

Jakość mikrobiologiczna oscypeków

ANNA BERTHOLD-PLUTA, ANTONI PLUTA, MAŁGORZATA ZANIECKA

Zakład Biotechnologii Mleka Katedry Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności Wydziału Nauk o Żywności SGGW,
ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa

Berthold-Pluta A., Pluta A., Zaniecka M.

Microbiological quality of oscypek cheeses

Summary

Among regional Polish dairy products, such as redykołka, bundz, and bryndza cheeses, the most popular one is oscypek cheese. Oscypek is a cheese produced in over a dozen districts of the mountainous Podhale region. It is obtained from raw sheep milk or a blend of sheep and cow milk mixed in appropriate proportions. Oscypek is a pasta filata type of cheese, smoked or unsmoked. The aim of the research was to evaluate the microbiological quality of oscypek cheeses produced in the Podhale region. In total, 32 samples of cheeses were examined: 16 samples of smoked cheeses and 16 samples unsmoked. The following parameters were measured: total bacteria count (TBC), most probable number (MPN \times g⁻¹) of coliform bacteria and *Escherichia coli*, MPN of *Clostridium perfringens*, and counts of yeasts and moulds. Coliform bacteria and *E. coli*, the microorganisms used as indicators of manufacturing hygiene, were present in all samples. The MPN of coliforms exceeded 10² per 1 g in 81% of the smoked oscypek cheese samples and in 88% of the unsmoked ones. *C. perfringens* spores were present in 19% of all samples, but their MPN \times g⁻¹ did not exceed 10. The presence of moulds and yeasts was established in 63% and 100% of the cheese samples, respectively. Moulds and yeasts were present in the amounts of 10-10³ and 10²-10⁵ cfu/g, respectively, in the smoked cheeses, and in the amounts of 10-10⁴ and 10³-10⁵ cfu/g, respectively, in the unsmoked cheeses. The presence of coliforms in all the oscypek samples examined indicates deficiencies in production hygiene. This was also confirmed by the considerable percentage of cheese samples contaminated with moulds and yeasts. However, the number of these microorganisms was comparable with their presence in similar cheeses produced industrially from raw sheep milk or pasteurized cow milk. In the case of oscypek cheeses, the process of smoking may lower the TBC and the number of moulds and yeasts by approx. 1 log row compared with unsmoked oscypek cheeses. However, cheese smoking does not reduce the number of coliforms, *E. coli* and *C. perfringens*.

Keywords: microbiological quality, regional sheep cheeses, pasta filata cheeses

Konsumenci coraz częściej poszukują żywności, która posiada gwarantowaną wysoką jakość, a także oryginalny smak i aromat. Wymagania te, szczególnie dotyczące jakości mikrobiologicznej, spełniane są na ogół przez produkty spożywcze otrzymywane przemysłowo. W odniesieniu do produktów regionalnych, wytwarzanych tradycyjnymi metodami, gdzie podstawowym wyróżnikiem jest oryginalny smak i aromat, bezpieczeństwo zdrowotne (mikrobiologiczne) powinno również być zapewnione. Do regionalnych polskich produktów mlecznych zaliczany jest oscypek, a także inne wyroby, tj. redykołka, bryndza czy bundz. Oscypek jest serem produkowanym z surowego mleka owczego lub mieszaniny w odpowiednich proporcjach mleka owczego i krowiego.

Od kilku lat zauważa się zwiększenie zainteresowania produktami regionalnymi, które przez swoją wyjątkowość stają się atrakcyjne dla konsumentów.

W Europie zarejestrowanych jest obecnie ponad 530 produktów o udokumentowanym pochodzeniu regionalnym. O tym, jak wielką rolę w gospodarce UE odgrywają zarejestrowane produkty regionalne, może świadczyć fakt, że wiele regionów od lat prowadzi i promuje programy skierowane na rozwój takich produktów. Oscypek jest jednym z nielicznych polskich produktów regionalnych zarejestrowanych w UE. Rejestracja dotyczy produkcji tych serów na obszarze tylko kilkunastu gmin, co, z jednej strony, jest korzystne dla tego małego rejonu, ale z drugiej strony – przy ograniczonej produkcji oscypka z tego regionu produkt ten nie ma dużych możliwości stania się rozpoznawalnym na świecie, tak jak np. ser roquefort, który w różnych odmianach wyrabiany jest na dużym obszarze 15-20% Francji, chociaż za najbardziej ceniony uważa się ten otrzymywany w gminie Roquefort-sur-Soulzon.

Czynnikami kształtującymi zanieczyszczenie mikrobiologiczne oscypków są, z jednej strony, warunki pozyskiwania mleka, stan zdrowotny owiec, warunki hodowli, jakość pasz, z drugiej – zachowanie zasad higieny w trakcie przetwarzania mleka. Produkcja serów z mleka niepasteuryzowanego, często bez dodatku specjalnej kultury starterowej (zakwasu) stwarza ryzyko rozwinięcia się w nich niewłaściwej mikroflory. Dotyczy to głównie mikroflory zanieczyszczającej, w tym bakterii z grupy *coli* oraz pleśni i drożdży. Piśmiennictwo zawiera nieliczne informacje dotyczące występowania różnych grup drobnoustrojów w oscypkach, jak i w serach dojrzewających. Należy również zauważyć, że brak jest limitów obecności mikroflory zanieczyszczającej w odniesieniu do serów podpuszczkowych, które określałyby warunki dobrej praktyki higienicznej ich produkcji. Z powyższych względów podjęto badania, których celem było określenie jakości mikrobiologicznej oscypków.

Materiał i metody

Badaniom poddano 32 próbki oscypków, w tym 16 próbek oscypków wędzonych i 16 próbek oscypków niewędzonych. Sery otrzymane były metodą tradycyjną z mleka owczego w różnych bączkach na terenie powiatu Nowy Targ. Sery po produkcji przewożono w warunkach chłodniczych do laboratorium Zakładu Biotechnologii Mleka SGGW i niezwłocznie poddawano badaniu mikrobiologicznemu. Badanie obejmowało określenie: ogólnej liczby drobnoustrojów (OLD) (pożywka PCSMA, Merck nr kat. 1.15338, 30°C/72 h) (13), najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) bakterii z grupy *coli* (bulion Brila, Merck nr kat. 1.12587, 35°C/24-48 h) (1), NPL *E. coli* (bulion Brila, Merck nr kat. 1.12587, 35°C/24-48 h) (1), NPL przetrwalników *Cl. perfringens* (pożywka TSN Agar, Merck nr kat. 1.05264, 46°C/18 h) (1) oraz liczby pleśni i drożdży metodą płytkową (pożywka YGC, Merck nr kat. 1.16000, 25°C/5 dni) (15). Próbkę oraz pierwsze i kolejne rozcieńczenia przygotowywano wg zaleceń PN-EN ISO 8261:2002 (14).

Wyniki i omówienie

Wyniki badań przedstawiono w tab. 1 i 2.

Stwierdzono, że ogólna liczba bakterii w oscypkach wędzonych mieściła się w zakresie od $5,0 \times 10^5$ do $4,6 \times 10^8$, a w niewędzonych była o jeden rząd wielkości wyższa i wynosiła od $2,2 \times 10^7$ do $5,3 \times 10^9$ jtk/g. Otrzymane wyniki OLD w dużym stopniu potwierdzają wcześniejsze nieliczne badania krajowe oscypków wędzonych, w których stwierdzano OLD w zakresie od $2,4 \times 10^8$ do $6,2 \times 10^9$ jtk/g (11) i oscypków pochodzących z handlu ulicznego na terenie Warszawy – od $1,0 \times 10^5$ do $4,9 \times 10^8$ jtk/g (3). W oscypkach z mleka owczego, krowiego, a także mieszanego bezpośrednio po produkcji OLD była na poziomie 10^8 - 10^{10} jtk/g, a po 60-dniowym przechowywaniu ulegała zmniejsze-

Tab. 1. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne badanych oscypków

Drobnoustroje (jtk/g)	Sery					
	wędzone			niewędzone		
	minimum	maximum	% próbek dodatnich	minimum	maximum	% próbek dodatnich
Ogólna liczba drobnoustrojów	$5,0 \times 10^5$	$4,6 \times 10^8$	100	$2,2 \times 10^7$	$5,3 \times 10^9$	100
Pleśnie	$1,5 \times 10$	$4,0 \times 10^3$	63	$1,0 \times 10$	$4,6 \times 10^4$	63
Drożdże	$6,5 \times 10^2$	$2,0 \times 10^5$	100	$1,5 \times 10^3$	$3,6 \times 10^5$	100

Tab. 2. Występowanie bakterii z grupy *coli*, *Escherichia coli* i *Clostridium perfringens* w badanych oscypkach (% próbek)

Drobnoustroje (NPL/g)	Sery		
	wędzone	niewędzone	
Bakterie z grupy <i>coli</i>	nieobecne w 1 g	0	0
	> 1-10	0	0
	≥ 10 - 10^2	19	12
	$\geq 10^2$	81	88
<i>Escherichia coli</i>	nieobecne w 1 g	6	0
	> 1-10	6	6
	≥ 10 - 10^2	19	19
	$\geq 10^2$	69	75
<i>Clostridium perfringens</i>	nieobecne w 1 g	81	81
	> 1-10	19	19
	≥ 10	0	0

niu do 10^6 - 10^8 jtk/g (4, 16). W badaniach zagranicznych w serach otrzymanych metodami tradycyjnymi z surowego mleka owczego stwierdzano OLD w zakresie 10^7 - 10^8 jtk/g (7, 9).

Istotne znaczenie w ocenie jakości mikrobiologicznej oscypków ma liczba drożdży i pleśni, których obecność w produktach mleczarskich świadczy o higienie produkcji. W niniejszych badaniach pleśnie w liczbie 10 - 10^3 jtk/g stwierdzono w 63% próbek serów wędzonych i w takim samym odsetku próbek serów niewędzonych w liczbie 10 - 10^4 jtk/g. Paciorek i Bonczar (11) nie stwierdziły obecności pleśni w 0,1 g żadnej z badanych próbek oscypków, natomiast Berthold i wsp. (3) wykazały obecność pleśni w 42% próbek oscypków, ale w liczbie nie przekraczającej 10^3 jtk/g.

W niniejszych badaniach obecność drożdży stwierdzono we wszystkich serach w liczbie od $6,5 \times 10^2$ do $3,6 \times 10^5$ jtk/g. Wyniki badań przeprowadzonych w Polsce we wcześniejszych latach (3, 11) wykazały obecność drożdży w zakresie 10^2 - 10^5 jtk/g. Częste występowanie drożdży w serach owczych na podobnym, a nawet wyższym poziomie (10^2 - 10^6 jtk/g) stwierdzano także w innych krajach (5, 6, 12).

Z przeprowadzonych badań wynika, że wszystkie oscypki zarówno wędzone, jak i niewędzone zawierały bakterie z grupy *coli*. NPL bakterii z grupy *coli* była wyższa od 10^2 w 1 g w 81% próbek serów wędzonych

i 87% niewędzonych. W badaniach jakości mikrobiologicznej oscypków wędzonych miano *coli* w niektórych próbkach sięgało 0,00001 (11). Bakterie z grupy *coli* stwierdzano jedynie w oscypkach świeżych (w liczbie od 10 do 10⁵ jtk/g), natomiast po 60-dniowym przechowywaniu serów brak było ich obecności w 0,1 g każdej z próbek [16]. Berthold i Ziarno [3] obecność bakterii z grupy *coli* stwierdziły w 64% próbek. W 70% serów, w których obecne były bakterie z grupy *coli*, NPL tej grupy drobnoustrojów była większa niż 10³ w 1 g. Porównując wyniki dotyczące jakości oscypków przedstawione przez innych autorów można stwierdzić, że jakość mikrobiologiczna oscypków wg wyników niniejszych badań była nieco gorsza, ponieważ bakterie z grupy *coli* były obecne we wszystkich próbkach, a w znacznym odsetku próbek (84%) NPL bakterii z tej grupy przekraczała 10² w 1 g. Jednakże porównując otrzymane wyniki z danymi publikowanymi przez autorów zagranicznych, należy zwrócić uwagę na typowość dużej częstotliwości występowania bakterii z grupy *coli* oraz ich wysoką liczebność w serach z surowego mleka owczego. Wyniki badań przeprowadzonych we Włoszech i Portugalii wykazały obecność bakterii z grupy *coli* we wszystkich próbkach, a ich liczba wahała się od 10⁴ do 10⁷ jtk/g (2, 5, 6). Należy również zaznaczyć, że w stosunkowo dużym odsetku próbek serów podpuszczkowych z mleka krowiego pasteryzowanego wyprodukowanych przemysłowo stwierdzano bakterie z grupy *coli* na poziomie 10-10⁴ jtk/g (8).

Obecność *Escherichia coli* wykryto we wszystkich próbkach serów niewędzonych i w większości serów wędzonych (94%). NPL *E. coli* wynosiła powyżej 10² w 1 g w 69% oscypków wędzonych i 75% niewędzonych. W innych badaniach oscypków (3) *E. coli* obecne były w mniejszym odsetku próbek (33%), przy czym ich NPL wahała się od 3,6 × 10⁰ do 1,1 × 10³ w 1 g. W serze Pecorino del Poro (ser z surowego mleka owczego) *E. coli* występowały w liczbie 10²-10⁵ jtk/g w większości próbek serów na początku procesu dojrzewania. Pod koniec dojrzewania serów liczba *E. coli* w większości próbek zmniejszyła się do niewykrywalnej w 0,1 g, ale w niektórych próbkach sięgała nawet 10⁴ jtk/g (5).

W niniejszych badaniach określono także występowanie w oscypkach chorobotwórczych bakterii przetrwalnikujących z gatunku *Clostridium perfringens*. NPL *C. perfringens* w żadnej z próbek serów nie przekraczała 10 w 1 g, a ich obecność stwierdzono w 19% próbek. Poziom tego zanieczyszczenia był podobnie niski, jak ma to miejsce w przypadku rynkowych serów dojrzewających. NPL *C. perfringens* stwierdzona w 21,4% serów podpuszczkowych dojrzewających nie przekraczała bowiem 1,0 w 1 g (10). Ewentualny rozwój przetrwalników z rodzaju *Clostridium*, w tym *C. perfringens* w oscypkach ograniczany jest obecnością soli oraz stosunkowo niskim pH tych produktów.

Pomimo otrzymywania oscypków z mleka surowego i stwierdzenia w wielu próbkach badanych oscypków NPL bakterii z grupy *coli* powyżej 10² w 1 g, podobnie jak pleśni i drożdży, produkty te są bezpieczne pod względem mikrobiologicznym, gdyż otrzymuje się je z silnie ukwaszonej masy serowej (pH ok. 5,0), którą dodatkowo poddaje się parzeniu w kwaśnej zalewie (serwatce) w temperaturze 65-70°C. Kwaśne środowisko i stosunkowo wysoka temperatura zaparzenia masy serowej eliminują możliwość rozwoju bakterii chorobotwórczych w oscypkach. Dodatkowo oscypki bardzo często są poddawane wędzeniu, co zabezpiecza ich powierzchnię przed rozwojem niepożądanego mikroflory. W oscypkach niewędzonych stwierdzono w większości próbek większą OLD niż w wędzonych. Dotyczyło to także stopnia zanieczyszczenia innymi drobnoustrojami. Różnice te byłyby najprawdopodobniej większe, gdyby OLD i liczebność innych drobnoustrojów oznaczano oddzielnie na powierzchni i we wnętrzu serów. W niniejszych badaniach, pomimo że oznaczenia mikrobiologiczne przeprowadzono w próbkach pobranych po usunięciu około 1 cm warstwy zewnętrznej sera, stwierdzono mniejszą liczbę badanych grup drobnoustrojów w serach wędzonych.

Podsumowanie

Obecność bakterii z grupy *coli* we wszystkich badanych próbkach oscypków świadczy o uchybieniach w zakresie higieny produkcji tych serów. Znajduje to również potwierdzenie w znacznym odsetku próbek oscypków zanieczyszczonych przez pleśnie i drożdże. Jednak liczebność tych grup drobnoustrojów była porównywalna do poziomu zanieczyszczenia podobnych serów z surowego mleka owczego, jak i serów z pasteryzowanego mleka krowiego otrzymanych przemysłowo.

Wędzenie oscypków może zmniejszać OLD oraz liczbę pleśni i drożdży o około 1 rząd logarytmiczny w porównaniu z oscypkami niewędzonymi. Natomiast w odniesieniu do bakterii z grupy *coli*, *E. coli* i *C. perfringens* wędzenie nie powoduje zmniejszenia liczebności tych bakterii.

Piśmiennictwo

1. Anon.: Microbiology Manual Merck. Darmstadt, s. 284, 484.
2. Albenzio M., Corbo M. R., Rehm S. U., Fox P. F., De Angelis M., Corsetti A., Sevi A., Gobbetti M.: Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating the curd in hot whey. Int. J. Food Microbiol. 2001, 67, 35-48.
3. Berthold A., Ziarno M.: Jakość mikrobiologiczna oscypków. Mat. Konf. Żywność regionalna w tle współczesnych trendów produkcji żywności w Polsce i w Europie. Kraków 2003, s. 66.
4. Bonczar G., Wszolek M.: Jakość mikrobiologiczna oscypków z mleka owczego, krowio-owczego i krowiego. Mat. Konf. Żywność regionalna w tle współczesnych trendów produkcji żywności w Polsce i w Europie. Kraków 2003, s. 67.
5. Caridi A., Micari P., Capparra P., Cufari A., Sarullo V.: Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. Int. Dairy J. 2003, 13, 191-200.

6. *Dahl S., Tavaría F. K., Malcata F. X.*: Relationship between flavour and microbiological profiles in Serra da Estrela cheese throughout ripening. *Int. Dairy J.* 2000, 10, 255-262.
7. *Horne J., Carpino S., Tuminello L., Rapisarda T., Corallo L., Licitra G.*: Differences in volatiles, and chemical, microbial and sensory characteristics between artisanal and industrial Piacentinu Ennese cheeses. *Int. Dairy J.* 2005, 15, 605-617.
8. *Kazimierzak A., Molska I., Nowosielska R.*: Jakość mikrobiologiczna serów podpuszczkowych dojrzewających. *Przem. Spoż.* 1999, 53, 18-20.
9. *Miguel E., Blazquez B., Onega E., Huidobro F.*: Cheeses manufactured with milk from autochthonous sheep breeds from Madrid. Physicochemical, microbiological and sensory characterization of cheese from Colmenar ewes. *Alimentaria* 2002, 39, 107-111.
10. *Molska I., Berthold A., Pakuła R., Nowosielska R., Kamola A.*: Występowanie *Clostridium* w mleku i niektórych przetworach mleczarskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2001, 26, 93-102.
11. *Paciorek A., Bonczar G.*: Jakość oszczypków z uwzględnieniem oceny mleka owczego i zętycy. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2001, 26, 103-111.
12. *Pereira-Dias S., Potes M., Marino A., Malfeito-Ferreira M., Loureiro V.*: Characterization of yeast flora isolated from artisanal Portuguese ewes cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 2000, 60, 55-63.
13. PN-A-86034-04:1993 Mleko i przetwory mleczarskie – Badania mikrobiologiczne – Ogólna liczba drobnoustrojów – Oznaczanie metodą płytkową w temperaturze 30 st. C.
14. PN-EN ISO 8261:2002 Mleko i przetwory mleczne – Ogólne zasady przygotowywania próbek, zawiesiny wyjściowej i dziesięciokrotnych rozcieńczeń do badań mikrobiologicznych.
15. PN-ISO 6611:2007 Mleko i przetwory mleczne – Oznaczanie liczby jednostek tworzących kolonie drożdży i/lub pleśni – Metoda płytkowa w temperaturze 25 st. C.
16. *Wszolek M., Bonczar G.*: Właściwości oszczypków z mleka owczego, krowiego i mieszaniny mleka krowio-owczego. *Przem. Spoż.* 2002, 56, 14-19.

Adres autora: dr inż. Anna Berthold-Pluta, ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa; e-mail: anna.berthold@wp.pl