MICROBIAL CONTAMINATION OF FRUIT TEAS

Konečná H.[1], Kalhotka L.[2]

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

[2]Department 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: xkonec13@mendelu.cz

ABSTRACT

This work is concerned with fruit teas' issues. Experimental part is orientated on specifying significant groups of microbes in samples of fruit teas, and observation of dependance on microbial count during the storing. Another part of the experiment includes comparing the tea microflora before and after the tea preparation. The samples were bought in the chain of department stores, they are fruit tea from ecological agriculture, fruit tea bags and strewn fruit tea. The results were evaluated tabular, graphically and with the statistical methods. Total microbial counts (TMC) reached 102-103 CFU/g, numbers of molds reached 101-102 CFU/g and numbers of sporulating bacteria were about 101 CFU/g. The strewn fruit tea embodied the minimal number of TMC, fungi and sporulating bacteria. All the samples complied with the legislative requirements during their whole storage life.

Key words: fruit teas, microbes, dried fruit

ÚVOD

Ovocný čaj je čaj ze sušeného ovoce a částí sušených povolených rostlin (uvedených ve Vyhlášce č. 330/1997 Sb., k zákonu č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích), kde podíl sušeného ovoce je vyšší než 50 % hmotnosti. Základ nápoje netvoří listy čajovníku, ale různé druhy ovoce a sušené lístky a květy různých bylin.

Výroba ovocného čaje začíná příjmem surovin, tzn. sušeného ovoce a léčivých rostlin, které se po vstupní kontrole skladují v klimatizovaných skladech. Na základě receptury se odváží jednotlivé suroviny a nařežou se na požadovanou velikost jednotlivých frakcí, následuje míchání v míchacím stroji (homogenizátoru) a dávkování aromat. Takto připravená směs se plní do jednotlivých balení, při výrobě ovocného čaje sypaného, nebo pomocí balícího stroje dávkuje do jednotlivých nálevových sáčků. Vše probíhá v uzavřeném prostředí, aby byla zaručena zdravotní nezávadnost ovocného čaje. Hotové čaje se potom převážejí do skladu, kde je nutné dodržet podmínky pro jejich skladování.

Ovocné čaje jsou konzervovány sušením, mají nízkou hodnotu vodní aktivity (kolem 0,6), takže nejsou vhodným prostředím pro mikroorganismy. Většina mikroorganismů se při tak nízké hodnotě vodní aktivity nemnoží, ale některé mohou přežít, a jestliže se dostanou do příznivých podmínek, mohou se pomnožit. Z hlediska počtů mikroorganismů v ovocných čajích platí v současné době norma ČSN 56 9609, která stanovuje mikrobiologická kritéria pro potraviny. Tato norma uvádí pro ovocné čaje limit pro *E. coli* 10^2 KTJ u 5-ti vzorků, dále limit pro potenciálně toxinogenní plísně *Asp. flavus* 10^3 u 5-ti vzorků a *Salmonella* spp. nesmí být v čajích přítomná.

Protože jsou ovocné čaje stále více žádány a zejména u dětí jsou tyto čaje různých lahodných chutí velmi oblíbeny, je nutné, aby nebyly zdrojem nežádoucích mikroorganismů. Důležité je nutné vybírat kvalitní primární suroviny a kontrolovat průběh celého výrobního procesu, zabránit kontaminaci mikroorganismy a také výrobek správně skladovat. Problematikou mikrobiální kontaminace ovocných čajů se v současné době nezabývá mnoho publikací, proto je problematické výsledky této práce vyhodnotit formou diskuze.

MATERIÁL A METODIKA

Analyzovány byly tři vzorky ovocných čajů, zakoupené v tržní síti. Analýza vzorků byla prováděna v pravidelných intervalech po 14 dnech (tj. 0. den, 14., 28. a 42. den od otevření). Ovocné čaje byly po celou dobu skladovány v podmínkách, které odpovídají požadavkům, které uvádí Vyhláška č. 330/1997 Sb., tedy při teplotě kolem 25 °C a relativní vlhkosti do 75 %.

Vzorek č. 1 – Sladké chvíle – jemný ovocný čaj z ekologického zemědělství, výrobce Sluneční brána s.r.o. Vzorek č. 2 – Brusinka – ovocný čaj aromatizovaný, výrobce: Zlatý šálek. Vzorek č. 3 – Sladké plody - sypaný aromatizovaný ovocný čaj bez ibišku, výrobce: Oxalis, Slušovice.

Stanovovány byly tyto skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů (CPM) na živné půdě PCA (Plate count agar), inkubace v termostatu při 30 °C po dobu 72 hodin. Plísně a kvasinky na agaru s kvasničným extraktem, glukózou a chloramfenikolem (Chloramphenicol Glukose

Agar), inkubace v termostatu při 25 °C po dobu 120 hodin. Koliformní bakterie na selektivní půdě VRBG – agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučí a glukózou, inkubace v termostatu při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Sporulující aerobní bakterie na živné půdě PCA (Plate count agar), inkubace v termostatu při 37 °C po dobu 72 hodin. Sporolující anaerobní bakterie na živné půdě PCA (Plate count agar), inkubace MICROBIOLOGY ANAEROBIC JAR (Merck, Germany) za použití vyvíječe anaerobní atmosféry ANAEROCULT A (Merck, Germany) při 37 °C po dobu 72 hodin.

Nálevové sáčky vzorků ovocných čajů (tzn. vzorek č. 1 a vzorek č. 2) byly kvantitativně převedeny do 200 ml destilované vody se skleněnými perlami, a vytřepány na třepačce po dobu 10 minut. Vzorek č. 3, jednalo se o sypaný ovocný čaj, byl navážen v množství dvou lžiček (= 6 g) a navážka byla kvantitativně převedena do 200 ml destilované vody s perlami a čaj byl také vytřepán na třepačce po dobu 10 minut. Následně bylo u všech tří vzorků provedeno desetinné ředění.

Při rozborech byla využívána kultivace na pevných půdách tj. plotnová metoda se zalitím inokula živnou půdou. Při stanovování sporulujících mikroorganismů se inokulum ve zkumavce nejprve zahřálo na teplotu vyšší než 80 °C po dobu 10 minut, aby byly zlikvidovány vegetativní formy mikroorganismů. Dále bylo inokulum zchlazeno a očkováno na Petriho misky, zalito živnou půdou. Po úplném zatuhnutí se plotny nechaly inkubovat v termostatu při daném čase a teplotě pro určitou skupinu mikroorganismů.

Analýza hotového čaje byla provedena celkem dvakrát. Nálevové sáčky vzorků ovocných čajů (tzn. vzorek č. 1 a vzorek č. 2) byly zality 250 ml právě vařící vody a oslazeny dvěma lžičkami cukru. U vzorku sypaného ovocného čaje (vzorek č. 3) byla zalita vroucí vodou navážka 6 gramů (tzn. 2 čajové lžičky) a čaj byl také oslazen dvěma lžičkami cukru. Vzorky ovocných čajů se nechaly volně vychladnout a za dvě hodiny byl proveden mikrobiologický rozbor. Postup byl stejný jako v předchozím bodě.

Po ukončení příslušné kultivace pro danou skupinu mikroorganismů byly spočítány na jednotlivých Petriho miskách kolonie mikroorganismů. Výsledné počty mikroorganismů pak byly uvedeny v KTJ/g (KTJ/ml). Bylo provedeno srovnání intervalů spolehlivosti jednotlivých skupin mikroorganismů, čímž jsme se snažili dokázat, zda dochází ke zvýšení (snížení) počtu mikroorganismů v závislosti na čase. Další statistickou analýzou byl Tukeyův test významnosti rozdílů, kterým jsme se snažili dokázat rozdíl v mikrobiologické kvalitě ovocného čaje z ekologikcého zemědělství, ovocného čaje porcovaného v běžném nálevovém sáčku a sypeného ovocného čaje. Dále jsme se snažili dokázat rozdíl v mikrobiologické kvalitě ovocného čaje před přípravou a hotového ovocného čaje, který byl oslazený a déle stojící.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Zjištěné hodnoty jsou uvedeny v tabulkách 1, 2 a 3 v hodnotách KTJ/g.

Tab. 1 Naměřené hodnoty jednotlivých skupin mikroorganismů u vzorku č. 1 v průběhu jeho skladování (v hodnotách KTJ/g)

Vzorek 1	CPM	Plísně	Sporulující bakterie		Koliformní bakterie
			aerobní	anaerobní	
0 den	$(3,64\pm0,08).10^2$	$(6,00\pm0,23).10^2$	$(0,20\pm0,02).10^1$	negativní	negativní
14 den	$(3,09\pm0,06).10^2$	$(3,64\pm0,10).10^2$	$(0,20\pm0,01).10^1$	negativní	negativní
28 den	$(2,72\pm0,04).10^2$	$(3,63\pm0,04).10^2$	$(0,56\pm0,04).10^1$	negativní	negativní
42 den	$(1,08\pm0,06).10^2$	$(0,36\pm0,01).10^2$	$(0,20\pm0,08).10^1$	negativní	negativní

Tab. 2 Naměřené hodnoty jednotlivých skupin mikroorganismů u vzorku č. 2 v průběhu jeho skladování (v hodnotách KTJ/g)

Vzorek 2	CPM	Plísně	Sporulující bakterie		Koliformní bakterie
			aerobní	anaerobní	
0 den	$(9,87\pm0,16).10^2$	$(7,01\pm0,11).10^2$	$(0,29\pm0,01).10^1$	negativní	negativní
14 den	$(9,34\pm0,10).10^2$	$(3,11\pm0,05).10^2$	$(0,29\pm0,01).10^1$	negativní	negativní
28 den	$(5,19\pm0,10).10^2$	$(2,33\pm0,08).10^2$	$(2,80\pm0,02).10^1$	negativní	negativní
42 den	$(2,84\pm0,06).10^2$	$(2,86\pm0,05).10^2$	$(2,80\pm0,03).10^1$	negativní	negativní

Tab. 3 Naměřené hodnoty jednotlivých skupin mikroorganismů u vzorku č. 3 v průběhu jeho skladování (v hodnotách KTJ/g)

Vzorek 3	CPM	Plísně	Sporulující bakterie		Koliformní bakterie
			aerobní	anaerobní	
0 den	$(5,00\pm0,12).10^2$	$(2,27\pm0,09).10^2$	negativní	negativní	negativní
14 den	$(3,53\pm0,09).10^2$	$(0,46\pm0,04).10^2$	negativní	negativní	negativní
28 den	$(2,61\pm0,08).10^2$	$(0,23\pm0,04).10^2$	negativní	negativní	negativní
42 den	$(0,68\pm0,02).10^2$	$(0,23\pm0,02).10^2$	negativní	negativní	negativní

Při experimentálním stanovení nebyly u žádného vzorku detekovány koliformní bakterie, které mají v potravinářské mikrobiologii význam především jako indikátorové mikroorganismy. Podle BURDYCHOVÉ, SLÁDKOVÉ (2007) jsou koliformní bakterie indikátory sekundární kontaminace potravin a správné výrobní a hygienické praxe. Maximální přípustné množství pro koliformní bakterie v ovocných čajích je 10^3 KTJ, jak uvádí dříve platná Vyhláška MZe č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.

Dále nebyly stanoveny žádné anaerobní sporulující bakterie, které by se mohly do ovocných čajů dostat zejména z půdy, jak uvádí TOMÁNKOVÁ et al., (2006). Nebyly detekovány ani kvasinky.

Závislost počtu mikroorganismů ve vzorcích ovocných čajů v průběhu skladování

U analyzovaných vzorků čajů byl zjištěn celkový počet mikroorganismů (CPM) výrazně vyšší u vzorku č. 2, tedy ovocného čaje „Brusinka“. Vyšší počet mikroorganismů u tohoto čaje byl zaznamenán po celou dobu skladování. Z výsledků jasně vyplývá, že v průběhu doby skladování v suchém, čistém prostředí bez přítomnosti světla nebyl zaznamenán nárůst mikroorganismů, naopak se jejich počet snižuje. Podle HRUBÉHO (2000) jsou mikroorganismy v sušených potravinách během skladovací doby redukovány, proto se sušení označuje jako metoda s účinky mikrobistatickými (zastavuje činnost mikrobů) a částečnými účinky mikrobicidními (ničí mikroby). Celkový počet mikroorganismů ani u jednoho vzorku nepřesahuje 10^3 KTJ/g, přípustné množství není legislativně

stanoveno. Celkový počet mikroorganismů v hotovém nápoji je výrazně ovlivněn zalitím horkou vodou při přípravě čaje.

Podle normy ČSN 56 9609 je v ovocných čajích stanoven limit pro potenciálně toxinogenní plísně *Asp. flavus* 10^3 u 5-ti vzorků, přičemž u dvou vzorků z pěti je přípustné množství 10^4 KTJ/g. Dříve platná vyhláška č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení, stanovovala u ovocných čajů pro plísně přípustnou hodnotu 10^4 KTJ/g. Ani jeden z analyzovaných vzorků čajů nedosahuje maximální přípustné hodnoty pro plísně, navíc množství plísní nepřesahuje hodnotu 10^3 KTJ/g. Množství plísní je během doby skladování výrazně redukováno, což samozřejmě souvisí s podmínkami skladování. Nejvyšší počet plísní byl zaznamenán u vzorku č. 2 (čaje „Brusinka“) a u vzorku č. 1 (čaje z ekologického zemědělství). Téměř o polovinu nižší počet plísní byl u čaje sypaného, což poukazuje na jeho výbornou kvalitu. Plísně jsou považovány za největší mikrobiální nebezpečí, jak u sušeného ovoce a léčivých rostlin, ze kterých se ovocné čaje vyrábí, tak v samotných ovocných čajích. Některé plísně mohou produkovat mykotoxiny, které mají kumulativní charakter a při dlouhodobém příjmu mohou ohrozit zdraví konzumentů.

Aerobní sporulující bakterie byly experimentálně stanoveny pouze u vzorku č.1 a u vzorku č. 2. S největší pravděpodobností se jedná o bakterie, které jsou ubikvitární a mohly se dostat do čajů ze vzduchu, nebo z povrchu ovoce, jak uvádí TOMÁNKOVÁ et. al, (2006). U obou pozitivních vzorků je prokázán nárůst počtu aerobních sporulujících bakterií během 42 dnů skladování. Největší nárůst je zaznamenán u ovocného čaje „Brusinka“. V případě ovocného čaje č. 1 došlo nejdříve k mírnému vzrůstu počtu sporulujících aerobních mikroorganismů a na konci experimentu došlo k poklesu počtu aerobních sporulujících mikroorganismů. Tyto mikroorganismy v nepříznivém prostředí vytvoří spory, které nezničí ani vroucí voda, kterou se čaj zalévá. Rizikem by pak mohlo být pití již zchlazeného, déle stojícího, oslazeného čaje, který by mohl být dobrým prostředím pro rozvoj mikroorganismů.

Všechny tři vzorky ovocných čajů byly skladovány za stejných podmínek, které odpovídají legislativním požadavkům pro skladování čajů. Lze tedy předopkládat, že rozdíly v počtech mikroorganismů jsou dány mikrobiologickou kvalitou jednotlivých vzorků, která souvisí s kvalitou suroviny a dodržováním GMP a GHP při výrobě ovocných čajů. Při porovnání jednotlivých skupin mikroorganismů u všech vzorků lze za nejkvalitnější ovocný čaj označit ovocný čaj sypaný, což potvrzuje obecné mínění spotřebitelů.

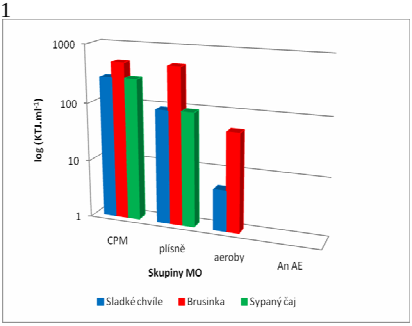
Mikrobiologická analýza hotového, oslazeného, vychladlého čaje

Tab. 4 *Naměřené hodnoty jednotlivých skupin mikroorganismů u vzorků ovocných čajů (v hodnotách KTJ/ml)*

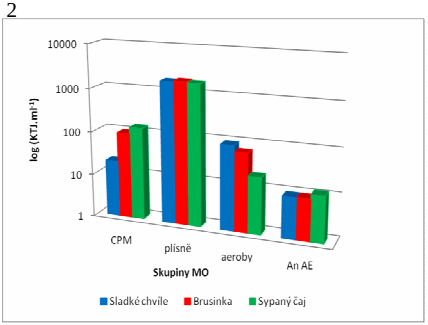
	CPM	Plísně	Sporulující bakterie		Kolifor. bakterie
			Aerobní	Anaerobní	
Sladké chvíle	$(2,0\pm0,01).10^1$	$(1,75\pm0,08).10^3$	$(9,0\pm0,01).10^1$	$(0,90\pm0,01).10^1$	negativní
Brusinka	$(9,6\pm0,01).10^1$	$(1,84\pm0,06).10^3$	$(6,5\pm0,08).10^1$	$(0,90\pm0,01).10^1$	negativní
Sypaný čaj	$(1,35\pm0,06).10^2$	$(1,75\pm0,06).10^3$	$(2,0\pm0,01).10^1$	$(1,15\pm0,01).10^1$	negativní

Graf 1 Srovnání CPM, počtů kvasinek a plísní, aerobních sporulujících bakterií a anaerobních sporulujících bakterií ve vzorcích ovocných čajů před (1) a po(2) přípravě ovocného čaje v log (KTJ/ml^{-1})

1



2



Z výsledků a grafu vidíme, jak se změnila mikroflóra ovocných čajů po jejich přípravě, oslazení a volném vychladnutí cca 2 hodiny. Horká voda, kterou se čaj zalévá, výrazně zredukovala celkové aerobní mikroorganismy (CPM) a to u všech vzorků, přibližně o jeden řád.

K největším změnám došlo v počtu plísní, kdy před přípravou ovocného čaje se jejich počet pohyboval řádově ve stovkách (10^2) KTJ a po přípravě čaje došlo k jejich výraznému zvýšení až ke dvěma tisícům (2.10^3). Podle ŠIMŮNKA (2004) mohou přelití horkou vodou vydržet zejména termorezistentní plísně, např. rod *Byssochlamys*. Termorezistentní plísně výrazně odolávají teplotám blízkým bodu varu, vydrží i přípravu čaje a proniknou do konečného výrobku.

Nedošlo k výraznému nárůstu aerobních sporulujících bakterií, pouze u vzoru ovocného čaje sypaného se před jeho přípravou neprokázala přítomnost aerobních sporulujících bakterií, kdežto po přípravě ovocného čaje bylo detekováno 11 KTJ/ml. Vzhledem k tomu, že rozbor se prováděl až 42. den po otevření, je více než pravděpodobné, že došlo v případě sypaného čaje ke kontaminaci těmito ubikvitárními mikroorganismy během manipulace.

Anaerobní sporulující bakterie nebyly před přípravou ovocných čajů detekovány u žádného ze vzorků. Naproti tomu po přípravě ovocných čajů byly tyto mikroorganismy stanoveny a to v množství kolem 10 KTJ/ml u všech vzorků ovocných čajů, jak je vidět z grafu 6. Přelití čaje horkou vodou při jeho přípravě, oslazení a pozvolné vychladnutí zřejmě způsobilo „oživení“ spor anaerobních bakterií. Nicméně se nejedná o velké množství.

U všech vzorků čajů byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v počtech mikroorganismů před přípravou ovocného čaje a po jeho přípravě. Výjimkou bylo množství CPM u čaje sypaného, kdy rozdíl nebyl statisticky průkazný. Přesto je na místě jednoznačně doporučit konzumaci ovocného čaje co nejrychleji po uvaření

ZÁVĚR

Analyzovány byly tří vzorky ovocných čajů. Jednalo se o vzorek ovocného čaje vyprodukovaného z ekologického zemědělství (vzorek č. 1), vzorek ovocného čaje v klasickém nálevovém sáčku (vzorek č. 2) a vzorek sypaného ovocného čaje (vzorek č. 3). U těchto vzorků byly

stanoveny CPM, kvasinky a plísně, koliformní bakterie a sporulující bakterie a to jak aerobní, tak anaerobní.

První část experimentálního stanovení byla zaměřena na posouzení změn počtů mikroorganismů v průběhu skladování ovocných čajů. Ovocné čaje byly skladovány po dobu 42 dnů od jejich otevření v suchém prostředí bez přístupu světla při podmínkách stanovených legislativou. V analyzovaných vzorcích ovocných čajů nebyly zjištěny vysoké počty mikroorganismů a během skladování se jejich počet snižoval.

Všechny vzorky vyhovovali požadavkům legislativy a to po celou dobu skladování. Současná legislativa vychází z Nařízení ES č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny, toto nařízení však blíže nespecifikuje mikrobiologická kritéria pro ovocné čaje. Z hlediska počtů mikroorganismů platí v současné době norma ČSN 56 9609, která stanovuje mikrobiologická kritéria pro potraviny. Tato norma uvádí pro ovocné čaje limit pro *E. coli* 10^2 KTJ u 5-ti vzorků, dále limit pro potenciálně toxinogenní plísně *Asp. flavus* 10^3 u 5-ti vzorků a *Salmonella spp.* nesmí být v čajích přítomná.

Mnoho výrobců ovocných čajů vychází z dříve platné Vyhlášky č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení, která platila v minulosti a uváděla přípustnou hodnotu pro koliformní bakterie je 10^3 KTJ, a pro plísně 10^4 KTJ.

Počty koliformních bakterií a plísní stanovované v této práci, vyhovují předepsaným limitům a všechny vzorky tedy splňují limit mikrobiologické nezávadnosti.

V práci bylo také stanoveno, zda existuje rozdíl mezi jednotlivými vzorky v mikrobiologické kvalitě a to 28. den od otevření. Protože byly všechny tři čaje skladovány za stejných podmínek, lze tedy předpokládat, že rozdíly v počtech mikroorganismů jsou dány kvalitou suroviny a dodržováním GMP a GHP při výrobě ovocných čajů. Nejmenší počet CPM, plísní a sportujících bakterií vykazoval ovocný čaj sypaný.

Další část experimentu zahrnuje porovnání mikroflóry ovocných čajů před jejich přípravou a po přípravě. Zatímco celkové počty mikroorganismů výrazně zredukuje zalití horkou vodou použitou pro přípravu čaje, počet plísní ve vychladlém a oslazeném čaji se výrazně zvýšil. Působení horké vody mohou přežívat zejména termorezistentní plísně a sporulující bakterie. Rizikem pro konzumenta by mohlo tedy být pití vychladlého, oslazeného nápoje, stojícího po delší dobu.

LITERATURA

BURDYCHOVÁ, R., SLÁDKOVÁ, P. Mikrobiologická analýza potravin. 1. vyd. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007. 218 s. ISBN 978-80-7375-116-6.

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

HRUBÝ, S. Sušení jako šetrný způsob konzervace. Výživa a potraviny. 2000, č. 2, s. 23.

MALÍŘ, F., OSTRÝ, V. Vláknité mikromycety (plísně), mykotoxiny a zdraví člověka. 1. vyd. Brno : Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotních oborů, 2003. 349 s. ISBN 80-7013-395-3.

PIECKOVÁ, E. Termorezistentní mikromycety a požívatiny [online]. 2008 [cit. 2009-04-20]. Dostupný z WWW: <http://www.chpr.szu.cz/zpravy/P199/Priloha99.htm>.

ŠIMŮNEK. Plísně a mykotoxiny [online]. 2004 [cit. 2009-04-20]. Dostupný z WWW: <http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/plisne_a_mykotoxiny.pdf>.

ŠPELINA, V, OSTRÝ, V, JECHOVÁ, M. Mikrobiologické kontaminanty v potravinách [online]. 2004 [cit. 2007-03-02]. Dostupný z WWW: <http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/studie/mikro_2003_2_deklas.pdf>.

TOMÁNKOVÁ, E., RADA, V., KILLER, J. Potravinářská mikrobiologie. 1. vyd. Praha : ČZU, 2006. 168 s. ISBN 80-213-1583-0.

ČSN ISO 6610 Všeobecné pokyny pro stanovení celkového počtu mikroorganismů.

ČSN ISO 7954 Všeobecné pokyny pro stanovení počtu kvasinek a plísní.

ČSN 56 9609, která stanovuje pravidla správné výrobní praxe a mikrobiologická kritéria pro potraviny a principy stanovení a aplikace.

Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005, o mikrobiologických kritériích pro potraviny.

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 132/2004, o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.

Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 330/1997 Sb., pro čaj, kávu a kávoviny.