RAISONS DE L'ACIDIFICATION DES ALIMENTS LACTÉS INFANTILES. Contribution au mode d'action des laits acidifiés

Dr. L. Pikler

► To cite this version:

Dr. L. Pikler. RAISONS DE L'ACIDIFICATION DES ALIMENTS LACTÉS INFANTILES. Contribution au mode d'action des laits acidifiés. *Le Lait*, 1938, 18 (180), pp.1033-1041. hal-00895342

HAL Id: hal-00895342

<https://hal.science/hal-00895342>

Submitted on 1 Jan 1938

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.

4. La mesure peut être effectuée facilement sur le lieu de production du lait.

5. Le temps de la mesure est très court, et il est ainsi facile de contrôler rapidement une étable entière.

RAISONS DE L'ACIDIFICATION DES ALIMENTS LACTÉS INFANTILES (1)

Contribution au mode d'action des laits acidifiés

par

Dr. L. PIKLER

Ancien assistant à la Polyclinique « Comte Apponyi », Budapest (Hongrie).

On utilise des laits acides pour nourrissons depuis environ 150 ans. Or, depuis un siècle et demi, on se demande si l'acidification du lait est nécessaire, — et, dans l'affirmative, pourquoi on rend acide le lait des nourrissons. Cette double question n'est pas encore résolue, mais personne ne pourrait nier qu'avec des aliments acides, dans certains cas, on obtient de bons résultats. En tout cas, on ne trouve plus, — fut-ce rarement, — d'opinions telles que celle de ZWEIFEL (1900) qui qualifiait l'emploi du lait acide d'« assassinat de nourrissons ». Depuis l'emploi du lait à l'acide lactique de McKim MARRIOTT, c'est plutôt l'opinion contraire — souvent exagérée — qui gagne du terrain. Donc, de nombreux auteurs croient qu'il faut donner une place importante aux laits acidifiés, même dans le régime quotidien des nourrissons normaux. Évidemment, la prophétie sarcastique de SCHIFF et MOSSE sur le prochain triomphe des laits alcalinisés n'est point réalisée.

Pour interpréter « la mystérieuse modification physique ou biologique capable d'expliquer l'incontestable supériorité du babeurre sur le lait écrémé » (R. MATHIEU [12]), il convient tout d'abord de distinguer deux types de produits laitiers acides : des aliments fortement et des aliments légèrement acides. Ayant établi cette distinction importante, on peut constater, en même temps, que les pédiâtres français comme les pédiâtres hongrois s'abstiennent en général de l'emploi des laits plus fortement acides, — au moins en ce qui concerne l'opinion dominante. C'est surtout M. le Professeur A. B. MARFAN qui se contente d'une acidité modérée, en appliquant un procédé réalcalinisant bien connu en France. De même façon, les pédiâtres hongrois résistaient également pour accepter la pratique d'une acidification plus forte et jusqu'ici c'est le lait partiellement écrémé, légèrement acidifié, enrichi de saccharo-colloïdes, puis

(1) Magyar Orvos, 18^e année, 1937, n° 23. Travail revu et complété.

réchauffé, — qui représente le lait soi-disant « acide » hongrois (BEREND-HAINISS).

Or, ce lait « acidifié » présente une acidité vraiment légère ; on l'appelle en général *babeurre artificiel*. Son mode de préparation se trouve mentionné déjà dans mon article précédent (*Le Lait*, n° 177, 1938). Comme l'acidification du lait partiellement écrémé (matière grasse, 1,8 %) s'accomplit par l'abandon du lait cru au repos dans un endroit assez chaud pendant une heure et demie en été ou pendant quatre heures en hiver, l'acidité du lait à faire bouillir n'excède pas 7 à 10° Soxhlet-Henkel, ce qui correspond à 16-22°5 Dornic. Cette acidification ne provoque pas alors une augmentation considérable des ions H, c'est-à-dire de l'acidité dite « actuelle », le pH conserve dans ces conditions une valeur 6,6-6,0 (GRIMMER). Tout au plus, l'ébullition du lait, normal ou peu acide, engendrera-t-il une réalcalinisation par suite de l'hydrolyse des phosphates.

Répétons que la conception française ne s'éloigne pas trop de la conception hongroise. D'ailleurs, ce fut peut-être MOLL, auteur autrichien (1905), qui inaugura cette tendance de réalcalinisation et d'autres l'ont suivie. MOLL réalcalinisait le babeurre par l'emploi de Na(OH), MARFAN, par addition d'eau de chaux officinale, BAUZA, par addition de carbonate calcique, RIBADEAU-DUMAS, par addition de carbonate d'ammoniaque [2]. En diététique allemande, nous trouvons une acidité excessive, laquelle vient d'être affaiblie par addition de carbonate de soude normale (FINKELSTEIN). En général, les auteurs américains et allemands prennent parti pour les laits fortement acides. Remarquons aussi que les *dilutions* étendues du babeurre sec augmentent le pH de la solution mal tamponnée, ce qui correspond à une sorte de *réalcalinisation*. En discutant sur le degré nécessaire de la dilution de babeurre sec (BOHN, MARFAN), on touche aux problèmes des laits fortement et des laits légèrement acides. Il est bien intéressant d'observer que quelques auteurs français — et même quelques élèves de A. B. MARFAN — sont en train de s'éloigner de l'opinion dominante en France et de s'approcher de la diététique américaine.

Toutefois, étant donné que la nutrition des enfants alimentés aux laits faiblement acides est d'habitude bien satisfaisante, on est amené à se demander si l'on doit donner vraiment, sans réserve, une signification importante sinon indispensable à l'acidification du lait.

Une analyse théorique de la question semble justifier le point de vue originel des auteurs français et hongrois et particulièrement celle de A. B. MARFAN.

Dans les controverses d'un siècle et demi concernant le rôle de l'acidité, il n'y a presque pas d'arguments qui ne soient d'origine ancienne. Sans vouloir détailler l'historique des conceptions sur les

babeurres et ses compléments — puisque c'est fait déjà dans les œuvres illustres de MATHIEU [12], MARFAN, MASQUET [11] en français, de SCHIFF et MOSSE, de FEER [6] en allemand, de GERSTLEY en anglais, enfin de HAINISS en hongrois, — nous nous bornons à étudier les deux théories principales, lesquelles ont été émises au cours des temps ; théories qui s'évinçaient et se comprenaient de temps en temps : 1^o une *théorie*, qui attribue un rôle décisif aux *acides* et 2^o une *théorie* qui impute une importance particulière aux modifications subies par les *protéines*. A part ces deux effets, nous négligeons les autres théories, peu importantes.

Le point de départ de la théorie de l'acidité est que le travail de l'estomac nécessite une sécrétion d'autant plus grande que la capacité de fixation des acides du lait en question est considérable. Cette conception se défend d'autant plus, qu'en effet, le lait de vache fixe plus d'acide que le lait humain. De plus, on sait que le *pH* de l'acido-agglutination non spécifique des germes, de la famille des bacilles typhiques, coïncide à peu près avec la zone d'acidité effectivement trouvée dans l'estomac. Cette zone correspond en même temps à l'optimum de l'acido-floculation de la caséine.

Toutefois, l'examen plus précis de l'acidité gastrique nous met en évidence que le degré de l'acidité se fixe à ce point sans arriver aux zones fortement acides, convenables pour une digestion peptique [5]. Il faut donc supposer que l'estomac du nourrisson n'a pas besoin de tant d'acide que l'on a imaginé. Aussi, le bébé nourri au sein, n'acidifie pas le lait humain avec de l'acide chlorhydrique, mais avec des acides gras, produits de la lipolyse (FREUDENBERG). L'acide produit sert moins à la digestion peptique dont les conditions (*pH*, 1-2) ne sont que très rarement réalisées, mais ce degré d'acidité réalise nettement les conditions d'une bonne floculation labique (optimum, *pH*, 5,4). On sait que la floculation labique réclame moins d'ions H que la peptisation, mais elle réclame des ions Ca en nombre suffisant. Or, cette acidité suffit à l'ionisation des phosphates de chaux initialement non-ionisés dans le lait à l'origine et assure ainsi la présence des ions calciques indispensables à la phase coagulatrice du phénomène labique (PORCHER, [17]).

L'acidification physiologique du lait par le suc gastrique est donc nécessaire pour obtenir des ions calciques et non pas pour une raison autonome. L'administration d'un acide quelconque en soi, — sans les substances tampons du lait — est sans aucune utilité, bien au contraire. En ajoutant des acides à une décoction de riz, WIENER a bien pu constater des effets nocifs.

En dehors de ces divers points de vue physico-chimiques, un fait est contre le rôle autonome des acides : c'est que le lait de chèvre, qui est bien digestible, fixe plus d'acide que le lait de vache. Mais, avant

de reprendre en détail l'autre théorie, celle des protéines, resp. des modifications colloïdales, notons que les deux conceptions peuvent très bien s'accorder si, — tout en acceptant une certaine importance autonome des acides —, nous envisageons les modifications physico-chimiques qui sont déterminées par la fonction acide.

Constatons, avant tout, que ce qui est le plus caractéristique pour chaque type de ces laits « acides, c'est la floculation des protéines, en forme tantôt subtile, tantôt grossière, tantôt microscopique, tantôt visible à l'œil nu. Ceci est valable aussi bien pour le « babeurre artificiel » décrit plus haut (où la floculation produite par la chaleur en milieu faiblement acide est très délicate) que pour le babeurre fortement acide de KÖPPE ou bien pour les babeurre réacalinsés de Moll et de Marfan, dans lesquels les flocons sont bien plus visibles.

Cette floculation des protéines est en effet un phénomène fondamental et ses conditions chimiques, physico-chimiques, resp. optiques, méritent bien d'être éclairées rapidement.

En cherchant les corrélations chimiques de la floculation, nous pourrions dire schématiquement qu'aux différents degrés de l'acidification apparaissent des hydro-caséinates calciques de différentes compositions et de différentes solubilités. Ce sont des caséinates calciques acides, ou bien le mélange de ces produits. Au point de vue physico-chimique, nous pouvons dire que se produisent différents équilibres de Donnan entre les espaces inter et intramicellaires, ce qui veut dire tout simplement que l'agent acide n'acidifie pas uniformément les floculents et les espaces intermédiaires.

C'est par des moyens optiques que nous pouvons caractériser le plus simplement la suite des phénomènes mentionnés plus haut dont l'essentiel et le résultat sont la diminution en série de la finesse de dispersion colloïdale des protéines du lait. Ce n'est pas autre chose que le passage de la caséine initialement soluble, en caséine précipitée, dont la formation correspond à une série de modifications colloïdales bien caractérisées et bien connues déjà.

L'état colloïdal spécial des « flocons très fins », des « grumeaux subtils » — dont la diététique infantile parle si souvent [4], — n'occupe qu'une petite zone limitée dans cette série beaucoup plus longue. Cette série est composée de nombreux « états physico-chimiques » dont la suite peut être illustrée schématiquement ainsi : *Alcalin* —————→ *Acide*.

Solution limpide → sol. légèrement trouble, « brisée » → solution trouble → Solution floconneuse → Précipités → Grumeaux.

Au point de vue optique, nous pouvons dire que la solution de caséinate, alcaline, est homogène, tandis que la pseudo-solution acide est hétérogène. Mais, en tout cas, il y a une transition graduelle

entre la limpidité totale « cristalline » et la turbidité « colloïdale » resp. de la suspension. Cette transition est révélée par des particules, très fines au début, qui prennent progressivement des dimensions ultramicroscopiques, puis évoluent vers des floculations plus ou moins volumineuses. Nous avons des raisons de croire que les particules dispersées dans certaines solutions de caséine sont vraiment plus petites que les grandeurs ultramicroscopiques, quoique la grandeur de la molécule de la caséine dépasse, selon l'opinion générale, la grandeur des molécules cristalloïdes. En outre, on sait que dans certaines circonstances, la caséine — de même que l'hémoglobine et d'autres protéines à grosses molécules — est effectivement cristallisable. Nous avons donc le droit de lui attribuer d'autres traits cristalloïdes, comme, par exemple, la capacité d'exercer une pression osmotique !

En tout cas, la finesse de la dispersion de caséine peut bien varier à partir des grandeurs quasi-cristalloïdes jusqu'aux flocons volumineux de tous degrés. Et, comme cette variation des dimensions semble avoir de grandes conséquences pratiques dans l'alimentation infantile, il faut étudier cette question d'un peu plus près [1,21].

Nous avons déjà vu que la diminution de l'homogénéité optique, le passage du « translucide » au « turbide » n'est autre chose que l'accroissement des particules primitivement et finement dispersées. Ce grossissement des particules peut être examiné même sans appareils optiques spéciaux à l'aide, par exemple, de la cellule photo-électrique, du néphélomètre, etc., qu'on emploie pour découvrir l'hétérogénéité des systèmes dispersés. On peut l'observer avec une simple loupe, même à l'œil nu, tout au moins en ce qui concerne les phases typiques. Les changements de dimension des particules dispersées étant en proportion inverse avec la « centrifugabilité », on est en mesure de s'instruire de ces variations dimensionnelles : les micelles les plus petites échappent à l'ultracentrifugation, tandis que les flocons volumineux sédimentent spontanément. La vitesse de la sédimentation peut également caractériser les dimensions des particules. Une autre méthode simple et convenable pour caractériser la grandeur des particules de la caséine est l'emploi des filtres. Quelques-unes de ces particules seront retenues par des filtres de collodion, d'autres par un filtre de porcelaine, tandis que les particules plus grosses seront retenues par un simple filtre de papier. De plus, les flocons, les caillots produits par la présure dans la préparation du lait albumineux de FINKELSTEIN passent assez difficilement à travers une passoire ordinaire ! Remarquons qu'à l'augmentation des particules est toujours liée une élimination de l'eau initialement fixée aux colloïdes. Cette déshydratation provoquée par l'acidification engendre un accroissement progressif du poids spécifique des

particules, ce qui facilite leur sédimentation. Ces changements de dimension des particules peuvent être démontrés encore par d'autres moyens indirects.

Quelles sont les causes du grossissement des particules ? En acidifiant le lait, nous y introduirons des ions H , à charge électro-positive, ce qui annihile les charges électronégatives des ions caséinates. En annihilant ces charges, on abolit les forces répulsives qui travaillent contre l'agglomération des particules. En même temps, les particules, hydratées et gonflées, perdent une partie de leur eau. Mais cette déshydratation peut être effectuée de toute autre manière qui leur enlève cette eau « fixée ». Notons en premier lieu, des agents physiques (agitation, barattage), puis les agents chimiques comme par exemple, l'alcool qui a une affinité plus marquée pour l'eau que les protéines en milieu acide.

De tout cela, il résulte — et il est important de le souligner pour la théorie de l'allaitement artificiel des nourrissons, — que la diminution de la finesse de la dispersion colloïdale, respectivement la déshydratation des micelles initialement gonflées, peut être atteinte non seulement par l'acidification mais aussi par d'autres moyens divers. Par conséquent, — si le but principal de la diététique infantile est la diminution de la dispersion de la caséine, — il ne faut voir dans l'acidification qu'un seul moyen entre plusieurs autres, moyen qui peut avoir — à la rigueur — un certain rôle autonome. Mais nous pouvons très bien précipiter la caséine dans un milieu *neutre*, soit avec du ferment-lab (présure) en présence des ions calciques, soit encore en faisant bouillir le lait non-acidifié en présence des ions calciques (MOLL, LESNÉ), soit enfin avec de l'alcool, également en présence des ions calciques, etc.

Nous n'avons pas dit encore quelle signification pharmacologique nous attribuons à la dispersion de la caséine elle-même. J'ai traité cette question en détail dans mon article précédent, dans la *Revue Le Lait* [16]. Nous répétons brièvement nos conclusions : L'acidification détache l'eau primitivement fixée aux colloïdes et la rend ainsi disponible pour les besoins de l'échange hydrique. D'autre part, la caséine bien hydratée, bien gonflée, peut être accusée d'une action osmo-laxative. Sans entrer dans les détails, nous pourrions simplifier la question et en raison d'un principe pharmacologique général nous pouvons dire que l'activité d'une matière quelconque est d'autant plus grande qu'elle est dispersée. Une substance ionisée est toujours plus active qu'une substance précipitée. Les composants effectivement ionisés possèdent des propriétés effectivement chimiques, tandis qu'un composant colloïdal non diffusible n'a que des caractères proprement physico-chimiques (attraction de l'eau, etc.) et enfin, les

composants précipités ne manifestent que des actions purement physico-mécaniques.

On sait comment les protéines précipitées du lait sont passives au point de vue chimique et il est inutile de rappeler que l'acide caséinique précipité et insoluble ne se redissout que très mal dans les solutions alcalines fortes. Cela se voit très bien à la titration des laits acidifiés.

Mais ce ne sont pas seulement les substances précipitées, qui ont une activité chimique paresseuse mais aussi ceux à l'état colloïdal et c'est ainsi que certains auteurs contestent la nature « stoechiométrique » de la fixation des acides par la caséine (BUZAGH).

En tout cas, on ne peut refuser à cette dernière son activité physico-chimique, car elle conduit le courant électrique, elle a une pression osmotique, etc.

Mais la caractéristique la plus incontestable des colloïdes est la négativité qu'ils montrent par définition, c'est leur diffusion presque nulle à travers les membranes. Ce caractère correspond à leur pouvoir d'attirer et d'absorber l'eau, et cette propriété leur donne un effet osmo-laxatif. Nous pouvons concevoir facilement que cette tendance dépend partiellement des dimensions des parties composantes.

Et maintenant, si tout cela n'était qu'une supposition pure pour la caséine à l'état colloïdal, le contraire est certain en ce qui concerne la caséine précipitée, attendu qu'une suspension ne peut nullement avoir des qualités osmotiques, car le mouvement thermo-cinétique brownien des molécules en dispersion se ralentit quand les particules s'accroissent et le nombre des chocs contre la paroi décroît à cause de la diminution du nombre des particules en jeu.

Notons qu'en l'acidifiant, la caséine change d'une façon presque irréversible ; d'un milieu alcalin nous la pouvons facilement précipiter avec des acides, mais d'un milieu acide nous avons de la difficulté pour la faire redissoudre, même avec de l'alcali fort. Par conséquent, on peut considérer les babeurre partiellement ou complètement réalcalinisés comme des laits acides véritables, puisque les flocons restent présents, et, en vérité, c'est plutôt l'espace entre les flocules que nous avons réalcalinisés et non pas la protéine même dont la réalcalinisation n'est qu'aléatoire.

Nous avons dit que nous pourrions obtenir la floculation du caséinate par plusieurs moyens et non seulement et exclusivement par l'acidification. Pour les laits fortement acides, typiques (laits à l'acide lactique, à l'acide phosphorique, à l'acide hydrochlorique, à l'acide citrique, à l'acide acétique), le floculant principal est l'ion H. Dans les laits faiblement acides, la floculation ne peut pas être réalisée sans une aide quelconque, si les ions H sont en défaut. Par

contre la floculation se réalise avec peu d'ions H, même sans acidification, si nous assurons la présence suffisante des ions Ca. Ceci est prouvé quand, en faisant bouillir le lait, ou en y ajoutant de l'alcool, ou de la présure, la caséine sera précipitée quand même. Cela signifie qu'en présence d'une quantité suffisante d'ions Ca, la floculation réclame moins d'ions H et — en général — tout facteur qui augmente l'ionisation des composants calciques facilite, en même temps, la thermo-floculabilité, la floculabilité de la caséine par l'alcool, par la présure, etc.

De ce point de vue, le lait à l'acide citrique occupe une position spéciale car le citrate calcique reste insoluble dans les zones encore faiblement acides et ne s'ionise que très difficilement.

Ne supposons point que ce sont seulement les rapports de « dimensions » qui sont importants en ce qui concerne les floccules produits. Au contraire, il est très vraisemblable que la minéralisation totale ou partielle des flocons a son importance [9]. Nous savons, à ce sujet, que la fixation du phosphore et de la chaux dépend de l'acidité du milieu. Savoir si la floculation se réalise avec la déminéralisation du complexe caséinate calcique phosphate calcique (type acide-caséinique), ou sans la déminéralisation (type caséine labique), nous semble être d'une grande importance au point de vue de la diététique infantile.

Donc, nous devons distinguer deux types principaux de laits acides :

1° *Le type à caséine labique, minéralisée.*

2° *Le type à caséine acide, déminéralisée.*

Dans la première catégorie se trouvent le lait calcique recommandé par MOLL et modifié par LESNÉ, DREYFUSS [8], ainsi que le babeurre artificiel hongrois de BEREND, tandis que l'autre type est représenté par le lait à acide lactique de McKIM MARRIOTT, le lait à acide chlorhydrique de SCHEER, le babeurre classique de KÖPPE. Comme types intermédiaires notons les laits réacalinisés de MOLL, MARFAN, BAUZA, RIBADEAU-DUMAS, puis l'association de la caséine labique au babeurre, réalisée par le « lait albumineux » de FINKELSTEIN-MEYER [2, 7, 12, 14].

Nous n'avons donc pas le droit de ne pas différencier les nombreux laits « acides » et de parler, en général, du lait « acide ».

Le médecin praticien se plaint — et il n'a pas tort — de manquer d'indications précises sur les nombreux aliments infantiles qu'on met en vogue chaque année, mais nous voyons que la question n'est pas encore tout à fait résolue. Sans aucun doute, on distinguera plusieurs types. La multitude des nourritures représente une multitude de systèmes physico-chimiques et l'avenir montrera comment on peut réaliser et utiliser les différents types de floculation.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BOUTARIC. Les colloïdes, Alean, 1931.
- [2] BABONNEIX. Les régimes chez l'enfant, Masson et Cie, 1936 (Bibliographie détaillée).
- [3] BOHN. *Nourrisson*, 1936-1937.
- [4] BRENNERMANN. *Journal of Amer. Med. Ass.*, 1929.
- [5] CASSIE-COX. *Zbl. f. Kinderhk*, 1927, 135.
- [6] FEER. Die Sauermilcharten, Basel, Schwabe et Co., 1937.
- [7] KLEEBERE-BEHRENDT. Die Nährpräparate und Sauermilcharten, Enke Verlag, 1930 (Bibliographie détaillée).
- [8] LESNÉ-DREYFUSS. Le concours médical, mai 1934.
- [9] LINDET. *Le Lait*, 1925, p. 953.
- [10] MARFAN. *Nourrisson*, 1919, 321 ; 1937.
- [11] J. V. MASQUET. L'emploi des laits acides chez le nourrisson, Thèse, Paris, 1928.
- [12] R. MATHIEU. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Pédiatrie*, livre VIII, 4022, 4051.
- [13] MORQUIO. *Amer. Journal Dis. Childr.*, II, 1931, 421.
- [14] MOURIQUAND. Précis de diététique, Testut, 1926.
- [15] PIEN-MARTIN. *Le Lait*, 1932, 513.
- [16] L. PIKLER. *Le Lait*, 1938, p. 681-698 (Bibliographie détaillée). *Nourrisson*, 1938, p. 312 ; *Gazette des Hôpitaux*, N° 78, 1938.
- [17] Ch. PORCHER. *Le Lait*, 1932, p. 998.
- [18] D. RONGET. *Bulletin médical*, 1935, 30.
- [19] ROSSI. *Le Lait*, n° 93, 1930.
- [20] TAPERNOUX. *Le Lait*, 1928, p. 686, 795, 916.
- [21] F. VLÈS. Précis de Chimie-Physique, Vigot, 1929.

TECHNIQUE DE L'ÉPREUVE DE LA PHOSPHATASE (1)

par

le Professeur H. D. KAY et F. K. NEAVE

O. B. E., Ph. D., D. Sc. et B. S. A. National Institute for Research in Dairying

Depuis que les détails de l'épreuve de la phosphatase destinée à contrôler l'efficacité de la pasteurisation furent publiés pour la première fois (2) (mai 1935), sa technique a subi quelques légères modifications. L'expérience a encore démontré la valeur de l'épreuve comme moyen de contrôle du fonctionnement régulier des usines de pasteurisation. Nous avons reçu de nombreuses demandes de renseignements de personnes et d'associations appartenant à l'industrie de la laiterie, concernant les détails de la technique de cette épreuve, et nous avons cru qu'il y aurait intérêt à rassembler tous les renseignements la concernant dans un article qui serait publié dans un

(1) *Dairy Industries*, janvier 1937 (Traduction R. N. GÖRANSSON).(2) KAY H. D. et GRAHAM W. R., *Journal Dairy Research*, 6, 1935, 191.