牛 乳 中 の リ パ ー ゼ

斎 藤 善 一

弘前大学農学部, 弘前市 036

Lipases in Bovine Milk

Zenichi SAITO

Faculty of Agriculture, Hirosaki University

Hirosaki-shi 036

乳脂肪は、酪酸など、低級脂肪酸を含み、しかも、リパーゼの作用を受け易い^{1,2)} 1, 3 の位置に比較的多く結合している^{3,4)}。したがって、リパーゼが作用すると、遊離脂肪酸のために rancid とよばれる不快な異常風味を示す。なお、牛乳の分野では、rancid は脂肪の加水分解を意味するが、他の分野の rancid と混同しないように、hydrolytic rancidity^{1,5)}、lipase flavor⁵⁾ などともいわれる。酪農、乳業の分野に新技術が導入される度毎に、lipolysis あるいは rancid が問題とされていたが、現在も、パイプラインミルクやバルククーラーが普及するにしたがい原料乳の lipolysis が問題とされるようになった。

牛乳は、トリグリセリドを基質とする真正リパーゼの他に、リボ蛋白のトリグリセリド部分に作用する、あるいは、リボ蛋白が共存した場合にのみトリグリセリドを分解するリボプロテンリパーゼも含むといわれる。本報では、真正リパーゼを TR リパーゼ、リボプロテンリパーゼを LP リパーゼと略記し、両者を含めて、あるいは、区別出来ない場合、単にリパーゼとした。基質が水に不溶で、水相との界面で作用するので、基質の分散状態や、表面構造により活性が著しく変化し、基質の種類、調製法がいろいろあるので混乱することもある。近年、BROCKERHOFF and JENSEN⁶⁾による“Lipolytic Enzyme”をはじめ、多くの総説^{1,2,7-10)}が発表された。先の総説¹¹⁾に引続き、その後 10 年間の文献を中心として紹介する。

原料乳における lipolysis

牛乳に均質化乳を加えると直ちに著しい rancid を示

すことから判るように、牛乳は rancid となるのに充分なリパーゼを含んでいるが、搾乳直後に rancid はみられない。一部の牛乳は冷却により rancid となり (spontaneous lipolysis または spontaneous rancid)、他は、さらに均質化、攪拌などの処理を加えてはじめて rancid となる (induced lipolysis, induced rancid)。HEMINGWAY¹²⁾によれば、個乳の 21%、牛群乳の 50%以下がリパーゼによる欠陥風味を示した。KITCHEN and ASTON¹³⁾は、牛乳の冷却、攪拌、泡立と lipolysis の関係を追試し、冷却の早さよりも攪拌の程度が重要であるとした。一部の牛乳だけが rancid になる理由として、冷却により脂肪球に吸着される膜リパーゼが多いとする TARASUK and FRANKEL の説¹⁴⁾が一般に信じられていたが、これを否定する報告もみられる。DOWNEY¹⁵⁾は、膜リパーゼとブラズマリパーゼは同じ TR リパーゼと考えた。一方、CASTBERG and SOLBERG¹⁶⁾は同じ LP リパーゼであるとし、induced lipolysis と spontaneous lipolysis の差は、基質の状態と賦活剤 (血清、ヘパリン) や阻害剤の存在による差にすぎないと述べている。SCHIPPER and JELLEMA¹⁷⁾、JELLEMA¹⁸⁾は、正常乳にリボ蛋白を加えると rancid になることから、LPリパーゼにより spontaneous lipolysis が起ると考えた。DRISSSEN and STADHOUDERS¹⁹⁾は、牛乳はすべて LP リパーゼを含むが、spontaneous lipolysis を起す牛乳は LP リパーゼの賦活物質を含むとし、それは血清中に存在し、耐熱性があり、ホスホリパーゼ C により除去出来ると報告している。TRリパーゼも、LPリパーゼも、反応生成物は同じであるから、牛乳の rancid を考える時はどちらであってもよい。

脂肪球膜の構造は、リパーゼと脂肪の接触を支配するので、重要な因子であるが、WOODING²⁰⁾の詳細な電子顕微鏡的研究がある。冷却による脂肪球膜蛋白の一部の脱落²¹⁾も lipolysis に関与していると思われる。

搾乳直後の牛乳の、遊離脂肪酸量を示す Acid Degree Value (ADV) は、年令、乳期、乳量と関係がない²²⁾といわれるが、冷蔵時における ADV の増加、すなわち lipolysis、と生理的条件についての報告は多い。末期乳、冬乳が rancid になり易いことは一般に認められているが²³⁻²⁹⁾、否定的な報告³⁰⁾もある。低エネルギー飼養により、BORGES ら³¹⁾は、乳量の減少と、リパーゼ活性の低下を認めたが、rancid になり易い牛乳が生産された報告³²⁻³⁴⁾もある。HUNTER²²⁾は、泌乳末期と低乳量の時に ADV が増加することを示し、JELLEMA and SCHIPPER³²⁾は、泌乳期よりも低乳量と関係が深いとし、ORTIZ ら²⁶⁾は、牛体の栄養状態との相関を否定した。発情前期に牛乳および血液のリパーゼ活性が最大になるといわれ³⁵⁾、また、エストロジェンや卵胞刺激ホルモンの注射により rancid の傾向がみられるという³⁶⁾。JELLEMA and SCHIPPER³²⁾は、LP リパーゼによる rancid を示唆しているが、賦活物質の乳中への分泌はホルモンにより支配されるとしている。

TALLAMY and RANDOLPH³⁷⁾、RANDOLPH³⁸⁾は、乳房炎試験陽性乳の ADV およびリパーゼ活性は明らかに高いとし、JELLEMA^{32,39,40)}は細胞数と lipolysis の起り易さの間に正相関を認めているが、否定する報告^{41,42)}もみられる。LUHTALA⁴¹⁾は、リパーゼ活性と細胞数の間に明確な負相関を認め、さらに、細胞数とグリセライド合成の間にも相関を認めた⁴³⁾。ERWIN and RANDOLPH⁴⁴⁾は、乳房炎乳の脂肪球膜に結合したリパーゼの存在を否定した。乳房炎の場合、血液成分の乳中への漏出が増加するから、LP リパーゼとの関連性が注目される。

パイプラインミルクの影響については、脂肪球が均質化効果をうけるためリパーゼが働き、rancid の原因となることは、すでに米国で確認されたが、その後も同様の報告が多く発表された。すなわち、バケット型ミルクによる牛乳よりも ADV が高い原因は、空気の混入による泡立^{45,46)}、牛乳が乳頭から上部パイプラインに昇るまでの攪拌²⁹⁾、パイプ内の乱流⁴⁷⁾などによる過剰な攪拌が、液状の脂肪に及ぼす均質化効果であることが報告され、パイプラインの長さに従って ADV が増加することも示された⁴⁸⁾。GHOLSON ら⁴⁹⁾は、パイプラインが乳房より 0.6 m 下、および、1.2 m 上に配置された場合を比較したが、48 時間冷蔵による ADV 増加の程度は、後者の場合は、前者の 1.7 倍であった。JELLEMA and SCHIPPER⁴⁶⁾、

Doody ら²⁸⁾も同様の結果を示した。rancid を防ぐ様なパイプラインミルクの設計について、具体的な注意事項がまとめられている⁵⁰⁾。米国で用いられているパイプラインミルクは、泡立ちを防ぐため、牛乳は、乳房よりも低い位置のパイプを通り (low-level milk pipeline) 小タンクに導かれ、ポンプでバルククーラーに送られる。しかも、小タンク内の牛乳が一定のレベル以下になると自動的にポンプが停止して空転を防ぎ、rancid の問題をほぼ完全に解決した。米国における牛乳リパーゼの研究が少なくなったのも、その必要性が一段落したからであろう。一方、欧州においては、バルククーラーの導入など、集乳方法の変化に伴い、微生物に由来するリパーゼの問題も含めて、調査、研究されるようになった。

バルククーラーを使用する場合、速かに 4℃以下に冷却することが必要で⁵¹⁾、15℃と 40-50℃⁵²⁾、あるいは 37℃¹³⁾で攪拌すると、lipolysis が起り易いといわれる。HENNINGSON and ADAMS⁵³⁾は、脂肪球において、液体脂肪と固体脂肪がある割合のとき lipolysis が起り易いことを示唆した。冷却時に、比較的融点の低い脂肪が脂肪球外に滲出することは考えられる^{54,55)}ので、冷却方法と lipolysis の関係は無視出来ない。また、牛乳の凍結⁵⁶⁾やタンク内の攪拌、集乳時のポンプ使用が過剰⁵⁷⁻⁵⁹⁾のため ADV が増加する。バルククーラー乳は、輸送缶乳よりも ADV が高いといわれる^{48,60)}が、缶冷却からバルククーラーに変えたため rancid を起した農場で、パイプラインの洗浄を完全にし、バルククーラーへの導入パイプを底の近くまでのばすことにより改善した事例が報告された⁶¹⁾。

牛乳が冷蔵される時間が長くなると、低温菌による lipolysis が問題とされる。10℃ 48 時間の保存で、脂肪分解能を有する細菌の増殖は認められず⁶²⁾、LACROSSE⁶³⁾は、冷蔵した牛乳、クリームについて、細菌による lipolysis は無視出来ると述べた。しかし、低温細菌には脂肪分解能をもつものが多く^{64,65)}、しかも低温細菌の生成するリパーゼは耐熱性が大きい⁶⁶⁻⁶⁹⁾。したがって、細菌数が多い場合は注意が必要である。DOWNEY⁷⁰⁾は、HEESCHEN の結果をもとに、細菌数が $10^5/\text{ml}$ 以下であれば、6℃以下、3 日間の保存では、細菌のリパーゼだけによる lipolysis は重要でないとしている。CHRISOPE⁷¹⁾は、細菌に由来するホスホオリパーゼ C により、脂肪球膜に吸着されたレシチンが分解されると、lipolysis が起り易いと報告した。細菌のリパーゼについては、低温細菌ならびにチーズ製造に利用される細菌の対象として多数の研究が報告されている^{72,73)}。

lipolysis を起した牛乳は、ミルコテストによる脂肪

測定に影響し、トリトンの添加量を増す必要がある⁷⁴⁾。また、脱脂乳の分離が悪くなり⁷⁵⁾、はっこう乳にするときは、低 pH のため rancid が明瞭になる⁷⁶⁾。低温細菌に由来するリパーゼの大部分はクリーム部分に移行し⁷⁷⁾、5℃以下のバルククーラーに3日間保存した牛乳から製造したバターは、リパーゼのため品質が劣るといわれる⁷⁸⁾。チェダーチーズでも同様である⁷⁹⁾。SUHREN ら⁸⁰⁾は、市乳の ADV を調査した結果、微生物による lipolysis は一部にすぎないとし、生産、加工工程におけるパイプライン内の流れの状態を重視した。

牛乳のリパーゼ・システム

阻害剤や、至適 pH の研究から、牛乳中には2種類、あるいはそれ以上のリパーゼが存在するといわれた⁸⁾が、最近、LP リパーゼと TR リパーゼの関係が検討されている。CASTBERG および協同研究者達^{16,81-83)}は、アフィニティクロマトグラフィやゲル濾過、抗体反応、その他の性質から、牛乳中には LP リパーゼのみが存在するとした。OLIVECRONA ら⁸³⁾は、この LP リパーゼは種々の組織に存在する LP リパーゼと同じ、または、非常に似ているとし、さらに、牛乳に LP リパーゼが多いにもかかわらず活性が低いのは、Activator peptide がないためと、脂肪球表面が蛋白質で保護されているためとしている。DRIESSEN and STADHOUDERS^{19,84)}は、TR リパーゼと LP リパーゼの存在を報告したが、両者が同じ酵素である可能性も認めている。DOWNEY¹⁵⁾は、その研究成果と文献の詳細な検討から、両者を分けることが出来ないし、NaCl の阻害効果は TR リパーゼでも認められ、LP リパーゼは基質によってはリポ蛋白がなくても作用を示すので、牛乳中には TR リパーゼだけが存在し、LP リパーゼは認め難いとした。

EGELRUD and OLIVECRONA は 7,000 倍⁸⁵⁾に純化したものについて LP リパーゼと結論しているが、他の報告はそれ程高純度のリパーゼを得ていない。リパーゼ源としてカゼインミセルを用いた場合、その一部は可溶化する。また、胆汁酸やリポ蛋白の添加は、脂肪の分散状態、脂肪球表面部の構造にも影響を与える。添加物が基質の物理的性状に及ぼす影響については、あまり考慮されていないので検討が必要である。遊離となった高級脂肪酸は、水と脂肪の界面に残り、リパーゼ作用を阻害するので、トリオレインやトリステアリンを基質とするときは脂肪酸受容体としてリポ蛋白の蛋白部分や、血清アルブミンを必要とするので LP リパーゼと考えられ、トリブチリンを基質とするときはこれらが不要であるから TR リパーゼといわれ、乳脂肪を基質とするときは、高級脂肪

酸も低級脂肪酸も含まれるので両者の性質を示すと考えられる。DOWNEY も OLIVECRONA らも1種類のリパーゼを含む点では一致している。OLIVECRONA は、DOWNEY との討論⁸⁶⁾の中で、用語に問題があるとし、“milk lipolytic enzymes”の様な新しい名称の必要性を述べている。

牛乳中におけるリパーゼ活性の一部が脂肪球に、大部分がカゼインミセルに結合していることはすでに知られている。DOWBEN ら⁸⁷⁾は分離した脂肪球膜物質に活性を認めなかったが、バターミルク中のリパーゼは、比重の小さい粒子に多く結合しているので、脂肪球膜物質の精製中に除去される可能性が多いといわれる⁸⁸⁾。SAITO and IGARASHI⁸⁹⁾は、脂肪球膜表層部から 1 M NaCl で抽出分離したリポ蛋白様物質に、脱脂乳の数倍の比活性を認めた。DILL ら⁹⁰⁾は、脱脂乳をセファロース 4B でゲル濾過したとき、ボイドボリュームの位置に活性を認め、それを microsomal fraction (plasma membrane fraction) とし、脱脂乳中でリパーゼ活性を示す唯一の成分とした。

リパーゼと結合しているカゼインとしては、 κ -カゼインが示唆されている場合が多い。FOX ら⁹¹⁾は、ジメチルホルムアミドにより、 κ -カゼインからリパーゼを分離させた。GAFFNEY ら⁹²⁾は、レンネットカゼインの水抽出液からリパーゼの精製を試み、ゲル濾過により⁹³⁾、脱脂乳の 200 倍程度の活性をもつ分子量 10,000 以下の成分を得たが、 κ -カゼインのグリコマクロペプチドと同様に、ノイラミン酸を含むという。一方、TRUE⁹⁴⁾は、 κ -カゼイン量からリパーゼ活性を推定出来ないとし、リパーゼは分子量 20 万の蛋白質と結合しているとした。 β -カゼインとの結合も示唆され、単一のカゼイン成分と結合しているとは限らないようである⁹⁵⁾。

一方、カゼインミセルの段階に戻って、リパーゼとの関係が研究されている。SHARMA and GANGULI⁹⁶⁾は、活性の 80% がカゼインミセルに結合しているとし、SAITO and HIROSE⁹⁷⁾は、脱脂乳の活性の 94% がカゼインミセルにみられ、遠心分離で大、中、小に分けると、蛋白質は 21, 62, 17, 活性は 16, 71, 13 の割合で分布することを示した。カゼインミセルとリパーゼの結合については、DOWNEY and MURPHY⁹⁸⁾の詳しい検討がある。彼等⁹⁹⁾は、膵臓リパーゼが、カゼインミセルおよび可溶性カゼインと結合することを示し、後者との結合は、セファロース 2B によるゲル濾過中にかなり解離するとのべた。カゼインミセルに結合したリパーゼのかなりの部分が、NaCl やヘパリンの添加によって分離する。DOWNEY and ANDREWS¹⁰⁰⁾は、0.75M NaCl により活性の 65% が可溶部に移行し、ゲル濾過により5区分にわかれ、それぞれ、基質特異性に若干差があることを認めた。SAITO

ら¹⁰¹⁾は、カゼインミセルを 1 M NaCl に分散させ、超遠心沈殿部と上澄部に 4:6 の割合で活性がわかれ、上澄部の比活性は沈殿部の 3 倍になることを示した。また、上澄部をゲル濾過 (セファデックス G-100) し、ボイドボリュームに近い位置に活性の大部分を検出した¹⁰²⁾。カゼインミセル表層部にリパーゼが比較的多いが、一方、1 M NaCl による洗浄を繰返しても沈殿部に活性が残るので、ミセル内部にもリパーゼが分布し、ミセル態の場合は、表面部分のリパーゼだけが活性を示すので、比活性が真の値よりも低いと考えられる。ミセル構造とリパーゼの関係について、DOWNEY⁷⁰⁾がヘパリン、NaCl の影響を含めて模式的に図示している。

カゼインミセルを用いて、リパーゼの性質が調査された。ROBERTSON ら^{103,104)}によれば、種々の阻害剤の効果は、pH、基質濃度によって変るが、塩化鉄や、塩化銅による拮抗阻害作用は pH と関係なく、低級脂肪酸の選択的遊離は、pH の増加、基質濃度の減少、温度の低下により増加した。EDMONDSON ら¹⁰⁵⁾は、鉄塩を加えると耐熱性が増加し、HTST 法市乳に rancid を起すと述べた。齋藤ら¹⁰⁸⁾は、加熱に対する基質の保護効果を示し、さらに、 γ 線照射による失活の場合¹⁰⁷⁾も同様の効果を認め、特に基質を加えて照射すると、照射温度 5℃ではトリブチリン、同 37℃ではトリブチリンと乳脂肪が保護効果を示し、基質が液体の場合、リパーゼと結合し保護効果を示すとしている。なお、凍結乾燥カゼインミセルの γ 線照射に対する耐性 (D_{87}) から、みかけの分子量は、カゼインポリマーの古典的分子量に近い 43 万としている。FOX and TARASSUK¹⁰⁸⁾は、脱脂乳から、塩析、ゲル濾過、カラムクロマトグラフィにより比活性 500 倍のリパーゼを分離し (回収率 10%)、分子量 21 万、至適 pH 9.2 とし、さらに、PATEL ら¹⁰⁹⁾は、同リパーゼはセリンブロッカ剤により著しく阻害されるが SH ブロッカ剤は効果が少いとし、セリンおよびヒスチジンが活性基に存在するとした。また、アミノ酸組成は既知のカゼインと異なるという。水牛乳からもリパーゼが分離され^{110,111)}、RIFAAT¹¹⁰⁾は分子量 17,000 と 42,000 の 2 種のリパーゼを認めている。CHANDAN ら¹¹²⁾は、セパレータースライムから精製したリパーゼ (分子量 7,000) について、活性基ブロッカ剤による完全な阻害はないことを示した。RICHTER and RANDOLPH¹¹³⁾も同様に、分子量 8,500 のリパーゼを得た。SHAHANI ら¹¹⁴⁻¹¹⁶⁾は、セパレータースライムから得たリパーゼは、彼等が脾臓から精製したリパーゼと類似していることを報告した¹¹⁴⁻¹¹⁶⁾。HARPER and GAFFNEY¹¹⁷⁾は、セパレータースライムの体細胞リパーゼが κ -カゼインに吸着されることから、牛乳中のリパー

ゼは、体細胞由来している可能性も認めている。

牛乳中の LP リパーゼが問題とされる前に、血液や、脂肪組織中の LP リパーゼが生化学者により詳細に研究された⁶⁾。すなわち、ヘパリンの注射により血液中に移行し、キロミクロンを分解し血清を清明化するもので、clearing factor lipase とも呼ばれた。キロミクロンとして存在する以外のトリグリセライドを分解するときは、それがリポ蛋白分子の表面に吸着されていることが必要とされた。リポ蛋白と基質を予め混合しておくか、血清を加える必要があり、また、遊離脂肪酸受容体としてアルブミンが必要といわれた。1 M NaCl やプロタミンによって活性が完全に阻害されるのが特徴とされた。この様な LP リパーゼが乳腺細胞から乳中へ移行すると思われる。キロミクロンは、牛乳脂肪球の 1/10 程度の大きさで、90% が脂肪で、燐脂質を数%含むといわれるが、その表面構造は、牛乳脂肪球とことなつたものであろう。したがって、LP リパーゼによるキロミクロンの分解を、牛乳中における脂肪球に対するリパーゼの作用と対比させることはむずかしい。脱脂乳中に LP リパーゼが存在することは KORN¹¹⁸⁾により報告されたが、均質化しないクリームを基質としたので誤解し、牛乳の lipolysis とは関係なく、むしろ乳腺内で働くものとした。その後、OLIVECRONA and LINDAHL¹¹⁹⁾が牛乳にヘパリン様物質の存在を示し、それが LP リパーゼと結合していると報告するまで、LP リパーゼは注意をひかなかった。OLIVECRONA ら¹²⁰⁾は、0.02 M クエン酸ソーダに透析してカゼインミセルを溶解させた脱脂乳から、ヘパリン・セファロースを用いたアフィニティクロマトグラフィにより純度 2,500 倍の LP リパーゼを得た。さらに、EGELRUD and OLIVECRONA⁸⁵⁾は、脱脂乳レンネットカードの 1 M NaCl 抽出分を硫酸分割後アセトン粉末とし、その抽出物から、ヘパリン・セファロースを用いて 5,000-7,000 倍の LP リパーゼを精製した。それは炭水化物を含み、最小分子量 62,000-66,000 で、血清添加により活性が 20 倍となり、1 M NaCl で完全に阻害された。さらに、血清を加えない場合について、基質特異性が少なく、血清の存在を必ずしも必要としないことを示した¹²¹⁾。彼等の LP リパーゼによりキロミクロンの脂肪が分解され、表層が巻き込まれていく様子が電子顕微鏡により観察され¹²²⁾、また、脂肪の 1, 3 の位置に特異的に働くことが示された¹²³⁾。なお、アフィニティクロマトグラフィによるリパーゼの分離¹²⁴⁾については、小杉¹²⁵⁾の解説がある。

LP リパーゼに対する賦活物質は総説¹²⁶⁾に詳しく述べられているが、人乳リポ蛋白¹²⁷⁾、ホスファチジルコリン¹²⁸⁾、アボプロテン¹²⁹⁾、activator polypeptide⁸³⁾なども

知られている。IVERIUS ら¹³⁰⁾は、LP リパーゼにヘパリンとリボ蛋白、血清を加えた時の活性の変化から、ヘパリンは阻害を防ぐだけであるとし、さらに精製 LP リパーゼもヘパリン様物質を含むと報告した。SUPER ら¹³¹⁾によれば、血漿中の賦活物質 ApoC-II の量は、飼料および血漿中の脂肪量の増加に伴って増加した。DRIESSEN and STADHOUDERS¹³²⁾は、spontaneous rancid を示す牛乳は熱安定のホスホリボ蛋白と考えられる物質を含み、それが LP リパーゼと複合物を作り、脂肪球に吸着されたとした。RAO ら¹³³⁾は、注射により血中グルコース含量を高めたところ、脂肪組織の LP リパーゼ活性は増加したが、牛乳中の LP リパーゼは影響されず、乳量や脂肪率とも無関係であった。

泌乳中において、乳腺リパーゼの大部分が $8 \times 10^4 G$ で遠心沈殿する区分に見られ、同じ性質の LP リパーゼが乳中に含まれるという¹³⁴⁾。ゲル濾過によれば、乳腺リパーゼの分子量は 200×10^5 以上であるが、ジメチルホルムアミドを加えると分子量 6×10^5 の位置に溶出した¹³⁵⁾。また、ラットを用いた実験であるが、泌乳時に乳腺のリパーゼ活性は著しく増大するが、同時に脂肪組織の活性は減少した^{136,137)}。これらの変化は、催乳ホルモンにより左右され¹³⁷⁾、乳腺におけるキロミクロンの取込みは LP リパーゼによるという¹³⁸⁾。

牛乳リパーゼと関連があるので、北欧グループによる人乳リパーゼの研究を紹介する。人乳、および牛乳の LP リパーゼは脂肪組織の LP リパーゼと同型で血漿の LP リパーゼと異なる¹³⁹⁾といわれたが、OLIVECRONA ら⁸³⁾は、牛乳 LP リパーゼは人乳や人血漿中の LP リパーゼと類似しているとし、血液におけるリボ蛋白代謝のモデルに利用出来るとしている。胆汁酸塩により、牛乳リパーゼは活性が変らないが、人乳では活性が著しく増大する¹⁴⁰⁾。HERNELL and OLIVECRONA^{141,142)}は、人乳脱脂乳部に胆汁酸塩で活性化されるリパーゼ (bile salt stimulated lipase)、同クリーム部に血清で活性化され胆汁酸塩で阻害されるリパーゼ (serum stimulated lipase) があるとし、後者をアフィニティクロマトグラフィにより 9,500 倍の純度に精製し、LP リパーゼの性質をもつと報告した¹⁴¹⁾。さらに、bile salt stimulated lipase は、トリオレインに作用する時は胆汁酸が必要であるが、トリブチリンや可溶性基質 (*p*-ニトロフェニル酢酸) などに作用する時は不要なことを見出した。そして、人乳中では安定であるがトリグリセライドの存在では胆汁酸塩がないと不活性化すると述べている¹⁴²⁾。また、bile salt stimulated lipase は、人乳中の脂肪を 30 分で全部分解出来る程度に存在し、pH 3.5 でも不安定で、トリブチンやキモシンで不

活性化されるが、胆汁酸塩で保護されるという¹⁴³⁾。

CASTBERG and HERNELL¹⁴⁴⁾によれば、人乳の lipolysis と LP リパーゼ活性の間は相関が高く、人乳を rancid にするのは LP リパーゼで、bile salt stimulated lipase は関与しないという。HERNELL ら¹⁴⁵⁾は、牛乳 LP リパーゼに対する抗血清は、人乳および人血漿中の LP リパーゼに対し交叉反応を示すが、bile salt stimulated lipase に対しては反応しないと、アフィニティクロマトグラフィによるリパーゼの分別分離に抗血清を利用した。

リパーゼ活性の測定と lipolysis の検出

リパーゼ活性の測定には、遊離脂肪酸の定量ばかりでなく、基質の乳化法が重要な問題となる。均質化乳、乳化脂肪 (Ediol, Intralipid など)、トリブチリンなどが用いられるが、基質の種類、乳化法、純度などの差が各研究者の結果を比較するときに混乱をまねく。目的に応じた慎重な基質の選択、調製が必要である。遊離脂肪酸の定量法として、抽出滴定法は、終末点の判定が難しく、滴定速度の影響などのため熟練を要するので、PARRY ら¹⁴⁶⁾は、トリブチリンを基質として pH スタット法により活性を測定し、シリカゲルクロマトグラフ滴定法 (HARPER 法) よりも高い値を与えるとした。SAITO ら¹⁴⁷⁾は、透析した殺菌均質化乳を基質源として pH スタット法を検討し、基質濃度の影響が HARPER 法よりも小さく、高濃度の場合、pH スタット法の方が低い値を与えることを示した。高級脂肪酸も生成されるためであろう。その後、LUHTALA and ANTILA¹⁴⁸⁾は、PARRY 法を改良し、乳脂肪がよい基質であるとした。一方、比色法では、ローダミン B¹⁴⁹⁾ またはローダミン 6B¹⁵⁰⁾ が用いられたが、前者は炭素数 10 以上の脂肪酸を測定し、牛乳の rancid を検定するには利用出来るが、後者は精度が不十分といわれる¹⁵¹⁾。放射性脂肪酸を含むトリグリセライドを基質とし、放射能により脂肪酸量を測定する方法も発表された^{152,153)}。乳質検査のひとつとして遊離脂肪酸含量を知るための方法も検討工夫された¹⁵⁴⁻¹⁵⁷⁾。HARPER 法や、EDTA 処理後のエーテル・石油エーテル抽出法がもっとも高収率を示すが、低レベルの lipolysis を検出するためには、チャーニング法や、熱トリドン・ポリリン酸処理後遠心分離をする BDI 法がすぐれているといわれる¹⁵⁶⁾。また、自動分析装置 (Autoanalyzer II) を用い連続的に適定する方法も開発された¹⁵⁷⁾。

おわりに

リパーゼは、脂肪・水の界面で作用するため疎水性の部分があり、そこに活性基があると考えられているが、

BROCKERHOFF^{158,159)}は、腓臓リパーゼについて、ジサルファイド結合で安定化され、酸性基を含まない疎水性頭部が、活性中心を脂肪相に向けて界面に位置し、親水性尾部を水相に向けたモデルを示した。活性中心は、セリン-ロイシンで、近くにヒスチジンが必要としている。カゼインのアミノ酸配列¹⁶⁰⁾をみると、セリン-ロイシン部分が α_1 カゼインでは1か所にすぎないが、 β , κ -カゼインでは、それぞれ、5, 3か所あり、しかも疎水性のアミノ酸が多いことは興味がある。

リパーゼは特定のカゼイン成分そのものであるとする考え方と、リパーゼがカゼインに吸着あるいは結合したとする考え方があり、また、いろいろな分野の研究者も加わり、やや混乱した状態であるが、それだけに、リパーゼとカゼインの関係、リパーゼに対する感受性と脂肪球表層部の関係などが解明されるのも近いと思われる。

なお、乳製品の中で、リパーゼ、あるいは lipolysis が品質により影響を与えるのは、ある種のチーズにすぎないと考えられていたが、最近、乳脂肪にカビや腓臓リパーゼを作用させ、乳製品、あるいは乳成分を多く含む食品の風味を改善する研究が屢々報告されている。ARNOLD ら¹⁶¹⁾の総説を参照されたい。

文 献

- JENSEN, R. G., J Dairy Sci 47: 210-215. 1964.
- CHANDAN, R. C., and K. M. SHAHANI, J Dairy Sci 47: 471-480. 1964.
- PITAS, R. E., J. SAMPUGNA, and R. G. JENSEN, J Dairy Sci 50: 1332-1336. 1967.
- BRECKENRIDGE, W. C., and A. KUKSIS, J Lipid Res 9: 388-393. 1968.
- BELL, L. I., and J. G. PARSONS, J Dairy Sci 60: 117-122. 1977.
- BROCKERHOFF, H., and R. G. JENSEN, Lipolytic Enzymes. Academic Press. New York. 1974.
- DEETH, H. C., and C. H. FITZ-GERALD, Aust J Dairy Technol 31: 53-64. 1976.
- SCHWARTZ, D. P., Fundamentals of Dairy Chemistry 2nd ed. WEBB, JOHNSON and ALFORD, eds. 220-239. AVI Pub. Co. Westport. 1974.
- JENSEN, R. G., Progr Chem Fats Other Lipids 11: 347-394. 1971.
- KUZZAL-SAVOIE, J. E. A., R. MOURGUES, and D. LANGLOIS, Lait 548: 530-543. 1975.
- 斎藤善一, 酪農科学の研究 16: A1-13. 1967.
- HEMINGWAY, E. B., G. H. SMITH, and J. A. F. ROOK, J Soc Dairy Technol 23: 44-48. 1970.
- KITCHEN, B. J., and J. W. ASTON, Aust J Dairy Technol 25: 10-13. 1970.
- TARASSUK, N. P., and E. N. FRANKEL, J Dairy Sci 40: 418-430. 1957.
- DOWNY, W. K., Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc 86: 80-89. 1975.
- CASTBERG, H. B., and P. SOLBERG, Meieriposten 63 (51/52): 961-975. 1974.
- SCHIPPER, C. J., and I. A. JELLEMA, Int Dairy Fed A-Doc 13: 5-6. 1973.
- JELLEMA, A., Mededelingen Ned Inst Zuivelonderz, M8: 11-23. 1973.
- DRIESSEN, F. M., and J. STADHOUDERS, Neth Milk Dairy J 28: 130-145. 1974.
- WOODING, F. B. P., Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc 86: 7-10. 1975.
- ANDERSON, M., G. C. CHEESEMAN, D. J. KNIGHT, and W. F. SHIPE, J Dairy Res 39: 95-105. 1972.
- HUNTER, A. C., J. M. WILSON, and G. W. GREIG, J Soc Dairy Technol 21: 139-144. 1968.
- KODGEV, A., and R. RACHEV, 18th Int Dairy Congr 1E: 200. 1970.
- MENGER, J. M., Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc 86: 108-112. 1975.
- O'HALLORAN, J. C., M. G. FLEMING, and T. F. RAFTERY, Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc 86: 127-133. 1975.
- ORTIZ, M. J., E. M. KESLER, G. H. WATROUS, Jr., and W. H. CLONINGER, J Milk Food Technol 33: 339-342. 1970.
- STOBBS, T. H., H. C. DEETH, and C. H. FITZ-GERALD, Aust J Dairy Technol 28: 170-172. 1973.
- DOODY, K., J. O'SHEA, and T. F. RAFTERY, Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc 86: 146-155. 1975.
- HORAN, P. J., W. K. DOWNEY, and C. M. QUIGLEY, Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc 86: 141-145. 1975.
- HOLMER, D. R., and A. I. VIRTANEN, Milchwissenschaft 23: 163-166. 1968.
- BORGES, M. S., L. C. TRUE, and J. B. MICKLE, Oklahoma Agric Exp Stn MP-92: 278-284. 1974.
- JELLEMA, A., and C. J. SCHIPPER, Proc Lipolysis Sympo IDF Doc 86: 2-6. 1975.
- LEEUWEN, J. M. VAN., and A. JELLEMA, Bedrijfsontwikkeling 5: 315-318. 1974.
- GHOLSON, J. H., R. H. SCHEXNAILDER, and L. L. RUSOFF, J Dairy Sci 49: 1136-1139. 1966.
- WELLS, M. E., J. B. MICKLE, D. M. HAGGERTY, and O. P. PRYOR, J Dairy Sci 50: 1002. 1967.
- KÄSTLI, P., Wien Tierärztl Monatssch 60: 43-46. 1973.
- TALLAMY, P. T., and H. E. RANDOLPH, J Dairy Sci 52: 1569-1572. 1969.
- RANDOLPH, E. E., and R. E. ERWIN, J Dairy Sci 57: 865-868. 1974.
- JELLEMA, A., Off Orgaan FNZ 66: 334-336. 1974.

- 40) JELLEMA, A., *Neth Milk Dairy J* **29**: 145-152. 1975.
- 41) LUHTALA, A., *Meijeritiet Aikakausk* **29**: 7-65. 1969.
- 42) SINGH, L. N., and N. C. GANGULI, *Indian J Dairy Sci* **28**: 67-68. 1975.
- 43) LUHTALA, A., E. H. KOSHINEN, and M. ANTILA, *18th Int Dairy Congr 1E*: 79. 1970.
- 44) ERWIN, R. E., and H. E. RANDOLPH, *J Dairy Sci* **58**: 9-12. 1975.
- 45) TOLLE, A., and W. HEESCHEN, *Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc* **86**: 134-137. 1975.
- 46) JELLEMA, A., and C. J. SCHIPPER, *Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc* **86**: 138-140. 1975.
- 47) BACK, W.-D., *Milchwissenschaft* **28**: 628-636. 1973.
- 48) HUNTER, A. C., *Dairy Inds* **31**: 277-279. 1966.
- 49) GHOLSON, J. H., A. J. GELPI, Jr., and J. B. FRYE, Jr., *J Milk Food Technol* **29**: 248-250. 1966.
- 50) WORSTORFF, H., *Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc* **86**: 156-161. 1975.
- 51) WILLART, S., and G. SjöSTRÖM, *17th Int Dairy Congr A*: 287-295. 1966.
- 52) FITZ-GERALD, C. H., *Aust J Dairy Technol* **29**: 28-32. 1974.
- 53) HENNINGSON, R. W., and J. B. ADAMS, *J Dairy Sci* **50**: 961-962. 1967.
- 54) NORDLUND, J., and HEIKONEN, M., *19th Int Dairy Congr 1E*: 176-177. 1974.
- 55) SAITO, Z., *Bull Fac Agric Hirosaki Univ* **20**: 1-12. 1973.
- 56) WILLART, S., *Svenska Meijeritidn* **56**: 241-248. 1964.
- 57) MAGNUSSON, F., *17th Int Dairy Congr B*: 331-333. 1966.
- 58) MORRISSEY, P. A., and M. HICKEY, *Irish Agric Creamery Rev* **27**: 19-23. 1974.
- 59) OLKONEN, A. G., and V. E. KYAO, *Molochnaya Promyshlennost'* **4**: 24-27. 1975.
- 60) JELLEMA, A., *Meded Ned Inst Zuivelonderz* **M8**: 11-23. 1973.
- 61) JANZEN, J. J., *Circ S Carol Agric Exp Stn* **139**: 9 pp. 1964.
- 62) JENSEN, H. O., and M. S. HANSEN, *Dairy Sci Abstr* **36**: 364. 1974.
- 63) LACROSSE, R., *Milchwissenschaft* **21**: 278-279. 1966.
- 64) 菊地政則・松井幸夫, *日畜会報* **45**: 592-596. 1974.
- 65) STEWART, D. B., J. G. MURRAY, and S. D. NEILL, *Proc Lipolysis Sympo IDF Doc* **86**: 38-50. 1975.
- 66) KISHONTI, E., *Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc* **86**: 121-124. 1975.
- 67) SCHIPPER, C. J., *Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc* **86**: 113-115. 1975.
- 68) DRIESSEN, F. M., and J. STADHOUDERS, *Neth Milk Dairy J* **29**: 79-80. 1975.
- 69) DRIESSEN, F. M., and J. STADHOUDERS, *Neth Milk Dairy J* **28**: 10-22. 1974.
- 70) DOWNEY, W. K., *19th Int Dairy Congr Lecture B5(b)*: 323-352. 1974.
- 71) CHRISOPE, G. L., R. T. MARSHALL, *J Dairy Sci* **59**: 2024-2030. 1976.
- 72) LAWRENCE, R. C., *Dairy Sci Abstr* **29**: 1-8, 59-70. 1967.
- 73) 三河勝彦, *酪農科学・食品の研究* **25**: A205-215. 1976.
- 74) VAN REUSEL, A., *Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc* **86**: 185-186. 1975.
- 75) AULE, O., and H. WORSTORFF, *Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc* **86**: 116-120. 1975.
- 76) TUCKEY, S. L., and J. STADHOUDERS, *Neth Milk Dairy J* **21**: 158-165. 1967.
- 77) KISHONTI, E., and G. SjöSTRÖM, *18th Int Dairy Congr 1E*: 501. 1970.
- 78) KANKARE, V., and V. ANTILA, *18th Int Dairy Congr 1E*: 507. 1970.
- 79) DEETH, H. C., and C. H. FITZ-GERALD, *Aust J Dairy Technol* **30**: 74-76. 1975.
- 80) SUHREN, G., W. HEESCHEN, and A. TOLLE, *Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc* **86**: 51-57. 1975.
- 81) CASTBERG, H. B., T. EGELRUD, P. SOLBERG, and T. OLIVECRONA, *J Dairy Res* **42**: 255-266. 1975.
- 82) CASTBERG, H. B., T. EGELRUD, and T. OLIVECRONA, *19th Int Dairy Congr 1E*: 350-351. 1974.
- 83) OLIVECRONA, T., T. EGELRUD, O. HERNELL, H. CASTBERG, and P. SOLBERG, *Proc Lipolysis Sympo, IDF Doc* **86**: 61-72. 1975.
- 84) DRIESSEN, F. M., and J. STADHOUDERS, *Off Orgaan FNZ* **66**: 167-169. 1974.
- 85) EGELRUD, T., and T. OLIVECRONA, *J Biol Chem* **247**: 6212-6217. 1972.
- 86) OLIVECRONA, T., *Proc Lipolysis Sympo, IDF* **86**: 90. 1975.
- 87) DOWBEN, R. M., J. R. BRUNNER, and D. E. PHILPOTT, *Biochim Biophys Acta* **135**: 1-10. 1967.
- 88) BANDYOPADHYAY, A. K., and N. C. GANGULI, *Milchwissenschaft* **31**: 425-428. 1976.
- 89) SAITO, Z., and Y. IGARASHI, *Bull Fac Agric Hirosaki Univ* **15**: 50-56. 1969.
- 90) DILL, C. W., E. SUSTEK, and S. A. HERLICK, *J Dairy Sci* **58**: 137. 1975.
- 91) FOX, P. E., M. YAGUCHI, and N. P. TARASSUK, *J Dairy Sci* **50**: 307-312. 1967.
- 92) GAFFNEY, P. J. Jr., W. J. HARPER, and I. A. GOULD, *J Dairy Sci* **49**: 921-924. 1966.
- 93) GAFFNEY, P. J. Jr., W. J. HARPER, and I. A. GOULD, *J Dairy Sci* **51**: 1161-1165. 1968.
- 94) TRUE, L. C., *Dairy Sci Abstr* **33**: 797. 1971.

- 95) SAITO, Z., and Y. IGARASHI, *Bull Fac Agric Hiro-saki Univ* **17**: 126-135. 1971.
- 96) SHARMA, R. S., and N. C. GANGULI, *Enzymologia* **40**: 337-344. 1971.
- 97) SAITO, Z., and M. HIROSE, *Bull Fac Agric Hiro-saki Univ* **18**: 35-42. 1972.
- 98) DOWNEY, W. K., and R. F. MURPHY, *Proc Lipoly-sis Sympo, IDF Doc* **86**: 19-23. 1975.
- 99) DOWNEY, W. K., and R. F. MURPHY, *J Dairy Res* **37**: 47-59. 1970.
- 100) DOWNEY, W. K., and P. ANDREWS, *Biochem J* **112**: 559-562. 1969.
- 101) SAITO, Z., Y. IGARASHI, and H. NAKASATO, *Bull Fac Agric Hiro-saki Univ* **18**: 22-34. 1972.
- 102) SAITO, Z., and Y. IGARASHI, *Bull Fac Hiro-saki Univ* **17**: 126-135. 1971.
- 103) ROBERTSON, J. A., W. J. HARPER, and I. A. GOULD, *J Dairy Sci* **49**: 1386-1393. 1966.
- 104) ROBERTSON, J. A., W. J. HARPER, and I. A. GOULD, *J Dairy Sci* **49**: 1394-1400. 1966.
- 105) EDMONDSON, L. E., F. W. DOUGLAS Jr, and J. K. AVANTS, *J Dairy Sci* **54**: 1422-1426.
- 106) 齋藤善一・中村信吾・五十嵐康雄, *酪農科学の研究* **18**: A176-182. 1969.
- 107) 齋藤善一, *酪農科学の研究* **23**: A153-158. 1974.
- 108) FOX, P. E., and N. P. TARASSUK, *J Dairy Sci* **51**: 826-833. 1968.
- 109) PATEL, C. A., P. F. FOX, and N. P. TARASSUK, *J Dairy Sci* **51**: 1879-1886. 1968.
- 110) RIFAAT, I. D., G. M. EL-SADEK, A. T. ABD-EL-AAL, and A. A. ISMAIL, *Egyptian J Dairy Sci* **2**: 127-134. 1974.
- 111) SAMMANWAR, R. D., and N. C. GANGULI, *19th Int Dairy Congr* **1E**: 349-350. 1974.
- 112) CHANDAN, R. C., K. M. SHAHANI, J. SAMPUGNA, and R. G. JENSEN, *J Dairy Sci* **49**: 1150-1152. 1966.
- 113) RICHTER, R. L., and H. E. RANDOLPH, *J Dairy Sci* **54**: 1275-1281. 1971.
- 114) KHAN, I. M., R. C. CHANDAN, and K. M. SHAHANI, *J Dairy Sci* **59**: 840-846. 1976.
- 115) SHAHANI, K. M., I. M. KHAN, and R. C. CHANDAN, *J Dairy Sci* **59**: 369-375. 1976.
- 116) CHANDAN, R. C., I. M. KHAN, and K. M. SHAHANI, *J Dairy Sci* **59**: 847-853. 1967.
- 117) HARPER, W. J., and P. GAFFNEY, *Centennial Res Ser* **6**: 1-26. Dept. Dairy Tech., Ohio State Univ. Columbus, 1970.
- 118) KORN, E. D., *J Lipid Res* **3**: 246-250. 1962.
- 119) OLIVECRONA, T., and U. LINDAHL, *Acta Chem Scand* **23**: 3587-3589. 1969.
- 120) OLIVECRONA, T., T. EGELRUD, P.-H. IVERIUS, and U. LINDAHL, *Biochem Biophys Res Commun* **43**: 524-529. 1971.
- 121) EGELRUD, T., and T. OLIVECRONA, *Biochim Biophys Acta* **306**: 115-127. 1973.
- 122) BLANCHETTE-MACKIE, E. J., and R. O. SCOW, *J Lipid Res* **17**: 57-67. 1976.
- 123) NILSSON-EHLE, P., T. EGELRUD, P. BELFRAGE, T. OLIVECRONA, and B. BORGSTÖM, *J Biol Chem* **248**: 6734-6737. 1973.
- 124) KOSUGI, Y., and H. SUZUKI, *J Lipid Res* **17**: 307-313. 1976.
- 125) 小杉佳次, *化学と生物* **14**: 580-581. 1976.
- 126) JENSEN, R. G., and R. E. PITAS, *J Dairy Sci* **59**: 1203-1214. 1976.
- 127) BIER, D. M., and R. J. HAVEL, *J Lipid Res* **11**: 565-570. 1970.
- 128) BLATON, V., D. VANDAMME, and H. PEETERS, *FFBS Lett* **44**: 185-188. 1974.
- 129) ÖSTLUND-LINDQVIST, A.-M., and P.-H. IVERIUS, *Biochem Biophys Res Commun* **65**: 1447-1455. 1975.
- 130) IVERIUS, P.-H., U. LINDAHL, T. EGELRUD, and T. OLIVECRONA, *J Biol Chem* **247**: 6610-6616. 1972.
- 131) SUPER, D. M., D. L. PALMQUIST, and SCHAN-BACHER, F. L., *J Dairy Sci* **59**: 1409-1413. 1976.
- 132) DRIESSEN, F. M., and J. STADHOUDERS, *Proc Li-polysis Sympo, IDF Doc* **86**: 73-79. 1975.
- 133) RAO, D. R., G. E. HAWKINS, R. C. SMITH, *J Dairy Sci* **56**: 1415-1419. 1973.
- 134) ASKEW, E. W., R. S. EMERY, and J. W. THOMAS, *J Dairy Sci* **53**: 1415-1423. 1970.
- 135) COOPER, D. M. F., and W. K. DOWNEY, *Biochem J* **125**: 95p-96p. 1971.
- 136) HAMOSH, M., T. R. CLARY, S. S. CHERNICK, and R. O. SCOW, *Biochim Biophys Acta* **210**: 473-482. 1970.
- 137) ZINDER, O., M. HAMOSH, T. R. C. FLECK, and R. O. SCOW, *Am J Physiol* **226**: 744-748. 1974.
- 138) ZINDER, O., C. R. MENDELSON, E. J. BLANCHETTE, and R. O. SCOW, *Biochim Biophys Acta* **431**: 526-537. 1976.
- 139) GANESAN, D., R. H. BRADFORD, P. ALAUPOVIC, and W. J. MCCONATHY, *FFBS Lett* **15**: 205-208. 1971.
- 140) CASTBERG, H. B., and P. SOLBERG, *Meieriposten* **61**: 783-795, 815-821. 1972.
- 141) HERNELL, O., and T. OLIVECRONA, *J Lipid Res* **15**: 367-374. 1974.
- 142) HERNELL, O., and T. OLIVECRONA, *Biochim Biophys Acta* **369**: 234-244. 1974.
- 143) HERNELL, O., *Europ J Clin Invest* **5**: 267-272. 1975.
- 144) CASTBERG, H. B., and O. HERNELL, *Milchwis-senschaft* **30**: 721-724. 1975.
- 145) HERNELL, O., T. EGELRUD, and T. OLIVECRONA, *Biochim Biophys Acta* **381**: 233-241. 1975.
- 146) PARRY, R. M., Jr, R. C. CHANDAN, and K. M. SHAHANI, *J Dairy Sci* **49**: 356-360. 1966.

- 147) SAITO, Z., Y. IGARASHI, and H. OHIRA, Bull Fac Agric Hirosaki Univ 14: 1-6. 1967.
- 148) LUHTALA, A., and M. ANTILA, Dairy Sci Abstr 31: 157. 1969.
- 149) NAKAI, S., J. J. PERRIN, and V. WRIGHT, J Dairy Sci 53: 537-540. 1970.
- 150) KASON, C. M., I. V. P. PAVAMANI, and S. NAKAI, J Dairy Sci 55: 1420-1423. 1972.
- 151) KUZDZAL-SAVOIE, S., and J. TREHIN, Proc Lypolysis Sympo, IDF Doc 86: 180-184. 1975.
- 152) KOSKINEN, E. H., A. LUHTALA, and M. ANTILA, Milchwissenschaft 24: 20-25. 1969.
- 153) NILSSON-EHLE, P., and M. C. SCHOTZ, J Lipid Res 17: 536-541. 1976.
- 154) HUNTER, A. C., J. M. WILSON, and G. W. BARCLAY, J Dairy Res 35: 19-24. 1968.
- 155) DEETH, H. C., C. H. FITZ-GERALD, and A. F. WOOD, Aust J Dairy Technol 30: 109-111. 1975.
- 156) STADHOUDERS, J., S. L. TUCKEY, and C. W. RAADSVELD, Neth Milk Dairy J 21: 150-157. 1967.
- 157) LINDQVIST, B., T. ROOS, and H. FUJITA, Milchwissenschaft 30: 12-17. 1975.
- 158) BROCKERHOFF, H., Chem Phys Lipids 10: 215-222. 1973.
- 159) BROCKERHOFF, H., Bioorg Chem 3: 176-183. 1974.
- 160) WHITNEY, R. M., J. R. BRUNNER, K. E. EBNER, H. M. FARRELL, Jr., R. V. JOSEPHSON, C. M. MORR, and H. E. SWAISGOOD, J Dairy Sci 59: 795-815. 1976.
- 161) ARNOLD, R. G., K. M. SHAHANI, and B. K. DWIVEDI, J Dairy Sci 58: 1127-1143. 1975.