

OCENA ZANIECZYSZCZENIA MIKROBIOLOGICZNEGO WYBRANYCH PRZYPRAW

Ewa Waldon, Elżbieta Hać-Szymańczuk
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 159 c, 02-787 Warszawa
ewa.waldon@ibprs.pl

Streszczenie

Przyprawy to bardzo cenione naturalne dodatki do żywności. Wpływają one na kształtowanie walorów smakowo-zapachowych potraw oraz nadają im atrakcyjny wygląd. Są również bogate w minerały, witaminy i antyoksydanty. Wiele przypraw cenionych jest ze względu na swoje właściwości lecznicze i przeciwdrobnoustrojowe. Niestety, mimo wielu zalet, są często zanieczyszczone drobnoustrojami.

W pracy badano poziom mikrobiologicznego zanieczyszczenia sześciu wybranych przypraw oraz podjęto próbę identyfikacji wyizolowanych z nich mikroorganizmów. Spośród badanych przypraw najbardziej zanieczyszczony okazał się czarny pieprz ziarnisty, zaś najliczniejszą mikroflorę stanowiły ziarniaki G(+) oraz pleśnie z rodzaju *Aspergillus*.

Słowa kluczowe: zanieczyszczenie mikrobiologiczne, liść laurowy, czosnek, bazylika, pieprz czarny, rośliny przyprawowe

ASSESSMENT OF MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION OF SELECTED SPICES

Summary

Spices are very valuable natural food additives. They influence the shaping of values flavours of dishes and give them an attractive appearance. They are also rich in minerals, vitamins and antioxidants. Many spices are valued for their medicinal and antimicrobial properties. Unfortunately, despite of many advantages, they are often contaminated with micro-organisms.

The level of contamination of six selected spices was investigated and attempts to identify the isolated microorganisms were made. Among the tested spices black pepper turned out to be the most contaminated, and the predominant microflora were cocci G (+), and moulds of the genus *Aspergillus*.

Key words: microbiological contamination, the bay leaf, garlic, basil, black pepper

WSTĘP

Przyprawy są to substancje spożywcze niewnoszące wartości odżywczej do potraw, ale poprawiające strawność pożywienia. Korzystnie wpływają także na jego smak, zapach oraz wygląd. Są one znane od wieków jako środki lecznicze, afrodyzjaki, składniki potraw, a nawet jako surowce posiadające magiczną moc. Pierwsze wzmianki na temat przypraw pojawiły się 2800 lat p.n.e. w papirusach egipskich i 2200 lat p.n.e. w papirusach sumeryjskich. Początkowo były trudno dostępnymi i cennymi surowcami, zaś z upływem lat oraz rozwojem transportu i komunikacji stały się ogólnodostępne [Hlava, Lánská 1983].

Przyprawy są cenione za swoje właściwości przeciwdrobnoustrojowe, antyoksydacyjne, lecznicze oraz kształtujące określone cechy organoleptyczne potraw. Ich właściwości przeciwdrobnoustrojowe są spowodowane głównie olejkami eterycznymi oraz innymi fitoncydami. W znacznych ilościach związki te występują w: czosnku, zielu angielskim, oregano, tymianku, cynamonie, kurkumie, goździkach i pieprzu [Kybal 1985]. Do antyoksydantów zawartych w przyprawach zalicza się diterpeny fenolowe, kwasy fenolowe i flawonoidy, które najczęściej występują w wyciągach z tymianku, majeranku i rozmarynu [Sekulska 1993].

Surowce przyprawowe są bardzo dobrym środowiskiem do bytowania drobnoustrojów. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne przypraw może zawierać się w przedziale $10^2 \div 10^9$ jtk/g przyprawy. Najliczniejszą mikroflorę stwierdza się w czarnym pieprzu, papryce, kminku, kolendrze i majeranku. Wśród najczęściej występujących w przyprawach drobnoustrojów wymieniane są bakterie przetrwalnikujące z rodzaju *Bacillus* i *Clostridium*, pałeczki z grupy coli, enterokoki oraz paciorkowce kałowe, których obecność świadczy o złym stanie higieny podczas zbioru i przetwarzania przypraw [McKee 1995; Kostrzewa, Owczarczyk 1997; Wieczorkiewicz-Górnik, Piątkiewicz 2000; Sagoo i in. 2008; Borowy, Kubiak 2010].

W przyprawach występują również bakterie chorobotwórcze *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* [Wieczorkiewicz-Górnik i Piątkiewicz, 2008]. Z wielu badań [Abou-Arab i in. 1999; Kneifel i in. 2001; Czwerwiecki, Wilczyńska 2005; Janda, Ulfig 2005; Ahene i in. 2011] wynika, że główną mikroflorę pleśniową przypraw stanowią grzyby strzępkowe z rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium*, niekiedy *Fusarium*, *Alternaria* oraz *Cladosporium*. Pleśnie te mogą powodować zagrożenia związane z występowaniem mikotoksyn, chociaż z powyższych badań (tych samych autorów) wynika, że często ze względu na obecność substancji antybiotycznych, pleśnie toksynotwórcze nie produkują mikotoksyn w przyprawach. Mikotoksyny, czyli metabolity pleśni, powodują najczęściej zmiany mutagenne, teratogenne, kancerogenne, cytotoksyczne, neurotoksyczne

i hepatotoksyczne oraz obniżają krzepliwość krwi, powodują nieprawidłowe działanie przewodu pokarmowego, obniżenie naturalnej odporności organizmu i złe samopoczucie [Burbianka, Pliszka 1983; Czwerwiecki, Wilczyńska 2005; Ulukanli, Karadag 2010]. Do najczęściej wykrywanych w przyprawach mikotoksyn należą aflatoksyny oraz ochratoksyny A [Janda, Ulfing 2008]. Zgodnie z nieaktualnym, ale niezastąpionym innymi wymaganiami, Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności (Dz. U. nr 37 poz. 326 zał. 7 z dnia 4 marca 2003 r.), liczba pleśni w przyprawach nie powinna przekraczać 5×10^4 jtk/g, bakterie z grupy coli i gronkowce powinny być nieobecne w 0,001 g, natomiast bakterie z rodzaju *Salmonella* w 25 g suszu przyprawowego.

Ilość obecnych w przyprawach mikroorganizmów zależy od wielu czynników. Do pierwotnych czynników wpływających na zanieczyszczenie przypraw należą m.in. część rośliny, z której produkowana jest przyprawa, pora roku i miejsce pozyskiwania, zaś do wtórnych – utrzymanie higieny procesu produkcji oraz sposób przechowywania.

Celem niniejszej pracy było określenie poziomu zanieczyszczenia mikrobiologicznego wybranych przypraw oraz identyfikacja wyizolowanych z nich drobnoustrojów.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał badawczy stanowiło pięć suchych przypraw dostępnych w handlu detalicznym w opakowaniach jednostkowych (woreczek z polietylenu zamknięty na zatrzask): bazylia suszona, pieprz czarny mielony i ziarnisty, liść laurowy i czosnek granulowany oraz liście świeżej bazylii.

Zakres badań obejmował oznaczenie: liczby drobnoustrojów tlenowych mezofilnych wg PN-EN ISO 4833:2004 na pożywce z ekstraktem drożdżowym i glukozą – Plate Count Agar (BTL Sp. z o.o.) i liczby grzybów strzępkowych na pożywce Sabourauda z chloramfenikolem (BTL Sp. z o.o.).

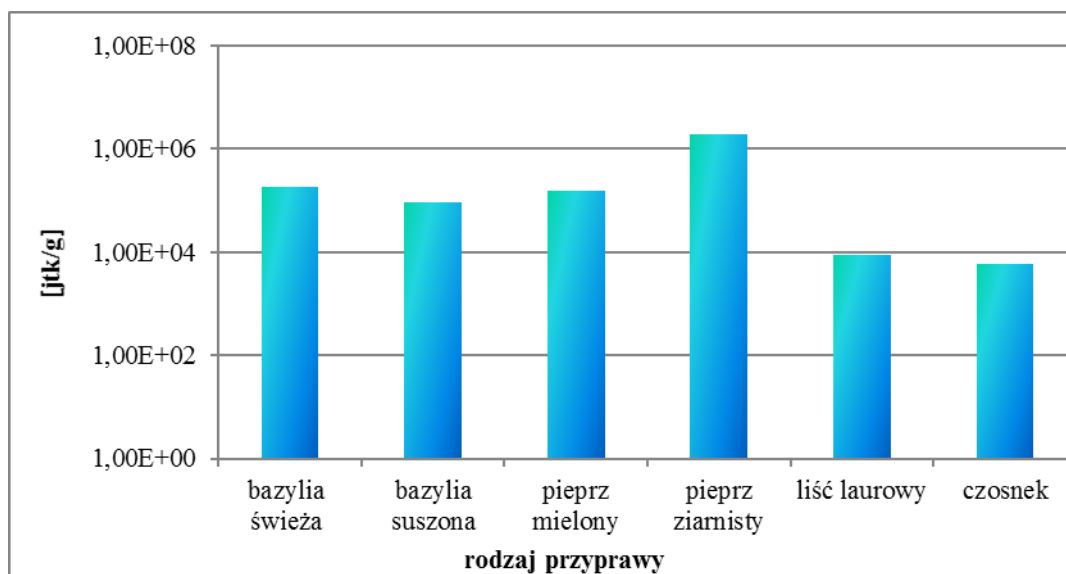
Przeprowadzono również izolację czystych kultur drobnoustrojów z kolonii wyrosłych na powyższych pożywkach, które wykorzystano do wykonania preparatów, szybkich testów na obecność katalazy i barwienia komórek bakteryjnych w celu określenia ich gramowości. Identyfikację drobnoustrojów wyizolowanych z analizowanych przypraw przeprowadzono na podstawie obserwacji makroskopowych i mikroskopowych. Bakterie klasyfikowano do

rodzaju na podstawie taksonomii Bergeya, a pleśnie na podstawie dostępnej literatury [Burbianka, Pliszka 1983; Müller 1990; Żakowska, Stobińska 2000].

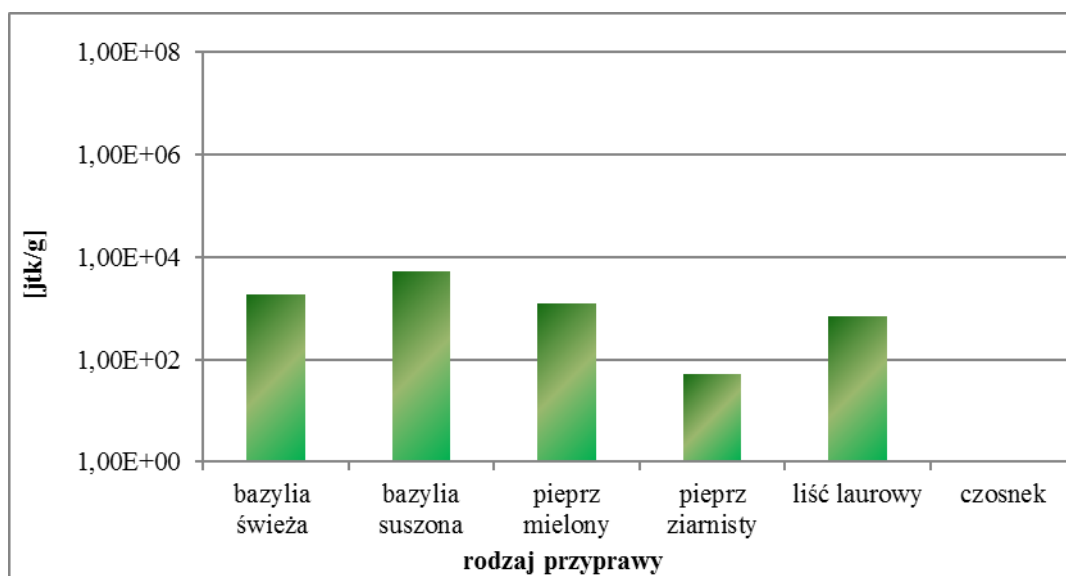
WYNIKI I DYSKUSJA

Poziom zanieczyszczenia badanych przypraw drobnoustrojami

W badanych przyprawach poziom zanieczyszczenia drobnoustrojami tlenowymi mezofilnymi zawierał się w przedziale $5,7 \times 10^3 - 1,9 \times 10^6$ jtk/g (rysunek 1), zaś grzybami strzępkowymi - $< 10 - 5,2 \times 10^3$ jtk/g (rysunek 2).



Rysunek. 1 Zanieczyszczenie badanych przypraw drobnoustrojami tlenowymi [jtk/g]
Examined aerobic microbial contamination of spices [cfu/g]



Rysunek. 2. Zanieczyszczenie badanych przypraw grzybami strzępkowymi [jtk/g]
Filamentous fungus contamination of spices studied [cfu/g]

Badane przyprawy podzielono na trzy grupy w zależności od poziomu zanieczyszczenia drobnoustrojami tlenowymi mezofilnymi. Pierwszą, najmniej zanieczyszczoną grupę stanowiły liście laurowe oraz czosnek, których kontaminacja zawierała się w przedziale $5,7 \times 10^3 - 8,6 \times 10^3$ jtk/g. Do drugiej grupy należały bazylia świeża, suszona i pieprz czarny mielony, w których liczba drobnoustrojów mieściła się w zakresie $9,1 \times 10^4 - 1,8 \times 10^5$ jtk/g. Ostatnią najbardziej zanieczyszczoną przyprawą był pieprz czarny ziarnisty, w którym liczba drobnoustrojów wynosiła $1,9 \times 10^6$ jtk/g.

Według danych literaturowych [McKee 1995; Wieczorkiewicz-Górnik, Piątkiewicz 2000; Remiszewski i in. 2006; Wójcik-Stopczyńska i in. 2010] zanieczyszczenie przypraw drobnoustrojami tlenowymi może kształtować się nawet na poziomie $10^6 - 10^9$ jtk/g. Żadna z badanych przypraw nie wykazywała tak wysokiego poziomu zanieczyszczenia, wszystkie plasowały się na najniższym wymienianym w literaturze poziomie kontaminacji.

Według badań Borowego i Kubiaka [2010] poziom zanieczyszczenia pieprzu czarnego kształtuje się na poziomie $5,7 \times 10^7 - 7,0 \times 10^9$ jtk/g. Według tych samych autorów, liczba bakterii w przyprawach ziołowych (majeranek) wynosiła $4,9 \times 10^5 - 2,9 \times 10^7$ jtk/g, zaś w przyprawach posiadających aktywne substancje przeciwdrobnoustrojowe (np. imbir) zawierała się w przedziale $5,6 \times 10^3 - 6,0 \times 10^4$ jtk/g. W badaniach innych autorów [Czerwińska, Piotrowski 2005; Remiszewski i in. 2006] zanieczyszczenie pieprzu czarnego mieściło się w przedziale $8,8 \times 10^5 - 9,8 \times 10^6$ jtk/g, przypraw ziołowych (bazylia) – $1,1 \times 10^6 - 4,9 \times 10^7$ jtk/g, zaś przypraw posiadających aktywne substancje przeciwdrobnoustrojowe (czosnek) – $1,3 \times 10^3 - 1,9 \times 10^3$ jtk/g. Wyniki te są zbliżone do uzyskanych w niniejszej pracy, ponieważ oznaczony poziom zanieczyszczenia drobnoustrojami tlenowymi mezofilnymi pieprzu czarnego zawierał się w przedziale $1,5 \times 10^5 - 1,9 \times 10^6$ jtk/g, a czosnku – $5,7 \times 10^3$ jtk/g. W przypadku bazylii, zarówno świeżej, jak i suszonej, autorzy [Czerwińska, Piotrowski 2005; Remiszewski i in. 2006] stwierdzili zanieczyszczenie tlenowymi bakteriami mezofilnymi w zakresie $9,1 \times 10^4 - 2,6 \times 10^5$ jtk/g, a więc analogicznym do oznaczonego w niniejszej pracy.

Jedną z najczęstszych przyczyn kontaminacji przypraw mikroflorą tlenową jest proces rozdrabniania oraz suszenie na słońcu, kiedy to przyprawy są zanieczyszczane cząstkami kurzu, ziemi lub odchodów. Wielu autorów [Heartwing Amala Dhas, Korikanthimath 2003; Brużewicz, Malicki 2007; Wieczorkiewicz-Górnik, Piątkiewicz 2008; Janda, Ulfig 2011] podaje, że w trakcie rozdrabniania przyprawy wzrasta liczebność i różnorodność drobnoustrojów. W efekcie przyprawy poddane rozdrabnianiu lub mieleniu cechują się większym zanieczyszczeniem. Pod względem ogólnej liczby drobnoustrojów najbardziej zanieczyszczoną przyprawą okazał się pieprz czarny ziarnisty, którego proces suszenia

przebiega na otwartej nasłonecznionej przestrzeni, a poza tym na tak wysokie zanieczyszczenie ma wpływ również jego pochodzenie z krajów o gorącym i wilgotnym klimacie.

Poziom zanieczyszczenia poszczególnych gatunków przypraw badanych w niniejszej pracy okazał się zbieżny z danymi literaturowymi [Makała 2010; Kunicka-Styczyńska, Śmigieński 2011]. Kolejność badanych przypraw pod względem malejącego zanieczyszczenia drobnoustrojami tlenowymi mezofilnymi wygląda następująco: pieprz, bazylia, liście laurowe, czosnek.

W przypadku oznaczenia liczby pleśni uzyskane wyniki przyporządkowano do trzech grup o zbliżonym poziomie zanieczyszczenia grzybami. Najniższym zanieczyszczeniem odznaczała się grupa, którą stanowiły czosnek, dla którego liczba pleśni wynosiła <10 jtk/g, oraz pieprz czarny ziarnisty, dla którego liczba pleśni wynosiła $5,3 \times 10^1$ jtk/g. Drugą grupę o podobnym zanieczyszczeniu stanowiły: liście laurowe, pieprz czarny mielony i bazylia świeża. Ilość pleśni w nich oznaczona zawierała się w przedziale $7,0 \times 10^2 - 1,9 \times 10^3$ jtk/g. Najbardziej zanieczyszczoną przyprawą była bazylia suszona. Poziom jej zanieczyszczenia wynosił $5,2 \times 10^3$ jtk/g, co jest prawdopodobnie wynikiem długiego procesu suszenia oraz rozdrabniania wysuszonych liści bazylii.

Wielu autorów [Sekulska 1993; McKee 1995; Remiszewski i in. 2006] podaje, że poziom zanieczyszczenia przypraw grzybami strzępkowymi zawierał się w przedziale $10^3 - 10^4$ jtk/g. Według tych samych autorów przyprawami najbardziej zanieczyszczonymi mikroflorą grzybową były pieprz czarny i bazylia. Nie potwierdzono tego w prezentowanych badaniach, w których liczba pleśni w próbce pieprzu czarnego ziarnistego była znacznie niższa i wynosiła $5,3 \times 10^1$ jtk/g.

Według badań Brużewicza i Malickiego [2007] najbardziej zanieczyszczona mikroflorą pleśniową była świeża bazylia, choć liczba pleśni w bazylii suszonej była bardzo zbliżona. Brużewicz i Malicki [2007] stwierdzili zanieczyszczenie świeżej bazylii pleśniami na poziomie 10^6 jtk/g. W żadnej z badanych w niniejszej pracy przypraw nie zaobserwowano tak wysokiej kontaminacji pleśniami. Wyniki uzyskane w badaniach własnych również w przypadku pieprzu czarnego nie były zbieżne z wynikami tych autorów. Zanieczyszczenie pieprzu, oznaczone w niniejszych analizach, wahało się od 10^1 do 10^3 jtk/g. Według Brużewicza i Malickiego [2007] w pieprzu czarnym wykryto większą liczbę pleśni niż w próbce użytej do badań.

Według Czerwińskiej i Piotrowskiego [2005] oraz Borowego i Kubiaka [2010] poziom zanieczyszczenia pieprzu czarnego ziarnistego pleśniami zawierał się w zakresie < 10 jtk/g –

$1,1 \times 10^4$ jtk/g. Według tych samych autorów liczba pleśni w przypadku przypraw ziołowych (bazylii) wynosiła $1,3 \times 10^4 - 1,3 \times 10^6$ jtk/g, zaś dla przypraw posiadających aktywne substancje przeciwdrobnoustrojowe, takich jak czosnek, 10^2 jtk/g. W przypadku bazylii oraz czosnku wyniki liczby pleśni cytowane w literaturze są wyższe od uzyskanych w niniejszej pracy. W przypadku czosnku może być to spowodowane badaniem różnych jego form (świeży, granulowany) lub jakością surowca. Może być to również wynikiem działania związków aktywnych zawartych w przyprawie lub procesu suszenia przyprawy w wysokiej temperaturze, co skutkuje niekorzystnymi warunkami do rozwoju pleśni [Bałasińska, Kulasek 2004; Ceylan, Fung 2007; Borowy, Kubiak 2009].

Mikroflora grzybowa może stanowić zarówno zanieczyszczenie pierwotne, jak i wtórne przypraw. Zarodniki pleśniowe przedostają się do przypraw zazwyczaj z kurzem, glebą oraz są przenoszone przez powietrze. Mogą też zasiedlać przyprawy podczas nieodpowiedniego przechowywania [Wieczorkiewicz-Górnik, Piątkiewicz 2008; Kunicka-Styczyńska, Śmigielski 2011]. W badaniach wykonanych w ramach niniejszej pracy przyprawą najbardziej zanieczyszczoną mikroflorą pleśniową okazała się bazylii suszona. Bardzo często proces jej suszenia jest długotrwały i przebiega na wolnej przestrzeni, gdzie przedostanie się zarodników pleśniowych jest bardzo prawdopodobne.

Badane w doświadczeniu przyprawy spełniały wymagania dotyczące poziomu zanieczyszczenia pleśniami zawarte w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 r. (Dz. U. nr 37 poz. 326 zał. 7 z dnia 4 marca 2003 r.).

Identyfikacja drobnoustrojów wyizolowanych z badanych przypraw

Szczegółowe zestawienie drobnoustrojów wyizolowanych z badanych przypraw przedstawiono w tabeli 1 i 2.

Bez względu na rodzaj i stopień rozdrobnienia przypraw, dominującą mikroflorą bakteryjną były Gram-dodatnie ziarniaki tworzące tzw. mikroflorę wtórną. Dostaje się ona do produktu podczas przepakowywania przypraw do opakowań jednostkowych lub jest rezultatem przedostania się zanieczyszczeń podczas procesu produkcyjnego [Wieczorkiewicz-Górnik, Piątkiewicz 2000; Sagoo i in. 2008]. Przeważającą ilość identyfikowanych mikroorganizmów stanowiły bakterie katalazo-dodatnie, co świadczy o tym, że należą one do bakterii tlenowych i względnie beztlenowych. Z uwagi na procesy suszenia i produkcji przypraw w warunkach tlenowych są to mikroorganizmy swoiste dla badanych surowców.

Z bazylii świeżej wyizolowano charakterystyczne dla mikroflory przypraw laseczki przetrwalnikujące, katalazo-dodatnie i Gram-dodatnie, przypuszczalnie należące do rodzaju *Bacillus*. Kolejnymi wyizolowanymi bakteriami charakterystycznymi dla przypraw były

przetrwaliujące laseczki należące do rodzaju *Clostridium*. Wyizolowano je z liści laurowych. Gram-dodatnie i katalazo-ujemne bakterie należące do rodzaju *Enterococcus* wyizolowano z czosnku, bazylii suszonej, liści laurowych i pieprzu czarnego ziarnistego. Ich występowanie w produktach spożywczych świadczy o świeżym zanieczyszczeniu kałowym [Müller 1990].

Obecność bakterii *Staphylococcus* stwierdzono w bazylii suszonej, pieprzu czarnym mielonym i ziarnistym oraz czosnku. Inne ziarniaki, należące przypuszczalnie do rodzaju *Micrococcus*, zostały wyizolowane z pieprzu czarnego ziarnistego i mielonego oraz z liści laurowych. Z kolei bakterie wyizolowane z pieprzu czarnego mielonego i ziarnistego oraz czosnku granulowanego należały do rodzaju *Streptococcus*. Wśród bakterii wyizolowanych z próbki bazylii świeżej zidentyfikowano pałeczki należące do rodzajów *Escherichia* i *Pseudomonas*.

Tabela 1. Identyfikacja wybranych drobnoustrojów wyizolowanych z badanych przypraw
Identification of the chosen micro-organisms isolated from tested spices

Przyprawa	Morfologia	Gramowość	Wytwarzanie katalazy	Identyfikacja bakterii – rodzaj
Bazylia świeża	pałeczki	-	+	<i>Escherichia</i>
	pałeczki	-	+	<i>Pseudomonas</i>
	laseczki z przetrwalnikami	+	+	<i>Bacillus</i>
Bazylia suszona	ziarniaki	+	+	<i>Staphylococcus</i>
	ziarniaki	+	-	<i>Enterococcus</i>
Pieprz czarny mielony	ziarniaki	+	+	<i>Staphylococcus</i>
	ziarniaki	+	+	<i>Micrococcus</i>
	ziarniaki	+	-	<i>Streptococcus</i>
Pieprz czarny ziarnisty	ziarniaki	+	-	<i>Enterococcus</i>
	ziarniaki	+	+	<i>Staphylococcus</i>
	ziarniaki	+	-	<i>Streptococcus</i>
	ziarniaki	+	+	<i>Micrococcus</i>
Liść laurowy	laseczki z przetrwalnikami	+	-	<i>Clostridium</i>
	ziarniaki	+	+	<i>Micrococcus</i>
	ziarniaki	+	-	<i>Enterococcus</i>
Czosnek granulowany	ziarniaki	+	-	<i>Enterococcus</i>
	ziarniaki	+	+	<i>Staphylococcus</i>
	ziarniaki	+	-	<i>Streptococcus</i>

Tabela 2. Identyfikacja pleśni wyizolowanych z badanych przypraw
Identification of moulds isolated from tested spices

Przyprawa	Bazylia świeża	Bazylia suszona	Pieprz czarny mielony	Pieprz czarny ziarnisty	Liść laurowy	Czosnek granulowany
Identyfikacja grzybów – rodzaj	<i>Aspergillus</i> <i>Trichoderma</i> <i>Penicillium</i>	<i>Cladosporium</i> <i>Aspergillus</i>	<i>Alternaria</i> <i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Rhizopus</i>	brak

Wielu autorów [Pafumi 1986; Kneifel i in. 2002; Abba i in. 2009; Wójcik-Stopczyńska i in. 2010; Ahene i in. 2011] podaje, że podstawową mikroflorę przypraw stanowią bakterie przetrwalnikujące z rodzajów *Bacillus* i *Clostridium*. Formy wegetatywne niektórych gatunków tych bakterii są bardzo niebezpieczne, ponieważ zanieczyszczone nimi przyprawy dodawane do potraw niepoddawanych obróbce cieplnej mogą przyczynić się do powstawania bardzo groźnych zatruc pokarmowych. Przetrwalniki tych bakterii są bardzo odporne na niekorzystne warunki środowiskowe, ale mogą przekształcać się w formy wegetatywne po dodaniu do żywności [Oberman i in. 1997; Czerwińska, Piotrowski 2005; Shamsuddeen 2009]. Inne grupy drobnoustrojów oznaczone w badanych przyprawach (pałeczki z grupy coli, enterokoki i paciorkowce kałowe, *Pseudomonas* i *Staphylococcus*) również są wykrywane w badaniach wielu autorów [McKee 1995; Kostrzewa, Owczarczyk 1997; Wieczorkiewicz-Górnik, Piątkiewicz 2000; Sagoo i in. 2008; Wieczorkiewicz-Górnik, Piątkiewicz 2008; Borowy, Kubiak 2010].

W badaniach zidentyfikowano 6 rodzajów pleśni. W większości analizowanych przyprawach występowały pleśnie z rodzaju *Aspergillus*. Pleśnie te stanowiły zanieczyszczenie bazylii świeżej i suszonej oraz pieprzu czarnego ziarnistego i mielonego.

W świeżej bazylii zidentyfikowano ponadto pleśnie z rodzajów *Penicillium* i *Trichoderma*, natomiast w bazylii suszonej pleśń z rodzaju *Cladosporium*. W pieprzu mielonym wykryto obecność pleśni z rodzaju *Alternaria*, a z liści laurowych wyizolowano pleśnie należące do rodzaju *Rhizopus*.

Pleśnie wyizolowane w niniejszych badaniach stanowią przeważającą mikroflorę grzybową przypraw, identyfikowaną i wymienianą w publikacjach wielu autorów [Abou-Arab i in. 1999; Kneifel i in. 2001; Czwerwiecki, Wilczyńska 2005; Janda, Ulfig 2005; Ahene i in. 2011].

WNIOSKI

Na podstawie uzyskanych wyników sformułowane zostały następujące wnioski:

1. Największym zanieczyszczeniem tlenowymi bakteriami mezofilnymi charakteryzował się pieprz czarny ziarnisty. Może być to spowodowane pochodzeniem tej przyprawy, długim procesem suszenia i fermentacji jego ziaren, długim okresem wegetacji rośliny.
2. Największą liczbę grzybów stwierdzono w bazylii, zarówno świeżej, jak i suszonej, czego powodem może być proces suszenia (często na wolnej przestrzeni) i magazynowania.
3. Przyprawą, która była najmniej zanieczyszczona tlenowymi drobnoustrojami mezofilnymi oraz pleśniami, był czosnek, zawierający silne substancje przeciwdrobnoustrojowe, które skutecznie hamują rozwój mikroflory.
4. Bez względu na rodzaj i stopień rozdrobnienia przypraw ich przeważającą mikroflorę bakteryjną stanowiły bakterie *Enterococcus*. Z przypraw wyizolowano również laseczki należące do rodzajów *Bacillus* i *Clostridium*, które są często spotykane w przyprawach, ponieważ wytwarzają przetrwalniki umożliwiające im przetrwanie procesów suszenia i rozdrabniania. Najczęściej izolowanym rodzajem pleśni były pleśnie z rodzaju *Aspergillus*, których obecność stwierdzono w większości badanych przypraw.

PIŚMIENNICTWO

1. Abba D., Inabo H. I., Yakubu S. E., Olonitola O. S. (2009). Contamination of Herbal Medicinal Products Marketed in Kaduna Metropolis with Selected Pathogenic Bacteria. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*, 6 (1), 70-77
2. Abou-Arab A. A. K., Soliman Kawther M., El Tantawy M. E., Ismail Badeaa R. (1999). Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian market. *Food Chemistry*, 67 (4), 357-363
3. Ahene R. E., Odamtten G. T., Owusu E. (2011). Fungal and bacterial contaminants of six spices and spice products in Ghana. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 5 (9), 633-640
4. Bałasińska B., Kulasek G. (2004). Czosnek i jego wpływ na zdrowie ludzi i zwierząt. *Medycyna Weterynaryjna*, 60 (11), 1151-1155
5. Borowy T., Kubiak M. S. (2009). Przyprawy warzywne – naturalne bogactwo smaku i aromatu. *Gospodarka Mięsna*, 47 (3), 24-25

6. Borowy T., Kubiak M. S. (2010). Mikrobiologiczne zanieczyszczenia przypraw naturalnych. *Gospodarka Mięsna*, 48 (1), 14-16
7. Brużewicz S., Malicki A. (2007). Stan mikrobiologiczny wybranych przypraw i przeżywalność w nich drobnoustrojów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 53 (4), 99-108
8. Burbianka M., Pliszka A. (1983). *Mikrobiologia żywności*. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa, 194-196, 425-450
9. Ceylan E., Fung D. Y. C. (2007). Antimicrobial activity of spices. *Rapid Methods & Automation in Microbiology*, 12 (1), 1-55
10. Czerwińska E., Piotrowski W. (2005). Czystość mikrobiologiczna przypraw i ich aktywność bakteriostatyczna. *Zeszyty Naukowe Wydziału Budownictwa i Inżynierii Środowiska*, nr 22, Seria Inżynieria Środowiska. Koszalin: Wydawnictwo Politechniki Koszalińskiej, 253-263
11. Czwierwiecki L., Wilczyńska G. (2005). Oznaczenie ochratoksyny A w przyprawach kulinarnych. *Roczniki PZH*, 56 (4), 323-330
12. Heartwing Amala Dhas P., Korikanthimath V. S. (2003). Processing and quality of black pepper – a review. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 12 (1), 1-13
13. Hlava B., Lánská D. (1983). *Rośliny przyprawowe*. Warszawa: Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 54-55, 166-167, 192-193, 212-213
14. Janda K., Ulfig K. (2005). Badania składu ilościowego i jakościowego grzybów w suszach roślin leczniczych. *Roczniki PZH*, 56 (4), 331-338
15. Janda-Ulfig K., Ulfig K. (2008). Susze ziołowe i przyprawy jako źródło mikotoksyn. *Przemysł Spożywczy*, 62 (3), 36-38, 44
16. Janda K., Ulfig K. (2011). Czystość mikrobiologiczna suszonych roślin leczniczych. <http://www.panacea.pl/articles.php?id=153> (30.03.2011 r.)
17. Kneifel W., Czech E., Kopp B. (2001). Microbiological status of commercially available medicinal herbal drugs - a screening study. *Planta Medica*, 67 (3), 263-269
18. Kneifel W., Czech E., Kopp B. (2002). Microbial contamination of medicinal plants – a review. *Planta Medica*, 68 (1), 5-15
19. Kostrzewa E., Owczarczyk B. (1997). Zanieczyszczenia mikrobiologiczne przypraw ziołowych i metody ich wyjaławiania. *Wiadomości Zielarskie*, 4, 19-21
20. Kunicka-Styczyńska A., Śmigielski K. (2011). Bezpieczeństwo mikrobiologiczne surowców ziołowych. *Przemysł Spożywczy*, 65 (5), 50-53

21. Kybal J. (1985). Rośliny aromatyczne i przyprawowe. Warszawa: Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 28-29, 114-115, 140-141, 156-157
22. Makała H. (2010). Przyprawy do żywności charakterystyka i właściwości. *Przemysł Spożywczy*, 64 (11), 32-35
23. McKee L. H. (1995). Microbial contamination of spices and herbs. *LWT-Food Science and Technology*, 28 (1), 1-11
24. Müller G. (1990). Podstawy mikrobiologii żywności. Warszawa: Wydawnictwo WNT, 47-114
25. Oberman H., Piątkiewicz A., Żakowska Z. (1997). Surowce żywnościowe pochodzenia roślinnego jako źródło zagrożeń mikrobiologicznych. Materiały Konferencji Naukowej „Bezpieczeństwo mikrobiologiczne produkcji żywności”, 18-19 listopada 1997, Warszawa, 20-36
26. Pafumi J. (1986). Assessment of the microbiological quality of spices and herbs. *Journal of Food Protection*, 49 (12), 958-963
27. Polska Norma (2004). PN-EN ISO 4833:2004 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów – Metoda płytkowa w temperaturze 30°C
28. Remiszewski M., Kulczak M., Jeżewska M., Korbas E., Czajkowska D. (2006). Wpływ procesu dekontaminacji z zastosowaniem pary wodnej na jakość wybranych przypraw. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 48 (3), 23-34
29. Rozporządzenie (2003). Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności (Dz. U. Nr 37 poz. 326 zał. 7 z dnia 4 marca 2003 r.)
30. Sagoo S. K., Little C. L., Greenwood M., Mithani V., McLauchlin J., de Pinna E., Threlfall J. (2008). Microbiological examination of dried spices and herbs from production and retail premises in the United Kingdom. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/committee/acm913spices.pdf>
31. Sekulska M. (1993). Ocena mikrobiologiczna wybranych przypraw. *Przegląd Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 37 (2), 16-17
32. Shamsuddeen U. (2009). Microbiological quality of spice used in the production of kilishi a traditionally dried and grilled meat product. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 2 (2), 66-69

33. Ulukanli Z., Karadag E. (2010). Bacteriological and fungal evaluation of some aromatic and taste giving herbs from Iğdir region in Eastern Anatolia of Turkey. *African Journal of Microbiology Research*, 22 (4), 2397-2401
34. Wieczorkiewicz-Górnik M., Piątkiewicz A. (2000). Stan mikrobiologiczny przypraw. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 48 (11), 2-3
35. Wieczorkiewicz-Górnik M., Piątkiewicz A. (2008). Mikrobiologiczne zanieczyszczenie przypraw ziołowych. *Gospodarka Mięsna*, 46 (8), 48-50
36. Wójcik-Stopczyńska B., Jakowienko P., Jadczyk D. (2010). Ocena mikrobiologicznego zanieczyszczenia świeżej bazylii i mięty. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 71 (4), 122-131
37. Żakowska Z., Stobińska H. (2000). *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym*. Łódź: Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, 93-114