

RHEOLOGY OF GELS CONTAINING PEA PROTEIN ISOLATE ENZYMATICALLY MODIFIED WITH BACTERIAL TRANSGLUTAMINASE ♦

LA RHÉOLOGIE DES GELS À BASE D'ISOLAT DE PROTÉINES DE PETITS POIS MODIFIÉS ENZYMATIQUEMENT AVEC TRANSGLUTAMINASE BACTERIENNE

Aurelia Ionescu¹, Margareta Zara^{1*}, Iuliana Aprodu¹,
Aida Vasile¹, Gabriela Gurău²

¹*"Dunărea de Jos" University Galați, Faculty of Food Science and
Engineering, 111, Domneasca St., 800201, Galați, Romania*

²*Hospital for children, Galați, Romania*

*Corresponding author: margareta.zara@ugal.ro

Received: 13/05/2008

Accepted after revision: 22/07/2008

Abstract: The present study deals with functional characteristics and rheological behavior of the gels obtained from pea protein isolate enzymatically modified with bacterial transglutaminase (MTGase). During the shearing flow process, the protein gels behaved as non-Newtonian fluids with structural viscosity. The apparent viscosity of all studied gels and their coefficient of viscosity decreased with the increase of the shearing rate in the range $0.1667 - 148.5 \text{ s}^{-1}$. The rheological characteristics of the gels

♦ Paper presented at the fifth edition of: "Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée – COFrRoCA 2008", 25 – 29 June 2008, Bacău, Romania.

correlated directly with the enzyme level added in the limits 0.1 – 0.25 g/100 g proteins, with the temperature in the range 4 – 40 °C and with the reaction time of the enzyme of 30 – 90 minutes. The aims of the present study were twofold: (i) to study the interaction of MTGase with pea proteins, and (ii) to evaluate the effect of this interaction on functional and rheological characteristics of protein gels in correlation with the level of the added enzyme, with the time and the temperature of reaction.

Keywords: *pea proteins isolate, bacterial transglutaminase, apparent viscosity, gel, rheological properties*

INTRODUCTION

L'incorporation des protéines végétales dans certains produits alimentaires traditionnellement est une pratique large utilisée actuellement. Les protéines végétales permettent l'obtention de nouveaux types de produits avec de la valeur nutritionnelle améliorée, la texture modifiée, stabilité plus grande à un prix plus réduit. Grâce au goût et à la couleur neutre, au niveau réduit des facteurs anti-nutritionnels et au fait qu'il n'y a pas de produits génétiquement modifiés, les protéines des petits pois peuvent être choisies pour la fortification protéique d'une large gamme des produits alimentaires et pharmaceutiques. Elles peuvent être utilisées comme un ingrédient pour les biscuits, le pain, les pâtes, les soupes, les desserts, les puddings, les dressings, pour l'yaourt, comme des agents végétaux d'extension pour les produits de viande et de poisson, et, plus récent, dans les aliments et les boissons sains et pour les sportifs. Les applications de ces ingrédients alimentaires sont dépendantes de leurs propriétés fonctionnelles [4]: la solubilité des protéines, la capacité de gélification, sont quelques-unes des propriétés fonctionnelles qui contribuent à la qualité des produits alimentaires. Les dérivés protéiques des petits pois de culture se font remarquer par les propriétés uniques d'émulsification et de formation des films et des propriétés faibles de gélification. Des protéines de petits pois, la viciline a des propriétés de gélification meilleures, en comparaison avec la légumine [1]. La modification enzymatique des protéines globulaires constitue un moyen d'amélioration de la fonctionnalité des protéines végétales.

L'incorporation des amines et la promotion des réactions cross-linking avec l'aide de la MTGase [7, 15, 16, 23] constitue des techniques fréquemment utilisées pour la modification des propriétés d'hydratation, gélification, émulsification et de la stabilité au traitement thermique des différentes protéines [5, 12, 14, 15]. L'amélioration des propriétés physico-chimiques des protéines, à l'aide de la réaction avec de la MTGase, on a étudié dans le cas des protéines: de soja et de blanc d'oeuf [17, 21, 24]; de «beach pea» (*Lathyrus maritimus* L.) [2], de petits pois [11] et de protéines myofibrillaires de viande et de poisson [8, 19]. Les gels protéiques du muscle et du cœur de bœuf contenant de la MTGase exercent de la force et de la cohésivité plus grandes que les produits respectifs, sans l'addition d'enzyme [9, 18]. Shand et al., ont montré que les isolats de protéines de petits pois commerciaux ont des capacités limitées de formation des gels fortes thermiques induites [22].

Cet étude a eu comme but la stabilisation de l'effet de l'interaction de la MTGase avec les protéines des petits pois sur les propriétés rhéologiques des gels en fonction des conditions de réaction: le niveau d'enzyme ajouté, du temps et de la température de «setting».

MATERIAUX ET METHODES

Matériaux

L'isolat de protéines de petits pois Pisane HD commercialisé par Cosucra Belgium. La MTGase de type Activa TG-T1 ont été procurée de la Ajinomoto (Inc. Teanec. N.J., États-Unis).

Composition chimique

Les contenus d'humidité (méthode no. 925.1) et de cendre (méthode no. 923.03) ont été déterminés par les procédures AOAC, 1990. Le contenu d'azote total a été déterminé à l'aide de la méthode Kjeldahl adaptée au SYSTÈME KJELDAHL Velp Scientifica UDK 127, et la quantité des protéines a été déterminée en utilisant le facteur 6,25 pour la conversion de l'azote. Le contenu total des lipides a été déterminé à l'aide de l'extraction Soxhlet avec des solvants, adaptée pour l'appareil SOX THERM, SOLVENT EXTRACTORR SER 148. Pour toutes les analyses chimiques on a doublé les échantillons.

La solubilité des protéines

Pour la détermination de l'indice de dispersabilité protéique (PDI) d'isolat de protéines de petits pois on a préparé des solutions à la concentration de 1% par la dispersion du produit protéique poudre dans l'eau distillée. Les solutions ont été agitées à l'aide d'un agitateur magnétique pour 20 minutes, puis ont été stockées pour une nuit au 4 °C, centrifugées au 4500 rpm, 30 minutes et puis le supernatant a été filtré par le papier au filtre (Whatman No. 1). Le contenu des protéines du supernatant a été déterminé par l'analyse de l'azote en utilisant la méthode micro-Kjeldahl (AOAC, 1990). Le PDI a été mesuré comme rapport entre le contenu des protéines du supernatant et le contenu des protéines de l'échantillon initiale, exprimé en pourcentage. La solubilité des protéines a été réalisée à la température de la chambre pour des différentes valeurs du *pH*, par l'ajustage du *pH* à la suspension protéique d'isolat de protéines de petits pois aux différentes valeurs de *pH* (2 – 10,1) avec HCl 2M ou NaOH 2M. Toutes les analyses ont été effectuées pour des échantillons doubles.

Le *pH* a été déterminé potentiométrique à l'aide du *pH*-mètre type Hanna, en utilisant des dispersions protéiques ayant la concentration de 12% (W/V), à la température de 22 ± 1°C.

L'absorption de l'eau

La capacité de l'absorption de l'eau a été déterminée à l'aide de la méthode indiquée par Sathe et al [20]. L'isolat de protéines de petits pois a été séché dans el séchoir à la température de 104 °C, pour 24 heures. 0,5 g d'isolat de protéines séché ont été placées dans un tube de centrifugation de 15 mL tarée et mélangé avec 4,5 mL d'eau distillée à

l'aide d'une baguette mince de verre. Après l'incubation pour 30 minutes au $22 \pm 1^\circ\text{C}$, les tubes ont été centrifugés pour 30 minutes au 3500 rpm, les supernatants ont été décantés et les tubes ont été rebalancés. La capacité d'absorption de l'eau a été mesurée par la division de l'eau absorbée à la quantité de l'échantillon d'isolat protéique (g eau/g isolat protéique). La capacité d'absorption de l'eau a été déterminée au *pH* naturel de la suspension protéique pour des échantillons triples.

Préparation des suspensions et des gels protéiques

Pour étudier l'effet de la concentration de la MTGase sur les propriétés rhéologiques et la stabilité au traitement thermique d'isolat de protéines de petits pois on a réalisé des séries d'échantillons avec des différentes concentrations de l'enzyme, (0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1 g % MTGase/100 g protéines), setting aux différentes températures (22, 40, 50 et 60°C) et temps différents (30, 60, 90 minutes). Les dispersions protéiques, avec la concentration de 12% isolat protéique (W/V), ont été réalisées à l'aide d'un agitateur magnétique de laboratoire, l'homogénéisation en s'effectuant durant 2 heures. Les dispersions protéiques homogénéisées ont été magasinées pendant la nuit à la température de 4°C pour l'hydratation complète des protéines. Après la temporisation à la température nécessaire et l'addition de la MTGase, les échantillons ont été thermostatés sur bain de l'eau aux températures et temps établis. L'inactivation de l'enzyme s'est réalisée par le réchauffement des échantillons sur bain de l'eau, dans un régime dynamique, jusqu'à l'atteinte de la température de 80°C du centre thermique de l'échantillon (la croissance de la température avec $1^\circ\text{C}/\text{minute}$) et le maintien à la température respective pour 30 minutes. Les échantillons, refroidis vite sur bain de l'eau avec de la glace jusqu'à la température de la chambre et gardée pendant la nuit au 4°C , pour 24 heures, ont constitué les gels protéiques.

La capacité de rétention d'eau (CRA)

Pour déterminer la capacité des gels protéiques de rétention d'eau, partis aliquotes de gel ont été placées entre deux couches de papier de filtre et centrifugées au 3200 rpm, pour 10 minutes. Après la centrifugation [27], le gel a été séparé attentivement, mesuré et séché à l'appareil Thermo Balance Précisa jusqu'à la quantité constante. La capacité de rétention s d'eau de gel protéique a été estimée avec la relation (1):

$$CRA = \frac{(Ag_i - Ag_c)}{Ag_i} \cdot 100 \quad (1)$$

ou: Ag_i est le contenu de l'eau du gel avant la centrifugation %; Ag_c est le contenu de l'eau du gel après la centrifugation %.

Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats a été réalisée en utilisant le logiciel Sigma Plot 2001/Statistics Date. Pour chaque test on a réalisé trois lots expérimentaux et les résultats ont été rapportés comme des valeurs moyennes. Les déviations standard spécifiques ont été moins de 5%. Les données expérimentales ont été tracées graphiquement en utilisant le logiciel Table Curve 2D et les courbes de régression ont été établies à base des critères statistiques (R^2 , Fit Standard Error or F Statistic).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'isolat protéique de Pisane HD utilisé a eu la composition chimique suivante : protéines $84,2 \pm 0,47\%$, eau $9,13 \pm 0,29\%$, lipides $1,8 \pm 0,09\%$, cendre $4,82 \pm 0,16\%$. La composition chimique d'isolat protéique que nous avons analysé a été différente que celle indiquée par Tömösközi [25], qui a obtenu des valeurs plus grandes pour les protéines (89,6%) et moindres pour la cendre (2,6%) et l'eau (5,3%). Le *pH* de la solution protéique avec la concentration de 12%, à la température de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ a été de 7,34.

Les propriétés fonctionnelles

Le profil de solubilité d'isolat de protéines de petits pois (Figure 1) est similaire avec celui des autres dérivés protéiques, comme celle de soja et pois chiche. Nous avons constaté: une solubilité minime dans le domaine du *pH* contenu entre 4 – 6,0 (4,5 étant considéré le *pH* isoélectrique des protéines de petits pois); un maximum de solubilité dans le domaine du *pH* fort alcalin (8 – 10,1) et une solubilité modérée dans le milieu acide. La solubilité d'isolat de petits pois a été plus petite que celle de l'isolat de protéines de soja, auquel la solubilité au *pH* 9 a été trouvée plus grande de 80% [6]. La capacité de l'absorption de l'eau a été de 2,74 mL H₂O/g pour l'isolat de protéines de petits pois, plus grand que celle de l'isolat protéique de soja et du concentré du lupin [20].

La rhéologie des gels à base des protéines de petits pois modifiées enzymatiquement

L'influence de la concentration d'enzyme

La capacité d'association des protéines globulaires et de former des réseaux tridimensionnels, qui retiennent dans le système le solvant avec des différents constituants covalents, sont à la base des différents processus de fabrication des quelques produits alimentaires. L'agrégation dans l'industrie l'alimentaire peut être bénéfique ou défavorable. Pour qu'un composant chimique agisse comme un agent de gélification, il doit former des réseaux tridimensionnels qui s'élargissent dans tout le système. Pour obtenir un réseau de gel protéique, il est nécessaire que les dispersions protéiques soient thermiques traitées aux températures qui produisent la dénaturation des protéines, ainsi que les groupes non polaires et sulfhydriques des aminoacides, incorporés dans une manière normale, à l'intérieur, soient exposés à la surface des protéines [26]. Nos résultats montrent le fait que les protéines globulaires de petits pois manifestent des propriétés faibles de gélification. Pour une concentration de 12%, elles ont formé au traitement thermique des gels faibles, avec viscosité, élasticité et adhésivité réduites, améliorées dans une telle mesure, avec une addition de MTGase (Figure 2).

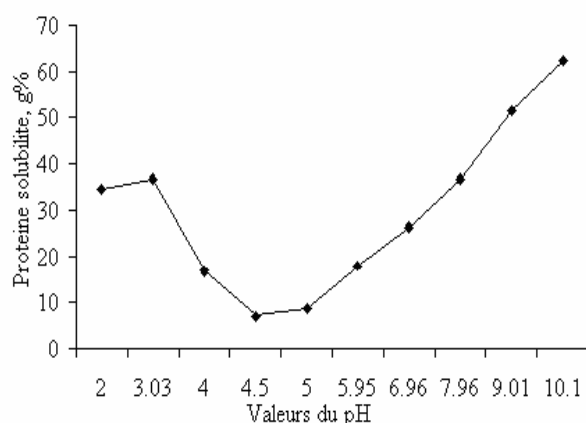


Figure 1. L'influence du pH sur la solubilité des protéines

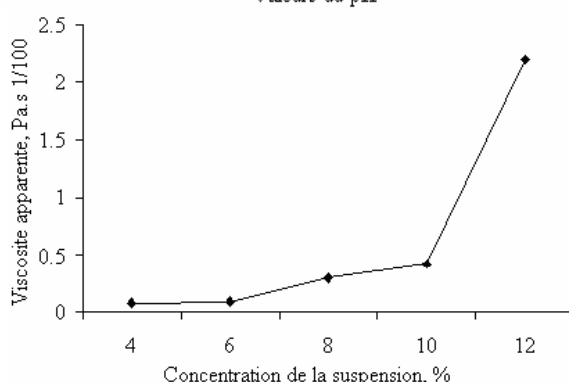


Figure 2. L'influence de la concentration de la suspension protéique sur la viscosité apparente (vitesse de cisaillement $145,8 \text{ s}^{-1}$)

L'effet MTGase sur les caractéristiques des gels à base des protéines de petits pois a été apprécié par évaluation leurs propriétés rhéologiques.

Les mesures rhéologiques ont été effectuées en appliquant une procédure non destructive.

Comme effet de l'interaction des protéines de petits pois avec de la MTGase, on a remarqué la modification de la tension de cisaillement et de la viscosité, aussi comme du comportement au écoulement au cisaillement de gels protéiques. Ces modifications des propriétés de gélification des protéines de petits pois ont été conditionnées par le rapport enzyme/substrat. Tous les gels obtenues avec l'isolat de protéines de petits pois, modifié enzymatiquement avec de la MTGase, ont été plus visqueux, en comparaison avec les échantillons sans addition de l'enzyme, leur viscosité apparente, mesurée à une vitesse de cisaillement donnée, en se corrélant directement avec le niveau d'enzyme ajouté. Les données expérimentales, présentées graphiquement dans la Figure 3, indiquent une croissance de la viscosité apparente (vitesse de cisaillement $0,1667 \text{ s}^{-1}$) de 6,24 Pa.s pour l'échantillon témoin, sans addition de MTGase au 6,84 Pa.s pour l'échantillon avec 0,1% MTGase, au 11,23 Pa.s avec 0,3% MTGase et au 11,58 Pa.s à l'échantillon avec addition de 0,4% de MTGase. Le gel constitué à base d'isolat de protéines modifié enzymatiquement avec 1% de MTGase a présenté phénomène de synérèse après le stockage au 4°C .

On a remarqué une dépendance presque non linéaire entre la viscosité et le niveau d'enzyme ajouté, les coefficients de corrélations variant entre 0,943 – 0,999. La croissance de la viscosité des gels à base d'isolat de protéines de petits pois est attribuée aux cross-links inter- et intramoléculaires formés entre les molécules des protéines de

petits pois [13]. Larré et al [11], précise que la légumine est un substrat faible pour la MTGase. Nos résultats montrent que les propriétés rhéologiques des gels d'isolat de protéines de petits pois ont été influencées significativement par le traitement avec de la MTGase, l'augmentation de la viscosité étant évidente, en comparaison avec l'échantillon de contrôle, sans addition de MTGase. Elles sont en concordance avec celles rapportées par Schäfer et al [21], qui ont constaté une croissance de la force du gel avec 155% dans le cas des gels à base des protéines de soja et avec 300% aux gels constitués des protéines de petits pois.

L'influence de la température de «setting»

L'incubation des suspensions protéique avec/ou sans addition de MTGase (0.3 g MTGase/100 g protéines) a été réalisée aux températures différentes variant en l'intervalle 22 – 60 °C, pour 60 minutes. Comme Kuraishi et al [10], nous avons constaté que la MTGase est capable de catalyser la réaction de cross-linking à la température du milieu ambiant, 22 °C et même au 4 °C. Aux températures réduites, les temps de l'incubation doivent être significativement plus grands pour obtenir des tensions de cisaillement pour les gels protéiques appropriées aux celles réalisées dans le cas de l'incubation aux températures plus élevées (40 – 50 °C). L'incubation des pâtes protéiques avec de la MTGase à une baisse température peut avoir une importance pratique pour l'amélioration des propriétés du gel à base des dérivates protéiques commerciales, comme leur force et leur élasticité. Aux températures plus augmentées, la vitesse de réaction de la MTGase a été significativement plus élevée, en déterminant la croissance du nombre des liaisons transversales catalysée de MTGase. La plus grande croissance de la force du gel, plus concret de la viscosité apparente, a été constaté dans le cas du traitement effectué à la température de 50 °C (Figure 4). La température d'incubation a influencé les caractéristiques texturales des gels à base d'isolat de protéines de petits pois dans des termes de tension de cisaillement et de viscosité. Par rapport avec l'échantillon réservé au 22 °C, la viscosité apparente à la vitesse de cisaillement $0,1667 \text{ s}^{-1}$ a augmentée avec 25% au 22 °C; 187,5% au 30 °C; 237,5% au 40 °C et respectivement avec 356,2%, quand la température de programmation a été de 50 °C. Dans le cas où la température est de 50 °C à laquelle les gels protéiques ont été plus visqueux et plus élastiques, il n'est pas exclus la possibilité que la dénaturation thermique des protéines contribue à l'amélioration des capacités de gonflement et de gélification des protéines de petits pois. Les gels setting à la température de 60 °C ont présenté des propriétés mécaniques inférieures aux échantillons programmées aux 40 et 50 °C, mais supérieures à l'échantillon de contrôle. Aux températures plus élevées (60 °C), il est possible l'inactivation partielle d'enzyme, 60 °C étant la limite maximale recommandée par le producteur pour l'intervalle de température optimale d'action de la MTGase. La diminution de l'activité d'enzyme conduit, à la fin, à la formation d'un nombre réduit de cross-links entre les molécules protéiques de petits pois avant l'induit thermique de la gélification et aux gels avec la viscosité plus réduit.

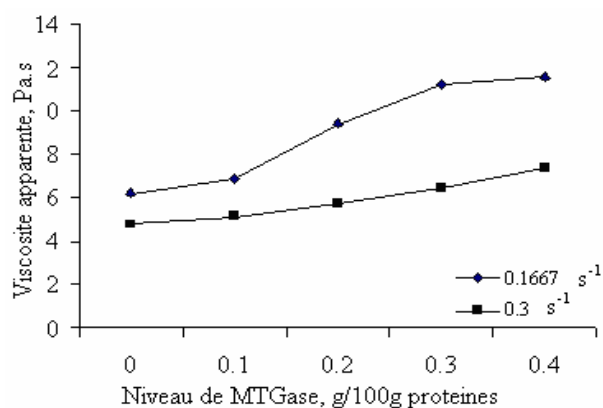


Figure 3. L'influence du niveau de MTGase sur la viscosité des gels (température de «setting» 40 °C, temps de «setting» 60 minutes)

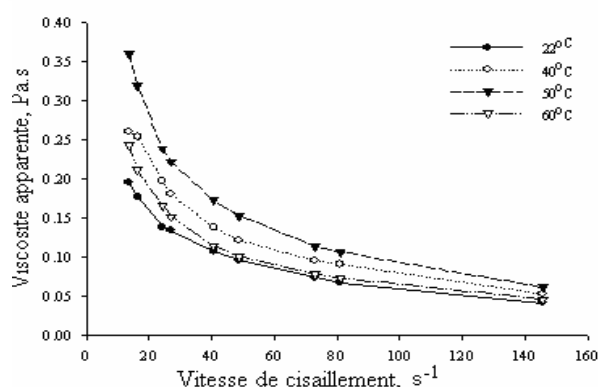


Figure 4. L'influence de la température de «setting» sur la viscosité apparente des gels (0,3% MTGase, temps de «setting» 60 minutes)

L'influence du temps de «setting»

L'influence du temps de «setting» sur les propriétés des gels à base des protéines de petits pois traités avec de la MTGase a été estimée en «setting» les dispersions protéiques avec 0,3 g MTGase/100 g protéines au 40 °C pour des temps différents. L'analyse des résultats présentées dans la figure 5 montre que la viscosité apparente des gels protéiques induites thermiquement ont été accrue au fur et à mesure que le temps de «setting» accru jusqu'au 90 minutes. La force du gel protéique apparaît comme corrélé directement avec le temps de réaction de l'enzyme. La formation des liaisons dipeptidiques ϵ -(γ -Glu)-lysine catalysées par la MTGase est plus accentuée au fur et à mesure du prolongement du temps de réaction.

On a remarqué une croissance linéaire de la viscosité apparente avec le temps d'incubation jusqu'au 90 minutes.

Le comportement fluidifiant écoulement au cisaillement a été observé aux tous les gels étudiés. Nous avons constaté une décroissance continue de la viscosité des gels protéiques avec la croissance de la vitesse de cisaillement de 13,5 au 148,6 s⁻¹. Le comportement rhéologique des gels basés sur isolat de protéines de petits pois, modifié ou non enzymatiquement a été décrit par le modèle mathématique de la loi de la pouvoir Herschel-Bulkley, avec l'équation (2):

$$\tau = a + b \times x^c \quad (2)$$

ou : a représente la viscosité limite d'écoulement, b est l'index de consistance et c est l'index du pouvoir. Pour tous les traitements réalisés les coefficients de régression ont été plus grands que 0,992 (tableau 1). Les valeurs de l'index de consistance et de l'index de pouvoir ont dépendu de la concentration de l'enzyme, du temps et de la température

de «setting», l'index de consistance présentant une tendance croissante, et l'index de pouvoir décroissante. La forte tendance de fluidification au écoulement au cisaillement est le résultat de la destruction ou de l'allongement des agrégats protéiques et de leur orientation vers la direction du écoulement aux grandes vitesses de cisaillement. Ce comportement rhéologique présente l'importance pratique au choix des pompes de transport et d'outillages de malaxation. Le paramètre c a eu des valeurs sous unitaires pour tous les gels étudiés, ce qui permet leur encadrement dans la catégorie des fluides non newtoniens pseudo plastiques avec de la viscosité de structure. Un comportement rhéologique similaire a été décrit de Xu et al [28], mais aux protéines du lupin, suggérant des modifications structurales au écoulement au cisaillement.

Tableau 1. L'effet du temps et de la température de programmation sur les paramètres rhéologiques à base des protéines de petits pois traités avec de la MTGase

Traitement	Paramètres rhéologiques			Coefficient de régression, R^2
	a	b	c	
0,3% MTGase/100 g protéines, 60 min, 22 °C	- 0,048	0,712	- 0,414	0,999
0,3% MTGase/100 g protéines, 60 min, 40 °C	- 0,069	1,030	- 0,427	0,994
0,3% MTGase/100 g protéines, 60 min, 50 °C	0,001	2,960	- 0,759	0,999
0,3% MTGase/100 g protéines, 60 min, 60 °C	- 0,053	1,320	- 0,643	0,999
0,3% MTGase/100 g protéines, 30 min, 40 °C	0,002	1,560	- 0,650	0,992
0,3% MTGase/100 g protéines, 90 min, 40 °C	- 0,025	1,870	- 0,610	0,999

L'influence du temps de «setting» sur le degré d'hydratation

L'efficacité de l'utilisation de la MTGase pour l'amélioration des propriétés d'hydratation des protéines de petits pois ont été testées par la détermination la capacité de rétention de l'eau après la centrifugation. Les résultats (Figure 6) indiquent le fait que, par la croissance de la température de «setting» de 22 au 50 °C, la capacité de rétention de l'eau de l'isolat de petits pois s'améliore, grâce à la formation de cross-links entre les chaînes polypeptidiques des protéines de petits pois. La plus grande perte d'eau après la centrifugation a été constatée à l'échantillon «setting» au 60 °C. Pour estimer l'influence du temps de «setting» sur le degré d'hydratation, l'isolat de protéines de petits pois a été incubé avec de la MTGase (0,3 g/100 g protéines) pour 30, 60 et 90 minutes au 40 °C. Par la croissance du temps de «setting» de 30 au 90 minutes, on remarque une amélioration de la capacité de rétention d'eau dans la matrice protéique créée. L'importance pratique peut résulter de la croissance du rendement dans le produit final, et l'amélioration des caractéristiques texturales à l'utilisation des isolats protéiques traités avec de la MTGase dans les limites strictes de concentration, température et temps de «setting». Nos observations sont en concordance avec Motoki, Nio, et Takinami [14] et Kuraishi, Sakamoto, et Soeda [10] qui ont trouvé que la MTGase améliore CRA des protéines, soit par la croissance de la capacité du gonflement ou de liaison d'eau, soit par l'amélioration de la capacité de formation de la matrice du gel.

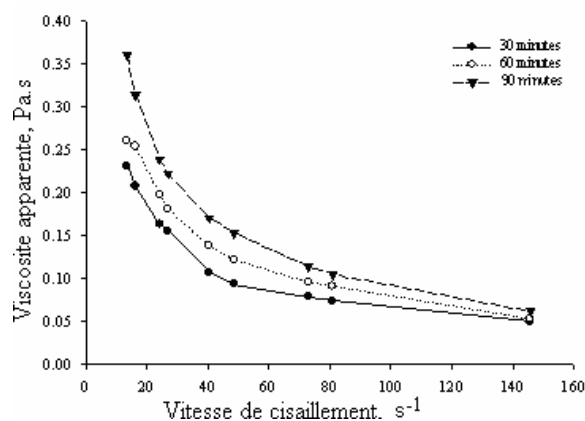


Figure 5. L'influence du temps de «setting» sur la viscosité apparente des gels (0,3% MTGase, température 40 °C)

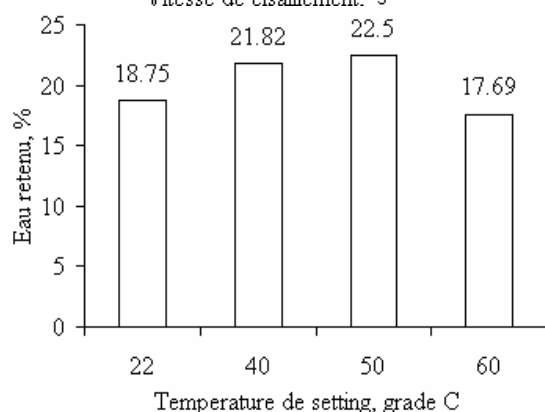


Figure 6. L'influence de la température de setting sur la CRA

CONCLUSIONS

La modification des protéines globulaires de petits pois avec de la MTGase a conduit à l'amélioration des propriétés rhéologiques des gels induits thermiquement, surtout en ce qui concerne le composant visqueux et de la capacité de rétention d'eau et ouvre, ainsi, de nouvelles opportunités d'utilisation, au niveau industriel, de l'isolat de protéines de petits pois et de la MTGase. Entre la quantité de MTGase ajoutée et la viscosité apparente des gels à base des protéines de petits pois a été constaté une relation non linéaire, quand les niveaux d'enzyme ont varié dans les limites 0,1 – 0,5 g MTGase/100 g protéines.

La tension de cisaillement et la viscosité apparente des gels protéiques sont accrues au fur et à mesure que le temps d'incubation augmente dans l'intervalle de 30 – 90 minutes et de la température 22 – 50 °C.

REFERENCES

1. Bora, P.S., Brekke, C.J., Powderes, J.R.: Heat induced gelation of pea (*Pisum sativum*) mixed globulins, vincilin and legumin, *Journal of Food Science*, **1994**, 59, 594-596;

2. Chavan, D.U., McKenzie, B.D., Shahidi, F.: Functional properties of proteins isolates from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.), *Food Chemistry*, **2001**, 74, 177-187;
3. Colas, B., Caer, D., Fournier, E.: Transglutaminase-catalyzed glycosylation of vegetable proteins, effect on solubility of pea legumin and wheat gliadins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1993**, 41 (11), 1811-1815;
4. Damodaran, S.: Protein Stabilized Foams and Emulsions, *Food Proteins and their Applications*, Marcel Dekker Inc., New York, **1997**, 57;
5. Dickinson, E.: Enzymatic cross-linking as a tool for food colloid rheology control and interfacial stabilization, *Trends in Food Science & Technology*, **1997**, 8 (10), 334-339;
6. Fernández-Quintela, A., Macarulla, T.M., Del Barrio A.S., Martínez, J.A.: Composition and functional properties of protein isolates obtained from commercial legumes grown in northern Spain, *Plant Foods for Human Nutrition*, **1997**, 51, 331-342;
7. Ikura, K., Sasaki, R., Motoki, M.: Use of transglutaminase in quality improvement and processing of food proteins, *Comments Agric. Food Chem.*, **1992**, 2, 389-487;
8. Ionescu, A., Aprodu, I., Gurau, G.: *The effect of microbial transglutaminase on rheological behavior of the fish wet myofibrillar protein concentrate*, Ed. Corson Iași, ISBN 973-8225-29-9, **2003**, 31-39;
9. Ionescu, A., Aprodu, I., Daraba, A.L., Porneala, L.: The effects of transglutaminase on the functional properties of the myofibrillar protein concentrate obtained from beef heart, *Meat Science*, **2008**, 79, 278-284;
10. Kuraishi, C., Sakamoto, J., Soeda, T.: Application of transglutaminase for meat processing, *Fleischwirtschaft*, **1998**, 78, 657-660;
11. Larré, C., Kedyior, Y.M., Chenu, M.G., Viroben, G., Gueguen, J.: Action of transglutaminase on an 11S seed protein (pea legumin): influence of the substrate conformation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1992**, 40 (7), 1121-1126;
12. Lorenzen, P.C.: Renneting properties of transglutaminase treated milk, *Milchwissenschaft*, **2000**, 55, 433-437;
13. Mizuno, A., Mitsuiki, M., Motoki, M.: Effect of transglutaminase treatment on the glass transition of soy protein, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2000**, 48 (8), 32;
14. Motoki, M., Nio N., Takinami, K.: Functional properties of food proteins polymerized by transglutaminase, *Agric. Biol. Chem.*, **1984**, 48, 1257-1261;
15. Motoki, M., Segura, K.: Transglutaminase and its uses for food processing, *Trends Food Sci. Technol.*, **1998**, 9, 204-210;
16. Nielsen, P.M.: Reactions and potential industrial applications of transglutaminase. Review of literature and patents, *Food BioTechnol*, **1995**, 9, 119-156;
17. Nonaka, M., Toiguchi, S., Sakamoto, H., Kawajiri, H., Soeda, T. and Motoki, M.: Changes caused by microbial transglutaminase on physical properties of thermally induced soy protein gels, *Food Hydrocoll*, **1994**, 8, 1-8;
18. Piestrasik, Z.: Binding and textural properties of beef gels processed with k-carrageenan, egg albumin and microbial transglutaminase, *Meat Science*, **2003**, 65 (2), 317-324;

19. Ramírez-Suárez, J.C., Xiong, Y.L.: Effect of transglutaminase induced cross-linking on gelation of myofibrillar/soy protein mixtures, *Meat Science*, **2003**, **65** (2), 889-907;
20. Sathe, S.K., Desphande, S.S., Salunkhe, D.K.: Functional properties of lupin seed protein and protein concentrates, *J. Food Science*, **1982a**, **47**, 491-497;
21. Schäfer, C., Zacherl, C., Engel, K.H., Neidhart, S., Carle, R.: Enzymatic modification to boost vegetable protein gelling - Comparative study of gelation and cross-link formation during enzymatic texturisation of leguminous proteins, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (Elsevier), Published on-line j.ifset.2007.01.005, **2007**;
22. Shand, J.P., Ya, H., Pietrasik, Z., Wanasundara, P.K.J.P.D.: Physicochemical and textural properties of heat-induced pea protein isolate gels, *Food Chemistry*, **2007**, **102**, 1119-1130;
23. Shand, J.P., Ya, H., Pietrasik, Z., Wanasundara, P.K.J.P.D.: Transglutaminase treatment of pea proteins: Effect on physicochemical and rheological properties of heat-induced protein gels, *Food Chemistry*, **2008**, **107**, 692-699;
24. Soeda, T., Ishii, T., Yamazaki, K., Murase, K.: *Nihon-Shokuhin-Kagaku-Kogakkai-Shi*, **1995**, **42**, 254-261;
25. Tömösközi, S., Tömösközi, R., Luszity, R. and Haraszi, O.: Isolation and study of the functional properties of pea proteins, *Nahrung/Food*, **2001**, **45** (6), 399-401;
26. Wang, C.H., Damodaran, S.: Thermal gelation of globular proteins: weight-average molecular weight dependence of gel strength, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1990**, **38** (5), 1157-1163;
27. Wang, B., Xiong, L.Y.: Evidence of proteolytic activity and its effect on gelation myofibrillar protein concentrate from bovine cardiac muscle, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **1998**, **46**, 3054-3059;
28. Xu, J., Mohamed, A., Hojillaevangelist, M.P., Sessa, D.J.: Viscoelastic properties of lupin proteins produced by ultrafiltration-diafiltration, *Journal of the American Oil Chemists Society*, **2006**, **83** (6), 553-558.