilace směsi během výroby přispívá k jeho stálosti (BJORKROTH, et. al 1996). Kečupy s hodnotami pH 3,7 až 4,6 se kazí zřídka, ale jejich kažení není vyloučené. Za studena vyrobené produkty mohou podléhat kažení působením bakterií octového či mléčného kvašení, nebo působením kvasinek a plísní. V produktech vyrobených a plněných za horka se na kažení podílí *Bacillus coagulans*, *Bacillus stearothermophilus* atd. (GÖRNER, VALÍK, 2004). V dříve platné vyhlášce 132/2004 Sb., byla stanovena přípustná hodnota pro tyto mikroorganismy: CPM 10^4 KTJ/ml, kvasinky 10^4 KTJ/ml a *Escherichia coli* 10 KTJ/ml kečupu. Nařízení Evropské unie 2073/2005 limity pro mikroorganismy v kečupu neuvádí. Mikrobiologické požadavky na jakost kečupů jsou uvedené v normě ČSN 56 9609, která stanovuje pravidla správné výrobní a hygienické praxe a uvádí mikrobiologická kritéria pro potraviny a principy stanovení a aplikace. Norma uvádí limity pro koliformní bakterie, koagulázopozitivní stafylokoky a laktobacily, jejichž limity jsou následující: Aby mohl být výrobek prohlášen za vyhovující, smí být přítomnost koliformních bakterií v pěti vyšetřených vzorcích max. 50 KTJ/ml, přičemž ve dvou z pěti vzorků může být max. $5 \cdot 10^2$ KTJ/ml; koagulázopozitivních stafylokoků v pěti vyšetřených vzorcích ≤ 150 KTJ/ml, přičemž v jednom z pěti vzorků může být max. $2 \cdot 10^2$ KTJ/ml; laktobacily: v pěti vyšetřených vzorcích se připouští 10^3 KTJ/ml, přičemž maximálně ve dvou z pěti vzorků může být množství 10^4 KTJ/ml.

MATERIÁL A METODIKA

K mikrobiologickým analýzám byly při každém rozboru použity čtyři vzorky rajčatového kečupu, pocházející z běžně dostupné obchodní sítě. Jednalo se o 2x dva stejné vzorky, které byly skladovány za různých podmínek. Vzorek označený písmenem A byl skladován při pokojové teplotě, vzorek označený písmenem B byl skladován v lednici.

Vzorek Ask a Bsk – Kečup jemný ve skleněném obalu. Vzorek AP, BP – Kečup jemný v plastovém obalu. Výrobce: Neli a.s., Na Hraničkách 589/34, Vyškov 682 01.

Při rozbořech byla použita kultivace pomocí plotnové metody, při níž byly stanovovány tyto skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů (CPM) na PCA (Biokar Diagnostics, France) při 30 °C za 72 h. Bakterie mléčného kysání (BMK) na MRS agaru (Biokar Diagnostics, France) při 37 °C za 72 h. Koliformní bakterie (Koli) na VRBL (Biokar Diagnostics, France) při 37 °C za 24 h. Aerobní sporulující bakterie na PCA (Biokar Diagnostics, France) při 37 °C za 72 h. Anaerobní sporulující bakterie na PCA (Biokar Diagnostics, France) při 37 °C za 24h v Anaerostatu s vyvíječem anaerobní

atmosféry Anaerocult A (Merck, Německo). Kvasinky a plísňe na CGA (Biokar Diagnostics, France) při 25°C za 120h. Po ukončení kultivace byly na jednotlivých Petriho miskách odečteny narostlé kolonie a výsledek vyjádřen v KTJ na ml.

Dále bylo provedeno srovnání intervalů spolehlivosti KTJ/ml jednotlivých skupin mikroorganismů, čímž jsme se snažili prokázat, zda dochází ke zvýšení (snížení) počtu mikroorganismů v závislosti na čase se zvolenou pravděpodobností 95 % ($P < 0,05$). Pomocí Tukeyova testu významnosti rozdílů, k jehož vyhodnocení jsme použili program UNISTAT verze 5.5 pro Microsoft Windows jsme testovali průkaznost rozdílů (na hladině významnosti 95%) mezi stejnými vzorky kečupů, které byly skladovány za různých podmínek (pokojová teplota, lednice).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky mikrobiologických vyšetření jednotlivých vzorků jsou vyjádřeny pomocí aritmetického průměru spolu s intervalem spolehlivosti a uvedeny v **tabulkách 1 - 4** v hodnotách KTJ/ml.

Tab. 1 Skupiny mikroorganismů v průběhu skladování výrobku ASK (rajčatový kečup ve skleněném obalu skladovaný při pokojové teplotě), vyjádřeny pomocí aritmetického průměru s intervalem spolehlivosti.

ASK						
Počet dnů	KTJ/ml					
	CPM	Sp.aeroby	Plísňe	BMK	Koli	Sp.anaeroby
0	$(0,45 \pm 0,03) \cdot 10^1$	negativní	Negativní	negativní	negativní	negativní
14	$(1,36 \pm 0,09) \cdot 10^1$	$(2,63 \pm 0,03) \cdot 10^1$	Negativní	negativní	negativní	negativní
28	$(1,81 \pm 0,11) \cdot 10^1$	$(4,90 \pm 0,20) \cdot 10^1$	Negativní	negativní	negativní	negativní
42	$(2,72 \pm 0,34) \cdot 10^1$	$(1,34 \pm 0,14) \cdot 10^2$	$(1,00 \pm 0,12) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
56	$(1,09 \pm 0,12) \cdot 10^2$	$(1,81 \pm 0,14) \cdot 10^2$	$(2,27 \pm 0,16) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
70	$(4,68 \pm 0,32) \cdot 10^2$	$(5,06 \pm 0,43) \cdot 10^2$	$(2,72 \pm 0,14) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní

Tab. 2 Skupiny mikroorganismů v průběhu skladování výrobku BSK (rajčatový kečup ve skleněném obalu skladovaný v lednici), vyjádřeny pomocí aritmetického průměru s intervalem spolehlivosti.

BSK						
Počet dnů	KTJ/ml					
	CPM	Sp.aeroby	Plísňe	BMK	Koli	Sp.anaeroby
0	$(0,45 \pm 0,03) \cdot 10^1$	negativní	Negativní	negativní	negativní	negativní
14	$(0,90 \pm 0,20) \cdot 10^1$	negativní	Negativní	negativní	negativní	negativní
28	$(1,36 \pm 0,16) \cdot 10^1$	$(4,50 \pm 0,13) \cdot 10^1$	$(0,45 \pm 0,01) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
42	$(1,55 \pm 0,21) \cdot 10^1$	$(9,19 \pm 0,45) \cdot 10^1$	$(1,50 \pm 0,14) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
56	$(8,10 \pm 0,73) \cdot 10^1$	$(2,27 \pm 0,08) \cdot 10^2$	$(1,81 \pm 0,14) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
70	$(2,27 \pm 0,05) \cdot 10^2$	$(3,44 \pm 0,04) \cdot 10^2$	$(2,27 \pm 0,27) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní

Tab. 3 Skupiny mikroorganismů v průběhu skladování výrobku AP (rajčatový kečup v plastovém obalu skladovaný při pokojové teplotě), vyjádřeny pomocí aritmetického průměru s intervalem spolehlivosti.

AP						
Počet dnů	KTJ/ml					
	CPM	Sp.aeroby	Plísňe	BMK	Koli	Sp.anaeroby
0	$(0,45 \pm 0,06) \cdot 10^1$	negativní	$(1,2 \pm 0,03) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
14	$(0,91 \pm 0,10) \cdot 10^1$	$(1,29 \pm 0,14) \cdot 10^1$	Negativní	negativní	negativní	negativní
28	$(1,40 \pm 0,05) \cdot 10^1$	$(2,31 \pm 0,18) \cdot 10^1$	$(2,27 \pm 0,12) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
42	$(2,27 \pm 0,14) \cdot 10^1$	$(4,55 \pm 0,63) \cdot 10^1$	$(0,90 \pm 0,08) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
56	$(0,90 \pm 0,09) \cdot 10^1$	$(1,73 \pm 0,20) \cdot 10^2$	Negativní	negativní	negativní	negativní
70	$(0,37 \pm 0,03) \cdot 10^1$	$(2,56 \pm 0,28) \cdot 10^2$	$(0,90 \pm 0,08) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní

Tab. 4 Skupiny mikroorganismů v průběhu skladování výrobku BP (rajčatový kečup v plastovém obalu skladovaný v lednici), vyjádřeny pomocí aritmetického průměru s intervalem spolehlivosti.

BP						
Počet dnů	KTJ/ml					
	CPM	Sp.aeroby	Plísňe	BMK	Koli	Sp.anaeroby
0	$(0,45 \pm 0,05) \cdot 10^1$	negativní	Negativní	negativní	negativní	negativní
14	$(0,85 \pm 0,09) \cdot 10^1$	$(0,82 \pm 0,12) \cdot 10^1$	$(0,50 \pm 0,06) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
28	$(0,95 \pm 0,11) \cdot 10^1$	$(1,70 \pm 0,23) \cdot 10^1$	$(1,36 \pm 0,12) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
42	$(0,51 \pm 0,06) \cdot 10^1$	$(3,60 \pm 0,40) \cdot 10^1$	$(0,45 \pm 0,03) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
56	negativní	$(8,97 \pm 0,15) \cdot 10^1$	Negativní	negativní	negativní	negativní
70	$(0,25 \pm 0,04) \cdot 10^1$	$(1,47 \pm 0,18) \cdot 10^2$	Negativní	negativní	negativní	negativní

Při mikrobiologických analýzách nebyly v žádném ze zkoumaných vzorků detekovány: koliformní bakterie, bakterie mléčného kvašení (BMK), anaerobní sporulující bakterie a kvasinky.

Závislost počtu mikroorganismů na čase v průběhu skladování u výrobků: ASK, BSK, AP, BP

Pomocí srovnání intervalů spolehlivosti KTJ/ml jednotlivých skupin mikroorganismů bylo dokazováno, zda dochází k jejich zvýšení nebo snížení v průběhu skladování se zvolenou pravděpodobností 95 % ($P < 0,05$).

Celkový počet mikroorganismů (CPM)

Pomocí statistických metod bylo prokázáno, že u vzorků kečupů plněných do skleněných obalů (ASK, BSK), docházelo ke zvýšení počtu CPM v závislosti na čase ($P < 0,05$). Nejvyšších počtů mikroorganismů bylo dosaženo mezi 42. a 70. dnem skladování (**viz. tab. 1 – 4**). Jako nejvíce kontaminovaný vzorek se jevil ASK, který 70. den od otevření vykazoval počty $4,68 \cdot 10^2$ KTJ/ml. Růst mikroorganismů byl pravděpodobně způsoben porušením hermetičnosti výrobku.

U vzorků kečupů v plastových obalech (AP, BP) naopak docházelo ke snížení počtu mikroorganismů v závislosti na čase ($P < 0,05$). V průběhu skladování nejprve docházelo k nárůstu CPM, ale od 42. dne skladování se jejich počet začal výrazně snižovat. Pravděpodobně to bylo díky přítomnosti konzervační

látky - sorbanu draselnému, který nahradil porušenou bariéru hermetičnosti v tzv. bariérovém efektu konzervace.

Aerobní sporulující bakterie (Aeroby)

Nízké pH výrobku pravděpodobně velice dobře snáší i aerobní sporulující bakterie, jejichž počet byl ze stanovovaných skupin mikroorganismů na konci skladování nejvyšší (viz **tab. 1 - 4**).

Statistickými metodami jsme prokázali, že u všech analyzovaných vzorků docházelo ke zvýšení počtu aerobních sporulujících mikroorganismů v závislosti na čase ($P < 0,05$). Největší nárůst byl opět zaznamenán u vzorku ASK, který dosahoval hodnot $5,06 \cdot 10^3$ KTJ/ml. Podle BEDNÁŘE et al. (1996) aerobní sporulující mikroorganismy tvoří za nepříznivých podmínek tzv. endospory, které odolávají tepelnému ošetření kečupů při výrobě i přítomnosti konzervačních látek, které jsou proti nim neúčinné. Počty aerobních sporulujících bakterií nejsou legislativně omezené, ale jejich výskyt by mohl způsobit pozdější vady výrobků v průběhu skladování, jako např.: plynuprosté kysnutí nebo kysnutí sterilovaných výrobků z rajčat.

Všechny vzorky zkoumaných kečupů vykazovaly 0. den po otevření nulové hodnoty KTJ/ml. V průběhu skladování došlo pravděpodobně k vyklíčení přítomných spor a nárůst Aerobů se zvýšil na desítky až stovky KTJ/ml.

Plísně

Z **tab. 1 - 4** je zřejmé, že rajčatový kečup nebyl úplně prostý plísní, byť se jejich množství pohybovalo řádově v jednotkách KTJ/ml. Statistickými metodami bylo prokázáno, že u obou vzorků kečupu ve skleněných obalech (ASK, BSK) dochází ke zvýšení počtu plísní v závislosti na čase ($P < 0,05$). Největší nárůst byl zaznamenán u vzorku ASK od 56. do 70. dne skladování, kdy hodnoty narůstaly od 2,27 k 2,72 KTJ/ml. Jejich růst byl pravděpodobně způsoben již jednou zmiňovaným porušením hermetičnosti obalu v tzv. bariérovém efektu konzervace.

U vzorků kečupů v plastových obalech (AP, BP) naopak docházelo ke snížení počtu mikroorganismů v závislosti na čase ($P < 0,05$). V průběhu skladování nejprve došlo u obou vzorků k prudkému nárůstu plísní mezi 14 a 28. dnem, ale od 28. dne se jejich počet začal výrazně snižovat až dosáhl nulového počtu. Za jejich inaktivaci mohla s největší pravděpodobností opět přítomnost sorbanu draselného. Počty plísní nejsou legislativně omezené, ale jejich výskyt by mohl opět způsobit pozdější vady výrobků v průběhu skladování. V kečupu by se také mohli vyskytnout mykotoxiny pocházející od přítomných plísní, které nebyly při tepelném ošetření zničeny.

Prokázání rozdílu mezi stejnými výrobky skladovanými za různých podmínek (pokojová teplota, lednice)

Výsledky testu jednoznačně potvrdily, že existuje statisticky průkazný rozdíl v počtu mikroorganismů u stejných vzorků kečupů skladovaných za různých podmínek. Můžeme tedy říci, že teplota v lednici by mohla být další bariérou proti zvyšujícímu se počtu mikroorganismů v otevřeném kečupu během skladování. Nė nadarmo se tedy na etiketách kečupů uvádí: „Skladujte při teplotách do 25 °C, po otevření uchovejte v chladu do 10 °C“.

ZÁVĚR

Z výsledků mikrobiologických analýz a statistických testů lze odvodit následující závěry:

- V žádném ze zkoumaných vzorků nebyly detekovány koliformní bakterie, BMK, anaerobní sporulující bakterie a kvasinky.
- V den otevření byly počty mikroorganismů téměř u všech vzorků kečupů nulové, nebo se pohybovaly řádově v jednotkách KTJ/ml.
- U vzorků kečupů ve skleněných obalech (ASk, BSk) došlo během skladování ke zvýšení CPM, Aerobů a plísni. Nejvyšší počty byly zaznamenány u Aerobů ve vzorku skladovaném při pokojové teplotě, kdy se hodnota pohybovala okolo $5,06 \cdot 10^2$ KTJ/ml.
- U vzorků kečupů v plastových obalech (AP,BP) došlo ke zvýšení počtu pouze Aerobů a to na hodnotu $2,56 \cdot 10^2$ KTJ/ml u vzorku skladovaném při pokojové teplotě. Naopak CPM a plísně se v průběhu skladování snížily k nulovým hodnotám. Ze zjištěných výsledků lze kladněji hodnotit kečup v plastovém obalu, který obsahoval výrazně nižší počty mikroorganismů v průběhu skladování než kečup ve skleněném obalu. Tento rozdíl byl s největší pravděpodobností způsoben použitím chemické konzervace pomocí soli kyseliny sorbové a to sorbanu draselného.
- Skladované vzorky kečupů v lednici vykazovaly téměř ve všech případech nižší počty mikroorganismů, než stejné vzorky skladované při pokojové teplotě. Můžeme proto říci, že chladírenské teploty mají nepříznivý vliv na růst mikroorganismů, a proto by měly dodržovat skladovací podmínky uvedené na obale. Pokud budeme chtít skladovat otevřený kečup ve skleněném obalu, tak bychom měli důkladně dodržovat skladovací teploty pod $10\text{ }^\circ\text{C}$ a co nejrychleji ho spotřebovat.

LITERATURA

BEDNÁŘ, Marek, et al. Lékařská mikrobiologie. 1. vyd. Praha : Marvil, 1996. 558 s. ISBN 80-210-1188-2.

BJORKROTH J, et al. www.tiedekirjasto.helsinki.fi : Lactobacillus fructivorans Spoilage of Tomato Ketchup [online]. University of Helsinki : 2006 [cit. 2009 04 - 07]. Dostupný z WWW: <http://www.tiedekirjasto.helsinki.fi:8080/bitstream/1975/554/3/tomato_ketchup_ocr.pdf>.

DOBIÁŠ J., Technologie zpracování ovoce a zeleniny II : Syllabus textů k přednáškám [online]. Praha : 2004 [cit. 2007-01-05]. Dostupný z WWW: <http://www.vscht.cz/ktk/www_324/studium/OZ/zelenina_2.pdf>.

GÖRNER F., VALÍK L.,. Aplikovaná mikrobiologie požívatín. Božej Havelka. 1. vyd. Bratislava : Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.