

Photolyse de la riboflavine dans le lben

Bouchta SAIDI¹ & J.J. WARTHESEN²

(Reçu le 12/01/1994 ; Accepté le 05/04/1994)

أثر الضوء على ريبوفلافين اللبن

تطرقنا في هذا البحث إلى النظر في تأثير الضوء على نقص (Riboflavin) الريبوفلافين في اللبن بالمقارنة مع الحليب. كذلك تطرق هذا البحث إلى دراسة دور معظم مواد التعليب المستعملة في المغرب من طرف الصناعة الحليبية في حماية الريبوفلافين من الضوء. ولقد أظهرت هذه الدراسة أن الضوء ينقص هذه الفيتامينات في الحليب أكثر من اللبن بما يساوي أربع مرات. أما فيما يخص دور التعليب في حماية هذه الفيتامين فقد أظهرت هذه الدراسة أن نقصها كان أكثر في اللبن و الحليب المعلب في البولييثيلين (polythylene) بمقارنة مع الكرتون (carton) بما يساوي ثلاث مرات.

الكلمات المفتاحية : ريبوفلافين - ركود - حماية ضوئية - ضوء - لبن - حليب - تغليف.

Photolyse de la riboflavine dans le lben

La photodégradation de la riboflavine dans le lben a été comparée à celle du lait et les emballages les plus utilisés par l'industrie laitière marocaine ont été examinés pour leur protection de la lumière de la riboflavine dans le lait et le lben. Pour l'effet du lben sur la photolyse de la riboflavine, des échantillons de lben et de lait ont été exposés à la lumière fluorescente et les constantes de vitesse de photolyse de la riboflavine dans ces deux produits ont été comparées. Les constantes de vitesse de photodégradation de la riboflavine dans le lait étaient d'environ quatre fois supérieures à celle du lben. La différence de pH entre le lait et le lben n'explique pas la différence de photostabilité trouvée entre les deux produits. Pour l'effet des deux types d'emballages sur la photolyse de la riboflavine, des échantillons d'un demi-litre de lait pasteurisé et de lben ont été exposés à la lumière fluorescente et les constantes de vitesse de photolyse de la riboflavine calculées ont été comparées. Les constantes de vitesse de photolyse de la riboflavine dans les sachets de polyéthylène ou BMP (Blow Molded polyethylen) ne sont pas statistiquement différentes ($p < 5\%$), cependant ces constantes de vitesse dans les sachets de polyéthylène étaient d'environ trois fois supérieures à celle du carton. Cette différence a été expliquée par la différence de transmittance trouvée entre ces emballages.

Mots clés: Riboflavine- Stabilité- Photolyse- Lumière- Lben- Lait - Emballage

Riboflavin photolysis in lben

Riboflavin photolysis in lben and milk were compared and the main pasteurized milk and lben packages used by the moroccan dairy industry were examined for their protection from light of riboflavin in milk. For lben effect on riboflavin photolysis, samples of lben and milk were exposed to fluorescent light and the calculated rates of riboflavin photolysis were compared between lben and milk. It was found that the rate constant for riboflavin photolysis in milk was about 4 times higher than that of lben. The difference in pH between milk and lben does not explain the difference found in riboflavin photostability between the two products. For the two types of packages effects on riboflavin photolysis, samples of half-liter of pasteurized whole milk or lben were exposed to fluorescent light and the calculated rates of riboflavin photolysis were compared. It was found that the rates constants for riboflavin photolysis in milk or lben packaged in pouches of BMP (Blow molded polyethylen) were not statistically different, while the rates constants for riboflavin photolysis in milk packaged in pouches of BMP were about 3 times higher than that packaged in "carton". This difference was explained by the difference found in light transmittance between these packages.

Key words: Riboflavin - Stability - Photolysis - Light - Lben - Milk - Packaging

¹ Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, B.P. 6202 -Instituts, 10101 Rabat, Maroc

² Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota, St. Paul, MN 55108, USA

✦ Auteur correspondant

INTRODUCTION

Le lait et les produits laitiers (beurre exclu) apportent approximativement 38% et 43% de la riboflavine dans l'alimentation américaine et anglaise respectivement (USDA, 1987; Scott *et al.*, 1984).

Cependant la riboflavine se dégrade rapidement dans le lait (Singh *et al.*, 1975; Gaylord *et al.*, 1986; Palanuk *et al.*, 1988). Les facteurs qui affectent la photodégradation de la riboflavine du lait ont été étudiés de façon extensive car la riboflavine est impliquée dans l'altération des caractéristiques organoleptiques et aussi du fait que la concentration de cette vitamine se trouve réduite. La fermentation est parmi les facteurs qui peuvent avoir un effet sur la photolyse de la riboflavine, mais à notre connaissance aucune information n'est disponible sur la photodégradation de la riboflavine dans les produits fermentés tel que le lben.

Le lben est un produit liquide qui a approximativement la même teneur en solide non gras (9%) que le lait écrémé. Il est consommé surtout en milieu rural et constitue 17% de la consommation globale en produits laitiers (Direction de Statistiques, 1986). Puisque le lben est distribué au Maroc en emballage transparent, la vitamine B₂ est susceptible de subir la photolyse et, probablement, de façon similaire au lait. L'emballage est aussi parmi les facteurs qui jouent un rôle très important dans la prévention de la photolyse de la riboflavine dans le lait ou le lben.

Selon la Fédération Internationale de Lait (1970), un matériau d'emballage doit être opaque aux radiations photo-dégradantes et sa transmission maximale doit être de 8% à 500 nm et 2% à 400 nm. La perte en vitamine B₂ dans le lait est liée à la transmission de la lumière.

En effet, plus la transmission de la lumière est élevée, plus la perte en riboflavine est importante (Birdsall *et al.*, 1958 ; Dimick, 1973 ; Sattar & DeMan, 1973; DeMan, 1978; Hoskin & Dimick, 1979; Senyk & Shipe, 1981). La transmission de la lumière à travers l'emballage est fonction du matériau constitutif de ce dernier, son épaisseur, son ornementation et de la longueur d'onde de la lumière incidente (Dunkley *et al.*, 1962; Dimick, 1982; Christy *et al.*, 1981; Fannelli *et al.*, 1985; Nelson & Cathcard, 1983).

Les emballages du lait ou du lben en usage au Maroc n'ont pas été étudiés. Les deux types de matériaux les plus utilisés sont le sachet tétraédrique en laminé appelé "carton" et le sachet en polyéthylène rectangulaire (BMP).

Le présent travail a pour objectifs d'étudier la photostabilité de la riboflavine dans le lben et de déterminer le pouvoir photo-protecteur de deux types de matériaux d'emballage: le "carton" et le sachet en BMP.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

• Photolyse de la riboflavine dans le lben

Les échantillons de lben commercial et de lait ont été obtenus à partir du commerce de détail de Rabat (Maroc) dans des sachets d'un demi-litre. Il ont été exposés dans des tubes à essai en Pyrex (16 x 125mm) avec des bouchons en téflon. Les tubes ont été exposés à la lumière fluorescente dans des chambres à lumière maintenues à 5°C. La lumière a été réglée à une intensité de 1614 lux (150 ft-c) mesuré avec un photomètre (type 214, General Electric).

Les tubes à essai contenant le lait sont retirés au hasard de la chambre d'irradiation par paire. Les durées d'irradiation appliquées sont: 0, 6, 12, 24, 36 et 48 heures. Les tubes à essai contenant le lben sont retirés dans les mêmes intervalles de temps que le lait et aussi après 60 et 72 heures. L'ensemble des échantillons a été alors extrait et analysé pour la riboflavine.

• Effet du pH sur la photolyse de la riboflavine

La contribution de la réduction du pH durant la fermentation sur la photostabilité de la riboflavine a été examinée dans des solutions tamponnées de riboflavine. Des solutions de riboflavine à 0,2µg/ml ont été préparées dans 0,2 M de phosphate de sodium tamponné à pH 4,1, 6,7 et 8,5 comme décrit par Gomori (1955). Ces solutions ont été utilisées pour l'exposition à une lumière fluorescente de 150 Ft-c dans des chambres à lumière maintenues à 5°C.

Ces pH ont été choisis de manière à représenter le pH du lben (environ 4), le pH du lait (environ 6,7) et un pH plus élevé (8,5). L'objectif est de déterminer si la différence de pH entre le lait et le lben pourra expliquer la différence de photostabilité de la riboflavine.

Les tubes à essai contenant les différentes solutions tamponnées ont été retirés au hasard par paire à chaque heure jusqu'à 6 heures et utilisés directement pour la détermination de la riboflavine.

• Photolyse de la riboflavine dans le lben conditionné

Les deux types d'emballages parmi les emballages les plus utilisés par l'industrie laitière marocaine pour le lait pasteurisé et le lben ont été testés.

Pour un même type d'emballage utilisé par la même société, six unités d'un demi-litre de lait pasteurisé ou de lben ont été prélevés à partir d'un même lot de manière à ce que la teneur en riboflavine initiale soit identique dans tous les échantillons.

Des échantillons de lait et de lben sont gardés à l'abri de la lumière en vue de la détermination de la teneur initiale en riboflavine. Les autres ont été exposés à la lumière dans leur emballage. La teneur en matière grasse et la densité ont été déterminées dans les échantillons (témoins) de lait non exposés à la lumière.

Les échantillons de lait ou de lben ont été exposés dans des chambres à lumière maintenues à 5°C. La lumière a été réglée à une intensité de 3228 lux (300 Ft-c). Le retrait d'un échantillon de lait a été effectué au hasard chaque 24 heures, alors que celui du lben a été effectué chaque 48 heures. Tous les échantillons ont été alors extraits et analysés pour la riboflavine.

• Transmittance des matériaux d'emballage

Pour chaque type d'emballage étudié, la transmittance lumineuse a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (Varian DMS 70). Un spécimen rectangulaire a été découpé à partir de l'emballage à étudier et a été installé dans l'appareil à la place de la cellule. Les mesures ont été effectuées en duplicata dans la région des longueurs d'onde de 350-650 nm.

• Détermination de la densité et de la matière grasse

La mesure de la densité est effectuée à l'aide d'un lactodensimètre, alors que la détermination de la teneur de matière grasse est réalisée par la méthode acido-butyrométrique de Gerber (Le Coq, 1965).

• Détermination de la riboflavine

La méthode de Rashid & Potts (1980) a été utilisée pour extraire la riboflavine à partir du lait et des produits laitiers. La détermination de la riboflavine a été faite par HPLC suivant la méthode de Furuya *et al.*, (1984) avec de légères modifications.

La phase mobile composée de 74% d'eau distillée, 25% acétonitrile et 1% d'acide acétique glacial a été pompée avec un débit de 1ml/min à travers une colonne octyl (250 x 4,6mm, i.d.) avec des particules de 5µm (IBM Instruments Inc., Wallingford, CT). La détection a été réalisée avec un détecteur de fluorescence (Varian Fluorichrom) à 450 nm (filtre d'excitation) et 370nm (filtre d'émission).

Dans les extraits de produits laitiers, la riboflavine a été quantifiée en utilisant les surfaces des pics et en les comparant à ceux des standards de concentrations connues.

• Analyse statistique

Pour la photodégradation de la riboflavine, la rétention a été déterminée par comparaison de sa teneur dans les échantillons non exposés à la lumière à celle dans les échantillons irradiés. Une régression linéaire pour déterminer les constantes de vitesse de premier ordre a été utilisée. La comparaison des constantes de vitesse a été réalisée selon la procédure décrite par Steel & Torrie (1980). Toutes les analyses statistiques ont utilisé une probabilité de 5%.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

• Effet du pH sur la photostabilité de la riboflavine

Les constantes de vitesse calculées pour la photolyse de la riboflavine dans les solutions tamponnées à pH 4.1 et 6.7 sont données dans le tableau 1. Elles sont toutes statistiquement différentes ($P < 5\%$). La constante de vitesse est plus importante à pH 6.7 qu'à pH 4.1.

Tableau 1. Constantes de vitesse premier-ordre de la dégradation de la riboflavine en solutions tamponnées exposées à une lumière de 1614 lux

pH	4.1	6.7
k(heures ⁻¹)	0,2929	0,3658
Erreur Standard	0,0188	0,0342

Ces résultats suggèrent que la photolyse de la riboflavine est plus rapide au pH du lait (6,7) qu'au pH du lben. Ces résultats sont conformes avec ceux de Stamberg & Theophilus (1945) qui ont rapporté que la photolyse de la riboflavine en solution à pH 6,7 est plus rapide qu'à pH 3.

Etant donné que le pH influence la photostabilité de la riboflavine, les effets de la fermentation peuvent impliquer le pH et d'autres modifications physico-chimiques.

Tableau 1. Constantes de vitesse premier-ordre de la dégradation de la riboflavine en solutions tamponnées exposées à une lumière de 1614 lux

pH	4.1	6.7	8.5
k(heures ⁻¹)	0,2929	0,3658	0,1479
Erreur Standard	0,0188	0,0342	0,0338

• Photolyse de la riboflavine dans le lben

Les constantes de vitesse calculées pour la photolyse de la riboflavine dans le lben commercial, le lait pasteurisé et standardisé et le lait UHT écrémé sont données dans la Tableau 2.

Tableau 2. Constantes de vitesse de premier-ordre de la dégradation de la riboflavine dans le lait et le lben exposés à une lumière de 1614 lux

Produit laitier	k(heures ⁻¹)	Erreur Standard
Lben Commercial	0,0055	0,0005
Lait pasteurisé	0,0227	0,0026
Lait UHT écrémé	0,0318	0,0021

La constante de vitesse obtenue dans le lait pasteurisé est d'environ quatre fois plus élevée que celle trouvée dans le lben. Les constantes de vitesse pour la photolyse de la riboflavine dans le lait pasteurisé et le lait UHT écrémé sont statistiquement différentes ($p < 5\%$). Cette différence est due au fait que la riboflavine est plus sensible aux effets de la lumière dans le lait écrémé que dans le lait entier. C'est ainsi que dans des études d'irradiation similaires, les constantes de vitesse pour la photolyse de la riboflavine étaient entre 0,0172 et 0,0338 heure⁻¹ pour des laits ayant des teneurs différentes en matière grasse (Gaylord

et al., 1986; Palanuk & Warthesen, 1988). Les échantillons de lben montrent clairement une stabilité plus importante relativement par rapport au lait.

La protection de la riboflavine dans le lben est probablement due aux propriétés physico-chimiques du produit résultant de la fermentation du lait puisqu'une teneur en matière grasse du lait pasteurisé devrait permettre une photostabilité de la riboflavine plus grande (Gaylord *et al.*, 1986). Sur la base du niveau de la matière grasse, la teneur faible du lben devra présenter une protection plus faible. La différence de pH entre le lait et le lben n'explique pas la différence trouvée dans la photostabilité de la riboflavine dans les deux produits comme vu dans l'étude avec les solutions de riboflavine tamponnées.

L'augmentation de la photostabilité de la riboflavine dans le lben est probablement liée indirectement au pH bas du lben. Kalab *et al.* (1976) a rapporté que les modifications au niveau de la surface des micelles de caséine dans le lait incubé avec des bactéries lactiques, les micelles se joignent pour former des chaînes et agrégats. Ces structures causées par le bas pH du lben peuvent contribuer à une augmentation de la photostabilité de la riboflavine par diminution de la pénétration de la lumière et par augmentation de la dispersion de la lumière.

• Photolyse de la riboflavine dans le lben conditionné

Les constantes de vitesse calculées pour la photolyse de la riboflavine dans le lait pasteurisé ou dans le lben dans trois types d'emballage et exposé à 300 Ft-c sont données dans le tableau 3.

Tableau 3. Constantes de vitesse de premier-ordre de la dégradation de la riboflavine dans le lait pasteurisé et le lben contenus dans différents types d'emballages exposés à une lumière de 3228 lux

Nature de l'emballage	k(heures ⁻¹)	E.S.
Lben en "carton"	0,0023	0,0011
Lait en "carton"	0,0091	0,0019
Lben en BMP imprimé en bleu	0,0061	0,0018
Lait en BMP imprimé en bleu	0,0229	0,0009
Lait en BMP imprimé en rouge	0,0251	0,0009

E.S.: Erreur standard

Ces constantes ont été obtenues avec trois types d'emballages: le "carton", le sachet en polyéthylène (BMP) avec impression bleue et le sachet en polyéthylène (BMP) avec impression rouge.

La constante de vitesse de la photolyse de la riboflavine dans le lait placé dans le "carton" est d'environ trois fois plus élevée que celles trouvées dans les 2 autres emballages, alors que les deux constantes dans les sachets en BMP avec impressions bleue et rouge ne sont pas statistiquement différentes ($p < 5\%$).

En ce qui concerne le lben, la constante de vitesse dans le "carton" est, aussi, d'environ trois fois plus élevée que celle trouvée dans le BMP.

Ces résultats suggèrent que la photolyse de la riboflavine est plus rapide dans le lait ou le lben conditionné dans le BMP que dans celui conditionné dans le "carton". Il est à noter que les résultats obtenus n'étaient pas dus à une différence liée à la composition des laits examinés puisque ceux-ci avaient une composition similaire. C'est ainsi que les densités à 15°C et les teneurs en matière grasse des laits examinés étaient respectivement de 1,030 ; 31 g/litre de lait en "carton", de 1,029 ; 32 g/litre de lait en sachets en BMP avec impression bleue et de 1,029 ; 31 g/litre de lait en sachets en BMP avec impression rouge.

Les constantes de vitesse de la photolyse de la riboflavine dans le lait pasteurisé conditionné dans le "carton" ou dans le BMP sont d'environ quatre fois plus élevées que celles trouvées dans le lben conditionné dans les mêmes conditions.

Ce dernier résultat confirme la photostabilité de la riboflavine dans le lben par rapport au lait obtenue précédemment.

Les pertes en riboflavine sont de 52% pour le lben en sachets en BMP et 24% pour le lben en "carton" après 5 jours d'exposition à une lumière fluorescente de 300 ft-c. Mais ces pertes atteignent environ 95% pour le lait en sachets en BMP et 64% pour le lait en "carton".

Ces résultats sont en accord avec ceux de Dimick (1973) qui, en exposant des contenants de lait de plus grand volume en BMP et en "carton" pendant 72 heures à une faible intensité lumineuse (100 ft-c), a noté une plus importante perte en vitamine B₂ dans le premier type d'emballage.

Les pertes en vitamine B₂ dans le lait ou le lben sont plus importantes dans les contenants en sachets en BMP que ceux en "carton" car ce dernier a une opacité plus grande aux longueurs d'onde nocives pour cette vitamine (350-550 nm).

La transmittance lumineuse est nettement différente entre ces deux types d'emballage. Elle est plus importante pour le BMP que pour le "carton". Pour le "carton", elle est de 0,1% entre 400 et 450 nm et de 0,2% entre 500 et 650 nm, alors qu'elle augmente de 0,2 à 0,3% entre 400 et 450 nm, et de 0,4 à 1,3% pour le BMP entre 500 et 650 nm.

À 450 nm, la longueur d'onde la plus redoutable pour la riboflavine selon Christy *et al.* (1981), le "carton" est trois fois plus translucide que le BMP. Ceci explique l'ordre de grandeur des constantes de vitesse des deux types d'emballage.

Les transmittances lumineuses aussi bien pour le "carton" que pour le BMP restent inférieures aux valeurs maximales recommandées par la Fédération Internationale de Laiterie et qui sont de 2% à 400 nm et de 8% à 500 nm (FIL, 1970).

Schröder *et al.* (1985) ont rapporté que le laminé a une transmittance lumineuse inférieure à 1%. La faible transmission de lumière par le carton est due, en partie, à son ornementation en vert et bleu. En effet les transmittances lumineuses entre 500 et 650 nm sont de 0,1% dans les parties colorées en vert et en bleu et de 0,2% dans la partie blanche. La partie ornée couvre environ 45% de l'aire totale pour le "carton" alors qu'elle ne couvre que 7% de l'aire totale pour le sachet en BMP.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Birdsall J.J., Tepy L.J. & Derse P.H. (1958) Effect of light on homogenized whole milk and some fortified milk products. *Food Technol.* 12 : 670-673
- Christy G.E., Amantea G.F. & Irwin R.E.T. (1981) Evaluation of effectiveness of polythlene overwraps in preventing light-induced oxidation of milk in pouches. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 14(2) : 135-138
- DeMan J.M. (1978) Possibilities of preservation of light-induced quality loss of milk. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 11(3) : 152-154
- Dimick P.S. (1973) Effect of fluorescent light on the flavor and selected nutrients of homogenized milk held in conventional containers. *J. Milk Food Technol.* 36(7) : 383-387

- Dimick P.S. (1982) Photochemical effects on flavor and nutrients of fluid milk. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 15 (4) : 247-256
- Direction de Statistiques (1986) Dépenses Alimentaires. Chap. 4 in "Consommation et dépenses des ménages, 1984-85. Premiers résultats. Vol.1, Rapport de synthèse". Ministère du Plan, Rabat
- Dunkley W.L., Franklin J.D. & Pangbors R.M. (1962) Effects of fluorescent light on flavor, ascorbic acid and riboflavin in milk. *Food Technol.* 16 : 112-118
- Fanelli A.J., Burlew J.V. & Gabriel M.K. (1985) Protection of milk packaged in high density polyethylene against photodegradation by fluorescent light. *J. Food Protection* 48 (2) : 112-117
- Fédération Internationale de Lait (1970) La collecte du lait en vrac. Étude de divers matériaux d'emballage des points de vue de la protection et/ou de la conservation des qualités organoleptiques du lait de consommation. *Bulletin Annuel*, partie IV. Bruxelles
- Furuya E.M., Warthesen J.J. & Labuza T.P. (1984) Effects of water activity, light intensity and physical structure of food on the kinetics of riboflavin degradation. *J. Food Sci.* 49 (2) : 525-528
- Gaylord A.M., Warthesen J.J. & Smith D.E. (1986) Influence of milk fat, milk solids and light intensity on the light stability of vitamin A and riboflavin in low fat milk. *J. Dairy Sci.* 69 (11) : 2779-2784
- Gomori G. (1955) Preparation of buffers for use in enzyme studies. *Methods Enzymol.* 1 : 138-143
- Hoskin J.C. & Dimick P.S. (1979) Evaluation of fluorescent light on flavor and riboflavin content of milk held in gallon returnable containers. *J. Food Protection* 42 (2) : 105-109
- Kalab M., Emmons D.B. & Sargent A.G. (1976) Milk gel structure, V. Microstructure of yogurt as related to the heating of milk. *Milchwissenschaft* 31 (7) : 402-408
- Le Coq R. (1965) Manuel d'analyses alimentaires et d'expertises usuelles. Tome II, Édition Doin, Paris
- Nelson K.H. & Cathcart W.M. (1983) Analytical technique for measuring transmission of light through milk carton materials. *J. Food Protection* 46 : 309-314
- Palanuk S.L. & Warthesen J.J. (1988) The kinetics of lumichrome in skim milk using nonlinear regression analysis. *Food Chem.* 27 : 115-121
- Palanuk S.L., Warthesen J.J. & Smith D.E. (1988) Effect of agitation, sampling location and protective films on light-induced riboflavin loss in skim milk. *J. Food Sci.* 53 (2) : 436-438
- Rashid I. & Potts, D. (1980) Riboflavin determination in milk. *J. Food Sci.* 49 : 744-745
- Sattar A. & De Man J.M. (1973) Effect of packaging material on light induced quality deterioration of milk. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 6 (3) : 170-174
- Schröder M.J.A., Scott K.J., Bland M.A. & Bishop D.R. (1985) Flavor and vitamin stability in pasteurized milk in polyethylene-coated cartons and in polyethylene bottles. *J. Soc. Dairy Technol.* 38 (2) : 48-52
- Scott J., Bishop D.R., Zachalko A. & Edwards-Webb J.D. (1984) Nutrient content of liquid milk. II. Content of vitamin C, riboflavin, folic acid, thiamin, vitamin B12 and B6 in pasteurized milk as delivered to the home and after storage in the domestic refrigerator. *J. Dairy Res.* 51 : 51-57
- Senyk G.F. & Shipe W.F. (1981) Protecting your milk from nutrient losses. *Dairy Field* 164 (3) : 81-85
- Singh R.P., Heldman D.R. & Kirk J.R. (1975) Kinetic analysis of light induced riboflavin loss in whole milk. *J. Food Sci.* 40 : 164-167
- Stamberg O.E. & Theophilus D.R. (1945) Photolysis of riboflavin in milk. *J. Dairy Sci.* 28 (1) : 269-275
- Steel R.G., & Torrie J.H. (1980) Principles of statistics, a biomedical approach, 2nd ed. McGraw-Hill Inc., New York
- USDA, (1987-1985) Nutrient survey. National Food Rev. Winter/Spring Issue. United States, Department of Agriculture, Washington, DC