UNIWERSYTET
WARMIŃSKO-MAZURSKI
W OLSZTYNIE

WYDZIAŁ NAUKI O ŻYWNOŚCI
KATEDRA MLECZARSTWA I ZARZĄDZANIA JAKOŚCIĄ

Krzysztof Siemianowski

Ocena przydatności mleka mikrofiltrowanego do produkcji twarogu kwasowego

Rozprawa doktorska
wykonana pod kierunkiem
prof. dr hab. inż. Jerzego Szpendowskiego

Olsztyn 2023

UNIVERSITY
OF WARMIA AND MAZURY
IN OLSZTYN

FACULTY OF FOOD SCIENCES
DEPARTMENT OF DAIRY SCIENCE AND QUALITY MANAGEMENT

Krzysztof Siemianowski

Evaluation of the suitability of microfiltered milk for acid tvorog production

Doctoral dissertation
written under the supervision of
prof. dr. habil. eng. Jerzy Szpendowski

Olsztyn 2023

Spis treści

Streszczenie 5
Summary 7
1. Wstęp 9
2. Przegląd piśmiennictwa 12
2.1. Proces produkcji twarogu kwasowego metodą tradycyjną 12
2.2. Rola pasteryzacji w procesie produkcji twarogu kwasowego 15
2.3. Wpływ pasteryzacji na składniki odżywcze i właściwości serowarskie mleka 16
2.4. Charakterystyka mikrofiltracji 18
2.5. Zastosowanie mikrofiltracji w procesie produkcji serów 20
3. Cel pracy 22
4. Przebieg doświadczenia i metody badań 23
4.1. Przebieg doświadczenia 23
4.2. Metody badań 24
4.2.1. Badania mleka 24
4.2.2. Badania twarogu kwasowego 26
4.2.3. Badania serwatki kwasowej 30
4.2.4. Analiza statystyczna 31
5. Omówienie i dyskusja wyników 32
5.1. Wpływ pasteryzacji oraz mikrofiltracji na jakość mikrobiologiczną i cytologiczną mleka 32
5.2. Wpływ pasteryzacji oraz mikrofiltracji na skład chemiczny i kwasowość mleka . 34
5.3. Przebieg ukwaszania mleka pasteryzowanego oraz mleka mikrofiltrowanego 35
5.4. Jakość mikrobiologiczna twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 37
5.5. Wydatek, skład chemiczny i kwasowość twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 39
5.6. Skład frakcyjny, aminokwasowy i wartość odżywcza białka twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 42
5.7. Skład mineralny twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 46
5.8. Mikrostruktura twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 48

5.9. Cechy sensoryczne twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 50
5.10. Skład chemiczny i kwasowość serwatek kwasowych z produkcji twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 51
6. Wnioski i stwierdzenia końcowe 54
Piśmiennictwo 56
Spis rysunków 66
Spis tabel 67

Streszczenie

Celem pracy była ocena przydatności mleka odtłuszczonego poddanego mikrofiltracji z użyciem membrany o wielkości porów 1,4 μm do produkcji twarogu kwasowego.

W doświadczeniu realizowanym w skali ćwierćtechnicznej przeprowadzono proces produkcji twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego (temp. 75 ^{o}C/30 s) oraz z mleka mikrofiltrowanego (temp. 50 ^{o}C, membrana o porach 1,4 μm) metodą tradycyjną.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że pasteryzacja i mikrofiltracja w porównywalnym stopniu redukowały w mleku odtłuszczonym ogólną liczbę drobnoustrojów, liczbę bakterii psychrotrofowych i liczbę pałeczek *Enterobacteriaceae*, przy czym proces mikrofiltracji pozwolił dodatkowo na niemal całkowite usunięcie komórek somatycznych i nie inaktywował fosfatazy alkalicznej. Pasteryzacja powodowała zwiększenie kwasowości czynnej, natomiast mikrofiltracja skutkowała zwiększeniem kwasowości czynnej oraz zmniejszeniem zawartości suchej masy, białka ogółem, laktozy, popiołu i kwasowości potencjalnej w mleku odtłuszczonym. Odnotowane w mleku odtłuszczonym po mikrofiltracji zmiany składu chemicznego i kwasowości nie ograniczały jego przydatności do produkcji twarogu kwasowego. Procesy ukwaszania mleka pasteryzowanego i mleka mikrofiltrowanego miały zbliżony przebieg.

Twarogi kwasowe z mleka mikrofiltrowanego oraz z mleka pasteryzowanego nie różniły się ogólną liczbą drobnoustrojów, liczbą *Escherichia coli*, liczbą gronkowców koagulazo-dodatnich oraz liczbą drożdży i pleśni, których wartości wskazywały na prawidłowy przebieg i właściwą higienę ich procesu produkcji. Twaróg kwasowy z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z twarogiem kwasowym z mleka pasteryzowanego wykazywał nieznacznie mniejszy wydatek, mniejszą zawartość suchej masy, białka ogółem, laktozy i popiołu oraz mniejsze kwasowości czynną i potencjalną, a nie różnił się zawartością tłuszczu. Wydatek, skład chemiczny i kwasowość twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego były właściwe dla tego rodzaju sera. W składzie frakcyjnym białka twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z twarogiem kwasowym z mleka pasteryzowanego stwierdzono większy udział białek serwatkowych ogółem, albuminy serum, immunoglobulin, proteoz i peptonu, mniejszy udział kazein ogółem i laktoglobuliny-β oraz taki sam udział laktoalbuminy-α. Białko

twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z białkiem twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego zawierało więcej tryptofanu i metioniny, mniej glicyny, waliny, leucyny, izoleucyny, seryny, argininy i kwasu asparaginowego, natomiast nie różniło się zawartością alaniny, proliny, fenyloalaniny, tyrozyny, treoniny, cysteiny, histydyny, lizyny i kwasu glutaminowego. Niezależnie od sposobu przygotowania mleka do produkcji, białko otrzymanych twarogów kasowych zawierało wszystkie aminokwasy niezbędne w ilościach pokrywających wartości przewidziane w białku wzorcowym FAO/WHO/UNC (2007). Twaróg kwasowy z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z twarogiem kwasowym z mleka pasteryzowanego zawierał więcej cynku i miedzi oraz mniej wapnia, fosforu, magnezu, sodu, potasu, żelaza i manganu. Twarogi kwasowe wykazywały amorficzną mikrostrukturę. Matryca białkowa twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego była zbudowana z większych agregatów kazeinowych i wykazywała mniejszą porowatość w stosunku do twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego. Niezależnie od sposobu przygotowania mleka do produkcji, otrzymane twarogi kwasowe charakteryzowały się brakiem wypływu serwatki; dużą jednorodnością, bardzo dużą zwartością i umiarkowaną ziarnistością struktury; bardzo dużą intensywnością i jednolitością barwy białej; umiarkowanym smakiem kwaśnymi i brakiem smaku obcego; umiarkowanym zapachem kwaśnym i brakiem zapachu obcego. Cechy sensoryczne wyprodukowanych w doświadczeniu twarogów kwasowych były właściwe dla twarogu kwasowego.

Serwatka kwasowa z produkcji twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z serwatką kwasową z produkcji twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego zawierała mniej suchej masy, laktozy, popiołu oraz wykazywała mniejsze kwasowości czynną i potencjalną, natomiast nie różniła pod względem zawartości białka ogółem i tłuszczu. Serwatka kwasowa z produkcji twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego wykazywała skład chemiczny i kwasowość właściwe dla tego rodzaju produktu ubocznego.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań stwierdzono, że mleko odtłuszczone poddane mikrofiltracji z użyciem membrany o wielkości porów 1,4 μm wykazuje przydatność do produkcji twarogu kwasowego metodą tradycyjną.

Słowa kluczowe: mleko odtłuszczone, pasteryzacja, mikrofiltracja, twaróg kwasowy, serwatka kwasowa, ukwaszanie mleka, jakość mikrobiologiczna, skład chemiczny, właściwości fizykochemiczne, wartość odżywcza białka

Summary

The aim of this study was to evaluate the suitability of skimmed milk, subjected to microfiltration with the use of a membrane with 1.4 μm pore size, for acid tvorog production.

In a small-scale production trial, acid tvorog was made from pasteurised milk (temp. 75°C/30 s) and microfiltered milk (temp. 50°C, membrane with pore size of 1.4 μm), by the traditional method.

The results of the study indicate that pasteurisation and microfiltration were equally effective in reducing total microbial counts and the counts of psychrotrophic bacteria and *Enterobacteriaceae* in skimmed milk. In addition, microfiltration led to a nearly complete removal of somatic cells, and it did not inactivate alkaline phosphatase. Pasteurisation increased active acidity, whereas microfiltration increased active acidity and decreased the content of dry matter, total protein, lactose, and ash, and reduced potential acidity in skimmed milk. The changes in the chemical composition and acidity of skimmed milk, noted after microfiltration, did not affect its suitability for acid tvorog production. Acidification of pasteurised and microfiltered milk followed a similar pattern.

Acid tvorogs made from microfiltered and pasteurised milk did not differ in total microbial counts or the counts of *Escherichia coli*, coagulase-positive staphylococci, yeasts and moulds, whose values confirmed that the production process and sanitary conditions were adequate. In comparison with acid tvorog made from pasteurised milk, acid tvorog made from microfiltered milk was characterised by a slightly lower yield, a lower content of dry matter, total protein, lactose and ash, lower active and potential acidity, and similar fat content. The yield, chemical composition and acidity of acid tvorog made from microfiltered milk were typical of this type of cheese. In comparison with acid tvorog made from pasteurised milk, the protein fractions of acid tvorog made from microfiltered milk were characterised by higher proportions of total whey proteins, serum albumin, immunoglobulins, proteoses and peptone, lower proportions of total caseins and β-lactoglobulin, and an identical proportion of α-lactalbumin. A comparison of protein in acid tvorogs made from microfiltered and pasteurised milk revealed that the former contained more tryptophan and methionine, less glycine, valine, leucine, isoleucine, serine, arginine and aspartic acid, whereas no differences were found in the content of alanine, proline, phenylalanine, tyrosine, threonine, cysteine, histidine, lysine

or glutamic acid. Regardless of milk preparation for production, the protein of the obtained acid tvorogs contained all essential amino acids in the amounts consistent with those found in the complete protein (FAO/WHO/UNC 2007). In comparison with acid tvorog made from pasteurised milk, acid tvorog made from microfiltered milk had a higher content of zinc and copper, and a lower content of calcium, phosphorus, magnesium, sodium, potassium, iron and manganese. The analysed acid tvorogs had an amorphous microstructure. The protein matrix of acid tvorog made from microfiltered milk was composed of larger casein aggregates, and was less porous than the protein matrix of acid tvorog made from pasteurised milk. Regardless of milk preparation for production, the obtained acid tvorogs were characterised by the absence of expelled whey, they were homogeneous, their structure was compact and moderately granular, their colour was white, very intense and uniform, their taste was moderately sour, with no off-flavours, and their aroma was moderately sour, with no off-odours. The sensory properties of the acid tvorogs produced in the experiment were typical of acid tvorog.

In comparison with acid whey generated during the production of acid tvorog from pasteurised milk, acid whey generated during the production of acid tvorog from microfiltered milk was characterised by a lower content of dry matter, lactose and ash, lower active and potential acidity, and a similar content of total protein and fat. The chemical composition and acidity of acid whey generated during the production of acid tvorog from microfiltered milk were typical of this by-product.

The results of the study indicate that skimmed milk, subjected to microfiltration with the use of a membrane with 1.4 μm pore size, is suitable for acid tvorog production by the traditional method.

Key words: skimmed milk, pasteurisation, microfiltration, acid tvorog, acid whey, milk acidification, microbiological quality, chemical composition, physicochemical properties, nutritional value of protein

1. Wstęp

Sery twarogowe stanowią liczną i dość zróżnicowaną grupę produktów mleczarskich [Bohdziewicz i Śmietana, 2007; Rymaszewski i Śmietana, 1997; Śmietana i in., 1994a; Ziarno i Lenart, 2016]. W Polsce w 2006 roku prawie 80 % zakładów przetwarzających mleko wytwarzało sery twarogowe, co świadczy o dużym zapotrzebowaniu na tego rodzaju produkty [Bohdziewicz i Śmietana, 2007]. Produkcja serów twarogowych ogółem w Polsce w 2021 roku osiągnęła 509,2 tys. ton, odnotowując od 2010 roku wzrost o 37,3 % [Szajner, 2022a]. Według wyliczeń, statystyczny Polak w 2021 roku spożył 5,88 kg serów twarogowych, co odpowiadało 50,52 % spożycia serów ogółem [Szajner, 2022b].

Spośród serów twarogowych wyróżnić należy twaróg kwasowy, który posiada ugruntowaną pozycję na rynku produktów mleczarskich w krajach Europy Środkowej i Wschodniej [Bohdziewicz, 2009]. Produkt ten jest potocznie nazywany ,,serem białym". Zaliczany jest do serów miękkich, niedojrzewających [Rymaszewski i Śmietana, 1997; Ziarno i Lenart, 2016]. W zależności od zawartości tłuszczu, wyróżnić można twarogi kwasowe: chude, półtłuste, tłuste i śmietankowe [Stasiak i in., 2015]. Popyt na sery twarogowe uwarunkowany jest tradycją, aspektami ekonomicznymi i przyzwyczajeniami żywieniowymi [Górska-Warsewicz, 2005]. Tradycyjny wizerunek twarogu kwasowego sprawia, że produkt ten w opinii konsumentów jest uznawany za naturalny i bardzo wartościowy odżywczo [Stasiak i in., 2015]. Twaróg kwasowy wykazuje stosunkowo małą wartość energetyczną oraz jest bogaty w łatwostrawne i pełnowartościowe białko. Zawiera również lekkostrawny tłuszcz mlekowy, kwas mlekowy, cukry, składniki mineralne (głównie wapń i fosfor), witaminy (zwłaszcza B_2 i B_{12}) [Siemianowski i Szpendowski, 2014]. Twaróg kwasowy ma głęboko zakorzenione i uniwersalne wykorzystanie kulinarne. Może być spożywany w postaci nieprzetworzonej, jak również stanowić bazę do past kanapkowych oraz składnik receptur potraw i deserów, np. klusek leniwych, serników, nadzień do: pierogów, naleśników, racuchów, pączków, strucli, rogali, bułek drożdżowych [Siemianowski, 2014].

Od lat 90. XX wieku obserwuje się wyraźny postęp techniczno-technologiczny w procesie produkcji twarogu kwasowego. Mechanizacja i automatyzacja linii produkcyjnych pozwoliły na zwiększenie wydajności produkcji oraz poprawę i standaryzację jakości produktów finalnych [Dolatowski i Stasiak, 2000; Śmietana i in.,

1998; Śmietana i in., 2003; Ziółkowski, 2013]. Wyeliminowano konieczność prowadzenia zakwasów, wprowadzając skoncentrowane kultury starterowe bakterii fermentacji mlekowej w postaci liofilizowanej i głęboko mrożonej, przeznaczone do bezpośredniego dodawania do mleka [Ziarno, 2007; Żylińska i in., 2014]. Opracowanie metod wapniowo-termicznej [Szpendowski i in., 2007; Śmietana i in., 1994b] oraz z użyciem transglutaminazy [Bohdziewicz, 2010] umożliwiło zwiększenie wykorzystania białka surowca w produkcie, czego efektem jest wzrost wydatku i podniesienie wartości odżywczej twarogu kwasowego. Zaproponowano również rozwiązania pozwalające na otrzymywanie twarogów kwasowych charakteryzujących się zwiększoną zawartością wapnia [Kitlas i Ziarno, 2002; Szpendowski i in., 2005a], właściwościami probiotycznymi [Dmytrów, 2015; Krajewska-Kamińska i in., 2007], czy zredukowaną zawartością laktozy [Godula i in., 2018]. Ważnym kierunkiem postępu było także wdrożenie metod pakowania próżniowego i w modyfikowanej atmosferze, dzięki którym została znacznie wydłużona trwałość twarogu kwasowego podczas przechowywania w warunkach chłodniczych [Panfil-Kuncewicz, 2010].

Jednym z aktualnych kierunków rozwoju w przemyśle spożywczym jest wprowadzanie technologii łagodnego przetwarzania surowców [Miśniakiewicz, 2017]. Jej koncepcja przewiduje dobranie operacji w sposób sprzyjający jak największemu zachowaniu naturalności surowca, przy jednoczesnym zapewnieniu trwałości i bezpieczeństwa zdrowotnego produktu. Otrzymywane z przetwarzanych w taki sposób surowców produkty są poszukiwane przez konsumentów na rynku żywności [Nowicka i in., 2014; Świderski i Waszkiewicz-Robak, 2008].

W procesie produkcji twarogu kwasowego mleko na etapie przygotowania do przerobu poddawane jest pasteryzacji, której zasadniczym celem jest redukcja liczebności mikroflory [Cais i Wojciechowski, 1996; Rymaszewski i Śmietana, 1997]. Wysoka temperatura powoduje jednak w mleku pewne niekorzystne zmiany, w tym straty składników odżywczych, zmienia jego naturalny smak, zapach i barwę oraz pogarsza niektóre właściwości technologiczne. Z powyższych względów poszukuje się nietermicznych metod mogących zapewnić odpowiednią jakość mikrobiologiczną mleka, przy zachowaniu jego właściwości odżywczych i sensorycznych [Dudzińska i in., 2014].

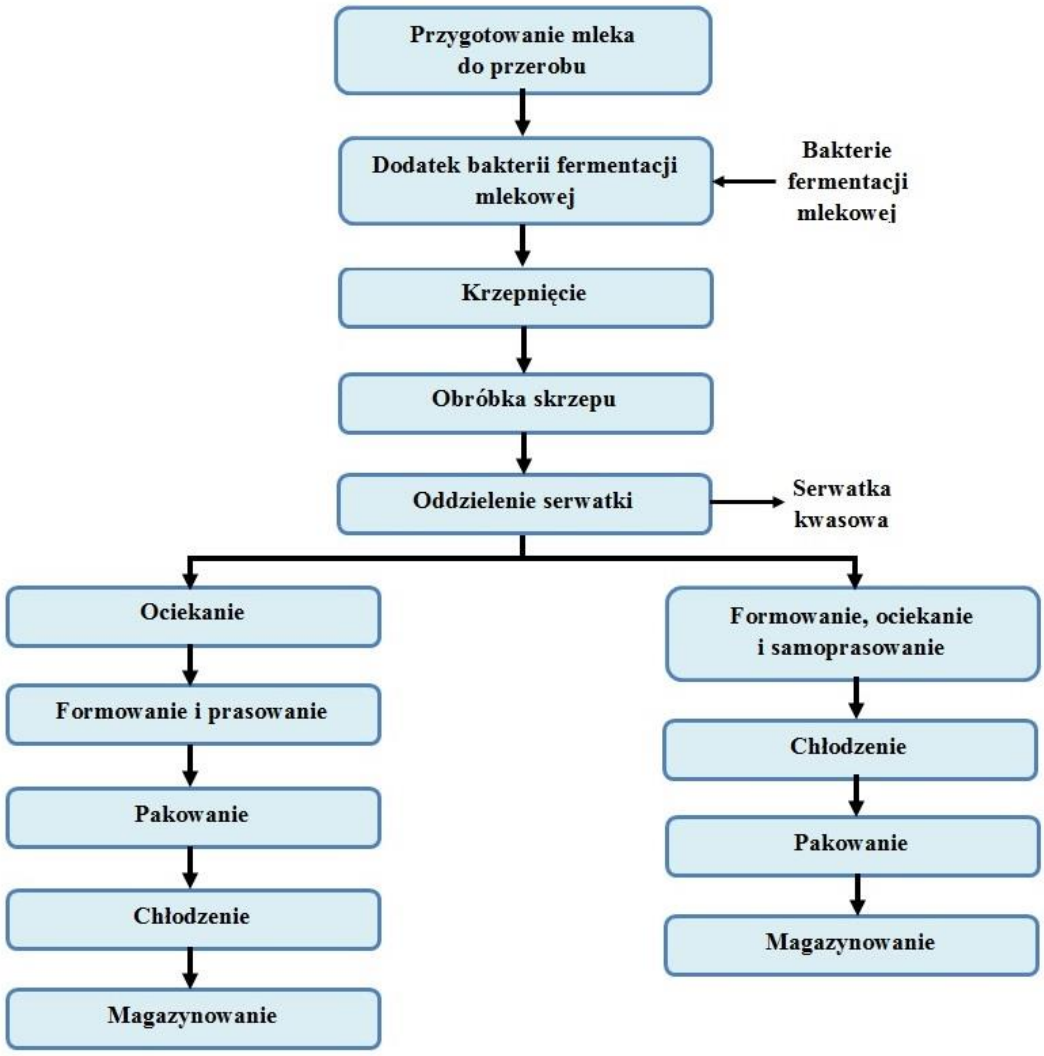
W przypadku mleka odtłuszczonego, alternatywą dla pasteryzacji może być mikrofiltracja. Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że proces mikrofiltracji realizowany z użyciem membran o średnicy porów 1,4 μm pozwala na bardzo

efektywne usuwanie z mleka odtłuszczonego bakterii, przetrwalników i komórek somatycznych [Awad i in., 2010; Hoffmann i in., 2006; Pafylias i in., 1996; Panopoulos i in., 2020; Skrzypek i in., 2002; Wang i in., 2019; Zhang i in., 2016], zachowując jego naturalne właściwości, dzięki czemu tak przygotowany surowiec wykazuje duży potencjał do wytwarzania atrakcyjnych dla konsumentów produktów mleczarskich [Fernández García i in., 2013; Saboya i Maubois, 2000].

2. Przegląd piśmiennictwa

2.1. Proces produkcji twarogu kwasowego metodą tradycyjną

Nie ma jednoznacznej definicji twarogu kwasowego. Zwykle twarogiem kwasowym przyjęto nazywać częściowo odwodniony, poprzez odpowiednią obróbkę, skrzep mleka powstały wskutek ukwaszania przez bakterie fermentacji mlekowej [Bohdziewicz, 2009; Bohdziewicz i Śmietana, 2007]. Odwadnianie skrzepu, zachodzące podczas obróbki gęstwy, ociekania i prasowania, ma na celu otrzymanie produktu o określonej zawartości wody, przy jednoczesnym nadaniu pożądanej struktury i konsystencji [Holanowski, 1986]. Sekwencję etapów w procesie produkcji twarogu kwasowego metodą tradycyjną przedstawia schemat na rysunku 1.



Rysunek 1. Etapy w procesie produkcji twarogu kwasowego metodą tradycyjną według dwóch wariantów [opracowanie własne na podstawie: Śmietana i in., 1998; Śmietana i in., 2003]

Surowcem do produkcji twarogu kwasowego jest mleko surowe, spełniające wymagania jakościowe określone w przepisach prawnych. Mleko surowe po podgrzaniu do temp. 45 ^{o}C kierowane jest do wirowania, podczas którego ulega odtłuszczeniu oraz ewentualnemu oczyszczeniu. Zależnie od oczekiwanej zawartości tłuszczu w produkcie finalnym do przetwarzania może być wykorzystywane mleko odtłuszczone albo o normalizowanej zawartości tłuszczu, poprzez zmieszanie w odpowiedniej proporcji mleka odtłuszczonego z mlekiem pełnym lub śmietanką zawierającą do 20 % tłuszczu [Holanowski, 1986; Trzaska, 1992]. Następnie surowiec poddawany jest pasteryzacji w temp. 72 - 85 ^{o}C/15 s i chłodzeniu [Holanowski, 1986; Szpendowski i in., 2007; Śmietana i in., 1998; Trzaska, 1992].

Do spasteryzowanego mleka, po osiągnięciu temperatury przewidzianej w metodzie krzepnięcia, wprowadzane są kultury bakterii fermentacji mlekowej, co może być realizowane przez dodatek zakwasu roboczego albo skoncentrowanych kultur starterowych [Rymaszewski i Śmietana, 1997; Żylińska i in., 2014]. W skład mikroflory technicznej stosowanej do produkcji twarogu kwasowego wchodzą mezofilne paciorkowce: kwaszące *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, kwasząco-aromatyzujące *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* i aromatyzujące *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* [Dmytrów, 2015; Ziarno, 2007; Żylińska i in., 2014]. Krzepnięcie kwasowe mleka może być realizowane metodami o czasie procesu długim albo krótkim. W metodzie z długim czasem krzepnięcia do mleka o temp. 20 - 28 ^{o}C dodawane są kultury bakterii fermentacji mlekowej i jest ono pozostawiane w tych warunkach na 12 - 16 h w celu powstania skrzepu. Metoda z krótkim czasem krzepnięcia przewiduje wprowadzenie do mleka o temp. 32 - 35 ^{o}C zwiększonej ilości kultur bakterii fermentacji mlekowej, co umożliwia uzyskanie skrzepu po 6 - 8 h [Żylińska i in., 2014].

Powstanie skrzepu kwasowego mleka jest efektem jego ukwaszenia przez bakterie fermentacji mlekowej do wartości pH 4,6, przy której białko kazeinowe osiąga punkt izoelektryczny. W tych warunkach zewnętrzny ładunek elektryczny micel kazeinowych jest równy zeru i tracą one zdolność do wiązania wody, w następstwie czego ulegają agregacji. Powstaje wtedy żel, w którego wolnych przestrzeniach struktury sieciowej zamknięta jest faza wodna mleka wraz z rozproszonymi składnikami [Lucey, 2004; Rymaszewski i Śmietana, 1997; Troch i in., 2017]. Dojrzały skrzep kwasowy charakteryzuje się kwasowością miareczkową rzędu 30 - 34 ^{o}SH,

konsystencją delikatnej galarety, jednolitym wyglądem, bez pęknięć, szczelin i wydzielania serwatki, a przy załamaniu daje przełom o gładkiej powierzchni ścianek [Holanowski, 1986; Rymaszewski i Śmietana, 1997; Trzaska, 1992; Żylińska i in., 2014].

Przed przystąpieniem do obróbki skrzepu zaleca się jego lekkie podgrzanie, aby spowodować odejście od ścian zbiornika procesowego. Po pojawieniu się klarownej serwatki przy powierzchni, skrzep jest krojony na prostopadłościany, a następnie dalej rozdrabniany poprzez delikatne mieszanie. Ogrzewanie gęstwy prowadzone jest do temp. 30 - 40 ^{o}C, podgrzewając ją w tempie ok. 1 ^{o}C/5 - 10 min. W czasie obróbki ziarna twarogowe wydzielając serwatkę ulegają stopniowemu osuszaniu [Holanowski, 1986; Rymaszewski i Śmietana, 1997; Trzaska, 1992]. Ogrzewanie gęstwy trwa do 2 h [Holanowski, 1986; Trzaska, 1992], a kwasowość potencjalna serwatki po jego zakończeniu nie powinna przekraczać 28 ^{o}SH [Trzaska, 1992].

Po oddzieleniu serwatki ziarna twarogowe poddawane są ociekaniu, które może być realizowane na stołach twarożkarskich, w prasach wyłożonych chustami, w woreczkach ociekowych, w perforowanych formach [Holanowski, 1986; Rymaszewski i Śmietana, 1997; Trzaska, 1992; Ziarno i Lenart, 2016]. Zabieg ten ma na celu dalsze odwodnienie masy twarogowej, a także jej częściowe wychłodzenie [Holanowski, 1986]. Następnie masę twarogową poddaje się prasowaniu, stopniowo zwiększając nacisk, np. od 10 do 30 N/kg, co zapewnia równomierny odpływ serwatki. Podczas prasowania twaróg kwasowy może być formowany na płaski blok i później krojony na porcje, albo bezpośrednio formowany w kształcie np. klina, kostki, główki. Po zapakowaniu produkt musi zostać szybko wychłodzony do temp. 2 - 8 ^{o}C, aby zapobiec przekwaszeniu [Rymaszewski i Śmietana, 1997; Ziarno i Lenart, 2016].

Zastosowanie form o odpowiedniej fakturze i perforacji gniazd umożliwia poddanie masy twarogowej samoprasowaniu, przebiegającemu jednocześnie z formowaniem i ociekaniem. W tym rozwiązaniu standaryzator oddziela serwatkę od ziaren twarogowych, które następnie dozuje do perforowanych gniazd form. Zblokowane formy są dwukrotnie odwracane, a czas ociekania wynosi 30 - 40 min. W takich warunkach masa twarogowa przyjmuje kształt gniazda formy, równomiernie ocieka oraz uzyskuje jednolitą, zwartą strukturę. Po zakończeniu samoprasowania twarogi kwasowe są wychładzane w formach do temp. 4 - 6 ^{o}C, a następnie pakowane [Śmietana i in., 1998; Śmietana i in., 2003; Ziółkowski, 2013].

Wychłodzony zapakowany twaróg kwasowy kierowany jest do magazynu umożliwiającego przechowywanie w temp. 2 - 8 ^{o}C [Rymaszewski i Śmietana, 1997; Ziarno i Lenart, 2016].

Prawidłowo wyprodukowany twaróg kwasowy charakteryzuje się smakiem i zapachem czystym, łagodnym, lekko kwaśnym; strukturą i konsystencją jednolitą, zwartą, bez grudek, lekko ziarnistą (w przypadku produktu chudego); barwą białą do kremowej, jednolitą w całej masie [Holanowski, 1986; Żylińska i in., 2014].

2.2. Rola pasteryzacji w procesie produkcji twarogu kwasowego

Mleko surowe zawiera różnorodną mikroflorę. W jej skład wchodzą bakterie z rodzajów: *Lactococcus, Streptococcus, Pseudomonas, Lactobacillus, Leuconostoc, Acinetobacter, Brevibacterium, Staphylococcus, Pseudoalteromonas, Escherichia, Bifidobacterium, Enterococcus, Aeromonas, Corynebacterium, Propionibacterium* i innych, oraz w bardzo małych ilościach drożdże i pleśnie. W mleku surowym mogą również występować drobnoustroje chorobotwórcze dla człowieka, np. *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, shigatoksyczne szczepy *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* [Quigley i in., 2013].

W procesie produkcji twarogu kwasowego metodą tradycyjną mleko poddawane jest pasteryzacji HTST (ang. High Temperature Short Time) w temp. 72 - 75 ^{o}C/15 s [Szpendowski i in., 2007; Ziarno i Lenart, 2016] albo VHT (ang. Very High Temperature) w temp. 80 - 85 ^{o}C/15 s [Holanowski, 1986; Śmietana i in., 1998; Trzaska, 1992; Ziarno i Lenart, 2016]. Prawidłowo przeprowadzona pasteryzacja niszczy całkowicie wegetatywne formy drobnoustrojów chorobotwórczych i prawie całkowicie wegetatywne formy drobnoustrojów saprofitycznych oraz inaktywuje część enzymów [Claeys i in., 2013]. Taki efekt jest konieczny dla zapewnienia właściwego przebiegu procesu produkcyjnego oraz bezpieczeństwa zdrowotnego produktu i stabilności jego jakości podczas przechowywania [Cais i Wojciechowski, 1996; Quigley i in., 2013; Skrzypek i in., 2002].

Proces produkcji twarogu kwasowego metodą wapniowo-termiczną przewiduje dodanie do mleka chlorku wapnia w ilości 0,015 - 0,04 %, a następnie jego pasteryzację w temp. 90 - 92 ^{o}C/15 s. W tej metodzie pasteryzacja poza niszczeniem drobnoustrojów ma również doprowadzić do denaturacji białek serwatkowych, które w wyniku integracji z białkami kazeinowymi są włączane do sera. Metoda ta pozwala na

zwiększenie wydatku produktu o 10 - 15 %, przy jednoczesnym podwyższeniu jego wartości odżywczej [Szpendowski i in., 2007; Śmietana i in., 1994b].

2.3. Wpływ pasteryzacji na składniki odżywcze i właściwości serowarskie mleka

Mleko surowe zawiera tłuszcz, białko, laktozę, składniki mineralne i witaminy [Jaworski i Kuncewicz, 2008]. Poszczególne składniki odżywcze mleka są odporne w różnym stopniu na warunki temperaturowo-czasowe stosowane podczas pasteryzacji.

Tłuszcz w mleku występuje w postaci kuleczek tłuszczowych, które są rozproszone w jego fazie wodnej. W skład tłuszczu mlekowego wchodzą: tłuszcze proste (triacyloglicerole 96 - 99 %, diacyloglicerole 0,3 - 1,6 %, monoacyloglicerole 0,002 - 0,1%), tłuszcze złożone (fosfolipidy 0,2 - 1,0 %, cerebrozydy 0,01 - 0,07 %), pochodne (wolne kwasy tłuszczowe 0,1 - 0,4 %) i substancje towarzyszące (sterole 0,2 - 0,4 %, karotenoidy, witaminy A, D, E i K) [Jaworski i Kuncewicz, 2008]. Pasteryzacja mleka wpływa w małym stopniu na skład tłuszcz mlekowego. Costa i in. [2011] stwierdzili, że poddanie mleka pasteryzacji w temp. 75 °C/15 s powodowało w tłuszczu zmiany udziału kwasów heptadekenowego (C17:1) i elaidynowego (C18:1 n-9t). Natomiast Pestana i in. [2015], pasteryzując mleko w takich samych warunkach, odnotowali zmniejszenie zawartości tłuszczu oraz zmiany w jego składzie udziału kwasów: masłowego (C4:0), kapronowego (C6:0), kaprylowego (C8:0) i arachidowego (C20:0).

W mleku wyróżnia się dwie grupy białek, tj. kazeiny i białka serwatkowe, stanowiące odpowiednio ok. 80 % i 20 % białka ogółem. Wśród białek kazeinowych wyodrębnia się frakcje: -α_{s1}, -α_{s2}, -β i -κ. Kazeiny występują w mleku głównie w postaci miceli (ok. 95 %) tworzących roztwór koloidalny. Białka kazeinowe wykazują dużą stabilność podczas ogrzewania w mleku o naturalnej kwasowości, a ich koagulacja następuję dopiero po długotrwałym ogrzewaniu w temp. > 100 ^{o}C. Do białek serwatkowych należą: laktoglobulina-β, laktoalbumina-α, albumina serum, immunoglobuliny, proteozy i peptony oraz inne białka. Białka serwatkowe są rozproszone w fazie wodnej mleka [Jaworski i Kuncewicz, 2008]. Ogrzewanie mleka w temp. 60 ^{o}C i wyższej powoduje ich denaturację [Donato i Guyomarc'h, 2009]. Wrażliwość poszczególnych białek serwatkowych na ogrzewanie jest następująca: laktoalbumina-α < laktoglobulina-β < albumina serum < immunoglobuliny. Ogrzewanie w temp. 80 ^{o}C/4 s powoduje denaturację ok. 33 % laktoglobuliny-β i ok. 2 %

laktoalbuminy-α, natomiast w temp. 90 ^{o}C/4 s denaturuje ok. 72 % laktoglobuliny-β i ok. 13 % laktoalbuminy-α [Sakkas i in., 2014]. Podczas ogrzewania mleka w temp. > 70 °C zdenaturowane białka serwatkowe łączą się w agregaty oraz tworzą kompleksy z kazeinami. Indukowane termicznie kompleksy zdenaturowanych białek serwatkowych z kazeinami, tworzone głównie przez laktoglobulinę-β i kazeinę-κ, pogarszają podatność mleka na krzepnięcie enzymatyczne oraz zmniejszają zdolność skrzepu do synerezy [Donato i Guyomarc'h, 2009; Raynal i Remeuf, 1998].

Mleko poddane wysokiej pasteryzacji wykazuje posmak ogrzewania, którego przyczyną jest obecność wolnych grup sulfhydrylowych, pochodzących ze zdenaturowanych białek serwatkowych [Claeys i in., 2013]. W mleku po pasteryzacji stwierdza się zmniejszenie ilości dostępnej lizyny, której straty mogą sięgać 2 % [Mehta i Deeth, 2016]. Podczas pasteryzacji mleka cześć białek, głównie serwatkowych, przywiera do powierzchni grzejnej wymiennika ciepła tworząc osad i jest tracona. Białko w składzie tego typu osadu stanowi 50 - 70 % [Bansal i Chen, 2006].

Laktoza jest dwucukrem zbudowanym z glukozy i galaktozy. W mleku laktoza jest rozpuszczona w fazie wodnej. Pod wpływem ogrzewania w mleku zachodzą reakcje Maillarda [Jaworski i Kuncewicz, 2008]. We wczesnym etapie tych reakcji tworzone są związki laktozy z aminokwasami, które następnie ulegają dalszym przemianom, a charakterystycznym produktem dla tego etapu jest laktozolizyna [Mehta i Deeth, 2016]. W celu oceny zaawansowania wczesnego etapu reakcji Maillarda oznaczana jest furozyna, której zawartość w mleku ogrzewanym w temp. 80 ^{o}C/4 s wynosi 8,9 mg/100 g białka [Sakkas i in., 2014]. Następstwem reakcji Maillarda jest zmniejszenie wartości odżywczej i pogorszenie właściwości organoleptycznych mleka [Jaworski i Kuncewicz, 2008; Mehta i Deeth, 2016]. Podczas ogrzewania mleka część laktozy ulega izomeryzacji do laktulozy, która nie występuje w mleku surowym [Claeys i in., 2013; Jaworski i Kuncewicz, 2008]. Z badań Feinberga i in. [2006] wynika, że średnia zawartość laktulozy w mleku po pasteryzacji w temp. 74 ^{o}C/30 s wynosi 15 mg/dm^3, natomiast po pasteryzacji w temp. 85 ^{o}C/30 s jest to 31 mg/dm^3.

Ogrzewanie powoduje zmiany w układzie składników mineralnych mleka. Na skutek pasteryzacji w mleku następuje zmniejszenie ilości rozpuszczalnych form wapnia i fosforu w wyniku powstawania oraz wytrącania się nierozpuszczalnego fosforanu wapniowego [Gaucheron, 2005; Jaworski i Kuncewicz, 2008; Pouliot i in., 1989]. Osad tworzący się na powierzchni grzejnej wymiennika ciepła w czasie pasteryzacji mleka składa się w 30 - 40 % ze składników mineralnych [Bansal i Chen,

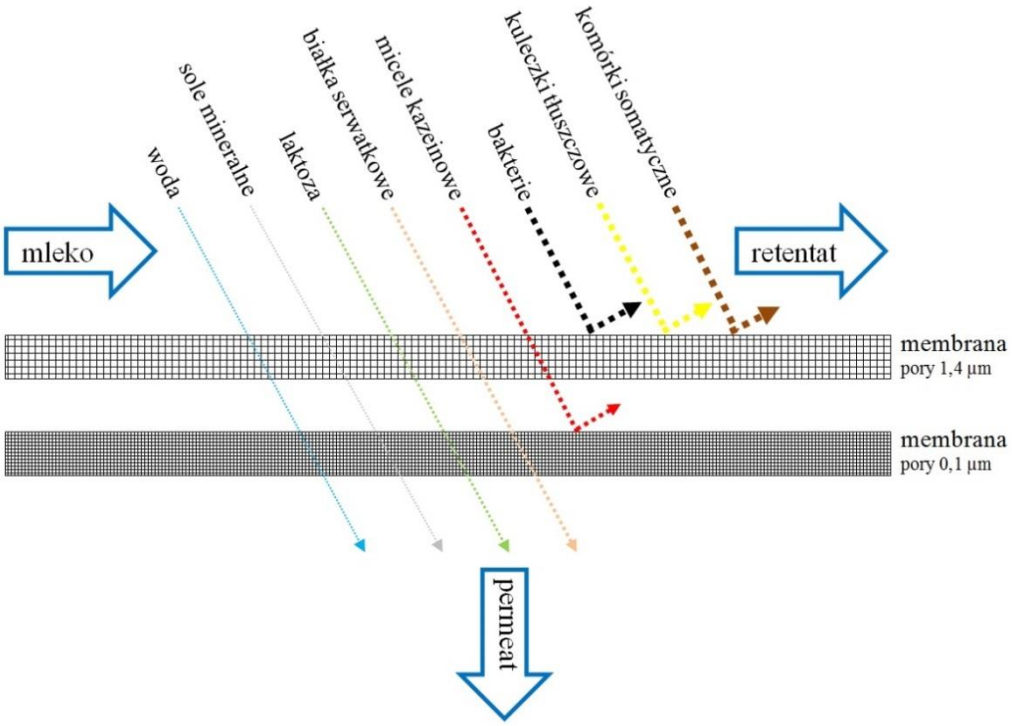
2006]. Straty wapnia powodują zmniejszenie zdolności mleka do krzepnięcia enzymatycznego i tworzenia zwięzłego skrzepu [Raynal i Remeuf, 1998]. W serowarstwie ubytki wapnia jonowego w mleku spowodowane pasteryzacją są uzupełniane dodatkiem chlorku wapniowego [Jaworski i Kuncewicz, 2008]. W badaniach prowadzonych przez Nazeri i in. [2015] wykazano, że poddanie mleka pasteryzacji w temp. 73 ^{o}C/15 s powoduje zmniejszenie zawartości jodu o 52,7 %.

Mleko zawiera witaminy rozpuszczalne w tłuszczu: A (retinol), D (cholekalcyferol), E (α-tokoferol), K (menachinon), oraz rozpuszczalne w wodzie: B_1 (tiaminę), B_2 (ryboflawinę), B_3 (niacynę), B_5 (kwas pantotenowy), B_6 (pirydoksal, pirydoksaminę i pirydoksynę), B_7 (biotynę), B_9 (foliany), B_{12} (kobalaminę), C (kwas L-askorbinowy) [Jaworski i Kuncewicz, 2008]. Kilka witamin rozpuszczalnych w wodzie wykazuje dużą wrażliwość na ogrzewanie. W badaniach Burtona i in. [1967], w mleku poddanym pasteryzacji w temp. 71,7 ^{o}C/15 s straty sięgały 9 % witaminy B_1, 5 % witaminy B_6, 5 % witaminy B_{12} i 10 % folacyny. Z kolei Haddad i Loewenstein [1983] zaobserwowali w mleku po pasteryzacji w temp. 80 ^{o}C/16 s straty 9,4 % witaminy B_1, 1,5 % witaminy B_2 i 21,3 % witaminy C.

2.4. Charakterystyka mikrofiltracji

Mikrofiltracja jest procesem rozdziału składników cieczy za pomocą membran o średnicy porów od 0,1 do 10 μm, realizowanym przy ciśnieniu do 0,3 MPa. Podczas mikrofiltracji rozdział składników zachodzi na zasadzie efektu sitowego. Składniki mniejsze od porów membrany przenikają przez nią tworząc strumień permeatu, natomiast składniki większe od porów membrany są zatrzymywane na jej powierzchni w strumieniu retentatu [Carter i in., 2021; Charcosset, 2021; Dec i Chojnowski, 2013; Saboya i Maubois, 2000]. Selektywność membran do mikrofiltracji wobec składników mleka przedstawia rysunek 2.

Zastosowanie membrany o wielkości porów 1,4 μm pozwala usunąć z mleka odtłuszczonego duże kuleczki tłuszczowe, drobnoustroje i komórki somatyczne [Awad i in., 2010; Hoffmann i in., 2006; Pafylias i in., 1996; Panopoulos i in., 2020; Skrzypek i in., 2002; Wang i in., 2019; Zhang i in., 2016]. Z kolei membrana o wielkości porów 0,1 μm umożliwia oddzielenie kazeiny micelarnej od białek serwatkowych [Hurt i in., 2010; Jørgensen i in., 2016]. Prowadzenie mikrofiltracji w temp. 50 ^{o}C pozwala na zachowanie białek serwatkowych w stanie natywnym [Jørgensen i in., 2016].



Rysunek 2. Rozdział składników mleka za pomocą membran stosowanych w procesie mikrofiltracji [opracowanie własne na podstawie: Carter i in., 2021]

Standardowo instalacja do mikrofiltracji składa się ze zbiornika zasilającego, pomp zasilającej i cyrkulacyjnych, modułu membranowego, wymiennika ciepła oraz urządzeń pomiarowych i sterujących [Saboya i Maubois, 2000]. W przetwórstwie mleka do mikrofiltracji wykorzystywane są membrany ceramiczne w module rurowym oraz polimerowe w module spiralnie zwijanym. Stosowane membrany ceramiczne mają strukturę asymetryczną, złożone są z bardzo cienkiej wierzchniej warstwy aktywnej naniesionej na makroporowatą warstwę nośną [Dec i Chojnowski, 2013; Saboya i Maubois, 2000].

Proces mikrofiltracji prowadzony jest w przepływie krzyżowym, podczas którego strumień zasilający płynie z dużą prędkością równolegle do powierzchni membrany, a strumień permeatu przepływa prostopadle do membrany. W mikrofiltracji mleka z użyciem membran ceramicznych zalecane są prędkości przepływu surowca rzędu 4 - 8 m/s. Zapobiega to nagromadzeniu zatrzymywanych składników w sąsiedztwie membrany (polaryzacja stężeniowa) i jej zarastaniu (fouling), których konsekwencją jest zmniejszenie wydajności procesu i zmiana selektywności rozdziału [Carter i in., 2021; Charcosset, 2021; Dec i Chojnowski, 2013; Fernández García i in., 2013]. W celu

wyeliminowania negatywnego wpływu postępującego spadku ciśnienia strumienia zasilającego wzdłuż membrany na przebieg procesu mikrofiltracji opracowano koncepcję UTP (ang. uniform transmembrane pressure). Rozwiązanie to przewiduje wypełnienie komory permeatu wewnątrz modułu granulkami polimerowymi i przepływ permeatu w pętli recyrkulacyjnej równolegle do kierunku przepływu retentatu, dzięki czemu uzyskiwane jest równomierne i niskie ciśnienie transmembranowe na całej długości membrany [Dec i Chojnowski, 2013; Fernández García i in., 2013; Saboya i Maubois, 2000].

Alternatywą dla koncepcji UTP są membrany ceramiczne trzeciej generacji, których odpowiednia struktura wewnętrzna pozwala na uzyskanie niezbędnego ciśnienia po stronie permeatu. Oferowane przez Pall Corporation (USA) membrany Membralox® GP charakteryzują się warstwą aktywną o stałej grubości i warstwą nośną o stopniowo wzrastającej porowatości wzdłuż elementu, natomiast pochodzące z oferty Tami Industries (Francja) membrany Isoflux® posiadają warstwę aktywną o stałym spadku grubości wzdłuż elementu i warstwę nośną o jednakowej porowatości [Dec i Chojnowski, 2013; Fernández García i in., 2013; Saboya i Maubois, 2000; Skrzypek i Burger, 2010].

2.5. Zastosowanie mikrofiltracji w procesie produkcji serów

W latach 80. XX wieku został opracowany przez Alfa-Laval (Szwecja) system zmniejszania liczby bakterii w mleku z wykorzystaniem mikrofiltracji, nazwany Bactocatch [Charcosset, 2021; Hoffmann i in., 2006; Pafylias i in., 1996; Saboya i Maubois, 2000]. W tym systemie na początku mleko pełne rozdzielane jest poprzez wirowanie na mleko odtłuszczone i śmietankę. Następnie mleko odtłuszczone poddawane jest mikrofiltracji w temp. 50 ^{o}C przy użyciu membran o porach 1,4 μm. Mleko po mikrofiltracji może być dodatkowo pasteryzowane w temp. 72 ^{o}C/15 s. Śmietanka wraz z retentatem mikrofiltracyjnym są sterylizowane (temp. 115 - 130 ^{o}C/ 4 - 6 s). Na koniec mleko odtłuszczone mikrofiltrowane i śmietanka sterylizowana mogą być łączone w odpowiedniej proporcji [Charcosset, 2021; Hoffmann i in., 2006]. Olesen i Jansen [1989] wykazali, że obróbka mleka system Bactocatch pozwala na redukcję ogólnej liczby drobnoustrojów o 99,99 % oraz zmniejszenie liczby przetrwalników *Bacillus cereus* o 99,95 - 99,98 %.

Mikrofiltracja pozwala na niemal całkowite usunięcie bakterii przetrwalnikujących z mleka, co umożliwia rezygnację ze stosowania środków zapobiegających wzdęciom (np. azotan potasu) w procesie produkcji serów dojrzewających półtwardych i twardych [Saboya i Maubois, 2000]. Panopoulos i in. [2020] nie stwierdzili różnic w czasie krzepnięcia enzymatycznego mleka niepoddanego i poddanego mikrofiltracji. Wyniki badań Dmytrów i in. [2009] wskazują na przydatność mleka mikrofiltrowanego w temp. 50 ^{o}C z użyciem membrany o porach 1,4 μm i pasteryzowanego w temp. 72 ^{o}C/15 s do produkcji twarogu kwasowego. Mleko normalizowane, uzyskane z połączenia w odpowiedniej proporcji mleka odtłuszczonego mikrofiltrowanego z zastosowaniem membran o wielkości porów 1,4 μm i śmietanki pasteryzowanej, było z dobrym efektem wykorzystywane jako surowiec do produkcji sera Cheddar [McSweeney i in., 1993; Roy i in., 1997], sera typu szwajcarskiego [Beuvier i in., 1997] i sera Domiati [Awad i in., 2010].

Mikrofiltracja znalazła zastosowanie do standaryzacji zawartości kazeiny w mleku serowarskim [Skrzypek i Burger, 2010]. Realizowane jest to przez poddanie mleka odłuszczonego mikrofiltracji w temp. 50 ^{o}C z użyciem membran o wielkości porów 0,1 μm, które zatrzymują białka kazeinowe w retentacie. Permeat otrzymywany podczas tego procesu ma skład podobny do serwatki słodkiej. Wymagana zawartość tłuszczu uzyskiwana jest przez dodanie do retentatu odpowiedniej ilości śmietanki [Ardisson-Korat i Rizvi, 2004; Neocleous i in., 2002]. Z surowca przygotowanego w taki sposób produkowano Cheddar [Neocleous i in., 2002] i Mozzarellę [Ardisson-Korat i Rizvi, 2004]. Skrzypek i Burger [2010] podają, że membrany Isoflux™ o porach 0,14 μm są stosowane do przygotowania mleka w produkcji serów twarogowych kwasowych, co przy współczynniku koncentracji kazeiny 1,6 - 2,0 pozwala zmniejszyć ilość powstającej serwatki kwasowej o 40 - 60 %.

Mikrofiltracja okazała się być dobrą metodą oczyszczania solanki wykorzystywanej w soleniu serów [Saboya i Maubois, 2000; Skrzypek i Burger, 2010; Skrzypek i in., 2002]. Przed mikrofiltracją solanki zalecane jest jej wstępne oczyszczenie na filtrach workowych (100 μm). Poddanie solanki mikrofiltracji z wykorzystaniem membran ceramicznych Isoflux™ o porach 1,4 μm powoduje redukcję ogólnej liczby drobnoustrojów o 99,99 %, w tym usunięcie *Escherichii coli*, drożdży i pleśni w 100 %, wpływając w bardzo małym stopniu na jej właściwości fizykochemiczne. Proces mikrofiltracji solanki prowadzony jest w temp. 16 - 18 ^{o}C [Skrzypek i Burger, 2010].

3. Cel pracy

Celem pracy była ocena przydatności mleka odtłuszczonego poddanego mikrofiltracji z użyciem membrany o wielkości porów 1,4 μm do produkcji twarogu kwasowego. Cel ten realizowano poprzez:

- określenie wpływu pasteryzacji oraz mikrofiltracji na jakość mikrobiologiczną i cytologiczną, skład chemiczny, kwasowość i przebieg ukwaszania mleka;
- porównanie twarogu kwasowego otrzymanego z mleka mikrofiltrowanego z twarogiem kwasowym otrzymanym z mleka pasteryzowanego pod względem jakości mikrobiologicznej, wydatku, składu chemicznego, kwasowości, składu frakcyjnego i aminokwasowego białka oraz jego wartości odżywczej, składu mineralnego, mikrostruktury i cech sensorycznych;
- porównanie serwatki kwasowej z produkcji twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego z serwatką kwasową z produkcji twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego pod względem składu chemicznego i kwasowości.

4. Przebieg doświadczenia i metody badań

4.1. Przebieg doświadczenia

Doświadczenie obejmowało przeprowadzenie w skali ćwierćtechnicznej procesu produkcji twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego metodą tradycyjną. Produkcję twarogów kwasowych realizowano przy użyciu urządzeń i sprzętu pomocniczego Hali Technologicznej Katedry Mleczarstwa i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

W produkcji doświadczalnej wykorzystano zbiorcze mleko krowie surowe, pozyskane z gospodarstwa Stacji Dydaktyczno-Badawczej w Bałdach, należącej do Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Mleko surowe podgrzane do temp. 45 ^{o}C odtłuszczano w wirówce LWG 20 (Spomasz, Polska). Uzyskane mleko odtłuszczone podzielono na dwie partie po 75 dm^3. Pierwszą partię mleka odtłuszczonego poddano pasteryzacji w temp. 75 ^{o}C/30 s i chłodzono do temp. 4 ^{o}C, co przeprowadzono w wielosekcyjnym płytowym wymienniku ciepła (GEA Ecoflex, Niemcy), wchodzącym w skład układu do obróbki mleka (Obram, Polska). Drugą partię mleka odtłuszczonego podgrzano do temp. 50 ^{o}C i poddano mikrofiltracji w module (Obram, Polska) wyposażonym w ceramiczną membranę Isoflux (Tami Industries, Francja) o średnicy porów 1,4 μm i powierzchni filtracyjnej 0,35 m^2. Wydajność strumienia permeatu w czasie procesu wynosiła 37,5 dm^3/h·m^2. Mleko odtłuszczone po procesie mikrofiltracji chłodzono do temp. 4 ^{o}C.

Mleko pasteryzowane oraz mleko mikrofiltrowane w ilości po 55 dm^3 umieszczano w wannach serowarskich wyposażonych w płaszcz grzejny i mieszadła-krajacze (Obram, Polska), a następnie podgrzewano do temp. 28 ^{o}C i dodawano kulturę starterową G 600 (CSK Food Enrichment, Holandia) w ilości 0,1 U/dm^3. Do obróbki skrzepu kwasowego przystępowano po osiągnięciu przez mleko pH ~ 4,60. Obróbka skrzepu obejmowała krojenie, mieszanie i podgrzewanie do temp. 36 ^{o}C w tempie 1 ^{o}C/5 min. Z chwilą uzyskania przez ziarno twarogowe odpowiedniego stopnia osuszenia, gęstwę wylewano do formy z perforowanymi gniazdami w kształcie prostokątów (Alpma, Niemcy), rozprowadzano i zamykano. Podczas samoprasowania trwającego ok. 2 h, zamkniętą formę odwracano co 30 min. Twarogi kwasowe chłodzono do temp. 6 ^{o}C i pakowano w woreczki z folii barierowej Amilen 80 μm wykonane z PA/PE z warstwą EVA (Vacku-Plast, Polska), stosując

zredukowaną próżnię (ok. 200 mBar). Pakowanie realizowano przy użyciu pakowarki jednokomorowej Multivac C300 (Multivac, Polska). Zapakowane twarogi kwasowe przechowywano w temp. 4 ^{o}C.

Materiał do badań stanowiły pochodzące z przeprowadzonego w doświadczeniu procesu produkcji twarogów kwasowych próbki: mleka surowego, mleka odtłuszczonego, mleka odtłuszczonego pasteryzowanego, mleka odtłuszczonego mikrofiltrowanego, twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego, twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego, serwatki kwasowej z produkcji twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego i serwatki kwasowej z produkcji twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego. Próbki przechowywano w temp. 4 ^{o}C oraz -18 ^{o}C.

4.2. Metody badań

4.2.1. Badania mleka

Oznaczanie ogólnej liczby drobnoustrojów. Ogólną liczbę drobnoustrojów w mleku oznaczano metodą płytkową na agarze odżywczym, stosując posiew wgłębny i inkubację w temp. 30 ^{o}C/72 h [PN-EN ISO 4833-1:2013-12]. Oznaczenie wykonano w pięciu powtórzeniach.

Oznaczanie liczby bakterii psychrotrofowych. Liczbę bakterii psychrotrofowych w mleku oznaczano metodą płytkową na agarze odżywczym, stosując posiew wgłębny i inkubację w temp. 7 ^{o}C/10 dni [PN-ISO 17410:2004]. Oznaczenie wykonano w pięciu powtórzeniach.

Oznaczanie liczby pałeczek *Enterobacteriaceae*. Liczbę pałeczek *Enterobacteriaceae* w mleku oznaczano metodą płytkową na podłożu VRBG, stosując posiew wgłębny i inkubację w temp. 37 ^{o}C/24 - 48 h [PN-ISO 21528-2:2005]. Oznaczenie wykonano w pięciu powtórzeniach.

Oznaczanie liczby komórek somatycznych. Liczbę komórek somatycznych w mleku oznaczano metodą instrumentalną, przy użyciu urządzenia Fossomatic 5000 (Foss, Dania) [PN-EN ISO 13366-2:2007]. Oznaczenie wykonano w dwóch powtórzeniach.

Oznaczanie obecności aktywnej fosfatazy alkalicznej. Obecność aktywnej fosfatazy alkalicznej w mleku oznaczano za pomocą fosfatestów (Lablacta, Polska). Oznaczenie wykonano w dwóch powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości suchej masy. Zawartość suchej masy w mleku oznaczano metodą suszenia w temp. 102 ^{o}C [PN-A-86122:1968]. Oznaczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości białka ogółem. Zawartość białka ogółem w mleku oznaczano metodą pośrednią, poprzez oznaczenie zawartości azotu i jego przeliczenie stosując współczynnik 6,38 [PN-EN ISO 8968-2:2004]. Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości laktozy. Zawartość laktozy uwodnionej w mleku oznaczano metodą Bertranda [Krełowska-Kułas, 1993]. Oznaczenie wykonano w dwóch powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości tłuszczu. Zawartość tłuszczu w mleku oznaczano metodą butyrometryczną, z użyciem tłuszczomierzy Gerbera i Siegfelda [PN-A-86122:1968]. Oznaczenie wykonano w dwóch powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości popiołu. Zawartość popiołu w mleku oznaczano metodą spalania w temp. 530 ^{o}C, z zastosowaniem pieca muflowego [PN-A-86364:1996]. Oznaczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

Pomiar kwasowości czynnej. Kwasowość czynną mleka mierzono przy użyciu pH-metru PHI 72 (Beckman, USA) wyposażonego w elektrodę InLab®Solids Pro pH (Mettler Toledo, USA) [PN-A-86122:1968]. Pomiar wykonano w czterech powtórzeniach.

Oznaczanie kwasowości potencjalnej. Kwasowość potencjalną mleka oznaczano metodą miareczkową Soxhleta-Henkla [PN-A-86122:1968]. Oznaczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

Pomiar przebiegu ukwaszania. Mleko o temp. 28 ^{o}C z dodatkiem kultury starterowej G 600 (CSK Food Enrichment, Holandia) w ilości 0,1 U/dm^3 nalewano do zlewki i umieszczano w cieplarce w temp. 28 ^{o}C. Kwasowość czynną mleka podczas ukwaszania mierzono wykorzystując wielokanałowy multiplekser pH/pC/mV (Cerko, Polska) wyposażony w elektrody zespolone typ ERH-13-6 (Hydromet, Polska). Rejestrację wartości kwasowości czynnej prowadzono z częstotliwością co 15 min za pomocą oprogramowania Cerko Lab System (Cerko, Polska). Pomiar wykonano w dwóch powtórzeniach.

4.2.2. Badania twarogu kwasowego

Oznaczanie ogólnej liczby drobnoustrojów. Ogólną liczbę drobnoustrojów w twarogu kwasowym oznaczano metodą płytkową na agarze odżywczym, stosując posiew wgłębny i inkubację w temp. 30 ^{o}C/72 h [PN-EN ISO 4833-1:2013-12]. Oznaczenie wykonano w pięciu powtórzeniach.

Oznaczanie liczby drożdży i pleśni. Liczbę drożdży i pleśni w twarogu kwasowym oznaczano metodą płytkową na agarze z chloramfenikolem, stosując posiew wgłębny i inkubację w temp. 25 ^{o}C/5 dni [PN-ISO 6611:2007]. Oznaczenie wykonano w pięciu powtórzeniach.

Oznaczanie liczby *Escherichia coli*. Liczbę *Escherichia coli* w twarogu kwasowym oznaczano metodą płytkową, z użyciem 5-bromo-4-chloro-3-indolilo beta-D glukuronidu, stosując posiew wgłębny i inkubację w temp. 44 ^{o}C/24 h [PN-ISO 16649-2:2004]. Oznaczenie wykonano w pięciu powtórzeniach.

Oznaczanie liczby gronkowców koagulazo-dodatnich. Liczbę gronkowców koagulazo-dodatnich w twarogu kwasowym oznaczano metodą płytkową, z użyciem pożywki agarowej Baird Parkera-RPF, stosując posiew powierzchniowy i inkubację w temp. 37 ^{o}C/48 h [PN-EN ISO 6888-1:2001/A1:2004]. Oznaczenie wykonano w pięciu powtórzeniach.

Wydatek twarogu kwasowego. W celu określenia wydatku twarogu kwasowego obliczono jego wydajność, korzystając z równania [Obrusiewicz, 1995]:

$$M_{tk} = \frac{100(SM_{mo} - SM_{sk})}{SM_{tk} - SM_{sk}}$$

gdzie:

M_{tk} - wydajność twarogu kwasowego (kg/100 kg),

SM_{mo} - zawartość suchej masy w mleku przerobowym (%),

SM_{sk} - zawartość suchej masy w serwatce kwasowej (%),

SM_{tk} - zawartość suchej masy w twarogu kwasowym (%).

Wydatek twarogu kwasowego obliczono zgodnie z równaniem:

$$W_{tk} = \frac{100}{M_{tk}}$$

gdzie:

W_{tk} - wydatek twarogu kwasowego (kg/kg),

M_{tk} - wydajność twarogu kwasowego (kg/100 kg).

Oznaczanie zawartości suchej masy. Zawartość suchej masy w twarogu kwasowym oznaczano metodą suszenia w temp. 102 ^{o}C [PN-A-86232:1973]. Oznaczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości białka ogółem. Zawartość białka ogółem w twarogu kwasowym oznaczano metodą pośrednią, poprzez oznaczenie zawartości azotu i jego przeliczenie stosując współczynnik 6,38 [PN-EN ISO 8968-2:2004]. Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości laktozy. Zawartość laktozy uwodnionej w twarogu kwasowym oznaczano metodą Bertranda [Krełowska-Kułas, 1993]. Oznaczenie wykonano w dwóch powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości tłuszczu. Zawartość tłuszczu w twarogu kwasowym oznaczano metodą butyrometryczną, z użyciem tłuszczomierza van Gulika [PN-A-86232:1973]. Oznaczenie wykonano w dwóch powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości popiołu. Zawartość popiołu w twarogu kwasowym oznaczano metodą spalania w temp. 550 ^{o}C, z zastosowaniem pieca muflowego [Krełowska-Kułas, 1993]. Oznaczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

Pomiar kwasowości czynnej. Kwasowość czynną twarogu kwasowego mierzono przy użyciu pH-metru PHI 72 (Beckman, USA) wyposażonego w elektrodę InLab® Solids Pro pH (Mettler Toledo, USA) [PN-A-86232:1973]. Pomiar wykonano w czterech powtórzeniach.

Oznaczanie kwasowości potencjalnej. Kwasowość potencjalną twarogu kwasowego oznaczano metodą miareczkową Soxhleta-Henkla [PN-A-86232:1973]. Oznaczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

Rozdział elektroforetyczny białek i analiza densytometryczna. Rozdział białek obecnych w twarogu kwasowym wykonano metodą elektroforezy żelowej w warunkach denaturujących (SDS-PAGE). Do próbki (ok. 1 g) dodano 10 cm^3 buforu Tris-HCl (pH 6,8, 1 % SDS, 20 % glicerol, 0,02 % błękit bromofenolowy) i poddano homogenizacji. Do 0,1 cm^3 uzyskanej zawiesiny dodano 0,9 cm^3 buforu Tris-HCl z ditiotreitolem (~ 0,8 %), a całość po wymieszaniu ogrzewano w temp. 100 ^{o}C/5 min i chłodzono. Przygotowany roztwór w ilości 3,5 mm^3 wprowadzono do studzienki żelu poliakrylamidowego 12 % Mini-PROTEAN® TGX™ Precast Gels (Bio-Rad, USA). Rozdział elektroforetyczny prowadzono w buforze elektrodowym (Tris-Glicyna-SDS) przy użyciu aparatu Mini-PROTEAN Tetra Cell (Bio-Rad, USA) w temp. 12 ^{o}C przy napięciu 150 V przez 2 h. Po zakończonym rozdziale żele barwiono i odbarwiano

zgodnie z metodyką stosowaną przez Verdiego i in. [1987]. Wybarwione żele skanowano w urządzeniu CCD LumiBis (DNR Bio-Imaging System, Izrael). Analizę densytometryczną wykonano za pomocą programu TotalLab 1D (TotalLab, Wielka Brytania). Rozdzielone białka identyfikowano w oparciu o dane zawarte w pracy Farrela i in. [2004]. Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości aminokwasów. Zawartości aminokwasów w twarogu kwasowym oznaczano metodą chromatografii jonowymiennej. Badanie obejmowało oznaczenie aminokwasów białkowych: glicyny, alaniny, waliny, leucyny, izoleucyny, proliny, fenyloalaniny, tyrozyny, tryptofanu, seryny, treoniny, cysteiny, metioniny, argininy, histydyny, lizyny, kwasu asparaginowego, i kwasu glutaminowego. Próbkę poddawano hydrolizie kwaśnej według Daviesa i Thomasa [1973], w 20 cm^3 6 M kwasu chlorowodorowego i temp. 110 ^oC/20 h. Wystudzony hydrolizat przesączono przez lejek G-5, a uzyskany przesącz uzupełniano wodą dejonizowaną w kolbie o pojemności 50 cm^3 do znaku miarowego. Następnie pobrano 4 cm^3 rozcieńczonego hydrolizatu i odparowywano w wyparce próżniowej. Suchą pozostałość rozpuszczono w 5 cm^3 buforu cytrynianowego o pH 2,2. W przypadku oznaczania aminokwasów siarkowych hydrolizę kwaśną poprzedzano utlenieniem cysteiny do kwasu cysteinowego a metioniny do sulfonu metioniny, zgodnie z założeniami Schrama i in. [1954]. W tym celu do próbki dodawano kwas nadmrówkowy i przetrzymywano ją przez 16 h w zamrażalniku, a następnie dodano 1 cm^3 40 % kwasu bromowodorowego. Przy oznaczaniu tryptofanu próbkę poddawano hydrolizie zasadowej [Sławiński i Tyczkowska, 1974], prowadząc ją w 7,5 cm^3 wodorotlenku baru w temp. 110 ^oC/20 h. Hydrolizat zakwaszano 6 M kwasem chlorowodorowym i po dodaniu roztworu siarczanu sodu wirowano w czasie 15 min przy 3000 × g, a otrzymany supernatant filtrowano przez filtr strzykawkowy. Roztwory nanoszono na kolumnę jonowymienną analizatora aminokwasów AAA 400 (Ingos, Czechy). Temperatura pracy kolumny wynosiła 60 ^oC i 74 ^oC. Do rozdziału stosowano bufory o pH: 2,6; 3,0; 4,25; 7,9. Odczynnikiem detekcyjnym była ninhydryna. Identyfikacji dokonywano przez detektor fotometryczny przy długości fali 440 nm dla proliny i 570 nm dla pozostałych aminokwasów. Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach.

Ocena wartości odżywczej białka. Wartość odżywczą białka twarogu kwasowego określono metodą chemiczną za pomocą wskaźnika aminokwasu ograniczającego (CS) według Blocka i Mitchella [1946] oraz zintegrowanego wskaźnika aminokwasów niezbędnych (EAAI) według Osera [1951]. Do obliczenia wymienionych wskaźników

wykorzystano białko wzorcowe opracowane przez ekspertów FAO/WHO/UNC (2007) dla dzieci w wieku 3 - 10 lat, obecnie rekomendowany przez FAO dla starszych dzieci, młodzieży i dorosłych, którego skład aminokwasowy jest następujący: histydyna - 16 mg/g, izoleucyna - 30 mg/g, leucyna - 61 mg/g, lizyna - 48 mg/g, metionina + cysteina - 23 mg/g, fenyloalania + tyrozyna - 41 mg/g, treonina - 25 mg/g, tryptofan - 6,6 mg/g, walina - 40 mg/g [FAO, 2013]; oraz białko wzorcowe całego jaja kurzego o składzie aminokwasowym: histydyna - 22 mg/g, izoleucyna - 54 mg/g, leucyna - 86 mg/g, lizyna - 70 mg/g, metionina + cysteina - 57 mg/g, fenyloalania + tyrozyna - 93 mg/g, treonina - 47 mg/g, tryptofan - 17 mg/g, walina - 66 mg/g [FAO, 1991].

Oznaczanie zawartości składników mineralnych. W twarogu kwasowym oznaczano zawartość następujących składników mineralnych: wapnia, fosforu, magnezu, sodu, potasu, żelaza, cynku, miedzi i manganu. Próbkę (ok. 5 g) mineralizowano na mokro w mieszaninie kwasów azotowego i nadchlorowego (3 : 1). Mineralizację prowadzono w elektrycznym bloku grzejnym DK 20 (VELP Scientifica, Włochy) w czasie 4 - 5 h, podnosząc stopniowo temperaturę od 120 do 200 ^{o}C. Mineralizat przenoszono do kolby o pojemności 25 cm^{3} i uzupełniano wodą dejonizowaną do znaku miarowego. Równolegle przygotowano próbkę odczynnikową. Wapń, magnez, żelazo, cynk, miedź i mangan oznaczano metodą płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej (płomień acetylen - powietrze), wykorzystując spektrometr iCE 3000 Series AAS (Thermo Scientific, Anglia) wyposażony w stację danych GLITE, korekcję tła (lampa deuterowa) i odpowiednie lampy katodowe. Pomiary wykonywano stosując następujące długości fali: 422,7 nm (wapń), 285,2 nm (magnez), 248,3 nm (żelazo), 213,9 nm (cynk), 324,8 nm (miedź), 279,5 nm (mangan). Oznaczając wapń, do rozcieńczonego mineralizatu dodawano wodny roztwór chlorku lantanu o stężeniu 10 % w ilości zapewniającej uzyskanie zawartość 0,5 % La^{+3} [Whiteside i Milner, 1984]. Sód i potas oznaczano przy użyciu spektrometru pracującego w systemie emisyjnym (płomień acetylen - powietrze), a pomiary wykonywano przy długości fali 589,0 nm (sód) i 766,5 nm (potas). Fosfor oznaczano metodą kolorymetryczną [Markiewicz, 2000]. Pomiar absorbancji wykonywano spektrofotometrem VIS 6000 (Krüss Optronic, Niemcy) przy długości fali 610 nm. Oznaczenia wykonano w pięciu powtórzeniach.

Badanie mikrostruktury. Mikrostrukturę twarogu kwasowego badano wykorzystując mikroskop elektronowy skaningowy typ Quanta 200 (FEI Company, USA). Wyciętą próbkę (5 × 5 × 0,5 mm) umieszczano na module Peltiera w komorze mikroskopu, w której ulegała odwodnieniu na skutek zamrożenia w temp. -15 ^{o}C i zmniejszenia

ciśnienia do 130 Pa. Odwodnioną próbkę pokrywano cienką warstwą złota w napylarce typ SCD 050 (Leica Microsystems GmbH, Austria). Obserwację próbki prowadzono przy następujących parametrach pracy mikroskopu: napięcie przyspieszające (HV) 30 kV, detektor CBS, powiększenie 400×.

Ocena sensoryczna. Twaróg kwasowy badano sensorycznie w pierwszym dniu po produkcji, stosując metodę punktową [PN-ISO 22935-2:2013-07]. W oparciu o wymagania dla serów twarogowych niedojrzewających zawarte w Polskiej Normie [PN-A-86300:1991], wybrano i zdefiniowano następujące cechy: wypływ serwatki, jednorodność struktury, zwartość struktury, ziarnistość struktury, barwa biała, jednolitość barwy, smak kwaśny, smak obcy, zapach kwaśny i zapach obcy. Cechy produktu oceniano stosując skalę liczbową pięciopunktową, w której poszczególnej liczbie punktów przypisano następujące określenia: 1 - nie występuje, 2 - mała intensywność, 3 - umiarkowana intensywność, 4 - duża intensywność, 5 - bardzo duża intensywność. Przed oceną twaróg kwasowy kodowano, porcjowano i przetrzymywano przez godzinę w temperaturze pokojowej. Ocena sensoryczna została przeprowadzona przez zespół składający się z czterech przeszkolonych osób [PN-ISO 22935-1:2013-05].

4.2.3. Badania serwatki kwasowej

Oznaczanie zawartości suchej masy. Zawartość suchej masy w serwatce kwasowej oznaczano metodą suszenia w temp. 102 ^{o}C [PN-A-86364:1996]. Oznaczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości białka ogółem. Zawartość białka ogółem w serwatce kwasowej oznaczano metodą pośrednią, poprzez oznaczenie zawartości azotu i jego przeliczenie stosując współczynnik 6,38 [PN-EN ISO 8968-2:2004]. Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości laktozy. Zawartość laktozy uwodnionej w serwatce kwasowej oznaczano metodą Bertranda [Krełowska-Kułas, 1993]. Oznaczenie wykonano w dwóch powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości tłuszczu. Zawartość tłuszczu w serwatce kwasowej oznaczano metodą butyrometryczną, z użyciem tłuszczomierza Siegfelda [PN-A-86364:1996]. Oznaczenie wykonano w dwóch powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości popiołu. Zawartość popiołu w serwatce kwasowej oznaczano metodą spalania w temp. 530 ^{o}C, z zastosowaniem pieca muflowego [PN-A-86364:1996]. Oznaczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

Pomiar kwasowości czynnej. Kwasowość czynną serwatki kwasowej mierzono przy użyciu pH-metru PHI 72 (Beckman, USA) wyposażonego w elektrodę InLab®Solids Pro pH (Mettler Toledo, USA) [PN-A-86364:1996]. Pomiar wykonano w czterech powtórzeniach.

Oznaczanie kwasowości potencjalnej. Kwasowość potencjalną serwatki kwasowej oznaczano metodą miareczkową Soxhleta-Henkla [PN-A-86364:1996]. Oznaczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

4.2.4. Analiza statystyczna

Wyniki badań opracowano statystycznie przy użyciu programu Statistica 12 (StatSoft Inc., USA). Obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Istotność różnic badano stosując test Tukeya (HSD) przy $\alpha = 0,05$.

5. Omówienie i dyskusja wyników

5.1. Wpływ pasteryzacji oraz mikrofiltracji na jakość mikrobiologiczną i cytologiczną mleka

W produkcji serów zasadnicze znaczenie dla przebiegu procesu oraz bezpieczeństwa i trwałości produktu ma jakość higieniczna mleka surowego i jego obróbka cieplna [Quigley i in., 2013; Skeie, 2007; Skrzypek i in., 2002]. Wyniki badań mikrobiologicznych i cytologicznych wykorzystywanego w doświadczeniu mleka pełnego surowego oraz mleka odtłuszczonego przed i po pasteryzacji oraz mikrofiltracji zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Parametry mikrobiologiczne i cytologiczne mleka pełnego surowego, odtłuszczonego, odtłuszczonego pasteryzowanego oraz odtłuszczonego mikrofiltrowanego

Wyszczególnienie	Mleko			
	pełne surowe	odtłuszczone	odtłuszczone pasteryzowane	odtłuszczone mikrofiltrowane
Ogólna liczba drobnoustrojów (jtk/cm^3)	$4{,}2 \times 10^{4c} \pm 4{,}6 \times 10^3$	$1{,}4 \times 10^{4b} \pm 1{,}5 \times 10^3$	$1{,}3 \times 10^{2a} \pm 2{,}9 \times 10^1$	$1{,}0 \times 10^{2a} \pm 0{,}0 \times 10^1$
Liczba bakterii psychrotrofowych (jtk/cm^3)	$2{,}4 \times 10^{3b} \pm 5{,}5 \times 10^2$	$3{,}1 \times 10^{2a} \pm 5{,}0 \times 10^1$	$< 1{,}0 \times 10^1$	$< 1{,}0 \times 10^1$
Liczba pałeczek *Enterobacteriaceae* (jtk/cm^3)	$3{,}6 \times 10^{2b} \pm 6{,}4 \times 10^1$	$2{,}1 \times 10^{2a} \pm 0{,}7 \times 10^1$	$< 1{,}0 \times 10^1$	$< 1{,}0 \times 10^1$
Liczba komórek somatycznych (komórki/cm^3)	$246{,}0 \times 10^{3d} \pm 7{,}1 \times 10^3$	$141{,}5 \times 10^{3c} \pm 2{,}1 \times 10^3$	$98{,}5 \times 10^{3b} \pm 0{,}7 \times 10^3$	$8{,}0 \times 10^{3a} \pm 1{,}4 \times 10^3$

Objaśnienia: wartość średnia ± odchylenie standardowe; $^{a, b, c, d}$ - wartości średnie w tym samym wierszu oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0{,}05$, natomiast oznaczone inną literą różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0{,}05$.

Zgodnie z obowiązującymi wymaganiami, mleko krowie surowe powinno charakteryzować się liczbą drobnoustrojów nie większą niż $1{,}0 \times 10^5$ jtk/cm^3 i liczbą komórek somatycznych nie przekraczającą $4{,}0 \times 10^5$ komórek/cm^3 [Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady…, 2004]. Wykorzystane w doświadczeniu mleko pełne surowe spełniało wymienione kryteria. Mleko odtłuszczone w porównaniu z mlekiem pełnym surowym, z którego zostało uzyskane, wykazywało istotnie ($p < 0{,}05$) mniejsze wartości parametrów mikrobiologicznych

i cytologicznych. Wynikało to z usunięcia części drobnoustrojów i komórek somatycznych wraz z tłuszczem podczas wirowania.

Poddanie mleka odtłuszczonego pasteryzacji oraz mikrofiltracji istotnie ($p < 0,05$) zmniejszyło ogólną liczbę drobnoustrojów, a efekt każdego z tych procesów nie różnił się istotnie ($p > 0,05$). Pasteryzacja oraz mikrofiltracja redukowały w mleku odtłuszczonym ogólną liczbę drobnoustrojów odpowiednio o 99,07 % i 99,29 %, a liczbę bakterii psychrotrofowych i liczbę pałeczek *Enterobacteriaceae* do $< 1,0 \times 10^1$ jtk/cm^3. Liczba pałeczek *Enterobacteriaceae* jest wskaźnikiem higieny procesu produkcji i w mleku pasteryzowanym nie może przekraczać $1,0 \times 10^1$ jtk/cm^3 [Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005…, 2005].

Osiągnięty w badaniach stopień redukcji liczb drobnoustrojów w mleku odtłuszczonym po pasteryzacji oraz po mikrofiltracji był zbliżony do wartości uzyskanych przez innych badaczy. W badaniach Awada i in. [2010] redukcja ogólnej liczby drobnoustrojów w mleku odtłuszczonym po pasteryzacji (temp. 74 ^{o}C/15 s) wynosiła 99,83 %, a po mikrofiltracji 100 %. Po każdym z tych procesów nie stwierdzono obecności bakterii z grupy coli, *Staphylococcus* spp., drożdży i pleśni. Z kolei Wang i in. [2019] uzyskali redukcję ogólnej liczby drobnoustrojów w mleku odtłuszczonym po pasteryzacji (temp. 72 ^{o}C/25 s) oraz po mikrofiltracji, odpowiednio o 99,42 % oraz 99,90 %. Pafylias i in. [1996] poddając mleko odtłuszczone mikrofiltracji odnotowali spadek ogólnej liczby drobnoustrojów o 99,84 - 99,90 %. Skrzypek i in. [2002] stwierdzili w mleku odtłuszczonym po mikrofiltracji redukcję ogólnej liczby drobnoustrojów o 99,46 - 99,95 %, nieobecność bakterii z grupy coli w 0,01 cm^3, nieobecność enterokoków w 0,1 - 1 cm^3 i całkowite usunięcie przetrwalników bakterii redukujących siarczyny. Zhang i in. [2016] stosując mikrofiltrację zmniejszyli w mleku odtłuszczonym ogólną liczbę drobnoustrojów o 99,97 % i liczbę bakterii psychrotrofowych o 97,54 - 98,75 %.

W przeprowadzonym doświadczeniu, zarówno pasteryzacja i mikrofiltracja istotnie ($p < 0,05$) zmniejszały liczbę komórek somatycznych w mleku odtłuszczonym, ale wartość tego parametru dla mleka po mikrofiltracji była istotnie ($p < 0,05$) mniejsza w porównaniu z mlekiem po pasteryzacji. Wykazano, że liczba komórek somatycznych w mleku odtłuszczonym po mikrofiltracji zmniejszyła się o 94,35 %, natomiast po pasteryzacji tylko o 30,39 %. W badaniach prowadzonych przez Pestana i in. [2015] pasteryzacja (temp. 75 ^{o}C/15 s) zmniejszyła liczbę komórek somatycznych w mleku średnio o 58,94 %. Zhang i in. [2016] oraz Wang i in. [2019] poddając mleko

odtłuszczone mikrofiltracji zmniejszyli w nim liczbę komórek somatycznych do $< 1{,}0 \times 10^3$ komórek/cm^3. W badaniach Hoffmanna i in. [2006] oraz Panopoulosa i in. [2020] mikrofiltracja pozwoliła na całkowite usunięcie komórek somatycznych z mleka odtłuszczonego.

W mleku pełnym surowym, odtłuszczonym i odtłuszczonym mikrofiltrowanym stwierdzono obecność aktywnej fosfatazy alkalicznej, a w mleku odtłuszczonym pasteryzowanym enzym ten nie był aktywny, co świadczy o prawidłowym przeprowadzeniu pasteryzacji. Wyniki badań Panopoulosa i in. [2020] wskazują na zmniejszenie aktywności fosfatazy alkalicznej w mleku odtłuszczonym krowim po mikrofiltracji o ok. 50 %.

5.2. Wpływ pasteryzacji oraz mikrofiltracji na skład chemiczny i kwasowość mleka

Mleko pełne surowe wykorzystywane w doświadczeniu wykazywało skład chemiczny oraz kwasowości czynną i potencjalną (tabela 2) właściwe dla świeżego mleka krowiego, którego właściwości opisali Jaworski i Kuncewicz [2008].

Tabela 2. Skład chemiczny i kwasowość mleka pełnego surowego, odtłuszczonego, odtłuszczonego pasteryzowanego oraz odtłuszczonego mikrofiltrowanego

Wyszczególnienie	Mleko			
	pełne surowe	odtłuszczone	odtłuszczone pasteryzowane	odtłuszczone mikrofiltrowane
Sucha masa (%)	$13{,}08^{c}$ ± 0,01	$9{,}53^{b}$ ± 0,05	$9{,}56^{b}$ ± 0,05	$8{,}90^{a}$ ± 0,03
Białko ogółem (%)	$3{,}85^{b}$ ± 0,03	$3{,}91^{b}$ ± 0,03	$3{,}88^{b}$ ± 0,04	$3{,}55^{a}$ ± 0,05
Tłuszcz (%)	$3{,}70^{b}$ ± 0,00	< 0,02	< 0,02	< 0,02
Laktoza (%)	$4{,}66^{b}$ ± 0,01	$4{,}75^{c}$ ± 0,04	$4{,}71^{b,c}$ ± 0,01	$4{,}52^{a}$ ± 0,01
Popiół (%)	$0{,}75^{b}$ ± 0,01	$0{,}77^{b}$ ± 0,01	$0{,}77^{b}$ ± 0,01	$0{,}72^{a}$ ± 0,01
Kwasowość czynna (pH)	$6{,}68^{b}$ ± 0,01	$6{,}73^{c}$ ± 0,01	$6{,}65^{a}$ ± 0,01	$6{,}66^{a,b}$ ± 0,01
Kwasowość potencjalna (^{o}SH)	$7{,}35^{c}$ ± 0,10	$7{,}30^{b,c}$ ± 0,12	$7{,}10^{b}$ ± 0,12	$6{,}50^{a}$ ± 0,12

Objaśnienia: wartość średnia ± odchylenie standardowe; $^{a, b, c}$ - wartości średnie w tym samym wierszu oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0{,}05$, natomiast oznaczone inną literą różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0{,}05$.

W wyniku wirowania mleka pełnego uzyskano mleko odtłuszczone o zawartości tłuszczu < 0,02 %, a współczynnik efektywności tego procesu wynosił 0,99. Przeprowadzone badania wykazały, że poddanie mleka odtłuszczonego pasteryzacji wiązało się z istotnym ($p < 0,05$) zwiększeniem jego kwasowości czynnej, natomiast zastosowanie mikrofiltracji powodowało w nim istotne ($p < 0,05$) zwiększenie kwasowości czynnej oraz istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie zawartości suchej masy, białka ogółem, laktozy, popiołu i kwasowości potencjalnej (tabela 2).

Odnotowany w mleku po pasteryzacji wzrost kwasowości czynnej jest wynikiem przekształcania fosforanów z formy rozpuszczalnej w nierozpuszczalną, podczas którego następuje uwalnianie jonów wodorowych H^+. Pod wpływem ogrzewania zachodzi również ulatnianie się CO_2, co powoduje nieznaczne zmniejszenie kwasowości potencjalnej mleka [Jaworski i Kuncewicz, 2008; Pouliot i in., 1989].

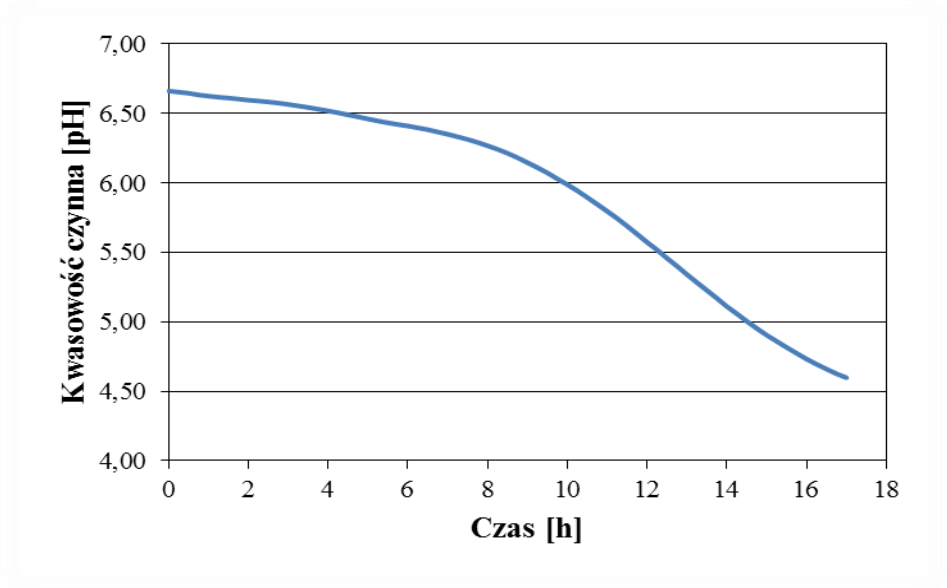
Różnice w składzie chemicznym mleka odtłuszczonego przed i po mikrofiltracji realizowanej z wykorzystaniem membran o wielkości porów 1,4 µm stwierdzano również w badaniach innych autorów. Debon i in. [2012] wykazali zmniejszenie zawartości suchej masy (od 8,80 do 8,41 %), białka ogółem (od 3,27 do 3,13 %) i tłuszczu (od 0,55 do 0,40 %). Zhang i in. [2016] dla mleka odtłuszczonego o dużej liczbie komórek somatycznych odnotowali zmniejszenie zawartości suchej masy (od 8,68 do 8,24 %) i białka ogółem (od 3,38 do 3,10 %). Wang i in. [2019] stwierdzili zmniejszenie zawartości białka ogółem (od 3,33 do 2,84 %). Z kolei Panopoulos i in. [2020] wskazują na zmniejszenie zawartości białka ogółem (od 3,43 do 3,03 %), popiołu (od 0,78 do 0,75 %) i kwasu mlekowego (od 0,15 do 0,13 %). Po procesie mikrofiltracji mleka część jego składników pozostaje w retentacie, przez co ich zawartość w permeacie jest mniejsza niż w mleku przed procesem [Panopoulos i in., 2020].

5.3. Przebieg ukwaszania mleka pasteryzowanego oraz mleka mikrofiltrowanego

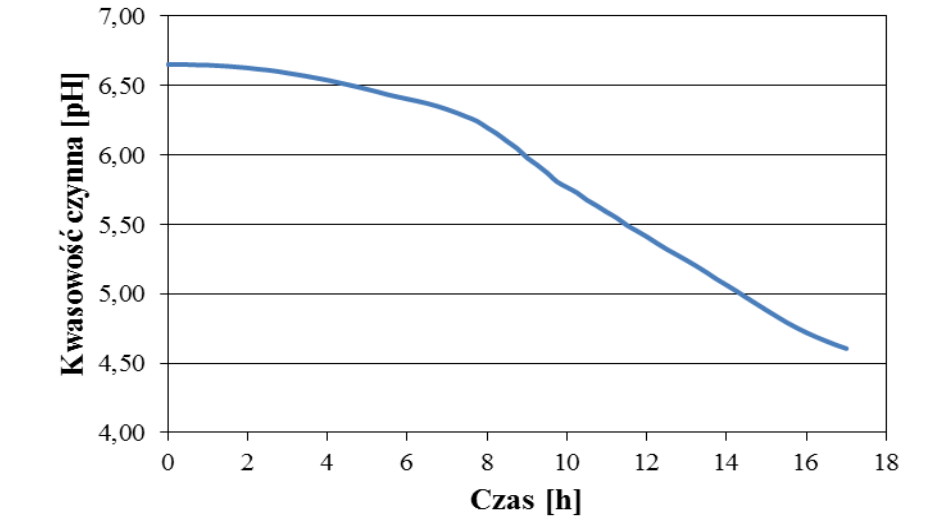
Kluczowym etapem w procesie produkcji twarogu kwasowego jest krzepniecie mleka, które zachodzi na skutek jego ukwaszania. Pochodzące z kultur starterowych bakterie mlekowe fermentując laktozę wytwarzają kwas mlekowy, co powoduje stopniowy wzrost kwasowości czynnej i wraz z osiągnieciem pH 4,6 uzyskiwany jest skrzep kwasowy mleka o odpowiednich właściwościach. Podczas produkcji twarogu kwasowego mikroflora starterowa odpowiada również za: nadawanie cech

smakowo-zapachowych, wytwarzanie dwutlenku węgla i hamowanie rozwoju niepożądanych drobnoustrojów [Ziarno, 2007; Żylińska i in., 2014].

W przeprowadzonym doświadczeniu do ukwaszania mleka zastosowano kulturę starterową G 600 (CSK Food Enrichment, Holandia) zawierającą szczepy: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var *diacetylactis* i *Leuconostoc* sp. Proces ukwaszania prowadzono w temp. 28 ^{o}C do momentu osiągnięcia pH 4,60. Przebieg ukwaszania mleka pasteryzowanego charakteryzuje krzywa na rysunku 3, natomiast mleka mikrofiltrowanego krzywa na rysunku 4.



Rysunek 3. Krzywa ukwaszania mleka pasteryzowanego



Rysunek 4. Krzywa ukwaszania mleka mikrofiltrowanego

Porównując doświadczalne krzywe ukwaszania mleka pasteryzowanego oraz mleka mikrofiltrowanego można stwierdzić, że procesy te miały zbliżony przebieg. Przyrosty kwasowości czynnej nie przekraczały 0,1 pH/h do 8 h ukwaszania mleka pasteryzowanego oraz do 7 h ukwaszania mleka mikrofiltrowanego, po czym w obu przypadkach dynamika procesu wyraźnie wzrastała, a pH 4,60 było osiągane po 16 h. Zgodnie ze specyfikacją zastosowanej kultury starterowej, jej dodatek wynoszący 0,1 U/dm^3 pozwala na ukwaszenie mleka do pH 4,60 w temp. 26 ^{o}C w czasie 18 h, natomiast w temp. 30 ^{o}C w czasie 14 h.

W kulturze starterowej G 600 szczepy *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* i *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* odpowiadają za szybkość ukwaszania, natomiast zadaniem szczepów *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var *diacetylactis* i *Leuconostoc* sp. jest wytwarzanie dwutlenku węgla i związków aromatotwórczych [Żylińska i in., 2014].

5.4. Jakość mikrobiologiczna twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Jakość mikrobiologiczna sera twarogowego uzależniona jest od stanu mikrobiologicznego surowca, higieny procesu produkcyjnego i stosowanych kultur starterowych [Cais i Wojciechowski, 1996]. W mikroflorze twarogu kwasowego dominują bakterie fermentacji mlekowej pochodzące z kultur starterowych, natomiast drobnoustroje z reinfekcji mają nieznaczny udział i są to najczęściej pałeczki z grupy coli, psychrotrofy oraz drożdże i pleśnie [Berthold i in., 2007]. Rozwój niektórych grup drobnoustrojów pochodzących z zakażeń wtórnych w produkcie podczas przechowywania może powodować wady smaku. Bakterie psychrotrofowe odpowiadają za smak gorzki, natomiast drożdże i pleśnie powodują smak stęchły i nieczysty [Rymaszewski i Śmietana, 1997].

Wyniki badań mikrobiologicznych otrzymanych w przeprowadzonym doświadczeniu twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego zestawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Parametry mikrobiologiczne twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Wyszczególnienie	Twaróg kwasowy	
	z mleka pasteryzowanego	z mleka mikrofiltrowanego
Ogólna liczba drobnoustrojów (jtk/g)	$2{,}7 \times 10^{8a}$ $\pm 6{,}8 \times 10^{7}$	$2{,}5 \times 10^{8a}$ $\pm 6{,}3 \times 10^{7}$
Liczba *Escherichia coli* (jtk/g)	$< 1{,}0 \times 10^{1}$	$< 1{,}0 \times 10^{1}$
Liczba gronkowców koagulazo-dodatnich (jtk/g)	$< 1{,}0 \times 10^{1}$	$< 1{,}0 \times 10^{1}$
Liczba drożdży i pleśni (jtk/g)	$< 1{,}0 \times 10^{1}$	$< 1{,}0 \times 10^{1}$

Objaśnienia: wartość średnia ± odchylenie standardowe; [a] - wartości średnie w tym samym wierszu oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0{,}05$.

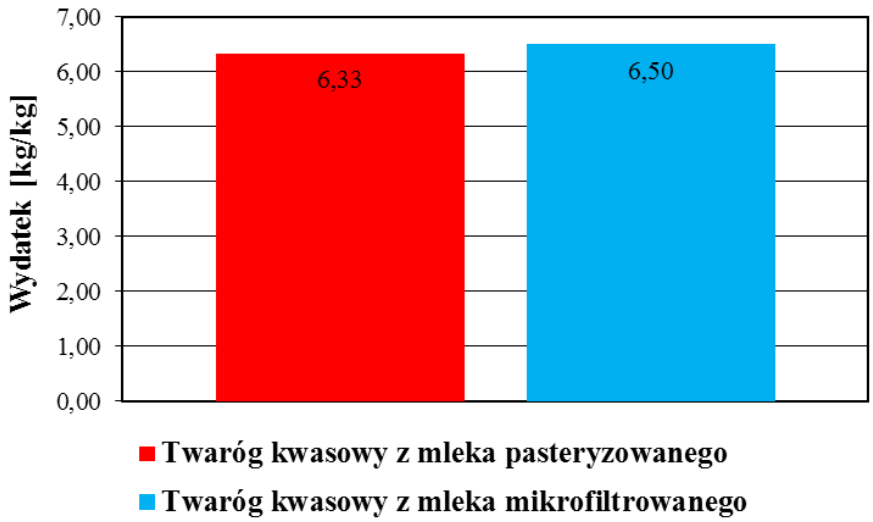
Twarogi kwasowe wyprodukowane z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego nie różniły się istotnie ($p > 0{,}05$) pod względem ogólnej liczby drobnoustrojów, której poziom w badanych produktach wynosił $> 10^8$ jtk/g. Podczas produkcji twarogu kwasowego paciorkowce mlekowe wprowadzone z kulturą starterową do mleka namnażają się, osiągając w czasie formowania maksymalną liczbę rzędu 10^9 jtk/g, która utrzymuje się na tym poziomie do momentu schłodzenia produktu, po czym ulega zmniejszeniu [Berthold in., 2007]. W badaniach Berthold i in. [2007] wykazano, że ogólna liczba drobnoustrojów w 20 próbkach twarogów kwasowych (klinki i krajanka) pochodzących od 15 producentów krajowych wahała się od $4{,}0 \times 10^4$ do $2{,}2 \times 10^8$ jtk/g, przy czym w ponad połowie próbek wynosiła od 10^7 do 10^8 jtk/g, a w 15 % próbek przekraczała 10^8 jtk/g.

Liczba *Escherichia coli* i liczba gronkowców koagulazo-dodatnich są wskaźnikami higieny procesu produkcyjnego. Zgodnie z wymaganiami, dla serów wyprodukowanych z mleka lub serwatki poddanych obróbce termicznej zadowalająca liczba *Escherichia coli* wynosi nie więcej niż $1{,}0 \times 10^2$ jtk/g, natomiast dla serów niedojrzewających (świeżych) wyprodukowanych z mleka lub serwatki poddanych pasteryzacji lub obróbce termicznej w wyższej temperaturze zadowalająca liczba gronkowców koagulazo-dodatnich wynosi nie więcej niż $1{,}0 \times 10^1$ jtk/g [Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005…, 2005]. W doświadczalnych twarogach kwasowych liczba *Escherichia coli* i liczba gronkowców koagulazo-dodatnich wynosiły $< 1{,}0 \times 10^1$ jtk/g, co świadczy o właściwej higienie podczas ich produkcji.

Liczba drożdży i pleśni w doświadczalnych twarogach kwasowych wynosiła < 1,0 × 10^1 jtk/g. Zgodnie z Polską Normą [PN-A-86300:1991; PN-A-86300: 1991/Az2:1997] w serze twarogowym kwasowym liczba drożdży nie powinna być większa niż 1,0 × 10^3 jtk/g i liczba pleśni nie powinna być większa niż 5,0 × 10^2 jtk/g. Śmietana i in. [2003] w twarogach kwasowych świeżych oraz po 7 i 15 dniu przechowywania nie stwierdzili obecności drożdży i pleśni (nieobecne w 1 g). Z kolei Berhold i in. [2007] w rynkowych twarogach kwasowych oznaczyli w 65 % próbek obecność drożdży w liczbie od 2,5 × 10^1 do 3,9 × 10^4 jtk/g oraz w 45 % próbek obecność pleśni w liczbie do 2,0 × 10^2 jtk/g. Panfil-Kuncewicz i in. [2014] wykazali, że pakowanie sera twarogowego kwasowego w atmosferze 100 % dwutlenku węgla skutecznie hamuje rozwój drożdży i pleśni podczas przechowywania w temp. 6 ^{o}C.

5.5. Wydatek, skład chemiczny i kwasowość twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Wydatek określa ilość mleka zużytą do wyprodukowania 1 kg sera [Bohdziewicz, 2010; Ziółkowski, 2013]. W przeprowadzonym doświadczeniu wydatek twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z wydatkiem twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego był mniejszy o 2,69 % (rysunek 5).



Rysunek 5. Wydatek twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Odnotowana różnica w wydatku twarogów kwasowych otrzymanych w przeprowadzonym doświadczeniu była niewielka, i mogła wynikać z zawartości białka ogółem w mleku użytym do ich produkcji (tabela 2). Dla porównania Dolatowski i Stasiak [2000] w produkcji twarogu kwasowego metodą tradycyjna uzyskali wydatek wynoszący 6,58 kg/kg. Zmniejszenie zużycia mleka przy produkcji serów twarogowych może być osiągane poprzez zwiększenie stopnia wykorzystania białek serwatkowych [Hinrichs, 2001]. Szpendowski i in. [2007] stosując metodę wapniowo-termiczną odnotowali zwiększenie wydatku sera twarogowego kwasowego chudego o 11,8 %, natomiast Bohdziewicz [2010] metodą z użyciem transglutaminazy osiągnął zwiększenie wydatku twarogu kwasowego półtłustego o 10 - 15 %. W badaniach Dolatowskiego i Stasiaka [2000] wykazano, że mechanizacja linii produkcyjnej umożliwiła uzyskanie większego wydatku twarogu kwasowego o 14,3 %. Z kolei w badaniach przeprowadzonych przez Król i in. [2018] na wydatek twarogu kwasowego miały wpływ: rasa krów, pora roku i kultura starterowa.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że sposób przygotowania mleka do produkcji twarogu kwasowego miał wpływ na jego skład chemiczny i kwasowość (tabela 4).

Tabela 4. Skład chemiczny i kwasowość twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Wyszczególnienie	Twaróg kwasowy	
	z mleka pasteryzowanego	z mleka mikrofiltrowanego
Sucha masa (%)	$25,08^{b}$ ± 0,10	$23,96^{a}$ ± 0,07
Białko ogółem (%)	$20,07^{b}$ ± 0,20	$19,35^{a}$ ± 0,16
Tłuszcz (%)	< 0,50	< 0,50
Laktoza (%)	$3,16^{b}$ ± 0,03	$2,91^{a}$ ± 0,01
Popiół (%)	$0,91^{b}$ ± 0,01	$0,85^{a}$ ± 0,01
Kwasowość czynna (pH)	$4,38^{a}$ ± 0,01	$4,39^{b}$ ± 0,00
Kwasowość potencjalna (^{o}SH)	$79,50^{b}$ ± 1,00	$71,00^{a}$ ± 1,15

Objaśnienia: wartość średnia ± odchylenie standardowe; $^{a, b}$ - wartości średnie w tym samym wierszu oznaczone inną literą różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$.

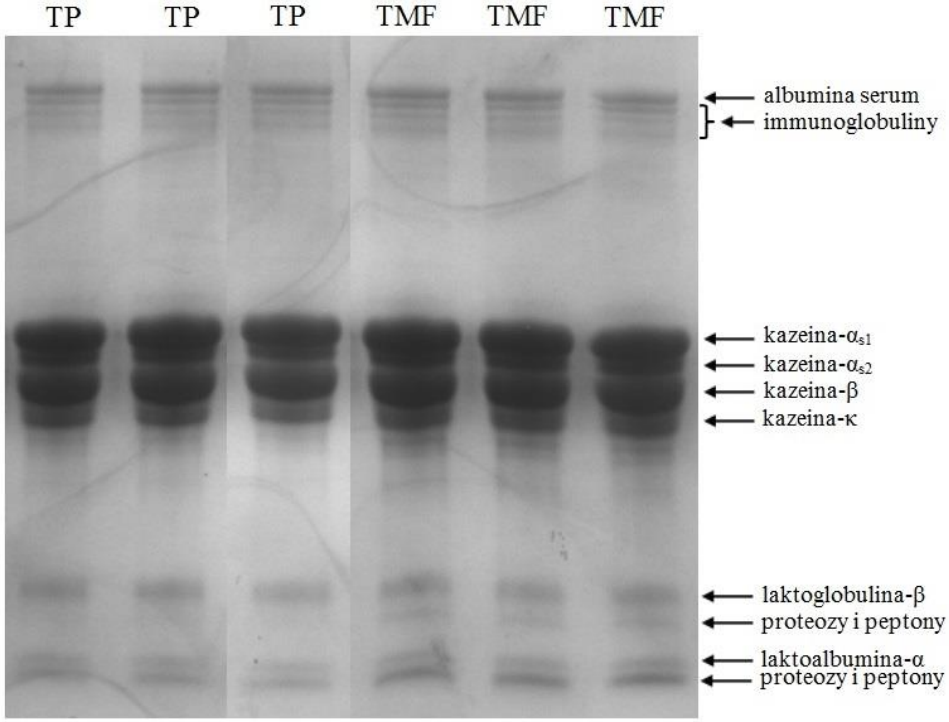
Twaróg kwasowy z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z twarogiem kwasowym z mleka pasteryzowanego wykazywał istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartość suchej masy, białka ogółem, laktozy i popiołu. Doświadczalne twarogi kwasowe z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego charakteryzowały się porównywalną zawartością suchej masy z oznaczoną przez Siemianowskiego i in. [2015b] w komercyjnych twarogach kwasowych chudych (20,2 - 24,4 %).

Głównym składnikiem suchej masy twarogu kwasowego jest białko. Udział białka ogółem w suchej masie twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego wynosił 80,02 %, a w przypadku twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego 80,76 %. W badanych twarogach kwasowych zawartość tłuszczu wynosiła < 0,5 %, co jest właściwe dla tego rodzaju serów chudych. Zawartość laktozy w doświadczalnych twarogach kwasowych była mniejsza niż w mleku użytym do ich produkcji i wynikało to z przekształcenia jej części przez bakterie fermentacji mlekowej w kwas mlekowy podczas procesu produkcyjnego. W twarogach kwasowych produkowanych tradycyjnie zawartość laktozy wynosi 2,20 - 3,74 % [Bohdziewicz, 2010; Szpendowski i in., 2005a]. Popiół odzwierciedla ogólną zawartość składników mineralnych w produkcie. Twarogi kwasowe uzyskane z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego zawierały popiół w ilości zbliżonej z oznaczoną przez Siemianowskiego i in. [2014] w komercyjnych twarogach kwasowych (0,84 - 0,89 %).

Stwierdzono, że twaróg kwasowy z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z twarogiem kwasowym z mleka pasteryzowanego wykazywał istotnie ($p < 0,05$) mniejsze kwasowości czynną i potencjalną. Kwasowość czynna doświadczalnych twarogów kwasowych była większa niż wartość punktu izoelektrycznego białka kazeinowego (pH 4,6), a wynika to z aktywności bakterii fermentacji mlekowej w czasie obróbki skrzepu. W badaniach Śmietany i in. [2003] twarogi kwasowe świeże wykazywały pH 4,43 - 4,48, natomiast analizowane przez Stasiaka i in. [2015] twarogi kwasowe dobę po produkcji charakteryzowały się pH 4,49 - 4,52. Według Polskiej Normy [PN-A-86300:1991], kwasowość potencjalna sera twarogowego kwasowego chudego nie powinna być większa niż 110 ^{o}SH. Kwasowość potencjalna otrzymanych w przeprowadzonym doświadczeniu twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego była wyraźnie mniejsza od maksymalnej akceptowalnej wartości, co wskazuje na prawidłowy przebieg procesu ich produkcji.

5.6. Skład frakcyjny, aminokwasowy i wartość odżywcza białka twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Na rysunku 6 przedstawiono elektroforetyczny rozdział białek twarogów kwasowych otrzymanych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego. W badanych twarogach kwasowych stwierdzono obecność następujących frakcji z grupy kazein: kazeiny- α_{s1}, kazeiny-α_{s2}, kazeiny-β, kazeiny-κ, oraz z grupy białek serwatkowych: albuminy serum, immunoglobulin, laktoglobuliny-β, laktoalbuminy-α, proteoz i peptonu.



Rysunek 6. Elektroforetyczny rozdział białek twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego (TP) oraz z mleka mikrofiltrowanego (TMF)

Udział poszczególnych frakcji w całości zidentyfikowanych białek w badanych twarogach kwasowych określono za pomocą analizy densytometrycznej, a uzyskane wyniki zestawiono w tabeli 5. Twaróg kwasowy z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z twarogiem kwasowym z mleka pasteryzowanego wykazywał w składzie frakcyjnym białka istotnie ($p < 0,05$) większy udział białek serwatkowych ogółem, albuminy serum, immunoglobulin, proteoz i peptonu, istotnie ($p < 0,05$) mniejszy udział kazein ogółem i laktoglobuliny-β, oraz nie różnił się istotnie ($p > 0,05$) udziałem laktoalbuminy-α.

Tabela 5. Udział frakcji białkowych w całości zidentyfikowanych białek w twarogach kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Wyszczególnienie	Twaróg kwasowy	
	z mleka pasteryzowanego	z mleka mikrofiltrowanego
Kazeiny (%)	$91{,}20^{b}$ ± 0,53	$87{,}76^{a}$ ± 0,36
Białka serwatkowe (%)	$8{,}80^{a}$ ± 0,55	$12{,}24^{b}$ ± 0,37
Albumina serum (%)	$1{,}51^{a}$ ± 0,26	$2{,}51^{b}$ ± 0,20
Immunoglobuliny (%)	$2{,}09^{a}$ ± 0,31	$3{,}97^{b}$ ± 0,62
Laktoglobulina-β (%)	$2{,}89^{b}$ ± 0,10	$2{,}04^{a}$ ± 0,30
Laktoalbumina-α (%)	$0{,}81^{a}$ ± 0,10	$1{,}07^{a}$ ± 0,21
Proteozy i peptony (%)	$1{,}50^{a}$ ± 0,30	$2{,}64^{b}$ ± 0,49

Objaśnienia: wartość średnia ± odchylenie standardowe; $^{a, b}$ - wartości średnie w tym samym wierszu oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0{,}05$, natomiast oznaczone inną literą różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0{,}05$.

Według Hinrichsa [2001] w świeżych serach kwasowych produkowanych tradycyjnie dominującym składnikiem białkowym są kazeiny, a stopień wykorzystania białek serwatkowych wynosi maksymalnie ok. 15 % z ich zawartości w przerabianym mleku. Panopoulos i in. [2020] odnotowali w składzie frakcji białkowych mleka odtłuszczonego, poddanego mikrofiltracji z użyciem membran o porach 1,4 μm, zwiększenie udziału kazeiny-κ oraz zmniejszenie udziału kazeiny-β. Może to być efektem zmiany selektywności rozdziału w procesie mikrofiltracji, spowodowanym polaryzacją stężeniową i zarastaniem membrany [Charcosset, 2021; Dec i Chojnowski, 2013; Fernández García i in., 2013].

Wpływ na skład frakcji białkowych w mleku i jego przetworach ma plazmina, która jest rodzimą proteazą mleka. Wang i in. [2019] oraz Zhang i in. [2016] stwierdzili, że proces mikrofiltracji nie zmniejsza aktywności plazminy w mleku odtłuszczonym. W wyniku hydrolizy kazeiny-β przez ten enzym powstają kazeina-ɤ oraz proteozy i peptony [Farrell i in., 2004].

Poszczególne białka mleka wykazują różnice w składzie aminokwasowym, przez co skład frakcji białkowych wpływa na udział poszczególnych aminokwasów w białku

produktu [Jaworski i Kuncewicz, 2008]. Skład aminokwasowy białka badanych twarogów kwasowych zestawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Skład aminokwasowy białka twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Wyszczególnienie	Twaróg kwasowy	
	z mleka pasteryzowanego	z mleka mikrofiltrowanego
Glicyna (mg/g białka)	$16,89^{b}$ ± 0,06	$16,42^{a}$ ± 0,09
Alanina (mg/g białka)	$27,44^{a}$ ± 0,08	$27,22^{a}$ ± 0,22
Walina (mg/g białka)	$57,92^{b}$ ± 0,25	$57,40^{a}$ ± 0,12
Leucyna (mg/g białka)	$82,62^{b}$ ± 0,35	$81,82^{a}$ ± 0,22
Izoleucyna (mg/g białka)	$42,83^{b}$ ± 0,14	$42,31^{a}$ ± 0,13
Prolina (mg/g białka)	$113,84^{a}$ ± 0,89	$115,10^{a}$ ± 0,28
Fenyloalanina (mg/g białka)	$45,00^{a}$ ± 0,14	$44,98^{a}$ ± 0,04
Tyrozyna (mg/g białka)	$46,28^{a}$ ± 0,13	$46,01^{a}$ ± 0,21
Tryptofan (mg/g białka)	$27,60^{a}$ ± 0,29	$33,48^{b}$ ± 0,16
Seryna (mg/g białka)	$53,99^{b}$ ± 0,20	$53,11^{a}$ ± 0,30
Treonina (mg/g białka)	$42,17^{a}$ ± 0,90	$41,38^{a}$ ± 0,11
Cysteina (g/100 g białka)	$4,46^{a}$ ± 0,17	$4,78^{a}$ ± 0,58
Metionina (mg/g białka)	$20,00^{a}$ ± 0,17	$22,12^{b}$ ± 0,56
Arginina (mg/g białka)	$34,96^{b}$ ± 0,09	$33,45^{a}$ ± 0,22
Histydyna (mg/g białka)	$25,41^{a}$ ± 0,09	$25,48^{a}$ ± 0,12
Lizyna (mg/g białka)	$76,94^{a}$ ± 0,57	$75,75^{a}$ ± 0,47
Kwas asparaginowy (mg/g białka)	$69,28^{b}$ ± 0,22	$67,91^{a}$ ± 0,33
Kwas glutaminowy (mg/g białka)	$212,38^{a}$ ± 2,24	$211,27^{a}$ ± 0,71

Objaśnienia: wartość średnia ± odchylenie standardowe; $^{a, b}$ - wartości średnie w tym samym wierszu oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$, natomiast oznaczone inną literą różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$.

Analizując udział aminokwasów niezbędnych wykazano, że białko twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z białkiem twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego zawierało istotnie ($p < 0,05$) więcej tryptofanu i metioniny, istotnie ($p < 0,05$) mniej waliny, leucyny i izoleucyny, natomiast nie różniło się istotnie ($p > 0,05$) pod względem zawartości fenyloalaniny, treoniny, histydyny i lizyny. W przypadku aminokwasów względnie niezbędnych i nie niezbędnych stwierdzono, że białko twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z białkiem twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego zawierało istotnie ($p < 0,05$) mniej glicyny, seryny, argininy i kwasu asparaginowego oraz nie różniło się istotnie ($p > 0,05$) zawartością alaniny, proliny, tyrozyny, cysteiny i kwasu glutaminowego.

Wartość odżywczą białka badanych twarogów kwasowych określono na podstawie wskaźnika aminokwasu ograniczającego (CS) i zintegrowanego wskaźnika aminokwasów niezbędnych (EAAI), a otrzymane wyniki zestawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Wskaźniki wartości odżywczej białka twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Wyszczególnienie		Twaróg kwasowy	
		z mleka pasteryzowanego	z mleka mikrofiltrowanego
CS (%)	białko wzorcowe FAO/WHO/UNC (2007)	100	100
	białko wzorcowe całego jaja kurzego (1991)	42,91 (metionina + cysteina)	47,19 (metionina + cysteina)
EAAI (%)	białko wzorcowe FAO/WHO/UNC (2007)	100	100
	białko wzorcowe całego jaja kurzego (1991)	85,83	86,23

Objaśnienia: CS - wskaźnik aminokwasu ograniczającego; EAAI - zintegrowany wskaźnik aminokwasów niezbędnych.

Porównując białko twarogów kwasowych wyprodukowanych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego z białkiem wzorcowym opracowanym przez ekspertów FAO/WHO/UNC (2007), które jest obecnie rekomendowane dla starszych dzieci, młodzieży i dorosłych, uzyskano wskaźniki CS i EAAI o wartościach wynoszących 100 %. Oznacza to, że białko twarogów kwasowych, niezależnie od sposobu przygotowania mleka do ich produkcji w przeprowadzonym doświadczeniu, zawierało wszystkie aminokwasy niezbędne w ilościach pokrywających wartości przewidziane w białku wzorcowym

FAO/WHO/UNC (2007), i na tej podstawie można stwierdzić, że jest pełnowartościowe. Wartość odżywczą białka badanych twarogów kwasowych w stosunku do białka wzorcowego całego jaja kurzego ograniczała zawartość aminokwasów siarkowych (łącznie metioniny i cysteiny), przy czym białko twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z białkiem twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego charakteryzowało się większymi wartościami CS o 4,28 jednostki oraz EAAI o 0,40 jednostki. Również w badaniach Szpendowskiego i in. [2007] wykazano, że względem białka wzorcowego całego jaja kurzego, aminokwasy siarkowe ograniczają wartość odżywczą białka twarogów kwasowych produkowanych metodami tradycyjną i wapniowo-termiczną (wartość CS według obliczeń własnych, odpowiednio 48,66 % i 51,33 %).

5.7. Skład mineralny twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Skład mineralny wyprodukowanych w przeprowadzonym doświadczeniu twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego zestawiono w tabeli 8. Wykazano, że twaróg kwasowy z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z twarogiem kwasowym z mleka pasteryzowanego zawierał istotnie ($p < 0,05$) więcej cynku i miedzi oraz istotnie ($p < 0,05$) mniej wapnia, fosforu, magnezu, sodu, potasu, żelaza i manganu.

Stwierdzone różnice w składzie mineralnym badanych twarogów kwasowych wynikają ze sposobu przygotowania surowca do ich produkcji, a potwierdza to zawartość popiołu w mleku pasteryzowanym (0,77 %) i mleku mikrofiltrowanym (0,72 %) (tabela 2). W mleku krowim 69 % wapnia, 46 % fosforu i 35 % magnezu wchodzi w skład micel kazeinowych [Gaucheron, 2005]. Podczas mikrofiltracji mleka odtłuszczonego przy użyciu membran o porach 1,4 μm część białek kazeinowych jest zatrzymywana w retentacie, w konsekwencji czego zawartość składników mineralnych w uzyskiwanym permeacie jest mniejsza w porównaniu z nadawą [Panopoulos in., 2020].

Skład mineralny twarogów kwasowych chudych pochodzących od czterech producentów był analizowany przez Siemianowskiego i in. [2015b], którzy oznaczyli w 100 g badanych produktów: 113,4 - 123,3 mg wapnia, 183,2 - 204,9 mg fosforu, 7,2 - 8,6 mg magnezu, 23,2 - 24,1 mg sodu, 113,1 - 124,8 mg potasu, 37,2 - 52,0 μg

żelaza, 570,0 - 649,3 µg cynku i 27,5 - 37,3 µg miedzi. W porównaniu z przytoczonymi danymi, badane twarogi kwasowe z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego wykazywały większą zawartość fosforu, cynku, miedzi, zbliżoną zawartość wapnia, magnezu, sodu, potasu oraz mniejszą zawartość żelaza.

Tabela 8. Zawartość składników mineralnych w twarogach kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Wyszczególnienie	Twaróg kwasowy	
	z mleka pasteryzowanego	z mleka mikrofiltrowanego
Wapń (mg/100 g)	$121{,}92^{b}$ ± 2,28	$110{,}14^{a}$ ± 1,80
Fosfor (mg/100 g)	$233{,}36^{b}$ ± 0,77	$231{,}48^{a}$ ± 0,62
Magnez (mg/100 g)	$8{,}08^{b}$ ± 0,04	$7{,}79^{a}$ ± 0,03
Sód (mg/100 g)	$27{,}50^{b}$ ± 0,32	$24{,}77^{a}$ ± 0,14
Potas (mg/100 g)	$117{,}50^{b}$ ± 4,34	$112{,}37^{a}$ ± 0,83
Żelazo (µg/100 g)	$32{,}52^{b}$ ± 0,97	$17{,}38^{a}$ ± 0,43
Cynk (µg/100 g)	$709{,}38^{a}$ ± 6,16	$732{,}28^{b}$ ± 7,63
Miedź (µg/100 g)	$59{,}76^{a}$ ± 0,87	$74{,}00^{b}$ ± 1,16
Mangan (µg/100 g)	$15{,}82^{b}$ ± 0,29	$14{,}82^{a}$ ± 0,19

Objaśnienia: wartość średnia ± odchylenie standardowe; $^{a, b}$ - wartości średnie w tym samym wierszu oznaczone inną literą różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0{,}05$.

W dotychczasowych badaniach wykazano, że spośród twarogów kwasowych o różnej zawartości tłuszczu, największą zawartością wapnia i fosforu charakteryzuje się produkt chudy, a wymienione pierwiastki łącznie stanowią w nim 36,77 % popiołu [Siemianowski i in., 2014]. Wartości Wskaźnika Jakości Żywieniowej (INQ) wskazują, że twaróg kwasowy chudy stanowi w diecie osób dorosłych o umiarkowanej aktywności fizycznej dobre źródło fosforu, wapnia, cynku, w mniejszym stopniu miedzi, natomiast jest ubogim źródłem magnezu, potasu, sodu i żelaza [Siemianowski i in., 2015b].

W procesie produkcji serów twarogowych składniki mineralne zawarte w przerabianym mleku ulegają podziałowi między ser i serwatkę. Zawartość

składników mineralnych w serze twarogowym determinowana jest ich ilością w surowcu oraz metodą produkcji [Chmura i in., 2002]. Z badań Król i in. [2018] wynika, że w twarogu kwasowym produkowanym tradycyjnie jest wykorzystywane 18,64 - 26,69 % wapnia, 16,28 - 33,85 % magnezu, 11,95 - 18,37 % sodu, 19,31 - 30,93 % potasu i 32,37 - 40,28 % cynku.

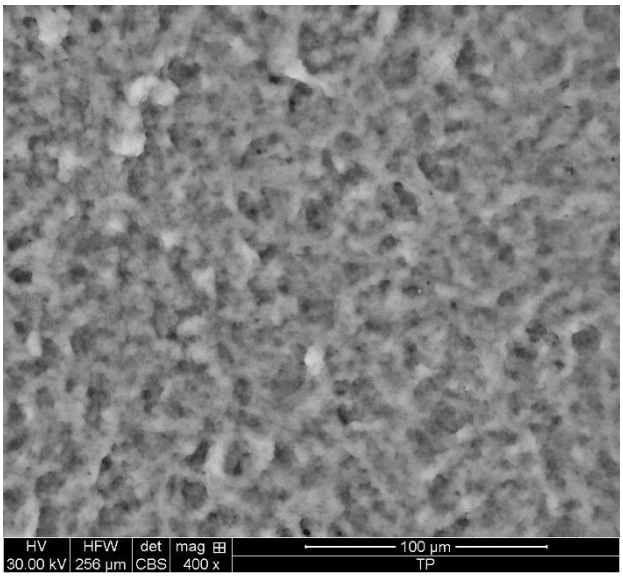
Na zwiększenie zawartości składników mineralnych w serze twarogowym kwasowym pozwala metoda wapniowo-termiczna. Z badań Szpendowskiego i in. [2005a] wynika, że twaróg kwasowy wyprodukowany metodą tradycyjną z mleka pasteryzowanego w temp. 75 ^{o}C/15 s zawierał 0,84 % popiołu, 101,46 mg wapnia/100 g i 182,78 mg fosforu/100 g, natomiast uzyskany metodą wapniowo-termiczną z mleka z dodatkiem 0,05 % chlorku wapnia i pasteryzowanego w temp. 90 ^{o}C/15 s zawierał 1,27 % popiołu, 140,55 mg wapnia/100 g i 275,40 mg fosforu/100 g.

5.8. Mikrostruktura twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

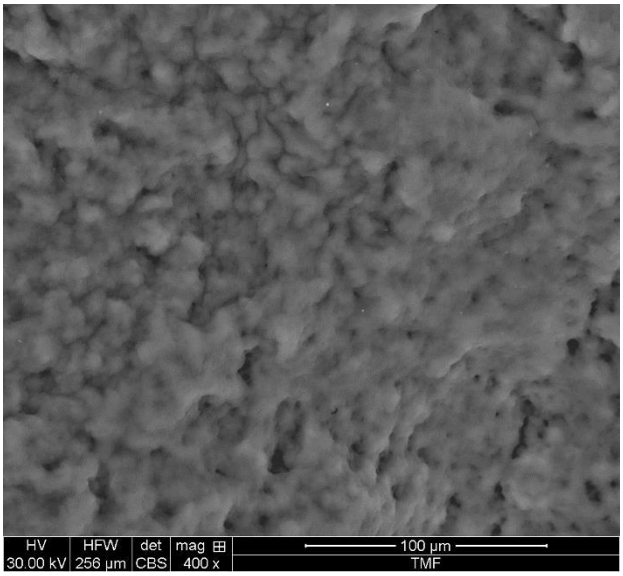
Mikrostrukturę sera stanowi sieć białkowa przeplatana kanałami, utworzona z łańcuchów zagregowanych micel kazeinowych w czasie krzepnięcia mleka, w której wewnętrznych przestrzeniach znajdują się: woda, kuleczki tłuszczowe, składniki mineralne, komórki bakterii [Everett i Auty, 2008].

Mikrostrukturę twarogu kwasowego otrzymanego z mleka pasteryzowanego przedstawia rysunek 7, natomiast twarogu kwasowego otrzymanego z mleka mikrofiltrowanego obrazuje rysunek 8.

Wyprodukowane w przeprowadzonym doświadczeniu twarogi kwasowe odznaczały się amorficzną mikrostrukturą, przy czym zaobserwowano, że sposób przygotowania mleka do przerobu wpływał na wielkość jej elementów strukturalnych i porowatość. Matryca białkowa twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego była zbudowana głównie z drobnych agregatów kazeinowych i charakteryzowała się dużą porowatością. W przypadku twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego mikrostrukturę tworzyły połączone ze sobą duże agregaty kazeinowe, przez co była ona mniej porowata.



Rysunek 7. Mikrostruktura twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego



Rysunek 8. Mikrostruktura twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego

W pracach Bohdziewicza [2010] oraz Siemianowskiego i in. [2015a] na fotografiach obrazujących mikrostrukturę twarogu kwasowego produkowanego metodą tradycyjną widoczna jest sieć białkowa tworzona przez połączone agregaty kazeinowe, w której występują duże pory. Zdaniem Castillo i in. [2006] obecność dużych porów w strukturze masy serowej ułatwia odpływ serwatki. Everett i Auty [2008] twierdzą, że powstające podczas pasteryzacji połączenia kazein z białkami serwatkowymi

odpowiadają za mniejszy stopień agregacji micel kazeinowych podczas krzepnięcia mleka, czego efektem jest tworzenie matrycy białkowej o dużej porowatości.

5.9. Cechy sensoryczne twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Analiza organoleptyczna odgrywa ważną rolę w ocenie serów twarogowych, gdyż pozwala szybko określić ich jakość, smakowitość i przydatność do spożycia [Holanowski, 1986]. Według Żylińskiej in. [2014], atrakcyjność sensoryczna twarogu kwasowego stanowi wypadkową jakości mleka, przebiegu procesu produkcyjnego oraz właściwości stosowanych kultur starterowych.

Wyniki badań sensorycznych otrzymanych w przeprowadzonym doświadczeniu twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego zestawiono w tabeli 9.

Tabela 9. Cechy sensoryczne twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego (liczba punktów w skali 1 - 5)

Wyszczególnienie	Twaróg kwasowy	
	z mleka pasteryzowanego	z mleka mikrofiltrowanego
Wypływ serwatki	$1{,}00^{a}$ ± 0,00	$1{,}00^{a}$ ± 0,00
Jednorodność struktury	$4{,}00^{a}$ ± 0,00	$4{,}00^{a}$ ± 0,00
Zwartość struktury	$5{,}00^{a}$ ± 0,00	$5{,}00^{a}$ ± 0,00
Ziarnistość struktury	$3{,}00^{a}$ ± 0,00	$3{,}00^{a}$ ± 0,00
Barwa biała	$5{,}00^{a}$ ± 0,00	$5{,}00^{a}$ ± 0,00
Jednolitość barwy	$5{,}00^{a}$ ± 0,00	$5{,}00^{a}$ ± 0,00
Smak kwaśny	$3{,}00^{a}$ ± 0,00	$3{,}00^{a}$ ± 0,00
Smak obcy	$1{,}00^{a}$ ± 0,00	$1{,}00^{a}$ ± 0,00
Zapach kwaśny	$3{,}00^{a}$ ± 0,00	$3{,}00^{a}$ ± 0,00
Zapach obcy	$1{,}00^{a}$ ± 0,00	$1{,}00^{a}$ ± 0,00

Objaśnienia: wartość średnia ± odchylenie standardowe; ^{a} - wartości średnie w tym samym wierszu oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0{,}05$.

Między twarogami kwasowymi z mleka mikrofiltrowanego oraz z mleka pasteryzowanego nie wykazano istotnych ($p > 0,05$) różnic w ocenianych cechach sensorycznych. Badane twarogi kwasowe charakteryzowały się brakiem wypływu serwatki; dużą jednorodnością, bardzo dużą zwartością i umiarkowaną ziarnistością struktury; bardzo dużą intensywnością i jednolitością barwy białej; umiarkowanym smakiem kwaśnym i brakiem smaku obcego; umiarkowanym zapachem kwaśnym i brakiem zapachu obcego. Cechy sensoryczne wyprodukowanych w doświadczeniu twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego odpowiadały wymaganiom dla serów twarogowych kwasowych (krajanka i klinki), zawartym w Polskiej Normie [PN-A-86300:1991].

W dotychczasowych badaniach innych autorów stwierdzano wpływ sposobu przygotowania mleka do produkcji twarogu kwasowego na jego niektóre cechy sensoryczne. Szpendowski i in. [2007] stwierdzili, że twarogi kwasowe wyprodukowane z mleka z dodatkiem chlorku wapnia w ilości 0,015 % i pasteryzowanego w temp. 90 ^{o}C/15 s wykazywały luźniejszą konsystencję i mniej zwartą strukturę, w porównaniu z twarogami kwasowymi z mleka pasteryzowanego w temp. 75 ^{o}C/15 s. Dmytrów i in. [2009] ocenili lepiej pod względem smaku oraz struktury i konsystencji twaróg kwasowy otrzymany z mleka mikrofiltrowanego w temp. 50 ^{o}C przy wykorzystaniu membrany o porach 1,4 μm i pasteryzowanego w temp. 72 ^{o}C/15 s, w porównaniu z twarogiem kwasowym z mleka homogenizowanego pod ciśnieniem 15 MPa w temp. 55 ^{o}C i pasteryzowanego w temp. 85 ^{o}C/15 s. Z kolei Bohdziewicz [2010] wskazuje na mniejszy wyciek serwatki oraz większą twardość i zwięzłość twarogów kwasowych uzyskanych z mleka z dodatkiem transglutaminazy, w porównaniu z twarogami kwasowymi produkowanymi standardowo.

5.10.Skład chemiczny i kwasowość serwatek kwasowych z produkcji twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

W procesie produkcji serów twarogowych kwasowych powstaje serwatka kwasowa, stanowiąca produkt uboczny. Serwatka kwasowa jest cieczą o zielonkawej barwie i kwaskowym, słonawym posmaku. Uzyskiwana jest w ilości odpowiadającej 85 - 90 % objętości przerabianego mleka i zawiera ok. 50 % składników jego suchej

masy. W serwatce kwasowej obecne są: białka, laktoza, tłuszcz, kwas mlekowy, składniki mineralne i witaminy [Jasińska i Skryplonek, 2014].

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono wpływ sposobu przygotowania mleka do produkcji twarogu kwasowego na skład chemiczny i kwasowość uzyskiwanej serwatki kwasowej (tabela 10). Wykazano, że serwatka kwasowa z produkcji twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z serwatką kwasową z produkcji twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego zawierała istotnie ($p < 0,05$) mniej suchej masy, laktozy, popiołu oraz wykazywała istotnie ($p < 0,05$) mniejsze kwasowości czynną i potencjalną, natomiast nie różniła się istotne ($p > 0,05$) pod względem zawartości białka ogółem. Zawartość tłuszczu w badanych serwatkach kwasowych wynosiła < 0,02 %.

Tabela 10. Skład chemiczny i kwasowość serwatek kwasowych otrzymanych przy produkcji twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego

Wyszczególnienie	Serwatka kwasowa	
	z mleka pasteryzowanego	z mleka mikrofiltrowanego
Sucha masa (%)	$6,65^{b}$ ± 0,02	$6,16^{a}$ ± 0,04
Białko ogółem (%)	$0,97^{a}$ ± 0,01	$0,97^{a}$ ± 0,01
Laktoza (%)	$4,15^{b}$ ± 0,01	$3,99^{a}$ ± 0,02
Tłuszcz (%)	< 0,02	< 0,02
Popiół (%)	$0,79^{b}$ ± 0,00	$0,72^{a}$ ± 0,00
Kwasowość czynna (pH)	$4,54^{a}$ ± 0,00	$4,59^{b}$ ± 0,01
Kwasowość potencjalna (^{o}SH)	$28,65^{b}$ ± 0,50	$25,25^{a}$ ± 0,19

Objaśnienia: wartość średnia ± odchylenie standardowe; $^{a, b}$ - wartości średnie w tym samym wierszu oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$, natomiast oznaczone inną literą różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$.

Szpendowski i in. [2005b] podczas produkcji serka twarogowego kwasowego metodą wirówkową uzyskali serwatkę kwasową zawierającą: 5,45 % suchej masy, 0,51 % białka ogółem, 3,74 % laktozy, 0,05 % tłuszczu i 0,71 % popiołu. Jasińska i Skryplonek [2014] podają, że skład serwatki nie jest stały i zależy od rodzaju mleka,

ale także parametrów stosowanych podczas jego krzepnięcia i obróbki skrzepu. Kwasowość czynna serwatki kwasowej przyjmuje wartości pH < 5 [Jasińska i Skryplonek, 2014]. Według Rymaszewskiego i Śmietany [1997] kwasowość potencjalna serwatki kwasowej pochodzącej z produkcji sera twarogowego kwasowego nie powinna przekraczać 30 ^{o}SH.

Obecność w serwatce kwasowej cennych żywieniowo składników mleka uzasadnia poszukiwanie racjonalnych sposobów jej zagospodarowania. Trudności w przetwórstwie tego produktu ubocznego wynikają z zawartości kwasu mlekowego i składników mineralnych [Jasińska i Skryplonek, 2014]. Aktualnie najpowszechniej stosowanym sposobem przetwórstwa serwatki kwasowej jest produkcja proszku serwatkowego [Zander i Zander, 2007]. Wyniki prac badawczych z ostatnich lat wskazują kilka perspektywicznych kierunków wykorzystania serwatki potwarogowej w przemyśle spożywczym. Wronkowska i in. [2015] informują o możliwości zastosowania koncentratu po ultrafiltracji serwatki kwasowej jako dodatku w produkcji pieczywa. Stadnik i Stasiak [2016] zastosowali z dobrym efektem serwatkę kwasową i sól morską zamiast mieszanki peklującej w produkcji polędwicy wieprzowej. Z kolei Kiełczewska i in. [2020] wyprodukowali na bazie serwatki kwasowej oraz owoców i warzyw atrakcyjne sensorycznie napoje z dodatkiem bakterii probiotycznych *Lactobacillus rhamnosus* HN001.

6. Wnioski i stwierdzenia końcowe

Na podstawie przedstawionych w niniejszej pracy wyników badań można sformułować następujące wnioski i stwierdzenia:

1. Pasteryzacja i mikrofiltracja zapewniały porównywalną jakość mikrobiologiczną mleka odtłuszczonego, przy czym proces mikrofiltracji pozwolił dodatkowo na niemal całkowite usunięcie komórek somatycznych i nie inaktywował fosfatazy alkalicznej.
2. Pasteryzacja wpływała na kwasowość, natomiast mikrofiltracja na skład chemiczny i kwasowość mleka odtłuszczonego. Odnotowane w mleku odtłuszczonym po mikrofiltracji zmiany składu chemicznego i kwasowości nie ograniczały jego przydatności do produkcji twarogu kwasowego.
3. Procesy ukwaszania mleka pasteryzowanego i mleka mikrofiltrowanego miały zbliżony przebieg.
4. Twarogi kwasowe z mleka mikrofiltrowanego oraz z mleka pasteryzowanego nie różniły się jakością mikrobiologiczną, a liczba oznaczonych drobnoustrojów wskazywała na prawidłowy przebieg i właściwą higienę ich procesu produkcji.
5. Sposób przygotowania mleka miał wpływ na wydatek, skład chemiczny i kwasowość twarogu kwasowego. Twaróg kwasowy z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z twarogiem kwasowym z mleka pasteryzowanego wykazywał nieznacznie mniejszy wydatek, mniejszą zawartość suchej masy, białka ogółem, laktozy i popiołu oraz mniejsze kwasowości czynną i potencjalną, a nie różnił się zawartością tłuszczu. Wydatek, skład chemiczny i kwasowość twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego były właściwe dla tego rodzaju sera.
6. Miedzy twarogami kwasowymi z mleka mikrofiltrowanego oraz z mleka pasteryzowanego występowały różnice w składzie frakcji białkowych, co miało wpływ na skład aminokwasowy. Jednakże niezależnie od sposobu przygotowania mleka, białko otrzymanych twarogów kwasowych zawierało wszystkie aminokwasy niezbędne w ilościach pokrywających wartości przewidziane w białku wzorcowym FAO/WHO/UNC (2007).
7. Sposób przygotowania mleka do produkcji twarogu kwasowego miał wpływ na jego skład mineralny. Twaróg kwasowy z mleka mikrofiltrowanego w porównaniu z twarogiem kwasowym z mleka pasteryzowanego zawierał

więcej cynku i miedzi oraz mniej wapnia, fosforu, magnezu, sodu, potasu, żelaza i manganu.

8. Twarogi kwasowe wykazywały amorficzną mikrostrukturę, przy czym sposób przygotowania mleka do ich produkcji wpływał na wielkość jej elementów strukturalnych i porowatość. Matryca białkowa twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego była zbudowana z większych agregatów kazeinowych i charakteryzowała się mniejszą porowatością w stosunku do twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego.
9. Twarogi kwasowe z mleka mikrofiltrowanego oraz z mleka pasteryzowanego nie różniły się pod względem ocenianych cech sensorycznych, które były właściwe dla twarogu kwasowego.
10. Sposób przygotowania mleka do produkcji twarogu kwasowego miał wpływ na skład chemiczny i kwasowość powstającej serwatki kwasowej. Serwatka kwasowa z produkcji twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego wykazywała skład chemiczny i kwasowość właściwe dla tego rodzaju produktu ubocznego.
11. Mleko odtłuszczone poddane mikrofiltracji wykazuje przydatność do produkcji twarogu kwasowego metodą tradycyjną.

Piśmiennictwo

Ardisson-Korat A.V., Rizvi S.S.H., 2004. Vatless manufacturing of low-moisture part-skim mozzarella cheese from highly concentrated skim milk microfiltration retentates. Journal of Dairy Science, 87(11): 3601- 3613.

Awad S., Ahmed N., El Soda M., 2010. Influence of microfiltration and adjunct culture on quality of Domiati cheese. Journal of Dairy Science, 93(5): 1807-1814.

Bansal B., Chen X.D., 2006. A critical review of milk fouling in heat exchangers. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 5(2): 27-33.

Berhold A., Pluta A., Kołodziej A., 2007. Jakość mikrobiologiczna rynkowych serów twarogowych. Przegląd Mleczarski, 7: 4-7.

Beuvier E., Berthaud K., Cegarra S., Dasen A., Pochet S., Buchin S., Duboz G., 1997. Ripening and quality of swiss-type cheese made from raw, pasteurized or microfiltered milk. International Dairy Journal, 7(5): 311-323.

Block R.J., Mitchell H.H., 1946. The correlation of the amino acid composition of proteins with their nutritive value. Nutrition Abstracts and Reviews, 16(2): 249-278.

Bohdziewicz K., 2009. Twaróg - pierwszy świeży ser świata. Przegląd Mleczarski, 2: 4-8.

Bohdziewicz K., 2010. Wpływ transglutaminazy na proces produkcji, wydatek oraz jakość twarogów. Przegląd Mleczarski, 2: 4-9.

Bohdziewicz K., Śmietana Z., 2007. Twarogi - teraźniejszość i przyszłość. Kalejdoskop Mleczarski, 2: 32-35.

Burton H., Ford J.E. Franklin J.G., Porter J.W.G., 1967. Effects of repeated heat treatments on the levels of some vitamins of the B-complex in milk. Journal of Dairy Research, 34(3): 193-197.

Cais D., Wojciechowski J., 1996. Zmiany wybranych cech jakościowych serów twarogowych w trakcie ich przechowywania. Przegląd Mleczarski, 6: 177-180.

Carter B.G., Cheng N., Kapoor R., Meletharayil G.H., Drake M.A., 2021. Microfiltration-derived casein and whey proteins from milk. Journal of Dairy Science, 104(3): 2465-2479.

Castillo M., Lucey J.A., Wang T., Payne F.A., 2006. Effect of temperature and inoculum concentration on gel microstructure, permeability and syneresis kinetics. Cottage cheese-type gels. International Dairy Journal, 16(2): 153-161.

Charcosset C., 2021. Classical and recent applications of membrane processes in the food industry. Food Engineering Reviews, 13(2): 322-343.

Chmura S., Śmietana Z., Żulewska J., 2002. The effect of the production method on selected physico-chemical properties of cottage cheeses. Polish Journal of Natural Sciences, 11(2): 189-197.

Claeys W.L., Cardoen S., Daube G., De Block J., Dewettinck K., Dierick K., De Zutter L., Huyghebaert A., Imberechts H., Thiange P., Vandenplas Y., Herman L., 2013. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. Food Control, 31(1): 251-262.

Costa E.N., Lacerda E.C.Q., Santos S.M.S., Santos C.M.S., Franco M., Silva R.R., Simionato J.I., 2011. Action of successive heat treatments in bovine milk fatty acids. Journal of the Brazilian Chemical Society, 22(11): 2115-2120.

Davies M.G., Thomas A.J., 1973. An investigation of hydrolytic techniques for the amino acid analysis of foodstuffs. Journal of the Science of Food and Agriculture, 24(12): 1525-1540.

Debon J., Prudêncio E.S., Petrus J.C.C., Fritzen-Freire C.B., Müller C.M.O., Amboni R.D.M.C., Vieira C.R.W., 2012. Storage stability of prebiotic fermented milk obtained from permeate resulting of the microfiltration process. LWT - Food Science and Technology, 47(1): 96-102.

Dec B. Chojnowski W., 2013. Specyfika mikrofiltracji - proces, membrany i moduły. Przemysł Spożywczy, 10: 19-24.

Dmytrów I., 2015. Wpływ probiotycznych bakterii kwasu mlekowego na stabilność przechowalniczą kwasowych serów twarogowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 5(102): 49-60.

Dmytrow I., Mituniewicz-Malek A., Dmytrow K., Antonowicz J., 2009. Evaluation of selected physico-chemical properties of tvarog produced from extended shelf life milk (ESL). Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, 12(3): #01.

Donato L., Guyomarc'h F., 2009. Formation and properties of the whey protein/κ-casein complexes in heated skim milk – A review. Dairy Science and Technology, 89(1): 3-29.

Dolatowski Z., Stasiak D., 2000. Wpływ mechanizacji tradycyjnej linii do produkcji twarogu na jego parametry tekstury. Zeszyty Naukowe Politechniki Opolskiej. Seria: Mechanika, 60: 45-51.

Dudzińska A., Domagała J., Wszołek M., 2014. Wpływ wysokiego ciśnienia hydrostatycznego na podstawowe składniki mleka. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2(93): 19-32.

Everett D.W., Auty M.A.E., 2008. Cheese structure and current methods of analysis. International Dairy Journal, 18(7): 759-773.

FAO, 1991. Protein quality evaluation. Report of an FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition Paper, 51, Rome.

FAO, 2013. Dietary protein quality evaluation in human nutrition. Report of an FAO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition Paper, 92, Rome.

Farrell H.M.Jr., Jimenez-Flores R., Bleck G.T., Brown E.M., Butler J.E., Creamer L.K., Hicks C.L., Hollar C.M., Ng-Kwai-Hang K.F., Swaisgood H.E., 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk-sixth revision. Journal of Dairy Science, 87(6): 1641-1674.

Feinberg M., Dupont D., Efstathiou T., Louâpre V., Guyonnet J.P., 2006. Evaluation of tracers for the authentication of thermal treatments of milks. Food Chemistry, 98(1): 188-194.

Fernández García L., Álvarez Blanco S., Riera Rodríguez F.A., 2013. Microfiltration applied to dairy streams: removal of bacteria. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(2): 187-196.

Gaucheron F., 2005. The minerals of milk. Reproduction Nutrition Development, 45(4): 473-483.

Godula K., Dmytrów I., Mituniewicz-Małek A., Mulawka E., 2018. Stabilność przechowalnicza twarogów tradycyjnych i bezlaktozowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 4(117): 140-149.

Górska-Warsewicz H., 2005. Rozwój rynku produktów mleczarskich. Przemysł Spożywczy, 10: 20-23.

Haddad G.S., Loewenstein M., 1983. Effect of several heat treatments and frozen storage on thiamine, riboflavin, and ascorbic acid content of milk. Journal of Dairy Science, 66(8): 1601-1606.

Hinrichs J., 2001. Incorporation of whey proteins in cheese. International Dairy Journal, 11(4-7): 495-503.

Hoffmann W., Kiesner C., Clawin-Rädecker I., Martin D., Einhoff K., Lorenzen P.C., Meisel H., Hammer P., Suhren G., Teufel P., 2006. Processing of extended shelf

life milk using microfiltration. International Journal of Dairy Technology, 59(4): 229-235.

Holanowski A., 1986. Twarogi i serki twarogowe. Biblioteczka Majstra Mleczarskiego. Wydawnictwo Spółdzielcze, Warszawa.

Hurt E., Zulewska J., Newbold M., Barbano D. M., 2010. Micellar casein concentrate production with a 3X, 3-stage, uniform transmembrane pressure ceramic membrane process at 50°C. Journal of Dairy Science, 93(12): 5588-5600.

Jasińska M., Skryplonek K., 2014. Wartość żywieniowa i prozdrowotna serwatki oraz jej wykorzystanie. Towaroznawcze Problemy Jakości, 2(39): 76-84.

Jaworski J., Kuncewicz A., 2008. Właściwości fizykochemiczne mleka. W: Mleczarstwo. Tom 1. Red. S. Ziajka. Wydawnictwo UWM, Olsztyn, 53-99.

Jørgensen C.E., Abrahamsen R.K., Rukke E.-O., Johansen A.-G., Schüller R.B., Skeie S.B., 2016. Optimization of protein fractionation by skim milk microfiltration: choice of ceramic membrane pore size and filtration temperature. Journal of Dairy Science, 99(8): 6164-6179.

Kiełczewska K., Pietrzak-Fiećko R., Nalepa B., 2020. Acid whey-based smoothies with probiotic strains. Journal of Elementology, 25(4): 1435-1448.

Kitlas M., Ziarno M., 2002. Próba wzbogacenia serów twarogowych w wapń. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 3(32) S: 79-88.

Krajewska-Kamińska E., Śmietana Z., Bohdziewicz K., 2007. Production and characteristics of twarog cheeses containing strains of probiotic bacteria. Polish Journal of Food and Nutritional Sciences, 57(4B): 325-328.

Krełowska-Kułas M., 1993. Badanie jakości produktów spożywczych. Państwowe Wydawnictwo Ekonomiczne, Warszawa.

Król J., Kędzierska-Matysek M., Brodziak A., Zaborska A., Litwińczuk A., 2018. The effect of selected factors on yield and protein and mineral retention in traditionally produced tvarog. Journal of Elementology, 23(3): 959-969.

Lucey J.A., 2004. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. International Journal of Dairy Technology, 57(2/3): 77-84.

Markiewicz K., 2000. Oznaczanie zawartości wapnia i fosforu w produktach spożywczych. W: Ćwiczenia z analizy żywności. Red. Z. Żegarska. Wydawnictwo UWM, Olsztyn, 67-72.

McSweeney P.L.H., Fox P.F., Lucey J.A., Jordan K.N., Cogan T.M., 1993. Contribution of the indigenous microflora to the maturation of cheddar cheese. International Dairy Journal, 3(7): 613-634.

Mehta B.M., Deeth H.C., 2016. Blocked lysine in dairy products: formation, occurrence, analysis, and nutritional implications. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 15(1): 206-218.

Miśniakiewicz M., 2017. Identyfikacja i analiza trendów rozwojowych w przemyśle spożywczym w Polsce. Nierówności Społeczne a Wzrost Gospodarczy, 51(3): 385-397.

Nazeri P., Norouzian M.A., Mirmiran P., Hedayati M., Azizi F., 2015. Heating process in pasteurization and not in sterilization decreases the iodine concentration of milk. International Journal of Endocrinology and Metabolism, 13(4): e27995.

Neocleous M., Barbano D. M., Rudan M. A., 2002. Impact of low concentration factor microfiltration on milk component recovery and cheddar cheese yield. Journal of Dairy Science, 85(10): 2415-2424.

Nowicka P., Wojdyło A., Oszmiański J. 2014. Zagrożenia powstające w żywności minimalnie przetworzonej i skuteczne metody ich eliminacji. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2(93): 5-18.

Obrusiewicz T., 1995. Technologia mleczarstwa. Część 2. Wydawnictwa Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa.

Olesen N., Jensen F., 1989. Microfiltration. The influence of operation parameters on the process. Milchwissenschaft, 44(8): 476-479.

Oser B.L., 1951. Method for integrating essential amino acid content in the nutritional evaluation of protein. Journal of the American Dietetic Association, 27(5): 396-402.

Pafylias I., Cheryan M., Mehaia M.A., Saglam N., 1996. Microfiltration of milk with ceramic membranes. Food Research International, 29(2): 141-146.

Panfil-Kuncewicz H., 2010. Postęp w pakowaniu serów dojrzewających i twarogów. Przegląd Mleczarski, 7: 18-21.

Panfil-Kuncewicz H., Lis A., Majewska M., 2014. Wpływ opakowań aktywnych na trwałość mikrobiologiczną i cechy sensoryczne serów twarogowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2(93): 190-203.

Panopoulos G., Moatsou G., Psychogyiopoulou C., Moschopoulou E., 2020. Microfiltration of ovine and bovine milk: effect on microbial counts and biochemical characteristics. Foods, 9(3): 284.

Pestana J.M., Gennari A., Monteiro B.W., Lehn D.N., de Souza C.F.V., 2015. Effects of pasteurization and ultra-high temperature processes on proximate composition and fatty acid profile in bovine milk. American Journal of Food Technology, 10(6): 265-272.

PN-A-86122:1968. Mleko. Metody badań. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-A-86232:1973. Mleko i przetwory mleczarskie. Sery. Metody badań. Polski Komitet Normalizacji i Miar, Warszawa.

PN-A-86300:1991. Mleko i przetwory mleczarskie. Sery twarogowe niedojrzewające. Polski Komitet Normalizacji, Miar i Jakości, Warszawa.

PN-A-86300:1991/Az2:1997. Mleko i przetwory mleczarskie. Sery twarogowe niedojrzewające. (Zmiana A2). Polski Komitet Normalizacji, Miar i Jakości, Warszawa.

PN-A-86364:1996. Mleko i przetwory mleczne. Serwatka. Metody badań. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-EN ISO 4833-1:2013-12. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Część 1: Oznaczanie liczby metodą posiewu wgłębnego w temperaturze 30 stopni C. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-EN ISO 13366-2:2007. Mleko. Oznaczanie liczby komórek somatycznych. Część 2: Przewodnik obsługi liczników fluoro-opto-elektronicznych. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-EN ISO 6888-1:2001/A1:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby gronkowców koagulazo-dodatnich (Staphylococcus aureus i innych gatunków). Część 1: Metoda z zastosowaniem pożywki agarowej Baird-Parkera. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-EN ISO 8968-2:2004. Mleko. Oznaczanie zawartości azotu. Część 2: Metoda z zastosowaniem bloku do mineralizacji (Metoda makro). Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-ISO 6611:2007. Mleko i przetwory mleczne. Oznaczanie liczby jednostek tworzących kolonie drożdży i/lub pleśni. Metoda płytkowa w temperaturze 25 stopni C. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-ISO 16649-2:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby beta-glukuronidazo-dodatnich Escherichia coli. Część 2: Metoda płytkowa w temperaturze 44 stopni C z zastosowaniem 5-bromo-4-chloro-3-indolilo beta-D-glukuronidu. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-ISO 17410:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-ISO 21528-2:2005. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby Enterobacteriaceae. Część 2: Metoda płytkowa. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-ISO 22935-1:2013-05. Mleko i przetwory mleczne. Analiza sensoryczna. Część 1: Ogólne wytyczne rekrutacji, wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

PN-ISO 22935-2:2013-07. Mleko i przetwory mleczne. Analiza sensoryczna. Część 2: Zalecane metody oceny sensorycznej. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.

Pouliot Y., Boulet M., Paquin P., 1989. Observations on the heat-induced salt balance changes in milk I. Effect of heating time between 4 and 90°C. Journal of Dairy Research, 56(2): 185-192.

Quigley L., O'Sullivan O., Stanton C., Beresford T.P., Ross R.P., Fitzgerald G.F., Cotter P.D., 2013. The complex microbiota of raw milk. FEMS Microbiology Reviews, 37(5): 664-698.

Raynal K., Remeuf F., 1998. The effect of heating on physicochemical and renneting properties of milk: a comparison between caprine, ovine and bovine milk. International Dairy Journal, 8(8): 695-706.

Roy D., Pitre M., Blanchette L., Savoie L., Bélanger G., Ward P., Maubois J.L., 1997. Monitoring proteolysis and cheese juice composition during ripening of cheddar cheese made from microfiltered milk. Le Lait, 77(5): 521-541.

Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej L 139/55 z 30.04.2004.

Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. Dziennik Urzędowy L 338 z 22.12.2005.

Rymaszewski J., Śmietana Z., 1997. Sery dojrzewające i sery twarogowe. W: Mleczarstwo - zagadnienia wybrane. Tom 2. Red. S. Ziajka. Wydawnictwo ART, Olsztyn, 151-209.

Saboya L.V., Maubois J.L., 2000. Current developments of microfiltration technology in the dairy industry. Le Lait, 80(6): 541-553.

Sakkas L., Moutafi A., Moschopoulou E., Moatsou G., 2014. Assessment of heat treatment of various types of milk. Food Chemistry, 159: 293-301.

Schram E., Moore S., Bigwood E.J., 1954. Chromatographic determination of cystine as cysteic acid. Biochemical Journal, 57(1): 33-37.

Siemianowski K., 2014. Wartość odżywcza i wykorzystanie kulinarne twarogów kwasowych. Twarogowe bogactwo. Przegląd Gastronomiczny, 4: 15-16.

Siemianowski K., Bohdziewicz K., Szpendowski J., Kołakowski P., Żylińska J., Bardowski J., 2015a. Wpływ zwiększenia zawartości suchej masy w surowcu na teksturę i mikrostrukturę twarogu kwasowego. Acta Agrophysica, 22(2): 183-193.

Siemianowski K., Szpendowski J., 2014. Znaczenie twarogu w żywieniu człowieka. Problemy Higieny i Epidemiologii, 95(1): 115-119.

Siemianowski K., Szpendowski J., Tońska E., 2015b. Chudy twaróg kwasowy jako źródło wybranych składników mineralnych w diecie osób dorosłych. Problemy Higieny i Epidemiologii, 96(3): 633-637.

Siemianowski K., Tońska E., Szpendowski J., 2014. The content of selected macroelements and microelements in acid tvorogs with a different fat content. Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica, 315(32): 51-58.

Skeie S., 2007. Characteristics in milk influencing the cheese yield and cheese quality. Journal of Animal and Feed Sciences, 16(Suppl. 1): 130-142.

Skrzypek M., Burger M., 2010. Isoflux® ceramic membranes - Practical experiences in dairy industry. Desalination, 250(3): 1095-1100.

Skrzypek J., Cais-Sokolińska D., Pikul J., Skrzypek M., 2002. Jakość mikrobiologiczna mleka poddanego procesowi mikrofiltracji i pasteryzacji. Przegląd Mleczarski, 5: 229-233.

Sławiński P., Tyczkowska K., 1974. Hydroliza prób materiału biologicznego do oznaczania tryptofanu. Roczniki Technologii i Chemii Żywności, 24(2): 155-163.

Stadnik J., Stasiak D.M., 2016. Effect of acid whey on physicochemical characteristics of dry-cured organic pork loins without nitrite. International Journal of Food Science and Technology, 51(4): 970-977.

Stasiak D.M., Latoch A., Mleko S., Tomczyńska-Mleko M., 2015. Barwa i tekstura sera twarogowego kwasowego przechowywanego w różnych opakowaniach. W: Bezpieczeństwo zdrowotne żywności. Aspekty mikrobiologiczne, chemiczne i ocena towaroznawcza. Red. J. Standnik, I. Jackowska. Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków, 299-308.

Szajner P., 2022a. Przetwórstwo mleka. Rynek Mleka: stan i perspektywy, 63: 13-17.

Szajner P., 2022b. Spożycie mleka i jego przetworów. Rynek Mleka: stan i perspektywy, 63: 17-22.

Szpendowski J., Kłobukowski J., Prokop E., 2005a. Wpływ dodatku chlorku wapnia i ogrzewania mleka na skład chemiczny serów twarogowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 3(44): 36-45.

Szpendowski J, Salamonowicz J., Cichosz G., 2005b. Effect of different methods of milk protein coagulation and separation on the chemical composition and nutritive value of whey and permeate obtained during the production of cottage cheese. Polish Journal of Natural Sciences, 18(1): 199-209.

Szpendowski J., Śmietana Z., Płodzień T., Lewandowski K., Owczarzak A., Buczma E., 2007. Technologia serów twarogowych o podwyższonej wartości odżywczej. Przegląd Mleczarski, 1: 4-9.

Śmietana Z., Derengiewicz W., Jankowski A., Wojdyński T., 1998. Nowa technika i technologia produkcji twarogów. Przegląd Mleczarski, 9: 288-292.

Śmietana Z., Szpendowski J., Bohdziewicz K., 2003. Charakterystyka tradycyjnego „polskiego twarogu" otrzymywanego według własnej nowoczesnej techniki i technologii. Przegląd Mleczarski, 4: 126-129.

Śmietana Z., Szpendowski J., Bohdziewicz K., Świgoń J., 1994a. Ogólne zasady produkcji twarogu i serków twarogowych. Część I. Metoda tradycyjna. Przegląd Mleczarski, 1: 7-9.

Śmietana Z., Szpendowski J., Bohdziewicz K., Świgoń J., 1994b. Ogólne zasady produkcji twarogu i serków twarogowych. Część II. Ze wszystkich białek mleka. Przegląd Mleczarski, 2: 41-43.

Świderski F., Waszkiewicz-Robak B., 2008. Technologie minimalnego przetwarzania żywności. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 4: 38-40.

Troch T., Lefébure É., Baeten V., Colinet F., Gengler N., Sindic M., 2017. Cow milk coagulation: process description, variation factors and evaluation methodologies. A review. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment, 21(4): 276-287.

Trzaska U., 1992. Instrukcje technologiczne do produkcji artykułów mleczarskich. Wydawnicza Spółdzielnia Pracy "Intermlecz", Warszawa.

Verdi R.J., Barbano D.M., Dellavalle M.E., Senyk G.F., 1987. Variability in true protein, casein, nonprotein nitrogen, and proteolysis in high and low somatic cell milks. Journal of Dairy Science, 70(2): 230-242.

Wang D., Fritsch J., Moraru C.I., 2019. Shelf life and quality of skim milk processed by cold microfiltration with 1.4-µm pore size membrane, with or without heat treatment. Journal of Dairy Science, 102(10): 8798-8806.

Whiteside P.J., Milner B.A., 1984. Pye Unicam Atomic Absorption Data Book. Pye Unicam Ltd., Cambridge.

Wronkowska M., Jadacka M., Soral-Śmietana M., Zander L., Dajnowiec F., Banaszczyk P., Jeliński T., Szmatowicz B., 2015. Acid whey concentrated by ultrafiltration a tool for modeling bread properties. LWT - Food Science and Technology, 66(1): 172-176.

Zander L., Zander Z., 2007. Współczesne techniki przetwarzania serwatki. Przegląd Mleczarski, 12: 38-41.

Zhang S., Liu L., Pang X., Lu J., Kong F., Lv J., 2016. Use of microfiltration to improve quality and shelf life of ultra-high temperature milk. Journal of Food Processing and Preservation, 40(4): 707-714.

Ziarno M., 2007. Charakterystyka komercyjnych kultur starterowych stosowanych w przemyśle mleczarskim. Medycyna Weterynaryjna, 63(8): 909-913.

Ziarno M., Lenart A., 2016. Traditional polish curd cheeses. W: Modernization of traditional food processes and products. Red. A. McElhatton, M.M. El Idrissi. Springer Science+Business Media, New York, vol. 11, 3-12.

Ziółkowski T., 2013. Wydatek w procesie produkcji serów twarogowych. Przegląd Mleczarski, 1: 4-6.

Żylińska J., Siemianowski K., Bohdziewicz K., Pawlikowska K., Kołakowski P., Szpendowski J., Bardowski J., 2014. Kultury starterowe do produkcji twarogów kwasowych - rola i oczekiwania. Postępy Mikrobiologii, 53(3): 288-298.

Spis rysunków

Rysunek 1. Etapy w procesie produkcji twarogu kwasowego metodą tradycyjną według dwóch wariantów [opracowanie własne na podstawie: Śmietana i in., 1998; Śmietana i in., 2003] 12

Rysunek 2. Rozdział składników mleka za pomocą membran stosowanych w procesie mikrofiltracji [opracowanie własne na podstawie: Carter i in., 2021] 19

Rysunek 3. Krzywa ukwaszania mleka pasteryzowanego 36

Rysunek 4. Krzywa ukwaszania mleka mikrofiltrowanego 36

Rysunek 5. Wydatek twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 39

Rysunek 6. Elektroforetyczny rozdział białek twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego (TP) oraz z mleka mikrofiltrowanego (TMF) 42

Rysunek 7. Mikrostruktura twarogu kwasowego z mleka pasteryzowanego 49

Rysunek 8. Mikrostruktura twarogu kwasowego z mleka mikrofiltrowanego 49

Spis tabel

Tabela 1. Parametry mikrobiologiczne i cytologiczne mleka pełnego surowego, odtłuszczonego, odtłuszczonego pasteryzowanego oraz odtłuszczonego mikrofiltrowanego 32

Tabela 2. Skład chemiczny i kwasowość mleka pełnego surowego, odtłuszczonego, odtłuszczonego pasteryzowanego oraz odtłuszczonego mikrofiltrowanego 34

Tabela 3. Parametry mikrobiologiczne twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 38

Tabela 4. Skład chemiczny i kwasowość twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 40

Tabela 5. Udział frakcji białkowych w całości zidentyfikowanych białek w twarogach kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 43

Tabela 6. Skład aminokwasowy białka twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 44

Tabela 7. Wskaźniki wartości odżywczej białka twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 45

Tabela 8. Zawartość składników mineralnych w twarogach kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 47

Tabela 9. Cechy sensoryczne twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego (liczba punktów w skali 1 - 5) 50

Tabela 10. Skład chemiczny i kwasowość serwatek kwasowych otrzymanych przy produkcji twarogów kwasowych z mleka pasteryzowanego oraz z mleka mikrofiltrowanego 52