

MONIKA WSZOLEK, GENOWEFA BONCZAR

JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA OSCYPKÓW Z MLEKA OWCZEGO, OWCZO-KROWIEGO I KROWIEGO

Streszczenie

Przeprowadzono badania mikroflory oscypeków wyprodukowanych z mleka owczego, krowiego i mieszanego w sześciu bacówkach na terenie Polski południowej. Oznaczono ogólną liczbę drobnoustrojów, liczbę bakterii kwaszących, bakterii z grupy coli, a także drożdży i pleśni w serach świeżych surowych i wędzonych oraz w serach przechowywanych przez 60 dni w folii lub ziarnie ryżu w temp. 13°C i wilgotności względnej 90%. W świeżych wędzonych serach przeprowadzono próby na obecność bakterii z rodzajów *Salmonella* i *Listeria* oraz oznaczono liczbę *Staphylococcus aureus* i jego toksyn. Stwierdzono, że głównymi drobnoustrojami występującymi w oscypekach były bakterie kwaszące. Sery świeże wędzone zawierały mniej drobnoustrojów niż świeże bezpośrednio po wytworzeniu. Zarówno pod względem liczby, jak i rodzaju występującej mikroflory stwierdzono różnice między serami pochodzącymi z różnych bacówek oraz rodzajami mleka, z którego oscypeki wyprodukowano. W serach wędzonych świeżych nie stwierdzono obecności bakterii *Listeria* ani *Salmonella*, liczba bakterii z gatunku *Escherichia coli* była niższa od granicznej dla tej grupy drobnoustrojów, natomiast liczba *Staphylococcus aureus* przekraczała nieznacznie wartość maksymalną, lecz wykonane, zgodnie z wytycznymi Dyrektywy 92/46 ECC, dodatkowe analizy oscypeków nie wykazały obecności toksyn gronkowcowych. Czas przechowywania wpłynął na zmniejszenie ogólnej liczby drobnoustrojów w serach i całkowity zanik bakterii z grupy coli.

Słowa kluczowe: mleko owcze, mleko surowe, sery, oscypek, mikroflora.

Wprowadzenie

Podstawowym wymaganiem stawianym produktom spożywczym jest ich bezpieczeństwo dla zdrowia konsumentów. Produkty spożywcze powinny charakteryzować się całkowitym brakiem mikroflory chorobotwórczej oraz możliwie najmniejszym zanieczyszczeniem innymi drobnoustrojami. Z drugiej strony wyprodukowanie niektórych przetworów spożywczych wymaga obecności drobnoustrojów. W przypadku

produkcji serów, zwłaszcza dojrzewających, drobnoustroje prowadzą fermentację laktozy, przemiany białek i tłuszczów, w wyniku czego sery uzyskują właściwy, typowy dla danego rodzaju smak zapach i strukturę [3, 11]. Aby proces dojrzewania serów przebiegał prawidłowo mikroflora właściwa powinna całkowicie dominować nad wszystkimi innymi drobnoustrojami, które mogłyby zakłócić proces dojrzewania i spowodować wady serów [11]. W celu eliminacji mikroflory chorobotwórczej, a także szkodliwej dla przebiegu procesu produkcji serów, stosuje się pasteryzację mleka. Pasteryzacja, obok korzyści wynikających z likwidacji drobnoustrojów chorobotwórczych i wegetatywnych form innych drobnoustrojów nie niszczy form przetrwalnikujących i toksyn, zmienia częściowo właściwości mleka, a przez to wyprodukowanych z niego serów [12, 20].

Obecnie większość serów wyrabianych jest z mleka poddanego pasteryzacji. Jednak w wielu krajach w dalszym ciągu surowcem do produkcji niekiedy bardzo znanych gatunków serów jest mleko surowe [9]. We Francji – kraju słynącego z dużej liczby różnych gatunków serów, z mleka surowego wytwarzane są takie sery, jak roquefort, comte, brocciu, które mają znak jakości AOC (Appellation d'Origine Contrôlée), jaki przyznaje się produktom spożywczym wysokiej jakości, wytworzonym w określonym regionie, odpowiednimi metodami.

W Polsce jednym z niewielu rodzimych serów jest oscypek, produkowany głównie na Podhalu. Przez wieki był on wyrabiany z mleka owczego, obecnie coraz częściej jest produkowany z mleka mieszanego lub krowiego, szczególnie w okresie od jesieni do wiosny, gdy owce nie są dojne. Metody wyrobu oscypków w różnych baczniach są do siebie zbliżone [12, 13]. Surowcem jest mleko surowe, dlatego sery te dotychczas nie są dopuszczone do oficjalnego handlu. Niemniej są sprzedawane na targach, placach lub w gospodarstwach. Zarówno producenci tych serów, jak i Polski Związek Hodowców Owiec i Kóz oraz inni zainteresowani, podjęli starania prawnego zastrzeżenia produkcji polskiego oscypka, jako rodzimego polskiego produktu spożywczego, tradycyjnie wytwarzanego na południu kraju. W sierpniu 2003 roku polski Urząd Patentowy wydał decyzję o oznaczeniu rejonu geograficznego wytwarzania serów zarówno o nazwie oscypek, jak i oszcypek, bundzu i buncu, aby uniknąć sytuacji zastrzeżenia nazwy tego samego produktu, ale o innej pisowni. Oficjalną nazwą zostaje nazwa regionalna „oscypek”.

Francuska organizacja GRET (The Research and Technical Exchange Group), finansowana przez francuskie Ministerstwo Rolnictwa i wspierana przez Ministra Spraw Zagranicznych Francji, we współpracy m.in. z Małopolskim Stowarzyszeniem Doradztwa Rolniczego i Katedrą Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych Akademii Rolniczej w Krakowie przystąpiła do realizacji programu „Waloryzacja oscypka”.

Jednym z początkowych etapów, które mogą doprowadzić do zalegalizowania produkcji oscypka, dopuszczenia go do oficjalnego handlu i uznania za produkt wyso-

kiej jakości, jest zbadanie mikrobiologicznej jakości aktualnie produkowanych w warunkach gospodarskich serów.

Celem niniejszej pracy była ocena jakości mikrobiologicznej oscypków produkowanych z mleka owczego, krowiego i mieszanego w kilku wybranych baczówkach.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły oscypki świeże surowe i wędzone oraz wędzone po 60-dniowym przechowywaniu w folii lub w ziarnie ryżu, wyprodukowane w sześciu baczówkach. Wybrane baczówki położone były na terenie Pienińskiego Parku Narodowego, Tatrzańskiego Parku Narodowego i poza ich terenem. Wszystkie baczówki miały dopływ prądu oraz bieżącą wodę, z wyjątkiem II baczówki, w której korzystano z wody potokowej. Baczówki były oddalone od gospodarstw, z wyjątkiem IV, która znajdowała się w gospodarstwie. Baczówki były wyposażone w podobny sprzęt do produkcji oscypków: kociołki, puciere, ferule, czerpaki, konwie, wiadra, półki. Surowcem do wyrobu oscypków w baczówkach I i II było wyłącznie mleko owcze, w baczówkach III i IV wyłącznie krowie, a w V i VI owczo-krowie (70% mleko owcze, 30% krowie). Stada owiec rasy polskiej górskiej przy baczówkach I, II, V i VI liczyły od 100 do 200 szt., a liczba krów rasy polskiej czerwonej w gospodarstwach III i IV wynosiła 4–5 szt. W czerwcu 2001 r. pobrano trzykrotnie z każdej baczówki oscypki świeże zarówno surowe (18 szt.), jak i wędzone (54 szt.), przy czym 36 serów wędzonych pozostawiono do przechowywania przez 60 dni w temp. 13°C i wilgotności względnej 90% – 18 serów przechowywano w ziarnie ryżu, a pozostałych 18 zapakowanych próżniowo w folię. Baczowicze przechowywali sery w ziarnie owsa lub żyta. Ze względu na potencjalnie lepszą jakość mikrobiologiczną ziarna ryżu, zastąpiono nim ww. ziarno.

Oscypki świeże (surowe i wędzone) oraz wędzone po 60 dniach przechowywania poddawano analizie mikrobiologicznej w laboratorium Katedry Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych Akademii Rolniczej w Krakowie, oznaczając: ogólną liczbę drobnoustrojów metodą płytkową [15, 16], liczbę bakterii kwaszących metodą płytkową według standardu IDF [6], liczbę drożdży i pleśni metodą płytkową [15, 17] oraz liczbę bakterii z grupy coli metodą płytkową [15, 18].

Ponadto w laboratorium we Francji wykonano badania mikrobiologiczne 18 świeżych wędzonych oscypków, w celu wykrycia drobnoustrojów chorobotwórczych oraz toksyn *Staphylococcus aureus*.

W serach oznaczano obecność bakterii: *Escherichia coli* [19], *Listeria monocytogenes* [22], *Salmonella* [18], *Staphylococcus aureus* [19] oraz toksyn *Staphylococcus aureus* [12].

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu komputerowego STATISTICA 5.0. Przeprowadzono wieloczynnikową analizę wariancji w celu stwierdzenia wpływu miejsca wyrobu, rodzaju mleka i czasu przechowywania na liczbę

drobnoustrojów w serach. Do obliczeń statystycznych przyjęto logarytmy liczb drobnoustrojów.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono średnie wartości liczby badanych drobnoustrojów w oscypkach świeżych surowych i wędzonych oraz wędzonych po przechowywaniu, pochodzących z 6 bacówek. Ogólna liczba drobnoustrojów w oscypkach świeżych wahała się od $2,2 \cdot 10^8$ do $1,1 \cdot 10^{10}$ j.t.k./g, w oscypkach po przechowywaniu liczba ta była mniejsza i wynosiła od $8,9 \cdot 10^6$ do $3,02 \cdot 10^8$ j.t.k./g. Jak wynika z tab. 2., główną grupą drobnoustrojów w oscypkach były bakterie kwaszące, których liczba wynosiła od $6,5 \cdot 10^6$ do $9,1 \cdot 10^9$ j.t.k./g. Liczba bakterii z grupy coli w serach świeżych wynosiła od $1 \cdot 10^1$ do $6,9 \cdot 10^4$ j.t.k./g, natomiast nie stwierdzono tych drobnoustrojów w 0,1 g serów po przechowywaniu. Obecność drożdży stwierdzono we wszystkich serach (świeżych i przechowywanych) w liczbie od $3,5 \cdot 10^3$ do $1,2 \cdot 10^7$ j.t.k./g. W świeżych oscypkach z bacówek II i IV nie stwierdzono obecności pleśni, a także w świeżych surowych z bacówki V. W pozostałych serach stwierdzono obecność pleśni rzędu $1,2 \cdot 10^1$ do $6,9 \cdot 10^3$. Moczulska [10] na początku XX wieku prowadziła badania mikrobiologiczne oscypków. Wykryła wówczas w tych serach głównie bakterie fermentacji mlekowej, a następnie bakterie peptonizujące i fermentacji masłowej. Przewaga drobnoustrojów kwaszących nad pozostałymi jest korzystna ze względu na ich rolę w przemianach zachodzących w serach w czasie dojrzewania czy przechowywania. Enzymy tych drobnoustrojów biorą udział w fermentacji laktozy głównie do kwasu mlekowego oraz w przemianach białek, prowadzących do uzyskania związków azotowych o krótszych łańcuchach niż kazeina, tworząc aromat i smak serów [3, 11]. Molska [11] uważa, że do prawidłowego dojrzewania i wytworzenia typowego smaku i zapachu sera wystarczy podpuszczka i bakterie kwaszące w ilości 10^8 do 10^9 j.t.k./g. Jak wynika z tab. 2., we wszystkich świeżych oscypkach liczba bakterii kwaszących zawierała się w tych granicach.

Niekorzystnym zjawiskiem jest występowanie w serach bakterii z grupy coli oraz pleśni. Bakterie z grupy coli powodują niewłaściwą fermentację, wady serów, a niektóre szczepy są drobnoustrojami chorobotwórczymi [3, 11]. Mogą one pochodzić z mleka, ale też z innych źródeł [11]. Jak podaje Molska [11], źródłem tych drobnoustrojów może być naturalna podpuszczka. Do produkcji badanych oscypków używano podpuszczki w proszku, stąd też zanieczyszczenie serów bakteriami z grupy coli nie mogło pochodzić z tego źródła. Bakterie z grupy coli mogą pochodzić również z solanki, gdyż w trakcie użytkowania solanki, w miarę dyfuzji składników odżywczych z sera oraz przy zmniejszeniu zawartości soli i kwasowości liczba ich wzrasta nawet do kilkudziesięciu milionów w 1cm^3 [11]. Przyczyną obecności bakterii z grupy coli mo-

gą być również zaniedbania w higienie podczas wyrobu oscypków. Badania Paciorek [13] oraz Paciorek i Bonczar [14], prowadzone w latach 1998–1999, wykazały, że w oscypkach produkowanych metodami tradycyjnymi ogólna liczba drobnoustrojów wynosiła od $3,1 \cdot 10^8$ do ponad $3 \cdot 10^{10}$ j.t.k./g, miano coli od 0,01 do 0,00001, liczba drożdży od $1,6 \cdot 10^2$ do $9,0 \cdot 10^4$ j.t.k./g i że w serach tych nie stwierdzono obecności pleśni.

Giannotti i wsp. [5] stwierdzili w serze pecorino romano obecność *E. coli* w ilości $1,1 \cdot 10^3$ j.t.k./g sera, jako wtórne zakażenia mleka po pasteryzacji. Arizcun i wsp. [1] wyizolowali z serów z mleka owczego ronal i idiazabal 282 gatunki bakterii z grupy *Enterococcus*, z których ponad 85% stanowiły *Enterococcus faecalis*. Według Baiano i Massini [2], jakość higieniczna serów produkowanych zarówno metodą gospodarczą, jak i na małą skalę przemysłową nie jest zadawalająca z powodu niedostatecznej higieny sprzętu serowarskiego.

W tab. 2. i 3. przedstawiono wyniki analizy wariancji w postaci średnich najmniejszych kwadratów logarytmów liczby drobnoustrojów w świeżych oscypkach w zależności od stosowania (lub nie) zabiegu wędzenia serów oraz w zależności od miejsca wytworzenia (bacówki) i rodzaju użytego mleka.

Proces wędzenia wpłynął w sposób statystycznie istotny na obniżenie ogólnej liczby drobnoustrojów, liczby drobnoustrojów kwaszących, liczby drożdży i bakterii z grupy coli. Istotne statystycznie różnice wystąpiły między liczbą drobnoustrojów w oscypkach z poszczególnych bacówek. Sery z bacówki III charakteryzowała największa ogólna liczba drobnoustrojów, liczba bakterii kwaszących i drożdży. Najwięcej bakterii z grupy coli stwierdzono w serach z bacówki IV, a najwyższą liczbę pleśni stwierdzono w serach z bacówki VI. Pozostaje to w ścisłym związku ze stanem higieny obserwowanym w tej bacówce. Sery z bacówki II zawierały najmniej bakterii z grupy coli oraz drożdży, nie zawierały pleśni, a pod względem ogólnej liczby drobnoustrojów i bakterii kwaszących w niewielkim stopniu ustępowały serom z bacówek V, VI i IV. Należy nadmienić, że w bacówce II nie był zainstalowany dopływ bieżącej wody, a mimo to oscypki tam wyprodukowane charakteryzowały się, w porównaniu z serami wyprodukowanymi w pozostałych bacówkach, wysoką jakością mikrobiologiczną. Brak bieżącej wody nie przeszkodził w przestrzeganiu zasad higienicznego pozyskiwania mleka i wyrobu serów. Z kolei sery produkowane w bacówce V (tab. 3) charakteryzowały się najmniejszą ogólną liczbą drobnoustrojów oraz najmniejszą liczbą drobnoustrojów kwaszących, co prawdopodobnie wynikało z zastosowania w tej bacówce nieco innej metody wyrobu oscypków niż w pozostałych bacówkach, a mianowicie dodatku do ziarna gorącej wody o temp. ok. 90°C , przez co część tych drobnoustrojów mogła ulec zniszczeniu.

Średnie wartości liczby drobnoustrojów w badanych oscypkach.
Mean counts of microorganisms in the 'oscypek' cheeses under investigation.

Gospodarstwo (bacówka) Farm (shepherd's hut)	Rodzaj sera / Type of cheese		Liczba drobnoustrojów [i.t.k./g] / Bacteria count [cfu/g]				
			ogólna total	kwaszące /lactic acid	z grupy coli/ coliforms	drożdże yeasts	pleśnie moulds
I	świeży fresh	surowy / raw	$2,1 \cdot 10^9$	$1,2 \cdot 10^9$	$1,6 \cdot 10^4$	$4,7 \cdot 10^5$	$4,8 \cdot 10^2$
		wędzony smoked	$2,1 \cdot 10^9$	$9,1 \cdot 10^9$	$4,5 \cdot 10^2$	$7,2 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^1$
	przechoowywany stored	w folii / in a vacuum package	$2,1 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^8$	nb w 0,1	$2,2 \cdot 10^5$	$3,8 \cdot 10^2$
		w ziarnie ryżu / in rice grains	$3,02 \cdot 10^8$	$2,6 \cdot 10^8$	nb w 0,1	$3,8 \cdot 10^3$	$5,9 \cdot 10^3$
II	świeży fresh	surowy / raw	$3,02 \cdot 10^9$	$2,5 \cdot 10^9$	$1,2 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^5$	0
		wędzony / smoked	$1,5 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^8$	$1,0 \cdot 10^1$	$4,4 \cdot 10^3$	0
	przechoowywany stored	w folii / in a vacuum package	$1,2 \cdot 10^8$	$7,3 \cdot 10^7$	nb w 0,1	$1,3 \cdot 10^4$	$2,7 \cdot 10^2$
		w ziarnie ryżu / in rice grains	$2,5 \cdot 10^8$	$8,3 \cdot 10^7$	nb w 0,1	$3,5 \cdot 10^3$	$9,7 \cdot 10^2$
III	świeży / fresh	surowy / raw	$1,1 \cdot 10^{10}$	$8,8 \cdot 10^9$	$3,5 \cdot 10^4$	$6,1 \cdot 10^6$	$5,2 \cdot 10^2$
		wędzony smoked	$1,1 \cdot 10^9$	$3,1 \cdot 10^9$	$4,8 \cdot 10^3$	$3,9 \cdot 10^6$	$6,1 \cdot 10^2$
	przechoowywany stored	w folii / in a vacuum package	$1,3 \cdot 10^8$	$1,1 \cdot 10^8$	nb w 0,1	$1,3 \cdot 10^5$	$7,7 \cdot 10^2$
		w ziarnie ryżu / in rice grains	$8,8 \cdot 10^7$	$6,5 \cdot 10^7$	nb w 0,1	$5,5 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^3$
IV	świeży / fresh	surowy / raw	$2,1 \cdot 10^9$	$2,03 \cdot 10^9$	$6,9 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^7$	0
		wędzony smoked	$1,5 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^9$	$6,5 \cdot 10^3$	$1,03 \cdot 10^6$	0
	przechoowywany stored	w folii / in a vacuum package	$3,1 \cdot 10^8$	$3,1 \cdot 10^8$	nb w 0,1	$2,8 \cdot 10^5$	$6,7 \cdot 10^2$
		w ziarnie ryżu / in rice grains	$2,04 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^8$	nb w 0,1	$1,7 \cdot 10^4$	$6,9 \cdot 10^3$
V	świeży fresh	surowy / raw	$1,3 \cdot 10^9$	$1,2 \cdot 10^9$	$1,9 \cdot 10^4$	$5,9 \cdot 10^5$	0
		wędzony smoked	$1,2 \cdot 10^8$	$1,02 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^2$	$3,7 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^3$
	przechoowywany stored	w folii / in a vacuum package	$8,9 \cdot 10^6$	$6,5 \cdot 10^6$	nb w 0,1	$1,5 \cdot 10^4$	$2,7 \cdot 10^2$
		w ziarnie ryżu / in rice grains	$3,9 \cdot 10^7$	$1,6 \cdot 10^7$	nb w 0,1	$6,2 \cdot 10^3$	$4,3 \cdot 10^2$
VI	świeży fresh	surowy / raw	$4,02 \cdot 10^9$	$9,9 \cdot 10^8$	$3,6 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^4$	$2,3 \cdot 10^2$
		wędzony smoked	$2,2 \cdot 10^9$	$1,8 \cdot 10^8$	$9,4 \cdot 10^3$	$2,1 \cdot 10^4$	$3,6 \cdot 10^2$
	przechoowywany stored	w folii / in a vacuum package	$2,4 \cdot 10^7$	$2,6 \cdot 10^7$	nb w 0,1	$2,61 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^3$
		w ziarnie ryżu / in rice-grains	$3,7 \cdot 10^7$	$6,02 \cdot 10^7$	nb w 0,1	$4,4 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^2$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Ser świeży surowy / fresh raw cheese; ser świeży wędzony w folii / cheese stored in a vacuum package; ser przechoowywany w ziarnie ryżu / cheese stored in rice-grains.

Średnie wartości najmniejszych kwadratów log liczby mikroflory świeżych oscypków, w zależności od miejsca wytworzenia i zabiegu wędzenia.

Mean values of the log least squares of microflora counts in fresh 'oscypek' cheeses depending on their production place and smoking procedure.

Wskaźnik / Indicator	Wartość średnia x Mean value	Błąd standardowy Standard error	Wędzenie / Smoked		Gospodarstwo (bacówka) / Farm (shepherd's hut)						
			Nie / no	Tak / yes	I	II	III	IV	V	VI	
Liczebność / Number	36	-	18	18	6	6	6	6	6	6	6
Ogólna liczba drobnoustojów Total Bacteria Count	8,89	0,12	9,37 ^c	8,41 ^c	9,32 ^{abAc}	8,79 ^{ad}	9,33 ^{deBf}	8,71 ^{be}	8,52 ^{AB}	8,67 ^{ef}	
Liczba bakterii kwaszających Lactic acid bacteria count	8,66	0,13	9,15 ^A	8,16 ^A	8,81	8,75	8,99 ^a	8,71	8,28 ^a	8,42	
Liczba drożdży Yeast count	5,23	0,19	5,49 ^d	4,97 ^d	4,37 ^{abcA}	4,27 ^{ABC}	6,46 ^{bbDE}	6,37 ^{cCFG}	4,74 ^{DF}	4,16 ^{AEG}	
Liczba pleśni Mould count	0,89	0,22	0,89	0,88	1,58 ^{ab}	0 ^{ac}	1,07	0 ^{bd}	1,00	1,66 ^{cd}	
Bakterie grupy coli Coliforms count	3,02	0,23	3,55 ^A	2,48 ^A	2,61 ^{ab}	1,15 ^{aABCD}	3,17 ^A	4,00 ^{Bb}	3,44 ^C	3,72 ^D	

A, B, C, D, E, F, G – stwierdzona statystycznie wysoka istotna różnica między średnimi oznaczonymi tymi samymi literami w rzędach ($p \leq 0,01$);

a, b, c, d – stwierdzona statystycznie istotna różnica między średnimi oznaczonymi tymi samymi literami w rzędach ($p \leq 0,05$);

A, B, C, D, E, F, G – a statistically highly significant difference between mean values designated by the identical letters in rows ($p \leq 0,01$);

a, b, c, d – a statistically significant difference between mean values designated by the identical letters in rows ($p \leq 0,05$).

Tabela 3

Średnie wartości najmniejszych kwadratów log liczby drobnoustrojów w zależności od rodzaju mleka i zabiegu wędzenia.
Mean values of the log least squares of microflora counts in 'oscypek' cheeses depending on the type of milk and smoking procedure.

Wskaźnik Indicator	Wartość średnia Mean value	Błąd standard. Standard error	Wędzenie Smoked		Rodzaj mleka / Type of milk		
			nie no	tak yes	owcze ewe's milk	krowie cow's milk	owczo-krowie/ ewe's and cow's mixed milk
Liczba podgrupy Number of the subgroup	36	-	18	18	12	12	12
Ogólna liczba drobnoust. Total bacteria count [log j.t.k./g]	8,89	0,12	9,37 ^A	8,41 ^A	9,05 ^a	9,02 ^b	8,59 ^{ab}
Liczba bakterii kwaszących Lactic acid bacteria count [log j.t.k./g]	8,66	0,13	9,15 ^a	8,16 ^A	8,78	8,85 ^a	8,35 ^a
Liczba drożdży Yeast count [lg.j.t.k./g]	5,23	0,19	5,49	4,97	4,89 ^A	6,41 ^{AB}	4,45 ^B
Liczba pleśni Mould count [log j.t.k./g]	0,89	0,22	0,89	0,88	0,79	0,54	1,33
Bakterie z grupy coli Coliforms count [log j.t.k./g]	3,02	0,23	3,55 ^A	2,48 ^A	1,88 ^{AB}	3,59 ^A	3,58 ^B

Oznaczenia jak w tab. 2. / Designations as in Tab. 2

Jak wynika z tab. 3. liczba drobnoustrojów, z wyjątkiem pleśni, była w oscypkach statystycznie istotnie zależna od rodzaju mleka. Najmniej bakterii z grupy coli stwierdzono w oscypkach z mleka owczego. Ogólna liczba drobnoustrojów, liczba drobnoustrojów kwaszących oraz liczba drożdży była najniższa w oscypkach z mleka mieszanego. Oscypki z krowiego mleka charakteryzowały się najwyższą liczbą bakterii kwaszących, drożdży oraz bakterii z grupy coli. Sposób doju owiec (od tyłu) mógłby sugerować istnienie większych możliwości zanieczyszczenia mleka niż w przypadku doju krów.

W tab. 4. przedstawiono wyniki badań świeżych, wędzonych oscypków, dotyczące obecności mikroflory chorobotwórczej i toksyn gronkowca złocistego. Liczba bakterii gatunku *Escherichia coli* była najwyższa w oscypkach z baczki VI – $9,4 \cdot 10^4$ j.t.k./g, a najniższa w serach z baczki II $1,0 \cdot 10^1$ j.t.k./g. Obecność *Staphylococcus aureus* stwierdzono w oscypkach z baczek I, II, III i V, w liczbie od $1,1 \cdot 10^4$ do $3,1 \cdot 10^4$ j.t.k./g. W oscypkach z baczek IV i VI gronkowców nie stwierdzono. W żadnym z serów nie stwierdzono bakterii z rodzaju *Salmonella* ani *Listeria*.

Tabela 4

Liczba i obecność drobnoustrojów chorobotwórczych w świeżych, wędzonych oscypkach.
The occurrence and count of pathogenic microorganisms in fresh smoked 'oscypek' cheeses.

Wyszczególnienie /Listing	Gospodarstwo (baczka) / Farm [shepherd's hut]					
	I	II	III	IV	V	VI
<i>Escherichia coli</i> [jtk/g]	$4,5 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^1$	$4,8 \cdot 10^3$	$6,5 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^2$	$9,4 \cdot 10^3$
<i>Staphylococcus aureus</i> [jtk/g]	$3,1 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^4$	nb	$1,1 \cdot 10^4$	nb
<i>Staphylococcus</i> Toksyny Toxins	nb	nb	nb	-	nb	-
<i>Salmonella</i> w/ in 1 g	nb	nb	nb	nb	nb	nb
<i>Listeria monocytogenes</i> w/in 1 g	nb	nb	nb	nb	nb	nb

Objaśnienie: / Explanatory notes:

nb – nieobecne / not present

Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 5 lipca 2002 r. określa szczegółowe kryteria mikrobiologiczne dotyczące przetworów mlecznych, w tym serów. Określa ono, że w 1 g sera z mleka surowego nie powinny być obecne bakterie z rodzaju *Salmonella* oraz z gatunku *Listeria monocytogenes*. Liczba bakterii z gatunku *Escherichia coli* była niższa od granicznej dla tej grupy drobnoustrojów, natomiast liczba *Staphylococcus aureus* przekraczała nieznacznie wartość maksymalną, lecz wykonane zgodnie z wytycznymi Dyrektywy 92/46 ECC [4] dodatkowe analizy oscypków nie wykazały obecności toksyn gronkowcowych.

Wiele krajów, m.in. Francja, w oparciu o tę Dyrektywę wydały odpowiednie zarządzenia. Obecność toksyn oznacza się w serze z mleka surowego, w którym stwierdzono wyższą od maksymalnej liczbę *Staphylococcus aureus* tj. $\geq 1 \cdot 10^4$ j.t.k./g. W żadnej z prób, w której stwierdzono wyższą od maksymalnej liczbę gronkowców, toksyn nie stwierdzono. Paciorek [13] również nie stwierdziła obecności *Salmonella* w oscypkach z mleka owczego, natomiast gronkowce były obecne w oscypkach z jednej serii badań. Tornadijo i wsp. [23] prowadzili badania dotyczące obecności gronkowców i ich toksyn w mleku kozim oraz w uzyskanym z niego skrzepie i serze. Stwierdzili oni występowanie gronkowca złocistego jedynie w skrzepie, natomiast brak tych drobnoustrojów w serze tłumaczyli niesprzyjającymi dla gronkowców warunkami w czasie dojrzewania serów: zbyt niskim pH (poniżej 5,8) i aktywnością wody od 0,90–0,93. Uważali oni, że w serach mogą pozostać jednak enterotoksyny gronkowca. Według cytowanych przez nich Noletto i Bergolla [23], enterotoksyny mogą być wyizolowane, jeśli liczba drobnoustrojów produkujących je wynosi 10^7 j.t.k./ml mleka. Obecność gronkowca złocistego w serach zarówno z mleka surowego, jak i pasteryzowanego stwierdzali również inni autorzy [7, 13].

W tab. 5. przedstawiono średnie (najmniejszych kwadratów) logarytmów liczby drobnoustrojów w oscypkach w zależności od czasu i sposobu przechowywania oraz od miejsca produkcji (bacówki). Po przechowywaniu ogólna liczba drobnoustrojów w oscypkach przechowywanych zarówno w ziarnie ryżu, jak i w folii statystycznie wysoko istotnie zmniejszyła się. Oscypki z V bacówki przechowywane w ziarnie i w folii zawierały najmniejszą ogólną liczbę drobnoustrojów oraz najmniejszą liczbę drobnoustrojów kwaszających, natomiast oscypki z bacówki I zawierały tych drobnoustrojów najwięcej. Liczba drożdży w oscypkach przechowywanych 60 dni w ziarnie zmniejszyła się w porównaniu z serami świeżymi wysoko istotnie, a w przechowywanych w folii istotnie. Najmniej drożdży stwierdzono w serach z bacówki II a najwięcej w III. Liczba pleśni po przechowywaniu zwiększyła się istotnie, szczególnie w serach przechowywanych w ziarnie. Natomiast statystycznie istotnej różnicy pod względem liczby pleśni w oscypkach między bacówkami nie stwierdzono. Sześćdziesięciodniowy okres przechowywania wpłynął na całkowity zanik w oscypkach bakterii z grupy coli, co jest rezultatem stwierdzonej roli bakterii fermentacji mlekowej w hamowaniu rozwoju bakterii z reinfekcji. Ordonez, cyt. przez Marcosa [8], stwierdził w serach produkowanych w warunkach gospodarczych na farmie wzrost liczby mikroflory kwaszającej w ciągu pierwszych dni od wyprodukowania, w następnych dniach liczba bakterii kwaszających ulegała stabilizacji, również na niezmienionym poziomie pozostawała liczba drożdży i pleśni, natomiast liczba mikrokoków i gronkowców nieznacznie się obniżała, podobnie obniżała się liczba bakterii z grupy coli aż do całkowitego zaniku. Molska [11], badając mikroflorę ementalera stwierdziła, że maksymalna liczba mezofilnych paciorkowców przypada na czas prasowania serów i wynosi wówczas 10^9 /g, po

Średnie wartości najmniejszych kwadratów log liczby drobnoustrojów w osypkach przechowywanych w folii lub w ziarnie, w zależności od miejsca wytworzenia i czasu przechowywania.

Mean values of the log least squares of microflora counts in 'osypek' cheeses stored in vacuum packages or in rice-grains, and depending on their production place and storage duration.

Wskaźnik Indicator	Przechowywanie Storage		Czas przechowywania Storing duration		Gospodarstwo (bacówka) / Farm (shepherd's hut)					
			świeże fresh	60 dni 60 days	I	II	III	IV	V	VI
	w ziarnie / in rice-grains	w folii / in a vacuum package								
Ogólna liczba drobnoustrojów Total bacteria count [log j.t.k./g]			8,41 ^K	7,90 ^K	8,86 ^{ABCDE}	8,13 ^{AFa}	8,39 ^{BGH}	8,21 ^{CU}	7,61 ^{DFGI}	7,75 ^{EHJa}
L. drobnoust. kwaszących Lactic acid bacteria count [log j.t.k./g]			8,41 ^K	7,81 ^K	8,81 ^{AaBC}	8,01 ^{Ab}	8,45 ^{DE}	8,20 ^{aFc}	7,46 ^{BbDF}	7,71 ^{CEcc}
Liczba drożdży Yeast count [log j.t.k./g]			8,16 ^H	7,74 ^H	8,59 ^{abABC}	7,92 ^{AE}	8,10 ^{aF}	8,10 ^{bG}	7,26 ^{BCEFGc}	7,73 ^{Dcc}
Liczba pleśni Mould count [log j.t.k./g]			8,16 ^H	7,66 ^H	8,50 ^{AB}	7,90 ^a	8,14 ^C	8,13 ^D	7,15 ^{AaCD}	7,65 ^B
Liczba bakterii z grupy coli Coliforms count [log j.t.k./g]			4,97 ^K	4,10 ^K	4,72 ^{ABCDab}	3,56 ^{ABF}	5,54 ^{EGHB}	5,36 ^{bcFIJ}	4,03 ^{Gla}	3,99 ^{DHJ}
			4,97 ^c	4,44 ^c	5,06 ^{Aab}	3,70 ^{ABC}	5,74 ^{BDE}	5,61 ^{CFG}	3,98 ^{aDF}	4,14 ^{bEG}
			0,88 ^A	2,19 ^A	1,32	1,11	1,68	1,36	1,86	1,90
			0,88 ^a	1,86 ^a	1,16	0,81	1,40	0,99	1,82	2,05
			2,48 ^G	0,00 ^G	1,01 ^{Aa}	0,25 ^{ACDEF}	1,18 ^{Cb}	1,88 ^{BDb}	1,41 ^E	1,73 ^{aF}
			2,48 ^D	0,00 ^D	1,01	0,25 ^{aABC}	1,18 ^a	1,88 ^A	1,40 ^B	1,72 ^C

A, B, C, D, E, F, G, H – stwierdzone statystycznie wysoko istotne różnice pomiędzy średnimi oznaczonymi takimi samymi literami w rzędach (p≤0,01)

a, b, c, d, e, f, g – stwierdzone statystycznie istotne różnice pomiędzy średnimi oznaczonymi takimi samymi literami w rzędach (p≤0,05)

A, B, C, D, E, F, G, H – statistically highly significant differences between mean values designated by the identical letters in rows (p≤0,01)

a, b, c, d, e, f, g – statistically significant differences between mean values designated by the identical letters in rows (p≤0,05)

Tabela 6

Średnie wartości najmniejszych kwadratów logarytmów liczby drobnoustrojów w osypkach przechowywanych w ziarnie lub w folii w zależności od rodzaju mleka i czasu przechowywania
 Mean values of the log least squares of microflora counts in 'oscypek' cheeses stored in vacuum packages or in rice-grains, and depending on the type of milk and storage duration

Wskaźnik Indicator	Przechowywanie Storage	Czas przechowywania Storing duration		Rodzaj mleka / Type of milk		
		świeże fresh	60 dni 60days	owcze ewe's milk	krowie cow's milk	owczo-krowie ewe's and cow's mixed milk
Ogólna liczba drobnoustrojów Total bacteria count [log j.t.k/g]	w ziarnie / in rice-grains	8,41 ^C	7,91 ^C	8,49 ^A	8,30 ^B	7,68 ^{AB}
	w folii / in a vacuum package	8,41 ^A	8,00 ^A	8,57 ^A	8,27 ^B	7,77 ^{AB}
L. drobnoustrojów kwaszających Lactic acid bacteria count [log j.t.k/g]	w ziarnie / in rice-grains	8,16 ^C	7,74 ^C	8,25 ^A	8,10 ^B	7,50 ^{AB}
	w folii / in a vacuum package	8,16 ^A	7,81 ^A	8,30 ^A	8,07 ^b	7,60 ^{Ab}
Liczba drożdży Yeast count [log j.t.k/g]	w ziarnie / in rice-grains	4,97 ^C	4,10 ^C	4,14 ^A	5,45 ^{AB}	4,01 ^B
	w folii / in a vacuum package	4,97 ^C	3,76 ^C	3,89 ^A	5,22 ^{AB}	3,97 ^B
Liczba pleśni Mould count [log j.t.k/g]	w ziarnie / in rice-grains	0,88 ^A	2,19 ^A	1,22	1,52	1,87
	w folii / in a vacuum package	0,88 ^A	2,53 ^A	1,45	1,85	1,82
Liczba bakterii z grupy coli Coliforms count [log j.t.k/g]	w ziarnie / in rice-grains	2,48 ^C	0,00 ^C	0,63 ^{AB}	1,53 ^A	1,56 ^B
	w folii / in a vacuum package	2,48 ^C	0,00 ^C	0,63 ^{AB}	1,53 ^A	1,56 ^B

A, B, C – stwierdzone statystycznie wysoko istotne różnice pomiędzy średnimi oznaczonymi takimi samymi literami w rzędach ($p \leq 0,01$) / A, B, C – statistically highly significant differences between mean values designated by the identical letters in rows ($p \leq 0,01$).

a – stwierdzone statystycznie istotne różnice pomiędzy średnimi oznaczonymi takimi samymi literami w rzędach ($p \leq 0,05$) / a – statistically significant differences between mean values designated by the identical letters in rows ($p \leq 0,05$).

kilku godzinach ich liczba maleje, natomiast rośnie liczba pałeczek mlekowych, osiągając wartość setek milionów w 1g sera, w następnym okresie dojrzewania serów ementalskich zmniejsza się również liczba pałeczek mlekowych do kilku milionów w g, natomiast wzrasta liczba bakterii propionowych. Tak więc liczba drobnoustrojów w serach nie jest stała i zależy od etapu produkcji lub dojrzewania [11].

Jak wynika z tab. 6., oscypki przechowywane 60 dni różniły się pod względem ogólnej liczby drobnoustrojów, liczby drobnoustrojów kwaszających, drożdży oraz bakterii z grupy coli statystycznie istotnie w zależności od rodzaju użytego do ich wyrobu mleka. Oscypki z mleka owczego charakteryzowały się najwyższą ogólną liczbą drobnoustrojów oraz drobnoustrojów kwaszających, natomiast najmniej w nich było pleśni i bakterii z grupy coli. Duża liczba bakterii kwaszających świadczyć może o prawidłowym przebiegu przemian w oscypkach z mleka owczego w czasie przechowywania, a mała w nich zawartość bakterii z grupy coli oraz pleśni świadczy o wyższej niż w pozostałych przypadkach higienie pozyskiwania mleka i jego przerobu.

Wnioski

1. Stwierdzono, że głównymi drobnoustrojami w oscypkach zarówno świeżych, jak i przechowywanych 60 dni były bakterie kwaszające.
2. Jakość mikrobiologiczna oscypków uzależniona była od miejsca produkcji (bawółki), rodzaju mleka (owcze, krowie, owczo-krowie), wędzenia i czasu przechowywania.
3. We wszystkich świeżych, wędzonych oscypkach nie stwierdzono obecności bakterii z rodzaju *Listeria* ani *Salmonella* i toksyn gronkowcowych, a liczba *Staphylococcus aureus* i bakterii z grupy coli była niewiele wyższa od wymagań zawartych w Dyrektywie 92/46/EEC, odnoszących się do serów produkowanych z mleka surowego.
4. Sugeruje się wprowadzenie stałego nadzoru nad pozyskiwaniem mleka i jego przerobem, co doprowadzi do produkowania całkowicie bezpiecznych dla zdrowia konsumenta oscypków z mleka surowego.

Literatura

- [1] Arizcun C., Barcina Y., Torre P.: Identification and characterization of proteolytic activity of *Enterococcus* ssp. isolated from milk and Roncal and Idiazabal cheese. Int. J. Food Microbiol., 1997, **38** (1), 17-24.
- [2] Baiano A., Massini R.: Hygiene in manufacturing of the traditional Canestrato Pugliese cheese. Scienza e Tecnica Lattiero Casearia, 1997, **48** (5), 397-408.
- [3] Cogan T.M., Daly C.: Cheese starter cultures. Cheese: chemistry, physics and microbiology, v. 1. Edited by Fox, Elsevier Applied Science, London 1987, 179-250.

- [4] Dyrektywa Rady Wspólnoty Europejskiej nr 92/46/EEC z dnia 16. VI. 1992., określająca zasady zdrowotne produkcji i wprowadzania na rynek mleka surowego, mleka poddanego obróbce termicznej oraz przetworów mlecznych.
- [5] Giannotti D., Cerri D., Rindi S.: *Escherichia coli* in ewe's milk and Pecorino cheese. *Industrie-Alimentari*, 1993, 32 (318), 846-847.
- [6] IDF Standard 194A. Oznaczanie liczby bakterii kwaszących metodą płytkową, 1997.
- [7] Litopoulou-Tsanetaki E., Manolkidis K.: Pressed cooked cheese. *Biull. of IDF*, 1986, 202, session III, 110-117.
- [8] Marcos A.: Spanish and portuguese cheese varieties. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Edited by Fox, Elsevier Applied Science, London 1987, 185-220.
- [9] Masui K., Yamada T.: *Francuskie sery*, Wyd. Wiedza i Życie, Warszawa 1997.
- [10] Moczulska L.: Studia mikrobiologiczne nad oszczypkami tatrzańskimi, *Rocz. Nauk Rol.*, 1912, 5, 1-66.
- [11] Molska I.: *Zarys mikrobiologii mleczarskiej*. PWRiL, Warszawa 1988.
- [12] CNEVA/Paris 1997: Technique d'identification et de detection des enterotoxines *Staphylococcus* dans la produits laitiers (OXOID SET RPLA).
- [13] Paciorek A.: Właściwości oszczypków produkowanych metodą tradycyjną i zmodyfikowaną, Praca doktorska, AR. Kraków 2000.
- [14] Paciorek A., Bonczar G.: Jakość oszczypków z uwzględnieniem oceny mleka owczego i żentycy, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, 1 (26), 103-116.
- [15] PN-93/A-86034/03. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne, Przygotowanie próbek i rozcieńczeń.
- [16] PN-93/A-86034/04. Ogólna liczba drobnoustrojów – oznaczanie metodą płytkową w 30°C.
- [17] PN-93/A-86034/07. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne Pleśnie i drożdże oznaczanie metodą płytkową w temperaturze 25°C.
- [18] PN-93/A-86034/08. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Bakterie z grupy coli wykrywanie obecności, oznaczenie najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) i oznaczanie liczby metodą płytkową.
- [19] PN-93/A-86034/09. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. *Escherichia coli* – wykrywanie obecności i oznaczanie najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL).
- [20] PN-93/A-86034/11. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. *Salmonella* – wykrywanie obecności.
- [21] PN-93/A-86034/13. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne *Staphylococcus aureus* (gronkowce chorobotwórcze) – wykrywanie obecności i oznaczenie najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) metodą płytkową.
- [22] PN EN ISO 11290: 1999. Mleko i Przetwory mleczarskie. Wykrywanie *Listeria monocytogenes*.
- [23] Tornadijo M.E., Fresno J., Carballo J., Sarmiento R.M.: Population levels, species, and characteristics of *Micrococaceae* during the manufacturing and Ripening of Armada-Sobado Hard Goat's Milk Cheese. *J. Food Prot.*, 1996, 59 (11), 1200-1207.

THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF 'OSCYPEK' CHEESES MADE OF EWE'S, COW'S, AND MIXED EWE'S AND COW'S MILK

S u m m a r y

A microflora of the 'oscypek' cheeses made of ewe's, cow's and mixed ewe's and cow's milk in 6 different locations (shepherd's huts) in Southern Poland was investigated. A total bacterial count, a lactic acid bacteria count, coliforms, and yeast and moulds counts were determined in the fresh raw and smoked cheeses, as well as in cheeses stored for a period of 60 days in vacuum packages or in rice-grains at a temperature of 13°C and with a relative humidity of 90%. In the fresh smoked cheeses, it was checked whether or not *Salmonella*, *Listeria*, *Staphylococcus aureus*, and its toxins were present.

In the 'oscypek' cheeses, lactic acid bacteria were the dominant microorganisms. The fresh smoked cheeses contained fewer microorganisms than the fresh ones examined directly after having been manufactured. There were significant differences both in counts and the composition of microflora in cheeses depending on their manufacturer and on the type of milk used to produce them. In fresh smoked cheeses, neither *Listeria* nor *Salmonella* were detected, and the coliform count was lower than the limiting standards as required for this species of microorganisms, whereas the *Staphylococcus aureus* count was slightly higher than the maximum allowable bacterial concentration. However, the results of an additional examination of cheeses according to 92/46 ECC did not show any occurrence of *Staphylococcus* toxins. The Total Bacterial Count decreased after the storage, and the coliforms presence was no longer detectable.

Key words: ewe's milk, raw milk, cheese, 'oscypek', microflora. ☒