



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu

mgr inż. Jakub Biegalski

**Wpływ dodatku mleka owczego na stabilność
matrycy białkowo-tłuszczowej i związanie wody
w niedojrzewającym serze typu pasta filata**

The effect of the addition of sheep's milk
on the stability of the protein-fat matrix
and water binding in fresh pasta filata cheese

Rozprawa doktorska w dziedzinie nauk rolniczych
w dyscyplinie technologia żywności i żywienia
Doctoral dissertation in the field of agricultural sciences
in the discipline of nutrition and food technology

Promotor:

prof. UPP dr hab. Dorota Cais-Sokolińska

Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej

Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poznań, 2024 r.

Wykaz opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych składających się na rozprawę doktorską

Osiągnięciem stanowiącym podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora jest zbiór 5 publikacji powiązanych tematycznie pod tytułem: „**Wpływ dodatku mleka owczego na stabilność matrycy białkowo-tłuszczowej i związanie wody w niedojrzewającym serze typu pasta filata**”:

- [P5] **Biegalski, J.**, Cais-Sokolińska, D. (2024). Innovative covering liquids stabilising water-fat leachate from fresh mozzarella cheese used as pizza topping. *Foods*, 13, 581. <https://doi.org/10.3390/foods13040581>

MNiSW_{5.01.2024} 100 pkt.; IF₂₀₂₃ 4,700

- [P4] **Biegalski, J.**, Cais-Sokolińska, D. (2023). Production of sensorily acceptable pasta filata cheese with partial substitution of sheep's milk powder in different forms. *Foods*, 12, 1766. <https://doi.org/10.3390/foods12091766>

MEiN_{21.12.2021} 100 pkt.; IF₂₀₂₃ 4,700

- [P3] **Biegalski, J.**, Cais-Sokolińska, D. (2022). Produkty z mleka owczego w kontekście oczekiwań konsumentów. *Zagadnienia Doradztwa Rolniczego*, 1, 107.

MEiN_{21.12.2021} 20 pkt.

- [P2] **Biegalski, J.**, Cais-Sokolińska, D., Wawrzyniak, J. (2022). Effect of packaging and portioning on the dynamics of water-fat serum release from fresh pasta filata soft cheese. *Foods*, 11, 296. <https://doi.org/10.3390/foods11030296>

MEiN_{21.12.2021} 100 pkt.; IF₂₀₂₂ 5,200

- [P1] **Biegalski, J.**, Cais-Sokolińska, D., Tomaszewska-Gras, J., Baranowska, H. M. (2021). The effect of freezing sheep's milk on the meltability, texture, melting and fat crystallization profiles of fresh pasta filata cheese. *Animals*, 11, 2740. <https://doi.org/10.3390/ani11092740>

MEiN_{18.02.2021} 100 pkt.; IF₂₀₂₁ 3,231

Zestawienie tabelaryczne punktacji dla opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych składających się na rozprawę doktorską

Łączna liczba punktów dla publikacji zawartych w prezentowanym cyklu zgodnie z rokiem opublikowania

Publikacja	Liczba punktów wg wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych MEiN/MNiSW	Impact Factor (IF) według bazy Journal Citation Reports (JCR)
[P5]	100	4,700
[P4]	100	4,700
[P3]	20	–
[P2]	100	5,200
[P1]	100	3,231
Suma	420	17,831

Łączna liczba punktów dla publikacji zawartych w prezentowanym cyklu zgodnie z punktacją obowiązującą w dniu złożenia rozprawy doktorskiej

Publikacja	Liczba punktów wg wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych MEiN/MNiSW	Impact Factor (IF) według bazy Journal Citation Reports (JCR)
[P5]	100	4,700
[P4]	100	4,700
[P3]	20	–
[P2]	100	4,700
[P1]	100	2,700
Suma	420	16,800

Spis treści

1. Wykaz skrótów i symboli.....	5
1.1. Wykaz skrótów.....	5
1.2. Wykaz symboli przyjętych do kodowania próbek.....	7
2. Streszczenie i słowa kluczowe w języku polskim.....	9
3. Streszczenie i słowa kluczowe w języku angielskim.....	11
4. Wstęp.....	13
5. Cel i zakres badań.....	15
6. Metody i materiał do badań.....	17
7. Wyniki badań i ich interpretacja.....	19
7.1. Wpływ procesu mrożenia mleka owczego na roztopialność, teksturę, oraz profil topliwości i krystalizacji tłuszczu w świeżym serze pasta filata.....	19
7.2. Wpływ pakowania i porcjowania na dynamikę uwalniania serum wodno- tłuszczowego z miękkiego sera pasta filata.....	25
7.3. Produkty z mleka owczego w kontekście oczekiwań konsumentów.....	29
7.4. Produkcja akceptowalnego sensorycznie sera pasta filata z wykorzystaniem częściowego dodatku mleka owczego w proszku w różnych formach.....	33
7.5. Innowacyjne zalewy przechowalnicze stabilizujące wyciek serum wodno- tłuszczowego ze świeżego sera Mozzarella używanego jako dodatek na pizzy.....	40
8. Wnioski.....	48
9. Spis literatury.....	51
10. Kopie opublikowanych prac wchodzących w skład zbioru.....	61
11. Oświadczenia doktoranta oraz współautorów dotyczące ich wkładu w przygotowanie opublikowanych artykułów naukowych.....	146

1. Wykaz skrótów i symboli

Wykaz skrótów

Skrót	Nazwa w języku polskim i angielskim
°SH	Stopnie Soxhleta-Henkla
A	Po przechowywaniu sera w zalewie (ang. <i>after</i>)
ANNs	Sztuczne sieci neuronowe (ang. <i>artificial neural networks</i>)
ANOVA	Analiza wariancji (ang. <i>analysis of variance</i>)
ATP	Adenozyno-5'-trifosforan
a _w	Aktywność wody (ang. <i>water activity</i>)
B	Przed przechowywaniem sera w zalewie (ang. <i>before</i>)
BFGS	Algorytm Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno
C	Kazeina (ang. <i>casein</i>)
C*	Indeks nasycenia barwy (ang. <i>chrome</i>)
CIELab	Przestrzeń barw Międzynarodowej Komisji ds. Oświetlenia (ang. <i>international commission on illumination color space</i>)
CLA	Kwas linolowy (ang. <i>linoleic acid</i>)
CV	Współczynnik zmienności (ang. <i>coefficient of variation</i>)
DSC	Skaningowa kalorymetria różnicowa (ang. <i>differential scanning calorimetry</i>)
F test	Test Fishera
FA	Kwasy tłuszczowe (ang. <i>fatty acids</i>)
FID	Swobodny zanik indukcyjny (ang. <i>free induction decay</i>)
HSD	Naprawdę znacząca różnica (ang. <i>honestly significant difference</i>)
JAR	Hedoniczna skala testów krytyki konsumenckiej „w sam raz” (ang. <i>just-about-right</i>)
L*	Jasność (ang. <i>lightness</i>)
LF NMR	Jądrowy rezonans magnetyczny w niskim polu (ang. <i>low-field nuclear magnetic resonance</i>)
Lin	Liniowa funkcja aktywacji (ang. <i>linear activation function</i>)
m/m	Masa względem masy (ang. <i>mass per mass</i>)
M ₀	Wartość magnesowania równowagi (ang. <i>equilibrium magnetization value</i>)
M _{age}	Średni wiek (ang. <i>mean age</i>)
MC	Skład mleka (ang. <i>milk composition</i>)
MLP	Perceptron wielowarstwowy (ang. <i>multi-layer perceptron</i>)
M _z (TI)	Rzeczywista wartość magnesowania (ang. <i>actual magnetization value</i>)
n	Liczebność zbiorowości próbnej
n-3	Kwasy tłuszczowe omega-3
n-6	Kwasy tłuszczowe omega-6
NCN	Azot niekazeinowy (ang. <i>non-casein nitrogen</i>)

NIPALS	Nieliniowa iteracyjna cząstkowa metoda najmniejszych kwadratów (ang. <i>nonlinear itérative partial least squares</i>)
NMR	Magnetyczny rezonans jądrowy (ang. <i>nuclear magnetic resonance</i>)
NPN	Azot niebiałkowy (ang. <i>non-protein nitrogen</i>)
p	Wartość prawdopodobieństwa (ang. <i>probability value</i>)
PCA	Analiza głównych składowych (ang. <i>principal component analysis</i>)
p_i	Frakcja protonów relaksujących się z czasem spin-spin T_{2i} (ang. <i>fraction of protons relaxing with the T_{2i} spin-spin time</i>)
PM	Metoda pakowania (ang. <i>packing method</i>)
PUFA	Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (ang. <i>polyunsaturated fatty acid</i>)
R	Współczynnik korelacji (ang. <i>correlation coefficient</i>)
R^2	Współczynnik determinacji (ang. <i>determination coefficient</i>)
RH	Wilgotność względna (ang. <i>relative humidity</i>)
RMSE	Średni błąd kwadratowy (ang. <i>root mean square error</i>)
SD	Odchylenie standardowe (ang. <i>standard deviation</i>)
SEM	Błąd standardowy średniej (ang. <i>standard error of the mean</i>)
SF	Fragmentacja próbki (ang. <i>sample fragmentation</i>)
TI	Odległości pomiędzy impulsami (ang. <i>distances between impulses</i>)
TN	Azot całkowity (ang. <i>total nitrogen</i>)
UFW	Procent wody niezamrożonej we frakcji wodnej (ang. <i>percentage of unfrozen water in the water fraction</i>)
UHT	Ultrawysoka pasteryzacja (ang. <i>ultra-high pasteurization</i>)
v/v	Objętość względem objętości (ang. <i>volume per volume</i>)
w/v	Ciężar względem objętości (ang. <i>weight per volume</i>)
WHC	Zdolność do zatrzymywania wody (ang. <i>water holding capacity</i>)
WI	Indeks bieli (ang. <i>whiteness index</i>)
WP	Białko serwatkowe (ang. <i>whey protein</i>)
X_H	Wzór na wydatek sera według Herz'a
X_J	Wzór na wydatek sera według Jakubowskiego
X_{MD}	Wzór na wydatek sera według McDowall'a
X_P	Wzór na wydatek sera według Pijanowskiego
X_R	Wzór na wydatek sera według Rinckleben'a
YI	Indeks żółcenia (ang. <i>yellowing index</i>)
α	Poziom istotności (ang. <i>level of significance</i>)
ΔH_{ice}	Entalpia topienia lodu (ang. <i>enthalpy of ice melting</i>)
ΔH_m	Entalpia topienia tłuszczu mlecznego (ang. <i>enthalpy of milk fat temperature</i>)
ΔH_{ref}	Entalpia topienia lodu dla czystej wody (ang. <i>enthalpy of ice melting for samples of pure water</i>)
$\Delta \tau$	Różnica czasu

Wykaz symboli przyjętych do kodowania próbek

Symbol	Rozwinięcie
C	Mleko krowie (ang. <i>cow's milk</i>)
CS	Mieszanina mleka krowiego i owczego w proporcji 70:30 (ang. <i>cow's and sheep's milk</i>)
CSF	Mieszanina mleka krowiego i mrożonego mleka owczego w proporcji 70:30 (ang. <i>cow's and frozen sheep's milk</i>)
CSP	Mieszanina mleka krowiego i owczego mleka w proszku (ang. <i>cow's milk and sheep's milk powder</i>)
CSP6/4	Mieszanina mleka krowiego i owczego mleka w proszku w proporcji 60:40 (ang. <i>cow's milk and sheep's milk powder</i>)
CSP7/3	Mieszanina mleka krowiego i owczego mleka w proszku w proporcji 70:30 (ang. <i>cow's milk and sheep's milk powder</i>)
CSP8/2	Mieszanina mleka krowiego i owczego mleka w proszku w proporcji 80:20 (ang. <i>cow's milk and sheep's milk powder</i>)
CSR	Mieszanina mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego z mleka w proszku (ang. <i>cow's milk and reconstituted sheep's milk</i>)
CSR6/4	Mieszanina mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego z mleka w proszku w proporcji 60:40 (ang. <i>cow's milk and reconstituted sheep's milk</i>)
CSR7/3	Mieszanina mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego z mleka w proszku w proporcji 70:30 (ang. <i>cow's milk and reconstituted sheep's milk</i>)
CSR8/2	Mieszanina mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego z mleka w proszku w proporcji 80:20 (ang. <i>cow's milk and reconstituted sheep's milk</i>)
S	Mleko owcze (ang. <i>sheep's milk</i>)
SF	Mrożone mleko owcze (ang. <i>frozen sheep's milk</i>)
SR	Rekonstruowane mleko owcze z mleka w proszku (ang. <i>reconstituted sheep's milk</i>)
W	Serwatka (ang. <i>whey</i>)
WA1	Mieszanina serwatki i kwasu cytrynowego w ilości pojedynczej 0,42 g/kg (ang. <i>whey and citric acid</i>)
WA2	Mieszanina serwatki i kwasu cytrynowego w ilości podwójnej 0,84 g/kg (ang. <i>whey and citric acid</i>)
WL1	Mieszanina serwatki i laktozy w ilości pojedynczej 10 g/kg (ang. <i>whey and lactose</i>)
WL1A1	Mieszanina serwatki oraz laktozy i kwasu cytrynowego w ilościach pojedynczych, odpowiednio 10 g/kg oraz 0,42 g/kg (ang. <i>whey, lactose and citric acid</i>)

WL1A2	Mieszanina serwatki oraz laktozy w ilości pojedynczej 10g/kg i kwasu cytrynowego w ilości podwójnej 0,84 g/kg (ang. <i>whey, lactose and citric acid</i>)
WL2	Mieszanina serwatki i laktozy w ilości podwójnej 20 g/kg (ang. <i>whey and lactose</i>)
WL2A1	Mieszanina serwatki oraz laktozy w ilości podwójnej 20g/kg i kwasu cytrynowego w ilości pojedynczej 0,42 g/kg (ang. <i>whey, lactose and citric acid</i>)
WL2A2	Mieszanina serwatki oraz laktozy i kwasu cytrynowego w ilościach podwójnych, odpowiednio 20g/kg oraz 0,84 g/kg (ang. <i>whey, lactose and citric acid</i>)

2. Streszczenie i słowa kluczowe w języku polskim

Sery pasta filata to jedne z najpopularniejszych produktów mleczarskich na całym świecie, m.in. ze względu na pożądane cechy sensoryczne i wszechstronne wykorzystanie kulinarne. Najbardziej znanym serem pasta filata jest Mozzarella. Sery te spożywa się zarówno na zimno (np. w sałatce), jak i na ciepło (np. jako dodatek na pizzy). Jednak jedną z negatywnych cech jaką obserwuje się w przypadku wielu serów pasta filata jest wyciek kompleksu wodno-tłuszczowego, który pojawia się po rozpakowaniu i porcjowaniu sera. Jest to zauważalne i źle postrzegane, zarówno przez producentów, jak i konsumentów. Technologia produkcji sera pasta filata opiera się na przetwarzaniu mleka pochodzącego od różnych gatunków ssaków. Tradycyjnie do produkcji tych serów używa się mleka krowiego, owczego, bawolego lub ich mieszanin. Mleko owcze jest doskonałym surowcem do produkcji serowarskiej charakteryzując się jednocześnie wysokim potencjałem prozdrowotnym. Pożądanłość konsumencka mleka owczego i produktów mleczarskich, które są z niego wyrabiane jest więc coraz większa. Podaż mleka owczego jest jednak zależna od niskiej produktywności owiec, sezonowości produkcji mleka i krótkiego okresu laktacji. Ograniczona ilość pozyskiwanego mleka owczego wymaga więc gromadzenia tego surowca i stosowania alternatywnych technik przechowywania w celu zapewnienia ciągłości produkcji w zakładzie mleczarskim. W związku z tym **celem badań była analiza wpływu mleka owczego, w tym dodawanego po uprzednim mrożeniu i jako mleka w proszku (w postaci natywnej i rekonstruowanej) na stabilność matrycy białkowo-tłuszczowej i właściwości molekularne wody determinujące wyciek z niedojrzewającego sera typu pasta filata pakowanego w zalewie i poddawanego rozdrabnianiu i ogrzewaniu.** Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że produkcja sera pasta filata z owczego mleka mrożonego, a następnie rozmrożonego, jest możliwa. Jednak ser taki charakteryzuje się, m.in. mniejszą rozciągliwością i elastycznością oraz większą twardością i rozpływalnością. Mrożenie mleka wpłynęło również na zwiększenie aktywności wody oraz zwiększenie mobilności wody wolnej. Produkcja sera pasta filata z mieszaniny mleka krowiego i mrożonego/rozmrożonego mleka owczego w proporcji 70:30 przyczyniła się do znaczących zmian w charakterystyce sera, co negatywnie ocenili konsumenci podczas oceny sensorycznej. Wykazano, że mrożenie mleka owczego i jego późniejsze wykorzystanie w produkcji sera pasta filata, nie jest dobrą alternatywą dla surowca świeżego. Badania wykazały jednocześnie, że sery pasta filata z mieszaniny mleka krowiego i świeżego

mleka owczego w proporcji 70:30 były bardziej akceptowalne sensorycznie przez konsumentów i miały mniejszy wyciek, jednak wyciek ten był i tak większy niż w przypadku serów pakowanych w zalewie, zwłaszcza po ich porcjowaniu. Ilość wycieku serum wodno-tłuszczowego i jego zależność od sposobu pakowania i stopnia fragmentacji można jednak opisać modelem matematycznym, co pozwoliło potwierdzić, że pakowanie z użyciem zalewy zmniejsza wpływ porcjowania na ilość wycieku. Potwierdziła to również obserwacja mikroskopowa zatrzymanego serum wodno-tłuszczowego w strukturze wyprodukowanego sera pasta filata. Kolejne badania w ramach eksperymentu wykazały, że zamiast mleka mrożonego do produkcji sera pasta filata można zastosować mleko owcze w proszku, które pozwala wytworzyć elastyczny, z połyskiem i ogólnie akceptowalny sensorycznie ser pasta filata, przy czym mleko owcze w proszku musi być poddane rekonstytucji, a udział w mieszaninie z mlekiem krowim nie może przekraczać 30%. Tak wyprodukowany ser pasta filata po przechowywaniu w zalewie ma mniejszą zdolność do wycieku frakcji wodno-tłuszczowej w porównaniu z serami wytworzonymi z pominięciem etapu rekonstytucji. Jednak na ograniczenie zmian masy sera podczas przechowywania w zalewie wpływ ma również dodatek laktozy w ilości 20 g/kg i kwasu cytrynowego w ilości 0,42 g/kg do zalewy. Jednocześnie wykazano, że zaproponowany skład zalewy do przechowywania sera pasta filata z mieszaniny mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego w proszku, wpływa na poprawę tekstury i topliwości sera, a także zwiększa nasycenie jego barwy po upieczeniu na pizzy. Tak wyprodukowany i przechowywany ser pasta filata spełnia oczekiwania potencjalnych konsumentów scharakteryzowanych za pomocą modelu zachowań konsumentów na rynku i determinantów spożycia produktów mleczarskich. Ser ten został również wysoko oceniony przez panelistów na podstawie deskryptorów oceny sensorycznej prowadzonej na różnych etapach procesu technologicznego i przechowywania. Przeprowadzone badania nad niedojrzewającymi serami pasta filata z mieszaniny mleka krowiego z mlekiem owczym w proszku pozwoliły na opracowanie receptury produkcji zalewy przechowalniczej oraz sera akceptowalnego sensorycznie. Ponadto wykazano, że produkcja niedojrzewającego sera pasta filata z mieszaniny mleka krowiego i owczego mleka w proszku (niezależnie od jego postaci) wpływa na zwiększenie wydajności produkcyjnej co można potwierdzić przede wszystkim za pomocą przedstawionego równania matematycznego uwzględniającego ilość wyprodukowanego sera w stosunku do ilości użytego surowca.

Słowa kluczowe: sery pasta filata, mleko owcze, zalewa przechowalnicza, wyciek,

3. Streszczenie i słowa kluczowe w języku angielskim

Pasta filata cheeses are among the most popular dairy products worldwide, partly due to their desirable sensory properties and versatile culinary use. The most famous pasta filata cheese is Mozzarella. These cheeses are eaten both cold (e.g. in a salad) and warm (e.g. as a pizza topping). However, one of the negative features observed in case of many pasta filata cheeses is the leachate of the water-fat serum, which appears after unpacking and portioning of the cheese. This is noticeable and negatively perceived by both producers and consumers. The technology of producing pasta filata cheese is based on the processing of milk from various species of mammals. Traditionally, cow's milk, sheep's milk, buffalo's milk or their mixtures are used to produce these cheeses. Sheep's milk is an excellent raw material for cheese production, and at the same time it has high health-promoting potential. The consumer demand for sheep's milk and dairy products made from it is therefore increasing. However, the supply of sheep's milk depends on the low productivity of sheep's, the seasonality of milk production and the short lactation period. The limited amount of obtained sheep's milk requires the collection of this raw material and the use of alternative storage techniques to ensure the continuity of production in the dairy plant. Therefore, **the aim of the research was to analyze the effect of sheep's milk, including that added after freezing and as powdered milk (in native and reconstituted form), on the stability of the protein-fat matrix and the molecular properties of water determining the leachate from fresh pasta filata cheese packed in brine and subjected to portioning and heating.** Based on the obtained results, it was shown that the production of pasta filata cheese from frozen and then thawed sheep's milk is possible. However, such cheese is characterized by, among others: less extensibility and elasticity, and greater hardness and flowability. Freezing the milk also increased water activity and increased the mobility of bulk water. The production of pasta filata cheese from a mixture of cow's milk and frozen/thawed sheep's milk in a ratio of 70:30 contributed to significant changes in the characteristics of the cheese, which was negatively assessed by consumers during the sensory evaluation. It was shown that freezing sheep's milk and its subsequent use in the production of pasta filata cheese is not a good alternative to fresh raw material. At the same time, the research showed that pasta filata cheeses made from a mixture of cow's milk and fresh sheep's milk in a ratio of 70:30 were more sensorially acceptable to consumers and had less leachate, but the leachate was still greater than in the case of cheeses packed in brine, especially after they were portioned. The amount of water-fat serum leachate and its dependence on the packaging method

and fragmentation degree can be described by a mathematical model, which allowed to confirm that packaging using a brine reduces the effect of portioning on the amount of leachate. This was also confirmed by microscopic observation of retained water-fat serum in the structure of the produced pasta filata cheese. Further experimental research showed that instead of frozen milk, powdered sheep's milk can be used to produce pasta filata cheese, which allows the production of elastic, glossy and generally sensory-acceptable pasta filata cheese, but the sheep's milk powder must be reconstituted and the share in the mixture with cow's milk cannot exceed 30%. Pasta filata cheese produced in this way, after storage in the brine, has a lower ability to leak the water-fat fraction compared to cheeses produced without the reconstitution stage. However, the limitation of changes in the cheese mass during storage in the brine is also influenced by the addition of lactose in the amount of 20 g/kg and citric acid in the amount of 0.42 g/kg to the brine. At the same time, it was shown that the proposed composition of the brine for storing pasta filata cheese made of a mixture of cow's milk and reconstituted sheep's milk powder improves the texture and meltability of the cheese, and also increases the chrome of its color after baking on pizza. Pasta filata cheese produced and stored in this way meets the expectations of potential consumers characterized by the model of consumer behavior on the market and determinants of dairy product consumption. This cheese was also highly rated by the panelists based on sensory evaluation descriptors conducted at various stages of the technological process and storage. Research carried out on fresh pasta filata cheeses made from a mixture of cow's milk and sheep's milk powder allowed to develop a recipe for the production of a storage brine and sensory-acceptable cheese. Moreover, it has been shown that the production of fresh pasta filata cheese from a mixture of cow's milk and sheep's milk powder (regardless of its form) increases production efficiency, which can be confirmed primarily by the presented mathematical equation taking into account the amount of cheese produced in relation to the amount of raw material used.

Slowa kluczowe: pasta filata cheeses, sheep's milk, storage brine, leachate,

4. Wstęp

Sery pasta filata zwane inaczej serami z masy parzonej, to jedne z najbardziej tradycyjnych i najpopularniejszych produktów zarówno polskiej, jak i światowej branży mleczarskiej. Są popularne z uwagi na zainteresowanie daniami z ich udziałem: świeżymi sałatkami (np. caprese) i daniami zapiekanymi (np. casserole, pizza). Wszystkie sery klasyfikowane są w zależności od zawartości wody w ich masie beztłuszczowej. Wśród serów pasta filata wyróżnia się głównie sery miękkie i półtwarde. Technologia produkcji serów pasta filata oparta jest na wykorzystaniu mleka różnych gatunków ssaków. Tradycyjnie sery te produkuje się z mleka krowiego, np. ser Provolone, mleka bawolego w produkcji sera Mozzarella di Bufala Campana PDO oraz mleka owczego w przypadku polskiego Oscypka PDO. Niektóre sery produkuje się z mieszanin mleka różnych gatunków ssaków, np. turecki ser Kashar, który wytwarza się z mleka krowiego, owczego lub mieszaniny obu. Aktualnie adaptacja technologii produkcji serów pasta filata w przemyśle pozwala na powszechniejszą produkcję tych wyrobów z łatwo dostępnego surowca jakim jest mleko krowie. Jednak należy mieć na uwadze, że użycie surowca innego niż to, które stosowane jest oryginalnie w produkcji danego sera wpływa na zmiany składu, np. zawartość tłuszczu w produkcie końcowym. Na zmiany wpływ ma również modyfikacja parametrów technologicznych produkcji mogąca prowadzić do zróżnicowania zawartości wody w wytworzonym serze. Ser Mozzarella jest jednym z najbardziej popularnych serów pasta filata na całym świecie. Charakteryzuje się świeżym, mlecznym smakiem i wyjątkowo miękką konsystencją.

Technologia wytwarzania serów pasta filata oparta jest na uplastycznianiu włókien kazeiny, co determinuje późniejszą strukturę matrycy białkowo-tłuszczowej sera i nadaje serom charakterystyczną sprężystość i rozciągliwość. Celem tej czynności jest przebudowanie amorficznej struktury skrzepu w zwartą, zorganizowaną i elastyczną matrycę sera. Aby proces rozciągania mógł być przeprowadzony, koniecznym jest aby zawartość wapnia, który jest związany z kazeiną, była na odpowiednim poziomie. Osiąga się to zazwyczaj na drodze solubilizacji wapnia przez zakwaszanie mleka. Hydratacja kazeiny ulega zwiększeniu w momencie gdy zmniejsza się ilość wapnia, co przyczynia się do procesu rozciągania. Zwiększanie kwasowości podczas produkcji sera ma na celu zachowanie pożądanej kombinacji pH, wilgotności oraz zawartości wapnia całkowitego.

Upłastycznianie skrzepu otrzymanego przez ukwaszenie i koagulację enzymatyczną mleka to znamienny etap produkcji serów pasta filata. Dzięki temu ser ma charakterystyczną

strukturę, a pomiędzy warstwami w utworzonych kanałach zostaje zatrzymana część serwatki. W produkcji serów pasta filata podczas procesu uplastyczniania (ogrzewanie, ugniatanie i rozciąganie) dochodzi do wydłużenia włókien białkowych oraz nagromadzenia kuleczek tłuszczu i ułożenia kanałów tłuszczowych w kierunku rozciągania. Jednakże, aby ser zachował swoją sprężystość i nie kurczył się w wyniku nadmiernej synerezy koniecznym jest zbudowanie stabilnej matrycy białkowo-tłuszczowej. Białko jest naturalnym biopolimerem wiążącym wodę, a ilość i wielkość kuleczek tłuszczu odpowiadać będzie za profil topnienia i krystalizacji tłuszczu w gotowym serze. U podstaw opisu struktury, tekstury i zdolności do płynięcia (melt/flow) sera znajduje się zatem charakterystyka mleka przerobowego, a zwłaszcza proporcji białka i tłuszczu jako jego składników.

Mimo, że ser pasta filata po wytworzeniu charakteryzuje się wysoką sprężystością i jednolitą konsystencją to podczas przechowywania wykazuje tendencję do zmian wyglądu, np. rozwarstwiania. W wyniku transferu kompleksów wodnych, zauważalny jest wyciek poza masę sera. Wpływa to na zmianę smaku i wyglądu powierzchni sera, a ostatecznie na akceptowalność sensoryczną i możliwość wykorzystania poprodukcyjnego sera.

W literaturze tematu opisano powyższe mechanizmy na przykładzie mleka krowiego. Brakuje jednak informacji o roli mleka owczego w kształtowaniu jakości serów pasta filata. Tym bardziej nie oceniano wpływu dodatku mleka owczego uprzednio mrożonego oraz mleka w proszku. Charakterystyczny skład mleka owczego i jego rola w wielu interwencjach żywieniowych sprawia, że staje się ono coraz bardziej poszukiwane przez konsumentów. Jednak wciąż ograniczona jego podaż wymusza gromadzenie tego surowca i stosowanie alternatywnych technik przechowywania w celu zapewnienia ciągłości produkcji wyrobów z jego udziałem. Analiza wpływu zastosowania mleka owczego w różnych formach na stabilność matrycy białkowo-tłuszczowej i związanie wody w serach pasta filata jest więc bardzo ważnym kierunkiem poprawy jakości serów pasta filata.

5. Cel i zakres badań

Celem rozprawy doktorskiej było zbadanie wpływu mleka owczego, w tym dodawanego po uprzednim mrożeniu i w postaci proszku, na stabilność matrycy białkowo-tłuszczowej i właściwości molekularne wody determinujące wyciek z niedojrzewającego sera typu pasta filata pakowanego w zalewie oraz poddawanego rozdrabnianiu i ogrzewaniu.

Hipoteza główna:

H.0. Niedojrzewający ser typu pasta filata wytworzony z dodatkiem mleka owczego charakteryzuje się stabilną strukturą, dobrą roztopialnością, rozciągliwością, krajalnością, wysoce usieciowaną wodą i pożądanymi cechami sensorycznymi.

Hipotezę główną weryfikowano w oparciu o następujące hipotezy robocze i cele szczegółowe:

H.1. Mrożenie przerobowego mleka owczego przyczynia się do zmian tekstury, roztopialności, aktywności i mobilności wody oraz atrakcyjności sensorycznej wytworzonego z jego udziałem niedojrzewającego sera typu pasta filata.

Cele szczegółowe

- analiza składu, kwasowości, konduktywności i punktu zamarzania przerobowego mleka krowiego i owczego
- mrożenie i rozmrażanie mleka przerobowego
- wytwarzanie sera z surowca uprzednio mrożonego
- ocena twardości, rozciągliwości i siły potrzebnej do cięcia wytworzonego sera
- analiza roztopialności (melt/flow oraz oiling-off) sera
- charakterystyka mobilności i molekularnych właściwości wody w serze
- analiza akceptowalności sensorycznej i przyczyn niezadowolenia konsumentów z sera wytworzonego z udziałem mrożonego mleka owczego na tle serów z mleka niemrożonego i z mleka krowiego

H.2. Sposób pakowania i rozdrabniania sera determinuje wielkość wycieku frakcji wodno-tłuszczowej z niedojrzewającego sera typu pasta filata wytworzonego z dodatkiem mleka owczego, co można opisać modelem matematycznym.

Cele szczegółowe

- wytworzenie sera i zapakowanie go próżniowo i w zalewie
- ustalenie proporcji powierzchni cięcia i objętości sera

- analiza składu i objętości wycieku
- wizualna ocena chropowatości i szklistości powierzchni wewnętrznej i zewnętrznej sera

H.3. Możliwe jest wytworzenie niedojrzewającego sera typu pasta filata z dodatkiem mleka owczego w proszku, który jest akceptowany sensorycznie.

Cele szczegółowe

- ustalenie wielkości dodatku owczego mleka w proszku uwzględniając stosunek białka i tłuszczu w suchej masie
- wytworzenie modelowego sera
- wybór deskryptorów oceny sensorycznej oraz analiza profilu sensorycznego i ogólnej pożądalności sera

H.4. Skład i właściwości zalewy do przechowywania niedojrzewającego sera typu pasta filata wytworzonego z udziałem mleka owczego w proszku wpływają na procesy dyfuzji, aktywność, mobilność i stopień związania wody.

Cele szczegółowe

- przygotowanie zalewy, której właściwości determinowane są zawartością laktozy i kwasowością
- ocena wielkości wycieku frakcji wodno-tłuszczowej sera

H.5. Podczas dalszego ogrzewania niedojrzewającego sera typu pasta filata z dodatkiem mleka owczego w proszku zmianom ulega jego tekstura i barwa.

Cele szczegółowe

- analiza parametrów tekstury sera ogrzewanego na pizzę
- charakterystyka parametrów barwy sera i jej indeksów podczas ogrzewania na pizzę

6. Metody i materiał do badań

Weryfikując hipotezy badań zrealizowano:

wyrób modelowego niedojrzewającego sera pasta filata z mleka krowiego, owczego, w tym z mleka mrożonego i mleka w proszku oraz mieszanin tych surowców [P1, P2, P4, P5]

ocenę składu mleka za pomocą analizatora Bentley DairySpec FT Manual (Bentley Instruments, Inc., Chaska, MN, USA); skład sera zgodnie z: wilgotność ([ISO5534:2004](#); [IDF4:2004](#)), białko ([ISO8968-1:2014](#); [IDF20-1:2014](#)) i tłuszcz ([ISO1735:2004](#); [IDF5:2004](#)); całkowita zawartość białka $(\text{TN}-\text{NPN}) \times 6.38$; kazeiny $(\text{TN}-\text{NCN}-\text{NPN}) \times 6.38$; białek serwatkowych $(\text{NCN}-\text{NPN}) \times 6.38$ [P1, P2, P4]

pomiar punktu zamarzania zgodnie z [ISO5764 \(2009\)](#) za pomocą krioskopu Advanced® Model 4D3 z sondą termistorową 3LH700 (Advanced Instruments Inc., Norwood, MA, USA) [P1, P5]

pomiar kwasowości czynnej za pomocą pH-metru CP-402 (Elmetron, Zabrze, Polska) z elektrodą IONODE IJ44A (Ionode Pty. Ltd., Tennyson, Australia) [P1, P2, P4, P5]

pomiar właściwości elektrycznych za pomocą konduktometru CP-505 (Elmetron, Zabrze, Polska) z sensorem konduktometrycznym EC-60 (Elmetron, Zabrze, Polska) [P1, P5]

pomiar aktywności wody na podstawie punktu rosy przy użyciu aparatu AquaLab Series 4TE (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA) [P1, P5]

ocenę lepkości za pomocą wiskozymetru H  ppler KF10 (RheoTec Messtechnik GmbH, Ottendorf, Niemcy) [P1]

analizę profilu tekstury przy użyciu teksturometru TA.XTplus (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, Wielka Brytania); rejestracja wyników za pomocą oprogramowania Texture Exponent E32 version 4.0.9.0 (Godalming, Surrey, Wielka Brytania) [P1, P2]

analizę mikrostruktury sera za pomocą mikroskopu ProteOne i kamery mikroskopowej DLT-Cam PRO (Delta Optical, Mińsk Mazowiecki, Polska) [P2]

pomiar barwy w systemie CIELab korzystając z geometrii SPIN za pomocą aparatu X-Rite SP-60 (Grandville, MI, USA) z geometri   sferyczną (dyfuzyjną) i komor   pomiarową z wk  ladk   ceramiczną DRS-811 ([Cais-Sokolińska i in. 2015](#)); dokonano obliczenia indeksu oddalenia od bieli, stopnia nasycenia barwy oraz indeksu za   l  cenia [P5]

pomiar połysku za pomocą połyskomierza DT 268 korzystając z geometrii pomiarowej 60 (TestAn, Gdańsk, Polska) [P2]

badanie ankietowe na podstawie kwestionariusza wywiadu złożonego z 48 pytań o charakterze zamkniętym (45) i otwartym (3) [P3]

kalkulację i interpretację wydajności produkcyjnej sera za pomocą wzorów wykorzystywanych w przemyśle mleczarskim ([Pijanowski 1974](#), [Abu-Tarboush 1982](#), [Sales i in. 2017](#)) [P4]

analizę zmiany masy sera podczas przechowywania przy użyciu wagi laboratoryjnej WPA 180/C/1 (Radwag, Radom, Polska) [P5]

analizę mobilności wody na podstawie zmian równowagi wilgotnościowej RH za pomocą miernika AWC-11 wyposażonego w sondę Rotronic (Cobrabid, Poznań, Polska) [P5]

ocenę topliwości metodą Test Tube oraz testem Schreiber’a ([Cais-Sokolińska i in. 2018](#)) [P1]

ocenę ilości tłuszczu wolnego metodą „oiling-off” ([Hartmann i in. 2015](#)) [P1, P2]

analizę interakcji woda-białko-tłuszcz za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) z wykorzystaniem aparatury Perkin Elmer DSC 7 (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) [P1]

ocenę mobilności wody za pomocą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego przy użyciu spektrometru NMR pracującego przy 30 MHz (WL Electronics, Poland) ([Węglarz i in. 2000](#), [Baranowska i in. 2017](#)) [P1]

analizę sensoryczną metodą profilowania przy użyciu deskryptorów jak i akceptowalności konsumenckiej, ogólnej pożądalności w skali JAR (ang. *just-about-right*) [P1, P2, P4]

analizę zmian zachodzących podczas wykorzystania kulinarnego sera za pomocą testu wypieku na pizzy (ang. *pizza baking test*) ([Rudan i Barbano 1998](#)) [P5]

analizę deskrypcyjną cech charakterystycznych sera wykorzystując oznaczenia: „0” bez zmian, „+” polepszenie, „– ” pogorszenie [P5]

analizę statystyczną i modelowanie z wykorzystaniem sztucznych sieci neuronowych za pomocą oprogramowania TIBCO Statistica w wersji 13.3.0 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA) [P1, P2, P3, P4, P5]

7. Wyniki badań i ich interpretacja

7.1. Wpływ procesu mrożenia mleka owczego na roztopialność, teksturę, oraz profil topliwości i krystalizacji tłuszczu w świeżym serze pasta filata

Dostęp do mleka owczego w wielu regionach świata jest ściśle zależny od niskiej produktywności owiec, sezonowości produkcji i krótkiego okresu laktacji tych zwierząt. Właśnie dlatego, rozwój wielkoskalowej produkcji mleka owczego w wielu krajach jest ograniczony, a większą popularność zyskują regionalne produkcje w małych gospodarstwach (Tribst i in., 2018), np. produkcja serów z mleka owczego, które stają się coraz bardziej pożądane. Najwięcej mleka owczego produkuje się w Azji (46,3%), a następnie w Europie (29,8%) oraz Afryce (23,0%). Na całym świecie produkuje się około 10,6 Mt surowego mleka owczego (FAOSTAT, 2021). Zgodnie z przewidywaniami, produkcja mleka owczego wzrośnie o 26%, czyli o około 2,7 Mt do 2030 roku. Jest to ściśle związane z rosnącym zainteresowaniem wyrobami serowarskimi oraz możliwością wykorzystania mleka owczego w produkcji nutraceutyków (Balthazar i in., 2017; Renes i in., 2021).

Mleko owcze zawiera średnio 5,7% białka, 7,4% tłuszczu, 4,8% laktozy oraz 0,9% suchej substancji (Alichanidis i in., 2016). Do frakcji białek występujących w mleku owczym należą głównie kazeina (41-46 g/kg) oraz białka serwatkowe (8-16 g/kg) (Alichanidis i in., 2016; Moatsou i Sakkas, 2019). Micele kazeinowe mleka owczego charakteryzują się wyższym stopniem mineralizacji niż micle kazeinowe mleka krowiego. Wpływ na to ma większa zawartość wapnia, mniejsza hydratacja oraz obniżona stabilność termiczna w porównaniu z micelami kazeinowymi mleka krowiego (Raynal-Ljutovac i in., 2007). Mleko owcze charakteryzuje się również większą ogólną zawartością wapnia (1,59-2,42 g/l) w porównaniu z mlekiem krowim (0,90-1,84 g/l). W przypadku tłuszczu mleka owczego, udział nasyconych kwasów tłuszczowych (FA) o krótkiej i średniej długości, jest znacznie większy i oscyluje na poziomie 14,2-17,7%. Dla porównania udział tych samych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka krowiego to 9,0-11,0% (Balthazar i in., 2017; Moatsou i Sakkas, 2019). Ponadto, tłuszcz mleka owczego cechuje się również niskim stosunkiem kwasów omega-6 do omega-3, co jest istotne w przypadku profilaktyki chorób układu krążenia oraz nowotworów. Z żywieniowego punktu widzenia istotnym może być również fakt, że mleko owcze charakteryzuje się większą zawartością witaminy A (40-84 µg/100 g) oraz witaminy D (0,18 µg/100 g) w porównaniu z mlekiem pochodzącym od krów (odpowiednio 29-52 µg/100 g oraz 0,03-1,00 µg/100 g) (Moatsou i Sakkas, 2019).

Przez wielu konsumentów mleko owcze i jego produkty postrzegane są coraz bardziej jako istotne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Wskazuje się, że są to produkty wpływające bardzo pozytywnie na zdrowie (Haenlein, 2001; Mohapatra i in., 2019). Niestety dostęp do mleka owczego jest bardzo ograniczony. Wpływa to na konieczność gromadzenia tego surowca i podejmowanie prób stosowania alternatywnych technik przechowywania tak, aby zachować ciągłość nawet małoskalowych produkcji. Jedną z metod mających na celu próbę rozwiązania tego typu problemu jest mrożenie mleka. Okres przechowywania mleka w postaci zamrożonej jest ściśle związany z takimi czynnikami jak: prędkość schładzania, początkowa jakość mleka oraz finalna temperatura przechowywania mroźniczego (Tribst i in., 2019). Proces zamrażania może jednak znacząco wpłynąć na kuleczki tłuszczowe sprzyjając uwalnianiu lipoprotein i zmniejszyć stabilność fazy lipidowej (Tribst i in., 2019; Wendorff i Kalit, 2017). Dodatkowo, proces mrożenia wpływa na zwiększenie rozmiaru kuleczek, co prowadzi do koalescencji, naturalnej separacji śmietanki oraz zwiększenia tempa utleniania tłuszczów i wystąpienia lipolizy (Zhang i in., 2006; Pazzola i in., 2013). Sam proces zamrażania może również wpłynąć na destabilizację białek micelarnych, co związane jest właśnie z temperaturą. Dla przykładu, destabilizacja białek mleka owczego przechowywanego w temperaturze -15°C zachodzi po około 6 miesiącach, a w przypadku przechowywania w temperaturze -27°C , destabilizacja zachodzi dopiero po około 12 miesiącach (Wendorff, 2001). Ta destabilizacja prowadzi w konsekwencji do agregacji kazeiny i zmniejszenia zdolności do zatrzymywania wody (WHC). Bezpośredni wpływ na to zjawisko ma zrywanie wiązań wodorowych pomiędzy polipeptydami (Tribst i in., 2018).

Jak dotąd nie ma badań, które skupiałyby się na wpływie procesu mrożenia mleka owczego oraz jego mieszanin z mlekiem krowim na jakość świeżych serów pasta filata. Autorzy tacy jak Albenzio i in. (2013) czy Tripaldi i in. (2018) wskazywali co prawda na zainteresowanie takimi serami mimo, że według niektórych naukowców mogą być one mniej rozciągliwe (Niro i in., 2014). Między innymi z powyższych powodów przeprowadzono badania dotyczące wpływu mrożenia mleka na teksturę i roztopialność serów, aktywność i mobilność wody, profil topnienia i krystalizacji tłuszczu oraz jego oksydację termalną. Wybrane parametry zestawiono również z wynikami oceny konsumenckiej.

Mleko jest mieszaniną koloidalną o wieloskalowej strukturze. Różnice w składzie i właściwościach mleka owczego oraz krowiego zależne są głównie od zawartości tłuszczu i białka oraz ich proporcji względem siebie. Składniki te odpowiadają również za odmienne parametry serów. Na czas i prędkość koagulacji oraz ilość potrzebnej podpuszczki

w produkcji sera wpływ mają takie cechy mleka owczego jak: większe micelle kazeinowe, większa zawartość wapnia oraz zawartość minerałów (Niro i in., 2014). Wyniki przeprowadzonych badań nad składem i właściwościami fizyko-chemicznymi świeżego mleka owczego oraz krowiego zaprezentowano w publikacji [P1]. Mleko owcze w porównaniu z mlekiem krowim charakteryzowało się większą o 54% zawartością kazeiny, co jest istotne szczególnie z punktu widzenia możliwej produkcji serowarskiej. Zbadane mleko owcze charakteryzowało się również większym stosunkiem tłuszcz/białko, które wynosiło 1,68. Dla porównania w mleku krowim było to 1,4, co naturalnie związane było z mniejszą zawartością białka i tłuszczu. Badania parametrów technologicznych mleka owczego oraz krowiego obejmowały m.in. punkt zamarzania, lepkość, gęstość oraz aktywność wody ($p < 0,05$). Konduktywność mleka owczego była o prawie 7% mniejsza w porównaniu z mlekiem krowim. Na ten parametr wpływ miała prawdopodobnie dwukrotnie większa zawartość tłuszczu w mleku owczym ($p < 0,05$) (Kaşikçi i in., 2012; Qayyum i in., 2016; Yanthi i in., 2018) [P1].

Na podstawie przeprowadzonych badań opisanych w publikacji [P1] wykazano możliwość produkcji niedojrzewających serów pasta filata z mleka owczego, które poddano wcześniej mrożeniu. Po rozmrożeniu mleka owczego wyprodukowano z niego modelowy skrzep serowy, który następnie po obniżeniu kwasowości poddano ugniataniu i wyrabianiu w gorącej wodzie. Wyprodukowany ser charakteryzował się gładką powierzchnią i elastyczną strukturą. Nie zaobserwowano obecności niewyparzonych granulek masy skrzepu. Uzyskana konsystencja była charakterystyczna dla tego typu serów. Zgodnie z [Codex Alimentarius](#), wyprodukowane sery zaklasyfikowano do grupy serów miękkich. Sery pasta filata, które wyprodukowano z mleka poddanego wcześniej przechowywaniu w warunkach mroźniczych (SF) oraz z mleka świeżego (S) charakteryzowały się zawartością wody na poziomie odpowiednio 488,8 g/kg oraz 491,1 g/kg. Jeszcze większą zawartością wody (ok. 570 g/kg) charakteryzowały się sery wyprodukowane z mieszaniny mleka krowiego oraz mrożonego mleka owczego w proporcji 70:30 (CSF). Proces mrożenia miał wpływ nie tylko na zawartość wody, ale również na jej aktywność. Sery z mrożonego mleka owczego (SF) oraz sery z mieszaniny mleka krowiego i mrożonego mleka owczego (CSF) charakteryzowały się większą wartością ($p < 0,05$) aktywności wody niż pozostałe badane sery. Potwierdza to fakt, że kluczowe znaczenie w przypadku mrożenia mleka ma właśnie strukturalna i dynamiczna natura wody.

Mieszanie mrożonego mleka owczego ze świeżym mlekiem krowim, jak wykazano w publikacji [P1], miało istotny wpływ na profil tekstury, roztopialność oraz rozciągliwość

wyprodukowanych serów. Zwiększenie wartości zmierzonych parametrów wykazano w przypadku takich parametrów tekstury jak siła rozciągania, twardość oraz siła cięcia. Zmniejszyły się natomiast kruchość oraz rozciągliwość. Mrożenie mleka najbardziej wpłynęło na zmniejszenie rozciągliwości (o 60%) oraz zwiększenie siły cięcia (o 130%). Potwierdza to założenie, że dodatek mrożonego mleka owczego do mleka krowiego ma wpływ na teksturę serów pasta filata. Podczas produkcji serów pasta filata, w trakcie procesu teksturyzacji, na który składa się ogrzewanie, ugniatanie oraz rozciąganie masy serowej, następuje wydłużenie włókien białkowych oraz agregacja kuleczek i powstawanie kanałów tłuszczowych, które układają się w kierunku rozciągania. Pomiędzy włóknami kazeiny tworzą się z kolei kanały wodne, które również podlegają wydłużeniu (Joshi i in., 2004). Kuleczki tłuszczu w kanałach ulegają kompresji podczas pęcznienia białek. Mleko owcze charakteryzuje się mniejszą wielkością kuleczek tłuszczowych niż mleko krowie (Tribst i in., 2020). Między innymi właśnie ten fakt wpływa na to, że mleko owcze ma dobre właściwości koagulacyjne decydujące o jego przydatności do produkcji serów.

Roztopialność oraz zdolność do płynięcia serów są bardzo ważnymi cechami. Ich istota jest szczególnie duża, gdy sery są składnikami dań podawanych na ciepło. Po ogrzaniu sera, oczywistą zmianą dostrzegalną wizualnie jest jego mięknięcie oraz rozpływanie się. Właśnie wtedy następuje płynięcie masy serowej, podczas którego ruchowi podlegają również białka i roztopiony tłuszcz (Ko i Gunasekaran, 2014). Cechy te są szczególnie istotne w przypadku serów pasta filata, w których topliwość i rozpływalność bywają często bardziej istotne dla konsumentów niż sam ich smak. W przypadku przeprowadzenia procesu mrożenia surowca, zakres zmian może być dość szeroki. Analiza profilu topliwości/płynięcia (ang. *melt/flow*) wyprodukowanych serów wykazała, że mrożenie mleka wpływa na zmniejszenie topliwości sera pasta filata, który wytworzony został z mleka owczego (SF) lub jego mieszaniny z mlekiem krowim (CSF; $p < 0,05$). Sery, które produkowano z mieszaniny świeżego mleka krowiego i owczego (CS) charakteryzowały się większą topliwością w porównaniu do serów produkowanych wyłącznie z mleka krowiego (C). Podkreśla to fakt, że mleko owcze jako surowiec, może wpłynąć na poprawę topliwości serów pasta filata, ale wtedy gdy używane jest w postaci świeżej, a nie mrożonej. Analiza topliwości wykazała, że dodatek mrożonego mleka owczego do mleka krowiego, jako surowca do produkcji sera pasta filata, zmniejszył topliwość ($p < 0,05$). Produkcja niedojrzewającego sera pasta filata wyłącznie z mrożonego mleka owczego (SF) wpłynęła na zmniejszenie topliwości o 11% ($p < 0,05$) w porównaniu do topliwości serów z mleka krowiego (C). Nie potwierdziły tego jednak wyniki analizy topliwości tych serów w temperaturze 232°C. W porównaniu do serów

ze świeżego mleka owczego (S), te wyprodukowane całkowicie z mrożonego mleka owczego (SF) charakteryzowały się jednak wyraźnie mniejszą topliwością i to aż o 42%. Sytuacja nie była tak znacząca w przypadku serów pasta filata wyprodukowanych z mieszaniny mleka krowiego i mrożonego mleka owczego (CSF), które w porównaniu do serów z mieszaniny świeżych surowców (CS) faktycznie miały mniejszą topliwość ale już tylko o 20%. Taką tendencję potwierdziła również roztopialność serów w temperaturze 232°C. Analiza rozpuszczalności wykazała 12-krotne jej zmniejszenie dla serów wyprodukowanych całkowicie z mrożonego mleka owczego (SF) w porównaniu do serów ze świeżego mleka owczego (S) [P1]. Rozpuszczalność serów produkowanych z mieszaniny mleka krowiego i mrożonego mleka owczego (CSF) zwiększyła się 4-krotnie w porównaniu do serów z mieszaniny świeżego mleka krowiego i owczego (CS) [P1].

Ze względu na właściwości molekularne wody i stosowane do oceny serów techniki badawcze (Gianferri i in. 2007), wykorzystano w dalszej części doświadczenia jądrowy rezonans magnetyczny niskiego pola LF NMR oraz różnicową kalorymetrię skaningową DSC. W serze z mleka krowiego (C) zaobserwowano więcej wody objętościowej niż związanej. Obie frakcje charakteryzowały się także znacznie większą dynamiką molekularną. Miało to bezpośredni związek z zawartością białka w mleku (Boiani i in., 2019), które jest naturalnym biopolimerem wiążącym wodę. Badania NMR i DSC wykazały, że dodatek mrożonego mleka owczego podczas produkcji serów pasta filata wiązał się ze znaczną utratą wody, co potwierdziła również zwiększona wartość aktywności wody (a_w). Frakcja wody związanej w serach zawierających mleko owcze miała podobną dynamikę molekularną. Potwierdziło to rolę białka jako substancji o właściwościach wiążących wodę. Badania wykazały, że dodatek wcześniej zamrożonego mleka znacząco zmienia dynamikę molekularną frakcji wody objętościowej, która występuje w serze. Zwiększona mobilność frakcji wody objętościowej może skutkować łatwiejszym odprowadzeniem wody z układu, co z kolei znacząco wpływa na parametry tekstury.

Analiza percepcji konsumenckiej jest bardzo istotna, głównie ze względu na to, że ostatecznym odbiorcą każdego produktu spożywczego jest właśnie konsument. Najmniejsze różnice w ocenie konsumentów zaobserwowano w przypadku serów pasta filata z mleka krowiego (C) oraz serów z mieszaniny mleka krowiego i świeżego mleka owczego (CS). Ogólna akceptowalność serów z mleka owczego (S) była mniejsza niż w przypadkach serów z mleka krowiego (C). Niezadowolenie (niechęć) było jeszcze większe w przypadku serów wyprodukowanych z mleka krowiego z dodatkiem mrożonego mleka owczego (CSF). Niechęć w przypadku serów produktowych wyłącznie z mrożonego mleka owczego (SF)

była największa i wynosiła prawie 32% wszystkich odpowiedzi. Dla porównania, niechęć do serów z mieszaniny mleka krowiego i mrożonego mleka owczego wynosiła zaledwie 8,25% (CSF). Badania wykazały, że główną przyczyną niezadowolenia konsumentów w przypadku serów, które wyprodukowano w całości lub tylko z dodatkiem mrożonego mleka owczego był niewystarczająco orzeźwiający smak, nieelastyczna konsystencja oraz niewystarczający połysk sera. Analiza akceptowalności konsumenckiej w skali JAR (ang. *just-about-right*) nie wykazała różnic wyłącznie w przypadku serów z mleka krowiego (C) oraz mieszaniny mleka krowiego i świeżego mleka owczego (CS). Dodatkowo warto zaznaczyć, że sery wyprodukowane ze świeżego mleka owczego (S) zazwyczaj charakteryzowały się według konsumentów zbyt słabo wyczuwalnym orzeźwiającym aromatem.

Badania przedstawione w publikacji [P1] pozwoliły na przyjęcie hipotezy H.1. wskazującej, że mrożenie przerobowego mleka owczego przyczynia się do zmian tekstury, roztopialności, aktywności i mobilności wody oraz atrakcyjności sensorycznej wytworzonego z jego udziałem niedojrzewającego sera typu pasta filata. Jednakże produkcja sera pasta filata z mrożonego mleka owczego nie okazała się najlepszą alternatywą dla wykorzystania surowca. Wyprodukowane sery z mrożonego mleka owczego nie były w pełni akceptowane przez konsumentów. Wpływa to na ograniczenie rozwoju innowacji w sektorze mleczarstwa zajmującym się m.in. mlekiem owczym. Mleko owcze, które poddano zamrożeniu, a następnie rozmrożeniu w celu wyprodukowania sera, wpłynęło na zmianę tekstury i profilu topliwości. Zmiany te zaobserwowano zarówno w przypadku serów wyprodukowanych w całości z mrożonego mleka owczego, jak i dla serów do produkcji których wykorzystano mieszaninę mleka krowiego z 30% dodatkiem mrożonego mleka owczego. Dodatek mleka mrożonego wpłynął na zmniejszenie rozciągliwości serów, co jest jedną z najważniejszych cech charakterystycznych tych wyrobów. Sery, wyprodukowane w całości lub tylko z dodatkiem mrożonego mleka owczego, okazały się twardsze i bardziej kruche. Zauważalne jest zmniejszenie rozciągliwości oraz elastyczności serów. Zamrażanie wpłynęło również na wiązanie wody, co odzwierciedliły wyniki magnetycznego rezonansu jądrowego, skaningowej kalorymetrii różnicowej oraz aktywności wody. Udowadnia to, że zamrażanie mleka wpływa na wiązanie wody, co spowodowane jest zmianami w konformacji białek. Jednocześnie zaobserwowano zwiększenie rozplýwalności, co prawdopodobnie decydująco wpłynęło na ogólny wygląd serów. Stosowanie w produkcji mrożonego mleka owczego wpłynęło znacząco na liczbę niezadowolonych konsumentów.

7.2. Wpływ pakowania i porcjowania na dynamikę uwalniania serum wodno-tłuszczowego z miękkiego sera pasta filata

Ser Mozzarella przechowywany jest zazwyczaj w zalewie. Tego typu ser wykazuje specyficzne właściwości technologiczne, spośród których prawdopodobnie najbardziej szczególną właściwością jest wyciek serum. Wyciek ten pojawia się głównie po przeprowadzeniu porcjowania sera ([Mucchetti i in., 2016](#); [Alinovi i in., 2020](#)). Skład zalewy, w której przechowuje się ser Mozzarella może być bardzo różny. Składnikami najczęściej występującymi w zalewach przechowalniczych do serów pasta filata są: woda, kwas mlekowy lub cytrynowy, NaCl oraz CaCl_2 . Zalewa utrzymuje wysoką wilgotność w serze (zwykle wynosi powyżej 60%) oraz ma za zadanie chronić miękką teksturę sera, a także zapobiegać tworzeniu się tzw. „skórki” na jego powierzchni ([Faccia i in., 2019](#); [Alinovi i in., 2020](#)). Mimo to, zastosowanie tego typu zalewy ma również negatywną stronę. Przyczynia się m.in. do skrócenia okresu przydatności do spożycia ze względu na dużą wilgotność, wysoką aktywność wody oraz wymianę masy między serem a zalewą ([Lucera i in., 2014](#); [Faccia i in., 2019](#); [Alinovi i in., 2020](#)).

Stan fizyczny wody w produktach serowarskich ma bardzo duży wpływ na właściwości strukturalne i funkcjonalne. Ser Mozzarella wykazuje charakter wiskoelastoplastyczny w temperaturze pokojowej, ale powyżej 60°C staje się już materiałem wiskoelastycznym. Z właściwościami wiskoelastycznymi sera Mozzarella związane jest również powstające odkształcenie, stawiany opór oraz pękanie masy sera podczas jego cięcia ([Muliawan i Hatzikiriakos, 2007](#); [Schuldt i in., 2018](#)). Struktury sera Mozzarella tworzą głównie porowata matryca białkowa (kazeinowa) i usieciovany w tej matrycy tłuszcz ([Smith i in., 2017](#)). Część wody znajdująca się w serze występuje w pobliżu lub wewnątrz skupisk tłuszczu ([Godefroy i in., 2003](#)). Ponadto, frakcja wodna sera dzieli się na dwie części: wodę związaną z kazeiną oraz wodę wolną występującą w serum ([Smith i in., 2017](#)).

Mimo dużej popularności, niepożądaną cechą sera Mozzarella jest wyciek pojawiający się po jego porcjowaniu. Ma to znaczenie zarówno podczas bezpośredniego spożycia tego sera, ale również w przypadku chęci późniejszego wykorzystania przemysłowego jako dodatek do innych produktów. Zjawisko wycieku jest negatywnie postrzegane nie tylko przez konsumentów, ale również przez producentów, ponieważ wpływa na zmniejszenie masy sera co stanowi wyraźną stratę. Biorąc pod uwagę to jak wyciek serum wodno-tłuszczowego z masy sera wpływa negatywnie na rentowność przechowalniczą oraz wrażenia konsumentów, zidentyfikowanie warunków sprzyjających powstawaniu temu wyciekowi jest bardzo istotne.

Celem podjętych w tym zakresie badań była analiza wpływu porcjowania i pakowania sera na dynamikę uwalniania serum wodno-tłuszczowego z niedojrzewającego sera pasta filata wyprodukowanego z mleka krowiego i jego mieszaniny z mlekiem owczym [P2]. Poszczególne analizy laboratoryjne wykonano na próbkach sera pasta filata, który był pakowany próżniowo lub w zalewie. Ser analizowany był jako produkt, którego nie poddano porcjowaniu lub po porcjowaniu na ćwiartki i plastry. Poszczególne parametry świadczące o jakości serów, w tym m.in. analiza sensoryczna oraz analiza wielkości wycieku wodno-tłuszczowego analizowane były po 2 dniach od produkcji (przechowywanie w 3°C). Miało to na celu imitować czas jaki upływa od momentu zakończenia produkcji do momentu trafienia produktu do sprzedaży.

Sery pasta filata wyprodukowane z mieszaniny mleka krowiego i owczego w proporcji 70:30 (CS) zawierały o około 6% mniej wody i około 17,2% więcej białka w porównaniu do serów wyłącznie z mleka krowiego (C). Sery wyprodukowane z mieszaniny mleka krowiego i owczego (CS) oraz sery wyłącznie z mleka krowiego (C) charakteryzowały się porównywalną zawartością tłuszczu. Co istotne, porównanie tych dwóch serów nie wykazało również różnic w przypadku twardości oraz wyników analizy oiling-off. Dodatek mleka owczego do mleka krowiego podczas produkcji nie wpłynął na zmianę pH serów. Istotne różnice zaobserwowano za to w przypadku rozciągliwości serów, która była większa dla tych serów, które wyprodukowano z mieszaniny (CS). Długość nici sera CS po rozciągnięciu miała 131,6 mm i była dłuższa od nici sera z mleka krowiego (C) o około 2,9%.

W celu oceny wpływu sposobu porcjowania i pakowania sera na ilość wycieku wykonano obrazowanie mikroskopowe przedstawione w publikacji [P2], które odzwierciedliło wielkość obserwowanego wycieku serum (Ryc. 1 i 2, str. 6-7). Dodatek mleka owczego do mleka krowiego podczas produkcji sera pasta filata wpłynął na zmniejszenie ilości wycieku w przypadku serów pakowanych próżniowo (CS). Doprowadziło to do mniejszej utraty połysku sera w porównaniu z serami wyprodukowanymi z mleka krowiego (C). Potwierdziły to zdjęcia mikroskopowe masy serowej z mieszaniny mleka krowiego oraz owczego (CS). Analiza mikroskopowa wykazała, że serum wodno-tłuszczowe zostało zatrzymane w kanałach struktury sera. Masa sera krowio-owczego zapakowanego próżniowo była bardziej zwarta niż w przypadku serów z mleka krowiego. Zauważono również, że sery zapakowane z wykorzystaniem zalewy charakteryzowały się większym połyskiem i widocznie większą zawartością serum w masie sera. Podczas cięcia masy serowej, oddziaływująca siła jest powodem powstawania uszkodzeń strukturalnych i wpływa na powiększanie się pęknięć kanałów występujących w matrycy sera. Zastosowane w tym przypadku większe obciążenie

narzędzia tnącego w połączeniu ze zwiększeniem prędkości cięcia wpływa na zwiększenie sztywności materiału. W ten sposób strefa odkształcenia spowodowana naciskiem ostrza jest zmniejszona. W badaniach przedstawionych w publikacji [P2], krojenie sera w ćwiartki wiązało się prawdopodobnie z mniejszymi odkształceniami i mniejszym tarcie niż w przypadku serów krojonych w plastry. Mogło więc mieć to wpływ na strukturę uzyskanej w ten sposób porcji. Mimo wszystko, wizualnie powierzchnia sera nie różniła się połyskiem między próbkami pokrojonymi w ćwiartki a próbkami pokrojonymi w plastry (niezależnie od użytego w produkcji surowca). Nie zauważono również żeby próbki te różniły się znacząco szorstkością. Były one jednak widocznie różne od powierzchni zewnętrznej sera (P2, ryc. 3, str. 7). Połysk zewnętrznej powierzchni sera wynosił średnio 1,4 GU (próbka C oraz CS, $p > 0,05$). Połysk warstwy wewnętrznej badanego sera wynosił średnio 0,8 GU (próbka C i CS, $p > 0,05$).

Porcjowanie sera na mniejsze kawałki jest standardową procedurą poprzedzającą jego konsumpcję. Jest to istotne np. wtedy gdy ser stanowi składnik sałatek, jest dodatkiem na pizzy lub składnikiem sosu. Aby wyrób serowarski był atrakcyjny dla konsumentów, przetwórców żywności i przemysłu gastronomicznego (np. lokali z grupy HoReCa) musi charakteryzować się stabilną strukturą i jak najmniejszym wyciekami wody i tłuszczu (Noronha i in., 2008). Mobilność wody w matrycy sera jest ściśle związana z podstawowymi cechami tych produktów, takimi jak topnienie i charakterystyczna tekstura. W sytuacji, w której woda występująca w serze jest silnie związana z matrycą, ser jest kruchy i mniej topliwy (Noronha i in., 2008). Podczas analizy, konsumenci wykazywali największą akceptowalność w stosunku do sera wyprodukowanego z mieszaniny mleka krowiego oraz owczego (CS). Najwyższe noty akceptowalności zaobserwowano dla próbek nieporcjowanych, które wcześniej przechowywano w zalewie. Sery wyprodukowane wyłącznie z mleka krowiego (C) były mniej akceptowane przez konsumentów w porównaniu z serami z mleka krowio-owczego (CS). Było to szczególnie zauważalne w przypadku serów pakowanych próżniowo, podawanych w postaci ćwiartek i plastrów (C/V/Q, C/V/S). Poziom niezadowolenia w przypadku serów plastrowanych zauważono również w przypadku serów z mieszaniny mleka krowiego i owczego (CS/V/S). Głównym powodem niezadowolenia konsumentów był zbyt mały połysk w przypadku serów z mleka krowiego (C), ćwiartkowanych i plasterkowanych. Zbyt mały połysk został również wykazany w przypadku sera z mleka krowio-owczego (CS), ale podawanego w postaci plasterkowanej. Konsumenci byli w dużej mierze niezadowoleni z powodu nadmiernej ilości wycieku jaki pojawiał się po porcjowaniu serów. Według ocen respondentów, sery te nie wykazywały odpowiedniej zwartości.

Analiza w skali JAR (ang. *just-about-right*) wykazała, że najczęściej odpowiedzi wskazujących na zbyt mały połysk (61,3% respondentów) uzyskał ser z mleka krowiego w formie ćwiartek, który przed porcjowaniem zapakowano próżniowo. Aż 97,7% ocen wskazujących na zbyt duży wyciek i 83,7% ocen wskazujących na zbyt małą zwartość sera uzyskał ser z mleka krowiego, plasterkowany, pakowany wcześniej próżniowo.

Wpływ sposobu pakowania i porcjowania na wyciek serum wodno-tłuszczowego z masy sera pasta filata można również analizować za pomocą funkcji matematycznych. W publikacji [P2] zaprezentowano diagramy, przedstawiające ilość wycieku serum jako funkcję stopnia fragmentacji i sposobu pakowania sera w danym okresie czasu (ryc. 4 i 5, str. 10). Analiza danych, z których powstały diagramy wykazała, że pakowanie próżniowe zwiększa ilość wycieku. Efekt ten potęgowało porcjowanie sera, które prowadziło do zwiększenia powierzchni wycieku. W wyniku porcjowania nastąpił wzrost stosunku powierzchni do objętości, a także zmniejszenie średniej odległości od wnętrza próbki sera do jego powierzchni zewnętrznej. Pakowanie próżniowe miało większy wpływ na ilość wycieku serum w przypadku sera wyprodukowanego całkowicie z mleka krowiego (C). Zwiększenie stopnia fragmentacji próbek sera z mleka krowiego pakowanego próżniowo, było powodem zwiększonej ilości wycieku. Po 24 h zaobserwowano od 23,18 ml dla próbek, które nie były poddane porcjowaniu (w postaci kuli) do 53,04 ml dla próbek plastrowanych. W przypadku serów z mleka krowio-owczego zaobserwowano mniejszą ilość wycieku (od 20,94 do 35,15 ml). Pakowanie z użyciem zalewy zmniejszyło wpływ porcjowania sera na ilość wycieku.

Skład mleka, którego użyto podczas produkcji badanych w publikacji [P2] serów wpłynął na ilość wycieku serum wodno-tłuszczowego. Wykazano, że dodatek mleka owczego do mleka krowiego podczas produkcji serowarskiej wpływa na zwiększoną retencję wody w masie sera. Zgodnie z badaniami prezentowanymi wcześniej przez innych naukowców, retencja wody w serze Mozzarella może mieć związek m.in. z zawartością tłuszczu w jego masie ([McMahon i in., 1999](#)). Wyniki trójczynnikaowej analizy wariancji przedstawione w publikacji [P2] potwierdziły również, że czynniki, takie jak: skład mleka, stopień fragmentacji próbki, metoda pakowania oraz ich interakcje, mają istotny wpływ na ilość wycieku wydobywającego się z masy sera. Analiza statystyczna *post hoc* z zastosowaniem testu Tukeya wykazała, że zwiększona ilość wycieku ma związek z większym rozdrobnieniem sera. Było to szczególnie zauważalne w przypadku próbek, które pakowano próżniowo. Aktualnie do badań nad produktami spożywczymi, w tym również serami używać można zaawansowanych metod wykorzystujących sztuczną inteligencję, takich jak analizy

z wykorzystaniem sztucznych sieci neuronowych (Curto i in., 2020; Fuentes i in., 2021). Pozwalają one m.in. na przewidywanie intensywności zachodzenia różnych zjawisk. Dane zebrane podczas badań próbek sera pasta filata z mleka krowiego oraz krowio-owczego przedstawione w publikacji [P2] posłużyły do opracowania modelu sztucznych sieci neuronowych (ryc. 6, str. 12). Model potwierdził, że ilość wycieku serum wodno-tłuszczowego może być przewidywalna, co jest istotne dla przyszłych badań nad tym zjawiskiem.

Badania przedstawione w publikacji [P2] pozwoliły na przyjęcie hipotezy H.2. wskazującej, że sposób pakowania i rozdrabniania sera determinuje wielkość wycieku frakcji wodno-tłuszczowej z niedojrzewającego sera typu pasta filata wytworzonego z dodatkiem mleka owczego, co można opisać modelem matematycznym. Wyniki pokazały, że ilość wycieku serum wodno-tłuszczowego, na którą wpływ miało porcjowanie sera, była negatywnie odbierana przez konsumentów. Niezadowolenie konsumentów zaobserwowano dla sera z mleka krowiego, pokrojonego w ćwiartki i plastry, oraz sera z mleka krowio-owczego pokrojonego w plastry, również w przypadku próbek pakowanych próżniowo. W ostatecznym podsumowaniu zauważono, że konsumenci wykazywali mniejszą akceptację w przypadku serów z mleka krowiego, w porównaniu do serów z mieszaniny mleka krowiego i owczego. Badania potwierdziły, że dodatek mleka owczego do mleka krowiego podczas produkcji niedojrzewającego sera pasta filata zmniejszył ilość wycieku z serów, które pakowano próżniowo. Dodatek mleka owczego nie spowodował również znaczącej utraty połysku, co zauważono w przypadku serów z mleka krowiego. Świadczy o tym, m.in. zatrzymanie serum w kanałach występujących w masie serowej, co potwierdziła analiza mikroskopowa. Obserwowany wyciek okazał się być ważnym kryterium oceny jakości serów. Ponadto, badania wykazały potencjalną przydatność sztucznych sieci neuronowych w serowarstwie. Opracowany predykcyjny model sztucznej sieci neuronowej pozwolił na szacowanie ilości uwalnianego serum w zależności od składu mleka, rozdrobnienia sera oraz jego sposobu i czasu przechowywania. Model ten może być przydatny w optymalizacji procesów produkcji serów pasta filata.

7.3. Produkty z mleka owczego w kontekście oczekiwań konsumentów

Produkcja mleka owczego jest determinowana przez różne czynniki. Wśród tych czynników najważniejszymi są: niska produktywność owiec, stosunkowo krótki okres laktacji oraz sezonowość produkcji tego surowca (Tribst i in., 2018). Właśnie dlatego, wydajność produkcji mleka owczego jest ograniczona, chociaż doświadczenia hodowlane wskazują,

że z biegiem lat można osiągnąć stałą produkcję mleka owczego przez cały rok kalendarzowy (Tagblatt.ch, 2014; Biomolkerei.ch, 2022). Statystyki przedstawione przez Organizację Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa wskazują, że w latach 2015-2020 zaobserwowano zwiększenie produkcji mleka owczego z 10,06 do 10,62 Mt (FAOSTAT, 2022). Mleko owcze jest surowcem o wyjątkowo wysokiej wartości odżywczej i energetycznej, a jego charakterystyczny skład jest coraz bardziej doceniany przez konsumentów. W mleku owczym występują m.in. takie prozdrowotne składniki jak laktoferyna (wpływająca na poprawę stanu zdrowia osób z chorobą Alzheimera przez zapobieganie tworzeniu się złogów β -amyloidu) czy witamina B13, która bierze udział w przemianach kwasu foliowego wpływając na prawidłowy przebieg spermatogenezy (Bigliardi i Galati, 2013; Alichanidis i in., 2016). Ze względu na charakterystyczne cechy mleka owczego oraz rosnące zapotrzebowanie na ten surowiec warto dokonać charakterystyki konsumenta produktów z mleka owczego. W publikacji [P3] zaprezentowano wyniki badań ankietowych, które miały na celu poznanie preferencji konsumentów względem mleka owczego. Dokonano charakterystyki zachowania konsumentów na rynku oraz determinantów spożycia produktów mleczarskich. W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano 178 poprawnie wypełnionych ankiet od konsumentów w wieku od 19 do 67 roku życia.

Badanie wykazało, że 94,9% ankietowanych to osoby, które dbają o środowisko. Aż 66,9% osób wypełniających kwestionariusz to osoby, które stosowały się do zasad prawidłowego żywienia. Wśród ankietowanych osób, najczęściej spożywanymi produktami mleczarskimi były sery inne niż twaróg, do których należą np. sery żółte oraz ser Mozzarella. Konsumentów w większości (71,3%) również wskazali, że wolą robić zakupy w sklepach detalicznych, które oferują wyroby produkcji przemysłowej. Większość ankietowanych (98,3%) znała tradycyjne wyroby z mleka owczego takie jak Oscypek, Bundz czy Feta. Wśród tych produktów, ser Oscypek będący przykładem sera pasta filata był jednak najpopularniejszy. Badania zaprezentowane w publikacji [P3] potwierdziły, że mleko owcze faktycznie cieszy się dużym zainteresowaniem wśród konsumentów. Jednak tylko 33,1% ankietowanych wskazało, że zna smak mleka owczego lub produktów, które się z niego wyrabia. Pozostali ankietowani albo nie znali smaku mleka owczego i jego produktów (66,9%), albo nie byli co do tego surowca i jego produktów zdecydowani (10,7%). Wyłącznie 1,1% konsumentów biorących udział w badaniu stwierdziło, że stanowczo nie lubi smaku mleka owczego. Duża część konsumentów była również świadoma faktu, że mleko owcze jest droższe od mleka krowiego ale przy okazji charakteryzuje się większą wartością odżywczą. Większość konsumentów wypełniających ankietę w odpowiedzi na pytanie dotyczące powodu,

dla którego nie spożywali i/lub nie spożywali częściej produktów z mleka owczego wskazało, że mleko owcze i jego produkty są za drogie (59%), słabo dostępne (18,5%) oraz mają zbyt intensywny aromat (21,3%). Co istotne, aż 93,8% ankietowanych potwierdziło, że zdecydowałoby się na spożycie produktu z mleka owczego lub z jego dodatkiem.

Konsumenci zapytani o ser Mozzarella wskazali, że wolą ser, który pakowany jest w zalewie (68%) w porównaniu do sera, który pakowany jest próżniowo. Forma spożycia sera Mozzarella przez konsumentów jest ściśle ukierunkowana na spożywanie go jako dodatku do sałatki (74,2% konsumentów). Mozzarella spożywana jest również na pizzach/zapiekance (66,9%). Wyłącznie 30,9% konsumentów wskazało, że spożywa ser Mozzarella na kanapce. Ankietowani konsumenci (60,1%) wskazali również, że ser Mozzarella dodają do sałatki dopiero przed samym jej podaniem a od momentu dodania sera do całkowitego spożycia całej sałatki potrafi upłynąć więcej niż 24h (54,5%). Aż 77,5% ankietowanych konsumentów zauważyło wyciek, który pojawia się po porcjowaniu sera Mozzarella. Dodatkowo u 58,4% konsumentów budziło to negatywne emocje. Ankietowani wskazywali, że wyciek nie tylko im się nie podoba (48,3%), ale co ważniejsze, stanowi utratę części produktu (51,7%). Niektórzy respondenci (35,9%) wskazali również, że czują się oszukani przez producenta ze względu na zauważalny ubytek masy sera. Ankietowani konsumenci jednogłośnie potwierdzili również, że chętniej kupowaliby ser Mozzarella gdyby wyciek w ogóle nie występował.

Przeprowadzone badanie ankietowe przedstawione w publikacji [P3] posłużyło do opracowania modeli konsumenta produktów z mleka owczego. Do tego celu wykorzystano różnicowanie ankietowanych konsumentów. Do różnicowania wykorzystano dane dotyczące znajomości i preferencji jakie konsumenci wykazywali w stosunku do mleka owczego i jego produktów. W ten sposób podzielono ankietowanych na obecnych (21%) oraz potencjalnych (79%) konsumentów produktów z mleka owczego.

Obecni konsumenci produktów z mleka owczego charakteryzują się przeciętnym wiekiem 51 lat i wykształceniem średnim. Konsumenci należący do tej grupy oceniają swoją sytuację materialną jako wystarczającą. Zakupów dokonują w sklepie stacjonarnym. Niekoniecznie promują zdrowy styl życia i nie są aktywni fizycznie. Obecni konsumenci produktów z mleka owczego opowiadają się jednak za innowacjami w produkcji żywności, które dotyczą zwiększonej wartości odżywczej, nowym smakiem i lepszą jakością. Ci konsumenci bardziej cenią sobie jakość produktu aniżeli jego cenę. Spośród produktów mleczarskich obecny konsument najchętniej spożywa sery, masło oraz mleko. Spośród serów najczęściej jada twarożki, sery żółte oraz ser Mozzarella. Obecny konsument produktów

z mleka owczego zna i lubi produkty z tego surowca, a najbardziej docenia jego smak. Czynnikiem ograniczającym spożycie mleka owczego i jego produktów jest jednak ich cena. Mimo, że lubi ser Mozzarella z mleka krowiego, to nie do końca jest zainteresowany takim serem z mleka owczego.

Potencjalni konsumenci produktów z mleka owczego charakteryzują się przeciętnym wiekiem 29 lat i posiadają wykształcenie średnie lub wyższe. Są mieszkańcami miasta i oceniają swoją sytuację materialną jako wystarczającą. Tak samo jak obecni konsumenci produktów z mleka owczego, zakupy robią osobiście w sklepie stacjonarnym. Pojęcie innowacyjności jest im dobrze znane i kojarzy im się przede wszystkim z wartością prozdrowotną produktu spożywczego, jego lepszą jakością oraz nowym i wygodnym opakowaniem. W produkcji spożywczym również bardziej cenią sobie jego jakość niż cenę. Potencjalni konsumenci produktów z mleka owczego stosują się do zasad prawidłowego żywienia oraz wykazują aktywność fizyczną i promują zdrowy styl życia. Wśród produktów mleczarskich, najczęściej spożywanymi przez tą grupę konsumentów są sery oraz mleko. Wśród serów preferują ser Mozzarella, następnie twarożki, ser Feta oraz inne sery sałatkowe. Potencjalny konsument produktów z mleka owczego jest zainteresowany kampanią na temat tego surowca. Zdecydowanie woli produkty, które wyprodukowano w zakładzie przemysłowym, a nie przez rolnika bezpośrednio w gospodarstwie. Mimo, że smak mleka owczego lub jego produktów może być mu obcy, to jest świadomy większej wartości odżywczej tego surowca w porównaniu z mlekiem krowim. Wykazuje chęć spożycia sera Mozzarella z mleka owczego lub z udziałem tego surowca na poziomie 30%.

Modelowanie konsumenckie to czynność bardzo istotna podczas charakterystyki aktualnego zachowania konsumenta na rynku. Koncepcyjny model zachowań dotyczący produktów spożywczych jest bazą pozwalającą na szacowanie dynamiki zachowań konsumentów w odniesieniu do produktów rolnych i spożywczych i był omawiany już w latach 90-tych ubiegłego wieku (Steenkamp, 1997). W dzisiejszych czasach żywność ma za zadanie nie tylko dostarczać składników odżywczych i zaspokajać głód, ale również zapobiegać chorobom (na które wpływ ma prawidłowe odżywianie), poprawiać stan psychiczny oraz fizyczny człowieka. Mleko owcze jest bogatsze w prawie wszystkie składniki w porównaniu do mleka krowiego co czyni go doskonałym surowcem do produkcji wyrobów o wysokich walorach prozdrowotnych (Molik i in., 2018; Molik i Daniel, 2021). **Wyniki przedstawione w publikacji [P3] potwierdzają zasadność prowadzenia badań dotyczących serów z mleka owczego lub takich, które wyprodukowano z jego maksymalnie 30% dodatkiem.** Sery, jako jedna z grup produktów mleczarskich

o największym zróżnicowaniu są więc doskonałymi, potencjalnymi nośnikami walorów prozdrowotnych pochodzących z mleka owczego. Długa lista produktów serowarskich z mleka owczego, w tym również sery pasta filata, które bardzo często mają również znaczenie historyczne, stanowi więc ogromny potencjał w tym zakresie.

7.4. Produkcja akceptowalnego sensorycznie sera pasta filata z wykorzystaniem częściowego dodatku mleka owczego w proszku w różnych formach

Produkcja serów pasta filata może mieć charakter rzemieślniczy, ale wiele takich serów produkowanych jest na skalę przemysłową. Aby zapewnić ciągłość produkcji, koniecznym jest zapewnienie stałych dostaw surowca, co w przypadku mleka owczego jest utrudnione. Wpływ na to ma m.in. wielokrotnie wspomniana już sezonowość produkcji tego surowca (Tribst i in., 2018). Mrożenie mleka mogłoby rozwiązać ten problem, ale badania przedstawione w publikacji [P1] wykazały, że mrożenie mleka owczego nie sprzyja pozytywnym efektom związanym z aspektami technologicznymi, ekonomicznymi oraz sensorycznymi. Dlatego, stale poszukuje się technologii produkcji serów wykorzystując surowiec, który wcześniej zgromadzono i utrwalono w inny sposób. Jedną z metod utrwalania mleka jest jego suszenie. Mleko w proszku jest bardzo często stosowane w produkcji żywności. Wpływ na ten fakt mają głównie właściwości funkcjonalne i wartość odżywcza mleka w proszku (Khan i in., 2020; Ding i in., 2021). Mleko w proszku jest ważnym składnikiem wielu produktów spożywczych, w tym m.in. produktów o specjalnym przeznaczeniu (np. dla wojska), granoli, mleka modyfikowanego dla niemowląt, batonów proteinowych oraz przypraw (Wei i in., 2021). Białka mleka występujące w mleku w proszku wykazują takie właściwości jak: żelowanie, emulsyfikacja oraz pianotwórczość. Ponadto, utrwalenie mleka w wyniku suszenia wydłuża okres przydatności do spożycia, pozwala na przechowywanie w temperaturze pokojowej, a także pozwala na racjonalne wykorzystanie mleka w proszku w zależności od zapotrzebowania. Wpływ na to ma głównie zastosowana obróbka termiczna oraz zmniejszona aktywność wody (Christiansen i in., 2022). Dodatkowo dalsza rekonstrukcja i/lub rekombinacja mleka pozwalają na dostosowanie zawartości suchej substancji i/lub zawartości białka w mleku po dodaniu wody. Mleko rekonstruowane powstaje poprzez połączenie odtłuszczonego lub pełnego mleka w proszku z wodą w takiej ilości, aby zapewnić odpowiedni stosunek wody do suchej substancji. Mleko rekonstruowane jest bardzo ważnym

surowcem w produkcji mleczarskiej, szczególnie w tych regionach świata, w których dostęp do mleka surowego jest ograniczony (Li i in., 2022). Dodatkowo, mleko rekonstruowane może całkowicie lub tylko częściowo zastąpić mleko świeże, np. w produkcji sera (Tidona i in., 2020).

Mleko w proszku było w przeszłości przedmiotem badań innych naukowców, natomiast do tej pory nie ma badań, które dotyczyłyby wykorzystania mleka owczego w proszku w produkcji sera pasta filata. Dlatego, w publikacji [P4] przedstawiono wyniki badań dotyczących wykorzystania owczego mleka w proszku w różnych formach (natywnej i po rekonstruowaniu) oraz różnych ilościach substytucji z mlekiem krowim do produkcji świeżego sera pasta filata. W tym celu przeprowadzono testy technologiczne oraz analizę instrumentalną. Uzyskane wyniki połączono z analizą sensoryczną serów przy użyciu deskryptorów (P4, tab. 2, str. 5). Oprócz celów poznawczych, dokonano szacowania wydajności produkcyjnej sera przy użyciu wzorów matematycznych, które są dobrze znane i od lat tradycyjnie stosowane w przemyśle mleczarskim. Substytucję z mlekiem krowim prowadzono na poziomie ok. 20, 30 oraz 40% (v/v). Dokładną ilość mleka owczego w proszku w postaci natywnej oraz rekonstruowanej, którą dodano do surowego mleka krowiego podczas produkcji sera pasta filata zaprezentowano w publikacji [P4] (tab. 1, str. 3). Wydajność produkcyjną sera obliczono przy użyciu wzorów matematycznych przedstawionych również w publikacji [P4] (równanie 1-7, str. 3-4).

Przeprowadzone badania nad składem i parametrami technologicznymi mieszanin mleka krowiego z mlekiem w proszku w postaci natywnej lub rekonstruowanej wykazały istotne różnice. Mieszaniny mleka krowiego i mleka w proszku w postaci natywnej (CSP) charakteryzowały się istotnie większą zawartością wszystkich badanych składników w porównaniu z mieszaninami mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego (CSR). Im większy był dodatek mleka owczego w proszku niezależnie od formy, tym zawartość poszczególnych składników była większa. Właśnie dlatego, największą zawartość poszczególnych składników zaobserwowano w przypadku próbki mieszaniny mleka krowiego i mleka owczego w proszku w postaci natywnej, w stosunku 6/4 (CSP6/4). Mieszaniny mleka krowiego z mlekiem owczym w proszku w postaci natywnej (CSP) charakteryzowały się większą zawartością suchej substancji beztłuszczowej w porównaniu z mlekiem owczym rekonstruowanym (SR). Można to było zaobserwować, np. dla mieszaniny CSP6/4, w której zawartość suchej masy beztłuszczowej była prawie 60% większa niż w przypadku próbki mieszaniny mleka krowiego z owczym mlekiem rekonstruowanym w stosunku 6/4 (CSR 6/4) i ok. 35% większa niż w przypadku mleka SR ($p < 0,05$). Podobną tendencję

zaobserwowano dla całkowitej zawartości białka. Zawartość kazeiny w białku ogólnym dla próbek mieszanin CSP oraz CSR wynosiła odpowiednio około 80,8% oraz 80,7%. W przypadku mieszaniny CSR wykazano, że im więcej było mleka rekonstruowanego w mieszaninie, tym zawartość laktozy była mniejsza. Zaobserwowano również, że im mniej mleka owczego w proszku (niezależnie od formy) znajduje się w mieszaninie, tym większy jest stosunek tłuszczu do białka całkowitego (1,5). Wpływ na to miał zwiększający się udział mleka krowiego w mieszaninie. Skład i właściwości technologiczne porównywalne z typowymi dla surowego mleka krowiego zaobserwowano dla mieszanin CSR, zwłaszcza dla wariantów mieszanin CSR7/3 oraz CSR8/2. Jest to dowodem na fakt, że mleko owcze charakteryzuje się większą zawartością suchej substancji i najważniejszych składników odżywczych w porównaniu z mlekiem krowim, o czym pisali m.in. [Chia i in. \(2017\)](#).

Podstawowy skład oraz właściwości fizyczne badanych mieszanin mleka wpłynęły na charakterystykę wyprodukowanych serów pasta filata. Zaobserwowano, że zawartość wody w przypadku serów wyprodukowanych z mieszanin była większa ($p < 0,05$) niż w serach produkowanych w całości z mleka owczego rekonstruowanego (SR). Zaobserwowano jednak, że zawartość wody w serze pasta filata była tym mniejsza im udział mleka owczego w mieszaninie mleka był większy, ale tylko wtedy gdy mleko owcze w proszku dodawano do mieszaniny w postaci natywnej (CSP). Gdy do mieszaniny mleka użytego do produkcji serów dodawano mleko owcze w postaci rekonstruowanej (CSR) zaobserwowano odwrotną tendencję. Sery wyprodukowane z mieszanin mleka CSP charakteryzowały się zawartością wody od 507,6 do 511,1 g/kg. W przypadku serów pasta filata wyprodukowanych z mieszanin CSR, zawartość wody wynosiła od 583,8 do 594,8 g/kg. Świeży ser Mozzarella z mleka krowiego (a więc najbardziej popularny), ma zawartość wody około 52,2%, co wykazali m.in. [Moghiseh i in. \(2021\)](#). Jest to wartość prawie 14% mniejsza niż ta przedstawiona w wynikach w publikacji [P4] dla serów z mieszanin CSR. Zawartość wody najbardziej zbliżoną do wartości przedstawionej przez [Moghiseh i in. \(2021\)](#) dla sera Mozzarella z mleka krowiego wykazano dla serów z mieszaniny CSR8/2. Warto również zauważyć, że wartość ta była również większa od zawartości wody wykazanej dla sera pasta filata wyłącznie z surowego mleka owczego, co zaprezentowano w publikacji [P1]. W badaniach przedstawionych w publikacji [P4] wykazano, że zawartość tłuszczu w serach z mieszanin CSP oraz CSR6/4 wynosiła średnio 181,4 g/kg. Była to wartość mniejsza niż w przypadku serów z pozostałych mieszanin CSR oraz rekonstruowanego mleka owczego SR ($p < 0,05$). Mimo, że zawartość białka w mieszaninach, których użyto do produkcji sera pasta filata była większa po dodaniu mleka SR, to finalny stosunek białka do tłuszczu w serach

z mieszanin CSR był podobny. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku serów z mieszanin CSP. [Tidona i in. \(2021\)](#) wykazali, że w przypadku sera Mozzarella z mleka krowiego, do produkcji którego użyto mieszaniny mleka rekonstruowanego oraz mleka świeżego (40 g/100 g), zawartość tłuszczu wyniosła 17,1 g/100 g a zawartość białka 16,5 g/100 g. Wartości te były niższe od tych, które wykazano dla serów z mleka owczego w publikacji [P1], ale zbliżone do tych serów, które wyprodukowano z mieszanin CSR, co wykazano w publikacji [P4]. Sery pasta filata z mieszanin CSR charakteryzowały się zawartością tłuszczu w zakresie od 182,0 do 186,3 g/kg. Zawartość białka w tych serach mieściła się natomiast w zakresie od 184,3 do 192,77 g/kg.

Analiza składu serwatki pozostałej po produkcji sera pasta filata w publikacji [P4] wykazała, że największą ilością suchej substancji charakteryzowała się serwatka z serów wyprodukowanych z mieszaniny CSR8/2 (51,6 g/kg). Była to wartość o około 1,6% większa niż w przypadku serwatki z serów z mleka SR. Zawartość tłuszczu i białka w serwatce z serów z mieszanin CSP oraz CSR była istotnie mniejsza niż w przypadku serwatki z serów z mleka SR. Odwrotną zależność wykazano dla zawartości laktozy, której zawartość w suchej masie beztłuszczowej serwatek po produkcji serów ze wszystkich mieszanin była podobna i wynosiła ok. 80,2%. Wartość ta była większa niż w przypadku serwatki z serów z mleka SR (74,7%). Największą utratę tłuszczu wraz z serwatką (migrację tłuszczu do serwatki) zaobserwowano w przypadku serów, do produkcji których wykorzystano mleko owcze rekonstruowane. Natomiast w przypadku serów wyprodukowanych z mieszanin CSP i CSR utrata tłuszczu z serwatką wynosiła odpowiednio około 2,9% i 3,8% (w porównaniu do zawartości tłuszczu w mleku użytym do produkcji). Najmniejszą utratę tłuszczu z serwatką wykazano dla sera z mieszaniny CSP6/4 (2,4%). [Johnson i in. \(2001\)](#) wykazali, że utrata tłuszczu wynikająca z jego migracji do serwatki może być związana ze sztywnością i strukturą sieci w matrycy sera, co jest bezpośrednio związane z wielkością występujących w niej porów oraz stopniem agregacji kazeiny. Ci sami autorzy podali również, że większa porowatość skrzepu sera jest związana z jego większą sztywnością, co będzie wpływać na większe uwalnianie (również tłuszczu) podczas dalszej obróbki, m.in. formowania/prasowania.

Sery, które wyprodukowano z mieszanin CSP oraz z mleka SR charakteryzowały się większą wydajnością produkcyjną w porównaniu do serów, które wyprodukowano z mieszanin CSR. Największą wydajność uzyskano dla sera z mieszaniny CSP6/4. W zależności od tego, które z równań od 1 do 6 przedstawionych w publikacji [P4] zastosowano, wydajność produkcji wynosiła 21% (P4, równanie 3), a nawet 36%

co jest wartością większą niż w przypadku serów z mleka SR (P4, równanie 4). Wykazano, że wydajność była tym większa im udział mleka owczego w proszku był większy w mieszaninie CSP. Zaobserwowano również, że im mniejszy był dodatek mleka owczego do mieszanin CSR, tym wydajność była mniejsza. W przypadku mieszanin CSP mleko owcze dodawane było w postaci proszku bez wcześniejszego uwodnienia. Właśnie dlatego, mleko było bogatsze w suchą masę beztłuszczową przy jednoczesnej mniejszej zawartości wody. Do wyprodukowania 1 kg sera potrzeba było więc znacznie więcej mieszaniny CSP niż CSR, co wyraźnie potwierdziły wyniki dla zmiennej MY (równanie 7). Na podstawie tej zmiennej można zauważyć, że w przypadku mieszaniny CSP6/4, do wyprodukowania 1 kg sera potrzebne było prawie 5,67 kg mieszaniny. Jest to prawie 11% więcej niż w przypadku sera z mleka SR i prawie 31% więcej niż w przypadku sera z mieszaniny CSR6/4. Wykorzystanie równań przedstawionych w publikacji [P4] w celu oszacowania wydajności produkcji sera jest ściśle zależne od surowca. Równania od 1 do 6 dokładniej odzwierciedlają zawartość i wzajemne relacje między białkiem, tłuszczem i suchą masą beztłuszczową w mieszaninach, które wykorzystano w badaniu. Ma to finalnie duży wpływ na szacowaną wydajność produkcyjną. Związek jaki występuje między zawartością wody w serze, a zawartością suchej masy beztłuszczowej w serwatce dodatkowo uzasadnia wybór tych równań do obliczenia wydajności produkcji serów z mieszanin CSR oraz mleka SR. Niezależnie od wzajemnych proporcji i udziału składników w suchej masie, użyta może być również zmienna MY, która określa ilość mleka (kg) jaka jest potrzebna do wyprodukowania 1 kg sera Mozzarella. Analiza wydajności produkcji obliczonej przy użyciu zmiennej MY wykazała, że najmniejsze ilości mleka potrzebne do wyprodukowania 1 kg sera pasta filata dotyczyły właśnie mieszanin CSR. Do wyprodukowania 1 kg sera Mozzarella z mieszanin CSR potrzebne było od 4,33 do 4,81 kg mieszaniny. Dodatkowo, wartość ta była mniejsza niż w przypadku sera z mieszaniny CSP6/4 (5,67 kg/kg). Badania nad wydajnością sera, do którego dodawano surowce mleczarskie w postaci proszku prowadzili również inni naukowcy. [Francolino i in. \(2010\)](#) podają, że wydajność produkcyjna sera Mozzarella, który produkowany jest z mleka z dodatkiem koncentratu białek mleka wzrosła ze względu na większy odzysk całkowitej zawartości suchej masy oraz białka. [Tidona i in. \(2020\)](#) wykazali jednak, że w przypadku produkcji sera Mozzarella z mieszaniny mleka rekonstruowanego i mleka świeżego w proporcji 40/100 g nie miała znaczącego wpływu na rzeczywistą wydajność produkcyjną w porównaniu z wydajnością sera ze świeżego mleka. Badania te dotyczyły jednak mleka krowiego. Wykorzystanie zmiennej MY w przypadku próbek sera z mieszanin CSR, w porównaniu

do sera z mieszanin CSP wskazuje na zasadność wprowadzania mleka owczego w proszku w postaci rekonstruowanego. Mniejsze zużycie mleka podczas produkcji może być istotnym aspektem ekonomicznym. Może mieć to też wpływ na lepsze wykorzystanie składników surowca użytego do produkcji również z punktu widzenia wartości odżywczej, co jest ważne dla konsumenta. Jednakże wartość odżywcza nie jest jedynym aspektem ocenianym przez konsumenta podczas wyboru produktów do zakupu. Razem z cechami odżywczymi, współgrać musi również aspekt sensoryczny i ogólna akceptowalność.

Analiza profilu sensorycznego omówiona w publikacji [P4] wykazała, że niedojrzewające sery pasta filata z mieszaniny mleka owczego w proszku w różnych formach i konfiguracjach z mlekiem krowim różnią się wyglądem, konsystencją oraz smakiem. Nie wykazano różnic w aromacie oraz odczuciu w ustach jakie powodowały badane próbki. Cecha „kremowy kolor” była tym wyżej oceniana im więcej mleka owczego dodano do mieszaniny użytej podczas produkcji sera niezależnie od formy tego mleka. Przeciwną zależność wykazano natomiast dla deskryptorów „gładkość” oraz „wyciek serwatki”. Im mniej mleka owczego dodawano do mieszaniny użytej podczas produkcji, tym wyżej oceniano te deskryptory. Sery z mieszanin CSR były do 60% „bardziej błyszczące” niż sery z mieszanin CSP. W analizowanych próbkach serów nie wykazano różnic pod względem deskryptora konsystencji „gumowatość”. „Sprężystość” była wyżej oceniana w przypadku serów z mieszanin CSR, również w porównaniu do serów całkowicie wyprodukowanych z mleka rekonstruowanego (SR). Badane próbki serów nie różniły się od siebie cechami aromatu („kremowy” oraz „typowy dla mleka owczego”) jednakże w przypadku cech smaku, różnice stwierdzono w odniesieniu do deskryptora „słony”. Warto jednak podkreślić, że słoność była większa i statystycznie różna jedynie w przypadku serów wyprodukowanych z mleka SR oraz mieszanin z 40% dodatkiem mleka owczego (niezależnie od formy tego mleka). Sery wyprodukowane z mieszanin zawierających mleko owcze w proszku w postaci natywnej (CSP) charakteryzowały się mniejszą ogólną akceptowalnością konsumentką w porównaniu z pozostałymi badanymi próbkami. Podobną zależność wykazano dla serów wyprodukowanych z mieszanin CSR, w których ilość rekonstruowanego mleka owczego była większa niż 30%. Zaobserwowano, że niezadowolenie (ocena „nie lubię”) było tym większe, im większa była ilość mleka owczego w proszku dodanego do mieszaniny CSP. Ilość odpowiedzi „nie lubię” wskazujących na niechęć do danego produktu zwiększyła się z około 23% dla serów z mieszaniny CSP8/2 do 98% dla serów z mieszaniny CSP6/4. Finalnie, prawie wszyscy konsumenci wykazali niechęć w stosunku do serów z mieszaniny CSP6/4. W przypadku serów z mieszaniny CSP7/3,

niechęć wykazało już około 84% konsumentów. Głównym powodem niezadowolenia (ocena „niewystarczająco”) konsumentów w przypadku próbek serów pasta filata produkowanych z mieszanin CSP był niewystarczający poziom cech: sprężystość (cecha konsystencji) i kremowość (cecha aromatu, ale tylko w przypadku serów z mieszaniny CSP8/2), oraz zbyt intensywny („za dużo”) poziom cech: kremowość (cecha aromatu – dla wszystkich serów z mieszanin CSP), słoność (cecha smaku) oraz wyciek serwatki (cecha ogólnego wyglądu). Warto więc zauważyć, że w przypadku kremowości, będącej cechą aromatu, zauważono rozbieżność w ocenie konsumentów. Na przykład w przypadku sera z mieszaniny CSR7/3 aromat kremowy był niewystarczający dla prawie 31% konsumentów i jednocześnie zbyt intensywny dla około 15% konsumentów. Odczucie kremowości jako cechy aromatu jest zatem bardzo indywidualne. Mimo wszystko w ocenie JAR (ang. *Just-About-Right*) większość konsumentów (56%) uznała, że kremowość jako cecha smaku była na poziomie w sam raz. Sprężystość (cecha konsystencji) oceniana była jako zbyt duża („za dużo”) w przypadku próbek CSR w porównaniu z próbkami CSP. W przypadku żadnej z próbek serów zaprezentowanych konsumentom nie wykazano niewystarczającej („niewystarczająco”) ilości wycieku serwatki. Zbyt duży („too much”) wyciek najczęściej zgłaszano w przypadku serów z mleka SR, serów z mieszanin CSR oraz serów z mieszaniny CSP8/2. Co jednak istotne, ilość wycieku serwatki zauważanego przez konsumentów był tym mniejszy im więcej mleka owczego w proszku dodano do mieszaniny, z której wyprodukowano ser pasta filata. Szczególnie wyraźnie zaobserwowano to dla serów z mieszanin CSP. Analiza sensoryczna wykazała, że sery produkowane z mieszaniny mleka krowiego i mleka owczego w proszku w postaci natywnej lub rekonstruowanej różniły się od siebie statystycznie. W przeszłości donoszono już o możliwości produkowania sera pasta filata z mieszanin mleka krowiego z mlekiem innych ssaków. [Sameen i in. \(2008\)](#) wykazali np. że ser Mozzarella wyprodukowany z mieszaniny surowego mleka krowiego i bawolego był bardziej akceptowalny niż wyprodukowany wyłącznie z mleka krowiego. [Niro i in. \(2014\)](#) zaprezentowali z kolei możliwość produkcji sera Caciocavallo z mieszaniny surowego mleka krowiego i owczego lub koziego. Badania te udowodniły, że sery produkowane z mieszaniny mleka krowiego i koziego były zdaniem panelistów bardziej elastyczne, a sery z mieszaniny mleka krowiego z owczym miały intensywniejszy smak i były bardziej słone w porównaniu do serów wyłącznie z mleka krowiego. Zarówno w przypadku doświadczeń prowadzonych przez [Sameen i in. \(2008\)](#), jak i [Niro i in. \(2014\)](#) mowa jest wyłącznie o mieszaninach z mleka surowego. Nie badano dodatku mleka owczego w proszku w postaci natywnej czy rekonstruowanej.

W podsumowaniu badań przedstawionych w publikacji [P4] warto zauważyć, że mieszanie mleka krowiego z mlekiem owczym w postaci rekonstruowanego w ilości 20-40% lub dodawanym w postaci natywnej, pozwala na modelowanie parametrów sera, w tym również jego wydajności produkcyjnej. Mimo to, sery wyprodukowane z mieszaniny mleka krowiego i mleka owczego, którego nie poddano rekonstrukcji (forma natywna) nie zostały w pełni zaakceptowane przez konsumentów. Do poprawy akceptowalności przyczynił się jednak 20-40% dodatek mleka rekonstruowanego do mleka krowiego w produkcji tych serów. Najbardziej lubiane przez konsumentów były sery z mieszaniny mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego w stosunku 7:3. Zauważono to mimo, że niektórzy konsumenci wskazywali na zbyt dużą sprężystość, zbyt dużą słoność lub zbyt duży wyciek serwatki z tych serów. **Badania przedstawione w publikacji [P4] pozwoliły więc na przyjęcie hipotezy H.3. wskazującej, że możliwe jest wytworzenie niedojrzewającego sera typu pasta filata z dodatkiem mleka owczego w proszku, który jest akceptowany sensorycznie.** Wyniki kalkulacji wydajności produkcyjnej wykazały również możliwy jej wzrost dzięki wykorzystaniu mleka owczego w proszku, zarówno w postaci natywnej jak i rekonstruowanej. Wskazuje to zatem na możliwość wykorzystania mleka owczego niezależnie od sezonowości jego produkcji. Może to być korzystne zarówno dla producentów jak i konsumentów.

7.5. Innowacyjne zalewy przechowalnicze stabilizujące wyciek serum wodno-tłuszczowego ze świeżego sera Mozzarella używanego jako dodatek na pizzy

Ser Mozzarella jest dystrybuowany zazwyczaj jako wyrób pakowany i przechowywany w zalewie przechowalniczej. Zalewę tą stanowi głównie woda (używana wcześniej podczas strukturyzacji sera), serwatka lub rozcieńczona solanka (Faccia i in., 2013; Ricciardi i in., 2015; Guidone i in., 2016). Zalewę tę stosuje się w celu zabezpieczenia delikatnego smaku, odpowiedniej świeżości oraz sprężystości sera (Ricciardi i in., 2015; Faccia i in., 2019). Płyn, którego używa się do pakowania sera Mozzarella ma jednak wiele funkcji. Chroni również delikatną strukturę sera podczas dystrybucji oraz stabilizuje jego skład i właściwości podczas przechowywania. Mimo to, taka metoda pakowania sera Mozzarella wpływa na ograniczenie trwałości. W wyniku tego okres przydatności tego tradycyjnego wyrobu serowarskiego to około 1 do 2 tygodni (Caputo i in., 2015; Faccia i in., 2019).

Zalewa przechowalnicza jest bardzo istotna, m.in. ze względu na występujące reakcje chemiczne oraz możliwy wzrost mikroorganizmów (Faccia i in., 2013). Zalewa solankowa

używana jest także w celu regulacji zawartości soli w serze Mozzarella. Wpływa to bezpośrednio na właściwą kontrolę wilgotności, smak, teksturę i ogólną charakterystykę wyprodukowanego sera. Proces solankowania sera może jednak sprzyjać tworzeniu się miękkiej, wilgotnej i kruchej warstwy na powierzchni sera, co ogólnie postrzegane jest jako wada (Gernigon i in., 2010; Luo i in., 2013; Alinovi i in., 2020). Skład zalewy przechowalniczej może być bardzo różnorodny. Zazwyczaj jest to mieszanina solanki z solami jedno- oraz dwuwartościowymi i/lub kwasami organicznymi (np. NaCl, CaCl₂, mleczan wapnia) (Faccia i in., 2013; Alinovi i in., 2020; Zappia i in., 2020; Huang i in., 2022). Kindstedt i in. (1996) już w latach 90-tych ubiegłego wieku wskazali, że zjawisko tworzenia się delikatnej warstwy na powierzchni sera Mozzarella może być związane z zawartością wapnia. Wiadomo również, że wapń odgrywa bardzo ważną rolę w formowaniu struktury sera (Thybo i in., 2020). Dlatego, do solanki często dodaje się CaCl₂, co minimalizuje ryzyko powstawania miękkiej warstwy zewnętrznej (Luo i in., 2013). Płyn stosowany do przechowywania sera Mozzarella stymuluje zatem jakość i stabilność sera w trakcie przechowywania, co jest również istotne w kontekście jego dalszego wykorzystania kulinarnego.

Ser Mozzarella jest bardzo popularnym produktem mleczarskim używanym m.in. w potrawach takich jak pizza, calzone itp. Produkt ten odznacza się odpowiednimi właściwościami zarówno przed, jak i po procesie jego ogrzewania (Imm i in., 2003; McMahon i Oberg, 2011; Berta i in., 2016; Dai i in., 2019). Jedną z najbardziej istotnych cech sera Mozzarella podczas oddziaływania podwyższonej temperatury, towarzyszącej przy zapiekaniu jest jego całkowite roztopienie, wytapianie się wolnego tłuszczu, stapianie się mniejszych fragmentów (np. tartego sera) oraz pożądane brązowienie (Ah i in., 2017; Sutariya i in., 2022). Dodatkowo wspomina się również o powstawaniu pęcherzyków uwalnianego powietrza na serze podczas procesu pieczenia (Zisu i Shah, 2007; Dai i in., 2019; Zhang i in., 2021).

Metody przechowywania sera Mozzarella są stale udoskonalane. Obecnie obserwuje się tendencję do częstszego pakowania świeżego sera Mozzarella metodą próżniową, co jednak wpływa na zmianę właściwości sensorycznych. Podkreśla to potrzebę poprawy sposobu przechowywania sera Mozzarella z użyciem zalewy. Do tej pory w literaturze nie występowały informacje o możliwości wykorzystania laktozy czy zmiany kwasowości w celu stworzenia odpowiednich warunków, które mogą wpłynąć na redukcję ilości wycieku serum wodno-tłuszczowego z masy sera. Ponadto, nie ma badań, które dotyczyłyby możliwości wykorzystania takich zalew do przechowywania świeżego sera pasta filata wytwarzanego z mieszaniny surowego mleka krowiego oraz mleka owczego w proszku. W publikacji [P5]

dokonano analizy możliwości wykorzystania laktozy oraz kwasu cytrynowego do modyfikacji składu zalewy używanej do przechowywania sera Mozzarella. Modyfikacja miała na celu zmniejszenie ilości wycieku serum z sera Mozzarella oraz poprawę jego właściwości podczas dalszego wykorzystania kulinarnego, jako dodatek na pizzę. Ilość użytej laktozy oraz kwasu cytrynowego w każdym wariancie zalewy przechowalniczej zaprezentowano w publikacji [P5] (tab. 1, str. 2). Do badań wykorzystano niedojrzewający ser pasta filata wyprodukowany z mieszaniny mleka krowiego oraz rekonstruowanego mleka owczego w proszku w proporcji 70:30.

Przegląd literatury (np. [Pisano i in., 2016](#); [Braghieri i in., 2018](#); [Dai i in., 2019](#), [Alinovi i in., 2020](#)) wykazał, że dotychczasowe badania naukowe koncentrowały się przede wszystkim na jakości samego sera. W literaturze brakuje jednak jednoznacznych informacji przedstawiających zmiany zachodzące w samej zalewie podczas przechowywania i jak te zmiany mogą korelować ze zmianami zachodzącymi w serze, co może mieć wpływ na późniejsze wykorzystanie kulinarne. Jest to również istotne ze względu na ewentualne, późniejsze wykorzystanie zalew po przechowywaniu sera, co jest z kolei zgodne z koncepcją gospodarki zamkniętej i trendów wskazujących na ograniczenie ilości produkowanych odpadów. Dodatkowo, warto zaznaczyć, że dotychczasowe badania prowadzono głównie na próbkach serów, które przechowywano w tradycyjnych zalewach, do których dodawano najczęściej NaCl (np. [Braghieri i in., 2018](#); [Alinovi i in., 2020](#)). Dane te potwierdzają, że badania nad jakością zalew przechowalniczych i nad wpływem tych zalew na jakość sera są konieczne, zwłaszcza teraz, gdy konsument oczekuje możliwości wykorzystania produktu bez jakichkolwiek strat, np. zgodnie z trendem „zero waste”.

Po umieszczeniu wyprodukowanych serów pasta filata w przygotowanych zalewach przechowalniczych wykazano istotne zmiany w masie sera oraz właściwościach samych zalew. Po porównaniu uzyskanych wyników z wynikami dla próbki kontrolnej W (serwatka bez żadnych dodatków), wykazano że różnice były istotne statystycznie ($p < 0,05$). Potwierdziło to wpływ modyfikacji składu zalew przechowalniczych na masę sera. W przypadku próbek sera przechowywanych w zalewie kontrolnej wykazano, że masa tych serów wzrosła o 1,14% ($p < 0,05$). Analiza właściwości tej zalewy wykazała również zmniejszenie się aktywności wody (z 0,9906 do 0,9843; $p < 0,05$), wzrost pH (z 6,521 do 6,672; $p < 0,05$), obniżenie punktu zamarzania (z $-0,6761^{\circ}\text{C}$ do $-0,6952^{\circ}\text{C}$; $p < 0,05$) oraz zmniejszenie zasolenia (z $8,70\text{ g/dm}^3$ do $8,40\text{ g/dm}^3$; $p < 0,05$), co finalnie wpłynęło również na zmniejszenie konduktywności (z $35,62\text{ mS/cm}$ do $34,45\text{ mS/cm}$; $p < 0,05$; $p = 0,002$). Obniżenie pH zalew przechowalniczych do pH 5,89 (zalewa WA1) i pH 5,35 (zalewa WA2) w wyniku dodania

kwasy cytrynowego wpłynęło na zwiększenie masy serów. Zwiększenie masy było 2-krotnie większe niż w przypadku próbki kontrolnej W. Warto również zwrócić uwagę na fakt, że ilość dodanego kwasu nie miała finalnie wpływu na końcowe wartości aktywności wody, punktu zamarzania, zasolenia oraz konduktywności zalew przechowalniczych WA1 i WA2 ($p > 0,05$). Dodatek laktozy w większej ilości (20 g/kg, WL2) wpłynął na obniżenie pH zalewy, obniżenie punktu zamarzania oraz zmniejszenie zasolenia i tym samym konduktywności ($p < 0,05$). W tym przypadku (WL2) zaobserwowano, że ser przechowywany w takiej zalewie zwiększył swoją masę ($p < 0,05$). Jednoczesne dodanie laktozy oraz zakwaszenie zalewy (w porównaniu z próbką kontrolną) wpłynęło na obniżenie pH, aktywności wody, punktu zamarzania oraz zmniejszenie zasolenia i konduktywności. Jednakże należy zauważyć, że zmiany jakie zaszły w zalewie po przechowywaniu w niej sera, mimo że miały ten sam kierunek to były zależne od ilości dodanej laktozy oraz kwasu cytrynowego. Ponadto, konfiguracje tych dwóch składników, które dodawano do zalew, determinowały zmiany masy przechowywanych serów. Największą redukcję masy sera wykazano po przechowywaniu w zalewie z podwójnym dodatkiem zarówno laktozy jak i kwasu cytrynowego WL2A2 ($p < 0,05$). Stanowi to kontrast do wyników dla sera przechowywanego w zalewie z podwójnym dodatkiem laktozy i pojedynczym dodatkiem kwasu WL2A1, który prawie nie zmienił swojej masy. Dodatek laktozy w ilości 20 g/kg oraz kwasu cytrynowego w ilości 10 g/kg w zalewie WL2A1 spowodował istotne zmniejszenie pH przed przechowywaniem w niej sera do wartości 5,8 w porównaniu z zalewą kontrolną W, dla której wykazano pH na poziomie 6,52 ($p < 0,05$). Zaobserwowano również znaczące obniżenie punktu zamarzania z $-0,676^{\circ}\text{C}$ dla zalewy kontrolnej do $-0,793^{\circ}\text{C}$ dla zalewy WL2A1. Nie zaobserwowano jednak istotnej zmiany masy dla sera, który przechowywano w zalewie WL2A1 ($p > 0,05$; $p = 0,424$). Aktywność wody tej zalewy nie uległa zmianie w wyniku przechowywania w niej sera. Po przechowywaniu zaobserwowano jednak istotne zwiększenie pH (z 5,83 do 6,40; $p < 0,05$). Na podstawie uzyskanych wyników, ze względu na najmniejsze zmiany w masie sera pasta filata po przechowywaniu, do dalszej analizy procesów związanych z dyfuzją i mobilnością wody wybrano zalewę WL2A1.

Podczas przechowywania sera, np. w zalewie solankowej, woda ulega transferowi z masy sera do zalewy, co jest wynikiem procesów osmotycznych napędzanych przez stosunkowo wysoką ($>20\%$) zawartość soli w zalewie (Fucà i in., 2012). W przypadku, gdy ser jest przechowywany w zalewie, w której zawartość soli jest nieduża, efekt osmotyczny jest dużo mniejszy a transfer wody występuje w przeciwnym kierunku, czyli z zalewy

do masy sera. Ostatecznie wpływa to na zwiększenie masy sera (Fucà i in., 2012), co jest zbieżne z wynikami zaprezentowanymi w publikacji [P5] dla próbki kontrolnej (W) i próbek z dodatkiem tylko laktozy lub kwasu cytrynowego (WL1, WL2, WA1, WA2). Analizę procesów dyfuzji omówioną w publikacji [P5] wykonano bazując na obserwowanym wycieku. Po 5 godzinach i 19 minutach, dyfuzja wody na zewnątrz z masy sera przechowywanego w zalewie WL2A1 wynosiła zaledwie 0,05 ml. Były to jednocześnie pierwsze oznaki jakiegokolwiek wycieku. Największy, całkowity wyciek spowodowany dyfuzją zaobserwowano po 17 godzinach od wyjęcia sera z zalewy i porcjowania w ćwiartki (4,53 ml). Dalsza analiza (po 17 godzinach) wykazała, że procesy dyfuzji z masy sera na zewnątrz zostały zredukowane do zera. Jednocześnie zaobserwowano ostatnie oznaki wycieku w ilości 0,06 ml. Podobne badania nad wyciekiem serum wodno-tłuszczowego z sera wyprodukowanego z mieszaniny mleka krowiego i owczego w stosunku 70:30, który przechowywano w zalewie tradycyjnej zaprezentowano w publikacji [P2]. Porównując wyniki ilości wycieku z sera z zalewy WL2A1 [P5] i wycieku z sera CSB [P2] zauważono, że końcowa ilość wycieku z sera CSB była znacznie większa. Co więcej, zjawisko wycieku rozpoczęło się znacznie szybciej, bo już w ciągu pierwszej godziny po wyjęciu sera z zalewy i porcjowaniu na ćwiartki (0,22 ml). Finalnie suma ilości wycieku z sera CSB wyniosła 24,55 ml. Jest to ilość prawie 5,5 razy większa niż w przypadku sera z zalewy WL2A1 badanego w publikacji [P5]. Jest to dowodem na to, że przechowywanie sera w zalewie o zmodyfikowanym składzie może mieć pozytywny wpływ na zmniejszenie ilości wycieku z sera Mozzarella.

Właściwości funkcjonalne sera Mozzarella są zależne od zmian jakie zachodzą w dystrybucji wody, w masie sera, szczególnie w początkowym okresie przechowywania (McMahon i in., 1999; Kuo i Gunasekaran, 2009; Smith i in., 2017). Gonçalves i Cardarelli (2019) podają, że zmiany stanu wody w serze następują w ciągu pierwszych 3 tygodni przechowywania w warunkach chłodniczych. W przypadku sera Mozzarella ma to kluczowe znaczenie, głównie ze względu na krótki okres przechowywania tego produktu po procesie produkcji. Wpływa to finalnie na zadowolenie konsumenta. Analiza mobilności wody wyrażonej jako wilgotność względna RH (%) w określonym przedziale czasowym wykazała, że stabilizacja wilgotności względnej równowagowej w otoczeniu próbki sera przechowywanego w zalewie WL2A1 trwała około 5 godzin. Faza translacyjnego ruchu wody w tym serze trwała 290 minut. W tym przedziale czasowym zidentyfikowano trzy obszary związane z intensywnością transferu. W pierwszym przedziale wynoszącym 20 minut średnia różnica wilgotności względnej równowagowej ΔRH wynosiła 5,0. W drugim

przedziale średnia różnica wilgotności względnej równowagowej ΔRH wynosiła 0,9. W trzecim obszarze zaś, średnia różnica wilgotności względnej równowagowej ΔRH wynosiła 0,2. Ostatni z tych przedziałów czasowych świadczył o transformacji ruchu translacyjnego cząsteczek wody przed wejściem w obszar wymiany powierzchniowej i ustaleniem stanu równowagi. W wyniku parametryzacji kinetyki ruchu translacyjnego wykazano, że czas osiągnięcia maksymalnej prędkości wyniósł 20 minut dla maksymalnego przyrostu prędkości 0,31 RH/min.

Test polegający na pieczeniu sera na pizzy (ang. *pizza baking test*) jest powszechnie używany do oceny zmian jakie zachodzą w serach podczas ich kulinarnego wykorzystania. Przykładem są badania [Wadhwani i in. \(2011\)](#), którzy wykorzystali tzw. test pieczenia na pizzy (ang. *pizza baking test*) w połączeniu z innymi analizami do oceny rozciągliwości sera. Z kolei [Sutariya i in. \(2022\)](#) wykorzystali test pieczenia na pizzy w celu oceny brązowienia i rozciągliwości sera. Naukowcy stosowali jednak dotychczas „pizza baking test” przede wszystkim w celu charakterystyki serów, m.in. o zmienionych cechach (np. obniżonej zawartości tłuszczu). Do tej pory nie ma danych dotyczących wykorzystania tego testu do oceny serów, których cechy są kreowane przy użyciu zalew przechowalniczych. Podczas analizy parametrów barwy wykazano, że indeks zażółcenia (YI) serów pasta filata przechowywanych w zalewie, do której dodano podwójną ilość kwasu cytrynowego (WA2) po upieczeniu na pizzy nie różnił się w porównaniu do sera z zalewy kontrolnej (W). Jednak dla sera przechowywanego w zalewie z pojedynczym dodatkiem kwasu WA1, wartość tego indeksu była znacznie większa (YI = 56,68). Największą wartość nasycenia barwy C^* po upieczeniu na pizzy wykazano dla serów przechowywanych w zalewie WL2A1 oraz WA1. W przypadku serów przechowywanych w pozostałych wariantach zalewy wykazano, że skład tej zalewy nie miał wpływu na stopień nasycenia barwy C^* ($p > 0,05$). Ostatecznie wykazano, że po procesie pieczenia nie stwierdzono różnic w stopniu nasycenia barwy pomiędzy serem z zalewy kontrolnej (W) a serami z pozostałych wariantów zalew z wyjątkiem sera z zalewy WL2A1 ($p > 0,05$).

Analiza kierunku zmian wśród głównych deskryptorów ocenianych sensorycznie, dotyczących tekstury, topliwości oraz barwy po pieczeniu na pizzy wykazała, że w przypadku próbek sera z zalewy WL1 nie było żadnych zmian względem próbek sera z zalewy kontrolnej (W). Jedynymi serami w przypadku których wykazano poprawę tekstury były sery z zalewy WL2 oraz WL2A1. Poprawę topliwości zaobserwowano w przypadku serów przechowywanych w zalewach WL1A1, WL1A2 oraz WL2A1. Poprawę barwy zaobserwowano w przypadku serów przechowywanych w zalewach WL2, WA1, WL2A1

oraz WL2A2. Ostatecznie, największą ogólną poprawę wykazano w przypadku sera przechowywanego w zalewie WL2A1. Ocena deskryptorów wykazała, że przechowywanie sera Mozzarella w zalewie z dodatkiem laktozy i/lub kwasu cytrynowego może wpływać na kierunek zmian zachodzących podczas dalszego wykorzystania kulinarnego sera, np. jako dodatku na pizzy. Nie wykazano pogorszenia topliwości analizowanych serów. Zaobserwowano, że dodanie do zalewy przechowalniczej wyłącznie kwasu cytrynowego, niezależnie czy była to ilość pojedyncza (WA1) czy podwójna (WA2), wpłynęło negatywnie na teksturę. Tą samą zależność wykazano również w przypadku serów przechowywanych w zalewie z dodatkiem kwasu oraz pojedynczej ilości laktozy (WL1A1 oraz WL1A2). Wyniki wskazują także że zalewa, do której dodano podwójną ilość laktozy może mieć pewne właściwości ochronne dla sera podczas/po upieczeniu na pizzy. Jedynym serem, dla którego wykazano poprawę w odniesieniu do wszystkich deskryptorów był ser pasta filata przechowywany w zalewie WL2A1. Zmiany jakie zaszły podczas pieczenia serów na pizzy można również przedstawić w formie graficznej symulacji, co zaprezentowano w publikacji [P5] (ryc. 6, str. 10).

W publikacji [P5] wykazano, że przechowywanie sera Mozzarella w zalewie o zmienionym składzie pozwala na modelowanie jakości świeżego sera pasta filata i jego dalszego wykorzystania kulinarnego. Charakterystyczne zmiany jakie zaobserwowano w przypadku serów zostały odzwierciedlone i potwierdzone w wyniku analizy parametrów samych zalew. Wykazano, że przechowywanie sera Mozzarella w zaprojektowanych zalewach z dodatkiem laktozy i/lub kwasu cytrynowego wpływa na masę sera. W wyniku badań stwierdzono, że zmiany masy sera były najmniejsze w przypadku sera Mozzarella, który przechowywano w zalewie z jednoczesnym dodatkiem laktozy i kwasu cytrynowego w ilości odpowiednio 20 g/kg i 0,42 g/kg (zalewa WL2A1). Ser ten został również najlepiej oceniony pod względem zmian jakie zachodzą podczas wykorzystania go jako dodatku na pizzy. Przechowywanie sera Mozzarella w zalewie WL2A1 znacząco wpłynęło na dyfuzję wody, która była ściśle związana z masą sera. Zaobserwowany wyciek w przypadku sera z zalewy WL2A1 nastąpił stosunkowo późno i w bardzo ograniczonej ilości. **Wyniki badań pozwoliły więc przyjąć hipotezę H.4. wskazującą, że skład i właściwości zalewy do przechowywania niedojrzewającego sera typu pasta filata wytworzonego z udziałem mleka owczego w proszku wpływają na procesy dyfuzji, aktywność, mobilność i stopień związania wody.** Wyniki badań wykazały również, że ser Mozzarella wyprodukowany z mieszaniny mleka krowiego oraz mleka owczego w proszku, w postaci rekonstruowanej (w proporcji 70:30), który następnie przechowywano z zaprojektowanych

zalewach i zastosowano jako dodatek na pizzy, różni się od tradycyjnych serów pod względem cech tekstury oraz barwy. **Badania zaprezentowane w publikacji [P5] pozwoliły również na przyjęcie hipotezy H.5. wskazującej, że podczas dalszego ogrzewania niedojrzewającego sera typu pasta filata z dodatkiem mleka owczego w proszku zmianom ulega jego tekstura i barwa.** Fakt, że kulinarne oraz funkcjonalne cechy sera pasta filata można kreować za pomocą modyfikacji składu surowca użytego do produkcji tego sera lub modyfikacji składu zalewy przechowalniczej, otwiera szeroki wachlarz możliwości naukowych. Tego typu modyfikacje mogą pozwolić na zupełnie nowe spojrzenie na ser Mozzarella, co powinno być podstawą do dalszych badań naukowych.

8. Wnioski

Osiągnięcie naukowe stanowiące zbiór 5 publikacji objętych wspólnym tytułem: „Wpływ dodatku mleka owczego na stabilność matrycy białkowo-tłuszczowej i związanie wody w niedojrzewającym serze typu pasta filata” przedstawia możliwość produkcji sera pasta filata z wykorzystaniem mleka owczego w różnych formach przy jednoczesnym ograniczeniu ilości wycieku serum wodno-tłuszczowego i uzyskaniu akceptowalności sensorycznej.

Najważniejsze wnioski na podstawie uzyskanych wyników:

- Możliwa jest produkcja sera pasta filata z owczego mleka mrożonego, a następnie rozmrożonego. Ser ten charakteryzuje się mniejszą rozciągliwością, mniejszą roztopialnością i elastycznością, lecz większą twardością i rozpuszczalnością niż ser z surowca niemrożonego. Mrożenie mleka owczego przerobowego odpowiada za większą wartość aktywności wody i zwiększoną mobilność frakcji wody wolnej, a tym samym dynamikę molekularną wody w wytworzonym serze pasta filata. Jednocześnie wykazano mniejszą akceptowalność sensoryczną tychże serów w porównaniu do serów z mleka owczego niemrożonego i serów z mleka krowiego.
- Dodatek do mleka krowiego, mleka owczego mrożonego w proporcji 70:30, znacząco przyczynia się do zmian tekstury, roztopialności, aktywności i mobilności wody oraz atrakcyjności sensorycznej sera pasta filata, co potwierdza, iż mrożenie mleka owczego i jego dalsze wykorzystanie w ukierunkowanym serowarstwie nie jest dobrą alternatywą w stosunku do surowca świeżego.
- Sery pasta filata z mieszaniny mleka krowiego i świeżego mleka owczego w proporcji 70:30 nie różniły się twardością i oiling-off od serów wyłącznie z mleka krowiego, lecz w przypadku zapakowania ich próżniowo były bardziej akceptowalne sensorycznie przez konsumentów i miały znacznie mniejszy wyciek. Jednakże wyciek ten był i tak większy niż w przypadku serów zapakowanych w zalewie, a zwłaszcza po ich porcjowaniu.
- Ilość wycieku serum wodno-tłuszczowego z sera pasta filata i jego zależność od sposobu pakowania i stopnia fragmentacji opisano modelem matematycznym. Udowodniono tym samym, że pakowanie z użyciem zalewy zmniejsza wpływ porcjowania na ilość wycieku, a widoczne w obrazie mikroskopowym serum wodno-tłuszczowe zostało zatrzymane w kanałach struktury sera.

- Możliwe jest wytworzenie elastycznego, z połyskiem i ogólnie akceptowalnego sensorycznie sera pasta filata z wykorzystaniem mleka owczego w proszku, przy czym musi być ono poddane rekonstytucji a udział w mieszaniu z mlekiem krowim nie może przekraczać 30%.
- Ser pasta filata wytworzony z mieszaniny mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego podczas przechowywania w zalewie ma mniejszą zdolność do wycieku frakcji wodno-tłuszczowej niż sery wytworzone z pominięciem etapu rekonstruowania. Jednakże znaczne ograniczenie zmian masy sera podczas przechowywania w zalewie następuje po dodatku laktozy w ilości 20 g/kg i kwasu cytrynowego w ilości 0,42 g/kg do zalewy. Rodzaj i wielkość dodatków zalewy wpływały na zwiększenie stabilności matrycy białkowo-tłuszczowej i większe związanie wody w serze.
- Pierwsze oznaki wycieku z sera przechowywanego w zalewie z dodatkiem laktozy w ilości 20 g/kg i kwasu cytrynowego w ilości 0,42 g/kg, występują znacząco późno i w niewielkiej ilości w porównaniu z serem ze świeżego surowca i przechowywanym w tradycyjnej zalewie. Analiza mobilności wody wyrażona jako wilgotność względna RH (%) wykazała, że stabilizacja wilgotności w otoczeniu tego sera trwała około 5 godzin, natomiast faza translacyjnego ruchu wody trwała 290 minut. Pozwoliło to na zidentyfikowanie 3 obszarów związanych z intensywnością transferu wody.
- Zaproponowany skład zalewy z dodatkiem laktozy w ilości 20 g/kg i kwasu cytrynowego w ilości 0,42 g/kg do przechowywania sera pasta filata wyprodukowanego z mieszaniny mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego w proszku, wpływa na poprawę tekstury i topliwości sera, a także zwiększa nasycenie jego barwy po upieczeniu na pizzy.
- Kierunek zmian tekstury i barwy serów pasta filata wyprodukowanych z mieszaniny mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego w proszku, w wyniku przechowywania w eksperymentalnej zalewie utrzymuje się także po ogrzewaniu, tj. wypieku na pizzy.
- Zaprojektowany skład i właściwości niedojrzewającego sera pasta filata wytworzonego z mieszaniny mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego w proszku i przechowywanego w modelowej zalewie z dodatkiem laktozy w ilości 20 g/kg i kwasu cytrynowego w ilości 0,42 g/kg, spełnia oczekiwania potencjalnych konsumentów wykazane w opracowanym modelu zachowań konsumentów na rynku

i determinantów spożycia produktów mleczarskich, a ser jest wysoko oceniany przez panelistów na podstawie deskryptorów oceny sensorycznej prowadzonej na różnych etapach procesu technologicznego i przechowywania.

WNIOSEK APLIKACYJNY

Badania nad niedojrzewającymi serami pasta filata z mieszaniny mleka krowiego z mlekiem owczym w proszku pozwoliły na opracowanie receptury produkcji zalewy przechowalniczej oraz sera akceptowalnego sensorycznie. Analiza wydajności produkcyjnej wykazała, że produkcja niedojrzewającego sera pasta filata z mieszaniny mleka krowiego i owczego mleka w proszku (niezależnie od jego postaci) wpływa na zwiększenie wydajności produkcyjnej. Ilość surowca niezbędna do wyprodukowania 1 kg sera z mieszaniny mleka krowiego i owczego mleka rekonstruowanego jest znacząco mniejsza, w porównaniu z serami wytworzonymi z dodatkiem mleka owczego w postaci natywnej lub w całości z mleka owczego rekonstruowanego. Jednakże, do obliczenia wydajności produkcyjnej niedojrzewających serów pasta filata z mieszaniny mleka krowiego i rekonstruowanego mleka owczego należy używać wyłącznie równań uwzględniających ilość wyprodukowanego sera w stosunku do ilości użytego surowca, ze względu na znaczące różnice w zawartości suchej masy mieszaniny z mlekiem owczym w proszku w postaci natywnej.

9. Spis literatury

- Abu-Tarboush, H. M. (1982). Prediction of Mozzarella Cheese Yield from Milk Composition. *All Graduate Theses and Dissertations*, Utah State University, 5289. <https://doi.org/10.26076/1126-6233>
- Ah, J., Tagalpallewar, G. P. (2017). Functional properties of Mozzarella cheese for its end use application. *Journal of Food Science and Technology*, 54(12), 3766–3778. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2886-z>
- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., Braghieri, A., Sevi, A., Napolitano, F. (2013). Composition and sensory profiling of probiotic Scamorza ewe milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2792–2800. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6273>
- Alichanidis, E., Moatsou, G., Polychroniadou, A. (2016). Composition and properties of non-cow milk and products. W: E. Tsakalidou, K. Papadimitriou (ed.), *Non-Bovine Milk and Milk Products* (wyd. 1, 81–116). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803361-6.00005-3>
- Alinovi, M., Corredig, M., Mucchetti, G., Carini, E. (2020). Water status and dynamics of high-moisture Mozzarella cheese as affected by frozen and refrigerated storage. *Food Research International*, 137, 109415. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109415>
- Alinovi, M., Mucchetti, G. (2020). Effect of freezing and thawing processes on high-moisture Mozzarella cheese rheological and physical properties. *LWT - Food Science and Technology*, 124, 109137. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109137>
- Balthazar, C. F., Pimentel, T. C., Ferrão, L. L., Almada, C. N., Santillo, A., Albenzio, M., Mollakhalili, N., Mortazavian, A. M., Nascimento, J. S., Silva, M. C., Freitas, M. Q., Sant’Ana, A. S., Granato, D., Cruz, A. G. (2017). Sheep Milk: Physicochemical Characteristics and Relevance for Functional Food Development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2), 247–262. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12250>
- Baranowska, H. M., Tomaszewska-Gras, J., Cais-Sokolińska, D., Bierzuńska, P., Kaczyński, Ł. K. (2017). Water mobility and thermal properties of smoked soft cheese. *Mljekarstvo*, 67(3), 188. <http://dx.doi.org/10.15567/mljekarstvo.2017.0303>
- Berta, M., Muskens, E., Schuster, E., Stading, M. (2016). Rheology of natural and imitation mozzarella cheese at conditions relevant to pizza baking. *International Dairy Journal*, 57, 34–38. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.02.038>

- Bigliardi, B., Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science and Technology*, 31(2), 118–129. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.03.006>
- Biomolkerei.ch (b.d.) Informacje dla konsumentów. Pobrane 02.2022 r. z: <https://biomolkerei.ch/de/konsumenteninfo/bauern-portrait/andri-furrer,-zuerich.html>
- Boiani, M., Sundekilde, U., Bateman, L. M., McCarthy, D. G., Maguire, A. R., Gulati, A., Guinee, T. P., Fenelon, M., Hennessy, D., FitzGerald, R. J., Kelly, P. M. (2019). Integration of high and low field ¹H NMR to analyse the effects of bovine dietary regime on milk metabolomics and protein-bound moisture characterisation of the resulting mozzarella cheeses during ripening. *International Dairy Journal*, 91, 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.08.016>
- Braghieri, A., Zotta, T., Morone, G., Piazzolla, N., Majlesi, M., Napolitano, F. (2018). Starter cultures and preservation liquids modulate consumer liking and shelf life of mozzarella cheese. *International Dairy Journal*, 85, 254–262. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.06.013>
- Cais-Sokolińska, D., Bierzuńska, P., Kaczyński, K., Baranowska, H. M., Tomaszewska-Gras, J. (2018). Stability of texture, meltability and water mobility model of pizza-style cheeses from goat's milk. *Journal of Food Engineering*, 222, 226–236. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.11.034>
- Cais-Sokolińska, D., Pikul, J., Wójtowski, J., Danków, R., Teichert, J., Czyżak-Runowska, G., Bagnicka, E. (2015). Evaluation of quality of kefir from milk obtained from goats supplemented with a diet rich in bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6), 1343–1349. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6828>
- Caputo, L., Quintieri, L., Bianchi, D. M., Decastelli, L., Monaci, L., Visconti, A., Baruzzi, F. (2015). Pepsin-digested bovine lactoferrin prevents Mozzarella cheese blue discoloration caused by *Pseudomonas fluorescens*. *Food Microbiology*, 46, 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.021>
- Chia, J., Burrow, K., Carne, A., McConnell, M., Samuelsson, L., Day, L., Young, W., Bekhit, A. E. D. A. (2017). Minerals in sheep milk. W: R. R. Watson, R. J. Collier, V. R. Preedy (ed.), *Nutrients in Dairy and their Implications for Health and Disease*, (s. 345–362). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809762-5.00027-9>

- Christiansen, M. V., Dave, A., Skibsted, L. H., Ahrné, L. (2022). Functional properties of skim milk concentrates produced by reverse osmosis filtration and reconstituted commercial powders. *International Dairy Journal*, 126, 105225. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105225>
- Curto, B., Moreno, V., García-Esteban, J. A., Blanco, F. J., González, I., Vivar, A., Revilla, I. (2020). Accurate prediction of sensory attributes of cheese using near-infrared spectroscopy based on artificial neural network. *Sensors*, 20(12), 3566. <https://doi.org/10.3390/S20123566>
- Dai, S., Jiang, F., Shah, N. P., Corke, H. (2019). Functional and pizza bake properties of Mozzarella cheese made with konjac glucomannan as a fat replacer. *Food Hydrocolloids*, 92, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.045>
- Ding, H., Wilson, D. I., Yu, W., Young, B. R. (2021). An investigation of the relative impact of process and shape factor variables on milk powder quality. *Food and Bioprocess Processing*, 126, 62–72. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.12.010>
- Faccia, M., Gambacorta, G., Natrella, G., Caponio, F. (2019). Shelf life extension of Italian mozzarella by use of calcium lactate buffered brine. *Food Control*, 100, 287–291. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.02.002>
- Faccia, M., Angiolillo, L., Mastromatteo, M., Conte, A., Del Nobile, M. A. (2013). The effect of incorporating calcium lactate in the saline solution on improving the shelf life of Fiordilatte cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 66(3), 373–381. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12046>
- FAOSTAT. (2021). *Production/Yield quantities of Milk, whole fresh sheep in Poland in 2019*. Pobrane 05.2021 r. z: <https://www.fao.org/faostat/en/#data>
- FAOSTAT. (2022). *Production/Yield quantities of Milk, whole fresh sheep in World in 2015-2020*. Pobrane 02.2022 r., z: <https://www.fao.org/faostat/en/#data>
- Francolino, S., Locci, F., Ghiglietti, R., Iezzi, R., Mucchetti, G. (2010). Use of milk protein concentrate to standardize milk composition in Italian citric Mozzarella cheese making. *LWT - Food Science and Technology*, 43(2), 310–314. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.08.007>
- Fucà, N., McMahon, D. J., Caccamo, M., Tuminello, L., La Terra, S., Manenti, M., Licitra, G. (2012). Effect of brine composition and brining temperature on cheese physical properties in Ragusano cheese. *Journal of Dairy Science*, 95(1), 460–470. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4438>

- Fuentes, S., Viejo, C. G., Tongson, E., Lipovetzky, N., Dunshea, F. R. (2021). Biometric physiological responses from dairy cows measured by visible remote sensing are good predictors of milk productivity and quality through artificial intelligence. *Sensors*, 21(20), 6844. <https://doi.org/10.3390/S21206844>
- Gernigon, G., Schuck, P., Jeantet, R. (2010). Processing of Mozzarella cheese wheys and stretchwaters: A preliminary review. *Dairy Science and Technology*, 90(1), 27–46. <https://doi.org/10.1051/dstDST/2009045>
- Godefroy, S., Korb, J. P., Creamer, L. K., Watkinson, P. J., Callaghan, P. T. (2003). Probing protein hydration and aging of food materials by the magnetic field dependence of proton spin-lattice relaxation times. *Journal of Colloid and Interface Science*, 267(2), 337–342. [https://doi.org/10.1016/S0021-9797\(03\)00589-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9797(03)00589-7)
- Gonçalves, M. C., Cardarelli, H. R. (2019). Changes in water mobility and protein stabilization of Mozzarella cheese made under different stretching temperatures. *LWT - Food Science and Technology*, 104, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.022>
- Guidone, A., Zotta, T., Matera, A., Ricciardi, A., De Filippis, F., Ercolini, D., Parente, E. (2016). The microbiota of high-moisture mozzarella cheese produced with different acidification methods. *International Journal of Food Microbiology*, 216, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.09.002>
- Haenlein, G. F. W. (2001). Past, Present, and Future Perspectives of Small Ruminant Dairy Research. *Journal of Dairy Science*, 84(9), 2097–2115. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74655-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74655-3)
- Hartmann, K. I., Samudrala, R., Hofmann, T., Schieberle, P., Hitzmann, B., Hinrichs, J. (2015). Thermo-physical parameters applied for instrumental profiling and statistical evaluation of German Emmental cheese. *International Dairy Journal*, 49, 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.05.004>
- Huang, X., Kamgang Nzekoue, F., Renzi, S., Alesi, A., Magdalena Coman, M., Pucciarelli, S., Sagratini, G., Silvi, S. (2022). Influence of modified governing liquid on shelf-life parameters of high-moisture mozzarella cheese. *Food Research International*, 159, 111627. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111627>
- Imm, J. Y., Oh, E. J., Han, K. S., Oh, S., Park, Y. W., Kim, S. H. (2003). Functionality and physico-chemical characteristics of bovine and caprine Mozzarella cheeses during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*, 86(9), 2790–2798. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73876-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73876-4)

- International Organization for Standardization. (2004). Cheese and processed cheese – Determination of the total solids content (Reference method) (ISO5534:2004, IDF4:2004)
- International Organization for Standardization. (2004). Cheese and processed cheese products – Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method) (ISO1735:2004, IDF5:2004)
- International Organization for Standardization. (2014). Milk and milk products – Determination of nitrogen content – Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation (ISO8968-1:2014, IDF20-1:2014)
- International Organization for Standardization. (2009). Milk — Determination of freezing point – Thermistor cryoscope method (Reference method) (ISO5764:2009, IDF108:2009)
- Johnson, M. E., Chen, C. M., Jaeggi, J. J. (2001). Effect of rennet coagulation time on composition, yield, and quality of reduced-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 84(5), 1027–1033. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74562-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74562-6)
- Joshi, N. S., Muthukumarappan, K., Dave, R. I. (2004). Effect of calcium on microstructure and meltability of part skim Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 87(7), 1975–1985. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70014-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70014-4)
- Kaşıkçı, G., Çetin, Ö., Bingöl, E. B., Gündüz, M. C. (2012). Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 36(1), 49–55. <https://doi.org/10.3906/vet-1103-4>
- Khan, A., Munir, M. T., Yu, W., Young, B. R. (2020). Near-infrared spectroscopy and data analysis for predicting milk powder quality attributes. *International Journal of Dairy Technology*, 74(1), 235–245. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12734>
- Kindstedt, P. S., Larose, K. L., Gilmore, J. A., Davis, L. (1996). Distribution of salt and moisture in Mozzarella cheese with soft surface defect. *Journal of Dairy Science*, 79(12), 2278–2283. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76605-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76605-5)
- Ko, S., Gunasekaran, S. (2014). Evaluation of cheese meltability using convection and conduction melt profilers. *International Journal of Dairy Technology*, 67(2), 194–201. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12112>
- Kuo, M. I., Gunasekaran, S. (2009). Effect of freezing and frozen storage on microstructure of Mozzarella and pizza cheeses. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1), 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.07.003>

- Li, Y., Jia, X., Wang, Z., He, Z., Zeng, M., Chen, J. (2022). Changes in harmful Maillard reaction products in low-temperature long-time pasteurization-treated milks reconstituted from whole-milk powders after different storage times. *Journal of Food Composition and Analysis*, 106, 104280. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104280>
- Lucera, A., Mastromatteo, M., Conte, A., Zambrini, A. V., Faccia, M., Del Nobile, M. A. (2014). Effect of active coating on microbiological and sensory properties of fresh mozzarella cheese. *Food Packaging and Shelf Life*, 1(1), 25–29. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2013.10.002>
- Luo, J., Pan, T., Guo, H. Y., Ren, F. Z. (2013). Effect of calcium in brine on salt diffusion and water distribution of Mozzarella cheese during brining. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 824–831. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5888>
- McMahon, D. J., Oberg, C. J. (2011). Cheese | Pasta-filata cheeses: low-moisture part-skim Mozzarella (pizza cheese). W: J. W. Fuquay (ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*: (wyd. 2, s. 737–744). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00088-1>
- McMahon, D. J., Fife, R. L., Oberg, C. J. (1999). Water partitioning in Mozzarella cheese and its relationship to cheese meltability. *Journal of Dairy Science*, 82(7), 1361–1369. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75361-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75361-0)
- Moatsou, G., Sakkas, L. (2019). Sheep milk components: Focus on nutritional advantages and biofunctional potential. *Small Ruminant Research*, 180, 86–99. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.07.009>
- Moghiseh, N., Arianfar, A., Salehi, E. A., Rafe, A. (2021). Effect of inulin/kefiran mixture on the rheological and structural properties of mozzarella cheese. *International Journal of Biological Macromolecules*, 191, 1079–1086. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.154>
- Mohapatra, A., Shinde, A. K., Singh, R. (2019). Sheep milk: A pertinent functional food. *Small Ruminant Research*, 181, 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.10.002>
- Molik, E., Blasiak, M., Nahajło, K. (2018). Walory prozdrowotne mleka owczego i czynniki wpływające na zawartość w nim aktywnych związków. *Przegląd Hodowlany*, 86(2), 16–19.
- Molik, E., Daniel, S. (2021). Możliwości zastosowania mleka owczego w medycynie i farmacji. *Wiadomości Zootechniczne*, 3, 60–63.

- Mucchetti, G., Pugliese, A., Paciulli, M. (2016). Characteristics of some important Italian cheeses : Parmigiano Reggiano, Grana Padano, Mozzarella, Mascarpone and Ricotta. W: R. M. S. da Cruz, M. M. C. Vieira (red.), *Mediterranean Foods* (wyd. 1, s. 1–34). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315369235-1>
- Muliawan, E. B., Hatzikiriakos, S. G. (2007). Rheology of mozzarella cheese. *International Dairy Journal*, 17(9), 1063–1072. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.003>
- Niro, S., Fratianni, A., Tremonte, P., Sorrentino, E., Tipaldi, L., Panfili, G., Coppola, R. (2014). Innovative Caciocavallo cheeses made from a mixture of cow milk with ewe or goat milk. *Journal of Dairy Science*, 97(3), 1296–1304. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7550>
- Noronha, N., Duggan, E., Ziegler, G. R., O’Riordan, E. D., O’Sullivan, M. (2008). Inclusion of starch in imitation cheese: Its influence on water mobility and cheese functionality. *Food Hydrocolloids*, 22(8), 1612–1621. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.11.007>
- Pazzola, M., Dettori, M. L., Piras, G., Pira, E., Manca, F., Puggioni, O., Noce, A., Vacca, G. M. (2013). The effect of long-term freezing on renneting properties of Sarda sheep milk. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 78(3), 275–279.
- Pijanowski, E. (1974). *Zarys Chemii i Technologii Mleczarstwa. T. 2, Masło, Sery, kazeina, Produkty z Serwatki*, (s.380-382). Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne.
- Pisano, M. B., Scano, P., Murgia, A., Cosentino, S., Caboni, P. (2016). Metabolomics and microbiological profile of Italian mozzarella cheese produced with buffalo and cow milk. *Food Chemistry*, 192, 618–624. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.061>
- Qayyum, A., Khan, J., Hussain, R., Avais, M., Ahmad, N., Khan, M. S. (2016). Investigation of milk and blood serum biochemical profile as an indicator of sub-clinical mastitis in Cholistani cattle. *Pakistan Veterinary Journal*, 36(3), 275–279.
- Raynal-Ljutovac, K., Park, Y. W., Gaucheron, F., Bouhallab, S. (2007). Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 207–220. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.006>
- Renes, E., Fernández, D., Abarquero, D., Ladero, V., Álvarez, M. A., Tornadijo, M. E., Fresno, J. M. (2021). Effect of forage type, season, and ripening time on selected quality properties of sheep milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 104(3), 2539–2552. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19036>

- Ricciardi, A., Guidone, A., Zotta, T., Matera, A., Claps, S., Parente, E. (2015). Evolution of microbial counts and chemical and physico-chemical parameters in high-moisture Mozzarella cheese during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology*, 63(2), 821–827. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.008>
- Rudan, M. A., Barbano, D. M. (1998). A model of Mozzarella cheese melting and browning during pizza baking. *Journal of Dairy Science*, 81, 2312-2319. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75812-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75812-6)
- Sales, D. C., Rangel, A. H. N., Urbano, S. A., Freitas, A. R., Tonhati, H., Novaes, L. P., Pereira, M. I. B., Borba, L. H. H. (2017). Relationship between mozzarella yield and milk composition, processing factors, and recovery of whey constituents. *Journal of Dairy Science*, 100(6), 4308-4321. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12392>
- Sameen, A., Anjum, F. M., Huma, N., Nawaz, H. (2008). Quality evaluation of Mozzarella cheese from different milk sources. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(6), 753–756. <https://doi.org/10.3923/pjn.2008.753.756>
- Schuldt, S., Schneider, Y., Rohm, H. (2018). High-speed cutting of foods: Cutting behavior and initial cutting forces. *Journal of Food Engineering*, 230, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.02.024>
- Smith, J. R., Hindmarsh, J. P., Carr, A. J., Golding, M. D., Reid, D. (2017). Molecular drivers of structural development in Mozzarella cheese. *Journal of Food Engineering*, 214, 257–265. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.07.006>
- Smith, J. R., Vogt, S. J., Seymour, J. D., Carr, A. J., Codd, S. L. (2017). Probing water migration in Mozzarella cheese during maturation and heating utilizing magnetic resonance techniques. *Journal of Food Engineering*, 198, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.11.010>
- Steenkamp, J.-B. E. M. (1997). Dynamics in consumer behavior with respect to agricultural and food products. W: B. Wierenga, A. Tilburg, K. Grunert, J. -B. E. M. Steenkamp, M. Wedel (ed.), *Agricultural Marketing and Consumer Behavior in a Changing World*, (wyd. 1, 143–188). Springer Science + Business Media. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6273-3_8
- Sutariya, S. G., Metzger, L. E., Meletharayil, G. H. (2022). An approach to improve the baking properties and determine the onset of browning in fat-free mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 105(3), 2153–2165. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21188>
- Tagblatt.ch. (b.d.2014). *Es kann auch mal Schafmilch sein*. Pobrane 02.2022 r., z: <https://www.tagblatt.ch/ostschweiz/es-kann-auch-mal-schafmilch-sein-ld.661585>

- The Codex Alimentarius Commission. WHO/FAO International Food Standards. (2007). *Codex General Standard for Mozzarella* (Codex stan 262-2007).
- Thybo, C. D., Lillevang, S. K., Skibsted, L. H., Ahrné, L. (2020). Calcium balance during direct acidification of milk for Mozzarella cheese production. *LWT - Food Science and Technology*, 131, 109677. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109677>
- Tidona, F., Alinovi, M., Francolino, S., Brusa, G., Ghiglietti, R., Locci, F., Mucchetti, G., Giraffa, G. (2021). Partial substitution of 40 g/100 g fresh milk with reconstituted low heat skim milk powder in high-moisture mozzarella cheese production: Rheological and water-related properties. *LWT - Food Science and Technology*, 137, 110391. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110391>
- Tidona, F., Francolino, S., Ghiglietti, R., Locci, F., Brusa, G., Alinovi, M., Mucchetti, G., Gira, G. (2020). Application of recombined milk to produce Crescenza-type cheese in laboratory-scale cheesemaking: Implications on technology and sensory properties. *Foods*, 2020, 9(7), 928. <https://doi.org/10.3390/foods9070928>
- Tribst, A. A. L., Falcade, L. T. P., Carvalho, N. S., de Castro Leite Júnior, B. R., de Oliveira, M. M. (2020). Using stirring and homogenization to improve the fermentation profile and physicochemical characteristics of set yogurt from fresh, refrigerated and frozen/thawed sheep milk. *LWT - Food Science and Technology*, 130, 109557. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109557>
- Tribst, A. A. L., Falcade, L. T. P., Ribeiro, L. R., de Castro Leite Júnior, B. R., de Oliveira, M. M. (2019). Impact of extended refrigerated storage and freezing/thawing storage combination on physicochemical and microstructural characteristics of raw whole and skimmed sheep milk. *International Dairy Journal*, 94, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.02.013>
- Tribst, A. A. L., Ribeiro, L. R., de Castro Leite Junior, B. R., de Oliveira, M. M., Cristianini, M. (2018). Fermentation profile and characteristics of yoghurt manufactured from frozen sheep milk. *International Dairy Journal*, 78, 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.10.005>
- Tripaldi, C., Palocci, G., Di Giovanni, S., Marri, N., Boselli, C., Giangolini, G., Amatiste, S. (2018). Microbiological and chemical characteristics of pasta filata type cheese from raw ewe milk, using thermophilic and mesophilic starters. *Journal of Food Safety and Food Quality*, 69(4), 123–129. <https://doi.org/10.2376/0003-925X-69-123>
- Wadhwani, R., McManus, W. R., McMahon, D. J. (2011). Improvement in melting and baking properties of low-fat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 94(4), 1713–1723.

- Węglarz, W. P., Harańczyk, H. (2000). Two-dimensional analysis of the nuclear relaxation function in the timedomain: the program CracSpin. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 33(15), 1909. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/33/15/322>
- Wei, X., Agarwal, S., Subbiah, J. (2021). Heating of milk powders at low water activity to 95°C for 15 minutes using hot air-assisted radio frequency processing achieved pasteurization. *Journal of Dairy Science*, 104(9), 9607–9616. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20449>
- Wendorff, W. L. (2001). Freezing Qualities of Raw Ovine Milk for Further Processing. *Journal of Dairy Science*, 84, E74–E78. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70200-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70200-7)
- Wendorff, W. L., Kalit, S. (2017). Processing of sheep milk. W: Y. W. Park, G. F. W. Haenlein, W. L. Wendorff (ed.), *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals* (wyd. 2, 222–260). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119110316.ch3.3>
- Yanthi, N., Said, S., Anggraeni, A., Damayanti, R., Muladno. (2018). correlation of electric conductivity values with the dairy milk quality. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 3223(2), 82–88. <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v23i2.1694>
- Zappia, A., Branca, M. L., Piscopo, A., Poiana, M. (2020). Shelf life extension of mozzarella cheese packed in preserving liquid with calcium lactate and bergamot juice concentrate. *Journal of Dairy Research*, 87(4), 474–479. <https://doi.org/10.1017/S0022029920000977>
- Zhang, D., Lillevang, S. K., Shah, N. P. (2021). Influence of pre-acidification, and addition of KGM and whey protein-based fat replacers CH-4560, and YO-8075 on texture characteristics and pizza bake properties of low-fat Mozzarella cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 137, 110384. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110384>
- Zhang, R. H., Mustafa, A. F., Ng-Kwai-Hang, K. F., Zhao, X. (2006). Effects of freezing on composition and fatty acid profiles of sheep milk and cheese. *Small Ruminant Research*, 64(3), 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.04.025>
- Zisu, B., Shah, N. P. (2007). Texture characteristics and pizza bake properties of low-fat Mozzarella cheese as influenced by pre-acidification with citric acid and use of encapsulated and ropy exopolysaccharide producing cultures. *International Dairy Journal*, 17(8), 985–997. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.10.007>

10. Kopie opublikowanych prac wchodzących w skład zbioru

[P1]

Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Tomaszewska-Gras, J., Baranowska, H. M. (2021). The effect of freezing sheep's milk on the meltability, texture, melting and fat crystallization profiles of fresh pasta filata cheese. *Animals*, 11, 2740.

<https://doi.org/10.3390/ani11092740>

Article

The Effect of Freezing Sheep's Milk on the Meltability, Texture, Melting and Fat Crystallization Profiles of Fresh Pasta Filata Cheese

Jakub Biegalski ¹, Dorota Cais-Sokolińska ^{1,*}, Jolanta Tomaszewska-Gras ² and Hanna M. Baranowska ³

¹ Department of Dairy Products Quality, Faculty of Food Science and Nutrition, Poznań University of Life Sciences, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, Poland; jakub.biegalski@up.poznan.pl

² Department of Food Safety and Quality Management, Poznań University of Life Sciences, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, Poland; jolanta.tomaszewska-gras@up.poznan.pl

³ Department of Physics and Biophysics, Poznań University of Life Sciences, ul. Wojska Polskiego 38/42, 60-637 Poznań, Poland; hanna.baranowska@up.poznan.pl

* Correspondence: cais@up.poznan.pl; Tel.: +48-61-8487-317

Simple Summary: Sheep's milk is usually produced on small farms. It is mainly used in the production of cheese products. One of the methods of extending the shelf life of sheep's milk is freezing it. In this study we examined the effect of freezing on sheep's milk and a mixture of sheep's and cow's milk on the quality of fresh pasta filata cheeses produced from the milk. It has been proven that the freezing of milk affects the possibility of using it in later cheese processing. Freezing sheep's milk influenced, among others, a greater hardness and less elasticity of the cheese. We also noticed that the addition of frozen sheep's milk caused consumer dissatisfaction.



Citation: Biegalski, J.; Cais-Sokolińska, D.; Tomaszewska-Gras, J.; Baranowska, H.M. The Effect of Freezing Sheep's Milk on the Meltability, Texture, Melting and Fat Crystallization Profiles of Fresh Pasta Filata Cheese. *Animals* **2021**, *11*, 2740. <https://doi.org/10.3390/ani11092740>

Academic Editor: Bianca Castiglioni

Received: 3 August 2021

Accepted: 17 September 2021

Published: 19 September 2021

Abstract: Sheep's milk is produced in smallholdings, which hinders the continuity of production. Therefore, freezing during periods of high production can be a solution. Herein, we examined the effect of freezing on sheep's milk and a mixture of sheep and cow's milk (70:30, v/v) on the quality of fresh pasta filata cheeses produced from the milk. Frozen/thawed sheep's milk contributes little to the development of innovative and reformulated cheeses. This was due to 24% higher hardness and greater extensibility and cutting force, as well as lower stretching and elasticity. Although their flowability increased (Oiling-off from 3 to 12%), the meltability (tube test, and Schreiber test) decreased. Additionally, the use of frozen milk caused consumer dissatisfaction. The consumer penalty analysis of the just-about-right showed that freezing of the milk caused the loss of the refreshing, elasticity and shininess of pasta filata cheeses.

Keywords: frozen milk; sheep's milk; pasta filata cheese; meltability; water mobility

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The supply of sheep's milk in many regions depends on low sheep productivity, the seasonality of milk production and the short period of lactation. In many countries, sheep's milk is produced in smallholdings, which hinders large-scale production [1]. The largest amounts of sheep's milk are produced in Asia (46.3%) followed by Europe (29.8%) and Africa (23.0%). Turkey produces the greatest amount of fresh sheep's milk, followed by China (mainland) and Greece. Approximately 10.6 Mt of whole, fresh sheep's milk is produced globally [2]. Moreover, sheep's milk production is expected to increase by 26% (+2.7 Mt) by 2030 [3] due to the growing demand for cheese and its use in infant formulas and nutraceuticals [4,5]. For many consumers, sheep's milk and its products are considered essential for the proper functioning of the human body, and are perceived by consumers as a material with high health-promoting potential [6,7]. Therefore, in our opinion the dairy sector may also be interested in mixing sheep's milk with cow's milk. Due to the development of appropriate technologies for the processing of mixed milk of

various mammals, it is possible to maintain or increase the amount of bioactive ingredients that are contained within [8,9]. Moreover, the use of milk mixtures from different species of mammals is considered an interesting approach to propagate dairy processing in many regions of the world [10].

Sheep's milk contains an average of 5.7% protein, 7.4% fat, 4.8% lactose and 0.9% ash [11]. The protein fractions of sheep's milk are mainly: casein (41–46 g/kg) and whey proteins (8–16 g/kg), which is in contrast to the protein fractions of cow's milk (24–28 g/kg caseins, 5–7 g/kg whey proteins) [11,12]. Sheep's milk casein micelles have a higher degree of mineralization due to greater amount of calcium, reduced hydration and thermal stability compared to cow's milk micelles [13]. Overall, the calcium content of sheep's milk is higher (1.59–2.42 g/L) than that of cow's milk (0.90–1.84 g/L). The share of short and medium-length saturated fatty acids (FA) such as caproic (C6:0), caprylic (C8:0), capric (C10:0) and lauric (C12:0) in sheep's milk fat is much higher (14.2–17.7%) than in cow's milk (9.0–11.0%) [4,12]. Furthermore, sheep's milk fat has low ratio of omega-6 to omega-3 (*n*-6: *n*-3) FA, which is associated with the prevention of cardiovascular diseases and cancer. Sheep's milk may contain higher amounts of omega(*n*)-3, polyunsaturated fatty acid (PUFA) and biohydrogenation intermediate PUFA, including conjugated linoleic acid and trans-mono-unsaturated FA, vaccenic acid, rumenic acid and branched FA compared to cow's milk [12]. The high CLA content in sheep's milk, compared to the milk of other ruminants, is of particular interest for the prevention of cancer diseases. It is also known that sheep's milk contains higher amounts of vitamin A (40–84 µg/100 g) and D (0.18 µg/100 g) than cow's milk (29–52 µg/100 g and 0.03–1 µg/100 g, respectively) [12]. The characteristic composition of sheep's milk and its role in many nutritional interventions make it increasingly sought after by consumers.

However, the limited supply of sheep's milk necessitates the collection of this raw material and the use of alternative storage techniques to ensure the continuity of production in the dairy plant. A general solution is to freeze sheep's milk. The freezing time strictly depends on the cooling rate, the initial quality of the milk used in production and the final storage temperature [14]. Milk should be immediately chilled and frozen as soon as possible in order to reduce the growth of microorganisms and enzyme activity [15]. The freezing process can significantly affect the fat globules, promoting the release of lipoproteins and diminish stability of the lipid phase [14,15]. Additionally, the process increases the particle size, which leads to the coalescence and natural separation of the cream, as well as an increased rate of fat oxidation and the occurrence of lipolysis [16,17]. Freezing can also greatly affect the destabilization of proteins with a micellar nature, which depend on the temperature. For example, the destabilization of sheep's milk proteins at −15 °C occurs after 6 months of storage, and at −27 °C after 12 months [18]. The destabilization of milk proteins consequently leads to casein aggregation and reduction of the water holding capacity (WHC). This is directly influenced by the breaking of hydrogen bonds between polypeptides [1].

However, to date, there are no studies that examine the influence of freezing on sheep's milk or a mixture with cow's milk, and its effects on the quality of fresh pasta filata cheeses prepared from the milk. Albenzio et al. [19] and Tripaldi et al. [20] described the growing interest in sheep's milk pasta filata cheese, even though sheep's milk generally has poor stretching ability [21]. Herein, we examined whether freezing sheep's milk can cause changes in the texture, meltability, water activity, water mobility, crystallization, melting and thermal oxidation of fat. Differential scanning calorimetry (DSC) was used to elaborate the water–protein–fat interactions in pasta filata cheeses, and nuclear magnetic resonance (NMR) relaxation techniques were used to assess the mobility of water. We present these properties on the background of sensory attractiveness from the consumers' perception, which was investigated in detail.

2. Materials and Methods

2.1. Sheep's and Cow's Milk Samples

The research material was fresh, raw, full sheep's milk collected from Polish Dairy sheep line 05 (average body weight of ewes was $60 \text{ kg} \pm 5.5 \text{ kg}$ and aged 3, 4 and 5 years) purchased from local farmers in Greater Poland (52 L). Milk was collected from sheep in the months from May to September 2020. Half of the milk was frozen in 5 L PP bottles (milk volume up to 4.5 L, $\varnothing = 16 \text{ cm}$, $h = 40 \text{ cm}$) at -24°C in Fiocchetti Super-Polo freezer (C.F. di Ciro Fiocchetti & C. s.n.c., Luzzara, Italy). Storage time was 12 weeks. The milk was thawed immediately before further processing. Milk from Holstein-Friesian cows was also used. It was high hygienic and cytological quality milk intended for dairy plants. A total of 260 L of sheep's milk and 260 L of cow's milk were used.

2.2. Mixture of Milk

Cow's milk was combined in the proportion of 70:30 (v/v) with fresh sheep's milk and in the same proportion with frozen milk after thawing.

2.3. Cheese Preparation Protocols

The production of pasta filata cheese involves normalization and pasteurization of milk or a mixture of cow's and sheep's milk, and production of the curd and its acidification, followed texturization of the acidified curd, which involves heating, kneading, and stretching by soaking the curd in hot water. The milk or milk mixture was pasteurized (75°C , 15 s) in MILKY FJ15 (Franz Janschitz GmbH, Althofen, Austria). After cooling to 40°C , thermophilic starter culture Lyofast SAB 440B of Sacco (Cadorago, Italy) was added to the milk in an amount of 8 UC (dosage units) to 20 L of milk. The starter culture consisted of: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. At pH 6.5, Beaugel 5 rennet (Ets COQUARD, Villefranche Sur Saône, France) with a chymosin activity above 150 mg/L at a strength of 1/3000 was added in the amount of 14 mL per 20 L of milk. This amount was used to form the curd after 30 min. The curd was cut into $1 \times 1 \text{ cm}$ cubes and set aside for 20 min until pH 5.9 was reached. The cheese curd was drained at 23°C for 2 h to pH 5.2. Plasticization (kneading and stretching) was carried out in water with salt ($77\text{--}80^\circ\text{C}$). The formed cheese was cooled in water with salt (16%, 12°C). The cheese was packed with a brine and stored at 3°C in the form of spheres with a weight of 220 g. The range of changes of cheese quality features of the model were rated after 2 days of manufacturing at $3 \pm 0.5^\circ\text{C}$ storage.

Test specimens were taken from different production batches ($n = 5$). Approximately 3.8 kg cheese (17 balls) was obtained from 20 L of milk. Each ball of cheese was 220 g. The cheese was prepared in pilot plant scale using pilot industrial equipment, and each batch was analyzed twice.

2.4. Composition and Freezing Point

A Bentley DairySpec FT Manual (Bentley Instruments, Inc., Chaska, MN, USA) was used to determine the composition of the studied milk. The composition of the cheese was determined according to moisture [22], protein, and fat [23] content. Total protein $(\text{TN} - \text{NPN}) \times 6.38$; C = casein $(\text{TN} - \text{NCN} - \text{NPN}) \times 6.38$; WP = whey protein $(\text{NCN} - \text{NPN}) \times 6.38$. The freezing point of the studied milk was determined according to ISO 5764 [24] standard method using an Advanced Model 4D3 cryoscope with 3LH700 thermistor probe (Advanced Instruments Inc., Norwood, MA, USA).

2.5. Acidity and Conductivity

pH was measured using a CP-402 pH-meter (Elmetron, Zabrze, Poland) equipped with a IONODE IJ44A electrode (Ionode Pty. Ltd., Tennyson, Australia). The titratable acidity values were expressed as Soxhlet-Henkel degree ($^\circ\text{SH}$, $1^\circ\text{SH} = 0.0225 \text{ lactic acid } \%$). Conductivity was measured using a CP-505 conductometer (Elmetron, Zabrze, Poland) equipped with a EC-60 conductometric sensor (Elmetron, Zabrze, Poland).

2.6. Water Activity

The water activity was measured with an AquaLab Series 4TE instrument (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA). The following salt solutions were used for reference: 0.5 M KCl about $a_w = 0.984$ (15 °C), 6 M NaCl of $a_w = 0.760$ (20 °C), 8.57 M LiCl of $a_w = 0.500$ (25 °C) and 13.41 M LiCl of $a_w = 0.250$ (25 °C). Samples of $v = 15$ mL were placed in a DE 501 measurement vessel (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA) and tested at 15 °C.

2.7. Viscosity

Absolute values of dynamic viscosity of the studied milk were recorded using a Höppler KF10 viscosimeter by RheoTec Messtechnik GmbH (Ottendorf, Germany). The time (s) was measured (t) for a ball to fall over a distance of 100 mm at an inclination angle of 70° within a volume $v = 40$ mL. The angle constant for the measurement was $FH = 0.952$ (–). Balls used in the tests were made from Fe–Ni alloy with diameters of $\varnothing k3 = 15.552$ mm and $\varnothing k4 = 15.199$ mm and mass of $mk3 = 16.0627$ g and $mk4 = 14.1797$ g, density of $dk3 = 8.156$ g/mL and $dk4 = 7.713$ g/mL at the apparatus constants ascribed based on the certificate $K3 = 0.13543$ mPa·mL/g and $K4 = 1.2268$ mPa·mL/g. On the basis of sample density (dp), established using an areometer by Areometr (Warszawa, Poland) at fiducial temperature ($T = 20$ °C) within the range from 1015 to 1045 g/mL dynamic viscosity was calculated using Equation (1):

$$\eta = t \times (dk - dp) \times K \times F \text{ (mPa} \cdot \text{s)} \quad (1)$$

2.8. Texture Profile Analyses

The measurement of selected cheese texture parameters was performed using a texturometer (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) using: P/1S—firmness and stickiness (pre-test speed 1.5 mm/s, test speed 2.0 mm/s, post-test speed 10.0 mm/s, distance 5 mm), P/5—softness (pre-test speed 2.0 mm/s, test speed 1.0 mm/s, post-test speed 1.0 mm/s, distance 10 mm), A/BC—firmness (pre-test speed 0.5 mm/s, test speed 0.5 mm/s, post-test speed 10.0 mm/s, distance 25.0 mm) and A/WEG—hardness and brittleness (pre-test speed 1.0 mm/s, test speed 2.0 mm/s, post-test speed 10.0 mm/s, distance 10.0 mm). Results were recorded using Texture Exponent E32 version 4.0.9.0 software (Godalming, Surrey, UK).

2.9. Meltability

Meltability of cheese was determined by two methods: the Schreiber test and test tube method [25]. For the Schreiber test a circular cookie cutter, 39.5 mm in diameter, was used to cut 5 mm high disc of cheese. This disc was placed in a covered 15 mm × 100 mm thin-walled Pyrex Petri dish and heated in a forced draft oven preheated to 232 °C for 5 min. Specimen expansion was measured using a scale having six lines marked on a concentric set of circles. The Schreiber test meltability was given as the mean of six readings on the arbitrary scale of 0–10 units.

In the case of the test tube method, 10 g of grated cheese was placed in a tube (32 mm × 250 mm) and packed to form a plug at the bottom. The height of cheese was marked. The test tube was kept vertically in a refrigerator at 4 °C for 30 min and then horizontally in an oven heated at 104 °C for 60 min. Meltability was measured as flow distance in mm of melted cheese.

2.10. Oiling-Off

Oiling-off (fat-ring test) was determined according to the method described by Schenkel et al. [26] and Hartmann et al. [27]. Grated cheese samples were prepared and weighed (5 g) into stainless steel rings $\varnothing = 36$ mm, which were placed in a glass Petri dish on to filter paper (pore size from 5 to 13 μ m, 88 s medium speed filtration according to DIN 53137, LLG-Labware, Meckenheim, Germany). After heat treatment at 100 °C for 7 min in an oven WTB Binder (Tuttlingen, Germany), the steel ring was removed. The

sample was cooled for 5 min at ambient temperature and then a picture was taken. The free oil formation was expressed as the percentage of the area soaked by free oil relative to the area of the total filter paper.

2.11. Differential Scanning Calorimetry (DSC)

DSC was conducted using a Perkin Elmer DSC 7 differential scanning calorimeter (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) equipped with an Intracooler II and running under Pyris software. Samples of cheese (9–10 mg) were weighed into aluminum pans of 20 μL (Perkin Elmer, No. 0219–0062) and hermetically sealed. The sample pan was placed in the calorimeter at 5 $^{\circ}\text{C}$ and then subjected to the following process-temperature program: (1) heating and isotherm for 5 min at 70 $^{\circ}\text{C}$ to melt all crystals and nuclei; (2) cooling at 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to -40 $^{\circ}\text{C}$; and (3) heating at 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to 70 $^{\circ}\text{C}$. The following parameters were analyzed from the first melting curve: $T_{1\text{on}}$ —onset temperature, T_1 , T_2 —peak temperatures, $T_{1\text{end}}$ —final melting temperature, and enthalpy of milk fat melting ΔH_{m1} (J/g) determined as the area limited by the melting curve and the base line. The onset temperature (T_{on}) was taken at the intersection of the baseline with the tangent to the left side of the melting peak. From the second melting scan the temperatures of ice melting T_{onset} , T_{peak} and enthalpy ΔH_{ice} of ice melting, calculated per 1 g of water were measured. The percentage of unfrozen water in the water fraction (UFW) was calculated using Equation (2):

$$\text{UFW} = 100 - \left(\frac{\Delta H_{\text{ice}}}{\Delta H_{\text{ref}}} \right) \times 100 (\%) \quad (2)$$

where ΔH_{ice} is the enthalpy of ice melting per unit mass of water contained in cheese (J/g), ΔH_{ref} is the enthalpy of ice melting for samples of pure water, equal to 333.7 J/g.

2.12. Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

The samples of 1.5 cm diameter and 1.2 cm height were placed in measuring test tubes and sealed using Parafilm. Measurements of the spin–lattice (T_1) and spin–spin (T_2) relaxation times were performed using a pulse NMR spectrometer operating at 30 MHz (WL Electronics, Poland). The inversion–recovery (π –TI– $\pi/2$) impulse sequence was applied for measurements of T_1 relaxation times. Distances between impulses (TI) were changed within the range of 4 to 800 ms and repetition time of 15 s. Each time, 32 free induction decay (FID) signals and 119 points from each FID signal were collected. Calculations of the spin–lattice relaxation time values were performed with CracSpin program using spin grouping approach [28]. Time changes of the current value of FID signal amplitude in the employed frequency of impulses were described using Equation (3):

$$M_z(\text{TI}) = M_0 \times \left(1 - 2e^{\frac{-\text{TI}}{T_1}} \right) \quad (3)$$

where $M_z(\text{TI})$ is the actual magnetization value, M_0 is the equilibrium magnetization value, TI is the distance between impulses, and T_1 is the time of relaxation.

A monoexponential magnetization recovery was found, which means that the system relaxes with one T_1 spin–lattice relaxation time. Measurements of T_2 spin–spin relaxation times were taken using the pulse train of the Carr–Purcell–Meiboom–Gill spin echoes ($\pi/2$ –TE/2–(π)_v). The distance between π (TE) impulses amounted to 1 ms. The repetition time was 15 s. The number of spin echoes (n) amounted to 50. Ten accumulation signals were employed. To calculate the spin–spin relaxation time values, Equation (4) was used [29]:

$$M_{x,y}(\text{TE}) = M_0 \sum_{i=1}^n p_i e^{\frac{-\text{TE}}{T_{2i}}} \quad (4)$$

where $M_{x,y}(\text{TE})$ is the echo amplitude; M_0 is the equilibrium amplitude; TE is the distance between π ; impulses; p_i is the fraction of protons relaxing with the T_{2i} spin–spin time.

2.13. Acceptability of Appearance and Consumer Penalty Analysis

In the sensory test, consumers ($n = 97$; ages 20 to 62; $M_{\text{age}} = 34$, $SD = 9.57$) were asked to indicate how much they liked or disliked each product on a 9-point hedonic scale (9 = like extremely; 1 = dislike extremely). Samples of 10 g (10–12 °C) were served. They were evaluated using a 5-point just-about-right (JAR) scale anchored at both extremes (1 = not enough to 5 = too much), with a central point at 3 (3 = ideal): aroma (acidity), flavor (refreshing, sweet milk), texture (elasticity, smoothness) and appearance (shininess).

2.14. Statistical Analyses

The influence of the composition on the samples was evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's HSD post hoc test for multiple comparisons. Data were analyzed using TIBCO Statistica data analysis software, version 13.3.0 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA). A critical level of significance of $\alpha = 0.05$ was used throughout this study.

3. Results and Discussion

3.1. Composition and Physicochemical Properties of Milk and Fresh Pasta Filata Cheese

The sheep's milk, compared to the cow's milk, contained more solid nonfat (by 45%, $p < 0.05$, Table 1). The casein content in the sheep's milk was 41.8 g/kg, which was 54% more than in cow's milk. Caboni et al. [30] showed that the casein content in sheep's milk ranges from 36.8 to 40.8 g/kg. Additionally, they indicated that the fat/protein ratio was 0.87–1.04. Compared to our results (1.68) this was considerably lower. The different technological parameters of concern between our examined sheep's and cow's milk included freezing point, viscosity, density, and water activity ($p < 0.05$). Compared to our results, the Bučević-Popović et al. [31] tested sheep's milk showed a lower density (1.0263 kg/m³), similar acidity (0.24% lactic acid) and lower pH 6.45. Sheep's milk examined by Faccia et al. [32] had a pH of 6.62. In our study, the conductivity of sheep's milk (3.85 mS/cm) was lower by almost 7% than that of cow's milk (4.12 mS/cm). This was probably due to approximately double the fat content in sheep's milk (86.1 g/kg) than in cow's milk ($p < 0.05$). According to various reports, the fat content of sheep's milk varies widely from 3.8% [33] to 6.48% [34]. Yanthi et al. [35] demonstrated that the conductivity of cow's milk at 4.59 mS/cm possessed 3.05% fat content and 2.81% protein content. Additionally, they indicated that the ingredients had a significant effect on the conductivity of cow's milk such as total solid, solid nonfat, lactose and freeze point deviation. Moreover, Kaşıkçı et al. [36] reported that higher conductivity was related to the mineral content in milk. Factors such as milk temperature, pH and fat content also influenced the conductivity value [37]. Furthermore, differences in composition, fat, protein, vitamins and minerals affected the conductivity value. In general, conductivity is influenced, among others, by lactose [35]. Fahmid et al. [38], reported that a low lactose concentration in milk can increase the conductivity value, which is reflected in the research presented in this paper. High conductivity in milk impedes the analysis of low frequency relaxations and contributes to a significant electrode polarization in dielectric measurement, as described by Agranovich et al. [39]. We used a nuclear magnetic resonance (NMR) technique to assess the structural and dynamic importance of water.

Milk is a complex colloidal liquid exhibiting a multiscaled structure, and the differences in properties and composition between sheep's and cow's milk, mainly fat/protein content and proportions, are responsible for different cheese parameters. In addition, factors such as larger casein micelles, greater calcium per casein weight, and mineral content in sheep's milk will ultimately influence the coagulation time, coagulation rate, and the amount of rennet needed [21].

Table 1. Composition and technological parameters of raw cow's and sheep's milk.

Parameters	Cow's Milk		Sheep's Milk		SEM
	Mean	P ₅ –P ₉₅	Mean	P ₅ –P ₉₅	
Solids-not-fat (g/kg)	83.4 ^a	82.9–83.8	121.1 ^b	120.8–121.3	0.074
Fat (g/kg)	46.3 ^a	46.1–46.5	86.1 ^b	85.8–86.4	0.037
Casein (g/kg)	27.1 ^a	26.8–27.4	41.8 ^b	41.5–42.0	0.044
Whey protein (g/kg)	6.4 ^a	6.1–6.7	9.5 ^b	9.2–9.8	0.048
Lactose (g/kg)	43.6 ^a	43.3–43.8	47.1 ^b	46.9–47.4	0.035
Fat/protein	1.4		1.7		
Ash (g/kg)	6.8 ^a	6.6–7.0	9.1 ^b	8.9–9.3	0.024
pH	6.64 ^a	6.60–6.67	6.65 ^a	6.62–6.67	0.000
Titrate acidity (% lactic acid)	0.162 ^a	0.160–0.165	0.216 ^b	0.214–0.218	0.000
Conductivity (mS/cm)	4.12 ^b	4.10–4.14	3.85 ^a	3.82–3.89	0.001
Freezing point (°C)	−0.528 ^b	−0.533–−0.523	−0.571 ^a	−0.574–−0.568	0.000
Viscosity (mPa·s)	4.22 ^a	4.18–4.27	6.71 ^b	6.68–6.75	0.001
Density, in 20 °C (kg/m ³)	1.031 ^a	1.029–1.034	1.037 ^b	1.033–1.040	0.000
Water activity	0.9838 ^b	0.9836–0.9839	0.9761 ^a	0.9759–0.9763	0.000

^{a–b} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$); P₅–P₉₅: confidence interval of the mean; SEM: standard error of the mean ($n = 5$).

The initial fluctuations in the composition of sheep's and cow's milk influenced the moisture content of the final cheese product (Table 2). Pasta filata cheeses from unfrozen and frozen sheep's milk had a moisture content of 488.8 g/kg and 491.1 g/kg, respectively ($p > 0.05$). The mixture of cow's and sheep's milk (70:30) resulted in cheeses with a moisture content of approximately 570 g/kg. Therefore, the proportion of fat:dry matter, assuming that standardized milk was used in the experiment, ranges from 0.37 (sheep's milk cheese) to 0.48 (cow's milk cheese). The proportion of protein:dry matter was 0.53 and 0.44, respectively.

Table 2. Composition and physicochemical properties of pasta filata cheeses from frozen cow's and sheep's milk.

Parameters	Pasta Filata Cheese					SEM
	C	CS	CSF	S	SF	
Moisture (g/kg)	602.7 ^c	568.5 ^b	569.2 ^b	488.8 ^a	491.1 ^a	0.169
Fat (g/kg)	190.5 ^a	188.6 ^a	189.7 ^a	189.3 ^a	191.4 ^a	0.078
Fat/dry matter (w/w)	0.48	0.44	0.44	0.37	0.38	
Protein (g/kg)	174.2 ^a	204.1 ^b	198.7 ^b	266.8 ^c	270.3 ^c	0.069
Protein/dry matter (w/w)	0.44	0.47	0.46	0.52	0.53	
Protein/fat (w/w)	0.9	1.1	1.1	1.4	1.4	
Salt (g/kg)	0.47 ^a	0.46 ^a	0.45 ^a	0.46 ^a	0.46 ^a	0.000
pH	5.13 ^a	5.12 ^a	5.11 ^a	5.12 ^a	5.12 ^a	0.000
Acidity (% lactic acid)	0.702 ^a	0.709 ^a	0.695 ^a	0.716 ^a	0.702 ^a	0.000
Water activity	0.9605 ^a	0.9586 ^a	0.9714 ^b	0.9614 ^a	0.9773 ^b	0.000

^{a–c} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$); SEM: standard error of the mean ($n = 5$); C: from cow's milk; CS: from cow's and unfrozen sheep's milk in proportion 70:30; CSF: from cow's and frozen sheep's milk in proportion 70:30; S: from unfrozen sheep's milk; SF: from frozen sheep's milk.

Our study showed the possibility of producing quality pasta filata cheeses from frozen/thawed sheep's milk. A model curd was produced from this milk, which was acidified and kneaded in hot water. The pasta filata cheeses were visually rindless, smooth, elastic with a long-stranded, parallel-orientated fibrous protein structure without evidence of curd granules. The plastic consistency characteristic of such cheeses had been obtained [21]. Our cheeses were ascribed to the soft cheese category of Codex Alimentarius [40].

Utilization of animal milk in this manner concurs with low supply, overcoming the seasonality of milk production, low production and short lactation periods. Yu et al. [41] showed that when using goat's milk the optimal approach to maintain the natural qual-

ity of milk involves ultra-cryogenic freezing—homeothermic thawing. According to Nurliyani et al. [42], goat's milk should be stored at -20°C for up to 30 days. However, in the case of sheep's milk, storage time could be extended significantly longer. Yogurt produced from frozen sheep's milk stored for 6 months at -20°C did not differ in pH, acidity, lactose, appearance and color, body and texture, flavor, overall acceptability, consistency, apparent viscosity or syneresis from sheep's unfrozen milk yoghurt [43]. Voutsinas et al. [44] brined soft cheese from ultrafiltered and frozen sheep's milk (at -20°C up to 6 months), which displayed a sandy texture, received lower scores for appearance, were harder and more acidic in flavor, and ranked lower in overall quality. Therefore, the production of brined soft cheese from ultrafiltered and frozen sheep's milk does not seem viable for commercial use.

Pasta filata cheeses from sheep's milk (samples S) had a higher (1.4) protein:fat ratio than (0.9) pasta filata fior di latte cheeses also from sheep's milk [32]. The pH of both cheeses was similar (5.12 and 5.16, respectively). In contrast, the protein:fat ratio was more similar to that of 1.2 in pasta filata-mozzarella cheeses with moisture 581.2 and 612.7 g/kg [20]. The activities most significant in the cheese production technology, such as stretching and molding phases, have a significant effect on moisture and fat losses in the fresh curd [45].

The water activity of the cheeses was not affected by milk, but only by freezing (Table 2). Frozen sheep's milk cheeses and cheeses from a mixture of cow's milk with frozen sheep's milk had higher ($p < 0.05$) water activity than other cheeses. Hence, the structural and dynamic importance of water in frozen milk was crucial. Agranovich et al. [39] examined the individual contribution of lactose, fat and protein (mainly casein) content toward the total relaxation pattern during the dielectric spectroscopy study of water dynamics in frozen bovine milk. Our study used 5 L packages for freezing, therefore, the phase transition time was as short as possible and ensured a low amount of ice crystals. Large ice crystals could damage fat globules [16] and, thus, fat loss during curd stretching in pasta filata cheese production. The longer the phase change time, the slower the formation of ice crystals, which increased migration of calcium out of the micelles, as well as the concentration of soluble calcium [46]. Thermal histories of the sheep's milk freezing process in different packages, including 5 L packages, have been presented by Tribst et al. [47].

3.2. Texture Profile, Meltability and Stretching

The addition of frozen sheep's milk to cow's milk effected all the measured parameters of the cheeses texture (Table 3, $p < 0.05$). Extensibility force, hardness and cutting force increased. Distance at break, meaning the brittleness of pasta filata cheeses made from the mixture, decreased by 4%, while stretching decreased from 131.4 to 129.8 mm. In the case of cheeses made only from sheep's milk, freezing of the milk did not affect stretching ($p > 0.05$). In the analysis of the texture profile of these cheeses, it was found that the freezing of the milk increased extensibility and cutting force (60% and 130%, respectively, $p < 0.05$).

Table 3. Texture parameters of pasta filata cheeses from cow's and sheep's frozen milk.

Parameters	Pasta Filata Cheese					SEM
	C	CS	CSF	S	SF	
Extensibility force (g)	35.4 ^c	33.8 ^b	37.4 ^d	26.6 ^a	42.5 ^e	0.069
Stretching (mm)	127.8 ^a	131.4 ^b	129.8 ^a	132.3 ^b	133.1 ^b	0.082
Hardness (g)	264.3 ^b	259.7 ^b	322.8 ^c	188.7 ^a	364.8 ^d	0.042
Brittleness (mm)	108.1 ^a	113.9 ^b	108.9 ^a	122.7 ^c	111.0 ^b	0.059
Cutting force (g)	34.9 ^c	30.6 ^b	41.4 ^d	23.7 ^a	54.8 ^e	0.045

^{a–e} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$); SEM: standard error of the mean ($n = 5$); C: from cow's milk, CS: from cow's and unfrozen sheep's milk in proportion 70:30; CSF: from cow's and frozen sheep's milk in proportion 70:30; S: from unfrozen sheep's milk; SF: from frozen sheep's milk.

The addition of sheep's milk to cow's milk plays an important role in creating the cheese's texture. Reports have shown that it increased the hardness of reduced fat Muenster-type cheese [48]. Additionally, Everett and Auty [49] showed that the texture of cheeses was influenced by casein–casein, casein–water, and casein–fat interactions, the state of the water (bulk or bound to the casein matrix). Therefore, the texture parameters are important regarding the protein:fat ratio, as well as free oil formation. Addis et al. [50] found sheep's milk cheese with increased protein content in relation to fat was more compact, cohesive and hard. To supplement the knowledge about the interactions between the components, it is worth measuring water activity and water mobility. An understanding of mobile bulk water trapped within the casein matrix and a less mobile water phase bound directly to the casein will be given. This is important for explaining the diffusion of water molecules and fat globules in cheese. In the production of pasta filata cheeses, during the texturization process (heating, kneading and stretching), the elongation of protein fibers and aggregation of fat globules and pools of fat in the direction of stretching occurs. Water channels form between the casein fibers, which also elongate [51]. Fat globules in the channels compress during protein swelling. Sheep's milk has a lower fat globule size than cow's milk [33]. Overall, sheep's milk has good coagulation and cheese-making properties. Vacca et al. [52] determined the ingredient most associated with gelling, the hardening time of the curd and water retained in the curd, was lactose. Lactose strongly interacts with water, forming a water clustered structure with ~123 affected water molecules per lactose molecule [39]. Water and lactose form analogous complexes such as the interfacial ice-like water. Lactose governs the glass transition of most concentrated liquid milk products. Agranovich et al. [39] showed that with increasing competition for water, the nature of hydration around the lactose molecule changes, resulting in the water becoming even more ordered around the lactose molecule.

3.3. Melt/Flow Profiles of Cheeses

The freezing of milk reduces the meltability of pasta filata cheeses made from sheep's milk or mixed sheep's milk (Table 4, $p < 0.05$). Cheeses with the addition of nonfrozen sheep's milk had a higher meltability than those produced from cow's milk. When the frozen milk was added, the meltability of the cheeses in the tube test decreased ($p < 0.05$). Using only frozen sheep's milk cheeses, reduced meltability (tube test) by 11% ($p < 0.05$) compared to that of cow's milk cheeses. The Schreiber test did not confirm such changes. Frozen sheep's milk cheese had 42% lower meltability (tube test) than nonfrozen sheep's milk cheese. Addition of some frozen sheep's milk, reduced the meltability (tube test) of the cheese by 20%. This tendency was confirmed by the results of the Schreiber test. The flowability of pasta filata cheeses made entirely of frozen sheep's milk increased 12-fold, whereas the mixture of milks increased 4-fold. No difference was found between the flowability of the cheese from the mixture with nonfrozen milk and cow's milk cheese ($p > 0.05$).

Table 4. Meltability (M) and flowability (F) parameters of pasta filata cheeses from cow's and sheep's frozen milk.

Parameters	Pasta Filata Cheese					SEM
	C	CS	CSF	S	SF	
M—Tube Test (mm)	7.2 ^b	8.6 ^c	6.9 ^b	11.1 ^d	6.4 ^a	0.043
M—Schreiber Test (scale 0–10)	3.3 ^a	3.8 ^b	3.2 ^a	5.2 ^c	3.2 ^a	0.037
F—Oiling-off (%)	3.13 ^a	2.92 ^a	11.56 ^c	4.21 ^b	51.85 ^d	0.001

^{a–d} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$); SEM: standard error of the mean ($n = 5$); C: from cow's milk; CS: from cow's and unfrozen sheep's milk in proportion 70:30; CSF: from cow's and frozen sheep's milk in proportion 70:30; S: from unfrozen sheep's milk; SF: from frozen sheep's milk.

The meltability and flowability of cheeses are important when cheeses are ingredients in food services. Upon heating of the cheese, the visual change is its softening and flow, where the proteins flow along with the melted fat [53]. Especially in pasta filata cheeses,

the texture profile and melt/flow are more important than the taste as typical functional characteristics. If the freezing process is implemented, the range of changes is quite wide. Kuo and Gunasekaran [54] examined the effect of freezing and frozen storage of pasta filata cheese. They showed that after the freezing process (with tempering), the porosity of the cheese increased. As a result of tempering, water clusters are unable to fully rebind into proteins. This is what can lead to an increase in the porosity of the protein matrix. This also resulted in an increased meltability and decreased stretchability of pasta filata Mozzarella cheese.

3.4. Characteristics of Water Distribution and Mobility in Cheese Based on Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and Differential Scanning Calorimetry (DSC) Analysis

Table 5 lists the DSC analysis of milk fat and ice melting phase transitions. The results of temperatures and enthalpies for the milk fat phase transition were calculated from the first and second melting curves of all the analyzed cheeses. The first heating curve was obtained during the heating of cheese samples from 5 °C to 70 °C, and the second scan during heating from −40 °C to 70 °C of samples previously cooled to −40 °C. The presence of endothermic peaks proved that part of the milk fat was present at room temperature in the form of crystals in fat globules. The DSC parameters of temperatures and enthalpies calculated from first heating curves (Table 5) showed significant differences between the mean values of temperatures $T_{I_{onset}}$ and $T_{I_{peak}}$ as well as melting enthalpy ΔH_{m1} , however, temperature $T_{I_{end}}$ differences were not significant ($p > 0.05$). The highest values of melting enthalpy were measured for cheese from cow's and frozen sheep's milk (CSF sample), and the lowest for the cheese from cow's milk. A second heating of cheese samples enabled the observation of the melting phase transition without any thermal history, thus, the results of temperature and enthalpies differ from those of the first cycle of heating. However, the shape of the second heating curves did not differ for all types of cheese. Based on the DSC results from all the second heating cycles (Table 5) of all types of cheeses, we found that, similarly to the first heating curves, there were differences in all melting temperatures and enthalpies ($p < 0.05$). Only for samples S and SF, were the differences not significant in the case of enthalpy. Generally the results of melting enthalpy followed the pattern from the first heating cycle.

Table 5. Differential scanning calorimetry (DSC) parameters of pasta filata cheeses from cow's and sheep's unfrozen and frozen milk.

Parameters	Pasta Filata Cheese				
	C	CS	CSF	S	SF
First heating					
Temperature					
$T_{I_{onset}}$ (°C)	11.78 ^b	11.15 ^{ab}	10.27 ^{ab}	11.78 ^b	8.625 ^a
$T_{I_{peak}}$ (°C)	15.97 ^c	13.15 ^a	16.88 ^d	13.85 ^{ab}	14.69 ^b
$T_{I_{end}}$	37.71 ^a	37.57 ^a	38.97 ^a	36.54 ^a	37.36 ^a
Enthalpy ΔH_{m1} (J/g of fat)	36.06 ^a	44.18 ^{ab}	84.43 ^d	57.72 ^{bc}	67.15 ^{cd}
Second heating					
Temperature					
$T_{II_{onset}}$ (°C)	12.18 ^c	7.92 ^a	12.61 ^c	7.43 ^a	10.60 ^b
$T_{II_{peak}}$ (°C)	15.88 ^c	13.12 ^a	16.42 ^c	13.29 ^a	14.98 ^b
$T_{II_{end}}$	36.24 ^b	34.01 ^a	36.59 ^b	34.17 ^a	35.99 ^b
Enthalpy ΔH_{m2} (J/g of fat)	41.95 ^a	70.88 ^b	105.82 ^d	85.39 ^c	80.15 ^c
Ice melting					
Temperature					
T_{ionset} (°C)	−4.14 ^d	−13.80 ^c	−13.27 ^c	−19.92 ^a	−16.50 ^b
T_{peak} (°C)	−0.11 ^c	−7.30 ^b	−6.54 ^b	−13.24 ^a	−7.57 ^b
Enthalpy ΔH_{ice} (J/g of water)	232.74 ^c	100.36 ^a	99.77 ^a	90.16 ^a	153.85 ^b
Unfreezable water (g/100 g of water)	29.97 ^a	69.80 ^c	69.98 ^c	72.87 ^c	53.7 ^b

^{a–d} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$); C: from cows milk; CS: from cows and unfrozen sheep milk in proportion 70:30; CSF: from cows and frozen sheep milk in proportion 70:30; S: from unfrozen sheep milk; SF: from frozen sheep milk.

During the second heating, the phase transition of ice melting in the cheese matrix was measured (Table 5). In the case of this phase transition it was possible to measure the amount of water frozen during cooling, which enabled the determination of unfrozen, bound water percentage. Significant differences were observed for temperatures and enthalpy of ice melting. The highest value of enthalpy ΔH_{ice} and higher of temperatures T_{onset} and T_{peak} for samples of cheese from cow's milk were obtained. These observations were in agreement with the results of moisture content shown in Table 2, where the highest value of moisture (602.7 g/kg) was noted for cheese made from cow's milk. Table 5 shows the percentages of unfrozen water in the water fraction (UFW) of cheese, which were calculated according to Equation (2). The lowest percentage of UFW was found in cheese made from cow's milk, which was due to its lowest protein content (Table 2). In the case of the remaining cheese samples, the UFW level was similar except for cheese made from frozen sheep milk, where the value was lower than for cheese from unfrozen sheep's milk. The results were also in agreement with the increased water activity (Table 2) from 0.961 for cheese sample S to 0.9773 for cheese sample SF. This indicated the influence of freezing on the binding of water, caused by changes in the protein's conformations.

Low-field nuclear magnetic resonance (LF NMR) methods can be used to observe the molecular properties of water in cheeses [55]. The values of spin–lattice T_1 relaxation times reflected the relationship between bulk water and bound water fractions. As the amount of bulk fraction increased, the value of this relaxation time increased (Table 6). For cow's milk cheese, the most bulk water was observed compared to the bound fraction. Both fractions were also characterized by much greater molecular dynamics, which manifested in higher values of both components of spin–spin relaxation times. This was directly related to the protein content in milk [56]. Proteins are a natural water-binding biopolymer. Hence, a significantly lower value of this parameter should be obtained for sheep's milk cheese. The observed shortening of the spin–lattice relaxation times in cheeses containing sheep's milk after freezing was associated with a significant loss of water, as evidenced by increased a_w value. The bound water fraction in cheeses containing sheep's milk had similar molecular dynamics. This confirmed the role of protein as a substance with water-binding properties. Analysis of the spin–spin relaxation time values describing the molecular dynamics of the bulk fraction (T_{22}), revealed that the addition of previously frozen milk significantly changes the molecular dynamics of this fraction. The increased mobility of the bulk fraction could lead to easier evacuation of water from the system, which in turn, significantly affected the texture parameters.

Table 6. The values of the spin–lattice T_1 and both components of the spin–spin T_2 relaxation times in pasta filata cheeses from cow's and sheep's frozen milk.

Relaxation Parameters	Pasta Filata Cheese					SEM
	C	CS	CSF	S	SF	
T_1 (ms)	279.3 ^d	228.4 ^c	120.9 ^a	125.9 ^b	121.3 ^a	0.206
T_{21} (ms)	24.1 ^c	10.8 ^a	10.7 ^a	10.9 ^{ab}	11.3 ^b	0.050
T_{22} (ms)	164.1 ^e	32.2 ^a	59.4 ^b	61.7 ^c	64.1 ^d	0.032

^{a–e} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$); SEM: standard error of the mean ($n = 5$); C: from cow's milk; CS: from cow's and unfrozen sheep's milk in proportion 70:30; CSF: from cow's and frozen sheep's milk in proportion 70:30; S: from unfrozen sheep's milk; SF: from frozen sheep's milk.

3.5. Investigation of Consumer Perception

Consumers showed the smallest differences between cow's milk cheese and cheese from the mixture with unfrozen sheep's milk (Table 7). In general, sheep's milk pasta filata cheeses were less accepted by consumers than cow's milk cheeses. Dissatisfaction (dislike) was even greater with frozen milk cheeses. The dislike responses for cheeses made only from sheep's milk increased from 7% (nonfrozen milk) to 32% (frozen milk).

Table 7. Sensory acceptability of pasta filata cheeses from cow's and sheep's frozen milk.

		Pasta Filata Cheese				
		C	CS	CSF	S	SF
9	Like extremely (%)	2.06	5.15	0	0	0
8	Like very much (%)	27.84	40.21	1.03	2.06	0
7	Like moderately (%)	30.93	35.05	28.87	40.21	0
6	Like slightly (%)	11.34	1.03	39.18	21.65	17.53
5	Neither like nor dislike (%)	27.84	16.49	22.68	25.77	50.52
4	Dislike slightly (%)	0	2.06	6.19	3.09	15.46
3	Dislike moderately (%)	0	0	2.06	7.22	12.37
2	Dislike very much (%)	0	0	0	0	4.12
1	Dislike extremely (%)	0	0	0	0	0
	Skewness	0.66	1.28	1.09	1.22	2.02
	<i>p</i> -value	0.005	0.004	0.009	0.018	0.003
	SD	13.41	15.48	14.61	14.16	15.93
	CV	124.38	143.65	135.55	131.36	147.78
	Dislike responses (%)	0	2.06	8.25	10.31	31.95

SD: standard deviation; CV: coefficient of variation; C: from cow's milk; CS: from cow's and unfrozen sheep's milk in proportion 70:30; CSF: from cow's and frozen sheep's milk in proportion 70:30; S: from unfrozen sheep's milk; SF: from frozen sheep's milk.

The main reason for consumer dissatisfaction with cheeses made entirely or only with the addition of frozen milk was not enough of the qualities: refreshing (flavor), elasticity (texture), and shininess (appearance, Table 8). Freezing the milk changed the acidity (aroma) from not enough to too much. In contrast, in the case of sweet milk (aroma), it transitioned from too much to not enough.

Table 8. Consumer penalty analysis of the just-about-right (JAR) diagnostic attributes of pasta filata cheeses from cow's and sheep's frozen milk.

			Pasta Filata Cheese				
			C	CS	CSF	S	SF
Aroma	acidity	not enough	–	–	–	14.43	–
		too much	–	–	–	–	13.40
Flavor	refreshing	not enough	–	–	16.49	19.59	35.05
		too much	–	–	–	–	–
	sweet milk	not enough	–	–	–	–	14.43
		too much	–	–	–	11.34	–
Texture	elasticity	not enough	–	–	17.53	–	47.42
		too much	–	–	–	–	–
	smoothness	not enough	–	–	–	–	–
		too much	–	–	–	–	–
Appearance	shininess	not enough	–	–	17.53	–	24.74
		too much	–	–	–	12.37	–

(–): indicates that less than 10% of consumers chose that JAR category; C: from cow's milk; CS: from cow's and unfrozen sheep's milk in proportion 70:30; CSF: from cow's and frozen sheep's milk in proportion 70:30; S: from unfrozen sheep's milk; SF: from frozen sheep's milk.

The consumer penalty analysis of just-about-right (JAR) did not reveal differences only between cow's milk cheese and cheese with the addition of unfrozen sheep's milk. Unfrozen sheep's milk cheeses generally had not enough: acidity (aroma), refreshing (flavor); and too much: sweet milk (flavor) shininess (appearance) compared to cow's milk cheeses. Importantly, more than 10% of consumers chose the JAR category.

Faccia et al. [32] found pasta filata cheese made of sheep's milk compared to cow's milk had more milk odor and flavor, was less elastic and rubbery (texture during chewing), and was more slippery. This was due to the different behavior of the curds during stretching. They showed porcelainity (external appearance) as a peculiar characteristic, while cow's cheeses were not shiny. In our study, pasta filata cheeses made from sheep's milk had (according to the consumer penalty analysis of the JAR) too much shininess (12.37%). Pasta

filata Caciocavallo cheese produced by Niro et al. [21] from the mixture of cow's and sheep's milk (82:18, v/v) compared to cow's cheese was less sweet, saltier, less elastic, more friable and harder. Increased hardness was also demonstrated by Aminifar et al. [57].

4. Conclusions

The production of pasta filata cheese from frozen sheep's milk was not a good alternative to using the raw material. The new cheeses were not fully accepted by consumers. This creates big constraints for development and innovation in the small ruminant dairy sector. Frozen/thawed sheep's milk did not appear to contribute to the development of innovative and reformulated cheeses. The rationale was the changes in the texture and meltability profile of cheeses made entirely of frozen sheep's milk or only with 30% in a mixture with cow's milk. The addition of frozen milk reduced stretching, which was the most characteristic feature of pasta filata cheeses. The freezing of milk makes cheeses, made entirely or with partial addition, harder and brittle, less stretchy and less elastic. These cheeses had the highest values of melting enthalpy measured. The level of unfrozen water in the water fraction was similar except for the cheese made from frozen sheep's milk, where the value was lower than for cheese from unfrozen sheep's milk. This result was also justified by increased water activity. Therefore, freezing influenced the binding of water, caused by the changes in protein conformations. At the same time, their flowability increased, which probably had a decisive influence on the overall appearance of the cheeses. The use of frozen milk significantly increased the number of dissatisfied consumers. The consumer penalty analysis of the just-about-right scale showed that freezing milk caused the loss of the refreshing, elasticity and shininess qualities of the produced pasta filata cheeses. Additionally, in cheeses made only from frozen milk, aroma acidity was intensified and the sweet-milk flavor disappeared. Our results can be the basis for research into the use of sheep's milk as an addition in dairy technologies other than cheese making and for research on the use of frozen sheep's milk. The results of our research could be an interesting and real opportunity for the dairy industry, allowing for market expansion of sheep's milk.

Author Contributions: Conceptualization, J.B. and D.C.-S.; methodology, J.B. and D.C.-S.; software, J.B.; validation, J.B. and J.T.-G.; formal analysis, J.B. and D.C.-S.; investigation, J.T.-G. and H.M.B.; resources, D.C.-S.; data curation, H.M.B.; writing—original draft preparation, J.B. and D.C.-S.; writing—review and editing, J.B.; visualization, J.B.; funding acquisition, D.C.-S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: A part of the study was supported by grant No. 506.784.03.00/UPP-KJPM from the Ministry of Education and Science (Poznań, Poland).

Institutional Review Board Statement: This article does not contain any studies with human or animal subjects.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The authors confirm that the data supporting the findings of this study are available within the article.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Tribst, A.A.L.; Ribeiro, L.R.; de Castro Leite Júnior, B.R.; de Oliveira, M.M.; Cristianini, M. Fermentation profile and characteristics of yoghurt manufactured from frozen sheep milk. *Int. Dairy J.* **2018**, *78*, 36–45. [CrossRef]
2. FAOSTAT Statistical Database. Crops and Livestock Products, World Production Quantity of Whole Fresh, Sheep Milk in 2019. Available online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (accessed on 6 May 2021).
3. Nudda, A.; Atzori, A.S.; Correddu, F.; Battaccone, G.; Lunesu, M.F.; Cannas, A.; Pulina, G. Effects of nutrition on main components of sheep milk. *Small Rumin. Res.* **2020**, *184*, 106015. [CrossRef]
4. Balthazar, C.F.; Pimentel, T.C.; Ferrão, L.L.; Almada, C.N.; Santillo, A.; Albenzio, M.; Mollakhalili, N.; Mortazavian, A.M.; Nascimento, J.S.; Silva, M.C.; et al. Sheep Milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2017**, *16*, 247–262. [CrossRef] [PubMed]

5. Renes, E.; Fernández, D.; Abarquero, D.; Ladero, V.; Álvarez, M.A.; Tornadizo, M.E.; Fresno, J.M. Effect of forage type, season, and ripening time on selected quality properties of sheep milk cheese. *J. Dairy Sci.* **2021**, *104*, 2539–2552. [\[CrossRef\]](#)
6. Haenlein, G.F.W. Past, present, and future perspectives of small ruminant dairy research. *J. Dairy Sci.* **2001**, *84*, 2097–2115. [\[CrossRef\]](#)
7. Mohapatra, A.; Shinde, A.K.; Singh, R. Sheep milk: A pertinent functional food. *Small Rumin. Res.* **2019**, *181*, 6–11. [\[CrossRef\]](#)
8. Cais-Sokolińska, D.; Wójtowski, J.; Pikul, J. Lactose hydrolysis and lactase activity in fermented mixtures containing mare's, cow's, sheep's and goat's milk. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2016**, *51*, 2140–2148. [\[CrossRef\]](#)
9. Cais-Sokolińska, D.; Wójtowski, J.; Pikul, J. Rheological, texture and sensory properties of kefir from mare's milk and its mixtures with goat and sheep milk. *Mljekarstvo* **2016**, *66*, 272–281. [\[CrossRef\]](#)
10. Boukria, O.; El Hadrami, E.M.; Boudalia, S.; Safarov, J.; Leriche, F.; Ait-Kaddour, A. The effect of mixing milk of different species on chemical, physicochemical, and sensory features of cheeses: A Review. *Foods* **2020**, *9*, 1309. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
11. Alichanidis, E.; Moatsou, G.; Polychroniadou, A. Composition and properties of non-cow milk and products. In *Non-Bovine Milk and Milk Products*; Tsakalidou, E., Papadimitriou, K., Eds.; Academic Press: London, UK, 2016; pp. 81–116. [\[CrossRef\]](#)
12. Moatsou, G.; Sakkas, L. Sheep milk components: Focus on nutritional advantages and biofunctional potential. *Small Rumin. Res.* **2019**, *180*, 86–99. [\[CrossRef\]](#)
13. Raynal-Ljutovac, K.; Park, Y.W.; Gaucheron, F.; Bouhallab, S. Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk. *Small Rumin. Res.* **2007**, *68*, 207–220. [\[CrossRef\]](#)
14. Tribst, A.A.L.; Falcade, L.T.P.; Ribeiro, L.R.; de Castro Leite Júnior, B.R.; de Oliveira, M.M. Impact of extended refrigerated storage and freezing/thawing storage combination on physicochemical and microstructural characteristics of raw whole and skimmed sheep milk. *Int. Dairy J.* **2019**, *94*, 29–37. [\[CrossRef\]](#)
15. Wendorff, W.L.; Kalit, S. *Processing of sheep milk*, In *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*, 2nd ed.; Park, Y.W., Haenlein, G.F.W., Wendorff, W.L., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, 2017; pp. 222–260. [\[CrossRef\]](#)
16. Zhang, R.H.; Mustafa, A.F.; Ng-Kwai-Hang, K.F.; Zhao, X. Effects of freezing on composition and fatty acid profiles of sheep milk and cheese. *Small Rumin. Res.* **2006**, *64*, 203–210. [\[CrossRef\]](#)
17. Pazzolla, M.; Dettori, M.L.; Manca, F.; Noce, A.; Piras, G.; Pira, E.; Puggioni, O.; Vacca, G.M. The effect of long-term freezing on renneting properties of sarda sheep milk. *Agric. Conspec. Sci.* **2013**, *78*, 275–279.
18. Wendorff, W.L. Freezing qualities of raw ovine milk for further processing. *J. Dairy Sci.* **2001**, *84*, E74–E78. [\[CrossRef\]](#)
19. Albenzio, M.; Santillo, A.; Caroprese, M.; Braghieri, A.; Sevi, A.; Napolitano, F. Composition and sensory profiling of probiotic Scamorza ewe milk cheese. *J. Dairy Sci.* **2013**, *96*, 2792–2800. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
20. Tripaldi, C.; Palocci, G.; Di Giovanni, S.; Marri, N.; Boselli, C.; Giangolini, G.; Amatiste, S. Microbiological and chemical characteristics of pasta filata type cheese from raw ewe milk, using thermophilic and mesophilic starters. *Arch. Lebensmittelhyg* **2018**, *69*, 123–129.
21. Niro, S.; Fratianni, A.; Tremonte, P.; Sorrentino, E.; Tipaldi, L.; Panfili, G.; Coppola, R. Innovative Caciocavallo cheeses made from a mixture of cow milk with ewe or goat milk. *J. Dairy Sci.* **2014**, *97*, 1296–1304. [\[CrossRef\]](#)
22. International Dairy Federation. *Cheese and Processed Cheese Products: Determination of Dry Matter*; IDF 1986, Standard 4; International Dairy Federation (IDF): Brussels, Belgium, 1986.
23. International Organization for Standardization. *Milk and Milk Products—Guidelines for the Application of Near Infrared Spectrometry*; ISO 21543 [IDF 201:2020]; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2020.
24. International Organization for Standardization. *Milk Determination of Freezing Point—Thermistor Cryoscope Method (Reference Method)*; ISO 5764 [IDF 108:2009]; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2009.
25. Cais-Sokolińska, D.; Bierzuńska, P.; Kaczyński, Ł.K.; Baranowska, H.M.; Tomaszewska-Gras, J. Stability of texture, meltability and water mobility model of pizza-style cheeses from goat's milk. *J. Food Eng.* **2018**, *222*, 226–236. [\[CrossRef\]](#)
26. Schenkel, P.; Samudrala, R.; Hinrichs, J. Thermo-physical properties of semi-hard cheese made with different fat fractions: Influence of melting point and fat globule size. *Int. Dairy J.* **2013**, *30*, 79–87. [\[CrossRef\]](#)
27. Hartmann, K.I.; Samudrala, R.; Hofmann, T.; Schieberle, P.; Hitzmann, B.; Hinrichs, J. Thermo-physical parameters applied for instrumental profiling and statistical evaluation of German Emmental cheese. *Int. Dairy J.* **2015**, *49*, 118–124. [\[CrossRef\]](#)
28. Węglarz, W.P.; Harańczyk, H. Two-dimensional analysis of the nuclear relaxation function in the time domain: The program CracSpin. *J. Phys. D. Appl. Phys.* **2000**, *33*, 1909–1920. [\[CrossRef\]](#)
29. Baranowska, H.M.; Tomaszewska-Gras, J.; Cais-Sokolińska, D.; Bierzuńska, P.; Kaczyński, Ł.K. Water mobility and thermal properties of smoked soft cheese. *Mljekarstvo* **2017**, *67*, 188–196. [\[CrossRef\]](#)
30. Caboni, P.; Maxia, D.; Scano, P.; Addis, M.; Dedola, A.; Pes, M.; Murgia, A.; Casula, M.; Profumo, A.; Pirisi, A. A gas chromatography-mass spectrometry untargeted metabolomics approach to discriminate Fiore Sardo cheese produced from raw or thermized ovine milk. *Int. J. Dairy Sci.* **2019**, *102*, 5005–5018. [\[CrossRef\]](#)
31. Bučević-Popović, V.; Delaš, I.; Međugorac, S.; Pavela-Vrančić, M.; Kulišić-Bilušić, T. Oxidative stability and antioxidant activity of bovine, caprine, ovine and asinine milk. *Int. J. Dairy Technol.* **2014**, *67*, 394–401. [\[CrossRef\]](#)
32. Faccia, M.; Trani, A.; Gambacorta, G.; Loizzo, P.; Cassone, A.; Caponio, F. Production technology and characterization of Fior di latte cheeses made from sheep and goat milks. *J. Dairy Sci.* **2014**, *98*, 1402–1410. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

33. Tribst, A.A.L.; Falcade, L.T.P.; Carvalho, N.S.; de Castro Leite Júnior, B.R.; de Oliveira, M.M. Using stirring and homogenization to improve the fermentation profile and physicochemical characteristics of set yogurt from fresh, refrigerated and frozen/thawed sheep milk. *LWT* **2020**, *130*, 109557. [\[CrossRef\]](#)
34. Sánchez, A.F.; Muñoz, J.P.; Caballero-Villalobos, J.; Sánchez, R.A.; Garzón, A.; Sánchez de Pedro, E.A. Coagulation process in Manchega sheep milk from Spain: A path analysis approach. *J. Dairy Sci.* **2021**, *104*, 7544–7554. [\[CrossRef\]](#)
35. Yanthi, N.D.; Said, S.; Anggraeni, A.; Damayanti, R. Correlation of electric conductivity values with the dairy milk quality. *JITV* **2018**, *32*, 82–88. [\[CrossRef\]](#)
36. Kaşıkçı, G.; Çetin, Ö.; Bingöl, E.B.; Gündüz, M.C. Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* **2012**, *36*, 49–55.
37. Qayyum, A.; Khan, J.A.; Hussain, R.; Avas, M.; Ahmad, N.; Sarwar-Khan, M. Investigation of milk and blood serum biochemical profile as an indicator of sub-clinical mastitis in Cholistani cattle. *Pak. Vet. J.* **2016**, *36*, 275–279.
38. Fahmid, S.; Hassan, E.; Naeem, H.; Barrech, S.; Lodhi, S.; Latif, S. Determination of mastitis by measuring milk electrical conductivity. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* **2016**, *3*, 1–4.
39. Agranovich, D.; Ishai, P.B.; Katz, G.; Bezman, D.; Feldman, Y. Dielectric spectroscopy study of water dynamics in frozen bovine milk. *Colloids Surf. B* **2016**, *141*, 390–396. [\[CrossRef\]](#)
40. The Codex Alimentarius Commission Codex Stan 262. *Codex General Standard for Mozzarella*; WHO/FAO International Food Standards: Rome, Italy, 2019.
41. Yu, Z.; Qiao, C.; Zhang, X.; Yan, L.; Li, L.; Liu, Y. Screening of frozen-thawed conditions for keeping nutritive compositions and physicochemical characteristics of goat milk. *J. Dairy Sci.* **2021**, *104*, 4108–4118. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Suranindiyah, Y.; Pretiwi, P. Quality and emulsion stability of milk from Ettawah crossed bred goat during frozen storage. *Procedia Food Sci.* **2015**, *3*, 142–149. [\[CrossRef\]](#)
43. Katsiari, M.C.; Voutsinas, L.P.; Kondyli, E. Manufacture of yoghurt from stored frozen sheep's milk. *Food Chem.* **2002**, *77*, 413–420. [\[CrossRef\]](#)
44. Voutsinas, L.P.; Katsiari, M.C.; Pappas, C.P.; Mallatou, H. Production of brined soft cheese from frozen ultrafiltered sheep's milk. Part 2 compositional, physicochemical, microbiological and organoleptic properties of cheese. *Food Chem.* **1995**, *52*, 235–247. [\[CrossRef\]](#)
45. Kindstedt, P.S.; Hillier, A.J.; Mayes, J.J. Technology, biochemistry and functionality of pasta filata/pizza cheese. In *Technology of Cheesemaking*; Law, B.A., Tamime, A.Y., Eds.; Blackwell Publishing: Hoboken, NJ, USA, 2010; pp. 330–352. [\[CrossRef\]](#)
46. Kljajević, N.V.; Jovanović, S.T.; Miloradović, Z.N.; Macej, O.D.; Vucic, T.R.; Zdravkovic, I.R. Influence of the frozen storage period on the coagulation properties of caprine milk. *Int. Dairy J.* **2016**, *58*, 36–38. [\[CrossRef\]](#)
47. Tribst, A.A.L.; Falcade, L.T.P.; de Oliveira, M.M. Strategies for raw sheep milk storage in smallholdings: Effect of freezing or long-term refrigerated storage on microbial growth. *J. Dairy Sci.* **2019**, *102*, 4960–4971. [\[CrossRef\]](#)
48. Ponce de Leon-Gonzalez, L.; Wendorff, W.L.; Ingham, B.H.; Thomas, D.L.; Jaeggi, J.J.; Houck, K.B. Influence of ovine milk in mixture with bovine milk on the quality of reduced fat Muenster-type cheese. *J. Dairy Sci.* **2002**, *85*, 36–42. [\[CrossRef\]](#)
49. Everett, D.W.; Auty, M.A.E. Cheese structure and current methods of analysis. *Int. Dairy J.* **2008**, *18*, 759–773. [\[CrossRef\]](#)
50. Addis, M.; Pes, M.; Fiori, M.; Nieddu, G.; Furesi, S.; Pirisi, A. Effect of protein-to-fat ratio of sheep milk on the composition, rheological properties and yield of PDO Pecorino Romano cheese. *Small Rumin. Res.* **2018**, *162*, 1–7. [\[CrossRef\]](#)
51. Joshi, N.S.; Muthukumarappan, K.; Dave, R.I. Effect of calcium on microstructure and meltability of part skim Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* **2004**, *87*, 1975–1985. [\[CrossRef\]](#)
52. Vacca, G.M.; Cipolat-Gotet, C.; Paschino, P.; Casu, S.; Usai, M.G.; Bittante, G.; Pazzola, M. Variation of milk technological properties in sheep milk: Relationships among composition, coagulation and cheese-making traits. *Int. Dairy J.* **2019**, *97*, 5–14. [\[CrossRef\]](#)
53. Ko, S.; Gunasekaran, S. Evaluation of cheese meltability using convection and conduction melt profilers. *Int. J. Dairy Technol.* **2014**, *67*, 194–201. [\[CrossRef\]](#)
54. Kuo, M.-I.; Gunasekaran, S. Effect of freezing and frozen storage on microstructure of Mozzarella and pizza cheeses. *LWT* **2009**, *42*, 9–16. [\[CrossRef\]](#)
55. Gianferri, R.; Maioli, M.; Delfini, M.; Brosio, E. A low-resolution and high-resolution nuclear magnetic resonance integrated approach to investigate the physical structure and metabolic profile of Mozzarella di Bufala Campana cheese. *Int. Dairy J.* **2007**, *17*, 167–176. [\[CrossRef\]](#)
56. Boiani, M.; Sundekilde, U.; Bateman, L.M.; McCarthy, D.G.; Maguire, A.R.; Gulati, A.; Guinee, T.P.; Fenelon, M.; Hennessy, D.; FitzGerald, R.J.; et al. Integration of high and low field ¹H NMR to analyse the effects of bovine dietary regime on milk metabolomics and protein-bound moisture characterisation of the resulting mozzarella cheeses during ripening. *Int. Dairy J.* **2019**, *91*, 155–164. [\[CrossRef\]](#)
57. Aminifar, M.; Hamed, M.; Emam-Djomeh, Z.; Mehdinia, A. The effect of ovine and bovine milk on the textural properties of Lighvan cheese during ripening. *Int. J. Dairy Technol.* **2012**, *66*, 45–53. [\[CrossRef\]](#)

[P2]

Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Wawrzyniak, J. (2022). Effect of packaging and portioning on the dynamics of water-fat serum release from fresh pasta filata soft cheese. *Foods*, 11, 296.

<https://doi.org/10.3390/foods11030296>

Article

Effect of Packaging and Portioning on the Dynamics of Water–Fat Serum Release from Fresh Pasta Filata Soft Cheese

Jakub Biegalski , Dorota Cais-Sokolińska *  and Jolanta Wawrzyniak 

Department of Dairy and Process Engineering, Faculty of Food Science and Nutrition, Poznań University of Life Sciences, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, Poland; jakub.biegalski@up.poznan.pl (J.B.); jolanta.wawrzyniak@up.poznan.pl (J.W.)

* Correspondence: cais@up.poznan.pl; Tel.: +48-61-8487317

Abstract: The aim of the present study was to analyze the impact of cheese fragmentation and packaging on the dynamics of water–fat serum released from pasta filata cheese made from cow’s milk and its mixture with sheep’s milk. The addition of sheep’s milk reduced the amount of leachate from the vacuum-packed cheeses and did not cause as much loss of gloss as in the case of cow’s milk cheeses. This was also reflected in the microscopic images of the cheese samples. Consumers showed less acceptance of cow’s milk pasta filata cheeses than cheeses made with a mixture of cow’s and sheep’s milk (they had the same fat content, acidity, hardness, and oiling-off, but better stretching). The data describing water–fat serum release from pasta filata cheese within 24 h of unpacking was modeled with the use of the feed-forward artificial neural networks, whose architecture is based on Multi-Layer Perceptron with a single hidden layer. The model inputs comprised four independent variables, including one quantitative (i.e., time) and the other qualitative ones, which had the following states: type of raw material (cow’s milk, cow-sheep’s milk), way of sample portioning (whole, quarters, slices), packing method (vacuum packed and packed in brine).

Keywords: water–fat serum; artificial neural network model; cheese; portioning; packaging



Citation: Biegalski, J.; Cais-Sokolińska, D.; Wawrzyniak, J. Effect of Packaging and Portioning on the Dynamics of Water–Fat Serum Release from Fresh Pasta Filata Soft Cheese. *Foods* **2022**, *11*, 296. <https://doi.org/10.3390/foods11030296>

Academic Editors: Pasquale Massimiliano Falcone, Luisa Torri and Deborah Pacetti

Received: 3 January 2022

Accepted: 20 January 2022

Published: 22 January 2022

Publisher’s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Pasta filata cheese production technology is based on the processing of milk from various species of mammals. Traditionally, cow’s milk is used to produce Provolone del Monaco cheese [1,2], buffalo’s milk produces Mozzarella di Bufala Campana PDO [3–5], and sheep’s milk is used to produce Oscypek PDO cheese [6], semi-hard Kasseri PDO cheese [7,8] and Vastedda Della Valle del Belice PDO soft cheese [9,10]. Among these cheeses, Kashar cheese, which traditionally originates from Turkey, can be made from cow’s milk, sheep’s milk, or a mixture of both [11,12]. Currently, the adaptation of the production technology of many pasta filata cheeses allows their more widespread production from cow’s milk and, therefore, more accessible raw material. This is the case for Mozzarella cheese or Caciocavallo cheese. However, as with any modification of the raw material and technical/technological parameters, it is associated with obtaining cheeses with properties different from the original [4,13].

Mozzarella is one of the most popular cheeses around the world. Its high or low moisture depends on fat content in the dry matter. For example, when content of fat in dry matter (m/m) is $\geq 30\%$ but $< 40\%$, then the corresponding minimum dry matter content (m/m) for low- and high-moisture Mozzarella is 39% and 26%, respectively [14]. It is characterized by a fresh, milky taste and an exceptionally soft texture, and is stored in covering liquid. This type of cheese shows specific properties, where serum leachate after portioning of the cheese is probably the most particular [15,16]. The composition of the covering liquid may be different, including, among others, water, lactic acid or citric acid, NaCl, and CaCl_2 . It is a type of brine that maintains high moisture in the cheese, usually above 60%, as well as very soft texture, and prevents the formation of rind on the surface [16,17]. Nevertheless,

the use of a covering liquid contributes to the reduction of the shelf-life due to high moisture content and water activity, and mass transfer between the cheese matrix and the serum phase [16–18]. The presence of water redistribution and enhanced water-holding capacity in cheese during longer storage has been described by Gonçalves et al. [19].

The physical state of the water in cheese critically influences both structural and functional properties. Cheese has a bi-continuous gel structure consisting of a porous protein matrix (casein) interrupted by fat [20]. Some of the water in cheese is located near or inside fat clusters [21], while most of the water is found in the porous casein matrix [20]. The water fractions of cheese are generally divided into a matrix associated with casein and unbound free serum water [20].

Mozzarella cheese is widespread among consumers, not only for its sensory properties, but also due to its nutritional and health benefits; however, one undesirable feature in the consumption or production and industrial use of Mozzarella is leachate that appears after its unpacking. This phenomenon is not only negatively perceived by consumers, but also (due to the reduction in cheese mass) is a source of losses for producers. Considering the impact of leachate on the profitability of production and the consumer impression of pasta filata cheese, it is necessary to identify the conditions that favor its formation. To the best of our knowledge, reports have not comprehensively examined the effect of raw material used to manufacture cheese and its post-production processing on the amount of leachate. Therefore, the aim of the present study was to analyze the impact of cheese fragmentation and packaging on the dynamics of water–fat serum release from pasta filata cheese made from cow’s milk and its mixture with sheep’s milk. To enable easy use of the obtained results in industrial practice, the artificial neural network model of water–fat serum released as a function of the above-mentioned parameters was elaborated. In addition to the scientific cognitive value, the developed model will be useful for technologists designing specific properties of cheese and the food industry, especially HoReCa (Hotel, Restaurant, Catering).

2. Materials and Methods

2.1. Cheese-Making Protocols

A detailed description of cow’s and sheep’s milk used and the procedure for making pasta filata cheese was described by Biegalski et al. [22]. Half of the produced cheeses were vacuum packed using a vacuum sealer (A300/16 type, Multivac GmbH & Co.KG, Wolfertschwenden, Germany). The other half were packed in brine and stored at 3 °C. PA/PE bags with a thickness of 0.08 mm were used. The produced cheeses were shaped into spheres (220 g, Ø = 7 cm). The research material was a whole sphere of cheese, quartered cheese, and sliced cheese.

2.2. Experimental Design

The cheese was quartered by slicing along the geometric center horizontally and vertically to obtain 4 equal quarters of cheese. Slicing was carried out with a food slicer (R506E, Gorenje d.d., Valenje, Slovenia) to obtain 1 cm thick slices. Table 1 shows the parametric data of fresh pasta filata cheese before and after portioning. The differences in dimensions were closely related to the way the ball of cheese was cut. Hence, the area of the cheese slice was greater than that of the quarter.

The various parameters of cheese quality, sensory test, and the amount of water–fat serum released from cheese were rated after production (after 2 days of storage in packaging at 3 ± 0.5 °C). Storage time for all samples was 2 days after production, which imitates the period of time from the end of production to the moment the product goes on sale. Test specimens were taken from different production batches ($n = 6$). The cheese was prepared in a pilot plant scale and each batch was analyzed twice.

Table 1. Parametric data of fresh pasta filata cheese before and after portioning.

Parameters	Sphere	Quarters	Slices
Mass (g)	220	220	220
Volume (mL)	180	180	180
Total cheese area (cm ²)	153.9	307.8	329.9
Surface of the outer layer (cm ²)	153.9	153.9	153.9
Internal layer surface (cm ²)	0	153.9	176.0
Total cheese area/Volume	0.86	1.71	1.83

2.3. Composition and Acidity of Cheese

The composition of the cheese was determined according to moisture [23], protein [24], and fat [25] content. Total protein was calculated as: $(\text{TN} - \text{NPN}) \times 6.38$. pH was measured using a CP-402 pH-meter (Elmetron, Zabrze, Poland) equipped with a IONODE IJ44A electrode (Ionode Pty. Ltd., Tennyson, Australia). The titratable acidity values were expressed as Soxhlet–Henkel degree (SH, 1 SH = 0.0225 lactic acid %).

2.4. Profile Texture Analyses and Oiling-Off

The hardness and stretching of the cheeses were measured using a texturometer (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) with attachments: A/WEG—hardness (Pre-Test Speed 1.0 mm/s, Test Speed 2.0 mm/s, Post-Test Speed 10.0 mm/s, distance 10.0 mm); A/CE (stretch quality) attachment with a PT 100 temperature sensor (test speed 20.0 mm/s, post-test speed 20.0 mm/s, distance 270 mm, temp. 55 °C, samples of 60 g). Results were recorded using Texture Exponent E32 version 4.0.9.0 software (Godalming, Surrey, UK).

Oiling-off (fat-ring test) was determined according to the method of Schenkel et al. [26] and Hartmann et al. [27]. The free oil formation was expressed as the percentage of the area soaked by free oil relative to the area of the total filter paper.

2.5. Gloss Measurement and Microstructure

The gloss was measured using the DT 268 gloss meter (TestAn, Gdańsk, Poland), measurement geometry 60.

All samples were evaluated using optical microscopy. Observations were conducted on pieces taken from the central layers of the cheese mass. The fragment dimensions were as follows: width 2 mm, height 2 mm, and thickness 0.3 mm. Samples of cheeses were deposited onto a glass slide surface and covered with a cover slip for observation under an optical microscope ProteOne (Delta Optical, Mińsk Mazowiecki, Poland). Observations were made at 1000× magnification using a ProteOne semiplanachromatic objective (Delta Optical, Mińsk Mazowiecki, Poland) with oil immersion. Images were taken using DLT-Cam PRO microscope camera (Delta Optical, Mińsk Mazowiecki, Poland).

2.6. Acceptability of Appearance and Consumer Penalty Analysis

In the sensory test, consumers ($n = 84$; 50 female, 34 male; ages 29 to 69; $M_{\text{age}} = 35.5$, $SD = 8.71$) were asked to indicate how much they liked or disliked each product on a 9-point hedonic scale (9 = like extremely; 1 = dislike extremely) based on appearance. Each consumer was given 12 cheese samples for evaluation: whole sphere of cheeses, quartered cheeses and sliced cheeses, packed in brine and vacuum packed, made from cow's milk and a mixture of cow's and sheep's milk. The samples were assessed between 5–6 h after removing from the packaging and portioning (according to preliminary observations, this is the average storage time of the cheese after unpacking by the consumer). Samples were held and served at 6 °C in a refrigerated display case (YG-05025, YATO, Wrocław, Poland). Any assessor who rated the sample at a level of 1 to 4 (dislike) had to rate shininess, leachate and compactness using a 5-point just-about-right (JAR) scale. For this purpose, the methodology described by Costa et al. [28] was used. Ratings consisted of 1 = not enough, 3 = ideal, 5 = too much.

2.7. Modeling Process

2.7.1. Datasets

The model of water–fat serum release from pasta filata cheese was developed based on experimental data, which described the volume of liquid phase (mL) collected within 24 h after cheese unpacking (according to preliminary research, it is the maximum storage time of the cheese after unpacking by the consumer). The data included observations recorded from cheeses that differed in terms of packaging method, degree of sample fragmentation and type of raw material used in production. During modeling, data were randomly divided into three groups, training, testing and validation. The training dataset used for the network learning process consisted of 604 points, which accounted for 70% of all cases. The other two datasets, the set of testing data used to evaluate the network during its training and the set of validation data not involved in the construction of the model, was used for the final model verification, each contained 130 points, i.e., 15% of the full data set.

2.7.2. Model Development

Artificial neural networks (ANNs) are a universal approximating system capable of mapping dependences existing in multidimensional datasets. ANNs do not require a priori knowledge of the relationship between process variables and offer a simple and straightforward approach to problem identification; hence, they constitute a highly promising modeling technique particularly in the case of non-linear phenomenon [29]. The most commonly used neural networks consist of several layers of neurons (input, one or more hidden and output layers). Determination of the number of hidden layers, the number of neurons in each of them, and the type of activation functions in neurons of the hidden and output layers is part of the neural network design process. The values of network parameters (weights, biases) are estimated in the optimization process to allow the network to best map the set of independent variables constituting the input signals into the set of dependent variables constituting the output signals.

In our study, feed-forward networks based on Multi-Layer Perceptron (MLP) with a single hidden layer were applied to develop the model of water–fat serum released from pasta filata cheese within 24 h of unpacking. The model inputs were comprised of four independent variables. One was quantitative, i.e., time, while the others were qualitative and took the following states, i.e., type of raw material (cow's milk, cow-sheep's milk), the method of sample portioning (whole, quarters, slices), and the packing method (vacuum packed and packed in brine). When designing the network, each of the variables were assigned to several neurons equal to the number of states. For a specific state of a given qualitative input variable, only one of the assigned neurons could take one of two values, i.e., 0 (inactive) or 1 (active). In turn, the dependent variable, which was the leachate volume, was taken as the output of the network. During model development, network topologies based on MLP containing a different number of neurons in the hidden layer (from 2 to 20), various types of activation function in neurons of hidden layer (i.e., hyperbolic tangent (Tanh), logistic (Log) and exponential (Exp)) and linear activation function (Lin) in the neurons of output were examined. The network parameters (weights, biases) were determined using the Broyden–Fletcher–Goldfarb–Shanno (BFGS) training algorithm. The total number of tested ANN topologies was 57,000 (3 types of activation functions in neurons of hidden layer $\times$ 19 sizes of hidden layers $\times$ 1000 repetitions for each structure). The performance quality of each tested network was assessed during the model-designing process based on the values of training and test errors. The generalization capability of examined networks was evaluated based on a validation error. All errors were calculated with the use of the sum-of-the-squares error function.

2.8. Statistical Analyses

Statistical analysis was carried out using TIBCO Statistica data analysis software, version 13.3.0 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA). Results are presented as mean $\pm$ standard deviation (SD) of triplicate of each analysis carried out in experiments performed in duplicate.

A critical level of significance of $\alpha = 0.05$ was used throughout the study. The influence of milk composition on chemical and physicochemical characteristics of pasta filata cheeses was evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA). The effect of milk composition, the packaging method and the sample fragmentation on the leachate amount within 24 h of cheese unpacking was investigated using multivariate analysis of variance (ANOVA). The significance of the effect of individual factors and their interactions was assessed using the F test, while the significance of differences between the mean values of leachate volumes was determined using the post-hoc Tukey's HSD test. Each analysis of variance began with the verification of its assumptions including examination of the probability distribution for measured variable and homoscedasticity in the standard deviation of its value using the W Shapiro–Wilk and Levene tests, respectively. The evaluation of the ANN model of water–fat serum released from fresh pasta filata cheese performance was carried out based on the determination coefficient (R^2) and root mean square error (RMSE).

3. Results

3.1. Composition and Physicochemical Properties of Fresh Pasta Filata Cheese

Cheese from cow's and sheep's milk in 70:30 proportion (CS), compared to cheese from only cow's milk (C), contained less moisture by approx. 6% ($p < 0.05$, Table 2), whereas the protein content in CS cheese was approx. 17.2% higher than in C cheese ($p < 0.05$). Both groups of examined cheese samples had comparable fat content ($p > 0.05$). Additionally, no difference in hardness and oiling-off was observed. Moreover, the addition of sheep's milk had no effect on the acidity and pH of the cheeses ($p > 0.05$). pH values were 5.15 and 5.14, respectively. These results were comparable to those reported by Alinovi et al. [16], whose cow's milk Mozzarella cheese had pH value of 5.92 ($p < 0.05$). Significant differences were observed in the case of the stretching parameter that was greater for CS ($p < 0.05$). The string length of CS cheese was 131.6 mm, which was longer than that of C cheese by approx. 2.9%. Similar results were presented by Fife et al. [30], with string length of 125 mm.

Table 2. Gross composition and physicochemical characteristics of pasta filata cheeses from cow's milk and a mixture with sheep's milk.

Parameters	Pasta Filata Cheese		SEM
	C	CS	
Moisture (g/kg)	602.8 ^b	568.8 ^a	0.048
Fat (g/kg)	190.8 ^a	188.8 ^a	0.049
Protein (g/kg)	174.1 ^a	204.0 ^b	0.040
pH	5.15 ^a	5.14 ^a	0.000
Acidity (% lactic acid)	0.704 ^a	0.707 ^a	0.000
Hardness (g)	264.5 ^a	259.9 ^a	0.028
Stretching (mm)	127.9 ^a	131.6 ^b	0.054
Oiling-off (%)	3.17 ^a	2.91 ^a	0.001

^{a,b} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$). SEM: standard error of the mean ($n = 6$). C—from cow's milk, CS—from cows and sheep milk in proportion 70:30.

Due to their complex structures, cheeses are an example of food with viscoelasticity [31]. According to Muliawan and Hatzikiriakos [32], Mozzarella is viscoelastoplastic at room temperature, but above 60 °C it is a viscoelastic material. It has been shown that the yield point of Mozzarella cheese gradually decreases with increasing temperature. Deformation, fracture, and friction during cutting are closely related to viscoelastic properties [33].

3.2. Surface Condition Assessment

Images of the samples observed with the microscope reflect the size of leachate (Figures 1 and 2). The addition of sheep's milk reduced the amount of leachate from the vacuum-packed cheeses. Thus, it did not lead to such a high loss of gloss as in cow's milk cheeses. This is demonstrated by the plasma/serum retained in the channels

of the cheese structure. The structure of vacuum-packed CS cheese is more compacted (packed/thickened) than that of C cheese packed in the same way. The cheeses packed in brine turned out to have higher gloss and higher plasma/serum content.

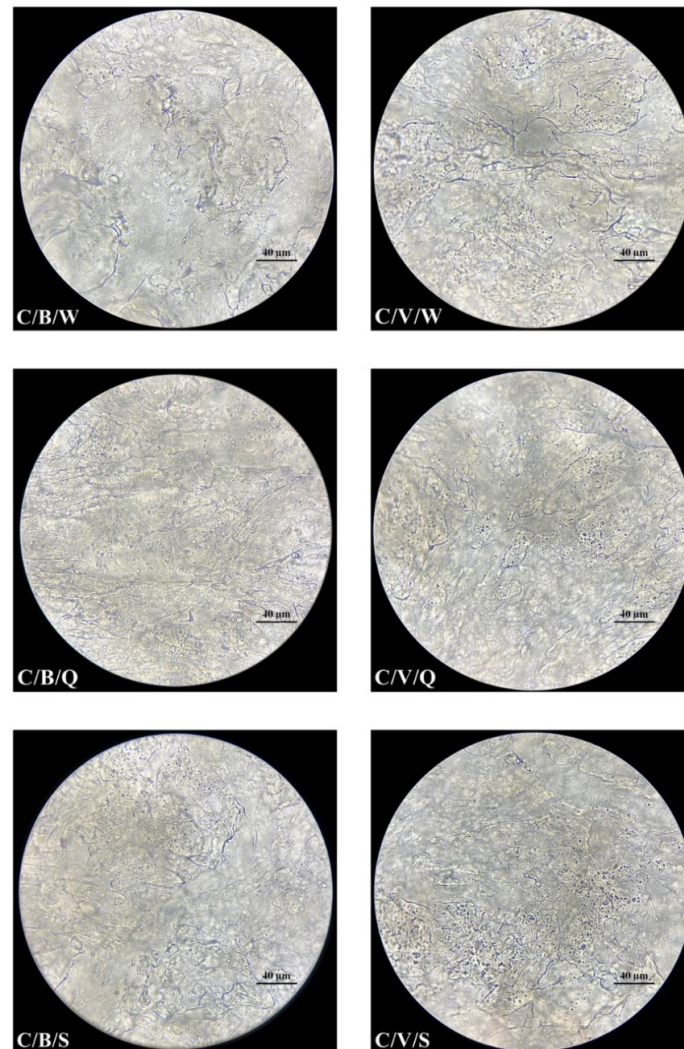


Figure 1. Microstructures of pasta filata cheeses from cow's milk (optical microscopy, 1000× objective); Milk (used in cheese production): C: cow's milk; Packaging (method): B: Packed with brine; V: Vacuum packed; Fragmentation (method): W: Whole sphere; Q: Quarters; S: Slices.

During cutting, shearing stresses cause structural damage and propagate its fracture. The applied load along with the higher speed increases the stiffness of the cut material. Thus, the deformation zone caused by the pressure of the blade is reduced. Vandenberghe et al. [34] proposed a critical stress and distance criterion for crack propagation in portioning models of cheese. As emphasized by Bremer and Matthiesen [35], there is a difference between portioning research and slicing and hence there is a need to conduct experimental research on slicing to define the ideal process.

With cutting force, the appearance and roughness of the cut surface is connected [36]. This is an important criterion for food quality [37]. As per Chen [38], surface texture can be captured by the senses by visual, tactile handfeel, and tactile mouthfeel senses. It can be assessed using sensory panel tests or by physical instrument tests. In our research, cutting into quarters as compared to slicing was probably associated with less deformation and less friction. This could have had an impact on the structure of the obtained portion. However, the surface of the cheese portions after quartering and slicing, in our opinion, was visually just as shiny and rough, but significantly different from the outer surface (Figure 3). The

gloss of the outer layer was 1.4 GU (sample C and CS, $p > 0.05$), and the internal one was 0.8 GU (sample C and CS, $p > 0.05$).

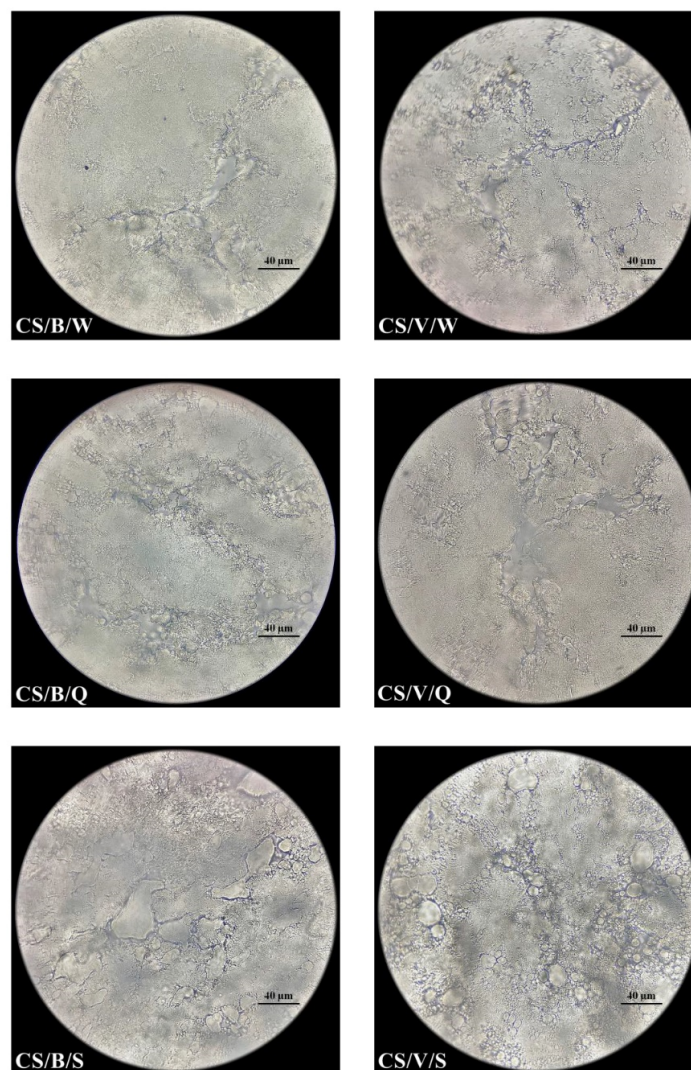


Figure 2. Microstructures of pasta filata cheeses from mixture of cow's and sheep's milk (optical microscopy, 1000× objective); Milk (used in cheese production): CS: cow's and sheep's milk in proportion 70:30; Packaging (method): B: Packed with brine; V: Vacuum packed; Fragmentation (method): W: Whole sphere; Q: Quarters; S: Slices.

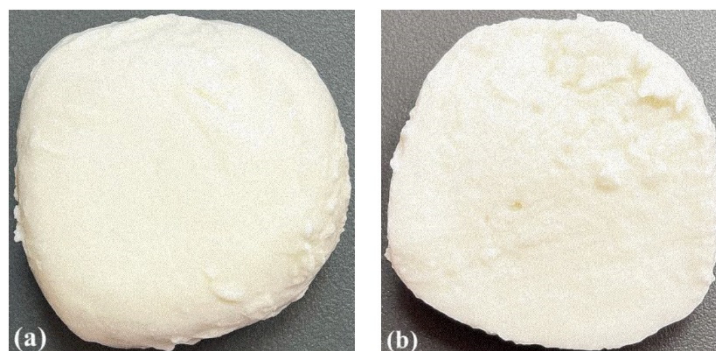


Figure 3. Outer layer (a) and inner layer (b) of pasta filata cheese from cow's and sheep's milk in proportion 70:30.

3.3. Dependence of Cheese Packing and Portioning on Acceptability of Appearance

Consumers indicated the highest acceptability at the “like extremely” level for CS cheese made from a mixture of cow’s and sheep’s milk in the proportion of 70:30 (CS) (Table 3). The highest values were observed for whole-sphere cheese samples packed with brine. In general, C pasta filata cheeses were less accepted by consumers than CS cheeses. This was observed especially for vacuum-packed C cheese served in the form of quarters and slices.

Table 3. Sensory acceptability of pasta filata cheeses from cow’s milk and its mixture with sheep’s milk.

Samples			9	8	7	6	5	4	3	2	1	SK	p-Value	Dislike Responses (%)
C	B	W	48.8	29.8	20.2	1.2	0	0	0	0	0	1.48	0.002	0
		Q	47.6	21.4	22.6	6.0	2.4	0	0	0	0	1.62	0.005	0
		S	46.4	25.0	19.0	7.1	2.4	0	0	0	0	1.56	0.007	0
	V	W	67.9	25.0	4.8	2.4	0	0	0	0	0	2.42	<0.001	0
		Q	4.8	11.9	14.3	16.7	11.9	21.4	15.5	1.2	2.4	−0.25	0.515	40.5
		S	0	4.8	8.3	14.3	21.4	21.4	16.7	10.7	2.4	0.03	0.582	51.2
CS	B	W	85.7	9.5	3.6	1.2	0	0	0	0	0	2.93	<0.001	0
		Q	81.0	16.7	2.4	0.0	0	0	0	0	0	2.79	<0.001	0
		S	82.1	13.1	2.4	2.4	0	0	0	0	0	2.87	<0.001	0
	V	W	79.8	13.1	6.0	1.2	0	0	0	0	0	2.85	<0.001	0
		Q	78.6	15.5	4.8	1.2	0	0	0	0	0	2.80	<0.001	0
		S	6.0	8.3	9.5	17.9	21.4	22.6	10.7	2.4	1.2	0.37	0.398	34.9

SK: skewness; Milk (used in cheese production): C: Cow’s milk; CS: cow’s and sheep’s milk in proportion 70:30; Packaging (method): B: Packed with brine; V: Vacuum packed; Fragmentation (method): W: Whole sphere; Q: Quarters; S: Slices; 9—Like extremely, 8—Like very much, 7—Like moderately, 6—Like slightly, 5—Neither like nor dislike, 4—Dislike slightly, 3—Dislike moderately, 2—Dislike very much, 1—Dislike extremely.

Dissatisfaction by consumers was observed in the case of vacuum-packed quarters and slices from C cheese, and for samples in the form of slices from CS cheese, also vacuum-packed (Table 4). The main reason for consumer dissatisfaction with C cheeses stemmed from not enough of shininess, for samples served in the form of quarters and slices. “Not enough shininess” response was also observed in the case of CS cheese, in the form of slices. Consumers largely demonstrated dissatisfaction due to excessive leachate from these cheeses. According to respondents, these cheeses also largely lacked compactness. The consumer penalty analysis of the just-about-right (Table 4) showed that the most “not enough shininess” responses was in the case of samples from cow’s vacuum-packed cheese, served in form of quarters (C/V/Q) (61.3% of respondents). Most “too much leachate” (97.7%) and at the same time “not enough compactness” (83.7%) responses was in the case of samples from cow’s vacuum-packed cheese, served in form of slices (C/V/S).

Table 4. Consumer penalty analysis of the just-about-right (JAR) diagnostic attributes.

Samples			Shininess		Leachate		Compactness	
			Not Enough	Too Much	Not Enough	Too Much	Not Enough	Too Much
C	V	Q	61.3	—	—	88.2	82.4	—
		S	55.8	—	—	97.7	83.7	—
CS	V	S	32.4	—	—	80.6	71.0	12.9

(—) = indicates that less than 10% of consumers chose that JAR category; Milk (used in cheese production): C: Cow’s milk; CS: cow’s and sheep’s milk in proportion 70:30; Packaging (method): V: Vacuum packed; Fragmentation (method): Q: Quarters; S: Slices.

Cheese portioning is necessary during consumption, e.g., in salads, pizza topping, and sauces. For portioned cheese to be appealing to consumers, food processors and food-service industries, it must have a stable structure, with the least possible leachate of water and free oil [39]. The mobility of water within the cheese matrix is related to features strictly responsible for the functionality of the cheese, e.g., melting and texture. Cheeses in which the water moves more are considered to exhibit greater meltability and softness. When water is strongly bonded in the matrix, the cheese is brittle and non-melting [39]. The sensory descriptive analyzes of Mozzarella cheese during shelf-life reported by Cincotta et al. [40] showed that the structural features of the cheese surface are important regarding sensory acceptability. This research showed that features such as white color, smooth surface, firmness and juiciness are noticeable by consumers at an average level of 8.63, 6.74, 8.06, and 7.03, respectively (using a nine-point intensity scale, where 1 = not perceptible and 9 = strongly perceptible). This demonstrates that these characteristics are relevant to the consumer in the case of pasta filata cheeses. Additionally, juiciness is assessed integrally by the amount of the liquid fraction in the cheese mass. The leachate of this phase is unacceptable to the consumer. Therefore, every effort should be made to minimize the amount of leachate. Uzun et al. [41] examined buffalo milk Mozzarella cheese, and presented similar results to those reported by Cincotta et al. [40]. Juiciness, smoothness and tenderness are some of the highest rated descriptive attributes, and confirms the assumption that these features are important for consumers.

3.4. Effect of Process Parameters on Water–Fat Serum Release from Fresh Pasta Filata Cheese

Figures 4 and 5 show the amount of leachate flowing out of C and CS cheeses collected after their unpacking as a function of the degree of cheese fragmentation, packaging method and time. Data presented in the diagrams show that vacuum packing increased leachate amount. Cheese fragmentation, leading to an expansion of its surface (an increase in surface-area-to-volume ratio, as well as reduction of the average distance from the inside of the sample to its surface), significantly enhanced the vacuum-packing effect on the amount of water–fat serum release. The influence of vacuum packing on the leachate of liquid phase from cheese mass was higher for cheese made from cow's milk than that from a mixture of cow's and sheep's milk. In the tested samples of vacuum-packed C cheese, the degree of extension of cheese fragmentation resulted in increased leachate volume and after 24 h it ranged from 23.18 ± 0.39 mL for spherical cheese samples to 53.04 ± 0.53 mL for sliced samples, whereas CS cheeses were in the range of 20.94 ± 0.18 – 35.15 ± 0.57 mL. Packing in brine diminished the effect of cheese portioning on the amount of leachate. The reduced amount of leachate in brine-packed cheese in comparison to vacuum-packed cheese may be due to lactose, of which brine is a rich source that promotes the formation of an orderly cross-linking of water in the channels of stretched casein fibers [22], which may increase water retention in the cheese mass.

The composition of milk used in the production of the examined cheeses affected the volume of water–fat serum release. The addition of sheep's milk during cheese manufacturing contributed to increased water retention in cheese mass (Figure 4). According to previous studies, water retention in Mozzarella cheese may be related to the fat content in its mass [42]. The results of the three-factorial analysis of variance also confirmed that the composition of milk used in cheese production (MC), the degree of sample fragmentation (SF), as well as packing method (PM) and their interactions have a significant impact on the amount of leachate generated from cheese (Table 5). Post hoc analysis with the application of Tukey's test revealed increased leachate volume associated with elevated cheese fragmentation, which was particularly important for vacuum-packed samples of cheese (Figure 5).

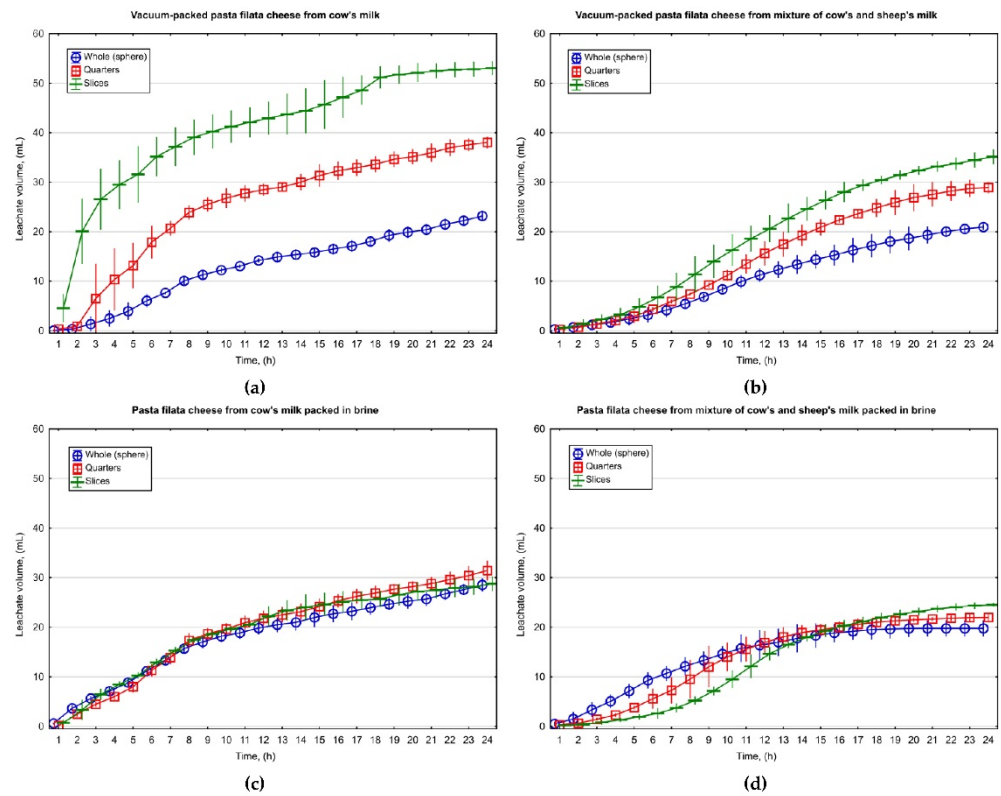


Figure 4. The amount of water–fat serum released from fresh pasta filata cheese made from cow's milk (a,c) and its mixture with sheep's milk (b,d) within 24 h after unpacking depending on the degree of sample fragmentation and packaging method.

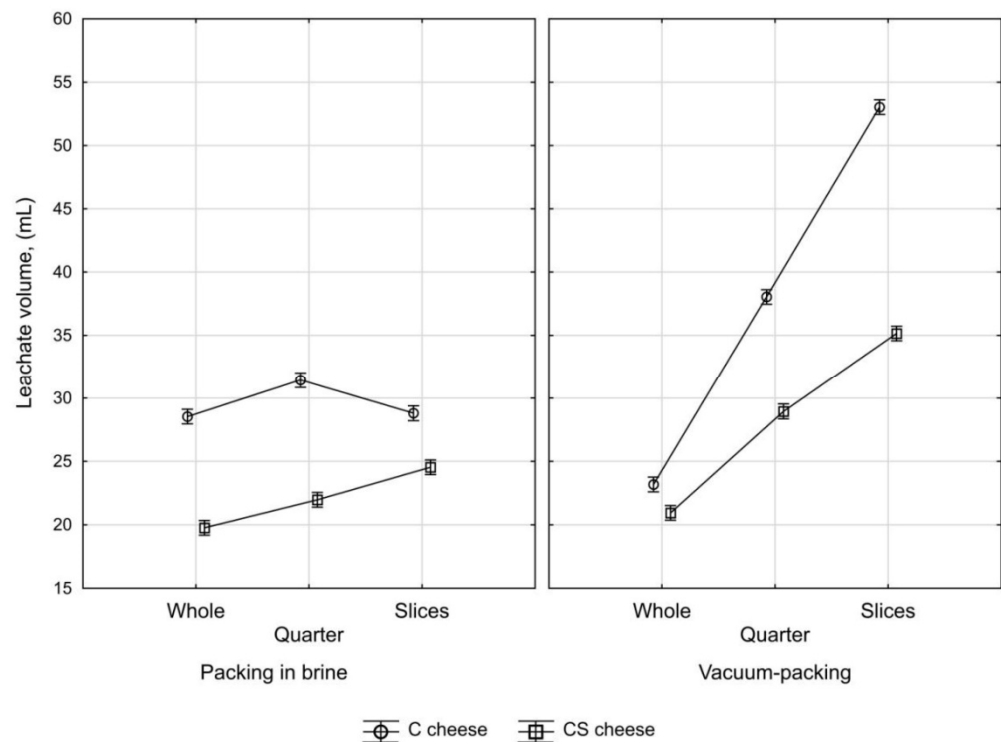


Figure 5. The effect of raw material type, the degree of sample fragmentation and packing method on the average amount of water–fat serum release from fresh pasta filata cheese made from cow's milk (C cheese) and its mixture with sheep's milk (CS cheese) within 24 h after its unpacking.

Table 5. Three-factorial analysis of variance for the amount of water–fat serum released from fresh pasta filata cheese made from cow’s milk and its mixture with sheep’s milk obtained within 24 h after unpacking.

Source of Variation	Sum of Square (SS)	df	Mean Square (MS)	F-Statistic	p-Value
Milk composition (MC)	668.65	1	668.65	2833.54	<0.0001
sample fragmentation (SF)	910.30	2	455.15	1928.78	<0.0001
packing method (PM)	489.37	1	489.37	2073.79	<0.0001
MC × SF	48.51	2	24.25	102.78	<0.0001
MC × PM	11.32	1	11.32	47.98	<0.0001
SF × PM	572.79	2	286.39	1213.65	<0.0001
MC × SF × PM	160.02	2	80.01	339.06	<0.0001
Error	5.66	24	0.24	-	-

3.5. Model of Water–Fat Serum Release from Fresh Pasta Filata Cheese

Experimental data describing the leachate amount collected within 24 h of unpacking the pasta filata cheeses from C cheese and CS cheese with various degrees of sample fragmentation, vacuum-packed and packed in brine were used to develop the ANN model. In previous research, ANNs in the form of MLP with a single hidden layer were sufficient in describing a non-linear phenomenon occurring in food processing [43–46]. Therefore, in our study, such topologies were used to model the amount of leachate from pasta filata cheese. The number of input and output neurons is usually determined by the nature of the analyzed problem. In the presented research, the input signals of the designed neural network model were the raw material used for cheese manufacturing, the packaging method, the degree of cheese fragmentation and time, whereas the output of networks was volume of leachate. The number of neurons in the hidden layer was one of the elements of the neural network topology that was defined during the network optimization process. Since no universal method is available to determine the network topology, the number of hidden layers, the number of neurons in hidden layers, the type of activation functions in neurons of hidden and output layer, the issue is usually solved by a trial-and-error approach [29]. It is worth noting that too many neurons in the hidden layer led to the memorization of specific cases and the inability of the network to generalize data, while too few neurons leads to low-quality prediction. In the study, the network topologies with a single hidden layer containing between 2 and 20 neurons equipped with activation functions in the form of Tanh, Log, Exp and one neuron with Lin activation function in the output layer were examined. The obtained results revealed that the group of networks with 11–13 hidden neurons containing logistic activation function provided the best prediction of the leachate volume. The topology of those networks provides a balance between the simplicity of construction and quality of predictions. In this group of ANNs, MLP 4(8)-11-1 was the best one and was taken as the neural network model of water–fat serum release from fresh pasta filata cheese. The errors computed for the selected ANN-MLP network during network designing process are presented in Table 6.

Table 6. The basic information on the structure and training (learning) (El), test (Et) and validation (Ev) error values of MLP neural network adopted as the model water–fat serum release from fresh pasta filata cheese.

Architecture of Neural Network Model	Activation Function Hidden/Output Layer	Errors		
		El	Et	Ev
MLP 4(8)-11-1	Log/Lin	0.229	0.240	0.382

The results of the prediction accuracy assessment of the developed ANN-MLP model of water–fat serum released from pasta filata cheese are summarized in Table 7. The external validation of the developed ANN model based on experimental results that was

not used in model development (validation dataset) showed that the selected network was characterized by high goodness of fit to experimental data ($R^2 = 0.996$) and low RMSE value (0.765). The predicted amounts of water–fat serum released from pasta filata cheese plotted against the observed values (Figure 6) showed a high linear correlation between the experimental and predicted data that was confirmed by high correlation coefficient ($R = 0.998$).

Table 7. Indicators used to evaluate the performance of the ANN-MLP model of water–fat serum release from pasta filata cheese.

Statistical Index	Data Set			
	Training	Test	Validation	Full
Number of observation points (N)	604	130	130	864
Coefficient of determination (R^2)	0.997	0.996	0.996	0.997
Root mean square error (RMSE)	0.459	0.481	0.765	0.508

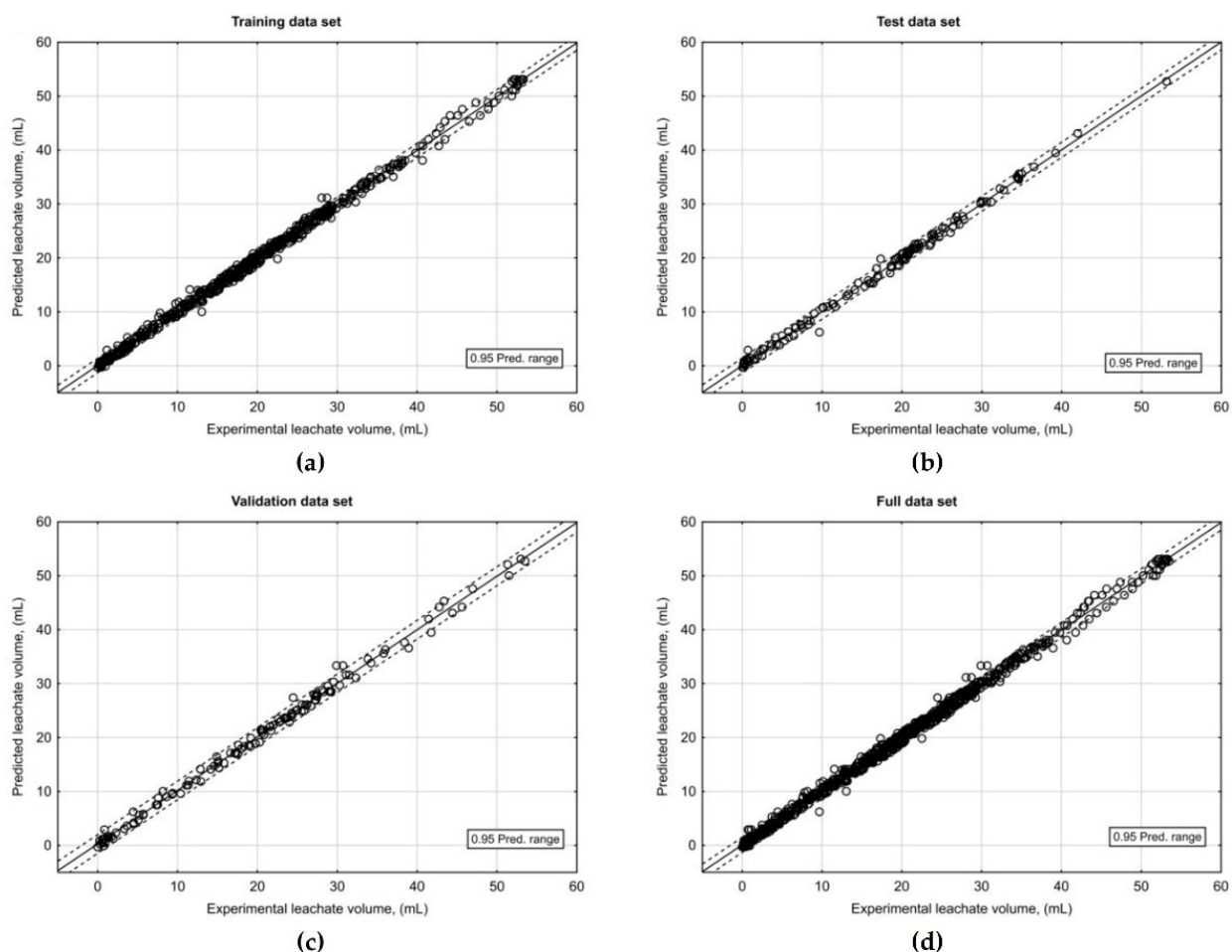


Figure 6. Predictability of ANN-MLP model of water–fat serum release from pasta filata cheese. The solid line represents a perfect fit between experimental and predicted values for (a) training, (b) test, (c) validation and (d) full datasets.

4. Conclusions

In the present work, we investigated the effect of the portioning of cheese into quarters and slices of previously vacuum-packed or packed-in-brine cheese on the leachate of the water–fat serum. The results showed that the amount of leachate affected by the portioning of cheese was negatively perceived by consumers. Dissatisfaction of consumers was observed in quartered and sliced cheese (in the case of cow's milk cheeses) and sliced cheese from mixture of cow's and sheep's milk (also vacuum-packed). Overall, consumers

showed less acceptance of cow's milk pasta filata cheeses than CS cheeses. The addition of sheep's milk reduced the amount of leachate from the vacuum-packed cheeses and did not cause considerable loss of gloss, as in the case of C cheeses. This is demonstrated, for example, by plasma/serum retained in the channels of the cheese structure. The leachate has proven to be an important criterion for food quality.

Additionally, this study showed the potential usefulness of neural networks in dairy food processing. The developed predictive artificial neural network model allowed the estimation of the amount of water–fat serum released depending on the milk composition, cheese fragmentation, packing method, and storage time (within 24 h) after its unpacking, therefore, it can be useful in pasta filata cheese production process optimization.

Author Contributions: Conceptualization J.B. and D.C.-S., methodology J.B. and J.W., resources D.C.-S., data curation J.W., writing—original draft preparation J.B., D.C.-S. and J.W., writing—review and editing J.B. and D.C.-S., visualization J.B., funding acquisition D.C.-S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: A part of the study was supported by grant No. 506.784.03.00/UPP-KJPM from the Ministry of Education and Science (Poznań, Poland).

Institutional Review Board Statement: Number of decision by the Bioethics Committee at Poznan University of Medical Sciences: KB-796/21.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The authors confirm that the data supporting the findings of this study are available within the article.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Favati, F.; Galgano, F.; Pace, A.M. Shelf-life evaluation of portioned Provolone cheese packaged in protective atmosphere. *LWT-Food Sci. Technol.* **2007**, *40*, 480–488. [\[CrossRef\]](#)
2. Manzo, N.; Santini, A.; Pizzolongo, F.; Aiello, A.; Marrazzo, A.; Meca, G.; Durazzo, A.; Lucarini, M.; Romano, R. Influence of Ripening on Chemical Characteristics of a Traditional Italian Cheese: Provolone del Monaco. *Sustainability* **2019**, *11*, 2520. [\[CrossRef\]](#)
3. Rinaldi, S.; Palocci, G.; Di Giovanni, S.; Iacurto, M.; Tripaldi, C. Chemical Characteristics and Oxidative Stability of Buffalo Mozzarella Cheese Produced with Fresh and Frozen Curd. *Molecules* **2021**, *26*, 1405. [\[CrossRef\]](#)
4. Marino, M.; Dubsky de Wittenau, G.; Saccà, E.; Cattonaro, F.; Spadotto, A.; Innocente, N.; Radovic, S.; Piasentier, E.; Marroni, F. Metagenomic profiles of different types of Italian high-moisture Mozzarella cheese. *Food Microbiol.* **2019**, *79*, 123–131. [\[CrossRef\]](#)
5. Thybo, C.D.; Lillevang, S.K.; Skibsted, L.H.; Ahrné, L. Calcium balance during direct acidification of milk for Mozzarella cheese production. *LWT-Food Sci. Technol.* **2020**, *131*, 109677. [\[CrossRef\]](#)
6. Alegria, Á.; 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*, 1890–1898. [\[CrossRef\]](#)
7. Arvanitoyannis, I.S.; Mavropoulos, A.A. Implementation of the hazard analysis critical control point (HACCP) system to Kasseri/Kefalotiri and Anevato cheese production lines. *Food Control* **2000**, *11*, 31–40. [\[CrossRef\]](#)
8. Anastasiou, R.; Aktypis, A.; Georgalaki, M.; Papadelli, M.; De Vuyst, L.; Tsakalidou, E. Inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* by *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198 under conditions mimicking Kasseri cheese production and ripening. *Int. Dairy J.* **2009**, *19*, 330–335. [\[CrossRef\]](#)
9. Scatassa, M.L.; Gaglio, R.; Macaluso, G.; Francesca, N.; Randazzo, W.; Cardamone, C.; Di Grigoli, A.; Moschetti, G.; Settanni, L. Transfer, composition and technological characterization of the lactic acid bacterial populations of the wooden vats used to produce traditional stretched cheeses. *Food Microbiol.* **2015**, *52*, 31–41. [\[CrossRef\]](#)
10. Todaro, M.; Palmeri, M.; Cardamone, C.; Settanni, L.; Mancuso, I.; Mazza, F.; Scatassa, M.L.; Corona, O. Impact of packaging on the microbiological, physicochemical and sensory characteristics of a “pasta filata” cheese. *Food Packag. Shelf Life* **2018**, *17*, 85–90. [\[CrossRef\]](#)
11. Andic, S.; Tunçtürk, Y.; Gençcelep, H. The effect of different packaging methods on the formation of biogenic amines and organic acids in Kashar cheese. *J. Dairy Sci.* **2011**, *94*, 1668–1678. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Celik, O.F.; Kurt, S.; Tufenk, B.; Tarakci, Z. Efficacy of starter culture application using immersion technique on the characteristics of cooked-curd cheeses: Kashar cheese sample. *LWT-Food Sci. Technol.* **2018**, *96*, 222–227. [\[CrossRef\]](#)

13. Guarrasi, V.; Sannino, C.; Moschetti, M.; Bonanno, A.; Di Grigoli, A.; Settanni, L. The individual contribution of starter and non-starter lactic acid bacteria to the volatile organic compound composition of Caciocavallo Palermitano cheese. *Int. J. Food Microbiol.* **2017**, *259*, 35–42. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. *The Codex Alimentarius Commission Codex Stan 262-2006. Codex General Standard for Mozzarella*; WHO/FAO International Food Standards: Rome, Italy, 2019.
15. Mucchetti, G.; Pugliese, A.; Paciulli, M. Characteristics of Some Important Italian Cheeses: Parmigiano Reggiano, Grana Padano, Mozzarella, Mascarpone and Ricotta. In *Mediterranean Foods*; da Cruz, R.M.S., Vieira, M.M.C., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2016; pp. 1–34. [[CrossRef](#)]
16. Alinovi, M.; Corredig, M.; Mucchetti, G.; Carini, E. Water status and dynamics of high-moisture Mozzarella cheese as affected by frozen and refrigerated storage. *Food Res. Int.* **2020**, *137*, 109415. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Faccia, M.; Gambacorta, G.; Natrella, G.; Caponio, F. Shelf life extension of Italian mozzarella by use of calcium lactate buffered brine. *Food Control* **2019**, *100*, 287–291. [[CrossRef](#)]
18. Lucera, A.; Mastromatteo, M.; Conte, A.; Zambrini, A.V.; Faccia, M.; Del Nobile, M.A. Effect of active coating on microbiological and sensory properties of fresh mozzarella cheese. *Food Packag. Shelf Life* **2014**, *1*, 25–29. [[CrossRef](#)]
19. Gonçalves, M.C.; Cardarelli, H.R. Changes in water mobility and protein stabilization of Mozzarella cheese made under different stretching temperatures. *LWT-Food Sci. Technol.* **2019**, *104*, 16–23. [[CrossRef](#)]
20. Smith, J.R.; Vogt, S.J.; Seymour, J.D.; Carr, A.J.; Codd, S.L. Probing water migration in Mozzarella cheese during maturation and heating utilizing magnetic resonance techniques. *J. Food Eng.* **2017**, *198*, 1–6. [[CrossRef](#)]
21. Godefroy, S.; Korb, J.P.; Creamer, L.K.; Watkinson, P.J.; Callaghan, P.T. Probing protein hydration and aging of food materials by the magnetic field dependence of proton spin-lattice relaxation times. *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, *267*, 337–342. [[CrossRef](#)]
22. Biegalski, J.; Cais-Sokołńska, D.; Tomaszewska-Gras, J.; Baranowska, H.M. The Effect of Freezing Sheep's Milk on the Meltability, Texture, Melting and Fat Crystallization Profiles of Fresh Pasta Filata Cheese. *Animals* **2021**, *11*, 2740. [[CrossRef](#)]
23. *ISO 5534:2004 (IDF 4:2004); Cheese and Processed Cheese—Determination of the Total Solids Content (Reference Method)*. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2004.
24. *ISO 8968-1:2014 (IDF 20-1:2014); Milk and Milk Products—Determination of Nitrogen Content—Part 1: Kjeldahl Principle and Crude Protein Calculation*. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2014.
25. *ISO 1735:2004 (IDF 5:2004); Cheese and Processed Cheese Products—Determination of Fat Content—Gravimetric Method (Reference Method)*. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2004.
26. Schenkel, P.; Samudrala, R.; Hinrichs, J. Thermo-physical properties of semi-hard cheese made with different fat fractions: Influence of melting point and fat globule size. *Int. Dairy J.* **2013**, *30*, 79–87. [[CrossRef](#)]
27. Hartmann, K.I.; Samudrala, R.; Hofmann, T.; Schieberle, P.; Hitzmann, B.; Hinrichs, J. Thermo-physical parameters applied for instrumental profiling and statistical evaluation of German Emmental cheese. *Int. Dairy J.* **2015**, *49*, 118–124. [[CrossRef](#)]
28. Costa, M.P.; Monteiro, M.L.G.; Frasao, B.S.; Silva, V.L.M.; Rodrigues, B.L.; Chiappini, C.C.J.; Conte-Junior, C.A. Consumer perception, health information, and instrumental parameters of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) goat milk yogurts. *J. Dairy Sci.* **2017**, *100*, 157–168. [[CrossRef](#)]
29. Du, C.J.; Sun, D.W. Learning techniques used in computer vision for food quality evaluation: A review. *J. Food Eng.* **2006**, *72*, 39–55. [[CrossRef](#)]
30. Fife, R.L.; McMahon, D.J.; Oberg, C.J. Test for Measuring the Stretchability of Melted Cheese. *J. Dairy Sci.* **2002**, *85*, 3539–3545. [[CrossRef](#)]
31. Tariq, S.; Giacomini, A.J.; Gunasekaran, S. Nonlinear viscoelasticity of cheese. *Biorheology* **1998**, *35*, 171–191. [[CrossRef](#)]
32. Muliawan, E.B.; Hatzikiriakos, S.G. Rheology of mozzarella cheese. *Int. Dairy J.* **2007**, *17*, 1063–1072. [[CrossRef](#)]
33. Schuldt, S.; Schneider, Y.; Rohm, H. High-speed cutting of foods: Cutting behavior and initial cutting forces. *J. Food Eng.* **2018**, *230*, 55–62. [[CrossRef](#)]
34. Vandenberghe, E.; Charalambides, M.N.; Mohammed, I.K.; De Ketelaere, B.; De Baerdemaeker, J.; Claes, J. Determination of a critical stress and distance criterion for crack propagation in cutting models of cheese. *J. Food Eng.* **2017**, *208*, 1–10. [[CrossRef](#)]
35. Bremer, F.; Matthiesen, S. A review of research relating to food slicing in industrial applications. *J. Food Eng.* **2020**, *268*, 109735. [[CrossRef](#)]
36. Witt, T.; Holländer, Y.; Tietze, S.; Majschak, J.P. Modelling of Oblique Wire Cutting and Experimental Application on Soft Solid Foods for the Investigation of Friction Behaviour. *J. Food Qual.* **2019**, *2019*, 5429093. [[CrossRef](#)]
37. Schneider, Y.; Zahn, S.; Linke, L. Qualitative Process Evaluation for Ultrasonic Cutting of Food. *Eng. Life Sci.* **2002**, *2*, 153–157. [[CrossRef](#)]
38. Chen, J. Surface Texture of Foods: Perception and Characterization. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2007**, *47*, 583–598. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Noronha, N.; Duggan, E.; Ziegler, G.R.; O'Riordan, E.D.; O'Sullivan, M. Inclusion of starch in imitation cheese: Its influence on water mobility and cheese functionality. *Food Hydrocoll.* **2008**, *22*, 1612–1621. [[CrossRef](#)]
40. Cincotta, F.; Condurso, C.; Tripodi, G.; Merlino, M.; Prestia, O.; Stanton, C.; Verzera, A. Comparison of lactose free and traditional mozzarella cheese during shelf-life by aroma compounds and sensory analysis. *LWT-Food Sci. Technol.* **2021**, *140*, 110845. [[CrossRef](#)]

41. Uzun, P.; Masucci, F.; Serrapica, F.; Napolitano, F.; Braghieri, A.; Romano, R.; Manzo, N.; Esposito, G.; Francia, A.D. The inclusion of fresh forage in the lactating buffalo diet affects fatty acid and sensory profile of mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* **2018**, *101*, 6752–6761. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. McMahon, D.J.; Fife, R.L.; Oberg, C.J. Water Partitioning in Mozzarella Cheese and Its Relationship to Cheese Meltability. *J. Dairy Sci.* **1999**, *82*, 1361–1369. [[CrossRef](#)]
43. Curto, B.; Moreno, V.; García-Esteban, J.A.; Blanco, F.J.; González, I.; Vivar, A.; Revilla, I. Accurate Prediction of Sensory Attributes of Cheese Using Near-Infrared Spectroscopy Based on Artificial Neural Network. *Sensors* **2020**, *20*, 3566. [[CrossRef](#)]
44. Fuentes, S.; Viejo, C.G.; Tongson, E.; Lipovetzky, N.; Dunshea, F.R. Biometric Physiological Responses from Dairy Cows Measured by Visible Remote Sensing Are Good Predictors of Milk Productivity and Quality through Artificial Intelligence. *Sensors* **2021**, *21*, 6844. [[CrossRef](#)]
45. Wawrzyniak, J. Application of Artificial Neural Networks to Assess the Mycological State of Bulk Stored Rapeseeds. *Agriculture* **2020**, *10*, 567. [[CrossRef](#)]
46. Wawrzyniak, J. Prediction of fungal infestation in stored barley ecosystems using artificial neural networks. *LWT-Food Sci. Technol.* **2021**, *137*, 110367. [[CrossRef](#)]

[P3]

Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D. (2022). Produkty z mleka owczego w kontekście oczekiwań konsumentów. *Zagadnienia Doradztwa Rolniczego*, 1, 107.

Przesłano: 02-03-2022

Zaakceptowano do druku: 01-04-2022



PRODUKTY Z MLEKA OWCEGO W KONTEKŚCIE OCZEKIWAŃ KONSUMENTÓW

Jakub Biegalski¹, Dorota Cais-Sokolińska²

Abstrakt: Celem badań była charakterystyka konsumentów produktów z mleka owczego oraz poznanie ich preferencji. Określono determinanty spożycia produktów z mleka owczego. Ustalono, że konsumentom najbardziej odpowiadają ich walory smakowe. Natomiast osoby, które nie spożywają tych produktów i mogą zasilić grono potencjalnych konsumentów wykazują zainteresowanie z uwagi na potencjał prozdrowotny mleka owczego. Chętnie spróbowaliby tych produktów nawet z częściowym udziałem mleka owczego, np. sera Mozzarella, w którym jego objętość nie przekracza 30%, a za porcję tego sera są skłonni zapłacić nie więcej niż 9 zł. Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do projektowania innowacyjnych produktów z mleka owczego, które mogą spełniać oczekiwania potencjalnych konsumentów.

Słowa kluczowe: model konsumenta, mleko owcze, ser Mozzarella, jakość

JEL: O13, Q10

SHEEP'S MILK PRODUCTS IN THE CONTEXT OF CONSUMER EXPECTATIONS

Jakub Biegalski¹, Dorota Cais-Sokolińska²

Abstract: The aim of the research was to characterize consumers of sheep's milk products and to learn about their preferences. Determinants of the consumption of sheep's milk products were defined. It was found that consumers are most satisfied with their taste. On the other hand, people who do not eat these products and can join the group of potential consumers show interest due to the pro-health potential of sheep's milk. They would be happy to try this products even with a partial share of sheep's milk, e.g. Mozzarella cheese, in which the volume of sheep's milk does not exceed 30%, and they are willing to pay no more than 9 PLN for a portion of this cheese. The obtained results may contribute to the design of innovative sheep's milk products that can meet the expectations of potential consumers.

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu (Poznań University of Life Sciences) | wkład pracy (work input): 60% | ORCID 0000-0001-5749-7300 | e-mail: jakub.biegalski@up.poznan.pl

² Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu (Poznań University of Life Sciences) | wkład pracy (work input): 40% | ORCID 0000-0003-1174-1915 | e-mail: cais@up.poznan.pl

Keywords: consumer model, sheep's milk, Mozzarella cheese, quality

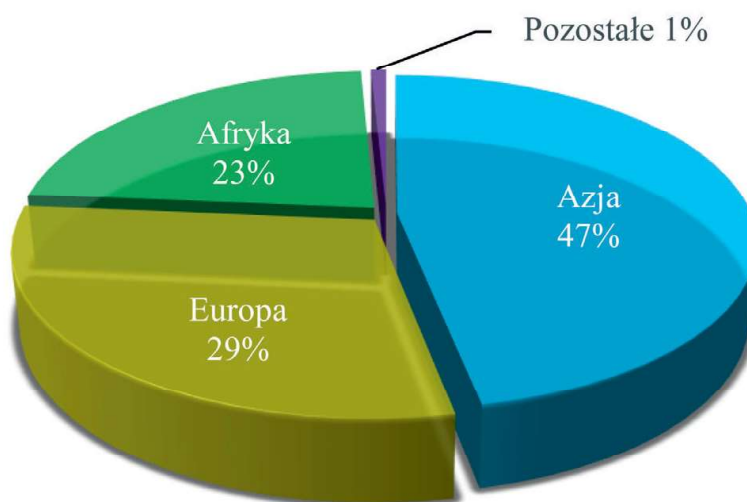
JEL Classification: O13, Q10

1. Wstęp

Produkcja mleka owczego determinowana jest wieloma czynnikami, wśród których najważniejszymi są: niska produktywność owiec, krótki okres laktacji oraz sezonowość produkcji (Tribst i in., 2018). Najwięcej mleka owczego produkuje się w Azji 46,7%, Europie 29,4% i Afryce 23,0% (wykres 1). W 2020 r. na całym świecie wyprodukowano około 10,6 Mt mleka owczego. W Polsce w 2020 r. wyprodukowano około 540 ton tego surowca (FAOSTAT, 2022a).

Wykres 1

Światowa produkcja mleka owczego w 2020 roku



Źródło: Opracowanie własne na podstawie danych statystycznych FAOSTAT – dostęp 02.2022.

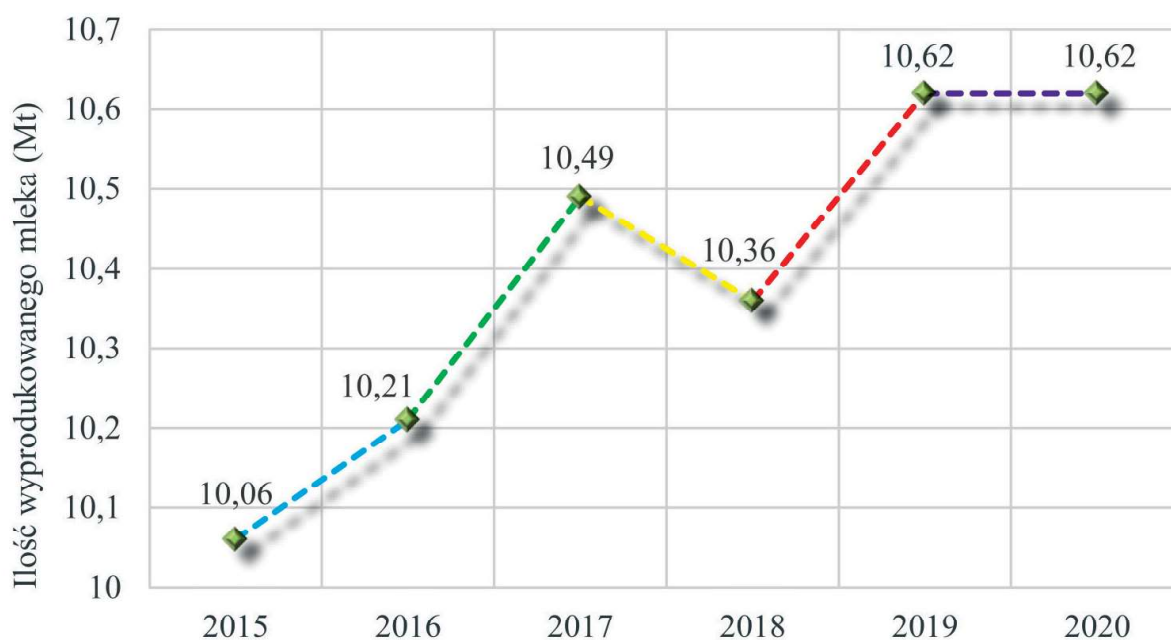
Wydajność produkcji mleka owczego w porównaniu z mlekiem krowim jest dużo mniejsza. Rekompensatą jest jednak jego cena uwzględniająca specyficzny skład i właściwości. Jak podaje Reudi Graf, rolnik ze Szwajcarii, owca daje rocznie 350 kg mleka, a przy odpowiednim wysiłku wraz z biegiem lat można osiągnąć stałą produkcję mleka owczego przez cały rok. Za 1 kg mleka owczego rolnik dostaje około 3 CHF, natomiast za 1 kg mleka krowiego rolnik otrzymuje 0,8 CHF. Dla porównania, inny szwajcarski rolnik – Andri Furrer, w 2014 r. posiadający 180 owiec, uzyskuje od nich 45 tys. litrów mleka rocznie. Ogólnie, w tym samym roku w Szwajcarii znajdowało się aż 110 aktywnych hodowli związanych z SMG

(tł. Szwajcarską Spółdzielnią Hodowli Owiec Mlecznych) z liczbą około 5 tys. owiec (Tagblatt.ch, 2014; Biomolkerei.ch, 2022). Jak podaje portal informacyjny Oekolandbau.de, szacowana wielkość produkcji mleka owczego w Niemczech w 2014 r. wynosiła 675 tys. litrów mleka konwencjonalnego i 1,45 mln litrów mleka ekologicznego. Warto zaznaczyć, że około 75% tej ilości wykorzystano do własnej produkcji serowarskiej w gospodarstwach rolnych (Oekolandbau.de, 2018). Kolejnym krajem, w którym potencjał do hodowli owiec jest bardzo duży jest Słowacja, o czym informowało już w 2019 r. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi Republiki Słowackiej. Słowacy spożywają rocznie ok. 0,6 kg bryndzy z mleka owczego na osobę, a jej roczna produkcja wynosi prawie 4 000 ton. Ponad 340 tys. owiec hodowanych na Słowacji może wyprodukować około 12 tys. ton mleka owczego rocznie. Warto podkreślić, że w 2018 r. produkcja mleka owczego na Słowacji osiągnęła 13 524 tony, a zainteresowanie słowackiego konsumenta mlekiem owczym i jego przetworami rośnie (mpsr.sk, 2019).

Zgodnie ze statystykami Organizacji Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa (ang. Food and Agriculture Organization of the United Nations) w okresie od 2015 do 2020 r., zauważono wzrost produkcji mleka owczego z 10,06 do 10,62 Mt (wykres 2) (FAOSTAT, 2022b). W 2018 r. światowa produkcja mleka owczego wynosiła 10,4 Mt i już wtedy przewidywano, że wartość ta wzrośnie o 26% (do ok. 13,1 Mt) przed 2030 r. (Nudda i in., 2020).

Wykres 2

Światowa produkcja mleka owczego w latach 2015-2020



Źródło: Opracowanie własne na podstawie danych statystycznych FAOSTAT – dostęp 02.2022.

Mleko owcze staje się coraz bardziej pożądane przez konsumentów dzięki specyficznej charakterystyce poszczególnych składników. Przewiduje się, że zapotrzebowanie na ten surowiec będzie rosło m.in. ze względu na rosnące zapotrzebowanie na wyroby serowarskie oraz zastosowanie mleka owczego w nutraceutykach i preparatach dla niemowląt (Balthazar i in., 2017; Renes i in., 2021).

Mleko owcze jest produktem o wyjątkowo wysokiej wartości odżywczej oraz energetycznej. Zawiera średnio 19,3% suchej masy, 7,4% tłuszczu surowego, 6,2% białka ogólnego, 4,8% laktozy, 5,1% kazeiny oraz 1,0% składników mineralnych (Molik i Daniel, 2021). Do białek mleka owczego zalicza się głównie kazeinę (ok. 46 g/kg) oraz białka serwatkowe (ok. 16 g/kg). Dla porównania, w mleku krowim zawartość kazeiny waha się w granicach od 24 do 28 g/kg, a białka serwatkowego od 5 do 7 g/kg (Alichanidis i in., 2016; Moatsou i Sakkas, 2019). Różnice w składzie zauważalne są również w przypadku zawartości wapnia: 1,59-2,42 g/l w mleku owczym i 0,90-1,84 g/l w mleku krowim (Balthazar i in., 2017). Istotnym składnikiem mleka owczego są lipidy, wśród których największą grupę tworzą triacyloglicerole (prawie 98%) (Molik i Daniel, 2021). Tłuszcz występujący w tym surowcu pod postacią kuleczek otoczonych fosfolipidowo-białkową membraną, charakteryzuje się niskim stosunkiem kwasów tłuszczowych omega-6 do omega-3. Występują w nim również większe ilości sprzężonego kwasu linolowego (CLA) (Moatsou i in., 2019; Molik i Daniel, 2021). Do tej pory zidentyfikowano około 400 kwasów tłuszczowych mleka owczego. Należy również zwrócić uwagę na fakt, że mleko owcze charakteryzuje się większą ilością witaminy A (40-84 µg/100 g) oraz witaminy D (0,18 µg/100 g) (Molik i in., 2018; Moatsou i in., 2019). Mleko owcze jest bogatym źródłem żelaza, miedzi, cynku, manganu, ryboflawiny, kwasu nikotynowego, pantotenowego, foliowego i biotyny i znaczącym źródłem L-karnityny (Molik i in., 2018; Molik i Daniel, 2021). Funkcje prozdrowotne wybranych składników mleka owczego przedstawiono w tabeli 1.

W wielu krajach świata, mleko owcze produkowane jest w małych gospodarstwach. Przyczynia się to do hamowania rozwoju produkcji na większą skalę (Tribst i in., 2018). Jednakże przemysł mleczarski może być zainteresowany wykorzystaniem tego surowca jako dodatku do mleka krowiego w tradycyjnych technologiach. W ten sposób przypuszczalnie zwiększy się liczba konsumentów produktów z udziałem mleka owczego, a ono samo będzie bardziej poszukiwane na rynku.

Tabela 1

Wybrane składniki prozdrowotne mleka owczego

Składnik mleka	Funkcja prozdrowotna	Źródło
Tauryna	■ Odgrywa ważną rolę w osmoregulacji oraz koniugacji kwasów tłuszczowych.	[1]
Sprężone dieny kwasu linolowego (sprężony kwas linolowy) – CLA	■ Hamowanie rozwoju komórek nowotworowych. Przyczynia się do spadku masy ciała u osób otyłych. ■ Obniża ryzyko powstania miażdżycy. ■ Zmniejszanie poziomu prozapalnych cytokin.	[2, 3]
Laktoferyna	■ Wpływa na poprawę stanu zdrowia osób z chorobą Alzheimera (zapobiega tworzeniu się złogów β-amyloidu). ■ Działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze i przeciwwirusowe. ■ Wykazuje powinowactwo do wiązania żelaza. ■ Zmniejszanie stanu zapalnego i przyśpieszenie gojenia ran przy trądziku pospolitym.	[4]
Lipidy	■ Nośniki witamin A, D, E, K.	[5]
Kwasy omega-3	■ Działanie antyarytmiczne.	[5]
Wielonienasycone kwasy tłuszczowe	■ Zabezpieczanie i wzmacnianie śródbłonna naczyń krwionośnych. ■ Poprawa aktywności hormonalnej i lipidowej (istotne np. przy zespole policystycznych jajników). ■ Polepszanie stanu dyslipidemii oraz poziomu biomarkerów sygnalizujących ogólnoustrojowy stan zapalny (istotne przy przewlekłych chorobach nerek i terapii na wirusa HIV). ■ Tłumienie wydzielania cytokin, eikozanoidów oraz reaktywnych form tlenu.	[5]
Peptydy aktywne biologicznie	■ Właściwości bakteriobójcze i bakteriostatyczne.	[6, 7]
Witaminy z grupy D	■ Wspomaga wchłanianie wapnia.	[8]

Składnik mleka	Funkcja prozdrowotna	Źródło
Wapń	■ Działanie przeciwosteoporotyczne. ■ Bierze udział w procesach neurotransmisyjnych. ■ Reguluje pracę serca. ■ Uczestniczy w wytwarzaniu enzymów i hormonów.	[8]
Fosfor	■ Wspomaga prawidłową pracę układu nerwowego i metabolizm węglowodanów.	[9]
Magnez	■ Bierze udział w odbudowie fosforanowych źródeł energetycznych skurczu mięśnia sercowego i ATP. ■ Uczestniczy w przesyłaniu impulsów nerwowych, produkcji insuliny i pobudzaniu układu odpornościowego.	[9]
Witamina C	■ Właściwości antyoksydacyjne. ■ Pełni rolę detoksykacyjną poprzez zwiększone wydalanie jonów metali ciężkich.	[10]
Witaminy z grupy B	■ Udział w syntezie i rozkładzie tłuszczów, aminokwasów i węglowodanów. ■ Prekursory tyminy, uracylu i cytozyny. ■ Witamina B13 (kwas orotowy) bierze udział w przemianach kwasu foliowego, który odpowiada za prawidłowy przebieg spermatogenezy.	[10, 11]
L-karnityna	■ Stymuluje przemiany metaboliczne kwasów tłuszczowych (hamowanie powstawania tkanki tłuszczowej). ■ Zmniejszanie zapotrzebowania kalorycznego i polepszanie tolerancji na wysiłek.	[12]

Źródło: [1] Mohapatra i in., 2019; [2] Fontecha i in., 2011; [3] Bruen i in., 2017; [4] Niaz i in., 2019; [5] Cicero i in., 2012; [6] Clare i Swaisgood, 2000; [7] Danków i Pikul, 2011; [8] Singh i in., 2007; [9] Kuczyńska i in., 2013; [10] Zmarlicki, 2006; [11] Ruta i in., 2018; [12] Bodkowski i in., 2011.

Chcąc scharakteryzować konsumenta produktów z mleka owczego przeprowadzono badania ankietowe mające na celu poznanie jego preferencji, w tym zachowań na rynku oraz determinanty spożycia produktów mleczarskich. Podjęto próbę scharakteryzowania potencjalnego konsumenta produktów z mleka owcze-

go i jego upodobań. Uzyskane wyniki mogą być przydatne podczas projektowania innowacyjnych produktów mleczarskich z mleka owczego spełniających oczekiwania konsumentów.

2. Materiał i metody badań

2.1. Badanie ankietowe

Autorską ankietę opracowaną na potrzeby scharakteryzowania konsumenta produktów z mleka owczego przeprowadzono w formie tradycyjnej w okresie od października 2020 do września 2021 r. Dystrybucję arkuszy przeprowadzono wśród studentów i pracowników Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz ich rodzin i znajomych. Ankietę nie posiadała ograniczeń regionalnych. Badaniami objęto 190 osób w przedziale wiekowym od 19 do 70 roku życia.

Kwestionariusz wywiadu został podzielony na trzy główne części. Pierwszą część ankiety stanowiły pytania o sytuację socjoekonomiczną respondentów. W drugiej części zawarto pytania odnoszące się do preferencji konsumentów względem produktów mleczarskich oraz dokonano oceny proinnowacyjności respondentów. Trzecią część stanowiły pytania ściśle związane z mlekiem i produktami z mleka owczego. Cała ankietę składała się z 48 pytań. Większość z nich (45) miała charakter pytań zamkniętych z jednokrotnym lub wielokrotnym wyborem. Pozostałe pytania (3) miały charakter otwarte. W celu zaznaczenia wybranej odpowiedzi, ankietowani wstawiali „X” w miejsce obok wybranej pozycji, chyba że polecenie wskazywało inaczej. Wszelkie zdobyte drogą badań informacje były anonimowe i posłużyły jedynie do analizy zestawień zbiorczych.

Otrzymano 178 poprawnie wypełnionych kwestionariuszy pochodzących od konsumentów w wieku od 19 do 67 roku życia. Liczba respondentów może stanowić ograniczenie badania. Przeciętny wiek wśród respondentów wynosił prawie 31 lat, z czego największą część badanej populacji stanowiły osoby od 27 do 35 roku życia (ok. 47,8%). Większość respondentów miała wykształcenie średnie/policealne (45,5%) oraz wyższe (30,3%). W znaczącej większości były to osoby mieszkające i pracujące na terenach miejskich (odpowiednio 78,1 i 71,9%). Większość respondentów (60,1%) określiła swoją sytuację materialną jako wystarczającą.

Na podstawie danych zebranych podczas badania dokonano charakterystyki konsumentów. Informacjami różnicującymi te modele były m.in. preferencje konsumentów w stosunku do mleka owczego oraz znajomość produktów z niego wytwarzanych.

Dokonano symulacji cenowej produktu modelowego na bazie mleka krowiego i owczego. Sporządzono zestawienie cen ($n = 10$) mleka krowiego (UHT, zawar-

tość tłuszczu 3,2%), mleka owczego (UHT, zawartość tłuszczu $\geq 4,5\%$) oraz sera Mozzarella z mleka krowiego w zalewie (125 g) z różnych sklepów detalicznych. Zebrane ceny mleka uśredniono, a wynik końcowy przedstawiono jako cenę za 1 litr. Średnia cena sera Mozzarella pozwoliła na statystyczne określenie kosztów produkcji w warunkach przemysłowych i porównanie ich do przewidywanych kosztów produktu modelowego.

2.2. Analiza statystyczna

Analizę wyników przeprowadzono za pomocą oprogramowania statystycznego Statistica w wersji 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA). Do określenia danych metryczkowych i socjoekonomicznych wykorzystano funkcje podstawowych statystyk opisowych (sumę, średnią, modę i medianę). Dane do analiz gromadzono w systemie 0-1, gdzie 0 oznaczało odpowiedź przeczącą, a 1 twierdzącą. Empiryczny rozkład częstości udzielonych odpowiedzi dotyczących spożywania (niespożywania) wyrobów z mleka owczego w zależności od wieku, wykształcenia, miejsca zamieszkania, sytuacji materialnej, aktywności fizycznej i promowania zdrowego stylu życia, posłużył do opracowania modelu obecnego oraz potencjalnego konsumenta, przy czym konsumentowi „przeciętnemu” przypisano charakterystyki odpowiadające najwyższym wartościom częstości odpowiedzi 1 w danej grupie.

3. Wyniki

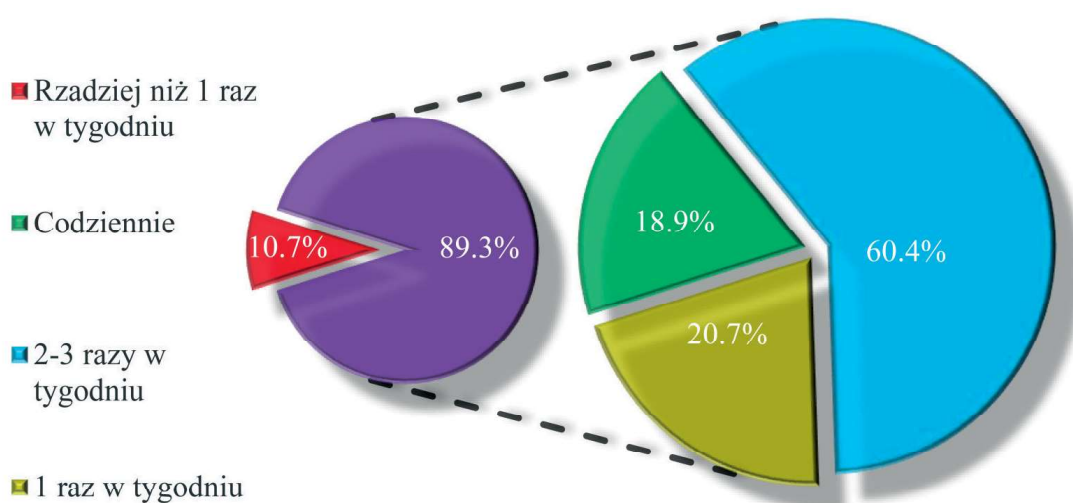
Badanie ankietowe wykazało, że ankietowani to osoby dbające o środowisko (94,9%), stosujące się do zasad prawidłowego żywienia (66,9%) i nie marnotrawiące żywności (92,1%). Byli to respondenci robiący zakupy samodzielnie, najczęściej w sklepie stacjonarnym (69,1%). Respondenci prawie jednogłośnie (94,9%) stwierdzili, że znają pojęcie „innowacyjność” i najbardziej kojarzy im się z większą wartością zdrowotną (59%), lepszą jakością (57,3%) oraz nowym smakiem (39,9%). Spora część respondentów wskazała również na nowe, wygodne opakowanie (36,5%) oraz wykorzystanie kulinarne (27,5%). Znaczna część respondentów uznała, że najważniejszą dla nich cechą produktu spożywczego jest jakość (68%), a nie cena, natomiast respondenci pytani o to, co najbardziej cenią sobie w produktach mleczarskich, najczęściej wskazywali wartość odżywczą i żywieniową (70,2%) oraz walory smakowe i zapachowe (64,6%).

Wśród ankietowanych, najczęściej spożywanymi produktami mleczarskimi były sery inne niż twaróg (np. sery żółte oraz ser Mozzarella) (74,2%), mleko spożywcze i mleko smakowe (62,4%) oraz masło (57,9%), a preferowaną drogą pozyskania tego typu wyrobów są sklepy detaliczne (71,3%) oferujące wyroby produkcji przemysłowej w zakładach mleczarskich. Popularność wyrobów serowar-

skich potwierdziło również pytanie o częstotliwość spożycia serów. Większość respondentów (89,3%) spożywa sery przynajmniej 1 raz w tygodniu, z czego 60,4% z nich przyznało, że spożywa wyroby serowarskie 2-3 razy w tygodniu a 18,9% potwierdziło codzienne ich spożycie (wykres 3). Najbardziej preferowanymi są sery niewędzone (69,6%). Wśród najczęściej spożywanych przez ankietowanych serów są: ser typu Mozzarella (61,2%), twarożki (homogenizowane) do smarowania (48,3%) oraz sery żółte (39,9%).

Wykres 3

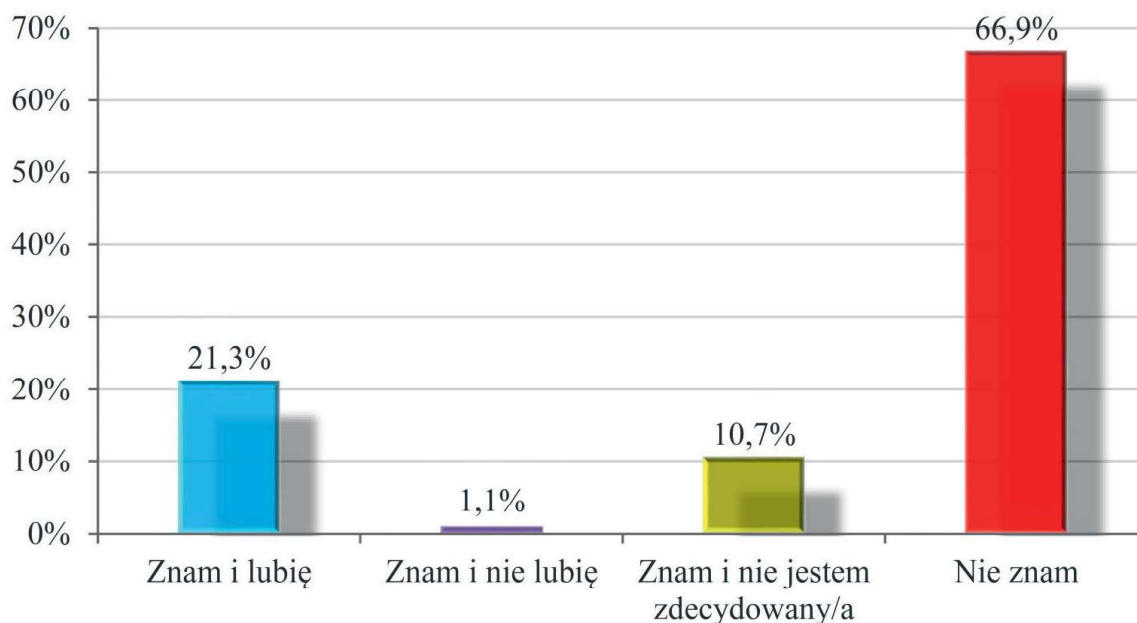
Spożycie wyrobów serowarskich wśród ankietowanych konsumentów



Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

Większość respondentów (98,3%) знаła tradycyjny wyrób z mleka owczego jakim jest Oscypek, natomiast najczęściej wskazywanymi serami z mleka owczego obok Oscypka (78,1%) był ser Bundz (12,9%) oraz Feta (6,2%). Około 37,1% respondentów wiedziało, że Oscypek jest tradycyjnym produktem z mleka owczego. W przypadku Bundzu było to ok. 36,5%. Mleko owcze okazało się być surowcem cieszącym się dużym zainteresowaniem. Potwierdzeniem tego były pytania odnoszące się konkretnie do tego surowca. Spośród ankietowanych, ok. 33,1% wskazało, że zna smak mleka owczego lub produktów z niego wyrabianych, a 21,3% respondentów stanowczo potwierdziło, że lubi ten smak. Pozostała część konsumentów, albo nie знаła smaku mleka owczego (66,9%) albo nie była zdecydowana co do tego surowca i jego produktów (10,7%) (wykres 4). Zaledwie 1,1% respondentów stwierdziło, że nie lubi smaku mleka owczego. Znaczna większość respondentów była również świadoma charakterystyki rynkowej i jakościowej mleka owczego (dużo wyższej ceny lecz większej wartości odżywczej mleka owczego w porównaniu z mlekiem krowim).

Wykres 4

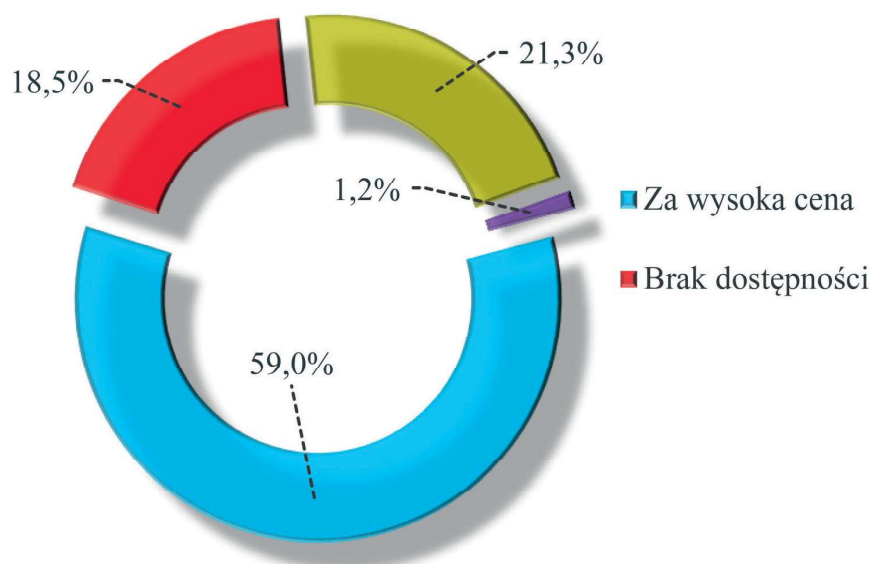
Znajomość i preferencje konsumentów w stosunku do mleka owczego oraz wyrobów wytwarzanych z tego surowca

Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

Niemal wszyscy respondenci (98,3%) potwierdzili, że chętnie wysłuchaliby kampanii o produktach z mleka owczego. Większość ankietowanych w odpowiedzi na pytanie dlaczego do tej pory nie spożywali i/lub nie spożywali częściej produktów z mleka owczego wskazało wysoką cenę tego surowca i produktów (59%), brak dostępności (18,5%) i zbyt intensywny aromat (21,3%) (wykres 5). Prawie wszyscy respondenci (93,8%) potwierdzili jednak, że zdecydowaliby się na spożycie produktu mleczarskiego z mleka owczego lub z jego dodatkiem, co stwarza możliwość na zaprojektowanie produktu modelowego, np. sera z mieszanki mleka krowiego i owczego. Równo 50% respondentów wskazało również, że chętnie spożyłoby ser Mozzarella, w którym objętość mleka owczego wynosiłaby 30% (wykres 6). Ankietowani wskazali również, że bardziej preferują ser Mozzarella pakowany w zalewie (68%) w przeciwieństwie do sera pakowanego próżniowo (32%) (wykres 7).

Wykres 5

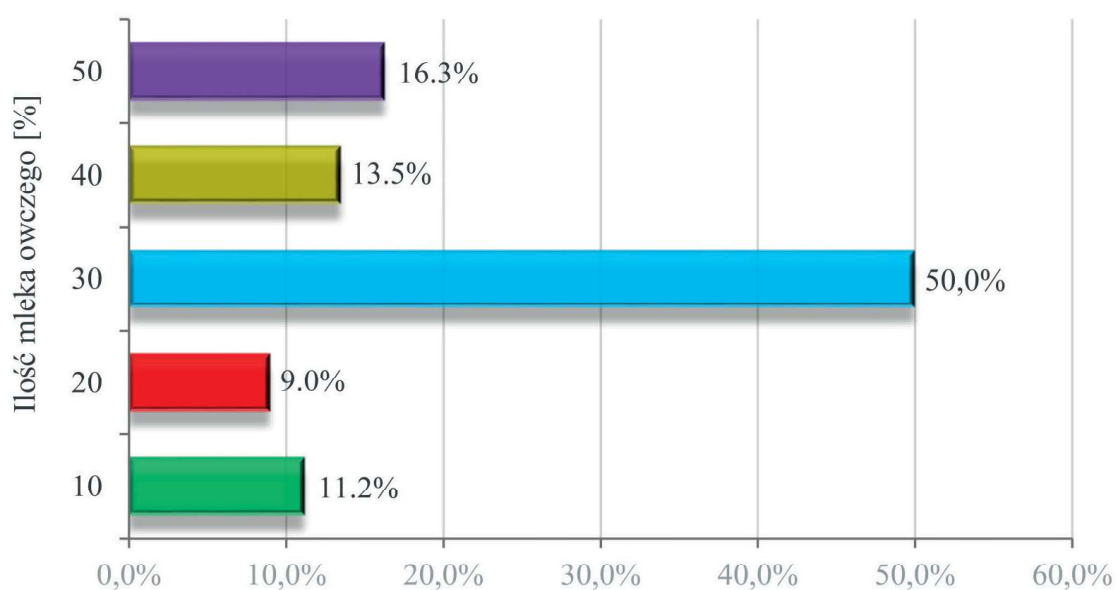
Czynniki wpływające na całkowity lub częściowy brak zainteresowania mlekiem owczym lub wytwarzanymi z niego produktami



Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

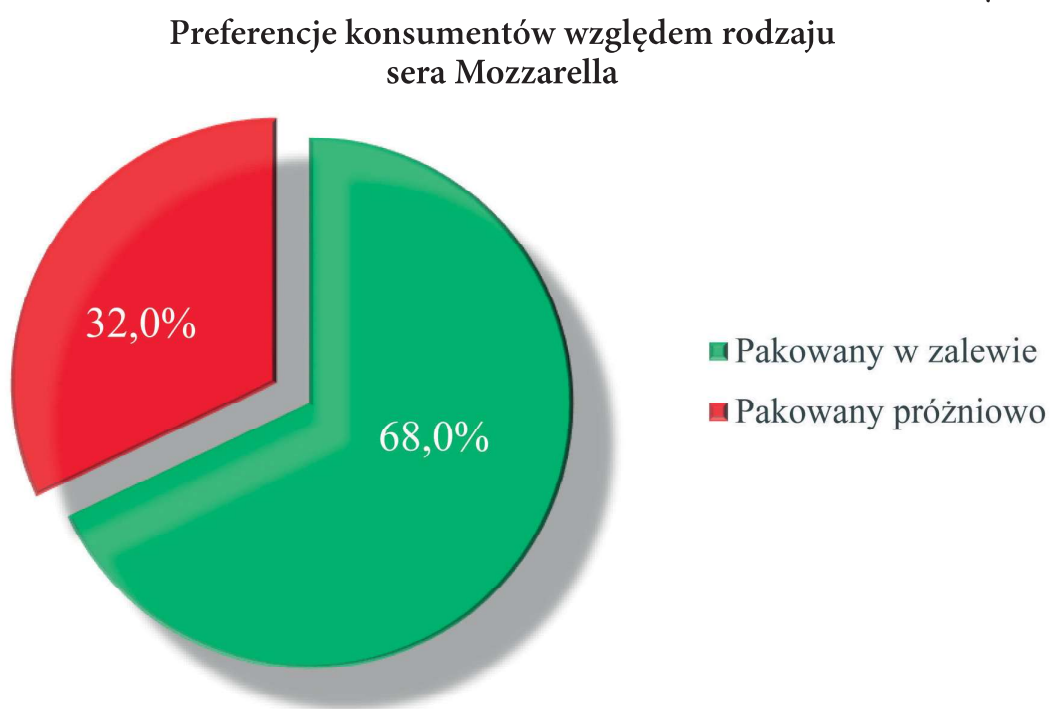
Wykres 6

Preferowana przez konsumentów ilość mleka owczego w serze Mozzarella



Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

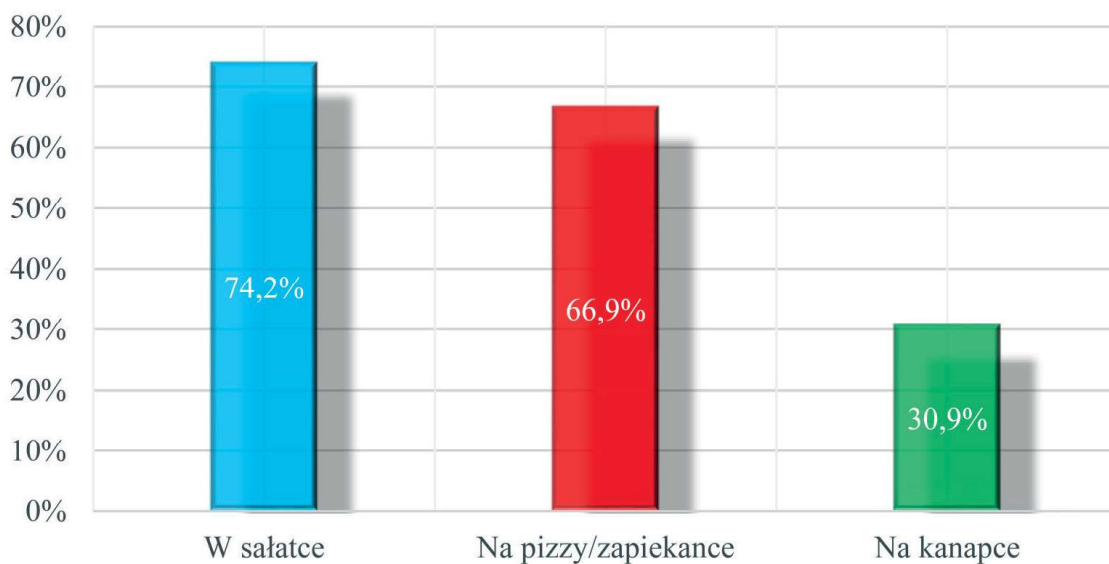
Wykres 7



Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

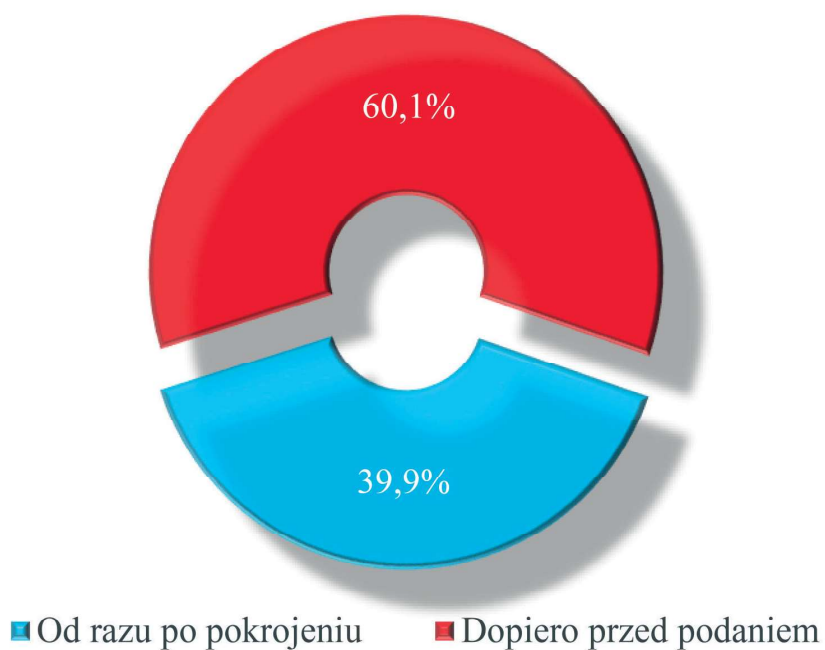
Konsumenci zapytani o formę w jakiej spożywają ser Mozzarella wskazali, że najczęściej spożywają go w sałatce (74,2%) oraz na pizzach/zapiekance (66,9%) (wykres 8). Przyznali również, że pokrojony ser Mozzarella dodają do sałatki dopiero przed podaniem (60,1%) (wykres 9), a do całkowitego spożycia przygotowanej sałatki potrafi minąć nawet więcej niż 24 h (54,5%) (wykres 10), szczególnie gdy sałatka przygotowywana jest „na później”. Wyrażna większość respondentów zauważyła występujący po pokrojeniu wyciek z sera Mozzarella (77,5%) (wykres 11), który u 58,4% ankietowanych budzi negatywne emocje (wykres 12). Konsumenci wskazali również, że: wyciek im się nie podoba (48,3%), stanowi utratę części produktu (51,7%), marnotrawstwo wody (47,8%) oraz nie jest to ekologiczne (50%). Wielu respondentów (35,9%) wskazało również, że czują się oszukani przez producenta ze względu na ubytek masy produktu (wykres 13). Wszyscy ankietowani jednogłośnie potwierdzili, że chętniej kupowaliby ser Mozzarella, jeżeli nie wyciekałaby z niego woda.

Wykres 8

**Preferowana przez konsumentów forma spożycia
sera Mozzarella**

Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

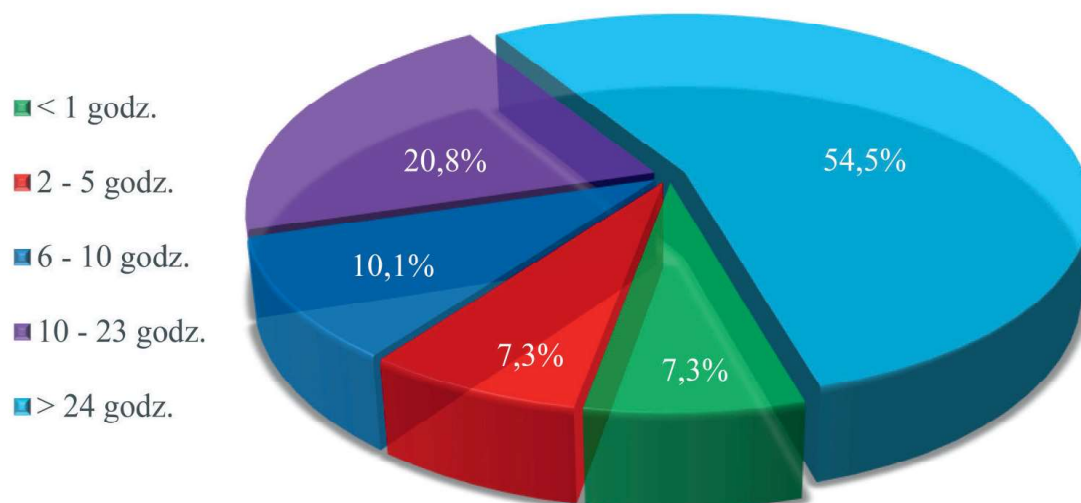
Wykres 9

**Moment, w którym konsument dodaje
ser Mozzarella do sałatki**

Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

Wykres 10

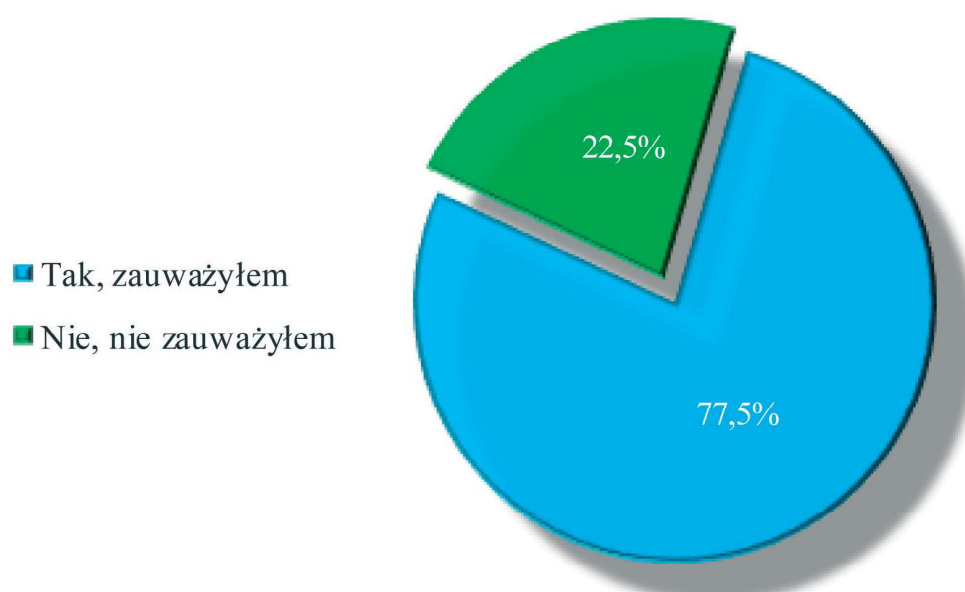
Czas, który mija od sporządzenia przez konsumenta sałatki z serem Mozzarella do całkowitego jej spożycia



Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

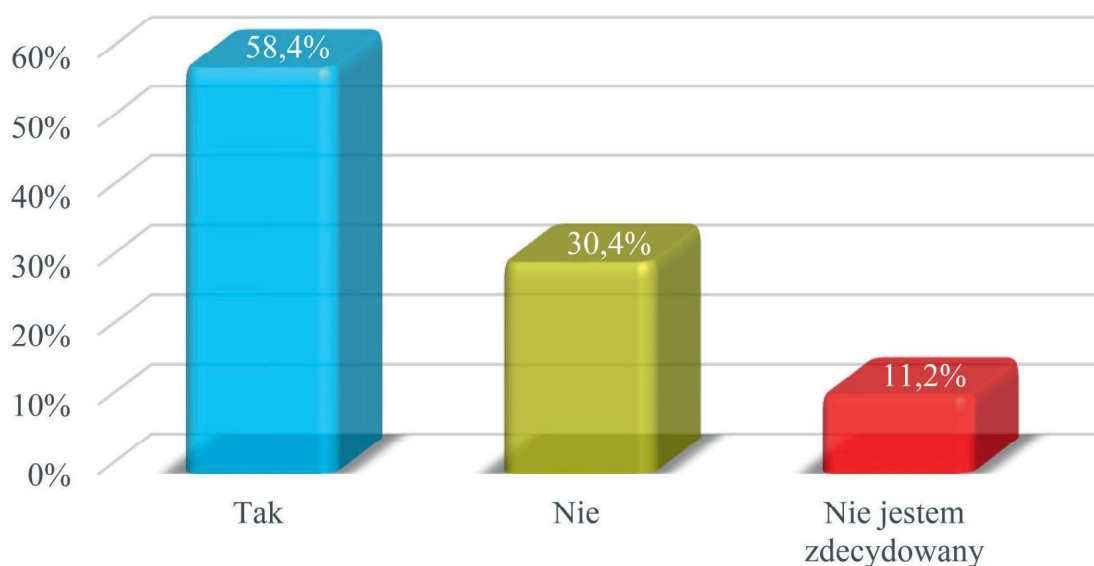
Wykres 11

Zaobserwowanie przez konsumenta wycieku wydobywającego się z sera Mozzarella po jego pokrojeniu



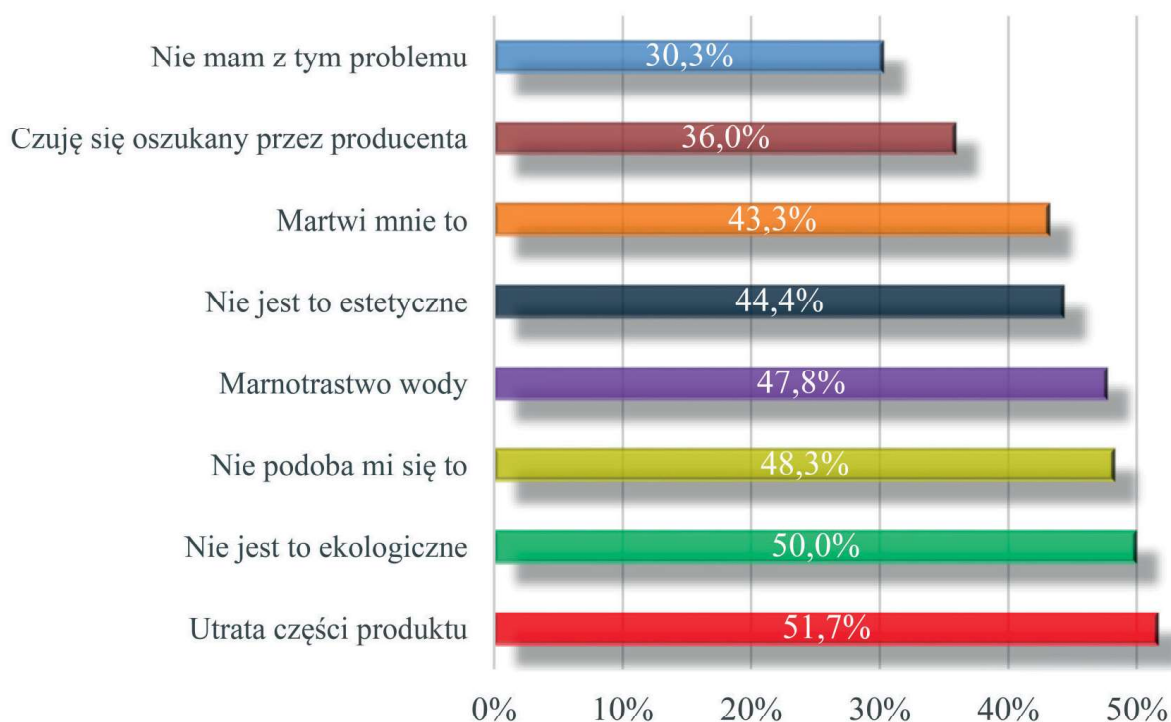
Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

Wykres 12

Wzbudzenie negatywnych emocji u konsumenta przez pojawiający się wyciek z sera Mozzarella

Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

Wykres 13

Myśli jakie wywołuje u konsumenta wyciek z sera Mozzarella

Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badania ankietowego.

Na podstawie przeprowadzonego badania ankietowego opracowano model konsumenta produktów z mleka owczego. W tym celu dokonano różnicowania ankietowanych osób pod kątem znajomości i preferencji jakie wykazywali w stosunku do mleka owczego i produktów z niego wytwarzanych. W ten sposób wyłoniono grupę obecnych konsumentów produktów z mleka owczego (21%) i tych, którzy ich nie spożywają, ale wykazują duże zainteresowanie i chęć ich spożycia, stąd określono ich potencjalnymi konsumentami (79%).

Wykazano, że obecny konsument produktów z mleka owczego jest w przeciętnym wieku 51 lat. Ma wykształcenie średnie. Pracuje i mieszka w mieście. Swoją sytuację materialną ocenia na wystarczającą. Zakupy robi w sklepie stacjonarnym. Niekoniecznie promuje zdrowy styl życia i nie jest aktywny fizycznie. Opowiada się za innowacyjnością, którą wiąże ze zwiększoną wartością odżywczą produktów, nowym smakiem i lepszą jakością. Bardziej ceni jakość produktów niż ich cenę. Spośród produktów mleczarskich najchętniej spożywa: sery, masło i pije mleko, czyni to 2-3 razy w tygodniu. Spośród serów najczęściej jada twarożki, sery żółte i sery Mozzarella. Zna i lubi produkty z mleka owczego, docenia zwłaszcza ich smak. Cena mleka owczego i produktów z niego wytworzonych ogranicza częstotliwość ich spożywania. Jest zainteresowany produktami z mleka owczego wytwarzanymi w gospodarstwie, jak i w zakładzie przemysłowym. Mimo, że chętnie jada ser Mozzarella z mleka krowiego, to jednak nie ma ochoty na Mozzarellę z mleka owczego.

Ankietowany, który nie spożywa produktów z mleka owczego ma przeciętnie 29 lat, wykształcenie średnie lub wyższe. Mieszka w mieście, a swoją sytuację materialną uznaje za wystarczającą. Zakupy robi osobiście w sklepach stacjonarnych. Zna pojęcie innowacyjności i kojarzy ją głównie z wartością zdrowotną, lepszą jakością oraz nowym i wygodnym opakowaniem. W produkcji spożywczej bardziej ceni jakość niż cenę. Stosuje zasady prawidłowego żywienia i jest aktywny fizycznie. Promuje zdrowy styl życia. Spośród produktów mleczarskich najczęściej spożywa sery oraz pije mleko. Czyni to od 2 do 3 razy w tygodniu. Preferuje sery Mozzarella, twarożki, ser Feta oraz inne sery sałatkowe. Jest zainteresowany kampanią na temat mleka owczego. Woli produkty mleczarskie wytwarzane w zakładzie, a nie w gospodarstwie. Mimo, że nie zna smaku mleka owczego lub produktów z niego wytwarzanych, to wie, że mleko owcze ma większą wartość odżywczą niż mleko krowie. Chętnie spróbowałby sera Mozzarella z mleka owczego lub nawet tylko z jego udziałem na poziomie 30%. Jest w stanie zapłacić za porcję (kulkę) sera Mozzarella do 9 zł.

Osoby, które nie spożywają produktów z mleka owczego, ale wykazują duże zainteresowanie nimi i chęć ich spożycia, można określić potencjalnymi konsumentami.

Średnia cena detaliczna mleka krowiego UHT o zawartości tłuszczu 3,2% wynosi 3,62 zł/l. W przypadku mleka owczego jest to aż 20,48 zł/l, przy czym surowiec ten jest sprzedawany głównie w porcjach po 750 ml (UHT, zawartość tłuszczu od 4,5 do 5%). Warto również zauważyć, że mleko owcze bardzo często sprowadzane jest zza granicy, np. z Francji. Tak wysoka cena tego surowca wpływa na niski popyt. Z 20 l mieszaniny mleka krowiego i owczego (70:30) wyprodukować można 3,8 kg sera Mozzarella (Biegalski i in., 2021). Z 1 l takiej mieszaniny mleka można więc wyprodukować około 190 g sera. Biorąc pod uwagę fakt, że Mozzarella sprzedawana jest komercyjnie zazwyczaj, jako porcja o masie 125 g w zalewie (220 g razem z zalewą), to do wyprodukowania takiej porcji sera potrzebne jest 658 ml mleka. Taka ilość mleka przy założeniu, że wydajność produkcyjna mleka krowiego i owczego jest zbliżona, będzie kosztować około 2,38 zł, co jest przewidywanym kosztem wyprodukowania sera Mozzarella w warunkach przemysłowych. Jak wynika z rozeznania rynkowego, porcja Mozzarelli (125 g w zalewie) sprzedawana jest średnio w cenie 4,33 zł. Różnica ceny rynkowej i przewidywanej ceny produkcji samego sera (2,38 zł) to prawie 55% i zakładać można, że kwota ta przeznaczona jest na pozostałe koszty, takie jak produkcja zalewy, opakowania, nakłady marketingowe, marża producenta, itd. Jeżeli cena 1 l mieszaniny mleka krowiego i owczego (70:30) wynosi średnio 8,67 to 658 ml tego właśnie surowca będzie kosztować około 5,70 zł. Koszt wyprodukowania porcji (125 g) sera Mozzarella z mieszaniny mleka krowiego oraz owczego (70:30) w warunkach przemysłowych (wliczając w to prawie 55% kosztów pozostałych) będzie wynosił około 8,83 zł, co daje cenę 70,64 zł za kg produktu.

4. Dyskusja

Modelowanie konsumenckie jest jedną z najbardziej podstawowych i najważniejszych czynności służących charakterystyce aktualnego zachowania konsumenta. Służy również projektowaniu nowych produktów oraz wspiera procesy przewidywania, jakimi surowcami i produktami będą zainteresowani konsumenci w niedalekiej przyszłości. Modele konsumenckie oraz modele zachowań konsumenckich stosowane są regularnie w branży spożywczej, a ich tworzenie oraz zastosowanie często stanowi przedmiot prac naukowych. Konceptyjny model zachowań w odniesieniu do żywności stanowi bazę szacowania dynamiki zachowań konsumentów w odniesieniu do produktów rolnych i spożywczych (Steenkamp, 1997). O innym wykorzystaniu modelowania (nie tylko w przemyśle spożywczym) pisali również Ness i in. (2010) oraz Yoshioka i in. (2022). Modelowanie w zakresie nauk konsumenckich jest więc rozwijane i wykorzystywane. Dowodzi to przydatności oraz realnemu przełożeniu na rzeczywistą postać rynku.

Sektor mleczarski jest najbardziej innowacyjnym sektorem przemysłu spożywczego (Bierzuńska i in., 2016). Spełnianie oczekiwań jakie ma konsument w stosunku do przemysłu jest więc głównym wyznacznikiem zmian jakie zachodzą w rozwoju produktów mleczarskich. Jednymi z kierunków, które wyznaczają innowacyjność danego wyrobu jest przyjemność i zdrowotność (Baranowska i Smoczyński, 2015; Bierzuńska i in., 2016). Przyjemność zaspakajana jest na zasadzie spożywania takich produktów, które konsument lubi oraz unikanie tych produktów, które nie spełniają oczekiwań. Właśnie dlatego, bardzo istotnym jest, aby stosować składniki i smaki, które będą dla konsumenta ciekawą wartością dodaną (Geetha i Bharathy, 2013; Bierzuńska i in., 2016).

W dzisiejszych czasach zadaniem żywności jest nie tylko dostarczanie składników odżywczych lub zaspokajanie głodu, ale i zapobieganie chorobom związanym z odżywianiem oraz poprawa fizycznego i psychicznego samopoczucia. Mleko owcze jest praktycznie bogatsze we wszystkie składniki, w porównaniu do mleka krowiego. Jest tym samym doskonałym surowcem do wytwarzania produktów o wysokich walorach prozdrowotnych (Molik i in., 2018; Molik i Daniel, 2021). W dzisiejszych czasach może mieć to ogromne znaczenie zarówno dla konsumenta, jak i dla przemysłu. Stąd, tyle innowacyjności w przemyśle spożywczym, dostosowywaniu procesów technologicznych oraz wprowadzania na rynek nowych typów produktów (Bigliardi i Galati, 2013; Gil i in., 2022). Innowacje te dotyczą także serów, które są jednym z najbardziej popularnych i najczęściej spożywanych produktów spożywczych. Mogą być zatem dobrą bazą do tworzenia, np. żywności wzbogaconej pozytywnie wpływającej na zdrowie konsumentów (Barone i in., 2018; Gil i in., 2022).

Sery są jedną z najbardziej zróżnicowanych grup produktów mleczarskich. Różnorodność ta jest niewątpliwie związana z rodzajem zastosowanego do produkcji surowca oraz samą technologią (Knysz i in., 2018). Sery różnią się od siebie zarówno składem, teksturą, wyglądem, jak i smakiem. Mają bogaty profil białko-lipidowy, a tym samym pełnią istotną rolę w spełnianiu wymagań żywieniowych (Albenzio i in., 2015). Z mleka owczego można produkować różne rodzaje sera, z czego jednymi z najpopularniejszych są Bryndza znana m.in. w Polsce i na Słowacji, Roquefort z Francji, Feta z Grecji, Pecorino i Fiore Sardo z Włoch, Ter-rincho z Portugalii oraz Manchego, Idiaabal i Castellano z Hiszpanii. Sery Pasta Filata (typu Mozzarella) produkuje się zazwyczaj z mleka krowiego oraz bawolego (Albenzio i in., 2015). Bardzo popularne są jednak również sery z masy parzonej wyrabiane z mleka owczego takie jak Oscypek, Redykołka i Bundz z Polski (Bonczar i in., 2009; Alegría i in., 2012; Chudy i Makowska, 2015; Majcher i in., 2015; Ołdak i in., 2017; Kawecka i Pasternak, 2020), Fior di Latte i Scamorza z Włoch (Albenzio i in., 2013; Faccia i in., 2015) oraz Kashaval popularny m.in. w Bułgarii,

Rumunii, Serbii i Turcji (Arvanitoyannis i Mavropoulos, 2000; Faccia i in., 2015; Guinee i in., 2015; Pappa i in., 2019). Długa lista serów (często mających znaczenie historyczne), które można produkować z sera owczego sprawia, że rynek mleka owczego gromadzi w sobie bardzo duży potencjał. Sery te produkowane są tradycyjnie od dziesiątek lat, a żywność uznawana za tradycyjną i regionalną cieszy się coraz większym zainteresowaniem ze strony konsumentów (Knysz i in., 2018).

4. Podsumowanie

Mleko owcze i produkty z niego wytwarzane najczęściej spożywane są przez osoby powyżej 50 roku życia, głównie z uwagi na ich walory smakowe a czynnikiem ograniczającym częstotliwość ich spożywania jest zbyt wysoka cena. Z punktu widzenia przeprowadzonego badania ankietowego wynika, że możliwy jest wzrost spożycia produktów mleka owczego i jednocześnie zainteresowanie nimi nowych konsumentów. Konsumentów młodszych, otwartych na innowacyjności i promujących zdrowy styl życia. Potencjalni konsumenci zainteresowani są kampanią na temat mleka owczego. Wskazują, że bardziej wolą produkty mleczarskie wytwarzane w zakładzie, a nie w gospodarstwie. Zdecydowanie spośród całej gamy produktów mleczarskich wolą mleko spożywcze i sery. Preferują sery Mozzarella, twarożki, ser Feta oraz inne sery sałatkowe. Ma to związek z ich aktywnością fizyczną, promowaniem aktywnego stylu życia, upodobaniami kulinarnymi, np. sałatkami.

Opracowana charakterystyka obecnego oraz potencjalnego konsumenta i ich oczekiwań w stosunku do produktów z mleka owczego, może być przyczynkiem do planowania dalszych badań, np. nad rozdysponowaniem mleka owczego i ukierunkowaniem przetwórstwa w przyszłości.

LITERATURA

1. Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., Ruggieri, D., Napolitano, F., Sevi, A. (2013). Physicochemical properties of Scamorza ewe milk cheese manufactured with different probiotic cultures. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2781-2791. DOI: 10.3168/JDS.2012-6218
2. Albenzio, M., Santillo, A., Marino, R., Della Malva, A., Caroprese, M., Sevi, A. (2015). Identification of peptides in functional Scamorza ovine milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 98(12), 8428-8432. DOI: 10.3168/jds.2015-9844.
3. Alegría, Á., Szczesny, P., Mayo, B., Bardowski, J., Kowalczyk, M. (2012). Biodiversity in Oscypek, a traditional Polish Cheese, determined by culture-dependent and -independent approaches. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(6), 1890-1898. DOI: 10.1128/AEM.06081-11.
4. Alichanidis, E., Moatsou, G., Polychroniadou, A. (2016). Composition and Properties of Non-cow Milk and Products. In E. Tsakalidou, K. Papadimitriou (Eds.), *Non-Bovine Milk and Milk Products* (pp. 81-116). Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-803361-6.00005-3.
5. Arvanitoyannis, I. S., Mavropoulos, A. A. (2000). Implementation of the hazard analysis critical control point (HACCP) system to Kasseri/Kefalotiri and Anevato cheese production lines. *Food Control*, 11(1), 31-40. DOI: 10.1016/S0956-7135(99)00061-4.
6. Balthazar, C. F., Pimentel, T. C., Ferrão, L. L., Almada, C. N., Santillo, A., Albenzio, M., Mollakhalili, N., Mortazavian, A. M., Nascimento, J. S., Silva, M. C., Freitas, M. Q., Sant'Ana, A. S., Granato, D., Cruz, A. G. (2017). Sheep Milk: Physicochemical Characteristics and Relevance for Functional Food Development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2), 247-262. DOI: 10.1111/1541-4337.12250.
7. Baranowska, M., Smoczyński, M. (2015). Kierunki zmian w produktach mleczarskich. *Przegląd Mleczarski*, (1), 8-13.
8. Barone, G., Dambrosio, A., Storelli, A., Busco, A., Ioanna, F., Quaglia, N. C., Giacomini-Stuffler, R., Storelli, M. M. (2018). Traditional Italian cheeses: Trace element levels and estimation of dietary intake. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 205-211. DOI: 10.1016/j.jfca.2017.12.025.
9. Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Tomaszewska-Gras, J., Baranowska, H. M. (2021). The Effect of Freezing Sheep's Milk on the Meltability, Texture, Melting and Fat Crystallization Profiles of Fresh Pasta Filata Cheese. *Animals*, 11(9), 2740. DOI: 10.3390/ani11092740.
10. Bierzuńska, P., Kaczyński, Ł. K., Cais-Sokolińska, D. (2016). Rynek innowacyjnych produktów mlecznych a zachowania młodych mieszkańców gmin wiejskich. *Gospodarka, Rynek, Edukacja*, 17(2), 19-24.
11. Bigliardi, B., Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31(2), 118-129. DOI: 10.1016/j.tifs.2013.03.006.
12. Biomolkerei.ch. Informacje dla konsumentów. Pobrano z: <https://biomolkerei.ch/de/konsumenteninfo/bauern-portrait/andri-furrer,-zuerich.html> (02.2022).
13. Bodkowski, R., Patkowska-Sokoła, B., Nowakowski, P., Jamroz, D., Janczak, M. (2011). Produkty pochodzące od przeżuwaczy-najważniejsze źródło L-karnityny w diecie człowieka. *Przegląd Hodowlany*, 10, 22-25.

14. Bonczar, G., Sardat-Reguła, A., Pustkowiak, H., Żebrowska, A. (2009). Wpływ substytucji mleka owczego mlekiem krowim na właściwości bundzu. *Żywność: Nauka - Technologia – Jakość*, 5(66), 96-106.
15. Bruen, R., Fitzsimons, S., Belton, O. (2017). Atheroprotective effects of conjugated linoleic acid. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 83(1), 46-53. DOI: 10.1111/bcp.12948.
16. Chudy, S., Makowska, A. (2015). Recognition of Polish Protected Designation of Origin and Protected Geographical Indication Cheeses. *Gospodarka, Rynek, Edukacja*, 16(2), 46-50.
17. Cicero, A. F. G., Reggi, A., Parini, A., Borghi, C. (2012). Application of polyunsaturated fatty acids in internal medicine: beyond the established cardiovascular effects. *Archives of Medical Science*, 8(5), 784-793. DOI: 10.5114/aoms.2012.31613.
18. Clare, D. A., Swaisgood, H. E. (2000). Bioactive Milk Peptides: A Prospectus. *Journal of Dairy Science*, 83(6), 1187-1195. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)74983-6.
19. Danków, R., & Pikul, J. (2011). Przydatność technologiczna mleka owczego do przetwórstwa. *Nauka Przyroda Technologie*, 5(2), 7.
20. Faccia, M., Trani, A., Gambacorta, G., Loizzo, P., Cassone, A., Caponio, F. (2015). Production technology and characterization of Fior di latte cheeses made from sheep and goat milks. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1402-1410. - DOI: 10.3168/jds.2014-7953.
21. FAOSTAT. (2022a). Production/Yield quantities of Milk, whole fresh sheep in Poland in 2020. Pobrano z: <https://www.fao.org/faostat/en/#data> (02.2022).
22. FAOSTAT. (2022b). Production/Yield quantities of Milk, whole fresh sheep in World in 2015-2020. Pobrano z: <https://www.fao.org/faostat/en/#data> (02.2022).
23. Fontecha, J., Rodriguez-Alcala, L. M., Calvo, M. V., Juarez, M. (2011). Bioactive Milk Lipids. *Current Nutrition & Food Science*, 7(3), 155-159. DOI: 10.2174/157340111797264804.
24. Geetha, N., Bharathy, R. S. (2013). Innovations in dairy products developing healthy, functional dairy products through reformulation and new ingredients: appeal for global consumers. *International Journal of Management, IT and Engineering*, 5, 415-424.
25. Gil, K. A., Jerković, I., Marijanović, Z., Manca, M. L., Caddeo, C., Tuberoso, C. I. G. (2022). Evaluation of an innovative sheep cheese with antioxidant activity enriched with different thyme essential oil lecithin liposomes. *LWT – Food Science and Technology*, 154, 112808. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112808.
26. Guinee, T. P., Pudja, P., Miočinović, J., Wiley, J., Mullins, C. M. (2015). Textural and cooking properties and viscoelastic changes on heating and cooling of Balkan cheeses. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7573-7586. DOI: 10.3168/jds.2015-9743.
27. Kawecka, A., Pasternak, M. (2020). Walory odżywcze i dietetyczne żentycy - tradycyjnego produktu z mleka owiec górskich. *Wiadomości Zootechniczne*, 58(2), 13-20.
28. Knysz, P., Gondek, M., Pyz-Łukasik, R., Ziomek, M., Drozd, Ł., Paszkiewicz, W., Szukcik, K. (2018). Chemical composition and nutritional quality of short-ripened rennet cheeses produced by traditional methods. *Medycyna Weterynaryjna*, 74(10), 671-675. DOI: 10.21521/mw.5971.
29. Kuczyńska, B., Nałęcz-Tarwacka, T., Puppel, K. (2013). Bioaktywne składniki jako wyznacznik jakości prozdrowotnej mleka. *Medycyna Rodzinna*, 1, 11-18.

30. Majcher, M. A., Kaczmarek, A., Klensporf-Pawlik, D., Pikul, J., Jeleń, H. H. (2015). SPME-MS-Based Electronic Nose as a Tool for Determination of Authenticity of PDO Cheese, Oscypek. *Food Analytical Methods*, 8, 2211-2217. DOI: 10.1007/s12161-015-0114-x.
31. Moatsou, G., Sakkas, L. (2019). Sheep milk components: Focus on nutritional advantages and biofunctional potential. *Small Ruminant Research*, 180, 86-99. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2019.07.009.
32. Mohapatra, A., Shinde, A. K., Singh, R. (2019). Sheep milk: A pertinent functional food. *Small Ruminant Research*, 181, 6-11. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2019.10.002.
33. Molik, E., Daniel, S. (2021). Możliwości zastosowania mleka owczego w medycynie i farmacji. *Wiadomości Zootechniczne*, (3), 60-63.
34. Molik, E., Blasiak, M., Nahajło, K. (2018). Walory prozdrowotne mleka owczego i czynniki wpływające na zawartość w nim aktywnych związków. *Przegląd Hodowlany*, 86(2), 16-19.
35. Mpsr.sk. (2019). Aktuality - Spotreba jahňaciny pokrívka. Produkcia ovčieho mlieka je najvyššia od vstupu do EÚ - Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR. Pobrano z: <https://www.mpsr.sk/aktualne/spotreba-jahnaciny-pokrivkava-produkcia-ovcieho-mlieka-je-najvyssia-od-vstupu-do-eu/14356/> (02. 2022).
36. Ness, M. R., Ness, M., Brennan, M., Oughton, E., Ritson, C., Ruto, E. (2010). Modeling consumer behavioural intentions towards food with implications for marketing quality low-input and organic food. *Food Quality and Preference*, 21(1), 100-111. DOI: 10.1016/j.foodqual.2009.08.012.
37. Niaz, B., Saeed, F., Ahmed, A., Imran, M., Maan, A. A., Khan, M. K. I., Tufail, T., Anjum, F. M., Hussain, S., Suleria, H. A. R. (2019). Lactoferrin (LF): a natural antimicrobial protein. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1626-1641. DOI: 10.1080/10942912.2019.1666137.
38. Nudda, A., Atzori, A. S., Correddu, F., Battaccone, G., Lunesu, M. F., Cannas, A., Pulina, G. (2020). Effects of nutrition on main components of sheep milk. *Small Ruminant Research*, 184, 106015. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2019.11.001.
39. Oekolandbau.de (2018). Produktion von Schaf- und Ziegenmilch in Deutschland, Pobrano z: <https://www.oekolandbau.de/landwirtschaft/tier/spezielle-tierhaltung/schafe-und-ziegen/schaf-und-ziegenmilchproduktion-in-deutschland/> (02.2022).
40. Ołdak, A., Zielińska, D., Rzepkowska, A., Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Comparison of Antibacterial Activity of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Two Different Kinds of Regional Cheeses from Poland: Oscypek and Korycinski Cheese. *BioMed Research International*, 6820369. DOI: 10.1155/2017/6820369.
41. Pappa, E. C., Kondyli, E., & Samelis, J. (2019). Microbiological and biochemical characteristics of Kashkaval cheese produced using pasteurised or raw milk. *International Dairy Journal*, 89, 60-67. DOI: 10.1016/j.idairyj.2018.08.011.
42. Renes, E., Fernández, D., Abarquero, D., Ladero, V., Álvarez, M. A., Tornadijo, M. E., Fresno, J. M. (2021). Effect of forage type, season, and ripening time on selected quality properties of sheep milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 104(3), 2539-2552. DOI: 10.3168/JDS.2020-19036.
43. Ruta, H., Kajdy, A., Maksym, R. (2018). Znaczenie metabolizmu kwasu foliowego dla płodności. *Kwartalnik Naukowy Fides Et Ratio*, 35(3), 92-101.

44. Singh, G., Arora, S., Sharma, G. S., Sindhu, J. S., Kansal, V. K., Sangwan, R. B. (2007). Heat stability and calcium bioavailability of calcium-fortified milk. *LWT – Food Science and Technology*, 40(4), 625-631. DOI: 10.1016/j.lwt.2006.03.009.
45. Steenkamp, JB. E. M. (1997). Dynamics in Consumer Behavior with Respect to Agricultural and Food Products. W: B. Wierenga, A. van Tilburg, K. Grunert, JB. E. M. Steenkamp (Eds.), *Agricultural Marketing and Consumer Behavior in a Changing World* (pp. 143-188). Springer. DOI: 10.1007/978-1-4615-6273-3_8.
46. Tagblatt.ch (2014). Es kann auch mal Schafmilch sein. Pobrano z: <https://www.tagblatt.ch/ostschweiz/es-kann-auch-mal-schafmilch-seinld.661585> (02.2022).
47. Tribst, A. A. L., Ribeiro, L. R., Leite Junior, B. R. de C., de Oliveira, M. M., i Cristianini, M. (2018). Fermentation profile and characteristics of yoghurt manufactured from frozen sheep milk. *International Dairy Journal*, 78, 36-45. DOI: 10.1016/j.idairyj.2017.10.005.
48. Yashioka, T., Chikaraishi, M., Fujiwara, A. (2022). Empirical models of consumer and merchant behavior in the two-sided market of local currency. *Asian Transport Studies*, 8, 100051. DOI: 10.1016/j.eastsj.2021.100051.
49. Zmarlicki, S. (2006). Zdrowotne aspekty mleka i przetworów mlecznych. *Zdrowie Publiczne*, 116(1), 142-146.

[P4]

Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D. (2023). Production of sensorily acceptable pasta filata cheese with partial substitution of sheep's milk powder in different forms. *Foods*, 12, 1766.

<https://doi.org/10.3390/foods12091766>

Article

Production of Sensorily Acceptable Pasta Filata Cheese with Partial Substitution of Sheep's Milk Powder in Different Forms

Jakub Biegalski  and Dorota Cais-Sokolińska * 

Department of Dairy and Process Engineering, Faculty of Food Science and Nutrition, Poznań University of Life Sciences, ul. Wojska Polskiego 31/33, 60-624 Poznań, Poland; jakub.biegalski@up.poznan.pl

* Correspondence: cais@up.poznan.pl; Tel.: +48-61-8487-317

Abstract: The presented study analyzed the possibility of pasta filata cheese production using sheep's milk powder in different forms and substitution amounts with fresh cow's milk. For the production of the pasta filata cheeses that were analyzed in the research, sheep's milk powder and reconstituted sheep's milk were used for partial substitution with fresh cow's milk in the amount of approx. 20, 30 and 40 percent (v/v). The obtained results showed that the more sheep's milk in the form of powder in the mixture, the lower the cheese's moisture content. The fat and protein content in the whey after the production of cheeses from mixtures was lower than after the production of cheeses from reconstituted sheep's milk only. Cheeses produced entirely from reconstituted sheep's milk displayed the highest fat loss. The greatest cheese yield was observed for cheeses from mixtures with sheep's milk powder and entirely from reconstituted sheep's milk. Pasta filata cheeses made from a mixture of cow's milk and sheep's milk powder that was not reconstituted were much less acceptable to consumers than reconstituted milk powder cheeses, especially those with 40% and 30% added powder. Sensory profile analysis showed that the addition of sheep's milk to the mixture, regardless of the form, affected the appearance, consistency, and flavor of the produced pasta filata cheeses. Mixing cow's milk with sheep's milk powder created the possibility of modeling the final cheese quality and yield.

Keywords: sheep's milk powder; consumer acceptability; mozzarella cheese; water-fat serum



Citation: Biegalski, J.; Cais-Sokolińska, D. Production of Sensorily Acceptable Pasta Filata Cheese with Partial Substitution of Sheep's Milk Powder in Different Forms. *Foods* **2023**, *12*, 1766. <https://doi.org/10.3390/foods12091766>

Received: 16 March 2023

Revised: 18 April 2023

Accepted: 22 April 2023

Published: 24 April 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Pasta filata cheeses are made from cow, buffalo, goat, and sheep's milk, and typically come from Eastern Europe, Turkey, Greece, the Balkans, and Italy. The term "pasta filata" originates from the Italian language and means "stretched curd". Some of the cheeses associated with this group are soft or semi-soft cheeses [1]. Pasta filata cheeses made from cow's milk are, for example, Fior di Latte and Provolone del Monaco cheese [2,3]. Sheep's milk is used to produce, among others, Oscypek PDO cheese and Kashkaval cheese [4,5]. Some of these cheeses can be produced using mixtures of milk from different mammals. For example cow's milk can be mixed with buffalo's milk to produce mozzarella cheese. It should be remembered that the use of specific types of milk for some cheeses is often dictated by the relevant laws, especially when cheese has Protected Designation of Origin (PDO) or other indications dictated by law. Pasta filata cheeses can be consumed as fresh cheeses or after a short maturation period. For all pasta filata cheeses, the stage of structuring the casein fibers is unique. During this stage, the curd is dipped into hot water or hot, salted brine, followed by kneading (stretching) by hand or mechanically, to obtain a semi-liquid, elastic consistency, which can be molded in various ways [1].

Pasta filata cheese production is often artisanal, although many are industrially produced. To ensure the continuity of production, constant supplies of raw materials are necessary, and in the case of sheep's milk this is difficult due to the seasonal nature of its production [6]. Freezing sheep's milk could resolve this problem, but research has shown

that the use of frozen/thawed sheep's milk for pasta filata cheese production was not conducive to positive effects related to technological, economical, and sensory aspects [7]. Cheeses produced using frozen/thawed sheep's milk are not fully accepted by consumers. The addition of frozen/thawed milk resulted in reduced stretching, which is one of the main and most characteristic features of pasta filata cheeses [7]. Therefore, cheese production technologies based on raw materials that were previously collected and preserved are constantly being sought. One of the methods of preserving milk is the drying method.

Milk powder is very often used in food production, mainly because of its functional properties and nutritional value [8,9]. Additionally, it is an important ingredient in many ready-to-eat (RTE) products, such as granola, infant milk formula, protein bars, and seasonings [10]. Dairy proteins from milk powder exhibit gelation, emulsification, and foam-formation properties [11]. Furthermore, the conversion of milk solids into powder extends their shelf-life at ambient temperatures, which is mainly due to the applied temperature treatment and reduced water activity [11]. This extended time allows for the rational use of milk powder in accordance with the current demand. In addition, reconstitution and/or recombination of the milk allows for the adjustment/combination of the dry matter content and/or the protein content of the milk after the addition of water. Reconstituted milk in liquid form results from combining skimmed or whole milk powder with water in an amount that provides the right ratio of water to solids [12]. Additionally, this milk is a very important material in dairy production, especially in regions of the world where access to fresh raw milk is limited [12]. Reconstituted milk produced from milk powder can be used to partially or completely replace fresh milk in cheese production [13].

To the best of our knowledge, to date, there is no information regarding the possible use of sheep's milk powder in the production of pasta filata cheese. Herein, we hypothesized that it is possible to produce sensorily acceptable fresh pasta filata cheese using sheep's milk powder in different forms and substitution amounts with cow's milk. For this purpose, we conducted technological tests and instrumental analysis. The obtained results were combined with descriptive sensory analysis of the produced cheeses. The performed experiments determined the proper amount of substitution of sheep's milk (reconstituted/in form of powder) in a mixture with fresh raw cow's milk. In addition to cognitive purposes, we developed an efficient production protocol that allowed the estimation of cheese yield using mathematical formulas that are well known and traditionally used in the dairy industry. Understanding the phenomena, in conjunction with the technological data, can affect the transfer of scientific effects to real production in a dairy plant.

2. Materials and Methods

2.1. Milk Samples

The research material used in this study was fresh raw cow's milk (C), sheep's milk powder (SP), reconstituted sheep's milk from milk powder (SR), and their mixtures in different configurations (CSP and CSR).

Highly hygienic and cytological quality Holstein-Friesian cow's milk intended for dairy plants was used. Sheep's milk powder was purchased as a commercial product (Les Jardins de sainte Hildegarde, Coux et Bigaroque, France) and had the following parameters (g/kg): dry matter 962.0, water 38.0, non-fat solids 604.0, fat 358.1, total protein 309.9, casein 252.6, whey protein 57.3, lactose 258.2, and ash 33.5. The bulk density of the sheep's milk powder was 0.344 g/cm³. Milk powder was used for the production of reconstituted sheep's milk by mixing with hot water (145 g/L, 60 °C, 90 s, 36 rpm) in a double-coat cheese kettle, type SKM50, equipped with automatic propeller stirrer (Plevnik d.o.o., Dobrova, Slovenia).

Milk powder and reconstituted milk were used for partial substitution with fresh raw cow's milk in the amount of approx. 20, 30, and 40 percent (*v/v*). The exact amount of sheep's milk powder and reconstituted sheep's milk added to the fresh raw cow's milk (*w/v*) is presented in Table 1. The listed amounts allowed us to obtain reconstituted milk

with a composition comparable to raw cow's milk. The sample coding presented in Table 1 was used throughout the manuscript.

Table 1. Amount of milk powder and reconstituted milk added to the raw milk (*w/v*) during sample preparation.

Sample Codes	Fresh Raw Cow's Milk (L)	Sheep's Milk Powder (g/L)	Reconstituted Sheep's Milk (L)
SR	0.00	0.00	100.00
CSP6/4	60.00	110.50	0.00
CSP7/3	70.00	82.83	0.00
CSP8/2	80.00	55.17	0.00
CSR6/4	60.00	0.00	40.00
CSR7/3	70.00	0.00	30.00
CSR8/2	80.00	0.00	20.00

2.2. Cheese-Making Protocols

A detailed description of fresh raw cow's milk used in the production process and the procedure of making pasta filata cheese was described by Biegalski et al. [7]. The entire experiment was repeated 6 times ($n = 6$). Within each production batch, 7 cheeses were produced. Each time, 70 L of milk was used in each batch. The produced cheeses were shaped into spheres (220 g, $\varnothing = 7$ cm). The cheese was packed in brine and stored at 3 °C. PA/PE bags with a thickness of 0.08 mm were used. The various parameters of cheese quality and sensory tests were rated after 2 days from the production date, which imitated the period of time from the end of production to the moment the product goes on sale (storage in packaging at 3 ± 0.5 °C). The samples were taken from different production batches ($n = 6$). The cheese was prepared in a pilot plant scale, and each batch was analyzed twice.

2.3. Pasta Filata Cheese Yield Calculation

Pasta filata cheese yield was calculated using Equations (1)–(6) [14,15] using mean values. Pasta filata cheese yield was also interpreted using Equation (7), created on the basis of the *MY* variable described by Sales et al. [16]:

Van Slyke and Price Equation (X_{SP}):

$$X_{SP} = 1.63 (f + c), \quad (1)$$

McDowall Equation (X_{MD})

$$X_{MD} = 1.07f + 2.35c, \quad (2)$$

Herz Equation (X_H):

$$X_H = \frac{100(f + 3)}{100 - w}, \quad (3)$$

Rinckleben Equation (X_R):

$$X_R = \frac{100(f - f' + 0.30r)}{100 - w}, \quad (4)$$

Jakubowski Equation (X_J):

$$X_J = \frac{100(f - 0.9f' + 1.03 \times c)}{100 - w}, \quad (5)$$

Pijanowski Equation (X_P):

$$X_P = \frac{f - f' + c}{1 - \frac{w}{100 - r' - f'}}, \quad (6)$$

MY variable:

$$MY = \frac{m_u}{ch_p}, \quad (7)$$

where: f = fat content in milk (%); f' = fat content in whey (%); r = non-fat solids content in milk (%); r' = non-fat solids content in whey (%); c = casein content in milk (%); w = water content in cheese (%); m_u = amount of used milk (kg); ch_p = amount of produced cheese (kg).

2.4. Composition

A Bentley DairySpec FT Manual (Bentley Instruments, Inc., Chaska, MN, USA) was used to determine the composition of the studied milk. The composition of the cheese was determined according to moisture [17], protein [18], and fat [19] content. Total protein was calculated as: $(TN - NPN) \times 6.38$, where TN is total nitrogen and NPN is non-protein nitrogen.

2.5. Acidity

pH was measured using a CP-402 pH-meter (Elmetron, Zabrze, Poland) equipped with a IONODE IJ44A electrode (Ionode Pty. Ltd., Tennyson, Australia). The titratable acidity values were expressed as Soxhlet–Henkel degrees (°SH).

2.6. Sensory Analysis

For sensory analysis, the profiling method [20,21] was used. The panel comprised a team of 13 individuals (aged from 22 to 55), prepared to perform sensory examinations [22,23]. Before examinations, each panel member was adequately trained for 36 h in total. Samples were evaluated using 8 cm unstructured line scales anchored with terms “low” (as undetectable) at the left, and “high” (as very intense) at the right. To describe the flavor of the cheese, the terms presented in Table 2 were used during the descriptive analysis.

In the evaluation of the overall desirability of the produced cheese, consumers ($n = 102$; 53 female, 49 male; age from 22 to 67; $M_{age} = 34.0$, $SD = 9.57$) were asked to indicate how much they liked or disliked each product on a 9-point hedonic scale (9 = like extremely; 1 = dislike extremely). Each consumer was given 7 cheese samples for evaluation. Each cheese sample was made from reconstituted sheep’s milk or a mixture of sheep’s milk powder/reconstituted sheep’s milk with fresh raw cow’s milk, as shown in Table 1. The samples were assessed 24 h after production. Samples were held and served at 6 °C in a refrigerated display case (YG-05025, YATO, Wrocław, Poland).

Each consumer ($n = 102$) who took part in the overall desirability evaluation was also asked to rate appearance (whey leachate), consistency (springiness), aroma (creamy), and flavor (salty) using a 5-point just-about-right (JAR) scale. For this purpose, the methodology described by Costa et al. [24] was used. Ratings consisted of 1 = not enough, 3 = ideal, 5 = too much.

2.7. Statistical Analyses

Standard error of the mean (SEM) was used for the presentation of results. Some results are also presented as the mean $\pm$ standard deviation (SD) in triplicate of each analysis carried out in experiments performed in duplicate. A critical level of significance of $\alpha = 0.05$ was used throughout the study. The influence of the partial substitution of sheep’s milk powder/reconstituted sheep’s milk on the characteristics of pasta filata cheeses was evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA). The results of the determination of the position of the tested samples in the perception of the space were evaluated using principal component analysis (PCA) based on the NIPALS algorithm. Sensory profile

results were presented using principal component analysis (PCA) to check the correlation between the parameters. Statistical analysis was carried out using TIBCO Statistica data analysis software, version 13.3.0 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA).

Table 2. Descriptors of cheese subjected to sensory examination.

Attribute Type and Attributes	Definition	Standard/Reference
Appearance		
Creamy color	The property of color as perceived by the eye	1—White color 9—Vanilla custard color
Gloss	The glossiness of a surface observed with reflected light	1—No gloss 9—Water-surface-like gloss
Smoothness	Characteristic related to the uniformity of the surface of the cheese	1—Rugged 9—Smooth
Whey leachate	Presence of water-fat complex leachate coming out of the cheese mass.	1—No leachate 9—Large quantity of leachate (more than one tablespoon)
Consistency		
Gumminess	Attribute characteristic for gelatin-based candy	1—Ricotta cheese consistency ^a 9—Gouda cheese consistency ^b
Springiness	Attribute related to the cheese mass returning to its original state after pressing	1—Gouda cheese springiness ^b 9—Gummy bear candy springiness ^c
Aroma		
Creamy	Aroma typical for cow's milk cream	1—Cow's milk cream, 12% fat ^d 9—Cow's milk cream, 36% fat ^e
Typical for sheep's milk	Aroma typical for sheep's milk and its products	1—Cow's pasteurized milk, 3.5% fat ^f 9—Sheep's pasteurized milk, 5.0% fat ^g
Flavor		
Salty	Flavor typical for water solution of sodium chloride	1—Mozzarella di bufala campana PDO cheese ^h 9—Sheep's feta cheese ⁱ
Acidic	Flavor typical for water solution of citric acid	1—Cow's milk sweet cream, 36% fat ^e 9—Cow's milk fresh, quark cheese, 4.0% fat ^j
Mouthfeel		
Uniformity	Perceived uniformity of the sample evaluated in the mouth associated with homogeneity of cheese mass	1—Sheep's milk powder, 36% fat ^k 9—Mozzarella di bufala campana PDO cheese ^h

^a Ricotta cheese (Lactalis Polska Sp. z o.o., Warsaw, Poland); ^b Gouda cheese (Spółdzielnia Mleczarska "MLEKPOL", Grajewo, Poland); ^c Gummy bear candy (Haribo GmbH and Co. KG, Graftschaff, Germany); ^d Cow's milk cream, 12% (Spółdzielnia Mleczarska "MLEKPOL", Grajewo, Poland); ^e Cow's milk cream, 36% (Okregowa Spółdzielnia Mleczarska w Piątnicy, Piątnica, Poland); ^f Cow's pasteurized milk, 3.8% (Spółdzielnia Mleczarska "MLEKPOL", Grajewo, Poland); ^g Sheep's pasteurized milk, 5.0% (LEONTEUS, s.r.o., Bratislava, Slovakia); ^h Mozzarella di bufala campana PDO cheese (Nuova Castelli S.p.a., Reggio Emilia, Italy); ⁱ Sheep's feta cheese (Koliós S.A., gr. H KOΛΙΟΣ A.E. Polykastro, Limnotopos Kilis, Greece); ^j Cow's milk fresh, quark cheese, 4.0% fat (Mlekovita, Wysokie Mazowieckie, Poland); ^k Sheep's milk powder, 36% (Les Jardins de sainte Hildegarde, Coux et Bigaroque, France).

3. Results and Discussion

3.1. Composition and Physicochemical Properties of Milk and Fresh Pasta Filata Cheese

Significant differences in composition and technological parameters were observed in the analyzed milk mixtures (Table 3). The mixtures of cow's milk and unreconstituted sheep's milk (CSP) compared to the mixtures of cow's milk and reconstituted sheep's milk (CSR) were characterized by a significantly higher content of all tested components. The greater the addition of sheep's milk powder in both CSP and CSR mixtures, the higher the content of components. Hence, the highest content of individual components was found in sample CSP6/4. CSP mixtures contained more non-fat solids compared to SR milk. For example, the non-fat solids content in sample CSP6/4 was 135.1 g/kg, which was almost 60% higher than that reported for CSR6/4 sample and approx. 35% higher than the value for reconstituted sheep's milk SR ($p < 0.05$). The same result was obtained for total protein, which was also the highest for the CSP6/4 mixture. The casein content in the total protein of CSP and CSR mixtures was 80.8% and 80.7%, respectively. In the CSR mixtures, it was shown that the higher the share of reconstituted sheep's milk, the lower the lactose

content. However, this was in contrast to total protein and non-fat solids content. The lactose content in CSR mixtures ranged from 40.4 to 42.5 g/kg (Table 3). Interestingly, the ratio of fat to total protein (1.3) in the mixtures of cow's milk with sheep's milk powder in the proportions of 6/4 and 7/3 was similar and independent of whether milk powder or reconstituted milk was used. The less sheep's milk powder (regardless of the form) present in the mixture, the higher the ratio of fat to total protein (1.5). This was due to the higher proportion of cow's milk in the mixture. Tavakoli et al. [25] showed that reconstituted cow's milk had a total protein content of 3.4% to 3.5% (approx. 34–35 g/kg), which was more than 50% lower than for the sheep's milk analyzed in our work. Tavakoli et al. [25] showed also that reconstituted cow's milk had lower fat content (approx. 66%) and very similar pH and non-fat solids content (for full-fat reconstituted milk) (Table 3). The analysis of the results indicated that pH and titratable acidity were typical for milk, although SR milk had a titratable acidity significantly higher compared to the other samples. The composition and technological parameters of fresh raw cow and sheep's milk have been previously presented [7]. Values of composition and technological parameters that were comparable to raw cow's milk were observed for CSR mixtures, especially for CSR7/3 and CSR8/2 mixtures. This proved that sheep's milk is characterized by a higher content of total solids and major nutrients compared to cow's milk, as described by Chia et al. [26].

Table 3. Composition and technological parameters of reconstituted sheep's milk and mixtures of powder/reconstituted sheep's milk with cow's milk in different configurations.

Material for Pasta Filata Cheese Production								
Parameters	SR	CSP6/4	CSP7/3	CSP8/2	CSR6/4	CSR7/3	CSR8/2	SEM
Non-fat solids (g/kg)	100.0 ^d	135.1 ^g	117.7 ^f	104.3 ^e	84.7 ^c	84.1 ^b	83.6 ^a	0.006
Fat (g/kg)	59.8 ^e	77.6 ^g	67.4 ^f	58.6 ^d	48.7 ^c	47.5 ^b	47.2 ^a	0.004
Total protein (g/kg)	51.5 ^e	61.4 ^f	51.6 ^e	38.4 ^c	38.6 ^d	37.4 ^b	30.5 ^a	0.005
Casein (g/kg)	41.7 ^e	49.4 ^g	42.0 ^f	30.9 ^c	31.4 ^d	30.1 ^b	24.5 ^a	0.002
Whey protein (g/kg)	9.9 ^d	11.3 ^e	9.9 ^d	7.7 ^c	7.5 ^b	7.4 ^b	5.5 ^a	0.002
Lactose (g/kg)	42.9 ^d	65.4 ^g	57.6 ^f	52.4 ^e	40.4 ^a	41.1 ^b	42.5 ^c	0.002
Non-fat solids/Total protein	1.9	2.2	2.3	2.7	2.2	2.2	2.7	
Fat/Total protein	1.2	1.3	1.3	1.5	1.3	1.3	1.5	
Ash (g/kg)	5.4 ^a	9.3 ^f	8.9 ^e	7.7 ^d	5.5 ^b	6.5 ^c	6.5 ^c	0.003
pH	6.65 ^a	6.63 ^a	6.64 ^a	6.64 ^a	6.63 ^a	6.63 ^a	6.64 ^a	0.001
Titratable acidity (% lactic acid)	0.214 ^c	0.186 ^b	0.176 ^a	0.172 ^a	0.184 ^b	0.176 ^a	0.171 ^a	0.000

^{a–g} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$). SEM: standard error of the mean ($n = 6$). Sample coding as in Table 1.

The basic composition and physicochemical properties of milk mixtures impacted the characteristics of the produced pasta filata cheeses (Table 4). The moisture content in cheeses made of milk mixtures was higher than in those made of SR milk ($p < 0.05$). Additionally, the greater the share of sheep's milk in the mixture, the lower the moisture content of the cheese, but only when sheep's milk was added in the form of powder (CSP6/4; 507.6 g/kg). When sheep's milk was added to the mixture in reconstituted form, a higher moisture content was observed. Cheeses made from CSP mixtures had moisture content in the range of 507.6 to 511.1 g/kg. However, those made with CSR mixtures had a moisture content ranging from 583.8 to 594.8 g/kg. Moghiseh et al. [27] showed that the moisture content of fresh cow's milk mozzarella cheese was 52.2%. This value was almost 14% lower than that presented for cheeses made of CSR mixtures in our work. The closest moisture content to that of cow's cheese is the moisture of cheese from the CSR8/2 mixture. It is also worth noting that this value was higher than that reported for raw sheep's milk cheeses [7]. The fat content in the cheeses from CSP and CSR6/4 mixtures had an average value of 181.4 g/kg, which was lower than in the cheeses made from other CSR mixtures, and even more than SR milk cheese ($p < 0.05$; Figure 1). Despite the protein content in the

mixtures used for cheese production being higher after the addition of SR milk (Figure 1), the final ratio of protein to fat in cheeses from the CSR mixture was similar. This was also observed for CSP mixtures, although the protein-to-fat ratio increased from 1.0 (CSR) to 1.5 (CSP). Tidona et al. [28] showed the content of fat (17.1 g/100 g) and protein (16.5 g/100 g) for cow's mozzarella cheese from a mixture of 40 g/100 g reconstituted and fresh milk. These values were lower than those we found for sheep's milk, but comparable to cheeses from CSR mixtures, which contained fat in the range of 182.0 to 186.3 g/kg, and protein in the range of 184.3 to 192.77 g/kg.

Table 4. Composition and physicochemical properties of pasta filata cheeses from reconstituted sheep's milk and mixtures of powder/reconstituted sheep's milk with cow's milk in different configurations.

Pasta Filata Cheese								
Parameters	SR	CSP6/4	CSP7/3	CSP8/2	CSR6/4	CSR7/3	CSR8/2	SEM
Moisture (g/kg)	502.8 ^a	507.6 ^b	509.2 ^{b,c}	511.1 ^c	594.8 ^f	587.0 ^e	583.8 ^d	1.646
Fat (g/kg)	194.3 ^c	180.4 ^a	181.3 ^a	182.0 ^a	182.0 ^a	185.4 ^b	186.3 ^b	1.090
Fat/dry matter (<i>w/w</i>)	0.39	0.37	0.37	0.37	0.45	0.45	0.45	
Protein (g/kg)	247.8 ^d	272.3 ^e	271.3 ^e	270.6 ^e	184.3 ^a	190.4 ^b	192.8 ^c	1.060
Protein/dry matter (<i>w/w</i>)	0.50	0.55	0.55	0.55	0.45	0.46	0.46	
Protein/fat (<i>w/w</i>)	1.3	1.5	1.5	1.5	1.0	1.0	1.0	
Salt (g/kg)	0.45 ^a	0.46 ^a	0.46 ^a	0.47 ^a	0.47 ^a	0.47 ^a	0.47 ^a	0.000
pH	5.11 ^a	5.12 ^a	5.11 ^a	5.13 ^a	5.13 ^a	5.12 ^a	5.12 ^a	0.001
Titrate acidity (% lactic acid)	0.711 ^c	0.709 ^{a,b,c}	0.708 ^{a,b,c}	0.705 ^a	0.710 ^{b,c}	0.706 ^{a,b}	0.705 ^a	0.000
Water activity	0.9602 ^a	0.9776 ^e	0.9771 ^e	0.9698 ^d	0.9607 ^{a,b}	0.9612 ^b	0.9621 ^c	0.000

^{a–f} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$). SEM: standard error of the mean ($n = 6$). Sample coding as in Table 1.

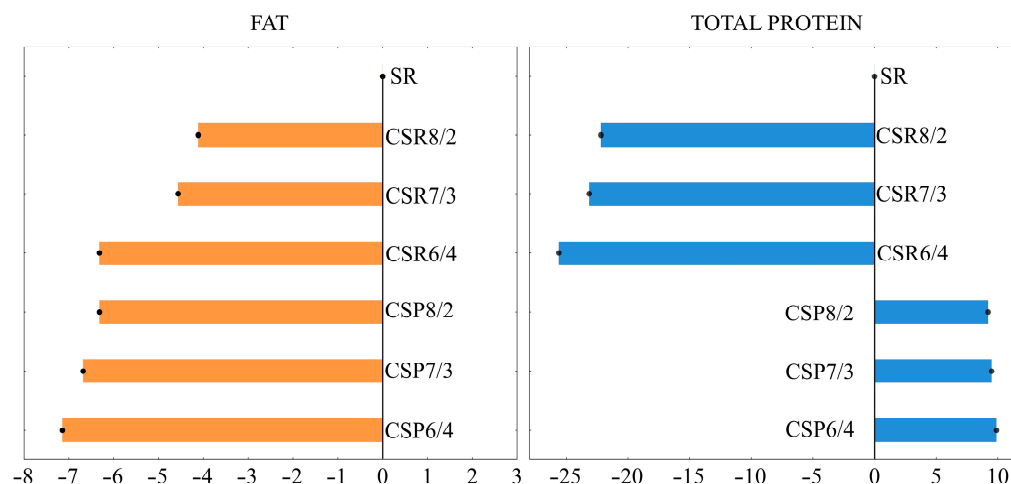


Figure 1. Deviation of fat and total protein content from the value shown for pasta filata cheese from SR milk (%). Coding as in Table 1.

The composition and physicochemical properties of whey remaining after the production of pasta filata cheeses are presented in Table 5. After cheese production, the largest amount of non-fat solids was found in whey from CSR8/2 mixture cheeses (51.6 g/kg), which was approx. 1.6% higher than that from SR milk cheeses. The content of fat and protein in whey from CSP and CSR mixtures cheeses was significantly lower than that in whey from cheeses produced from SR milk (Figure 2). A contrasting relationship was observed for lactose content, where its share in non-fat solids in whey from all mixture cheeses was, on average, 80.2% and was higher than in SR milk whey (74.7%). The highest fat loss in whey was detected for cheeses produced from SR milk. For cheeses produced from CSP and CSR mixtures, fat loss in whey was 2.9% and 3.8%, respectively, in comparison to milk

fat. The highest fat loss in whey occurred in the case of cheese from CSR mixtures, and the lowest fat loss was for cheese from the CSP6/4 mixture (2.4%). Denaturation changes in the protein membranes surrounding the fat globule should also be considered, and the number of fat globules of different diameters. Johnson et al. [29] indicated that loss of fat to the whey may be related to the rigidity and structure of the network, which is directly related to the pore and casein aggregate size. The same research group reported that a more porous curd, which was created as a result of a more rigid coagulum, will show a greater release (of fat, among other things) during the pressing of the curd. Tidona et al. [28] showed that whey after the production of cheese from a mixture of fresh and reconstituted milk contained less fat than cheese made from only raw milk. Additionally, they indicated that whey after cheese production from a mixture of fresh and reconstituted milk contained less fat after cheese production than after making cheese from raw milk only. Additionally, Truong et al. [30] indicate that the retention of fat in whey is related to the size of the fat globules.

Table 5. Composition and physicochemical properties of whey remaining after production of pasta filata cheeses from reconstituted sheep's milk and mixtures of powder/reconstituted sheep's milk with cow's milk in different configurations.

Whey Remaining after Cheese Production								
Parameters	SR	CSP6/4	CSP7/3	CSP8/2	CSR6/4	CSR7/3	CSR8/2	SEM
Non-fat solids (g/kg)	50.8 ^c	49.2 ^a	49.5 ^b	51.3 ^{d,e}	51.1 ^d	51.3 ^{d,e}	51.6 ^e	0.027
Fat (g/kg)	3.4 ^d	1.9 ^{a,b}	2.0 ^{b,c}	2.1 ^c	1.8 ^a	1.7 ^a	1.9 ^{a,b,c}	0.016
Total protein (g/kg)	9.6 ^e	4.6 ^a	4.9 ^a	5.9 ^b	6.8 ^c	7.1 ^d	5.6 ^b	0.024
Lactose (g/kg)	37.8 ^a	40.6 ^c	40.5 ^{b,c}	40.5 ^{b,c}	40.2 ^b	40.2 ^b	41.8 ^d	0.031
Non-fat solids/Total protein	5.3	10.6	10.1	8.7	7.5	7.2	9.2	
Fat/Total protein	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.2	0.3	
Ash (g/kg)	3.4 ^a	3.9 ^b	3.9 ^b	3.9 ^b	3.9 ^b	3.9 ^b	4.2 ^c	0.006
pH	5.4 ^b	5.3 ^a	5.5 ^c	5.6 ^c	5.5 ^c	5.6 ^c	5.6 ^c	0.002
Titrate acidity (% lactic acid)	0.325 ^e	0.276 ^{c,d}	0.272 ^{b,c}	0.261 ^a	0.279 ^d	0.274 ^{c,d}	0.267 ^b	0.000

^{a–e} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$). SEM: standard error of the mean ($n = 6$). Sample coding as in Table 1.

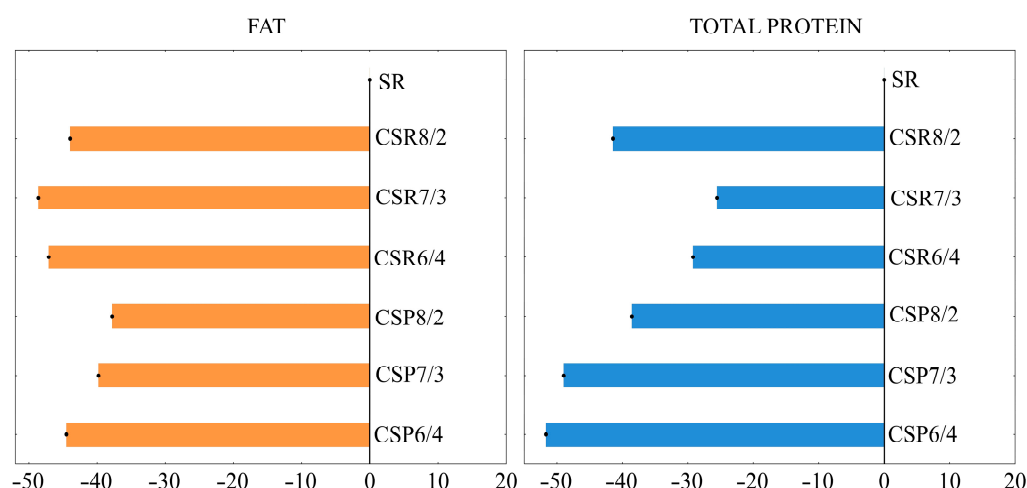


Figure 2. Deviation of fat and total protein content from the value shown for whey remaining after the production of pasta filata cheese from SR milk (%). Coding as in Table 1.

3.2. Suitability of Milk Used for Pasta Filata Cheese Production Based on the Calculation of Yield

Cheeses produced from CSP and SR mixtures were characterized by a higher yield compared to those produced from CSR mixtures (Table 6). The highest yield was determined for cheese from the CSP6/4 mixture. Depending on the equation used (1–6), the

yield was 21% (Equation (3)) or even 36%, higher than the yield of cheese from SR milk (Equation (4)). The yield was greater when the addition of sheep's milk powder in CSP mixture was also greater. The less sheep's milk was added to the CSR mixtures, the smaller the cheese yield was.

Table 6. Cheese yield calculated for pasta filata cheeses from reconstituted sheep's milk and mixtures of powder/reconstituted sheep's milk and cow's milk in different configurations.

Pasta Filata Cheese Yield									
Equation	Abbr.	Unit	SR	CSP6/4	CSP7/3	CSP8/2	CSR6/4	CSR7/3	CSR8/2
1	X_{SP}	(%)	16.54	20.70	17.83	14.59	13.06	12.65	11.69
2	X_{MD}		16.20	19.91	17.08	13.53	12.59	12.16	10.81
3	X_H		18.06	21.85	19.85	18.12	19.42	18.77	18.55
4	X_R		17.38	23.60	20.52	17.96	17.85	17.20	16.91
5	X_J		20.05	25.75	22.18	18.11	19.60	18.64	16.99
6	X_P	(kg/kg)	20.94	26.90	23.19	19.00	21.05	19.97	18.21
7	MY		5.11	5.67	5.58	5.54	4.33	4.64	4.81

Sample coding as in Table 1.

In the case of CSP mixtures, it should be remembered that sheep's milk was added only in the form of milk powder without prior reconstitution. Thus, the milk was richer in non-fat solids, but at the same time, the water content was much smaller. To produce 1 kg of cheese, considerably more CSP mixture was required than CSR, which was clearly shown by the results for variable MY (Equation (7)). In the case of CSP6/4 mixture, 5.67 kg of milk was needed (variable MY). This was almost 11% more compared to cheese made from SR milk and almost 31% more compared to cheese made from the CSR6/4 mixture. Ur Rehman et al. [31] reported that the addition of milk protein concentrates can increase cheese yield twofold due to the high recovery of milk solids in the cheese.

The use of Equations (1)–(6) more accurately reflects the content and mutual relations between protein, fat, and non-fat solids in the mixtures produced in the experiment, which may affect the assessment of the cheese yield. The relationship between water content in cheese and non-fat solids content in whey further justifies the choice of equations selected for calculating the yield for cheeses made with reconstituted sheep's milk (SR and CSR). Regardless of the mutual proportions and the share of ingredients in the dry matter, the MY variable can be used, which determines the amount of milk by weight (kg) needed to produce 1 kg of mozzarella cheese. Analysis of the cheese yield calculated using variable MY , revealed that the smallest amounts of milk to produce 1 kg of mozzarella cheese were actually for CSR mixtures (Table 6). To produce 1 kg of mozzarella cheese from CSR mixtures, 4.33 to 4.81 kg of the mixture was required. Furthermore, this result was less than for the CSP6/4 mixture cheese (5.67 kg/kg). Francolino et al. [32] reported that the yield of mozzarella cheese produced from milk with addition of milk protein concentrate increased due to a higher recovery of total solids and protein. However, Tidona et al. [13] showed that mozzarella cheese production from a mixture of 40/100 g of reconstituted cow's milk with fresh cow's milk did not significantly affect the actual cheese yield compared to cheese produced only with fresh cow's milk. The use of the variable MY for CSR samples compared to CSP indicated the validity of the introduction of sheep's milk in the form of milk powder after reconstitution. Lower milk usage may hold an important economic aspect for the production process and better use of the production material components from a consumer-nutrition point of view. However, the nutritional value is not the only aspect evaluated by the consumer when choosing a product to buy. Consistent with the positive nutritional aspects, there must also be a sensory aspect and general acceptability.

3.3. Analysis of Sensory Profile and Overall Pasta Filata Cheese Desirability

Analysis of the sensory profile showed that pasta filata cheeses from mixtures of sheep's milk powder in different forms and configurations with cow's milk differed in

terms of appearance, consistency, and flavor (Figure 3). There were no differences in aroma and mouthfeel of the tested samples. Descriptor “creamy color” was rated the higher the more sheep’s milk was added to the mixture used to produce the cheese. This phenomenon was not reliant on the form of sheep’s milk (reconstituted or powder). The opposite relationship was found for the descriptors “smoothness” and “whey leachate”. The less sheep’s milk added to the mixture, the higher these descriptors were rated. Cheese from CSR mixtures was “glossier” (up to 60%) than that from CSP mixtures. No differences were found in the analyzed samples in terms of the consistency descriptor “gumminess”. In contrast, “springiness” was higher for cheeses made from CSR mixtures, even when compared to cheeses made from SR milk. The studied cheeses did not differ in aroma (“creamy” and “typical for sheep’s milk”). However, for flavor, differences were found only in relation to the descriptor “salty”. Furthermore, the saltiness was higher and statistically different only in cheeses made from SR milk and mixtures with 40% sheep’s milk content, regardless of the form used.

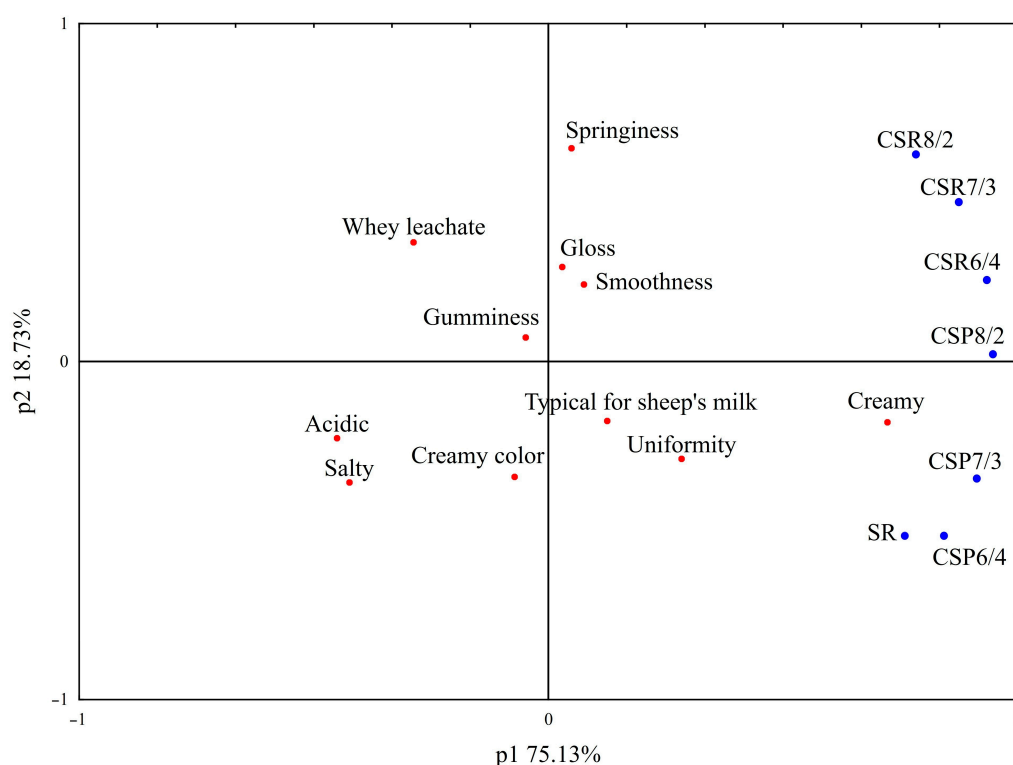


Figure 3. Principal component analysis for the consistency, flavor, appearance, aroma, and mouthfeel of pasta filata cheeses from reconstituted sheep’s milk and mixtures of powder/reconstituted sheep’s milk and cow’s milk in different configurations. Sample coding as in Table 1.

Cheeses made from mixtures containing sheep’s milk powder without reconstitution (CSP) were much less accepted by consumers compared to the other samples studied (Table 7). A similar relationship was observed for cheeses that were produced from mixtures with reconstituted milk (CSR), in which the amount of reconstituted sheep’s milk was higher than 30%. Dissatisfaction (dislike) was higher the greater the amount of sheep’s milk powder added to CSP mixture. Dislike responses increased from around 23% for CSP8/2 cheeses to over 98% for CSP6/4 cheeses. In general, almost all consumers disliked CSP6/4 mixture cheeses. In the case of cheeses from CSP7/3 mixture, approx. 84% of consumers gave “dislike” responses.

Table 7. Sensory acceptability of pasta filata cheeses from reconstituted sheep's milk and mixtures of powder/reconstituted sheep's milk and cow's milk in different configurations.

Pasta Filata Cheese			SR	CSP6/4	CSP7/3	CSP8/2	CSR6/4	CSR7/3	CSR8/2
9	Like extremely (%)		8.82	0	0	0	0	9.80	1.96
8	Like very much (%)		23.53	0	0	0	0.98	58.82	11.76
7	Like moderately (%)		31.37	0	0	17.65	21.57	26.47	50.00
6	Like slightly (%)		7.84	0	0.98	26.47	45.10	3.92	35.29
5	Neither like nor dislike (%)		2.94	1.96	14.71	13.73	25.49	0.00	0.98
4	Dislike slightly (%)		9.80	7.84	11.76	19.61	3.92	0.98	0
3	Dislike moderately (%)		3.92	50.98	43.14	6.86	0.98	0	0
2	Dislike very much (%)		1.96	15.69	13.73	4.90	0.98	0	0
1	Dislike extremely (%)		9.80	23.53	15.69	10.78	0.98	0	0
	Skewness		1.40	1.88	1.68	0.32	1.46	2.15	1.63
	<i>p</i> -value		0.032	0.003	0.011	0.737	0.004	0.000	0.001
	SD		10.11	17.49	14.15	9.27	16.36	20.28	19.01
	CV		89.22	154.35	124.86	81.83	144.31	178.94	167.71
	Dislike responses (%)		25.49	98.04	84.31	22.55	6.86	0.98	0

SD: standard deviation; CV: coefficient of variation; sample coding as in Table 1.

The main reason for consumer dissatisfaction in the case of pasta filata cheeses produced from CSP mixtures was “not enough” of the following qualities: springiness (consistency) and creamy (flavor), and “too much” of the following qualities: creamy, salty (flavor), and whey leachate (appearance, Table 8). For creamy (flavor), a discrepancy was observed in consumer assessment. For example, for cheese from CSR7/3 mixture, the flavor creamy was “not enough” for almost 29% and “too much” for almost 15% of consumers. The feeling of creamy (flavor) is therefore very individual, but in JAR assessment, most consumers (56%) said that creamy (flavor) was ideal.

Table 8. Consumer penalty analysis of the just-about-right (JAR) diagnostic attributes of pasta filata cheeses from reconstituted sheep's milk and mixtures of powder/reconstituted sheep's milk and cow's milk in different configurations.

Pasta Filata Cheese			SR	CSP6/4	CSP7/3	CSP8/2	CSR6/4	CSR7/3	CSR8/2
Appearance	Whey leachate	Not enough	–	–	–	–	–	–	–
		Too much	20.62	–	–	11.34	25.77	28.87	36.08
Consistency	Springiness	Not enough	19.59	11.34	10.31	–	–	–	–
		Too much	–	–	–	–	11.34	17.53	22.68
Aroma	Creamy	Not enough	–	–	–	18.56	18.56	30.93	42.27
		Too much	16.49	27.84	23.71	20.62	23.71	15.46	–
Flavor	Salty	Not enough	–	–	–	–	–	–	12.37
		Too much	18.56	14.43	13.40	–	17.53	11.34	11.34

(–): indicates that less than 10% of consumers chose that JAR category; sample coding as in Table 1.

Cheeses from CSR mixtures showed a change in springiness (consistency) from “not enough” to “too much”, compared to cheeses produced from CSP mixtures. For none of the cheeses presented to consumers, “not enough” of the whey leachate was noted. “Too much” leachate was most commonly reported for SR milk cheeses, CSR mixture cheeses, and CSP mixture cheeses with 20% sheep's milk powder content. Importantly, whey leachate, which was noticed by consumers of pasta filata cheese, was lower the greater the amount of sheep's milk powder added. This was particularly noticeable for cheeses from CSP mixtures.

Sensory analysis showed that the cheeses produced from a mixture of cow's milk and sheep's milk powder or reconstituted sheep's milk differed statistically. Research on the

possibility of using the milk of other mammals in a mixture with cow's milk in the production of pasta filata cheese has previously been reported. For example, Sameen et al. [33] showed that mozzarella cheeses made from a mixture of cow's milk and fresh buffalo milk were more acceptable than those made only from cow's milk. Niro et al. [34] presented the possibility of producing caciocavallo cheese from a mixture of fresh cow's milk and fresh sheep or goat's milk. These reports proved that cheeses made from a mixture using goat's milk were, in the opinion of the panelists, more elastic, and cheeses made from a mixture with sheep's milk had more intense flavor and were saltier compared to cheeses made only from cow's milk. However, these studies did not examine cheeses from mixtures with sheep's milk powder or reconstituted sheep's milk.

4. Conclusions

Mixing cow's milk with sheep's milk in a reconstituted form in the amount of 20% to 40% or added in the form of powder creates the possibility of modelling parameters of cheese and its yield. The cheeses with the addition of reconstituted sheep's milk contained less protein and more moisture than those with its addition in the form of powder. The moisture content of these cheeses was even greater than for cheeses made entirely from reconstituted sheep's milk. It was found that the reconstitution of sheep's milk powder significantly reduced the yield of cheeses made from mixtures according to the calculations that considered the composition of the mixture. The opposite result was obtained when calculating the volume of the mixture used to produce 1 kg of cheese, so it is more suitable for use in case of pasta filata cheese produced with the addition of milk powder.

The addition of sheep's milk significantly affected the "creamy color" descriptor of the cheeses, which was greater the more sheep's milk was added to the mixture (regardless of the form). Additionally, "whey leachate" was greater in the cheese, with less sheep's milk in the mixture. However, the production of pasta filata cheeses from a mixture of cow's milk and non-reconstituted sheep's milk powder was not fully accepted by consumers. The addition of 20% to 40% reconstituted sheep's milk to cow's milk during the production of pasta filata cheeses contributed to the improvement of their acceptability. Pasta filata cheeses made from a mixture of cow's milk and reconstituted sheep's milk in a ratio of 7:3 were the most liked by consumers. This was despite consumers stating that these cheeses had "too much" springiness, were "too" salty, and had "too much" whey leachate.

Results obtained from the calculation of pasta filata cheese yield can be useful in creating cheeses using sheep's milk, despite its seasonality of production. Results show the possible increase in cheese yield by use of sheep's milk powder in both forms: native (powder) and reconstituted. This may be of benefit not only for the producer but also for the consumer. Sensory analysis showed that production of pasta filata cheese using sheep's milk powder is feasible not only in terms of overall acceptability but also in terms of specific sensory attributes. Therefore, the results obtained highlight the direction of further improvement of the flavor and aroma profile, consistency, and especially the leachate of the water-fat serum of these cheeses.

Author Contributions: Conceptualization, J.B. and D.C.-S.; methodology, J.B. and D.C.-S.; software, J.B.; validation, J.B. and D.C.-S.; formal analysis, J.B. and D.C.-S.; investigation, J.B. and D.C.-S.; resources, D.C.-S.; data curation, J.B.; writing—original draft preparation, J.B. and D.C.-S.; writing—review and editing, J.B.; visualization, J.B.; funding acquisition, D.C.-S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: A part of the study was supported by grant No. 506.784.03.00/UPP-KMIP from the Ministry of Education and Science (Poznań, Poland).

Institutional Review Board Statement: Number of decision by the Bioethics Committee at Poznań University of Medical Sciences: KB-796/21.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The authors confirm that the data supporting the findings of this study are available within the article.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- De Angelis, M.; Gobbetti, M. Pasta Filata Cheeses: Traditional Pasta Filata Cheese. *Ref. Modul. Food Sci.* **2016**. [\[CrossRef\]](#)
- Cuffia, F.; George, G.; Renzulli, P.; Reinheimer, J.; Meinardi, C.; Burns, P. Technological challenges in the production of a probiotic pasta filata soft cheese. *LWT-Food Sci. Technol.* **2017**, *81*, 111–117. [\[CrossRef\]](#)
- Manzo, N.; Santini, A.; Pizzolongo, F.; Aiello, A.; Marrazzo, A.; Meca, G.; Durazzo, A.; Lucarini, M.; Romano, R. Influence of Ripening on Chemical Characteristics of a Traditional Italian Cheese: Provolone del Monaco. *Sustainability* **2019**, *11*, 2520. [\[CrossRef\]](#)
- 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*, 1890–1898. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Guinee, T.P.; Pudja, P.; Miočinović, J.; Wiley, J.; Mullins, C.M. Textural and cooking properties and viscoelastic changes on heating and cooling of Balkan cheeses. *J. Dairy Sci.* **2015**, *98*, 7573–7586. [\[CrossRef\]](#)
- Tribst, A.A.L.; Ribeiro, L.R.; Leite Junior, B.R.d.C.; de Oliveira, M.M.; Cristianini, M. Fermentation profile and characteristics of yoghurt manufactured from frozen sheep milk. *Int. Dairy J.* **2018**, *78*, 36–45. [\[CrossRef\]](#)
- Biegalski, J.; Cais-Sokolińska, D.; Tomaszewska-Gras, J.; Baranowska, H.M. The Effect of Freezing Sheep's Milk on the Meltability, Texture, Melting and Fat Crystallization Profiles of Fresh Pasta Filata Cheese. *Animals* **2021**, *11*, 2740. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Ding, H.; Wilson, D.I.; Yu, W.; Young, B.R. An investigation of the relative impact of process and shape factor variables on milk powder quality. *Food Bioprod. Process.* **2021**, *126*, 62–72. [\[CrossRef\]](#)
- Khan, A.; Munir, M.T.; Yu, W.; Young, B.R. Near-infrared spectroscopy and data analysis for predicting milk powder quality attributes. *Int. J. Dairy Technol.* **2021**, *74*, 235–245. [\[CrossRef\]](#)
- Wei, X.; Agarwal, S.; Subbiah, J. Heating of milk powders at low water activity to 95 °C for 15 minutes using hot air-assisted radio frequency processing achieved pasteurization. *J. Dairy Sci.* **2021**, *104*, 9607–9616. [\[CrossRef\]](#)
- Christiansen, M.V.; Dave, A.; Skibsted, L.H.; Ahrné, L. Functional properties of skim milk concentrates produced by reverse osmosis filtration and reconstituted commercial powders. *Int. Dairy J.* **2022**, *126*, 105225. [\[CrossRef\]](#)
- Li, Y.; Jia, X.; Wang, Z.; He, Z.; Zeng, M.; Chen, J. Changes in harmful Maillard reaction products in low-temperature long-time pasteurization-treated milks reconstituted from whole-milk powders after different storage times. *J. Food Compos. Anal.* **2022**, *106*, 104280. [\[CrossRef\]](#)
- Tidona, F.; Francolino, S.; Ghiglietti, R.; Locci, F.; Brusa, G.; Alinovi, M.; Mucchetti, G.; Gira, G. Application of Recombined Milk to Produce Crescenza-Type Cheese in Laboratory-Scale Cheesemaking: Implications on Technology and Sensory Properties. *Foods* **2020**, *9*, 928. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Pijanowski, E. *Zarys Chemii i Technologii Mleczarstwa. T. 2, Masło, Sery, kazeina, Produkty z Serwatki*, 2nd ed.; Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne: Warszawa, Poland, 1974; pp. 380–382.
- Abu-Tarboush, H.M. Prediction of Mozzarella Cheese Yield from Milk Composition. Master's Thesis, Utah State University, Logan, UT, USA, 1982; p. 5289. [\[CrossRef\]](#)
- Sales, D.C.; Rangel, A.H.N.; Urbano, S.A.; Freitas, A.R.; Tonhati, H.; Novaes, L.P.; Pereira, M.I.B.; Borba, L.H.F. Relationship between mozzarella yield and milk composition, processing factors, and recovery of whey constituents. *J. Dairy Sci.* **2017**, *100*, 4308–4321. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- ISO 5534:2004 (IDF 4:2004); Cheese and Processed Cheese—Determination of the Total Solids Content (Reference Method). International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2004.
- ISO 8968-1:2014 (IDF 20-1:2014); Milk and Milk Products—Determination of Nitrogen Content—Part 1: Kjeldahl Principle and Crude Protein Calculation. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2014.
- ISO 1735:2004 (IDF 5:2004); Cheese and Processed Cheese Products—Determination of Fat Content—Gravimetric Method (Reference Method). International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2004.
- ISO 6564:1985; Sensory Analysis—Methodology—Flavour Profile Methods. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 1985.
- ISO 6658:2017; Sensory Analysis—Methodology—General Guidance. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2017.
- ISO 3972:2011; Sensory Analysis—Methodology—Method of Investigating Sensitivity of Taste. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2011.
- ISO 5496:2006; Sensory Analysis—Methodology—Initiation and Training of Assessors in the Detection and Recognition of Odours. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2006.
- Costa, M.P.; Monteiro, M.L.G.; Frasao, B.S.; Silva, V.L.M.; Rodrigues, B.L.; Chiappini, C.C.J.; Conte-Junior, C.A. Consumer perception, health information, and instrumental parameters of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) goat milk yogurts. *J. Dairy Sci.* **2017**, *100*, 157–168. [\[CrossRef\]](#)

25. Tavakoli, M.; Habibi Najafi, M.B.; Mohebbi, M. Effect of the milk fat content and starter culture selection on proteolysis and antioxidant activity of probiotic yogurt. *Heliyon* **2019**, *5*, e01204. [[CrossRef](#)]
26. Chia, J.; Burrow, K.; Carne, A.; McConnell, M.; Samuelsson, L.; Day, L.; Young, W.; Bekhit, A.E.D.A. Minerals in Sheep Milk. In *Nutrients in Dairy and Their Implications on Health and Disease*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2017; pp. 345–362. [[CrossRef](#)]
27. Moghiseh, N.; Arianfar, A.; Salehi, E.A.; Rafe, A. Effect of inulin/kefir mixture on the rheological and structural properties of mozzarella cheese. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *191*, 1079–1086. [[CrossRef](#)]
28. Tidona, F.; Alinovi, M.; Francolino, S.; Brusa, G.; Ghiglietti, R.; Locci, F.; Mucchetti, G.; Giraffa, G. Partial substitution of 40 g/100 g fresh milk with reconstituted low heat skim milk powder in high-moisture mozzarella cheese production: Rheological and water-related properties. *LWT* **2021**, *137*, 110391. [[CrossRef](#)]
29. Johnson, M.E.; Chen, C.M.; Jaeggi, J.J. Effect of Rennet Coagulation Time on Composition, Yield, and Quality of Reduced-Fat Cheddar Cheese. *J. Dairy Sci* **2001**, *84*, 1027–1033. [[CrossRef](#)]
30. Truong, T.; Palmer, M.; Bansal, N.; Bhandari, B. *Effect of Milk Fat Globule Size on the Physical Functionality of Dairy Products*, 1st ed.; Springer: Cham, Switzerland; New York, NY, USA, 2016. [[CrossRef](#)]
31. Shakeel-Ur-Rehman; Farkye, N.Y.; Drake, M.A. Reduced-fat Cheddar cheese from a mixture of cream and liquid milk protein concentrate. *Int. J. Dairy Technol.* **2003**, *56*, 94–98. [[CrossRef](#)]
32. Francolino, S.; Locci, F.; Ghiglietti, R.; Iezzi, R.; Mucchetti, G. Use of milk protein concentrate to standardize milk composition in Italian citric Mozzarella cheese making. *LWT* **2010**, *43*, 310–314. [[CrossRef](#)]
33. Sameen, A.; Anjum, F.M.; Huma, N.; Nawaz, H. Quality evaluation of Mozzarella cheese from different milk sources. *Pakistan J. Nutr.* **2008**, *7*, 753–756. [[CrossRef](#)]
34. Niro, S.; Fratianni, A.; Tremonte, P.; Sorrentino, E.; Tipaldi, L.; Panfili, G.; Coppola, R. Innovative Caciocavallo cheeses made from a mixture of cow milk with ewe or goat milk. *J. Dairy Sci.* **2014**, *97*, 1296–1304. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

[P5]

Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D. (2024). Innovative covering liquids stabilising water-fat leachate from fresh mozzarella cheese used as pizza topping. *Foods*, 13, 581.
<https://doi.org/10.3390/foods13040581>

Article

Innovative Covering Liquids Stabilising Water–Fat Leachate from Fresh Mozzarella Cheese Used as Pizza Topping

Jakub Biegalski *  and Dorota Cais-Sokolińska 

Department of Dairy and Process Engineering, Faculty of Food Science and Nutrition, Poznań University of Life Sciences, ul. Wojska Polskiego 31/33, 60-624 Poznań, Poland; cais@up.poznan.pl

* Correspondence: jakub.biegalski@up.poznan.pl; Tel.: +48-61-848-7753

Abstract: This study analyses the possibility of changing the composition of the covering liquid in which mozzarella cheese is stored. The characterisation of mozzarella cheese consumed fresh and during later culinary use as a pizza topping was carried out. Mozzarella cheese from cow's milk and reconstituted sheep's milk were used for this study. The cheese was stored in whey-based covering liquid to which single or double amounts of lactose and/or citric acid (w/w) were added. The results obtained during laboratory analysis showed that the addition of lactose and/or citric acid to the covering liquid significantly impacted the mass of the cheese and the changes that can occur during later culinary use. The observed changes in the cheese during storage in the covering liquid were confirmed by the characteristics of the liquid itself. The smallest mass changes were related to cheeses stored in a covering liquid with double the amount of lactose and a single amount of citric acid. This cheese also displayed positive changes in all assessed descriptors (texture, melt, and colour). The amount of leachate from the cheese was small and occurred relatively late after unpacking and quartering. Based on the results of the study, changes made to the composition of the covering liquids can positively affect the characteristics of mozzarella cheese. Additionally, this data allows for the creation of specialised mozzarella cheeses that can pique the consumer's interest.

Keywords: mozzarella cheese; covering liquid; pizza baking; water diffusion; leachate



Citation: Biegalski, J.; Cais-Sokolińska, D. Innovative Covering Liquids Stabilising Water–Fat Leachate from Fresh Mozzarella Cheese Used as Pizza Topping. *Foods* **2024**, *13*, 581. <https://doi.org/10.3390/foods13040581>

Academic Editor: Barbaros Özer

Received: 30 January 2024

Revised: 12 February 2024

Accepted: 13 February 2024

Published: 14 February 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Mozzarella cheese is usually packed and stored in a covering liquid in the form of water, stretching water, whey or diluted brine [1–3] to preserve the delicate taste, freshness and springiness [2,4]. The liquid used for mozzarella cheese packing has multiple functions. It protects the delicate structure of the cheese during distribution and stabilises its composition and properties during storage. However, this type of packaging increases perishability, resulting in traditional mozzarella cheese having a shelf life of 1 to 2 weeks [4,5]. Manufacturing procedures and storage conditions can also positively or negatively influence this time period [4]. For example, a storage temperature that is too high may shorten shelf life due to microbiological and textural changes.

Preserving liquid is very important due to chemical reasons and the possible growth of microorganisms [1]. Brine, among others, is used to regulate the salt content in mozzarella cheese, which directly impacts proper moisture control, flavour, textural properties and the overall characteristics of the produced cheese. The process of cheese brining can promote the formation of a soft, moist and fragile surface layer, which is considered a defect [6–8]. The composition of the covering liquid is very diverse. It is usually a mixture of brine with mono, divalent salts and/or organic acids (NaCl, CaCl₂ and calcium lactate) [1,8–10]. Kindstedt et al. [11] indicated that the phenomenon of generating a fragile surface layer of mozzarella cheese may be related to the calcium content. Calcium is known to play a very important role in structure formation [12]. Hence, CaCl₂ is traditionally added to the brine, which minimises the risk of soft rind [7]. The liquid used for mozzarella cheese storage

stimulates the quality and stability of the cheese during storage, which is important for further culinary use as well.

Mozzarella cheese is a popular dairy product used, among others, in dishes such as pizza, calzone and related foods. This product is characterised by appropriate functionalities both in pre- and postmelted forms [13–16]. One of the most important features of mozzarella cheese after baking is its complete melting, free oil formation, shred fusion, and desired browning [17,18]. Furthermore, many studies have investigated the extent of blistering during the baking process [16,19,20].

The methods of storing mozzarella cheese are constantly being improved. There is currently a trend towards vacuum packaging of fresh mozzarella cheese, which, however, changes its sensory characteristics. This indicates the need to improve the storage of mozzarella cheese in covering liquid. To the best of our knowledge, there is no information on the use of lactose content and acidity of the covering liquid to create unique conditions that may affect the reduction in water–fat leachate from the cheese mass. Moreover, there are no studies that examined the possibility of using such covering liquids to store fresh pasta filata cheese made from fresh cow’s milk and sheep’s milk powder, which may be a novel food product that meets the needs of the modern consumer.

In this study, we analysed the possibility of using lactose and citric acid to modify the composition of the covering liquid in which mozzarella cheese is stored. The modification was intended to reduce the amount of leachate from mozzarella cheese and improve its characteristics when later used as a pizza topping.

2. Materials and Methods

2.1. Cheese Making Protocols

The cheese was produced using fresh, raw cow’s (CS) milk and sheep’s milk powder after reconstitution (SR) in a ratio of 70:30 (CS:SR). A detailed description of the milk used for the production of the cheese was described by Biegalski and Cais-Sokolińska [21]. The procedure of making pasta filata cheese was described by Biegalski et al. [22]. The produced cheeses were shaped into spheres (220 g, $\varnothing = 7$ cm).

2.2. Covering Liquid Preparation

For the preparation of the covering liquid, whey remaining after the production of cheese was used (whey composition in g/kg: fat 2.0, total protein 4.9, lactose 40.5). The whey was filtered using a strainer (square perforation 0.1×0.1 mm) to remove larger remaining particles. The covering liquid was then prepared using ingredients and amounts (w/w) presented in Table 1. A total of 10 L of whey was used in each production batch. NaCl (0.4%) and CaCl_2 ($6.7 \text{ g} \times \text{L}^{-1}$) were also added to each mixture in the same amount. Pasteurisation of the liquid was carried out at 80 °C for 10 min.

Table 1. The amount of lactose and citric acid added to whey (w/w) during the preparation of innovative covering liquids. Presentation of sample coding.

Sample Codes *	Lactose ** (g/kg)	Citric Acid (g/kg)
W	–	–
WL1	10.0	–
WL2	20.0	–
WA1	–	0.42
WA2	–	0.84
WL1A1	10.0	0.42
WL1A2	10.0	0.84
WL2A1	20.0	0.42
WL2A2	20.0	0.84

* W—Control sample; ** Applies only to lactose added to whey when preparing the covering liquids.

2.3. Experimental Design

After the specified storage period, an analysis of the physicochemical properties of the covering liquids and mass changes in the cheese samples was carried out. A reference variant of the liquid and the cheese stored were selected and subjected to further analysis. The test specimens were taken from different production batches ($n = 6$). The cheeses were packed in covering liquid and stored at 3 °C for 5 days. PA/PE bags with a thickness of 0.08 mm were used. The cheese was prepared on a pilot plant scale, and each batch was analysed twice.

2.4. Water Activity, Acidity and Freezing Point

The water activity was measured using an AquaLab Series 4TE instrument (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA). The pH was measured using a CP-402 pH-meter (Elmetron, Zabrze, Poland). The freezing point of the studied covering liquids was determined according to the ISO 5764 [23] standard method using an Advanced[®] Model 4D3 (Advanced Instruments Inc., Norwood, MA, USA).

2.5. Electrical Properties

Conductivity in mS/cm was measured using a CP-505 conductometer (Elmetron, Zabrze, Poland). Salinity, as chloride content, was measured using a salinity meter CC-103 in g/dm³ (Elmetron, Zabrze, Poland).

2.6. Mass Changes during Storage in Covering Liquids

Changes in mass (g) of mozzarella cheese samples were assessed before and after 5 days of storage in the prepared covering liquids. WPA 180/C/1 laboratory scale (Radwag, Radom, Poland) was used for measurements.

2.7. Water–Fat Serum Release

The cheese was quartered by cutting it into 4 equal parts (internal layer surface = 153.9 cm²). The release of water–fat serum was observed as it's leachate at refrigerated temperature. The liquid phase (mL) was collected using a microliter syringe model 702N (Hamilton, Reno, NV, USA) after cheese unpacking every 1 h for 24 h (according to preliminary research, it is the maximum storage time of the cheese after unpacking by the consumer). During the observation, the moment of the first signs of leachate was recorded.

2.8. Water Mobility

To measure water transport/mobility, an AWC-11 water activity meter (Cobrabid, Poznań, Poland) equipped with a Rotronic probe was used. During a 780-min period, the value of instantaneous water activities was recorded every 10 min. The results were presented in the form of a curve consisting of three areas: the first area was the constancy of the meter, the second area ended with the achievement of equilibrium water activity (differences in water activity were less than 0.001), and the third area was related to surface processes, i.e., evacuation of water outside the sample, $a_w = \text{const}$.

2.9. Pizza Baking Test

The pizza baking test was used to evaluate mozzarella cheese as a pizza topping. For this purpose, the methodology described by Rudan and Barbano [24] with modifications was used. Pizza was made by spreading 120 g of tomato sauce (GustoBello, Jeronimo Martins Polska S.A., Kostrzyn, Poland) on a round 25 cm pizza crust (GustoBello, Jeronimo Martins Polska S.A., Kostrzyn, Poland). Pizza crust ingredients: wheat flour, water, extra virgin olive oil, salt, yeast. Mozzarella cheese was cut into 1 cm thick slices. Slices of equal diameter $\varnothing = 3$ cm were cut from each slice and placed on the pizza crust. Each slice passed through the geometric centre of the entire mozzarella cheese ball. All pizzas were baked using the same conditions in a multifunctional electric oven Model 225929 (Hendi B.V., De Klomp, The Netherlands).

2.10. Descriptive Analysis of the Appearance of Cheese after Baking on Pizza

The direction of changes in the main descriptors of texture, melt and colour of mozzarella cheese stored in covering liquids with a modified composition after baking on pizza was assessed using the following markings: “0” as no change, “+” as improvement, “−” as deterioration. All changes were assessed in relation to the W control sample. The assessment was performed by a team of panellists (12; $M_{age} = 34$).

2.11. Colour Measurement

The instrumental colour measurement was based on the CIELab system described by Cais-Sokolińska et al. [25].

2.12. Statistical Analyses

The influence of different innovative covering liquids on the characteristics of the pasta filata cheeses was evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA). The influence of the covering liquid composition on changes in the mass of cheese samples was assessed using the *t*-test for samples independent of the variables. Statistical analysis was carried out using TIBCO Statistica data analysis software (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA; $\alpha = 0.05$).

3. Results and Discussion

3.1. Physicochemical Properties of Covering Liquids and Mass Changes in Cheese Samples

After placing the cheeses in their designated covering liquids, significant changes in the cheese's mass and liquid properties were observed (Table 2). When the obtained values were compared with that of the control sample (W) using an independent samples test, it highlighted that statistical differences were significant ($p < 0.05$). Hence, the influence of modifying the covering liquid's composition on the cheese mass was evident. The *t*-test values are shown in Figure 1. The mass of the cheese placed in the control liquid without additives (W) showed a $1.14 \pm 0.49\%$ increase (from 220.04 ± 0.02 g to 222.55 ± 3.68 g; $p < 0.05$). Analysis of the properties of this liquid revealed that its water activity decreased (from 0.9906 ± 0.001 to 0.9843 ± 0.002 ; $p < 0.05$), pH increased (from 6.521 ± 0.00 to 6.672 ± 0.02 ; $p < 0.05$), the freezing point decreased (from -0.6761 ± 0.00 °C to -0.6952 ± 0.00 °C; $p < 0.05$), and the salinity reduced (from 8.70 ± 0.0 g/dm³ to 8.40 ± 0.0 g/dm³; $p < 0.05$), resulting in diminished conductivity (from 35.62 ± 0.3 mS/cm to 34.45 ± 0.1 mS/cm; $p < 0.05$; $p = 0.002$).

Table 2. Physicochemical properties of the covering liquids with modified composition before (B) and after (A) storing of cheese.

Sample Codes		a_w	pH	Freezing Point (°C)	Salinity (g/dm ³)	Conductivity (mS/cm)
W	B	0.9906 ± 0.001 ^{de}	6.52 ± 0.0 ⁱ	-0.676 ± 0.00 ^m	8.703 ± 0.02 ^{ij}	35.62 ± 0.3 ^f
	A	0.9843 ± 0.002 ^{abcde}	6.67 ± 0.0 ^k	-0.695 ± 0.00 ^j	8.397 ± 0.01 ^h	34.45 ± 0.1 ^{de}
WL1	B	0.9911 ± 0.002 ^e	6.47 ± 0.0 ^h	-0.729 ± 0.00 ^g	8.813 ± 0.03 ^{jk}	35.56 ± 0.1 ^f
	A	0.9858 ± 0.002 ^{bcde}	6.68 ± 0.0 ^k	-0.720 ± 0.00 ^h	8.383 ± 0.02 ^{gh}	33.97 ± 0.3 ^{bcd}
WL2	B	0.9915 ± 0.003 ^e	6.47 ± 0.0 ^h	-0.785 ± 0.00 ^c	7.570 ± 0.04 ^b	33.66 ± 0.2 ^b
	A	0.9835 ± 0.003 ^{abcde}	6.61 ± 0.0 ^j	-0.772 ± 0.00 ^d	6.773 ± 0.14 ^a	32.87 ± 0.0 ^a
WA1	B	0.9851 ± 0.000 ^{abcde}	5.89 ± 0.0 ^d	-0.682 ± 0.00 ^l	8.907 ± 0.02 ^k	35.63 ± 0.2 ^f
	A	0.9770 ± 0.001 ^a	6.52 ± 0.0 ⁱ	-0.705 ± 0.00 ⁱ	8.400 ± 0.03 ^h	34.34 ± 0.1 ^{cde}
WA2	B	0.9815 ± 0.001 ^{abc}	5.35 ± 0.0 ^b	-0.689 ± 0.00 ^k	8.697 ± 0.02 ^{ij}	34.71 ± 0.2 ^e
	A	0.9785 ± 0.001 ^{ab}	6.40 ± 0.0 ^{fg}	-0.708 ± 0.00 ⁱ	8.430 ± 0.01 ^h	34.46 ± 0.1 ^{de}

Table 2. Cont.

Sample Codes		a_w	pH	Freezing Point (°C)	Salinity (g/dm ³)	Conductivity (mS/cm)
WL1A1	B	0.9824 ± 0.001 ^{abc}	5.79 ± 0.0 ^c	−0.738 ± 0.00 ^f	8.620 ± 0.03 ⁱ	34.83 ± 0.1 ^e
	A	0.9857 ± 0.001 ^{bcde}	6.43 ± 0.0 ^{gh}	−0.730 ± 0.00 ^g	7.813 ± 0.07 ^c	33.81 ± 0.0 ^{bc}
WL1A2	B	0.9829 ± 0.001 ^{abcd}	5.33 ± 0.0 ^b	−0.745 ± 0.00 ^e	8.083 ± 0.02 ^d	34.46 ± 0.2 ^{de}
	A	0.9889 ± 0.001 ^{cde}	6.36 ± 0.0 ^{ef}	−0.735 ± 0.00 ^f	8.153 ± 0.05 ^{de}	33.78 ± 0.1 ^{bc}
WL2A1	B	0.9824 ± 0.001 ^{abc}	5.83 ± 0.0 ^c	−0.793 ± 0.00 ^b	8.337 ± 0.02 ^{fgh}	34.83 ± 0.6 ^e
	A	0.9842 ± 0.007 ^{abcde}	6.40 ± 0.0 ^{fg}	−0.771 ± 0.00 ^d	8.080 ± 0.05 ^d	33.65 ± 0.0 ^b
WL2A2	B	0.9850 ± 0.001 ^{abcde}	5.12 ± 0.0 ^a	−0.808 ± 0.00 ^a	8.253 ± 0.04 ^{efg}	34.62 ± 0.3 ^e
	A	0.9874 ± 0.006 ^{cde}	6.34 ± 0.0 ^e	−0.784 ± 0.00 ^c	8.230 ± 0.04 ^{ef}	33.72 ± 0.0 ^b

^{a–m} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$). Mean ± Standard Deviation. Sample coding as in Table 1.

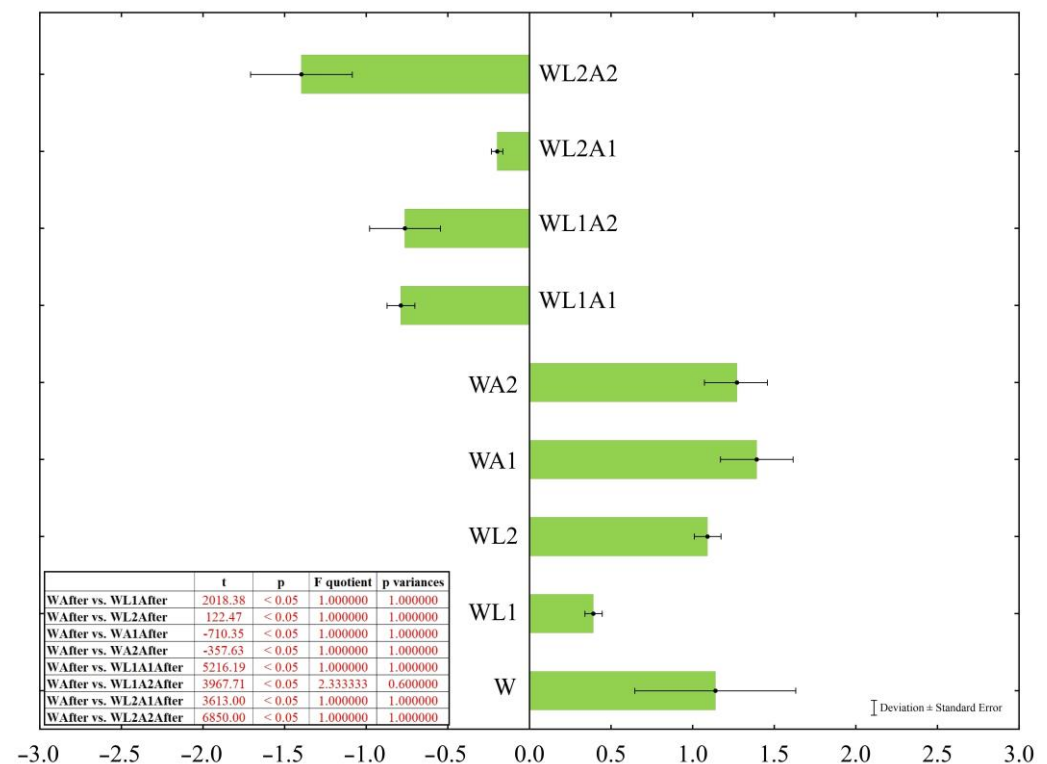


Figure 1. Deviation from the initial mass of the cheese samples (%) after storage in covering liquids with modified composition. The t -test values. Sample coding as in Table 1.

Acidification of the covering liquid via the addition of citric acid to pH 5.89 (WA1) and 5.35 (WA2) increased the mass of the cheeses. This increase was twice as high as in the control sample, and the observed trend in changes in the liquid properties was consistent with those of the control sample. Additionally, the amount of added acid did not influence the final values of water activity, freezing point, salinity and conductivity of WA1 and WA2 covering liquids ($p > 0.05$).

There were no differences in properties between the control liquid and the liquid with the addition of lactose in the amount of 10 g/kg, both before and after storing the cheese in it ($p > 0.05$). However, the addition of lactose in a larger amount (20 g/kg) decreased the covering liquid's pH and lowered the freezing point, as well as the salinity and conductivity ($p < 0.05$). In this case, the mass of the cheese stored in this liquid increased ($p < 0.05$). The simultaneous addition of lactose and acidification of the liquid, compared with the control sample (W), resulted in reduced pH, water activity and lower freezing temperature, as

well as salinity and conductivity. However, the changes that occurred in the liquid after storing the cheese, even though they had the same direction, depended on the amount of added lactose and acid. Furthermore, the configurations of these two additives determined the changes in the mass of stored cheeses. The most significant change in cheese mass reduction was observed after storing in the WL2A2 covering liquid ($p < 0.05$), in contrast to the WL2A1 covering liquid, where the cheese almost did not change its mass.

The addition of lactose (20 g/kg) and citric acid (10 g/kg) to the WL2A1 covering liquid resulted in a significant reduction in pH to 5.82 compared to the control liquid (pH 6.52; $p < 0.05$). The freezing point also decreased significantly from -0.676 °C (W) to -0.793 °C (WL2A1). The cheese placed in WL2A1 liquid showed no significant change in its mass ($p > 0.05$; $p = 0.424$). The water activity of this liquid did not change due to the storage of cheese. However, after storage, a significant increase in pH was found (from 5.83 to 6.40; $p < 0.05$). Based on the results, due to the smallest changes in the mass of the cheeses, WL2A1 covering liquid was selected for further analysis of processes related to diffusion and water mobility.

When storing cheese, e.g., in salted brine, water is transferred from the cheese into the brine, which is the result of osmotic processes driven by the high salt content ($>20\%$) in the brine [26]. When storing cheese in a covering liquid with low salt content, the osmotic effect is much smaller and water transfer occurs in the opposite direction, i.e., from the liquid to the cheese. This ultimately increases the mass of the cheese [26], which is consistent with the results obtained from the control sample (W) and samples with the addition of only lactose or acid (WL1, WL2, WA1, and WA2; Figures 1 and 2). Alinovi and Mucchetti [8] proved that storing mozzarella cheese in a covering liquid in freezing conditions promoted an increase in cheese mass by up to 6.9%. This was further evidence of the relationship between the mozzarella cheese stored in the covering liquid and the covering liquid itself, which ultimately affects the weight of the cheese.

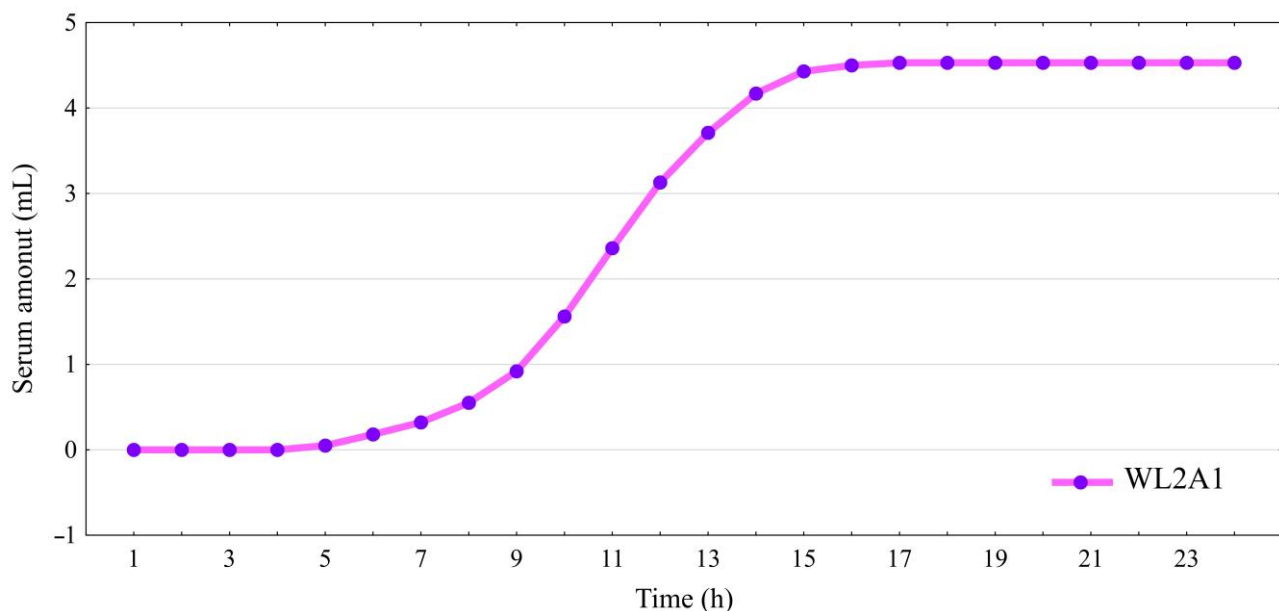


Figure 2. Diffusion of water–fat serum from cheese made from a mixture of cow’s milk and reconstituted sheep’s milk (70:30) stored in WL2A1 covering liquid. Sample coding as in Table 1.

The review of the literature (e.g., [8,16,27,28]) showed that previous scientific research focused on the quality of the cheese itself. However, there is no clear information indicating how the covering liquid changes during storage and how these changes may correlate with changes occurring in the cheese, which may affect later culinary processes. This is important for the further use of the covering liquids after cheese production in accordance with the concept of a closed and antiwaste economy. Additionally, it should be noted that

existing research was conducted mainly on cheese stored in traditional brine, to which NaCl was mainly added (e.g., [28,29]). This data shows that research on the quality of the covering liquids and the impact of these liquids on the quality of the cheese is necessary, especially now when the consumer expects the possibility of using the product losslessly in accordance with observed trends such as “zero waste”.

3.2. Water Diffusion and Mobility

Analysis of diffusion processes was determined based on the leachate. After 5 h 19 min, water diffusion from the mass of the cheese stored in the covering liquid, which had a ratio of lactose to citric acid of 2:1 (WL2A1), to the outside was only 0.05 mL. These were the first signs of a leachate (Figure 2). The largest total leachate due to diffusion was observed after 17 h from removing the cheese from the liquid and quartering (4.53 mL; Figure 3). Further analysis after this time showed that the diffusion processes from the cheese mass were reduced to zero. At the same time, the last signs of diffusion processes were observed ($\Delta v = 0.06$ mL).

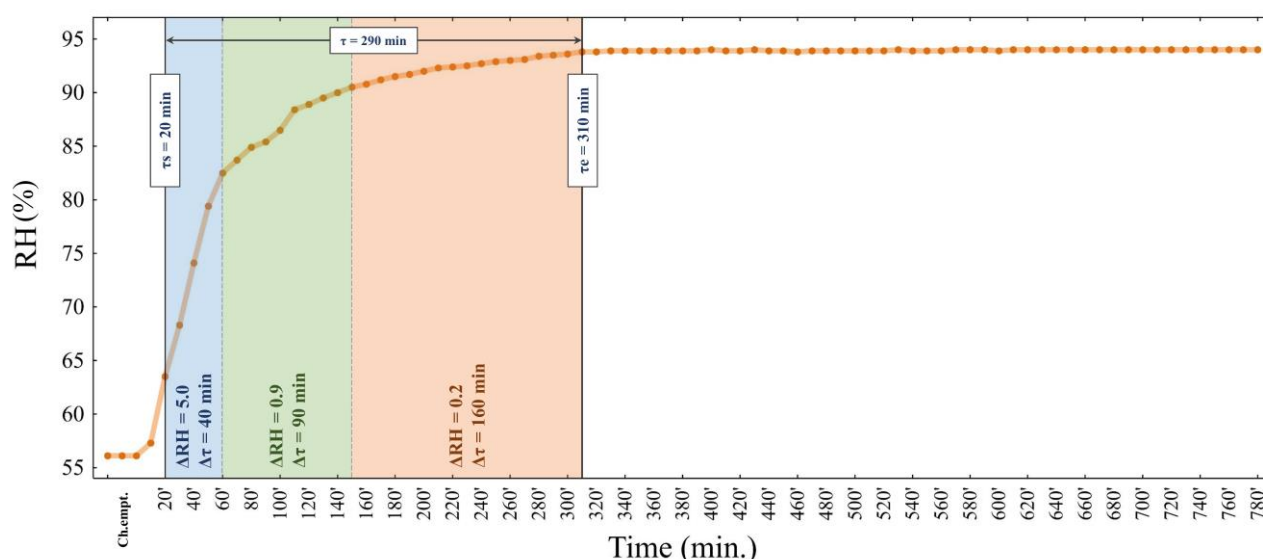


Figure 3. Relative humidity RH (%) of mozzarella cheese stored in WL2A1 covering liquid. Different coloured boxes indicate three areas related to the intensity of transfer. Sample coding as in Table 1.

Similar studies on the leachate of the water–fat fraction were carried out on cheese made from a mixture of cow’s and sheep’s milk (CSB) in a ratio of 70:30, which was stored in traditional brine [30]. When the leachate results for WL2A1 cheese and CSB cheese were compared, it was found that the leachate for the CSB cheese made from cow’s and sheep’s milk in 70:30 ratio stored in brine was much larger in total. Moreover, it occurred much faster, already within the first hour after unpacking and quartering (0.22 mL). The sum of the leachate was 24.55 mL, which was almost 5.5 times more than for WL2A1 cheese. This proved that storing the cheese in a covering liquid with a modified composition could positively affect reducing the amount of leachate from the mozzarella cheese mass.

The functional properties of mozzarella cheese depend on changing the distribution of water in the cheese, especially during the initial period of storage [31–33]. Correia Gonçalves and Cardarelli [34] reported that changes in the water state in cheese occurred during the first 3 weeks of refrigerated storage. In the case of mozzarella cheese, considering the short storage period of this product, this is crucial for consumer satisfaction.

The analysis of water mobility expressed as relative humidity RH (%) at a specific time showed that the stabilisation of the equilibrium relative humidity in the surroundings of the cheese sample taken from WL2A1 covering liquid lasted approx. 5 h (Figure 3). The phase of translational water movement in this cheese lasted 290 min ($\tau_e = 310$ min).

At that time, three areas related to the intensity of transfer were identified. In the first one (for $\tau_s = 20$ min), the average ΔRH was 5.0 for $\Delta\tau = 40$ min; in the second, $\Delta RH = 0.9$ for $\Delta\tau = 90$ min; and in the third, $\Delta RH = 0.2$ for $\Delta\tau = 160$ min. The last one was the transformation of the translational motion of water molecules before entering the surface exchange region and establishing an equilibrium state. By parameterising the kinetics of translational movement, it was shown that the time to reach the maximum velocity was $\tau_m = 20$ min for $v_m = 0.31$ RH/min.

3.3. Characteristics of Colour and Examination of Changes during Later Stages of the Technological Cycle

The yellowness index (YI) of cheeses stored in double acid covering liquid (WA2) and baked on pizza did not differ from the YI of the control cheese (Table 3). However, for WA1, this value was much higher ($YI = 56.68 \pm 0.8$). Any addition of lactose to the covering liquid resulted in an increase in the YI of the cheeses after baking compared to the control. However, the amount of lactose added did not influence YI, nor was there a difference between the YI of cheeses stored in WA1 and WL2A1 covering liquid ($p > 0.05$).

Table 3. Colour parameters of mozzarella cheese stored in covering liquids after baking on pizza.

Sample Codes	L *	WI	YI	C *
W	40.27 ± 0.2^{bc}	61.38 ± 0.2^c	47.40 ± 0.5^d	14.14 ± 0.1^d
WL1	40.07 ± 0.4^{bc}	61.80 ± 0.4^c	52.20 ± 0.6^f	15.06 ± 0.1^{de}
WL2	39.23 ± 0.0^b	62.66 ± 0.0^{cd}	52.13 ± 0.3^f	15.29 ± 0.0^{de}
WA1	37.40 ± 0.2^a	64.52 ± 0.2^d	56.68 ± 0.8^g	15.64 ± 0.3^{de}
WA2	40.58 ± 0.1^{bc}	61.17 ± 0.1^c	48.56 ± 0.6^{de}	14.51 ± 0.3^{de}
WL1A1	40.88 ± 0.3^c	61.09 ± 0.3^c	51.41 ± 0.3^{ef}	15.37 ± 0.0^{de}
WL1A2	40.21 ± 0.4^{bc}	61.70 ± 0.3^c	51.81 ± 0.3^f	15.23 ± 0.1^{de}
WL2A1	40.34 ± 0.2^{bc}	61.79 ± 0.2^c	53.78 ± 0.6^{fg}	16.05 ± 0.1^e
WL2A2	40.63 ± 0.4^{bc}	61.22 ± 0.4^c	50.82 ± 0.2^{ef}	14.96 ± 0.1^{de}

^{a–g} Means within a row with different superscripts differ ($p < 0.05$). Mean $\pm$ Standard Deviation. L *—brightness, WI—white index, YI—yellowing index, C *—chrome. Sample coding as in Table 1.

The highest chrome (C*) for cheese after baking was found for the cheese stored in WL2A1 and WA1 covering liquid. In the case of other cheeses after baking, the composition of the covering liquid did not affect the chrome ($p > 0.05$). After baking, there were no differences between the chrome of the control cheese (W) and all other cheeses stored in covering liquids with modified composition, except for cheese from the WL2A1 covering liquid ($p > 0.05$).

Assessment of changes in direction in the main descriptors regarding the texture, melt and colour showed that for WL1 cheese, there was no change compared to the control (Table 4). The only cheeses that showed improvement (+) for texture were WL2 and WL2A1 cheeses. Improvement of the melt was observed for cheeses stored in WL1A1, WL1A2 and WL2A1 covering liquids. The colour improved for cheeses WL2, WA1, WL2A1 and WL2A2. In general, the greatest improvement was demonstrated for cheeses stored in covering liquid WL2A1 (3+).

Table 4. Direction of changes in the main descriptors of mozzarella cheese stored in covering liquids with a modified composition after baking on pizza.

Descriptor	WL1	WL2	WA1	WA2	WL1A1	WL1A2	WL2A1	WL2A2
Texture	0	+	—	—	—	—	+	0
Melt	0	0	0	0	+	+	+	0
Color	0	+	+	—	—	—	+	+
Σ	0	2+	0	2—	1—	1—	3+	1+

Changes in relation to the control sample W: “0” as no change; “+” as improvement; “—” as deterioration. Sample coding as in Table 1.

The evaluation of the descriptors showed that storing mozzarella cheese in a covering liquid with the addition of lactose and/or citric acid may influence the direction of changes that occur during further use of the cheese, e.g., as a pizza topping (Figures 4 and 5). There was no deterioration of the melt detected for the studied cheeses. It was observed that the addition of only citric acid to the liquid, both in single and double amounts (WA1 and WA2), negatively affected the texture. This was also demonstrated for cheeses stored in liquid with added acid and a single amount of lactose (WL1A1 and WL1A2). The results also indicated a possible protective effect against negative changes after baking for the covering liquid with double the amount of lactose added. The only cheese that showed improvement for all descriptors was WL2A1 cheese.



Figure 4. Mozzarella cheese samples before the pizza baking test. Sample coding as in Table 1.

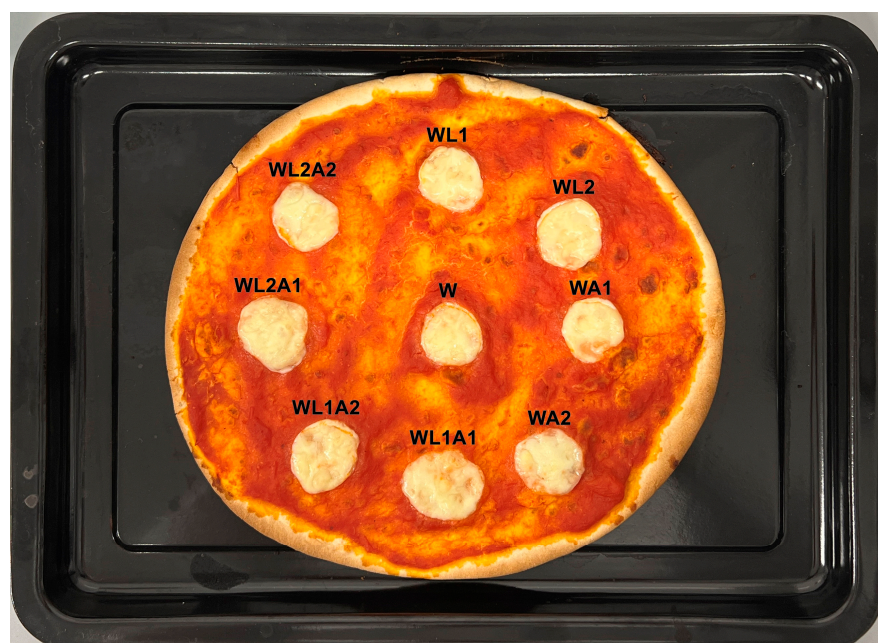


Figure 5. Mozzarella cheese samples after pizza baking test. Sample coding as in Table 1.

The pizza baking test is commonly used to assess changes that occur in different cheeses during their culinary use. For example, Wadhwani et al. [35] used the pizza baking test to assess stretchability in conjunction with the fork test. Sutariya et al. [18] assessed the melting, browning, and stretch characteristics of mozzarella cheese using the pizza baking test. However, scientists raise the possibility of using this test mainly to characterise cheese, among others, with changed characteristics, e.g., reduced fat content. To date, there is no literature data regarding the use of the pizza baking test for cheeses whose characteristics are created using innovative covering liquids used for storage. The changes that occur during baking can also be presented in the form of a melting degree simulation (Figure 6) as a way to easily compare these changes.

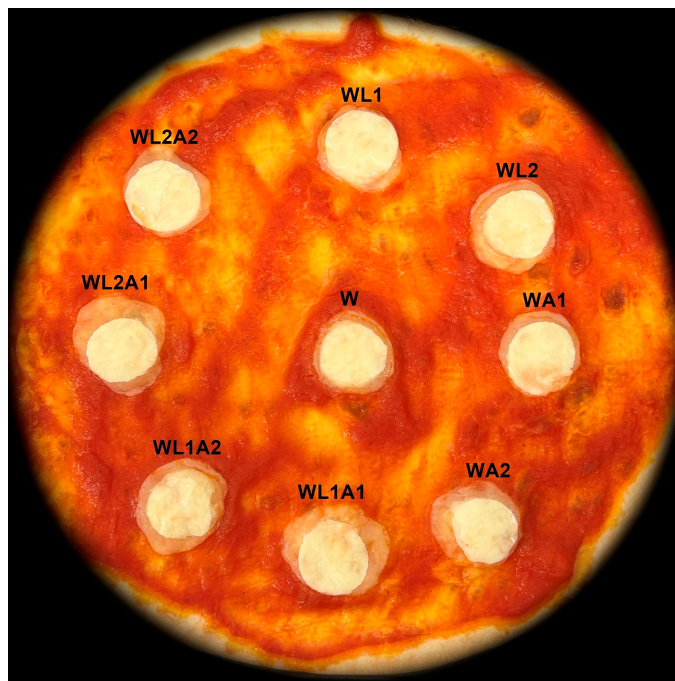


Figure 6. Simulation of mozzarella cheese melting degree during pizza baking test. Sample coding as in Table 1.

4. Conclusions

Storing mozzarella cheese in a covering liquid with an altered composition allows for modelling the quality of the fresh cheese and its further culinary use. The observed characteristic changes in the cheeses reflected the parameters of the covering liquids. Storing mozzarella cheese in novel covering liquids with added citric acid and/or lactose significantly affects the mass of the cheese. It was found that changes in cheese mass were the smallest in the case of mozzarella cheese stored in WL2A1 covering liquid (simultaneous addition of lactose and citric acid in the amount of 20 g/kg and 0.42 g/kg, respectively). This cheese was also rated as the best in terms of the characteristics of changes that occur when it is used as a pizza topping.

Storing mozzarella cheese in a covering liquid with added lactose and citric acid 2:1 (WL2A1) significantly influenced water diffusion, which was closely related to the mass of the cheese. Leachate of the water–fat fraction was observed from WL2A1 cheese, which occurred relatively late and in a very limited amount.

The results obtained in this work show that the characteristics of mozzarella cheese, regardless of the way it is consumed, can be created not only by changing the composition of the cheese itself but also by changing the composition of the covering liquid in which it is stored. This allows for new possibilities that can positively influence the consumer's perception of this product. The fact that the culinary and functional characteristics of mozzarella cheese can be created by modifying the composition of covering liquids also

opens up a wide range of scientific possibilities. Modifying the composition of the covering liquids may allow for a completely new look at mozzarella cheese, which should be the basis for further scientific research. Future research should also take into account the aspect related to the packaging sector, which may be interested in creating packaging for covering liquid-stored mozzarella cheeses with resealable systems. This will allow the consumer to store the mozzarella cheese in the covering liquid without having to store it outside the packaging if the cheese is not consumed in its entirety at once.

Author Contributions: Conceptualisation, J.B. and D.C.-S.; methodology, J.B. and D.C.-S.; software, J.B.; validation, J.B. and D.C.-S.; formal analysis, J.B. and D.C.-S.; investigation, J.B. and D.C.-S.; resources, D.C.-S.; data curation, J.B.; writing—original draft preparation, J.B. and D.C.-S.; writing—review and editing, J.B.; visualization, J.B.; funding acquisition, D.C.-S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: A part of the study was supported by Task entitled: “The Research Network of Life Sciences Universities for the Development of the Polish Dairy Industry—Research Project” funded under the designated subsidy of the Minister of Science and Higher Education (MEiN2023/DPI/280) and grant No. 506.784.03.00/UPP-KMIP from the Ministry of Science and Higher Education (Poznań, Poland).

Institutional Review Board Statement: Number of decision by the Bioethics Committee at Poznań University of Medical Sciences: KB-796/21.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The authors confirm that the data supporting the findings of this study are available within the article.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Faccia, M.; Angiolillo, L.; Mastromatteo, M.; Conte, A.; Del Nobile, M.A. The effect of incorporating calcium lactate in the saline solution on improving the shelf life of Fiordilatte cheese. *Int. J. Dairy Technol.* **2013**, *66*, 373–381. [\[CrossRef\]](#)
2. Ricciardi, A.; Guidone, A.; Zotta, T.; Matera, A.; Claps, S.; Parente, E. Evolution of microbial counts and chemical and physico-chemical parameters in high-moisture Mozzarella cheese during refrigerated storage. *LWT Food Sci. Technol.* **2015**, *63*, 821–827. [\[CrossRef\]](#)
3. Guidone, A.; Zotta, T.; Matera, A.; Ricciardi, A.; De Filippis, F.; Ercolini, D.; Parente, E. The microbiota of high-moisture mozzarella cheese produced with different acidification methods. *Int. J. Food Microbiol.* **2016**, *216*, 9–17. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Faccia, M.; Gambacorta, G.; Natrella, G.; Caponio, F. Shelf life extension of Italian mozzarella by use of calcium lactate buffered brine. *Food Control* **2019**, *100*, 287–291. [\[CrossRef\]](#)
5. Caputo, L.; Quintieri, L.; Bianchi, D.M.; Decastelli, L.; Monaci, L.; Visconti, A.; Baruzzi, F. Pepsin-digested bovine lactoferrin prevents Mozzarella cheese blue discoloration caused by *Pseudomonas fluorescens*. *Food Microbiol.* **2015**, *46*, 15–24. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Gernigon, G.; Schuck, P.; Jeantet, R. Processing of Mozzarella cheese wheys and stretchwaters: A preliminary review. *Dairy Sci. Technol.* **2010**, *90*, 27–46. [\[CrossRef\]](#)
7. Luo, J.; Pan, T.; Guo, H.Y.; Ren, F.Z. Effect of calcium in brine on salt diffusion and water distribution of Mozzarella cheese during brining. *J. Dairy Sci.* **2013**, *96*, 824–831. [\[CrossRef\]](#)
8. Alinovi, M.; Mucchetti, G. Effect of freezing and thawing processes on high-moisture Mozzarella cheese rheological and physical properties. *LWT Food Sci. Technol.* **2020**, *124*, 109137. [\[CrossRef\]](#)
9. Zappia, A.; Branca, M.L.; Piscopo, A.; Poiana, M. Shelf life extension of mozzarella cheese packed in preserving liquid with calcium lactate and bergamot juice concentrate. *J. Dairy Res.* **2020**, *87*, 474–479. [\[CrossRef\]](#)
10. Huang, X.; Kamgang Nzekoue, F.; Renzi, S.; Alesi, A.; Magdalena Coman, M.; Pucciarelli, S.; Sagratini, G.; Silvi, S. Influence of modified governing liquid on shelf-life parameters of high-moisture mozzarella cheese. *Food Res. Int.* **2022**, *159*, 111627. [\[CrossRef\]](#)
11. Kindstedt, P.S.; Larose, K.L.; Gilmore, J.A.; Davis, L. Distribution of salt and moisture in Mozzarella cheese with soft surface defect. *J. Dairy Sci.* **1996**, *79*, 2278–2283. [\[CrossRef\]](#)
12. Thybo, C.D.; Lillevang, S.K.; Skibsted, L.H.; Ahrné, L. Calcium balance during direct acidification of milk for Mozzarella cheese production. *LWT Food Sci. Technol.* **2020**, *131*, 109677. [\[CrossRef\]](#)
13. Imm, J.Y.; Oh, E.J.; Han, K.S.; Oh, S.; Park, Y.W.; Kim, S.H. Functionality and physico-chemical characteristics of bovine and caprine Mozzarella cheeses during refrigerated storage. *J. Dairy Sci.* **2003**, *86*, 2790–2798. [\[CrossRef\]](#)
14. McMahon, D.J.; Oberg, C.J. Cheese | Pasta-Filata Cheeses: Low-Moisture Part-Skim Mozzarella (Pizza Cheese). In *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2nd ed.; Fuquay, J.W., Ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2011; pp. 737–744. [\[CrossRef\]](#)

15. Berta, M.; Muskens, E.; Schuster, E.; Stading, M. Rheology of natural and imitation mozzarella cheese at conditions relevant to pizza baking. *Int. Dairy J.* **2016**, *57*, 34–38. [[CrossRef](#)]
16. Dai, S.; Jiang, F.; Shah, N.P.; Corke, H. Functional and pizza bake properties of Mozzarella cheese made with konjac glucomannan as a fat replacer. *Food Hydrocoll.* **2019**, *92*, 125–134. [[CrossRef](#)]
17. Ah, J.; Tagalpallewar, G.P. Functional properties of Mozzarella cheese for its end use application. *J. Food Sci. Technol.* **2017**, *54*, 3766–3778. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Sutariya, S.G.; Metzger, L.E.; Meletharayil, G.H. An approach to improve the baking properties and determine the onset of browning in fat-free mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* **2022**, *105*, 2153–2165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Zisu, B.; Shah, N.P. Texture characteristics and pizza bake properties of low-fat Mozzarella cheese as influenced by pre-acidification with citric acid and use of encapsulated and ropy exopolysaccharide producing cultures. *Int. Dairy J.* **2007**, *17*, 985–997. [[CrossRef](#)]
20. Zhang, D.; Lillevang, S.K.; Shah, N.P. Influence of pre-acidification, and addition of KGM and whey protein-based fat replacers CH-4560, and YO-8075 on texture characteristics and pizza bake properties of low-fat Mozzarella cheese. *LWT Food Sci. Technol.* **2021**, *137*, 110384. [[CrossRef](#)]
21. Biegalski, J.; Cais-Sokolińska, D. Production of sensorily acceptable pasta filata cheese with partial substitution of sheep's milk powder in different forms. *Foods* **2023**, *12*, 1766. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Biegalski, J.; Cais-Sokolińska, D.; Tomaszewska-Gras, J.; Baranowska, H.M. The effect of freezing sheep's milk on the meltability, texture, melting and fat crystallization profiles of fresh pasta filata cheese. *Animals* **2021**, *11*, 2740. [[CrossRef](#)]
23. ISO 5764 [IDF 108:2009]; Milk Determination of Freezing Point—Thermistor Cryoscope Method (Reference Method). International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2009.
24. Rudan, M.A.; Barbano, D.M. A model of Mozzarella cheese melting and browning during pizza baking. *J. Dairy Sci.* **1998**, *81*, 2312–2319. [[CrossRef](#)]
25. Cais-Sokolińska, D.; Pikul, J.; Wójtowski, J.; Danków, R.; Teichert, J.; Czyzak-Runowska, G.; Bagnicka, E. Evaluation of quality of kefir from milk obtained from goats supplemented with a diet rich in bioactive compounds. *J. Sci. Food Agric.* **2015**, *95*, 1343–1349. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Fucà, N.; McMahon, D.J.; Caccamo, M.; Tuminello, L.; La Terra, S.; Manenti, M.; Licitra, G. Effect of brine composition and brining temperature on cheese physical properties in Ragusano cheese. *J. Dairy Sci.* **2012**, *95*, 460–470. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Pisano, M.B.; Scano, P.; Murgia, A.; Cosentino, S.; Caboni, P. Metabolomics and microbiological profile of Italian mozzarella cheese produced with buffalo and cow milk. *Food Chem.* **2016**, *192*, 618–624. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Braghieri, A.; Zotta, T.; Morone, G.; Piazzolla, N.; Majlesi, M.; Napolitano, F. Starter cultures and preservation liquids modulate consumer liking and shelf life of mozzarella cheese. *Int. Dairy J.* **2018**, *85*, 254–262. [[CrossRef](#)]
29. Alinovi, M.; Corredig, M.; Mucchetti, G.; Carini, E. Water status and dynamics of high-moisture Mozzarella cheese as affected by frozen and refrigerated storage. *Food Res. Int.* **2020**, *137*, 109415. [[CrossRef](#)]
30. Biegalski, J.; Cais-Sokolińska, D.; Wawrzyniak, J. Effect of packaging and portioning on the dynamics of water–fat serum release from fresh pasta filata soft cheese. *Foods* **2022**, *11*, 296. [[CrossRef](#)]
31. McMahon, D.J.; Fife, R.L.; Oberg, C.J. Water partitioning in Mozzarella cheese and its relationship to cheese meltability. *J. Dairy Sci.* **1999**, *82*, 1361–1369. [[CrossRef](#)]
32. Kuo, M.I.; Gunasekaran, S. Effect of freezing and frozen storage on microstructure of Mozzarella and pizza cheeses. *LWT Food Sci. Technol.* **2009**, *42*, 9–16. [[CrossRef](#)]
33. Smith, J.R.; Hindmarsh, J.P.; Carr, A.J.; Golding, M.D.; Reid, D. Molecular drivers of structural development in Mozzarella cheese. *J. Food Eng.* **2017**, *214*, 257–265. [[CrossRef](#)]
34. Gonçalves, M.C.; Cardarelli, H.R. Changes in water mobility and protein stabilization of Mozzarella cheese made under different stretching temperatures. *LWT Food Sci. Technol.* **2019**, *104*, 16–23. [[CrossRef](#)]
35. Wadhwani, R.; McManus, W.R.; McMahon, D.J. Improvement in melting and baking properties of low-fat Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* **2011**, *94*, 1713–1723. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

11. Oświadczenia doktoranta oraz współautorów dotyczące ich wkładu w przygotowanie opublikowanych artykułów naukowych

Mgr inż. Jakub Biegalski
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Tomaszewska-Gras, J., Baranowska, H. M. (2021). The effect of freezing sheep's milk on the meltability, texture, melting and fat crystallization profiles of fresh pasta filata cheese. Animals, 11, 2740*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodologii, obsłudze niezbędnego oprogramowania, walidacji danych, formalnej analizie, przygotowaniu manuskryptu, redagowaniu i wprowadzaniu zmian po recenzjach oraz prezentacji graficznej danych.

Data 30.08.2024r.

Podpis

Biegalski Jakub

Mgr inż. Jakub Biegalski
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Wawrzyniak, J. (2022). Effect of packaging and portioning on the dynamics of water-fat serum release from fresh pasta filata soft cheese. Foods, 11, 296*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodologii, przygotowaniu manuskryptu, redagowaniu i wprowadzaniu zmian po recenzjach oraz prezentacji graficznej danych.

Data 30.08.2024r.

Podpis

Biegalski Jakub

Mgr inż. Jakub Biegalski
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski. J., Cais-Sokolińska. D. (2022). Produkty z mleka owczego w kontekście oczekiwań konsumentów. Zagadnienia Doradztwa Rolniczego, 1, 107*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodologii, obsłudze niezbędnego oprogramowania, walidacji danych, formalnej analizie, prowadzeniu badań, gromadzeniu i analizie statystycznej danych, przygotowaniu manuskryptu, redagowaniu i wprowadzaniu zmian po recenzjach oraz prezentacji graficznej danych.

Data 30.08.2024r.

Podpis

Biegalski Jakub

Mgr inż. Jakub Biegalski
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D. (2023). Production of sensorily acceptable pasta filata cheese with partial substitution of sheep's milk powder in different forms. Foods, 12, 1766*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodologii, obsłudze niezbędnego oprogramowania, walidacji danych, formalnej analizie, prowadzeniu badań, gromadzeniu i analizie statystycznej danych, przygotowaniu manuskryptu, redagowaniu i wprowadzaniu zmian po recenzjach oraz prezentacji graficznej danych.

Data 30.08.2024r.

Podpis

Biegalski Jakub

Mgr inż. Jakub Biegalski
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D. (2024). Innovative covering liquids stabilising water-fat leachate from fresh Mozzarella cheese used as pizza topping. Foods, 13, 581*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodologii, obsłudze niezbędnego oprogramowania, walidacji danych, formalnej analizie, prowadzeniu badań, gromadzeniu i analizie statystycznej danych, przygotowaniu manuskryptu, redagowaniu i wprowadzaniu zmian po recenzjach oraz prezentacji graficznej danych.

Data 30.08.2024 r.

Podpis

Biegalski Jakub

Prof. UPP dr hab. Dorota Cais-Sokolińska
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Tomaszewska-Gras, J., Baranowska, H. M. (2021). The effect of freezing sheep's milk on the meltability, texture, melting and fat crystallization profiles of fresh pasta filata cheese. Animals, 11, 2740*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodologii, formalnej analizie, zapewnieniu zasobów niezbędnych do przeprowadzenia badań, przygotowaniu manuskryptu oraz pozyskaniu finansowania.

Data 30.09.2024

Podpis

.....
Dorota Sokol

Prof. UPP dr hab. Dorota Cais-Sokolińska
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Wawrzyniak, J. (2022). Effect of packaging and portioning on the dynamics of water-fat serum release from fresh pasta filata soft cheese. Foods, 11, 296*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, zapewnieniu zasobów niezbędnych do przeprowadzenia badań, przygotowaniu manuskryptu, redagowaniu i wprowadzaniu zmian po recenzjach oraz pozyskaniu finansowania.

Data 30.09.2024

Podpis

D. Cais-Sokolińska

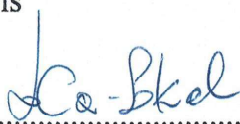
Prof. UPP dr hab. Dorota Cais-Sokolińska
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski. J., Cais-Sokolińska. D. (2022). Produkty z mleka owczego w kontekście oczekiwań konsumentów. Zagadnienia Doradztwa Rolniczego, 1, 107*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodologii, walidacji danych, formalnej analizie, prowadzeniu badań, zapewnieniu zasobów niezbędnych do przeprowadzenia badań, przygotowaniu manuskryptu oraz pozyskaniu finansowania.

Data 30.08.2024

Podpis



Prof. UPP dr hab. Dorota Cais-Sokolińska
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D. (2023). Production of sensorily acceptable pasta filata cheese with partial substitution of sheep's milk powder in different forms. Foods, 12, 1766*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodologii, walidacji danych, formalnej analizie, prowadzeniu badań, zapewnieniu zasobów niezbędnych do przeprowadzenia badań, przygotowaniu manuskryptu oraz pozyskaniu finansowania.

Data 30.09.2024

Podpis

Dca-Skel

Prof. UPP dr hab. Dorota Cais-Sokolińska
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D. (2024). Innovative covering liquids stabilising water-fat leachate from fresh Mozzarella cheese used as pizza topping. Foods, 13, 581*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodologii, walidacji danych, formalnej analizie, prowadzeniu badań, zapewnieniu zasobów niezbędnych do przeprowadzenia badań, przygotowaniu manuskryptu oraz pozyskaniu finansowania.

Data 30.09.2024.....

Podpis

D. Cais-Sokol

Prof. UPP dr hab. Jolanta Tomaszewska-Gras

Katedra Zarządzania Jakością i Bezpieczeństwem Żywności

Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Tomaszewska-Gras, J., Baranowska, H. M. (2021). The effect of freezing sheep's milk on the meltability, texture, melting and fat crystallization profiles of fresh pasta filata cheese. Animals, 11, 2740*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na walidacji danych i prowadzeniu badań.

Data30.08.2024

Podpis

.....Jolanta Gras

Prof. dr hab. Hanna Maria Baranowska
Katedra Fizyki i Biofizyki
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Tomaszewska-Gras, J., Baranowska H. M. (2021). The effect of freezing sheep's milk on the meltability, texture, melting and fat crystallization profiles of fresh pasta filata cheese. Animals, 11, 2740*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na prowadzeniu badań oraz gromadzeniu i analizie statystycznej danych.

Data 30.08.2024

Podpis



Dr hab. inż. Jolanta Wawrzyniak
Katedra Mleczarstwa i Inżynierii Procesowej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy *Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Wawrzyniak, J. (2022). Effect of packaging and portioning on the dynamics of water-fat serum release from fresh pasta filata soft cheese. Foods, 11, 296*, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu metodologii, gromadzeniu i analizie statystycznej danych oraz przygotowaniu manuskryptu.

Data 30.09.2024v.

Podpis



.....