Caractéristiques rhéologiques et gélification thermique du concentré de protéines de lactosérum

P Gault, M Mahaut, J Korolczuk

INRA, Laboratoire de recherches de technologie laitière,
65, rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes, France

(Reçu le 4 septembre 1989; accepté le 7 mars 1990)

Résumé — Le comportement rhéologique et la cinétique de gélification thermique d'un concentré de protéines de lactosérum (CPL) diafiltré et délipidé ont été étudiés à partir d'un viscosimètre à cylindres coaxiaux. Les caractéristiques rhéologiques des gels ont été estimées avec un rhéomètre à compression. Les solutions du CPL, contenant de 4 à 14% de protéines, à 25 °C et à pH 7, présentent un comportement newtonien pour des vitesses de cisaillement comprises entre 82 et 955 s⁻¹. Le logarithme de la viscosité est une fonction linéaire de la concentration en protéines. L'énergie d'activation d'écoulement augmente linéairement avec la concentration en protéines, à partir de 6%, d'environ 13 kJ·mol⁻¹ pour l'eau, à 20 kJ·mol⁻¹ pour le CPL à 14% de protéines. A 60 °C, les solutions à pH 4 et à 10% de protéines présentent un comportement rhéofluidifiant en cours de gélification thermique. A 60 °C, l'augmentation de la viscosité est la plus rapide à pH 4 et 9, et, entre pH 5 et 7,5, les solutions ne gélifient pas. A 70 °C, le CPL gélifie entre pH 3,5 et 9 et il existe une relation linéaire entre le logarithme de la vitesse de gélification et le pH (6 à 9). La contrainte de compression des gels n'évolue pas linéairement avec le taux de compression (0 à 22%). L'élasticité, estimée à partir du module d'Young apparent (E_a) calculé à un faible taux de compression (2%), augmente avec la concentration en protéines, la température et le temps de chauffage. A 10% de protéines, E_a est le plus élevé à pH 4 (191 kPa) et 10 (154 kPa), et le plus faible à pH 5 (12 kPa) et 11 (24 kPa). La fermeté, calculée à partir de la contrainte à 22% de compression, est la plus élevée à pH 10 (> 18 kPa) et 8 (16 kPa), et la plus faible à pH 5 (3 kPa) et 4 (7 kPa). A pH 4, le gel est translucide et très fragile. Entre pH 5 et 9, il est blanc et opaque. A pH 11, il est le plus translucide.

concentré de protéines de lactosérum / gélification thermique / viscosité / fermeté / module d'Young

Summary — Rheological characterization and heat gelation of whey protein concentrate. Rheological behaviour and gelation kinetic of defatted and diafiltered whey protein concentrate (WPC) have been studied with a coaxial cylinder viscometer. Rheological characteristics of gels have been measured with a compression rheometer. The solutions of the WPC containing 4–14% at 25 °C and at pH 7 has a newtonian behaviour for the shear rate between 82 and 955 s⁻¹. The logarithm of the viscosity is a linear function of the protein concentration. The activation energy of flow increases linearly with protein concentration from about 13 kJ·mol⁻¹ for water to 20 kJ·mol⁻¹ for 14% protein solution. At 10% protein and 60 °C, the heat gelling solutions have shear thinning behaviour. At 60 °C, the increase of the apparent viscosity is the fastest at pH 4 and 9. At 70 °C, gelation is observed from pH 3.5–9 and the logarithm of the gelation velocity is a linear function of pH between 6 and 9. The relation between the compression ratio (0–22%) of the protein gels and the compression stress is non-linear. The elasticity, estimated as the apparent Young's modulus (E_a) calculated for low compression ratio (2%), increases with protein concentration, temperature and time of heating. For the gels containing 10% protein, the highest level of E_a is observed for the pH 4 (191 kPa) and 10 (154 kPa), the lowest for the pH 5 (12 kPa) and 11 (24 kPa). The firmness, estimated by the

stress at the compression ratio of 22%, is the highest at pH 10 (> 18 kPa) and 8 (16 kPa), and the lowest at pH 5 (3 kPa) and pH 4 (7 kPa). At pH 4, the gel is translucent and very brittle. For the pH between 5 and 9, it is white and opaque. At 11, the gel is the most translucent.

why protein concentrate / heat gelation / viscosity / firmness / Young's modulus

INTRODUCTION

L'aptitude à la gélification thermique est, parmi les propriétés fonctionnelles des concentrés de protéines de lactosérum (CPL), une des plus recherchées en industrie alimentaire (Kinsella, 1984). La gélification du CPL consiste en la mise en place d'un réseau protéique tridimensionnel ordonné et suffisamment ouvert pour emprisonner beaucoup d'eau, ce qui nécessite un équilibre critique entre les forces répulsives et attractives intermoléculaires dépendant du pH (Mulvihill et Kinsella, 1987). A pH acide et donc au pHi des séroprotéines (voisin de 5), les liaisons de type hydrophobe, hydrogène et ionique sont principalement responsables de ce phénomène; au-delà de pH 6,8, les ponts disulfures, résultant de la dissociation et du réarrangement des groupements SH/SS, interviendraient de façon prépondérante (De Wit et De Boer, 1975; De Wit, 1981).

De nombreux critères ont été proposés pour évaluer l'aptitude à la gélification thermique des CPL. Hagett (1976), Johns et Ennis (1981), Hillier et Cheeseman (1979) et Sternberg *et al* (1976) évaluent, par l'écoulement gravitationnel, le temps, la température et la concentration en protéines nécessaires pour obtenir un gel: il y a gélification lorsque l'inversion du tube contenant la solution protéique ne provoque pas d'écoulement. Des méthodes instrumentales sont également utilisées telles que les mesures de viscosité en régime permanent (McDonough *et al*, 1974), les mesures du module complexe en ré-

gime dynamique (Paulsson *et al*, 1986), la pénétrométrie (Hagett, 1976), la compression (Johns et Ennis, 1981; Sternberg *et al*, 1976; Mulvihill et Kinsella, 1988; Zirbel et Kinsella, 1988). Les propriétés physiques du gel sont aussi déterminées par analyse sensorielle (Cooper *et al*, 1977) avec comparaison à des gels standard (Dunkerley et Hayes, 1980), et enfin par microscopie électronique à balayage (Mulvihill et Kinsella, 1988; Harwalkar et Kalab, 1985). Les résultats varient selon les auteurs en raison de la diversité des méthodes mises en œuvre et de la composition du CPL (concentration en protéines, en ions, en lipides et en lactose), de l'état des protéines et du pH de la solution qui dépendent du procédé de préparation du CPL (Morr, 1979; Kinsella, 1984; Mulvihill et Kinsella, 1987).

La gélification thermique des séroprotéines nécessite une concentration minimale en protéines qui dépend du pH. Hillier et Cheeseman (1979) ont trouvé une concentration minimale de 8% à pH 8 à partir d'un CPL obtenu par chromatographie sur échangeur d'ions. Selon Sternberg *et al* (1976), qui ont travaillé sur un CPL obtenu par précipitation avec de l'acide polyacrylique, elle est de 1%, 1,4%, 4,4% et 4,8% de protéines, respectivement, à pH 4,5, 6,0, 8,0 et 5,0. L'augmentation de la concentration en protéines au-delà de cette valeur critique, de la température de chauffage (60 à 90 °C) et du pH (6 à 9) diminuent le temps nécessaire à la gélification (Hillier et Cheeseman, 1979; Hillier *et al*, 1980), alors que la présence de lipides retarde ce phénomène (Stern-

berg *et al*, 1976). Cooper *et al* (1977) ont montré à partir de l'évaluation sensorielle que la fermeté du gel, le cassant, le brillant et la couleur dépendent du pH, de la concentration en protéines, en CaCl_2 , en NaCl et en saccharose. L'élévation du pH entre 6 et 8, et de la température de chauffage entre 70 et 90 °C, augmente la fermeté du gel de CPL obtenu par chromatographie sur échangeur d'ions (Zirbel et Kinsella, 1988). Selon Dunkerley et Zadow (1981), les gels de concentré de protéines de lactosérum doux présentent une fermeté moyenne à pH 3 et 6, excellente à pH 8 et la déminéralisation entraîne une diminution de l'aptitude à la gélification à pH 3.

La mise au point récente par Fauquant *et al* (1985a, b) d'un procédé de délipidation de ces protéines par microfiltration et de concentration par ultrafiltration et diafiltration (jusqu'à 90% de pureté) offre de nouvelles possibilités de valorisation du lactosérum. L'objet de ces travaux consiste à étudier le pouvoir gélifiant d'un tel concentré protéique afin d'envisager son incorporation dans différents aliments, en substitution par exemple au blanc d'œuf. Après avoir caractérisé ce produit sur le

plan rhéologique, nous nous sommes efforcés d'étudier l'influence du pH, de la concentration en protéines et du traitement thermique sur la cinétique de gélification thermique et la texture des gels obtenus.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Produits

La poudre de concentré de protéines de lactosérum présure (CPL), délipidé selon le procédé mis au point par Fauquant *et al* (1985b) était fournie par l'entreprise EURIAL (Herbignac, France). La composition chimique du CPL est présentée dans le tableau I. Quelques mesures comparatives ont été réalisées avec du blanc d'œuf congelé (12,2% d'extrait sec total, 10,5% de la matière azotée totale, pH 8,25), fourni par l'entreprise A B C D (Ploërmel, France).

Reconstitution du CPL

La poudre de CPL était ajoutée en quantités variables dans de l'eau désionisée à 30 °C. La solubilisation était réalisée en 90 min avec une agi-

Tableau I. Composition chimique du concentré de protéines de lactosérum en poudre (CPL).
Chemical composition of the whey protein concentrate powder (WPC).

<i>Composants</i>	<i>Components</i>	<i>Composition (g/100 g)</i>
Extrait sec total (EST)	Dry matter (DM)	95,3
Matière azotée totale (MAT)	Total nitrogen (TN)	84,8
Azote non protéique (NPN)	Non protein nitrogen (NPN)	4,65
MAT/EST	TN/DM	88,9
Matière grasse (MG)	Fat	2,7
Lactose	Lactose	3,8
Cendres	Ashes	2,5
Ca	Ca	0,72
K	K	0,35
Na	Na	0,18
β -Lactoglobuline	β -Lactoglobulin	60,4
α -Lactalbumine	α -Lactalbumin	13,4

tation modérée. Pour une concentration en protéines de 10% (poids/poids), le pH de la solution était de 6,5. Les ajustements de pH étaient réalisés à l'aide d'acide chlorhydrique HCl et de soude NaOH de normalités égales à 10.

Analyses

La teneur en extrait sec total (EST) de la poudre était déterminée par dessiccation à l'étuve à 102–105 °C pendant 5 h, selon la norme DSV donnée par Serres *et al* (1973). L'analyse quantitative des lipides était effectuée selon la méthode SBR (FIL, 1959), celle du lactose par la méthode proposée par Acton (1977). La détermination des teneurs en matières azotées totales (MAT) était réalisée par la méthode macro-Kjeldahl. Le dosage de l'azote non protéique (NPN) était effectué par dosage de l'azote total dans le surnageant après précipitation de la totalité des protéines en présence d'acide trichloroacétique à 12% selon la méthode de Rowland (1938). Les teneurs en cendres étaient déterminées par incinération de la matière sèche dans un four à 530 °C, selon la norme DSV donnée par Serres *et al* (1973). La détermination des teneurs en éléments minéraux était réalisée par absorption atomique (Brulé *et al*, 1974). Le dosage de la β -lactoglobuline et de l' α -lactalbumine était effectué par chromatographie liquide haute pression (Varian, USA : colonne TSK 3000 SW, tampon tris 0,01 mol/l, pH 6,7, débit 1 ml/min, détection 280 nm). Les déterminations de pH étaient réalisées avec un appareil type PHN-850 (Tacussel, France). La solubilité protéique a été estimée selon la méthode décrite par Morr *et al* (1985), par détermination de la MAT du surnageant après centrifugation (20 000 g, 30 min) d'une solution contenant 1% de protéines diluées dans du NaCl à 0,1 mol/l.

Viscosité

Les mesures de viscosité étaient réalisées à l'aide d'un viscosimètre rotatif à cylindres coaxiaux type Rhéomat 30 (Contraves, Suisse). Les diamètres des cylindres extérieur et intérieur étaient de 50 et 49 mm respectivement. Le

viscosimètre était relié à un microordinateur type Apple II+ (Apple Computer Inc, Etats-Unis) par l'intermédiaire d'une interface convertisseur analogique numérique type CAN-1612M1 (MID, France). Un programme d'acquisition de données (Korolczuk *et al*, 1985) a été utilisé. Le temps d'intégration du signal était de 0,5 s.

L'échantillon était placé dans la cellule de mesure à température ambiante puis plongé dans le bain d'eau porté à la température désirée ($\pm 0,1$ °C). Les mesures étaient réalisées, après un temps d'attente de 2 min, à différentes températures (10 à 70 °C) et vitesses de cisaillement (82 à 955 s⁻¹).

Gélification

La cinétique de gélification a été étudiée à partir des mesures de viscosité, en fonction de la durée de chauffage à 60 °C et à 70 °C. La saisie des mesures commençait dès l'immersion du corps de mesure dans le bain d'eau.

Le test de compression a été effectué à l'aide du rhéomètre digital, mis au point par Cardenas-Caroti *et al* (1985), sur des gels préparés de la façon suivante :

- cristalliseur de 120 ml (hauteur : 38 mm; diamètre : 66 mm), contenant 100 g de solution protéique, immergé dans un cristalliseur de 250 ml contenant 180 g d'eau, à une température de 25 °C;

- chauffage (cristalliseur sans couvercle) par micro-ondes jusqu'à la température souhaitée (80 °C et 90 °C soit respectivement 110 s et 130 s de chauffage);

- chauffage (cristalliseur + couvercle) dans un bain d'eau pendant un temps *t* (10 et 30 min), température du bain d'eau de 80 °C ou 90 °C;

- refroidissement 10 min dans l'eau glacée;

- à température ambiante pendant une nuit (environ 16 heures);

- test de compression à température ambiante (environ 20 °C) sur les gels non démolés (hauteur : 27,5 mm; diamètre : 66 mm).

La puissance absorbée par le four à micro-ondes (Micromat 700, AEG) était de 1400 watts, celle restituée de 650 watts, et sa capacité volumique de 32 litres.

Le principe du test de compression consiste à suivre l'évolution dans le temps de la force de compression du gel à vitesse constante (4 mm/min). Le gel est comprimé entre un plateau (50 mm de diamètre) suspendu à un capteur de 125 N, et le socle du rhéomètre. La contrainte de compression (S) et le module d'Young apparent (E_a) ont été calculés à partir de ce test :

$$S = F / A \quad (1)$$

et

$$E_a = S \cdot h_0 / \Delta h \quad (2)$$

ou : S = contrainte en Pa,

F = force en N,

A = surface du plateau en m^2 ,

E_a = module d'Young apparent en Pa,

h_0 = hauteur initiale du gel en m,

Δh = variation de hauteur en m,

$\Delta h/h_0$ = déformation relative ou taux de compression.

La reproductibilité des mesures a été déterminée sur 4 séries de 4 gels obtenus à partir d'une solution à 10% de protéines et à pH 7, ayant subi une montée en température de 25 à 90 °C au four à micro-ondes. Le coefficient de variation du module d'Young apparent et de la contrainte maximale de compression (S_m) est respectivement de 9% et 10%.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Solubilité

A 20 °C, la plus faible valeur de solubilité a été observée à pH 5 (94% d'azote soluble par rapport à l'azote total), pH voisin du pHi où les répulsions interprotéiques sont minimales. Aux pH situés de part et d'autre de 5, celle-ci augmente à 94,4, 95,3 et 96% à respectivement pH 3, 7 et 9. Ces valeurs sont supérieures à celles déterminées par Morr *et al* (1985) sur un CPL obtenu à partir de l'ultrafiltration d'un lactosérum doux (85 et 91,4% de protéines solubles à respectivement pH 3 et 7). A

10% de protéines (MAT-NPN), la diminution de la solubilité à pH 5 est perceptible visuellement puisqu'elle se traduit par un aspect plus trouble de la solution. L'augmentation de la solubilité avec l'éloignement du pH au pHi, liée à l'augmentation des forces répulsives interprotéiques (Kinsella, 1984), améliore le caractère translucide de la solution.

Viscosité

A une température de 25 °C, pour une concentration protéique (MAT-NPN) comprise entre 4 et 14%, à pH 7 et pour des vitesses de cisaillement comprises entre 82 et 955 s^{-1} , le comportement du produit est newtonien car la viscosité est indépendante de la vitesse de cisaillement. Le logarithme de la viscosité des solutions est proportionnel à la concentration en protéines C (en %) :

$$\log \eta = -0,128 + 0,053 \cdot C; \quad r = 0,996; n = 25 \quad (3)$$

L'élévation de la teneur en protéines entraîne une augmentation de la viscosité du CPL que l'on peut attribuer à l'effet «concentration», c'est-à-dire au rapprochement des éléments protéiques qui favorise les interactions entre ceux-ci (Lee et Rha, 1979). A 10% de protéines, la viscosité est indépendante du pH entre 3 et 10, et le comportement rhéologique du produit est également newtonien.

A pH 7, la viscosité diminue avec l'augmentation de la température (fig 1). Entre 10 °C et 60 °C, la viscosité passe de 6,7 à 2,3 mPa.s pour une concentration en protéines de 14%, et de 1,74 à 0,7 mPa.s pour une concentration de 4% ($\dot{\gamma} = 517 s^{-1}$). Entre 10 °C et 50 °C, le logarithme de la viscosité augmente de façon linéaire en fonction de l'inverse de la température ab-

Fig 1. Évolution du logarithme de la viscosité (η) du CPL en fonction de la concentration en protéines (%) et de l'inverse de la température absolue (T), à pH 7 et $\dot{\gamma} = 517 \text{ s}^{-1}$.

Evolution of the logarithm of the viscosity (η) of the whey protein concentrate as a function of the protein concentration (%) and of the reciprocal absolute temperature (T) at pH 7 and $\dot{\gamma} = 517 \text{ s}^{-1}$.

solue ($1/T$) : ($r = 0,997 \pm 0,12\%$) quelle que soit la concentration en protéines. Entre 50 et 60 °C, l'évolution de la viscosité ne suit plus l'équation d'Andrade (1930). L'insolubilisation partielle des protéines, liée à l'augmentation des interactions hydrophobes interprotéiques sous l'effet de la température (De Wit et Klarenbeek, 1984) pourrait expliquer ce résultat.

A partir de l'équation d'Andrade, nous avons calculé entre 10 et 50 °C l'énergie apparente d'activation d'écoulement de l'eau et de la solution de CPL à différentes concentrations en protéines :

$$\text{Log } \eta = B + \frac{E_a}{R \cdot T} \quad (4)$$

ou η = viscosité (mPa·s),

B = constante,

E_a = énergie apparente d'activation d'écoulement ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$),

R = constante des gaz parfaits ($8,3143 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$),

T = température absolue (en K).

Pour les concentrations en protéines de 4, 6, 8, 10, 12 et 14%, E_a est égale respectivement à 16,4, 16,1, 16,9, 18,5, 19,8 et 20,3 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Ces valeurs sont supérieures à celle de l'eau calculée à partir des valeurs de viscosité (16,0 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) mesurées par Bingham et Jackson (1918), ou à partir des mesures de viscosité réalisées avec le viscosimètre Rhéomat 30 (13,6 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$). La différence entre ces 2 valeurs de E_a de l'eau provient du manque de sensibilité du Rhéomat 30, et d'ailleurs d'une façon générale des viscosimètres de rotation classiques pour les faibles viscosités, comme le soulignent Wayne et Shoemaker (1988). Pour les teneurs en protéines supérieures ou égales à 6%, la relation entre l'énergie d'activation d'écoulement (E_a) et la concentration de protéines (C , en %) est linéaire :

$$E_a = 12,670 + 0,565 \cdot C; r = 0,988; n = 5 \quad (5)$$

Gélification

La figure 2 montre l'évolution de la viscosité en fonction du temps au cours de la gélification thermique à 60 °C d'une solution à pH 4 et à 10% de protéines. Cette courbe se décompose en 3 phases :

phase 1 : la viscosité augmente de façon exponentielle;

phase 2 : la viscosité augmente de façon linéaire;

phase 3 : la viscosité plafonne ou même chute.

Fig 2. Évolution de la viscosité apparente du CPL à 10% de protéines au cours de la gélification thermique à 60 °C et à pH 4 en fonction de la vitesse de cisaillement ($\dot{\gamma}$) de 280 à 955 s⁻¹.
Evolution of the apparent viscosity of the whey protein concentrate at 10% of protein during heat induced gelation at 60 °C and pH 4 as a function of the shear rate ($\dot{\gamma}$) from 280–955 s⁻¹.

Contrairement à la viscosité des solutions avant gélification, celle des solutions en cours de gélification est dépendante de la vitesse de cisaillement : le produit présente un comportement rhéofluidifiant, c'est-à-dire que la viscosité diminue avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement. La gélification a été étudiée à une vitesse de cisaillement de 280 s⁻¹ permettant d'une part de se situer au-dessus de la limite inférieure de sensibilité du viscosimètre lors du début de la phase 1, et d'autre part d'avoir la plus grande amplitude de variation de la viscosité apparente dans les conditions de mesure établies.

La concentration minimale pour laquelle on observe une augmentation de la viscosité apparente lors d'un chauffage à 70 °C se situe entre 3–4% à pH 4, et entre 6–7% à pH 9 (fig 3). Sternberg *et al* (1976) ont obtenu des résultats similaires mais toutefois avec des concentrations inférieures. Le mode d'obtention du CPL (précipitation avec de l'acide polyacrylique), la méthode

Fig 3. Détermination de la concentration protéique minimale de gélification à 70 °C à partir des mesures de viscosité apparente à pH 4 (lignes continues) et à pH 9 (lignes pointillées). La teneur en protéines (en %) des solutions de CPL est indiquée sur la figure. Vitesse de cisaillement $\dot{\gamma} = 280$ s⁻¹.
Determination of the minimal protein concentration of gelation at 70 °C by measurement of the apparent viscosity at pH 4 (continuous line) and at pH 9 (broken line). Protein content (%) of the whey protein concentrate is indicated in the figure. The shear rate $\dot{\gamma} = 280$ s⁻¹.

Determination of the minimal protein concentration of gelation at 70 °C by measurement of the apparent viscosity at pH 4 (continuous line) and at pH 9 (broken line). Protein content (%) of the whey protein concentrate is indicated in the figure. The shear rate $\dot{\gamma} = 280$ s⁻¹.

quasi non destructive d'appréciation de la gélification basée sur l'écoulement gravitationnel de la solution protéique après chauffage, de même que le traitement thermique plus intense (100 °C pendant 30 min) mis en œuvre par ces auteurs sont probablement à l'origine de cette différence de résultats.

Pour une teneur en protéines de 10%, le CPL gélifie dès 60 °C à pH 3,5, 4, 4,5, 8 et 9 (fig 4) et à partir de 70 °C de pH 5 à 7,5 (figs 5 et 6). Les températures de gélification définies par Burgess et Kelly (1979) sur des concentrés à 11% de protéines obtenus par échanges d'ions (CPI) et par ultrafiltration de lactosérum non délipidé (CPLND) sont respectivement de 58 °C à pH 7 et 56 °C à pH9, et de 74 °C à pH7 et 67 °C à pH9. Selon ces auteurs, les lipides sont responsables de ces différences : li-

Fig 4. Évolution de la viscosité apparente du CPL à 10% de protéines au cours de la gélification thermique à 60 °C en fonction du temps et du pH. Vitesse de cisaillement $\dot{\gamma} = 280 \text{ s}^{-1}$.
Evolution of the apparent viscosity of the whey protein concentrate at 10% protein during heat induced gelation at 60 °C as a function of time and pH. The shear rate $\dot{\gamma} = 280 \text{ s}^{-1}$.

pides/protéines solubles = 0,53% du CPI et 8,6% du CPLND. Les résultats obtenus dans notre étude confortent d'ailleurs cette hypothèse puisque pour un rapport L/PS de 3,3% pour le CPL étudié, les températures minimales de gélification sont intermédiaires à celles obtenues par Burgess et Kelly (1979).

Pour une solution à 10% de protéines et à 60 °C (fig 4), c'est à pH4 et 9 que la solution gélifie le plus rapidement. A 70 °C, l'élévation de la viscosité apparente de la solution de protéines en fonction du temps de chauffage est plus rapide qu'à 60 °C quel que soit le pH. A pH < 5 (fig 5), c'est à pH4 et 4,5 que la vitesse de gélification est la plus élevée, mais les gels sont très fragiles et se destructurent rapidement sous l'effet du cisaillement. La prédominance, dans la structure des gels ob-

Fig 5. Évolution de la viscosité apparente (η_a) du CPL à 10% de protéines au cours de la gélification à 70 °C en fonction du temps et du pH. Les valeurs au-dessus des courbes représentent le pH des solutions protéiques. Vitesse de cisaillement $\dot{\gamma} = 280 \text{ s}^{-1}$, b = blanc d'œuf à pH 8,25.

Evolution of the apparent viscosity (η_a) of the whey protein concentrate at 10% protein during heat induced gelation at 70 °C as a function of time and pH. The values over the curves represent the pH of protein solutions. The shear rate $\dot{\gamma} = 280 \text{ s}^{-1}$, b = egg white at pH 8.25.

tenus à pH acide, de liaisons non covalentes de faible énergie (hydrogène, hydrophobe, ionique; De Wit et De Boer, 1975) et donc plus sensibles au cisaillement inhérent aux mesures de viscosité, explique ce résultat. A pH > 5 (fig 6), la viscosité augmente d'autant plus rapidement que le pH est proche de 9. Les groupements sulfhydryles libres (SH), notamment ceux de la β -lactoglobuline qui possède un groupement SH libre par molécule, sont plus réactifs au-dessus de pH 6,8 (De Wit, 1981), ce qui favorise leur réarrangement en ponts S-S intermoléculaires (De Wit et De Boer, 1975; De Wit, 1981). Ces liaisons covalentes de forte énergie renforcent la structure du gel, et, selon Zirbel et Kinsella (1988), elles sont d'autant plus nombreuses que le pH est alcalin entre pH 6 et 8. De plus, l'augmentation de l'hydratation des protéines liée à l'augmentation du

degré d'ionisation des groupements COOH des protéines avec l'élévation de pH a probablement une influence sur l'évolution de la viscosité du CPL. Hillier *et al* (1980) ont montré à partir d'une méthode visuelle que le temps nécessaire à l'obtention du gel diminue avec l'abaissement du pH entre pH 9 et 6. Ces travaux sont complémentaires des nôtres et nous permettent de supposer que ce sont des liaisons non covalentes qui se mettent tout d'abord en place dans le réseau protéique, d'autant plus aisément que le pH est proche de 5. Le cisaillement relatif aux mesures de viscosité détruit ce type de liaison de faible énergie. L'augmentation de la viscosité reflète alors principalement la formation de ponts S-S intermoléculaires dans cette gamme de pH. Ces résultats posent donc clairement le problème de l'étude de la gélfication thermique des CPL à partir de la viscosimétrie

Fig 6. Évolution de la viscosité apparente du CPL à 10% de protéines au cours de la gélfication à 70 °C en fonction du temps et du pH. Vitesse de cisaillement $\dot{\gamma} = 280 \text{ s}^{-1}$.

Evolution of the apparent viscosity of the whey protein concentrate at 10% protein during heat induced gelation at 70 °C as a function of time and pH. Shear rate $\dot{\gamma} = 280 \text{ s}^{-1}$.

de rotation. Il serait souhaitable d'étudier ce phénomène à partir de mesures réalisées en régime dynamique (Paulson *et al*, 1986), qui n'affectent pas, semble-t-il, le processus de gélfication.

Pour les pH compris entre 6 et 9, à 70 °C (fig 6), l'augmentation de la viscosité apparente est une fonction linéaire du temps de chauffage. Il existe également une relation linéaire entre le logarithme de l'indice de la vitesse de gélfication ($\log k$), représenté par la pente k des droites de la figures 6, et le pH des solutions de protéines (fig 7) :

$$\log k = -4,711 + 0,813 \cdot \text{pH};$$

$$r = 0,990; n = 7 \quad (6)$$

où k est exprimé en μPa .

A 70 °C, la cinétique de gélfication du blanc d'œuf à pH 8,25 est intermédiaire entre celles observées pour les CPL à pH 3,5 et 4 (fig 5), et à pH 7 et 7,5 (fig 6).

Fig 7. Relation entre le logarithme de l'indice de la vitesse d'augmentation de la viscosité apparente (k en μPa) et le pH (équation (6)) au cours de la gélfication à 70 °C de solutions à 10% de protéines. o = blanc d'œuf à pH 8,25.

The logarithm of the velocity index of the apparent viscosity increase (k in μPa) as a function of pH (equation (6)) during heat induced gelation at 70 °C at 10% protein solutions. o = egg white at pH 8.25.

Caractérisation rhéologique des gels

Comme le montre la figure 8, la contrainte des gels obtenus à partir d'une solution à 10% de protéines, ayant subi une montée en température de 25 à 90 °C dans le four à micro-ondes, augmente avec le taux de compression. Pour un gel obtenu à pH 4, elle présente un maximum vers un taux de compression de 10%, puis diminue jusqu'à un taux de compression de 22%. Entre pH 5 et 9, nous observons une augmentation quasi linéaire de la contrainte.

A pH 7 et à 90 °C, le module d'Young apparent à 2% de compression (E_a) et la contrainte à 22% de compression (S_m) du gel augmentent avec l'élévation de la concentration en protéines (fig 9). Avec entre 4 et 6% de protéines, E_a et S_m augmentent respectivement de 200 et 50%. Cette augmentation devient maximale

Fig 8. Évolution de la contrainte de compression en fonction du taux de compression ($\Delta h/h_0$) et du pH des solutions du CPL. Les gels ont été obtenus à partir d'un concentré à 10% de protéines ayant subi une montée en température de 25 à 90 °C dans le four à micro-ondes. *Evolution of the compression stress as a function of the compression ratio ($\Delta h/h_0$) and of the pH, of whey protein concentrate at 10% protein heated from 25 to 90 °C in a micro-wave oven.*

Fig 9. Évolution de la contrainte (S_m) à 22% de taux de compression (ligne pointillée) et du module d'Young apparent (E_a) à 2% de taux de compression (ligne continue) en fonction de la teneur en protéines. Les gels ont été obtenus à partir de solutions protéiques à pH 7, ayant subi une montée en température de 25 à 90 °C dans le four à micro-ondes, puis chauffés 30 min dans un bain d'eau à 90 °C.

Evolution of the maximal stress (S_m) at the compression ratio of 22% (broken line) and of the apparent Young's modulus (E_a) at the compression ratio of 2% (continuous line) as a function of protein concentration. Gels have been prepared from the protein solutions at pH 7 heated from 25 to 90 °C in a micro-wave oven and then kept for 30 min in a water bath at 90 °C.

entre 6 et 8% de protéines (respectivement 290 et 90%); entre 8 et 10%, elle devient plus faible pour E_a (25%) et stagne pour S_m (90%).

La figure 10 montre l'évolution de E_a et de S_m de gels obtenus à partir de solutions à 10% de protéines et à pH 7, ayant subi une montée en température de 25 à 80 °C (gel 1) ou 90 °C (gel 2) dans le four à micro-ondes. Le traitement thermique était ensuite poursuivi dans un bain-marie à 2 temps de chauffage (10 et 30 min). Pour une même durée de chauffage, E_a et S_m des gels augmentent avec la température. Plus le temps de chauffage est élevé, plus l'écart entre les gels 1 et 2 se réduit : à $t = 0$ dans le bain d'eau, E_a est 4 fois plus élevé à 90 °C qu'à 80 °C, 1,3 fois à $t = 10$

Fig 10. Évolution de la contrainte (S_m) à 22% de taux de compression (lignes pointillées) et du module d'Young apparent (E_a) à 2% de taux de compression (lignes continues) en fonction du temps de chauffage dans le bain d'eau. Les gels ont été obtenus à partir d'une solution à 10% de protéines et à pH 7 ayant subi un chauffage de 25 à 80 ou 90 °C dans le four à micro-ondes, prolongé au bain d'eau à 80 °C (●—●) ou 90 °C (○—○) pendant 10 ou 30 min.

Evolution of the maximal stress (S_m) at the compression ratio of 22% (broken lines) and of the apparent Young's modulus (E_a) at the compression ratio of 2% (continuous lines) as a function of the heating time. Gels have been prepared from the solutions containing 10% protein at pH 7, heated from 25 to 80 °C or 90 °C in a microwave oven, and then kept for 10 or 30 min in a water bath at 80 °C (●—●) or at 90 °C (○—○).

min et 1,1 fois à $t = 30$ min; à $t = 0$ et $t = 30$ min, S_m augmente respectivement de 1,8 et de 1,2 fois entre ces 2 températures. A 80 °C, l'augmentation de la durée de chauffage entraîne une augmentation de E_a de 480% entre 0 min et 10 min, et de 20% entre 10 min et 30 min; à 90 °C, l'augmentation, moins importante, est respectivement de 60% et de 0%. L'augmentation de S_m est respectivement de 82% et de 16% à 80 °C, de 9% et de 28% à 90 °C. L'effet dénaturant de la température sur les protéines n'est pas le même à 80 °C et à 90 °C, ce qui se traduit par une organisation et des caractéristiques rhéologiques différentes des gels 1 et 2. L'effet plus pro-

noncé de la durée de chauffage sur les caractéristiques mécaniques des gels 1 peut s'expliquer par l'existence de valeurs maximales vers lesquelles tendent E_a et S_m , traduisant alors une limite à l'évolution physique des gels de CPL, plus rapidement atteinte pour les gels 2. Aux 2 températures étudiées, seule la solution à pH 3 ne gélifie pas. Nous avons cependant obtenu un gel après une montée en température de 25 °C à 100 °C au four à micro-ondes (soit 160 s de chauffage). L'importance des forces répulsives intermoléculaires à ce pH est certainement à l'origine de ce résultat. La diafiltration du CPL, en contribuant à l'augmentation des forces répulsives, est donc néfaste à la gélification à pH très acide, comme l'ont déjà observé Dunkerley et Zadow (1981).

La figure 11 montre l'évolution de E_a et de S_m de gels obtenus à partir d'une solution à 10% de protéines ayant subi une montée en température de 25 à 90 °C dans le four à micro-ondes. E_a est le plus élevé à pH 4 et 10 et le plus faible à pH 5 et 11 : il est respectivement de 191 et 154 d'une part, de 12 et de 24 kPa d'autre part. A pH voisin, le module d'Young apparent du gel de blanc d'œuf (pH 8,25) est environ 2 fois plus élevé que celui du gel de séroprotéines obtenu à pH 9 (143 contre 74 kPa). La contrainte à 22% de taux de compression est la plus élevée à pH 10 (> 18 kPa) et 8 (16 kPa) et la plus faible à pH 5 (3 kPa) et 4 (7 kPa). Entre pH 5 et 8, nous observons une augmentation de S_m , puis une baisse à pH 9.

Les grandeurs E_a et S_m sont fréquemment utilisées pour décrire respectivement l'élasticité et la fermeté du produit (Prenice, 1987). L'élévation du pH entre 5 et 10 entraîne une augmentation de la fermeté et de la résistance à la perte d'eau par compression des gels obtenus à 90 °C, liée probablement à l'augmentation de l'hydratation des protéines, ce qui d'une part

Fig 11. Évolution de la contrainte (S_m) à 22% de taux de compression (ligne pointillée) et du module d'Young apparent (E_a) à 2% de taux de compression (ligne continue) en fonction du pH. Les gels ont été obtenus à partir d'un concentré à 10% de protéines ayant subi une montée en température de 25 à 90 °C dans le four à micro-ondes.

Evolution of the maximal stress (S_m) at the compression ratio of 22% (broken line) and of the apparent Young's modulus (E_a) at the compression ratio of 2% (continuous line) as a function of pH. Gels have been prepared from the solutions containing 10% protein heated from 25 to 80 or 90 °C in a micro-wave oven.

se traduit par une diminution de la quantité d'eau libre et d'autre part par une augmentation du volume hydrodynamique des protéines. La présence d'ions positifs à pH alcalin revêt donc une grande importance lors de la gélification thermique de CPL puisque ceux-ci ont plus d'affinité que l'eau pour les sites hydrophiles des protéines. Ces résultats sont à rapprocher de l'étude de Dunkerley et Zadow (1981) qui ont travaillé sur un concentré protéique provenant d'un lactosérum acide : le gel présentait une fermeté moyenne à pH 5 et excellente à pH > 8. Zirbel et Kinsella (1988) ont également observé à 70 °C une augmentation de la fermeté des gels avec l'élévation de pH entre 6 et 8, mais une diminution lorsque la température de chauffage était de 80 ou 90 °C. La concentration protéique étudiée par ces auteurs était cependant de 20% et le volume de la solu-

tion traitée thermiquement de 1 ml (soit 100 fois moins que le volume que nous avons mis en œuvre). A pH identique (8–9) et pour une concentration en protéines de 10%, le gel obtenu à partir du blanc d'œuf est plus ferme et plus élastique que le gel de CPL. Selon Hermansson et Akesson (1975a et b), les gels d'ovalbumine et même de protéines de soja sont plus fermes, plus élastiques, plus résistants à la perte d'eau par compression que les gels de séroprotéines.

La combinaison des 2 paramètres, module d'Young apparent et contrainte de compression maximale, permet de rendre compte de la fragilité des gels. Ainsi, une forte valeur de E_a pour une faible valeur de S_m témoigne de la fragilité du gel, tandis que l'inverse reflète une structure moins cassante. Une démarche semblable a été effectuée par Kimura et al (1973) afin de caractériser la friabilité de gels alimentaires à partir du module d'Young et de la contrainte à la rupture. Nous proposons d'appeler «indice de fragilité», noté IF , le rapport E_a/S_m . C'est à pH 4 que le gel de séroprotéines est le plus cassant ($IF = 27$) et à pH 11 le moins fragile ($IF = 2,7$). L' IF est de 3,8, 3,8, 6,1, 6,2 et 6,8 respectivement pour les gels obtenus à pH 5, 8, 9, 6 et 7. Il est très intéressant de constater que ces résultats concordent globalement avec ceux de la description sensorielle des gels.

Caractérisation sensorielle

Avant chauffage et au pH d'origine de la solution (pH 6,5), la solution est marron. Aux pH extrêmes, la couleur orange-marron domine et à pH 5, un très léger trouble blanchâtre apparaît. L'aspect des gels obtenus à partir d'une solution protéique à 10%, à différents pH (3 à 10) et ayant subi une montée en température de

25 à 90 °C dans le four à micro-ondes, est indiqué dans le tableau II. L'appréciation visuelle et tactile a été réalisée à partir de 7 descripteurs qualitatifs ou quantitatifs. Dans ce dernier cas, une note de 1 à 5 a été attribuée au gel : par exemple, lorsque la note de fragilité du gel est de 5, cela signifie que le gel est très cassant alors qu'à 1, il ne l'est pas. Entre pH 5 et 9, le gel blanc et opaque présente une synérèse, ainsi qu'un effritement d'autant plus importants que le pH est bas. De plus, la cassure devient moins franche. La dénomination de gel s'applique plus à pH 9 qu'à pH 5, où il s'agit plutôt d'un précipité compte tenu de la présence d'une fine pellicule d'un liquide clair à la surface du gel. Nous observons qu'aux pH extrêmes étudiés (4, 10 et 11), les gels présentent un aspect similaire : ils sont translucides, ne s'effritent pas et emprisonnent bien l'eau. Ces points communs n'en cachent pas moins une grande différence : les gels à pH 10 et 11 sont moins fragiles et présentent une cassure nettement plus franche qu'à pH 4. Les caractéristiques sensorielles du gel de blanc d'œuf se rapprochent de celles du

gel de CPL obtenu à pH 9, avec cependant un effritement plus faible, une plus grande fermeté et enfin une saveur typique à ce produit. Les gels obtenus aux concentrations inférieures à 10% de protéines sont moins fermes, plus cassants et présentent une synérèse accrue quel que soit le pH étudié. A pH 4 et 10, le gel est plus translucide; de pH 5 à 9, il demeurerait blanc et opaque.

Il est très important de souligner qu'à partir de la simple et unique variation de pH, il est possible d'obtenir toute une gamme de texture de gels de séroprotéines. Bien que non abordé dans cette étude, l'environnement minéral joue un rôle déterminant dans la texture des gels thermiques de CPL. Harwalkar et Kalab (1985) ont observé en microscopie électronique une fine structure des gels en présence de 200 mmol/l de NaCl (9% protéines, pH 2,5, 30 min à 90 °C). A 400 mmol/l de NaCl, la structure du gel est très agrégée et la taille des agrégats constituant le gel augmente. Par la même technique, Mulvihill et Kinsella (1988) ont observé un phénomène semblable sur des gels

Tableau II. Évaluation sensorielle de gels obtenus à différents pH à partir des solutions à 10% de protéines ayant subi une montée en température de 25 à 90 °C au four à micro-ondes.

Odeur : FO = Flanc d'œuf, LP = légèrement piquante; Couleur : OM = Orange-Marron.

Sensory evaluation of gels prepared from the solutions containing 10% proteins at different pH, by heating from 25 to 90 °C in a micro-wave oven.

pH		4	5	6	7	8	9	10	11
Odeur	<i>Odor</i>	—	FO	FO	FO	FO	FO	—	LP
Couleur	<i>Color</i>	blanc	blanc	blanc	blanc	blanc	blanc	blanc	OM
Opacité	<i>Opacity</i>	2	5	5	5	5	5	2	1
Effritement	<i>Crumbling</i>	1	5	4	3	2	1	1	1
Fermeté	<i>Firmness</i>	1	1	2	3	4	4	5	3
Synérèse	<i>Syneresis</i>	1	5	4	3	2	1	1	1
Fragilité	<i>Fragility</i>	5	3	2	2	3	3	2	1

de β -lactoglobuline (10%, pH 8, 30 min à 90 °C) entre 5 et 15 mmol/l de CaCl_2 . La composition en calcium et en sodium du CPL étudié est respectivement de 180 et 80 mmol/l pour 10% de protéines solubles. La concentration très élevée en calcium explique très certainement le caractère agrégé des gels obtenus entre pH 5 et 9, déjà observé par Hillier *et al* (1980). La couleur blanche opaque de ces gels conduit à penser que les protéines s'insolubilisent avant de former un gel. La fixation du calcium sur les groupements carboxyliques chargés négativement permet la mise en place de ponts calciques intermoléculaires, entraînant dans un premier temps la formation d'agrégats de protéines. C'est d'ailleurs cette hypothèse qu'émettent Zittle et Dellamonica (1956) à propos de la β -lactoglobuline, De Wit (1981) et Mulvihill et Kinsella (1988) à propos de concentré de lactosérum pour expliquer des phénomènes de floculation survenant en présence de calcium. Dans un second temps, il s'établirait des liaisons entre ces agrégats, entraînant la formation d'un réseau protéique.

Les résultats obtenus lors de ces travaux nous ont conduit à nous interroger quant à la participation à ce phénomène des différentes protéines présentes dans le lactosérum. Nous avons vu le concentré protéique présentait une bonne aptitude à la gélification à pH 4. Ceci montre que la β -lactoglobuline n'est pas la seule protéine à intervenir dans le phénomène de gélification, car selon Gault (1987) et Paulsson *et al* (1986), cette protéine ne gélifie pas à pH acide en solution individuelle. Les autres protéines interviennent également, notamment la sérum albumine (4% des protéines sériques) qui présente, seule ou en mélange avec les autres séroprotéines, une très bonne aptitude à la gélification à

pH acide (Paulsson *et al*, 1986). Bien que possédant de meilleures propriétés d'agrégation que la β -lactoglobuline à faible concentration (< 5 g/l), à pH 4,2 et sous l'effet d'un traitement thermique modéré de 65 °C pendant 30 min (Pearce, 1983), l' α -lactalbumine (20% des protéines sériques) a un très faible pouvoir gélifiant (< 200 g/l; 30 à 95 °C, 1 °C/min), très certainement en raison de l'absence de groupements SH libre (Gault, 1987; Paulsson *et al*, 1986). En outre, Paulsson *et al* (1986) ont montré que cette protéine a un effet inhibiteur sur la gélification des autres protéines sériques. La gélification résulte en fait d'un effet synergique entre les différentes protéines présentes dans la solution. Il serait d'ailleurs intéressant d'établir les concentrations nécessaires de chacune de ces protéines afin d'optimiser la gélification thermique du CPL.

De nombreux travaux ont été réalisés sur l'influence d'un paramètre donné sur la gélification thermique des protéines sériques, mais peu sur l'interaction de plusieurs facteurs. Or, nous avons montré que la concentration minimale en protéines et la température de début de gélification sont très dépendantes du pH. C'est dans cette voie qu'il faut poursuivre ces travaux, c'est-à-dire dans l'interdépendance qui existe entre les différents facteurs (pH, minéraux, lipides, lactose, concentration optimale de chacune des protéines sériques), afin de mieux comprendre ce phénomène complexe qu'est la gélification thermique du concentré de séroprotéines.

REMERCIEMENTS

Nous remercions JL Maubois pour l'aide qu'il nous a apportée dans la rédaction de cette publication.

RÉFÉRENCES

- Acton GH (1977) Determination of lactose in cheese. *Aust J Dairy Technol* 32, 111
- Andrade EN (1930) The viscosity of liquids. *Nature* 125, 309-310
- Bingham EC, Jackson MH (1918) Viscosity and fluidity of water. In: *Handbook of chemistry and physics* (CD Hodgman, ed). The chemical rubber publishing co, 2257
- Brulé G, Maubois JL, Fauquant J (1974) Étude de la teneur en éléments minéraux des produits obtenus lors de l'ultrafiltration du lait sur membrane. *Lait* 54, 600-615
- Burgess KJ, Kelly J (1979) Technical note: selected functional properties of a whey protein isolate. *J Food Technol* 14, 325-329
- Cardenas-Caroti R, Grosclaude G, Nicol G, Maubois JL (1985) Rhéomètre pour l'étude de produits conformes en corps non linéaires. Brevet français n° 2588379
- Cooper HR, Hugues JR, Matthews ME (1977) Application of "response surface methodology" to the evaluation of whey protein gel systems. *N Z J Dairy Sci Technol* 12, 248-252
- De Wit JN, 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 JN (1981) Structure and functional behaviour of whey proteins. *Neth Milk Dairy J* 35, 47-64
- De Wit JN, Klarenbeek G (1984) Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins. *J Dairy Sci* 67, 2701-2710
- Dunkerley JA, Hayes JF (1980) Characterization of whey protein gels using a temperature gradient block. *N Z J Dairy Sci Technol* 15, 191-196
- Dunkerley JA, Zadow JG (1981) Rheological studies on heat induced coagula from whey protein concentrates. *N Z J Dairy Sci Technol* 16, 243-252
- Fauquant J, Pierre A, Brulé G (1985a) Clarification du lactosérum acide de caséinerie. *Tech Lait* 1003, 37-41
- Fauquant J, Vieco E, Brulé G, Maubois JL (1985b) Clarification des lactosérum doux par aggrégation thermocalcique de la matière grasse résiduelle. *Lait* 65, 1-20
- FIL (1959) Détermination de la matière grasse dans le fromage et le fromage fondu par la méthode de Schmid-Bondzynski-Ratzlaff. Int Stand FIL-IDF 5
- Gault P (1987) Influence du traitement thermique et mécanique sur le comportement rhéologique des protéines solubles du lait et conséquences sur la viscosité apparente des fromages frais enrichis en protéines solubles. Mémoire, école supérieure d'agriculture d'Angers
- Hagett TOR (1976) The whipping, foaming and gelling properties of whey protein concentrates. *N Z J Dairy Sci Technol* 11, 244-250
- Harwalkar VR, Kalab M (1985) Thermal denaturation and aggregation of β -lactoglobulin in solution. Electron microscopic study. *Milch-wissenschaft* 40, 65-68
- Hermansson AM, Akesson C (1975a) Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems: effect of concentration on water-binding properties of model meat systems. *J Food Sci* 40, 595-602
- Hermansson AM, Akesson C (1975b) Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems: effect of salt on water-binding properties of model meat system. *J Food Sci* 40, 603-610
- Hillier RM, Cheeseman GC (1979) Effect of proteose-peptone on the heat gelation of whey protein isolate. *J Dairy Res* 46, 113-120
- Hillier RM, Lyster RLJ, Cheeseman GC (1980) Gelation of reconstituted whey powders by heat. *J Sci Food Agric* 31, 1152-1157
- Johns JEM, Ennis BM (1981) The effects of the replacement of calcium with sodium ions in acid whey on the functional properties of whey protein concentrates. *N Z Dairy Sci Technol* 16, 79-86
- Kimura H, Moritaka S, Misaki M (1973) Polysaccharide 13140: A new thermo-gelable polysaccharide. *J Food Sci* 38, 668-670
- Kinsella JE (1984) Milk proteins: physicochemical and functional properties. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 21, 197-262
- Korolczuk J, Roignant M, Maubois JL (1985) Computer data acquisition of sinusoidally varying stress and strain. *J Texture Stud* 16, 129-142

- Lee CH, Rha C (1979) Rheological properties of proteins in solution. In: *Food texture and rheology* (P Sherman, ed) Academic Press, London, 245-263
- McDonough FE, Hargrove RE, Mattingly WA, Posati LP, Alford JA (1974) Composition and properties of whey protein concentrates from ultrafiltration. *J Dairy Sci* 57, 1438-1443
- Morr CV (1979) Functionality of whey protein products. Review. *N Z J Dairy Sci Technol* 14, 185-194
- Morr CV, German B, Kinsella JE, Regenstien JM, Van Buren JP, Kilara A, Lewis BA, Mangino ME (1985) A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *J Food Sci* 50, 1715-1718
- Mulvihill DM, Kinsella JE (1987) Gelation characteristics of whey proteins and β -lactoglobulin. *Food Technol* 41, 102-111
- Mulvihill DM, Kinsella JE (1988) Gelation of β -lactoglobulin: effects of sodium chloride and calcium chloride on the rheological and structural properties of gels. *J Food Sci* 53, 231-236
- Paulsson M, Hegg PO, Castberg HB (1986) Heat-induced gelation of individual whey proteins. A dynamic rheological study. *J Food Sci* 51, 87-90
- Pearce RJ (1983) Thermal separation of β -lactoglobulin and α -lactalbumin in bovine cheddar cheese whey. *Aust J Dairy Technol* 38, 144-149
- Prentice JH (1987) Cheese rheology. In: *Cheese: chemistry, physics and microbiology* (PF Fox, ed), Elsevier Applied Science, 299-344
- Rowland SJ (1938) The determination of nitrogen distribution in milk. *J Dairy Res* 9, 42-46
- Serres L, Amariglio S, Petransiene D (1973) Contrôle de la qualité des produits laitiers. Direction des services vétérinaires
- Sternberg M, Chiang JP, Eberts NJ (1976) Cheese whey proteins isolated with polyacrylic acid. *J Dairy Sci* 59, 1042-1050
- Wayne JEB, Shoemaker CF (1988) Rheological characterization of commercially processed fluid milks. *J Texture Stud* 19, 143-152
- Zirbel F, Kinsella JE (1988) Factors affecting the rheological properties of gels made from whey protein isolates. *Milchwissenschaft* 43, 691-694
- Zittle CA, Dellamonica ES (1956) Viscosity and flocculation of heated β -lactoglobulin solutions. *J Dairy Sci* 39, 514-521