



Composés bioactifs

Propriétés techno-fonctionnelles des concentrés protéiques du lactosérum

Techno-Functional properties of whey protein concentrates

Fatiha ARIOUI, Djamel AIT SAADA, Abderrahim CHERIGUENE

Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem. Algérie

Auteur correspondant : fatiha.arioui@univ-mosta.dz

Reçu le 05 mai 2018, Révisé le 15 juin 2018, Accepté le 30 juin 2018

Résumé Introduction. Les protéines du lactosérum présentent un intérêt nutritionnel mais aussi techno-fonctionnel, de par leurs propriétés gélifiantes et inter-faciales. **Objectif.** Extraire les concentrés protéiques du lactosérum et étudier certaines propriétés techno-fonctionnelles de ces protéines. **Matériel et méthodes.** Les protéines de lactosérum sont récupérées par une thermo-précipitation. Les propriétés techno-fonctionnelles de ces protéines (solubilité, propriétés moussantes émulsifiantes et) sont déterminées, en comparaison avec la sérum albumine bovine (SAB). **Résultats.** Les concentrés protéiques de lactosérum sont solubles à pH 4 et 7. L'expansion de la mousse des protéines du lactosérum (7,00%) est plus faible que celle de SAB (73,33%) alors que la stabilité de la mousse des protéines est plus élevée que celle de la SAB ($p < 0,01$). Le pouvoir émulsifiant des concentrés protéiques du lactosérum est maximal à pH 4 et l'indice de stabilité de l'émulsion est maximal à pH 2. **Conclusion.** Les concentrés protéiques du lactosérum sont caractérisés par une très bonne solubilité et un excellent pouvoir émulsifiant. L'indice de stabilité de la mousse est très intéressant, ces propriétés étant très recherchées dans l'industrie agro-alimentaire.

Mots clés : *Concentrés protéiques de lactosérum, Propriété moussante, Propriété émulsifiante, Solubilité, Sérum albumine bovine*

Abstract Introduction. Whey proteins are well known for their nutritional value but also their functional properties because of their gelling and inter-facial properties. **Objective.** To extract whey protein concentrates and to study some techno-functional properties of these proteins. **Material and methods.** The whey proteins were obtained by thermo-precipitation. The techno-functional properties of these proteins (solubility, foaming and emulsification) were evaluated by comparison with bovine serum albumin (BSA). **Results.** The whey protein concentrates were soluble at pH 4 and 7. The foam expansion of whey proteins (7.00%) was significantly lower than that of BSA (73.33%) whereas the foam stability of whey proteins was significantly higher than that of BSA ($p < 0.01$). The

emulsifying properties of the whey protein concentrates were maximal at pH 4 and the emulsifying stability rating was maximal at pH 2. **Conclusion.** The whey protein concentrates are characterized by a very good solubility and an excellent emulsifying properties and foam stability. The whey proteins could also be useful in food manufacturing due to their functionality

Key words: *Whey protein concentrate, Foaming property, Emulsifying property, Solubility, Bovine serum albumin*

Introduction

Les protéines de lactosérum se définissent comme la fraction protéique soluble obtenue lors de la précipitation des caséines. Elles représentent 20% de l'azote totale du lait. La fraction protéine soluble contient deux protéines majeures, la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine. Le lactosérum contient également la sérum albumine bovine, des immunoglobulines et d'autres constituants dont les protéose peptones [1].

La β -lactoglobuline est une protéine majeure de lactosérum (environ 50% des protéines lactosériques). Elle joue un rôle important dans tous les produits laitiers et les aliments dans lesquels les protéines de lactosérum sont ajoutées comme ingrédients [2]. La β -lactoglobuline possède une structure globulaire maintenue par deux ponts disulfures [3]. Sa structure secondaire comprend 50% de feuillet β et 10% d'hélice α . La β -lactoglobuline existe sous forme d'un dimère (2 x 18,3kDa) stabilisée par des liaisons hydrogènes [4]. L' α -lactalbumine est la deuxième protéine plus abondante dans le lactosérum. Elle représente environ 25% de l'ensemble des protéines du lactosérum [2]. L' α -lactalbumine est une protéine globulaire avec un poids moléculaire de 14,2kDa qui comporte 123 acides aminés et quatre groupements disulfures. Elle comprend 14% de feuillet β , 26% d'hélice α et 60% de structure non organisée. Cette protéine se trouve habituellement sous forme de monomère [5]. L'intérêt commercial principal de la production de protéines de lactosérum enrichies en α -lactalbumine provient du fait que cette protéine est la protéine principale présente dans le lait maternel [6]. La valeur nutritionnelle de l' α -lactalbumine bovine est très haute, dont 63% d'acides aminés présents sont essentiels (AAE) et son ajout aux formules pour enfants serait un avantage certain dans l'apport nutritionnel [7, 8]. La SAB représente moins de 5% des protéines solubles du lait. C'est une protéine globulaire constituée de 582 résidus d'acides aminés avec un poids moléculaire de 66,3 kDa. La SAB contient 17 ponts disulfure et un groupement thiol libre [1,5]. Les immunoglobulines forment un

mélange complexe de glycoprotéines qui possèdent une activité immunologique [5].

Selon Croguennec *et al.* [1], les procédures développées pour l'extraction des protéines sériques exploitent, d'une part leur insolubilisation au pHi, après dénaturation thermique ; leur différence de taille par rapport aux autres solutés (lactose, minéraux) des lactosérums, et d'autre part, leur affinité pour les résines échangeuses d'anions, sachant qu'à pH 6,6 les protéines sériques majeures (α -lactalbumine et β -lactoglobuline) sont chargées négativement. 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 leurs structures et de leurs propriétés physiques (qui sont bien connues), elles présentent de nombreuses possibilités d'utilisation fonctionnelle [9].

Les concentrés sériques servent à accroître la fermeté, la viscosité et la résistance à la synérèse ainsi que l'amélioration de la texture et la consistance du yaourt [10]. Le rendement de production fromagère est augmenté par l'amélioration de la quantité et de la qualité des protéines du lait destiné à la transformation [4]. Les lactosérums doux en poudre sont largement utilisés en substitut de la poudre dans la biscuiterie, pâtisserie, panification, chocolaterie et dans les produits de charcuterie. En effet, utilisé comme ingrédient, la poudre de lactosérum doux apporte une amélioration de goût, de l'arôme et de la texture du produit fini ainsi qu'une amélioration de la valeur nutritionnelle [2]. Les protéines sériques présentent une forte proportion d'AAE. Les isolats entrent particulièrement dans la préparation des suppléments nutritionnels ou de diètes hyperprotéiques pour le traitement de l'obésité [11].

Les résidus agroalimentaires sont très mal valorisés et sont même une source de pollution pour l'environnement en raison d'une forte demande biologique en oxygène (DBO). Parmi ces résidus, le lactosérum des fromages est souvent cité. Ces lactosérums peuvent servir de matières premières, à moindre coût, pour extraire des protéines de lactosérum caractérisées par des propriétés nutritionnelles ainsi que techno-

fonctionnelles très intéressantes et recherchées dans les divers domaines d'utilisation (pâtisserie, pharmacie, produits agroalimentaires, aliments diététiques....).

L'objectif de ce travail est de valoriser les coproduits issus de la fromagerie (lactosérum) par une étude des propriétés techno-fonctionnelles (émulsifiante, moussante et solubilité) des concentrés protéiques du lactosérum (CPL) obtenus par thermoprécipitation.

Matériel et méthodes

Procédé d'extraction des CPL

Les CPL sont récupérés par thermo-précipitation selon la méthode de Sanmartin *et al.* [12]. Le lait écrémé en poudre, préparé à raison de 180g/L est tout d'abord pasteurisé à 100°C pendant 2 min, puis refroidi à 38°C. Le lait est ensuiteensemencé à 2% (v/v) d'un levain lactique commerciale *Lactobacillus bulgaricus* (CHN-11, CHR HANSEN, Danemark) et emprésuré à 2% (v/v) avec une solution de présure (CHY-MAX, 1400 *international milk clot-ting units per mi*, CHR HANSEN, Danemark) préparée à 2%. Après coagulation du lait écrémé à 38°C, le caillé est coupé en petits cubes puis brassé et le lactosérum est enfin récupéré par égouttage. Le lactosérum obtenu est incubé dans une étuve réglée à 38°C jusqu'à atteindre un pH de 5,5. Les protéines du lactosérum sont récupérées par thermo-précipitation et ceci par un chauffage du lactosérum acidifiée. Après décantation, le culot protéique est récupéré, essoré par centrifugation et enfin séché dans une étuve à 35°C (Fig. 1). Chaque paramètre est analysé sur trois échantillons.

Propriétés techno-fonctionnelles des CPL

Solubilité

La solubilité des CPL et de la SAB à pH 4 et 7 est déterminée par la méthode de Morr *et al.* [13]. Le test de solubilité est effectué en dissolvant 500 mg de la poudre des CPL dans 40 mL d'une solution de NaCl (0,1 M). Ensuite, le pH de la solution est ajusté à pH 4 et 7 par du HCl 0,1N ou NaOH. La solution est agitée pendant 1 heure (au cours de cette période d'agitation le pH est ajusté s'il est nécessaire). La solution est ensuite transférée dans une fiole jaugée de 50 mL et diluée avec une solution de NaCl 0,1M. Un volume de cette solution est centrifugé à 8000g pendant 30min, le surnageant est filtré à travers un papier Whatman N°1. La teneur en protéines du filtrat et de

la solution initiale est déterminée par la méthode du Biuret [14].

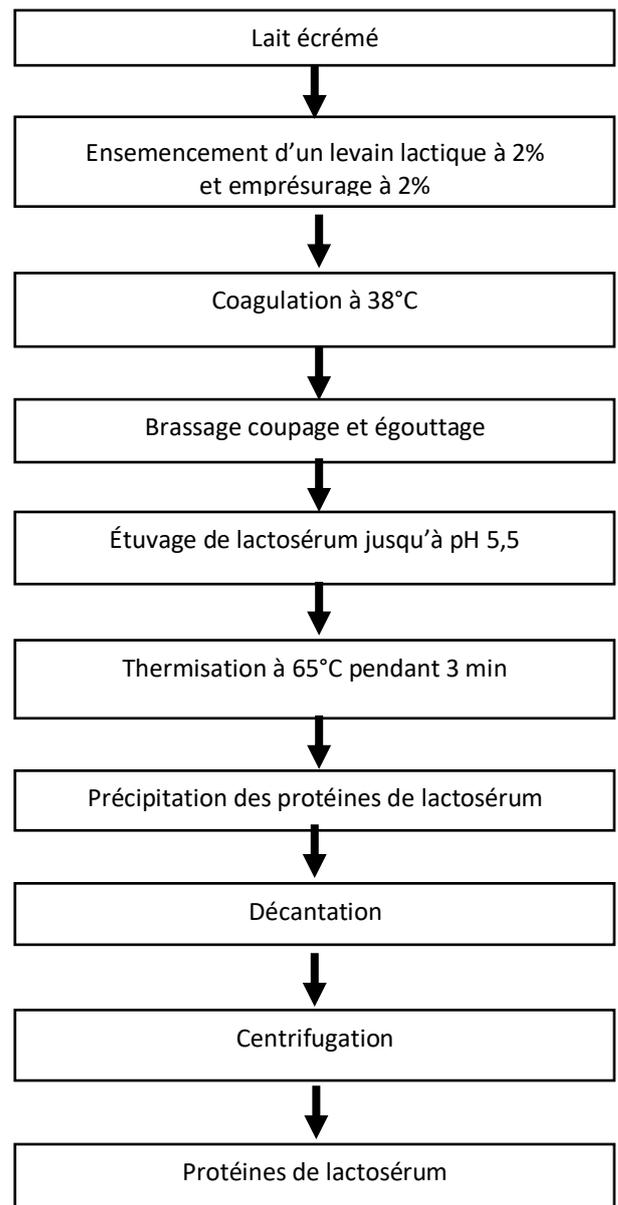


Fig. 1. Diagramme d'extraction des CPL par thermo-précipitation [12]

La solubilité des CPL est calculée selon l'expression suivante :

$$\text{Solubilité (\%)} = \left[\frac{\text{CPS} \times 50}{\text{ME}(\text{CP}/100)} \right] \times 100$$

CPS : concentration en protéines du surnageant (mg/mL) ;
ME : masse de l'échantillon (mg) ; CP : concentration en protéines de la solution initiale (%).

Pouvoir moussant

L'expansion de la mousse (EM) et la stabilité de la mousse (SM) des CPL et SAB (utilisée comme référence) sont déterminées par l'utilisation d'une dispersion de 1% de protéines dans 250mL d'eau (p/v) à pH 7. La dispersion est mélangée pendant 5min. La mousse est rapidement transférée dans une éprouvette

graduée de 2 litres et le volume total de la mousse est mesuré. La mousse est laissée reposer pendant 30 min à température ambiante ensuite le volume de liquide drainé est mesuré [15].

Selon Patel *et al.* [16], l'expansion de la mousse (EM) et la stabilité de la mousse (SM) sont calculées selon les expressions suivantes :

$$EM (\%) = \left[\frac{VI - 250}{250} \right] \times 100$$

$$SM = 100 - [(volume\ de\ liquide\ drainé\ après\ 30\ min/250) \times 100]$$

VI : volume initial de la mousse.

Pouvoir émulsifiant

L'indice de l'activité émulsifiante (IAE) et l'indice de stabilité de la mousse (ISM) des CPL et SAB (utilisée comme référence) sont déterminées selon la méthode de Klompong *et al.* [17]. 300 mg des CPL est dissout dans 30 mL d'eau distillée (1% p/v). 10 ml d'huile végétale (huile de maïs) est ajouté à cette solution et le pH est ajusté à 2, 4, 6, 8 et 10. Le mélange est ensuite homogénéisé pendant 1 min. 50 µL de l'émulsion sont transférés (à l'aide d'une micropipette) à partir du fond de récipient à 0 et à 10 min après homogénéisation et dilués dans 5 mL d'une solution de sodium dodécyl sulfate (SDS) à 0,1%. L'absorbance de cette dilution est mesurée à 500 nm. Celle-ci est utilisée pour la mesure de l'indice d'activité émulsifiante (IAE) et l'indice de stabilité de l'émulsion (ISE), selon la méthode décrite par Pearce & Kinsella [18].

$$IAE (m^2/g) = \frac{2 \times 2,303 \times A_0}{0,25 \times \text{masse de protéine}}$$

$$ISE (min) = \frac{A_0 \times \Delta T}{\Delta A}$$

A_{10} : l'absorbance à 10 min

ΔT : 10 min ;

ΔA : $A_0 - A_{10}$.

Détermination du taux de cendres et d'humidité

Le taux de cendres et d'humidité des CPL et SAB sont déterminées selon la méthode AOAC (*Association of official analytical chemists*, 2000) [19].

Analyse statistique

Les résultats ont été traités statistiquement par une analyse de variance mono-factorielle en randomisation totale, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls (Stat Box 6.4).

Résultats

Solubilité

Les résultats de l'analyse de la solubilité des CPL et de la SAB sont présentés dans le Tableau I. Aucune différence significative du pH n'est notée pour la solubilité des CPL. Cette solubilité était de 75,93% et de 71,09%, à pH 4 et 7, respectivement, alors que pour celle de la SAB, les valeurs sont de 95,72% et 86,43% à pH 4 et 7, respectivement.

Tableau I. Solubilité (%) du CPL et de la SAB

	pH 4	pH 7
CPL	75,93 ± 6,86	71,09 ± 6,26
SAB	95,72 ± 1,66	86,43 ± 7,12

Les résultats sont exprimés en moyennes ± erreur standard de 3 échantillons. La comparaison des moyennes de pH entre CPL et SAB est effectuée par le test de Newman et Keuls. $p < 0,05$: Seuil de significativité. CPL : concentré protéique du lactosérum ; SAB : sérum albumine bovine.

Pouvoir moussant

L'expansion de la mousse (EM) des CPL (7,00%) est inférieure à celle de la SAB (73,33%) ($p < 0,01$), alors que la stabilité de la mousse (SM) des CPL (96%) est supérieure, comparé à la SAB (74%) ($p < 0,01$) (Tableau II). Les résultats obtenus montrent l'effet significatif de la nature des protéines (CPL et SAB) sur l'expansion de la mousse et la stabilité de la mousse ($p < 0,01$).

Tableau II. Expansion (%) et Stabilité (%) de la mousse des CPL et de la SAB

	EM (%)	SM (%)
CPL	7,00 ± 1,00	96,00 ± 1,00
SAB	73,33 ± 7,63**	74,00 ± 6,55**

Les résultats sont exprimés en moyennes ± erreur standard de 3 échantillons. La comparaison des moyennes de SM et EM entre CPL et SAB est effectuée par le test de Newman et Keuls. $P = 0,05$: Seuil de significativité ; ** $p < 0,01$) ; CPL : Concentré protéique du lactosérum ; SAB : Sérum albumine bovine ; EM : Expansion de la mousse ; SM : Stabilité de la mousse.

Pouvoir émulsifiant

L'étude de l'indice de capacité émulsifiante (ICE) et l'indice de stabilité de l'émulsion (ISE) des CPL et SAB est effectuée à différents pH (2, 4, 6, 8 et 10). Selon les résultats obtenus, il est constaté un effet hautement significatif ($p < 0,01$) du pH sur l'indice de capacité émulsifiante (ICE) des CPL. L'ICE varie en fonction du pH. L'ICE des CPL et de la SAB est maxi-

male à pH 4, les valeurs représentent 11,34 m²/g et 29,10 m²/g, respectivement (Tableau III).

Tableau III. Indice de capacité émulsifiante (m²/g) et de stabilité de l'émulsion (min) des CPL et de la SAB à différents pH du milieu

	pH	ICE (m ² /g)	ISE (min)
CPL	2	10,79 ^a ± 0,29	26,62 ^a ± 3,79
	4	11,34 ^a ± 1,65	23,52 ^b ± 4,17
	6	4,65 ^c ± 0,41	16,32 ^c ± 1,90
	8	7,07 ^b ± 1,77	19,15 ^c ± 1,71
	10	4,7 ^c ± 1,39	22,10 ^b ± 1,27
p		**	*
SAB	2	27,32 ^b ± 2,26	142,66 ^b ± 31,18
	4	29,10 ^a ± 1,59	153,39 ^b ± 8,40
	6	23,88 ^c ± 2,39	30,62 ^c ± 2,98
	8	26,51 ^b ± 1,26	181,29 ^a ± 15,01
	10	28,27 ^b ± 0,74	181,16 ^a ± 10,46
p		*	**

Les résultats sont exprimés en moyennes ± erreur standard pour 3 échantillons ; La comparaison des moyennes de l'ICE et l'ISE entre CPL et SAB est effectuée par le test de Newman et Keuls. *p* : Seuil de significativité = 0,05 ; ** *p*<0,01 ; * *p*<0,05. *a*, *b*, *c* : comparaison des moyennes deux à deux. CPL : Concentré protéique du lactosérum ; SAB : Sérum albumine bovine ; ICE : Indice de capacité émulsifiante ; ISE : Indice de stabilité émulsifiante.

La stabilité de l'émulsion des CPL varie selon le pH du milieu et elle est maximale à pH 2 (26,62 min). En revanche, la valeur la plus élevée de l'indice de stabilité de l'émulsion (ISE) du SAB est observée à pH de 8 ; 181,29 minutes (Tableau III). Apparemment, les indices de la capacité émulsifiante, ainsi que de la stabilité des émulsions des CPL sont significativement (*p*<0,01) plus faibles par comparaison à ceux de la protéine de référence (SAB).

Tableau IV. Teneur en cendre et humidité des CPL et SAB

	Cendres (%)	Humidité (%)
CPL	14,66 ± 1,15	8,16 ± 1,20
SAB	17,33 ± 0,57**	7,30 ± 1,49

Les résultats sont exprimés en moyenne ± erreur standard. La comparaison des moyennes des taux de cendres et d'humidité entre CPL et SAB est effectuée par le test de Newman et Keuls. *p* = 0,05 : Seuil de significativité ; ** *p*<0,01 ; CPL : concentré protéique du lactosérum ; SAB : sérum albumine bovine.

Taux de cendres et d'humidité

Les taux de cendres des protéines du lactosérum sont relativement inférieures à celles de la SAB (*p*<0,05). Les valeurs représentent respectivement 14,66 et 17,33% (Tableau IV). En revanche, les taux d'humidité mesurés sont comparables entre les deux types de protéines. En effet, les valeurs représentent 8,16% pour CPL et 7,30% pour la SAB.

Discussion

Les CPL ont été obtenus par thermo-précipitation d'un lactosérum acide. La température permet une légère dénaturation des protéines, l'agrégation et la précipitation des protéines solubles [20]. Les protéines de lactosérum, dans leur structure native, présentent une bonne solubilité dans une large gamme de pH. Cette propriété leur confère une utilisation privilégiée dans le secteur agroalimentaire [21]. Selon les résultats obtenus, le pH a un effet non significatif sur la solubilité des protéines de lactosérum. Les mêmes résultats ont été obtenus par d'autres auteurs [15, 22, 16]. La solubilité est la plus importante propriété fonctionnelle des protéines du lactosérum. Les protéines du lactosérum non dénaturées sont solubles dans une large gamme de pH. La diminution de la solubilité résulte d'une dénaturation des protéines surtout lors des traitements d'évaporation à l'échelle industrielle [23]. Sanmartin *et al.* [24] ont constaté que la solubilité des concentrés protéiques de lactosérum caprin est de 93,98 et 95,69% à pH 7 et 4, respectivement, alors que celle des concentrés protéiques de lactosérum bovin représente 73,88 et 59,08%, respectivement.

Les concentrés protéiques de lactosérum possèdent de bonnes propriétés moussantes. La matière grasse résiduelle déprécie néanmoins leurs propriétés moussantes, il est donc nécessaire d'avoir une parfaite délipidation du lactosérum. Selon Diaz *et al.* [15], les lipides, même à de faibles concentrations, sont des composants anti-mousses. Mais ils ne sont pas les seuls, les lipoprotéines diminuent aussi la capacité de formation de la mousse des protéines de lactosérum. Ces lipoprotéines jouent un rôle affaiblissant des forces de cohésion entre les couches protéiques et les bulles d'air ce qui inhibe l'adsorption des protéines [25]. L'EM des concentrés protéiques de lactosérum est très faible en comparaison avec celle de la SAB. Les mêmes résultats ont été observés par Sanmartin *et al.* [24]. Ces auteurs ont montré que les protéines de lactosérum obtenues, après un prétraitement de clarification, ne produisent plus de mousse. Ces résultats sont similaires à ceux suggérés par Kim *et al.* [22]. Selon ces auteurs aucune propriété moussante ne peut être observée lorsque les concentrés protéiques sont obtenus par thermo-précipitation. La capacité de formation de mousse peut être améliorée cependant par un prétraitement à l'ultrason (20 kHz et 40 kHz) de lactosérum. La stabilité de la mousse peut aussi être améliorée, après un traitement à l'ultrason (20 kHz) [26, 27]. La méthode d'obtention des protéines de lactosérum

influence fortement les propriétés moussantes de ces protéines. Dans cette étude, une thermo-précipitation suivie d'une centrifugation donne des protéines à faible pouvoir moussant. Des résultats similaires ont été trouvés par Kim *et al.* [22]. Certains auteurs ont montré qu'une thermo-précipitation suivie d'une microfiltration semble améliorer les propriétés moussantes des protéines de lactosérum suite à une réduction du taux de lipides et de lipoprotéines [28].

Les propriétés émulsifiantes sont définies par la capacité émulsifiante (quantité d'huile pouvant être émulsifié par unité de protéine) et la stabilité de l'émulsion (aptitude à garder l'émulsion inchangée pendant un certain temps). Elles sont directement liées à la solubilité des protéines dans l'eau [9]. Les propriétés émulsifiantes des protéines de lactosérum ont été évaluées sur une gamme de pH allant de 2 à 10. L'analyse de la variance montre l'effet hautement significatif du pH sur la capacité de formation d'une émulsion. L'ICE est maximal à pH 4 mais diminue pour des valeurs de pH plus élevées. Par ailleurs, l'ISE présente les valeurs les plus élevées à pH 2. Cet indice ISE semble être considéré comme la capacité des protéines de lactosérum à éviter la séparation et la coalescence des phases de l'émulsion pendant le stockage qui sont les principaux facteurs déstabilisants des émulsions [18]. Sanmartin *et al.* [25] ont trouvé que les ICE des concentrés protéiques de lactosérum de caprin à pH 7 et 4 sont de l'ordre de 48,89 m²/g et 49,90 m²/g, respectivement. De même, l'ISE est de 102,52 min et 103,15 min à pH 7 et 4, respectivement. L'hydrolyse enzymatique et la dénaturation partielle améliorent sensiblement l'activité émulsifiante des protéines sériques. L'exploitation des zones hydrophobes et l'adoption d'une structure plus flexible seraient responsables de ce changement. Cependant, une dénaturation trop poussée diminue la solubilité protéique, l'activité interfaciale et donc l'activité émulsifiante [11]. Un traitement de clarification améliore nettement la capacité de formation de l'émulsion des concentrés protéiques de lactosérum. Ces résultats semblent être liés à la teneur en lipides [24]. De même, Patel *et al.* [16] ont confirmé que l'augmentation de la teneur en lipides conduit à une diminution de l'activité émulsifiante des concentrés protéiques de lactosérum. Cette diminution peut être expliquée par la diminution de la quantité de protéine adsorbée à l'interface. L'activité émulsifiante est en relation avec la solubilité. L'ICE est maximale à pH 4. Ceci peut être expliqué par la solubilité élevée des protéines de lactosérum à cette valeur de pH.

Les taux de cendres des CPL avoisinent 11,66% en moyenne. Ces valeurs sont proches de celles rapportées par Jiménez *et al.* [29] qui ont avancé que les taux en cendres des protéines de lactosérum, obtenues par thermo-précipitation, sont de 10,60%. Selon Patel *et al.* [16], ces valeurs peuvent varier de 2,66% à 2,94%. D'après les mêmes auteurs, les taux d'humidité des CPL peuvent aussi varier de 4,43% à 5,03%. Selon Guggisberg *et al.* [30], les isolats de protéines de lactosérum peuvent présenter 5% d'humidité et 3,5% de cendres.

Conclusion

Les CPL sont caractérisés par des propriétés fonctionnelles très intéressantes, notamment la solubilité et le pouvoir émulsifiant. Les CPL présentent une bonne solubilité à pH 4 et 7. Ces protéines ont une meilleure activité émulsifiante à pH 4. Le faible pouvoir moussant des protéines du lactosérum peut être amélioré par un traitement de clarification des lactosérums issus des industries laitières.

Conflit d'intérêts

Aucun

Références

1. Croguennec T., Jeantet R., Brulé G. Fondements physicochimiques de la technologie laitière. Paris : Tec. et Doc., Lavoisier ; 2008, p : 99-107.
2. Bulut Solak B., Akin N. Functionality of whey protein. *Int J Health Nutr* 2012; 3 (1): 1-7.
3. Lung C., Pâquet D., Linden G. Traitements de dénaturation appliqués à la β -lactoglobuline avant hydrolyse trypsique. *Lait* 1991 ;71 :385-94.
4. Jovanović S., Barać M., Mačej O. Whey proteins- Properties and Possibility of Application. *Mljekarstvo* 2005; 55 (3): 215-33.
5. Fox PF. The milk protein system. In: Developments in Dairy Chemistry-4. Functional milk proteins. Ed. Fox, PF. Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London and New York; 1989, p.1-53.
6. Huffman LM., Harper WJ. Maximizing the value of milk through separation technologies. *J Dairy Sci* 1999; 82 (10): 2238-44.
7. Jost R., Maire JC., Maynard F., Secretin MC. Aspect of whey protein usage in infant nutrition: a brief review. *Int J Food Sci Technol* 1999 ; 34(5-6): 533-42.

8. Muller A., Chaufer B., Merin U., Daufin G. Prepurification of α -lactalbumin with ultrafiltration ceramic membrans from acid casein whey : study of operating conditions. *Lait* 2003; 83: 111-29.
9. Cheftel JC., Lorient D. Les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration. *Le lait* 1982; 62:435-83.
10. Gustaw W. Effect of addition of whey protein aggregates obtained by single and double heating method on the rheological properties of set yoghurts. *Polish J Food Nutr Sci* 2007; 57(3): 33-6.
11. Vignola CL., Foisy L., Ratel D., Lapris E. Science et technologie du lait : transformation du lait. 2002, *Presses Inter. Polytechnique*, pp :443-511.
12. Sanmartin B., Diaz O., Rodríguez-Turienzo L., Cobos A. Composition of caprine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese whey. *Small Ruminant Res* 2012; 105 : 186-92.
13. Morr CV., German B., Kinsella JE., Regenstein JM., Van Buren JP., Kilara A. *et al.* A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *J Food Sc* 1985; 50: 1715-8.
14. Gornall AG., Bardawill CJ., David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem* 1948 ;177 (2):751-66.
15. Diaz O., Pereira CD., Cobos A. Functional properties of ovine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese manufacture by-products. *Food Hydrocolloids* 2004; 18: 601-10.
16. Patel PD., Stripp AM., Fry JC. Whipping test for the determination of foaming capacity of protein: a collaborative study. *Int J Food Sci Technol* 1988; 23: 57-63.
17. Klompong V., Benjakul .S, Kantachote D., Shahidi F. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chem* 2007; 102 :1317-27.
18. Pearce KN., Kinsella JE. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *J Agric Food Chem* 1978 ; 26 (3): 716-23.
19. AOAC, 2000. Association of Official and Analytical Chemists -Official methods of analysis of AOAC international (17thed.). Gaithersberg, Maryland.
20. Frédot E. Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Paris : Tec. & Doc., Lavoisier, 2005, p31-37.
21. Lorient D., Closs B., Caurthaudan LV. Connaissances nouvelles sur les propriétés fonctionnelles des protéines du lait et des dérivés. *Lait* 1991 ; 71:141-71
22. Kim SH., Morr CV., Seo A., Surak JG. Effect of whey pretreatment on composition and functional properties of whey protein concentrate. *J Food Sci* 1989 ; 54 : 25-9.
23. Svanborg S., Johansen AG., Abrahamsen RK., Schüller RB., Skeie SB. Caseinomacropéptide influences the functional properties of a whey protein concentrate. *Int Dairy J* 2016; 60 :14-23.
24. Sanmartin B., Diaz O., Rodríguez-Turienzo L., Cobos A. Functional properties of caprine whey protein concentrates obtained from clarified cheese whey. *Small Ruminant Res* 2013;110:52-6.
25. Zayas JF. Functionality of proteins in food. 1997, Berlin: Springer-Verlag.
26. Jambrak AR., Mason TJ., Lelas V., Herceg Z., Herceg IL. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *J Food Engineering* 2008; 86 : 281-7.
27. Caessens PW., De Jongh HH., Norde W., Gruppen H. The adsorption-induced secondary structure of beta-casein and of distinct parts of its sequence in relation to foam and emulsion properties. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1430 : 73-83.
28. Rinn JC., Morr CV., Seo A., Surak JG. Evaluation of nine semi-scale whey pre-treatment modifications for producing whey protein concentrate. *J Food Sci* 1990 ; 55(2) : 511-5.
29. Jiménez XT., Cuenca AA., Jurado A T., Corona A A., Urista CRM. Traditional Methods for Whey Protein Isolation and Concentration: Effects on Nutritional Properties and Biological Activity. *J Mex Chem Soc* 2012; 56(4): 369-77.
30. Guggisberg D., Ederhard P., Alrecht B. Rheologi-

cal characterization of set yoghurt produced with additives of native whey proteins. *Int Dairy J* 2007; 1353-9.