



Les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration

J.C. Cheftel, D. Lorient

► To cite this version:

J.C. Cheftel, D. Lorient. Les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration. Le Lait, INRA Editions, 1982, 62 (617_618_619_620), pp.435-483. <hal-00928942>

HAL Id: hal-00928942

<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00928942>

Submitted on 1 Jan 1982

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ASPECTS TECHNOLOGIQUES

Les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration

par

J. C. CHEFTEL* et D. LORIENT**

Résumé

Grâce à la diversité de leur structure spatiale, les protéines laitières possèdent des propriétés physiques et fonctionnelles aussi bien à l'état natif qu'après traitements chimique, physique ou enzymatique : absorption d'eau, solubilité, gélification, émulsification, moussage. Les caséines et caséinates alcalins (acide, lactique ou présure) ont une bonne solubilité et d'excellentes propriétés émulsifiantes. A concentrations élevées les caséinates peuvent constituer des colles, des films ou fibres.

Les protéines du lactosérum ont des propriétés fonctionnelles qui varient en fonction des traitements de préparation qu'elles ont subis (ultrafiltration, fixation sur échangeurs d'ions, précipitation par agents chimique ou thermique).

En général, la filtration sur gel, l'ultrafiltration et l'échange d'ions confèrent aux isolats protéiques les meilleures propriétés fonctionnelles. La solubilité des isolats obtenus par thermocoagu-

* Laboratoire de Biochimie et Technologie alimentaire (U.S.T.L.), 34060 Montpellier (3^e et 4^e parties).

** Laboratoire de Biochimie alimentaire (E.N.S.B.A.N.A.), 21100 Dijon (1^{re} et 2^e parties).

lation au pHi peut être améliorée par traitement alcalin, protéolyse partielle ou succinylation. Le pouvoir moussant est accru par traitement thermique acide (pH 2-3,5) ou neutre ou par déminéralisation suivie d'une acidification. L'ultrafiltration conduisant à une modification des rapports lactose/protéines ou minéraux/protéines, on observe des variations de la sensibilité aux traitements thermiques.

La complexation par polyélectrolytes réduit la solubilité de l'isolat qui possède, toutefois, de bonnes propriétés gélifiantes et moussantes. Malgré le nombre très élevé des études, tout essai d'amélioration des propriétés fonctionnelles reste encore empirique.

Mots clés

Propriétés fonctionnelles - Protéines - Lait - Lactosérum - Gels - Emulsions - Mousses - Solubilité.

Titre abrégé

Propriétés fonctionnelles des protéines.

Summary

Milk proteins have physical and functional properties in native state or after physical, chemical or enzymic treatments (water absorption, swelling, solubility, gel formation, emulsification, foaming) because of their various conformational structure. Caseins (acid, lactic or rennet caseins) and alkaline caseinates have good solubility and fine emulsifying properties. For high concentrations, caseinates give glues, films and fibers.

Whey proteins functionality varies according to the method of isolation (ultrafiltration, ion exchange, extraction, thermal or chemical precipitation).

Generally, gel filtration, ultrafiltration and ion exchange give the best functional properties to the protein isolates. Solubility of isolates, which are obtained by heating at pHi, can be improved by alkaline treatment, in acid or neutral medium or by demineralization and then acidification. Ultrafiltration modifies the thermal sensitivity of proteins.

The complex obtained with polyelectrolytes, reduces the solubility of protein isolate but gelling, emulsifying and foaming properties are stand up. Although many works, each essay for improving functional properties often stays an empirical study.

Key words

Functional properties - Protein - Milk - Whey - Gelling - Emulsion - Foams - Solubility.

INTRODUCTION

En plus de leur fonction nutritionnelle et immunitaire bien connue, les protéines laitières jouent un rôle essentiel dans l'appétence et les propriétés organoleptiques des aliments qui en contiennent. Du fait de la très grande variété de leur structure et de leurs propriétés physiques (qui sont bien connues), elles présentent de nombreuses possibilités d'utilisation fonctionnelle ; de plus, de nouveaux procédés de transformation sont capables de leur conférer ou d'améliorer de nouvelles propriétés.

Les propriétés fonctionnelles des protéines de lactosérum ont fait l'objet de nombreuses études expérimentales ; toutefois, la reproductibilité et l'interprétation des résultats sont rendues difficiles par divers *facteurs de variations*. Interviennent en effet : 1) l'origine et la composition des matières premières ; 2) les technologies de préparation des concentrés protéiques et leurs effets sur la composition et sur l'état de dénaturation des protéines ; 3) les méthodes et conditions d'évaluation de chaque propriété fonctionnelle ; 4) les corrélations recherchées (comparaisons entre préparations protéiques, corrélations entre propriétés physicochimiques et/ou propriétés fonctionnelles, corrélations avec essais de fabrication d'aliments).

On peut rappeler brièvement que la *technologie actuelle de préparation des concentrés et des isolats protéiques de lactosérum* fait appel aux procédés suivants : 1) concentration en matière sèche, par évaporation, osmose inverse, séchage par atomisation ; 2) déminéralisation partielle ou totale par échange d'ions ou électrodialyse ; 3) enlèvement partiel du lactose par cristallisation à froid ; 4) concentration spécifique des constituants protéiques par ultrafiltration ; 5) purification, et éventuellement fractionnement, des constituants protéiques : diafiltration, filtration sur gel, adsorption sur échangeurs d'ions, précipitation par agents complexants de type polyélectrolytes, coagulation thermique au pH isoélectrique. Plusieurs de ces procédés peuvent être associés dans une même ligne de fabrication.

Quelques procédés de *modification* des constituants protéiques ont été proposés : traitements thermiques à pH acide, neutre ou alcalin, protéolyse enzymatique partielle, greffage de groupements chimiques (p. ex. acétylation, succinylation).

Les effets de ces divers procédés sur les propriétés fonctionnelles ont donné lieu à quelques études systématiques qui sont exposées ci-dessous.

Nous examinerons ensuite les bases physicochimiques de certaines propriétés fonctionnelles, en particulier de la gélification et de l'émulsification.

I. BASES PHYSICOCHIMIQUES DES PROPRIETES FONCTIONNELLES DES PROTEINES LAITIÈRES NATIVES

1. Connaissances actuelles sur la structure et les propriétés physiques des protéines

Les 2 grands groupes de protéines (caséines, protéines de lactosérum) possèdent des structures très variées : une revue qui actualise les connaissances dans ce domaine a été réalisée récemment par Ribadeau Dumas (1981).

Les caséines présentent à la fois la plus grande importance pondérale et alimentaire. Elles ont une certaine originalité dans leur structure native qui est d'ailleurs très controversée. Ce complexe micellaire protéique phosphoré glycosylé a une structure spatiale qui confère au lait son aspect laiteux. Même après détermination des structures primaires des différents constituants, il est encore difficile d'avoir une vision précise de cette structure. Les nombreux schémas de modèle décrits depuis 20 ans aussi bien que le tableau de composition de la micelle, révèlent la présence de 8 % d'ions Ca^{++} , Mg^{++} , phosphate et citrate qui participent activement, sous forme de ponts ioniques, à la structure quaternaire, la partie protéique étant elle-même constituée de 4 caséines α_{s1} , α_{s2} , β et γ (92 % en proportion variable). La micelle est capable de contenir 65 % d'eau grâce à sa structure spongieuse très souple.

Comme le montre le tableau 3, les micelles sont des agrégats instables en milieu acide (car elles se déminéralisent en caséine iso-électrique), et au froid, avec dissociation partielle. Pendant les premières 48 h à 4° C, on observe une élévation du taux de caséine soluble* jusqu'à un maximum de 42 % de la caséine totale, caséine pouvant renfermer jusqu'à 30 à 60 % de la caséine β . Entre 10 et 20° C, il se produit une réassociation et diminution de la caséine soluble (Ali, Andrews et Cheesemann, 1980). La structure initiale peut être retrouvée par chauffage à 60° C, 30 min. Cette instabilité à froid est minimum à pH 6,6 et lorsqu'on accroît la teneur en CaCl_2 , alors que l'urée accroît la libération de caséine soluble, phosphate et calcium.

Les micelles sont assez stables à la chaleur (120° C, 20 min) lorsqu'elles sont dans leur milieu naturel, le lait, alors que sous forme isolée, elles forment un gel (Lorient, 1977). La stabilité à la chaleur s'accroît lorsque la teneur en caséine s'élève et que celle du phosphate colloïdal diminue (Fox et Hearn, 1978 ; Schmidt, 1980).

C'est surtout grâce à la formation de complexe entre la caséine γ ou la caséine α_{s2} et la β -lactoglobuline par formation de pont disulfure et interactions hydrophobes que la stabilité peut être modifiée : ainsi les gels lactiques de yoghourt provenant de laits chauffés (> 90° C) sont moins fermes mais plus stables (Davies *et al.*, 1978).

* Non sédimentable à 38 000 g durant 2 h.

TABLEAU 1 - TABLE 1
Caractéristiques structurales des protéines du lait
Structural characteristics of milk proteins

Protéine	Contribution pondérale g/100 ml	Masse molaire (Daltons)	Nbre de particules par l/lait	Structure primaire							Structure secondaire
				Acides aminés					Partie prosthétique		
				totaux	acides*	basiques**	Cys***	Pro	P %	Glucides %	
1. Caséine micellaire :	2,6 (78)	2-18.10 ⁸	10 ¹⁷								voir composition
» α _{s1} B	1 (31)	23 900		199	32	25	0	17	1,1	0	Pelote statistique (P.S.)
» β A ²	0,75 (23)	24 000		209	21	20	0	35	0,56	0	
» χ B	0,38 (11,7)	19 000		169	29	17	2 (2)	20	0,22	5	
» γ A ²	0,4 (11,7)	21 000		181	14	17	0	34	0,1	0	
2. Protéines du lactosérum :	0,54 (17)										
β-lactoglobuline A	0,3 (8,5)	18 400	10 ²⁰	162	27	20	5 (1)	8	0	0	10 % Hélice α 30 % Struct. β 60 % P.S.
α-lactalbumine B	0,12 (3,7)	14 200	5.10 ¹⁹	123	17	15	8 (0)	2	0	0	26 % Hélice α 14 % Struct. β 60 % P.S.
Sérumalbumine	0,03 (0,85)	69 000	26.10 ¹⁷	542	136	65	35 (1)		0	0	mono, di et pentamères
Immunoglobulines (IgA, IgG, IgM)	0,05 (2)	160 000 à 1 000 000	15.10 ¹⁷						0	2 à 12	
Protéose-peptones	0,06 (1,7)	4 000-40 000							0,5 à 2,4	2 à 16	
3. NPN	0,16 (5)				teneur forte		0				

() Pour cent de l'azote total.

* Acides aminés acides : Glu, Asp.

** Acides aminés basiques : Lys, His, Arg.

*** 1/2 cystine (dont SH).

TABLEAU 2 - TABLE 2

Composition moyenne des micelles de caséine de lait de vache
(SCHMIDT, 1980) (%)

Mean values of the composition of casein micelles

			Proportion
1. Eau	65		
2. Matière sèche	35		100
— Protéines	32,2		92
Caséine α_{s1}		11,5	33
Caséine α_{s2}		3,8	11
Caséine β		11,5	33
Caséine χ		3,8	11
Caséine γ		1,4	4
— Matières minérales	2,8		7,8
Ca		1	2,9
Mg		0,035	0,1
Phosphate inorganique		1,5	4,3
Citrate		0,17	0,5
		34,7	

A 100° C, à pH 6,8 il est possible d'obtenir un gel à partir d'un lait enrichi en β -lactoglobuline (20 g/l) (Smits et Van Brouwershaven, 1980).

Les protéines du lactosérum suscitent un grand intérêt du fait de leur excellente valeur nutritionnelle, car riches en lysine, tryptophane et acides aminés soufrés. Les structures primaires de la β -lactoglobuline (Préaux *et al.*, 1979 ; Braunitzer *et al.*, 1979) et de l' α -lactalbumine (Brew *et al.*, 1970) induisent une structure spatiale très organisée stabilisée surtout par des ponts disulfures avec possibilité d'associations avec d'autres protéines ou de polymérisation.

La β -lactoglobuline présente chez les ruminants et certains monogastriques (trouie, ânesse et jument) n'a pas de fonction connue. Ses deux ponts disulfures sont mal définis, le groupe thiol libre lui permettant des associations avec d'autres protéines (α -lactalbumine, caséines α_{s2} ou χ). De nombreux travaux ont été réalisés sur sa dénaturation thermique qui se produit entre 50 et 75° C par un changement de conformation et démasquage de groupes SH (Lyster, 1970 ; Hillier *et al.*, 1979). La dénaturation est réversible pour une température inférieure à 65-70° C.

TABLEAU 3 - TABLE 3
Propriétés physiques et biologiques des protéines du lait
Physical and biological properties of milk proteins

	Principales propriétés physiques						Propriétés biologiques
	pHi	Solubilité		Sensibilité à la chaleur	Sensibilité au froid (4 à 7° C)	Absorbance spécifique A 280 1 % 1 cm	
		au pHi	avec Ca ⁺⁺ à 20° C				
1. Caséine micellaire	4,6	i	s	stable pour θ < 123° stable	dissociation partielle	10,1	{ — Fournitures d'azote et d'acides aminés. — Stimulation de la sécrétion de chymosine. — Action du CGP analogue à la sécrétine. — Transport de Ca sur fragments phosphorylés.
» α _{S1}	5,1	i	i				
» β	5,3	i	i	stable	soluble même avec Ca ⁺⁺		
» χ	4,1-4,5	i	s	stable	10,5		
» γ	5,8-6,4	i	i	stable			
2. Protéines du lactosérum							
β-lactoglobuline	5,2	s	s	in si θ > 75°	instable si θ < 8°	9,5	— Un des composants de la lactose synthétase. — fonction immunitaire.
α-lactalbumine	5,1	s	s	in si θ > 95°		20,9	
Sérumalbumine	4,8	s	s	in si θ > 65°		6,6	
Immunoglobulines	4,6-6,0	s	s	in si θ > 60°			
Protéose-peptone	3,7	s	s	stable			

i : insoluble ; s : soluble ; in : instable.

Jusqu'à 90° C la dénaturation irréversible suit une cinétique de second ordre avec une énergie d'activation élevée (E : 280 kJ/mole). Au-delà de 90° C, celle-ci n'est plus que de 55 kJ/mole. Le PCMB, réactif des groupes thiols, est moins bien fixé après dénaturation.

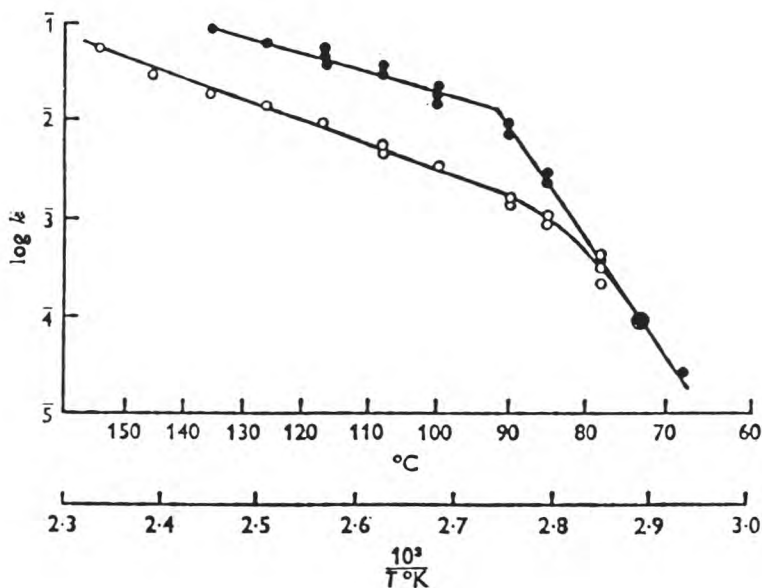


fig. 1

Diagramme d'Arrhénius de dénaturation thermique de l' α -lactalbumine (O-O) et de la β -lactoglobuline (●-●).

(d'après Lyster, 1970).

Arrhenius plot of heat denaturation from α -lactalbumin (O-O) and β -lactoglobuline (●-●).

Hillier *et al.* (1979) ont montré que la dénaturation était ralentie par un accroissement de l'extrait sec (c'est l'inverse pour l' α -lactalbumine) et du lactose et par un pH proche du pH isoélectrique (pH 4). La conséquence immédiate de la dénaturation irréversible est une perte rapide de solubilité qui elle-même peut induire d'autres modifications fonctionnelles.

L' α -lactalbumine, métalloprotéine contenant un atome de calcium (Hiraoka *et al.*, 1980) participe à l'activité de la lactosynthétase ; elle a une structure primaire et secondaire connue et a une faible tendance à la polymérisation. La dénaturation irréversible est obtenue à plus haute température que pour la β -lactoglobuline car l' α -lactalbumine possède 4 ponts disulfures et aucun groupe thiol libre. Si un groupe SH libre d'une autre molécule (β -lactoglobuline par exemple) réagit avec un pont S-S il y a association (complexe mixte β -lacto-

TABLEAU 4 - TABLE 4

Influence du chauffage sur les propriétés structurales, physiques et fonctionnelles des protéines du lait
Effects of heat on the structural, physical and functional properties of milk protein

Modifications		
Structurales	Physiques	Fonctionnelles
<p><i>Caséine</i></p> <ul style="list-style-type: none"> — Déphosphorylation, rupture de liaisons peptidiques → peptides. — Ponts covalents lysinoalanyle (pH élevé). 	<p>Baisse de sensibilité au calcium. Baisse de fixation des colorants. Courbes de titration modifiées. Formation de ponts ioniques diminuée.</p> <p>Solubilité diminuée.</p>	<p>Coagulabilité par la chymosine diminuée. Précipitation à haute température. Gélification si les micelles sont chauffées isolément.</p> <p>Modification de la coagulabilité.</p>
<p><i>Protéines du lactosérum</i></p> <ul style="list-style-type: none"> — Dénaturation. Stabilisation des liaisons hydrophobes, interactions entre ponts S.S., apparition de groupes S.H. — Ponts covalents en milieu alcalin. 	<p>Insolubilisation à l'interface eau/air. Perte d'activité biologique. Augmentation du pouvoir réducteur.</p> <p>Libération de H₂S.</p>	<p>Gélification par échange de ponts S.S. et interactions hydrophobes. Goût de cuit.</p>
<p><i>Caséine et protéines du lactosérum</i></p> <ul style="list-style-type: none"> — Complexe caséine χ-β-lactoglobuline (par liaisons S.S.). 	<p>Insolubilisation à l'interface eau/air. Baisse de sensibilité à la chymosine.</p>	<p>Coprécipitation (rapide si [Ca⁺⁺] élevée, pH 4,6) (Centri Whey). Stabilisation vis-à-vis de la coagulation enzymatique de la caséine. Gélification si concentration élevée en E.S. (50-60 %).</p>
<p><i>Protéines et lactose. Réaction de Maillard.</i></p>	<p>Diminution du pH. Augmentation du pouvoir réducteur.</p>	<p>Brunissement, arômes. Insolubilisation.</p>
<p><i>Caséine et minéraux</i></p> <p>Augmentation du phosphate de Ca colloïdal.</p>	<p>Association avec micelle.</p>	<p>Stabilisation des micelles. Retard de la coagulation par la chymosine.</p>

globuline - α -lactalbumine). L'addition de PCMB, réactif des groupes thiols, avant chauffage, ralentit la dénaturation à des températures inférieures à 125° C. En pH neutre et alcalin, en absence de groupes thiols, il y a attaque lente des ponts disulfures par les ions OH⁻ avec formation de déhydroalanine, d'H₂S et d'acide cystéique qui peuvent à leur tour attaquer les ponts S-S (accélération de la dénaturation). La stabilité thermique de l' α -lactalbumine peut aussi être attribuée à la forme cyclique de la molécule.

Bien qu'ayant des ponts disulfures, les *immunoglobulines* n'ont pas leur dénaturation affectée par les réactifs de groupes SH (PCMB). Dans le lait froid, elles s'associent aux globules gras et les agrégats obtenus remontent en surface ; cette propriété disparaît au cours de la dénaturation.

Un tableau récapitulatif des modifications physiques induites par le chauffage montre les relations entre modifications structurales physiques et fonctionnelles. Les traitements mécaniques et les modifications de milieu participent également à ces changements structuraux.

2. Propriétés fonctionnelles des protéines laitières

2.1. DÉFINITION DES PROPRIÉTÉS FONCTIONNELLES ET INFLUENCE DE LA STRUCTURE

Un essai de définition a été donné récemment (Pour El, 1981) ; il s'agit de toute propriété (propriétés nutritionnelles exclues ou incluses) d'une substance qui a une influence sur son utilisation.

Les propriétés fonctionnelles utilisables en technologie alimentaire (rétention d'eau et de substances volatiles, solubilité, coagulation, gélification, émulsification, moussage...) dépendent étroitement des propriétés d'hydratation et de surface qui elles-mêmes résultent d'interactions des divers éléments de structure des protéines. Ce souci de relier les effets macroscopiques de la fonction protéique à la structure spatiale devrait permettre d'extrapoler des résultats obtenus avec des protéines pures à des aliments de structure plus complexe. Cependant, les conditions de préparation et de traitement très variées engendrent une multitude de modifications difficilement appréciables et prévisibles.

D'après le tableau 5, deux types d'interactions peuvent induire des modifications de propriétés physiques ou fonctionnelles :

- interactions des chaînes latérales avec le solvant : selon la polarité et le caractère ionique de celles-ci, les propriétés d'hydratation ou de surface prédominent ;

- interactions des chaînes latérales entre elles ou avec d'autres constituants non protéiques. Selon le caractère covalent ou non de ces interactions, on assiste à une variation de stabilité des solutions ou des textures solides douées d'une plus ou moins grande réversibilité.

TABLEAU 5 - TABLE 5
 Relations entre propriétés physiques et fonctionnelles
Relationship between physical and functional properties

	Propriétés structurales	Facteurs influençant et type de réaction	Propriétés fonctionnelles
Interactions chaîne-solvant	<p>Groupes hydrophiles : hydratation</p> <p>fixation d'ions</p> <p>Groupes hydrophiles et hydrophobes</p> <p><i>Conformation hélicoïdale ou pelote statistique</i></p>	<p>Attraction de l'eau et de solutés vers les protéines.</p> <p>Répulsion de l'eau par les groupes hydrophobes ou les groupes non ionisés (caractère amphotère). Phénomène inverse pour les groupes hydrophiles.</p>	<p>Solubilité, dispersibilité dissociation, capacité de fixation d'eau (rétention), mouillabilité, épaississement. Précipitation, coagulation. Emulsification, fixation de substances hydrophobes apolaires (graisses), floculation par solvants apolaires (dénaturation), rétention d'arômes apolaires de pigments. Fixation d'air (moussage).</p>
Interactions chaîne-chaîne	<p>Interactions intermoléculaires non covalentes</p> <p><i>Conformation hélicoïdale, tridimensionnelle</i></p> <p>Interactions covalentes</p> <p><i>Conformation tridimensionnelle et polymérique</i></p>	<p>— Réactions entre groupes polaires ou apolaires. Action du froid → insolubilisation (interactions hydrogène). — Réactions accélérées par la chaleur (interactions entre groupes hydrophobes). — Formation de pont S.S. — Interactions isopeptidiques, lysinoalanyle. — Hydrolyse des liaisons peptidiques. — Fixation de peptides et acides aminés.</p>	<p>Formation de films, augmentation de la viscosité, formation de trouble, gélification. Formation de fibres, de gels, élasticité, texturation, dénaturation. Flocculation, coagulation. Baisse de solubilité, augmentation de de viscosité, élasticité. Baisse de solubilité et de viscosité. Formation de plastéines avec baisse de solubilité.</p>

Certaines propriétés existent déjà naturellement (pouvoir émulsifiant de la caséine...) alors que d'autres s'acquièrent au cours de traitements technologiques (gélification des protéines du lactosérum...).

2.2. LES PROPRIÉTÉS FONCTIONNELLES DES PROTÉINES LAITIÈRES NATIVES ET DÉNATURÉES

Comme les traitements technologiques modifient la structure tridimensionnelle et par suite les propriétés fonctionnelles, il convient, pour extraire les protéines du lait d'utiliser des méthodes douces qui limitent la dénaturation :

- ultracentrifugation des micelles de caséines ;
- ultrafiltration des protéines totales avec élimination du lactose et des sels ;
- précipitation par les polyphosphates ;
- électrodialyse avec élimination des sels et d'un peu de lactose ;
- échange d'ions (CM cellulose, Séphérosil).

Malgré ces méthodes, la dénaturation peut se produire par modification même momentanée du pH, de la concentration en sels ou de la température.

La solubilité

Cette propriété est particulièrement importante car elle est en relation avec les autres propriétés telles que la viscosité, l'aptitude à la gélification, à l'émulsification ou au moussage. Elle est aussi un critère de dénaturation. Elle dépend :

- du pré-traitement de séparation ;
- de la méthode de concentration : les procédés d'obtention par précipitation (sels ou chauffage) donnent aux concentrés une moins bonne solubilité (surtout à pH acide) (Morr *et al.*, 1973) ;
- des autres ions (Hermansson, 1972). La caséine précipite pour des concentrations en NaCl supérieures à 15 % alors qu'il n'en est rien pour les protéines de LS (concentration élevée par rapport au salage [2 %]) ;
- du pH. Seule la caséine perd sa structure native au pH_i avec la libération de submicelles car le phosphate du Ca qui stabilise les micelles se dissout à pH 5,2 ;
- de la température. A partir de 65°-70° C, les protéines de LS perdent leur solubilité par dénaturation. La pasteurisation basse ne cause pas de précipitation (traitement trop doux et stabilisation par les micelles). La pasteurisation haute permet une coprécipitation avec les micelles. La précipitation dépend elle-même du pH (de Wit, 1981) et de la concentration en Ca⁺⁺ et en sels. Les ions Ca⁺⁺ accélèrent la déstabilisation alors que les complexants sont protecteurs (Webb et Bell, 1942) vis-à-vis de la coagulation thermique des laits concentrés ;

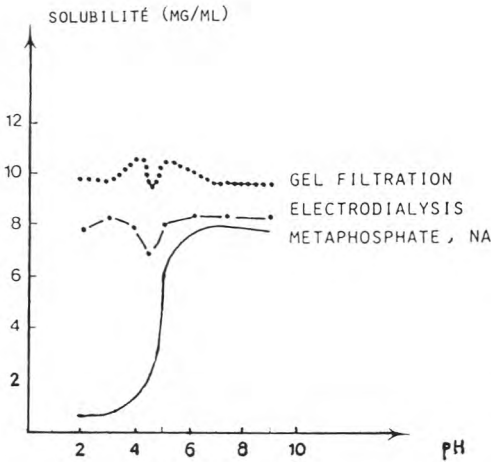


fig. 2

Solubilité de différents concentrés protéiques de lactosérum.

Solubility of different whey protein concentrates.

(d'après MORR *et al.*, 1973).

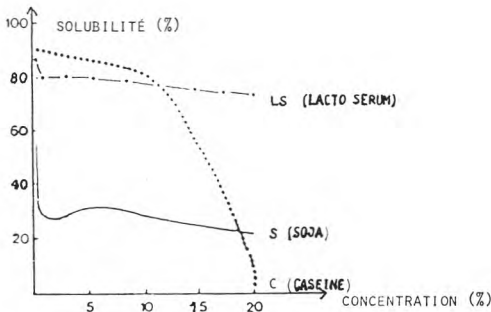


fig. 3

Influence de la concentration de NaCl sur la solubilité.

Effect of NaCl concentration solubility.

(d'après HERMANSSON, 1972).

— des autres constituants. Les coprécipités précipitent moins facilement que les protéines pures (β -lactoglobuline) (de Wit, 1981), le minimum de solubilité étant lui-même atteint à pH 4,6.

Absorption d'eau - Gonflement

Les protéines de LS atteignent un maximum d'absorption assez faible après 5 à 10 mn de contact. Les caséinates, au contraire, fixent plus d'eau mais après 1 h de contact. Ce gonflement est peu modifié par le pH ou la concentration en sels. L'eau liée non congelable est un peu plus élevée pour la β -lactoglobuline que pour la caséine (0,5 contre 0,4 g/g). Un chauffage à 80° C durant 45 s des protéines de LS améliore cette capacité de fixation (utile en pâtisserie et charcuterie) ce qui est probablement dû à la baisse de solubilité.

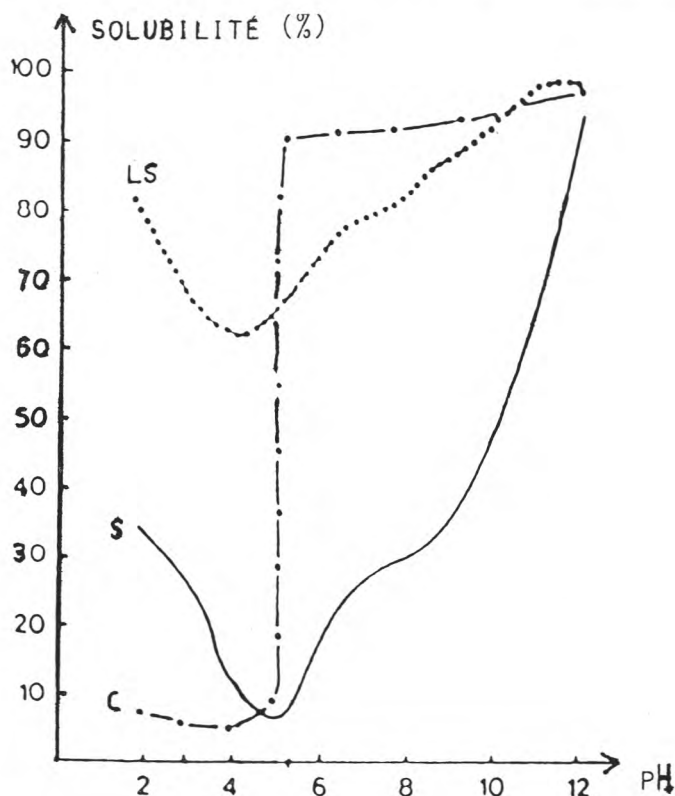


fig. 4

Influence du pH sur la solubilité (d'après HERMANSSON, 1972).

Effect of pH on the solubility.

Coagulation - Gélification - Flocculation

Flocculation : elle résulte de la formation d'une structure tridimensionnelle contenant de l'eau qui provient elle-même de l'équilibre entre interactions de répulsion électrostatique et interactions d'attraction de Van der Waals.

Coagulation : elle peut être considérée comme une aggrégation désordonnée telle qu'elle se produit au cours d'une dénaturation thermique ou de la formation de paraphosphocaseinate de Ca.

Gélification : elle implique la formation de structures continues plus ou moins ordonnées avec déroulement, déplissement de la chaîne protéique (avec apparition de chaînes latérales d'acides aminés capables de former des liaisons hydrogènes et ioniques), et rupture de liaisons intramoléculaires, puis réarrangement par liaisons intermoléculaires.

En chauffant des solutions de protéines de LS de concentration supérieure à 8 %, un gel se forme après refroidissement.

Les caséines ne peuvent former de gel que sous forme de micelles seules (chauffage à 120° C, 20 mn) (Lorient, 1977) ou de paraphosphocaseinate de Ca. La gélification qui se forme dans les laits UHT serait plutôt due à une réactivation des protéases thermostables de micro-organismes et qui agiraient comme la chymosine (Schmidt, 1980). La fermeté des gels dépend :

— *du traitement thermique* : une solution à 10 % de protéines de LS est chauffée à 78° C. En élevant la température, la fermeté s'accroît alors que pour les protéines de soja, elle passe par un maximum à 80° C. Toutefois, par comparaison à la gélatine, ces gels ne sont pas très stables et on peut par pression expulser l'eau ;

— *du pH* : gels fermes en milieu acide ;

— *de la concentration protéique* : les gels sont stables à concentration élevée ;

— *des sucres présents* : des gels lactosériques très stables peuvent être obtenus par chauffage à 120° C en présence de saccharose (lacto gels : Legrand et Paul, 1977).

Propriétés émulsifiantes

Ces propriétés sont dues à la faculté de réduire les tensions interfaciales entre composants hydrophiles et hydrophobes d'un aliment. Elles sont directement liées à la solubilité de la protéine dans l'eau.

Les protéines ayant ces propriétés de surface auront un potentiel d'utilisation important dans les aliments contenant eau et graisses (charcuterie, viande, salade, condiment) : ce sont surtout les protéines de soja, de levure, les caséinates et de plus en plus les protéines de LS.

Ces propriétés sont définies par la capacité émulsifiante (quantité d'huile pouvant être émulsifiée par unité de masse de protéine avant inversion de phase) et la stabilité (aptitude à garder l'émulsion inchangée pendant un certain temps). En général, la capacité émulsifiante croît avec la concentration (optimum à 2-3 %), les caséinates de Na ayant la meilleure capacité.

Une étude de Nizo sur les protéines de LS ultrafiltrées montre que la solubilité et la capacité émulsifiante décroissent si la température de chauffage croît. Les pH élevés améliorent les capacités émulsifiantes des caséinates alors que l'optimum est obtenu à pH 5,6 pour les protéines de LS.

Propriétés moussantes

Très appréciées en pâtisserie (cakes, soufflets, meringues) ces propriétés résultent d'un déplissement partiel des protéines qui s'orientent à l'interface eau/air (propriétés amphipolaires). Un déplis-

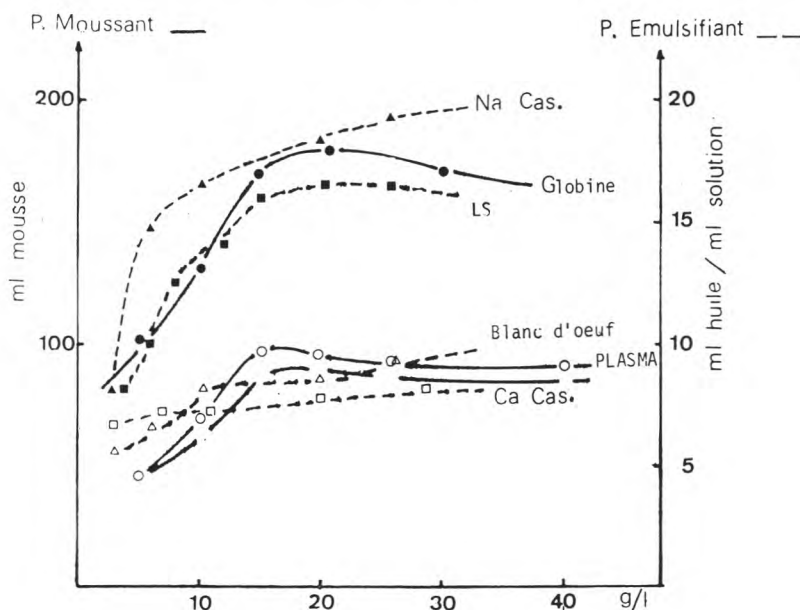


fig. 5

Influence de la concentration protéique sur la capacité émulsifiante et moussante.

———— d'après TYBOR *et al.* (1975).

----- d'après HIDALGO (1978).

Effects of protein concentration on the emulsifying and foaming capacities.

sement complet conduirait à une dénaturation et à une précipitation de la mousse.

Ces propriétés sont définies par le *foisonnement* maximum (% d'accroissement de volume) ou capacité moussante et par la *stabilité* (temps pour maintenir ce volume maximum).

Les protéines laitières ont une faible capacité moussante par rapport au blanc d'oeuf, aux protéines de soja ou du sang. Les protéines dénaturées ont en général de bonnes propriétés moussantes. Souvent un chauffage modéré ou une hydrolyse partielle peuvent améliorer ces propriétés et surtout la stabilité des mousses provenant de protéines de lactosérum (Paquet *et al.*, 1978).

Propriétés d'écoulement (ou hydrodynamiques)

Trois comportements peuvent être observés :

— protéines très solubles avec capacité de fixation d'eau *faible* : solutions peu visqueuses (LS) ;

— protéines solubles avec capacité de fixation d'eau *élevée* : solutions très visqueuses composées de particules partiellement solubles et gonflées (caséinates de Na) ;

— protéines peu solubles et fixant peu d'eau : solutions visqueuses à faible concentration (protéines de soja).

Ces propriétés sont modifiées par le pH, la concentration en sels et les traitements thermiques (début de gélification). Toutes ces propriétés peuvent aussi être modifiées par des réactions enzymatiques (protéolyse, déphosphorylation) et des réactions chimiques (addition de chaînes latérales ou blocage de celles-ci).

Ces traitements de modification chimique ou enzymatique peuvent avoir 3 buts :

- arrêter la réaction de dégradation ;
- améliorer la valeur nutritive ;
- améliorer les propriétés physiques ;

II. LES PRINCIPALES PREPARATIONS DE PROTEINES LAITIÈRES : CASEINES ET COPRECIPITES

1. Production

Elle résulte d'une précipitation acide ou d'une coagulation enzymatique de lait écrémé suivie d'une élimination du lactosérum, de plusieurs lavages, d'un essorage et d'un séchage du coagulum.

Trois types de caséines sont produits : 1. *La caséine acide* précipitée par un acide minéral (chlorhydrique ou sulfurique). Un chauffage à 50-55° C facilite l'agglomération des particules de caséine. 2. *La caséine lactique* précipitée lorsque du lait écrémé pasteurisé est incubé à 22-26° C en présence de bactéries lactiques (*S. cremoris* : 0,1 à 0,5 %) durant 14 à 16 h. Le coagulum est chauffé comme précédemment. La caséine obtenue diffère de la précédente par une protéolyse probable limitée due aux bactéries lactiques. 3. *La caséine présure* provenant de la coagulation du lait écrémé par la chymosine (E/S : 1/7000 ; 29° C ; pH 6,6). On obtient du paraphosphocaseinate de Ca qui a perdu le caséinoglycopeptide et qui est modifié et minéralisé.

Dans le but d'obtenir après précipitation de la caséine un lactosérum peu minéralisé, on peut acidifier le lait par échange ionique sur résine cationique (procédé Triballat).

Une revue récente des améliorations techniques de la préparation des caséinates a été réalisée par Segalen (1981).

2. Propriétés

Les caséines acide et présure sont peu solubles dans l'eau ; les particules sèches se gonflent au contact de l'eau. La caséine acide peut

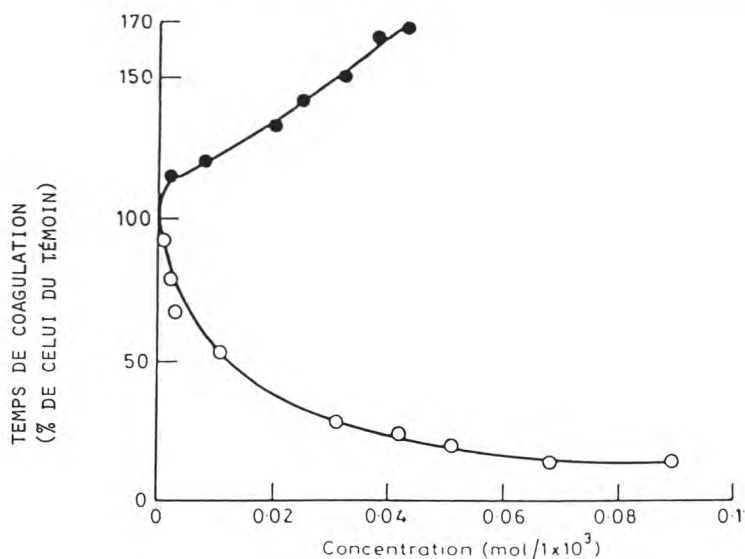


fig. 6

Effet de l'addition de poly-L-Lysine (○) et de poly-L-Glutamate (●) sur le temps de coagulation du lait écrémé par la Chymosine.

(d'après CHEESEMAN, 1981).

Effect of addition of poly-L-Lysine (○) and poly-L-Glutamate (●) on rennet clotting time of skim milk.

être solubilisée à pH alcalin ou neutre par ajout de potasse, de carbonate, de bicarbonates, de phosphate trisodique ou de borax. La caséine préseure peut être aussi solubilisée par des solutions de poly-phosphates à pH 7-8 ou par la soude à un pH supérieur à 9,5 grâce à une dissociation des ponts calciques. Les solutions de toutes les caséines sont très visqueuses à des concentrations supérieures à 15 % et peuvent former, après séchage, des films ou des adhésifs. A pH 6 à 7, les agrégats de caséinate sont plus petits et sensibles aux fluctuations de pH et de force ionique que les micelles contenant du phosphate de Ca colloïdal (Rose, 1965).

Les propriétés émulsifiantes des caséinates sont dues à leur conformation unique en pelote statistique (zones hydrophiles et hydrophobes distinctes) et à leur structure en agrégats dissociables à pH très alcalin ou par élimination de Ca^{++} . L'addition de réactifs qui altèrent la disponibilité des groupes ionisables aura une grande influence sur ces propriétés : amélioration de la capacité émulsifiante par modification chimique (Sen *et al.*, 1981 ; Schwenke *et al.*, 1981), ou par plastéation (Arai et Watanabe, 1980). De même, les agents dissociants accroissent la solubilité et les capacités émulsifiantes et moussantes, cet effet étant d'autant plus marqué que la concentration

Modifications chimiques	Réactifs	Groupes modifiés	Incidences fonctionnelles
1. <i>Oxydation</i>	H ₂ O ₂ , acide performique	— SH → -SO ₃ H — S-S ↗	Baisse de solubilité.
2. <i>Réduction</i>	Na Borohydrure H ₂ + Ni Mercapto-éthanol	Rupture de liaisons (-S-S-)	Accroissement de la solubilité. Formation de gels à forte concentration.
3. <i>Attachement covalent</i> : — Acétylation — Succinylation — Carbamylation	Anhydrides d'acides	— NH ₂ (Lys) > NH (His) — phenolic (Thyr)	— pH de minimum de solubilité modifié (< pH 3,5). — La caséine χ modifiée ne peut stabiliser la caséine α_{S1} . — Freinage de la coagulabilité de la caséine modifiée par la Chymosine, — Diminution de la capacité émulsifiante après succinylation faible (20 %). Accroissement si succinylation élevée. — Altération de la sensibilité à la température des associations intermoléculaires. — Sensibilité aux cations divalents accrue si la longueur des chaînes s'accroît → systèmes très associés.
— Carboxylation — Carboxyméthylation	Iodoacétate	— SH (Cys) — NH ₂ (Lys)	Inhibition de la coagulabilité par la Chymosine des caséines modifiées. Brunissement. Sensibilité accrue aux cations divalents.
— Réaction de type Maillard	Aldéhydes	— NH ₂ (Lys)	
— Phosphorylation	P ₂ O ₅ , POCl ₃	— OH (Ser)	
4. <i>Fixation de glucides</i> : — Oses et disaccharides — Polysaccharides sulfatés	Fructose-glucose, lactose, carraghénates	Alkylation de Lys	Accroissement de la stabilité à la chaleur, de la solubilité. Gélification avec formation de complexes avec micelles.
5. <i>Adsorption de poly-électrolytes</i>	Poly Lys	Fixation sur charges —	Inaltérabilité du temps de coagulation par la Chymosine après chauffage à 85° C/30 min.
	Poly Glu	Fixation sur charges +	Inhibition des interactions entre ponts disulfures et de la formation du complexe entre caséine χ et β -lactoglobuline.
<i>Adsorption de molécules hydrophobes</i>	Na dodécyl sulfate, tween 80, spermine	sur groupes hydrophobes	Propriétés de surface modifiées : variable avec la nature des caséines.

TABLEAU 7 - TABLE 7

Modifications enzymatiques des caséines et incidences fonctionnelles
Enzymic modifications of the casein and functional consequences

Modifications enzymatiques	Enzyme utilisée	Produits de la réaction	Incidences fonctionnelles
Protéolyse limitée du constituant χ de la caséine micellaire	— Chymosine — Protéases coagulantes	GMP } Peptides } hydrophiles	Gélification - coagulation. Paraphosphocaseinate de Ca.
Protéolyse limitée de la caséine β	— Protéase du lait — Plasmine	Caséine γ Protéose-peptone hydrophiles (P et G)	Accroissement du pouvoir émulsifiant et moussant de la caséine.
Protéolyse sévère de la caséine	— Trypsine, pepsine — Autres protéases : Pronase Pancréatine	Gros peptides Petits peptides, acides aminés	Flocculation et sédimentation des peptides hydrophobes. Perte de toutes les propriétés de la caséine → soluble à pH 4,6.
Protéolyse sévère de la caséine (succinylée ou non) → <i>plastéination</i>	— Pepsine, Papaïne, Chymotrypsine, concentration (25-30 %)	Petits peptides PM 400-800	Accroissement de la viscosité puis gélification. Accroissement de la capacité émulsifiante si attachement de L. Nor Leucine dodécyl ester.
Déphosphorylation des caséines α_s et β et micellaires	Phosphatase alcaline du lait Phosphatase acide de pomme de terre	Protéines déphosphorylées (caséine α_s) + Pi	Diminution de la sensibilité au Ca^{++} . Dissociation des micelles. Baisse de la coagulation par la Chymosine.

protéique est faible (2 à 3 %). Enfin, on peut remarquer que les poudres de lait écrémé ont de meilleures propriétés émulsifiantes que les caséinates avec un pH optimum voisin de 5,6.

Les caséinates et surtout la caséine micellaire peuvent former des gels dans diverses conditions (Green, 1980) :

— *la caséine micellaire dispersée* dans un lactosérum synthétique (Jenness et Koops, 1962) puis chauffée à 120° C, min forme un gel ferme, blanc et stable ;

— *une protéolyse limitée* par la chymosine ou des protéases coagulantes de la caséine provoque la libération de caséinoglycopeptide très hydrophile, ce qui réduit suffisamment l'importance des charges négatives des micelles et leur permet de s'associer en gel. Les paramètres de coagulation peuvent être modifiés par l'addition de complexants du Ca^{++} , de polyélectrolytes (Marshall et Green, 1980 ; Di Gregorio et Sisto, 1981) ou par modification de chaînes latérales des caséines : déphosphorylation (Reimerdes et Roggenbruck, 1980), blocage de résidus lysyle (Hill et Cracker, 1968), méthionyle (Hill et Laing, 1965) et arginyle (Hill, 1970) ou encore blocage des groupes SH par formation de complexes entre caséine γ et autres protéines à SH (Sawyer, 1969 ; Wilson et Wheelock, 1972). L'effet des agents alkylants sur la coagulation par la chymosine a également été étudié par Wilson *et al.* (1974).

D'autres types de gels peuvent être obtenus par coprécipitation des caséines avec les protéines du lactosérum en chauffant puis en abaissant le pH à 4,6 ou en ajoutant CaCl_2 . Des gels sont obtenus également par chauffage (90° C, 30 min) de lait écrémé reconstitué à 50-60 % d'extrait sec (Kalab *et al.*, 1977). Cela permet d'obtenir des coprécipités à faible et forte teneur en calcium (2,5 à 8 % de cendres). Ces coprécipités sont insolubles et contiennent 83 % de caséine. Par élévation du pH ou ajout de tripolyphosphate de sodium, la caséine se solubilise en laissant en suspension des particules de lactalbumine.

Les tableaux 6 et 7 résument l'action de traitements chimiques et enzymatiques sur les propriétés fonctionnelles de la caséine.

Ces traitements confèrent aussi aux caséines des propriétés non alimentaires telles que :

— formation de glues en présence de chaux (formation de cross-links) ;

— formation de film et de fibre par texturation (filage par coagulation d'une solution à 20 % de soude) ;

— formation de matières plastiques (galalithe, casolithe...) (Southward et Walker, 1980).

De nouveaux procédés de texturation permettront d'envisager une plus grande diversité des utilisations des caséines et coprécipités (English, 1981).

III. EFFETS DES TECHNOLOGIES DE PREPARATION DES CONCENTRES PROTEIQUES DE LACTOSERUM SUR LEURS PROPRIETES FONCTIONNELLES

Les conditions de traitement, ainsi que la composition et les propriétés fonctionnelles des concentrés ou isolats protéiques obtenus sont résumés dans le tableau 1.

1. Précipitation thermique dans la zone de pH isoélectrique

C'est la méthode de préparation la plus ancienne et la moins coûteuse. Un lactosérum doux (pH 6,5 environ) est porté à 85-100° C pendant environ 30 mn, puis acidifié à chaud à pH 4-4,8. Le rendement de précipitation des protéines est proche de 95 %. Lavées, centrifugées, elles donnent un caillé fortement hydraté qui peut être séché par différents moyens. Divers procédés continus ont été mis au point (Centri Whey; Bel Industries). La composition de la poudre varie, mais la teneur en protéines est toujours élevée, supérieure à 80 % (Guy *et al.*, 1967; Greig, 1979 a).

Du fait de la dénaturation-agrégation des constituants protéiques, les propriétés fonctionnelles sont faibles. La solubilité protéique dans l'eau est quasi nulle. Seul le pouvoir d'absorption et de rétention d'eau reste appréciable : jusqu'à 6 g d'eau par g de protéine. Cette propriété, ainsi qu'une vitesse rapide d'absorption d'eau, nécessitent cependant un séchage doux, par atomisation par exemple. On observe alors une faible densité de la poudre obtenue, correspondant à une porosité interne élevée. Mais c'est surtout la surface des particules de poudre qui doit rester rugueuse, peu compacte, poreuse (Greig, 1979 b, c, d, e, f; Jelen *et al.*, 1979; Short, 1980).

Les préparations absorbant peu d'eau peuvent être utilisées pour l'enrichissement protéique de produits de cuisson à base de céréales ; les préparations plus performantes ont des applications plus nombreuses.

Divers traitements de modification ont été proposés pour améliorer les propriétés fonctionnelles de ces protéines précipitées par la chaleur : le traitement alcalin à chaud donne un protéinate très soluble, doté d'un bon pouvoir gélifiant et moussant, mais on sait que les traitements alcalins affectent les résidus de lysine et de cystéine, avec formation éventuelle de lysinoalanine et de lanthionine (Jelen et Schmidt, 1976). L'hydrolyse partielle avec des protéases augmente aussi la solubilité, mais peut provoquer l'apparition de peptides amers et donner des préparations dépourvues de pouvoir gélifiant et/ou émulsifiant (Monti et Jost, 1978). Leur pouvoir moussant mériterait d'être étudié, puisqu'il semble que les peptides comme les protéoses-

TABLEAU 1 - TABLE 1

Influence des traitements technologiques du lactosérum sur les propriétés fonctionnelles protéiques
Influence of processing on the functional properties of whey proteins

Traitement	Rendement de récupération de l'azote (%)	Composition du concentré protéique sec				Propriétés fonctionnelles protéiques					Référence
		P (%)	La (%)	Mi (%)	Li (%)	Sol. N (%)	Abs. H ₂ O (ml/g)	Gél.	Emul.	Mousse	
Précipitation thermique à pH isoélectrique											
30 min, 85-100° C, pH 4-4,8 + centrifug., + atomis.	95	78-92	3-17	1-4	2-4	0	2-6 (si séchage doux)	ε	ε	ε	nombreuses
Idem + chauffage à pH alcalin.						+		+		+	JELEN, SCHMIDT, 1976
Idem + protéolyse partielle (trypsine, etc.)		84	23	3	4,5	+ >90 (pH 6) >65 (pH 4,5)					MONTI, JOST, 1978
Idem + succinylation						5-20	16-18	0	+ (300 ml huile/g prot.) (stable)	—	THOMPSON, REYES, 1980
Traitement thermique à pH acide											
15 min, 95° C, pH 2,5-3,5 + précipit., pH 4,5 + centrif. + atom.	35-53	20				75 (pH 4,6)	+ (viscosité élevée)	+			MODLER, EMMONS, 1977

TABLEAU 1 - TABLE 1 (suite)

Traitement	Rendement de récupération de l'azote (%)	Composition du concentré protéique sec				Propriétés fonctionnelles protéiques					Référence
		P (%)	La (%)	Mi (%)	Li (%)	Sol. N (%)	Abs. H ₂ O (ml/g)	Gél.	Emul..	Mousse	
Idem + ultrafiltration avant ou après traitement thermique	60	39		4		40-70	1,7-1	+ T° gélif. 52-72° C (blanc d'œuf 67-73° C)			MODLER, HARWALKAR, 1981
8 min, 55° C, pH 2-4 + neutralisation (sur divers lactosérums à 5 % de protéines)										+ (capacité, stabilité)	PAQUET <i>et al.</i> , 1978
Traitement thermique à pH neutre 10-20 min, 80-85° C, pH 7,5 (sur lactosérum « clarifié » à 3 % de protéines)						74-98 (pH 7,5)			+	+ (stabilité)	DE WIT, HONTELEZ- BACKX, 1981
« Clarification » = déminéralisation à 92 % par échange d'ions + acidification à pH 4,5 + centrifugation	90						+ (immuno- globulines éliminées)		+ (stable)	+ (capacité) proche blanc d'œuf	Brevet Nizo, 1975

TABLEAU 1 - TABLE 1 (suite)

Traitement	Rendement de récupération de l'azote (%)	Composition du concentré protéique sec				Propriétés fonctionnelles protéiques					Référence
		P (%)	La (%)	Mi (%)	Li (%)	Sol. N (%)	Abs. H ₂ O (ml/g)	Gél.	Emul.	Mousse	
Electrodialyse (industrielle)		27-37	40-60	1,5-20 (Ca 0,15-0,69)	2,4	90 (pH 2,4, 6,8 (12 à 40 % de dénaturation apparente à pH 4,6)		+	+(40 ml huile/g protéine)	+(capacité foisonnement : 0-1000 % œuf : 900 % caséinate Na : 1100 %	MORR <i>et al.</i> , 1973 DELANEY, 1976
Remplacement du Ca ²⁺ par Na ⁺ par échange d'ions avant ultrafiltration		0 à 100 % de remplacement du Ca ²⁺				89 (pH 4,5 ; avec Ca) 95 (pH 4,5 ; sans Ca)		+(élévation fermeté, élasticité, transparence et temps de gélification)		— (capacité et stabilité)	JOHNS, ENNIS, 1981
Précipitation par poly-électrolytes											
Précipitation par l'acide polyacrylique à pH 4, lavage, relâchement par précipitation de l'acide polyacrylique par carbonate de Ca	85	80-84 pas d'acide polyacrylique	3-6,5	0,9-13	0,1-1	+(pH 3 à 9)		+(T° gélif. 68° C		+(proche blanc d'œuf)	STERNBERG <i>et al.</i> , 1976

TABLEAU 1 - TABLE 1 (suite)

Traitement	Rendement de récupération de l'azote (%)	Composition du concentré protéique sec				Propriétés fonctionnelles protéiques					Référence
		P (%)	La (%)	Mi (%)	Li (%)	Sol. N (%)	Abs. H ₂ O (ml/g)	Gél.	Emul.	Mousse	
Précipitation par le mé-taphosphate de Na		56-60	13-20	10-18 (Ca : 1,9)	5-7	73 (pH 6) 25 (pH 2-4)			+	0	MORR <i>et al.</i> , 1973 DELANEY, 1976
Adsorption des protéines sur échangeur d'ions											
Procédé Vistec ; carbo-xyméthyl cellulose insoluble. Ads. pH 4, lavage, élution pH 9, ultrafiltration, atomisation		95-97	traces	3	0,5	98 (pH 3 et 8) 35 (pH 4,5)		+ T° gélif. 58° C (blanc d'œuf : 51° C)		+ (cap. et stabil.) (proche blanc d'œuf)	PALMER, 1977 BURGESS, KELLY, 1979 HILLIER, CHEESEMAN, 1979
Procédé sphérosyl : billes de silice poreuses avec groupements ioniques	90	83-92	0,5	2-4	< 0,5			+		+ (proche blanc d'œuf)	MIRABEL, 1978, 1981

TABLEAU 1 - TABLE 1 (suite)

Traitement	Rendement de récupération de l'azote (%)	Composition du concentré protéique sec				Propriétés fonctionnelles protéiques					Référence
		P (%)	La (%)	Mi (%)	Li (%)	Sol. N (%)	Abs. H ₂ O (ml/g)	Gél.	Emul.	Mousse	
Filtration sur gel (laboratoire ou industriel)		45-77	8-25	3-14 (Ca : 0,35-1)	0,8-5,2	80-95 (tous pH)	0,5-1,8 (2,5 pour caséinate Na)	+	+(420 ml huile/g prot.)	+ foisonnement : 600-750 % (blanc d'œuf : 900 % caséinate Na : 1100 %)	HERMANSSON, 1972 MORR <i>et al.</i> , 1973 DELANEY, 1976
Ultrafiltration (avec diafiltration éventuelle)	> 90	30-70	15-55	0,4-6 (Ca : 0,26-0,67)	1,5-15	62-95 (tous pH)	0,5	+	+(400 ml huile/g prot.) (volume phase huile à l'inversion = 61 % ; isolat soja = 80 %)	+ foisonnement : 450-900 % (stable)	MORR <i>et al.</i> , 1973 DELANEY, 1976

peptones abaissent efficacement la tension superficielle et sont en partie responsables des propriétés moussantes du lactosérum.

On peut aussi améliorer les propriétés fonctionnelles des protéines dénaturées au pH isoélectrique par greffage de groupements chimiques. Thompson et Reyes (1980) en succinylant 70 à 80 % des chaînes latérales de lysine, ont observé une élévation de la solubilité, de la capacité d'absorption d'eau (jusqu'à 18 g d'eau/g de protéine), et du pouvoir émulsifiant. Les protéines ne gélifient pas, mais cette thermostabilité peut aussi présenter des avantages. Les modifications de propriétés s'expliquent par la transformation des groupements ϵ aminés en groupements anioniques porteurs de charges négatives aux pH proches de la neutralité. Les répulsions électrostatiques étirent, déplissent, dissocient les molécules et augmentent les possibilités d'interactions avec l'eau ou avec l'interface huile/eau, au détriment des interactions protéine-protéine. On sait cependant qu'une telle réaction d'acylation fait appel à un réactif chimique et modifie l'utilisation nutritionnelle protéique. On peut donc s'attendre à des obstacles réglementaires.

2. Traitements thermiques à pH acide

Modler et Emmons (1977) ont montré qu'un traitement thermique du lactosérum pendant 15 mn à 95° C et à un pH compris entre 2,5 et 3,5 suivi d'un ajustement à froid à pH 4,5, ne permettait de récupérer que 35 à 50 % de l'azote mais que les préparations obtenues présentent, après neutralisation et séchage, des propriétés de solubilité, de viscosité et de gélification intéressantes.

Le même groupe de chercheurs canadiens (Modler et Harwalkar, 1981), en pratiquant une ultrafiltration immédiatement avant ou après le traitement thermique acide, a réussi à porter le rendement de récupération de l'azote à 60 %, ce qui, compte tenu de l'élimination de l'azote non protéique, correspond à une récupération de 70 à 80 % des constituants protéiques. Les poudres obtenues contiennent environ 40 % de protéines et 4 % de minéraux ; leurs propriétés fonctionnelles dépendent du pH du traitement thermique : à pH 3,5 (et avec chauffage *après* ultrafiltration) on observe, la dénaturation la plus marquée, la solubilité à pH 4,5 la plus faible (\approx 40 %), la capacité d'absorption d'eau la plus élevée (1,7 g), la viscosité la plus forte, et la température de gélification la plus basse. De telles préparations pourraient être utilisées dans les produits carnés, tandis que celles obtenues après chauffage à pH 2,5, plus solubles, conviendraient mieux pour la fabrication par exemple de pâtes à tartiner. Ainsi donc une même matière première initiale peut donner naissance à toute une gamme de propriétés fonctionnelles, en ne modifiant que très légèrement les conditions de traitement. Il reste cependant à savoir si les résultats seraient reproductibles en pratique industrielle, malgré les variations de composition des lactosérum, par exemple.

A noter aussi dans la catégorie des traitements thermiques acides, les travaux de Paquet *et al.* (1978, 1979) où le traitement thermique d'un lactosérum (dé lactosé et concentré) à pH 2 et 55° C pendant moins de 8 mn, suivi de neutralisation, provoque une amélioration très marquée des propriétés moussantes. La cause en est probablement la dénaturation sans agrégation entraînée par de tels traitements thermoacides, et non la légère hydrolyse mise en évidence par l'accroissement de l'azote non protéique.

Une parenthèse permettra d'indiquer ici que la *dénaturation thermique* à pH acide des protéines de lactosérum, et en particulier de la β -lactoglobuline, a fait l'objet d'études physicochimiques approfondies (Harwalkar 1979 et 1980 a et b). Les résultats, ainsi que ceux obtenus à d'autres pH (Hillier et Lyster, 1979 ; Hillier *et al.*, 1979 ; Hegg, 1980 ; de Wit, 1981 ; de Wit et Klarenbeek, 1981) sont résumés sur la figure 1. Ils nous intéressent tout particulièrement dans la mesure où ils pourraient expliquer l'amélioration de propriétés fonctionnelles.

La thermosensibilité de la β -lactoglobuline (qui à l'état natif est soluble à tous les pH et dans une large gamme de force ionique) domine celle de l'ensemble des protéines de lactosérum. Chauffée à pH 2,5, la β -lactoglobuline reste soluble. Deux espèces moléculaires sont observées : l'une (60 %) est soluble à pH 4,5 et identique à la protéine native ; l'autre (40 %) insoluble à pH 4,5, a subi à pH 2,5 une dénaturation profonde (1) et irréversible sans aucune agrégation (probablement du fait des répulsions électrostatiques existant à ce pH) (Harwalkar, 1980 a et 1980 b).

3. Traitements thermiques à pH neutre

Chauffée à 80° C à pH 6,8-7,5 la β -lactoglobuline subit une dénaturation très partielle, également sans agrégation et sans perte de solubilité. Il semble que le groupement sulfhydryle, démasqué et activé au-dessus de pH 6,8, provoque un réarrangement de pont disulfure intramoléculaire avec stabilisation thermique de la molécule. Le pic endothermique à 80° C est en effet très réduit, et le second pic endothermique à 140° C (qui correspond à la dénaturation des structures résiduelles) est très important (2) (de Wit et Klarenbeek, 1981) (fig. 1).

Parallèlement, lorsqu'un lactosérum « clarifié », et concentré à 3 % de protéines par évaporation, est chauffée à 80-85° C pendant 10 à 15 mn à pH 6,8 (3) ou 7,5, plus de 70 % de l'azote restent solubles, et

- (1) Avec augmentation de la rotation optique spécifique, et absence de pic endothermique en calorimétrie différentielle.
- (2) La présence d'un agent réducteur des ponts disulfure supprime ce second pic endothermique.
- (3) Le chauffage à pH 5,8-6,2 entraîne l'insolubilisation d'environ 50 % de l'azote sous la forme d'un précipité finement floconneux jugé compatible pour l'incorporation dans le fromage (Bel, 1975).

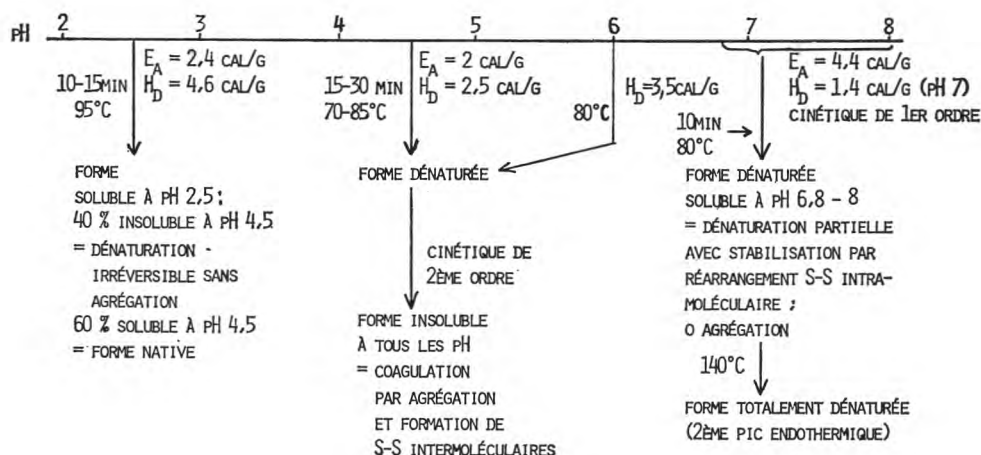


fig. 1

Dénaturation thermique de la β lactoglobulineThermal denaturation of β lactoglobulin

certaines propriétés fonctionnelles, en particulier le pouvoir moussant, semblent améliorées (de Wit et Hontelez-Backx, 1981; Nizo, 1979).

Les effets de tels traitements thermiques à pH acide et neutre méritent d'être approfondis, et interprétés à la lumière des études physicochimiques sur la dénaturation protéique. Le déplissement des structures globulaires compactes peut en effet démasquer des zones hydrophobes et conférer un caractère plus amphipolaire à la molécule, ce qui devrait améliorer les propriétés d'agent surfactant.

4. Déminéralisation

L'élimination partielle ou totale des sels minéraux peut avoir d'autres avantages que la réduction de la saveur salée et l'amélioration de l'utilisation digestive des préparations protéiques de lactosérum.

Des études conduites à l'Institut Néerlandais de Recherches Laitières ont en effet montré qu'une déminéralisation poussée (à 92 %) du lactosérum par échange d'ions, suivie d'une acidification à pH 4,5, provoque la précipitation d'une partie des immunoglobulines (insolubles à faible force ionique); cette précipitation entraîne aussi la précipitation spontanée de 99 % des bactéries et de 90 % des lipides et phospholipides (Nizo, 1975). Une telle « clarification » améliore la

conservation des concentrés protéiques de lactosérum, du fait de l'élimination de phospholipides très oxydables. On constate aussi que le pouvoir moussant et le pouvoir émulsifiant des protéines sériques sont améliorés et analogues ou supérieurs à ceux du blanc d'œuf. Des essais de réalisation de meringues et de cakes complètent ces affirmations (de Wit et Hontelez-Backx, 1981), mais la composition des préparations protéiques, le mode de séchage éventuel, et les méthodes d'évaluation des propriétés fonctionnelles ne sont pas suffisamment détaillés. Il est très probable que c'est l'élimination des lipides et phospholipides qui est responsable de l'amélioration du pouvoir moussant.

L'électrodialyse permet de réduire la teneur en sels minéraux, mais au moins deux groupes de chercheurs ont constaté que ce traitement, qui provoque une élévation de température, réduisait la solubilité protéique à pH 4,5 (Morr *et al.*, 1973 ; Delaney, 1976). Les préparations protéiques obtenues présentent toutefois des propriétés fonctionnelles appréciables, bien qu'assez variables.

Le remplacement, partiel ou total, des ions Ca^{2+} par des ions Na^+ , effectué à l'aide de résines échangeuses d'ions avant ultrafiltration, paraît améliorer le pouvoir gélifiant des concentrés protéiques de lactosérum (Johns et Ennis, 1981). Ces observations relèvent plus de l'influence des conditions de gélification que de la technologie de préparation des concentrés.

5. Précipitation par formation d'agrégats avec des polyélectrolytes

Divers agents complexants peuvent être utilisés pour précipiter et purifier les protéines de lactosérum ; le principe de la précipitation repose sur la formation d'agrégats macromoléculaires insolubles par l'intermédiaire de liaisons électrostatiques. La carboxyméthyl cellulose, l'acide polyacrylique, les polyphosphates comme l'hexamétaphosphate, le chlorure ferrique, le polyéthylène glycol, le chitosane, la bentonite, le lignosulfonate, le laurylsulfate de sodium ont été proposés (voir Humbert et Alais, 1981). Ces techniques sont peu coûteuses. La précipitation est effectuée à la température ordinaire. La solubilité du concentré protéique obtenu est souvent réduite, soit par dénaturation, soit parce qu'il est difficile d'éliminer totalement l'agent précipitant. Cette contamination constitue l'inconvénient principal de certaines de ces méthodes (carboxyméthyl cellulose, hexamétaphosphate).

La seule étude approfondie sur les propriétés fonctionnelles concerne la précipitation par l'acide polyacrylique, à pH 4 (0,25 g d'acide par g de protéine) (Sternberg *et al.*, 1976). Le précipité est centrifugé et traité par du carbonate de calcium, qui insolubilise l'acide polyacrylique. Le concentré protéique contient plus de 80 %

de protéines et moins de 0,001 % d'acide polyacrylique. Les constituants protéiques sont très solubles et donc peu dénaturés. Leurs propriétés gélifiantes et moussantes sont proches de celles du blanc d'œuf ; la concentration protéique minimale permettant la gélification est de 2,5 %, la texture et la capacité de rétention d'eau du gel sont élevées. La stabilité thermique des mousses est inférieure à celle obtenue avec le blanc d'œuf.

6. Adsorption des protéines sur échangeurs d'ions

Lorsque le polyélectrolyte précipitant est initialement insoluble, il est plus facile de le séparer totalement des constituants protéiques, et le procédé peut être assimilé à l'adsorption sur support échangeur d'ions.

Le procédé industriel Vistec fait appel à de la carboxyméthylcellulose insoluble. La fixation des protéines de lactosérum se fait à pH 4, et leur élution à pH 9. L'éluat est dilué et doit être concentré par ultrafiltration. On obtient un isolat protéique très purifié, dont la solubilité à pH 4,5 est relativement réduite (7 à 48 %), ce qui indique qu'il y a dénaturation partielle. Le pouvoir gélifiant est proche de celui du blanc d'œuf et supérieur à ceux de concentrés protéiques de lactosérum obtenus par ultrafiltration et atomisation. Il en est de même pour les propriétés moussantes, probablement en raison de la faible teneur en lipides et en lactose de l'isolat (Palmer, 1977 ; Burgess et Kelly, 1979 ; Hillier et Cheeseman, 1979). Le coût de production de cet isolat était évalué à 8 F/kg, et son prix de vente en tant que substitut de blanc d'œuf à 30 F/kg (en 1977).

Le procédé Sphérosil permet aussi de produire un isolat protéique à un coût proche de 6,5 F/kg (dont 3 F/kg hors séchage) (Mirabel, 1978 et 1981). Les échangeurs d'ions utilisés consistent en billes de silice de porosité contrôlée et stable (granulométrie : 200-300 μm ; volume poreux : 1 ml/g ; surface spécifique : 25 m²/g ; diamètre poreux : 1 250 Å) sur lesquelles sont greffés des groupements anioniques ou cationiques. La libre diffusion des protéines à l'intérieur des pores permet d'obtenir avec une cinétique rapide une fixation d'environ 130 g de protéine par kg de support. Les échangeurs d'ions et les pH d'adsorption et d'élution diffèrent selon que l'on utilise un lactosérum acide (pH 4,6) ou doux (pH 6,6). La concentration protéique de l'éluat est de 4,5 %, soit 8 fois celle du lactosérum initial. La solubilité et les propriétés fonctionnelles, moussantes en particulier, seraient proches de celle de l'ovalbumine. Ce procédé pourrait permettre d'isoler certaines des protéines du lactosérum, notamment les immunoglobulines. Si ce procédé peut fonctionner à l'échelle industrielle et à un coût raisonnable, il ouvre la voie à l'obtention de fractions protéiques probablement dotées chacune de propriétés fonctionnelles différentes.

7. Ultrafiltration, diafiltration, filtration sur gel

Pour préparer au laboratoire des concentrés ou des isolats protéiques peu dénaturés, on fait appel à la dialyse, à la chromatographie sur gel de type Sephadex et à l'ultrafiltration. Dans l'industrie aussi les concentrés ou isolats protéiques de lactosérum préparés par filtration sur gel, ultrafiltration, diafiltration, sont généralement les plus solubles et les plus performants sur le plan fonctionnel.

Il existe des procédés industriels de filtration sur gel (par exemple procédé Sephamatic), mais ils sont plus coûteux et beaucoup moins utilisés que l'ultrafiltration (Richert, 1975). Dans certains pays, près de 10 % des lactosérums sont actuellement traités par ultrafiltration. Cette méthode a fait l'objet de très nombreuses études et améliorations technologiques, portant notamment sur la chimie et la géométrie des membranes (Maubois *et al.*, 1981 ; Roger et Maubois, 1981). Pendant l'ultrafiltration, il se forme au niveau de la membrane une couche poreuse dite de « polarisation » qui modifie le débit au cours du temps, et en fonction du niveau de concentration atteint. Cette couche est constituée par une accumulation de microorganismes, de fines de caséines, de lipoprotéines provenant de la membrane des globules gras, de précipités minéraux (phosphate tricalcique) et de protéines dénaturées (immunoglobulines principalement) (Lee et Merson, 1975 ; Lee *et al.*, 1975). Ces constituants colmatants abaissent aussi le seuil moléculaire d'exclusion de la membrane, et affectent la rétention d'azote non protéique, de sels minéraux et de lactose. Divers prétraitements du lactosérum, et l'ultrafiltration à chaud (50-55° C) sous régime de turbulence permettent de limiter la teneur en constituants colmatants et d'éviter une baisse du débit de perméation. Parmi les prétraitements du lactosérum, on peut mentionner la clarification, la centrifugation, l'addition d'agents séquestrants du calcium, l'acidification des lactosérums doux, la déminéralisation par électrodialyse ou échange d'ions, la préconcentration, divers préchauffages à 55 ou 80° C, et plusieurs combinaisons de ces traitements. L'influence de ces prétraitements sur les propriétés fonctionnelles protéiques est peu connue, mais Hiddinck *et al.* (1981) ont montré qu'ils modifiaient la composition et la solubilité protéique des concentrés obtenus par séchage des rétentats d'ultrafiltration (tableau 2). Ce sont les prétraitements thermiques à pH 7,3 ou à pH 3,0 qui abaissent le plus la solubilité protéique ; dans le premier cas la teneur en matières minérales est augmentée, tandis qu'elle est abaissée lors de chauffage et d'ultrafiltration à pH acide (un tel pH solubilise en effet le phosphate de calcium colloïdal et facilite sa perméation à travers la membrane). Des résultats analogues sont obtenus lorsque l'ultrafiltration et la diafiltration sont poussées jusqu'à une teneur en matière sèche des rétentats de 21-25 % (avec un rapport protéines/m.s de 61-68 %).

Le niveau de concentration atteint par ultrafiltration, et la mise en œuvre éventuelle d'une étape de diafiltration, influencent considé-

TABLEAU 2 - TABLE 2

Influence de divers traitements sur la composition de concentrés protéiques de lactosérum préparés par ultrafiltration
Influence of pretreatments and ultrafiltration conditions on the composition of whey protein concentrates

Prétraitement	Ultrafiltration	Protéines	Lactose	Cendres	Ca	P	N.S.I. (%) (pH 4,6)
		M.S.	M.S.	M.S.	M.S.	M.S.	
0 Lactosérum doux	10° C pH 6,6 réduction de volume 85 %	40	49	6,3	0,6	0,39	91
30 min 55° C pH 6,6 Lactosérum doux	55° C pH 6,6 réduction de volume 85 %	43	46	7,1	1,3	0,7	88
Idem pH 7,3	idem pH 7,3	42	43	10,4	1,9	1,2	60
Idem pH 3,0	idem pH 3,0	43	48	5,3	0,4	0,37	71
Idem pH 6,6 sur lactosérum décalcifié par échange d'ions	idem pH 6,6	42	45	5,7	0,02	0,31	79
Idem pH 6,6 sur lactosérum déminéralisé par échange d'ions	idem pH 6,6	45	49	1,9	0,1	0,03	80
Idem pH 6,6 sur lactosérum déminéralisé et « clarifié »	idem pH 6,6	42	56	1,9	0,09	0,02	93
Idem pH 4,6 Lactosérum acide (HCl)	idem pH 4,6	37	55	7,0	1,2	0,66	83

HIDDINCK *et al.*, 1981.

ablement les rapports lactose/protéines et sels minéraux/protéines. D'une manière générale, les glucides réduisent, et les sels minéraux augmentent, la sensibilité des protéines de lactosérum à la dénaturation thermique.

Il faut noter aussi que le seuil d'exclusion de la membrane et le pH d'ultrafiltration influencent la perméation de l' α -lactalbumine (polymérisée et donc mieux retenue, à pH < 5,5). Si l'on considère enfin que les rétentats séjournent jusqu'à 1 heure au contact des membranes, à 55° C et sous agitation, il n'est pas étonnant que des différences marquées apparaissent dans les propriétés fonctionnelles des divers concentrés protéiques (McDonough *et al.*, 1974 ; de Wit et de Boer, 1975 ; Morr *et al.*, 1973 ; Delaney, 1976). Toutefois, à notre connaissance, aucune étude systématique n'a été publiée dans ce domaine.

Le séchage des rétentats, même par atomisation, provoque un certain degré de dénaturation des protéines sériques, en particulier de l' α -lactalbumine (Morr *et al.*, 1973).

IV. BASES PHYSICOCHIMIQUES DES PROPRIÉTÉS FONCTIONNELLES DES PROTÉINES DE LACTOSÉRUM

Les propriétés physicochimiques fondamentales des principaux constituants protéiques du lait ont été rappelées dans la section I. Nous examinerons plus particulièrement les mécanismes physicochimiques sous-jacents à certaines propriétés fonctionnelles, en particulier au pouvoir gélifiant et au pouvoir émulsifiant. De nombreuses études ont été effectuées dans ce domaine, en utilisant des préparations protéiques peu ou non dénaturées de lactosérum ou de β -lactoglobuline (dialyse, chromatographie sur gel, ultrafiltration). Les propriétés fonctionnelles ont été évaluées par plusieurs méthodes indépendantes (calorimétrie différentielle, abaissement de la tension superficielle, viscosimétrie, mesures de texture par pénétrométrie, degré de séparation des phases aqueuse et/ou lipidique, caractérisation des protéines adsorbées à l'interface huile/eau, etc.). L'influence des facteurs d'environnement (pH, force ionique, concentration en protéines, temps, température, présence d'agents dissociants de diverses liaisons) a été étudiée, et sera rapportée ici.

1. Solubilité, viscosité, pouvoir d'absorption d'eau

Très solubles (1) en solution aqueuse diluée (1-5 % de protéines), même dans la zone de pH isoélectrique (pH 4,5-5,5) ou à force ionique

(1) Une faible partie de l'azote (5 à 15 p.100) est toutefois en suspension colloïdale.

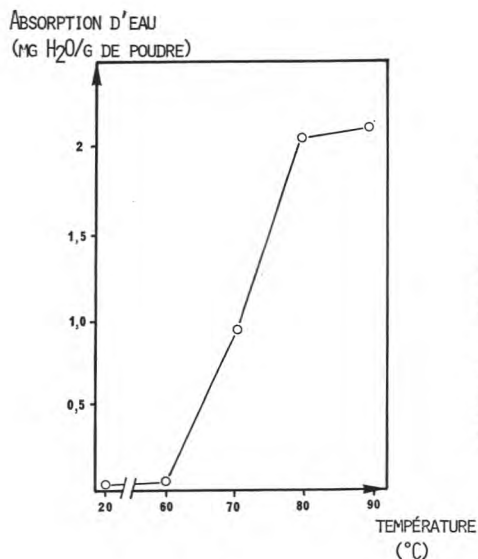


fig. 2

Absorption d'eau d'un concentré protéique de lactosérum obtenu par ultrafiltration et soumis à un traitement thermique de 30 min (à la température indiquée) avant lyophilisation.

Water absorption of a whey protein concentrate prepared by ultrafiltration and heated for 30 min at various temperatures before freeze-drying.

(DE WIT et DE BOER, 1975).

élevée (jusqu'à 2 M en NaCl) (Delaney, 1976), les protéines natives de lactosérum n'entraînent qu'une faible élévation de viscosité, par comparaison aux caséinates (Hermansson, 1972 ; Hermansson et Akesson, 1975 b). Leur capacité d'absorption d'eau est également faible : de l'ordre de 2 ml d'eau absorbée par g de concentré protéique sec, lors de mesure à l'appareil de Baumann (Hermansson, 1972). Peu sensible à une modification de pH ou de force ionique de la solution absorbée, l'absorption est multipliée par 2 si le concentré protéique a subi un traitement thermique préalable (Hermansson, 1972 ; de Wit et de Boer, 1975) (fig. 2) : cette amélioration pourrait être due principalement à la formation d'un réseau protéique gélifié insoluble, responsable d'une porosité élevée des particules après séchage. L'eau serait absorbée dans ce réseau par capillarité.

On observe les corrélations suivantes : faible capacité d'absorption d'eau et faible viscosité des protéines natives ; plus forte capacité d'absorption d'eau et viscosité plus élevée des protéines dénaturées-agrégées par la chaleur.

2. Dénaturation et gélification thermiques

Chauffées en solution diluée, les protéines de lactosérum, et la β -lactoglobuline en particulier, subissent un déplissement de leurs structures secondaire et tertiaire, plus ou moins marqué selon la température et le pH (Harwalkar, 1979, 1980 a, 1980 b; Hillier et Lyster, 1979; Hillier *et al.*, 1979; Hegg, 1980; de Wit 1981; de Wit et Klarenbeek, 1981; Hermansson, 1979) (fig. 1). Dans la zone de pH comprise entre pH 4 et 6, cette dénaturation est immédiatement suivie d'agrégation et de précipitation. La précipitation se produit dès 65° C pour les immunoglobulines, vers 70-80° C pour la β -lactoglobuline et la sérum albumine, vers 95° C pour l' α -lactalbumine. Ces phénomènes dépendraient essentiellement d'interactions hydrophobes.

Chauffées en solutions de concentration protéique plus élevée (> 5 %), les protéines de lactosérum forment un coagulum ou un gel, à partir de 70-85° C. L'étape de déplissement des structures globulaires est rapide. L'étape de polymérisation par agrégation est moins rapide, en particulier lorsque le pH est éloigné de la zone isoélectrique. Dans ce cas, les répulsions électrostatiques favorisent un équilibre entre les interactions protéine-eau et protéine-protéine. Il se forme un réseau protéique tridimensionnel ordonné et suffisamment ouvert pour emprisonner beaucoup d'eau. Les gels de protéines de lactosérum sont généralement moins fermes, moins élastiques, moins résistants à la perte d'eau par compression que les gels d'ovalbumine ou de protéines de soja (Hermansson et Akesson, 1975 a et b); ils sont cependant thermoirréversibles, probablement en raison de la formation de ponts disulfure intermoléculaires au cours de l'agrégation.

Au pH isoélectrique, l'étape d'agrégation est très rapide: il se forme un coagulum granuleux plutôt qu'un gel homogène (de Wit et de Boer, 1975; de Wit, 1981).

L'augmentation du pH de 6,5 à 9 ralentit la gélification et réduit progressivement la fermeté du gel (Schmidt, 1981). Ceci pourrait être dû au démasquage et à l'activation du groupement sulfhydryle libre de la β -lactoglobuline (à partir de pH 6,8) et à l'apparition d'une forme stabilisée de la molécule par échange intramoléculaire de ponts disulfure (de Wit, 1981) (fig. 1).

La fermeté des gels et la vitesse de gélification augmentent avec la teneur en protéines, et avec la température, jusqu'à 120° C (Hermansson, 1972; Hillier et Cheeseman, 1979; Schmidt, 1981).

Une force ionique élevée et une forte teneur en calcium au cours du traitement thermique semblent favoriser l'agrégation plutôt que la formation d'un gel homogène (Hidalgo et Gamper, 1977; Hermansson, 1979; de Wit, 1981). La microscopie électronique révèle une structure grossière, très agrégée, dans un « gel » de protéines de lactosérum contenant du chlorure de sodium 0,2 M (Hermansson,

1979). Il est possible que les ions se fixent sur les protéines, annulant leurs charges électriques et favorisant ainsi une agrégation de type isoélectrique. Le remplacement de la majeure partie des ions calcium du lactosérum par des ions sodium améliore la fermeté et d'autres caractéristiques des gels obtenus (Johns et Ennis, 1981). Les effets d'une déminéralisation poussée restent à préciser. Il semble bien que la gélification exige une certaine teneur en ions calcium.

La présence d'agents réducteurs des ponts disulfure inhibe la gélification (Hillier *et al.*, 1980). Sur une série de concentrés protéiques de lactosérum préparés par le procédé Vistec, une corrélation positive a été établie entre le pouvoir gélifiant d'une part, la teneur en groupements sulfhydryle et la solubilité protéique à pH 4,5 d'autre part (Hillier *et al.*, 1980).

Il est probable que tout traitement thermique entraînant une baisse de la solubilité protéique à pH 4,5 réduise le pouvoir gélifiant. Toutefois, les traitements thermiques effectués à pH acide ou neutre, et peut-être certains prétraitements thermiques modérés pratiqués avant ultrafiltration (qui modifient la composition minérale des concentrés protéiques) semblent avoir des effets favorables sur le pouvoir gélifiant. Une étude systématique reste à faire.

L'influence des conditions de milieu sur la gélification a été étudiée par quelques autres expérimentateurs (Haggett, 1976 ; Cooper *et al.*, 1977 ; Dunkerley et Hayes, 1980) qui ont notamment montré que des gels de texture satisfaisante pouvaient être obtenus à pH acide.

L'addition de sucres retarde la gélification (et élève la température à laquelle la gélification se produit) ; toutefois, des textures lisses, semblables à celles de flans, peuvent être obtenues à une teneur en saccharose proche de 20 % (Razanajatovo *et al.*, 1978 ; Razanajatovo et Alais, 1979). La gélification fait alors intervenir interactions hydrophobes, liaisons hydrogène, liaisons ioniques par l'intermédiaire d'ions calcium, et ponts disulfure.

Les propriétés gélifiantes et liantes des protéines de lactosérum sont mises à profit pour la réalisation de desserts gélifiés, de produits carnés (viande hachée, saucisses) et pour l'incorporation dans divers fromages (tableau 3). Dans le cas de la viande hachée de type hamburger, l'addition de protéines de lactosérum abaisse beaucoup la rétention d'eau et la fermeté, sauf dans les systèmes chauffés au-dessus de 80° C, où la gélification se produit (Hermansson et Akesson, 1975 a et b). L'addition de chlorure de sodium améliore un peu la rétention d'eau. Un traitement thermique préalable du concentré protéique de lactosérum paraît défavorable à la texture (Hermansson, 1975). La détermination des propriétés d'absorption d'eau (appareil de Baumann) et de fermeté des gels permettrait de prévoir le comportement des concentrés protéiques lors d'incorporation dans la viande hachée.

3. Pouvoir émulsifiant

La capacité émulsifiante d'un concentré protéique de lactosérum (ultrafiltration) en solution à 1 % P/V de protéines a été déterminée par la mesure de la teneur maximale en huile avant inversion de l'émulsion ; elle est trouvée inférieure à celle d'un concentré protéique de lait ou d'un isolat protéique de soja (60, 80 et 83 %, respectivement) (Delaney, 1976). La capacité émulsifiante des protéines de lactosérum est toutefois moins dépendante du pH que celle des caséinates ou des protéinates de soja. Ces résultats, joints à la faible viscosité des solutions de protéines de lactosérum, suggèrent qu'il existe une corrélation entre la capacité émulsifiante d'une part, la solubilité protéique et la viscosité d'autre part. Morr (1973, 1979, 1981) souligne aussi que le pouvoir émulsifiant de diverses préparations protéiques de lactosérum est relativement faible, et inférieur à celui du caséinate de sodium. Cette différence proviendrait surtout, selon lui, de l'inégale répartition des groupements hydrophiles et hydrophobes dans la séquence des caséines et de la β -lactoglobuline. L'existence de zones hydrophiles et de zones hydrophobes bien séparées dans la séquence et aussi à la surface des caséines expliquerait les propriétés amphipolaires de ces molécules.

Toutefois, Tornberg (1978) observe que la stabilité d'émulsions préparées à pH 7 avec une dispersion protéique à 2,5 % P/V décroît dans l'ordre suivant : concentré protéique de lactosérum (ultrafiltration) > isolat protéique de soja > caséinate de sodium. Ces résultats contradictoires peuvent provenir de différences dans la qualité des matières premières, ainsi que dans les méthodes d'évaluation du pouvoir émulsifiant ; ils soulignent une fois de plus les difficultés d'interprétation et de corrélation dans les études de propriétés fonctionnelles.

Les chercheurs du Nizo (de Wit et de Boer, 1975 ; de Wit *et al.*, 1976) partent d'un concentré protéique de lactosérum (ultrafiltration) soumis ou non à une série de traitements thermiques de plus en plus sévères entraînant une forte réduction de la solubilité protéique. Ils préparent des émulsions huile/eau à partir d'une solution à 4,5 % de protéines ; la stabilité de ces émulsions est déterminée par mesure de la teneur en huile dans la phase inférieure avant et après centrifugation de l'émulsion. La stabilité est d'autant plus faible que le traitement thermique préalable du concentré est sévère et que la solubilité protéique (déterminée à pH 4,6) est abaissée (fig. 3). La même corrélation est observée avec la capacité moussante.

Les propriétés émulsifiantes des protéines de lactosérum ont aussi été mesurées par Hayes *et al.* (1979).

Les études mentionnées ci-dessus ne permettent pas d'établir lequel (ou lesquels) des mécanismes connus de stabilisation des émulsions contre la décantation, la floculation ou la coalescence prédomine (nt) dans le cas des protéines de lactosérum. En général, les

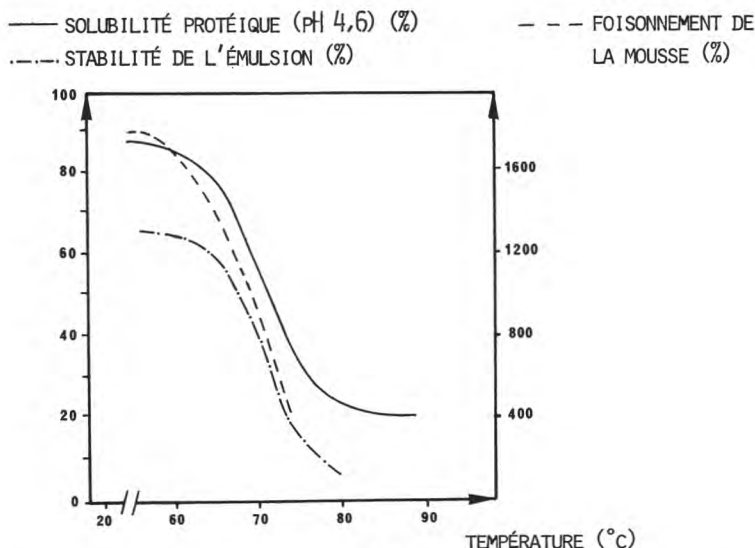


fig. 3

Solubilité protéique, pouvoir émulsifiant et pouvoir moussant d'un concentré protéique de lactosérum obtenu par ultrafiltration et soumis à un traitement thermique de 30 min (à la température indiquée) avant séchage.

(DE WIT et DE BOER, 1975).

Solubility, and emulsifying and foaming properties of a whey protein concentrate prepared by ultrafiltration and heated for 30 min at various temperatures before drying.

macromolécules protéiques solubles dans la phase dispersante aqueuse agissent en augmentant la viscosité de cette phase et/ou en s'adsorbant à l'interface huile/eau. L'adsorption à l'interface dépend de la capacité de la protéine à prendre une conformation amphipolaire où les zones hydrophobes de la molécule sont au contact de l'huile, et les zones hydrophiles au contact de l'eau. La présence d'un film protéique à la surface des gouttelettes d'huile peut : 1) abaisser la tension interfaciale ; 2) constituer une barrière mécanique contre la coalescence, et 3) entraîner des répulsions électrostatiques entre les gouttes d'huile. La charge électrique nette du film protéique dépend du pH et de la force ionique.

Deux groupes d'expérimentateurs ont tenté d'expliquer le mécanisme des propriétés émulsifiantes des protéines de lactosérum. Tornberg (1979, 1980) mesure la cinétique d'abaissement de la tension superficielle de gouttes de solutions protéiques à 1 %. Le caséinate, probablement sous forme de monomères, et les protéines de lactosérum (ultrafiltration) diffusent rapidement de la masse de la solution vers l'interface eau/air où ils se déplissent et s'orientent. Les protéines de soja diffusent plus lentement et constituent des

agents tensioactifs moins efficaces, probablement en raison de leur structure quaternaire (associations intermoléculaires). Avec les émulsions de protéines de soja, la quantité de protéines (agréées) adsorbées à l'interface huile/eau est initialement très élevée, puis diminue par étalement au fur et à mesure que l'interface s'accroît du fait de l'homogénéisation. L'inverse est observé avec les émulsions de caséinate où les monomères se détacheraient continuellement des submicelles en solution pour diffuser vers l'interface. Le comportement des protéines de lactosérum est intermédiaire, et varie avec la force ionique. La charge moyenne en protéines de lactosérum est de 2 mg/m² d'interface, ce qui d'après Tornberg correspondrait à une couche multimoléculaire.

Yamauchi *et al.* (1980) et Shimizu *et al.* (1981) partent d'un lactosérum acide qui est dialysé, puis lyophilisé. Des émulsions huile/eau de teneur en protéines et de pH variables sont alors préparées. La stabilité des émulsions est maximale à partir d'une concentration protéique de la phase aqueuse de 6 %. La stabilité est la plus faible au pH isoélectrique (pH 5), bien qu'un maximum de viscosité des émulsions soit observé à ce pH. Ce résultat signifie que la stabilité des émulsions préparées à pH 3, 7 et 9 est principalement due aux répulsions électrostatiques entre gouttelettes d'huile. A pH 7, la stabilité n'est pas modifiée en présence de NaCl 0,6 M, tandis que l'addition de 0,01 % (par rapport à l'huile) d'ester de saccharose (HLB 15) ou de monostéarate (HBL 4) est défavorable.

La phase huileuse est séparée et lavée; les protéines sont extraites à l'aide d'urée et de guanidine et analysées par électrophorèse. A tous les pH on observe l'adsorption d'une couche protéique, monomoléculaire selon les auteurs, de 2 à 3 mg par m² d'interface. Cette couche est retenue par interactions hydrophobes fortes. Toutes les protéines de lactosérum sont impliquées, mais la β -lactoglobuline représente 60 % des protéines adsorbées à pH 9 (et l' α -lactalbumine 10 %), tandis que la proportion d' α -lactalbumine atteint 50 % à pH 3, celle de β -lactoglobuline étant alors de 13 %. Au pH isoélectrique, une quantité supplémentaire de protéines est adsorbée par interactions faibles.

L'adsorption spécifique des différentes protéines de lactosérum n'est pas corrélée avec leur hydrophobicité de surface, mesurée aux pH 3, 5, 7 et 9 par chromatographie hydrophobe sur octyl-Sephadex, sauf dans le cas de l' α -lactalbumine, où l'acidification augmente à la fois l'adsorption à l'interface huile/eau, et l'hydrophobicité de surface. Ainsi, pour les autres protéines, d'autres facteurs que l'hydrophobicité de surface déterminent l'adsorption à l'interface. La flexibilité des molécules doit intervenir, et leur capacité à se déplisser et à s'étaler à l'interface avec démasquage de groupements hydrophobes enfouis à l'état natif. Shimizu *et al.* (1981) suggèrent que la « dénaturation de surface » des protéines de lactosérum est très

TABLEAU 3 - TABLE 3
Applications des protéines de lactosérum
Food applications of whey proteins

<i>Produits</i>	<i>Fonctions</i>
Produits de boulangerie-biscuiterie.	Apport protéique, rétention d'eau, gélifiant, texture (interaction avec gluten).
Pâtes alimentaires.	Apport protéique, texture.
Pâtisserie (meringues, génoises...).	Emulsifiant, moussant, rétention d'eau, gélifiant.
Confiserie (caramel, nougats...), chocolat au lait.	Emulsifiant, arôme, texture, dispersibilité.
Potages, sauces.	Epaississant (interaction avec amidon), émulsifiant.
Plats cuisinés.	Epaississant, émulsifiant, rétention d'eau.
Farines lactées.	Apport protéique, solubilité.
Boissons lactées ou fruitées.	Soluble à chaud ou/et à pH acide, épaississant.
Aliments diététiques et infantiles (alimentation entérale...).	Apport protéique, solubilité, épaississant.
Fromages naturels et fondus.	Emulsifiant, épaississant, gélifiant.
« Imitation cheeses, dips », pâtes à tartiner. Coffee whitener. Crèmes glacées.	Emulsifiant, épaississant.
Crèmes, desserts, flans, yoghourts.	Emulsifiant, épaississant, gélifiant.
Produits carnés (saucisses, pâtés, hamburgers).	Emulsifiant, épaississant, liant, gélifiant, rétention d'eau et de matières grasses.

marquée et contribue à leurs propriétés émulsifiantes ; une telle dénaturation de surface est étayée par le fait que les protéines adsorbées à l'interface sont plus facilement hydrolysées par des protéases que les protéines natives.

Ces résultats laissent penser qu'une dénaturation sans aggrégation, par exemple par chauffage à pH acide ou neutre, ou qu'une protéolyse partielle, pourrait améliorer les propriétés amphipolaires des protéines de lactosérum. Pour l'instant un tel effet n'a

été mis en évidence qu'à propos des propriétés moussantes (1) (Paquet *et al.*, 1978 et 1979). Rappelons aussi que la succinylation des protéines de lactosérum précipitées par chauffage au pH iso-électrique augmentait leur pouvoir émulsifiant (Thompson et Reyes, 1980) ; dans ce cas, l'introduction de groupements carboxyliques agit probablement en augmentant la solubilité, la viscosité de la solution, et les répulsions électrostatiques entre les gouttelettes d'huile de l'émulsion.

*
**

En dépit d'un nombre considérable d'études biochimiques et physicochimiques, il est encore difficile de relier avec précision les propriétés fonctionnelles des protéines de lactosérum aux connaissances actuelles sur la structure de ces protéines ainsi qu'aux traitements technologiques mis en œuvre pour les concentrer et les purifier. Tout essai d'amélioration des propriétés fonctionnelles reste encore largement empirique. Enfin, le comportement des préparations protéiques une fois introduites dans des systèmes alimentaires (tableau 3) comme le pain (Zadow et Hardham, 1981), les émulsions carnées, les fromages fondus, etc., reste également difficile à prévoir et à interpréter.

Bibliographie (1^{re} et 2^e parties)

- ALI (A. E.), ANDREWS (A. T.), CHEESEMAN (G. C.) (1980). — Influence of storage of milk on casein distribution between the micellar and soluble phases and its relationship to cheese-making parameters. *J. Dairy Res.*, 47, 371-391.
- ARAT (S.), WATANABE (M.) (1980). — Modification of succinylated α_{s1} -casein with papain: covalent attachment of L-Norleucine dodecyl ester and its consequence. *Agric. Biol. Chem.*, 44 (8), 1979-1981.
- BRAUNITZER (G.), LIBERATORI (J.), KOLDE (H. J.) (1979). — The primary structure of β -lactoglobuline of the waterbuffalo (*Babulus arnee*). *Z. Naturforsch.*, 34, 880-881.
- BREW (K.), CASTELLINO (F. J.), VANAMAN (T. C.), HILL (R. L.) (1970). — The complete amino-acid sequence of bovine α -lactalbumin. *J. Biol. Chem.*, 245, 4570.
- CHEESEMAN (G.) (1981). — Modification of skimmed milk constituents. *J. Soc. Dairy Technol.*, 34 (2), 74-77.
- DAVIES (F. L.), SHANKAR (P. A.), BROOKER (B. E.), HOBBS (D. G.) (1978). — A heat-induced change in the ultrastructure of milk and its effect on gel formation in yoghurt. *J. Dairy Res.*, 45, 53-58.
- DE WIT (J. N.), HONTELEZ-BACKX (1981). — Les propriétés fonctionnelles des protéines du lactosérum: conséquences des traitements thermiques. *Technique Laitière* (952), 19-22.

(1) Les propriétés moussantes des protéines de lactosérum ont fait l'objet de plusieurs autres études (Hagget, 1976 a et 1976 b ; Richert, 1979 ; Richert *et al.*, 1974 ; Paquet, 1981).

- DI GREGORIO (F.), SISTO (R.) (1981). — Milk coagulation by cationic polyelectrolytes. *J. Dairy Res.*, 48, 267-271.
- DOWNEY (G.), BURGESS (K.) (1979). — Edible protein fibres produced from casein and carrageenan: the effect of repeated freeze-thaw cycles on fibre texture. *Irish J. Food Sci. Technol.*, 3 (1), 53-57.
- ENGLISH (A.) (1981). — Future uses of skimmed milk-texturizing processes. *J. Soc. Dairy Technol.*, 34 (2), 70-73.
- FOX (P. F.), HEARN (C. M.) (1978). — Heat stability of milk: influence of α -casein hydrolysis. *J. Dairy Res.*, 45, 173-181.
- GREEN (M. L.) (1980). — The formation and structure of milk protein gels. *Food Chem.*, 6, 41-49.
- HALLING (P.) (1981). — Protein-stabilized foams and emulsions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 15 (2), 155-203.
- HERMANSSON (A. M.) (1972). — Functional properties of proteins for foods-swelling. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 5, 24-29.
- HIDALGO (J.) (1978). — In biochemical aspects of new protein food. J. Adler-Nissen, ed., Pergamon Press, New York, 89-98.
- HILL (R. D.) (1970). — The effect of the modification or arginine side chain in casein on the coagulation of rennin-altered casein. *J. Dairy Res.*, 37, 187-192.
- HILL (R. D.), CRACKER (B. A.) (1968). — The role of lysine residues in the coagulation of casein. *J. Dairy Res.*, 35, 13-18.
- HILL (R. D.), LAING (R. R.) (1965). — The action of rennin on casein: the effect of modifying functional groups on the casein. *J. Dairy Res.*, 23, 193-201.
- HILLIER (R.), LYSTER (R.), CHEESEMAN (G.) (1980). — Gelation of reconstituted whey powders by heat. *J. Sci. Food Agric.*, 31 (11), 1152-1157.
- HIRAOKA (Y.), SEGAWA (T.), KUWASIMA (K.), SUGAI (S.), MURAI (N.) (1980). — α -lactalbumine: a calcium metalloprotein. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 95, 1098-1104.
- JENNESS (R.), KOOPS (J.) (1962). — Preparation and properties of a salt solution which simulates milk ultrafiltrate. *Neth. Milk Dairy J.*, 16, 153-164.
- KALAB (M.), TIMBERS (G. E.), ROBERTSON (G. D.) (1977). — Heat-induced milk gels. VII. Differential thermal analysis. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 10 (3), 226-228.
- KEHAGIAS (C.), DALLES (T.) (1981). — Functional properties of sodium caseinates derived from ewes', goats' and cows' milk. *Milchwissenschaft*, 36 (1), 29-31.
- KINSELLA (J. E.), SRINIVASAN (1981). — In criteria of food acceptance. J. Solms et R. L. Hall, Ed., Forster Verlag, Zurich, 296-332.
- LEGRAND (C.), PAUL (R.) (1977). — Procédé de fabrication de produits lactés en forme de gel et produits obtenus. Brevets français n°s 2 345 937, 2 345 936, 2 347 890.
- LORIENT (D.) (1977). — Dégradation thermique des caséines: aspects physico-chimiques, structuraux et nutritionnels. Thèse de Doctorat ès Sciences. Université de Nancy.
- LYSTER (R. L. J.) (1970). — The denaturation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin in heated milk. *J. Dairy Res.*, 37, 233-243.
- MARSHALL (R.), GREEN (M. L.) (1980). — The effect of the chemical structure of additives on the coagulation of casein micelle suspensions by rennet. *J. Dairy Res.*, 47 (3), 359-369.
- MORR (C. V.), SWENSON (P. E.), RICHTER (R. L.) (1973). — Functional characteristics of whey protein concentrates. *J. Food Sci.*, 38, 324-330.
- MORR (C. V.) (1979). — Utilization of milk proteins on starting materials for other foodstuff. *J. Dairy Res.*, 46, 369-376.

- MORR (C. V.) (1979). — In functionality and protein structure. A. Pour-El, ed., *Am. Chem. Soc.*, Washington, 65-79.
- MORR (C. V.) (1981). — In protein functionality in foods. J. P. Cherry, ed., *Am. Chem. Soc.*, Washington, 201-215.
- MULLER (L. L.) (1970). — Co-precipitate an aid to new food uses of milk proteins. 18th Int. Dairy Congr., Sydney, 26-27.
- OZIMEK (G.), POZNANSKI (S.), SMETANA (Z.), SZPENDOWSKI (J.) (1980). — Caractéristiques des protéines texturées du lait. *Lait*, 60 (595-596), 226-237.
- PAQUET (D.), THOU (K. S.), ALAIS (C.) (1978). — Obtention de produits moussants alimentaires par hydrolyse ménagée des protéines du lactosérum de fromagerie. *Ind. Alim. Agric.*, 95, 161-165.
- POUR EL (A.) (1981). — In protein functionality in foods. P. Cherry, ed., *Am. Chem. Soc.*, Washington, 1-19.
- PREAUX (G.), BRAUNITZER (G.), SCHRANK (B.), STANGL (A.) (1979). — The amino-acid sequence of goat's β -lactoglobulin. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* 360, 1595-1604.
- REIMERDES (E.), ROGGENBUCK (G.) (1980). — Chimie et technologie des protéines lactiques : I. Modification de la β -caséine et des micelles de caséine par phosphatase acide provenant des pommes de terre. *Milchwissenschaft*, 35, 195-201.
- RIBADEAU DUMAS (B.) (1981). — Actualités dans le domaine de la connaissance de la structure et des propriétés biochimiques des protéines laitières. *Rev. Lait. Fr.* (400), 17-32.
- RICHERT (S. H.) (1975). — Current milk protein manufacturing processes. *J. Dairy Sci.*, 58, 985-993.
- SAWYER (W. H.) (1969). — Complex between β -lactoglobulin and α -casein. A review. *J. Dairy Sci.*, 52, 1347-1355.
- SCHMANDKE (H.), HARTMANN (B.), SCHULTZ (M.) (1980). — Modification of functional properties of casein, sunflower and rape-seed protein isolates by acetylation. *Nahrung*, 25 (5), 479-484.
- SCHMIDT (D. G.) (1980). — Colloidal aspects of casein. *Neth. Milk Dairy J.*, 34, 42-64.
- SCHWENKE (K.), PRAHL (L.), TITOVA (E.), BELAVTSERA (E.) (1979). — Chemical modification of proteins. VI. Further studies on gelation of casein after modification by dialdehyde starch. *Nahrung*, 23 (7), 749-756.
- SCHWENKE (K.), RAUSCHAL (E.) (1980). — Effets de la succinylation sur les propriétés physico-chimiques de quelques protéines alimentaires. *Nahrung*, 24 (6), 593-595.
- SCHWENKE (K.), RAUSCHAL (E.), LINOW (K.), PAHTZ (W.) (1981). — Chemical modification of proteins. VII. Effect to succinylation on some physico-chemical and functional properties of casein. *Nahrung*, 25 (2), 201-212.
- SEGALIN (P.) (1981). — Actualités dans le domaine de la technologie de préparation des caséines et caséinates. *Rev. Lait. Fr.* (400), 83-89.
- SEN (L.), LEE (H.), FEENEY (R.), WHITAKER (J.) (1981). — In vitro digestibility and functional properties of chemically modified casein. *J. Agric. Food Chem.*, 29 (2), 248-354.
- SMITH (L. M.), DAIRIKI (T.) (1975). — Stability of milk fat emulsions. II. Influence of emulsifier structure, sodium caseinate, and non fat milk solids. *J. Dairy Sci.*, 58 (9), 1254-1262.
- SMITS (P.) VAN BROUWERSHAVEN (J. H.) (1980). — Heat-induced association of β -lactoglobulin and casein micelles. *J. Dairy Res.*, 47, 313-325.

- SOUTHWARD (C. R.), WALKER (N. J.) (1980). — The manufacture and industrial use of casein. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 15, 201-217.
- TYBOR (P. T.), DILL (C. W.), LANDMANN (W. A.) (1975). — Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process. *J. Food Sci.*, 40, 155-159.
- VAN DE WALLE (G.), POTERRE (P.), JACQUET (B.), CHASSIGNON (F.) (1980). — Recherche de méthodes d'évaluation des propriétés fonctionnelles des additifs protéiques alimentaires. I. Solubilité et viscosité des caséinates de sodium en solution dans différentes conditions. *Ind. Alim. Agric.*, 97 (1-2), 31-41.
- WEBB (B. H.), BELL (R. W.) (1942). — The effect of high-temperature short-time forewarming of milk upon the heat stability of its evaporated product. *J. Dairy Sci.*, 25, 301.
- WILSON (G. A.), WHELOCK (J. V.) (1972). — Factors affecting the action of rennin in heated milk. *J. Dairy Res.*, 39, 413-419.
- WILSON (G. A.), WHELOCK (J. V.), KIRK (A.) (1974). — The effect of reduction and alkylation on the primary phase of rennin action on unheated and heated milk. *J. Dairy Res.*, 41, 37-44.
- YOSHIKAWA (M.), SAMESIMA (H.), TAKEUCHI (M.), SASAKI (R.), CHIBA (H.) (1981). — Conversion of β -casein to a stabilizer for α_{s1} -casein by enzymatic and chemical modification. *Agric. Biol. Chem.*, 45 (1), 333-335.
- YOSHIKAWA (M.), SASAKI (R.), CHIBA (H.) (1981). — Effects of chemical phosphorylation of bovine casein components on the properties related to casein micelle formation. *Agric. Biol. Chem.*, 45 (4), 909-914.

Bibliographie (3^e et 4^e parties)

- BEL (Fromageries) (1975). — Brevet français n° 2 301 180, 19-2-1975.
- BURGESS (K. J.), KELLY (J.) (1979). — Technical note: selected functional properties of a whey protein isolate. *J. Food Technol.*, 14, 325-329.
- COOPER (H. R.), HUGUES (I. R.), MATTHEWS (M. E.) (1977). — Application of « response surface methodology » to evaluation of whey protein gel systems. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 12, 248-252.
- DELANEY (R. A. M.) (1976). — Composition, properties and uses of whey protein concentrates. *J. Soc. Dairy Technol.*, 29, 91-101.
- DE WIT (J. N.), DE BOER (R.) (1975). — Ultrafiltration of cheese whey and some functional properties of the resulting whey protein concentrate. *Neth. Milk Dairy J.*, 29, 198-211.
- DE WIT (J. N.), KLARENBECK (G. K.), SWINKELS (G. A. M.) (1976). — The emulsifying properties of whey protein concentrates. *Zuivelzicht*, 68, 442-445.
- DE WIT (J. N.) (1981). — Structure and functional behaviour of whey protein. *Neth. Milk Dairy J.*, 35, 47-64.
- DE WIT (J. N.), KLARENBECK (G. K.) (1981). — A differential scanning calorimetric study of the thermal behaviour of bovine β -lactoglobulin at temperature up to 160° C. *J. Dairy Res.*, 48, 293-302.
- DE WIT (J. N.), HONTELEZ-BACKX (E.) (1981). — Les propriétés fonctionnelles des protéines du lactosérum : conséquences des traitements thermiques. *Technique Laitière* (952), 19-22.
- DUNKERLEY (J. A.), HAYES (J. F.) (1980). — Characterization of whey protein gels using a temperature gradient block. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 15, 191-196.
- GREIG (R. I. W.) (1979 a). — The manufacture, properties and use of heat denaturated whey protein. *Milk Industry*, 81 (2), 30-34.
- GREIG (R. I. W.) (1979 b). — Loss of water holding capacity of heat denaturated whey protein. *Milk Industry*, 81 (3), 18-21.

- GREIG (R. I. W.) (1979 c). — Effect of dehydration on water binding in fresh denaturated whey protein curd. *Dairy Ind. Int.*, 44 (2), 5-7, 14.
- GREIG (R. I. W.) (1979 d). — Sorption properties of heat denaturated cheese whey protein. I. Moisture sorption isotherms. *Dairy Ind. Int.*, 44 (5), 18-24.
- GREIG (R. I. W.) (1979 e). — Sorption properties of heat denaturated cheese whey protein. II. Unfreezable water content. *Dairy Ind. Int.*, 44 (6), 15-17.
- GREIG (R. I. W.) (1979 f). — Sorption properties of heat denaturated cheese whey protein. III. Porosity and pore size distribution. *Dairy Ind. Int.*, 44 (10), 17-21.
- GUY (E. J.), VETTEL (H. E.), PALLANSCH (M. J.) (1967). — Denaturation of cottage cheese whey proteins by heat. *J. Dairy Sci.*, 50, 828-832.
- HAGGETT (T. O. R.) (1976 a). — The whipping, foaming and gelling properties of whey protein concentrates. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 11, 244-250.
- HAGGETT (T. O. R.) (1976 b). — The effect of refrigerated storage on the whipping properties of whey protein concentrates. *N.Z. J. Dairy Technol.*, 11, 275-277.
- HARWALKAR (V. R.) (1979). — Comparison of physico-chemical properties of different thermally denaturated whey proteins. *Milchwissenschaft*, 34, 419-422.
- HARWALKAR (V. R.) (1980 a). — Measurement of thermal denaturation of β -lactoglobulin at pH 2.5. *J. Dairy Sci.*, 63, 1043-1051.
- HARWALKAR (V. R.) (1980 b). — Kinetics of thermal denaturation of β -lactoglobulin at pH 2.5. *J. Dairy Sci.*, 63, 1052-1057.
- HAYES (J. F.), STRANAGHAN (B.), DUNKERLEY (J. A.) (1979). — The emulsifying properties of whey protein concentrates in a model system. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 14, 259-264.
- HEGG (P. O.) (1980). — Thermostability of β -lactoglobulin as a function of pH and relative concentration of SDS. *Acta Agricult. Scand.*, 30, 401-404.
- HERMANSSON (A. M.) (1972). — Functional properties of proteins for food-swelling. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 5, 24-29.
- HERMANSSON (A. M.), AKESSON (C.) (1975 a). — Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems. Effect of concentration and temperature on water-binding properties of model meat systems. *J. Food Sci.*, 40, 595-602.
- HERMANSSON (A. M.), AKESSON (C.) (1975 b). — Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems. Effect of salt on water-binding properties of model meat systems. *J. Food Sci.*, 40, 603-610.
- HERMANSSON (A. M.) (1975). — Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems. Effect of texture of meat products. *J. Food Sci.*, 40, 611-614.
- HERMANSSON (A. M.) (1979). — In «Functionality and protein structure». A. Pour-El, ed., *Am. Chem. Soc.*, Washington, 81.
- HIDALGO (J.), GAMPER (E.) (1977). — Solubility and heat stability of whey protein concentrates. *J. Dairy Sci.*, 60, 1515-1521.
- HIDDINK (J.), DE BOER (R.), NOOY (P. F. C.) (1981). — Effect of various pretreatments on the ultrafiltration of sweet cheese whey at about 55° C. *Milchwissenschaft*, 36, 657-663.
- HILLIER (R. M.), LYSTER (R. L. J.) (1979). — Whey protein denaturation in heated milk and cheese whey. *J. Dairy Res.*, 46, 95-102.
- HILLIER (R. M.), LYSTER (R. L. J.), CHEESEMAN (G. C.) (1979). — Thermal denaturation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin in cheese whey: effect of total solids concentration and pH. *J. Dairy Res.*, 46, 103-111.
- HILLIER (R. M.), CHEESEMAN (G. C.) (1979). — Effect of proteose-peptone on the heat gelation of whey protein isolates. *J. Dairy Res.*, 46, 113-120.

- HILLIER (R. M.), LYSTER (R. L. J.), CHEESEMAN (G. C.) (1980). — Gelation of reconstituted whey powders by heat. *J. Sci. Food Agric.*, 31, 1152-1157.
- HUMBERT (G.), ALAIS (C.) (1981). — Procédés de précipitation non thermique des protéines du lactosérum. *Technique Laitière* (952), 41-43.
- JELEN (P.), SCHMIDT (T. S.) (1976). — Alkaline solubilization of heat precipitated cheese whey proteins. *J. Can. Inst. Food Sci. Technol.*, 9, 61-65.
- JELEN (P.), KALAB (M.), GREIG (R. I. W.) (1979). — Water-holding capacity and microstructure of heat coagulated whey protein powders. *Milchwissenschaft*, 34, 351-356.
- JOHNS (J. E. M.), ENNIS (B. M.) (1981). — The effect of the replacement of calcium with sodium in acid whey on the functional properties of whey protein concentrate. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 15, 79-86.
- LEE (D. N.), MERSON (R. L.) (1975). — Examination of cottage cheese whey proteins by scanning electron microscopy: relationship to membrane fouling during ultrafiltration. *J. Dairy Sci.*, 58, 1423-1432.
- LEE (D. N.), MIRANDA (M. G.), MERSON (R. L.) (1975). — Scanning electron microscope studies of membrane deposits from whey ultrafiltration. *J. Food Technol.*, 10, 139-146.
- Mc DONOUGH (F. E.), HARGROVE (R. E.), MATTINGLY (W. A.), POSATI (L. P.), ALFORD (J. A.) (1974). — Composition and properties of whey protein concentrates from ultrafiltration. *J. Dairy Sci.*, 57, 1438-1443.
- MAUBOIS (J. L.), BRULÉ (G.), GOURDON (P.) (1981). — L'ultrafiltration du lactosérum. Optimisation de la technologie. Valorisation du perméat. *Technique Laitière* (952), 29-33.
- MIRABEL (B.) (1978). — Nouveau procédé d'extraction des protéines du lactosérum. *Ann. Nutr. Alim.*, 32, 243-253.
- MIRABEL (B.) (1981). — Possibilités d'application au lactosérum de nouveaux procédés de précipitation ou de fractionnement des protéines: I. Procédés par adsorption: production d'isolats de protéines par la technique Sphérosil. *Technique Laitière* (952), 37-40.
- MODLER (H. W.), EMMONS (D. B.) (1977). — Properties of whey protein concentrate prepared by heating under acidic conditions. *J. Dairy Sci.*, 60, 177-184.
- MODLER (H. W.), HARWALKAR (V. R.) (1981). — Whey protein concentrate prepared under acidic conditions. *Milchwissenschaft*, 36, 537-542.
- MONTI (J. C.), JOST (R. J.) (1978). — Enzymatic solubilization of heat denaturated cheese whey protein. *J. Dairy Sci.*, 61, 1233-1237.
- MORR (C. V.), SWENSON (P. E.), RICHTER (R. L.) (1973). — Functional characteristics of whey protein concentrates. *J. Food Sci.*, 38, 324-330.
- MORR (C. V.) (1979). — In «Functionality and protein structure». A. Pour-El, ed., *Am. Chem. Soc.*, Washington, 65.
- MORR (C. V.) (1981). — In «Protein functionality in foods». J. P. Cherry, ed., *Am. Chem. Soc.*, Washington, 201.
- NIZO (1975). — Brevet Néerlandais n° 7513645, 21-11-75.
- NIZO (1979). — Brevet Néerlandais n° 7908455, 20-11-79.
- PALMER (D. E.) (1977). — High purity protein recovery. *Process Biochem.*, 12 (5), 24-28.
- PAQUET (D.), THOU (K. S.), ALAIS (C.) (1978). — Obtention de produits moussants alimentaires par hydrolyse ménagée des protéines du lactosérum de fromagerie. *Ind. Alim. Agric.*, 95, 161-165.
- PAQUET (D.), THOU (K. S.), ALAIS (C.) (1979). — Nouveaux produits moussants alimentaires obtenus à partir de lactosérums de fromagerie. *Cahiers Nutr. Diét.*, 14, 199-201.

- PAQUET (D.) (1981). — Nouvelles voies de valorisation des protéines lactosériques. II. Produits moussants succédanés du blanc d'œuf. *Technique Laitière* (1952) (69-71).
- RAZANAJATOVO (L.), ALAIS (C.), PAUL (R.) (1978). — Gélification des protéines lactosériques en présence de saccharose. I. Influence de certains paramètres physico-chimiques. *Lait*, 58, 483-495.
- RAZANAJATOVO (L.), ALAIS (C.) (1979). — Gélification des protéines lactosériques en présence de saccharose. II. Etude biochimique. *Lait*, 59, 34-45.
- RICHERT (S. H.), MORR (C. V.), COONEY (C. M.) (1974). — Effect of heat and other factors upon foaming properties of whey protein concentrates. *J. Food Sci.*, 39, 42-48.
- RICHERT (S. H.) (1975). — Current milk protein manufacturing processes. *J. Dairy Sci.*, 58, 985-993.
- RICHERT (S. H.) (1979). — Physico-chemical properties of whey protein foams. *J. Agric. Food. Chem.*, 27, 665-668.
- ROGER (L.), MAUBOIS (J. L.) (1981). — Actualités dans le domaine des technologies à membrane pour la séparation et la purification des protéines laitières. *Rev. Lait. Fr.* (400), 67-75.
- SCHMIDT (R. H.) (1981). — In «Protein functionality in foods». J. P. Cherry, ed., *Am. Chem. Soc.*, Washington, 131.
- SHIMIZU (M.), KAMIYA (T.), YAMAUCHI (K.) (1981). — The adsorption of whey protein on the surface of emulsified-fat. *Agric. Biol. Chem.*, 45, 2491-2496.
- SHORT (J. L.) (1980). — The water absorption capacity of heat precipitated whey proteins. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 15, 167-176.
- STERNBERG (M.), CHIANG (J. P.), EBERTS (N. J.) (1976). — Cheese whey proteins isolated with polyacrylic acid. *J. Dairy Sci.*, 59, 1042-1050.
- THOMPSON (L. U.), REYES (E. S.) (1980). — Modification of heat coagulated whey protein concentrates by succinylation. *J. Dairy Sci.*, 63, 715-721.
- TORNBERG (E.) (1978). — Functional characterization of protein stabilized emulsions : creaming stability. *J. Food Sci.*, 43, 1559-1562.
- TORNBERG (E.) (1979). — In «Functionality and protein structure». A. Pour-El, ed., *Am. Chem. Soc.*, Washington, 105.
- TORNBERG (E.) (1980). — Functional characteristics of protein stabilized emulsions : emulsifying behavior of proteins in a sonifier. *J. Food Sci.*, 45, 1662-1668.
- YAMAUCHI (K.), SHIMIZU (M.), KAMIYA (T.) (1980). — Emulsifying properties of whey protein. *J. Food Sci.*, 45, 1237-1242.
- ZADOW (J. G.), HARDHAM (J. F.) (1981). — Studies on the use of whey protein concentrates in bread. *Aust. J. Dairy Technol.*, 36, 60-63.
-