Influence des traitements thermiques sur les propriétés physicochimiques des rétentats obtenus par ultrafiltration de lait de vache et de lait de chèvre

I. DENATURATION DES PROTEINES SOLUBLES

par

Alice PIERRE*, G. BRULE, J. FAUQUANT
et M. PIOT

L'utilisation en industrie fromagère de la technique d'ultrafiltration sur membrane (Maubois et Mocquot, 1971) comporte en première étape l'obtention d'un liquide à teneur élevée en protéines : le rétentat. Les propriétés spécifiques de ce nouveau produit sont différentes de celles des produits laitiers traditionnels et doivent être prises en compte lors de sa transformation ultérieure en fromage. L'influence de divers traitements technologiques sur les propriétés des rétentats d'ultrafiltration a déjà été étudiée (Brule *et al.*, 1974 ; Culioli *et al.*, 1974), mais aucun travail n'a été consacré à l'action des traitements thermiques, malgré leur utilisation à divers stades de la technologie (pasteurisation, ultrafiltration à température élevée).

Le traitement thermique du lait et de ses dérivés a fait l'objet de nombreuses études. Le taux de dénaturation des protéines solubles en fonction de l'intensité du chauffage a été évalué dans des laits soumis à différents types de traitements : pasteurisation basse (Harland *et al.*, 1964 ; Larson et Roller, 1955), pasteurisation haute (Dill *et al.*, 1964 ; Harland *et al.*, 1955) ; la sensibilité thermique de chaque constituant protéique a été précisée (Larson et Roller, 1955), les laits de plusieurs espèces animales comparés (Prodanski, 1967). L'importance de nombreux facteurs physiques et chimiques (pH, concentration, addition de sels ionisés ou non, de cystéine, etc.) sur la stabilité thermique des protéines solubles dans les lactosérums de

* Laboratoire de Recherches de Technologie Laitière, I.N.R.A., 65, rue de Saint-Brieuc - 35042 Rennes cedex.

fromagerie a été déterminée (Nielsen *et al.*, 1973 ; Townend et Gyuricsek, 1974). Les mécanismes de fixation des protéines solubles sur la caséine ont été étudiés : association β lactoglobuline et caséine K (Gugan *et al.*, 1974), association β lactoglobuline et α lactalbumine (Hunziker et Tarassuk, 1965).

D'autres études ont porté sur les produits laitiers concentrés par évaporation. Dans les laits concentrés, un effet protecteur de la concentration sur la dénaturation thermique des protéines solubles a été mis en évidence (Harland *et al.*, 1952 ; Mc Kenna et O'Sullivan, 1971). Dans les lactosérums, il semble que la concentration ait un effet variable selon la teneur en extrait sec atteinte (Guy *et al.*, 1967 ; Nielsen *et al.*, 1973), la dénaturation étant minimale pour des teneurs en substance sèche de 20 p. 100. Pour les lactosérums ultrafiltrés, la dénaturation des protéines serait plus forte après concentration (Robinson, 1974) que dans le lactosérum initial.

Ces derniers résultats ne peuvent être transposés aux rétentats d'ultrafiltration en raison de leur différence de composition avec ces produits : la concentration par évaporation entraîne une augmentation simultanée de tous les constituants de la matière sèche, tandis que par ultrafiltration, seule la fraction protéique est concentrée, l'extrait sec de la phase soluble non protéique restant égal à celui du lait. Pour préciser l'effet des traitements thermiques sur les rétentats d'ultrafiltration du lait de vache et de chèvre, nous avons réalisé une étude qui sera présentée en deux parties ; nous exposons ici les résultats concernant la dénaturation de protéines solubles des rétentats en fonction de l'intensité du traitement thermique et de la composition de la phase soluble non protéique ; l'étude rhéologique des rétentats soumis à l'action du chauffage sera publiée séparément.

MATERIEL ET METHODES

Laits

Les laits de vache et de chèvre utilisés étaient des laits de mélange crus et écrémés.

Ultrafiltrations

Les opérations étaient réalisées à 30° C sur un appareillage D.D.S. 4 m² équipé de membranes 600, ou sur Romicon 2,6 m² équipé de membranes XM 50 ; leur durée n'excédait pas 2 h. Aucune modification du pH n'était enregistrée au cours de ce traitement.

Traitements thermiques

Les échantillons de lait et de rétentat étaient répartis par fractions de 100 ml dans des flacons de 125 ml, bouchés puis chauffés

par immersion dans un bain-marie. Le temps mis pour atteindre la température souhaitée était déterminé pour chaque type de produit et compris entre 4 mn et 7 mn selon la viscosité des échantillons et la température choisie ; la durée du chauffage, comptée à partir du moment où le produit atteignait la température voulue, était de 30 mn, sauf précision contraire. Les échantillons étaient ensuite refroidis dans un bain d'eau glacée.

Concentrations

Le lait concentré était obtenu par évaporation sous vide et injection continue d'un lait cru dans un appareillage « Rotavapor » dont le ballon d'évaporation tournait dans un bain-marie maintenu à la température de 60° C (durée totale de l'opération : 2 h).

Evaluation de la dénaturation

Les teneurs en protéines des échantillons étaient évaluées à partir du dosage de l'azote ($N \times 6,38$), effectué sur un autoanalyseur Technicon.

La teneur en azote total était déterminée par dosage direct après dilution et la teneur en azote soluble, par dosage sur le surnageant obtenu après précipitation à pH 4,6 selon la méthode de Aschaffenburg et Drewry (1958).

Dans l'exposé de ce travail, la diminution de la teneur en protéines de la phase soluble à pH 4,6 sera considérée comme le critère de dénaturation. Elle sera évaluée de la manière suivante :

Si on appelle P_0 la teneur en protéines solubles d'un échantillon avant chauffage, P_{95} après un chauffage de 30 mn à 95° C et P_θ après un chauffage d'une durée déterminée à la température θ , on peut définir la quantité de protéines dénaturables par la valeur $P_0 - P_{95}$ et le pourcentage de protéines non dénaturées (PND) à une température θ , pendant un temps t , par :

$$\text{PND} = \frac{(P_\theta - P_{95})}{P_0 - P_{95}} 100$$

Rétentats à phase soluble variable

Pour étudier l'influence de la composition de la phase soluble, nous avons préparé des solutions modèles en mélangeant un rétentat de lait de vache concentré par ultrafiltration (teneur en protéines de l'ordre de 190 g/kg), du lactose, une solution saline ayant la composition de la phase minérale du lait (Jenness et Koops, 1962) mais à une concentration dix fois supérieure, et de l'eau. Le pH des solutions obtenues variait avec la concentration de la phase minérale et sera indiqué dans les résultats pour chaque mélange. Les mélanges étaient

laissés 2 h à température ambiante afin de s'équilibrer (traitement I) ; dans certains essais, les mélanges étaient conservés pendant 15 h à 4° C, puis laissés 2 h à température ambiante (traitement II) avant d'effectuer le traitement thermique. Le traitement sera précisé lors de chaque essai.

Sur ces solutions, nous avons déterminé la teneur en extrait sec soluble de la manière suivante :

— Soit E	Teneur en extrait sec total du rétentat.
e	Teneur en extrait sec soluble du rétentat.
P	Teneur en protéines du rétentat.
M	Teneur en sels du rétentat.
m	Teneur en sels liés aux protéines.
μ	Teneur en sels de l'ultrafiltrat.
ϵ'	Teneur en extrait sec soluble de la solution modèle.
μ'	Teneur en extrait sec (sels) de la solution synthétique d'ultrafiltrat concentrée dix fois.

— Soit A, L et B les poids de rétentat, lactose et ultrafiltrat synthétique, nous pouvons écrire :

$$\begin{aligned} m &= M - \mu. \\ e &= E - (P + m). \\ \epsilon' &= Ae + B\mu' + L. \end{aligned}$$

RESULTATS

I. Influence de l'intensité du chauffage sur la stabilité des protéines solubles

A. INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE DE CHAUFFAGE

Nous avons étudié l'influence de la température de chauffage sur l'intensité de la dénaturation des protéines solubles dans un rétentat et dans le lait. Les chauffages ont été effectués à des températures comprises entre 60° C et 95° C, pendant 30 mn. La figure 1 montre la variation de PND d'un lait de vache (27,9 g de protéines par kg) et d'un rétentat (170,7 g de protéines par kg) obtenu par ultrafiltration de ce lait. La dénaturation des protéines solubles se produit essentiellement entre 65° C et 80° C (Larson et Rolleri, 1955) ; pour une même température de chauffage, la dénaturation est plus forte dans le rétentat que dans le lait : la température de demi-dénaturation est de 72° C pour le lait, de 68° C pour le rétentat. La dénaturation des protéines solubles est complète à 80° C dans le lait, à 75° C dans le rétentat.

L'effet de la température de chauffage sur le rétentat de lait de chèvre a été étudié dans les mêmes conditions. La figure 2 montre que la fraction protéique soluble du lait de chèvre se comporte de

fig. 1 Influence de la température de chauffage sur la dénaturation des protéines solubles d'un lait de vache avant et après ultrafiltration :
 ● lait 27,9 gP/kg ;
 ○ rétentat 170,7 gP/kg.

fig. 2 Influence de la température de chauffage sur la dénaturation des protéines solubles d'un lait de chèvre avant et après ultrafiltration :
 ▲ lait 28,3 gP/kg ;
 △ rétentat 160,8 gP/kg.

fig. 3 Influence de la durée du chauffage sur la dénaturation des protéines solubles d'un lait de vache avant et après ultra-filtration :

- ▲ lait 30,6 gP/kg ;
- rétentat à 75,3 gP/kg ;
- rétentat à 179,9 gP/kg.

log PND à 75 °C

fig. 4 Relation entre la quantité de protéines solubles non dénaturées et la durée de chauffage à 75° C pour un lait de vache :
▲ 30,6 gP et deux rétentats : ● 75,3 gP et ■ 179,9 gP.

fig. 5 Influence de la durée du chauffage sur la dénaturation des protéines solubles d'un lait de chèvre avant et après ultrafiltration :

- ▲ lait 28,1 gP/kg ;
- rétentat à 72,1 gP/kg ;
- rétentat à 190,8 gP/kg.

log PND

fig. 6 Relation entre la quantité de protéines solubles non dénaturées et la durée de chauffage à 75° C pour un lait de chèvre : ▲ 28,1 gP et deux rétentats : ● 72,1 gP et ■ 190,8 gP.

la même façon que celle du lait de vache : on note cependant que le lait de chèvre est un peu plus stable, sa température de demi-dénaturation étant de 74° C, celle du rétentat à 160,8 g de protéines de 70° C ; la dénaturation des protéines solubles est également complète à 75° C dans le rétentat.

B. INFLUENCE DE LA DURÉE DU CHAUFFAGE

L'influence de la durée de chauffage a été étudiée sur deux rétentats contenant respectivement 75,3 g/kg et 179,9 g/kg de protéines et sur le lait de vache d'origine (fig. 3). A 65° C, la dénaturation est faible quel que soit le temps de chauffage jusqu'à 30 mn. A 70° C, elle est plus rapide en fonction du temps. A 75° C, on observe (fig. 4) une proportionnalité entre le logarithme des PND et la durée du chauffage. La réaction est du premier ordre par rapport au temps pour toutes les teneurs en protéines étudiées. Si l'on compare la dénaturation dans les échantillons de lait et de rétentat, on remarque que le temps de demi-réaction est inversement proportionnel à la concentration en protéines : la réaction semble du deuxième ordre par rapport à la concentration.

Une expérience identique a été effectuée sur du lait de chèvre (28,1 g de protéines par kg) et sur ses rétentats à deux concentrations (72,1 g/kg et 190,8 g/kg de protéines). On voit sur la figure 5 que le taux de dénaturation augmente avec le temps et la température de chauffage comme pour le lait de vache. La réaction de dénaturation du lait de chèvre et des rétentats est d'ordre un par rapport au temps à 75° C (fig. 6). La réaction est du deuxième ordre par rapport à la concentration en protéines, comme le montre la variation du temps de demi-dénaturation en fonction de la teneur en protéines.

II. Influence de la composition du rétentat sur la stabilité des protéines solubles à la chaleur

A. INFLUENCE DE LA TENEUR EN PROTÉINES

La figure 7 montre l'influence de la concentration en protéines totales du rétentat sur la dénaturation des protéines solubles au cours d'un chauffage ; des rétentats de lait de chèvre et de lait de vache ont été étudiés à différentes concentrations. On voit qu'à la température de 70° C, la concentration favorise la dénaturation des protéines dans les deux types de lait, surtout lorsque la teneur en protéines totales passe de 31 g/kg à 95 g/kg. Selon la température de chauffage, l'effet de la concentration sera plus ou moins important, comme le montre la figure 8 : alors qu'à 65° C la teneur en protéines totales n'a que peu d'effet sur le PND, à 70° C et 75° C, une augmentation de la teneur en protéines totales favorise la dénaturation dans des proportions importantes ; à 80° C, la dénaturation des protéines solubles est complète dans tous les échantillons.

fig. 7 Influence de la teneur en protéines sur la dénaturation des protéines solubles dans les rétentats de lait de vache ● et de chèvre ▲.

fig. 8 Influence de la teneur en protéines sur la dénaturation des protéines solubles du lait de vache à différentes températures de chauffage.

TABLEAU 1. — Préparation de solutions modèles à phase soluble variable

Echantillons n°	Rétentat (g)	Eau (ml)	UF synthétique (g)	Lactose (g)	Phase soluble totale (g p. 1000)
1	100	70	0	0	39,7
2	100	60	5,2	4,8	70,9
3	100	45	13,0	12,0	117,9
4	100	30	21,0	19,0	163,2
5	100	15	28,5	26,5	213,2
6	100	0	37,5	33,5	260,0
Fraction massique soluble	0,067	—	0,102	1	—

TABLEAU 2

Composition du rétentat servant à la préparation de la solution modèle (fig. 13)

	E.S.T. (g/kg)	Protéines totales $N \times 6,38$ (g/kg)	Azote non protéique $N \times 6,38$ (g/kg)	Cendres (g/kg)
Rétentat	268,7	185,3	1,5	21,6
Ultrafiltrat final	55,2	1,3	1,0	4,3

B. INFLUENCE DE LA COMPOSITION DE LA PHASE SOLUBLE NON PROTÉIQUE

Pour connaître l'importance de la composition du milieu de dispersion des protéines sur leur stabilité au cours du chauffage, nous avons réalisé des solutions ayant une teneur en protéines identique et une phase soluble non protéique de concentration croissante.

Nous avons étudié l'effet de chauffages à différentes températures sur des solutions contenant 111,6 g de protéines par kg. Leur composition est détaillée dans le tableau 1 et celle du rétentat utilisé pour leur préparation figure dans le tableau 2 ; les résultats sont reportés sur la figure 9. A toutes les températures étudiées, la concentration de la phase soluble non protéique a une influence sur le taux de dénaturation des protéines solubles par chauffage. A 70° C, un effet protecteur est observé pour les teneurs en extrait sec soluble comprises entre 50 g/kg et 150 g/kg, au-delà, il devient négligeable ; à 75° C, il existe pour toutes les teneurs étudiées : lorsqu'elles varient de 50 g/kg à 250 g/kg la dénaturation des protéines solubles diminue de 100 p. 100 à 30 p. 100. A 95° C un chauffage de 30 mn ne suffit pas pour dénaturer la totalité des protéines solubles lorsque la concentration de la phase soluble est supérieure à 70 g/kg.

L'influence de la teneur en protéines totales est mise en évidence sur la figure 10 où est reportée la teneur en protéines non dénaturées à 75° C dans trois séries de solutions contenant respectivement 31,3 g/kg, 79,2 g/kg et 108,5 g/kg de protéines totales. On observe que pour une même concentration de la phase soluble, une augmentation de la teneur en protéines totales accroît la dénaturation dans des proportions importantes. Nous avons reporté également sur la figure 10 les résultats que nous avons obtenus sur un lait au cours de la concentration par évaporation.

La figure 11 montre que si on fait varier seulement la teneur en lactose des mélanges, la teneur en éléments minéraux restant celle du lait, on observe une dénaturation identique à celle de l'essai où l'ensemble de la phase soluble est concentré. L'augmentation de teneur en lactose est donc responsable de l'effet protecteur observé dans les mélanges à phase soluble concentrée.

Il semble cependant que la répartition des minéraux entre la phase colloïdale et la phase soluble pourrait avoir un rôle sur la stabilité des protéines. En effet, la figure 12 montre la différence de PND observée dans des mélanges ayant été préparés dans des conditions différentes. On remarque que pour les teneurs en extrait sec soluble comprises entre 50 g/kg et 150 g/kg, une durée de séjour de 15 h à 4° C augmente la résistance des protéines solubles au traitement thermique. Le taux de protéines non dénaturées passe de 10 p. 100 à 30 p. 100 pour une teneur en extrait sec soluble égale à 100 g/kg.

PND
p. 100

fig. 9

Influence de la concentration de la phase soluble sur la dénaturation par la chaleur des protéines solubles d'un rétentat (111,6 gP/kg) à plusieurs températures. Traitement I.

PND à 75 °C
p. 100

fig. 10

Influence de la concentration de la phase soluble sur la stabilité thermique des rétentats à différentes teneurs en protéines totales. Traitement II.

★ Lait initial 28,1 gP/kg.

☆ Laits concentrés par évaporation.

▲ Rétentats à 31,3 gP/kg. ● 79,2 gP/kg. ■ 108,5 gP/kg.

PND à 75 °C

p.100

fig. 11

Influence de la composition de la phase soluble sur la dénaturation des protéines solubles. Traitement II.

▲ Rétentat 108,5 gP/kg à phase soluble de concentration croissante.

○ Rétentat 116,7 gP/kg, phase soluble à teneur en lactose croissante mais teneur en minéraux constante.

PND

p.100

fig. 12

Influence du mode de traitement des échantillons avant le chauffage sur la dénaturation des protéines solubles à 75 °C.

Traitement I : ○ 64,4 gP ; □ 108,5 gP.

Traitement II : ● 79,7 gP ; ■ 108,5 gP.

fig. 13

Evolution du pH des solutions protéiques avec la teneur en extrait sec soluble.

- ☆ Lait concentré.
- Rétenats à 111,6 g de protéines.
- ▲ « Laits » à 31,3 gP.
- Rétenats, 116,9 gP à teneur en lactose variable.

Le pH des solutions étudiées varie avec la concentration de la phase soluble non protéique choisie. Les valeurs correspondant à chaque type de produit sont données dans la figure 13. On voit que l'évolution du pH est identique dans les solutions modèles à extrait sec non protéique variable et dans le lait concentré par évaporation. Par contre, dans la solution où seule augmente la teneur en lactose, le pH se stabilise à la valeur de 6,5 lorsque la phase soluble est supérieure à 100 g/kg.

DISCUSSION

L'augmentation de la concentration en protéines dans les rétenats de lait de vache et de chèvre favorise la dénaturation thermique des protéines solubles. Robinson (1974) ayant montré qu'il en était

de même dans les rétentats de lactosérum, il est probable que cet effet sensibilisateur est dû à l'augmentation de la concentration en protéines solubles de l'échantillon, l'augmentation de la concentration en caséine n'intervenant pas. La température de début de dénaturation est peu différente pour les laits et les rétentats, par contre la température de dénaturation totale est plus basse dans les rétentats que dans les laits (fig. 1 et 2).

L'étude de la dénaturation en fonction de la durée du chauffage (fig. 4 et 6) montre qu'à 75° C la réaction suit une cinétique d'ordre un pour toutes les teneurs en protéines étudiées ; elle est un peu moins rapide dans le lait de chèvre que dans le lait de vache. Mc Kenna (1971) a étudié la dénaturation thermique dans les laits concentrés par évaporation et a montré que dans ces produits également la réaction était d'ordre un. Plus récemment Baer (1976), travaillant sur des solutions de protéines pures a suivi la cinétique de formation du complexe α lactalbumine + β lactoglobuline au cours du chauffage et déterminé qu'elle était du premier ordre. Il est très probable que les résultats que nous avons obtenus correspondent à la mesure de la vitesse de formation de ce complexe dans le lait.

Nos résultats montrent que l'effet protecteur de la concentration mis en évidence par Harland *et al.*, 1952 ; Mc Kenna et O'Sullivan, 1971 ; Newstead *et al.*, 1974 est dû à l'augmentation de la teneur en extrait soluble non protéique et plus précisément de la teneur en lactose ; nous pensons que le lactose pourrait agir sur la stabilité thermique des protéines en augmentant leur caractère hydrophile. Nielsen *et al.*, 1973 ont observé que la β lactoglobuline devient plus résistante aux traitements thermiques dans les sérums concentrés par évaporation. Il semble probable que dans nos essais ce soit également la résistance de cette protéine qui soit accrue, car l'effet maximum de la concentration est observé à la température de 75° C, qui est celle de la dénaturation de la β lactoglobuline dans le lait.

Cependant l'effet protecteur observé dans les solutions modèles est moins important que celui des laits concentrés ; en effet (fig. 10), la courbe de dénaturation des protéines solubles dans les laits concentrés est pratiquement la même que celle de la solution modèle à 31,3 g de protéines par kg, alors qu'en tenant compte de la composition des produits analysés, elle devrait théoriquement recouper celle des mélanges plus riches en protéines lorsque l'extrait sec augmente. Il semble donc que ces solutions modèles ne permettent pas de reproduire les conditions existant dans les laits concentrés, notamment peut-être au niveau des possibilités d'interaction entre le calcium et les protéines. La préparation du lait concentré par évaporation exige le maintien du lait à une température difficile à apprécier avec l'appareillage utilisé mais certainement voisine de 45° C à 50° C. Ce traitement pourrait-il induire des modifications accroissant la résistance de la β lactoglobuline ? Morr (1968) a mis en évidence que

les interactions caséines-protéines solubles se produisant au cours de la dénaturation thermique font intervenir non seulement des interactions entre groupements sulphydriques, mais aussi des liaisons hydrogène et hydrophobes et enfin des liaisons non spécifiques par l'intermédiaire de ponts calcium. Nous pensons que le traitement de concentration pendant lequel le lait est maintenu à 45° C - 50° C pendant 2 h modifie les équilibres calciques du lait (proportion de calcium colloïdal et de calcium soluble) et éventuellement favorise la formation de liaisons caséine-calcium- β lactoglobuline. Les protéines solubles seraient alors moins disponibles pour intervenir dans des réactions conduisant à une dénaturation. Le test que nous avons choisi pour mesurer la dénaturation (insolubilisation à pH 4,6) entraîne la disparition des liaisons calcium et nous ne dosons que les protéines solubles fixées par des liaisons non ioniques. Il faudrait faire appel à d'autres méthodes de dosage pour mettre en évidence les deux types de liaisons.

Résumé

L'effet des traitements thermiques sur les protéines solubles contenues dans les rétentats obtenus lors de l'ultrafiltration des laits de vache et de chèvre a été étudié en suivant leur changement de solubilité à pH 4,6. Nos résultats montrent que les protéines solubles sont plus sensibles à la dénaturation thermique dans les rétentats que dans les laits. L'effet protecteur de la concentration de la phase soluble non protéique a été mis en évidence pour les différents teneurs en protéines étudiées (30 g/kg - 110 g/kg) grâce à l'utilisation de solutions modèles. Le lactose est responsable de cet effet protecteur.

Summary

The effect of heat treatment on whey soluble proteins contained in cow's and goat's milk UF retentates has been studied by following the pH 4,6 solubility change. Our results show that whey proteins are more quickly heat denatured in retentates than in milks. The protective effect of the non protein soluble phase has been demonstrated for different protein contents (between 3 to 11 p.100) by using model solutions. Protective effect is due to lactose.

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos remerciements à MM. Maubois, Hermier et Mocquot pour l'aide et les conseils qu'ils nous ont apportés dans la rédaction de cette publication.

Reçu pour publication en juin 1977.

Références

1. ASCHAFFENBURG (R.) and DREWRY (J.) (1958). — New procedure for the routine determination of the various non casein proteins of milk. *Int. Dairy Cong.*, 5 à 59, 1631.
2. BAER (A.), OROZ (M.) and BLANC (B.) (1976). — Serological studies of heat induced interactions of α lactalbumins and milk proteins. *J. Dairy Res.*, 43, 419-432.
3. BRULE (G.), MAUBOIS (J. L.) et FAUQUANT (J.) (1974). — Etude de la teneur en éléments minéraux de produits obtenus lors de l'ultrafiltration du lait sur membrane. *Le Lait*, 539-540, 600-615.
4. CULIOLI (J.), BON (J. P.) et MAUBOIS (J. L.) (1974). — Etude de la viscosité de rétentats et de préfromages obtenus après traitement du lait par ultrafiltration sur membrane. *Le Lait*, 538, 481-500.
5. DILL (C. W.), ROBERTS (W. M.), CARTER (M. W.) and LUCAS (H. L.) (1964). — Denaturation of the serum proteins in skimmilk heated by direct steam injection. *J. Dairy Sci.*, 47, 616.
6. GUGAN Mc (W. A.), ZEHREN (V. F.), ZEHREN (V. L.) and SWANSON (A. M.) (1974). — Interaction between casein and β lactoglobulin on heating. *Science*, 120, 435.
7. GUY (E. J.), VETTEL (H. E.) and PALLANSCH (M. J.) (1967). — Denaturation of cottage cheese whey proteins by heat. *J. Dairy Sci.*, 50, 8-28.
8. HARLAND (H. A.), COULTER (S. T.) and JENNESS (R.) (1952). — The effect of various steps in the manufacture of the extent of serum protein denaturation in non fat dry milk solid. *J. Dairy Sci.*, 35, 363.
9. HARLAND (H. A.), COULTER (S. T.), TOWNLEY (V. H.) and JENNESS (R.) (1955). — A quantitative evaluation of changes occurring during heat treatments of skimmilk at temperatures ranging from 170° C to 300° C. *J. Dairy Sci.*, 38, 1199.
10. HUNZIKER (H. G.), TARASEUK (N. P.) (1965). — Chromatographic evidence for heat induced interaction of α lactalbumin and β lactoglobulin. *J. Dairy Sci.*, 48, 733.
11. JENNESS (R.) and KOOPS (J.) (1962). — Preparation and properties of a salt solution which simulates milk ultrafiltrate. *Neth. Milk and Dairy J.*, 16, 152.
12. LARSON (B. L.) and ROLLER (G. D.) (1955). — Heat denaturation of the specific serum proteins in milk. *J. Dairy Sci.*, 38, 351.
13. MAUBOIS (J. L.) et MOCOQUOT (G.) (1971). — Préparation de fromage à partir de « préfromage liquide » obtenu par ultrafiltration du lait. *Le Lait*, 508, 495-533.
14. Mc KENNA (B. M.) and O'SULLIVAN (A. C.) (1971). — Whey protein denaturation in concentrated skimmilk. *J. Dairy Sci.*, 54, 1075.
15. MORR (C. V.) and JOSEPHSON (R. V.) (1968). — Effect of calcium, N ethylmaleimide and casein, on heat aggregation of whey protein. *J. Dairy Sci.*, 51, 1349.
16. NEWSTEAD (D. F.), SANDERSON (W. B.) et WOODHANS (D. J.) (1974). — Effets de la composition sur la stabilité à la chaleur du lait écrémé concentré préchauffé. 19^e congrès Int. Laiterie, Inde, 1F. B5, 202.
17. NIELSEN (M. A.), COULTER (S. T.), MORR (C. V.) and ROSENAU (J. R.) (1973). — Four factors response surface experimental design for evaluating the role of processing variables upon protein denaturation in heated whey systems. *J. Dairy Sci.*, 56, 76.
18. PRODANSKI (P.) (1968). — Comparative electrophoretic study of effect of heat treatment of casein and whey proteins on degree of denaturation of their protein fractions. *D.S.A.*, 30, 2.150.
19. ROBINSON (B. P.) (1974). — Stabilité thermique des protéines solubles du sérum. 19^e congrès Int. Laiterie, 1F B5.
20. TOWNEND (R.) and GYURICSEK (D. M.) (1974). — Heat denaturation of whey and model protein systems. *J. Dairy Sci.*, 57, 1152.