



HAL
open science

Etude biochimique de la fonte des fromages. IV. Effet du type de sels de fonte et de la nature de la matière protéique sur la peptisation. Utilisation d'un système modèle

B.O. Lee, D. Paquet, C. Alais

► To cite this version:

B.O. Lee, D. Paquet, C. Alais. Etude biochimique de la fonte des fromages. IV. Effet du type de sels de fonte et de la nature de la matière protéique sur la peptisation. Utilisation d'un système modèle. *Le Lait*, 1986, 66 (3), pp.257-267. hal-00929067

HAL Id: hal-00929067

<https://hal.science/hal-00929067>

Submitted on 11 May 2020

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

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

Etude biochimique de la fonte des fromages

IV. Effet du type de sels de fonte et de la nature de la matière protéique sur la peptisation.

Utilisation d'un système modèle

B.O. LEE *, D. PAQUET ** et C. ALAIS **

* *Laboratory of Biochemistry and Dairy Technology, College of Agriculture Chonbuk National University, Chonju 520, Chonbuk, Republic of Korea*

** *Laboratoire de Biochimie appliquée, Faculté des Sciences, Université de Nancy I B.P. 239 - 54506 Vandœuvre-les-Nancy, France*

Résumé

Un système modèle a été conçu pour évaluer la peptisation au cours de la fonte des fromages. La capacité de peptisation par l'orthophosphate est très limitée, et avec les polyphosphates le taux s'accroît rapidement avec la concentration et le taux de condensation. Pour obtenir une peptisation convenable, il faut que le polyphosphate utilisé contienne au moins 3 atomes de phosphore par molécule. L'influence du pH a été étudiée ; la peptisation est maximale autour de pH 6,5 ; aux valeurs plus basses, vers le point isoélectrique des caséines, la peptisation est très faible. Il existe une relation entre la proportion de calcium non sédimentable par ultracentrifugation et la peptisation. La réduction de la taille des agrégats protéiques au cours de la fonte est confirmée.

Mots clés : Fromage fondu - Sels de fonte - Calcium - Peptisation.

Summary

Biochemical study of the cheese processing

IV. *Effect of melting salts and proteins on the peptization.*

Use of a model system

A model system was used to measure the peptization rate during cheese processing. Capacity of peptization for orthophosphate is very limited and with polyphosphates peptization rate increases rapidly with concentration and polyphosphate polymerization. Important peptization is obtained with polyphosphates that contain at least 3 atoms of phosphorus. The influence of pH has been studied ; highest peptization is near pH 6.5. At lower pH, near isoelectric point of caseins, the peptization is very weak. There is a relationship between unsedimentable calcium proportion and peptization. The reduction of the size of protein aggregates during melting is confirmed.

Key words : Processed cheese - Melting salts - Calcium - Peptization.

Introduction

La modification de la matière première caséique ou « peptisation », résultant de la chélation du calcium par les polyphosphates et le citrate au cours de la fonte du fromage est encore assez mal connue. L'état de dispersion de la paracaséine dans le fromage fondu a été étudié au moyen de l'ultracentrifugation analytique (TATSUMI *et al.*, 1975) et de la microscopie électronique (KIMURA *et al.*, 1976, LEE *et al.*, 1981). Dans une précédente publication (LEE *et al.*, 1979) nous avons montré que la peptisation peut être mesurée par la proportion d'azote non sédimentable (NNS) après ultracentrifugation à 300 000 xg et nous avons constaté son augmentation dans le fromage fondu en fonction de la concentration en sels de fonte. Nous avons ensuite étudié l'évolution des phosphates et des métaux en fonction de la concentration de sels de fonte utilisée (LEE *et al.*, 1980).

Jusqu'à présent les travaux concernant la peptisation du fromage au cours de la fonte étaient difficilement comparables, car souvent effectués sur des mélanges complexes : fromages de types et d'affinages différents, préfonte possible, sels de fonte divers, technologies variées... Nous avons utilisé un système modèle faisant appel à une matière protéique déterminée (paracaséinate « natif » ou extrait du fromage), ainsi qu'à une technique simple de fonte.

Ce travail montre l'effet du type de sel de fonte, du pH et de la nature de la matière protéique sur la peptisation.

I. Matériel et méthodes

— Sels de fonte

Les caractéristiques des polyphosphates utilisés pour la fonte sont indiquées dans le tableau 1. Les sels de fonte Joha S4, K et T sont fournis par Benckiser-Knapsach (Ladenburg, R.F.A.) ; ce sont des sels utilisés couramment dans les protocoles industriels, leur composition n'est pas révélée par le fabricant.

— Préparation du paracaséinate de calcium « natif »

Nous avons utilisé la méthode préconisée par NOOMEN (1978). Le lait cru écrémé est porté à 80° C pendant 30 min pour inactiver les protéases natives ; il est ensuite empréuré avec une dose d'enzyme amenant la floculation en 30 min. Le caillé obtenu est séparé par centrifugation puis lavé 3 fois à l'eau et lyophilisé.

— Préparation de paracaséinate de calcium à partir de fromage d'Emmental

Une suspension de fromage dans l'eau (5 % P/V) est broyée avec un mixeur (Sorvall) pendant 5 min puis centrifugée pour séparer le paracaséinate insoluble ; celui-ci est lavé 3 fois à l'eau et lyophilisé, puis dégraissé par l'éther éthylique.

— Le système modèle

Les essais de fonte ont été réalisés à différents pH : en tampon imidazole 0,05 M pour les pH compris entre 6,5 et 7,5 et en tampon pipérazine 0,05 M pour pH 5,5 et pH 6. La concentration en polyphosphates est exprimée en mole de phosphore (5.10^{-3} à 5.10^{-2} M).

TABLEAU I

Caractéristiques principales des sels de sodium utilisés
Main characteristics of sodium salts used

Sels	Condensation	(a) Teneur en phosphore total (Pt) p. 100 g	(a) P libre % Pt	Qualité	pH solution à 1 %
Orthophosphate (b)	P × 1	18,9	98	pur	4,5
Pyrophosphate (b)	P × 2	22,2	2,4	alimentaire	10,4
Tripolyphosphate (b)	P × 3	24,2	4,3	alimentaire	9,5
Pentapolyphosphate (b)	P × 5	26,4	10,3	alimentaire	8,3
Hexamétaphosphate (c)	P × 12	27,4	7,8	pur	7,0
Hexamétaphosphate (b)	P × 20	27,9	6,5	alimentaire	6,7
Citrate (c)	—	—	—	pur	—

(a) phosphore dosé au laboratoire.

(b) fourni par la Société Rhône-Poulenc, France.

(c) produits Fluka. Société Interchim, France.

Le paracaséinate (0,4 g) est dispersé dans 40 ml de solution tampon contenant le sel de fonte. Le mélange est chauffé à 80° C pendant 3 min puis laissé à refroidir à température ambiante pendant 5 h.

— *Fabrication du fromage fondu en pétrin à partir d'Emmental*

Une expérience de contrôle a été effectuée avec un fromage Emmental en ajustant le pH avec les sels correcteurs K et T. Ces sels ont des pH respectifs de pH=2,8 et pH=11,8 en solution dans l'eau distillée. L'Emmental est fondu avec 3 % de sels de fonte S4 dans un pétrin expérimental (Kustner) à 80° C pendant 10 min.

— *Préparation de la fraction protéique non sédimentable du fromage fondu*

La fraction soluble est séparée, d'une suspension de fromage dans l'eau, par ultracentrifugation (300 000 xg, 45 min à 20° C) selon une méthode préalablement mise au point (LEE *et al.*, 1979). Les dosages de l'azote non sédimentable (NNS) et du calcium non sédimentable (CaNS) sont effectués sur le surnageant d'ultracentrifugation.

— *Filtration sur gel*

Le paracaséinate de calcium fondu à pH 7 (quantité correspondant à 15 mg d'azote), en solution dans 5 ml de tampon imidazole pH 7 ou 5 ml de surnageant d'ultracentrifugation (selon LEE *et al.*, 1979) du même produit (quantité correspondant à 6 mg d'azote), sont déposés au sommet d'une colonne (2,5 × 128 cm)

de Sepharose 6B (Pharmacia, Uppsala, Suède) ; l'éluion est menée avec le tampon imidazole 0,05 M, pH 7, à un débit de 20 ml/h.

— *Méthodes d'analyse*

L'azote est dosé par microkjeldahl. Le calcium est dosé par spectrométrie d'absorption atomique (LINDEN, 1971). Le phosphore est dosé par la méthode de FISKE et SUBBAROW (1925).

II. Résultats

A. *Effet de la concentration des sels de fonte sur la peptisation du paracaséinate de calcium « natif »*

La peptisation a été suivie à pH 7 par le dosage de NNS après le traitement thermique en présence de doses croissantes de polyphosphate ou de citrate (fig. 1). En l'absence de polyphosphate ou de citrate, le paracaséinate de calcium en suspension à pH 7 sédimente presque totalement au cours de l'ultracentrifugation ; il ne reste plus dans le surnageant que 3 à 6 % de l'azote ou du calcium.

La peptisation par l'orthophosphate est très limitée ; le taux de NNS ne dépasse guère 10 %. Avec les autres sels le taux s'accroît rapidement jusqu'à une concentration de 0,02 M puis se stabilise à des niveaux différents ; on atteint ainsi une capacité de peptisation de l'ordre de 60 % pour le pyrophosphate. Les sels plus condensés ne se distinguent pas entre eux, la capacité est d'environ 80 % ainsi que pour le citrate (fig. 1).

Il existe une similitude entre les courbes de CaNS et les courbes de peptisation. Avec le citrate et les polyphosphates on atteint, à la concentration de 0,02 M, une proportion de CaNS voisine de 90 %. Le pyrophosphate a apparemment moins d'effet sur l'évolution de CaNS que sur celle de NNS (une partie des sels de calcium précipite) ; l'orthophosphate ne modifie pas le taux de CaNS.

B. *Effet du pH sur la peptisation du paracaséinate de calcium « natif »*

L'influence du pH sur la peptisation (concentration constante en phosphore ou en citrate de sodium : 0,02 M) apparaît dans les courbes de la figure 2a. La capacité de peptisation est maximale aux valeurs de pH > 6,5. Le pyrophosphate est moins efficace que l'hexaméthaphosphate P12 ou que le citrate. A pH 6 le citrate a un effet peptisant plus important que le sel P12. Aux valeurs de pH proches du point isoélectrique de la caséine, la peptisation devient très faible. Une expérience de contrôle a été faite avec un fromage d'Emmental fondu à différentes valeurs de pH au moyen de sels S4, K et T. On voit que l'évolution de NNS est différente de ce qu'elle est dans le système modèle ; l'augmentation est déjà notable à pH 5,5 et l'on obtient la valeur terminale (50 %) avant pH 6.

En fonction du pH, l'évolution de CaNS est différente selon les sels, sauf pour le citrate et le sel P12 entre pH 6,5 et pH 7,5 (fig. 2b). Aux plus basses valeurs de pH, l'effet de ces deux sels n'est plus le même ; avec le sel P12, CaNS s'abaisse nettement, alors qu'il varie peu avec le citrate. La courbe avec le pyro-

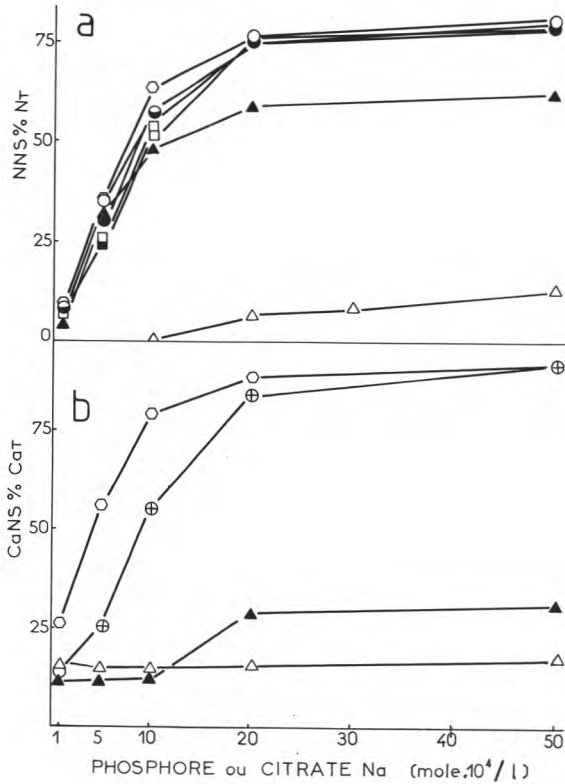


Fig. 1

Fonte en système modèle de paracaséinate de calcium natif à pH 7 en présence de différents sels de concentrations croissantes :

- a) Evolution du taux d'azote non sédimentable (NNS % NT).
- b) Evolution du taux de calcium non sédimentable (CaNS % CaT).

Melting process in a model system of native calcium paracaséinate at pH 7, using various salts of increasing concentration :

- a) Change of unsedimentable nitrogen ratio (NNS % NT).
- b) Change of unsedimentable calcium ratio (CaNS % CaT).

△—△ P1, ▲—▲ P2. ○—○ P3. ●—● P5. □—□ P12. ■—■ P20. ○—○ Citrate.
 ⊕—⊕ Courbe commune pour P3, P5, P12 et P20 - Common curve for P3, P5, P12 and P20.

phosphate est décalée très en dessous. Un traitement thermique sans sel révèle une évolution inverse du CaNS dont la proportion est très élevée à pH acide (pH 5,5) et décroît régulièrement et fortement lorsque le pH atteint 7.

C. Peptisation de paracaséinates extraits de fromages d'Emmental à différents degrés d'affinage

Le degré d'affinage des 4 fromages utilisés (A-D) a été caractérisé par la mesure de la proportion d'azote non caséinique (NNC % NT) (tabl. 1). Les para-

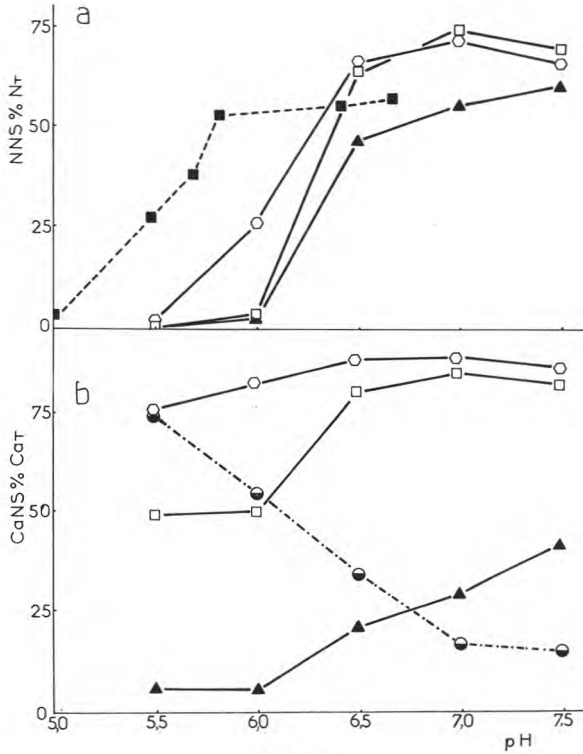


Fig. 2

Fonte en système modèle de paracaséinate de calcium natif, à différents pH, en présence de différents sels à concentration constante (0,02 M) :

- a) Evolution du taux d'azote non sédimentable (NNS % NT).
 b) Evolution du taux de calcium non sédimentable (CaNS % CaT).

Melting process in a model system of native calcium paracaseinate, at various pH, and various salts at fixed concentration :

- a) Change of unsedimentable nitrogen ratio (NNS % NT).
 b) Change of unsedimentable calcium ration (CaNS % CaT).

▲—▲ P2. □—□ P12. ○—○ Citrate. ○—○ Sans sel - Without sal. ■—■ Emmental fondu avec sel Joha - Emmental melted with Joha salt.

caséinates provenant de ces fromages ont été soumis au traitement thermique en présence d'hexamétophosphate P12 à une concentration correspondant à 0,02 mole de phosphore par litre et à pH 7. Parallèlement à cette série d'expériences en système modèle, on a réalisé une fonte de type industriel avec 3 % de sel S4 à 100° C. Les résultats sont présentés dans le tableau 2. On observe peu de variation de la peptisation en fonction du degré d'affinage, ni pour NNS, ni pour CaNS. Les paracaséinates extraits des fromages donnent des résultats comparables à ceux du phosphoparacaséinate natif (témoin) en ce qui concerne la peptisation ; par contre les valeurs sont inférieures en ce qui concerne CaNS.

Le traitement thermique, en absence de sels, des paracaséinates extraits des fromages provoque une faible peptisation (NNS moyen 15 %, CaNS moyen 27 %),

TABLEAU II

Evolution de : a) Taux d'azote non sédimentable (NNS % NT) ;
 b) Taux de calcium non sédimentable (CaNS % CaT),
 au cours du traitement : 1) en système modèle, 2) en fonte classique,
 de quatre paracaséinates de calcium extraits de fromage Emmental,
 et d'un paracaséinate de calcium natif

Changes of : a) Unsedimentable nitrogen ratio (NNS % NT) ;
 b) Unsedimentable calcium ratio (CaNS % CaT),
 during melting : 1) with a model system ; 2) with a common process,
 of four calcium-paracaseinates extracted of Emmental cheeses,
 and of one native calcium paracaseinate

	Fromage Emmental				Témoin (para- caséinate « natif »)
	A	B	C	D	
Degré d'affinage NNC % Nt	12,9	17,25	22,6	28,1	
a) NNS % Nt					
1. Traitement des para- caséinates :					
— avec le polyphos- phate P 12	79,0	73,8	68,7	72,2	74,7
— sans sel	13,8	19,1	12,3	15,2	2,6
2. Fonte classique en pétrin :					
— avec le sel S4	72,5	70,9	71,3	68,2	—
b) CaNS % CaT					
1. Traitement des para- caséinates :					
— avec le polyphos- phate P 12	71,5	75,2	76,7	72,9	83,1
— sans sel	30,5	27,0	24,8	24,5	5,9
2. Fonte classique en pétrin :					
— avec le sel S4	56,0	58,6	52,7	64,6	—

a) NNS % NT : azote non sédimentable % azote total.

b) CaNS % CaT : calcium non sédimentable % calcium total.

alors que le paracaséinate témoin, dans les mêmes conditions, donne des valeurs beaucoup plus basses (respectivement 2,6 et 5,9 %).

La fonte classique en pétrin des fromages Emmental, correspondant aux différents paracaséinates, donne des valeurs plus faibles surtout pour CaNS % NT.

D. Relation entre la peptisation
 et l'évolution du poids moléculaire apparent des protéines

Le profil d'éluion sur colonne de Sepharose 6B d'une suspension de paracaséinate de calcium fondu en présence d'hexamétaphosphate P12 est présenté

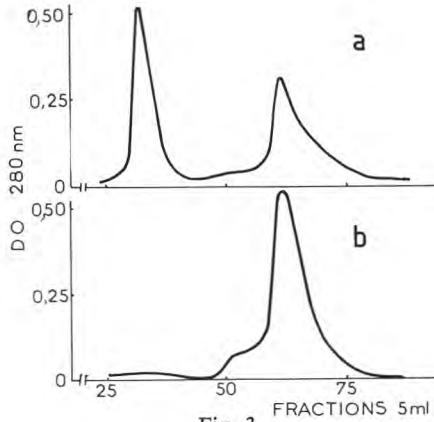


Fig. 3

Paracaséinate de calcium natif traité selon le système modèle en présence d'hexamétophosphate P12 à pH 7 ; profil d'élué de la chromatographie sur colonne de gel de Sépharose 6B :

- a) Produit de la fonte dispersé dans le tampon imidazole pH 7.
- b) Surnageant d'ultracentrifugation.

Native calcium paracaseinate treated following the model system with hexametaphosphate P12 at pH 7 ; elution profile of the column chromatography on Sepharose 6B gel :

- a) Melted product dispersed in pH 7 imidazole buffer.
- b) Ultracentrifugation supernatant.

dans la figure 3a. Il comporte un premier pic correspondant aux protéines exclues du gel (poids moléculaire $> 2,10^6$). Le second contient des protéines de poids moléculaire apparent proche de 70 000. La fraction de très haut poids moléculaire peut être éliminée par ultracentrifugation (selon LEE *et al.*, 1979) ; le surnageant ne renferme alors plus que la fraction peptisée éluée au niveau du second pic (fig. 3b). Le volume de rétention de la fraction protéique peptisée est invariable quel que soit le taux de condensation du sel de polyphosphate utilisé entre P2 et P20.

E. Etat du calcium dans la fraction peptisée

La proportion de calcium non dialysable présente dans le surnageant d'ultracentrifugation (300 000 xg, 45 min, 20° C) a été mesurée à partir du paracaséinate « natif » (1 %, pH 7,0), traité en présence de différents sels à la concentration de 0,05 M (tabl. 3). Après le traitement avec le citrate et l'orthophosphate presque tout le calcium non sédimentable est éliminé par dialyse bien que les états de peptisation soient différents ; avec les sels plus condensés le calcium est retenu dans le sac de dialyse et en proportion d'autant plus grande que le degré de condensation est plus élevé ; avec le sel P12 tout le calcium est non dialysable.

III. Discussion

L'action peptisante ne se traduit pas par une augmentation continue de NNS lorsque la concentration en polyphosphate va en croissant. Il existe une concen-

TABLEAU III

Taux de calcium non dialysable, présent dans le surnageant d'ultracentrifugation, après traitement selon le système modèle du paracéinate de calcium natif à pH 7, en présence de différents sels de sodium

Undialyzable calcium ratio of the ultracentrifugation supernatant of native calcium paracaseinate treated in the model system at pH 7, with various sodium salts

Sel	Calcium non dialysable (% CaNS)
P 1	3
P 2	30
P 5	54
P 12	88
P 20	99
Citrate	5

tration au-delà de laquelle la valeur de NNS reste presque constante. Dans le système modèle elle correspond à 0,02 M de phosphore (soit 0,016 g de polyphosphate pour 100 ml de mélange).

La capacité peptisante du pyrophosphate est faible. Ceci se traduit par un faible taux de calcium non sédimentable, témoignant du peu de pouvoir chélatant de ce sel vis-à-vis du calcium ; il ne peut s'agir là d'une copréciptation du pyrophosphate et du calcium car dans ce cas la peptisation aurait lieu et le taux de NNS % NT serait plus élevé à pH acide (fig. 2). Celle de l'orthophosphate est quasiment nulle. Ce sel est susceptible de former des ponts calcium entre les molécules de caséine. TATSUMI *et al.* (1975) remarquent que l'orthophosphate provoque une association des molécules de caséinate de calcium. NAKAJIMA *et al.* (1975) pensent que l'orthophosphate réagit préférentiellement avec le calcium colloïdal pour former des sels insolubles. Pour obtenir une peptisation convenable, il faut que le polyphosphate utilisé contienne au moins 3 atomes de phosphore par molécule ; au-delà, l'influence de la condensation n'est pas sensible.

Avec la mesure de l'extractibilité de l'azote dans une suspension de fromage chauffé en présence de sel, ITO *et al.* (1976) avaient observé que la proportion d'azote soluble augmentait en passant de l'orthophosphate (67 %), au pyrophosphate (80 %) et l'hexamétaphosphate (90 %). On observe donc, dans des conditions bien différentes, la même évolution.

Avec notre système modèle l'influence du pH sur la peptisation est très marquée. La libération d'azote non sédimentable ne se produit pas en dessous de pH 6,0. Par contre, dans le système habituel du fromage fondu, elle commence à une unité de pH plus bas (5,0) et atteint une valeur palier vers pH 5,7. Les milieux sont évidemment de différente nature dans leur teneur en eau et dans

leurs parties non azotées ; les phénomènes sont plus complexes dans le fromage fondu que dans le paracaséinate de calcium traité par un sel de fonte. On peut penser que dans le système modèle on saisit isolément la phase de peptisation, alors que dans le fromage fondu on mesure la somme algébrique de plusieurs modifications biochimiques.

Nos expériences avec des paracaséinates extraits de fromage Emmental n'ont pas révélé de différences significatives dans le taux de peptisation. Le stade d'affinage des fromages testés pourrait en être la raison ; ainsi ITO *et al.* (1976), étudiant le comportement de fromages Gouda au cours de la fonte, notent une baisse rapide de la capacité émulsifiante du fromage entre le 21^e et le 35^e jour d'affinage ; pour des fromages plus âgés la variation devient très faible. La proportion de CaNS peut être considérée comme un second indice de peptisation, mais sa signification est moins sûre que NNS en raison de la possibilité de formation de phosphates de calcium insolubles. L'essai témoin avec le paracaséinate « natif », à différents pH, en l'absence de sel (fig. 2) confirme les modifications biochimiques essentielles apportées par les sels de fonte. Ceux-ci maintiennent à un niveau élevé la proportion de CaNS, de pH 5 à pH 7,5 ; alors qu'en leur absence le taux de CaNS tend vers 0 lorsque le pH dépasse 7,0 et que le calcium, quittant l'état libre, est, dans sa plus grande part, lié à la protéine non peptisée. Il est difficile d'établir l'état du calcium dans le système protéique soumis au traitement thermique en présence de sels chélatant ce métal. NAKAJIMA *et al.* (1975) avaient conclu à une liaison directe Ca-protéine, en observant la diminution du calcium libre par ultrafiltration. Nos essais de dialyse de la fraction non sédimentable, montrant que la proportion de calcium non dialysable augmente avec le taux de condensation du polyphosphate, nous portent à penser que la situation est plus complexe.

Il est probable que le calcium se trouve réparti sous plusieurs formes :

- calcium lié aux protéines ;
- calcium lié au polyphosphate, probablement la plus grande part ;
- calcium sous forme de complexe des deux formes précédentes.

D'autres moyens d'investigation seront nécessaires pour résoudre ce problème.

La taille des agrégats diminue au cours du traitement de fonte. Avant le traitement, le paracaséinate natif a un poids moléculaire moyen élevé et est exclu du gel ; après le traitement apparaît une importante fraction vers 70 000 ; ce poids moléculaire apparent ne varie pas lorsque l'on utilise différents polyphosphates ou le citrate. Les observations de microscopie électronique concluent également à une réduction des grandeurs moléculaires au cours de la fonte (KIMURA et TANEYA, 1975, TANEYA *et al.*, 1980, et LEE *et al.*, 1981). L'ultracentrifugation analytique montre une relation entre la réduction de la taille des agrégats et le degré de condensation du polyphosphate (TATSUMI *et al.*, 1975).

Les études par méthodes optiques réalisées par ces derniers auteurs avaient laissé entrevoir des changements moléculaires dans les caséines, par suite de déplacement du pic principal d'absorption vers 284 nm, dépendant de la nature du sel. Mais nous n'avons observé aucune différence dans les spectres des fractions non sédimentables en changeant la nature du sel (LEE B.O., 1981).

Reçu le 19-8-1985.

Accepté pour publication le 16-11-1985

Références bibliographiques

- FISKE H., SUBBAROW Y., 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66, 375-381.
- ITO T., OKAWACHI Y., MUGURUMA Y., 1976. — Relationship between the emulsifying capacity of cheese and the size of casein during ripening. *J. Fac. Agric. Kyushu Univ.*, 20, 79-85.
- KIMURA T., TANEYA S., 1976. Electron microscopic observation of casein particle in cheese. *J. Electron. Microsc.*, 24, 115-117.
- LEE B.O., PAQUET D., ALAIS C., 1979. Etude biochimique de la fonte des fromages. I. Mesure de la peptisation. *Lait*, 59, 589-596.
- LEE B.O., ALAIS C., 1980. Etude biochimique de la fonte des fromages. II. Evolution des phosphates et des métaux. *Lait*, 60, 130-139.
- LEE B.O., 1981. *Etude biochimique de la fonte des fromages*. Thèse d'Etat, Nancy.
- LEE B.O., KILBERTUS G., ALAIS C., 1981. Ultrastructural study on processed cheese. Effect of different parameters. *Milchwissenschaft*, 36, 343-348.
- LINDEN G., 1971. Application de la spectrophotométrie d'absorption atomique dans les laboratoires d'industrie alimentaire. *Ind. Alim. Agric.*, 88, 793-803.
- NAKAJIMA I., KAWANISHI G., FURIUCHI E., 1975. Reactions of melting salts upon casein micelles and their effect on calcium, phosphorus and bound water. *Agric. Biol. Chem.*, 39, 979-987.
- NOOMEN A., 1978. Activity of proteolytic enzymes in simulated soft cheese (Meshanger Type). II. Activity of calf rennet. *Neth. Milk Dairy J.*, 32, 49-68.
- TANEYA S., KIMURA T., IZUTSU T., BUCHHEIM W., 1980. The submicroscopic structure of processed cheese with different melting properties. *Milchwissenschaft*, 35, 479-481.
- TATASUMI K., OHABA S., NAKAJIMA I., SHINOHARA K., KAWANISHI G., 1975. The effect of emulsifying salts on the texture of processed cheese. III. The effect of emulsifying salts on the state of dispersion of casein. *J. Agric. Chem. Soc. Jpn.*, 49, 481-489.