

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních  
zdrojů**

**Katedra kvality zemědělských produktů**



**Vliv přídavku speciálních sýrařských doplňků  
na výtěžnost sýrů**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Veronika Kaňková**

**Vedoucí práce: Ing. Veronika Legarová, Ph.D.**

**© 2014 ČZU v Praze**

### Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Vliv přídavku speciálních sýrařských doplňků na výtěžnost sýrů“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 3. 4. 2014

---

## Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní Ing. Veronice Legarové, Ph.D., za vedení práce, panu Ing. Zdeňku Rozehnalovi za inspiraci a cenné rady a mé rodině za podporu a trpělivost.

# Vliv přísavku speciálních sýrašských doplňků na výtěžnost sýrů

## Souhrn

Sýrašská aditiva ovlivňují výtěžnost sýrů v malé míře, rozhodující na výtěžnosti má kvalita mléka a jeho další zpracování. Využití aditiv za účelem zvýšení výtěžnosti předpokládá technologii, která již minimalizovala ztráty během výroby.

U nízkotučných sýrů lze využít náhražky mléčného tuku, které zajistí chybějící výtěžnost danou snižováním obsahu tuku ve výrobku a které zároveň pozitivně upraví senzorické vlastnosti sýra. Například Simplese<sup>®</sup>100 vytváří u sýrů konzistenci vnímanou jako krémovou.

Zvyšování výtěžnosti prostřednictvím syrovátkových bílkovin s sebou nese problém zhoršených technologických a senzorických vlastností sýra. Surovátkové bílkoviny vážou více vody, která může bránit dosažení požadované sušiny. Nevhodné je využití většího podílu syrovátkových bílkovin u zrajících sýrů vzhledem k odlišnému profilu proteolýzy během zrání.

Zvyšování pasterační teploty pomocí přípravku MaxiCurd<sup>™</sup> umožňuje zvýšení podílu syrovátkových bílkovin v sýru a přináší vyšší výtěžnost, ovšem ta se v praxi neuplatnila. Navíc je omezeno spektrum sýrů, pro které lze MaxiCurd<sup>™</sup> využít.

Běžně využívaným aditivem v sýrašství je CaCl<sub>2</sub>. Zajišťuje dostatek Ca<sup>2+</sup> pro srážení mléka, zvyšuje výtěžnost a v běžné dávce 20 g/l nezpůsobuje újmy na kvalitě sýra.

Využití CO<sub>2</sub> ve výrobě sýrů umožňuje zbrzdit rozvoj mikroorganismů v mléce a prodlužuje trvanlivost suroviny. Přímý vliv na zvýšení výtěžnosti při použití CO<sub>2</sub> do čerstvého mléka nebyl prokázán. Je vhodný spíše v případě nutnosti mléko skladovat. Omezením působení mikrobiálních enzymů na mléčný tuk a kasein přispívá ke snížení ztrát během skladování.

Nutriční hodnoty sýrů mohou být aditivou ovlivněny pozitivně ve smyslu zvýšení obsahu syrovátkových bílkovin nebo suplementací mléčného tuku. Negativním faktorem je snížený obsah vápníku v sýrech vyráběných z mléka okyseleného CO<sub>2</sub>.

**Klíčová slova:** sýr, syřidlo, sýrašská aditiva, výtěžnost

# The effect of addition of special supplements on the yield of cheese

## Summary

Special supplements affect cheese yield in a small extent. Determinative factor for cheese yield is milk quality and its subsequent processing. Using supplements (also called additives) should be based on technology, which decrease losses of milk components.

It is possible to use milk fat supplements for low-fat cheeses. Here they provide to increase yield, which is missing due to low fat content. In addition, they improve sensory properties of cheese. For example Simplese<sup>®</sup>100 generates creamy texture.

Increasing yield thanks to whey protein participating in cheese causes problem of bad technology and sensory properties. Whey proteins bonds water and might impede reaching desirable amount of dry matter in cheese. Using higher content of whey protein is inconvenient for ripening cheeses because of their different proteolysis profile.

Increasing pasteurization temperature thanks to MaxiCurd<sup>™</sup> facilitates incorporating of whey protein to cheese. This leads to higher yield, but it was not succesfully used in practise. MaxiCurd<sup>™</sup> is suitable for small range of cheese.

Calcium chloride is commonly used additive in cheesemaking. It ensures enough calcium ions for renneting, increases yield and in common dose 20 g/l it does not negatively affect cheese quality.

Using carbon dioxide helps to inhibit microroganisms growth. Milk durability is extended. Direct contribution of carbon dioxide to higher yield was not confirmed in raw milk. It is better to use CO<sub>2</sub> during storage. Inhibiting microroganisms and their enzymes, which cleave milk fat and casein, contributes to decreasing losses caused during storage.

Nutritional value of cheese might be changed by using additives. Increasing participation of whey protein or compensation of milk fat in cheese is desirable. Low calcium level in cheeses made with CO<sub>2</sub> is unfavourable.

**Keywords:** cheese, rennet, supplements used in cheese, yield

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce</b> .....	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b> .....	<b>9</b>
3.1	Mléko jako surovina pro výrobu sýrů .....	9
3.1.1	Definice mléka .....	9
3.1.2	Složení kravského mléka .....	9
3.2	Definice a rozdělení sýrů .....	14
3.2.1	Definice sýrů .....	14
3.2.2	Rozdělení sýrů .....	14
3.3	Technologické schéma výroby sýrů .....	15
3.3.1	Úprava mléka .....	15
3.3.2	Sýření mléka .....	19
3.3.3	Zpracování sýřeniny .....	24
3.3.4	Finální úprava výrobku .....	24
3.4	Výběr mléka vhodného k výrobě sýrů .....	25
3.4.1	Výběr vhodného plemene dojnic .....	25
3.4.2	Výběr zdravého zvířete .....	26
3.4.3	Obsah kaseinových bílkovin v mléce .....	26
3.4.4	Obsah minerálních látek v mléce .....	27
3.4.5	Aktivní a titrační kyselost mléka .....	27
3.5	Výtěžnost sýrů .....	28
3.5.1	Definice výtěžnosti .....	28
3.5.2	Výpočet výtěžnosti .....	28
3.5.3	Faktory ovlivňující výtěžnost .....	29
3.6	Vliv speciálních sýrařských doplňků na výtěžnost .....	37
3.6.1	Chlorid vápenatý .....	38
3.6.2	MaxiCurd™ .....	39
3.6.3	Náhražky mléčného tuku v nízkotučných sýrech .....	40
3.6.4	Oxid uhličitý .....	41
3.7	Nutriční aspekty vyplývající z využití aditiv .....	44
<b>4</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>45</b>
<b>5</b>	<b>Zdroje</b> .....	<b>47</b>

# 1 Úvod

Výtěžnost sýrů je důležitý ekonomický aspekt mlékárenské výroby. Ve snaze zajistit co nejvyšší výtěžnost jsou zkoumány možnosti zamezení ztrát a zadržení maximálního podílu využitelných surovin pro sýr. Výsledný výrobek je vždy kompromisem mezi výtěžností a kvalitou výrobku, která je představována sensorickými a technologickými vlastnostmi a zájmem zákazníka o výrobek.

Výtěžnost je dána několika faktory, které jsou v práci rozebrány a vysvětleny. Z velké části se jedná o kvalitu mléka. Výtěžnost je limitována množstvím a formou jednotlivých složek v mléce. Následně použitá technologie výroby sýrů by měla být zvolena tak, aby došlo k co nejmenším újmám na kvalitě suroviny a dodržení požadavků na sýr. Je možné zvážit využití speciálních sýrařských doplňků ve výrobě, ovšem ty se na výsledné výtěžnosti účastní jen minoritně. Aditiva mohou významně změnit vlastnosti mléka a následně i sýra, a to v pozitivním i negativním smyslu. V práci jsou popsány výhody i nejčastější úskalí zařazení aditiv do výroby.

## **2 Cíl práce**

Cílem práce je zpracovat přehlednou literární rešerši týkající se problematiky výtěžnosti při výrobě sýrů a poukázat na význam sýrařských aditiv jako prostředku ke zvyšování výtěžnosti. V práci je porovnáno několik speciálních sýrařských doplňků a posouzena jejich vhodnost vzhledem k vlastnostem výsledného výrobku, jejich nevýhody, vliv na výtěžnost a na nutriční význam sýrů.



## **3 Literární rešerše**

### **3.1 Mléko jako surovina pro výrobu sýrů**

#### **3.1.1 Definice mléka**

Mléko je tekutina produkovaná samicemi všech savců primárně určená k výživě mláďat daného druhu. Mléko různých savců se liší zastoupením pro mléko typických komponent. Mléko se částečně liší i v rámci jednoho druhu v závislosti na plemeni, věku zvířete, délce mezidobí, fázi laktace, krmivu a jiných faktorech (McSweeney et al., 2007).

V této práci je dále pojednáno pouze o kravském mléce, které je tradiční surovinou pro výrobu sýrů v České republice (Zdeněk Rozehnal, 2014, pers.comm.).

#### **3.1.2 Složení kravského mléka**

Mléko jakéhokoliv druhu se skládá z vody, lipidů, proteinů, sacharidů, minerálních látek a stopových množství enzymů a vitamínů. Mléko je koloidem (proteiny ve formě kaseinových micel) a zároveň emulzí (tukové kuličky) (McSweeney et al., 2007).

##### **3.1.2.1 Lipidy**

Obsah lipidů v mléce oproti ostatním složkám mléka nejvíce kolísá (McSweeney et al., 2007).

Podle Drbohlava a Vodičkové (2002) kravské mléko obsahuje v průměru 4 % lipidů, z čehož 98–99 % je obsaženo v tukových kuličkách tvořených triacylglyceroly mastných kyselin.

Pijanowski (1977) uvádí průměr tukových kuliček 2–4  $\mu\text{m}$  a obsah tukových kuliček v 1  $\text{cm}^3$  mléka od 2 do 6 miliard. Tuk v mléce tvoří velký povrch, který lehko podléhá změnám, jako jsou hydrolýza nebo oxidace.

Tukové kuličky jsou obklopeny membránou složenou především z bílkovin, fosfolipidů a glykoproteinů, triglyceridů, enzymů a cholesterolu (Zamora et al., 2012). V rámci druhu sýra se tuk podílí na tvorbě textury a chuti (McSweeney et al., 2007).

##### **3.1.2.1.1 Fosfolipidy**

V mléce je obsaženo asi 0,02–0,03 % fosfolipidů, z nichž 28 % tvoří lecitin. 60–65 % fosfolipidů je obsaženo v membráně tukových kuliček (Drbohlav et Vodičková, 2002).

#### 3.1.2.1.2 Cholesterol

Cholesterol je jediným zástupcem sterolů v živočišných tucích. Obsah v mléce je relativně nízký, v průměru 12 mg na 100 g. Lipidová membrána je až z 3,5 % tvořena cholesterolem. Jeho množství v mléce a mléčných výrobcích závisí na obsahu tuku (Drbohlav et Vodičková, 2002).

#### 3.1.2.2 Sacharidy

Hlavním sacharidem kravského mléka je disacharid laktóza složený z glukózy a galaktózy. Průměrný obsah laktózy v mléce je 4,8 % (Drbohlav et Vodičková, 2002).

Laktóza je substrátem pro bakterie mléčného kvašení a produkty kvašení přispívají ke tvorbě chuti sýra během zrání (McSweeney et al., 2007).

#### 3.1.2.3 Bílkoviny

Průměrný obsah bílkovin v kravském mléce je 3,3 % (Drbohlav et Vodičková, 2002). Tato hodnota je poměrně stabilní (McSweeney et al., 2007).

Složení mléčných bílkovin závisí na různých faktorech, například na laktačním stadiu, roční době, plemenu dojnic a dalších (Drbohlav et Vodičková, 2002).

V bílkovinách kravského mléka převažuje kasein. Dále se v mléce nacházejí syrovátkové (sérové) bílkoviny, které při výrobě sýrů z větší části zůstávají jako vedlejší produkt. Z celkového obsahu bílkovin v mléce 3,3 % připadá 1,6–2,5 % na kasein a 0,7–0,8 % na bílkoviny syrovátky (Forman et al., 1996). Suková (2006) uvádí 2,6 % kaseinu a 0,67 % syrovátkových bílkovin.

##### 3.1.2.3.1 Kasein

Kasein tvoří 80 % bílkovin mléka (Drbohlav et Vodičková, 2002).

Nejde o homogenní bílkovinu, ale o agregáty několika kaseinových frakcí spojených fosforečnanem vápenatým (Pijanowski, 1977). Dovnitř struktury jsou směřovány hydrofobní části bílkovin, polární hydrofilní struktury směřují k povrchu a nesou solvátový hydratační vodný obal s celkově záporným nábojem, který brání spojení micel při nativní rovnováze mléka. K tomu dochází až se změnou vnějších činitelů (Forman et al., 1996).

Kasein lze pomocí analytických metod určit jako celek, proto se o kaseinu hovoří jako o stálé bílkovinné složce (Pijanowski, 1977).

Průměr kaseinové micely se pohybuje od 50 do 600 nm a molekulová hmotnost je asi  $10^8$  Da (Fox et al., 2004). Kaseinové micely vykazují vysokou hydrataci, na 1 g bílkoviny připadá 2–2,5 g vody (Forman et al., 1996). Fox et al. (2004) uvádějí hydrataci až 4 g na 1 g bílkoviny. V mléce zdravé dojnice se kasein se vyskytuje z 96 % v koloidní formě (Forman et al., 1996).

V čerstvém mléce o pH kolem 6,5 se kasein vyskytuje ve formě aniontu, který tvoří s ionty vápníku koloidní roztok kaseinátu vápenatého. Ten je stálý i při teplotě 100 °C. Schopnost kaseinu tvořit koloidní roztok souvisí se záporným elektrickým nábojem kaseinové micely, což příznivě ovlivňuje tvorbu hydratačních vrstev z částic vody (Pijanowski, 1977).

Izoelektricky se kasein sráží z mléka při pH 4,6, zatímco bílkoviny syrovátky zůstávají v roztoku. Ty lze vysrážet při pH 4,6 a současném zvýšení teploty nad 95 °C (Forman et al., 1996).

#### 3.1.2.3.1.1 Frakce kaseinu

Kasein je skupina fosfoproteinů tvořená zejména  $\alpha_s$ -kaseinem,  $\beta$ -kaseinem a  $\kappa$ -kaseinem a v malém množství frakcemi vzniklými štěpením těchto hlavních frakcí. Kasein obsahuje vázané minerální složky, hlavně vápník, hořčík, fosfáty a citrany, dále souhrnně nazývané koloidní kalcium fosfát (Drbohlav et Vodičková, 2002).

Jednotlivé kaseinové frakce se liší primární strukturou aminokyselin, stupněm fosforylace (je rozhodující pro podrobnější názvosloví), molekulovou hmotností, rozpustností a izoelektrickým bodem (Forman et al., 1996).

Zastoupení hlavních kaseinových frakcí je následující:

$\alpha_{s1}$  – 40 %,  $\alpha_{s2}$  – 10 %,  $\beta$  – 35 %,  $\kappa$  – 12 % (Forman et al., 1996).

Všechny kaseinové frakce jsou fosforylované na serinu nebo ojedinele na threoninu. K fosforylaci dochází na těch částech řetězce, kde se vyskytuje sekvence -Ser-X-A. X značí libovolnou aminokyselinu, A značí kyselinu glutamovou, fosforylovaný serin, případně asparagovou kyselinu. Stupeň fosforylace narůstá v pořadí:  $\kappa$ ,  $\beta$ ,  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ . Většina  $\kappa$ -kaseinových řetězců obsahuje jen jeden fosfoserylový zbytek podél svého řetězce. Různým stupněm fosforylace je vysvětlována různá citlivost frakcí ke srážení vyvolanému vápenatými kationty. Nejvíce fosforylovaná frakce  $\alpha_{s2}$  se sráží při nejnižších koncentracích vápníku.

Naopak  $\kappa$  frakce zůstává rozpustná a vůči ostatním frakcím plní úlohu ochranného koloidu (Fox et al., 2004).

$\kappa$ -kasein má zásadní význam pro stabilitu kaseinových micel. Jde o glykoprotein obsahující 169 aminokyselin. Glykoproteinová část obsahuje vázanou galaktózu, galaktosamin a N-acetylneuraminovou kyselinu. Glycidová komponenta dává  $\kappa$ -kaseinu hydrofilní charakter a je podstatou jeho stabilizační úlohy ve vztahu ke kaseinům  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$  a  $\beta$ . Ty chrání před vápenatými ionty přirozeně přítomnými v mléčném séru (Forman et al., 1996).

Účinkem proteolytického enzymu nacházejícího se v syřidle nebo působením jiných vnějších vlivů se odštěpí část frakce  $\kappa$ , frakce  $\alpha_s$  se spojí v ionty vápníku a je vysrážena z roztoku. V menší míře se zároveň vysráží frakce  $\beta$  a  $\gamma$  (Pijanowski, 1977).

$\gamma$ -kaseinová frakce označuje proteolytické štěpy  $\beta$ -kaseinu a neexistuje jako samostatná frakce, obdobně  $\lambda$ -kasein vzniká jako štěp  $\alpha_{s1}$ -kaseinu (Forman et al., 1996).

#### 3.1.2.3.1.2 Genetický polymorfismus

Polymorfismus označuje situaci, kdy přirozeně existují dvě nebo více forem jednoho proteinu. V diploidních organismech se jeden gen vyskytuje ve dvou alelách v lokusu, jedna alela na každém z homologních chromozomů. Pokud se jedna z alel liší už v jednom nukleotidu, pak se při syntéze proteinu v tomto místě zabudovává jiná aminokyselina. V případě, že je četnost výskytu nejčastější alely v daném lokusu menší než 0,99, lokus je polymorfní a pro danou bílkovinu nacházíme různé genetické varianty (FitzGerald, 1997).

Ke každé kaseinové frakci existují specifické genetické formy. Možnosti využití jednotlivých forem (vliv na výtěžnost, na obsah tuku v mléce apod.) jsou předmětem zkoumání a výsledky studií jsou protichůdné (FitzGerald, 1997).

Dosud zjištěné poznatky o jednotlivých genetických variantách a jejich vlivu v syrařství jsou uvedeny v dalších kapitolách.

#### 3.1.2.3.2 Syrovátkové bílkoviny

Hlavní frakcí syrovátkových bílkovin kravského mléka jsou  $\beta$ -laktoglobulin a  $\alpha$ -laktalbumin. Vyznačují se poměrně vysokým obsahem lysinu (Drbohlav et Vodičková, 2002).

Jde o globulární bílkoviny (Suková, 2006). Majoritním globulinem kravského mléka je  $\beta$ -laktoglobulin, jeho obsah v syrovátce je 50–60 % (Suková, 2006). Vykazuje vysoký obsah sirných aminokyselin, zvláště cysteinu (Drbohlav et Vodičková, 2002). Druhou nejvýznamnější sérovou bílkovinou je  $\alpha$ -laktalbumin, jeho podíl je asi 25 % (Suková, 2006).

Syrovátkové bílkoviny jsou při výrobě sýrů rozpuštěny v syrovátce a v sýřenině zůstává jen nepatrné množství. Obsah syrovátkových bílkovin v sýřenině narůstá při začlenění kroku ultrafiltrace nebo v důsledku působení vysokých teplot, kdy syrovátkové bílkoviny na rozdíl od kaseinu denaturují (McSweeney et al., 2007). Forman et al. (1996) uvádějí denaturaci při 66 °C, ale snížení rozpustnosti a zvýšení vazby vody lze pozorovat už při 50 °C.

Mléčné imunoglobuliny jsou vysokomolekulární glykoproteiny, které plní úlohu protilátek (Drbohlav et Vodičková, 2002). Pocházejí z krevního séra dojnic. Mimo to se do syrovátkových bílkovin řadí proteázo-peptonová frakce, laktoferin, transferin a bílkoviny membrán tukových kuliček (Suková, 2006).

#### **3.1.2.4 Minerální látky**

Kravske mléko obsahuje průměrně 7,3 g minerálních látek v 1 l. Nejvíce zastoupeny jsou vápník, draslík, sodík, hořčík, chlor, fosfor a síra. Minerální látky se nacházejí v mléce ve formě pravých roztoků (anorganické ionty – Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>), koloidně dispergované (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) nebo vázané na bílkoviny. Vápník a fosfor se vážou asi z 20 % na kasein, hořčík z 1/3 (Drbohlav et Vodičková, 2002).

##### **3.1.2.4.1 Vápník**

Průměrný obsah vápníku v mléce je 128 mg na 100 g mléka. 50 % anorganického vápníku je v mléce obsaženo ve formě koloidního roztoku a 30 % ve formě pravého roztoku (Drbohlav et Vodičková, 2002).

Koloidní vápník je vázán na fosfátové skupiny. Ty jsou esterově vázané převážně na serinové skupiny kaseinu. Může být vázán také na hydroxyly threoninu, v menší míře i na volné karboxyly kaseinu. Mimo to vápník tvoří agregáty s fosfátovými a citrátovými anionty. V případě fosfátů se jedná o apatitové agregáty spojené s kaseinovými micelami.

Podíl koloidního kalcium fosfátu v kaseinové micelle se pohybuje mezi 6–8 %. Při odstranění koloidního kalcium fosfátu se micely rozpadají na subjednotky (Forman et al., 1996).

Dostatečné množství vápenatých solí v mléce podmiňuje jeho schopnost vytvářet působením syřidla pevnou sraženinu, proto je v syrašství na obsah vápníku v mléce kladen velký důraz (Pijanowski, 1977).

V sýrařství se do mléka běžně přidává  $\text{CaCl}_2$ , obzvláště v případech, kdy mléko vykazuje zhoršenou syřitelnost. Ta může být důsledkem úbytku ionizovaného nebo micelárního vápníku, kdy vzrůstá míra disociace kaseinu a část kaseinových micel přechází do séra, případně dochází k hydrolyze kaseinu na peptony a jiné rozpustné peptidy působením enzymů ze somatických buněk mléka. Rozpustné peptidy nepřispívají ke tvorbě sýřeniny (McSweeney et al., 2007).

#### 3.1.2.4.2 Fosfor

Průměrný obsah fosforu v mléce je 97 mg na 100 g mléka (Drbohlav et Vodičková, 2002). Největší význam fosforu spočívá v účasti na apatitových agregátech stabilizujících strukturu kaseinových micel (Forman et al., 1996).

## 3.2 Definice a rozdělení sýrů

### 3.2.1 Definice sýrů

Forman et al. (1996) uvádějí následující definici sýrů podle standardu FAO/WHO:

Sýr je čerstvý nebo prozrálý výrobek vyrobený odpovídajícím odvodněním sraženiny mléka, smetany, odtučněného, částečně odtučněného mléka, nebo směsi některých, případně všech těchto surovin.

Definice nerozlišuje tvarohy a sýry a i ve statistikách se vykazuje jejich spotřeba souhrnně.

### 3.2.2 Rozdělení sýrů

V práci je uvedeno pouze trojí rozdělení sýrů: podle textury definované obsahem tuku v sušině nebo podle obsahu vody v tukuprosté sušině a podle převažujícího způsobu srážení. Nejsou uvedena rozdělení podle druhu zrání, místa původu a jiná. Do členění nejsou zahrnuty tavené sýry.

Podle obsahu vody v tukuprosté sušině (TPS) se rozdělují sýry na velmi tvrdé (do 50 % vody v TPS), tvrdé (50–62 %), polotvrdé (62–67 %) a měkké (nad 67 %) (Forman et al., 1996).

Obecně lze tvrdit, že čím nižší je obsah vody, tím vyšší je energetická hodnota a obsah vápníku a fosforu v sýru (Drbohlav et Vodičková, 2002).

Podle obsahu tuku v sušině (TVS) se rozdělují sýry na vysokotučné (nad 60 % TVS), plnotučné (45–60 %), polotučné (25–45 %), nízkotučné (10–25 %) a odtučněné (do 10 %) (Forman et al., 1996).

Podle typu sýření se rozdělují sýry na vyráběné syřidlovým (sladkým) srážením a kyselým srážením. Kyselým srážením se vyrábí průmyslový tvaroh, výrobky z něj a čerstvé sýry. Syřidlovým srážením se vyrábějí všechny typy tvrdých a polotvrdých sýrů. Sýry vyráběné převážně syřidlovým srážením obsahují výrazně větší množství vápníku (Forman et al., 1996).

### **3.3 Technologické schéma výroby sýrů**

#### **3.3.1 Úprava mléka**

Běžně je mléko pro výrobu sýrů upravováno jen několika málo technologickými úkony. Některé druhy sýrů se vyrábějí ze syrového plnotučného mléka, ale většinou se vyrábějí z mléka pasterizovaného a standardizovaného. Jsou zkoušeny alternativní postupy, jako například membránová filtrace, ošetření vysokým tlakem, homogenizace, tepelné ošetření za vyšších teplot oproti běžně používaným, přidání bílkovin nebo enzymů. Důvody pro tyto úpravy mléka jsou zajištění lepší mikrobiologické kvality zvyšování výtěžnosti, ovlivnění zrání, zlepšení textury a technologických vlastností sýrů. Zvláštní postupy pak vyžadují speciální sýry, například nízkotučné, kde se zkouší nahrazovat mléčný tuk jemně rozptýlenými bílkovinami (Kelly et al., 2008).

##### **3.3.1.1 Standardizace**

Standardizace mléka zahrnuje úpravu poměru bílkovin nebo kaseinu vůči tuku v mléce s přihlédnutím k požadovanému obsahu tuku v sýru. Maximalizuje výtěžnost a napomáhá kontrole kvality sýrů (Forman et al., 1996).

Úprava obsahu tuku je poměrně jednoduchá, často se provádí odstředěním mléka a opětovným mísením jednotlivých produktů po odstředění. Oproti tomu úprava obsahu bílkovin nebo kaseinu je náročnější, mléko se podrobí ultrafiltraci a získaná, na bílkoviny bohatá frakce může být přidána zpět do mléka (McSweeney et al., 2007).

Ultrafiltrace je membránová separační metoda, která selektivně odděluje mléčné bílkoviny od tuku. Používá se při výrobě sýrů pro zvýšení výtěžnosti díky zabudování sérových bílkovin a kaseinmakropeptidu, který vzniká z kaseinu při sýření (McSweeney et al., 2007). Současně se do sýřeniny zabudují i některé nutričně hodnotné látky a voda, zároveň je ale nutné neopomíjet požadované sensorické vlastnosti sýra a stanovený obsah tuku pro daný druh sýra (Pijanowski, 1978). Výroba sýrů ultrafiltrací zajišťuje zachycení vyššího podílu syrovátkových bílkovin, které ovšem nepříznivě ovlivňují průběh zrání (Nelson et Barbano, 2005).

Sýry vyráběné ultrafiltrací mají vyšší obsah vápníku a nižší obsah proteolytických enzymů, což zvyšuje tvrdost sýřeniny (Awad, 2011). Ultrafiltrace může být úspěšně použita při výrobě pizza sýru, jehož sensorické vlastnosti po upečení na pizze vykazují jen nepatrné změny (Lucey et al., 2004).

Rodríguez et al. (1999) porovnávali polotvrdé nízkotučné sýry vyráběné ultrafiltrací (v retentátu zadrženo 100 % syrovátkových bílkovin) a mikrofiltrací (zadrženo 35 %) pasterovaného mléka. Nižší podíl syrovátkových bílkovin po mikrofiltraci způsobil vyšší tvrdost sýra, která je i přes nižší výnos oproti ultrafiltraci u těchto sýrů významnou výhodou.

### **3.3.1.2 Homogenizace**

Homogenizace je proces, při kterém mléko prochází pod tlakem 15–25 MPa za teploty 45–50 °C malými otvory a dochází k roztržení tukových kuliček. Povrch tukových kuliček se 5–6 x zvětšuje (McSweeney et al., 2007).

Původní membrána je doplněna kaseinovými micelami a sérovými bílkoviny. Vznikající nová membrána je označována jako rekombinovaná membrána tukových kuliček (RFGM). RFGM interaguje s kaseinovými micelami a tuk se stává součástí gelové matrix během sýření. Homogenizace vede k rychlejšímu sýření a vyšší pevnosti sýřeniny. Efekt je patrnější u kyselých srážených výrobků (McSweeney et al., 2007).

Podle Zamory et al. (2012) lze preciznější homogenizace dosáhnout za zvýšeného tlaku (UHPH – ultra high pressure homogenization). Nárůst povrchu je umožněn adsorpcí dalších složek, které se běžně v membráně nevyskytují. Při běžné homogenizaci se na povrch adsorbují především neporušené kaseinové micely, zatímco při UHPH ošetření dochází k částečnému rozrušení kaseinových micel a současně adsorpci syrovátkových bílkovin, zvláště  $\beta$ -laktoglobulinu, na kasein prostřednictvím disulfidických můstků.



Homogenizace není příliš rozšířenou praktikou, protože může způsobit nežádoucí změny textury, jako například nižší pružnost, špatnou soudržnost částic a rozpadání sýřeniny, dále vyšší vlhkost výrobku, narušení vlastností sýra během kuchyňského zpracování, snadnější žluknutí působením původních nebo mikrobiálních lipáz a tím vyšší koncentraci volných mastných kyselin a žluklou chuť sýra (McSweeney et al., 2007).

### 3.3.1.3 Tepelné ošetření

Mléko by mělo být co nejdříve po příjmu do mlékárny tepelně ošetřeno kvůli možnému rozvoji mikroorganismů. Alternativním opatřením proti mikroorganismům je baktofugace (odstranění mikroorganismů odstředěním), která ovšem nezničí dostatečný podíl mikroorganismů, například u spor *Clostridium tyrobutyricum* pouze 95 % (Forman et al., 1996).

#### 3.3.1.3.1 Termizace

Mléko k výrobě sýrů prochází termizací, což je mírný průběžný záhřev mléka, kdy nedochází k porušení rovnováh mezi složkami syrového mléka, zatímco je redukováno značné množství psychrotrofních organismů. Termizace zajistí delší skladovatelnost mléka při minimálním vlivu na složky mléka a jeho příchut'. Jde o záhřev na teplotu v rozmezí 57–68 °C s výdrží 15–30 s. Při záhřevu 65 °C po dobu 20 s zůstává více než 50 % alkalické fosfatázy aktivní. K udržení mikrobiologické kvality je nutno po termizaci mléko co nejrychleji zchladit na chladírenské teploty 4–7 °C. Termizace nezajistí zdravotní nezávadnost suroviny, redukuje pouze některé patogenní mikroorganismy. Může dojít k vyklíčení spor, například *Bacillus cereus*, které jsou zničeny při následné pasteraci. V některých zemích je požadováno, aby byly sýry vyrobené ze syrového nebo termizovaného mléka skladovány 60 dní při teplotě 2 °C, během kterých dojde k úhynu dosud přítomných patogenních mikroorganismů (McSweeney et al., 2007)..

Kromě delšího zrání se k eliminaci zdravotního rizika při konzumaci sýrů z čerstvého nebo termizovaného mléka používá snížení pH, zajištění nižšího obsahu vody v sýru nebo vyšší obsah soli. Termizace ovlivňuje průběh sýření jen mírně. Sýry z termizovaného mléka mají oproti sýrům z mléka pasterovaného intenzivnější chuť v důsledku nízké inaktivace přirozených enzymů mléka a nižší aktivity bakterií mléčného kvašení (McSweeney et al., 2007).

### 3.3.1.3.2 Pasterace

Účelem pasterace je zničení všech patogenních i podmíněně patogenních mikroorganismů. Nezničí sporotvorné bakterie, které jsou rovněž technologicky nežádoucí. Druh pasterace mléka určeného k výrobě sýrů a tvarohů závisí na konkrétním druhu požadovaného výrobku. Pro výrobu měkkých sýrů lze použít vysokou pasteraci stejně jako u výroby tvarohů. Mléko se zahřeje na teplotu 85 °C po dobu 15–20 s. Při výrobě tvrdých sýrů se používá šetrná pasterace se zahřevem na 71–72 °C po dobu 16 s. Při pasteraci za nejnižších možných teplot se používá zároveň i baktofugace (Forman et al., 1996).

Při vyšším obsahu tuku v sušině je nutno pasterační teplotu v daném rozmezí snižovat. Vyšší teploty znamenají, že v sýřenině se zvyšuje podíl sérových bílkovin, které denaturují a neodcházejí do syrovátky, což má příznivý vliv na zvyšování výtěžnosti, avšak opačný vliv na možnost dosažení vyššího podílu sušiny v sýru. Sérové bílkoviny zadržují větší podíl vody, kterou nelze již následnými technologickými zásahy odstranit, aniž by došlo k újmě na jakosti sýra (Forman et al., 1996).

Hougaard et al. (2010) prokázali, že ošetřením mléka vyšší teplotou se prodlužuje doba sýření a snižuje pevnost sýřeniny. Experimentální sýry z mléka zahřátého na 100 °C a 120 °C po dobu 0,2 s měly značně vyšší obsah vody, nižší pH a měkčí texturu než podobné sýry z mléka ošetřenými teplotami 72 °C a nižší.

Zahřevem mléka na 65 °C se mírně zlepšuje průběh sýření. Dochází ke srážení koloidního kalcium fosfátu a nepatrnému poklesu pH. Důkladnější zahřev vede k denuraci syrovátkových bílkovin, především  $\beta$ -laktoglobulinu, a k jejich interakci s disulfidovými můstky  $\kappa$ -kaseinu. To vede k výraznému zhoršení sýření. Vhodnější je využití zahřevu na nižší teplotu a delší čas (HTST – high temperature, short time), například 72 °C na 15 s (McSweeney et al., 2007).

### 3.3.1.4 Přídavek chloridu vápenatého

Přídavek  $\text{CaCl}_2$  do mléka před sýřením je běžnou praktikou, jejímž účelem je zlepšit syřitelnost mléka. Některé dále zmíněné faktory narušují syřitelnost prostřednictvím snížení hladiny koloidního vápníku a zároveň zvýšením obsahu kaseinu disociovaného do mléčného séra, případně hydrolyzou kaseinu na peptony a rozpustné peptidy působením plasminu nebo proteáz somatických buněk (McSweeney et al., 2007).

Přídavek  $\text{CaCl}_2$  zvyšuje koncentraci ionizovaného vápníku a koloidního kalcium fosfátu. Díky reakci některých  $\text{Ca}^{2+}$  iontů s fosfátem sodným a zvýšení aktivity vodíkových kationtů dochází ke snížení pH.  $\text{CaCl}_2$  zlepšuje syřitelnost mléka, zkracuje čas srážení, zvyšuje pevnost sýřeniny a může přispět ke zvýšení podílu tuků v sýru a zvýšení výtěžnosti (McSweeney et al., 2007).

Pevnost sýřeniny se odvíjí od koncentrace  $\text{CaCl}_2$  v mléce. Při koncentraci nad 9 mM  $\text{CaCl}_2$  (odpovídá asi 1 g/l) pevnost klesá. Pokles pevnosti při vysoké koncentraci vápníku může být způsoben interakcí přebytečných  $\text{Ca}^{2+}$  iontů s negativně nabitými karboxylovými skupinami kaseinu. Kasein získává převážně kladný náboj a snižuje se jeho citlivost k agregaci (McSweeney et al., 2007).

Sandra et al. (2012) porovnávali, zda má různá forma přídavku  $\text{CaCl}_2$  vliv na srážení kaseinových micel. Do prvního vzorku byl přidán  $\text{CaCl}_2$  přímo do odtučněného mléka do konečné koncentrace 1mM, do druhého vzorku byl přidán postupně dialýzou. Způsob přidání  $\text{CaCl}_2$  neměl vliv na mechanismus srážení.

Při výrobě sýrů se do mléka přidává maximálně 30 g  $\text{CaCl}_2$  na 100 l mléka, obvykle do 20 g. Vyšší dávky mohou způsobit hořknutí sýra (Forman et al., 1996).

### **3.3.1.5 Inokulace sýrařskou kulturou**

Sýrařské kultury jsou bakteriální kultury používané pro kontrolovanou fermentaci laktózy na kyselinu mléčnou a snížení pH. Naočkování kulturou je klíčovým krokem při výrobě sýrů. Použitá kultura ovlivňuje složení, texturu, zrání, tvorbu ok, sensorické vlastnosti sýra a snížením pH redukuje výskyt patogenních mikroorganismů. Podle druhu mikroorganismů se kultury dělí na mezofilní, termofilní a sekundární, které neprodukují kyselinu mléčnou (McSweeney et al., 2007).

### **3.3.2 Sýření mléka**

Sýření mléka je proces, při kterém dochází ke změně kaseinových micel. Působením syřidla dochází ke změnám na  $\kappa$ -kaseinu a ten přestává plnit funkci ochranného koloidu. Ostatní kaseinové frakce jsou přístupné pro koagulaci za přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$  iontů (McSweeney et al., 2007).

### **3.3.2.1 Charakteristika a druhy syřidel**

Syřidla jsou látky charakteru proteolytických enzymů s optimem působení v kyselé oblasti. Je u nich vyžadována velmi úzká specifita k substrátu  $\kappa$ -kaseinu. Syřidlo musí mít schopnost koagulovat sladké mléko. Podle povahy aktivního centra se proteinázy rozdělují na serinové, cysteinové, metaloproteinové a aspartátové. Aspartátové proteinázy mají karboxylovou skupinu v aktivním centru a optimum působení v kyselé oblasti (Forman et al., 1996).

Původně se využívalo aspartátové proteinázy chymosinu, který se získával extrakcí slézů sajících telat (Forman et al., 1996). Telecí chymosin obsahuje 85–95 % chymosinu a zbylý podíl tvoří bovinní pepsin (Ustunol, 1993).

Pro nedostatek výchozí suroviny je chymosin nahrazován jinými syřidly živočišného a mikrobiálního původu. Syřidla mikrobiálního původu mají omezené využití, protože mají širokou substrátovou specifitu, ovlivňují zrání a způsobují chuťové vady, zejména vznik hořkých peptidů. Hodí se spíše pro speciality než pro běžný sortiment sýrů (Forman et al., 1996).

### **3.3.2.2 Aktivita a síla syřidla**

Aktivitu nebo sílu syřidla může výrobce udávat v různých jednotkách. Tradiční jednotkou v praxi je definice podle Soxhleta. Soxhletova definice síly syřidla říká následující: 1 l syřidla o síle 1 : x srazí x l mléka do prvních vloček sraženiny při teplotě 45 °C za dobu 40 minut. Ze síly syřidla 1 : x je odvozena aktivita syřidla udávaná v jednotkách SU. Při síle syřidla 1 : x jde o aktivitu x SU. SU určuje přímo počet litrů mléka sraženého do prvních vloček za výše popsaných podmínek (Forman et al., 1996).

### **3.3.2.3 Dávkování syřidla**

Dávka syřidla se určuje podle typu vyráběného sýra. Měkkým a čerstvým sýrům postačí nižší dávky syřidla, postačí 15–20 ml syřidla o aktivitě 10 000 SU na 100 l sýřeného mléka.

Pro tvrdé sýry se dávka téhož syřidla zvyšuje na 28–35 ml na 100 l mléka. Potřebnou dávku syřidla lze spočítat ze vzorce, který zohledňuje objem mléka, aktivitu syřidla, konstanty ze Soxhletovy definice, teplotu sýření a požadovaný čas srážení do vzniku prvních vloček sraženiny (Forman et al., 1996).

### 3.3.2.4 Podmínky a doba sýření

Doba sýření označuje dobu od počátku srážení do zpracování sýřeniny na zrno. Doba sýření měkkých sýrů se pohybuje v rozmezí 40–90 minut. U tvrdých sýrů to je 30–35 minut (Forman et al., 1996)

Doba sýření je ovlivněna předchozím tepelným ošetřením mléka, teplotou, pH, koncentrací bílkovin,  $\text{Ca}^{2+}$  a syřidla (Fox et al., 2004).

Tepelné ošetření mléka při nízkých teplotách mírně zkracuje dobu sýření, protože dochází k přechodu rozpustného vápníku na formu koloidního kalcium fosfátu. Při vysokém záhřevu nad 70 °C se denaturují syrovátkové bílkoviny, především  $\beta$ -laktoglobulin. Volné thiolové skupiny denaturovaného  $\beta$ -laktoglobulinu interagují prostřednictvím disulfidových můstků s  $\kappa$ -kaseinem. Stává se hůře přístupným pro syřidlo. Je velmi náročné připravit kvalitní sýr z pasterizovaného mléka, ze sterilizovaného to nelze vůbec. V sýrařství se proto využívá výše popsaná termizace nebo jiné vhodné kombinace doby a teploty záhřevu tak, aby nedocházelo k výraznému narušení syřitelnosti. Teplota sýření se optimálně pohybuje kolem 40 °C. Vzhledem k přítomnosti sýrařských kultur se běžně využívá teploty 30 °C. Minimální teplota pro úspěšnou koagulaci je 18 °C. Při teplotách vyšších než 55 °C dochází k denuraci syřidla a není možno uskutečnit primární fázi sýření (McSweeney et al., 2007).

Při chlazení mléka se pH zvyšuje asi o 0,2, zvyšuje se množství rozpustného  $\beta$ -laktoglobulinu a ztráty koloidního kalcium fosfátu. Primární i sekundární fáze sýření se zpomalují, synereze se zhoršuje a sýřenina má nižší pevnost (Forman et al., 1996).

Snižováním pH a přiblížením k optimu chymosinu se urychluje sýření. K poklesu pH dochází při mírném záhřevu mléka (McSweeney et al., 2007). pH lze v praxi upravit v rozmezí 6–6,8. Při dalším snižování pH dochází ke kyselému srážení a nerovnováze solí. Mléko o příliš vysokém pH nemůže koagulovat vůbec (Forman et al., 1996).

Vysoká koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  urychluje sýření, ovlivňuje především primární fázi. Primární fáze sýření je výrazně urychlená i při vyšší koncentraci syřidla (McSweeney et al., 2007). Vyšší koncentrace syřidla zároveň zvyšuje tuhost sýřeniny (Forman et al., 1996).

Při vyšším obsahu bílkovin v mléce kasein snadněji tvoří gelovou matici a doba sýření se zkracuje (McSweeney et al., 2007), naopak při vyšším obsahu tuku se rychlost koagulace i synereze snižuje (Forman et al., 1996).

### 3.3.2.5 Průběh syřidlového srážení

Syřidlové srážení má tři fáze.

#### 3.3.2.5.1 Primární fáze

V primární fázi probíhá velmi specifická proteolýza  $\kappa$ -kaseinu. Chymosinem je v této fázi hydrolyzováno 80-90 % přítomného  $\kappa$ -kaseinu. Při hydrolyze je štěpena vazba Phe-Met 105-106. Vzniká para- $\kappa$ -kasein a  $\kappa$ -kaseinmakropeptid (Forman et al., 1996).

Vazba Phe-Met 105-106 je oproti ostatním vazbám v kaseinu několikanásobně citlivější vůči aktivitě syřidla. Je lokalizována v nechráněné části  $\kappa$ -kaseinové molekuly, z pohledu sekundární struktury jde o souhru  $\beta$ -řetězce lokalizovaného mezi dvěma  $\beta$ -kličkami, které usnadňují přístup aktivnímu centru syřidla (McSweeney et al., 2007).

Para- $\kappa$ -kasein obsahuje N-konec původního  $\kappa$ -kaseinu a je hydrofobního charakteru.  $\kappa$ -kaseinmakropeptid obsahuje glycidovou část a karboxylovou skupinu z původní pozice 169, má hydrofilní charakter. Ani jeden ze vzniklých štěpů nemůže plnit funkci ochranného koloidu. Proteolýzou  $\kappa$ -kaseinu ztratí kaseinová micela stabilizační složku a ostatní frakce jsou přístupné ke srážení vápenatými ionty mléčného séra (McSweeney et al., 2007).

Para- $\kappa$ -kasein zůstává vázán v micelle. Makropeptid, který tvoří asi 30 % kaseinu, je rozptýlen do vodní fáze a je nenávratně ztracen, přímo ovlivňuje výtěžnost kaseinu. Rozpuštěním makropeptidu klesá redukční potenciál micel (McSweeney et al., 2007). Snižuje se negativní náboj micel, které přichází o hydratační obal (Forman et al., 1996) Při hydrolyze 85 %  $\kappa$ -kaseinu klesá koloidní stabilita micel a ty mohou být v přítomnosti vápníku vysráženy při teplotách okolo 18 °C (McSweeney et al., 2007). Po prvotní destabilizaci micely vytváří nové agregáty udržované hydrofobními interakcemi (Forman et al., 1996).

#### 3.3.2.5.2 Sekundární fáze

V sekundární fázi dále pokračuje odstartovaná koagulace. Dochází k vyvločkování (flokulaci) a ustanovení trojrozměrné struktury gelu, kterou stabilizuje hydrofobní para- $\kappa$ -kasein. Průběh této fáze je možný při 8–10 °C a za přítomnosti volných  $\text{Ca}^{2+}$  iontů. Vápenaté kationty snižují negativní náboj micel a tím urychlují jejich agregaci. Zároveň nahrazují vodíkové ionty obsažené v koloidním kalcium fosfátu a tím snižují pH, což také urychluje agregaci (Forman et al., 1996).

Během koagulace výrazně narůstá viskozita. Koagulace se odehrává i při nižším podílu hydrolyzy  $\kappa$ -kaseinu, ale je nutno zvýšit teplotu na 30 °C. Koagulaci podporuje mimo snížení pH i zvýšení koncentrace vápníku. Pro úspěšnou koagulaci je nutná přítomnost  $\text{Ca}^{2+}$ , přítomnost koloidního kalcium fosfátu, teplota nejméně 18 °C, pH zde má na rozdíl od primární fáze nižší vliv (McSweeney et al., 2007).

Po koagulaci následuje synereze, což je smrštění gelu sýřeniny a při tom uvolnění syrovátky. Při využití syřidlového srážení vzniká tzv. sladká syrovátka, která obsahuje rozpustný kaseinmakropeptid. Většina syrovátkových bílkovin mléka odchází ze sýřeniny se syrovátkou, Suková (2006) uvádí až 94,5 % z původních syrovátkových bílkovin. Pokud dojde k jejich denuraci působením vyšší teplot, je možno jich v sýru zadržet více za současného zvýšení podílu vody v sýru (McSweeney et al., 2007).

Synerezi podporuje snížení pH a dohřívání nebo dosoušení při výrobě tvrdých sýrů. Až do této fáze lze regulovat požadovaný obsah vody v sýrovém zrnu (Forman et al., 1996).

Synereze je podpořena krájením nebo rozmělněním sýřeniny, zvýšením tlaku a solením (McSweeney et al., 2007).

Při sýření mléka s vyšším obsahem kaseinu je sýřenina pevnější, sýření rychlejší, ale synereze pomalejší. Synereze je ovlivněna teplotou, při vysoké pasteraci se zvyšuje podíl zadržené syrovátky a zvyšuje se výtěžnost (Forman et al., 1996).

Množství syrovátky zadržené v gelu ovlivňuje podíl vody ve výrobku. S vyšší vlhkostí se zkracuje doba zrání, avšak také trvanlivost (McSweeney et al., 2007).

Forman et al. (1996) uvádí ještě tyto technologické úkony, které podporují synerezi: snižování pasteračního zahřevu, zvyšování obsahu vápenatých solí, vyšší teplota při sýření, vyšší dávka syřidla, rychlejší kysání, zpracování na menší zrno, míchání zrna, zvýšení teploty při dosoušení a zvýšení počtu obrácení sýra.

#### 3.3.2.5.3 Terciární fáze

V terciární fázi pokračuje proteolýza kaseinu působením zbytkové aktivity syřidla v sýřenině. Dochází ke vzniku hořkých peptidů, které ovlivňují senzorickou kvalitu, a rozpustné peptidy, které zůstávají v syrovátce a způsobují pokles výtěžnosti.

Zbytková koncentrace syřidla je ovlivněna pH a aktivitou syřidla. Při snížení pH se zvyšuje vazba proteináz na kasein. Zbytkovou koncentrací syřidla lze ovlivnit maximalizací přijatelné dávky  $\text{CaCl}_2$  do 30 g na 100 l mléka.

Závisí taktéž na termostabilitě syřidla, která roste s klesajícím pH. U sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou lze použít mikrobiální syřidla i přes jejich rychlý průběh terciární fáze, protože se při teplotě 53-56 °C nevratně inaktivují (Forman et al., 1996).

### **3.3.3 Zpracování sýřeniny**

Ze sýřeniny se opracováním stane syrové zrno vhodné k formování a dobře oddělující syrovátku. Rozhodující je dodržení časového harmonogramu, teploty a kyselostní křivky během jednotlivých operací. Pro měkké sýry se v praxi používá krájení a poté míchání. U tvrdých sýrů jsou postupy náročnější, celý proces trvá déle, oproti postupu u měkkých sýrů zahrnuje navíc odpouštění syrovátky, přidavek vody a dosoušení (Forman et al., 1996).

Během krájení sýřeniny na zrno stále probíhá synerize. Způsob krájení zrna se odvíjí od dostupné technologie a typu vyráběného sýra. U měkkých sýrů se krájí na hrubo, u tvrdých sýrů na jemno o velikosti jednoho zrna několik mm. Podíl zrn menších než 1 mm by neměl přesáhnout 1 %. Zrno je vhodné zformovat co nejrychleji do 10 minut. Tvořítka jsou volena podle druhu sýra. Lze využít i tvořítka s možností odtoku syrovátky. U měkkých sýrů se využívá obracení a lisování sýra vlastní vahou. Tvrdé sýry je nutno lisovat pod tlakem maximálně 0,04 Pa (Forman et al., 1996).

### **3.3.4 Finální úprava výrobku**

Podle typu výrobku jsou sýry soleny prostřednictvím solné lázně případně u čedarů solení do zrna. Koncentrace solné lázně se pohybuje v rozmezí 18–22 %, sleduje se také teplota solení a pH (Forman et al., 1996).



### **3.4 Výběr mléka vhodného k výrobě sýrů**

Každé mléko určené pro lidskou spotřebu musí splňovat legislativní předpisy, o nichž nebude v práci dále podrobněji pojednáno.

Vhodně zúženým výběrem a úpravou mléka si může výrobce dopomoci ke zvýšení kvality sýrů, zvýšení výtěžnosti a zjednodušení technologického postupu. Syřitelnost mléka závisí na jeho neporušeném složení, obsahu kaseinových bílkovin, formě minerálních látek (rozpuštěné, ionizované a koloidní formě) a pH. Souhrn těchto vlastností je ovlivněn především genetickým typem dojnic, jejich zdravotním stavem, fází laktace, krmným režimem a úpravou mléka (Forman et al., 1996).

Za dobrou syřitelnost mléka je považováno srážení mléka upraveného k výrobě sýrů při 32 °C tak, že první vločky sraženiny se tvoří za 15–18 minut a celkový čas sýření je 30 minut při koncentraci syřidla 28 000 Soxhletových jednotek na 10 000 litrů mléka, což odpovídá dávce syřidla 2,8 l o aktivitě 10 000 Soxhletových jednotek nebo o síle 1 : 10 000 (Forman et al., 1996).

#### **3.4.1 Výběr vhodného plemene dojnic**

Stupka a kol. (2010) uvádí plemeno Jersey jako plemeno poskytující mléko efektivně zpracovatelné v sýrašství. Mléčná užitkovost plemene Jersey při kontrole užitkovosti 2012–2013 byla 5 331 kg mléka, obsah tuku 5,35 %, obsah bílkovin 3,93 % bílkovin, délka laktace 303 dní (Svaz chovatelů českého strakatého skotu, 2013).

Martin et al. (2009) se zabývali vlivem plemene a četnosti dojení na kvalitu sýra Cantal. Byl vyroben sýr z mléka od skupiny krav plemene Montbéliarde nebo Holštýn dojených jednou nebo dvakrát denně. Výsledky ukázaly, že u obou plemen při dojení jednou za den mělo mléko vyšší podíl tuku, syrovátkových bílkovin, kaseinu, celkových bílkovin a fosforu. Oproti tomu byl v tomto mléce nižší podíl kaseinu vzhledem k celkové bílkovině. Laktóza, močovina, volné mastné kyseliny a vápník zůstaly nezměněny. Doba srážení se oproti dojení dvakrát denně prodloužila a pevnost sýřeniny vzrostla. Mléko z dojení jednou za den mělo u obou plemen žlutější barvu, ale neovlivnilo senzorické vlastnosti sýra.

U krav Motbéliarde byla zjištěna vyšší výtěžnost oproti Holštýnu, rozdíl činil 1,25 kg sýra na 100 kg mléka. Sýry z mléka holštýnského skotu měly během zrání nižší pH, nižší

obsah sušiny, vápníku a NaCl. Měly také nižší pevnost, vyšší elasticitu a nakyslejší chuť po syrovátce (Martin et al., 2009).

### 3.4.2 Výběr zdravého zvířete

Dojnice postižené mastitidou mají v mléce zvýšený PSB. V mléce se zvyšuje množství syrovátkových bílkovin, přecházejí do mléka z krve dojnice a obsah v mléce roste až na 1,98 %. Vyšší podíl imunoglobulinů vede k porušení syřitelnosti. Další příčinou zhoršení syřitelnosti je vyšší obsah rozpustného kaseinu, který má u mastitidních dojnic podíl až 46 % oproti 4 % u dojnic zdravých (Forman et al., 1996).

### 3.4.3 Obsah kaseinových bílkovin v mléce

Normální obsah kaseinu 2,6 % je dobrým předpokladem pro syřitelnost (Forman et al., 1996).

St-Gelais a Haché (2005) zjistili, že při obohacení mléka o  $\beta$ -kasein mléko vykazuje horší syřitelnost a pro srážení je nutno dodat vápník. Oproti kontrolnímu vzorku vznikla tvrdší sýřenina s nižším obsahem vody a vápníku.

Forman et al. (1996) uvádějí, že zvýšený poměr  $\alpha_{S1}$ - vůči  $\beta$ -kaseinu taktéž vede k porušení syřitelnosti. Mléka s nejlepší syřitelností obsahují převážně genetické varianty B. Dosud publikované výsledky prozatím poukazují na možné výhody BB genetických variant  $\kappa$ -kaseinu.

Podle Van den Berga (1993a) produkuje mléko s B  $\kappa$ -kaseinem jen 4 % krav.

Puhan a Jakob (1993) shromáždili výsledky 23 studií zaměřených na dobu srážení a pevnost sýřeniny různých genetických variant  $\kappa$ -kaseinu. Po zprůměrování výsledků všech studií došli k těmto závěrům: doba srážení je u varianty AB o 10 % a u varianty BB o 20 % kratší než u varianty AA, pevnost sýřeniny je u varianty AB o 30 % a u varianty BB o 55 % vyšší než u varianty AA.

Stejnými způsoby je zkoumán i  $\alpha_S$ - a  $\beta$ -kasein, Puhan a Jakob (1993) uvádějí průměr ze 7 studií podle kterého se u BC  $\alpha_S$ -kaseinu mírně zkracuje doba srážení a asi o 15 % zvyšuje pevnost sýřeniny oproti variantě BB, u  $\beta$ -kaseinu vykazuje největší pozitivní rozdíly oproti variantě AA varianta BB (průměr z 11 studií).

#### **3.4.4 Obsah minerálních látek v mléce**

Syřitelnost je narušena při snížení celkového obsahu vápníku pod kritickou mez 110 mg / 100 ml a snížení ionizovaného vápníku na 1–1,75 mmol/l (Forman et al., 1996).

Nedostatek vápníku může být kompenzován přidavkem chloridu vápenatého, který redukuje pH, startuje srážení a usnadňuje působení syřidla. Vápenaté ionty neutralizují záporný náboj kaseinové micely a formují solné můstky mezi záporně nabitými fosfátovými skupinami na micelle. Aktivita vápenatých iontů ovlivňuje dobu srážení a pevnost sýřeniny. Podíl jednotlivých forem vápníku je výrazně ovlivněn pH. Se snižujícím se pH je vápník rozpustnější, maximálně rozpustný je při pH 4,6. Obsah vápníku v sýru závisí na pH během uvolňování syrovátky (McSweeney et al., 2007).

Kindstedt et al. (1993) provedli experiment, kdy stanovili % vápníku v mozzarelle v závislosti na stoupajícím pH od 5,9 do 6,4 při odstraňování syrovátky. S vyšším pH se zvyšuje množství vápníku v mozzarelle. Množství uvádí v % vzhledem k celkovému množství bílkovin. Obsah vápníku v sýru ovlivňuje jeho texturu.

Syřitelnost je limitována taktéž obsahem fosforu, kritická mez obsahu celkového fosforu je 90 mg/100 ml a obsah rozpustného fosforu nižší než 35 mg/100 ml (Forman et al., 1996).

#### **3.4.5 Aktivní a titrační kyselost mléka**

pH mléka se odvíjí od jeho složení – množství rozpuštěných solí a jejich přítomnosti v ionizované formě. Optimum pro působení chymosinu leží v kyselé oblasti, mléko se zásaditým pH je pro sýření nevhodné. Jde o mléko mastitidních dojnic nebo mléko pozdní laktace (McSweeney et al., 2007).

Změny v syřitelnosti mléka lze v technologii výroby sýrů korigovat pouze částečně a to úpravou pH. Teploty sýření lze upravovat jen velmi omezeně, je nutno zohlednit požadované podmínky sýření podle typu srážených sýrů. Při titrační kyselosti nižší než 6,5 SH je syřitelnost narušena (Forman et al., 1996).

Mimo pH vstupní suroviny se sleduje i pH hotového sýra. Je určeno aktivitou sýrařských kultur a pufrací kapacitou sýřeniny. Jde o důležitý fyzikálně-chemický parametr, který ovlivňuje texturu sýra, jeho chuť a mikrobiologické vlastnosti (McSweeney et al., 2007).

Maximální pufrací kapacita čerstvého mléka se pohybuje kolem 6,7. U sýrů ementálského typu a čedarů je to okolo pH 4,8. Hlavní složky zajišťující pufrací kapacitu

sýřeniny jsou kasein a produkty jeho degradace, anorganický fosfát a organické kyseliny. Podíl jednotlivých složek závisí na složení mléka a jeho následném ošetření (McSweeney et al., 2007).

### 3.5 Výtěžnost sýrů

#### 3.5.1 Definice výtěžnosti

Výtěžnost sýrů je definována jako počet kg sýra získaných ze 100 kg mléka. Protože výtěžnost se odvíjí od množství kaseinu (přesněji parakaseinu) v mléce, je vhodnější vyjádření kg sýra vyrobeného z určitého počtu kg kaseinu. Obdobně lze výtěžnost vyjádřit jako množství mléka potřebné k výrobě 100 kg sýra (Van den Berg, 1993b).

Výtěžnost určuje ziskovost výroby společně s cenou mléka, stupněm automatizace, efektivitou technologie, situací na trhu a typem výrobku. Výroba sýra se na jeho ceně podílí z méně než 20 % (Lawrence et al., 1993).

#### 3.5.2 Výpočet výtěžnosti

Ke stanovení teoretické výtěžnosti mléka je možné určit pomocí vzorce podle Van Slyka:

$$Y = \frac{(0,93 F + C - 0,1) \times 1,09}{1 - M}$$

C – obsah kaseinu

F – obsah tuku

M – vlhkost sýra

Y – počet kg sýra získaných ze 100 kg mléka, což odpovídá % výtěžnosti

(Mullan, 2008)

Fenelon a Guinee (1999) zjišťovali rozdíl mezi teoretickou výtěžností nízkotučných a polotučných čedarů očekávanou podle Van Slyka a reálnou výtěžností. Reálná výtěžnost byla výrazně vyšší než očekávaná. Přesnější určení výtěžnosti lze získat úpravou vzorce

k zohlednění denaturace syrovátkových bílkovin během denaturace a rozdílů složení mléčného tuku.

### **3.5.3 Faktory ovlivňující výtěžnost**

#### **3.5.3.1 Složení mléka**

Podle Van Boekela (1993) je výtěžnost sýrů sumou množství bílkovin, tuku, dalších komponent sušiny a vody převedené do sýra. Z toho vyplývá, že prvotním určujícím faktorem pro výtěžnost je složení mléka a dále úroveň technologie, která určuje podíl komponent zachycených pro výrobu sýra o daných parametrech.

##### **3.5.3.1.1 Obsah a výtěžnost mléčného tuku**

Stanovení tuku není nijak problematické (například metody podle Rosse-Gottlieba, Gerbera, Babcocka) a umožňuje odhad a měření výtěžnosti z pohledu mléčného tuku. Z původního obsahu tuku v mléce je v sýru zachováno běžně mezi 85–93 %, zachování více než 90 % je možné při manuálním zpracování sýrů (Van Boekel, 1993).

Pokud tuk není homogenizován, tukové kuličky jsou snáze zachyceny v matici sýra. Jejich velikost přímo ovlivňuje výtěžnost mléčného tuku (Fox et al., 2004).

Retence tuku je funkcí času krájení sýřeniny a teploty (Fagan et al., 2007).

Zdeněk Rozehnal (2014, pers.comm.) vysvětlil, že obsah tuku v mléce nebývá limitujícím faktorem výtěžnosti, naopak v sýrařství je často vedlejším produktem, který je třeba uplatnit jinde. Využití plemene dávajícího velmi tučné mléko (například Jersey) nemusí znamenat výhodu, mléko je třeba standardizovat na nižší obsah tuku. Velmi tučný sýr má mazlavější konzistenci a například se velmi obtížně plátkuje.

##### **3.5.3.1.2 Obsah a výtěžnost bílkovin**

Stanovení bílkovin se provádí pomocí stanovení celkového dusíku (TN – total nitrogen) a následným násobením faktorem 6,38. Tento zjednodušený postup nebere v potaz, že 5–6 % dusíku je obsaženo v látkách nebílkovinné povahy a nadále zachovává možnou nepřesnost Kjeldahlova faktoru 6,38. Van Boekel (1993) uvádí přesnější hodnotu faktoru pro mléko 6,35 a 6,36 pro kasein. Pro určení výtěžnosti sýrů je směrodatný obsah kaseinu, přesněji parakaseinu. Parakasein je definován jako frakce mléka, která vznikne po srážení mléka po dobu 30 minut při teplotě 30 °C a následném uvolnění syrovátky v centrifuze nebo filtrací. Skutečné stanovení parakaseinu a určení jeho výtěžnosti je komplikováno

neznalostí ztratí celkového kaseinu během sýření, z dosavadních studií se ztráty kaseinu pohybují v rozmezí 5–6 %. Mimo to se s parakaseinem sráží i část  $\beta$ -kaseinu a proteozopeptonové frakce, které také komplikují výpočet výtěžnosti. Predikce výtěžnosti prostřednictvím stanovení bílkovin je velmi složitá (Van Boekel, 1993.)

Fox et al. (2004) uvádějí, že maximální výtěžnost u sýrů je v praxi 75 % celkového obsahu bílkovin mléka.

#### 3.5.3.1.2.1 Genetické varianty kaseinových bílkovin

Dalším faktorem určujícím výtěžnost kaseinu jsou jeho genetické varianty.

Vliv genetických variant kaseinových frakcí a výtěžnost je předmětem zkoumání. FitzGerald (1997) uvádí příklady studií, které se zaměřily na výtěžnost u variant  $\kappa$ -kaseinu. Výsledky jsou protichůdné, byla zjištěna stejná výtěžnost u varianty AA i BB, také ale vyšší výtěžnost u varianty AA, oproti tomu v jiné studii vyšší výtěžnost u varianty BB.

Puhan a Jakob (1993) uvádějí, že  $\kappa$ -kasein vykazuje vyšší výtěžnost pro varianty B, stejně tak i Hill (1995) poukazuje na výhodnost B variant u  $\kappa$ -kaseinu i  $\beta$ -laktoglobulinu. V experimentu Ng-Kwai-Hanga (1993) vykazovala nejvyšší výtěžnost kombinace proteinů AA  $\beta$ -kasein, BB  $\kappa$ -kasein a BB  $\beta$ -laktoglobulin. Tong et al. (1993) zjistili značně vyšší výtěžnost u AB  $\kappa$ -kaseinu oproti AA  $\kappa$ -kaseinu.

Vyšší výtěžnost varianty B u  $\kappa$ -kaseinu lze přičíst korelaci této varianty proteinu s vyšším celkovým obsahem bílkovin a ionizovaného vápníku. U varianty BB byl zjištěn největší podíl  $\kappa$ -kaseinu vzhledem k celkovému kaseinu, což znamená na větší množství menších micel. To způsobuje rychlejší sýření a vyšší pevnost sýřeniny. Ztráty u varianty A nebylo možné kompenzovat přidávkem  $\text{CaCl}_2$ . Přídavek  $\text{CaCl}_2$  mohl ovlivnit její delší dobu sýření (Van den Berg, 1993a).

#### 3.5.3.1.2.2 Genetické varianty syrovátkových bílkovin

Meza-Nieto et al. (2013) zkoumali vliv variant A a B u  $\beta$ -laktoglobulinu na výtěžnost. Odstředěné mléko obohatili práškovou směsí  $\alpha$ -laktalbuminu a  $\beta$ -laktoglobulinu (varianty A, B nebo AB) v poměru 1:2. Všechny vzorky byly pasterovány 30 min při teplotě 65 °C. Varianta B vykazovala výrazně vyšší výtěžnost. Pravděpodobně lépe vytváří agregát s kaseinovými micelami během srážení. Zvýšení výtěžnosti probíhalo pouze při přidávku syrovátkových bílkovin v rozmezí 0,225–0,675 %. Při vyšších hodnotách byl zaznamenán výrazný pokles výtěžnosti. Předpokládá se, že při 0,675 % dochází k vyčerpání vazebných

kapacit kaseinu vzhledem k syrovátkovým bílkovinám a další navyšování způsobuje změny v uspořádání bílkovinné matrice a výraznější synerezi.

Van den Berg (1993a) vysvětluje vyšší výtěžnost  $\beta$ -laktoglobulinu varianty B jeho částečnou korelací s vyšším obsahem kaseinu a vyšší výtěžností celkových bílkovin.

#### 3.5.3.1.3 Minerální látky

Vedle tuku a bílkovin se mezi sušinu řadí především koloidní kalcium fosfát, jehož zachování pro sýr záleží na pH. Při nižším pH je koloidní kalcium fosfát rozpuštěný a odchází se syrovátkou. Různým pH během výroby sýra je vysvětlován různý podíl koloidního kalcium fosfátu v parakaseinovém komplexu (Van Boekel, 1993b). Již bylo zmíněno, že obsah minerálních látek, obzvláště vápníku a fosforu, určuje vhodnost mléka k sýření.

#### 3.5.3.2 Počet somatických buněk v mléce

Maximální povolený počet somatických buněk (PSB) je do 400 tisíc v 1 ml mléka. (Stupka et al., 2010).

Bylo testováno pasterované mléko skladované po dobu 1, 7, 14 a 21 dní při teplotě 5 °C. V mléce s vysokým PSB (zde 849 000/ml) bylo zjištěno více volných mastných kyselin, což prokazuje intenzivnější lipolýzu oproti mléku s nízkým PSB (zde 45 000/ml). Hydrolýza kaseinu byla u vyššího PSB 2–3 krát rychlejší. Po 14 a více dnech skladování byly u vysokého PSB zaznamenány sensorické vady, mléko s nízkým PSB vykazovalo vysokou sensorickou kvalitu i po 21 dnech (Ma et al., 2000).

V mléce se přirozeně vyskytuje plasmin a proteolytické enzymy ze somatických buněk. Produkty štěpení kaseinu se u obou typů enzymů liší. S narůstajícím PSB vzrůstá celkové množství proteolytických enzymů. Do PSB  $2 \times 10^6$  na 1 ml se na proteolýze kaseinu podílí převážně plazmin, od vyššího počtu enzymy somatických buněk. Průměrný pokles výtěžnosti u mléka s PSB vyšším než 100 tisíc SB na 1 ml mléka je o 4 % (McSweeney et al., 2007). Degradaci kaseinu plazminem lze minimalizovat rychlým zchlazením mléka pod 4 °C a co nejrychlejším zpracováním na sýr (Barbano, 1993).

#### 3.5.3.3 Počet mikroorganismů v mléce

Psychrotrofní mikroorganismy v mléce skladovaném při 4–10 °C vytváří termostabilní enzymy, jejichž aktivita se projeví i po pasteraci. Dochází k proteolýze kaseinu, který je lépe přístupný bakteriím mléčného kvašení a k omezení specifického působení syřidla. Mění

se charakter sraženiny, nescificky proteolyzované bílkoviny přecházejí v podobě rozpustných produktů do syrovátky a výtěžnost se snižuje (Forman et al., 1996). Z hlediska výtěžnosti i trvanlivosti a kvality výrobků je vhodné počet mikroorganismů v mléce snižovat (McSweeney et al., 2007).

#### **3.5.3.4 Skladování mléka**

Vlivem teploty skladování na výtěžnost a kvalitu sýra se zabývali Weatherup a Mullan (1993). Hodnotili zvláště mléko skladované při 3 a 7 °C. Nepříznivý vliv skladování byl zaznamenán při kombinaci 3 °C a 5 dní a 7 °C a 3 nebo více dní. Naopak kombinace 3 °C po dobu 3 dnů vedla ke zlepšení sledovaných ukazatelů.

McCarney et al. (1993) zjistili, že s delší dobou skladování klesá výtěžnost sýrů a nejnižší výtěžnost naměřili po 2 dnech při teplotě 7 °C. Mezi 2. a 4. dnem výtěžnost mírně vzrostla pravděpodobně v důsledku fyzikálně-chemických změn mléčných komponent.

Původem zhoršené výtěžnosti jsou extracelulární lipolytické enzymy psychrotrofů. Je zřejmá výrazná korelace mezi výtěžností či kvalitou sýra a celkovým počtem mikroorganismů. Pro čedary je doporučena hranice celkového počtu mikroorganismů do  $10^6$  cfu/ml, lépe do  $10^5$  cfu/ml (McCarney et al., 1993).

#### **3.5.3.5 Standardizace mléka**

Standardizací lze přímo řídit obsah bílkovin v mléce, který je určujícím faktorem pro výtěžnost, zároveň je možné lépe využít vedlejší produkty standardizace. Guinee et al. (1993) se zabývali výrobou čedaru z mléka s navýšeným obsahem bílkovin v rozmezí 3–8,2 %. S rostoucím obsahem bílkovin v mléce vznikala výrazně pevnější sýřenina, která se obtížně krájela a docházelo k potrhání sýřeniny. U mlék s obsahem bílkovin nad 5 % toto způsobilo oproti očekávání vyšší únik tuku do syrovátky, což znamená snížení výtěžnosti.

Umělé navýšování obsahu bílkovin v mléce se jeví jako neefektivní krok pro zvýšení výtěžnosti. Standardizace má uplatnění jako jeden z kroků kontroly výtěžnosti a zároveň zajišťuje stejnou kvalitu výrobků při kolísající kvalitě mléka (Zdeněk Rozehnal, 2014, pers.comm.).



### 3.5.3.6 Tepelné ošetření mléka

Morales-Celaya et al. (2012) prokázali, že pasterace při běžných teplotách u mexických sýrů typu pasta filata přinesla větší výtěžnost (bílkoviny a voda) oproti sýrům z mléka nepasterovaného.

Beaulieu et al. (1999) potvrdili, že při zvýšení teploty záhřevu nad 95 °C po dobu 5 minut se na tvorbě kaseinových agregátů účastní denaturované syrovátkové bílkoviny a jejich podíl oproti kaseinu významně vzrostl. Zvýšením pasterační teploty je možno je zabudovat do matrice sýra, ovšem s rizikem výrazných změn technologických a sensorických vlastností a zrání.

Při pasteraci při 72 °C po dobu 15 s dochází jen k mírné denuraci syrovátkových bílkovin, asi 5 % z jejich celkového podílu. To odpovídá výtěžnosti vyšší o 0,1–0,4 %. Teoreticky by při zachycení všech syrovátkových bílkovin (odpovídá 20 % celkových bílkovin mléka) bylo možné zvýšit výtěžnost až o 12 %. Ovšem už od denaturace 35 % syrovátkových bílkovin jsou velmi znatelné újmy na kvalitě sýra (McSweeney et al., 2007).

Vliv syrovátkových bílkovin na zrání byl testován u čedarů. Byly připraveny tři vzorky mléka: se sníženým obsahem syrovátkových bílkovin na 0,18 %, kontrolní vzorek 0,52 % a zvýšený obsah 0,63 %. Nižší obsah  $\alpha$ -laktalbuminu,  $\beta$ -laktoglobulinu a dalších syrovátkových bílkovin o vysoké molekulové hmotnosti způsobil příznivější zrání oproti sýrům s jejich vyšším podílem (Nelson et Barbano, 2005).

Podle Chromika et al. (2010) lze sýry s podílem denaturovaných syrovátkových bílkovin vyrábět jen do určitého podílu denaturace, sýřenina se vytvářela do hodnoty 40 % denaturovaného  $\beta$ -laktoglobulinu. V závislosti na tepelném ošetření činil nárůst výtěžnosti až 6 %. Zároveň byly sníženy ztráty proteinů do permeátu při mikrofiltraci a do syrovátky o 15–30 %.

Záhřevem dochází ke změnám v primární a sekundární fázi sýření. Byl zkoumán vliv okyselení (pH 6,4 a 6,2) kyselinou mléčnou a glukono- $\delta$ -laktonem a přidavku chloridu vápenatého (0,3 , 0,6 , 0,9 a 1,2 g/l) po tepelném zpracování mléka (85 °C pro 2, 7 a 12 minut) na syřitelnost mléka. Výsledky ukázaly, že tepelné zpracování mléka při teplotě 85 °C po dobu 2 minut je dostatečné pro zvýšení podílu nerozpustného dusíku na 18 %. Vyšší tepelné ošetření je nevýhodné, protože tepelné poškození je rozsáhlejší a zvýšení nerozpustné frakce dusíku není už významné. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při kombinaci: okyselení glukono- $\delta$ -laktonem až do pH 6,4 a přidání chloridu vápenatého v dávce 0,6 g/l. Začlenění

syrovátkových proteinů do sýra zlepšuje nejen výnos, ale i jeho biologickou hodnotu (Candiotti et al., 2004).

### 3.5.3.7 Ošetření vysokým tlakem

Vliv ošetření mléka vysokým tlakem na výtěžnost byl zkoumán u sýrů se sníženým obsahem tuku. Mléko se sníženým obsahem tuku asi o 32 % bylo pasterováno (65 °C, 30 minut) nebo vystaveno vysokému tlaku (400 MPa, 22 °C, 15 minut) nebo byly kombinovány oba postupy zároveň. Mléko pasterované pod tlakem vykazovalo lepší syřitelnost. Působením zvýšeného tlaku bylo dosaženo vyšší výtěžnosti díky zadržení většího podílu  $\beta$ -laktoglobulinu a vody, zároveň probíhala rychlejší proteolýza pravděpodobně v důsledku vyšší reziduální koncentrace syřidla. Tvrdost klesala v řadě: pasterované, tlakem ošetřené, pasterované a tlakem ošetřené mléko. To odpovídá rostoucímu podílu vody v této řadě. Použití vysokého tlaku způsobilo zlepšení textury, ale u zrajících sýrů vedlo ke vzniku nepříjemné hořkosti a je zde nevhodné (Molina et al., 2000).

San Martín-González et al. (2007) se zabývali vlivem různých kombinací vysokého tlaku a teploty na výtěžnost a složení čedarů. Porovnávali sýry ze syrového mléka, mléka ošetřeného HTST nebo tlakem za určité teploty (483 MPa při 10 °C, 676 MPa při 10 °C, 483 MPa při 30 °C, 483 MPa při 40 °C). Kombinace 676 MPa při 10 °C a 483 MPa při 30 °C dosahovaly výtěžnosti 11,4 % a 11,54 %. U kombinace 676 MPa při 10 °C šlo o výtěžnost bílkovin 79,9 %. Nejvyšší pevnost byla zjištěna při kombinaci 483 MPa při 10 °C. Vyšší teplota během vysokotlakého ošetření zapříčinila zadržení většího podílu vody. Sýry vyrobené z pasterovaného mléka byly snadněji deformovatelné a méně pevné oproti sýrům z mléka ošetřeného tlakem.

McSweeney et al. (2007) poukazují na příliš vysokou cenu vysokotlakého ošetření a nevýhodnost investice do nové technologie.

### 3.5.3.8 Druh syřidla

Barbano a Rasmussen (1993) se zabývali výtěžností v závislosti na druhu použitého syřidla. Porovnávali chymosin získaný fermentací oproti dvěma běžně používaným mikrobiálním syřidlům. Výtěžnost byla u mikrobiálních syřidel *Mucor miehei* a *Mucor pusillus* vždy nižší nejméně o 0,34 %, u *Mucor pusillus* až o 0,74 %. U obou mikrobiálních syřidel byly naměřeny výrazně vyšší ztráty tuku.

Dále byl zkoumán rozdíl mezi bovinním pepsinem dospělých jedinců (22 % chymosinu), telecím chymozinem (94 %) a fermentačně získaným chymozinem (100 %). Výtěžnost nižší o 0,39 % oproti zbylým dvěma vykazoval bovinní pepsin (Barbano et Rasmussen, 1993).

V souladu s výše uvedeným uvádí i Forman et al. (1996), že mikrobiální a pepsinová syřidla vykazují nižší výtěžnost, u mikrobiálních syřidel je to až o 1,24 % a u hovězího pepsinu o 0,032 %. Jejich levnější cena je kompenzována nižší výtěžností a navíc je u nich třeba dbát odlišností od chymosinových syřidel, jinak mohou způsobit konzistenční a chuťové vady sýrů.

Nižší výtěžnost při využití mikrobiálních syřidel prokazuje i Ustunol (1993), nejvyšší výtěžnosti dosáhl u telecího chymozinu a přípravků s obdobnou koncentrací jednotlivých proteáz (chymosin, pepsin), z mikrobiálních syřidel pak vykazovalo nejvyšší výtěžnost *Mucor Pusillus* var. Lindt.

McSweeney et al. (2007) uvádějí, že některá syřidla původem z houbových mikroorganismů (*Cryphonectria parasitica*) vykazují vyšší intenzitu proteolýzy a zároveň mají vyšší termostabilitu. Způsobují rozklad kaseinu na peptidy ještě během dalších úprav po sýření, čímž dochází ke snížení výtěžnosti. Stupeň hydrolýzy kaseinu během dalšího zpracování sýra je nejnižší u telecího chymosinu a fermentačně produkovaného chymosinu, střední u syřidel původem z *Rhizomucor* a nejvyšší u *Cryphonectria parasitica* a *Bacillus polymyxa*.

Druh syřidla ovlivňuje výtěžnost v % jen mírně, ovšem ve velké výrobě může jít o znatelné ztráty, kterým lze předejít výběrem vhodnějšího syřidla s přihlédnutím k požadovaným vlastnostem sýra. Zároveň je nutno hledat kompromis mezi ztrátami a cenou efektivnějšího syřidla (Zdeněk Rozehnal, 2014, pers.comm.).

### **3.5.3.9 Retence syrovátky a syrovátkových bílkovin**

Syrovátka odcházející ze sýřeniny může mít různé složení a odcházet v různém množství, čímž přímo ovlivňuje výtěžnost sýrů. Průměrné ztráty celkové bílkoviny mléka syrovátkou činí více než 20 % (Banks et al., 1993).

Množství zadržené syrovátky a tedy podíl vody v sýru závisí na konkrétním typu výrobku a požadovaných vlastnostech, proto se nedá jednoznačně určit ideální složení odcházející syrovátky pro všechny sýry. Palmer a Kelly (1993) uvádějí hodnoty pro čedar: obsah tuku 0,25 % v syrovátce odpovídá poklesu výtěžnosti 2,3 % a obdobně 0,5 % tuku

v syrovátce poklesu výtěžnosti o 4,6 % oproti stavu s nulovými ztrátami tuku syrovátkou. 0,25 % tuku v syrovátce odpovídá ztrátě asi 6,4 % z celkového tuku v mléce. Ztráty rozpustného kaseinu syrovátkou činí přibližně 4 % z celkového kaseinu v mléce.

Snaha zvýšit výtěžnost zadržením většího podílu syrovátkových bílkovin s sebou nese problém zachování kvalit sýra. Forman et al. (1996) upozorňují, že denaturované syrovátkové bílkoviny váží vodu, což omezuje dosažení požadované sušiny v sýru, ale současně je možné zvýšit nárůst výtěžnosti o 10–15 %. K denuraci může docházet při ošetření mléka vysokou teplotou s dostatečnou výdrží nebo jiným postupem cíleně pouze u syrovátkových bílkovin.

K denuraci syrovátkových bílkovin se používá ultrafiltrace a následné ošetření ultrafiltrátu vysokou teplotou v několika krocích. Dojde k oddělení bílkovin syrovátky a lze je navrátit zpět do mléka, které se dále zpracovává běžným postupem. Banks et al. (1993) experimentem prokázali, že s rostoucí délkou a teplotou záhřevu ultrafiltrátu (kombinace 72 °C a 16 s, 85 °C a 60 s, 90 °C a 60 s) vzrostl obsah bílkovin a vody v sýru. Výtěžnost pozitivně koreluje s podílem denaturovaných syrovátkových bílkovin a oproti pasterizovanému mléku činil nárůst výtěžnosti 7,26 % u záhřevu na 85 °C a o 9,1 % u záhřevu na 90 °C. Zároveň došlo ke změnám sensorických vlastností a zrání. U čedarů byla hodnocena nedostatečná intenzita chuti a u sýrů zrajících déle než 9 měsíců nahořklá chuť. Textura se až na vyšší vlhkost nelišila od čedarů z pasterovaného mléka, ovšem tyto čedary neměly schopnost se rozpouštět. Tato metoda je vhodná pouze pro nezrající sýry, v sýrech zrajících dochází k výraznému poklesu sensorických kvalit (Banks et al., 1993).

### **3.5.3.10 Krájení sýřeniny**

Velikost sýrového zrna a jeho tuhost při krájení je dána typem sýra a úrovní mechanizace. Během krájení sýřeniny dochází k uvolňování syrovátky, což znamená ztráty zbývajících rozpustného kaseinu, syrovátkových bílkovin a tuku. Ke krájení zrna se používají různé technologie, v současnosti se využívá harfa strun rotující ve válci, který může být různě konstruovaný. Ideální krájení je na kostičky, zpočátku šetrně a poté rychleji a především rovnoměrně (Zdeněk Rozehnal, 2014, pers.comm.).

Homogenita krájení umožňuje zkrátit dobu krájení. Pokud dochází ve středu válce k preciznějšímu krájení a na stěnách se usazuje prstenec nerozkrájeného zrna, doba se prodlužuje a části od středu syrovátky jsou rozkrájeny více, než je třeba a dochází ke zbytečným ztrátám syrovátky (Zdeněk Rozehnal, 2014, pers.comm.).

Lawrence et al. (1993) příčiny ztrát během krájení. Jde o malý počet nožů, příliš krátké krájení po krátkou dobu. Vznikají křehké a velké částice a během míchání odchází syrovátkou více tuku. Nejlepších výsledků na zařízení Damrow při výrobě čedaru bylo dosaženo kombinací pomalého pohybu nožů asi 4 otáčky za minutu a době krájení asi 10 minut. Čísla se liší podle typu zařízení a vyráběného sýra.

Pokud se pečlivou kontrolou procesu krájení podaří dodržet podmínky pro minimální ztráty syrovátky, snadněji se dosáhne požadované sušiny v sýru. Vhodným způsobem krájení je možno zajistit nižší přípustnou odchylku v % sušiny sýra. Nižší odchylka umožňuje snížit rezervu, se kterou se dříve muselo počítat pro případ záporné odchylky (Zdeněk Rozehnal, 2014, pers.comm.).

Fagan et al. (2007) zjistili závislost výtěžnosti na teplotě, době krájení a přidavku chloridu vápenatého. Předpokládá se, že existuje právě taková pevnost sýřeniny, při které by došlo k minimalizaci ztrát tuku syrovátkou a zároveň optimalizaci podílu zadržené vody ve výrobku.

### **3.6 Vliv speciálních sýrařských doplňků na výtěžnost**

Za speciální sýrařské doplňky jsou považovány látky přidané v procesu výroby sýrů kromě sýrařských kultur a syřidel. Aditiva nemusí nutně být využívána pouze při výrobě sýrů, některé z nich (Simplesse<sup>®</sup>) se běžně využívají při výrobě krémových mléčných dezertů (Lucey et Gorry, 1993). Tradičním aditivem v sýrařství je chlorid vápenatý, speciálními doplňky zaměřenými na mléčné výrobky jsou MaxiCurd<sup>™</sup>, Simplesse<sup>®</sup>100 a Novagel<sup>™</sup>. Oxid uhličitý je látka, u které se zkoumá nová možnost využití v sýrařství.

Před rozebráním jednotlivých doplňků je nutno zmínit, že při současné technologii je možné zvyšování výtěžnosti především prostřednictvím zabudování syrovátkových bílkovin do matrice sýra. Ideálním stavem je zakomponovat do sýra maximální množství syrovátkových bílkovin za současného zvýšení výtěžnosti i nutriční hodnoty sýra a minimálních změn technologických a senzorických vlastností. To je obtížný úkol vzhledem k výrazné vazbě vody na denaturované syrovátkové bílkoviny a jejich odlišnému profilu proteolýzy během zrání (Zdeněk Rozehnal, 2014, pers.comm.).

Jednoduché navýšení výtěžnosti je teoreticky možné zvýšením podílu vody v sýru, avšak to je v praxi kromě technologických a senzorických vlastností výrobku limitováno také legislativou. Zákazníky nejoblíbenější sýry mají nízký obsah vody (Lawrence et al., 1993).

Přídavek speciálních sýrařských doplňků ovlivňuje výtěžnost v řádech jednotek procent. Většina podniků v ČR zpracovává řádově  $10^5$  l mléka za den a i 1% nárůst výtěžnosti může být ekonomicky zajímavý. Na jednoduchém příkladu je to zřejmé: zvýšení výtěžnosti o 1 % při výrobě sýra s 50 % sušiny znamená zisk 2 kg sýra na 100 kg mléka. Další otázkou je cena aditiva a nutnost změnit technologii výroby. Efektivitu využití speciálních sýrařských doplňků ve výrobě je nutno posuzovat individuálně (Zdeněk Rozehnal, 2014, pers.comm.).

Problematické je i testování efektivity přídavku sýrařských doplňků. Fox et al. (2004) uvádějí příklad, kdy se podařilo zvýšit výtěžnost prostřednictvím syrovátkových bílkovin o 8 % při zachování přijatelné kvality sýra, avšak postup výroby nebyl komerčně využíván pro daný druh sýrů. Proto by bylo vhodné doplňky testovat v běžném provozu s přihlédnutím k využívané technologii. Zkoušky in vitro nebo v malých objemech nemohou věrně napodobit celý proces, kterým surovina prochází v mlékárně a praktické výsledky mohou být zcela odlišné (Zdeněk Rozehnal, 2014, pers.comm.).

### **3.6.1 Chlorid vápenatý**

Důvody pro přídavek  $\text{CaCl}_2$  do mléka byly popsány v kapitole 5.1.4. Přídavek  $\text{CaCl}_2$  snižuje dobu koagulace, zvyšuje pevnost sýřeniny a navyšuje výtěžnost (Sandra et al., 2012).

Wolfschoon-Pombo (1997) se zabýval jeho vlivem na výtěžnost. Byl použit 0,01% roztok  $\text{CaCl}_2$ , počet opakování experimentu byl 73 během jednoho kalendářního roku. Přídavek  $\text{CaCl}_2$  způsobil nárůst výtěžnosti průměrně o 38 g na 100 kg mléka oproti kontrolnímu vzorku bez aditiva. Výraznější nárůst výtěžnosti byl zaznamenán na jaře a v létě. Zároveň se zvýšil podíl částic o velikosti 5,5–7,5 mm a poklesl podíl částic menších než 3,5 mm. Mírné zvýšení výtěžnosti je vysvětlováno nižšími ztrátami mléčného tuku a tukuprosté sušiny.

Podle Onga et al. (2013) byly při přídavku  $\text{CaCl}_2$  v rozmezí 200–600 mg/l zjištěny nižší ztráty tuku syrovátkou, avšak celková výtěžnost se nezměnila. Zadržení většího podílu tuku je připisováno vzniku hustší a méně pórovité struktury (pórů bylo více, ale měly menší rozměry), která snáze zadrží tukové kuličky.

Makhal et al. (2013) měřili závislost výtěžnosti sýra cottage na přídavku samotného  $\text{CaCl}_2$  v koncentracích 0,012 %, 0,016 % a 0,02 %. Všechny koncentrace byly také

kombinovány se zvýšením pasterační teploty na 85, 90 a 95 °C po dobu 5 minut. Koncentrace 0,02 % bez zvýšené teploty vedla ke zvýšení výtěžnosti na 12,76 % oproti 12,16 % u kontrolního vzorku. Výtěžnost byla navýšena retencí vody. Při kombinaci se záhřevem mléka na 90 °C činila výtěžnost 13,52 % oproti kontrolním 11,18 %. Nárůst byl způsoben navýšením podílu syrovátkových bílkovin (nárůst z 1,2 % na 13,93 %) a vody.

Bylo zjištěno, že výtěžnost je funkcí doby krájení sýřeniny, teploty a přídavku  $\text{CaCl}_2$  (Fagan et al., 2007).

Ideální hodnoty koncentrace  $\text{CaCl}_2$  jsou u jednotlivých sýrů následující: 4,56–6,48 % pro čedar, 5,42 % pro feta sýr a 5,38 % pro mozzarella. Překročení těchto hodnot vede k fyzikálním změnám v sýřenině a znehodnocení sýra (McSweeney et al., 2007).

### 3.6.2 MaxiCurd™

Produkt MaxiCurd™ byl vyvinut firmou DSM Food Specialties. Produkt má umožnit pasteraci při vyšší teplotě a zvýšení výtěžnosti při zachování kvalitativních vlastností sýra. Jde o hydrolyzát krátkých peptidů. MaxiCurd™ je určen pro všechny sýry, u kterých se cíleně nechává uvolňovat syrovátka. Primárně byl vyvinut pro sýry typu pasta filata, u kterých neovlivňuje chuťové vlastnosti. Je nevhodný pro zrající sýry vzhledem k odlišné proteolýze syrovátkových bílkovin během zrání.

Po běžné pasteraci dochází při tvorbě zrna k adhezi jednotlivých částic a to způsobuje soudržnost sýřeniny. Při vyšší pasteraci dochází ke změnám na povrchu jednotlivých částic a snížení pravděpodobnosti účinné srážky. Syrovátkové bílkoviny v matrici sýra navíc způsobují vyšší obsah vody. Vzniká rozpadavá sýřenina. MaxiCurd™ zajišťuje nové vazby mezi denaturovanými syrovátkovými bílkoviny a tím vynahrazuje nedostatečné interakce mezi částicemi zrna. Napomáhá zabudování syrovátkových bílkovin do sýra.

Jako vzorový příklad zvýšení výtěžnosti uvádí DSM Food Specialties v technickém bulletinu případ zvýšení pasterační teploty ze 75 °C na 85 °C. Pasterace trvá 20 s. Podíl denaturovaných syrovátkových bílkovin v mléce se v tomto rozmezí zvyšuje z 13,9 % na 40,01 %. Při obsahu 3,5 % tuku a 0,8 % syrovátkových bílkovin v mléce jde o teoretický nárůst výtěžnosti o 6 %, v praxi šlo o nárůst o 4 %.

S rostoucí pasterační teplotou se snižuje poměr denaturovaného  $\beta$ -laktoglobulinu k  $\alpha$ -laktalbuminu z 38:1 při 70 °C na 7,5:1 při 85 °C. Nižší poměr těchto dvou denaturovaných bílkovin se přibližuje jejich poměru v mateřském mléce, což ukazuje nové možnosti využití MaxiCurd™ ve výrobě dětských výživ.

Peptidy obsažené v MaxiCurd™ vytvářejí nové vazby v sýřenině a nevyužitá část z nich zůstává v síru rozpuštěna ve vodné fázi nebo odchází se syrovátkou.

Syrovátka obsahuje proteiny o velké molekulové hmotnosti a proteozo-peptonovou frakci lehkých peptidů. 50 % těchto peptidů má velikost mezi 1,5–10 kDa, zbytek má velikost větší. Podíl proteozo-peptonové frakce závidí na mnoha faktorech (plemeno, krmivo, roční období atp.). MaxiCurd™ obsahuje peptidy menší než proteozo-peptonová frakce.

25 % peptidů MaxiCurd™ je aktivně vázáno na kasein v síru. Zbývajících 75 % má velikost menší než 1,5 kDa a neovlivňuje vlastnosti proteinů syrovátky. Syrovátka při použití MaxiCurd™ není znehodnocena.

MaxiCurd™ se přidává společně se sýrařskou kulturou nebo syřidlem ve formě roztoku. Dávky CaCl<sub>2</sub> a syřidla zůstávají nezměněné. Pro zavedení je nutno nahradit 50–80 % původní sýrařské kultury kulturou termofilů, výrobce doporučuje vlastní produkt TS80. Je možno zvýšit pasterační teplotu a zároveň nutno zvýšit teplotu během odkapávání syrovátky a lisování o 1–2 °C (DSM Food Specialties, 2008).

Podle Rozehnal (2014) je kromě omezeného využití MaxiCurd™ jen pro určité typy sýrů problémem výsledná finanční bilance výroby. Výroba sýrů s navýšeným obsahem syrovátkových bílkovin je vždy kompromisem mezi kvalitou a výtěžností a finanční přínos by musel dostatečně vykompenzovat omezení na kvalitě. MaxiCurd™ se neujal, proto již není nabízen v sortimentu DSM Food Specialties.

### **3.6.3 Náhražky mléčného tuku v nízkotučných sýrech**

#### **3.6.3.1 Simplese® 100**

Simplese® 100 je přírodní přípravek firmy DMV Campina vyrobený z bílkovinného koncentrátu určený k náhradě tuku v mléčných výrobcích. Vyrábí se zahřátím syrovátkových bílkovin a snížením velikosti částic na průměr 1 μm. Jde o proteinovou náhražku mléčného tuku. Možné využití v sýrech je důsledkem zvýšené poptávky po nízkotučných sýrech. Tuk v síru je zachycen bílkovinnou matrix společně s vodou a ovlivňuje fyzikální vlastnosti sýřeniny. U sýrů s nízkým obsahem tuku se objevují především dva zásadní problémy: příliš pevná sýřenina a nedostatečná chuť typická pro sýr (Lucey et Gorry, 1993).

Simplese® 100 nahrazuje v síru texturu, kterou běžně zajišťuje mléčný tuk. Velikost částic Simplese® 100 se přibližuje rozmezí 0,1–0,3 μm. Tato velikost částic je chuťovými buňkami vnímána jako krémová konzistence. Mimo to Simplese® 100 zlepšuje fyzikální vlastnosti sýřeniny, snižuje energetickou hodnotu, napomáhá vazbě vody a nárůstu výtěžnosti.



Zvýšení výtěžnosti bylo měřeno na čedaru se sníženým obsahem tuku na 50 % z původního obsahu. Mléko bylo standardizováno na obsah tuku 1,5 % a bylo přidáno 2 % Simplese<sup>®</sup>100. U čedaru s přídavkem Simplese<sup>®</sup>100 byla naměřena vyšší výtěžnost: ze 100 kg mléka výtěžek  $9,14 \pm 0,39$  kg sýra oproti  $7,76 \pm 0,19$  kg u čedaru bez Simplese<sup>®</sup>100. Obdobně byl i obsah vody v sýru vyšší při přídavku Simplese<sup>®</sup>100:  $51,4 \pm 0,71$  % se Simplese<sup>®</sup>100 oproti původním  $49,6 \pm 0,58$  %. Oba jevy jsou důsledkem zabudování vyššího podílu syrovátkových bílkovin do matrice sýra. Hlavním rozdílem v sensorice obou vzorků byla jemnější chuť vzorku se Simplese<sup>®</sup>100 (Lucey et Gorry, 1993).

Při použití Simplese<sup>®</sup>100 byl sýr hodnocen jako tvrdší oproti jeho neodtučněnému analogu (Romeih et al., 2002).

Produktem podobným Simplese<sup>®</sup>100 je Dairy Lo<sup>®</sup>. Zalazar et al. (2002) testovali využití Dairy Lo<sup>®</sup> při výrobě krémového nízkotučného sýra. Výrobek obsahoval vyšší podíl vody, což se negativně projevilo na době trvanlivosti.

### **3.6.3.2 Novagel<sup>™</sup>**

Novagel<sup>™</sup> je zástupcem náhražky mléčného tuku založené na karbohydrátech. Romeih et al. (2002) experimentálně prokázali nárůst výtěžnosti při použití Novagelu<sup>™</sup> i Simplese<sup>®</sup> oproti sýrům pouze odtučněným. Při použití Novagelu<sup>™</sup> vznikl sýr o lepší textuře, která se přibližovala sýrům neodtučněným. Reologickým měřením byla zjištěna zlepšení některých parametrů, ale sensoricky byly sýry hodnoceny hůře než neodtučněné.

Podle McMahona et al. (1996) tvoří Novagel<sup>™</sup> ve struktuře sýra částice větší než 80  $\mu\text{m}$ , což vede k otevírání pórů a vzniku ostrůvků syrovátky o velikosti asi 300  $\mu\text{m}$ .

Produktem podobným Novagel<sup>™</sup> je Stellar<sup>™</sup>, který se v sýru vyskytuje jako částice o průměru 0,5–1  $\mu\text{m}$  a nezpůsobuje uvolnění syrovátky z matrice sýra (McMahon et al., 1996).

### **3.6.4 Oxid uhličitý**

CO<sub>2</sub> se po rozpuštění v mléce chová jako kyselina, proto může být použit pro okyselení mléka při výrobě sýra místo používání kyseliny octové nebo citronové (Nelson et al., 2004b). Okyselení redukuje růst mnoha druhů bakterií, zvláště patogenních, jedovatých a plynotvorných mikroorganismů. Přirozeně jsou během výroby sýrů zahubeny vznikem kyseliny mléčné z laktózy a konkurenční sýrařskou kulturou (Fox et al., 2004). Okyselením

mléka před výrobou lze jejich rozvoj potlačit a zamezit degradaci suroviny před zpracováním (Ma et al., 2003).

Přídavek plynného CO<sub>2</sub> nezpůsobuje změny v koncentraci anorganického fosforu, vápníku nebo hořčíku, ale mění pufrací kapacitu mléka. Dochází k ustanovení nových poměrů mezi solemi mléka. Pufrací kapacita při pH 4,95 byla snížena a při pH 5,4 zvýšena. Účinek CO<sub>2</sub> na pH je reverzibilní. Změny na koloidním kalcium fosfátu jsou ireverzibilní, již byl přeměněn na jiné formy solí (Gevaudan et al., 1996).

Okyselení mléka CO<sub>2</sub> má za následek zvýšení množství rozpustného vápníku a fosforečnanu (Nelson et al., 2004b). Snižuje se počet vazeb chránících celistvost kaseinové micely a zvyšuje se náchylnost ke změnám v uspořádání micel (Fox et al., 2004).

Nižší pH způsobuje disociaci kaseinu z micel. Sýry z mléka okyseleného CO<sub>2</sub> měly nižší obsah vápníku. Nižší podíl odstranitelné syrovátky neměl vliv na výslednou vlhkost sýra, ta byla stejná u kontrolního vzorku. V čedaru z okyseleného mléka byl zjištěn vyšší obsah surové bílkoviny, který lze přičíst přítomnosti nezměněného kaseinu a zčásti hydrolyzovaného kaseinu ve vodné fázi sýra (Nelson et al., 2004b).

McCarney et al. (1993) zjistili, že při využití skladovaného mléka ošetřeného CO<sub>2</sub> výtěžnost oproti kontrolnímu vzorku mírně poklesla, nejvíce při výrobě po 2 dnech skladování. Snížení výtěžnosti je přičítáno přechodu části vápníku a kaseinu do rozpustné formy. Při výrobě z čerstvého mléka naopak výtěžnost mírně vzrostla.

St-Gelais et al. (1997) provedli experiment s okyselením mléka při výrobě čedarů. Výtěžnost byla srovnatelná s mlékem neokyseleným, ale se snížením pH o 0,1 bylo možno snížit dávku syřidla o 30 %. Nižší dávka syřidla je úsporou, ale během zrání neprobíhá dostatečná proteolýza.

Nelson et al. (2004a) poukazují na snadnost odstranění CO<sub>2</sub> ze syrovátky na rozdíl od jiných běžně využívaných kyselin (citronová, octová). Provedli experiment, kde nesnížili dávku syřidla a CO<sub>2</sub> a požadovaná proteolýza probíhala v dostatečném rozsahu a rychleji oproti kontrolnímu vzorku (Nelson et al., 2004b). Výtěžnost byla o 4,4 % nižší u okyseleného mléka v důsledku vyšších ztrát tuku do syrovátky. Nižší obsah vápníku v sýru se potvrdil stejně jako u předchozích studií. Sýry z okyseleného mléka zadržely větší množství soli a při opakování bylo možno dávku soli snížit (Nelson et al., 2004a).

Výtěžnost může být navýšena pomocí CO<sub>2</sub> nepřímo, dochází ke zpomalení růstu psychrotrofů během skladování. Amigo et al. (1995) prokázali inhibici růstu *Pseudomonas* v syrovém i tepelně ošetřeném mléce okyseleném na pH 6 nebo 6,2, avšak inhibice byla

zmírněna v průběhu času v důsledku snížení obsahu CO<sub>2</sub> během skladování (7 °C). Osvědčilo se korigovat pH každých 24 hodin.

Ma et al. (2003) provedli studii zaměřenou na vliv CO<sub>2</sub> na lipolýzu a proteolýzu v syrovém mléce. Mléka byla skladována při 4°C a po 0, 7, 14 a 21 dnech byl analyzován počet mikrobů, stupeň proteolýzy a lipolýzy. Přidání 1500 ppm CO<sub>2</sub>, bez přidání HCl, účinně zpomalilo mikrobiální růst při 4°C. Mléko ošetřené CO<sub>2</sub> vykazovalo nejnižší stupeň proteolýzy a lipolýzy oproti mléku neošetřnému nebo s přidáním HCl. To platilo u mléka s počátečním vysokým i nízkým CPM. Část vzorků byla zakonzervována dichromanem draselným, což zbrzdilo růst mikroorganismů a proteolýza a lipolýza byly způsobeny endogenními enzymy mléka, například plazminem nebo lipoprotein-lipázou. U těchto vzorků byl pozorován nižší stupeň proteolýzy, který je vysvětlován snížením pH. Plazmin je alkalická proteáza a ke snížení jeho aktivity může být využito jak CO<sub>2</sub> tak i HCl. Vliv přidání CO<sub>2</sub> nebo okyselení HCl na proteolýzu ve vzorcích konzervovaného mléka byl výraznější u mléka s vyšším PSB, pravděpodobně díky vyššímu obsahu endogenní proteázy. U žádného z konzervovaných vzorků nebyl pozorován vliv HCl nebo CO<sub>2</sub> na lipolýzu.

Přidání CO<sub>2</sub> do syrového mléka snížilo jeho proteolýzu působením nejméně dvou mechanismů: snížením koncentrace mikrobiální proteázy díky sníženému mikrobiálnímu růstu a následně i snížením aktivity mikrobiální proteázy způsobenou nižším pH mléka. Vliv CO<sub>2</sub> na lipolýzu je způsoben především snížením mikrobiálního růstu. Vysoce kvalitní syrové mléko (tj. s nízkým počtem somatických buněk a nízkým počtem bakterií) je možno po přidání 1500 ppm CO<sub>2</sub> skladovat při 4 °C po dobu 14 dní s minimální proteolýzou a lipolýzou (Ma et al., 2003).

Calvo et al. (1993) studovali vliv okyselení mléka prostřednictvím CO<sub>2</sub> na aktivitu sýrařských kultur, průběh sýření a výtěžnost. Po 4 dnech skladování při 4 °C byl u okyseleného mléka obsah psychrotrofů nižší. Úbytek výtěžnosti oproti čerstvému mléku činil průměrně 14,4 % u mléka ošetřného CO<sub>2</sub> a 24,8 % u mléka neokyseleného. Vliv na výtěžnost byl zaznamenán pouze u skladovaného mléka, při zpracování čerstvého mléka byla výtěžnost obou vzorků srovnatelná. Mimo to okyselení v tomto experimentu zkrátilo dobu sýření a snížilo pevnost sýřeniny.

Z výše uvedeného vyplývá, že využití CO<sub>2</sub> může přinést užitek, pokud mléko vykazuje zhoršenou mikrobiologickou kvalitu a je nutno ho před sýřením skladovat. Pak ho lze využít k minimalizaci ztrát vzniklých působením mikrobiálních a nativních enzymů na kasein, ale

výtěžnost bude vždy nižší než u mléka čerstvého. Acidifikace mléka CO<sub>2</sub> může vést k mírnému navýšení výtěžnosti při výrobě z čerstvého mléka.

### 3.7 Nutriční aspekty vyplývající z využití aditiv

Dosud byly zdůrazněny technologické aspekty vyplývající z použití aditiv za účelem zvýšení výtěžnosti. Aditiva ovlivňují i složení sýra a tedy jeho nutriční vlastnosti.

Výše zmíněné náhražky mléčného tuku jsou běžně používány v mléčných výrobcích a jejich nutriční výhoda je zřejmá: substitucí tuku snižují energetickou hodnotu sýra (Lucey et Gorry, 1993). Zároveň zlepšují sensorické vlastnosti. Právě zhoršené sensorické vlastnosti bývají příčinou sníženého zájmu zákazníků o nízkotučné sýry. Snižování příjmu tuku je v souladu s výživovým doporučením snižovat celkový příjem tuku a podíl živočišných tuků (Dostálová et al. 2006).

Hlavní přínos konzumace mléčných výrobků a zvláště pak tvrdých sýrů spočívá v obsahu biologicky dostupného vápníku. Vápník se snadno resorbuje, mléko nelze v tomto ohledu nahradit (Drbohlav et Vodičková 2002). Výroba sýrů z mléka okyseleného není ideální, protože sýry měly nižší obsah vápníku oproti svým analogům z mléka neokyseleného (Nelson et al. 2004b).

Nutričně-fyziologický význam syrovátkových bílkovin popisuje Suková (2006). Jsou snadno stravitelné a mají příznivé zastoupení aminokyselin. Biologická hodnota (% využitelnosti lidským organismem) syrovátkové bílkoviny je 104 oproti referenční hodnotě určené jako 100 pro vaječný bílek.  $\alpha$ -laktalbumin obsahuje rozvětvené aminokyseliny a je vhodný jako součást výživ pro sportovce.  $\beta$ -laktoglobulin váže a transportuje retinol (provitamin A) a je zdrojem cysteinu důležitého pro syntézu glutathionu. Zdrojem cysteinu je i bovinní sérový albumin. Imunoglobuliny mohou stimulovat imunitu u dospělých, laktoferin váže železo a uplatňuje se ve více biologických funkcích (Suková, 2006).

Pokud se podaří zachytit do sýra větší podíl syrovátkových bílkovin za minimálních negativních změn na kvalitě, významně vzrůstá jeho nutriční hodnota (Forman et al., 1996).

## 4 Závěr

Sýrařská aditiva ovlivňují výtěžnost sýrů v malé míře. Marginální podíl na výtěžnosti má kvalita suroviny a její následné zpracování. Prvotně je nutno zajistit takovou technologii, která minimalizuje ztráty při výrobě, a poté má smysl zvážit využití aditiv zvyšujících výtěžnost.

Využití aditiv ke zvýšení výtěžnosti je často vyváženo jinou nevýhodou, například zhoršenými sensorickými vlastnostmi sýra nebo příliš drahou výrobou. Ve výsledku potom nemusí jít o ziskový krok.

Je nutno zvážit, za jakým konkrétním účelem budou aditiva v dané výrobě použita a jak změní charakter sýra. Pokud jde o výrobu nízkotučného sýra, lze zvážit náhražku mléčného tuku, to samozřejmě nemá smysl ve výrobě tučných sýrů.

V případě zvyšování množství pro sýr získaných bílkovin je nutno si uvědomit, že prostor pro zvyšování výtěžnosti tkví především v možnosti zabudovat do matrice sýra mimo kasein

i syrovátkové bílkoviny. Ty mají rozdílné vlastnosti a vážou vodu, čímž mění charakter sýra a případně brání dosažení požadované sušiny. Nevhodné je využití většího podílu syrovátkových bílkovin u zrajících sýrů vzhledem k odlišnému profilu proteolýzy během zrání.

Nutriční hodnoty sýrů mohou být aditivou ovlivněny pozitivně ve smyslu zvýšení obsahu syrovátkových bílkovin nebo suplementací mléčného tuku. Negativním faktorem je snížený obsah vápníku v sýrech vyráběných z mléka okyseleného CO<sub>2</sub>.

Z aditiv uvedených v práci se jako výhodné jeví jednoznačně CaCl<sub>2</sub> a náhražky mléčného tuku.

CaCl<sub>2</sub> je běžně využívaným aditivem pro zlepšení vlastností mléka, zajišťuje dostatek vápenatých kationtů pro sýření a prokazatelně navyšuje výtěžnost. Pokud je přidáván v doporučeném množství do 20 g/l, přináší více výhod najednou bez negativních dopadů na kvalitu sýra.

Potenciál má využití náhražek mléčného tuku. U nízkotučných sýrů je tuk vždy redukován a nahradit jeho podíl aditivem je žádoucí jak z hlediska výtěžnosti, tak i z hlediska sensorického, jak bylo popsáno u Simplese<sup>®</sup> 100.

Využití zbývajících aditiv je rozporuplné. Zvyšování pasterační teploty pomocí MaxiCurd™ a zvýšení podílu syrovátkových bílkovin přináší vyšší výtěžnost, ovšem ta se v praxi neuplatnila a nevyplatila.

Okyselení CO<sub>2</sub> přineslo řadu výhod, například útlum proteolýzy v mléce nebo zkrácení doby sýření. Protože okyselení redukuje mikroorganismy v mléce, lze CO<sub>2</sub> využít k jejich inhibici, pokud je mléko před výrobou nutno skladovat. Zlepšením mikrobiologické kvality mléka se zamezí degradaci suroviny. Tuto funkci ale mohou plnit i jiná opatření, jako je šetrná pasterace nebo přidavek organických kyselin (citronová, octová). U čerstvého mléka nebyl zásadní nárůst výtěžnosti po okyselení CO<sub>2</sub> jednoznačně prokázán.

## 5 Zdroje

Amigo, L., Olano, A., Calvo, M. M. Preservation of Raw Milk with CO<sub>2</sub>–Sensory Evaluation of Heat-processed Milks. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*. [online] 1995. 200 (4). [cit. 2014-02-24] Dostupné z <<http://www.scopus.com.infozdroje.czu.cz/>>

Awad. S., 2011. Texture and microstructure. In: Rui Cruz, M. S. (ed.) 2011. *Practical Food and Research*. Nova Science Publishers, Inc. p.361–391. ISBN: 9781617285066.

Banks, J. M., Law, A. J. R., Leaver, J., Horne, D. S., 1993. The Conclusion of Whey Proteins in Cheese–An Overview. In: International Dairy Federation.1994. *Cheese Yield & Factors Affecting Its Control*. IDF. Brussels. p. 387–401. ISBN: 9290980135.

Barbano, D. M., 1993. Overview–Influence of Mastitis on Cheese Yield. In: International Dairy Federation.1994. *Cheese Yield & Factors Affecting Its Control*. IDF. Brussels. p. 48 - 54. ISBN: 9290980135.

Barbano, D. M., Rasmussen, R. R., 1993. Cheese Yield Performance of Various Coagulants. In: International Dairy Federation.1994. *Cheese Yield & Factors Affecting Its Control*. IDF. Brussels. p. 255–259. ISBN: 9290980135.

Beaulieu, M., Pouliot, Y., Pouliot, M. 1999. Thermal Aggregation of Whey Proteins in Model Solutions as Affected by Casein/Whey Proteins Ratios. *Journal of Food Science*. 64 (5). 776-780.

Calvo, M. M., Montilla, M. L., Garcia, M. L., Olano, A., 1993. Rennet-clotting Properties, Starter Activity and Cheese Yield of milk Acidified with Carbon Dioxide. In: International Dairy Federation.1994. *Cheese Yield & Factors Affecting Its Control*. IDF. Brussels. p. 309 - 312. ISBN: 9290980135.

Candiotti, M.C., Meinardi, C.A., Zalazar, C.A. Effect of Heat Treatments Higher than Pasteurization on Protein Distribution and Clotting Properties of Milk. *Milchwissenschaft*. [online] 2004. 59 (3-4). [cit. 2014-02-23] Dostupné z <[Dostálová, J., Kunešová, M., Otoupal, P., Starnovská, T. Zdravá třináctka – stručná výživová doporučení pro širokou veřejnost. \[online\] Společnost pro výživu. 1. ledna 2006. \[cit. 2014-03-03\] Dostupné z <<http://www.vyzivapol.cz/clanky-casopis/zdrava-trinactka-strucna-vyzivova-doporuceni.html>>](http://www.scopus.com.infozdroje.czu.cz/record/display.url?eid=2-s2.0-1642404633&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=calcium+chloride+cheese+yield&sid=F797972EB2060C9097F77AED501683DD.y7ESLndDI8N8cE7qwvy6w%3a140&sot=b&sdt=b&sl=44&s=TITLE-ABS-KEY%28calcium+chloride+cheese+yield%29&relpos=17&relpos=17&citeCnt=3&searchTerm=TITLE-ABS-KEY%28calcium+chloride+cheese+yield%29#></a>></p></div><div data-bbox=)

Drbohlav, J., Vodičková, M., 2002. Tabulky látkového složení mléka a mléčných výrobků. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, 84 s. ISBN: 8072170052.

DSM Food Specialties. 2008. Technický bulletin MaxiCurd™. V držení firmy O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.

Fagan, C.C., Castillo, M., Payne, F.A., O'Donnell, C.P., O'Callaghan, D.J. 2007. Effect of Cutting Time, Temperature, and Calcium on Curd Moisture, Whey Fat Losses, and Curd Yield by Response Surface Methodology. *Journal of Dairy Science*. 90 (10). 4499-4512.

Fenelon, M.A, Guinee, T.P. 1999. The Effect of Milk Fat on Cheddar Cheese Yield and its Prediction, using Modifications of the Van Slyke Cheese Yield Formula. *Journal of Dairy Science*. 82 (11). 2287-2299.

FitzGerald, R. J., 1997. Exploitation of Casein Variants. In: Welch, R. A. S., Burns, D. J. W., Davis, S. R., Popay A. I., Prosser, C. G. (eds.). 1997. *Milk Composition, Production and Biotechnology*. CAB International. p. 153 - 171. ISBN: 9780851991610.



Forman, L. (ed.), Hušek, V., Plocková, M., Snášelová, J., Štípková, J., 1996. Mlékárenská technologie II. VŠCHT, Praha, 228 s. ISBN: 8070802502.

Fox, F. P., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (eds.), 2004. Cheese Chemistry, Physics and Microbiology, Volume 1 General Aspects, 3rd ed. Elsevier Academic Press, Italy, p. 617. ISBN: 0-12-263652-X.

Gevaudan, S., Lagaude, A, De La Fuente, B.T., Cuq, J.L. 1996. Effect of Treatment by Gaseous Carbon Dioxide on the Colloidal Phase of Skim Milk. *Journal of Dairy Science*. 79 (10). 1713-1721.

Guinee, T. P., Pudja, P. D., Mulholland, E. O., 1993. Low Concentration Factor Ultrafiltration for the Standardization of Milk for Cheddar Cheese Production. In: International Dairy Federation. 1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF, Brussels, p. 319–322. ISBN: 9290980135.

Hill, A.R. 1995. Chemical Species in Cheese and their Origin in Milk Components. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 367. 43-58.

Hougaard, A.B., Ardo, Y., Ipsen, R.H. 2010. Cheese made from instant infusion pasteurized milk: Rennet coagulation, cheese composition, texture and ripening. *International Dairy Journal*. 20 (7). 449-458.

Chromik, C., Partschefeld, C, Jaros, D., Henle, T., Rohm, H. 2010. Adjustment of Vat Milk Treatment to Optimize Whey Protein Transfer into Semi-hard Cheeses: A Case Study. *Journal of Food Engineering*. 100 (3). 496-503.

Kelly, A.L., Huppertz, T., Sheehan, J.J. 2008. Pre-treatment of Cheese Milk: Principles and Development. *Dairy Science and Technology*. 88 (4–5). 549-572.

Kindstedt, P. S., Kiely, L. J., Barbano, D. M. et Yun, J. J., 1993. Impact of Whey pH at Draining on the Transfer of Calcium to Mozzarella Cheese. In: International Dairy

Federation.1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF, Brussels, p. 29–34. ISBN: 9290980135.

Lawrence, R. C., Johnston, K., Honoré, C., 1993. Cheese Yield, Quality and Profitability. In: International Dairy Federation.1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF, Brussels, p. 529–538 ISBN: 9290980135.

Lucey, J. A., Gorry, C., 1993. Effect of Simplex®100 on the Manufacture of Low Fat Cheddar Cheese. In: International Dairy Federation.1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF. Brussels. p. 439–447. ISBN: 9290980135.

Lucey, S. G., Jaeggi, J. J., Johnson, M. E., Lucey, J. A., 2004. Use of Cold Ultrafiltered Retentates for Standardization of Milks for Pizza Cheese: Impact on Yield and Functionality. In: International Dairy Federation. 2004. Book of Abstract - IDF Symposium on Cheese: Ripening, Characterization & Technology. Galén. Semily. p. 46. ISBN: 8086257355.

Ma, Y., Barbano, D. M., Santos, M., 2003. Effect of CO<sub>2</sub> Addition to Raw Milk on Proteolysis and Lipolysis at 4°C. Journal of Dairy Science. 86 (5). p. 1616–1631.

Ma, Y., Ryan, C., Barbano, D.M., Galton, D.M., Rudan, M.A., Boor, K.J. 2000. Effects of Somatic Cell Count on Quality and Shelf-life of Pasteurized Fluid Milk. Journal of Dairy Science. 83 (2). 264-274.

Makhal, S., Kanawjia, S.K., Giri, A. 2013. Role of Calcium Chloride and Heat Treatment Singly and in Combination on Improvement of the Yield of Direct Acidified Cottage Cheese. Journal of Food Science and Technology. 50. 1-7.

Martin, B., Pomiés, D., Pradel, P., Verdier-Metz, L., Rémond, B. 2009. Yield and Sensory Properties of Cheese Made with Milk from Holstein or Montbéliarde Cows Milked Twice or Once Daily. Journal of Dairy Science. 92 (10). 4730-4737.

McCarney, T. A., Mullan, W. M. A., Rowe, M. T., 1993. The Effect of Carbonation of Milk on the Yield and Quality of Cheddar Cheese. In: International Dairy Federation. 1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF. Brussels. p. 302–308. ISBN: 9290980135.

McMahon, D.J., Alleyne, M.C., Fife, R.L., Oberg, C.J. 1996. Use of Fat Replacers in Low Fat Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*. 79 (11). 1911-1921.

McSweeney, P. L. H. (ed.), Alichanides, E., Ardo, Y., Banks, J. M., Beresford, T., Donnelly, C.W., Dustrerhoft, E.-M., van den Berg, G., Farkye, N. Y., Frolich-Wyder, M. T., Bachmann, H. P., Gobetti, M., Di Cagno, R., Guinee, T. P., Kelly, A. L., Kindstedt, P. S., O'Brien, N. M., O'Connor, T. P., Sheehan, J., Spinnler, H.-E., Leclercq-Perlat, M.-N., 2007. Cheese problems solved. Woodhead Publishing Limited. Cambridge. p. 424. ISBN: 9781845690601.

Meza-Nieto, M.A., González-Córdova, A.F., Piloni-Martini, J., Vallejo-Cordoba, B. 2013. Effect of  $\beta$ -laktoglobulin A and B Whey Protein Variants of Cheese Yield Potential of a Model Milk System. *Journal of Dairy Science*. 96 (11). 6777-6781.

Molina, E., Dolores Álvarez, M., Ramos, M., Olano, A., López-Fandiño, R. 2000. Use of High-pressure-treated Milk for the production of Reduced-fat Cheese. *International Dairy Journal*. 10 (7). 467-475.

Morales-Celaya, M.F., Lobato-Calleros, C., Alvarez-Ramines, J., Vermon-Carter, E.J. 2012. Effect of Milk Pasteurization and Acidification Method on the Chemical Composition and Microstructure of a Mexican Pasta Filata Cheese. *LWT—Food Science and Technology*. 45 (2). 135-141.

Mullan, W.M.A. Determination of Theoretical Yield of Cheddar Cheese Using Milk Composition Only and a Modified Version of the Van Slyke Yield Equation. [online]. 2008. [cit. 2014-03-03] Dostupné z <<http://www.dairyscience.info/newcalculators/yield-01.asp>>

Nelson, B. K., Lynch, J. M., Barbano, D. M., 2004a. Impact of Milk Preacidification with CO<sub>2</sub> on Cheddar Cheese Composition and Yield. *Journal of Dairy Science*. 87 (11). 3581–3589.

Nelson, B. K., Lynch, J. M., Barbano, D. M., 2004b. Impact of Milk Preacidification with CO<sub>2</sub> on Aging and Proteolysis of Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science*. 87 (11). 3590–3600.

Nelson, B.K., Barbano, D.M. 2005. Yield and Aging of Cheddar Cheeses Manufactured from Milks with Different Milk Serum Protein Contents. *Journal of Dairy Science*. 88 (2). 4183-4194.

Ng-Kwai-Hang, K.F. 1993. Genetic Variant of Milk Proteins and Cheese Yield. In: International Dairy Federation.1994. *Cheese Yield & Factors Affecting Its Control*. IDF, Brussels, p. 160–166. ISBN: 9290980135.

Ong, L., Dagastine, R.R., Kentish, S.E., Gras, S.L. 2013. The Effect of Calcium Chloride Addition on the Microstructure and Composition of Cheddar Cheese. *International Dairy Journal*. 33 (2). 135-141.

Palmer, J., Kelly, J. 1993. Effects of Losse to Whey and Effluent on Cheddar Cheese Yield. In: International Dairy Federation.1994. *Cheese Yield & Factors Affecting Its Control*. IDF, Brussels, p. 313–318. ISBN: 9290980135.

Pijanowski, E., 1977. *Základy chemie a technológie mliekarstva I. diel. Príroda Bratislava, Bratislava, 506 s.*

Pijanowski, E., 1978. *Základy chemie a technológie mliekarstva II. diel. Príroda Bratislava, Bratislava, 632 s.*

Puhan, Z., Jakob, E., 1993. Genetic Variants of Milk Proteins and Cheese Yield. In: International Dairy Federation.1994. *Cheese Yield & Factors Affecting Its Control*. IDF, Brussels. p. 111–122. ISBN: 9290980135.

Rodríguez, J., Requena, T., Fontecha, J., Goudédranche, H., Juaréz, M. 1999. Effect of Different Membrane Separation Technologies (Ultrafiltration and Microfiltration) on the Texture and Microstructure of Semihard Low-fat Cheeses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47 (2). 558-565.

Romeih, E.A., Michaelidou, A., Biliaderis, C.G., Zerfiridis, G.K. 2002. Low-fat White-brined Cheese Made From Bovine Milk and Two Commercial Fat Mimetics: Chemical, Physical and Sensory Attributes. *International Dairy Journal*. 12 (6). 525-540.

Rozehnal, Z. 18. července 2014, pers.comm.

San Martín-González, M.F., Rodríguez, J.J., Gurram, S., Clark, S., Swanson, B.G., Barbosa-Cánovas, G.V. 2007. Yield, Composition and Rheological Characteristics of Cheddar Cheese Made with High Pressure Processed Milk. *LWT–Food Science and Technology*. 40 (4). 697-705.

Sandra, S., Ho, M., Alexander, M., Corredig, M. 2012. Effect of Soluble Calcium on the Renneting Properties of Casein Micelles as Measured by Rheology and Diffusing Wave Spectroscopy. *Journal of Dairy Science*. 2012. 95 (1). 75-82.

St-Gelais, D., Haché, S. 2005. Effect of  $\beta$ -casein Concentration in Cheese Milk on Rennet Coagulation properties, Cheese Composition and Cheese Ripening. *Food Research International*. 38 (5). 523-531.

St-Gelais, D., Champagne, C.P., Belanger, G. 1997. Production of Cheddar Cheese Using Milk Acidified with Carbon Dioxide. *Milchwissenschaft-Milk Science International*. 52 (11). 614-618.

Stupka, R., Čítek, J., Fantová, M., Ledvinka, Z., Navrátil, J., Nohejlová, L., Stádník, L., Šprysl, M., Štolc, L., Vacek, M., Zita, L., 2010. *Chov zvířat*. Powerprint, Praha, 289 s. ISBN: 9788087415085.

Suková, I. 2006. *Syrovátka v potravinářství*. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, 64 s. ISBN: 8072711733.

Svaz chovatelů českého strakatého skotu. Výsledky kontrolního roku 2012/2013. [online] 21. října 2013. [cit. 2014-03-04] Dostupné z < <http://www.cestr.cz/clanky-vysledky-kontrolniho-roku-20122013.html>>

Tong, P. S., Vink, S., Farkye, N. Y., Medrano, J. F., 1993. Effect of Genetic Variant of Milk Proteins on the Yield of Cheddar Cheese. In: International Dairy Federation.1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF, Brussels, p. 179–187. ISBN: 9290980135.

Ustunol, Z., 1993. Coagulation Properties, Proteolytic Activities of Milk-clotting Enzymes and their Effect on Cheese Yield. In: International Dairy Federation.1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF, Brussels, p. 267–278. ISBN: 9290980135.

Van Boekel, M. A. J. S., 1993. Transfer of Milk Components to Cheese: Scientific Considerations. In: International Dairy Federation.1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF, Brussels, p. 19–28. ISBN: 9290980135.

Van den Berg, M. G., 1993a. Genetic Polymorphism of  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin in Relation to Milk Composition and Cheesemaking Properties. In: International Dairy Federation.1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF, Brussels, p. 123–133. ISBN: 9290980135.

Van den Berg, M. G., 1993b. The Transformation of Casein in Milk into Paracasein Structure of Cheese and its Relation to Non-casein Milk Components. In: International Dairy Federation.1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF, Brussels, p. 35–47. ISBN: 9290980135.

Weatherup, W., Mullan, W. M. A., 1993. Effects of Low Temperature Storage of Milk on the Quality and Yield of Cheese. In: International Dairy Federation.1994. Cheese Yield & Factors Affecting Its Control. IDF, Brussels, p. 85–94. ISBN: 9290980135.

Wolfschoon-Pombo, A.F. 1997. Influence of Calcium Chloride Addition to Milk on the Cheese Yield. International Dairy Journal. 7 (4). 249-254.

Zalazar, C.A., Zalazar, C.S., Bernal, S., Bertola, N., Bevilacqua, A, Zaritzky, N. 2002. Effect of Moisture Level and Fat Replacer on Physicochemical, Rheological and Sensory Properties of Low Fat Soft Cheeses. *International Dairy Journal*. 12 (1). 45-50.

Zamora, A., Ferragut, V., Guamis, B., Tujillo, A.J. 2012. Changes in the surface protein of the fat globules during ultra-high pressure homogenisation and conventional treatments of milk. *Food Hydrocolloids*. 2012. 29 (1). 135-143.