

# **Vliv aplikace fosforečnanů a nízkoesterifikovaného pektinu na viskoelastické vlastnosti tavených sýrů**

Bc. Barbora Voldánová

---

Diplomová práce  
2009/2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2009/2010

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Barbora VOLDÁNOVÁ**  
Osobní číslo: **T08827**  
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Vliv aplikace fosforečnanů a nízkoesterifikovaného pektinu na viskoelastické vlastnosti tavených sýrů**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

- V teoretické části zpracujte literární rešerši, jejíž součástí bude problematika tavených sýrů, jejich analogů, pektinu, kaseinu a jejich interakcí.

### II. Praktická část

- V praktické části vyrobte modelové tavené sýry s přidavkem jednotlivých fosforečnanů a sledujte jejich viskoelastické vlastnosti.
- U dalších modelových vzorků upravte pH do optima pro tavené sýry a popište změnu viskoelastických vlastností.
- Výše zmíněné modelové produkty vyrobte s aplikací bez aplikace nízkoesterifikovaného pektinu.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] Caric, M., Kaláb, M., Processed cheese products. In Fox, P.F.(ed) Cheese: Chemistry, Physic and Mikrobiology. Vol. 2. Major Cheese Groups, 2. ed. Elsevier Applied Science, London and New York, 1997, 467-505.

[2] Rao, M.A., Rheology of fluid and semisolid foods: principles and applications Aspen, In Food engineering series, vol. 2. 2007. ISBN 13:978-0-387-70929-1.

[3] Phillips, G.O., May, C.D. Pectin. In handbook of hydrocolloids. 1.vydání. Cambridge: Woodhead Publisfing Limited. 2000.ISBN 80-05-00121-5.

[4] Marozienne, A, de Kruif, C. G. Interaction of pectin and casein micelles. Food Hydrocolloids. 2000.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Ivana Sádliková, Ph.D.**  
Brno

Datum zadání diplomové práce: **4. ledna 2010**

Termín odevzdání diplomové práce: **19. května 2010**

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
děkan



  
prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.  
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ..... VOUDANOVÁ' Barbora .....

Obor: ..... CHTP .....

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 12.5. 2010 .....

.....  


<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydávalečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) *Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.*

(3) *Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.*

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) *Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).*

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.*

(2) *Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.*

(3) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídá k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

## **ABSTRAKT**

Cílem této práce bylo zkoumat vliv aplikace fosforečnanů a nízkoesterifikovaného pektinu na viskoelastické vlastnosti tavených sýrů. Práce se skládala ze dvou experimentů, kdy v prvním byl zkoumán vliv přídavku různých fosforečnanů (mono-, di-, tri- a polyfosforečnanů) na texturní vlastnosti tavených sýrů. Druhý experiment se zabýval přídavkem směsi dvou různých fosforečnanů v měnícím se poměru (polyfosforečnan s monofosforečnanem nebo difosforečnanem). V obou případech byly vyrobeny i vzorky obsahující 0,4 % w/w pektinu. Chemická a reologická analýza ukázaly, že různé typy fosforečnanů mají odlišný vliv na pH (ve většině případů ho zvyšují) i na viskoelastické vlastnosti. Tuhost vzorků rostla v následujícím pořadí: monofosforečnan, di- a polyfosforečnan, trifosforečnan. Použitím směsi 2 fosforečnanů se ukázalo, že čím více je ve směsi mono- nebo difosforečnanů, tím vyšší je pH. A taktéž čím více je polyfosforečnanu ve směsi, tím roste i tuhost vzorku, ale jen do určité hranice. Přídavkem pektinu došlo ke zvýšení tuhosti vzorků.

Klíčová slova: tavený sýr, pektin, fosforečnany, reologie

## **ABSTRACT**

The aim of this thesis was to investigate the effect of phosphates and low-methoxyl pectin application on viscoelastic properties of processed cheese. In the first part of this thesis was explored the influence of the addition of different phosphates (mono-, di-, tri and polyphosphates) on textural properties of processed cheese. The second part dealt with by adding a mixture of two different phosphates in different ratio (polyphosphate with mono- or diphosphate). Samples with and without 0,4 % w/w of pectin were prepared in both cases. Chemical and rheological analysis showed that individual types of phosphates have a different effect on pH (in the most cases it was observed the increase of pH values) and also on the viscoelastic properties. If different phosphates were used, the firmness of the samples increased in the following order: monophosphate, di- and polyphosphate, triphosphate. The more amounts of mono- and diphosphates were in the binary mixture (with polyphosphates), the higher pH of samples was observed. The more amounts of polyphosphates were in the binary mixture, the higher firmness was stated. On the other hand, the latter rule had the limitation. The increase of firmness of tested processed cheese was observed due to pectin addition.

Keywords: processed cheese, pectin, phosphates, rheology

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Ivaně Sádličkové Ph.D., která se mi věnovala nejen po stránce teoretické, ale především mi pomohla s realizací celé praktické části této práce.

Další poděkování bych chtěla věnovat doc. Ing. Františku Buňkovi, Ph.D. za odborné rady a připomínky a také za čas, který mi věnoval při psaní mé diplomové práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.



# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>11</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>12</b>
<b>1 TAVENÉ SÝRY</b> .....	<b>13</b>
1.1 SUROVINY PRO VÝROBU TAVENÝCH SÝRŮ.....	13
1.2 ANALOGY TAVENÝCH SÝRŮ .....	17
<b>2 PEKTIN</b> .....	<b>19</b>
2.1 STRUKTURA PEKTINU .....	19
2.2 VÝROBA PEKTINU .....	20
2.3 TVORBA GELU .....	20
2.3.1 Vysokoesterifikovaný pektin (HMP) .....	21
2.3.2 Nízkoesterifikovaný pektin (LMP) .....	22
2.4 VYUŽITÍ PEKTINU .....	24
<b>3 INTERAKCE BIOPOLYMERŮ</b> .....	<b>26</b>
3.1 INTERAKCE PROTEINŮ A POLYSACHARIDŮ .....	26
3.1.1 Typy různých intermolekulárních sil přispívajících k interakcím biopolymerů .....	26
3.1.2 Důsledky interakcí biopolymerů .....	27
3.1.3 Interakce kaseinových micel s pektiny .....	29
<b>CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>33</b>
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>34</b>
<b>4 METODIKA PRÁCE</b> .....	<b>35</b>
4.1 POPIS EXPERIMENTŮ .....	35
4.2 PŘÍPRAVA MODELOVÝCH VZORKŮ.....	36
4.3 CHEMICKÁ ANALÝZA.....	36
4.4 DYNAMICKÁ OSCILAČNÍ REOMETRIE .....	37
4.5 STATISTICKÁ ANALÝZA .....	38
<b>5 VÝSLEDKY</b> .....	<b>39</b>
5.1 CHEMICKÁ ANALÝZA MODELOVÝCH TAVENÝCH SÝRŮ .....	39
5.2 EXPERIMENT 1 .....	40
5.2.1 Modelové tavené sýry s jednotlivými fosforečnany bez úpravy pH.....	40
5.2.2 Modelové tavené sýry s jednotlivými fosforečnany s úpravou pH .....	44
5.3 EXPERIMENT 2.....	47
5.3.1 Modelové tavené sýry se dvěma fosforečnany bez úpravy pH.....	47
5.3.2 Modelové tavené sýry se dvěma fosforečnany s úpravou pH .....	52
<b>6 DISKUZE</b> .....	<b>54</b>
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>57</b>

<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>58</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>64</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>65</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>66</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>67</b>

## ÚVOD

Tavené sýry patří mezi stále oblíbenější potraviny dnešní doby. Konzumenti však mnohem častěji požadují po producentech výrobky rozdílných konzistencí, chutí, tvarů, balení aj. Aby bylo možné těmto požadavkům vyhovět, je třeba neustále zkoumat strukturu tavených sýrů a její změny po přidání nových surovin. Jak je známo, tavicí soli jsou bezesporu důležitou složkou tavených sýrů. Tyto látky tvoří převážně fosforečnany nebo citrany a jsou nezbytné pro vytvoření homogenní struktury výrobku. Existuje však mnoho druhů jak fosforečnanů, tak citranů, které se liší ve vlastnostech a mají odlišný vliv na tvorbu trojrozměrné matrice sýra. Právě fosforečnany však mohou být problematické z hlediska výživy. Mléko a samozřejmě i mléčné výrobky jsou hlavním zdrojem vápníku v našem jídelníčku. Tavený sýr je sice vyráběn z přírodního sýra, který obsahuje značné množství vápníku, avšak tím, že se při výrobě použijí fosforečnanové tavicí soli, se může snížit biovyžitelnost vápníku. Proto se v dnešní době řada prací zabývá myšlenkou, čím alespoň částečně nahradit fosforečnany používané jako tavicí soli. Jednou z možností je použít právě hydrokoloidy jako jsou například pektiny, jejichž účinek na viskoelastické vlastnosti byl takéž předmětem výzkumu této diplomové práce.

Smyslem diplomové práce je tedy popsat vliv aplikace fosforečnanů a nízkoesterifikovaného pektinu na viskoelastické vlastnosti tavených sýrů.

Diplomová práce se skládá ze dvou hlavních částí a to teoretické a praktické. Část teoretická je dále rozčleněna na tři kapitoly, z nichž první se zabývá obecnou problematikou tavených sýrů, druhá kapitola shrnuje poznatky o pektinu a jeho dvou hlavních druzích (HMP a LMP) a třetí kapitola vysvětluje interakce mezi biopolymery, především pak interakce mezi mléčnou bílkovinou kaseinem a hydrokoloidem pektinem. Praktická část obsahuje metodiku, výsledky a diskuze. V metodice je uvedena příprava modelových vzorků a jejich chemická a reologická analýza. Dále jsou zde popsány dva experimenty, které byly prováděny v rámci diplomové práce. V následujících kapitolách jsou pak shrnuty výsledky veškerých chemických a reologických analýz a diskutovány možné dopady těchto výsledků, které mohou být využitelné v praxi.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 TAVENÉ SÝRY

Tavený sýr je mléčný produkt, který je vyroben zahříváním směsi různých druhů přírodního sýra s tavicími solemi za částečného podtlaku a stálého míchání do vzniku homogenní konzistence. [1] V České republice je pojem tavený sýr definován ve Vyhlášce Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. jako sýr, který byl tepelně upraven za přídavku tavicích solí. Tato vyhláška také dělí tavené sýry a to podle obsahu tuku v sušině. Jako „nízkotučný“ lze označit tavený sýr s obsahem tuku v sušině nejvýše 30 % hmotnostních. Jako vysokotučný lze označit tavený sýr s obsahem tuku v sušině nejméně 60 % hmotnostních. [2] Ve Spojených státech amerických jsou tavené sýry rozděleny do tří hlavních skupin, které se liší především obsahem tuku, vody, pH a množstvím použitých surovin. Jedná se o pasterovaný tavený sýr (anglický ekvivalent - pasteurized processed cheese), pasterované tavené sýrové produkty (pasteurized processed cheese foods) a pasterované tavené sýrové pomazánky (pasteurized processed cheese spreads). [3]

Původní důvod, proč vyrábět tavený sýr, byla snaha prodloužit dobu trvanlivosti přírodního sýra a najít jeho alternativní využití. V dnešní době jsou tavené sýry vyráběné hlavně pro jejich vzrůstající oblibu u konzumentů. Je možné je použít v mnoha různých variacích, a to buď jako surovinu při přípravě pokrmů nebo jako výrobek určený k přímé spotřebě. Tavené sýry se mohou lišit v konzistenci, chuti, velikosti i tvaru. [1]

### 1.1 Suroviny pro výrobu tavených sýrů

Hlavní složkou používanou při výrobě tavených sýrů je přírodní sýr. V České republice je používána především Eidamská cihla, Eidamský blok o různém obsahu tuku v sušině, Moravský blok nebo Primátor. Aby byla výroba taveného sýra úspěšná, je třeba velmi pečlivě volit přírodní sýr. V některých zemích je tavený sýr vyráběn pouze z jednoho druhu přírodního sýra, který však může být v různém stupni prozrálosti. Mnohem častější je však použití směsi odlišných přírodních sýrů. Mezi kritéria pro výběr této hlavní suroviny patří obsah tuku, konzistence a struktura, stupeň prozrálosti nebo například chuť. [4]

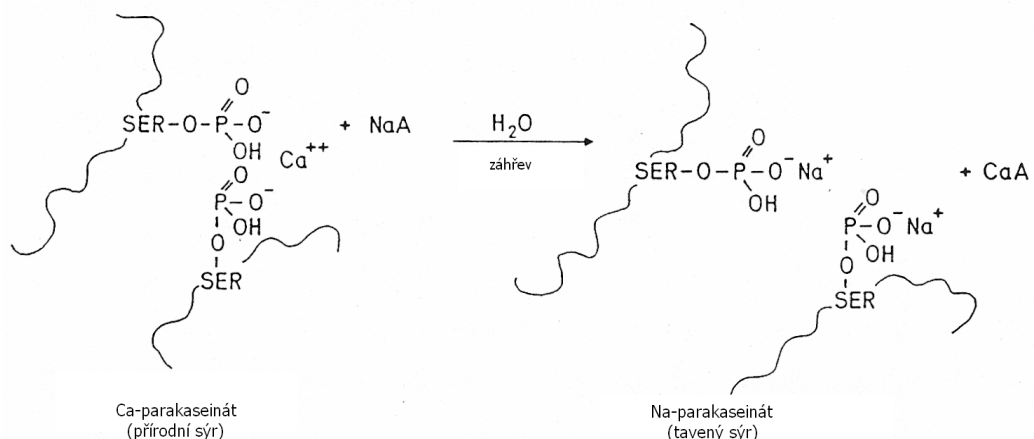
Mezi další suroviny mléčného původu lze zařadit mléčný tuk neboli máslo a mléčné bílkoviny ve formě kaseinátů, kaseinu, syrovátky, tvarohu nebo sušeného mléka.

Při výrobě tavených sýrů je však používána i řada surovin nemléčného původu. Aby byla dosažena jemná a homogenní struktura finálního výrobku, je nutné ke směsi přidat tavicí

soli. Nejčastěji se používají fosforečnany, polyfosforečnany nebo citrany. Jako další látky ovlivňující konzistenci lze uvést různé druhy hydrokoloidů, jako jsou pektiny, karagenany, xantanové gemy a jiné. Pro ochucení výrobku lze přidat různé druhy zeleniny, šunku, žampiony nebo koření. [5]

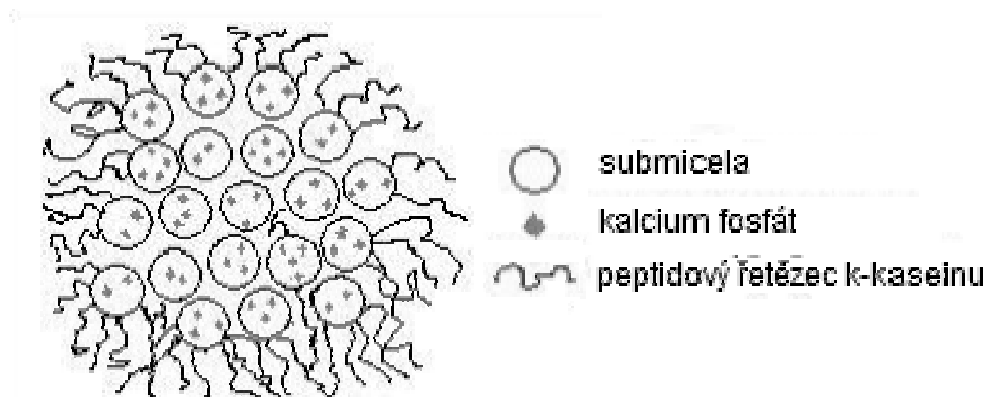
Tavicí soli jsou jednou z nejdůležitějších složek při výrobě tavených sýrů. Jsou používány pro jejich schopnost vytvářet homogenní strukturu během tavicího procesu, což je způsobeno odštěpením vápníku z proteinové matrice, peptizací proteinů, jejich hydratací, bobtnáním a disperzí. Přídavkem tavicích solí taktéž dochází k emulgaci tuků a jejich stabilizaci, je upraveno pH a po zchlazení se vytváří požadovaná struktura. [6]

Na kaseinové frakce obsažené v mléce může být pohlíženo jako na molekulu, která má jak hydrofobní tak hydrofilní segment obsahující kalcium fosfát (viz obr. 2). Z tohoto důvodu fungují molekuly kaseinových frakcí jako emulgátory. Rozpustnost kaseinu ve vodě vzrůstá, když je obsah kalcium fosfátu snižován. Cílem přídavku tavicích solí je tedy zvýšit rozpustnost kaseinu výměnou iontů vápníku za ionty sodíku. Z nerozpustného parakaseinátu vápenatého tak vznikne o něco rozpustnější parakaseinát sodný (obr. 1). Během tavicího procesu, vlivem vysokých teplot, jsou štěpeny polypeptidové vazby. Polyvalentní anionty tavicích solí se začnou navazovat přes vápenaté ionty na proteiny, čímž se zvyšuje jejich hydrofilní charakter. Proteinové molekuly začnou vázat vodu z okolí, čímž vzroste viskozita taveniny. Tento proces je nazýván jako tzv. krémování. Vazba fosfátové skupiny na protein je možná buďto esterově na karboxylovou skupinu serinu nebo přes vápenaté ionty na karboxylové skupiny. [4]



Obrázek 1 – chemická reakce při výrobě tavených sýrů [1]

V přírodních sýrech jsou tukové kuličky obklopeny proteinovou maticí. Úkol reemulsifikace spočívá v tavicích solích, které pod vlivem záhřevu zvyšují emulgační schopnosti sýrových proteinů. Následně při procesu tavení dochází ke zmenšení a rozptýlení tukových kuliček a ke vzniku homogenní hmoty. Při výběru tavicích solí a jejich poměru je nutné zohlednit, že jejich skupiny mají různé vlastnosti. [6]



Obrázek 2 – kaseinová micela [13]

Použití tavicích solí obvykle způsobuje zvýšení pH taveného sýra, které je u přírodního sýra v rozmezí 5,0 - 5,5 a u taveného sýra 5,6 - 5,9. Význam změny pH souvisí s pufovací schopností sýra, pH roztoku tavicích solí a na pufovací schopnosti tavicích solí. Z tohoto důvodu jsou neustále prováděny různé studie, které zkoumají vliv různých tavicích solí na texturu výsledného produktu. [7]

Mezi nejčastěji používané komerční směsi tavicích solí se řadí fosforečnany, polyfosforečnany a citrany. Složení jednotlivých tavicích solí je téměř vždy tajemstvím dodavatele. Molekula tavicích solí se skládá z monovalentního kationu (sodného) a polyvalentního anionu (fosforečného).

Fosforečnany jsou látky obsahující fosfor jako centrální atom, na který jsou navázány čtyři atomy kyslíku. Strukturně nejjednodušším je ortofosforečnan, který obsahuje pouze jednu  $\text{PO}_4$  skupinu. Spojením dvou ortofosforečnanů vznikne difosforečnan, jinak také nazývaný jako pyrofosforečnan. Pokud soli obsahují tři a více fosforečnanových anionů, jedná se už o polyfosforečnany. [8]

V praxi se jen zřídka používají samostatné soli. Většinou se jedná spíše o jejich směsi, protože se tak můžou kombinovat jejich odlišné vlastnosti. Při výrobě tavených sýrů dochází k výměně vápenatých kationů, které jsou divalentní, za monovalentní kationy tavicích solí.

Schopnost jednotlivých tavicích solí oddělovat vápenaté kationy je v následujícím pořadí: polyfosforečnany > pyrofosforečnany > ortofosforečnany > citrany. Přídavkem tavicích solí je rovněž ovlivněna hodnota pH. Vhodné pH je velmi důležité, protože ovlivňuje texturní vlastnosti finálního produktu. Pufrovací schopnost tavicích solí neboli schopnost stabilizace pH systému vůči okolním vlivům, klesá s rostoucí délkou řetězce. Pro fosforečnany obsahující více než deset  $(\text{PO}_4)^{3-}$  skupin je pufrovací schopnost téměř nulová.

Tavicí soli mají různou schopnost podporovat emulgaci v tavených sýrech, která je dána v následujícím pořadí: trifosforečnany > pyrofosforečnany > polyfosforečnany (s více než 10 fosfátovými skupinami) > ortofosforečnany stejně jako citrany. Toto pořadí je v základě shodné s pořadím pro schopnost tavicích solí oddělovat vápenaté ionty.

V tavených sýrech dochází během výroby a skladování k hydrolizačním procesům tavicích solí. Nejrychleji jsou hydrolyzovány polyfosforečnany a pyrofosforečnany, u ortofosforečnanů se pak rychlost hydrolyzy zpomaluje. Stupeň hydrolyzy roste při delších časech a vyšších teplotách tavení. Stejně jako závisí na teplotě a délce skladování. Dalším faktorem ovlivňujícím hydrolyzu může být například obsah vody ve výrobku nebo délka fosfátového řetězce. Hydrolyza je také nepřímoúměrně závislá na množství přidávaných tavicích solí. Pokud je do výrobku přidáno nadměrné množství, tavicí soli se dokonale nerozpustí a může hrozit tvorba krystalů. Negativním důsledkem hydrolyzy probíhající při skladování mohou být změny v tuhosti výrobku a vykrytalizování tavicích solí. Dalšími důvody krystalizace jsou pravděpodobně přídavek laktózy (přesycení krystaly laktózy, které pak slouží jako krystalizační jádra pro minerální látky) a tvorba nerozpustných krystalů fosforečnanu vápenatého (výsledek interakce aniontů tavicích solí a vápníku obsaženého v parakaseinu). [5]

V neposlední řadě je nutné taktéž zmínit bakteriocidní účinek fosforečnanů. Vzhledem k působení polyfosforečnanů, gram pozitivní bakterie se jeví jako mnohem citlivější než gram negativní. [9]

Baktericidní nebo bakteriolytický účinek je dán schopností polyfosforečnanů vázat se na buněčnou stěnu a chelatovat kationty kovů (např. vápenaté nebo hořečnaté). [10] Chelataci ovlivňuje řada faktorů jako pH, teplota, iontová síla, přítomnost kovových iontů a složení prostředí. Polyfosforečnany vytváří stabilní komplexy s kationty kovů, které jsou však nezbytné pro normální růst mikroorganismů. Z tohoto důvodu fungují polyfosforečnany jako



inhibitory růstu. [11] Mnohé studie ukazují, že polyfosforečnany inhibují růst a produkci toxinů u mikroorganismů jako jsou *Staphylococcus aureus*, zástupci rodu *Clostridium* nebo některé plísně. Zaika a Kim [12] zjistili, že polyfosforečnan sodný inhibuje růst bakterie *Listeria monocytogenes*. Maier, Scherer a Loessner [9] použili jako modelový mikroorganismus *Bacillus cereus*. Tato bakterie je sportující, gram-pozitivní a za určitých podmínek může tvořit toxiny. Vědci zjistili, že vyšší koncentrace polyfosforečnanu působí bakteriocidně a způsobuje lyzi buněk. Dalším důležitým zjištěním bylo, že už koncentrace 0,1 % polyfosforečnanu inhibovala vyklíčení spor a jejich následný růst a při vyšších koncentracích (1,0 %) došlo až ke zničení spor.

Nejpoužívanějším citranem používaným jako tavicí sůl je citronan trisodný ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ). Mono- a di-sodné citrany se většinou používají ke korekci hodnoty pH směsi taveného sýra a to tak, že ji snižují. Tohoto lze využít, především pokud je při výrobě použit velmi zralý přírodní sýr s vyšším pH. Citran trisodný je vhodné použít jako emulgační činidlo, avšak tato tavicí sůl nemá takový bakteriostatický efekt jako třeba polyfosforečnany. [5]

## 1.2 Analogy tavených sýrů

Analogy tavených sýrů jsou produkty podobné taveným sýrům, které jsou vyráběny hlavně z mléčného proteinu neboli kaseinu a rostlinných olejů. Hlavní výhodou, zvyšující každoročně oblíbenost těchto výrobků, je nižší cena z důvodu levnějších surovin. Z nutričního hlediska je zde také nutné zmínit výhody plynoucí z použití rostlinných olejů, které obsahují polynenasycené mastné kyseliny vhodnější pro lidský organismus a nižší obsah cholesterolu. [14][15]

Analogy tavených sýrů se dělí podle použitých surovin následovně:

1. Analogy založené na složkách mléčného původu - jsou vyráběny buď z mléčného tuku anebo z mléčných bílkovin (kaseinu, kaseinátů popř. jejich směsí).
2. Analogy s částečně nahrazenými mléčnými složkami – u těchto výrobků je převážně mléčný tuk nahrazen rostlinným olejem (sojovým, podzemnicovým, kokosovým aj.)
3. Analogy bez mléčných složek – ve výrobcích je nahrazen jak mléčný protein, tak mléčný tuk surovinami rostlinného původu. [15]

Technologie výroby analogů tavených sýrů je velmi podobná běžné výrobě tavených sýrů. Kasein nebo kaseinát je nejprve smíchán s malým množstvím vody, následně je přidán rostlinný olej spolu s kuchyňskou solí, kyselinou mléčnou a tavicími solemi. Sůl se však přidává jen jako dochucovadlo, pokud jsou používány práškové přísady. Směs je následně zahřívána na pasterační teploty (70 – 100°C) po dobu 4 – 15 minut a neustále míchána. Výrobek je naplněn do obalů, zchlazen a skladován. [14]

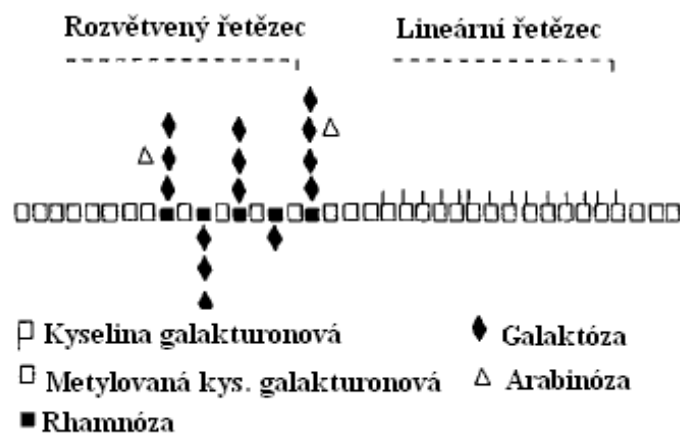
Analogy tavených sýrů nachází mnohá uplatnění v potravinářském sektoru. Jsou používány především v restauracích a fast-foodech například jako posypy na pizzu nebo do hamburgerů. [14]

## 2 PEKTIN

Pektiny jsou látky řadící se mezi polysacharidy a nacházející se v rostlinných buněčných stěnách, kterým spolu s ostatními složkami udávají pevnost a elasticitu a chrání rostliny při nízkých teplotách a suchu. Taktéž hrají určitou roli ve výživě lidí, protože jsou to složky rozpustné vlákniny. Pro získání pektinu se využívají především vedlejší produkty při výrobě džusů jako jsou citrusová kůra nebo výlisky z jablek. [18] Pektin se v potravinářství používá hlavně pro svou schopnost tvořit gel, stabilizovat a zahušťovat. Nejčastěji se přidává do výrobků jako jsou džemy, jogurtová mléka, zmrzliny a jiné. [16]

### 2.1 Struktura pektinu

Pektin je definován jako heteropolysacharid obsahující převážně kyselinu galakturonovou, která je vázána glykosidickou vazbou  $\alpha$ -(1-4) v lineární řetězec. Další hlavní součástí základní struktury pektinu je monosacharid rhamnóza. Jako postranní řetězce může kyselina galakturonová obsahovat určité množství neutrálních sacharidů jako například arabinózu, galaktózu nebo xylózu. (viz obr. 3) Na 2. nebo 4. uhlíku může být kyselina galakturonová acetylována. Karboxylové skupiny kyseliny galakturonové taktéž mohou být do různé míry esterifikovány methanolem. Stupeň methylesterifikace závisí na druhu rostliny, ze které pektin pochází a také silně ovlivňuje fyzikální vlastnosti pektinu. [16] [17] Pokud je esterifikováno více jak 50 % karboxylových skupin, jedná se o vysokoesterifikovaný pektin (HMP), pokud je však stupeň esterifikace menší než 50 %, hovoříme o nízkoesterifikovaném pektinu (LMP). [18]



Obrázek 3 – základní struktura pektinu [17]

## 2.2 Výroba pektinu

Jako nestarší zdroj pektinu byly využívány jablečné výlisky, které tvořily odpad při výrobě džusů. V dnešní době se však nejčastěji využívá jako hlavní zdroj citrónová kůra a méně pak kůra z limetky, pomeranče nebo grapefruitu. Dnes téměř nevyužívané, ale možné zdroje pektinu, mohou být například i cukrová řepa nebo slunečnice. [32]

Výroba pektinu zahrnuje tři hlavní kroky:

1. extrakci z rostlinného materiálu
2. přečištění extraktu
3. izolace pektinu

Extrakce může probíhat jak v kyselém, tak v zásaditém prostředí. (Při zásadité extrakci získáme LMP, protože jsou v pektinu zmydelněny esterové skupiny.) Postup při extrakci je následující: rostlinný materiál je zahříván na teplotu 70-90 °C po dobu potřebnou vyloužení požadovaného množství a kvality pektinu. Takto připravená směs je filtrována ve vakuovém rotačním bubnovém filtru. [32]

Pektin je poté ze vzniklého filtrátu vysrážen organickým rozpouštědlem, ve kterém je pektin nerozpustný, ale nečistoty ano. Jako organických rozpouštědel se využívá metanolu, etanolu nebo isopropanolu. Alternativní metodou, dnes už nevyužívanou, je vysolení pektinu pomocí chloridu vápenatého. [31]

Takto vysrážený pektin je oddělen buď separací anebo centrifugací, vyprán z důvodu odstranění nečistot, usušen a rozemlet na požadovanou jemnost. (Pozn.: prací tekutina může obsahovat zásadu, která upraví pH výsledného pektinu.) Získaný pektin bude mít různou schopnost tvořit gel, což závisí zejména na jeho původu, na kvalitě původního materiálu a také na metodě extrakce. [31] [32]

## 2.3 Tvorba gelu

Schopnost pektinu tvořit gel závisí především na stupni esterifikace. Jak vysokoesterifikované pektiny, tak nízkoesterifikované pektiny jsou schopny vytvářet gely, avšak za odlišných podmínek. [18]

### 2.3.1 Vysokoesterifikovaný pektin (HMP)

Jak už bylo dříve poznamenáno, HMP obsahují 50% a více esterifikovaných karboxylových skupin. Tento typ pektinu obvykle vytváří gel pomocí hydrofobních interakcí (mezi skupinami metylesterů) a vodíkových vazeb mezi metylovými skupinami různých pektinových řetězců a to v přítomnosti sacharidu (>55 %) a při nízkém pH ( $\leq 3,5$ ). [18][20][21]

Ke tvorbě gelu dochází, když se karboxylové skupiny kyseliny galakturonové částečně disociují, zatímco se pektin rozpouští, což způsobuje negativní náboj molekul a jejich vzájemné odpuzování. Protože mají pektinové molekuly vysokou schopnost vázat vodu, vzniknou silné vodíkové vazby právě mezi pektinem a molekulami vody a pektin je hydratován. Pro tvorbu gelu je však nezbytné, aby se tvořily vazby polymer-polymer a ne polymer-voda. Proto je nutné k vysokoesterifikovanému pektinu přidávat sacharidy (jako například sacharózu, fruktózu nebo glukózu), které snižují vodní aktivitu. Se vzrůstem množství sacharidů roste i tuhost gelu a současně roste i rychlost tuhnutí. Během poklesu afinity vody se hydratace sníží, a proto se molekuly pektinu začnou k sobě přibližovat. V tomto stavu, pokud je pH vyšší než 3,5, jsou odpudivé síly mezi pektinovými molekulami tak silné, že ke vzniku vazeb nedojde. Je tedy nutné přidat kyselinu, čímž se sníží disociace kyselých skupin a tím se sníží i odpudivé síly mezi molekulami. Vytvoří se vazebná zóna mezi molekulami pektinu skrze vznik vodíkových vazeb mezi karboxylovými skupinami pektinů. Hydrofobní interakce mezi metylestery pektinů dodatečně stabilizují trojrozměrnou síť gelu. S klesajícím pH roste tuhost gelu a současně se zvyšuje i teplota tuhnutí. Kyselá pH taktéž snižuje rozpustnost polysacharidů. Méně kyselá prostředí je vyžadováno při vyšším stupni esterifikace a naopak plně esterifikovaný pektin může tvořit gel i bez přítomnosti kyselin. Mimo to se ještě mohou vodíkové vazby objevit mezi pektinem a sekundární hydroxylovou skupinou molekuly sacharidu. [19][28][49][50].

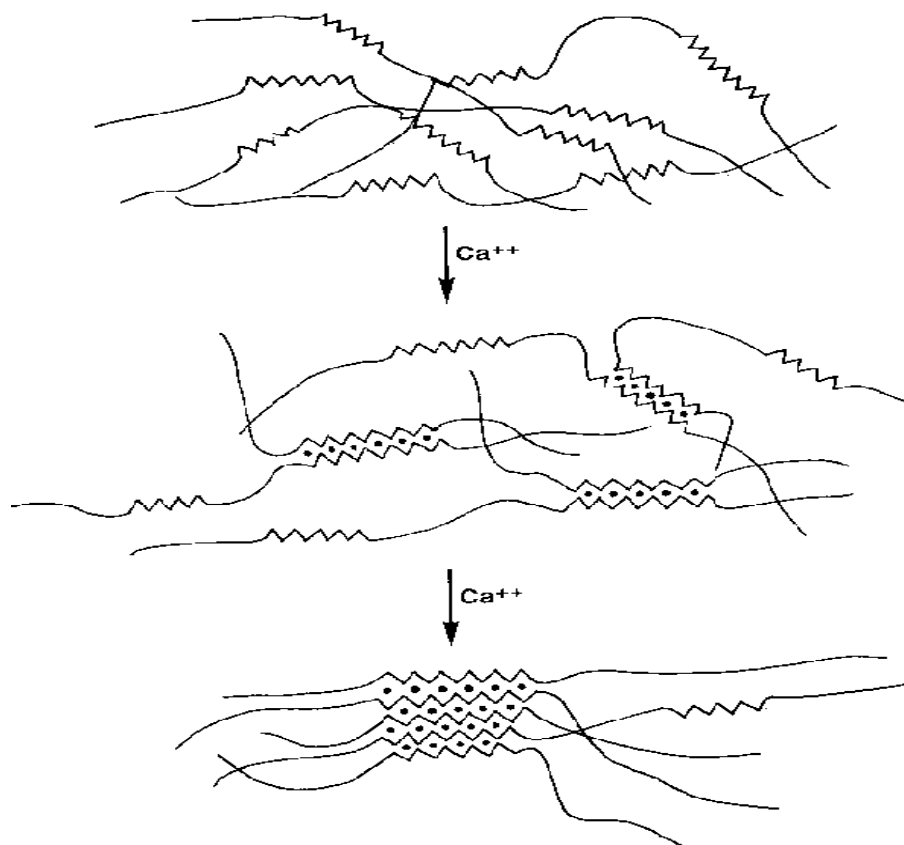
Stupeň esterifikace určuje poměr tuhnutí a teploty, při které se zahajuje gelovatění, když je pektin chlazen. Pektiny, u kterých dochází k rychlému tuhnutí, jsou ty, jejichž stupeň esterifikace je v rozmezí 70-80 %. Naopak pomalu tuhnou pektiny s 55-65 % esterifikovaných karboxylových skupin. Na stupni esterifikace taktéž závisí množství potřebného sacharidu, protože s rostoucím stupněm esterifikace vzrůstá i potřebné množství sacharidu. [19]

HM pektin slouží obvykle jako stabilizátor při disperzi proteinů v produktech se sníženým pH jako jsou jogurty nebo kysané mléčné nápoje. [21]

### 2.3.2 Nízkoesterifikovaný pektin (LMP)

Za LMP jsou považovány ty, které mají esterifikováno méně než 50% karboxylových skupin. Tyto pektiny jsou využívány zejména v produktech s nízkým obsahem sacharidů, protože jsou schopny vytvářet gel v prostředí kde je jich málo nebo kde se nevyskytují vůbec. Přítomnost sacharidů tedy není nutná, avšak pokud jsou v prostředí přítomny, zvyšují tuhost gelu a také jeho teplotu tání. [18][20] Fu a Rao [23] ve své práci uvedli, že přítomnost sacharidů ovlivňuje přeměnu ze solu na gel a naopak. Při tvorbě gelu hrají hlavní roli hydroxylové skupiny sacharidů, které napomáhají ke stabilizaci struktury vazebných zón. Tyto hydroxylové skupiny na sebe totiž naváží přes vodíkové vazby volnou vodu ze systému, čímž dojde k její immobilizaci. Tím pádem je podpořena vazba pektinu s vápenatými ionty a zvýšena pevnost gelu. [27][51]

Jako další nezbytnou součást prostředí vyžadují LMP dostatek vápenatých iontů. Vytvořený gel má strukturu trojrozměrné sítě, ve které jsou k sobě jednotlivé řetězce poutány přes karboxylové skupiny pomocí vápenatých iontů. [21] Pro lepší vysvětlení právě struktury nízkoesterifikovaného pektinu byl sestaven tzv. „egg-box model“, který je znázorněn na obrázku 4. Tento model je složen ze 2 sousedících molekul pektinu, které jsou k sobě připojeny vápenatými ionty. Ve výsledku potom tvoří dvě jednotky kyseliny galakturonové se dvěma protilehlými jednotkami jakési duté tělo, uvnitř kterého jsou ukotveny  $\text{Ca}^{2+}$  kationty. Vápenaté kationty spojují řetězce dohromady pomocí elektrostatických a iontových vazeb. K vytvoření tzv. vazebné zóny je zapotřebí, aby bylo uvnitř řetězce minimálně 7 po sobě jdoucích volných karboxylových skupin. Podle Tho a kol. je dokonce zapotřebí 14-20 volných karboxylových skupin po sobě jdoucích. [30] Vzhledem k prostorovým vlastnostem pektinového řetězce může být spojena s vápenatým iontem pouze každá druhá karboxylová skupina. Methyl esterové skupiny mohou být včleněny ve vazebné zóně jen v tom případě, když karboxylové skupiny na opačné straně nejsou esterifikovány. Výsledkem zesílení je pak tvorba gelu. [26][28][29]



Obrázek 4 – Schematické znázornění tvorby gelu LMP (tzv. egg-box model) [25]

Množství vápenatých iontů ovlivňuje tuhost gelu, protože čím je jejich koncentrace vyšší, tím tužší gel vznikne. Příliš nízká koncentrace vápníku způsobuje, že vzniklý gel je „slabý“ a při manipulaci s ním není soudržný. Na druhou stranu, pokud by byla koncentrace vápníku příliš vysoká, gel by byl „křehký“ a měl tendenci k synerezi. Přídavek nadměrného množství totiž způsobuje vznik ve vodě nerozpustného kalcium pektinátu. Nejvýznamnější texturní vadou je právě zmíněná synereze, ke které dochází uvolněním vody z trojrozměrné sítě gelu. [22] Afinita vápenatých iontů k LMP závisí také na stupni esterifikace. Pokud je obsah  $\text{Ca}^{2+}$  iontů konstantní, pevnost gelu roste s klesajícím stupněm esterifikace. To lze vysvětlit tím, že stupeň esterifikace má vliv na pevnost vazby vápníku na karboxylové skupiny pektinu. Další významnou rolí při tvorbě gelu je způsob, jakým jsou vápenaté ionty přidávány. Použitím rychle rozpustných vápenatých solí (např. chloridu vápenatého) vzniká gel poměrně rychle. Pokud je však přidáván citran vápenatý, tvorba gelu je pomalejší. Ke tvorbě gelu dochází u LMP při určitých teplotách a také v závislosti na koncentraci vápenatých iontů. Teplota tuhnutí totiž stoupá s rostoucím množstvím přidávaného vápníku. Zavedením amidovaných skupin do molekuly pektinu dojde silným intermolekulárním a in-

tramolekulárním vodíkovým vazbám. Tím pádem není v systému potřeba tolik vápenatých iontů, které by se jinak podílely na vazbě dvou molekul pektinu. Z toho vyplývá, že se mohou amidované pektiny používat do produktů, kde neamidované pektiny gel netvoří, jako například v produktech s nižším obsahem vápníku nebo v produktech s neutrálním pH. [28][52]

Narozdíl od vysokoesterifikovaných pektinů, které potřebují kyselé prostředí, nastává gelovatění u LM pektinů při širokém rozmezí hodnot pH, zpravidla 2,5-7,0. Se vzrůstem hodnoty pH ze 4,0 na 7,0 jsou pektinové řetězce mnohem citlivější k vápenatým iontům. Z tohoto důvodu dochází při pH 7,0 k synerezi při nižším obsahu  $\text{Ca}^{2+}$  než při pH 4,0. Využití tohoto pektinu je především ve výrobcích buď s kyselým anebo neutrálním prostředím (např. nekysané mléčné deserty).[20][21][24]

Další vlastností LMP gelů je jejich termoreverzibilita, což v praxi znamená, že při opětovném zahřátí tají. Narozdíl od HMP gelů, které termoreverzibilní naopak nejsou. [27]

## 2.4 Využití pektinu

Využití pektinu je různorodé a závisí především na typu výrobku, jeho pH, iontové síle, složení, procentu sacharidů a jejich druhu nebo popř. na tom, kolik dané surovina již sama o sobě pektinu obsahuje.

- **Džemy a marmelády s vysokým obsahem cukru** – jako první se pektin začal používat právě do ovocných džemů. Obsah rozpustné sušiny v těchto typech výrobků je 60-70 % a pH v rozmezí 3,0 - 3,3 (Pokud je pH vyšší, může se přidat kyselina citrónová). Z tohoto důvodu je vhodné použít vysokoesterifikovaný pektin.
- **Džemy a marmelády s nízkým obsahem cukru** – do takovýchto výrobků je nejvhodnější použít amidovaný LMP.
- **Pekařské výrobky** – hlavním požadavkem pro džemy používané v pekařství je jejich stabilita při pečení. Poté taky záleží na typu výrobku, do kterého je džem používán. Džemy, které se používají ke glazování pekařských výrobků, jsou termálně reverzibilní a je do nich přidáván amidovaný pektin spolu s fosforečnanovými solemi (kontrolují dostupnost vápníku a pH gelu).



- **Mléčné produkty** – zde je možné použít jak LMP tak HMP. Vysokoesterifikované pektiny jsou využívány pro svoji schopnost stabilizovat proteinové disperze do výrobků se sníženým pH jako jsou jogurty nebo kysané mléčné nápoje. Zatímco nízkoesterifikované pektiny jsou použitelné jak do mléka, mléčných dezertů, tavených sýrů tak do kyselějších produktů. [31][33] Problém nastává, pokud jsou do mléčných výrobků přidávány ovocné složky, a tyto suroviny mohou vzájemně ovlivňovat. Interakce ovocných složek s mléčným produktem jsou popisovány jako tzv. „post-gelace“, což je zapříčiněno vazbou negativně nabitých karboxylových skupin s  $\text{Ca}^{2+}$  nebo proteiny. Tato „post-gelace“ pak způsobuje nestejnou míchání, jakož i destabilizaci výsledného produktu, který má zvýšenou tendenci k synergezi. [28]
- **Další aplikace** – rajčatové šťávy, nízkotučný margarín, nízkotučná majonéza (ztužuje texturu), v mražených produktech ovlivňuje růst krystalů, zvyšuje stabilitu těsta a pozitivně ovlivňuje retrogradaci škrobu, atd. [28]

#### Stupeň esterifikace (%)



Obrázek 5 – Rozsah využití neamidovaného pektinu [31]

### 3 INTERAKCE BIOPOLYMERŮ

Zkoumání interakcí biopolymerů je velmi důležité, protože se vyskytují téměř ve všech potravinách, kde hrají velmi významnou roli hlavně v oblasti struktury, textury a stability. V dnešní době se už mnohé ví o funkčních vlastnostech jednotlivých biopolymerů, avšak znalosti v oblasti interakcí protein-polysacharid, které se tvoří v multifázovém komplexu (jako jsou potraviny v tekutém stavu, emulze nebo gely) je stále poměrně omezená. Nejčastější biopolymery vyskytující se v potravinách současně, jsou právě proteiny a polysacharidy, které mají schopnost zahušťovat nebo tvořit gel. Znalost těchto vazeb je nutná nejen u již známých výrobků, ale především pro vytváření a uvádění na trh výrobků nových. [34][35][36][37]

#### 3.1 Interakce proteinů a polysacharidů

Interakce proteinů a polysacharidů navzájem a interakce s ostatními složkami systému (jako jsou voda, tuky, cukry, ionty kovů, povrchově aktivní látky aj.) určují vazby a strukturní vlastnosti v potravinách. Vazby těchto biopolymerů ovlivňují funkční vlastnosti proteinů, mezi které se řadí jejich rozpustnost, povrchová aktivita, schopnost tvořit gel, emulzi nebo pěnu. Zjednodušeně lze říci, že existují dva typy interakcí mezi různými makromolekulami a to přitažlivé nebo odpuzivé. Tyto interakce jsou pak odpovědné buď za tvorbu komplexů, nebo za nemísitelnost jednotlivých složek. Vzhledem k tomu, že k vazbám dochází ve vodném prostředí, jsou ovlivněny také hodnotou pH, iontovou silou a dále strukturou, hustotou náboje a koncentrací biopolymerů. [34]

##### 3.1.1 Typy různých intermolekulárních sil přispívajících k interakcím biopolymerů

Interakce mezi biopolymery mohou být různého typu. Mezi nejčastěji se vyskytující druhy vazeb se řadí následující:

- **Kovalentní síly** – velmi silná vazba vytvořená mezi specifickými reaktivními skupinami na různých makromolekulách (kovalentní vazba uděluje stálost protein-polysacharidových komplexů)
- **Elektrostatické síly** – coulombické interakce, které mohou být jak přitažlivé, tak odpuzivé a také mohou být silné nebo slabé v závislosti na stupni ionizace a koncentraci

elektrolytu (celková protein-polysacharidová interakce je velmi citlivá ke změnám pH a iontové síle)

- **Vodíkové vazby** – jsou středně silné, krátkého dosahu, přitažlivé interakce typu  $-O-H^{\delta+} \cdots \delta^-O <^H$  (vodíkové vazby se stávají méně důležitými při vzrůstající teplotě)
- **Hydrofobní síly** – středně silné, dlouhého dosahu, přitažlivé interakce entropického původu mezi nepolárními skupinami oddělenými molekulami vody (hydrofobní síly rostou na síle s rostoucí teplotou, pouze však do 60°C)
- **Iontový můstek** – specifický typ coulombických interakcí zahrnující vazbu polyvalentních kationtů (např. vápenatých) ke 2 různým aniontovým skupinám (stejně druhy iontů mohou také přispívat k nespecifickým elektrostatickým interakcím)
- **Van der Waalsovy síly** – slabé přitažlivé interakce elektromagnetického původu [37]

### 3.1.2 Důsledky interakcí biopolymerů

Existuje několik možností, které mohou nastat smícháním dvou biopolymerů v roztoku jako např. roztoku polysacharidu a roztoku proteinu. Tyto jevy vzniklé v závislosti na afinitě mezi biopolymerem a rozpouštědlem jsou znázorněny na Obr. 6. Vazba 2 biopolymerů může být segregativní nebo asociativní, popř. může dojít k jejich vzájemné mísitelnosti.

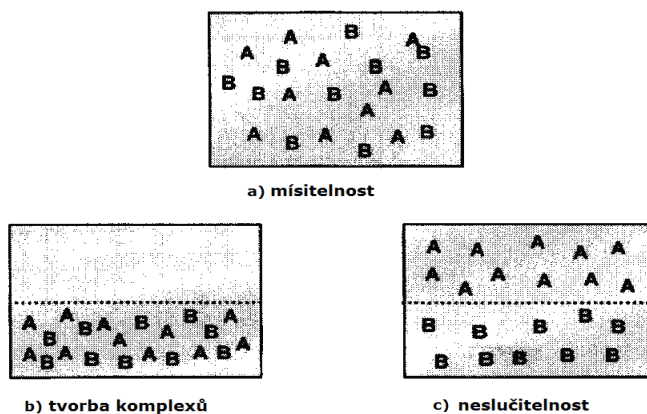
Při **segregativní** vazbě se biopolymerem vzájemně odpuzují (jsou označovány jako neslučitelné) a proto se systém nakonec rozdělí do dvou koexistujících fází (viz. obr. 6c). Jedna fáze je bohatá na protein a druhá na polysacharid. Jsou zde totiž upřednostňovány vazby rozpouštědlo - polymer (1 nebo 2) před vazbami polymer (1) - polymer (2) a rozpouštědlo - rozpouštědlo. Tento jev je nazýván jako termodynamická neslučitelnost a dochází k němu za podmínek, kdy se protein nachází v prostředí neutrálního polysacharidu nebo polysacharidu ve formě aniontu nesoucí náboj stejného znaménka jako protein. Segregativní fázová separace nastane pouze při vysoké iontové síle a při specifickém pH, které bere v úvahu isoelektrický bod proteinu.

Pokud se jedná o vazbu **asociativní**, biopolymerem se vzájemně přitahují (Obr. 6b). Tento jev nastane v případě, když biopolymerem nesou opačný náboj jako např. při pH mírně nižším než je isoelektrický bod proteinu a současném záporném náboji polysacharidu. Asociativní fázová separace je způsobena buď elektrostatickými interakcemi mezi biopolymerem, které ve většině případech převládají, vodíkovými vazbami nebo hydrofobními interakce-

mi. Výsledkem je vytvoření tzv. koacervátu neboli fáze bohaté na oba biopolymery a fáze bohaté na rozpouštědlo s minimálním množstvím biopolymerů. V systémech obsahujících dvě makromolekuly, které mají při daném pH stejný povrchový náboj byla popsána taktéž přítomnost slabých coulombických interakcí. Tento typ interakcí je možný buď v isoelektrickém bodě proteinu, nebo blízko tohoto bodu, protože jsou tak minimalizovány elektrostatické odpudivé síly mezi podobně nabitými skupinami. Coulombické interakce byly dokázány v systémech obsahující mléčné nebo syrovátkové proteiny a pektin, karagenan, xantan aj. [35][36][37]

Kruif a Tuinier [35] vysvětlují vznik koacervátu následovně: směs proteinů a polysacharidů může být nestabilní, pokud jsou vazby mezi polymery asociativní. V tomto případě se polysacharidy začnou adsorbovat na povrch proteinu. Pokud však není množství polysacharidů v systému dostatečně velké, aby kompletně pokrylo povrch proteinu, může se adsorbovat současně na více proteinových částech, čímž vznikne tzv. překlenutí neboli „komplexová koacervace“.

Poslední možností, která může nastat mezi dvěma biopolymery je jejich **mísitelnost** (znázorněna na obrázku 6a). Autoři Syrbe, Bauer a Klostermeyr [42] popisují, že k mísitelnosti dojde, pokud spojení mezi dvěma různými biopolymery je podobné jako spojení mezi biopolymery stejného druhu. Takovýto systém zůstává homogenní i při vysoké koncentraci biopolymerů. Naopak Kruif a Tuinier [35] tvrdí, že mísitelnost platí jen pro velmi zředěné roztoky. Systém je stabilní jen tehdy, když převládá směšovací entropie a proteiny a polysacharidy jsou mísitelné. Se zvyšující se koncentrací se systém stává nestabilní a dochází většinou k segregativním vazbám.



Obrázek 6 – Hlavní způsoby chování protein-polysacharidových směsí [42]

### 3.1.3 Interakce kaseinových micel s pektiny

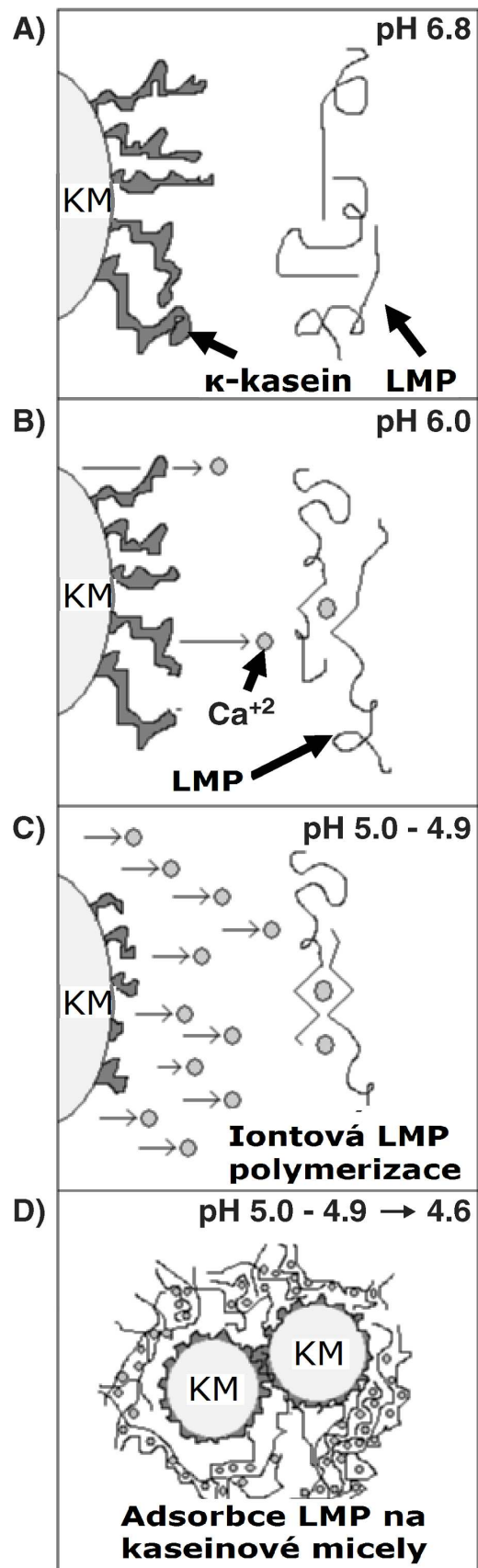
Aby bylo možné pochopit mechanismus interakcí mezi kaseiny a pektiny, je nejprve nutné si říci několik informací o kaseinu, hlavním proteinu mléka. Kasein je komplex fosfoproteinů obsahující čtyři hlavní frakce a to  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  a  $\kappa$ -kasein a v mléce se vyskytující ve formě micel. Kappa-kasein funguje v mléce jako ochranný koloid, protože stabilizuje  $\alpha_s$  a  $\beta$ -kaseiny v přítomnosti vápenatých iontů. Micely jsou však narušeny působením enzymů (renninu) při výrobě přírodních sýrů nebo okyselením při výrobě kysaných mléčných výrobků jako jsou jogurty. [38][39] Snížení pH způsobí změnu náboje proteinu a následně jejich rozpustnost. Kaseiny se stávají nerozpustnými v jejich isoelektrickém bodě, který přibližně odpovídá pH 4,6. Jak pH klesá, kasein pomalu ztrácí svůj hydratační obal a začíná vytvářet shluky. [28]

Při výrobě kysaných mléčných výrobků se vytváří hustá síť tvořená kaseinovými micelami, které jsou k sobě přitahovány. Jako prevence vzniku kaseinových agregátů je vhodné použít například polysacharid aniontové povahy, který bude fungovat jako stabilizátor. Ovšem pouze za předpokladu, že se bude adsorbovat na povrch kaseinových micel. Jedním z používaných polysacharidů je právě pektin. [43]

Interakce kaseinů s karagenany nebo pektiny, které jsou převážně elektrostatické povahy, jsou v dnešní době velmi diskutované právě pro jejich schopnosti ovlivnit texturu a stabilitu některých mléčných výrobků. Karagenan může chránit kaseiny citlivé na vápník ( $\alpha_{s1}$  nebo  $\beta$ ) proti vysrážení tím, že interaguje s  $\kappa$ -kaseinem vyskytujícím se na povrchu kaseinových micel. K ochraně karagenanem dochází i za podmínek, při kterých jsou karboxylové hydrokoloidy (pektin, karboxymethylcelulosa) neúčinné. Elektrostatické komplexy se totiž mohou tvořit při neutrálním pH. Naopak nízkoesterifikovaný pektin zřejmě netvoří komplex s kaseinovými micelami při neutrálním pH, ačkoliv tvoří gely v mléce v důsledku vazby s vápenatými ionty. Tvorba komplexů pektinu s částicemi kaseinu při nízkém pH se používá při stabilizaci zakysaných mléčných nápojů. [37]

Interakce mezi kaseinovými micelami a pektiny závisí především na pH prostředí, ve kterém se vyskytují. Mohou být jak přitažlivé, tak odpudivé nebo k nim nemusí vůbec docházet. Obrázek 7 přehledně znázorňuje jednotlivé situace v systému, kde je jsou kaseinové micely spolu s LMP, při klesajícím pH (neboli při mléčném kysání).

- V neutrálním prostředí (pH okolo 6,7), kde oba biopolymery nesou negativní náboj, se pektin neadsorbuje a dochází k odpudivým interakcím. (viz obrázek 7a) Ve výsledku se tyto interakce projeví jako segregativní fázová separace. Při překročení určité koncentrace pektinu dochází k tzv. depleční flokulaci. [21][40][41]
- Pokud pH klesne na hodnotu přibližně 6,0 (což znázorňuje obrázek 7b), vápenaté ionty začnou migrovat z kaseinové micely do sérové fáze a tím podpoří zesítnění pektinových řetězců. [53]
- Při pH okolo 5,0 dojde k disociaci koloidního fosforečnanu vápenatého, micely ochuzeny o ionty vápníku,  $\kappa$ -kasein ztrácí svou ochrannou funkci a dojde k LMP agregacím, které jsou indukované právě vápníkem (obr. 7c). [53]
- V prostředí, kde pH je v rozmezí 5,0 – 4,6 se objevují přitažlivé interakce elektrostatické povahy, které vedou k adsorpci pektinu na povrch kaseinové micely. Jev, ke kterému dochází ve výrobcích s kyselým pH se nazývá „můstková flokulace“, a byl sledován tam, kde koncentrace pektinu nebyla dostačující k úplnému pokrytí povrchu kaseinových micel. Pokud však byla koncentrace zvýšena, systém se opět stabilizoval a pektinové molekuly zcela pokryly kaseinové micely. [21][41] Dickinson [37] popisuje k jakým situacím dojde, jsou-li koncentrace polymerů v systému různé. V případě nedostatečného množství pektinu, který by kompletně pokryl celý povrch kaseinových částíček, dojde k již předem zmíněné „můstkové flokulaci, kde některé z molekul pektinu jsou připojeny současně k více než jedné částíčce kaseinu. Pokud je množství pektinu optimální, dojde k tzv. „sterické stabilizaci“ koloidní disperze. V tomto případě je povrch částíček zcela nasycen adsorbujícím pektinem a dochází ke stabilizaci systému. Třetí možnou variantou je nadbytek pektinu, který má za následek vytvoření sítě gelu. Podle Tuiniera a spol. [43] je adsorpce pektinu na kaseinové micely vícevrstvá. Snížením pH se tloušťka vrstvy i adsorbované množství zvyšuje což je způsobeno zvýšením pozitivního náboje na kaseinových micelách.



Obrázek 7 – Ukázky interakcí kaseinové micely s LMP při snižujícím se pH [53]

Podle Ovodova [18], interakcí proteinů s pektiny vznikají komplexy jak dispergované tak nerozpustné, jejichž struktura závisí na poměru jednotlivých biopolymerů a pH. Jsou tvořeny kovalentní vazby mezi tyrosinovými zbytky proteinů a karboxylovými skupinami uronové kyseliny pektinu, což může vést ke vzniku trojrozměrné sítě.

Vysokoesterifikovaný pektin, využívaný ve výrobcích s nízkým pH, je díky své molekulární struktuře schopen se vázat na kaseinové micely a vytvářet tak ochranný obal. Stabilní interakce jsou tvořeny pomocí iontových vazeb mezi částečně negativně nabitými pektinovými molekulami a pozitivně nabitým kaseinovým komplexem (lze také pozorovat i hydrofobní interakce). Kasein má pozitivní náboj při pH nižším než 4,6, a tak umožňuje interakce s negativně nabitými pektinovými molekulami. Pokud však hodnota pH přesáhne 4,6, negativní náboje v molekule kaseinu budou v převaze, což způsobí odpuzování negativně nabitých molekul pektinu. [28][35][36] Za určitých podmínek lze přidávkou HMP předcházet problémům, ke kterým dochází ve výrobcích převážně během skladování. Jedním z nich je sedimentace kaseinových micel ve spodní části výrobku a dalším pak opětovné shlukování molekul do větších celků. Dodržením podmínek se rozumí homogenizace kaseinové suspenze v přítomnosti pektinu a pH v rozmezí 3,5-4,2. Narozdíl od HMP má LMP více karboxylových skupin a tudíž by se měl spojovat s pozitivně nabitými kaseinovými molekulami mnohem pevněji. [42][44]



## CÍLE PRÁCE

Úkolem této diplomové práce bylo v teoretické části zpracovat literární rešerši, jejíž součástí je problematika tavených sýrů, jejich analogů, pektinu, kaseinu a jejich vzájemných interakcí.

Praktická část diplomové práce měla několik následujících úkolů:

- vyrobit modelové tavené sýry s přídavkem jednotlivých fosforečnanů a sledovat jejich viskoelastické vlastnosti,
- u dalších modelových vzorků upravit pH do optima pro tavené sýry a popsat změnu viskoelastických vlastností,
- výše zmíněné modelové produkty vyrobit s aplikací a bez aplikace nízkoesterifikovaného pektinu.

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 METODIKA PRÁCE

### 4.1 Popis experimentů

V rámci této diplomové práce byl zkoumán vliv aplikace fosforečnanů a nízkoesterifikovaného pektinu na viskoelastické vlastnosti tavených sýrů. Při výrobě vzorků byly používány různé druhy jednotlivých fosforečnanových tavicích solí (sodné soli monofosforečnanů, difosforečnanů, trifosforečnanů a polyfosforečnanů).

Pro účely prvního experimentu byly vyrobeny modelové tavené sýry, které obsahovaly vždy jednu sodnou sůl kyseliny fosforečné jako tavicí sůl (skupiny 1 – 3). V druhém experimentu byly použity směsi těchto fosforečnanů (skupiny 4 – 9). Vzorky byly vyráběny jak bez pektinu, tak s 0,4 % w/w pektinu.

Směsi tavicích solí byly míchány vždy ze dvou komponent a to v různých poměrech. Dvojice byly sestaveny tak, aby se vždy tavicí soli podstatně lišily v pufrovacích a chelatačních schopnostech. Složení tedy bylo následující: směs polyfosforečnanu spolu s monofosforečnanem a poté směs polyfosforečnanu s difosforečnanem (viz tab. 1). [58]

*Tabulka 1 – Složení směsí tavicích solí používaných pro výrobu tavených sýrů*

<b>Skupina tavených sýrů 4, 5 a 6</b>	<b>Skupina tavených sýrů 7, 8 a 9</b>
Polyfosforečnan sodný: Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Polyfosforečnan sodný: Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
100:0	100:0
75:25	75:25
50:50	50:50
25:75	25:75
0:100	0:100

Aby mohl být minimalizován vliv pH jako jednoho z faktorů ovlivňujícího reologické vlastnosti tavených sýrů, byla u vzorků v obou experimentech následně provedena úprava pH tak, aby měly přibližně stejnou hodnotu. Úprava pH proběhla pomocí přídavku kyseliny (1M HCl) nebo zásady (1M NaOH) a to u vzorků 3, 6 a 9.

## 4.2 Příprava modelových vzorků

Základní suroviny používané k výrobě tavených sýrů (40 % w/w sušina a 50 % w/w tuk v sušině) byly následující:

- přírodní polotvrdý sýr typu Eidam (Mlékárna Kroměříž – KROMILK s.r.o.; 30 % w/w tuk v sušině; 50 % w/w sušina; stáří 8-10 týdnů)
- čerstvé máslo (min. 82 % w/w tuk)
- deionizovaná voda
- fosforečnanové tavicí soli – 3 % w/w, (Břeclav - FOSFA a.s.):  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  a polyfosforečnan sodný
- neesterifikovaný pektin z citrusových plodů – 0,4 % w/w, (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, USA; >50 % w/w sušina, >74 % w/w obsah kyseliny galakturonové)

K výrobě modelových vzorků tavených sýrů bylo použito tavicí zařízení Vorwerk Thermomix TM 31 blender cooker (Vorwerk & Co. Thermomix, GmbH, Wupertal, Německo). Pokud byl do vzorků přidáván pektin, bylo nutné ho nejprve hydratovat. Tento proces probíhal přímo v tavicím zařízení za konstantního míchání, kde se pektin nechal bobtnat spolu s deionizovanou vodou při teplotě 60°C po dobu 10 minut. Po uplynutí potřebné doby se k pektinu přidal na kostičky nakrájený přírodní sýr, čerstvé máslo, tavicí soli a zbytek vody, který nebyl spotřebován na hydrataci pektinu. Přístroj se uzavřel a postupně se začala teplota zvyšovat (za konstantního míchání) až na výslednou teplotu tavení, která byla v tomto případě 90±1°C. Doba výdrže byla 1 minutu. Hotový výrobek byl za horka nadávkován do 100g plastických krabiček, které byly zataveny hliníkovou fólií. Vzorky byly zchlazeny na teplotu 6±2°C, při které byly následně i skladovány. [58]

## 4.3 Chemická analýza

Každý modelový vzorek byl podroben chemické analýze, která se sestávala ze stanovení pH, tuku, sušiny a popela.

Měření pH probíhalo při konstantní teplotě 20±2°C pomocí pH metru GRYF 208L (GRYF HB spol. s.r.o., Havlíčkův Brod, Česká Republika) se skleněnou elektrodou THETA 90 HC 113 (GRYF HB spol. s.r.o., Havlíčkův Brod, Česká Republika).

Ke stanovení obsahu absolutního tuku byla použita acidobutyrometrická metoda podle van Gulika. Butyrometry, se kterými bylo pracováno měly rozsah stupnice 40%. [45]

Stanovení sušiny probíhalo ve vysoušecích miskách, ve kterých byl tavený sýr rozetřen spolu s vysušeným křemenným pískem a následně sušen při teplotě  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  do konstantních úbytků hmotnosti. Toto gravimetrické stanovení sušiny bylo prováděno podle ČSN EN ISO 5534:2004. [46]

Stanovení popela mělo následující postup: navážený vzorek v porcelánovém kelímku byl umístěn do elektrické pece, kde byl žhán po dobu 4 hodin při teplotě  $550 \pm 5^\circ\text{C}$ . Stanovení se řídilo postupem, který uvedli Černá a Mergl [47]. [58]

#### 4.4 Dynamická oscilační reometrie

Dynamická oscilační reometrie je jednou z často využívaných metod pro zjišťování viskoelastických vlastností potravin, u které se sleduje hlavně lineární viskoelastická odezva na velmi malou oscilační deformaci. Viscoelasticita potravin je popisována pomocí elastického ( $G'$ ) a ztrátového ( $G''$ ) modulu pružnosti. Elastický modul vyjadřuje míru elasticity a ztrátový modul míru viskozity. Poměr těchto dvou modulů se nazývá „úhel fázového posunu“ a je vyjádřen jako:

$$\tan\delta = G''/G' \quad (1)$$

Pro charakterizaci vzorků je nutné si taktéž vyjádřit komplexní modul pružnosti, neboli celkový odpor vzorku proti deformaci, který je dán vztahem:

$$G^*(\omega) = \sqrt{G'(\omega)^2 + G''(\omega)^2} \quad (2)$$

K měření modelových vzorků byl používán rotační viskozimetr Bohlin GEMINI (Malvern Instruments Ltd., Velká Británie) s měřicí geometrií deska-deska (průměr 40mm, štěrbina 1mm). Vzorek byl nanesen mezi statickou a oscilující desku rotačního viskozimetru, po stranách potřen silikonovým olejem proti odparu vlhkosti a měřen při  $20,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$  a frekvenci v rozmezí 0,1-50,0 Hz. (Měření probíhalo v oblasti lineární viskoelasticity vzorků.) Tavené sýry byly měřeny až po 14-ti dnech skladování při  $6 \pm 2^\circ\text{C}$ . Výsledkem byly naměřené hodnoty elastického a ztrátového modulu pružnosti, ze kterých byly následně vypočítány hodnoty tangenty úhlu fázového posunu pro referenční frekvenci 1Hz a hodnoty komplexního modulu pružnosti. [4][33][48][58]

## 4.5 Statistická analýza

Ke statistické analýze naměřených dat byly použity programy Unistat Version 5.5 a StatK25. Výsledky byly hodnoceny pomocí parametrických (t-test) a neparametrických testů (Wilcoxonův a Kruskal Wallisův test). Hladina statistické významnosti ( $\alpha$ ) byla v tomto případě 5 %. [58]

## 5 VÝSLEDKY

Celkem byly prováděny dva experimenty. V prvním experimentu byly vyrobeny vzorky obsahující jednotlivé fosforečnany u nichž nejprve nebyla provedena žádná úprava pH a následně bylo pH korigováno na optimální hodnotu pro tavené sýry. V experimentu číslo dva probíhalo tavení vzorků se směsí dvou různých fosforečnanů a to bez úpravy i s úpravou pH. Jak v experimentu 1, tak v experimentu 2 byly vzorky vyráběny ve dvou variantách a to bez pektinu a s přídatkem 0,4 % w/w pektinu.

### 5.1 Chemická analýza modelových tavených sýrů

Každý ze vzorků byl postupně podroben chemické analýze, která se sestávala ze zjišťování obsahu sušiny, popela a tuku (viz *Tabulka 2*). Tyto hodnoty by se měly pohybovat v určitém rozmezí, a proto bylo nutné je sledovat. Přílišné výkyvy by mohly mít negativní vliv na viskoelastické vlastnosti, jejichž stanovení bylo cílem této práce.

*Tabulka 2 – Výsledky chemické analýzy prováděné u modelových vzorků obsahujících jak jednotlivé fosforečnany, tak jejich směsi*

Skupina modelových vzorků	Sušina (% w/w)	Popel (% w/w)	Tuk (% w/w)
1	41,87 - 42,99	5,1 - 5,3	21,5 - 22,0
2	42,10 - 42,85	4,7 - 5,1	21,0 - 22,0
3	41,90 - 42,98	4,7 - 5,2	21,0 - 22,5
4	41,82 - 42,61	4,8 - 5,1	21,0 - 21,5
5	42,00 - 43,45	4,7 - 5,0	21,0 - 22,0
6	42,06 - 43,67	4,7 - 5,1	22,0 - 22,5
7	42,07 - 43,88	4,9 - 5,2	22,0 - 23,0
8	42,03 - 43,07	5,0 - 5,2	21,0 - 22,0
9	42,38 - 42,99	5,0 - 5,1	21,5 - 22,5

Z tabulky je možno vidět, že hodnoty se v rámci dané skupiny příliš nelišily, což byl základ pro další úspěšné měření.

## 5.2 Experiment 1

V prvním experimentu byly vyrobeny vzorky s jednotlivými fosforečnany jako tavicími solemi a to nejprve bez jakékoliv změny pH a následně bylo u těchto vzorků upraveno pH do optima pro tavené sýry. Vzorky byly následně podrobeny měření pH a viskoelastických vlastností.

### 5.2.1 Modelové tavené sýry s jednotlivými fosforečnany bez úpravy pH

Před samotným měřením pH vzorků skupiny 1 a 2 bylo provedeno i stanovení pH 3% vodných roztoků tavicích solí. Toto pH bylo u většiny roztoků vyšší, než pH naměřené u vzorků, což může být způsobeno vlivem ostatních složek taveného sýra.

Výsledky uvedené v *Tabulka 3* ukazují, že nejvyšší pH (7,01 – 6,93) bylo naměřeno u vzorků obsahujících monofosforečnan  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ . Naopak nejnižší pH (4,67 – 4,94) vykazoval vzorek s dihydrogendifosforečnanem sodným ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ). Hodnoty pH blízké se optimu pro tavené sýry byly naměřeny u vzorků připravených s přidavkem polyfosforečnanu sodného (5,56 – 5,79).

Vzorky obsahující pektin nejsou v tabulce uvedeny, protože u nich byla jen minimální změna v hodnotách pH.

*Tabulka 3 – Naměřené hodnoty pH pro modelové tavené sýry ze skupin 1 a 2*

		Skupina modelových vzorků	
		1	2
Tavicí sůl	pH roztoku (3% w/w)	pH	pH
$\text{Na}_3\text{PO}_4$	$12,27 \pm 0,01$	$7,01 \pm 0,01$	$6,93 \pm 0,03$
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	$8,82 \pm 0,01$	$6,32 \pm 0,01$	$6,64 \pm 0,02$
$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	$9,68 \pm 0,01$	$6,70 \pm 0,01$	$6,84 \pm 0,02$
$\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$	$4,54 \pm 0,01$	$4,94 \pm 0,01$	$4,67 \pm 0,02$
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	$9,26 \pm 0,01$	$6,55 \pm 0,01$	$6,74 \pm 0,01$
polyfosforečnan sodný	$5,97 \pm 0,01$	$5,56 \pm 0,01$	$5,79 \pm 0,02$

Hodnoty pH jsou v tabulce vždy vyjádřeny jako aritmetický průměr  $\pm$  standardní odchylka.

Modelové tavené sýry skupiny 1 a 2 byly podrobeny taktéž reologické analýze, která poskytla informace o texturních vlastnostech těchto vzorků. K charakterizaci vzorků



(s pektinem i bez něj) byl použit jak elastický ( $G'$ ) tak ztrátový ( $G''$ ) modul pružnosti a také tangens úhlu fázového posunu ( $\tan \delta$ ), což je znázorněno v *Tabulka 4*. Výsledky byly znázorněny i graficky a to pomocí závislosti komplexního modulu pružnosti ( $G^*$ ) na frekvenci ( $f$ ) – Obrázek 8.

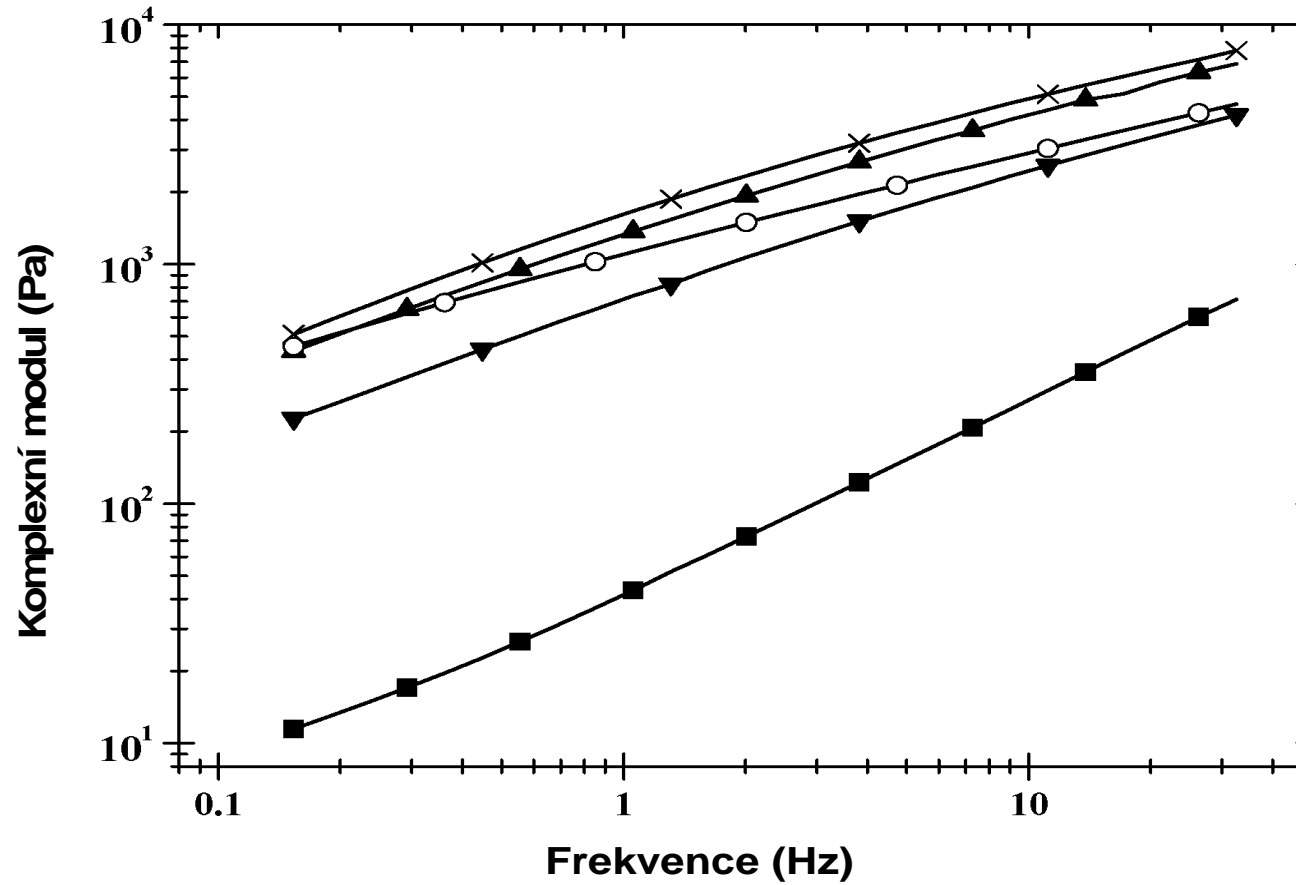
Jak je patrné z *Tabulka 4*, různé typy fosforečnanů měly odlišný dopad na reologické chování modelových tavených sýrů. Pokud šlo o vzorek s přídavkem dihydrogendifosforečnanu sodného ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ), reologická analýza nemohla být provedena z důvodu rozpadavé konzistence a uvolňování tukové a vodní fáze z výrobku. Porovnáme-li vzorky bez přídavku pektinu, zjistíme, že nejnižší hodnoty modulů pružnosti byly naměřeny u vzorků obsahujících monofosforečnany (jak  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ , tak i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). Dimitreli a Thomareis [54] udávají, že čím je vyšší hodnota  $\tan \delta$ , nebo-li když je  $G'' > G'$ , tím tekutější bude výsledný vzorek. U tavených sýrů s monofosforečnany jsou tyto hodnoty poměrně vysoké, z čehož lze odvodit, že tavené sýry měly až příliš řídkou konzistenci, než aby byly v budoucnu použitelné pro komerční účely. Pokud se jedná o použití difosforečnanu jako tavicí soli, byly zjištěny hodnoty obou modulů i tangenty vyšší než u monofosforečnanů. Nejvyšší hodnoty pak byly naměřeny u modelových vzorků obsahujících trifosforečnany. Jako poslední byly měřeny vzorky s polyfosforečnanem sodným a bylo zjištěno, že vzorky byly tužší než monofosforečnany a difosforečnany a naopak řidší než trifosforečnany. Přidání pektinu do taveného sýra mělo za následek zvýšení modulů pružnosti a tím pádem i ztužení výrobků. Druh použitého fosforečnanu nehrál v tomto případě roli a ke zvýšení tuhosti došlo u všech vzorků.

Pro určení celkové tuhosti vzorku byl sestaven graf závislosti celkového modulu pružnosti ( $G^*$ ) na frekvenci ( $f$ ) – Obrázek 8. Tento graf potvrzuje co bylo uvedeno již v tabulkách, a to, že tuhost modelových vzorků rostla v následující pořadí:  $\text{Na}_3\text{PO}_4 < \text{Na}_2\text{HPO}_4 < \text{polyfosforečnan sodný} < \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 < \text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ .

Tabulka 4 – Hodnoty elastického ( $G'$ ) a ztrátového ( $G''$ ) modulu pružnosti a hodnoty tangentu úhlu fázového posunu ( $\tan \delta$ ) pro referenční frekvenci 1 Hz pro 1. a 2. skupinu modelových vzorků \*

		Skupina modelových vzorků					
		1			2		
Pektin	Tavicí sůl	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [-]	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [-]
-	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	114 ± 10 <sup>a,A</sup>	257 ± 24 <sup>a,A</sup>	2,250	11 ± 6 <sup>a,A</sup>	42 ± 13 <sup>a,A</sup>	3,792
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	398 ± 27 <sup>b,A</sup>	597 ± 22 <sup>b,A</sup>	1,497	482 ± 32 <sup>b,A</sup>	558 ± 22 <sup>b,A</sup>	1,157
	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	1447 ± 129 <sup>c,A</sup>	1604 ± 95 <sup>c,A</sup>	1,109	955 ± 6 <sup>c,A</sup>	980 ± 13 <sup>c,A</sup>	1,026
	Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	4275 ± 410 <sup>d,A</sup>	3193 ± 319 <sup>d,A</sup>	0,747	1121 ± 8 <sup>d,A</sup>	1232 ± 2 <sup>d,A</sup>	1,099
	polyfosforečnan sodný	3800 ± 352 <sup>d,A</sup>	2094 ± 237 <sup>e,A</sup>	0,551	886 ± 22 <sup>e,A</sup>	695 ± 17 <sup>e,A</sup>	0,784
0,4 % w/w	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	1968 ± 148 <sup>a,B</sup>	1565 ± 94 <sup>a,B</sup>	0,795	689 ± 19 <sup>a,B</sup>	513 ± 5 <sup>a,B</sup>	0,744
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1946 ± 199 <sup>a,B</sup>	1713 ± 121 <sup>a,B</sup>	0,880	2929 ± 11 <sup>b,B</sup>	2000 ± 37 <sup>b,B</sup>	0,683
	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	4604 ± 273 <sup>b,B</sup>	3615 ± 98 <sup>b,B</sup>	0,785	1800 ± 62 <sup>c,B</sup>	1779 ± 65 <sup>c,B</sup>	0,989
	Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	4455 ± 399 <sup>b,A</sup>	2807 ± 204 <sup>c,B</sup>	0,630	1487 ± 121 <sup>d,B</sup>	1236 ± 6 <sup>d,A</sup>	0,831
	polyfosforečnan sodný	6490 ± 682 <sup>c,B</sup>	2708 ± 297 <sup>c,B</sup>	0,417	4960 ± 303 <sup>e,B</sup>	2212 ± 91 <sup>e,B</sup>	0,446

\*  $G'$  - elastický modul pružnosti,  $G''$  - ztrátový modul pružnosti,  $\tan \delta$  - tangenta úhlu fázového posunu ( $\tan \delta = G''/G'$ ) jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± standardní odchylka. Rozdílná malá písmena v horním indexu značí signifikantní rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi hodnotami v rámci jednoho sloupce (samostatně hodnoceny vzorky s pektinem a bez pektinu). Rozdílná velká písmena horním indexu značí signifikantní rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi vzorky určité skupiny obsahujícími stejný fosforečnan lišícími se pouze v přítomnosti pektinu. ND – vzorek nebyl měřen.



Obrázek 8 – Závislost komplexního modulu pružnosti ( $G^*$ ) na frekvenci ( $f$ ) pro modelové vzorky 2. skupiny s obsahem jednotlivých fosforečnanů ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$  ■,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ▼,  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  △,  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  ×, polyfosforečnan sodný ○)

### 5.2.2 Modelové tavené sýry s jednotlivými fosforečnany s úpravou pH

V další části experimentu 1 byly vyrobeny vzorky, u kterých bylo upraveno pH. Provedení korekce pH na hodnotu komerčních vzorků bylo zásadní pro charakterizaci výrobků obsahujících jednotlivé fosforečnany nebo jejich směsi, protože pH je jedním z hlavních faktorů ovlivňujících texturní vlastnosti tavených sýrů. Po úpravě pH bylo možné srovnávat vzorky, aniž by musel být brán v potaz vliv pH a mohl být zkoumán vliv přímo fosforečnanů popř. pektinu na viskoelastické vlastnosti modelových vzorků. Úprava pH byla provedena buď pomocí 1M HCl anebo 1M NaOH. Vzorky byly následně podrobeny měření pH a reologické analýze.

Úpravou pH bylo dosaženo mnohem užšího rozpětí mezi jednotlivými vzorky připravenými s různými fosforečnany. Původní hodnoty, které se pohybovaly ve velmi širokém rozmezí (4,67 - 7,01), byly nahrazeny mnohem přijatelnějšími hodnotami a to v rozpětí 5,55 – 5,62 (viz *Tabulka 5*). Modelové vzorky tak měly pH v optimálním rozmezí, které je charakteristické pro komerční výrobky.

*Tabulka 5 – Hodnoty pH 3. skupiny modelových vzorků obsahujících jednotlivé fosforečnany*

	Skupina modelových vzorků 3
Tavicí sůl	pH
Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	5,62 ± 0,02
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5,57 ± 0,01
Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	5,56 ± 0,03
Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	5,62 ± 0,01
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	5,55 ± 0,03
Polyfosforečnan	5,61 ± 0,02

Hodnoty pH jsou v tabulce vždy vyjádřeny jako aritmetický průměr ± standardní odchylka.

Provedení reologické analýzy (skupiny 3) bylo možné již u všech vzorků. Úpravou pH se totiž zlepšila konzistence modelového vzorků vyrobeného s dihydrogendifosforečnanem

sodným, u kterého již nedocházelo k oddělování fází. Výsledky těchto analýz jsou uvedeny v *Tabulka 6*.

Naměřené hodnoty vypovídají o skutečnosti, že tavené sýry s různými typy fosforečnanů vykazovaly podobné viskoelastické chování jako vzorky, u nichž nebylo upraveno pH. Nejméně tuhé byly monofosforečnany, u difosforečnanů jak elastický, tak ztrátový modul pružnosti stoupaly a trifosforečnany byly podle analýzy nejtužší. Vzorky obsahující polyfosforečnany pak byly tužší než vzorky vyrobené s monofosforečnany avšak zároveň měly tekutější konzistenci než vzorky s trifosforečnany.

Přídavkem pektinu do systému bylo docíleno zvýšení tuhosti všech vzorků. Výsledky také prokázaly, že typ použité tavicí soli nehrál zásadní roli a všechny výrobky proto vykazovaly zvýšenou tuhost.

Tabulka 6 - Hodnoty elastického ( $G'$ ) a ztrátového ( $G''$ ) modulu pružnosti, tangentu úhlu fázového posunu ( $\tan \delta$ ) pro referenční frekvenci 1 Hz pro 3. skupinu modelových vzorků \*

		Skupina modelových vzorků 3			
Pektin	Tavicí sůl	pH	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [ - ]
-	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	5,62 ± 0,02	479 ± 38 <sup>a</sup>	391 ± 6 <sup>a</sup>	0,816
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5,57 ± 0,01	203 ± 60 <sup>b,A</sup>	159 ± 40 <sup>b,A</sup>	0,783
	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	5,56 ± 0,03	657 ± 19 <sup>c,A</sup>	618 ± 10 <sup>c,A</sup>	0,942
	Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	5,62 ± 0,01	657 ± 39 <sup>c,A</sup>	685 ± 32 <sup>d,A</sup>	1,043
	Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	5,55 ± 0,03	1650 ± 163 <sup>d,A</sup>	1097 ± 54 <sup>e,A</sup>	0,665
	polyfosforečnan sodný	5,61 ± 0,02	1435 ± 53 <sup>e,A</sup>	1012 ± 1 <sup>f,A</sup>	0,705
0,4 % w/w	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	5,57 ± 0,01	ND	ND	ND
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5,49 ± 0,01	1818 ± 171 <sup>a,B</sup>	172 ± 16 <sup>a,A</sup>	0,995
	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	5,50 ± 0,01	2971 ± 61 <sup>b,B</sup>	1625 ± 16 <sup>b,B</sup>	0,547
	Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	5,60 ± 0,04	3236 ± 18 <sup>c,B</sup>	1893 ± 11 <sup>c,B</sup>	0,585
	Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	5,49 ± 0,01	3024 ± 35 <sup>b,B</sup>	1656 ± 5 <sup>d,B</sup>	0,548
	polyfosforečnan sodný	5,57 ± 0,02	3399 ± 153 <sup>c,B</sup>	1830 ± 69 <sup>b,B</sup>	0,538

\*  $G'$  - elastický modul pružnosti,  $G''$  - ztrátový modul pružnosti,  $\tan \delta$  - tangenta úhlu fázového posunu ( $\tan \delta = G''/G'$ ). Veličiny jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± standardní odchylka. Rozdílná malá písmena v horním indexu značí signifikantní rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi hodnotami v rámci jednoho sloupce (samostatně hodnoceny vzorky s pektinem a bez pektinu). Rozdílná velká písmena v horním indexu značí signifikantní rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi vzorky určité skupiny obsahujícími stejný fosforečnan lišícími se pouze v přítomnosti pektinu. ND – vzorek nebyl měřen.

## 5.3 Experiment 2

Druhý experiment měl taktéž za úkol sledovat pH a viskoelastické vlastnosti tavených sýrů, avšak tentokrát s použitím dvou různých fosforečnanů ve směsi. Postupně byl měněn poměr fosforečnanů a bylo sledováno, jaký vliv to bude mít na texturní vlastnosti. K těmto experimentům byl zvolen polyfosforečnan ve směsi s monofosforečnanem a dále polyfosforečnan ve směsi s difosforečnanem.

### 5.3.1 Modelové tavené sýry se dvěma fosforečnany bez úpravy pH

Jak je zřejmé z *Tabulka 7*, čím byl větší poměr polyfosforečnanu ve směsi, tím více klesalo pH (jak u monofosforečnanu, tak i u difosforečnanu). Pokud jde o optimální pH, které by měl vzorek vykazovat, můžeme říci, že nejvhodnější poměr byl od 50 % polyfosforečnanu výše u vzorků obsahujících monofosforečnan a 75 % a výše v případě směsi s difosforečnanem.

Pokud se při výrobě tavených sýrů využívá více tavicích solí ve směsi, je těžké určit jaký vliv mají jednotlivé soli na vlastnosti výsledných produktů a jaký je mechanismus jejich působení. [57]

*Tabulka 7 – Hodnoty pH modelových vzorků pro skupiny 4, 5, 7 a 8, které obsahují směs dvou fosforečnanů v různém poměru (bez úpravy pH)*

Poměr fosforečnanů	Skupina modelových vzorků			
	Polyfosforečnan sodný:Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		Polyfosforečnan sodný:Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	
	4	5	7	8
0:100	6,35 ± 0,01	6,56 ± 0,01	6,70 ± 0,01	6,74 ± 0,01
25:75	6,33 ± 0,01	6,49 ± 0,01	6,62 ± 0,01	6,64 ± 0,01
50:50	5,97 ± 0,01	6,05 ± 0,01	6,20 ± 0,01	6,21 ± 0,01
75:25	5,73 ± 0,01	5,79 ± 0,01	5,85 ± 0,01	5,85 ± 0,01
100:0	5,54 ± 0,01	5,55 ± 0,01	5,51 ± 0,01	5,54 ± 0,01

Hodnoty pH jsou v tabulce vždy vyjádřeny jako aritmetický průměr ± standardní odchylka.

Provedená reologická analýza skupin 4, 5, 7 a 8 obsahujících směs dvou fosforečnanů v různém poměru (polyfosforečnan sodný:Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> a polyfosforečnan sodný:Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) je znázorněna v *Tabulka 8* a v *Tabulka 9*.

Z naměřených hodnot vyplývá, že elastický i ztrátový modul pružnosti stoupaly s rostoucím poměrem polyfosforečnanu ve směsi a zároveň tangenta úhlu fázového posunu klesala. Při určité koncentraci polyfosforečnanu ve směsi však moduly začaly klesat a  $\tan \delta$  stoupat.

V případě směsí dvou fosforečnanů použitých jako tavicí soli byly taktéž vyrobeny vzorky obsahující 0,4 % w/w pektinu. U všech vzorků, bez ohledu na poměru fosforečnanů, došlo ke zvýšení obou modulů pružnosti, z čehož vyplývá, že vzorky měly tužší konzistenci.

Na ukázkou byl sestaven graf závislosti komplexního modulu pružnosti na frekvenci pro modelové tavené sýry skupiny 7 – Obrázek 9. Graf A znázorňuje tavené sýry bez přídavku pektinu a graf B je sestaven pro vzorky s přidaným pektinem. Z grafu je možné vidět to, co již bylo popsáno dříve, že s přibývajícím množstvím polyfosforečnanu ve směsi tuhost nejprve rostla a poté se začala postupně snižovat.



Tabulka 8 - Hodnoty elastického ( $G'$ ) a ztrátového ( $G''$ ) modulu pružnosti a hodnoty tangentu úhlu fázového posunu ( $\tan \delta$ ) pro referenční frekvenci 1 Hz pro 4. a 5. skupinu modelových vzorků obsahujících směs dvou tavicích solí (polyfosforečnan sodný:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) v různém poměru \*

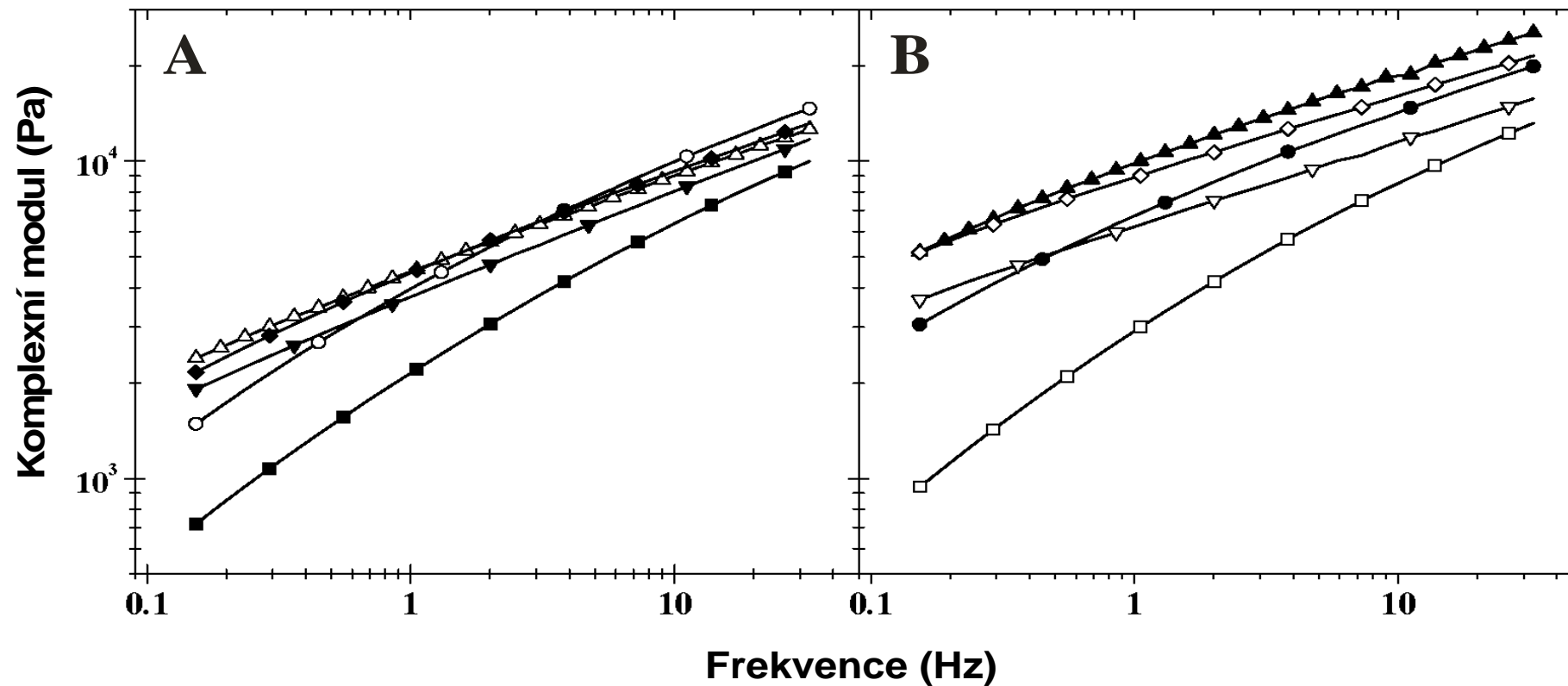
		Skupina modelových vzorků					
		4			5		
Pektin	Poměr fosforečnanů	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [ - ]	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [ - ]
-	0:100	$302 \pm 62$ <sup>a,A</sup>	$404 \pm 34$ <sup>a,A</sup>	1,339	$623 \pm 24$ <sup>a,A</sup>	$735 \pm 26$ <sup>a,A</sup>	1,180
	25:75	$2888 \pm 316$ <sup>b,A</sup>	$2065 \pm 117$ <sup>b,A</sup>	0,715	$4006 \pm 102$ <sup>b,A</sup>	$2622 \pm 57$ <sup>b,A</sup>	0,655
	50:50	$2185 \pm 55$ <sup>c,A</sup>	$1484 \pm 14$ <sup>c,A</sup>	0,679	$2987 \pm 104$ <sup>c,A</sup>	$2040 \pm 21$ <sup>c,A</sup>	0,683
	75:25	$1544 \pm 105$ <sup>d,A</sup>	$1093 \pm 71$ <sup>d,A</sup>	0,708	$3751 \pm 190$ <sup>d,A</sup>	$2114 \pm 120$ <sup>c,A</sup>	0,564
	100:0	$860 \pm 14$ <sup>e,A</sup>	$716 \pm 21$ <sup>e,A</sup>	0,832	$1936 \pm 106$ <sup>e,A</sup>	$1228 \pm 17$ <sup>d,A</sup>	0,634
0,4 % w/w	0:100	$1913 \pm 86$ <sup>a,B</sup>	$1589 \pm 45$ <sup>a,B</sup>	0,831	$4055 \pm 308$ <sup>a,B</sup>	$2360 \pm 157$ <sup>a,B</sup>	0,582
	25:75	$4759 \pm 91$ <sup>b,B</sup>	$2544 \pm 57$ <sup>b,B</sup>	0,535	$7195 \pm 370$ <sup>b,B</sup>	$3541 \pm 103$ <sup>b,B</sup>	0,492
	50:50	$4488 \pm 410$ <sup>b,B</sup>	$2353 \pm 192$ <sup>b,c,B</sup>	0,524	$6007 \pm 37$ <sup>c,B</sup>	$2943 \pm 23$ <sup>c,B</sup>	0,490
	75:25	$4021 \pm 190$ <sup>c,B</sup>	$2197 \pm 35$ <sup>c,B</sup>	0,546	$5602 \pm 217$ <sup>d,B</sup>	$2616 \pm 22$ <sup>d,B</sup>	0,467
	100:0	$3052 \pm 212$ <sup>d,B</sup>	$1752 \pm 64$ <sup>d,B</sup>	0,574	$5280 \pm 216$ <sup>e,B</sup>	$2428 \pm 189$ <sup>a,d,B</sup>	0,460

\*  $G'$  - elastický modul pružnosti,  $G''$  - ztrátový modul pružnosti,  $\tan \delta$  - tangenta úhlu fázového posunu ( $\tan \delta = G''/G'$ ) jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr  $\pm$  standardní odchylka. Rozdílná malá písmena v horním indexu značí signifikantní rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi hodnotami v rámci jednoho sloupce (samostatně hodnoceny vzorky s pektinem a bez pektinu). Rozdílná velká písmena horním indexu značí signifikantní rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi vzorky určité skupiny obsahujícími stejný poměr fosforečnanů ve směsi lišícími se pouze v přítomnosti pektinu.

Tabulka 9 - Hodnoty elastického ( $G'$ ) a ztrátového ( $G''$ ) modulu pružnosti a hodnoty tangentu úhlu fázového posunu ( $\tan \delta$ ) pro referenční frekvenci 1 Hz pro 7. a 8. skupinu modelových vzorků obsahujících směs dvou tavicích solí (polyfosforečnan sodný:  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) v různém poměru \*

		Skupina modelových vzorků					
		7			8		
Pektin	Poměr fosforečnanů	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [ - ]	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [ - ]
-	0:100	1553 ± 54 <sup>a,A</sup>	1571 ± 19 <sup>a,A</sup>	1,011	1671 ± 138 <sup>a,A</sup>	1585 ± 94 <sup>a,A</sup>	0,949
	25:75	3153 ± 69 <sup>b,A</sup>	2563 ± 89 <sup>b,A</sup>	0,813	2794 ± 106 <sup>b,A</sup>	2194 ± 61 <sup>b,A</sup>	0,785
	50:50	4061 ± 218 <sup>c,A</sup>	2084 ± 56 <sup>c,A</sup>	0,513	2993 ± 71 <sup>c,A</sup>	1906 ± 5 <sup>c,A</sup>	0,637
	75:25	3932 ± 291 <sup>c,A</sup>	2254 ± 132 <sup>d,A</sup>	0,573	3269 ± 51 <sup>d,A</sup>	2000 ± 25 <sup>d,A</sup>	0,612
	100:0	3302 ± 158 <sup>b,A</sup>	1889 ± 90 <sup>e,A</sup>	0,572	2275 ± 298 <sup>e,A</sup>	1441 ± 171 <sup>a,A</sup>	0,633
0,4 % w/w	0:100	2049 ± 169 <sup>a,B</sup>	2195 ± 114 <sup>a,B</sup>	1,071	1904 ± 25 <sup>a,B</sup>	1929 ± 20 <sup>a,B</sup>	1,013
	25:75	5810 ± 252 <sup>b,B</sup>	3645 ± 167 <sup>b,B</sup>	0,627	5218 ± 7 <sup>b,B</sup>	3150 ± 64 <sup>b,B</sup>	0,604
	50:50	8924 ± 141 <sup>c,B</sup>	4555 ± 146 <sup>c,B</sup>	0,510	5067 ± 313 <sup>b,B</sup>	2982 ± 165 <sup>b,B</sup>	0,589
	75:25	8296 ± 336 <sup>d,B</sup>	3535 ± 132 <sup>b,B</sup>	0,462	5449 ± 367 <sup>b,B</sup>	2681 ± 143 <sup>c,B</sup>	0,492
	100:0	5797 ± 72 <sup>b,B</sup>	2505 ± 52 <sup>d,B</sup>	0,432	7521 ± 509 <sup>c,B</sup>	3218 ± 288 <sup>b,B</sup>	0,428

\*  $G'$  - elastický modul pružnosti,  $G''$  - ztrátový modul pružnosti,  $\tan \delta$  - tangenta úhlu fázového posunu ( $\tan \delta = G''/G'$ ) jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± standardní odchylka. Rozdílná malá písmena v horním indexu značí signifikantní rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi hodnotami v rámci jednoho sloupce (samostatně hodnoceny vzorky s pektinem a bez pektinu). Rozdílná velká písmena horním indexu značí signifikantní rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi vzorky určité skupiny obsahujícími stejný poměr fosforečnanů ve směsi lišícími se pouze v přítomnosti pektinu.



Obrázek 9 – Závislost komplexního modulu pružnosti ( $G^*$ ) na frekvenci ( $f$ ) pro 7. skupinu modelových vzorků obsahujících směs dvou fosforečnanů (polyfosforečnan sodný: $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  a polyfosforečnan sodný: $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) v různém poměru. Vzorky A jsou bez přídavku pektinu, vzorky B s přídavkem pektinu. (0:100 ■ □, 25:75 ○ ●, 50:50 △ ▲, 75:25 ◆ ◇, 100:0 ▼ ▽)

### 5.3.2 Modelové tavené sýry se dvěma fosforečnany s úpravou pH

Po úpravě pH se hodnoty u 6. skupiny tavených sýrů vyrobených s přidavkem polyfosforečnanu sodného a  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  pohybovaly v rozmezí 5,69 – 5,80 a u 9. skupiny, kde byl použit polyfosforečnan sodný a  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , mezi hodnotami 5,28 – 5,78.

*Tabulka 10 – Hodnoty pH modelových vzorků pro skupiny 6 a 9, které obsahují směs dvou fosforečnanů v různém poměru (s úpravou pH buď HCl nebo NaOH)*

Poměr fosforečnanů	Skupina modelových vzorků	
	polyfosforečnan sodný: $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	polyfosforečnan sodný: $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$
	6	9
0:100	5,78 ± 0,01	5,78 ± 0,01
25:75	5,69 ± 0,01	5,72 ± 0,01
50:50	5,80 ± 0,01	5,49 ± 0,02
75:25	5,79 ± 0,01	5,28 ± 0,01
100:0	5,74 ± 0,01	5,43 ± 0,01

Hodnoty pH jsou v tabulce vždy vyjádřeny jako aritmetický průměr ± standardní odchylka.

Reologická analýza 6. a 9. skupiny poukázala na fakt, že ani po úpravě pH nedošlo k zásadním změnám. Hodnoty elastického i ztrátového modulu pružnosti stoupaly až do určité hranice, která byla většinou při 50 % polyfosforečnanu ve směsi a poté začaly klesat. U hodnot tangenty úhlu fázového posunu tomu bylo naopak (nejdříve klesaly a potom rostly).

Pektin se projevil jako zesíťující činidlo i v tomto případě. Jeho přidavkem byla zvýšena tuhost všech vzorků, na což poukazuje i *Tabulka 11*. Oproti vzorkům, ke kterým pektin přidán nebyl, došlo k poměrně velkému vzrůstu obou modulů pružnosti. Pektin se projevil jako činidlo zvyšující tuhost u všech vzorků bez rozdílu.

Tabulka 11 - Hodnoty elastického ( $G'$ ) a ztrátového ( $G''$ ) modulu pružnosti, tangentu úhlu fázového posunu ( $\tan \delta$ ) pro referenční frekvenci 1 Hz pro 6. a 9. skupinu modelových vzorků obsahujících dvě tavicí soli v různém poměru \*

		Skupina modelových vzorků					
		6			9		
Pektin	Poměr fosforečnanů	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [ - ]	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [ - ]
-	0:100	$61 \pm 3$ <sup>a,A</sup>	$116 \pm 10$ <sup>a,A</sup>	1,900	$766 \pm 43$ <sup>a,A</sup>	$722 \pm 19$ <sup>a,A</sup>	0,942
	25:75	$1560 \pm 127$ <sup>b,A</sup>	$1105 \pm 86$ <sup>b,A</sup>	0,708	$2236 \pm 121$ <sup>b,A</sup>	$1227 \pm 6$ <sup>b,A</sup>	0,549
	50:50	$2228 \pm 47$ <sup>c,A</sup>	$1507 \pm 23$ <sup>c,A</sup>	0,677	$2326 \pm 5$ <sup>b,A</sup>	$1335 \pm 19$ <sup>c,A</sup>	0,574
	75:25	$1394 \pm 7$ <sup>d,A</sup>	$981 \pm 6$ <sup>d,A</sup>	0,704	$1849 \pm 106$ <sup>c,A</sup>	$1123 \pm 48$ <sup>d,A</sup>	0,607
	100:0	$809 \pm 2$ <sup>e,A</sup>	$671 \pm 9$ <sup>e,A</sup>	0,829	$1010 \pm 29$ <sup>d,A</sup>	$803 \pm 24$ <sup>e,A</sup>	0,795
0,4 % w/w	0:100	$2041 \pm 50$ <sup>a,B</sup>	$1414 \pm 33$ <sup>a,B</sup>	0,693	$3072 \pm 103$ <sup>a,B</sup>	$1741 \pm 45$ <sup>a,B</sup>	0,567
	25:75	$4887 \pm 440$ <sup>b,B</sup>	$2299 \pm 240$ <sup>b,B</sup>	0,470	$3553 \pm 52$ <sup>b,B</sup>	$1940 \pm 27$ <sup>b,B</sup>	0,546
	50:50	$3274 \pm 27$ <sup>c,B</sup>	$1785 \pm 65$ <sup>c,B</sup>	0,545	$3868 \pm 127$ <sup>c,B</sup>	$2068 \pm 76$ <sup>c,B</sup>	0,535
	75:25	$2795 \pm 307$ <sup>d,B</sup>	$1600 \pm 117$ <sup>d,B</sup>	0,572	$4532 \pm 281$ <sup>d,B</sup>	$2283 \pm 79$ <sup>d,B</sup>	0,504
	100:0	$1729 \pm 42$ <sup>e,B</sup>	$1171 \pm 37$ <sup>e,B</sup>	0,677	$2939 \pm 170$ <sup>a,B</sup>	$1702 \pm 73$ <sup>a,B</sup>	0,579

\*  $G'$  - elastický modul pružnosti,  $G''$  - ztrátový modul pružnosti,  $\tan \delta$  - tangenta úhlu fázového posunu ( $\tan \delta = G''/G'$ ). Veličiny jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr  $\pm$  standardní odchylka. Rozdílná malá písmena v horním indexu značí signifikantní rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi hodnotami v rámci jednoho sloupce (samostatně hodnoceny vzorky s pektinem a bez pektinu). Rozdílná velká písmena horním indexu značí signifikantní rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi stejnými vzorky vyrobenými se stejným poměrem fosforečnanů ve směsi lišícími se pouze v přítomnosti pektinu.

## 6 DISKUZE

V prvním experimentu byly naměřeny odlišné hodnoty pH u vzorků obsahujících různé typy fosforečnanů. Podle Lu, Shirashoje a Luceye [7] zvyšuje přidavek tavicích solí pH sýra. Přírodní sýr má pH v rozmezí 5,0 – 5,5, narozdíl od sýra taveného, u kterého je pH zvýšeno na hodnoty 5,6 – 5,9. Toto pH je vhodné u tavených sýrů dodržovat, protože jakékoliv jeho výkyvy by mohly vést ke změně viskoelastických vlastností, jak uvádí Guinee, Carić a Kaláb [5], což by mohlo být nežádoucí. Jak je možné pozorovat z *Tabulka 3*, nejvyšší pH (7,01 – 6,93) bylo naměřeno u vzorků obsahujících fosforečnan sodný ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ). Marchesseau a kol. [56] uvádí, že vykazují-li vzorky příliš vysoké hodnoty pH, dochází ke snížení elektrostatických interakcí (roste záporný náboj proteinů) a tím k jejich odpuzování. Výsledkem je tavený sýr s příliš měkkou konzistencí. Naopak nejnižší pH (4,67 – 4,94) vykazoval vzorek s dihydrogendifosforečnanem sodným ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ). Takovýto tavený sýr je pak obvykle drobnivý, protože v něm dochází k interakcím mezi proteiny (pH se blíží isoelektrickému bodu kaseinů) a nakonec může nastat až jejich agregace – viz reologická analýza modelových vzorků. [5][56] Pokud se zaměříme na optimální pH taveného sýra, k tomu se nejvíce blížil vzorek připravený s přidavkem polyfosforečnanu sodného. Hodnoty pH se pohybovaly v rozmezí 5,56 – 5,79.

Dále lze z výsledků prvního experimentu usuzovat, že čím více fosforečnanových skupin obsahuje tavicí sůl, tím tužší výrobek dostaneme. Toto pravidlo však platí jen do určité míry. Vzorky připravené s polyfosforečnanem vykazovaly nižší tuhost (v rámci sledování malých deformací dynamickou oscilační reometrií) než vzorky s trifosforečnanem. Dalším možným vysvětlením tohoto chování by mohla být různá schopnost fosforečnanů vázat vápenaté kationty. Podle Foxe a kol. [59] mají nejvyšší schopnost odštěpení  $\text{Ca}^{2+}$  polyfosforečnanem. Vápenaté ionty se tudíž mohou hůře uplatňovat při zesílení matrice a vzniká produkt s měkčí konzistencí. [60]

Druhý experiment ukazuje, že změny v tuhosti vzorků mohou být připisovány různým chováním jednotlivých fosforečnanů. V prvním případě byla použita směs polyfosforečnanu spolu s monofosforečnanem. Monofosforečnan jako takový tvoří slabé komplexy s vápníkem a má také slabou schopnost dispergovat kasein. S rostoucím pH však vzniká více komplexů kalcium fosfátu, roste disperze kaseinu a roste tak i tuhost výrobku, jak tvrdí Lu a kol. [7]. Z měření vzorků vyplývá, že hodnoty pH sice stoupaly se stoupajícím poměrem monofosforečnanu ve směsi, avšak počáteční růst tuhosti vzorků byl následován

jeho poklesem, což teorii Lu a kol. [7] nepotvrzuje. Pokud jde o polyfosforečnany, ty se už v průběhu tavení a následně i při skladování postupně hydrolyzují na štěpné produkty jako jsou difosforečnany, trifosforečnany aj. Snižováním počtu monomerů v lineárním řetězci dojde k postupnému uvolňování vápenatých iontů z tavicích solí a jejich následné zapojení se do zesílení proteinové matrice. Důsledkem těchto procesů je pak krémování výrobků. Vápenaté ionty však nejsou jediným prvkem v procesu krémování. Předpokládá se, že i hydrolyzou vzniklé nižší polyfosfáty se zapojují do interakcí s proteinovou maticí a tím dochází k jejímu zesílení. (Carić a Kaláb [1], Schär a Bosset [55]) Tímto si lze vysvětlit počáteční růst tuhosti, když se ve směsi tavicích solí objevil polyfosforečnan. Jestliže se však množství polyfosforečnanu postupně zvyšovalo, rostlo i množství polyfosforečnanem vázaného vápníku, který již neměl možnost se zúčastnit tvorby vápníkových můstků zesilujících matici sýra. Tím pádem výrobky ztrácely svou tuhost a byly měkčí. [5]

Difosforečnan přidáný v druhém případě se samostatně jako tavicí sůl většinou nepoužívá, protože by jinak vznikly příliš tuhé výrobky. Tuhost je v tomto případě způsobena poměrně velkou schopností difosforečnanu vázat na sebe vápenaté ionty, které jinak tvoří můstky v kaseinových částicích. Difosforečnan tedy působí jako zesilující činidlo mezi dispergovanými kaseiny tím, že tvoří komplex s kaseinem a vápníkem. [7] Pokud ve směsi převládá, výrobky měly tužší konzistenci, která s přibývajícím polyfosforečnanem postupně klesala.

Porovnáme-li výsledky získané analýzou vzorků bez úpravy pH a vzorků, u kterých bylo pH upravenou na přibližně stejnou hodnotu, dojdeme k závěru, že pH není jediným faktorem ovlivňujícím viskoelastické vlastnosti tavených sýrů. Konzistenci tavených sýrů ovlivňují faktory podmiňující intenzitu emulgace tuku a hydrataci proteinů a to včetně množství a struktury tavicích solí. Závisí na druhu tavicí soli (v našem případě na typu fosforečnanu), pH jejího roztoku, schopnosti disperze kaseinu, afinitě vápenatých iontů k fosforečnanům, pufrovací schopnosti tavicí soli, hydrolyze polyfosforečnanů, na poměru fosforečnanů ve směsi aj. Je však nutné zmínit, že všechny tyto faktory nepůsobí v tavených sýrech odděleně avšak současně a navíc se vzájemně ovlivňují. Z tohoto důvodu je velmi těžké zcela pochopit všechny interakce a souvislosti, ke kterým v tavených sýrech dochází a které faktory jsou hlavními příčinami výsledné konzistence. [1][5][7][58]

Jak již bylo zmíněno dříve, LMP tvoří trojrozměrnou síť, která se skládá z různých pektinových řetězců spojených vápníkovými můstky. Jedním z omezení při tvorbě gelu nízkoes-

terifikovaného pektinu je hodnota pH, která by měla být v tomto případě v rozmezí 2,5 – 7,0. Vyrobené vzorky měly víceméně ve všech případech pH v rámci tohoto rozmezí, což se projevilo tvorbou gelu a zvýšenou tuhostí všech výrobků. V systému taveného sýra může docházet k interakcím pektinu s kaseinovými frakcemi (resp. jejich hydrolyzáty), což je mimo jiné také ovlivněno hodnotami pH. Vzhledem k tomu, že hodnoty pH byly v širším rozmezí, mohlo dojít jak k odpudivým, tak k přitažlivým interakcím. Analýzy provedené v této práci však nemohou určit povahu vazeb v daném systému. K takové studii by bylo zapotřebí sofistikovaných technik, jako jsou pokročilé metody spektroskopie, nukleární magnetická rezonance (NMR) apod. [36] Dalším faktorem ovlivňujícím tvorbu gelu LMP je přítomnost a především množství vápníku. Čím větší koncentrace vápenatých iontů se nachází v prostředí, tím roste i tuhost gelu. Ve všech případech byl použit přírodní sýr jako výchozí surovina, který je přirozeným zdrojem vápníku. Jednotlivé fosforečnany mají odlišnou schopnost oddělovat vápenaté ionty zesilující matrici sýra, čímž mohou ovlivnit i množství vápenatých iontů využitelných pro tvorbu můstků mezi pektinovými řetězci. Z výsledků provedených analýz však bylo zjištěno, že typ fosforečnanu ani pH výrobku (ve sledovaném rozmezí) nezmění efekt přidavku pektinu, tj. ve všech případech došlo ke zvýšení tuhosti vzorků (v důsledku přidavku pektinu). [21][41]



## ZÁVĚR

Smyslem této práce bylo shrnout teoretické poznatky z oblasti tavených sýrů a také se zabývat interakcemi mezi pektinem a kaseinem. Použitím různých typů tavicích solí (v našem případě různých fosforečnanů) a poté taky směsí těchto fosforečnanů, bylo možné sledovat vliv těchto látek na konzistenci tavených sýrů.

Z obou experimentů prováděných v rámci této diplomové práce lze vyvodit následující závěry:

- každý fosforečnan má odlišný vliv na pH taveného sýra (všechny fosforečnany pH zvýšily, kromě dihydrogendifosforečnanu sodného),
- použití různých typů fosforečnanů má za následek odlišné viskoelastické vlastnosti tavených sýrů (téměř tekuté chování vykazovaly vzorky obsahující monofosforečnan, optimální texturní vlastnosti vykazovaly di- a polyfosforečnany a naopak nejtuzší byly vzorky s trifosforečnanem),
- s rostoucím poměrem monofosforečnanu popř. difosforečnanu (ve směsi spolu s polyfosforečnanem) rostly hodnoty pH a do určité míry rostla i tuhost a elasticita výrobků, při překročení hranice 50 % polyfosforečnanu ve směsi došlo k poklesu tuhosti. Změnou poměru jednotlivých fosforečnanů je možné regulovat pH vzorků.
- úprava pH snížila původně široké rozpětí hodnot avšak přímý vliv tohoto faktoru na trendy viskoelastických vlastností tavených sýrů nebyl prokázán (při srovnání jednotlivých typů tavicích solí, popř. některých binárních směsí),
- u všech vzorků obsahujících 0,4 % w/w pektinu došlo ke zvýšení tuhosti bez výjimky.

Tato práce byla velmi zajímavá a přínosná nejen z hlediska ucelení teoretických poznatků, ale především může mít dopad na praktické využití jejich výsledků. Obzvláště v dnešní době, kdy konzumenti požadují široké spektrum výrobků lišící se v tuhosti, mohou být výsledky této diplomové práce přínosné především pro výrobce tavených sýrů. Každá tavicí sůl má odlišný dopad na viskoelastické vlastnosti, což potvrzuje tato práce, avšak stále ještě nejsou objasněny všechny mechanismy probíhající uvnitř matrice taveného sýra. Z tohoto důvodu je vhodné v podobných experimentech pokračovat.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] CARÍĆ, M., KALÁB, M., *Processed cheese products*. In Fox, P.F. (ed) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 2. Major Cheese Groups, 2. ed. Elsevier Applied Science, London and New York, 1997, 467-505.
- [2] Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, v platném znění.
- [3] KAPOOR, R., METZGER, L.E. Processed cheese: Scientific and Technological Aspects – A Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2008, vol. 7, no. 2, p. 194-214.
- [4] FRANCIS, F.J. *Encyclopedia of food science and technology*, 2. ed. New York: John W.S., 2000
- [5] GUINEE, T.P., CARÍĆ, M., KALÁB, M. Pasteurized Processed Cheese and Substitute/Imitation Cheese Products. *In: Cheese Chemistry, Physics and Microbiology – Volume 2: Major Cheese Groups*, 3. ed. New York and London: Elsevier Applied Science. 2004. 349–394.
- [6] AWAD, R.A., ABDEL-HAMID, L.B., EL-SHABRAWY, S.A., SINGH, R.K. Texture and Microstructure of Block Type Processed Cheese with Formulated Emulsifying Salt Mixtures. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 2002, vol. 35, no. 1, p. 54-61.
- [7] LU, Y., SHIRASHOJI, N., LUCEY, J.A. Effect of pH on the Textural Properties and Meltability of Pasteurized Processed Cheese Made with Different Types of Emulsifying Salts. *Journal of Food Science*, 2008, vol. 73, no. 8, p. 363-369.
- [8] BRANEN, A.L., DAVISON, P.M., SALMINEN, S., THORNGATE, J.H. *Food additives*. 2. ed. Marcel Dekker: New York, 2002. ISBN: 0-8247-9343-9.
- [9] MAIER, S.K., SCHERER, S., LOESSNER, M.J. Long-chain polyphosphate causes cell lysis and inhibits *Bacillus cereus* septum formation, which is dependent on divalent cations. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999, vol. 65, p. 3942–3949.

- [10] AKHTAR, S., PAREDES-SABJA, D., SARKER, M.R. Inhibitory effects of polyphosphates on *Clostridium perfringens* growth, sporulation and spore outgrowth. *Food Microbiology*, 2008, vol. 25, p. 802-808.
- [11] JEN, C.M.C., SHELEF, L.A. Factors affecting sensitivity of *Staphylococcus aureus* 196E to polyphosphates. *Appl. Environ. Microbiol.* 1986, vol. 52, p. 842–846.
- [12] ZAIKA, L.L., KIM, A.H. Effect of sodium polyphosphates on growth of *Listeria monocytogenes*. *J. Food Protect.* 1993, vol. 56, p. 577–580.
- [13] Dostupné na: <http://www.milkfacts.info/Structures/casein.JPG>
- [14] RANKEN, M.D., KILL, R.C., BAKER, C.G.J. Food industries manual. 24. ed. *Blackie Academic and Professional*: London, 1997, ISBN 0 7514 0404 7
- [15] TAMINE, A.Y. Structure of dairy products, *Blackwell Publishing Ltd*: Oxford, 2007, ISBN-13: 978-1-4051-2975-6
- [16] VORAGEN, A.G.J., COENEN, G.J., VERHOEF, R.P., SCHOLS, H.A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls, *Struct Chem*, 2009, vol. 20, p. 263-275.
- [17] NOVOSEL´SKAYA, I.L., VOROPAEVA, N.L., SEMENOVA, L.N., RASHIDOVA, S.Sh. Trends in the science and applications of pectins, *Chemistry of Natural Compounds*, 2000, vol.36, p. 1-10.
- [18] OVODOV, Yu.S. Current Views on Pectin Substances, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2009, vol. 35, p. 269-284.
- [19] HILL, S.E., LEDWARD, D.A., MITCHELL, J.R. Functional properties of food macromolecules, 2. ed. *Aspen publishers*, 1998, ISBN: 0-7514-0421-7
- [20] LÖFGREN, C., HERMANSSON, A.M. Synergistic behaviour of mixed HM/LM pectin gels, *Food Hydrocolloids*, 2007, vol. 21, p. 480-486.
- [21] MACKŮ, I., BUŇKA, F., PAVLÍNEK, V., LECIÁNOVÁ, P., HRABĚ, J. The effect of pectin concentration on viscoelastic and sensory properties of processed cheese, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2008, vol. 43, p. 1663-1670.

- [22] EL-NAWAWI, S.A., HEIKAL, Y.A. Factors affecting the production of low-esterpectin gels, *Carbohydrate Polymers*, 1995, vol. 26, p. 189-193.
- [23] FU, J-T., RAO, M.A. Rheology and structure development during gelation of low-methoxyl pectin gels: the effect of sucrose, *Food Hydrocolloids*, 2001, vol. 15, p. 93-100.
- [24] GROSSO, C.R.F., RAO, M.A. Dynamic rheology of structure development in low-methoxyl pectin+Ca<sup>2+</sup>+sugar gels, *Food Hydrocolloids*, 1998, vol. 12, p. 357-363.
- [25] Dostupné na: <http://www.monografias.com/trabajos12/alginato/Image1722.gif>
- [26] GRANT, G.T., MORRIS, E.R., REES, D.A., SMITH, P.J.C., THOM, D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model, *FEBS Letters*, 1973, vol. 32, no.1, p.195-198.
- [27] FU, J.T., RAO, M.A. The influence of sucrose and sorbitol on gel-sol transition of low-methoxyl pectin + Ca<sup>2+</sup> gels. *Food Hydrocolloids*, 1999, vol. 13, no. 5, p.371-380.
- [28] HUI, Y.H. Handbook of science, technology and engineering, 3. ed., *Boca Raton: CRC Press*, 2006, ISBN-10:1-57444—552-9.
- [29] BRACCINI, I., PEREZ, S. Molecular Basis of Ca<sup>2+</sup> -Induced Gelation in Alginates and Pectins: The Egg-Box Model Revisited, *Biomacromolecules*, 2001, vol. 2, no. 4, p. 1089-1096.
- [30] THO, I., SANDE, S.A., KLEINEBUDDE, P. Cross-linking of amidated low-methoxylated pectin with calcium during extrusion/spheronisation: Effect on particle size and shape, *Chemical Engineering Science*, 2005, vol. 60, p. 3899-3907.
- [31] MAY, C.D. Pectins, In: *Handbook of hydrocolloids*. Eds. Phillips, G.O., Williams, P.A. Woodhead Publishing Limited and CRC Press: Boca Raton, 2000. p. 169-188. ISBN 0-8493-0850-X.
- [32] JOYE, D.D., LUZIO, G.A. Process for selective extraction of pectins from plant material by differential pH, *Carbohydrate Polymers*, 2000, vol. 43, p. 337-342.

- [33] VOLDÁNOVÁ, B. *Vliv přídavku pektinů a vybraných monosacharidů na vybrané charakteristiky tavených sýrů*. Zlín, 2008. 53 s. bakalářská práce. UTB ve Zlíně. Fakulta technologická,
- [34] DAMODARAN, S., PARAF, A. *Food proteins and their applications*, Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997, ISBN 0-8247-9820-1.
- [35] KRUIF, C.G., TUINIER, R. Polysaccharide protein interactions, *Food Hydrocolloids*, 2001, vol. 15, p. 555-563.
- [36] DOUBLIER, J.L., GARNIER, C., RENARD, D., SANCHEZ, C. Protein-polysaccharide interactions, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2000, vol. 5, p. 202-214.
- [37] DICKINSON, E. Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions, *Trends in Food Science & Technology*, 1998, vol. 9, p. 347-354.
- [38] GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství II*. 1.vyd. Brno: MZLU, 2000. 142s.
- [39] GAJDŮŠEK, S. *Laktologie*. 1.vyd. Brno: MZLU, 2003. 84s.
- [40] MATIA-MERINO, L., SINGH, H. Acid-induced gelation of milk protein concentrates with added pectin: Effect of casein micelle dissociation, *Food Hydrocolloids*, 2007, vol. 21, p. 765-775.
- [41] MAROZIENE, A., de KRUIF, C.G. Interaction of pectin and casein micelles, *Food Hydrocolloids*, 2000, vol. 14, p. 391-394.
- [42] SYRBE, A., BAUER, W.J., KLOSTERMEYER, H. Polymer Science Concepts in Dairy Systems – An Overview of Milk Protein and Food Hydrocolloid Interaction, *Int. Dairy J.*, 1998, vol. 8, no. 3, p. 179-193.
- [43] TUINIER, R., ROLIN, C., de KRUIF, C.G. Electrosorption of Pectin onto Casein Micelles, *Biomacromolecules*, 2002, vol. 3, p. 632-638.
- [44] MATIA-MERINO, L., LAU, K., DICKINSON, E. Effects of low-methoxyl pectin and ionic calcium on rheology and microstructure of acid-induced sodium caseinate gels, *Food Hydrocolloids*, 2004, vol. 18, p. 271-281.

- [45] ISO Standard No. 3433:2008, Cheese – Determination of fat content – van Gulik method. International Organization for Standardization Geneva
- [46] ČSN EN ISO 5534, Sýry a tavené sýry – Stanovení obsahu celkové sušiny (Referenční metoda), český normalizovaný institut, 2005, 12 s.
- [47] ČERNÁ, E., MERGL, M. Kontrolní metody v mlékařství. Praha: STN, 1971
- [48] GUNASEKARAN, S., MEHMET AK, M. Dynamic oscillatory shear testing of foods – selected applications, *Trends in Food Science & Technology*, 2000, vol. 11, p. 115-127.
- [49] EVAGELIOU, V., RICHARDSON, R.K., MORRIS, E.R. Effect of pH, sugar type and thermal annealing on high-methoxy gels, *Carbohydrate Polymers*, 2000, vol. 42, p. 245-259.
- [50] TSOGA, A., RICHARDSON, R.K., MORRIS, E.R. Role of cosolutes in gelation of high-methoxy pectin. Part 1. Comparison of sugars and polyols, *Food Hydrocolloids*, 2004, vol. 18, p. 907-919.
- [51] NISHINARI, K., WATASE, M., WILLIAMS, P.A., PHILLIPS, G.O. k-Carrageenan gels: effect of sucrose, glucose, urea, and guanidine hydrochloride on the rheological and thermal properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1990, vol. 38, p. 1188-1193.
- [52] THO, I., SANDE, S.A., KLEINEBUDDE, P. Cross-linking of amidated low-methoxylated pectin with calcium during extrusion/spheronisation: Effect on particle size and shape, *Chemical Engineering Science*, 2005, vol. 60, p. 3899-3907.
- [53] HARTE, F.M., MONTES, C., ADAMS, M., SAN MARTIN-GONZALES, M.F. Solubilized Micellar Calcium Induced Low Methoxyl-Pectin Aggregation During Milk Acidification, *Journal of Dairy Science*, 2007, vol. 90, no. 6, p. 2705-2709.
- [54] DIMITRELI, G., THOMAREIS, A.S. Effect of chemical composition on the linear viscoelastic properties of spreadable-type processed cheese, *Journal of Food Engineering*, 2008, vol. 84, p. 368-374.

- [55] SCHÄR, W., BOSSET, J.O. Chemical and Physicochemical Changes in Processed Cheese and Ready-made Fondue during Storage. A Review. *LTW-Food Science and Technology*, 2002, vol. 35, no. 1, p. 15-20.
- [56] MARCHESSEAU, S., GASTALDI, E., LAGAUDE, A., CUQ, J.L. Influence of pH on Protein Interactions and Microstructure of Processed Cheese, *Journal of Dairy Science*, 2007, vol. 80, no. 8, p. 1483-1489.
- [57] MIZUNO, R., LUCEY, J.A. Effect of Emulsifying Salts on the Turbidity and Calcium-Phosphate-Protein Interactions in Casein Micelles, *Journal of Dairy Science*, 2005, vol. 88, no. 9, p. 3070-3078.
- [58] MACKŮ, I. *Viskoelastické a senzorické vlastnosti tavených sýrů s přidavkem pektinu*, Zlín, 2009. 108 s. Disertační práce. UTB Zlín.
- [59] FOX, P.F., GUINEE, T.P., COGAN, T.M., Mc SWEENEY, P.L.H. *Fundamentals of cheese Science*, Maryland: Aspen Publishers, 2000, p. 429-451, ISBN 0-8342-1260-9.
- [60] BANKS, J.M. *The Technology of Dairy Products*. London : Blackie Academic & Professional, 1998. Cheese, s. 81-121. ISBN 075140344X.

## SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

HMP Vysokoesterifikovaný pektin

LMP Nízkoesterifikovaný pektin

KM Kaseinová micela



## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – chemická reakce při výrobě tavených sýrů [1] .....	14
Obrázek 2 – kaseinová micela [13].....	15
Obrázek 3 – základní struktura pektinu [17] .....	19
Obrázek 4 – Schematické znázornění tvorby gelu LMP (tzv. egg-box model) [25] .....	23
Obrázek 5 – Rozsah využití neamidovaného pektinu [31] .....	25
Obrázek 6 – Hlavní způsoby chování protein-polysacharidových směsí [42].....	28
Obrázek 7 – Ukázky interakcí kaseinové micely s LMP při snižujícím se pH [53] .....	31
Obrázek 8 – Závislost komplexního modulu pružnosti ( $G^*$ ) na frekvenci ( $f$ ) pro modelové vzorky 2. skupiny s obsahem jednotlivých fosforečnanů ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ■, $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ▼, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ △, $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ×, polyfosforečnan ○).....	43
Obrázek 9 – Závislost komplexního modulu pružnosti ( $G^*$ ) na frekvenci ( $f$ ) pro 7. skupinu modelových vzorků obsahujících směs dvou fosforečnanů (polyfosforečnan: $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ a polyfosforečnan: $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) v různém poměru. Vzorky A jsou bez přídavku pektinu, vzorky B s přídavkem pektinu. (0:100 ■ □, 25:75 ○ ●, 50:50 △ ▲, 75:25 ◆ ◇, 100:0 ▼ ▽).....	51

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tabulka 1 – Složení směsí tavicích solí používaných pro výrobu tavených sýrů.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabulka 2 – Výsledky chemické analýzy prováděné u modelových vzorků obsahujících jak jednotlivé fosforečnany, tak jejich směsi.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabulka 3 – Naměřené hodnoty pH pro modelové tavené sýry ze skupin 1 a 2.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabulka 4 – Hodnoty elastického (<math>G'</math>) a ztrátového (<math>G''</math>) modulu pružnosti a hodnoty tangentu úhlu fázového posunu (<math>\tan \delta</math>) pro referenční frekvenci 1 Hz pro 1. a 2. skupinu modelových vzorků *.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabulka 5 – Hodnoty pH 3. skupiny modelových vzorků obsahujících jednotlivé fosforečnany .....</i>	<i>44</i>
<i>Tabulka 6 - Hodnoty elastického (<math>G'</math>) a ztrátového (<math>G''</math>) modulu pružnosti, tangentu úhlu fázového posunu (<math>\tan \delta</math>) pro referenční frekvenci 1 Hz pro 3. skupinu modelových vzorků * .....</i>	<i>46</i>
<i>Tabulka 7 – Hodnoty pH modelových vzorků pro skupiny 4, 5, 7 a 8, které obsahují směs dvou fosforečnanů v různém poměru (bez úpravy pH).....</i>	<i>47</i>
<i>Tabulka 8 - Hodnoty elastického (<math>G'</math>) a ztrátového (<math>G''</math>) modulu pružnosti a hodnoty tangentu úhlu fázového posunu (<math>\tan \delta</math>) pro referenční frekvenci 1 Hz pro 4. a 5. skupinu modelových vzorků obsahujících směs dvou tavicích solí (polyfosforečnan sodný: <math>\text{Na}_2\text{HPO}_4</math>) v různém poměru *.....</i>	<i>49</i>
<i>Tabulka 9 - Hodnoty elastického (<math>G'</math>) a ztrátového (<math>G''</math>) modulu pružnosti a hodnoty tangentu úhlu fázového posunu (<math>\tan \delta</math>) pro referenční frekvenci 1 Hz pro 7. a 8. skupinu modelových vzorků obsahujících směs dvou tavicích solí (polyfosforečnan sodný: <math>\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7</math>) v různém poměru *.....</i>	<i>50</i>
<i>Tabulka 10 – Hodnoty pH modelových vzorků pro skupiny 6 a 9, které obsahují směs dvou fosforečnanů v různém poměru (s úpravou pH buď HCl nebo NaOH).....</i>	<i>52</i>
<i>Tabulka 11 - Hodnoty elastického (<math>G'</math>) a ztrátového (<math>G''</math>) modulu pružnosti, tangentu úhlu fázového posunu (<math>\tan \delta</math>) pro referenční frekvenci 1 Hz pro 6. a 9. skupinu modelových vzorků obsahujících dvě tavicí soli v různém poměru *.....</i>	<i>53</i>

## SEZNAM PŘÍLOH

- P I Článek - Effect of addition of selected solid cosolutes on viscoelastic properties of model processed cheese containing pectin
- P II Článek – The effect of selected phosphate emulsifying salts on viscoelastic properties of processed cheese

# PŘÍLOHA P I: Effect of addition of selected solid cosolutes on viscoelastic properties of model processed cheese containing pectin

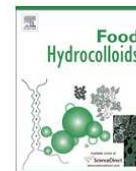
Food Hydrocolloids 23 (2009) 2078–2084



Contents lists available at ScienceDirect

Food Hydrocolloids

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/foodhyd](http://www.elsevier.com/locate/foodhyd)



## Effect of addition of selected solid cosolutes on viscoelastic properties of model processed cheese containing pectin

Ivana Macků<sup>a</sup>, František Buňka<sup>a,\*</sup>, Barbora Voldánová<sup>a</sup>, Vladimír Pavlínek<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Department of Food Engineering, Tomas Bata University in Zlín, nám. T. G. Masaryka 275, Zlín 762 72, Czech Republic

<sup>b</sup> Polymer Centre, Tomas Bata University in Zlín, nám. T.G. Masaryka 275, Zlín 762 72, Czech Republic

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 22 November 2008

Accepted 27 March 2009

#### Keywords:

Processed cheese

Pectin

Glucose

Galactose

Fructose

Lactose

Saccharose

### ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of various selected solid low-molecular cosolutes (D-glucose, D-fructose, D-galactose, lactose, saccharose; target concentrations in samples 1% w/w) on viscoelastic properties of model processed cheese (40% w/w dry matter and 50% w/w fat in dry matter) without and with pectin addition (target concentrations in final products: 0.2% w/w and 0.4% w/w, respectively). Dynamic oscillation rheometry with parallel plate geometry was used to evaluate the changes in viscoelastic properties of samples. All applied low-molecular cosolutes (1% w/w) decreased the firmness of processed cheese. The nature of cosolute was not significant, i.e. the firmness of final products was declined by various cosolutes to the similar level regardless of their (i) reducing or non-reducing ability; (ii) structure (mono- or disaccharide, aldose or ketose); or (iii) steric arrangement (comparison of two epimers – D-glucose and D-galactose). The reduction of sample rigidity due to cosolute addition was observed in both cases, i.e. in processed cheese without and also with pectin.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Processed cheese is a dairy product manufactured by adding suitable emulsifying salts (e.g. sodium salts of phosphates, polyphosphates and citrates) to natural cheese in the presence of heat and constant agitation. Other optional dairy (butter, skim milk powder, whey powder, coprecipitates, casein, caseinates, rework – processed cheese that is reused as a blend ingredient in later batches of processed cheese product, etc.) and non-dairy ingredients (water, vegetables and spices, meats, flavourings, colourings, salt, hydrocolloids, preservatives, etc.) can be added into the mixture. Some of the dairy and non-dairy ingredients could contain various polysaccharides, disaccharides (especially lactose or saccharose) and monosaccharides (e.g. glucose, galactose, etc.) (Guinee, Carić, & Kaláb, 2004; Lee, Anema, & Klostermeyer, 2004).

The processed cheese matrix is created by a continuous protein network in which fat and serum phase are dispersed (Udyarajan, Horne, & Lucey, 2007). The consistency of processed cheese, the important attribute for quality and consumer acceptability, is a function of its (i) composition; (ii) structural arrangements of present components (i.e. microstructure); (iii) the physicochemical state of its constituents and (iv) its macrostructure, which reflects

possible heterogeneities such as cracks, fissures, etc. (O'Callaghan & Guinee, 2004). Hence, the consistency of processed cheese can be affected by many factors such as maturity of natural cheese (i.e. the degree of proteolysis), pH of cheese melt, type and concentration of emulsifying salts, processing and storage conditions (processing temperature, speed of agitation, duration of heating, rate of cooling, temperature of storage), dry matter content, fat content, presence and concentration of ions (especially calcium, sodium and potassium), type and concentration of lactose or other sugars, using of emulsifiers (e.g. monoacylglycerides), etc. (Bowland & Foegeding, 2001; Buňka et al., 2007; Dimitreli & Thomareis, 2007; Guinee et al., 2004; Lee et al., 2004; Lu, Shirashoji, & Lucey, 2007; Marchesseau, Gastaldi, Lagauze, & Cuq, 1997; Piska & Štětina, 2004; Shirashoji, Jaeggi, & Lucey, 2006). Hydrocolloid incorporation can also cause changes in product structure and texture (Bennett et al., 2006; Černíková et al., 2008; Gustaw & Mleko, 2007; Lu et al., 2007). These hydrocolloids (so called stabilizing, gelling or thickening agents) can improve texture and consistency of food by water binding, gel creation or viscosity enhancing. Commercially important hydrocolloids which can be used in dairy industry are e.g. carrageenan, locust bean gum, xanthan, modified starches or pectin (Bennett et al., 2006; Gustaw & Mleko, 2007; Syrbe, Bauer, & Klostermeyer, 1998; Williams & Phillips, 2000).

Pectin is a predominantly linear polysaccharide whose backbone is created by  $\alpha$ -D-galacturonic acid occasionally interrupted by rhamnose. The carboxyl group of galacturonic acid units can be

\* Corresponding author. Tel.: +420 576 031 528; fax: +420 577 210 172.  
E-mail address: bunka@ft.utb.cz (F. Buňka).

esterified by methanol; the proportion of carboxyl groups of  $\alpha$ -D-galacturonic acid in the form of methyl esters is called the degree of esterification (DE). According to this parameter, pectins are divided into low-methoxyl pectins (LMP; DE < 50%) and high-methoxyl pectins (HMP; DE > 50%) (Fu & Rao, 1999; Lootens et al., 2003; Norziah, Kong, Karim, & Seow, 2001; Tsoga, Richardson, & Morris, 2004a). Degree of esterification can strongly influence the gelling mechanism of pectin (Sato, Kawabuchi, Irimoto, & Miyawaki, 2004). LMP gels are created in the presence of calcium ions (bridging agents) and in the wide range of pH (2.5–7.0), whereas HMP forms stable gels under acidic conditions (pH  $\leq$  3.5) and in the presence of high sugar content (usually > 55%) (Fu & Rao, 1999; Löfgren & Hermansson, 2007; Norziah et al., 2001; Tsoga et al., 2004a). HMP usually stabilizes more acidic products such as e.g. yoghurts, acidic milk beverages and milk/juice blends. On the other hand, LMP can serve as gelling or thickening agent in acidic or less acidic products (e.g. milk desserts) (Leroux, Langendorff, Schick, Vaishnav, & Mazoyer, 2003; Williams & Phillips, 2000).

Saccharides can be present in processed cheese as a component of some ingredients used in the processed cheese manufacture, e.g. native or modified forms of starches (glucose), whey powder and skim milk powder (lactose and its constituent monomers) or can be included in various flavourings agents (Guinee et al., 2004). These saccharides can influence the rheological properties of processed cheese. The presence of saccharides could also affect gelation of LMP (Fu & Rao, 1999; Grosso & Rao, 1998). While the influence of various low-molecular saccharides on the gelation of HMP has been widely studied by many authors (Evageliou, Richardson, & Morris, 2000; Sato et al., 2004; Tsoga et al., 2004a; Tsoga, Richardson, & Morris, 2004b), the data about the effect of various cosolutes presence on LMP gelation in milk products (e.g. processed cheese) and, therefore, on the processed cheese consistency have not been published yet.

The objective of this research was to investigate the influence of low-molecular saccharides (1% w/w of D-glucose, D-fructose, D-galactose, lactose or saccharose) on viscoelastic properties of model processed cheese spreads (with 40% w/w dry matter and 50% w/w fat in dry matter) without and with pectin addition (0.2% w/w or 0.4% w/w). The effect of various low-molecular cosolutes on the functionality of pectin in processed cheese was examined. This study is especially focused on the comparison of the effect of (i) reducing and non-reducing saccharides; (ii) aldose and ketose; (iii) monosaccharide and disaccharide and (iv) two epimers (D-glucose and D-galactose) on the viscoelastic parameters of processed cheese with or without pectin.

## 2. Material and methods

### 2.1. Sample preparation

The model processed cheese with 40% w/w dry matter and 50% w/w fat in dry matter was manufactured using following ingredients: (i) Edam block cheese (8–10 weeks old; its chemical composition is presented in Table 1); (ii) deionised water

**Table 1**  
Chemical composition of natural cheese used for the production of model processed cheeses (in Groups I–IV).

Processed cheese group	Chemical characterization of Edam cheese			
	Dry matter (% w/w)	Fat (% w/w)	Crude protein (% w/w)	pH
I	51.14 $\pm$ 0.22	18.1 $\pm$ 0.5	29.6 $\pm$ 0.5	5.80 $\pm$ 0.02
II	51.09 $\pm$ 0.39	17.0 $\pm$ 0.3	30.3 $\pm$ 0.1	5.91 $\pm$ 0.01
III	51.65 $\pm$ 0.35	14.5 $\pm$ 0.1	33.8 $\pm$ 0.3	5.59 $\pm$ 0.02
IV	49.22 $\pm$ 0.18	15.8 $\pm$ 0.4	34.7 $\pm$ 0.1	5.72 $\pm$ 0.01

(for keeping constant level of ions); (iii) butter (84% w/w dry matter and fat content 82% w/w); (iv) commercial emulsifying salts (sodium salts of phosphates and polyphosphates; JOHA, Benckiser-Knapsack, Ladenburg, Germany); (v) non-esterified pectin (powder form; Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, USA; >90% w/w dry matter and >74% w/w of galacturonic acid) and (vi) solid cosolutes (D-glucose – Glc, D-fructose – Fru, D-galactose – Gal, lactose – Lac, saccharose – Sac). Lactose monohydrate and saccharose were purchased from Lach-Ner (Neratovice, Czech Republic), D-galactose from Fisher Scientific (Pardubice, Czech Republic), D-fructose and D-glucose monohydrate from PENTA (Chrudim, Czech Republic).

In the first stage of this work, two groups of model processed cheeses (Groups I and II) with addition of 1% w/w of monosaccharide (D-glucose, D-fructose or D-galactose) and pectin (0.2% w/w or 0.4% w/w) were prepared. Both groups contain control sample (without any cosolute and pectin). Each group from the first stage (Groups I and II) included 12 batches described in Table 2.

The second part of this study was focused on the comparison of reducing and non-reducing disaccharide. Moreover, D-galactose was again used for comparison purpose. Two groups of model processed cheeses (Groups III and IV) with addition of 1% w/w of saccharide (saccharose, lactose or D-galactose) and pectin (0.2% w/w or 0.4% w/w) were prepared. Also, both groups contain control sample (without any cosolute and pectin). Each group from the second part (Groups III and IV) included 12 batches described in Table 2.

The model processed cheese with 40% w/w dry matter and 50% w/w fat in dry matter was prepared using a 2-L capacity Vorwerk Thermomix TM 31 blender cooker (Vorwerk & Co. Thermomix; GmbH, Wuppertal, Germany). The formulation of various processed cheese batches was always appropriately changed (by means of water or butter amount used) to keep constant dry matter content and fat in dry matter content in all batches (Table 2). Pectin, when used, was at first hydrated in the part of deionised water at 60 °C for 10 min under constant agitation in the cooker. Selected monosaccharides or disaccharides (the target concentration in final products was always 1% w/w) were dissolved in the part of the total amount of deionised water using magnetic stirrer MR 1000 (Heidolph Instruments, Schwabach, Germany) and were added to the pectin into the cooker. Edam block cheese and butter were cut into small pieces (2  $\times$  2  $\times$  2 cm) and put into the cooker and minced for 1 min. Mixture of emulsifying salts (2% w/w) and remaining part of deionised water were added into the blend. The mixture was heated up to 90 °C at a constant agitation and kept for 1 min at this temperature. Finally, samples were poured into 100 g polystyrene doses with sealable lids, cooled and stored in a refrigerator at 6  $\pm$  2 °C. The processing parameters were selected to simulate conditions in dairy industry (Piska & Štětina, 2004). The total amount of one batch was approximately 600–700 g.

### 2.2. Chemical analysis

Each batch of used Edam cheese was analyzed for pH, dry matter, fat and protein content and model processed cheese spreads were characterized by pH, dry matter, fat and ash content. Dry matter content was determined by drying at 102  $\pm$  2 °C to a constant weight according to ISO 5534:2004. pH was measured by pH-meter Gryf 208 L (Gryf, Havlíčkův Brod, Czech Republic) with glass electrode THETA 90 HC 113 (Gryf, Havlíčkův Brod, Czech Republic) at 20  $\pm$  2 °C, ash content was analyzed by burning of 1 g of sample in muffle furnace at 550  $\pm$  5 °C for 5 h and fat content was determined by the acidobutyric method of van Gulik (Dimitreli & Thomareis, 2007). Crude protein was assayed by analysis of total nitrogen amount (TN) by Kjeldahl method and calculating crude protein content as TN  $\times$  6.38 (Dimitreli & Thomareis, 2007). The

**Table 2**

Description of analyzed samples and their raw materials (g) in the first and the second stage of work.

Stage of work	Group of samples	Amount of pectin addition	Type and amount of cosolute addition	Raw materials (g) <sup>a</sup>							
				Cheese	Butter	Deionised water	Emulsifying salts	Pectin	Cosolute <sup>b</sup>		
The first	I and II	None	None	330; 330	76; 86	192; 203	12.4; 12.4	0; 0	0; 0		
		None	1% w/w D-galactose	330; 330	84; 94	210; 222	12.4; 12.4	0; 0	6.5; 6.5		
		None	1% w/w D-fructose	330; 330	84; 94	210; 222	12.4; 12.4	0; 0	6.5; 6.5		
		None	1% w/w D-glucose	330; 330	84; 94	209; 221	12.4; 12.4	0; 0	7.1; 7.1		
		0.2% w/w	None	330; 330	78; 87	196; 206	12.4; 12.4	1.3; 1.3	0; 0		
		0.2% w/w	1% w/w D-galactose	330; 330	86; 96	214; 226	12.4; 12.4	1.3; 1.3	6.5; 6.5		
		0.2% w/w	1% w/w D-fructose	330; 330	86; 96	214; 226	12.4; 12.4	1.3; 1.3	6.5; 6.5		
		0.2% w/w	1% w/w D-glucose	330; 330	86; 96	213; 225	12.4; 12.4	1.3; 1.3	7.1; 7.1		
		0.4% w/w	None	330; 330	79; 89	199; 210	12.4; 12.4	2.6; 2.6	0; 0		
		0.4% w/w	1% w/w D-galactose	330; 330	88; 98	218; 231	12.4; 12.4	2.6; 2.6	6.5; 6.5		
		0.4% w/w	1% w/w D-fructose	330; 330	88; 98	218; 231	12.4; 12.4	2.6; 2.6	6.5; 6.5		
		0.4% w/w	1% w/w D-glucose	330; 330	88; 98	217; 230	12.4; 12.4	2.6; 2.6	7.1; 7.1		
		The second	III and IV	None	None	330; 330	108; 88	232; 190	12.4; 12.4	0; 0	0; 0
				None	1% w/w D-galactose	330; 330	116; 96	249; 208	12.4; 12.4	0; 0	6.5; 6.5
None	1% w/w saccharose			330; 330	116; 96	249; 208	12.4; 12.4	0; 0	6.5; 6.5		
None	1% w/w lactose			330; 330	116; 96	248; 207	12.4; 12.4	0; 0	7.0; 7.0		
0.2% w/w	None			330; 330	110; 89	236; 193	12.4; 12.4	1.3; 1.3	0; 0		
0.2% w/w	1% w/w D-galactose			330; 330	118; 98	253; 213	12.4; 12.4	1.3; 1.3	6.5; 6.5		
0.2% w/w	1% w/w saccharose			330; 330	118; 98	253; 213	12.4; 12.4	1.3; 1.3	6.5; 6.5		
0.2% w/w	1% w/w lactose			330; 330	118; 98	252; 212	12.4; 12.4	1.3; 1.3	7.0; 7.0		
0.4% w/w	None			330; 330	111; 91	238; 197	12.4; 12.4	2.6; 2.6	0; 0		
0.4% w/w	1% w/w D-galactose			330; 330	119; 100	256; 217	12.4; 12.4	2.6; 2.6	6.5; 6.5		
0.4% w/w	1% w/w saccharose			330; 330	119; 100	256; 217	12.4; 12.4	2.6; 2.6	6.5; 6.5		
0.4% w/w	1% w/w lactose			330; 330	119; 100	255; 216	12.4; 12.4	2.6; 2.6	7.0; 7.0		

<sup>a</sup> In the first stage, the amount before semicolon (;) belongs to Group I and the amount after semicolon belongs to Group II (I; II). The same rule is in the second stage for Groups III and IV (III; IV).

<sup>b</sup> Monohydrate-forms were taken into account.

chemical analysis of model processed cheese was made after 14 days of storage in a refrigerator at  $6 \pm 2$  °C.

### 2.3. Rheological analysis

Rheological analysis of model processed cheese was made using a controlled stress rheometer Bohlin GEMINI (Malvern Instruments Ltd., UK) with parallel plates geometry (40 mm diameter, 1 mm gap). Small-deformation oscillatory measurements of model processed cheese were performed after 14 days of storage in a refrigerator at  $6 \pm 2$  °C. Frequency sweeps at  $20.0 \pm 0.1$  °C were used to investigate viscoelastic properties of model processed cheese; frequency varied from 0.1 to 50.0 Hz. The storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) moduli were measured in the linear viscoelastic region (the shear stress amplitude of 25 Pa). The loss tangent ( $\tan \delta$ ) and complex modulus ( $G^*$ ) for the reference frequency 1 Hz were calculated according to equations (1) and (2) respectively (Gabriele, Cindio, & D'Antona, 2001; Gunasekaran & Ak, 2000):

$$\tan \delta = G''/G' \quad (1)$$

$$G^*(\omega) = \sqrt{G'(\omega)^2 + G''(\omega)^2} \quad (2)$$

The reference frequency 1 Hz was chosen according to available literature (Bennett et al., 2006; Buňka et al., 2007; Lu et al., 2007; Piska & Štětina, 2004). The viscoelastic properties of processed cheese spreads with pectin and low-molecular cosolutes were also evaluated by means of Winter's critical gel theory (Winter & Chambon, 1986) which was recommended by Gabriele et al. (2001) to food samples. The complex modulus ( $G^*$ ) can be expressed as follows:

$$G^*(\omega) = A_F \omega^{1/z} \quad (3)$$

where ( $A_F$ ) is the gel strength (Pa  $s^{1/z}$ ) and ( $z$ ) is the interaction factor, i.e. the number of structure units interacting with one

another in a three-dimensional network. The higher is the interaction factor, the more interactions occur in sample matrix (Gabriele et al., 2001; Martínez-Ruvalcaba, Chornet, & Rodrigue, 2007).

### 2.4. Statistical analysis

Results obtained from chemical and rheological analysis were statistically evaluated by parametric  $t$ -test using statistical programme Unistat<sup>®</sup> 5.5 (Unistat Ltd., London, UK). Results were evaluated as significantly different if  $P < 0.05$ .

## 3. Results and discussion

Four groups of model processed cheese ( $i = I-IV$ ) were prepared according to the same procedure, but separately in different days and with using of different batches of natural cheese. The different batches of Edam block cheese were chosen to simulate the industrial practice because there are processed Edam cheeses of different degree of maturity and different batches. These factors significantly influence viscoelastic properties of processed cheese (Guinee et al., 2004). Since the initial rigidity of samples was affected by the batch of Edam cheese, all the samples in the specific group were always related to the control sample included in this group.

### 3.1. Chemical analysis

The chemical composition of 4 different groups of model processed cheese is shown in Table 3. The differences in values of dry matter, pH, fat and ash content for samples in the group were not significant within the group. The values of pH ranged from 5.79 to 5.97, which is the optimal pH to obtain suitable structural and sensory properties of processed cheese spreads (Guinee et al., 2004; Lu et al., 2007; Marchesseau et al., 1997). The processed cheese consistency and the functionality of pectin are substantially influenced by parameters such as dry matter content, fat content,

**Table 3**  
Chemical composition of model processed cheese (in Groups I–IV).

Processed cheese group	Dry matter (% w/w)	Fat (% w/w)	Ash (% w/w)	pH
I	41.98–43.38	22.0–23.0	3.8–4.5	5.90–5.96
II	40.52–42.45	22.5–23.0	4.1–4.7	5.88–5.97
III	41.89–43.29	21.5–22.0	3.9–4.5	5.79–5.85
IV	40.93–42.84	21.5–22.0	4.0–4.5	5.79–5.83

ion presence and its concentration and pH of system (Lee et al., 2004; Lootens et al., 2003; Marchesseau et al., 1997; Piska & Štětina, 2004). Hence, very close values of these chemical attributes (in the group) allowed comparison of the influence of pectin and/or low-molecular cosolutes addition on the viscoelastic properties of model processed cheese spreads.

### 3.2. Rheological analysis

Small amplitude oscillatory shear tests, measuring storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) moduli, are very often used for rheological analysis of processed cheese (Bowland & Foegeding, 2001; Gunasekaran & Ak, 2000; Lee et al., 2004; Lu et al., 2007; Marchesseau et al., 1997; Piska & Štětina, 2004).

In the first stage of this study (Groups I and II), the effect of different low-molecular monosaccharides (D-glucose, D-fructose and D-galactose) and pectin on viscoelastic properties of processed cheese was investigated. Table 4 presents the values of storage modulus ( $G'$ ), loss modulus ( $G''$ ) and loss tangent ( $\tan \delta$ ) for the reference frequency 1 Hz in Groups I and II. The addition of pectin (0.2% w/w or 0.4% w/w) caused significant enhancement of storage and loss moduli compared to control sample without pectin ( $P < 0.05$ ). Higher values of moduli indicate the increase in firmness of model processed cheese. Lower values of loss tangent (calculated according to Eq. (1)) due to pectin addition ( $P < 0.05$ ) are referred to the increase of gel elasticity (Černíková et al., 2008; Piska & Štětina, 2004). These results were also confirmed by data obtained from Winter's critical gel theory, where gel strength ( $A_F$ ) and interaction factor ( $z$ ) were calculated from complex modulus ( $G^*$ ) according to Eq. (3) and are presented in Table 5. The findings corresponded with results described above. The higher gel strength in samples with pectin can be explained by more interactions occurring in sample (see values of interaction factor in Table 5), e.g. hydrogen bonds, hydrophobic interactions between caseins or between

caseins and fat, calcium-mediated electrostatic bonds among the caseins (Kapoor & Metzger, 2008).

Further, low-molecular saccharides were added into the processed cheese blends. All applied low-molecular cosolutes caused significant decrease in values of storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) moduli compared with control processed cheese ( $P < 0.05$ ). Loss tangent was also increased by low-molecular saccharide addition (see Table 4); it means that elasticity declines in comparison with samples without low-molecular cosolutes. All three reducing saccharides (D-glucose, D-fructose, D-galactose) reduced both moduli ( $G'$  and  $G''$ ) to the similar level ( $P \geq 0.05$ ) in the majority of cases. The decrease of processed cheese firmness was investigated also by means of Winter's critical gel theory. Gel strength values confirmed the decline of rigidity of model samples (i.e. the decrease of loss and storage moduli) with cosolutes compared with control sample. The reduced values of gel strength can be caused by the drop of number of interactions in the sample matrix. This fact was confirmed by the interaction factor values (see Table 5).

Also the effect of solid cosolute addition on rigidity of processed cheese with pectin, i.e. on functional properties of pectin in processed cheese, was studied. According to Table 4, the values of storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) moduli of model processed cheese with pectin (0.2% w/w and 0.4% w/w respectively) and 1% w/w cosolute were significantly lower compared to those obtained for model processed cheese only with pectin (0.2% w/w and 0.4% w/w respectively). Generally, the samples with cosolute were less rigid than those without it. These findings were also supported by Winter's theory of critical gel (see Table 5).

The rheological results from the first stage of this work are graphically presented in Fig. 1 which shows the dependence of the complex modulus ( $G^*$ ) on frequency for model processed cheese in Group II. The complex modulus ( $G^*$ ) values were calculated according to Eq. (2). Since all applied cosolutes cause similar decrease of sample rigidity compared to control, D-galactose was chosen as their representative for lucidity in Fig. 1. According to this figure, the complex modulus ( $G^*$ ) increased in the whole tested frequency range (0.1–50.0 Hz). This figure also reflects that pectin addition caused the increase of sample firmness and low-molecular saccharide addition led to the drop of sample rigidity compared to sample without cosolute.

The structure and steric arrangement of used monosaccharides were not significant, i.e. the decrease of processed cheese rigidity was always to the similar level due to the addition of monosaccharides used in this study. Aldohexose D-glucose and

**Table 4**  
The values of storage modulus ( $G'$ ), loss modulus ( $G''$ ) and loss tangent ( $\tan \delta$ ) for the reference frequency 1 Hz in tested processed cheese (Groups I and II).

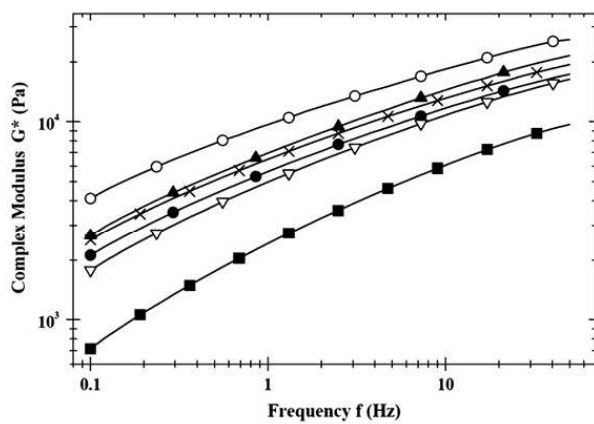
Pectin addition	Cosolute <sup>a</sup>	Group of processed cheese					
		I			II		
		$G'$ (Pa) <sup>b</sup>	$G''$ (Pa) <sup>b</sup>	$\tan \delta$	$G'$ (Pa) <sup>b</sup>	$G''$ (Pa) <sup>b</sup>	$\tan \delta$
None	None	6084 ± 314 <sup>a,d,f</sup>	3723 ± 314 <sup>a</sup>	0.612	4381 ± 470 <sup>a,f</sup>	3071 ± 370 <sup>a,e</sup>	0.701
	Gal	3623 ± 218 <sup>b</sup>	2844 ± 218 <sup>b</sup>	0.785	1854 ± 115 <sup>b</sup>	1577 ± 115 <sup>b</sup>	0.851
	Fru	3491 ± 204 <sup>b</sup>	2674 ± 204 <sup>b</sup>	0.766	1870 ± 74 <sup>b</sup>	1666 ± 74 <sup>b</sup>	0.891
	Glc	3568 ± 451 <sup>b</sup>	2776 ± 351 <sup>b</sup>	0.778	1894 ± 41 <sup>b</sup>	1684 ± 41 <sup>b</sup>	0.889
0.2% w/w	None	8896 ± 453 <sup>c</sup>	4537 ± 253 <sup>a,c</sup>	0.510	6118 ± 318 <sup>c</sup>	3738 ± 218 <sup>a,e</sup>	0.611
	Gal	5812 ± 526 <sup>a,d,f</sup>	3964 ± 326 <sup>a</sup>	0.682	4333 ± 475 <sup>a,f</sup>	3167 ± 375 <sup>a,e</sup>	0.731
	Fru	5955 ± 166 <sup>a</sup>	4115 ± 166 <sup>a</sup>	0.691	4570 ± 156 <sup>a,g</sup>	3281 ± 156 <sup>a</sup>	0.718
	Glc	5864 ± 397 <sup>a,d</sup>	4022 ± 297 <sup>a</sup>	0.686	4344 ± 132 <sup>a</sup>	3154 ± 132 <sup>a</sup>	0.726
0.4% w/w	None	10 353 ± 631 <sup>c</sup>	4969 ± 331 <sup>c</sup>	0.480	8570 ± 354 <sup>d</sup>	4482 ± 234 <sup>c</sup>	0.523
	Gal	6689 ± 258 <sup>d,e</sup>	4341 ± 258 <sup>a,c</sup>	0.649	5428 ± 42 <sup>e</sup>	3637 ± 42 <sup>d,e</sup>	0.670
	Fru	6983 ± 186 <sup>e</sup>	4385 ± 186 <sup>a,c</sup>	0.628	5101 ± 143 <sup>f</sup>	3377 ± 143 <sup>a,d</sup>	0.662
	Glc	6826 ± 211 <sup>a,f</sup>	4348 ± 211 <sup>a,c</sup>	0.637	5354 ± 453 <sup>c,e,f,g</sup>	3651 ± 253 <sup>a,d</sup>	0.682

<sup>a</sup> Gal – D-galactose, Fru – D-fructose, Glc – D-glucose.

<sup>b</sup> Storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) moduli are presented by mean ± standard deviation;  $\tan \delta = G''/G'$ . Mean values having the same superscript letter in each column are not significantly different ( $P \geq 0.05$ ).

**Table 5**The values of gel strength ( $A_F$ ) and interaction factor ( $z$ ) for model processed cheese (Groups I and II).

Pectin addition	Cosolute <sup>a</sup>	Group of processed cheese			
		I		II	
		$A_F$ (Pa s <sup>1/2</sup> ) <sup>b</sup>	$z^b$	$A_F$ (Pa s <sup>1/2</sup> ) <sup>b</sup>	$z^b$
None	None	6740 ± 458 <sup>a</sup>	3.29 ± 0.08 <sup>a,d</sup>	5614 ± 638 <sup>a,h</sup>	3.24 ± 0.17 <sup>a</sup>
	Gal	4560 ± 312 <sup>b</sup>	2.97 ± 0.09 <sup>b</sup>	2466 ± 167 <sup>b</sup>	2.66 ± 0.08 <sup>b</sup>
	Fru	4190 ± 283 <sup>c</sup>	2.93 ± 0.08 <sup>b</sup>	2312 ± 97 <sup>c</sup>	2.67 ± 0.05 <sup>b</sup>
	Glc	4541 ± 574 <sup>b,c</sup>	2.91 ± 0.18 <sup>b</sup>	2410 ± 55 <sup>b</sup>	2.65 ± 0.03 <sup>b</sup>
0.2% w/w	None	10 195 ± 543 <sup>d</sup>	3.57 ± 0.09 <sup>c</sup>	6954 ± 384 <sup>d</sup>	3.24 ± 0.08 <sup>a</sup>
	Gal	6938 ± 599 <sup>a,e</sup>	3.24 ± 0.14 <sup>a</sup>	4218 ± 481 <sup>e</sup>	2.93 ± 0.15 <sup>c</sup>
	Fru	7409 ± 253 <sup>e</sup>	3.36 ± 0.05 <sup>d</sup>	4681 ± 192 <sup>f</sup>	3.08 ± 0.05 <sup>d</sup>
	Glc	7050 ± 498 <sup>a,e</sup>	3.30 ± 0.11 <sup>a,d</sup>	4386 ± 158 <sup>e</sup>	2.91 ± 0.04 <sup>c</sup>
0.4% w/w	None	10 761 ± 687 <sup>d</sup>	3.77 ± 0.11 <sup>e</sup>	8380 ± 391 <sup>g</sup>	3.49 ± 0.07 <sup>e</sup>
	Gal	8516 ± 417 <sup>f</sup>	3.44 ± 0.06 <sup>f</sup>	5554 ± 54 <sup>a</sup>	3.20 ± 0.01 <sup>a</sup>
	Fru	8445 ± 292 <sup>f</sup>	3.48 ± 0.04 <sup>fg</sup>	5293 ± 186 <sup>h</sup>	3.24 ± 0.04 <sup>a</sup>
	Glc	8080 ± 320 <sup>g</sup>	3.51 ± 0.05 <sup>c,g</sup>	5503 ± 424 <sup>a,h</sup>	3.21 ± 0.13 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Gal – D-galactose, Fru – D-fructose, Glc – D-glucose.<sup>b</sup> Gel strength ( $A_F$ ) and interaction factor ( $z$ ) are presented by mean ± standard deviation. Mean values having the same superscript letter in each column are not significantly different ( $P \geq 0.05$ ).**Fig. 1.** Dependence of the complex modulus ( $G^*$ ) on frequency ( $f$ ) for products in Group II; Control sample (●); sample with 0.2% w/w pectin (▲), sample with 0.4% w/w pectin (○), sample with 1% w/w D-galactose (■), sample with 0.2% w/w pectin and 1% w/w D-galactose (▽), sample with 0.4% w/w pectin and 1% w/w D-galactose (×).

ketohexose D-fructose had the same effect on the viscoelastic properties of processed cheese without or with pectin, as well as D-glucose and its C-4 epimer D-galactose caused the similar reduction of sample firmness.

In the second stage, the comparison between the effect of reducing and non-reducing disaccharides on the viscoelastic properties of processed cheese with or without pectin addition was investigated. In Groups III and IV, D-galactose, lactose and saccharose as cosolutes were used. For mutual comparison of the effect of all used cosolutes on sample rigidity, D-galactose was used in the both stages of this work. The changes in rheological properties of samples due to pectin and low-molecular saccharides addition are shown in Tables 6 and 7. These findings confirmed the trends in results obtained for the first part of this work (Groups I and II); i.e. the addition of pectin caused an increase in storage modulus ( $G'$ ) and in most cases increase of viscous modulus ( $G''$ ) ( $P < 0.05$ ). Further, the addition of cosolute caused lower rigidity of processed cheese compared to sample without cosolute ( $P < 0.05$ ). In the case of cosolutes used in the second stage of the work (D-galactose, lactose and saccharose), values of interaction factors ( $z$ ) and gel strength ( $A_F$ ) were changed in the same way as described above for Groups I and II. In most cases low-molecular saccharides, regardless

**Table 6**The values of storage modulus ( $G'$ ), loss modulus ( $G''$ ) and loss tangent ( $\tan \delta$ ) for the reference frequency 1 Hz in tested processed cheese (Groups III and IV).

Pectin addition	Cosolute <sup>a</sup>	Group of processed cheese					
		III			IV		
		$G'$ (Pa) <sup>b</sup>	$G''$ (Pa) <sup>b</sup>	$\tan \delta$	$G'$ (Pa) <sup>b</sup>	$G''$ (Pa) <sup>b</sup>	$\tan \delta$
None	None	3655 ± 163 <sup>a</sup>	2304 ± 126 <sup>a</sup>	0.630	3140 ± 111 <sup>a</sup>	2087 ± 74 <sup>a,d</sup>	0.665
	Gal	2867 ± 80 <sup>b</sup>	1963 ± 41 <sup>b</sup>	0.685	2409 ± 41 <sup>b</sup>	1740 ± 30 <sup>b</sup>	0.722
	Lac	2589 ± 272 <sup>c</sup>	1797 ± 153 <sup>b,c</sup>	0.694	2396 ± 73 <sup>b</sup>	1735 ± 53 <sup>b</sup>	0.724
	Sac	2625 ± 26 <sup>c</sup>	1708 ± 17 <sup>c</sup>	0.651	2349 ± 250 <sup>b</sup>	1648 ± 159 <sup>b</sup>	0.702
0.2% w/w	None	4470 ± 203 <sup>d</sup>	2540 ± 176 <sup>a</sup>	0.568	4214 ± 144 <sup>c</sup>	2542 ± 87 <sup>c</sup>	0.603
	Gal	3894 ± 179 <sup>a</sup>	2359 ± 94 <sup>a</sup>	0.606	3597 ± 333 <sup>a</sup>	2249 ± 208 <sup>a,c,d</sup>	0.625
	Lac	3643 ± 113 <sup>a</sup>	2241 ± 36 <sup>a</sup>	0.615	3377 ± 222 <sup>a</sup>	2067 ± 136 <sup>d</sup>	0.612
	Sac	3774 ± 47 <sup>a</sup>	2226 ± 46 <sup>a</sup>	0.590	3440 ± 288 <sup>a</sup>	2113 ± 177 <sup>d</sup>	0.614
0.4% w/w	None	7753 ± 299 <sup>e</sup>	3727 ± 107 <sup>d</sup>	0.481	6969 ± 120 <sup>d</sup>	3647 ± 63 <sup>e</sup>	0.523
	Gal	6029 ± 195 <sup>f</sup>	3169 ± 109 <sup>e</sup>	0.391	5522 ± 128 <sup>e</sup>	2888 ± 27 <sup>f</sup>	0.523
	Lac	5918 ± 54 <sup>f</sup>	3105 ± 90 <sup>e</sup>	0.379	5918 ± 412 <sup>e</sup>	3105 ± 216 <sup>f</sup>	0.525
	Sac	6128 ± 304 <sup>f</sup>	3177 ± 129 <sup>e</sup>	0.363	5706 ± 274 <sup>e</sup>	2993 ± 144 <sup>f</sup>	0.525

<sup>a</sup> Gal – D-galactose, Lac – lactose, Sac – saccharose.<sup>b</sup> Storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) moduli are presented by mean ± standard deviation;  $\tan \delta = G''/G'$ . Mean values having the same superscript letter in each column are not significantly different ( $P \geq 0.05$ ).



**Table 7**The values of gel strength ( $A_F$ ) and interaction factor ( $z$ ) for model processed cheese (Groups III and IV).

Pectin addition	Cosolute <sup>a</sup>	Group of processed cheese			
		III		IV	
		$A_F$ (Pa s <sup>1/2</sup> ) <sup>b</sup>	$z^b$	$A_F$ (Pa s <sup>1/2</sup> ) <sup>b</sup>	$z^b$
None	None	4236 ± 201 <sup>a</sup>	3.03 ± 0.06 <sup>a</sup>	3695 ± 130 <sup>a</sup>	2.91 ± 0.05 <sup>a,d</sup>
	Gal	3417 ± 68 <sup>b</sup>	2.81 ± 0.03 <sup>b</sup>	2920 ± 49 <sup>b</sup>	2.77 ± 0.02 <sup>b</sup>
	Lac	3078 ± 285 <sup>c</sup>	2.81 ± 0.13 <sup>b,c</sup>	2911 ± 89 <sup>b</sup>	2.76 ± 0.04 <sup>b</sup>
	Sac	3071 ± 29 <sup>c</sup>	2.86 ± 0.01 <sup>c</sup>	2821 ± 285 <sup>b</sup>	2.75 ± 0.14 <sup>b</sup>
0.2% w/w	None	5012 ± 286 <sup>d</sup>	3.23 ± 0.07 <sup>d</sup>	4818 ± 164 <sup>c</sup>	3.07 ± 0.05 <sup>c</sup>
	Gal	4438 ± 190 <sup>a</sup>	3.10 ± 0.07 <sup>e,f</sup>	4154 ± 383 <sup>d</sup>	3.00 ± 0.13 <sup>a,c</sup>
	Lac	4193 ± 99 <sup>e</sup>	3.05 ± 0.05 <sup>a,e</sup>	3883 ± 252 <sup>a,d</sup>	3.04 ± 0.09 <sup>c</sup>
	Sac	4292 ± 70 <sup>e</sup>	3.13 ± 0.02 <sup>f</sup>	3950 ± 328 <sup>a,d</sup>	3.00 ± 0.12 <sup>c,d</sup>
0.4% w/w	None	8425 ± 283 <sup>f</sup>	3.65 ± 0.07 <sup>g</sup>	7686 ± 131 <sup>e</sup>	3.47 ± 0.03 <sup>e</sup>
	Gal	6661 ± 220 <sup>g</sup>	3.45 ± 0.05 <sup>h</sup>	6091 ± 98 <sup>f</sup>	3.45 ± 0.04 <sup>e</sup>
	Lac	6514 ± 124 <sup>g</sup>	3.41 ± 0.01 <sup>i</sup>	6514 ± 453 <sup>g</sup>	3.41 ± 0.11 <sup>e</sup>
	Sac	6744 ± 302 <sup>g</sup>	3.50 ± 0.08 <sup>h</sup>	6304 ± 303 <sup>g</sup>	3.45 ± 0.08 <sup>e</sup>

<sup>a</sup> Gal – D-galactose, Lac – lactose, Sac – saccharose.<sup>b</sup> Gel strength ( $A_F$ ) and interaction factor ( $z$ ) are presented by mean ± standard deviation. Mean values having the same superscript letter in each column are not significantly different ( $P \geq 0.05$ ).

of their reducing ability, decreased processed cheese firmness to the same level ( $P \geq 0.05$ ). For lucidity, Fig. 2, showing the dependence of the complex modulus ( $G^*$ ) on frequency for processed cheese in Groups IV, is presented. All cosolutes reduced firmness of cheese similarly and, hence, lactose was chosen as their representative in Fig. 2.

It seems that the nature of added low-molecular saccharide was not significant. There was no difference in the effect of various solid cosolutes on viscoelastic properties of processed cheese between (i) reducing (D-galactose, lactose) and non-reducing (saccharose) saccharides and (ii) monosaccharide (D-galactose) and disaccharide (lactose, saccharose).

The growth of gel rigidity due to increasing pectin amount was observed by El-Nawawi and Heikal (1995) and Macků, Buňka, Pavlínek, Leciánová, and Hrabě (2008). The effect of a few cosolutes (xylitol, sorbitol, glucose and saccharose) on pectin gelation in model solution containing water, pectin and cosolute was studied (Fu & Rao, 1999; Nilsson, Piculell, & Malmsten, 1990; Tsoga et al., 2004a). They found that the associative interactions between cosolute and polymer can compete with polymer–polymer interactions and, hence, weaken these polymer–polymer interactions

required for gel formation. However, Tsoga et al. (2004a) claimed that the effectiveness of various cosolutes in the creation of HMP gel and its strength was different. According to the above mentioned study, the inhibitory effect on polymer–polymer interactions correlates well with the melting points of low-molecular cosolute and drops in following order: xylitol > sorbitol > glucose > saccharose. However, in our study we found different results probably as a consequence of LMP using instead of HMP and using of real food samples where other interactions (e.g. pectin–casein interaction, cosolute–casein interaction, etc.) must be taken into account. As it was already mentioned above, processed cheese matrix is composed of continuous protein network with dispersed fat and serum phase (Udyarajan et al., 2007). According to Raval and Mistry (1999), the continuous protein matrix can be broken by the finer dispersion of fat and by water. The similar effect could be expected by cosolutes, because they also could disrupt the continuous phase of processed cheese, and thus cause the drop of processed cheese firmness.

#### 4. Conclusion

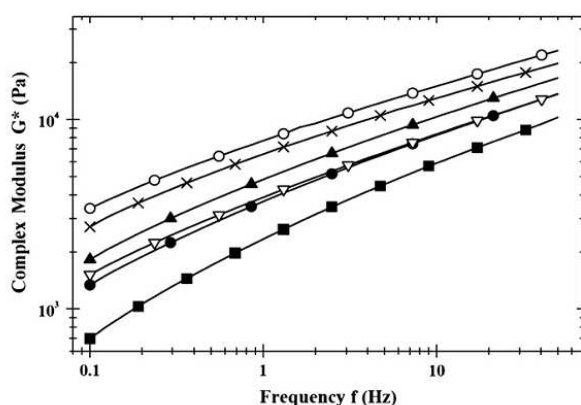
The effect of low-molecular cosolutes (D-glucose, D-fructose, D-galactose, lactose, saccharose) on viscoelastic properties of model processed cheese and their influence on the functionality of pectin in processed cheese were investigated. The higher pectin content was used, the higher rigidity of processed cheese was obtained. The application of low-molecular solid cosolutes caused always decrease of processed cheese firmness to the similar level regardless of their reducing or non-reducing ability, structure or steric arrangement. Reducing saccharide compared with non-reducing saccharide, aldose compared with ketose, mono- compared with disaccharide and two mutual epimers caused always, at the same cosolute concentrations, the similar reduction in processed cheese rigidity.

#### Acknowledgement

This work was supported by a project of Czech Ministry of Education, Youth and Sports (Grant No. MSM 7088352101).

#### References

Bennett, R. J., Trivedi, D., Hemar, Y., Reid, D. C. W., Illingworth, D., & Lee, S. K. (2006). The effect of starch addition on the rheological and microstructural properties of model processed cheese. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 61, 157–159.



**Fig. 2.** Dependence of the complex modulus ( $G^*$ ) on frequency ( $f$ ) for products in Group IV; Control sample (●); sample with 0.2% w/w pectin (▲), sample with 0.4% w/w pectin (○), sample with 1% w/w lactose (■), sample with 0.2% w/w pectin and 1% w/w lactose (▽), sample with 0.4% w/w pectin and 1% w/w lactose (×).

- Bowland, E. L., & Foegeding, E. A. (2001). Small strain oscillatory shear and microstructural analyses of a model processed cheese. *Journal of Dairy Science*, *84*, 2372–2380.
- Buňka, F., Pavlínek, V., Hrabě, J., Rop, O., Janiš, R., & Krejčí, J. (2007). Effect of 1-monoglycerides on viscoelastic properties of processed cheese. *International Journal of Food Properties*, *10*, 819–828.
- Černíková, M., Buňka, F., Pavlínek, V., Březina, P., Hrabě, J., & Valášek, P. (2008). Effect of carrageenan type on viscoelastic properties of processed cheese. *Food Hydrocolloids*, *22*, 1054–1061.
- Dimitreli, G., & Thomareis, A. S. (2007). Texture evaluation of block-type processed cheese as a function of chemical composition and in relation to its apparent viscosity. *Journal of Food Engineering*, *79*, 1364–1373.
- El-Nawawi, S. A., & Heikal, Y. A. (1995). Factors affecting the production of low-ester pectin gels. *Carbohydrate Polymers*, *26*, 189–193.
- Evageliou, V., Richardson, R. K., & Morris, E. R. (2000). Effect of pH, sugar type and thermal annealing on high-methoxy pectin gels. *Carbohydrate Polymers*, *42*, 245–259.
- Fu, J. T., & Rao, M. A. (1999). The influence of sucrose and sorbitol on gel-sol transition of low-methoxyl pectin –  $\text{Ca}^{2+}$  gels. *Food Hydrocolloids*, *13*, 371–380.
- Gabriele, D., de Cindio, B., & D'Antona, P. (2001). A weak gel model for foods. *Rheologica Acta*, *40*, 120–127.
- Grosso, C. R. F., & Rao, M. A. (1998). Dynamic rheology of structure development in low-methoxyl pectin +  $\text{Ca}^{2+}$  + sugar gels. *Food Hydrocolloids*, *12*, 357–363.
- Guinee, T. P., Carić, M., & Kaláb, M. (2004). Pasteurized processed cheese and substitute/imitation cheese products. In P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, & T. P. Cogan (Eds.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Major cheese groups, Vol. 2* (pp. 349–394). London, New York: Elsevier Applied Science.
- Gunasekaran, S., & Ak, M. M. (2000). Oscillatory shear testing of foods – selected applications. *Trends in Food Science & Technology*, *11*, 115–127.
- Gustaw, W., & Mleko, S. (2007). The effect of polysaccharides and sodium chloride on physical properties of processed cheese analogs containing whey proteins. *Milchwissenschaft*, *62*(1), 59–62.
- ISO Standard No. 5534. (2004). *Cheese and processed cheese – Determination of the total solids content (Reference method)*. Geneva: International Organization for Standardization.
- Kapoor, R., & Metzger, L. E. (2008). Process cheese: scientific and technological aspects – a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *7*, 194–214.
- Lee, S. K., Anema, S., & Klostermeyer, H. (2004). The influence of moisture content on the rheological properties of processed cheese spreads. *International Journal of Food Science and Technology*, *39*, 763–771.
- Leroux, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V., & Mazoyer, J. (2003). Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, *17*, 455–462.
- Löfgren, C., & Hermansson, A. M. (2007). Synergistic rheological behaviour of mixed HM/LM pectin gels. *Food Hydrocolloids*, *21*, 480–486.
- Lootens, D., Capel, F., Durand, D., Nicolai, T., Boulenguer, P., & Langendorff, V. (2003). Influence of pH, Ca concentration, temperature and amidation on the gelation of low methoxyl pectin. *Food Hydrocolloids*, *17*, 237–244.
- Lu, Y., Shirashoji, N., & Lucey, J. A. (2007). Rheological, textural and melting properties of commercial samples of some of the different types of pasteurized processed cheese. *International Journal of Dairy Technology*, *60*, 74–80.
- Macků, I., Buňka, F., Pavlínek, V., Leciánová, P., & Hrabě, J. (2008). The effect of pectin concentration on viscoelastic and sensory properties of processed cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, *43*, 1663–1670.
- Marchesseau, S., Gastaldi, E., Lagaude, A., & Cuq, J. L. (1997). Influence of pH on protein interactions and microstructure of process cheese. *Journal of Dairy Science*, *80*, 1483–1489.
- Martinez-Ruvalcaba, A., Chornet, E., & Rodrigue, D. (2007). Viscoelastic properties of dispersed chitosan/xanthan hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, *67*, 586–595.
- Nilsson, S., Piculell, L., & Malmsten, M. (1990). Nature of macromolecular denaturation by urea and other cosolutes: experiments on agarose interpreted within a lattice model for adsorption from a mixed solvent. *Journal of Physical Chemistry*, *94*, 5149–5154.
- Norziah, M. H., Kong, S. S., Karim, A. A., & Seow, C. C. (2001). Pectin–sucrose– $\text{Ca}^{2+}$  interactions: effects on rheological properties. *Food Hydrocolloids*, *15*, 491–498.
- O'Callaghan, D. J., & Guinee, T. P. (2004). Rheology and texture of cheese. In P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, & T. P. Cogan (Eds.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology. General aspects, Vol. 1* (pp. 511–540). London, New York: Elsevier Applied Science.
- Piska, I., & Štětina, J. (2004). Influence of cheese ripening and rate of cooling of the processed cheese mixture on rheological properties of processed cheese. *Journal of Food Engineering*, *61*, 551–555.
- Raval, D. M., & Mistry, V. V. (1999). Application of ultrafiltered sweet buttermilk in the manufacture of reduced fat process cheese. *Journal of Dairy Science*, *82*, 2334–2343.
- Sato, Y., Kawabuchi, S., Irimoto, Y., & Miyawaki, O. (2004). Effect of water activity and solvent-ordering on intermolecular interaction of high-methoxyl pectins in various sugar solutions. *Food Hydrocolloids*, *18*, 527–534.
- Shirashoji, N., Jaeggi, J. J., & Lucey, J. A. (2006). Effect of trisodium citrate concentration and cooking time on the physicochemical properties of pasteurized process cheese. *Journal of Dairy Science*, *89*, 15–28.
- Syrbe, A., Bauer, W. J., & Klostermeyer, H. (1998). Polymer science concepts in dairy systems – an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International Dairy Journal*, *8*, 179–193.
- Tsoga, A., Richardson, R. K., & Morris, E. R. (2004a). Role of cosolutes in gelation of high-methoxy pectin. Part 1. Comparison of sugars and polyols. *Food Hydrocolloids*, *18*, 907–919.
- Tsoga, A., Richardson, R. K., & Morris, E. R. (2004b). Role of cosolutes in gelation of high-methoxy pectin. Part 2. Anomalous behaviour of fructose: calorimetric evidence of site-binding. *Food Hydrocolloids*, *18*, 921–932.
- Udyarajan, C. U., Horne, D. S., & Lucey, J. A. (2007). Use of time-temperature superposition to study the rheological properties of cheese during heating and cooling. *International Journal of Food Science and Technology*, *42*, 686–698.
- Williams, P. A., & Phillips, G. O. (2000). *Handbook of hydrocolloids*. Cambridge and Boca Raton: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- Winter, H. H., & Chambon, F. (1986). Analysis of linear viscoelasticity of a cross-linking polymer at the gel point. *Journal of Rheology*, *30*, 367–382.

# PŘÍLOHA P II: The effect of selected phosphate emulsifying salts on viscoelastic properties of processed cheese

ARTICLE IN PRESS

YFSTL2431\_proof ■ 29 April 2010 ■ 1/6

LWT - Food Science and Technology xxx (2010) 1–6



Contents lists available at ScienceDirect

LWT - Food Science and Technology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/lwt](http://www.elsevier.com/locate/lwt)



## The effect of selected phosphate emulsifying salts on viscoelastic properties of processed cheese

Ivana Sádliková<sup>a</sup>, František Buňka<sup>b,\*</sup>, Pavel Budinský<sup>a</sup>, Voldánová Barbora<sup>b</sup>, Vladimír Pavlínek<sup>c</sup>, Ignác Hoza<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Biochemistry and Food Analysis, Tomas Bata University in Zlín, nám. T.G.Masaryka 275, Zlín 762 72, Czech Republic

<sup>b</sup> Department of Food Technology and Microbiology, Tomas Bata University in Zlín, nám. T.G.Masaryka 275, Zlín 762 72, Czech Republic

<sup>c</sup> Polymer Centre, Tomas Bata University in Zlín, nám. T.G.Masaryka 275, Zlín 762 72, Czech Republic

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 5 September 2009

Received in revised form

23 March 2010

Accepted 14 April 2010

#### Keywords:

Emulsifying salt

Phosphate

Processed cheese

Rheology

Viscoelastic properties

### ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of selected phosphate emulsifying salts ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ , sodium polyphosphate) and their selected mixtures (sodium polyphosphate +  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; sodium polyphosphate +  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) on the viscoelastic properties of model processed cheese (dry matter – 40 g/100 g; fat in dry matter – 50 g/100 g). Viscoelastic properties of model samples stored at  $6 \pm 2$  °C were investigated by dynamic oscillation rheometry (plate–plate geometry; frequency range 0.1–50.0 Hz; temperature 20 °C). Processed cheese manufactured with different phosphates showed various pH values and different viscoelastic properties. The firmness of samples increased due to use of particular types of tested phosphates. Their influence on cheese firmness increased in the following order: orthophosphate < polyphosphate < diphosphate < triphosphate. The increasing content of polyphosphate (up to 50%) in the binary mixture of polyphosphate and orthophosphate or polyphosphate and diphosphate caused the increase of firmness of model samples. The content of polyphosphates above 50% in the binary mixture led to decrease of firmness of model processed cheese.

© 2010 Published by Elsevier Ltd.

### 1. Introduction

Processed cheese is a dairy product manufactured from natural cheese and suitable emulsifying salts (e.g. sodium salts of phosphates, polyphosphates and citrates). Its matrix is formed under a partial vacuum, constant agitation and upon heating. Other optional dairy (butter, skim milk powder, whey powder, coprecipitates, caseinates, etc.) and non-dairy ingredients (water, vegetables, spices, flavourings, colourings, salt, hydrocolloids, etc.) can be added into the blend (Guinee, Carić, & Kaláb, 2004; Lee, Anema, & Klostermeyer, 2004). The consistency of processed cheese can be influenced by many factors such as type and maturity of natural cheese, pH of cheese melt, type and concentration of emulsifying salt, processing conditions, dry matter content, fat content, presence and concentration of ions (especially calcium), use of hydrocolloids, etc. (Bowland & Foegeding, 2001; Černíková et al., 2008; Dimitreli & Thomareis, 2007; Guinee et al., 2004; Gustaw &

Mleko, 2007; Lee et al., 2004; Lu, Shirashoji, & Lucey, 2007; Marchesseau, Gastaldi, Lagaude, & Cuq, 1997; Piska & Štětina, 2004; Shirashoji, Jaeggi, & Lucey, 2006).

Emulsifying salts are essential in the formation of uniform structure of processed cheese. Sodium phosphates, polyphosphates and citrates represent the most commonly used ones. Their important role is to enhance the emulsifying capability of cheese proteins by removing calcium from caseins and by peptizing, hydrating and dispersing the protein. Additional effects the above salts show are pH increase (in the majority of cases) and buffering, stabilisation of oil-in-water emulsion and structure formation (Guinee et al., 2004; Mulsow, Jaros, & Rohm, 2007). However, only limited information about the effect of individual phosphate emulsifying salts and the effect of binary mixtures of individual phosphates on viscoelastic properties of processed cheese has been found in available literature.

The objective of this research was to investigate the influence of selected phosphate emulsifying salts ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ , sodium polyphosphate) and their binary mixtures (sodium polyphosphate +  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; sodium polyphosphate +  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) on viscoelastic properties of model

\* Corresponding author. Tel.: +420 576 031 528; fax: +420 577 210 172.  
E-mail address: [bunka@ft.utb.cz](mailto:bunka@ft.utb.cz) (F. Buňka).

processed cheese (dry matter – 40 g/100 g; fat in dry matter – 50 g/100 g).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Sample preparation

Edam block cheese (dry matter – 50 g/100 g, fat in dry matter – 30 g/100 g; 8–10 weeks old), deionised water (for keeping of constant ion-conditions), butter (dry matter – 84 g/100 g, fat – 82 g/100 g) and sodium salts of orthophosphates, diphosphates, triphosphates and polyphosphates (3 g/100 g of processed cheese; Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub>, sodium polyphosphate; Fosfa a.s., Břeclav-Poštorná, Czech Republic) were used for preparation of model processed cheese (dry matter – 40 g/100 g; fat in dry matter – 50 g/100 g). All samples were manufactured using a 2-L capacity Vorwerk Thermomix TM 31 blender cooker (Vorwerk & Co. Thermomix; GmbH, Wuppertal, Germany). Edam block cheese, butter and a mixture of phosphates (or an individual phosphate) were premixed in the cooker at high agitation followed by water addition. Under constant agitation, the mixture was heated in the cooker to 90 °C and then heated for 1 min at the same temperature. Packed samples (100°g doses) were cooled and stored in a refrigerator at 6 ± 2 °C. The total amount of one batch was approximately 700 g and each batch was manufactured in duplicate.

At the beginning of the experiment (first stage of work), two groups of model processed cheeses (Group I and II) with addition of various phosphates (3.0 g/100 g of cheese; Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub>, sodium polyphosphate – PoP) were prepared. Each of these two groups included 6 batches that differed only in emulsifying salt applied (see Table 1). In addition, pH of model samples in Group II were adjusted by hydrochloric acid or sodium hydroxide to practically similar level (approximately to 5.5–6.0). The above chemicals were added when the melt was heated to 85 ± 1 °C.

The second part of this study explored the influence of mixture of two different phosphates on viscoelastic properties of model processed cheese. Four groups of samples (Groups III–VI; see Table 1) were manufactured and each group included 5 batches differing only in the ratio of phosphates in the mixture. Manufacturing samples in Groups III and IV, a binary mixture of polyphosphate and orthophosphate (PoP:Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) was folded in and processed

cheeses in Groups V and VI were prepared with mixture of polyphosphate and diphosphate (PoP:Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>). The ratio of sodium phosphates in the mixture was gradually changed in the following order: 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 and 0:100 (the first number refers to polyphosphate and the second one represents quantity of ortho- or diphosphate in the mixture). The values of pH of processed cheeses in Groups IV and VI were adjusted by hydrochloric acid or sodium hydroxide to practically similar level (approximately to 5.5–6.0).

All groups of model processed cheese (*i* = I–VI) were manufactured according to the same technology separately on different days. Model samples were produced from Edam block cheese of different batches obtained from one producer. The different batches of Edam block cheese were chosen to simulate the real industrial practice because there are processed Edam cheeses of different degree of maturity and different batches.

### 2.2. Chemical analysis

After 14 days of storage at 6 ± 2 °C, pH, dry matter and fat content in model processed cheeses were analysed. Dry matter was determined by drying at 102 ± 2 °C according to ISO 5534:2004. Fat content was measured by the method of van Gulik according to ISO 3433:2008. Values of pH were determined by a Gryf 208 L pH-meter with THETA 90 HC 113 glass electrode (Gryf, Havlíčkův Brod, Czech Republic) at 20 ± 2 °C. Chemical analyses were conducted in triplicate.

### 2.3. Rheological analysis

Viscoelastic properties of processed cheese were investigated using a controlled stress Bohlin rheometer (Bohlin GEMINI, Malvern Instruments Ltd., Malvern, UK) with parallel plates geometry (40 mm diameter, 1 mm gap) at 20.0 ± 0.1 °C. Linear viscoelastic region was determined by amplitude sweep test while frequency sweep mode was used to evaluate viscoelastic properties of model samples. The storage (*G'*) and loss (*G''*) moduli were measured in the 0.1–50.0 Hz frequency range. The loss tangent (tan δ) and complex modulus (*G\**) for the reference frequency 1 Hz were calculated according to Eq. (1) and (2) (Gabriele, de Cindio, & D'Antona, 2001; Gunasekaran & Ak, 2000):

$$\tan\delta = G''/G' \quad (1)$$

$$G^*(\omega) = \sqrt{G'(\omega)^2 + G''(\omega)^2} \quad (2)$$

The value of reference frequency 1 Hz was recommended in available literature (Bennet et al., 2006; Lu et al., 2007; Piska & Štětina, 2004). Dynamic rheological measurements of samples were carried out after 14 days of storage at 6 ± 2 °C.

The viscoelastic properties of processed cheese were also evaluated by application of Winter's critical gel theory (Winter & Chambon, 1986), which was recommended for food samples by Gabriele et al. (2001). The complex modulus (*G\**) can be expressed by:

$$G^*(\omega) = A_F \omega^{1/z} \quad (3)$$

where  $\omega$  is the frequency, ( $A_F$ ) is the gel strength and ( $z$ ) is the interaction factor, i.e. the number of structure units interacting with one another in a three-dimensional network. The higher is the interaction factor, the more interactions occur in sample matrix (Gabriele et al., 2001; Martínez-Ruvalcaba, Chornet, & Rodríguez, 2007).

**Table 1**

Groups of processed cheese manufactured with different sodium phosphates or their mixtures (PoP:Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; PoP:Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)<sup>a</sup>.

Stage of work	Group of samples	Emulsifying salt (3.0 g/100 g of cheese)
The first	I and II	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> PoP
The second	III and IV	PoP:Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (100:0) PoP:Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (75:25) PoP:Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (50:50) PoP:Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (25:75) PoP:Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (0:100)
	V and VI	PoP:Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (100:0) PoP:Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (75:25) PoP:Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (50:50) PoP:Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (25:75) PoP:Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (0:100)

<sup>a</sup> PoP – sodium polyphosphate.

## 2.4. Statistical analysis

Results obtained from chemical and rheological analyses were statistically evaluated by parametric *t*-test using the Unistat 5.5 statistical programme. Results were evaluated as significantly different when  $P < 0.05$ .

## 3. Results and discussion

### 3.1. Chemical analysis

The following values illustrate dry matter content (g/100 g) in analysed samples: 42.10–42.85 (Group I), 41.90–42.98 (Group II), 41.82–42.61 (Group III), 42.06–43.67 (Group IV), 42.07–43.88 (Group V) and 42.38–42.99 (Group VI). Fat content (g/100 g) ranged between the following values: 21.0–22.0 (Group I), 21.0–22.5 (Group II), 21.0–21.5 (Group III), 22.0–22.5 (Group IV), 22.0–23.0 (Group V) and 21.5–22.5 (Group VI). Viscoelastic properties of processed cheese are substantially affected by chemical composition of the product (Lee et al., 2004; Marchesseau et al., 1997; Piska & Stětina, 2004). Similar contents of the above cheese constituents allowed the comparison of the effect of various sodium phosphates (or their mixtures) on the viscoelastic properties of processed cheese.

### 3.2. Processed cheese containing individual sodium phosphates

#### 3.2.1. Assessment of pH – processed cheese without pH adjustment

The values of pH of model processed cheese in Group I manufactured with addition of different sodium phosphates are given in Table 2. These values varied significantly from 4.67 to 6.93. According to scientific literature, the pH optimum for obtaining suitable structural and sensory properties of processed cheese should oscillate between 5.5 and 6.0 (Guinee et al., 2004; Lee & Klostermeyer, 2001; Lu et al., 2007; Marchesseau et al., 1997). Optimal pH was found only in samples with PoP. Compared to natural cheese (raw material for processed cheese production, its pH  $\approx$  5.6–5.8), the usage of other phosphates caused mostly the increase of pH values of the processed cheese. The application of disodium dihydrogen diphosphate ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ) was the only exception (pH  $\approx$  4.67). The values of pH of model processed cheese increased due to various phosphates usage in the following order: PoP <  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  <  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  <  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  <  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ . Generally, it can be said that sodium salts of phosphates change the pH of the cheese blend (they usually cause increase of blend pH) and contribute to pH stabilisation due to their buffering capacity (Guinee et al., 2004; Molins, 1991: p. 261; Mulsow et al., 2007).

#### 3.2.2. Rheology – processed cheese without pH adjustment

The results for model processed cheese in Group I obtained by rheological measurement are given in Table 3. The addition of

various phosphate emulsifying salts caused formation of products with different viscoelastic properties. The lowest values of storage and loss moduli were found in samples made with orthophosphates ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$  or  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). Moreover, loss modulus value was always higher than that of storage modulus. It means that viscoelastic properties of processed cheese with orthophosphates differed from typical qualities of spreadable type of processed cheese. These samples behaved rather like a fluid than like processed cheese spreads with three-dimensional network. Model samples manufactured with tetrasodium diphosphate ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) had higher values of moduli compared to processed cheese with orthophosphates ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$  or  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). The diphosphate gave processed cheese desirable characteristics. Model processed cheese containing sodium tripolyphosphate ( $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) possessed the highest values of both moduli; this sample proved to be the most rigid one among all the others ( $P < 0.05$ ). The application of sodium polyphosphate (PoP) caused the formation of products less rigid than the samples with sodium tripolyphosphate but substantially firmer than the processed cheese with ortho- or diphosphates ( $P < 0.05$ ). Table 3 also shows the values of loss tangent. The smaller is the value of loss tangent, the more elastic is the tested material. The above mentioned results were also confirmed by data obtained by application of Winter's critical gel theory. The higher number of phosphate groups contained the emulsifying salt molecule, the higher increase of interaction factor and gel strength was observed. This can be explained by the ability of phosphates to attach to the protein molecules (especially via calcium bridges), i.e. the more phosphate groups were present, the more groups could interact. According to Lucey, Johnson, and Horne (2003), phosphates that are associated with casein might act as cross-linking agents by bridging (e. g. via calcium) within or between casein molecules. The higher gel strength can be explained by more interactions occurring in samples.

The above mentioned rheological results obtained by analyses of samples in Group I are presented in Fig. 1 as a graph which shows the dependence of the complex modulus  $G^*$  on frequency. As apparent, the complex modulus increased in the whole tested frequency range. This figure also illustrates that orthophosphate was the least effective phosphate in the formation of processed cheese network. Diphosphate and triphosphate followed the orthophosphate values.

The effectiveness of various phosphates in formation of rigid structure increased in the following order: orthophosphate < polyphosphate < diphosphate < triphosphate. Hence, samples manufactured with di- and triphosphates proved to be the most rigid ones. This fact can be explained by their ability to support the formation of three-dimensional network (Guinee et al., 2004). Mizuno and Lucey (2005) claim that some types of phosphates, especially diphosphates, can induce gelation or aggregation by the formation of caseinate-Ca phosphate complexes under specific conditions, even in dilute protein solutions. Diphosphates and triphosphates can also strongly support fat emulsification (Awad, Abdel-Hamid, El-Shabrawy, & Singh 2002). According to Rayan, Kaláb, and Ernstrom (1980), poor emulsification results in soft processed cheese, whereas well emulsified cheese shows the highest firmness.

Furthermore, processed cheese with disodium dihydrogen diphosphate ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ) was prepared. However, this product could not be subjected to rheological analyses because of crumbly consistency. Moreover, this emulsifying salt (alone) failed to give stable emulsion; this sample exhibited water separation and oiling-off. According to Marchesseau et al. (1997) and Mulsow et al. (2007), low pH (4.8–5.2) usually yields short, crumbly and granular cheeses with high susceptibility to fat separation. The above mentioned phenomena can be probably elucidated by very low pH

**Table 2**

The values of pH of model processed cheese manufactured with different sodium phosphates (Groups I and II)<sup>a</sup>.

Phosphate	Processed cheese group	
	I	II <sup>a</sup>
$\text{Na}_3\text{PO}_4$	6.93 $\pm$ 0.03	5.62 $\pm$ 0.02
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	6.64 $\pm$ 0.02	5.57 $\pm$ 0.01
$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	6.84 $\pm$ 0.02	5.56 $\pm$ 0.03
$\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$	4.67 $\pm$ 0.02	5.62 $\pm$ 0.01
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	6.74 $\pm$ 0.01	5.55 $\pm$ 0.03
PoP	5.79 $\pm$ 0.02	5.61 $\pm$ 0.02

<sup>a</sup> Values of pH are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. The values of pH of processed cheeses in Group II were adjusted practically to similar level by using an acid (HCl) or a base (NaOH).

**Table 3**

The values of storage modulus, loss modulus, loss tangent, gel strength and interaction factor for the reference frequency 1 Hz in tested processed cheese prepared with various sodium salts of phosphates (Groups I and II)<sup>a</sup>.

Group of cheese	Phosphate	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [-]	$A_F$ [Pa·s <sup>1/2</sup> ]	$z$
I	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	11 ± 6 <sup>a</sup>	42 ± 13 <sup>a</sup>	3.792	41 ± 12 <sup>a</sup>	1.22 ± 0.02 <sup>a</sup>
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	482 ± 32 <sup>b</sup>	558 ± 22 <sup>b</sup>	1.157	751 ± 36 <sup>b</sup>	1.99 ± 0.01 <sup>b</sup>
	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	955 ± 6 <sup>c</sup>	980 ± 13 <sup>c</sup>	1.026	1383 ± 3 <sup>c</sup>	2.14 ± 0.01 <sup>c</sup>
	Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	<i>n</i> <sup>b</sup>	<i>n</i>	<i>n</i>		<i>n</i>
	Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	1121 ± 8 <sup>d</sup>	1232 ± 2 <sup>d</sup>	1.099	1682 ± 7 <sup>d</sup>	2.22 ± 0.01 <sup>d</sup>
	PoP	886 ± 22 <sup>e</sup>	695 ± 17 <sup>e</sup>	0.784	1105 ± 28 <sup>e</sup>	2.40 ± 0.02 <sup>e</sup>
II	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	479 ± 38 <sup>a</sup>	391 ± 6 <sup>a</sup>	0.816	616 ± 44 <sup>a</sup>	2.05 ± 0.10 <sup>a</sup>
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	203 ± 60 <sup>b</sup>	159 ± 40 <sup>b</sup>	0.783	231 ± 74 <sup>b</sup>	1.91 ± 0.09 <sup>b</sup>
	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	657 ± 19 <sup>c</sup>	618 ± 10 <sup>c</sup>	0.942	898 ± 17 <sup>c</sup>	2.30 ± 0.01 <sup>c</sup>
	Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	657 ± 39 <sup>c</sup>	685 ± 32 <sup>d</sup>	1.043	963 ± 48 <sup>c</sup>	2.16 ± 0.01 <sup>d</sup>
	Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	1650 ± 163 <sup>d</sup>	1097 ± 54 <sup>e</sup>	0.665	1955 ± 159 <sup>d</sup>	2.48 ± 0.11 <sup>e</sup>
	PoP	1435 ± 53 <sup>e</sup>	1012 ± 1 <sup>f</sup>	0.705	1720 ± 46 <sup>e</sup>	2.64 ± 0.05 <sup>f</sup>

<sup>a</sup> Storage modulus ( $G'$ ), loss modulus ( $G''$ ), gel strength ( $A_F$ ) and interaction factor ( $z$ ) are expressed as mean ± standard deviation;  $\tan \delta = G''/G'$ . Mean values within the group having the same superscript letter in each column are not significantly different ( $P \geq 0.05$ ). PoP – sodium polyphosphate; pH of model processed cheeses in Group II was adjusted by using an acid (HCl) or a base (NaOH).

<sup>b</sup> *n* – sample could not be measured.

value which is very close to isoelectric point of caseins and thus attractions between proteins can lead to the increase of casein aggregation. Hence, fat is not effectively emulsified and continuous protein matrix is not formed in such processed cheese (Gupta, Karahadian, & Lindsay, 1984).

### 3.2.3. Assessment of pH – processed cheese with pH adjustment

It is well known that pH value affects viscoelastic properties of processed cheese (Lee & Klostermeyer, 2001). So, an experiment with pH adjustment of cheese was realized. Just as in a study by Shirashoji et al. (2006), pH was adjusted to 5.5–6.0 with respect to common manufacturing conditions. The wide range of pH of model samples prepared in Group II was narrowed to 5.55–5.62 (see Table 2).

### 3.2.4. Rheology – processed cheese with pH adjustment

Results for processed cheese in Group II obtained by rheological measurement and by application of Winter's critical gel theory are given in Table 3. Similar trends like in the previous group of cheese were observed even when pH (factor affecting consistency of processed cheese) was adjusted. Model samples with orthophosphate showed the least firmness, processed cheese with diphosphates

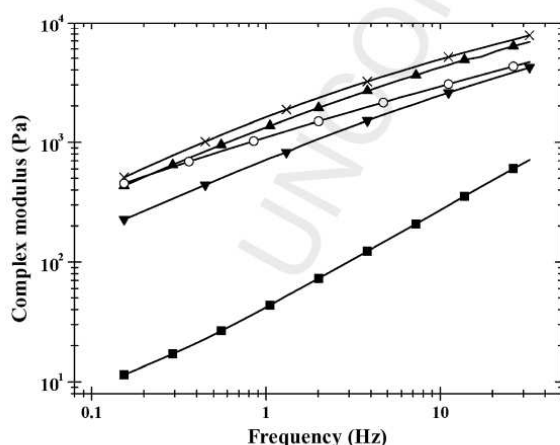
had higher values of storage and loss moduli and the most rigid products were prepared with triphosphate.

Processed cheese manufactured with disodium dihydrogen diphosphate (Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) could be analysed after pH adjustment. The increase of pH (to ≈ 5.6) resulted in the formation of a homogeneous three-dimensional network where water and fat separation as well as protein aggregation were not observed sensorially. As pH increased, protein molecules (carboxyl groups) became negatively charged and attractions between protein chains decreased. These changes resulted in increase of casein hydration and in formation of a more open reactive structure with higher water-binding capability and better emulsifying properties (Guinee et al., 2004; Marchesseau et al., 1997; Molins, 1991: p. 261). The usage of both diphosphates (Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> and Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) caused the formation of model processed cheese with similar viscoelastic properties (see Table 3). Generally, both diphosphates demonstrated almost the same efficiency in the formation of the processed cheese structure.

### 3.3. Processed cheese containing the mixture of two sodium phosphates

#### 3.3.1. Assessment of pH – processed cheese without pH adjustment

The values of pH of samples manufactured with the addition of two phosphates (PoP: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – Groups III, IV; PoP:Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> – Groups V, VI) are given in Table 4. The pH of processed cheese increased gradually with the decrease of polyphosphate content and with the rise of orthophosphate or diphosphate amount in the blend. Abdel-Hamid, El-Shabrawy, Awad, and Singh (2000) report the same trend of pH changes in processed cheese made with the



**Fig. 1.** Dependence of the complex modulus ( $G^*$ ) on frequency ( $f$ ) for products in Group I containing various sodium salts of phosphates – Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (■), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (▼), Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (▲), Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> (×), PoP (○).

**Table 4**

The values of pH of model processed cheese manufactured with mixtures of two sodium phosphates (PoP:Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – Groups III and IV; PoP:Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> – Groups V and VI)<sup>a</sup>.

Ratio of sodium phosphates	Processed cheese group			
	PoP:Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		PoP:Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	
	III	IV	V	VI
0:100	6.35 ± 0.01	5.78 ± 0.01	6.70 ± 0.01	5.78 ± 0.01
25:75	6.33 ± 0.01	5.69 ± 0.01	6.62 ± 0.01	5.72 ± 0.01
50:50	5.97 ± 0.01	5.80 ± 0.01	6.20 ± 0.01	5.49 ± 0.02
75:25	5.73 ± 0.01	5.79 ± 0.01	5.85 ± 0.01	5.28 ± 0.01
100:0	5.54 ± 0.01	5.74 ± 0.01	5.51 ± 0.01	5.43 ± 0.01

<sup>a</sup> Values of pH are expressed as mean ± standard deviation. PoP – sodium polyphosphate. Values of pH of model processed cheeses in Groups IV and VI were adjusted by using an acid (HCl) or a base (NaOH).

mixture of emulsifying salts composed of sodium polyphosphate and sodium diphosphate ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) in various ratios.

### 3.3.2. Rheology – processed cheese without pH adjustment

Results from rheological analysis of model cheeses in Groups III and V are given in Table 5. The growing polyphosphate amount in the blends of two phosphates caused firstly increase of elastic and loss moduli ( $P < 0.05$ ) and decrease of loss tangent values. It reflects the increase of processed cheese elasticity. When the content of polyphosphate in the blend achieved a specific level (usually  $\approx 50\%$  of polyphosphate in the blend), the values of both moduli started to drop and the loss tangent began to increase. The dependence of complex modulus on frequency applied to samples of processed cheese in Group V containing the mixture of PoP and  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  in five different ratios are presented in Fig. 2. It shows the initial increase of rigidity, which is followed by the decline of firmness caused by gradual increase of polyphosphate amount in the mixture of two phosphates.

The initial increase of firmness and elasticity of samples could be caused by the gradual hydrolysis of polyphosphate whose amount increased in the mixture subsequently. Linear condensed phosphates undergo hydrolysis to various extents during processing (melting) and storage of processed cheese (Guinee et al., 2004). Hydrolysis of polyphosphates proceeds rapidly to give triphosphates and diphosphates, and then, more slowly, to form monophosphates and it causes a significant hardening of processed cheese (Guinee et al., 2004; Kapoor & Metzger, 2008; Mulsow et al., 2007; Schär & Bosset, 2002). Products of hydrolysis, mainly triphosphates, possess high ability to aggregate casein, which leads to formation of a more rigid and elastic product (Guinee et al., 2004; Mizuno & Lucey, 2005). Hence, the more polyphosphates in the binary mixture, the higher number of triphosphates supporting the cross-linking in processed cheese. Once the polyphosphate amount in the mixture of two phosphates reaches a specific level, the quantity of unhydrolysed polyphosphates or their longer hydrolysed products can prevail over the triphosphate or diphosphate levels. These unhydrolysed polyphosphates or their longer hydrolysed products can bind calcium cations, which were

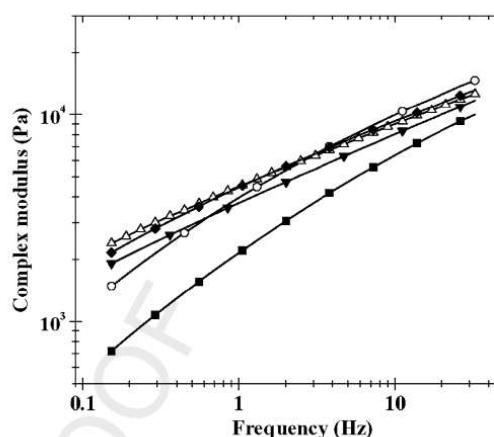


Fig. 2. Dependence of the complex modulus ( $G^*$ ) on frequency ( $f$ ) for products in Group V containing the mixture of two sodium salts of phosphates (PoP: $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) in five different ratios – 0:100 (■); 25:75 (○); 50:50 (△); 75:25 (◆); 100:0 (▼).

previously sequestered by emulsifying salts too strongly.  $\text{Ca}^{2+}$  ions play important role in the formation of stable products. A part of these ions is released from emulsifying salts during cooling and they can participate in formation of three-dimensional network. The more calcium ions occur in melt, the more interactions in three-dimensional network of processed cheese can take place (Acharya & Mistry, 2007). However, polyphosphates exhibit very high ability to sequester calcium (Guinee et al., 2004; Kapoor & Metzger, 2008; Mulsow et al., 2007). These cations are bound very tightly to polyphosphates, which prevents them from cross-linking, i.e. a product with lower number of interactions is formed (Mulsow et al., 2007). This conclusion is supported by values of the interaction factor in Table 5, which are lower in mixtures with the prevalence of polyphosphates than in the mixtures containing the same ratio of polyphosphate and orthophosphate or diphosphate.

Table 5

The values of storage modulus, loss modulus, loss tangent, gel strength and interaction factor for the reference frequency 1 Hz in tested processed cheese with the mixture of sodium salts of phosphates in various ratios (PoP: $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – Groups III and IV; PoP: $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  – Groups V and VI)<sup>a</sup>.

Group of cheese	Ratio of sodium phosphates	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$\tan \delta$ [-]	$A_F$ [ $\text{Pa} \cdot \text{s}^{1/2}$ ]	$z$
III	0:100	302 ± 62 <sup>a</sup>	404 ± 34 <sup>a</sup>	1.339	522 ± 61 <sup>a</sup>	1.84 ± 0.06 <sup>a</sup>
	25:75	2888 ± 316 <sup>b</sup>	2065 ± 117 <sup>b</sup>	0.715	3483 ± 324 <sup>b</sup>	2.81 ± 0.09 <sup>b</sup>
	50:50	2185 ± 55 <sup>c</sup>	1484 ± 14 <sup>c</sup>	0.679	2595 ± 57 <sup>c</sup>	2.79 ± 0.01 <sup>b</sup>
	75:25	1544 ± 105 <sup>d</sup>	1093 ± 71 <sup>d</sup>	0.708	1850 ± 126 <sup>d</sup>	2.67 ± 0.01 <sup>c</sup>
	100:0	860 ± 14 <sup>e</sup>	716 ± 21 <sup>e</sup>	0.832	1101 ± 24 <sup>e</sup>	2.39 ± 0.01 <sup>d</sup>
IV	0:100	61 ± 3 <sup>a</sup>	116 ± 10 <sup>a</sup>	1.900	126 ± 14 <sup>a</sup>	1.46 ± 0.06 <sup>a</sup>
	25:75	1560 ± 127 <sup>b</sup>	1105 ± 86 <sup>b</sup>	0.708	1871 ± 147 <sup>b</sup>	2.71 ± 0.02 <sup>b</sup>
	50:50	2228 ± 47 <sup>c</sup>	1507 ± 23 <sup>c</sup>	0.677	2639 ± 58 <sup>c</sup>	2.83 ± 0.01 <sup>c</sup>
	75:25	1394 ± 7 <sup>d</sup>	981 ± 6 <sup>d</sup>	0.704	1671 ± 10 <sup>d</sup>	2.63 ± 0.01 <sup>d</sup>
	100:0	809 ± 2 <sup>e</sup>	671 ± 9 <sup>e</sup>	0.829	1041 ± 3 <sup>e</sup>	2.31 ± 0.06 <sup>e</sup>
V	0:100	1553 ± 54 <sup>a</sup>	1571 ± 19 <sup>a</sup>	1.011	2231 ± 56 <sup>a</sup>	2.27 ± 0.01 <sup>a</sup>
	25:75	3153 ± 69 <sup>b</sup>	2563 ± 89 <sup>b</sup>	0.813	4019 ± 107 <sup>b</sup>	2.62 ± 0.01 <sup>b</sup>
	50:50	4061 ± 218 <sup>c</sup>	2084 ± 56 <sup>c</sup>	0.513	4474 ± 225 <sup>c</sup>	3.32 ± 0.05 <sup>c</sup>
	75:25	3932 ± 291 <sup>c</sup>	2254 ± 132 <sup>d</sup>	0.573	4424 ± 304 <sup>c</sup>	3.14 ± 0.07 <sup>d</sup>
	100:0	3302 ± 158 <sup>b</sup>	1889 ± 90 <sup>e</sup>	0.572	3737 ± 169 <sup>b</sup>	3.03 ± 0.03 <sup>e</sup>
VI	0:100	3072 ± 103 <sup>a</sup>	1741 ± 45 <sup>a</sup>	0.567	3432 ± 116 <sup>a</sup>	3.23 ± 0.01 <sup>a</sup>
	25:75	3553 ± 52 <sup>b</sup>	1940 ± 27 <sup>b</sup>	0.546	3981 ± 113 <sup>b</sup>	3.27 ± 0.06 <sup>ab</sup>
	50:50	3868 ± 127 <sup>c</sup>	2068 ± 76 <sup>c</sup>	0.535	4276 ± 160 <sup>c</sup>	3.31 ± 0.03 <sup>b</sup>
	75:25	4532 ± 281 <sup>d</sup>	2283 ± 79 <sup>d</sup>	0.504	4947 ± 286 <sup>d</sup>	3.46 ± 0.08 <sup>c</sup>
	100:0	2939 ± 170 <sup>a</sup>	1702 ± 73 <sup>a</sup>	0.579	3314 ± 186 <sup>a</sup>	3.10 ± 0.05 <sup>d</sup>

Values of pH of model processed cheeses in Group II were adjusted by using an acid (HCl) or a base (NaOH).

<sup>a</sup> Storage modulus ( $G'$ ), loss modulus ( $G''$ ), gel strength ( $A_F$ ) and interaction factor ( $z$ ) are expressed as mean ± standard deviation;  $\tan \delta = G''/G'$ . Mean values within the group having the same superscript letter in each column are not significantly different ( $P \geq 0.05$ ). PoP – sodium polyphosphate.

Please cite this article in press as: Sádílková, I., et al., The effect of selected phosphate emulsifying salts on viscoelastic properties of processed cheese, LWT - Food Science and Technology (2010), doi:10.1016/j.lwt.2010.04.012

### 3.3.3. Processed cheese with pH adjustment

The pH values of samples ranged from 5.69 to 5.80 in Group IV and from 5.49 to 5.78 in Group VI after pH adjustment (see Table 4).

Rheological properties of processed cheese in Groups IV and VI are given in Table 5. The dependence of viscoelastic properties of processed cheese on the sodium polyphosphate content in the mixture of two emulsifying salts showed a trend similar to the tendency revealed in the model samples without pH adjustment.

It can be assumed that pH is not the most important factor affecting viscoelastic properties of studied processed cheese. Hence, these properties are influenced also by other aspects, for example by the type of used emulsifying salt, the ratio of various phosphates in phosphate blend, the degree of phosphate hydrolysis, the sequestering ability of different phosphates, etc. Moreover, various factors can mutually influence each other. All these aspects should be considered while evaluating the processed cheese consistency (Guinee et al., 2004; Kapoor & Metzger, 2008; Mulsow et al., 2007).

## 4. Conclusion

The effect of different sodium phosphate emulsifying salts or their mixtures on pH and viscoelastic properties of processed cheese was investigated. Various phosphates affected the pH value of samples and their viscoelastic properties significantly. Optimal pH was found only in samples manufactured with sodium polyphosphate. Model processed cheese with disodium dihydrogen diphosphate had very low pH values. The pH of processed cheese increased due to the presence of various phosphates in the following order:  $\text{PoP} < \text{Na}_2\text{HPO}_4 < \text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10} < \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 < \text{Na}_3\text{PO}_4$ . The softest processed cheeses were manufactured using orthophosphates; the application of polyphosphates caused the formation of firmer processed cheese and the samples with diphosphate and triphosphate proved to be the most rigid ones due to their highest ability to support gelation in processed cheese matrix. The initial increase of sample firmness and elasticity followed by their decrease was related to increasing amount of sodium polyphosphate in tested blends of two phosphates. Regarding viscoelastic properties of model samples with individual phosphates or their blends, similar trends were also demonstrated when pH of products was adjusted to values optimal for processed cheese. It can be concluded that this chemical parameter is not the only and the most important factor affecting processed cheese consistency. The consequent research should be aimed more complexly at interactions of caseins with phosphates in processed cheese matrix and on the phosphate hydrolysis and its influence on processed cheese quality.

## Acknowledgement

The authors would like to express thanks to Fosfa, PLC (Břeclav-Poštorná, Czech Republic) for providing sodium phosphate emulsifying salts for this study. This research was supported by a project of Czech Ministry of Education, Youth and Sports (Grant No. MSM 7088352101).

## References

- Abdel-Hamid, L. B., El-Shabrawy, S. A., Awad, R. A., & Singh, R. K. (2000). Chemical properties of processed ras cheese spreads as affected by emulsifying salt mixtures. *Journal of Food Processing and Preservation*, 24, 191–208.
- Acharya, M. R., & Mistry, V. V. (2007). Influence of processing condition on cheddar cheese meltability. *Milchwissenschaft*, 62, 170–174.
- Awad, R. A., Abdel-Hamid, L. B., El-Shabrawy, S. A., & Singh, R. K. (2002). Texture and microstructure of block type processed cheese with formulated emulsifying salt mixtures. *LWT-Food Science and Technology*, 35, 54–61.
- Bowland, E. L., & Foegeding, E. A. (2001). Small strain oscillatory shear and microstructural analyses of a model processed cheese. *Journal of Dairy Science*, 84, 2372–2380.
- Černíková, M., Buňka, F., Pavlínek, V., Březina, P., Hrabě, J., & Valášek, P. (2008). Effect of carrageenan type on viscoelastic properties of processed cheese. *Food Hydrocolloids*, 22, 1054–1061.
- Dimitreli, G., & Thomareis, A. S. (2007). Texture evaluation of block-type processed cheese as a function of chemical composition and in relation to its apparent viscosity. *Journal of Food Engineering*, 79, 1364–1373.
- Gabriele, D., de Cindio, B., & D'Antona, P. (2001). A weak gel model for foods. *Rheologica Acta*, 40, 120–127.
- Guinee, T. P., Carić, M., & Kaláb, M. (2004). Pasteurized processed cheese and substitute/imitation cheese products. In P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, & T. P. Cogan (Eds.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Major cheese groups, Vol. 2* (pp. 349–394). London, New York: Elsevier Applied Science.
- Gunasekaran, S., & Ak, M. M. (2000). Oscillatory shear testing of foods—selected applications. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 115–127.
- Gupta, S. K., Karahadian, C., & Lindsay, R. C. (1984). Effect of emulsifier salts on textural and flavor properties of processed cheeses. *Journal of Dairy Science*, 67, 764–778.
- Gustaw, W., & Mleko, S. (2007). The effect of polysaccharides and sodium chloride on physical properties of processed cheese analogs containing whey proteins. *Milchwissenschaft*, 62, 59–62.
- ISO Standard No. 5534. (2004). *Cheese and processed cheese – Determination of the total solids content (reference method)*. Geneva: International Organization for Standardization.
- ISO Standard No. 3433. (2008). *Cheese – Determination of fat content – Van Gulik method*. Geneva: International Organization for Standardization.
- Kapoor, R., & Metzger, L. E. (2008). Process cheese: scientific and technological aspects – a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7, 194–214.
- Lee, S. K., Anema, S., & Klostermeyer, H. (2004). The influence of moisture content on the rheological properties of processed cheese spreads. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 763–771.
- Lee, S. K., & Klostermeyer, H. (2001). The effect of pH on the rheological properties of reduced-fat model processed cheese spreads. *LWT-Food Science and Technology*, 34, 288–292.
- Lu, Y., Shirashoji, N., & Lucey, J. A. (2007). Rheological, textural and melting properties of commercial samples of some of the different types of pasteurized processed cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 60, 74–80.
- Lucey, J. A., Johnson, M. E., & Horne, D. S. (2003). Invited review: perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science*, 86, 2725–2743.
- Marchesseau, S., Gastaldi, E., Lagaude, A., & Cuq, J. L. (1997). Influence of pH on protein interactions and microstructure of process cheese. *Journal of Dairy Science*, 80, 1483–1489.
- Martínez-Ruvalcaba, A., Chornet, E., & Rodrigue, D. (2007). Viscoelastic properties of dispersed chitosan/xanthan hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 67, 586–595.
- Mizuno, R., & Lucey, J. A. (2005). Effects of emulsifying salts on the turbidity and calcium–phosphate–protein interactions in casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 88, 3070–3078.
- Molins, R. A. (1991). *Phosphates in food*. Boca Raton: CRC Press.
- Mulsow, B. B., Jaros, D., & Kohm, H. (2007). Processed cheese and cheese analogues. In A. Y. Tamime (Ed.), *Structure of dairy products* (1st ed.), (pp. 210–235) Oxford: Blackwell Publishing Ltd.
- Piska, I., & Štětina, J. (2004). Influence of cheese ripening and rate of cooling of the processed cheese mixture on rheological properties of processed cheese. *Journal of Food Engineering*, 61, 551–555.
- Rayan, A. A., Kaláb, M., & Ernstrom, C. A. (1980). Microstructure and rheology of process cheese. *Scanning Electron Microscopy*, 3, 635–644.
- Schär, W., & Bosset, J. O. (2002). Chemical and physicochemical changes in processed cheese and ready-made fondue during storage. A review. *LWT-Food Science and Technology*, 35, 15–20.
- Shirashoji, N., Jaeggi, J. J., & Lucey, J. A. (2006). Effect of trisodium citrate concentration and cooking time on the physicochemical properties of pasteurized process cheese. *Journal of Dairy Science*, 89, 15–28.
- Winter, H. H., & Chambon, F. (1986). Analysis of linear viscoelasticity of a cross-linking polymer at the gel point. *Journal of Rheology*, 30, 367–382.