

MAGDALENA MICHALCZYK

## WPLYW NAPARÓW HERBATY CZARNEJ I ZIELONEJ NA ZANIECZYSZCZENIE MIKROBIOLOGICZNE ORAZ WZROST KIEŁKÓW RZODKIEWKI

### Streszczenie

Skiełkowane nasiona, zarówno dostępne w handlu, jak i wytwarzane przez konsumentów w warunkach domowych, są popularnym produktem o dużych walorach odżywczych. Charakteryzują się one jednak relatywnie wysokim zanieczyszczeniem mikrobiologicznym. Celem pracy było określenie wpływu naparów herbaty czarnej i zielonej, zastosowanych w trakcie produkcji kiełków, na poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego oraz zawartość wybranych składników bioaktywnych i siłę wzrostu uzyskiwanych kiełków. Napary stosowano do moczenia nasion przed kiełkowaniem lub do nawadniania upraw w trakcie wzrostu kiełków. Stwierdzono, że moczenie nasion w naparze herbaty zielonej, jak również nawadnianie nasion i kiełków w trakcie wzrostu naparami obu herbat wpłynęło ujemnie na wydajność uzyskiwanego produktu oraz na nieznaczne zmniejszenie zawartości chlorofili w liścieniach. Natomiast moczenie nasion w naparze herbaty czarnej nie wpłynęło w znaczącym stopniu na te wielkości. Zastosowane napary wpłynęły na zwiększenie zawartości polifenoli i wzrost wskaźnika aktywności przeciwutleniającej (siły redukującej) w porównaniu z próbą kontrolną. We wszystkich zmodyfikowanych metodach produkcji kiełków ogólna liczba wykrywanych bakterii, liczba bakterii kwasu mlekowego oraz bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* uległy obniżeniu o mniej niż jeden cykl logarytmiczny. Zastosowane napary spowodowały jednak niewielki wzrost ilości wykrywanych pleśni.

**Słowa kluczowe:** kiełki rzodkiewki, herbata, zanieczyszczenie mikrobiologiczne, kiełkowanie

### Wprowadzenie

Rosnące zainteresowanie konsumentów wpływem diety na zdrowie i równoczesny brak czasu na przygotowanie posiłków, związany ze zmianą stylu życia, powoduje zwiększone zapotrzebowanie na produkty minimalnie przetworzone. Jednak część tych wyrobów, z uwagi na niestosowanie środków konserwujących, może stwarzać zagrożenie dla zdrowia [6]. Do produktów tego typu, o niskim stopniu przetworzenia, należą

m.in. skielkowane nasiona. Są one dostępne w sprzedaży, a przez część konsumentów wytwarzane samodzielnie w domu.

Badania prowadzone w Polsce na kielkach dostępnych w handlu wskazują na wysoki poziom ich zanieczyszczenia. Ogólna liczba wykrywanych bakterii mieściła się przeważnie w zakresie od  $10^8$  do  $10^{10}$  jtk/g, liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* wynosiła od  $10^6$  do  $10^8$  jtk/g, a drożdży i pleśni od  $10^3$  do  $10^5$  jtk/g [14, 15, 16]. Zanieczyszczenie kielków ogólną liczbą bakterii wynoszącą od  $10^8$  do  $10^{11}$  jtk/g odnotowywano też w innych pracach [10, 19]. Stwierdzono również, że mycie kielków w warunkach domowych pozwala zmniejszyć poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego o co najwyżej jeden cykl logarytmiczny [15]. W wielu krajach, w tym w: Stanach Zjednoczonych, Wielkiej Brytanii, Finlandii, Danii, Kanadzie, Szwecji i Japonii bakterie *Escherichia coli* O157:H7 i należące do *Salmonella* spp. były przyczyną zatruc po spożyciu skielkowanych nasion [18].

Główne źródło zanieczyszczenia kielków pochodzi z nasion, dlatego zaleca się ich dezynfekcję np. za pomocą roztworów zawierających związki chloru [18]. Stosowanie środków dezynfekujących może być jednak niebezpieczne ze względu na ograniczenie wzrostu konkurencyjnej, w stosunku do patogenów, mikroflory saprofitycznej [2]. Ponadto roztwory środków dezynfekujących, nawet używane zgodnie z przyjętymi zaleceniami, mogą być nieskuteczne w odniesieniu do konkretnych bakterii chorobotwórczych, jak również zmniejszać siłę kiełkowania i obniżać jakość sensoryczną otrzymanywanych kielków [13, 25]. Stosowanie do moczenia nasion roztworu zawierającego aktywny chlor, zalecanego przez NACMCF [18], może również stwarzać zagrożenie dla pracowników, jak i środowiska oraz wzbudzać niechęć producentów wytwarzających żywność ekologiczną [9, 13].

W związku z tym podejmowane są prace mające na celu dobór substancji hamujących rozwój mikroorganizmów, mogących znaleźć zastosowanie w produkcji kielków [9, 23, 28]. Ekstrakty z herbaty czarnej i zielonej są jednymi z produktów pochodzenia roślinnego, które w warunkach *in vitro* hamują wzrost szczepów należących do *Enterobacteriaceae* bakterii *Escherichia coli* i *Salmonella* spp. oraz innych mikroorganizmów chorobotwórczych, w tym *Staphylococcus aureus*, *Plesiomonas shigelloides* i *Vibrio cholerae* [3, 17, 26]. Równocześnie napary herbaciane nie wywierały negatywnego wpływu na testowane szczepy bakterii, takich jak *Lactobacillus plantarum* czy *Leuconostoc mesenteroides* [17]. Wymienione właściwości mogą predestynować ekstrakty herbaty do stosowania ich jako środka obniżającego poziom zanieczyszczenia bakteriami w produkcji kielków, zwłaszcza tej prowadzonej w warunkach domowych.

Celem pracy było określenie wpływu naparów herbaty, zastosowanych w trakcie procesu kiełkowania nasion, na poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego oraz poziom wybranych substancji bioaktywnych i wydajność uzyskiwanych kielków.

### Material i metody badań

Nasiona rzodkiewki przeznaczone do domowej uprawy na kielki zakupiono w sklepie. Nasiona przed procesem kiełkowania płukano pod bieżącą wodą (0,5 min). Doświadczenie prowadzono w trzech wariantach. Próbę kontrolną stanowiły kielki uzyskane z nasion moczonych przez 30 min w wodzie destylowanej, a następnie przez kolejne 6 dni wzrostu nawadniane również wodą destylowaną. Nawadnianie prowadzono przelewając nasiona rozłożone na tacach. Część nasion pierwszego dnia uprawy moczone przez 30 min w naparach herbaty czarnej lub zielonej, w temp.  $20 \pm 2$  °C. Napary uzyskiwano z 16 g herbaty ekspresowej i 500 ml wody destylowanej o temp. 100 °C, po ekstrakcji trwającej 5 min. Następnie nasiona płukano wodą destylowaną, którą również nawadniano je w kolejnych dniach uprawy. Trzeci wariant polegał na nawadnianiu upraw przez cały okres kiełkowania nasion naparami herbat uzyskanymi z 4 g suszu i 500 ml wody. Kiełkowanie prowadzono w warunkach zbliżonych do opisanych przez Gałązkę-Czarnecką i Kralę [11]. Produkcję prowadzono w kielkownicy półkowej, w temp.  $20 \pm 2$  °C, przy dostępie naturalnego światła rozproszonego. Wzrost kielków prowadzono przez 6 dób, nawadniając nasiona raz na dobę.

Wydajność uzyskiwanego produktu określano, obliczając procent skielkowanych nasion z 300 wysianych oraz oznaczając masę 300 kielków.

Analizy mikrobiologiczne obejmowały oznaczenie: ogólnej liczby bakterii (OLB), liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, bakterii fermentacji mlekowej oraz drożdży i pleśni. Ogólną liczbę bakterii oznaczano na podłożu PCA, inkubując próby w temp. 30 °C przez 48 h [12]. Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* oznaczano zgodnie z Polską Normą [20], metodą płytkową na podłożu VRBG po trwającej 24 h inkubacji prowadzonej w temp. 37 °C. Liczbę bakterii fermentacji mlekowej określano na podłożu MRS po inkubacji trwającej 72 h w temp. 30 °C [21]. Drożdże i pleśnie oznaczano na podłożu z chloramfenikolem po 5-dniowej inkubacji w temp.  $25 \pm 1$  °C [22].

Zawartość polifenoli, wyrażaną jako równoważnik kwasu galusowego (GAE) w mg/100 g produktu, oznaczano zgodnie z metodyką opisaną przez Singletona i Rosiego [24] z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteau'a. Absorbancję prób, po 2 h inkubacji, mierzono przy długości fali  $\lambda = 750$  nm przy użyciu spektrofotometru Cecil UV/VIS CE 9500 (Cecil Instruments, Cambridge England).

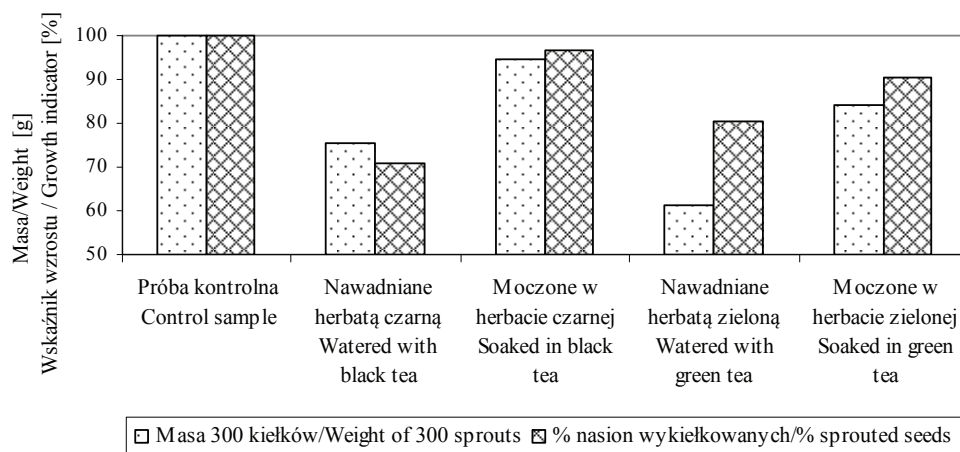
Siłę redukującą (określającą właściwości przeciwutleniające surowca poprzez zdolność jego ekstraktu do redukcji jonów  $\text{Fe}^{+3}$  do  $\text{Fe}^{+2}$ ) analizowano zgodnie z metodą opisaną przez Yena i Chena [29]. Siłę redukującą wyrażano jako absorbancję mierzoną przy długości fali  $\lambda = 700$  nm, 7 min po rozpoczęciu reakcji.

Zawartość chlorofili i karotenoidów w liścieniach skielkowanych nasion oznaczano metodą spektrofotometryczną, po ekstrakcji tych substancji acetonem [4]. Absorbancję mierzono przy długościach fali  $\lambda = 662$  nm, 645 nm i 470 nm [5]. Wyniki wyrażano w mg/100 g świeżej masy.

Analizy mikrobiologiczne wykonywano w czterech powtórzeniach, zawartość polifenoli w trzech, a zawartość chlorofili i karotenoidów w pięciu powtórzeniach. Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu pakietu CSS Statistica. Analizowano istotność różnic przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

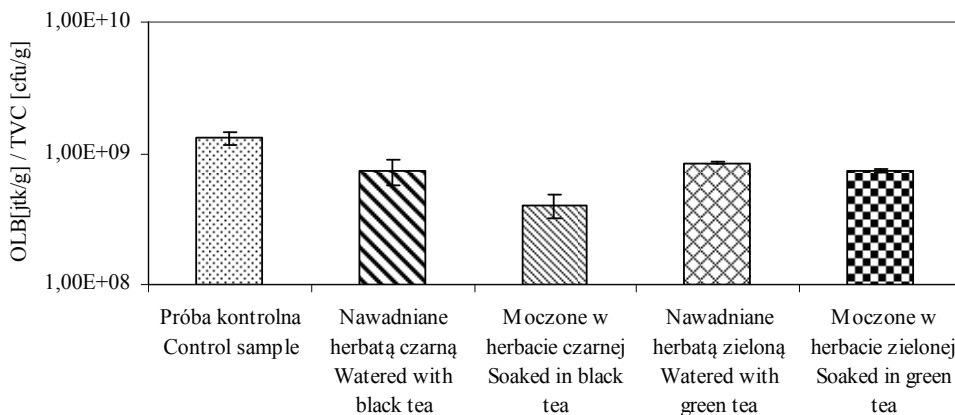
Wyniki oznaczania wydajności kiełków otrzymanych w różnych warunkach produkcji przedstawiono na rys. 1. W wielu pracach jako miernik wpływu zastosowanych środków dezynfekujących na wzrost roślin przyjmuje się wskaźnik procentowy wykiełkowanych nasion [9, 23]. Wskaźnik ten nie uwzględnia jednak różnic w budowie i wydajności uzyskiwanych produktów, na które również wpływać mogą zastosowane w trakcie uprawy warunki i użyte środki. Najmniejszą wydajność kiełków uzyskano, nawadniając kiełkujące nasiona ekstraktem zielonej herbaty. Zastosowanie naparów herbat do nawadniania upraw spowodowało znaczne zmniejszenie procentowego wskaźnika nasion wykiełkowanych i uszkodzenia kiełków (rys. 1). Hypokotyl był często skrócony i spiralnie zwinięty. Zdecydowanie mniej szkodliwe było moczenie nasion w ekstrakcie herbat, poprzedzające ich kiełkowanie. Moczenie nasion w naparze herbaty czarnej wpłynęło w sposób statystycznie nieistotny na wydajność i procentowy udział nasion wykiełkowanych.



Rys. 1. Wpływ warunków uprawy na masę 300 kielków rzodkiewki oraz procentowy udział nasion wykiełkowanych. (Obydwa wskaźniki przedstawiono w odniesieniu do próby kontrolnej, którą przyjęto jako 100 %).

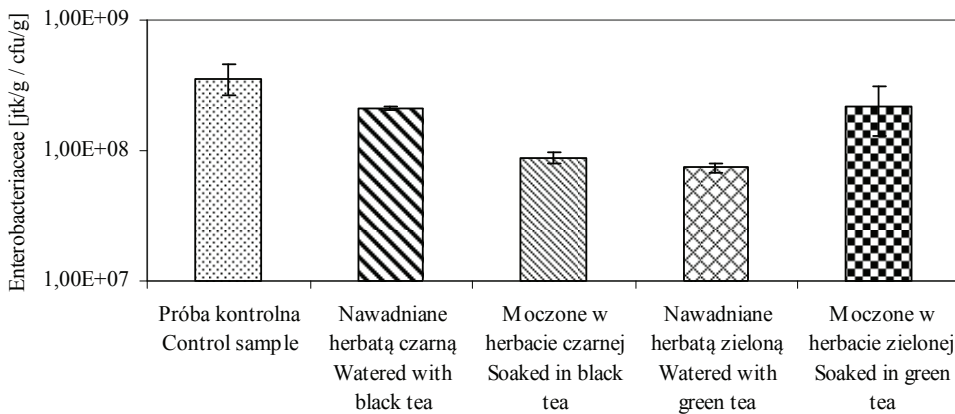
Fig. 1. Effect of germination conditions on weight of 300 small radish sprouts and per cent content of sprouted seeds (Two indicators were presented with reference to control sample assumed to be 100 %).

Wyniki analiz mikrobiologicznych (rys. 2) dowodzą, że obniżenie ogólnej liczby wykrywanych bakterii we wszystkich próbach, do których stosowano napary herbaty, wynosiło mniej niż 1 cykl logarytmiczny, przy czym najlepszy, statystycznie istotny, rezultat osiągnięto w przypadku nasion moczonych w ekstrakcie herbaty czarnej. Pozostałe różnice, chociaż niewielkie, również były statystycznie istotne.



Rys. 2. Wpływ warunków uprawy kiełków rzodkiewki na ogólną liczbę bakterii (OLB).

Fig. 2. Effect of germination conditions of small radish seeds on Total Viable Count (TVC) of bacteria.



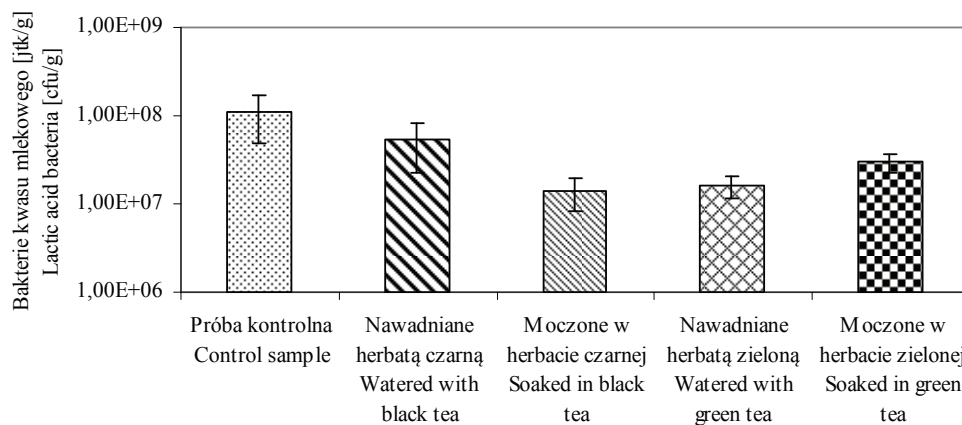
Rys. 3. Wpływ warunków uprawy kiełków rzodkiewki na liczbę bakterii należących do rodziny *Enterobacteriaceae*.

Fig. 3. Effect of germination conditions of small radish seeds on *Enterobacteriaceae* family bacteria count.

W odniesieniu do bakterii należących do rodziny *Enterobacteriaceae* stwierdzono podobny efekt. W przypadku prób moczonych w ekstrakcie z czarnej herbaty lub na-

wadnianych naparem herbaty zielonej (rys. 3) różnica między nimi a próbą kontrolną była statystycznie istotna. Natomiast między sobą obie próby nie różniły się istotnie.

Wpływ zastosowanych naparów herbat na wzrost bakterii fermentacji mlekowej w skielkowanych nasionach był we wszystkich wariantach zbliżony i podobnie, jak w przypadku ogólnej liczby bakterii i liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, różnica między próbą kontrolną a pozostałymi wynosiła nie więcej niż jeden cykl logarytmiczny (rys. 4). Jedynie w przypadku zastosowania naparu herbaty czarnej do moczenia nasion i naparu herbaty zielonej do ich nawadniania różnice te były statystycznie istotne.



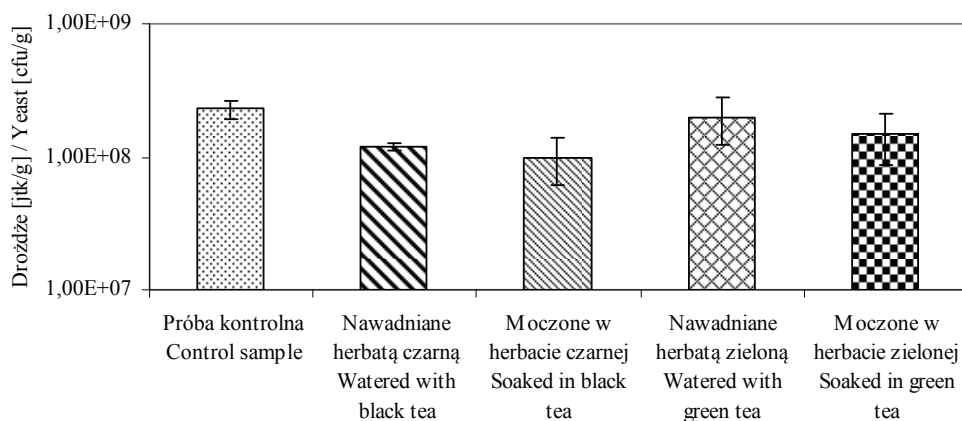
Rys. 4. Wpływ warunków uprawy kiełków rzodkiewki na liczbę bakterii kwasu mlekowego.

Fig. 4. Effect of germination conditions of small radish sprouts on lactic acid bacteria count.

Zastosowanie ekstraktów herbat wywarło jeszcze mniejszy wpływ na poziom zanieczyszczenia drożdżami (rys. 5). Natomiast w przypadku pleśni modyfikacja warunków uprawy spowodowała niewielki wzrost liczby wykrywanych mikroorganizmów (rys. 6).

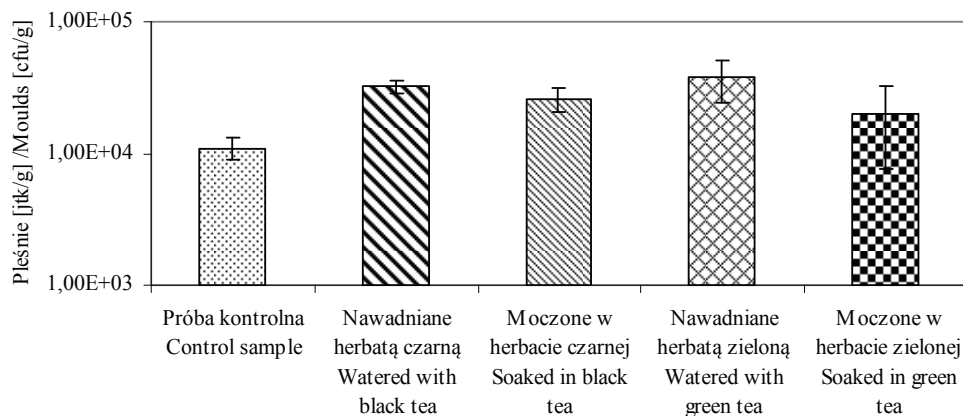
Niezadowolające wyniki uprawy kiełków rzodkiewki uzyskane przy zastosowaniu naparów herbacianych nie odbiegają znacząco od rezultatów obserwowanych przez niektórych autorów po stosowaniu chemicznych środków dezynfekujących [7, 13, 23]. Singh i wsp. [23] w pracy dotyczącej wpływu roztworu wodnego  $\text{ClO}_2$ , ozonowanej wody i olejku eterycznego tymianku na zmniejszenie ilości *Escherichia coli* O157:H7, wykrywanej w kiełkach lucerny pochodzących z inokulowanych nasion, również nie uzyskali zadowolających rezultatów. Bardziej znaczącą redukcję liczby wykrywanych bakterii, jednak wynoszącą w porównaniu z próbą kontrolną mniej niż 1 cykl logarytmiczny, autorzy odnotowali dopiero po zastosowaniu do płukania nasion kolejno wszystkich trzech roztworów dezynfekujących. Zależnie od metody płukania nasion

oznaczyli oni po 72 h kiełkowania liczbę bakterii *E. coli* O157:H7 w kiełkach na poziomie od 7,8 log jtk/g (wszystkie trzy roztwory dezynfekujące) do 8,2 log jtk/g (próba kontrolna płukana wodą). Zastosowali oni następujące roztwory: wodny roztwór  $\text{ClO}_2$  (25 mg/l), ozonowaną wodę (14,3 mg/l) i olejek tymiankowy (5,0 ml/l). Podobnie niską efektywność wobec bakterii *Salmonella* inokulowanej na kiełkowanych nasionach lucerny stwierdzili Kim i wsp. [13]. Stosując roztwory zawierające aktywny chlor w stężeniu 84-90 mg/l, uzyskali obniżenie liczby wykrywanych bakterii *Salmonella* o około 1,5 log jtk/g w stosunku do początkowej populacji na nasionach. Fett [7] badając wpływ  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NaClO}_2$ , EDTA,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{NaOCl}$  i kwasu peroksyoctowego stwierdził, że żaden z tych środków, stosowanych do nawadniania nasion w różnych stężeniach, nie zredukował natywnej mikroflory kiełków lucerny o więcej niż 1 log. Równocześnie w przypadku kilku z tych związków zaobserwowano efekt fitotoksyczny. Ponadto Fett [7] nie stwierdził korzystnego wpływu dezynfekcji nasion roztworami chloru o różnej koncentracji na liczbę wykrywanych drobnoustrojów w kiełkach lucerny po zakończonym procesie kiełkowania. Jedną z przyczyn dużych trudności w zmniejszaniu zanieczyszczenia mikrobiologicznego skiełkowanych nasion jest najprawdopodobniej tworzenie biofilmów przez bakterie obecne na nich [8]. W cytowanej wyżej pracy Fetta najczęstszymi bakteriami tworzącymi biofilmy na wszystkich typach analizowanych kiełków były pałeczki o różnych rozmiarach.



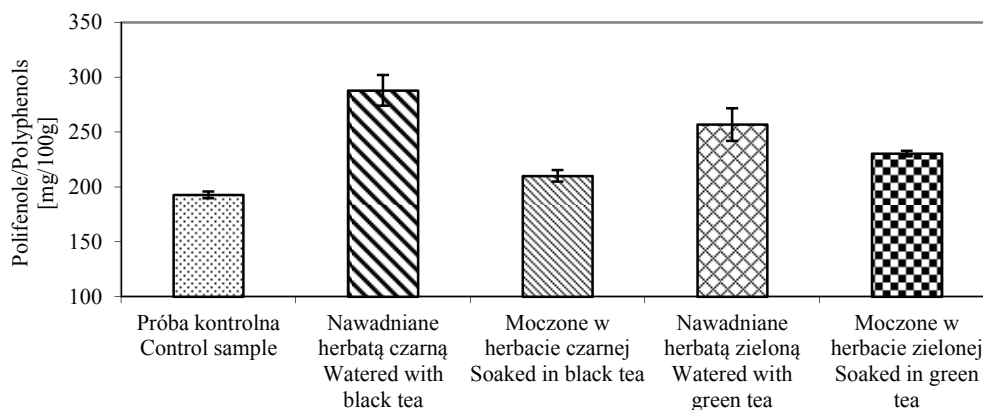
Rys. 5. Wpływ warunków uprawy kiełków rzodkiewki na liczbę drożdży.

Fig. 5. Effect of germination conditions of small radish seeds on yeast count.



Rys. 6. Wpływ warunków uprawy kiełków rzodkiewki na liczbę pleśni.

Fig. 6. Effect of germination conditions of small radish seeds on count of moulds.



Objaśnienie: Explanatory notes:

Wartości oznaczone taką samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy  $p > 0,05$  / Values denoted by the same letter do not differ statistically significantly at  $p > 0.05$ .

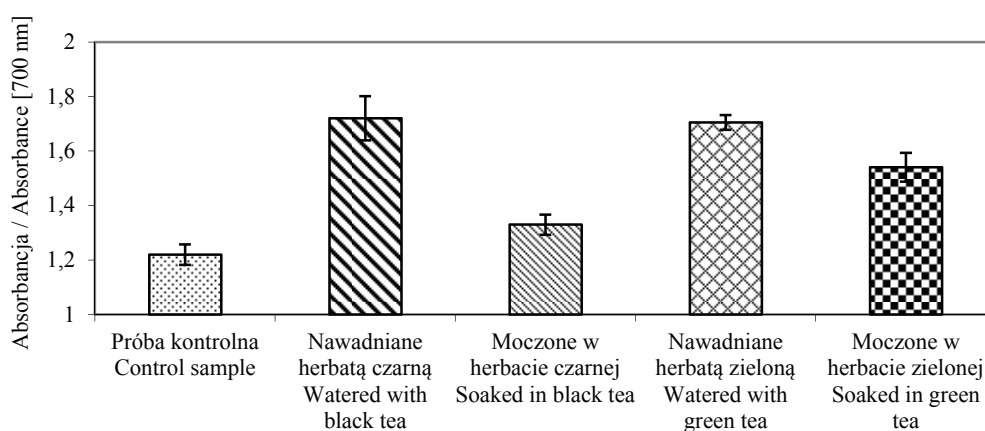
Rys 7. Wpływ warunków uprawy kiełków rzodkiewki na zawartość w nich polifenoli.

Fig. 7. Effect of germination conditions of small radish seeds on content of polyphenols in sprouts.

Na rys. 7. przedstawiono zawartość polifenoli, a na rys. 8. wartość siły redukującej, będącej wskaźnikiem właściwości przeciwutleniających uzyskanych kiełków. Zarówno kiełki nawadniane, jak i pozyskane z nasion moczonych w naparach herbaty zawierały zdecydowanie więcej związków polifenolowych i cechowały się silniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi niż próba kontrolna. Przy czym największą zawartość polifenoli i najwyższe wartości siły redukującej stwierdzono w przypadku



kiełków nawadnianych ekstraktami herbat. Na zwiększenie wartości tych wyróżników mogła wpłynąć obecność polifenoli pochodzących z herbaty zaadsorbowanych np. na resztach okrywy nasiennej. Na skutek zastosowania ekstraktu herbaty mogła również w roślinach zostać zsyntezowana większa ilość składników polifenolowych jako odpowiedź na obecność niepożądanych substancji w środowisku. Do składników mających duży wpływ na pojemność przeciwutleniającą kiełków rzodkiewki, oprócz polifenoli, należy przede wszystkim kwas askorbinowy. Pozostałe składniki, jak tokoferole i glutation mają znacznie mniejsze znaczenie [30].



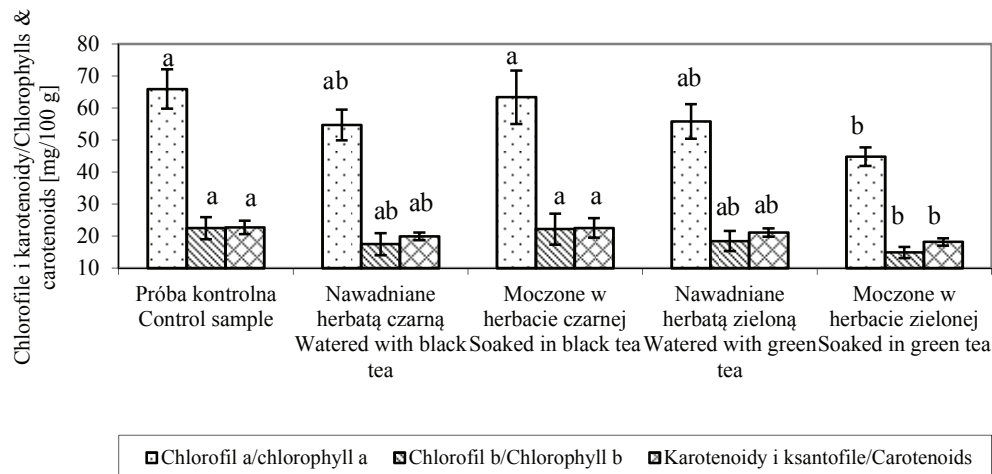
Objaśnienie jak pod rys. 7 / Explanatory note as in Fig. 7.

Rys. 8. Wpływ warunków uprawy kiełków rzodkiewki na wartość siły redukującej.

Fig. 8. Effect of germination conditions of small radish seeds on reducing power value.

Zawartość chlorofili w liścieniach kiełków przedstawiono na rys. 9. Nawadnianie upraw naparami spowodowało zmniejszenie zawartości chlorofili w uzyskiwanym produkcie – od 3,2 do 32,5%, jednak jedynie w przypadku moczenia nasion w naparze herbaty zielonej różnice zostały zweryfikowane jako statystycznie istotne. Podobne zjawisko zmniejszenia zawartości chlorofili w sadzonkach sałaty uzyskanych z nasion nawadnianych wodnym ekstraktem jeżówki (*Echinacea angustifolia*) stwierdzili Viles i Reese [26]. Borella i wsp. [1], po zastosowaniu do nawadniania nasion rzodkiewki wodnego ekstraktu psianki czarnej (*Solanum americanum*), również stwierdzili, że zmniejszyło to wskaźnik procentowy nasion skiełkowanych oraz zawartość chlorofilu w siewkach rzodkiewki. Obserwowane zjawisko autorzy przypisali flawonoidom obecnym w użytym do nawadniania ekstrakcie [1]. Zastosowane metody uprawy miały mniejszy wpływ na zawartość karotenoidów i ksantofili (rys. 9) i również w tym przy-

padku wyraźniejsze zmniejszenie uzyskanych wartości miało miejsce w przypadku moczenia nasion w naparze herbaty zielonej.



Objaśnienie jak pod rys. 7 / Explanatory note as in Fig. 7.

Rys. 9. Wpływ warunków uprawy kiełków rzodkiewki na zawartość chlorofilu oraz karotenoidów w ich liścieniach.

Fig. 9. Effect of germination conditions of small radish seeds on contents of chlorophylls and carotenoids in cotyledons of sprouts.

## Wnioski

1. Zastosowanie naparów herbaty w uprawie kiełków bardzo nieznacznie wpłynęło na obniżenie poziomu zanieczyszczenia mikrobiologicznego uzyskiwanych produktów. Zarówno zastosowanie naparów herbacianych do moczenia, jak i nawadniania nasion pozwoliło na zmniejszenie liczby wykrywanych grup bakterii o co najwyżej 1 cykl logarytmiczny. Najskuteczniejszym zabiegiem było moczenie nasion w naparze herbaty czarnej bądź nawadnianie ich naparem herbaty zielonej.
2. Spośród badanych metod uprawy, z zastosowaniem ekstraktów herbaty, jedynie moczenie nasion w naparze herbaty czarnej pozwoliło na obniżenie ogólnej liczby bakterii oraz bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* o mniej niż 1 cykl logarytmiczny i równoczesne zachowanie stosunkowo dobrej wydajności i jakości kiełków. W pozostałych przypadkach masa i wskaźnik wzrostu uzyskiwanych kiełków były znacząco zmniejszone.
3. Zastosowanie naparów herbaty we wszystkich wariantach uprawy spowodowało zwiększenie zawartości polifenoli i właściwości przeciwutleniających kiełków oraz

zmniejszenie zawartości chlorofili w ich liścieniach. Jednak w tym ostatnim przypadku różnice w większości zostały zweryfikowane jako statystycznie nieistotne.

### Literatura

- [1] Borella J., Wandscheer A.C.D., Pastorini L.H.: Allelopathic potential of aqueous extracts of *Solanum americanum* Mill. fruits on radish seeds. Rev. Bras. Ciênc. Agrár., 2011, **6 (2)**, 309-313.
- [2] Carlin F., Nguyen-the C., Morris C.E.: Influence of background microflora on *Listeria monocytogenes* on minimally processed fresh broad-leaved endive (*Cichorium endivia* var. *latifolia*). J. Food Prot., 1996, **59**, 698-703.
- [3] Cheng-Chun Chou, Lon-Leu Lin, King-Thom Chung.: Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season. Int. J. Food Microbiol., 1999, **48**, 125-130.
- [4] Current Protocols in Food Analytical Chemistry. F4.2.1-F4.2.6. Extraction of Photosynthetic Tissues: Chlorophylls and Carotenoids. Contributed by Lichtenthaler H.K. and Buschman C. 2001.
- [5] Current Protocols in Food Analytical Chemistry. F4.3.1-F4.3.8. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. Contributed by Lichtenthaler H.K. and Buschman C. 2001.
- [6] Devlieghere F., Vermeiren L., Debevere J.: New preservation technologies: Possibilities and limitations. Int. Dairy J., 2004, **14**, 273-285.
- [7] Fett W.F.: Reduction of the native microflora on alfalfa sprouts during propagation by addition of antimicrobial compounds to the irrigation water. Int. J. Food Microbiol., 2002, **72**, 13-18.
- [8] Fett W. F.: Naturally occurring biofilms on alfalfa and other types of sprouts. J. Food Prot., 2000, **63 (5)**, 625-632.
- [9] Fett W.F., Cooke P.H.: Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on laboratory-inoculated alfalfa seed with commercial citrus-related products J. Food Prot., 2003, **66 (7)** 1158-1165.
- [10] Gabriel A.A., Berja M.C., Estrada A.M.P., Lopez M.G.A.A., Nery J.G.B., Villaflor E.J.B.: Microbiology of retail mung bean sprouts vended in public markets of National Capital Region, Philippines. Food Control, 2007, **18**, 1307-1313.
- [11] Gałązka-Czamecka I., Krala L.: Zmiany jakości kiełków rzodkiewki *Raphanus sativus* L. podczas chłodniczego przechowywania w modyfikowanej atmosferze i w powietrzu. Chłodnictwo, 2009, **8**, 56-59.
- [12] Hayes P.R.: Food Microbiology and Hygiene. Second Edition. Chapman & Hall London 1995, p. 189.
- [13] Kim Ch., Hung Y-C., Brackett RE, Lin Ch-S.: Efficacy of electrolyzed oxidizing water in inactivating *Salmonella* on Alfalfa seeds and sprouts. J. Food Prot., 2003, **66 (2)**, 208-214.
- [14] Leszczyńska-Fik A., Fik M.: Kielki roślinne. Jakość mikrobiologiczna skielkowanych nasion. Przem. Ferm. Owoc.Warz., 2003, **12**, 29-31.
- [15] Michalczyk M., Kowalińska J.: Zanieczyszczenie mikrobiologiczne kiełkowanych nasion dostępnych w handlu. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2009, **3 (64)**, 32-39.
- [16] Michalczyk M., Macura R.: Wpływ warunków przechowywania na jakość wybranych, dostępnych w obrocie handlowym, mało przetworzonych produktów warzywnych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **3 (58)**, 96-107.
- [17] Michalczyk M., Zawislak A.: The effect of tea infusions on the proliferation of selected bacteria important for the human intestinal tract. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 2008, **7 (1)**, 59-65.
- [18] National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods: Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. Int. J. Food Microbiol., 1999, **52**, 123-153.
- [19] Penas E., Gómez R., Frías J., Vidal-Valverde C.: Application of high pressure treatment on alfalfa (*Medicago sativa*) and mung bean (*Vigna radiata*) seeds to enhance the microbiological safety of their sprouts. Food Control, 2008, **19**, 698-705.

- [20] PN-A-04023:2001. Mikrobiologia żywności. Wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*.
- [21] PN-ISO 15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
- [22] PN-93 A-86034/07:1993. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Pleśnie i drożdże – oznaczanie liczby metodą płytkową w temperaturze 25°C.
- [23] Singh N., Singh R.K., Bhunia A.K.: Sequential disinfection of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds before and during sprouting using aqueous chlorine dioxide, ozonated water, and thyme essential oil. *Lebensm.-Wiss.-U.-Technol.*, 2003, **36**, 235-243.
- [24] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic*, 1965, **16**, 144-158.
- [25] Taormina PJ, Beuchat LR.: Behavior of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa sprouts during the sprouting process as influenced by treatments with various chemicals. *J. Food Prot.*, 1999, **62** (8), 850-856.
- [26] Toda M., Okubo S., Hiyoshi R., Shimamura T.: The bactericidal activity of tea and coffee. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1989, **8**, 123-125.
- [27] Viles A.L., Reese R.N.: Allelopathic potential of *Echinacea angustifolia* D.C. *Environ. Exp. Bot.*, 1996, **36** (1), 39-43.
- [28] Weissinger W.R., McWatters K.H., Beuchat L.R.: Evaluation of volatile chemical treatments for lethality to *Salmonella* on Alfalfa seeds and sprouts. *J. Food Prot.*, 2001, **64** (4), 442-450.
- [29] Yen G-C, Chen H-Y: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.
- [30] Zieliński H., Piskula M.K., Michalska A., Kozłowska H.: Antioxidant capacity and its components of cruciferous sprouts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2007, **57**(3), 315-322.

#### EFFECT OF BLACK AND GREEN TEA INFUSIONS ON MICROBIAL CONTAMINATION AND GROWTH OF SMALL RADISH SPROUTS

##### Summary

Sprouted seeds, both commercially available and home-sprouted, are a popular product of high nutritive value. However, they are characterised by relatively high levels of microbial contamination. The objective of this paper was to determine the effect of black and green tea infusions applied during the sprout production process on the microbial contamination level and the content of some selected bioactive components, as well as on the growth rate of sprouts being produced. The infusions were applied to soak seeds prior to sprouting or to water seed crops during the growth of sprouts. It was found that the soaking of seeds in the green tea infusion, as well as the watering of sprouting seeds and growing sprouts with the infusions of those two tea types negatively affected the product yield obtained and caused the chlorophyll content in the cotyledon to slightly decrease. However, the soaking of seeds in the black tea infusion did not significantly impact those values. Compared to the control sample, the infusions used caused the polyphenol content and the indicator of antioxidant activity (reducing power) to increase. In all the modified methods of producing sprouts, the total viable count of bacteria, lactic acid bacteria, and *Enterobacteriaceae* family bacteria were reduced by less than 1 log cycle. The tea infusions applied caused, however, the quantity of detectable moulds to slightly increase.

**Key words:** small radish sprouts, tea, microbiological contamination, sprouting process 