

PORÓWNANIE JAKOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ HERBAT CZARNYCH, ZIELONYCH I CZERWONYCH DOSTĘPNYCH NA RYNKU WARSZAWSKIM

Elżbieta Hać-Szymańczuk[✉], Monika Fiziar, Aneta Cegiełka,
Kamil Piwowarek, Sylwia Misiura
SGGW w Warszawie, Wydział Nauk o Żywności

Streszczenie. Celem pracy było określenie jakości mikrobiologicznej wybranych herbat czarnych, zielonych oraz czerwonych dostępnych na rynku stołecznym oraz identyfikacja pleśni wyizolowanych z tych herbat. Część doświadczalna pracy obejmowała przygotowanie zawiesiny herbat, pomiar pH oraz przygotowanie odpowiednich rozcieńczeń do analiz mikrobiologicznych. Badania mikrobiologiczne obejmowały oznaczenie ogólnej liczby drobnoustrojów tlenowych mezofilnych, bakterii z rodziny Enterobacteriaceae oraz grzybów (drożdży i pleśni). W przypadku wyizolowanych pleśni podjęto próbę ich identyfikacji na podstawie dostępnej literatury. Stwierdzono, że wszystkie badane próby herbat były zanieczyszczone drobnoustrojami, jednakże rodzaj mikroflory był zróżnicowany w przypadku każdego rodzaju herbaty. Największym zanieczyszczeniem drobnoustrojami tlenowymi mezofilnymi oraz pleśniami charakteryzowały się herbaty czerwone, w których jednocześnie stwierdzono najmniejszą liczbę bakterii z rodziny Enterobacteriaceae. Największą liczbę drożdży oznaczono zaś w herbatach zielonych. Najczęściej występującym rodzajem pleśni w większości prób herbat był *Aspergillus*.

Słowa kluczowe: herbata czarna, herbata zielona, herbata czerwona, mikroflora herbaty, pleśnie

WSTĘP

W ujęciu rynkowym produkt zwany herbatą to przygotowane w specjalny sposób młode liście i nierozwinięte pąki listków krzewu herbacianego z rodziny *Camellia* (Thea), występującego w dwóch odmianach botanicznych: assamska (*Camellia assamica*) oraz chińska (*Camellia sinensis*) [Waszkiewicz-Robak 2010, Młynarczyk i in. 2015]. W za-

[✉]elzbieta_hac_szymanczuk@sggw.pl

leżności od rodzaju i gatunku wyróżnia się: herbatę czarną (chińska, cejlońska, indyjska i mieszanki aromatyzowane), herbatę zieloną (Gunpowder, Chun mee, Sencha, Bancha i mieszanki aromatyzowane), herbatę czerwoną (Oolong, Pu-Erh), herbatę białą (Hu-Lan, Pai Mu Tan), herbatę żółtą oraz inne gatunki, np. Yerba Mate i Rooibos [Czerwińska 2009, Młynarczyk i in. 2015].

Proces wytwarzania herbat czarnych, zwanych fermentowanymi, obejmuje wiele etapów. Pierwszym z nich jest zbiór liści poddawanych procesowi wędnięcia, podczas którego tracą około 30–40% początkowej zawartości wody i stają się podatne na zwijanie. Po tzw. skręcaniu liści herbaty zachodzi proces utleniania, zwany fermentacją herbaty. W tym czasie liście herbaty ciemnieją i uwalniane zostają substancje chemiczne decydujące o końcowym kolorze naparu z herbaty. Następnie herbata liściasta jest poddawana procesowi rolowania, a herbaty granulowane i ekspresowe – procesowi zgniatania, rwania i zwijania [Czerwińska 2009, Waszkiewicz-Robak 2010].

Herbata zielona otrzymywana jest z górnych listków krzewu, które zostają poddane łagodnemu działaniu pary wodnej. Wysoka temperatura dezaktywuje zawarte w liściach enzymy odpowiedzialne za procesy utleniania. Listki są następnie zwijane i suszone. Ten rodzaj herbaty jest najbardziej rozpowszechniony w Chinach i Japonii [Kania i Baraniuk 2011, Miazga-Sławińska i Grzegorzczak 2014]. Herbata Pu-Erh w Chinach zaliczana jest do herbat czarnych, zaś w Europie przyjęło się określać ją mianem czerwonej. Charakteryzuje się dużymi liśćmi, które leżakują w specjalnych koszach i poddawane są długotrwałemu procesowi fermentacji nieenzymatycznej w ciepłych i wilgotnych warunkach [Tomczyk 2009, Młynarczyk i in. 2015].

Steinka i inni [2011a] zauważyli, że grupą najdokładniej przebadaną pod kątem zanieczyszczeń drobnoustrojami wśród suszy są przyprawy. Znacznie mniejsza liczba pozycji literaturowych dotyczy jakości mikrobiologicznej używek. Chociaż herbaty należą do grupy produktów, które charakteryzują się niską zawartością wody, to występuje w nich zróżnicowana zarówno liczebnie, jak i rodzajowo mikroflora. W herbacie najczęściej identyfikowane są pleśnie (grzyby strzępkowe), które mogą być niebezpieczną mikroflorą z uwagi na ich zdolność do wytwarzania mikotoksyn [Halweg i Podsiadło 1991, Mahera i Baker 2007]. Najliczniejszą grupą bakterii występujących w przyprawach oraz suszach takich jak herbata są bakterie z rodzaju *Bacillus* [Podgórska i Solarska 2017].

Celem pracy było określenie jakości mikrobiologicznej wybranych herbat czarnych, zielonych i czerwonych dostępnych na rynku warszawskim oraz identyfikacja rodzaju pleśni z nich wyizolowanych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły dostępne na rynku warszawskim herbaty liściaste: czarne ($n = 6$), zielone ($n = 5$) oraz czerwone ($n = 4$) – tabela 1. Badane herbaty były zróżnicowane pod względem składu (niektóre zawierały dodatek suszonych owoców lub kwiatów) oraz pochodzenia geograficznego (cejlońskie, chińskie czy też indyjskie). Część z nich była zakupiona w oryginalnych opakowaniach handlowych. Były również herbaty, które zakupiono w sprzedaży bezpośredniej, w wyspecjalizowanych sklepach z herbatą i kawą (sprzedaż „na wagę”).

Tabela 1. Sortymenty badanych herbat czarnych, zielonych i czerwonych

Table 1. Sortiments of tested black, green and red teas

Numer próby Sample number	Typ herbaty Type of tea	Kraj pochodzenia Country of origin	Forma handlowa herbaty Commercial form of tea	Rodzaj opakowania Type of packaging
1	czarna black	Indie India	liściasta leaf tea	pudełko tekturowe, 100 g carton, 100 g
2	czarna black	Cejlon Ceylon	liściasta z kawałkami owoców: papaja, mango, melona leaf tea with pieces of fruit: papaya, mango, melon	metalowa puszka, 110 g metal can, 110 g
3	czarna black	Chiny China	liściasta leaf tea	pudełko tekturowe, 100 g carton, 100 g
4	czarna black	Indie India	liściasta leaf tea	pudełko tekturowe, 100 g carton, 100 g
5	czarna black	Kenia Kenya	liściasta leaf tea	torebka foliowa, 100 g foil bag, 100 g
6	czarna black	Sri Lanka Sri Lanka	liściasta łamana broken leaf tea	pudełko tekturowe, 100 g carton, 100 g
7	zielona green	Chiny China	liściasta z malinami leaf tea with raspberries	pudełko tekturowe, 100 g carton, 100 g
8	zielona green	Chiny China	liściasta leaf tea	metalowa puszka, 100 g metal can, 100 g
9	zielona green	Chiny China	liściasta z granatem leaf tea with grenade	pudełko tekturowe, 100 g carton, 100 g
10	zielona green	Japonia Japan	liściasta leaf tea	sprzedaż bezpośrednia na wagę direct sales by weight
11	zielona green	Zjednoczone Emiraty Arabskie United Arab Emirates	liściasta z kwiatami jaśminu leaf tea with jasmine flowers	pudełko tekturowe, 100 g carton, 100 g
12	czerwona red	Chiny China	Pu-Erh liściasta Pu-Erh leaf tea	pudełko tekturowe, 100 g carton, 100 g
13	czerwona red	Chiny China	Pu-Erh liściasta 6-letnia Pu-Erh leaf tea 6-years-old	sprzedaż bezpośrednia direct sales by weight
14	czerwona red	RPA South Africa	Rooibos liściasta Rooibos leaf tea	pudełko tekturowe, 100 g carton, 100 g
15	czerwona red	RPA South Africa	Rooibos liściasta EKO Rooibos leaf tea EKO	sprzedaż bezpośrednia direct sales by weight

Wszystkie herbaty znajdowały się w nieuszkodzonych opakowaniach, które otwierano bezpośrednio przed rozpoczęciem analiz. Jakość organoleptyczna (wygląd, zapach i barwa) nie budziła zastrzeżeń. Sposób przygotowania zawiesiny dla każdego sortymentu herbaty był taki sam [PN-EN ISO 6887-4:2005/A1:2011E]. Każdorazowo odważano po 20 g herbaty i umieszczano w sterylnym worku do urządzenia Stomacher®400 Circulator (Steward, UK), a następnie zalewano 180 cm³ jałowej wody destylowanej o temperaturze pokojowej i pozostawiano na około 10–15 minut do powstania zawiesiny. W tak sporządzonej zawieszynie mierzono wartość pH, używając w tym celu

elektrody szklano-kalomelowej oraz czujnika kompensacji temperatury CP411 (Elmetron, Polska). Następnie, korzystając z zawiesiny wyjściowej, sporządzano rozcieńczenia dziesiętne, niezbędne do oznaczeń jakości mikrobiologicznej herbat. Wykonano następujące oznaczenia: ogólnej liczby tlenowych drobnoustrojów mezofilnych [PN-EN ISO 4833-1:2013-12E], liczby bakterii z rodziny Enterobacteriaceae [PN-ISO 21528-2:2005P], liczby drożdży i pleśni [PN-ISO 21527-2:2009P] oraz obecności pałeczek *Salmonella* spp. [PN-EN ISO 6579:2002]. Na podstawie obserwacji wzrostu pleśni oraz obecności charakterystycznych elementów morfologicznych (m.in. wygląd grzybni, obecność zarodni i zarodników) w obserwacjach mikroskopowych, podjęto próbę ich identyfikacji [Fassatiowa 1983].

Dla każdego sortymentu (próby) herbaty posiewy przeprowadzono w czterech powtórzeniach. Jedno powtórzenie stanowił posiew wykonany z jednej naważki, pobieranej z danego opakowania herbaty. Wyniki oznaczeń mikrobiologicznych, po obliczeniu średniej arytmetycznej z czterech powtórzeń, wyrażano jako jednostki tworzące kolonie w 1 g produktu [jtk·g⁻¹]. W tabeli 2 przedstawiono je w postaci logarytmicznej [log jtk·g⁻¹].

Tabela 2. Ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych mezofilnych, z rodziny Enterobacteriaceae oraz drożdży i pleśni oznaczona w wybranych herbatach czarnych, zielonych i czerwonych

Table 2. Total number of mesophilic aerobic microorganisms, from the Enterobacteriaceae family, yeast and moulds determined in selected black, green and red teas

Numer próby Sample number	Ogólna liczba bakterii Total count of bacteria [log jtk·g ⁻¹]	Bakterie z rodziny Enterobacteriaceae* Bacteria from Enterobacteriaceae family [log jtk·g ⁻¹]	Drożdże Yeast [log jtk·g ⁻¹]	Pleśnie Moulds [log jtk·g ⁻¹]
1	2,7 ± 0,123	2,5 ± 0,352	< 10	2,3 ± 0,049
2	2,5 ± 0,065	< 10	< 10	1,6 ± 0,055
3	4,0 ± 0,110	2,9 ± 0,042	2,7 ± 0,036	2,5 ± 0,174
4	2,1 ± 0,174	2,2 ± 0,125	< 10	2,0 ± 0,090
5	1,9 ± 0,342	1,3 ± 0,088	< 10	1,0 ± 0,046
6	1,6 ± 0,250	2,4 ± 0,094	< 10	3,2 ± 0,230
7	4,2 ± 0,360	2,7 ± 0,174	1,9 ± 0,088	2,3 ± 0,125
8	3,4 ± 0,421	1,4 ± 0,136	1,9 ± 0,360	1,7 ± 0,352
9	2,4 ± 0,466	1,9 ± 0,360	1,3 ± 0,125	2,0 ± 0,088
10	2,4 ± 0,315	1,9 ± 0,049	1,4 ± 0,352	2,9 ± 0,042
11	1,7 ± 0,119	1,0 ± 0,084	2,0 ± 0,174	1,4 ± 0,136
12	4,0 ± 0,088	1,3 ± 0,160	< 10	2,9 ± 0,360
13	3,0 ± 0,036	1,3 ± 0,095	1,6 ± 0,095	2,7 ± 0,364
14	3,6 ± 0,025	1,6 ± 0,065	1,0 ± 0,083	2,8 ± 0,097
15	3,4 ± 0,043	1,1 ± 0,127	1,1 ± 0,079	2,9 ± 0,261

Oznaczenie prób herbat jak w tabeli 1; w tabeli przedstawiono wartości średnie wraz z odchyleniami standardowymi (n = 4); *w żadnej z prób herbat nie stwierdzono obecności bakterii *Salmonella* spp. w 25 g.

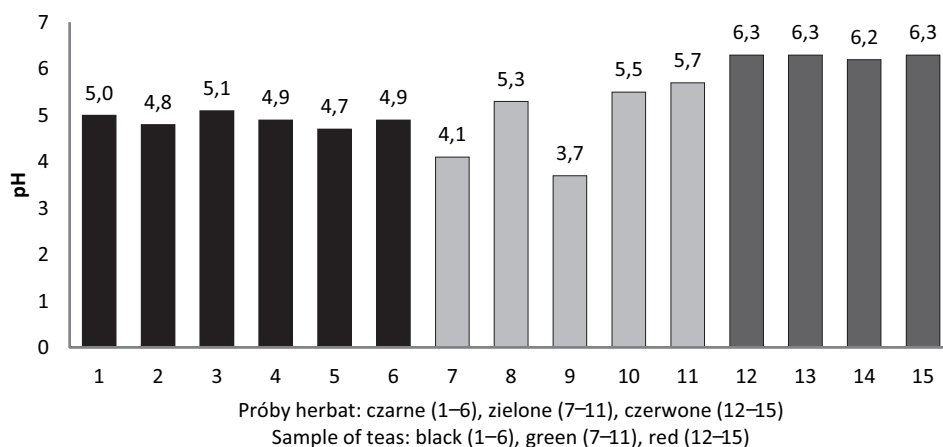
Determination of tea samples as in Table 1, the table shows the mean values with standard deviations (n = 4), *in any of the samples of teas, there was no presence of bacteria *Salmonella* spp. in 25 g

Analizę statystyczną wyników ogólnej liczby drobnoustrojów tlenowych mezofilnych, z rodziny Enterobacteriaceae oraz pleśni i drożdży przeprowadzono z wykorzystaniem pakietu Microsoft Excel 2010, obliczając wartość średnią oraz odchylenie standardowe.

WYNIKI I Dyskusja

Wartości pH mierzonego w naparach wybranych herbat mieściły się w przedziale od 3,7 do 6,3 (rys.). Niezależnie od rodzaju herbaty, najwyższą wartością pH charakteryzowały się herbaty czerwone (próby 12–15). Wartości pH mierzonego w herbatach czarnych (próby 1–6) oscylowały wokół wartości 4,9. Największym zróżnicowaniem charakteryzowały się herbaty zielone (7–11). Wśród nich najniższą średnią wartością pH (3,7) cechowała się herbata z dodatkiem owocu granatu, najwyższą zaś (5,7) – herbata z kwiatami jaśminu. Na podstawie uzyskanych wyników pomiaru pH można wysnuć przypuszczenie, że badane herbaty stanowią nieco odmienne środowisko dla rozwoju mikroflory. Każdy drobnoustroj jest bowiem zdolny do spełniania swoich funkcji życiowych tylko w określonym zakresie wartości pH środowiska. Część drobnoustrojów wykazuje dużą wrażliwość na zmiany stężenia jonów wodorowych i rozwija się w dość wąskim zakresie pH, z kolei np. pleśnie są stosunkowo mało wrażliwe i w przypadku większości obserwowany jest ich wzrost przy wartościach pH od 2,0 do 9,0. W przypadku bakterii wartości pH optymalne dla wzrostu mieszczą się w pobliżu odczynu obojętnego [Kowal 2007].

W herbatach oznaczono liczbę drobnoustrojów tlenowych mezofilnych, która zawierała się w przedziale od $3,6 \cdot 10^1$ do $1,7 \cdot 10^4$ jtk·g⁻¹. Niezależnie od rodzaju herbaty najwięcej drobnoustrojów tlenowych mezofilnych znajdowało się w herbacie zielonej z owocem maliny (7) – (tabela 2). Najniższą zawartość tych drobnoustrojów stwierdzono w herbacie czarnej ze Sri Lanki (6). W przypadku herbat zielonych najniższą liczbę drobnoustrojów tlenowych mezofilnych ($5,4 \cdot 10^1$ jtk·g⁻¹) oznaczono w próbie z kwiatami jaśminu (11). Z czterech badanych herbat czerwonych najwyższe zanieczyszczenie tą mikroflorą ($9,1 \cdot 10^2$ jtk·g⁻¹) zaobserwowano w próbie herbaty Pu-Erh liściastej (12).



Rys. Wartości pH mierzonego w zawiesinach herbat czarnych, zielonych i czerwonych

Fig. The pH value measured in suspensions of black, green and red teas

Oznaczenie prób herbat jak w Tabeli 1/Determination of tea samples as in Table 1.

Omogbai i Ikenebomeh [2013] podają, że zanieczyszczenie herbat zielonych bakteriami wynosi od $1,1 \cdot 10^1$ do $2,6 \cdot 10^2$ jtk \cdot g $^{-1}$, a bakterie *Bacillus subtilis* są najczęściej występującymi w nich drobnoustrojami. Zjawisko to jest najprawdopodobniej spowodowane obecnością przetrwalników w produkcie, które nie są niszczone w następującym później procesie obróbki technologicznej herbaty. Nosicielem bakterii *Staphylococcus aureus* lub *Staphylococcus epidermidis* może być człowiek, w związku z czym istnieje duże prawdopodobieństwo przeniesienia ich do suszu herbacianego podczas czynności wykonywanych z jego udziałem w trakcie procesu wytwarzania (np. suszenie i zwijanie liści, pakowanie suszu). Wilson i inni [2004] podają, że herbaty zielone mogą być zanieczyszczone niefermentującymi bakteriami Gram-ujemnymi, które należą do gatunków *Acinetobacter baumannii* oraz *Pseudomonas aeruginosa*. Zanieczyszczenie to kształtowało się w przedziale od $3,8 \cdot 10^3$ do $1,6 \cdot 10^6$ jtk \cdot g $^{-1}$. Według Czerwińskiej i Piotrowskiego [2006], zanieczyszczenie herbat mikroflorą tlenową mezofilną jest niewielkie, jednak nie można założyć, iż nie będzie ona obecna w gotowym produkcie. Drobnoustroje te przedostają się bowiem do herbaty głównie z powierzchni liści, a ich liczba uwarunkowana jest m.in. warunkami, jakie występowały w danym roku zbiorów liści krzewu herbacianego. Jedną z najczęstszych przyczyn zanieczyszczenia herbat drobnoustrojami tlenowymi mezofilnymi jest proces rozdrabniania, skręcania oraz suszenia liści na świeżym powietrzu. W takich warunkach do herbaty mogą przedostać się zanieczyszczenia wraz z cząstkami kurzu, ziemi oraz odchodami zwierząt [Muchena i Kiome 1995, Janda i Ulfig 2005, Podgórska i Solarska 2017].

W badanych herbatach liczba drobnoustrojów z rodziny Enterobacteriaceae mieściła się w przedziale od $9,1 \cdot 10^0$ do $7,8 \cdot 10^2$ jtk \cdot g $^{-1}$. Tylko w próbce herbaty czarnej z kawałkami owoców (2) nie stwierdzono obecności tych mikroorganizmów w 0,1 g (tab. 2). Najwyższym poziomem zanieczyszczenia tymi drobnoustrojami charakteryzowała się herbata czarna z Chin (3), najmniej zanieczyszczona była zaś herbata zielona z kwiatami jaśminu (11). W herbatach czerwonych (12–15) liczba bakterii z rodziny Enterobacteriaceae była na zbliżonym poziomie.

Według Steinki i innych [2011b], z ziół i suszy często można izolować pałeczki z rodziny Enterobacteriaceae, w tym bakterie *Enterobacter sakazakii*. Kwiatek i Kukier [2008] podają, że niektóre gatunki roślin są naturalnym siedliskiem bakterii z rodziny Enterobacteriaceae. Stąd też zanieczyszczenie pasz i surowców pochodzenia roślinnego tymi bakteriami kształtuje się na poziomie około 10^2 jtk \cdot g $^{-1}$. Autorzy ci podkreślają również, że obecność drobnoustrojów z rodziny Enterobacteriaceae jest często używana jako wskaźnik poziomu higieny. Liczba bakterii z rodziny Enterobacteriaceae w badanych herbatach czarnych, zielonych i czerwonych była nieznacznie wyższa niż określona przez Kwiatek i Kukier [2008]. Wilson i inni [2004] oraz Kępa i inni [2008] zauważają, że w surowcach zielarskich i mieszankach najczęściej występują bakterie z grupy coli i *Enterobacter*. Tylko w jednym z badanych przez Kępę i innych [2008] produktów nie zidentyfikowano tych pałeczek, natomiast ok. 53% badanych surowców roślinnych zawierało od 10 do 100 mikroorganizmów w 1 g.

Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono większe zanieczyszczenie herbat pleśniami niż drożdżami (tab. 2). Najwyższym zanieczyszczeniem pleśniami ($1,5 \cdot 10^3$ jtk \cdot g $^{-1}$) charakteryzowała się herbata czarna ze Sri Lanki (6). Najmniej zanieczyszczona pleśniami ($9,1 \cdot 10^0$ jtk \cdot g $^{-1}$) była herbata czarna z Kenii (5). Liczba drożdży

w większości badanych herbat czarnych (1, 2, 4, 5 i 6) była niższa niż $10 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$. Jedyne w próbie herbaty czarnej liściastej z Chin (3) liczba drożdży wynosiła $4,5\cdot 10^2 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$. Wśród badanych herbat zielonych zanieczyszczenie grzybami strzępkowymi kształtowało się na poziomie od $2,7\cdot 10^1 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ (próba 11) do $7,4\cdot 10^2 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ (próba 10), natomiast liczba drożdży wynosiła od $1,8\cdot 10^1$ (próba 9) do $1,0\cdot 10^2 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ (próba 11). W badanych próbach herbat czerwonych (12–15) ilość pleśni zawierała się w przedziale od $5,5\cdot 10^2$ do $7,6\cdot 10^2 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$, natomiast herbata Pu-Erh liściasta (12) była wolna od drożdży (nieobecne w 0,1 g).

W wyniku badań zanieczyszczenia mikrobiologicznego wybranych herbat wyizolowano kilka rodzajów pleśni. W większości herbat czarnych, zielonych oraz czerwonych występowały pleśnie z rodzaju *Aspergillus*. Kolejny rodzaj pleśni wyizolowany z herbat wykazywał cechy charakterystyczne dla pleśni *Penicillium*. Innym rodzajem pleśni obecnym w analizowanych herbatach był rodzaj *Cladosporium*. W herbatach czerwonych zidentyfikowano również pleśnie z rodzaju *Rhizopus*. Występują one powszechnie na owocach i warzywach, a także na powierzchni chleba, powodując zgniliznę przechowalniczą [Fassatiova 1983]. Wielu autorów podaje, że najczęściej występującymi w herbatach pleśniami są *Aspergillus niger*, *Uclodium chartarum* oraz *Pantoea* sp. [Czerwińska i Piotrowski 2006, Steinka i in. 2011a, Steinka i in. 2011b]. Dwa ostatnie gatunki pleśni pochodzą głównie z powietrza, które najprawdopodobniej miało kontakt z liśćmi krzewu herbacianego jeszcze podczas uprawy. Ci sami autorzy twierdzą, że zanieczyszczenie herbat grzybami strzępkowymi nie powinno być wyższe niż $10^4 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ [Czerwińska i Piotrowski 2006, Steinka i in. 2011a, Steinka i in. 2011b]. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy świadczą o mniejszym niż przytoczony wyżej stopniu zanieczyszczenia herbat pleśniami. Podobnego zdania są Tournas i Katsoudas [2008], według których zanieczyszczenie herbat pleśniami jest raczej niższe niż $1,0\cdot 10^4 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$. Autorzy ci w swoich badaniach herbat wyizolowali takie pleśnie, jak: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Alternaria alternata*, *Eurotium rubrum* oraz *Rhizopus* spp. Podobnie jak w niniejszej pracy, pleśniami występującymi w 50% badanych próbek herbat były pleśnie *A. niger*. Tournas i Katsoudas [2008] wyjaśniają również, że obecność tych grzybów strzępkowych w herbacie może wynikać z zanieczyszczeń obszarów produkcyjnych i podczas pakowania. Należy jednak pamiętać, że drobnoustroje te podczas zmiany wilgotności produktu mogą zacząć wytwarzać toksyny i stanowić zagrożenie dla organizmu człowieka.

Omogbai i Ikenebomeh [2013] szacują zanieczyszczenie herbat ziołowych pleśniami na poziomie od $1,1\cdot 10^2$ do $4,5\cdot 10^5 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$. Z materiału badanego przez autorów zostały wyizolowane grzyby: *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Fusarium solanii* oraz *Aspergillus niger*. Te ostatnie pleśnie występowały we wszystkich badanych próbach herbat. Częstotliwość występowania *Fusarium solanii* była stosunkowo niska, pleśnie te stanowiły bowiem 20% wszystkich pleśni zidentyfikowanych w badanych próbach. Niewłaściwe przechowywanie herbat po zakupie może doprowadzić do rozwoju zarodników tych pleśni, występujących często jako patogen w papai. Wyżej wymienieni autorzy podkreślają bardzo istotną rolę dobrej praktyki produkcyjnej oraz wysokich standardów utrzymania higieny podczas produkcji herbaty w celu maksymalnego ograniczenia możliwości występowania mikroflory patogennej.

Pandey i inni [2001] przeprowadzili badania dotyczące obecności grzybów dominujących w ryzosferze, czyli strefie gleby mającej kontakt z korzeniami roślin, które mogą być przyczyną zanieczyszczenia krzewu herbacianego. Gatunki pleśni *Penicillium*

i *Trichoderma* zostały uznane za dominujące, zarówno w liściach krzewu herbacianego, jak i korzeniach. Pleśnie takie jak: *Penicillium erythromellis*, *P. janthinellum*, *P. raistrickii*, *Trichoderma pseudokoningii* i *T. koningii* zostały ściśle powiązane z korzeniami krzewu herbacianego.

WNIOSKI

1. Najniższym pH charakteryzowały się zawiesiny herbat czarnych, a najwyższym – herbat czerwonych. Najbardziej zróżnicowane wartości pH stwierdzono w herbatach zielonych z dodatkiem owoców (granat, malina).
2. Wszystkie badane próby herbat były zanieczyszczone drobnoustrojami, jednakże rodzaj mikroflory zależał od rodzaju herbaty. Największym zanieczyszczeniem drobnoustrojami tlenowymi mezofilnymi oraz pleśniami charakteryzowały się herbaty czerwone, w których jednocześnie stwierdzono najmniejszą liczbę bakterii z rodziny Enterobacteriaceae. Największą liczbę drożdży oznaczono zaś w herbatach zielonych. Kluczowym czynnikiem wpływającym na jakość mikrobiologiczną suszy herbat jest relatywnie długotrwały proces ich wytwarzania, zachodzący w podwyższonej temperaturze i warunkach tlenowych.
3. W próbach herbat czarnych, zielonych i czerwonych zidentyfikowano pleśnie z rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* i *Rhizopus*. W świetle uzyskanych wyników w badanych herbatach dominowały pleśnie z rodzaju *Aspergillus*. Ich obecność jest najprawdopodobniej wynikiem kontaktu liści krzewu herbacianego z bioaerozolami wodno-powietrznymi.

LITERATURA

- Czerwińska D., 2009. Czas na herbatę. Prz. Gastr. 63(3), 8–9.
- Czerwińska E., Piotrowski W., 2006. Microbiological purity of tea and its antimicrobial activity. Rocznik Ochrona Środowiska 8, 45–55.
- Fassatiowa O., 1983. Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej. Wyd. Naukowo-Techniczne, Warszawa, 60–205.
- Halweg H., Podsiadło B., 1991. Mikroflora herbaty. Acta Mycol. XXVII (1), 115–120.
- Janda K., Ulfig K., 2005. Czystość mikologiczna suszonych roślin leczniczych. Panacea 12(3), 30–31.
- Kania M., Baraniuk J., 2011. Wybrane właściwości biologiczne i farmakologiczne zielonej herbaty (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). Post. Fitoter. 1, 34–40.
- Kępa M., Wojtyczka RD., Idzik D., Pacha J., Miedzińska M., Jasik K., 2008. Ocena czystości mikrobiologicznej surowców roślinnych wykorzystywanych do przygotowywania mieszanek ziołowych. Farm. Przegł. Nauk. (6), 57–61.
- Kowal K., 2007. Wpływ czynników fizycznych i chemicznych na wzrost mikroorganizmów. W: Mikrobiologia techniczna tom1. Mikroorganizmy i środowiska ich występowania. Praca zbiorowa pod red. Z. Libudzisz, K. Kowal i Z. Żakowskiej. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa, 149–162.

- Kwiatek K., Kukier E., 2008. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne pasz. *Med. Weter.* 64(1), 24–26.
- Mahera A., Baker C.L., 2007. Leaching and bioavailability of aluminium, copper and manganese from tea (*Camellia sinensis*). *Food Chem.* 100, 1456–1463.
- Miazga-Sławińska M., Grzegorzczak A., 2014. Herbaty – rodzaje, właściwości, jakość i zafalszowania. *Kosmos. Prob. Nauk Biol.* 63(3), 473–479.
- Młynarczyk K., Walkowiak-Tomczak D., Szymusiak H., 2015. Właściwości przeciwutleniające wybranych herbat jaśminowych. *ZPPNR* 581, 41–49.
- Muchena F.N., Kiome R.M., 1995. The role of soil in agricultural development in East Africa. *Geoderma* 67, 141–157.
- Omogbai B. A., Ikenebomeh M., 2013. Microbiological characteristics and phytochemical screening of some herbal teas in Nigeria. *Eur. Sci. J.* (18), 149–160.
- Pandey A., Lok Man S. Palni, Deepa B., 2001. Dominant fungi in the rhizosphere of established tea bushes and their interaction with the dominant bacteria under in situ conditions. *Microbiol. Res.* 156(4), 377–382.
- PN-EN ISO 4833-1:2013-12E. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Część 1: Oznaczanie liczby metodą posiewu zalewowego w temperaturze 30 stopni C.
- PN-EN ISO 6579:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp.
- PN-EN ISO 6887-4:2005/A1:2011E. Mikrobiologia żywności i pasz – Przygotowanie próbek, zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych. Część 4: Specyficzne zasady przygotowania produktów innych niż mleko i przetwory mleczne, mięso i przetwory mięsne oraz ryby i przetwory rybne.
- PN-ISO 21527-2:2009P. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni. Część 2: Metoda liczenia kolonii w produktach o aktywności wody niższej lub równej 0,95.
- PN-ISO 21528-2:2005P. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby Enterobacteriaceae. Część 2: Metoda płytkowa.
- Podgórska I., Solarska E., 2017. Ocena jakości mikrobiologicznej herbat ziołowych w saszetkach. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 111(2), 120–129.
- Steinka I., Misiewicz Ł., Kukułowicz A., 2011a. Typowanie wskaźnika jakości mikrobiologicznej herbat czarnych. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLIV (3), 694–699.
- Steinka I., Misiewicz Ł., Kukułowicz A., Ćwikliński M., Dmowski P., Sznajdrowska A., 2011b. Próba oceny jakości mikrobiologicznej wybranych suszy roślinnych stosowanych jako używki i preparaty o znaczeniu leczniczym. *Zesz. Nauk. Akademii Morskiej w Gdyni* 68, 13–20.
- Tomczyk R., 2009. *Zapiski o herbacie*. Wydawnictwo Fu Kang, Warszawa, 12–85.
- Tournas V.H., Katsoudas E.J., 2008. Microbiological quality of various medicinal herbal teas and coffee substitutes. *Microbiol. Insight* (1), 47–55.
- Waszkiewicz-Robak B., 2010: *Kawa, Herbata, Kakao*. W: *Towaroznawstwo żywności przetworzonej z elementami technologii*. Praca zbiorowa pod red. F. Świdorskiego. Wyd. SGGW, Warszawa, 524–535.
- Wilson C., Dettenkofer M., Jonas D., Daschner F. D., 2004. Pathogen growth in herbal teas used in clinical settings: A possible source of nosocomial infection? *Am. J. Infect. Control* 32, 117–117.

COMPARISON OF MICROBIOLOGICAL QUALITY OF BLACK, GREEN AND RED TEA AVAILABLE ON THE WARSAW MARKET

Summary. Tea, which is the infusion of the tea bush leaves, is now the most popular stimulant in the world. It is interesting due to tradition, history of origin, health properties and the fact that it is one of the few plants still grown in the home regions. From year to year, there is an increase in the consumption of green and red teas, but still black tea reigns on the tables. Despite it is a product with a very low water content, it is not free from microbial contamination. The most common microorganisms in tea are moulds and yeasts. The occurrence of mildew in teas is a fear of the possibility of producing mycotoxins that are dangerous to human health and life. The aim of the work was to determine the microbiological quality of selected black, green and red teas available on the capital market and to identify moulds isolated from these teas. The microbiological analysis of selected black, green and red teas included the preparation of a tea suspension using physiological saline, measuring the pH of this suspension and preparation of appropriate dilutions. They were used to determine the total number of aerobic mesophilic bacteria, bacteria from Enterobacteriaceae family and fungi (yeast and mould). In the case of moulds, an attempt was made to identify them on the basis of available literature. Based on the obtained results, it was found that the lowest pH was characterized by suspensions of black teas, and the highest – red teas. The most varied pH values were found in green teas with fruit (pomegranate, raspberry). The results of microbiological tests indicate that all tested tea samples were contaminated with microorganisms, however, the type of microflora depended on the type of tea. The greatest contamination with mesophilic aerobic bacteria and moulds was found in red teas, in which the lowest number of bacteria from the Enterobacteriaceae family was found. The contamination of tea with bacteria from the Enterobacteriaceae family most probably resulted from a high proportion of human factor during manual harvesting of leaves and activities performed in the production process. The presence of yeast was found primarily in green teas. The most common moulds in the tea trials were moulds of the genus *Aspergillus*. Their presence is most likely the result of contact of the tea bush leaves with water and air bioaerosols. Summarizing the results, it can be concluded that the key factor affecting the microbiological quality of tea drought is the relatively long-lasting process of their production, occurring at elevated temperatures and aerobic conditions.

Key words: black tea, green tea, red tea, microflora of tea, moulds