

KRZYSZTOF SURÓWKA, MAGDALENA RZEPKA, IRENEUSZ MACIEJASZEK,
IWONA TESAROWICZ, AGNIESZKA ZAWIŚLAK, JOANNA BANAŚ

JAKOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO SERKÓW WĘDZONYCH WYTWARZANYCH W REGIONIE PODHAŁA

Streszczenie

Oscypek jest jednym z najlepiej rozpoznawalnych produktów regionalnych. Wraz z innymi wytwarzanymi na Podhalu produktami mleczarskimi z mleka owczego stanowi o specyfice tego regionu. Z uwagi na ograniczoną podaż mleka owczego i jego brak w okresie zimowym wielu gazdów zastępuje go mlekiem krowim. Na miejscowym rynku znajdują się zatem różnego rodzaju serki podobne do oscypków, czyli *scypki*, *łoscypki* czy *golki*. Celem pracy była charakterystyka wybranych cech jakościowych serków dostępnych w sprzedaży bezpośredniej w regionie Podhala oraz odniesienie tej charakterystyki do właściwości klasycznego oscypka, ponadto określenie, w jakim stopniu opinia o jakości oscypków może być kształtowana przez podobne do nich serki z mleka krowiego. Oprócz oceny sensorycznej przeprowadzono charakterystykę chemiczną i mikrobiologiczną. Przeanalizowano frakcje białkowe serków z wykorzystaniem chromatografii i elektroforezy oraz określono w nich zawartość amin biogennych.

Badane produkty różniły się od klasycznego oscypka, ale także wśród nich występowało duże zróżnicowanie w zakresie składu chemicznego i cech jakościowych. Może to być przyczyną braku możliwości odróżnienia prawdziwego oscypka od niektórych innych podobnych mu wyrobów wędzonych z mleka krowiego przez przeciętnego konsumenta. W opisywanych serkach poziom amin biogennych był na ogół zbliżony do dostępnych w handlu serów podpuszczkowych, ale obecność w nich bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* świadczyła o braku higieny produkcji.

Słowa kluczowe: oscypek, wędzone serki regionalne, bezpieczeństwo żywności, tekstura, frakcje białkowe, aminy biogenne

Wprowadzenie

Problematyka regionalnych i tradycyjnych produktów spożywczych dotyczy głównie zagadnień identyfikacji, oznaczania, rejestracji, promocji czy też korzyści

Prof. dr hab. K. Surówka, dr inż. M. Rzepka, dr inż. I. Maciejaszek, dr I. Tesarowicz, dr inż. A. Zawiślak, dr J. Banaś, Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: rtsuowk@cyf-kr.edu.pl

finansowych dla gospodarki regionu, natomiast w mniejszym stopniu rozważa się kwestie związane z jakością i bezpieczeństwem tych wyrobów. Wbrew powszechnie panującym opiniom w wyrobach takich możliwe jest występowanie licznych wad jakościowych, a nawet zagrożeń dla zdrowia konsumentów. W warunkach ich wytwarzania często trudniejsze jest spełnienie wymogów higienicznych i zachowanie właściwych parametrów technologicznych niż przy zastosowaniu nowoczesnych technologii [10]. Jednocześnie pojawiają się opinie, że dostosowanie produkcji takich wyrobów do wszystkich wymagań prawa żywnościowego może mieć ujemny wpływ na ich lokalny, specyficzny charakter [8]. Dlatego w ramach polityki rolnej Unii Europejskiej podjęto działania, których efektem jest ochrona pochodzenia i nazw produktów spożywczych w celu zagwarantowania ich jakości i oryginalnego charakteru oraz nadania im ochrony prawnej. W naszym kraju jednym z najlepiej rozpoznawalnych produktów regionalnych jest oscypek [9]. Wraz z innymi wytwarzanymi na Podhalu produktami mleczarskimi z mleka owczego stanowi on o specyfice tego regionu. Z uwagi jednak na ograniczoną podaż tego mleka i jego brak w okresie zimowym wielu gazdów zastępuje go mlekiem krowim. Powszechnie spotykane są zatem różnego rodzaju serki nazywane *scypkami*, *łoscypkami* czy *gołkami*, które przez przeciętnego konsumenta często uważane są za tradycyjne podhalańskie oscypki. Produkty te wytwarzane są wprawdzie na Podhalu, lecz regulacje unijne ich nie dotyczą. Gazdowie zaś zmieniają receptury i upraszczają tradycyjną technologię, czego efektem jest wprawdzie obniżenie kosztów produkcji, ale i nieokreślona ich jakość, co może prowadzić do zagrożenia zdrowia konsumentów.

Celem pracy była charakterystyka wybranych cech jakościowych wędzonych serków wytwarzanych na Podhalu przez lokalnych gospodarzy, dostępnych w sprzedaży bezpośredniej przez cały rok oraz odniesienie tej charakterystyki do właściwości typowego oryginalnego oscypka, a ponadto określenie, w jakim stopniu opinia o jakości oscypków może być kształtowana przez podobne do nich serki z mleka krowiego.

Material i metody badań

Przedmiotem badań było 20 próbek serków wędzonych z mleka krowiego wytwarzanych na Podhalu przez różnych lokalnych producentów. Jako materiał odniesienia zastosowano typowy oscypek owczo-krowi – produkt regionalny wytworzony w baczce na obrzeżach Tatrzańskiego Parku Narodowego i spełniający wszystkie parametry określone we wniosku o rejestrację Chronionej Nazwy Pochodzenia (ChNP). Bezpośrednio po wytworzeniu serki (4 ÷ 6 sztuk z każdej próby) przechowywano w temp. 10 ± 1 °C do 2 tygodni, a przed ich analizowaniem doprowadzano do temp 20 ± 1 °C, część rozdrabniano i mieszano w celu uzyskania prób reprezentatywnych.

Podstawowy skład chemiczny, kwasowość czynną i miareczkową oraz zawartość NaCl oznaczano zgodnie ze standardowymi procedurami [2]. Stopień zjełczenia tłuszczu

czów określano testem TBA [18]. Przeprowadzono również analizę sensoryczną uwzględniającą zapach, smak, konsystencję oraz wygląd ogólny i barwę [29].

Analizę frakcji białkowych wykonywano metodą stałoprądowej elektroforezy SDS-PAGE na żelu 12,5-procentowym zgodnie z procedurą Laemmliego [11] przy użyciu zestawu Hoefer Mighty Small SE 260 połączonego z jednostką zasilającą 301 EPS (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Szwecja). Przygotowanie próbek do badań polegało na homogenizacji z wodą dejonizowaną (1 : 20), a następnie rozcieńczeniu homogenatu w stosunku 1 : 1 (v/v) roztworem denaturującym (bufor Tris-Cl 0,125 mol/l o pH 6,8, 4 % – SDS, 20 % – gliceryna, 2 % – 2-merkaptanol, 0,02 % – błękit bromofenolowy) i 90-sekundowym ogrzewaniu we wrzącej łaźni wodnej oraz odwirowaniu (3000 × g, 5 min). Otrzymane elektroforegramy analizowano przy użyciu oprogramowania Image Master TotalLab (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Szwecja).

Stosunki ilościowe wolnych aminokwasów, peptydów i polipeptydów określano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Próbki zmieszane w stosunku 1 : 10 z wodą destylowaną homogenizowano, wirowano (3000 × g, 10 min), a następnie rozcieńczano w stosunku 1 : 1 (v/v) 0,1-procentowym kwasem trifluorooctowym (TFA). Po ponownym wirowaniu (3000 × g, 10 min) supernatant filtrowano przez membranowy filtr strzykawkowy MilleX-LCR13 0,5 μm (Millipore) i 50 μl filtratu wstrzykiwano na szczyt kolumny chromatograficznej. Stosowano chromatograf LaChrom (Merck-Hitachi, Darmstadt, Niemcy) składający się z interfejsu (Model D-7000), pompy gradientowej (L-7000), termostatu (L-7350), autosamplera (L-7250) oraz detektora diodowego (L-7450). Używano kolumny WP 300 RP-18 LiChroCART 250-4 (Merck, Darmstadt, Niemcy) pracującej w temp. 30 °C. Eluent A stanowił 0,1-procentowy roztwór TFA w wodzie, a eluent B – 0,07-procentowy roztwór TFA w wodzie i acetonitrylu (100 : 900). Czasowa zmiana gradientu przebiegała następująco: 100 % A przez 10 min i 100 → 34 % A przez 105 min. Detekcję prowadzono przy λ = 220 nm. Poszczególne frakcje aminokwasowe, peptydowe i polipeptydowe zidentyfikowano na podstawie wzorców i danych literaturowych [6]. Większość wolnych aminokwasów i innych substancji niskocząsteczkowych była eluowana w ciągu 2,7 ÷ 8,0 min, peptydów (< 3000 Da) – w ciągu 8 ÷ 85 min, natomiast polipeptydów (> 3000 Da) – po 85 min. Czasy retencji tyrozyny, fenyloalaniny i tryptofanu wynosiły odpowiednio [min]: 9,8, 18,3 i 28,3.

Oznaczanie amin biogennych prowadzono metodą HPLC. Próbki sera homogenizowano z 6-procentowym kwasem trichlorooctowym (TCA) (1 : 4), a następnie wirowano (3000 × g, 15 min), supernatant sączone i pobierano do derywatywacji, która polegała na przekształceniu w środowisku zasadowym amin biogennych znajdujących się w próbce w N-benzamidy zgodnie z reakcją Schottena-Baumanna, według procedury opisanej przez Özoğulu i wsp. [17]. Rozdziały prowadzono przy użyciu kolumny

ACE 3 C18, 150 × 4,6 w temp. 30 °C z detekcją przy $\lambda = 254$ nm, posługując się chromatografem Merck-Hitachi LaChrom (Darmstadt, Niemcy) w konfiguracji opisanej powyżej.

Ogólną liczbę bakterii mezofilnych oznaczano na podłożu PCA. Próbki inkubowano w temp. 30 °C przez 72 h [21]. Liczbę mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej określano metodą płytkową na podłożu MRS po 72-godzinnej inkubacji w 30 °C [25]. Drobnoustroje psychrotrofowe oznaczano na podłożu PCA metodą płytkową na podstawie liczenia kolonii, które wyrosły w temp. 7 °C po 10 dniach [26]. Drożdże i pleśnie izolowano po posiewach na podłożu agarowym z chloramfenikolem i 5 dniach inkubacji w temp. 25 °C [22]. Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* oznaczano metodą płytkową na podłożu VRBG po inkubacji w temp. 37 °C trwającej 24 h [20]. Obecność *Listeria monocytogenes* i *Salmonella* badano według procedur zawartych w odpowiednich normach [23, 24]. Odczynniki i podłoża do badań mikrobiologicznych pochodziły z firmy BIOCORP Polska Sp. z o.o.

Analizy wykonano w trzech powtórzeniach. Obliczenia statystyczne uzyskanych danych, obejmujące podstawowe statystyki opisowe i korelacje, przeprowadzono przy użyciu programu CSS. Statistica wersja 9,1, Statsoft, Inc.

Wyniki i dyskusja

Serki wędzone pochodzące z regionu Podhala charakteryzowały się zróżnicowanym kształtem, wymiarami i składem (tab. 1). Były one walcowate z zaokrąglonymi końcami, a także jednostronnie lub dwustronnie stożkowe, podobnie jak tradycyjne oscypki. Ich cechą charakterystyczną były zdobienia powierzchni bocznej będące efektem stosowania form. Typowy oscypek powinien mieć masę w zakresie od 600 do 800 g i długość 17 ÷ 23 cm [4]. Średnie wartości tych parametrów w przypadku serków były znacznie mniejsze, a jedynie 4 spośród badanych próbek zawierały się w powyższych zakresach. Również 1/3 z nich nie spełniała standardów sera gazdowskiego (długość 6 ÷ 15 cm, masa 300 ÷ 600 g) [12]. W badaniach własnych stwierdzono korelację pomiędzy masą a długością i średnicą serków ($r = 0,87$ i $r = 0,83$, $p < 0,05$). Ich cechą charakterystyczną była większa niż w oscypkach zawartość wody, a mniejsza – białka i tłuszczu, chociaż zawartość tego ostatniego w suchej masie próbek była podobna i wynosiła ok. 49 %. Tłuszcz ten nie wykazywał oznak zjełczenia, co stwierdzono na podstawie testu z kwasem 2-tiobarbiturowym (TBA). Znamienne było występowanie dużego zróżnicowania w podstawowym składzie chemicznym poszczególnych próbek, a różnice pomiędzy wartościami maksymalnymi i minimalnymi przekraczały 20 % wartości średnich. Stwierdzono istotne korelacje pomiędzy zawartością wody oraz białka i tłuszczu ($r = -0,69$ i $r = -0,78$, $p < 0,05$), a także chlorku sodu i związków mineralnych w postaci popiołu ($r = 0,92$, $p < 0,05$).

Wszolek i Bonczar badały wskaźniki jakościowe oscypków pochodzących z różnych bacówek i stwierdziły, że produkty te zawierały średnio ok. 2,5 % soli [29]. W badaniach własnych prawie wszystkie serki zawierały średnio o ok. 0,6 % NaCl więcej od wyników uzyskanych przez wymienione autorki (tab. 1). Zaobserwowano jednocześnie znaczne różnice pod względem zawartości soli pomiędzy badanymi produktami, wyrażające się współczynnikiem zmienności wynoszącym 20 %. Nadmierna zawartość soli, jak również zróżnicowane wartości pH oraz kwasowości istotnie wpływały na smak serków. W profilu smakowym dominowały nuty słona oraz w większości przypadków – kwaśna. W ośmiu próbkach ta ostatnia cecha była tak nasiloną, że mogła być przyczyną obniżenia akceptacji konsumenckiej, a dodatkowo w przypadku dwóch odnotowano zdecydowanie niedopuszczalny gorzki smak. Serki te charakteryzowały się też drażniącym zapachem. W większości pozostałych próbek zapach był do zaakceptowania, ale tylko w przypadku pięciu mógł być uznany za atrakcyjny. Jak wykazali Majcher i wsp. [14] na aromat wędzonego oscypka składają się 54 lotne związki chemiczne pochodzące z mleka, powstające w wyniku procesów biochemicznych i będące efektem wędzenia. Inne sery wędzone mają tych związków mniej. Wszystkie analizowane serki charakteryzowały się barwą żółtą, ale z bardzo zróżnicowanymi odcieniami od białozółtego do pomarańczowobrazowego. Trzy spośród nich były zabrudzone z zewnątrz, co świadczy negatywnie o warunkach ich wytwarzania.

Tabela 1. Podstawowa fizyczna i chemiczna charakterystyka serków wędzonych z regionu Podhala oraz oscypka

Table 1. Basic physical and chemical profile of smoked cheeses from the Podhale region and of oscypek

Produkt Product	Długość Length [cm]	Średnica Diameter [cm]	Masa Weight [g]	Woda Water [%]	Białko Protein [%]	Tłuszcz Fat [%]	Popiół Ash [%]	NaCl	pH	Kwasowość Acidity [°SH]	TBA [mg MDA/kg]	
Serki Cheeses	\bar{x}	12,3	6,55	395,9	43,90	23,87	27,81	4,82	3,11	5,35	56,8	0,86
	s/SD	3,17	1,09	134,7	3,26	1,94	2,96	0,42	0,62	0,43	28,7	0,36
	Min	10,0	5,0	273	38,10	21,16	23,80	4,34	2,34	4,81	12,7	0,25
	Max	21,0	8,5	729	48,22	27,34	32,77	5,19	4,23	6,16	109,3	1,27
Oscypek	22,0	9,0	750	31,2	30,1	33,6	5,6	3,17	5,16	89,3	0,58	

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 20

Białka i przemiany frakcji białkowych w decydującym stopniu wpływają na charakterystykę serów. Na elektroforegramach SDS-PAGE białek serków i oscypka stwierdzono obecność 14 frakcji, które bardzo nieznacznie różniły się masami cząsteczkowymi, ale ich względny udział wyrażony jako stosunek powierzchni pod danym pikiem do powierzchni pod wszystkimi był bardziej zróżnicowany (tab. 2).

Szczególnie dotyczyło to frakcji kazeinowych α -s-1, α -s-2 i β oraz β -laktoglobuliny, w mniejszym stopniu α -laktoalbuminy. Może to wynikać z indywidualnych różnic w technice wytwarzania serków i oscypka, ale znaczenie ma zapewne także niejednakowy pod względem ilościowym skład mleka krowiego i owczego [15]. Na etapie pozyskiwania mleka, jego przygotowywania do produkcji, a także podczas wytwarzania serów i późniejszego składowania zachodzą procesy proteolityczne, których efektem jest powstawanie peptydów i wolnych aminokwasów o istotnym znaczeniu dla

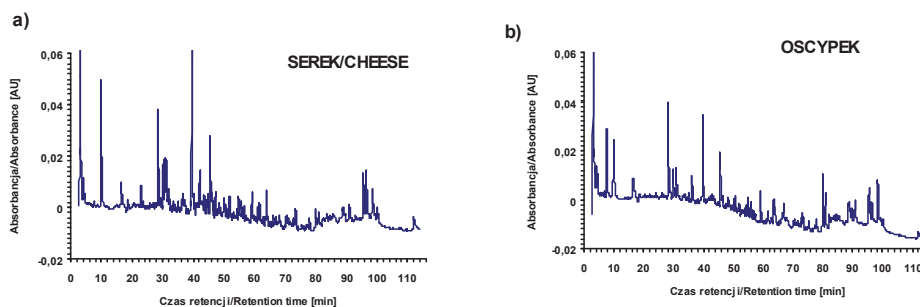
Tabela 2. Udział frakcji białkowych w serkach wędzonych z regionu Podhala i w oscypku
Table 2. Percent content of protein fractions in smoked cheeses from the Podhale region and in oscypek

Białko Protein	Serki wędzone / Smoked cheeses		Oscypek	
	Masa cząsteczkowa Molecular weight [kDa]	Udział frakcji białkowych Percent content of protein fractions [%]	Masa cząsteczkowa Molecular Weight $\times 10^3$ [Da]	Udział frakcji białkowych Percent content of protein fractions [%]
Laktoferyna Lactoferrin	73,5	0,34	78,1	0,19
α -s-2-kazeina α -s-2-casein	32,5	1,20	33,2	4,37
α -s-1-kazeina α -s-1-casein	31,4	21,13	32,1	28,9
β -kazeina β -casein	28,6	43,79	29,8	36,2
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	24,8	2,30	26,4	3,35
κ -kazeina κ -casein	22,0	2,38	22,8	1,72
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	20,9	2,19	21,1	1,41
γ -kazeina γ -casein	20,5	1,68	20,4	0,94
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	20,2	1,30	20,2	0,35
β -laktoglobulina β -lactoglobulin	18,7	1,08	18,9	2,49
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	15,1	9,39	15,9	11,18
α -laktoalbumina α -lactoalbumin	14,0	4,44	14,3	3,52
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	13,4	5,49	13,6	3,25
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	13,0	3,30	13,1	2,13

smaku. W celu ich scharakteryzowania przeprowadzono rozdziały metodą HPLC. Typowe chromatogramy substancji pochodzenia białkowego z serków i oscypka przedstawiono na rys. 1., a ich charakterystykę – w tab. 3. Najliczniejszą (liczba pików) i występującą w największej ilości (powierzchnia pod pikami) grupą związków były peptydy (m.c.z. $< 3 \times 10^3$ Da). Ich liczba w badanych serkach zawierała się w przedziale $41 \div 51$ i była wyraźnie większa niż w przypadku typowego oscypka. Powierzchnia na chromatogramach zajęta przez te piki również była większa w przypadku serków. W odróżnieniu od tego średnia liczba pików reprezentujących polipeptydy (m.c.z. $> 3 \times 10^3$ Da) w obu rodzajach sera okazała się jednakowa, a średnie powierzchnie były zbliżone do siebie, chociaż rozrzut w przypadku serków był znaczny (wsp. zmienności = 0,37). Z kolei względny udział wolnych aminokwasów oprócz tyrozyny i fenyloalaniny w oscypku był większy. Związki te, będące prekursorami amin biogennych, mogą występować w niektórych serach nawet na poziomie przekraczającym 5000 mg/kg s.m. [19]. W środowisku lekko kwaśnym, typowym dla serków podhalańskich, szczególnie łatwo mogą one ulegać enzymatycznej dekarboksylacji do amin biogennych [13]. Ogólnie można stwierdzić, że kształty chromatogramów wędzonych serków podhalańskich dość znacznie różniły się między sobą, szczególnie w zakresie odpowiadającym peptydom (< 3000 Da) i zawierały one więcej pików niż typowy oscypek. Ze względu na znaczną aktywność niskocząsteczkowych substancji pochodzenia białkowego w kształtowaniu cech sensorycznych ich zawartość i wzajemne relacje mogą mieć istotne znaczenie dla smaku badanych produktów.

Doceniając korzyści dla lokalnych społeczności wynikające z promowania typowej dla nich żywności, nie należy pomijać zagadnień związanych z bezpieczeństwem produktów. Priorytetem jest bezpieczeństwo mikrobiologiczne żywności, które w przypadku serów, głównie spożywanych z pominięciem obróbki termicznej, jest szczególnie ważne. Na podstawie analiz mikrobiologicznych (tab. 4) wykazano, że badane serki spełniają podstawowe wymagania prawne [31], gdyż nie występują w nich *Listeria monocytogenes* i *Salmonella*. W produkcie o najniższym stopniu zanieczyszczenia mikrobiologicznego stwierdzono ogółem $5,3 \cdot 10^7$ jtk/g, a maksymalna liczba bakterii w badanych serkach była stukrotnie wyższa. Są to wartości zbliżone do stwierdzonych przez Wszolek i Bonczar [30] w oscypkach. Znaczącą grupę drobnoustrojów w badanych serkach, jak i w oscypku, stanowiły bakterie kwasu mlekowego, których liczba korelowała z ogólną liczbą bakterii ($r = 0,63$, $p < 0,05$). W badanych produktach zaobserwowano o pięć rzędów mniejszą populację psychrotrofów. Na podobnym poziomie kształtowała się średnia liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. W tym przypadku wystąpiła jednak duża różnica (o cztery cykle logarytmiczne) pomiędzy produktem o największym i najmniejszym zanieczyszczeniu tymi bakteriami. Alegria i wsp. [1] wykazali, że zanieczyszczenie tym typem bakterii w oscypkach mieściło się w podobnym zakresie jak w niniejszej pracy. Inni autorzy [7] informują,

że w serach pasterskich wytwarzanych we włoskich Alpach zanieczyszczenie mikrobiologiczne bakteriami z grupy coli wynosi aż $7,0 \cdot 10^7$ jtk/g, a *Escherichia coli* do $1,7 \cdot 10^6$ jtk/g. Liczba drożdży w badanych serkach była bardzo niska w porównaniu z danymi uzyskanymi przez Wszolek i Bonczar [30], ale zawierały one wyraźnie więcej pleśni.



Rys. 1. Chromatogramy HPLC ekstraktów trifluorooctowych substancji pochodzenia białkowego z serków wędzonych z regionu Podhala i z oscypeków

Fig. 1. HPLC chromatograms of extracts of TFA soluble proteinaceous substances from smoked cheeses from Podhale region and from oscypek

Tabela 3. Charakterystyka chromatogramów HPLC ekstraktów substancji pochodzenia białkowego z serków wędzonych z regionu Podhala i z oscypeków

Table 3. Profile of HPLC chromatograms of extracts of proteinaceous substances from smoked cheeses from Podhale region and from oscypek

Produkt Product		Powierzchnia / Area [%]				Peptydy / Peptides (<3000 Da)		Polipeptydy Polypeptides (>3000 Da)	
		Aminokwasy Amino acids	Tyrozyna Tyrosine	Fenylalanina Phenylalanine	Tryptofan Tryptophan	Liczba pików Number of peaks	Powierzchnia względna Relative area [%]	Liczba pików Number of peaks	Powierzchnia względna Relative area [%]
Serki Cheeses	\bar{X}	10,3	11,3	1,0	5,6	45	56,1	8	15,7
	s/SD	4,4	7,0	1,0	2,7	3,2	7,4	1,4	5,8
	Min	7,9	6,0	0	1,9	41	50,8	6	9,1
	Max	21,4	25,2	3,1	9,4	51	63,1	9	22,0
Oscypek		18,3	5,9	0,6	7,3	34	50,9	8	17,0

Wprawdzie średnie zanieczyszczenie mikroflorą serków podhalańskich nie odbiegało znacząco od stwierdzonego w oscypku (tab. 4), jednak niepokój może budzić

duże zróżnicowanie liczby drobnoustrojów wśród badanych próbek i obecność na dość wysokim poziomie bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w wielu z nich.

Tabela 4. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne [jtk/g] wędzonych serków z regionu Podhala i oscypek
Table 4. Microbial contamination [CFU/g] of smoked cheeses from Podhale region and of oscypek

Produkt Product	Ogólna liczba bakterii Total aerobic colony count	Bakterie kwasu mlekowego Lactic acid bacteria	Bakterie psychrotrofowe Psychrotrophic bacteria	<i>Enterobacteriaceae</i>	Drożdże Yeast	Pleśnie Moulds	
Serki Cheeses	\bar{x}	$5,1 \cdot 10^8$	$1,7 \cdot 10^8$	$8,3 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^3$	$4,2 \cdot 10^5$
	s/SD	$4,0 \cdot 10^8$	$1,8 \cdot 10^8$	$2,9 \cdot 10^3$	$2,3 \cdot 10^4$	$4,5 \cdot 10^3$	$6,4 \cdot 10^5$
	Min	$5,3 \cdot 10^7$	$1,6 \cdot 10^7$	$4,4 \cdot 10^2$	$4,1 \cdot 10^1$	0	$2,8 \cdot 10^3$
	Max	$1,2 \cdot 10^9$	$5,9 \cdot 10^8$	$3,7 \cdot 10^4$	$8,7 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^4$	$1,9 \cdot 10^6$
Oscypek	$1,8 \cdot 10^8$	$2,2 \cdot 10^7$	$5,0 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^2$	$9,8 \cdot 10^4$	

Niektóre gatunki bakterii, w tym *Enterobacteriaceae* i bakterie mlekowe, wykazują zdolność dekarboksylacji aminokwasów i oprócz innych czynników mogą powodować gromadzenie się w serach amin biogennych [13, 19]. W innych badaniach naukowych wykazano obecność tych związków w serach [13, 16, 27], a z uwagi na to, że są one substancjami o szkodliwym działaniu dla zdrowia człowieka w niniejszej pracy określono ich poziom w serkach podhalańskich (tab. 5). Spośród 8 oznaczanych amin w niektórych próbkach nie wykryto tryptaminy, fenyloalaniny i histaminy. Średni poziom tej ostatniej wynosił ok. 25 mg/kg, a w żadnym z serków jej zawartość nie przekraczała 50 mg/kg. Przy typowej porcji spożywanego serka, nieprzekraczającej zwykle 100 g, nie istnieje więc niebezpieczeństwa przekroczenia spożycia wraz z tym serkiem histaminy w ilości większej niż 50 mg/osobę/posiłek, która uznawana jest przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) za niemającą szkodliwego wpływu na zdrowych ludzi [5]. Jednakże wśród osób wykazujących nietolerancję histaminy nawet małe jej ilości mogą wywoływać poważne problemy zdrowotne. Jest to szczególnie niebezpieczne, jeśli histaminie towarzyszą inne aminy, a szczególnie putrescyna, kadaweryna i tyramina [3]. Taki przypadek dotyczy badanych serków. Średnie zawartości wyżej wymienionych amin są wyraźnie większe od pozostałych, a ponadto w niektórych produktach indywidualna zawartość amin była szczególnie duża. Pinho i wsp. [19] w tradycyjnym portugalskim serze Terrincho z mleka owczego stwierdzili wprawdzie małą zawartość histaminy, ale wykazali, że dominującymi aminami były putrescyna, kadaweryna i tyramina, których ilość wzrastała w miarę dojrzewania sera. EFSA [5] podaje, że dla osób leczonych inhibitorami monoaminooksydazy (MAOI) 3.

generacji zawartość tyraminy na poziomie 50 mg/kg może już mieć szkodliwy wpływ na zdrowie.

Tabela 5. Zawartość amin biogennych w serkach wędzonych z regionu Podhala i w oscypkach [mg/kg]
Table 5. Content of biogenic amines in smoked cheeses from Podhale region and in oscypek [mg/kg]

Produkt Product		Putrescyna Putrescine	Kadaweryna Cadaverine	Tyramina Tyramine	Tryptamina Tryptamine	Fenyletylo- amina Phenylethyl- amine	Histamina Histamine	Spermina Spermine	Spermidyna Spermidine
Serki Cheeses	\bar{x}	170	36,4	104	1,4	6,6	23,3	13,2	1,4
	s/SD	42,8	11,4	83	1,3	4,8	17,1	3,7	0,9
	Min	2	1,6	21	nd	nd	nd	6,4	0,6
	Max	298	78,0	402	4,4	16,1	49,3	17,2	3,4
Oscypek		42	12,2	49	1,2	2,7	2,7	4,2	2,8

nd – nie wykryto / not detected

Wszystkie badane serki podhalańskie zawierały ilości amin biogennych typowe dla tego rodzaju produktów. Średnia sumaryczna ich zawartość wyniosła 356,3 mg/kg, a sumy wartości minimalnych i maksymalnych były równe odpowiednio: 31,6 oraz 868,4 mg/kg. W dojrzewających serach z mleka owczego niepasteryzowanego pochodzących z Toskanii stwierdzono obecność amin biogennych na poziomie przekraczającym nawet 1000 mg/kg [28]. Warto także nadmienić, że rozmieszczenie amin biogennych w serach nie jest równomierne i więcej jest ich na ogół w części centralnej niż przy powierzchni [30].

Wnioski

1. Serki wędzone z mleka krowiego produkowane na Podhalu i dostępne w sprzedaży bezpośredniej charakteryzują się dużym zróżnicowaniem składu chemicznego i cech jakościowych. Chociaż liczba drobnoustrojów w tych produktach nie przekracza poziomu normatywnego, to jednak obecność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* świadczy o braku higieny wytwarzania.
2. Frakcje białkowe podhalańskich serków wędzonych i typowego oscypka tylko nieznacznie różnią się masami cząsteczkowymi, ale ich proporcje są odmienne. Inna też, wyraźnie większa w serkach, jest liczba peptydów o m.cz. < 3000 Da.
3. Opisywane produkty nie stanowią zagrożenia dla zdrowych konsumentów ze względu na stwierdzoną obecność w nich amin biogennych, ale niektóre z nich mogą być niebezpieczne dla osób wykazujących nietolerancje tyraminy i histaminy lub przyjmujących określone grupy leków.

4. W powszechnej świadomości turystów odwiedzających Podhale wytwarzane tam serki wędzone często postrzegane są jako oscypki. Jak jednak wykazano w badaniach, serki te znacząco różnią się od oscypków, stąd opinia konsumentów o klasycznych oscypkach może być niekiedy zniekształcana przez te produkty.

Literatura

- [1] Alegria A., Szczesny P., Mayo B., Bardowski J., Kowalczyk M.: Biodiversity in oscypek, a traditional Polish cheese, determined by culture-dependent and -independent approaches. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, **78** (6), 1890-1899.
- [2] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official Methods of Analysis* (15th Ed.). Arlington, VA, 1990.
- [3] Chu C.H., Bjeldanes L.F.: Effect of diamines, polyamines and tuna fish extracts on the binding of histamine to mucin *in vitro*. *J. Food Sci.*, 1981, **47**, 79-88.
- [4] EC. Commission Regulation No 127/2008 of 13 February 2008 entering a designation in the register of protected designations of origin and protected geographical indications (Oscypek (PDO)) OJ L 40, 14.2.2008, p. 5.
- [5] EFSA. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA J.*, 2011, **9**, 2393.
- [6] Fik M., Surówka K., Firek B.: Properties of refrigerated ground beef treated with potassium lactate and sodium diacetate. *J. Sci. Food Agric.*, 2008, **88**, 91-99.
- [7] Innocente N., D'Agostin P., Corradini C.: Presence of biogenic amines in cheese produced in the mountains. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 2001, **52** (5), 325-332.
- [8] Jordana J.: Traditional foods: Challenges facing the European food industry. *Food Res. Int.*, 2000, **33**, 147-152.
- [9] Kędzierska-Matysek M., Florek M., Skąlecki P., Litwińczuk A., Chruścicki A.: A comparison of the physicochemical characteristics of the regional cheese Oscypek and the traditional cheese Gazdowski from the Polish Podhale. *Int. J. Dairy Technol.*, 2014, **67** (2), 283-289.
- [10] Kołożyn-Krajewska D.: Bezpieczeństwo zdrowotne produktów tradycyjnych. W: *Tradycyjne i regionalne technologie oraz produkty w żywieniu człowieka*. Red. Z.J. Dolatowski i D. Kołożyn-Krajewska. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2008, ss. 59-72.
- [11] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature*, 1970, **227**, 680-685.
- [12] Lista Produktów Tradycyjnych. [online]. MRiRW. Dostęp w Internecie [24.09.2015]. <http://www.minrol.gov.pl/pol/Jakosc-zywnosci/Produkty-regionalne-i-tradycyjne/Lista-produktow-tradycyjnych/woj.-malopolskie/Ser-gazdowski-golka-pucok-kara>
- [13] Loizzo M.R., Menichini F., Picci N., Puoci F., Spizzirri U.G., Restuccia D.: Technological aspects and analytical determination of biogenic amines in cheese. *Trends Food Sci. Technol.*, 2013, **30**, 38-55.
- [14] Majcher M.A., Goderska K., Pikul J., Jeleń H.H.: Changes in volatile, sensory and microbial profiles during preparation of smoked ewe cheese. *J. Sci. Food Agric.*, 2011, **91** (8), 1416-1423.
- [15] Martín T.M., Caballer B.H., Lizana F.M., Mendiola R.G., Montaña P.P., Cano M.S.: Selective allergy to sheep's and goat's milk proteins. *Allergol. Immunopathol.*, 2004, **32** (1), 39-42.
- [16] Novella-Rodríguez S., Veciana-Nogués M.T., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carou M.C.: Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. *J. Food Sci.* 2003, **68** (3), 750-755.

- [17] Özoğul F., Taylor K.D.A., Quantick P., Özoğul J.: Biogenic amines formation in Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2002, **37**, 515-522.
- [18] Pikul J., Leszczyński D.E., Kummerow F.A.: Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.*, 1989, **37** (5), 1309-1313.
- [19] Pinho O., Pintado A.I.E., Gomes A.M.P., Pintado M.M.E., Malcata F.X., Ferreira I.M.P.: Interrelationships among microbiological, physicochemical, and biochemical properties of Terrincho cheese, with emphasis on biogenic amines. *J. Food Prot.*, 2004, **67** (12), 2779-2785.
- [20] PN-A-04023:2001. Mikrobiologia żywności. Wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*.
- [21] PN-EN ISO 4833-1:2013-12. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Część 1: Oznaczanie liczby metodą posiewu zalewowego w temperaturze 30 stopni C.
- [22] PN-ISO 6611:2007. Mleko i przetwory mleczne. Oznaczanie liczby jednostek tworzących kolonie drożdży i/lub pleśni. Metoda płytkowa w temperaturze 25 stopni C.
- [23] PN-EN ISO 6579:2003/A1:2007. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp.
- [24] PN-EN ISO 11290-2:2000/A1:2005 Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes*. Metoda oznaczania liczby.
- [25] PN-ISO 15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30 stopni C.
- [26] PN-ISO 17410:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych.
- [27] Reys A., Wiśniewska K., Grzeškiewicz A., Jankowska A.: Aminy biogenne w serach dojrzewających. *Przem. Spoż.*, 2011, **65** (10), 38-42.
- [28] Torracca B., Nuvoloni R., Ducci M., Bacci C., Pedonese F.: Biogenic amines content of four types of „pecorino” cheese manufactured in Tuscany. *Int. J. Food Prop.*, 2015, **18** (5), 999-1005.
- [29] Wszolek M., Bonczar G.: Właściwości oszcypków z mleka owczego, krowiego i mieszaniny mleka krowio-owczego. *Przem. Spoż.*, 2002, **56** (9), 14-16, 18-19.
- [30] Wszolek M., Bonczar G.: Jakość mikrobiologiczna oscypków z mleka owczego, owczo-krowiego i krowiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **3** (36) Supl., 103-117.
- [31] Załącznik do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 maja 2005 r. nt. „Wymagania mikrobiologiczne dla mleka pitnego i produktów mlecznych”. *Dz. U.* 2005 r. Nr 96, poz. 819.

QUALITY AND SAFETY OF SMOKED CHEESES MANUFACTURED IN THE PODHAŁE REGION

S u m m a r y

Oscypek cheese is one of the most recognizable regional products in Poland. Together with other ewe's milk products manufactured in the Podhale region, it determines the specific character of this region. Because of limited supply of ewe's milk and the lack thereof during the winter season, many farmers replaces it with cow's milk. Thus, various types of cheeses similar to oscypek, such as scypek, łoscypek, gołka etc., are found in the local market. The objective of the research study was to characterize some selected quality features of cheeses available via direct sales in the region of Podhale, to compare them with the features of traditional oscypek, and to determine how much the cheeses from cow's milk, which are similar to oscypek, impact the opinion on the quality of oscypek. Further to sensory evaluation, a basic

chemical and microbiological profile was performed. The protein fractions of cheeses were analyzed using chromatography and electrophoresis, and the content of biogenic amines was determined therein.

The products tested differed from the traditional oscypek cheeses, but there was also a great variability among them as regards their chemical composition and quality features. This can be a reason why it is not possible for a common consumer to distinguish a real traditional oscypek from some other similar smoked products produced from cow's milk. In the cheeses described, the level of biogenic amines was, generally, similar to the level thereof found in the commercially available rennet cheeses; however, the presence of *Enterobacteriaceae* microflora therein proved poor hygiene during production.

Key words: oscypek, smoked regional cheeses, food safety, texture, protein fractions, biogenic amines 