

Les microflores utiles des laits crus de vache et de chèvre : principaux réservoirs et impact de certaines pratiques d'élevage

H. TORMO (1), D. ALI HAIMOUD LEKHAL (1), C. LAITHIER (2)

(1) Ecole d'Ingénieurs de Purpan, département Agriculture et Agroalimentaire, BP 57611, 75 voie du TOEC - 31076 Toulouse Cédex 3 (2) Institut de l'Élevage, Actipole, 5 rue Hermann Frenkel - 69364 Lyon Cédex 07

RESUME - L'amélioration des pratiques d'hygiène a permis de réduire le niveau des microorganismes indésirables des laits crus. Cependant, la diminution de charge totale en microorganismes des laits (laits actuels à 10 000 germes totaux/ml) s'accompagne d'une réduction en microorganismes utiles au développement des caractéristiques organoleptiques des fromages. Les travaux menés ces dernières années tendent à montrer que les flores d'intérêts sont apportées préférentiellement par les trayons et par l'air au cours de la traite. Ainsi, l'environnement en contact avec le trayon est à privilégier (pratiques autour du paillage, autour des trayons : essuyage sans désinfection des trayons par exemple, pas de post trempage systématique). Les résultats concernant les flores mobilisées par la machine à traire (MAT) sont plus nuancés : si en exploitations bovines, les flores d'altérations se retrouvent au même niveau que les flores d'intérêts technologiques, les flores véhiculées par la MAT en exploitations caprines semblent être plutôt des flores d'intérêts technologiques avec dans certains cas des niveaux importants de flores indésirables (*Pseudomonas spp.* staphylocoques à coagulase positive). La conception de la MAT et dans une moindre mesure les pratiques de nettoyage pourraient peut-être expliquer ces différences. En effet, il a été démontré notamment que des températures de nettoyage élevées (75°C), une alternance quotidienne des produits alcalin et acide tendraient à modifier les flores microbiennes du lait (laits peu chargés dans le premier cas, flores d'altérations favorisées dans le deuxième). Mais c'est avant tout la combinaison de pratiques qui modifie significativement la composition en flores microbiennes des laits. Différentes études et suivis de terrain ont en effet montré qu'il est possible d'obtenir des laits riches en flores d'intérêts technologiques sans pour autant contenir plus de pathogènes, en associant des pratiques préservant la flore des trayons avec un allègement de la fréquence du nettoyage de la MAT, ainsi qu'une utilisation moindre d'eau pour la traite (réduction des *Pseudomonas spp.*).

Useful microflora of raw cow and goat milk: Main Sources, impact of breeding practices

H. TORMO (1), D. ALI HAIMOUD LEKHAL (1), C. LAITHIER (2)

(1) Graduate School of Purpan, department of food and agriculture, 75 way of the TOEC - 31076 Toulouse Cedex

SUMMARY - The improvement of hygienic practices has made it possible to reduce the level of the undesirable microorganisms in raw milk. However, the reduction in the number of total micro-organisms in milk (standard milk at 10,000 microorganisms /mL) goes along with a reduction in microorganisms that are useful for the development of the sensorial characteristics of cheeses. Recent studies show that the useful flora come from the teats and the air. Thus, the environment in contact with the teats is to be privileged (practices around mulching, teat milking: wiping without disinfecting, no systematic post milking practice for example). The results concerning the flora mobilised by the milking machine are more moderate. On dairy cow farms, the undesirable microorganisms are at the same level as the useful microorganisms. Whereas, on dairy goat farms, the useful microorganisms are more present, with in some cases, high levels of other microorganisms (*Pseudomonas spp.* coagulase positive staphylococci). The conception of the milking machine and to a lesser extent cleaning could explain these differences. Indeed, it has been shown that cleaning at high temperatures (75°C), a daily alternation of alkaline and acid products tend to modify the micro flora of milk (poor milk in the first case, more undesirable flora in the second case). But it is above all the combination of practices from bedding to milking which change the composition of microbial flora in milk. Studies and observations have shown that it is possible to obtain milk rich in useful microorganisms by combining practices such as the preservation of micro flora on teats, less frequent cleaning of the milking machine and using less water during milking (reduction of *Pseudomonas spp.*).

INTRODUCTION

Les flores utiles ou flores d'intérêts technologiques des laits crus jouent un rôle dans l'acidification des fromages (bactéries lactiques comprenant les lactocoques, leuconostocs, enterocoques et lactobacilles) et dans l'affinage des fromages (enterocoques, lactobacilles, flores halophiles : microcoques et bactéries corynéformes, levures et moisissures). Actuellement, les laits crus de vache et de chèvre ont, en moyenne, des niveaux de flores totales très bas par rapport aux laits des années 70-80 (10 000 germes totaux /ml en moyenne vs. 50 000 germes/ml d'après Chatelin et Richard, 1981 ; Desmasures et Gueguen, 1996 ; Michel *et al.*, 2001 ; Lefrileux *et al.*, 2002 ; Bouton *et al.*, 2005). Bien que ces laits, peu chargés, contiennent des flores

d'intérêts technologiques, on peut se poser la question d'un niveau minimum en flores pour assurer la qualité technologique et la diversité sensorielle des fromages au lait cru. Une étude récente (Verdier-Metz *et al.*, 2004) portant sur du lait de vache conforte l'intérêt de préserver des laits à des niveaux compris entre 15 000 et 30 000 germes totaux/ml. En effet, ces laits présentent un indice de diversité génétique plus élevée que des laits à moins de 5000 germes totaux/ml. L'enrichissement préférentiel en microflores utiles des laits crus nécessite une connaissance des principaux réservoirs et des pratiques pouvant modifier la composition microbienne de ces réservoirs. La synthèse proposée fait le point sur ce sujet.

1. LES TRAYONS : RESERVOIRS DE FLORES UTILES DES LAITS CRUS

1.1. LES FLORES MICROBIENNES DES TRAYONS

1.1.1. La surface des trayons

Selon Michel *et al.* (2005) c'est à la surface des trayons de vache que l'on trouve la plus grande diversité de groupes microbiens en comparaison avec ce que peut apporter l'ambiance ou la machine à traire. En caprin, la diversité des grands groupes microbiens à la surface des trayons peut se retrouver également dans la MAT (Laithier *et al.*, 2005). Les trayons sains et propres sont constitués majoritairement de flores d'intérêts technologiques que ce soit pour les vaches ou pour les chèvres : flores acidifiantes mesophiles, flores halophiles (Bonizzoni *et al.*, 2002, Michel *et al.*, 2005). Les lactocoques et en particulier *Lactococcus lactis* se retrouvent fréquemment sur la surface des trayons de vache (Salama *et al.*, 1993, Desmasures *et al.*, 1997). Les Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) constituent également la flore extérieure normale des mamelles et peuvent devenir dominants notamment sur les trayons de chèvre (Bergonnier *et al.*, 1997).

1.1.2. Le canal du trayon

Une étude récente (Gill *et al.*, 2006) suggère que les microorganismes présents dans le canal du trayon provenant de vaches saines sont plus diversifiés que ce qui avait été décrit précédemment : 45 espèces ont été répertoriées avec une dominance des classes des *clostridies*, *bacillaceae* et *staphylococcaceae* et plus ponctuellement des enterocoques. Les lactocoques et lactobacilles n'ont jamais été retrouvés.

1.2. LIEN ENTRE FLORE DES LAITS CRUS ET FLORE DES TRAYONS

L'impact des flores des trayons dans la biodiversité des flores des laits et la qualité des fromages a été très peu étudié. Selon Barral *et al.* (2003), la majorité des flores d'intérêts technologiques issues des trayons de chèvre s'implantent dans le lait et s'y développent (figure 1). Ces flores participeraient activement à l'acidification des laits et ainsi, pourraient jouer un rôle en transformation fromagère. Une étude réalisée avec du lait de vache démontre que les trayons seraient un réservoir potentiel de bactéries de surface (microcoques et coryneformes) et de staphylocoques (Denis et Desmasures, 2005). En revanche, le lien entre lactocoques des trayons et lactocoques du lait n'a pas pu être établi. Il est probable, également, que des flores présentes ponctuellement dans le canal du trayon (*cf.* 1.1.2.) contribuent à ensemençer le lait au cours de la traite. L'analyse microbiologique des laits individuels de chèvre prélevés stérilement (trayons sains préalablement désinfectés) et mis en culture 24 heures à 30°C révèlent la présence de nombreux groupes microbiens avec une dominance de flores d'intérêts (figure 1).

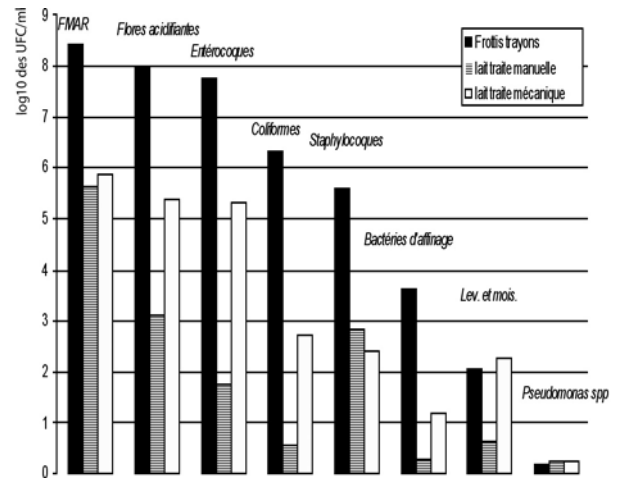


Figure 1 : flores développées sur lait (24 heures, 30°C) issues des prélèvements (n=36 pour chaque type de prélèvements) d'après Barral *et al.*, 2003.

F/MAR : Flore Mesophile Aerobique Revivable

1.2.1. Litière et flore des trayons

Rendos *et al.* (1975) et Zdanowski *et al.* (2004), se sont intéressés au lien entre nature des litières et flores des trayons et ont démontré que la nature même des litières conditionnerait le type et le niveau de flores rencontrées sur les trayons (tableau 1). La paille, fréquemment utilisée en élevage semble constituer un bon substrat pour la multiplication des streptocoques notamment *Streptococcus uberis* et des staphylocoques (Branley, 1982, Rendos *et al.*, 1975). L'entretien de la litière détermine le niveau de risque de développement des microorganismes. Il faut pailler suffisamment, mais un paillage excessif peut induire des élévations de température de la litière, élévations corrélées positivement avec les streptocoques fécaux (Menard, 2001). Ainsi, la quantité de paille quotidienne optimale semble se situer autour de 2 kg à 2,5 kg par m² pour une surface d'aire paillée utile par vache de l'ordre de 6 à 7 m². Le développement bactérien au sein de la litière s'effectuerait dans les douze premières heures après le paillage (Menard *et al.*, 2004) d'où l'intérêt de pratiquer un fractionnement bi journalier du paillage. Concernant les flores d'intérêts technologiques, quelques auteurs ont émis l'hypothèse d'un ensemençement en flore lactiques (lactocoques et leuconostocs présumés) ou plus généralement en flore acidifiante mesophile des trayons apportées par les litières de type paille (Desmasures *et al.*, 1997, Barral *et al.*, 2003, Michel *et al.*, 2005).

1.2.2. Nettoyage et désinfection des trayons

Lorsque les trayons de vache sont souillés ou mal nettoyés, les flores d'altération telles que les germes psychrotrophes et thermoresistants (bactéries aérobies sporulées et *Bacillus spp*) peuvent devenir dominantes (Chatelin et Richard, 1981, Mc Kinnon *et al.*, 1983).

Tableau 1 : classement décroissant des niveaux de microorganismes des litières (ufc/g) après 1 à 3 semaines d'utilisation et des trayons des vaches couchées sur ces litières (ufc/trayon) d'après Rendos *et al.*, 1975

| Coliformes Totaux | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------|--|--|
| Litières (n=9) | Sciure 5,2.10 ⁷ | > Copeaux de bois 6,6.10 ⁶ | > Paille 3,1.10 ⁶ |
| Trayons (n=270) | Sciure 127 | > Copeaux de bois 12 | > Paille 8 |
| Streptocoques (dont entérocoques) | | | |
| Litières (n=9) | Paille 5,3.10 ⁷ | > Copeaux de bois 1,1.10 ⁷ | > Sciure 8,6.10 ⁶ |
| Trayons (n=270) | Paille 2064 | > Copeaux de bois 717 | > Sciure 383 |
| Staphylocoques (dominance SCN) | | | |
| Litières (n=9) | Paille 2,2.10 ⁹ | > Sciure 3,1.10 ⁸ | > Copeaux de bois 4,9.10 ⁷ |
| Trayons (n=270) | Paille 9064 | > Sciure 7218 | > Copeaux de bois 1366 |

1. 3. FACTEURS JOUANT SUR L'ENSEMENCEMENT EN FLORES DES LAITS

1.3.1. Litière et flore des laits :

La traite manuelle sur litière de paille comparée à des traites à l'extérieur (sur pâture) ou sur quai de traite tend à donner des laits significativement plus chargés en entérocoques, une des flores retrouvées fréquemment dans les litières (Pucet, 2001). Il semblerait également que les pratiques liées à l'utilisation de foin et notamment la présence de foin dans les litières sont associées à des teneurs plus élevées en lactobacilles hétéro fermentaires des laits crus selon Bouton *et al.*, (2005). Le renouvellement des litières, ainsi que l'utilisation de produits jouant sur les paramètres des litières (pH, humidité) permettent en limitant la multiplication des germes dans les litières de réduire les charges microbiennes des laits. Ainsi Sevi *et al.* (2002) ont montré que l'utilisation, de produits asséchants les litières comme la bentonite (0,5kg/m²) associée à un renouvellement toutes les quatre semaines des litières pour des densités animales moyennes tendent à diviser par 3 en moyenne, la teneur en germes totaux, et les flores dites d'altérations (levures et moisissures, psychrotrophes) des laits crus ainsi que des fromages associés, les aptitudes technologiques des laits sont également améliorées.

1.3.2. Nettoyage et désinfection des trayons

Si dans les années 70-80, le nettoyage et la désinfection des trayons étaient préconisées en raison des charges élevées en flores d'altération des laits crus, les niveaux bas en flore totale des laits actuels, tendent à orienter les études vers des pratiques plus respectueuses des flores. Ainsi, l'absence de lavage des mamelles ou le lavage collectif, les trayons lavés mais non essuyés, l'absence de post trempage et d'élimination des premiers jets sont plutôt associées à des laits riches en flores d'intérêt technologique (Arnal, 1999, Bouton *et al.*, 2005, Michel *et al.*, 2005). De plus, l'absence de post trempage et de report du lait vont dans le sens d'une bonne aptitude fromagère des laits (Berodier, 2001). Ces pratiques sont toutefois à utiliser avec précautions car elles dépendent de l'état de propreté des mamelles, de l'état sanitaire du troupeau ainsi que de l'environnement autour de la traite (propreté des litières) et de l'alimentation. Ainsi, l'ensilage ou l'enrubannage favorisent la présence de spores butyriques sur des mamelles non nettoyées. Pour les troupeaux caprins, le nettoyage et/ou désinfection des trayons avant et après la traite étant des pratiques moins

fréquentes, les données sur le sujet sont plus rares et n'abordent que l'effet sur les flores à l'origine de mammites.

2. L'AIR, DEUXIÈME RESERVOIR DE FLORES DES LAITS CRUS

2.1. LITIÈRE, AIR ET FLORE DES LAITS

Les aérosols du bâtiment d'élevage proviennent en grande partie des litières et des fèces (Hartung *et al.*, 1986). L'air peut donc être un vecteur potentiel des flores des litières et peut ensemercer le lait pendant la traite.

2.2. AMBIANCE, AIR ET FLORE DES LAITS

Albenzio *et al.* (2005) ont montré qu'une augmentation du taux de renouvellement d'air de l'aire de couchage des animaux diminuerait significativement le niveau de flores d'altérations des laits : le passage d'un taux de renouvellement de 30 m³/h à 70 m³/h permet d'obtenir des niveaux de flores d'altérations (coliformes et psychrotrophes) 10 à 100 fois inférieurs. Selon Michel *et al.* (2005) l'air du lieu de traite d'exploitations bovines peut être considéré comme un réservoir secondaire en importance et diversité des flores présentes. Ces résultats corroborent ceux de Bouton *et al.* (2005) pour lesquels l'ambiance autour de la traite peut conduire à un enrichissement en flores d'intérêts (lactobacilles, bactéries propioniques).

3. LA MACHINE À TRAIRE RESERVOIR DE FLORES UTILES ?

3.1. LES FLORES VÉHICULÉES PAR LA MACHINE À TRAIRE

D'après Chatelin et Richard (1981), les laits de vache issus de traite mécanique en comparaison avec une traite manuelle apporteraient significativement plus de thermorésistants, et de coliformes (flores témoignant respectivement d'un défaut de conception de la machine, et d'un nettoyage mal réalisé). L'enrichissement préférentiel en flores d'intérêts technologiques par la MAT est discutable. Selon une étude menée en Savoie dans une cinquantaine d'exploitations (Michel *et al.*, 2005), la diversité des groupes microbiens mobilisés par rinçage du matériel de traite à l'eau stérile est faible : seuls quatre groupes microbiens sur 12 au total sont isolés dans 80 % des cas. Les niveaux des groupes microbiens restent dans la majorité des cas relativement faibles, les niveaux des groupes d'altération (*Pseudomonas spp.*, coliformes) étant fréquemment voisins de ceux présentant un intérêt sur le plan technologique. Les études menées sur les chèvres tendent à montrer que la diversité des flores apportées par la MAT est aussi importante que celle des flores apportées par les trayons (Laithier *et al.*, 2005). En effet, la flore mobilisée par la MAT par passage de lait UHT a permis de mettre en évidence autant de groupes microbiens différents que ceux rencontrés à la surface des trayons avec notamment des niveaux en flores mésophiles aérobies, et flores mésophiles acidifiantes importantes (respectivement 40 000 ufc/ml et 4000 ufc/ml en moyenne avec des niveaux pouvant atteindre pour les deux groupes 100 000 ufc/ml). Cependant, même si les flores utiles y sont majoritaires avec une dominance d'entérocoques dont le statut en flores utiles peut être discuté, les flores d'altérations (*pseudomonas spp.* en particulier) et même *S. aureus* peuvent être présentes. L'apport en flores d'intérêts technologiques par la MAT est donc à moduler et dépend entre autre de sa conception, du type de matériaux la composant, de la technique de lavage, ainsi que de l'efficacité du rinçage (cf III.2).

3.2. PRATIQUES DE NETTOYAGE DE LA MAT ET FLORE DES LAITS CRUS

Différents travaux menés en conditions de terrain dans des exploitations bovines ont permis d'identifier des pratiques de nettoyage qui tendraient à défavoriser l'ensemencement en flores d'intérêts technologiques. Ainsi, des températures de nettoyage trop élevées (70 - 75°C et plus), diminuent significativement la charge totale des laits (Arnal, 1999, Michel *et al.*, 2005). L'alternance quotidienne de produits alcalins et acides conduirait à une plus grande irrégularité du pouvoir contaminant de la MAT et favoriserait l'obtention de laits plus riches en flores d'altérations (Chatelin et Richard., 1983, Michel *et al.*, 2005). La présence de résidus lessiviels dans le lait peut être également une cause de déséquilibres microbiens en défaveur des flores d'intérêts technologiques (Ballot et Michel., 2002, Michel *et al.*, 2005). Cette présence traduit un rinçage insuffisant des lessives alcalines. Concernant l'utilisation de produits permettant une décontamination sélective, les résultats sont peu concluants. En effet, les essais menés en conditions de terrain en lait de vache comme en lait de chèvre sur des lessives non chlorées additionnées ou non de sel (0,05 % et 10 % de Na₂SO₄) ont mis en évidence des changements sensibles dans les proportions des différentes flores sans toutefois conclure à une préservation plus importante des flores d'intérêts (Ballot et Michel, 2002, Laithier *et al.*, 2005).

CONCLUSION

L'état actuel des connaissances montre que la préservation de la flore utile des laits crus passe par un maintien de certains réservoirs autour de la traite et en particulier les flores des trayons. Ainsi, dans le cas de mamelles saines et d'environnement propre, des pratiques respectueuses des flores des trayons (simple essuyage par exemple) associées à une litière propre et correctement paillée contribueraient à maintenir des niveaux suffisants des flores utiles dans le lait. En ce qui concerne l'air, les résultats sont peu nombreux mais vont dans le sens d'un réservoir secondaire de flores utiles après les trayons. L'étude de ce réservoir associée à la gestion des flux d'air mériterait d'être approfondie, les aérosols intervenant tant dans l'ensemencement en flores des mamelles que lors de la traite en machine. Quant à la MAT, les principaux résultats tendent à montrer qu'elle peut faire basculer les équilibres microbiens en faveur des flores d'altérations selon le matériel et les pratiques de nettoyage (défauts de conception de la MAT, rinçage insuffisant, alternance quotidienne acide/base). Les pratiques de nettoyage et désinfection de la MAT permettant l'installation de biofilms positifs ne sont pas pour l'instant concluantes et méritent d'être poursuivies. Le séchage de la MAT, par exemple, mériterait d'être étudié car il permettrait probablement de diminuer les flores sensibles à l'activité de l'eau (coliformes, *Pseudomonas spp.*).

Mais avant tout, c'est bien la somme de combinaisons de pratiques choisies selon des logiques d'élevage différentes qui donneront *in fine* une composition microbiologique des laits variables d'une exploitation à une autre. Ainsi, selon Michel *et al.* (2005), les laits de vache riches en flores d'intérêts technologiques et pauvres en staphylocoques à coagulase positive sont plutôt associés à des pratiques

d'hygiène jugées "moyennement" voire "peu" sécuritaires : préservation de la flore des mamelles (avec ou sans essuyage des mamelles, absence de lavage individuel), nettoyage quotidien de la MAT. D'autre part, l'utilisation moindre d'eau à la traite permettrait de réduire les niveaux de *Pseudomonas spp.* (Michel *et al.*, 2005). Cependant, pour quelques exploitations, les laits recherchés sont obtenus avec des pratiques jugées plus sécuritaires. Il existe donc bien plusieurs façons d'atteindre un même objectif. L'identification des leviers susceptibles d'agir sur la diversité microbiologique des laits mérite donc d'être poursuivie, plus particulièrement pour les caprins où les données sur le sujet sont plus rares.

- Albenzio *et al.*, 2005.** *Journal of Dairy Research*, 447-455
- Arnal A., 1999.** Mémoire de fin d'études, 80 pp, ENITAC
- Ballot N., Michel V., 2002.** Synthèse de mémoire de fin d'étude de Eydoux C., 2001. Pôle fromager AOC Massif Central, 25 pp
- Barral J., Tormo H., Fabre E., 2003.** Compte rendu final d'études, Centre Fromager de Carmejane, 37 pp
- Bergonnier D., Blanc M.C., Fleury B., Lagriffoul G., Barillet F., Berthelot X., 1997.** *Renc. Rech. Ruminants*, 4, 251-260
- Bérodier A. (rédacteur) 2001.** Comité technique du Comte, 30-34, 52-64
- Bonizzoni L., Tormo H., Fabre E., 2002.** Compte rendu d'études, Centre Fromager de Carmejane
- Bouton Y., Tessier L., Guyot P., Beuvier E., 2005.** *Renc. Rech. Ruminants*, 2005, 12, 403
- Chatelin Y.M., Richard J., 1981.** *Lait*, 61, 80-94
- Chatelin Y.M., Richard J., 1983.** *Lait*, 63, 87-101
- Denis C., Desmasures N., 2005.** Journées nationales des techniciens Produits Laitiers Fermiers, sept 2005, Pont l'Évêque
- Desmasures N., Gueguen M., 1996.** *Journal of Dairy Research*, 271-280
- Desmasures N., Opportune W., Gueguen M., 1997.** *Int. Dairy Journal*, 7, 643-646
- Gill J., Sabour P., Gong J., Yu H., Leslie K., Griffiths M., 2006.** *FEMS Microbial Ecol.* 56, 471-481
- Hartung J., 1986.** CAB International, Wallingford, UK, 55-69
- Laithier C., Chatelin Y.M., Talon R., Tormo H., Barral J., Lefrileux Y., 2005.** *Renc. Rech. Ruminants*, 12, 367-370
- Lefrileux Y., Morge S., Le Mens P., Pucet S., 2002.** *Renc. Rech. Ruminants*, 9, 376.
- Mc Kinnon C., Flulford R., Cousins C., 1983.** *Journal of Dairy Research*, 50, 153-170
- Ménard J.L., 2001.** Compte rendu n°2013304. Institut de l'Élevage
- Ménard J.L., Roussel P., Masselin-Silvin S., Puthod R., Hetreau T., Forêt A., Houssin B., Aracil C., Le Guenic M., 2004.** *Renc. Rech. Ruminants* 11, 333-336
- Michel V., Hauwuy A., Chamba J.F., 2001.** *Lait*, 81, 575-592
- Michel V., Hauwuy A., Montel M.C., Coulon J.B., Chamba J.F., 2005.** Symposium International "Territoires et Enjeux du développement régional", Lyon, 9-11 Mars 2005
- Pucet S., 2001.** Mémoire de fin d'études. Enilbio Poligny
- Rendos J.J., Eberhart R.J., Kesler E.M., 1975.** *Journal of Dairy Sciences*, 58, 1492-1500
- Sévi A., Albenzio M., Muscio A., Casamassima D., Centoducati P., 2002.** *Livestock Production Science*, 81, 1-9
- Verdier- Metz I., Michel V., Delbès C., Montel M.C., 2004.** 6th International Meeting of Mountain Cheese, June 2004, Ragusa, Sicile
- Zdanowicz M., Shelford J.A., Tucker C.B., Weary D.M., Von Keyserlingk M.A.G., 2004.** *Journal of Dairy Sciences*, 87, 1694-1701