ネパールヒマラヤ山系原産チーズの化学的微生物学的特徴

鴛田文三郎, 細野明義, 大谷 元, 中路洋子

(信州大学農学部畜産学科)

昭和 51 年 7 月 27 日 受理

Chemical and Microbiological Characteristics of Native Cheeses of the Nepal Himalayas

By Fumisaburo TOKITA, Akiyoshi HOSONO, Hajime OTANI and Yoko NAKAJI

Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture,

Shinshu University, Ina, Nagano-ken, 396

Three kinds of Churbi and one kind of Rau cheeses which were manufactured in the areas of the Nepal Himalayas were investigated.

General chemical composition of the Churbi cheeses was characterized by low moisture, low fat and high protein contents, that is, moisture content of the Churbi cheeses was *ca.* 9% in average, and protein content in the total solid was above 80%. Moisture content of the Rau cheese was 68.6%, whereas protein and fat contents were 23.9%, and 6.91%, respectively.

Protein decomposition of these Nepal cheeses was investigated by application of Sephadex G-100 gel filtration. From the elution patterns, it was noted that any proteins in these cheeses were scarcely hydrolyzed.

Microorganisms were found in every Churbi cheese but their number was very small. In the Rau cheese relatively large number of microorganisms was found, and one gram-positive strain of bacteria (Strain B-1) and two strains of yeasts (Strains Y-1 and Y-2) were isolated as dominant floras. Although these strains hydrolyzed milk protein, their proteolytic activities were not so significant. Growth of these strains in a whey medium was generally very slow, and assimilation of lactose was found only in Strain B-1.

(Received July 27, 1976)

緒 言

エベレストを主峰にもつヒマラヤ山系は、チベット自治区、ネパール、シッキム、ブータン各国の国境にまたがり、古来これらの地域に住む人々は、独特な乳利用文化を築き上げてきた。その乳利用の中できわめて特色のあるものの 1 つに、ヒマラヤ山麓地帯(海拔 2500 m~4000 m)に飼育されているヤク牛の乳から製造されるチーズが挙げられる。この種のチーズは、今日広く食されている西欧原産のものとは外観・風味・組織が本質的に異なっており、歴史的にみて、インドにその加工技術の起源を有しているといわれる⁽¹⁾。また、西欧原産のチーズには、レンネット凝固型のものが圧倒的に多いのに対し、

このヒマラヤ山系原産のチーズは酸凝固型であることも、1 つの特徴といえる。この種のチーズの製造法は、高山⁽²⁾の記載によると、おおむね次のとおりである。すなわち、ヤク牛の乳を煮沸し、少々煮た後、前日の tara (後述するように、バターを取った残液で、チーズを作る前の乳液をいい、いわば発酵バターミルクといえる)を少量加えて発酵させ、ヨーグルト状のものを作る。さらに、これを子牛の皮から作った袋に入れて約 2 時間ほどチャーニングを行なった後、バターの魂を取り除き、残液 tara を得る。この tara に 1 日前の発酵の度を増した tara を一定量加え、火にかけてチーズを分離させる。ya (雄ヤク牛の一種)の毛で作った袋にチーズを受けて固く搾り、固まった蛋白質 (wet cheese),

Table I. The Cheeses of the Nepal Himalayas Used in this Experiment

Sample No.	Types of cheeses	Characteristics	Purchase place and year
No. 1	Churbi	brown, hard, rod shaped	Solu Khumbu Phaphlu, Nepal (1975)
No. 2	Churbi	brown, hard, small rock shaped	Solu Khumbu Khumjung, Nepal (1975)
No. 3	Churbi	brown, hard, sandy	near the Tibet border, Nepal (1975)
No. 4	Rau	white, soft, curdy	Solu Khumbu Khumjung, Nepal (1975)

No. 1

No. 2

No. 3

No. 4

Fig. 1. Photographs of the Nepal Cheeses Analyzed in this Experiment.

Rau を得る。この Rau を手でしぼり、平たいザルの上にのせて戸外で干すことによって、ヒマラヤ原産チーズ特有の丸形や細長形をした Churbi (Corbi とともいう) ができるのである。

この Churbi は水分含量が低く、その組織はきわめて硬いことから、原地の人達はこれを蛋白質供給のための貴重な保存食として食べている。今日、Churbi もしくは Rau に関して、それらの製造法を紹介した記載⁽¹⁻⁴⁾が比較的多く見出されているにもかかわらず、この種のチーズの化学的特性については今なお不明な点が多く、それらに関する文献はほとんど見当たらない。

近年、ヒマラヤ山系に隣接する国々への学術調査が活発に行なわれており、ネパール^(5,6)やチベット^(7,8)など、これらの地域の酪農業や乳利用についての現状が詳しく報告されつつある。

著者らは、信州大学農学部ネパール調査隊が原地から持ち帰った Churbi、ならびに Rau について化学分析を

行なうとともに、それらについての微生物学的知見をも加えながら、ネパール原産チーズの特性を西欧原産チーズとの違いから論じた。

実験方法

1. 試料ならびにその調製 信州大学農学部ネパール調査隊が1975年、原地シェルパより購入した Rau ならびに Churbi (各々の外観的特徴を Table I および Fig. 1 に示した。なお、これらのチーズには芳香がほとんどなく、咀嚼すると弱い酸味が感じられ、旨味にきわめて乏しい) を試料とした。

これらの試料を各々ビニール袋に密封し、分析を行なうまで冷蔵庫 (4°C) に保存した。分析に際し、必要量を取り出して粉末状に砕き、以下の分析に供した。

2. チーズの一般分析 水分、脂肪、蛋白質、灰分の定量は常法⁽⁹⁾に準じて行なった。なお、熟成の度合を知る指標として下記の式を用いた。

$$\text{Index number (I.N.)} = \frac{\text{水溶性窒素}}{\text{全 窒 素}} \times 100(\%)$$

3. チーズ蛋白質の Sephadex G-100 による篩別

チーズ試料約 1g を 30ml の 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.0) に、既報の方法⁽¹⁰⁾に準じて溶解させた。その 20ml を Sephadex カラム (3×45 cm) に入れて、0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で毎分 1ml の流速で流出させた。流出液を 5ml ずつフラクションコレクターで集め、各々について 280 nm での吸光値を測定した。

4. 薄層クロマトグラフィーによる糖の定性

2 で調製した水溶性窒素測定用の試料を糖定性のための試料とした。ワコーゲル B-10 を塗抹したプレートに活性化後、試料を適量スポットし、メチルエチルケトン:酢酸:メタノール (3:1:1)⁽¹¹⁾を展開剤として、室温で展開を行なった。顕色試薬に 20% H₂SO₄:0.2% ナフトレゾルシン-エタノール溶液 (1:1)⁽¹¹⁾を用いて、純品の R_f 値から未知スポットの同定を行なった。

5. 平板培養による菌数測定

チーズ試料をできるだけ中心部分から無菌的に取り出して、その 0.1g を正確に秤量後、無菌的に十分細かく砕いて滅菌生理的食塩水 10ml に懸濁させた。これを適当な希釈率において下記の 4 種の培地に 30°C・48 時間 (培地 (ii) のみ 72 時間) 平板培養し、もとのチーズ 0.1g 当りの菌数を算出した。

- (i) コウジ汁寒天培地⁽¹²⁾ (pH 4.5)
- (ii) シャベック寒天培地⁽¹²⁾ (pH 7.0)
- (iii) 肉汁-ペプトン寒天培地 (肉エキス 1%, ペプトン 1%, NaCl 0.5%, 寒天 2%, pH 7.0)
- (iv) 乳糖-ペプトン寒天培地 (乳糖 1%, ペプトン 0.7%, 酵母エキス 0.5%, Na₂HPO₄ 0.6%, NaH₂PO₄ 0.4%, 寒天 2%, pH 7.0)

6. 分離菌株の乳蛋白質分解性の検討

5 で検出した菌のうち、主要菌叢をなす菌株を分離して同一培地で培養した後、10ml の脱脂乳培地 (乳固形分 12%) の入った試験管に 1% 量接種し、30°C で 7 日間培養した。経時的に試験管を取り出し、5% トリクロル酢酸溶液 (TC.A) 10ml を加えて、濾液中の窒素量を Folin-Ciocalteu 法⁽¹³⁾により求めた。

7. 分離菌株の乳糖資化性の検討

乳糖資化性をホエー培地での生育性と、下記する洗浄菌体抽出液による乳糖分解性の有無から判定した。

すなわち、酵母エキス 0.5%, ペプトン 0.5%, 乳糖 1.0%, NaH₂PO₄ 0.4%, Na₂HPO₄ 0.6% から成る培地

Fig. 2. Elution Patterns of the Cheeses of the Nepal Himalayas by Sephadex G-100.

A column of Sephadex G-100 (3×45 cm) was equilibrated with 0.1M phosphate buffer (pH 7.0). Elution was performed with the same buffer at a flow rate of 1 ml/min.

(pH 6.5) に分離菌を 30°C, 48 時間培養した後、菌体を分離して超音波処理により、菌体抽出液を得た。その抽出液 5ml を、2% の乳糖を含む 0.1M リン酸緩衝液 (pH 6.8) 5ml に加えて 30°C で反応させ、0, 1, 3, 5, 24 時間後の反応物を試料として、4 で記した方法により薄層クロマトグラフィーを行なった。

実験結果

1. 供試チーズの化学組成と Sephadex G-100 による篩別

4 種のチーズの水分、脂肪、蛋白質、灰分ならびに水溶性窒素の含量を Table II に示した。3 種の Churbi のうち、砂状を呈している No. 3 試料の脂肪含量が 15.4 % と最も高い値を示したのに対し、No. 1 および No. 2 試料では脂肪含量はその約 1/3 である。一方、No. 4 の

Table II. Chemical Composition of the Nepal Cheeses

Cheese sample	Moisture*	Total solid	Protein	Fat	Ash	Total-N	Water soluble-N	I.N.**
			(%)					
No. 1	8.88	91.12	84.96	5.61	0.55	13.31	1.50	11.26
No. 2	11.21	88.79	84.04	4.15	0.60	13.17	0.87	6.60
No. 3	6.89	93.11	76.93	15.44	0.74	12.05	1.87	15.51
No. 4	68.60	31.40	23.96	6.91	0.53	3.75	0.59	15.86

* moisture(%)=100-total solid(%),

** index number= $\frac{\text{water soluble-N}}{\text{total-N}}$ (%).

Fig. 3. Elution Patterns of Cheddar and Camembert Cheeses by Sephadex G-100.

A column of Sephadex G-100 (3×45 cm) was equilibrated with 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0). Elution was performed with the same buffer at a flow rate of 1 ml/min.

Rau の場合, Churbi とは本質的に異なった組成を示しており, 固形分が 31.4%と低い値を示している。

また, 各チーズの I.N. はいずれも低く, とりわけ No.2 試料では 6.60%と最も低い値を示している。

一方, 供試チーズにおける蛋白質の Sephadex G-100 カラムによる篩別パターンを Fig.2 に, また, これらと対比させる目的で市販のチェダーチーズ (オランダ製) およびカマンベールチーズ (デンマーク製) 内蛋白質の同一カラムによる篩別パターンを Fig.3 に示した。Fig.2 より明らかなように, 4種のチーズとも void volume 中に流出するピーク I が主要ピークをなし, ピーク IV が No.2 および No.4 試料にわずかに見出されるのみである。これに対して, 市販のチェダーチーズならびにカマンベールチーズの場合では Fig.3 に示すとおり, それぞ

れ 4 つのピーク (I, II, III, IV) と 3 つのピーク (I, II, IV) が現われ, チーズ内蛋白質の分解が円滑に進行しているのが認められる。特に, カマンベールチーズでは *Pen. camemberti* のプロテアーゼの強さ^(14,15)を裏づけて, 低分子画分から成るピーク IV が主体をなしている。

これらチーズに含まれている糖類についてみると, Fig.4 に示すように, No.1, No.2, No.3, No.4 のチーズに乳糖 ($R_f=0.22$), グルコース ($R_f=0.41$) の 2 つの糖が, そして No.2 のチーズからは, そのほかにガラクトース ($R_f=0.32$) が検出されている。

2. 微生物学的特性

4種のチーズ試料についての菌数測定の結果を Table III に示した。いずれの Churbi においても, 菌数はきわめて少ないことが Table III から認められる。これらの菌は, 形状ならびにコロニーの性状から判定すると, すべて細菌と判定されるが, 実験過程における表面付着微生物の混入の可能性を考慮すれば, Churbi 内部における菌の棲息は, おおよそ皆無に等しいと判定するのが妥当であろう。

一方, Rau においては, 水分含量が高いことを反映し

Fig. 4. Thin-layer Chromatographic Identification of Saccharides in the Nepal Cheeses.

Each test sample was subjected to thin-layer chromatography on silica gel (Wakogel B-10) using the following solvent system: methyl-ethyl-ketone : acetic acid : methanol [3 : 1 : 1(v/v)]. The spots were detected by a solvent mixture of 20% H_2SO_4 : 0.2% naphthoresorcinol in ethanol [1 : 1(v/v)].

Table III. Microbial Numbers in the Nepal Cheeses (per 0.1g of sample)

Samples	Media*	(i)	(ii)	(iii)	(iv)
No. 1 (Churbi)		0	2	0	0
No. 2 (Churbi)		0	0	0	1
No. 3 (Churbi)		2	3	0	0
No. 4 (Rau)		92	74	48	53
	{Strain Y-1 : 54 {Strain Y-2 : 38	{Strain B-1 : 25 {Strain Y-1 : 49	{Strain Y-1 : 48	{Strain B-1 : 10 {Strain Y-1 : 43	

* The composition of each medium is given in the text.

て菌数が比較的多く、かつ、細菌と酵母が主要菌叢をなしているのが認められた。Rau において細菌 1 株 (B-1 株, グラム陽性桿菌) と、酵母 2 株 (Y-1 株, Y-2 株) が主要菌叢をなしており、それらの菌体の顕微鏡写真を Fig. 5 に示した。B-1 株のコロニーは、肉汁-ペプトン寒天培地において輝光を帯び、その表面は平滑、全縁、

半レンズ状をなし、黄褐色を呈し、粘稠の性状を呈している。Y-1 株は、ツァベック寒天培地において長期培養を行なった場合、球形の孢子を形成し、常に白色のコロニーを呈していた。また、その表面は粗で破片状、臍状、乾燥状である。

また、これら 3 菌株による乳成分、特に蛋白質の分解性を知るために、ホエー培地での生育性を調べるとともに、脱脂乳培地での培養過程における 2.5% TCA 可溶性窒素の変化を調べ、それぞれの結果を Fig. 6 および Table IV に示した。同時に、Table IV には乳糖資化性、脱脂乳凝固性、ペプトン化の有無、それに培養過程での培地 pH の変化を示した。なお、Fig. 6 および Table IV には分離菌株と対比させる意味で、*S. lactis* と *L. bulgaricus* について同様の実験を行なった結果をもあわせて示した。Fig. 6 から明らかなように、*L. bulgaricus* にみられる急速な増殖とは対照的に、B-1, Y-1, Y-2 株の増殖はいずれもゆるやかに進行し、特に、Y-1, Y-2 株の増殖が非常に緩慢であるのが認められる。

また、Table IV より認められるように、Y-1, Y-2 株

(strain B-1) × 1200

(strain Y-1) × 400

(strain Y-2) × 400

Fig. 5. Microscopic Photographs of the Strains Isolated from Rau.

Fig. 6. Growth of B-1, Y-1 and Y-2 Strains in Whey Media in Comparison with those of *S. lactis* and *L. bulgaricus*.

○—○ strain B-1, ⊗—⊗ strain Y-1, ●—● strain Y-2, ○—○ *S. lactis*, ●—● *L. bulgaricus* (incubation temp. : 30°C).

Table IV. Changes of pH and TCA Soluble N during Incubation in Skim Milk Media Cultivated by the Strains which were Isolated from Rau (Sample No.4)

Strains		Incubation time (hr)								Assimilation of lactose
		0	24	48	72	96	120	144	168	
B-1	pH	6.45	6.30	6.10	5.80	5.60	5.50	5.10	4.90	+
	TCA soluble N* (extinction at 660 nm)	0.230	0.245	0.240	0.310	0.300	0.340	0.330	0.310	
	Coaguration	—	—	—	—	—	—	+	+	
	Peptonization	—	—	—	—	—	—	—	—	
Y-1	pH	6.45	6.45	6.45	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	—
	TCA soluble N* (extinction at 660 nm)	0.225	0.215	0.220	0.215	0.250	0.320	0.370	0.460	
	Coaguration	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Peptonization	—	—	—	—	—	—	—	—	
Y-2	pH	6.45	6.40	6.40	6.45	6.45	6.50	6.50	6.50	—
	TCA soluble N* (extinction at 660 nm)	0.230	0.240	0.250	0.245	0.240	0.260	0.280	0.290	
	Coaguration	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Peptonization	—	—	—	—	—	—	—	—	
<i>L. bulgaricus</i>	pH	6.45	5.90	4.90	4.20	4.10	3.85	3.80	3.80	+
	TCA soluble N* (extinction at 660 nm)	0.235	0.230	0.270	0.480	0.460	0.550	0.610	0.650	
	Coaguration	—	—	+	+	+	+	+	+	
	Peptonization	—	—	—	—	+	+	+	+	
<i>S. lactis</i>	pH	6.40	5.30	4.90	4.70	4.65	4.60	4.60	4.50	+
	TCA soluble N* (extinction at 660 nm)	0.230	0.270	0.260	0.250	0.290	0.340	0.320	0.300	
	Coaguration	—	—	+	+	+	+	+	+	
	Peptonization	—	—	—	—	—	—	—	—	

* final concentration of TCA solution : 2.5%.

が乳糖資化性, 凝固性, ペプトン化を示さず, TCA 可溶性窒素の増加もゆるやかであり, pH も培養時間の経過に伴い, 漸増の傾向を示している. 一方, B-1 株では, 乳糖資化性が認められ, 培養過程での TCA 可溶性窒素の増加ならびに, pH の減少の度合が *S. lactis* の場合とよく類似し, かつ, 脱脂乳をペプトン化せず, 培養 144 時間目で凝固させている.

考 察

供試の3種の Churbi は, 水分含量がいずれも 10% 前後で, チェダー, ゴーダ, エダム, パルメザンチーズなど西欧系硬質チーズの水分含量⁽¹⁶⁾と比べると, はるかに低く, その含量は約 1/3 以下である.

これらのチーズの原料乳に用いられているヤク牛は, 一般的にみてその脂肪含量が 6.5% と非常に高いことが知られている⁽¹⁷⁾. しかし, Churbi や Rau はチャーニングによりバター塊を取り除いた, いわば脱脂された状態のミルク (tara) から作られていることから, 本実験での分析値からも認められるように, でき上がった Churbi では脂肪含量が低く, 固形分のほとんどが蛋白質により占められている.

供試チーズの蛋白質画分の Sephadex G-100 による篩別パターンが, いずれもチェダーチーズ, カマンベールチーズのそれらと顕著な違いを示している. Morr ら⁽¹⁸⁾の方法により, 脱脂乳を Sephadex G-100 カラムで篩別し, Fig. 2, 3 に示した I, II, III, IV のピークに現われた蛋白質画分のおおよその分子量を推定すると, それぞれ >100,000, 30,000~38,000, 12,000~21,000, <10,000 となる. これらの結果からわかるように, 4 種のネパール原産チーズの蛋白質は, ほとんど分解を受けないままの状態で存在しており, チェダーチーズやカマンベールチーズにみられるような低分子蛋白質が存在していないことが認められ, また, 低い I.N. 値はそれを裏づけている.

この事実は, 同時にこれらのチーズに存在する微生物がほとんどチーズ蛋白質の分解に関与していないことを意味するものであり, Churbi ではいずれも水分含量が極度に低く, 微生物の生育に最小限必要な水分すらも保持していないためと考えられる. また, Rau においては本実験での結果からわかるように, Rau から分離した 3 株の菌は, いずれもわずかながら蛋白質の分解性を有している. しかしながら, Rau の蛋白質がほとんど分解を

受けていない事実から, Rauにおいてこれらの菌株の蛋白質分解性がほとんど関与していないことがわかる。

また, 本実験では, Rauからの分離菌である B-1 株が乳糖分解性を有していることを認めた。しかし, Churbi もしくは Rau に検出されたグルコースやガラクトースが, この種の菌の作用により生じた可能性は乏しく, また, これらの糖がチーズ内でさらに分解され, 種々の旨味成分が生成されたり, また, チーズ内蛋白質が分解して遊離アミノ酸が蓄積されることの可能性は, 上述の諸結果からはおよそ考えにくい。この種のチーズが旨味に乏しいのも, まさにこれらの点に原因しているものと考えられる。しかしながら, ヒマラヤ山麓地帯に住む原地の人達にとって, これらのチーズが貴重な蛋白質源として価値を有していることの背景には, Churbi にみられるように, その水分含量を微生物の増殖を許さないほどに十分低くして, 腐敗菌や病原菌の侵入を防ぐという長きにわたって培われてきたこの地方の人々の知恵をうかがうことができる。

本報では, ネパール原産チーズについての特性を知る目的から, 一般成分とそこに棲息する微生物について主として調べたが, 本実験での結果からも考察されるように, 微生物の酵素的作用により, ネパール原産チーズは微生物の作用をほとんど受けない点に, その最大の特徴を認めることができる。換言すれば, ネパールチーズは酸カゼインとアルブミン系蛋白質とから成る蛋白質食品であると考察できる。

要 約

1. 本実験では, 3 種の Churbi ならびに 1 種の Rau を用いた。供試の Churbi は, すべて水分含量と脂肪含量が低く, 蛋白質含量が高いことを特徴としており, 蛋白質はいずれも固形分の 80% 以上を占めていた。

一方, Rau の水分含量は 68.60% と非常に高く, 蛋白質, 脂肪がそれぞれ 23.96%, 6.91% であった。

2. Sephadex G-100 カラムでチーズ蛋白質を篩別すると, チェダーチーズやカマンベールチーズでは, それぞれ 4 つと 3 つのピークが認められたのに対し, 供試の Churbi ならびに Rau では, void volume 中に流出する高分子蛋白質のピークが主体をなしており, チーズ蛋白質の分解がほとんど進行していないことを認めた。

3. 3 種の Churbi における細菌数は, いずれも水分

含量のきわめて低いことを反映して, その数はごくわずかである。一方, Rau には細菌, 酵母が棲息していることが認められ, グラム陽性桿菌 1 株 (B-1 株) と酵母 2 株 (Y-1, Y-2 株) を主要菌叢として分離した。

4. 分離菌株のうち, B-1 株にのみ, 乳糖資化性が認められた。また, 3 株の分離菌は脱脂乳培地に培養した場合, ペプトン化を示さず, Y-1 株, Y-2 株では脱脂乳は凝固性を示さなかった。3 株とも弱い蛋白質分解性を有していることも, 同時に認められた。しかし, 上述の諸結果を総合的に考慮すると, ネパール原産のチーズは微生物の関与をほとんど受けていない, いわば酸カゼインとアルブミン系蛋白質から成る蛋白質食品であると結論づけられる。

終りに, 貴重なチーズを提供して下さった信州大学農学部氏原暉男氏, 侯野敏子氏, 宮崎敏孝氏の各教官を初め, ネパール調査隊に加わった他の隊員各位に深くお礼申し上げます。

- (1) 中尾佐助: 料理の起源, NHK 出版協会, 1973, p.168.
- (2) 高山竜三: 民族学研究, **24**, 197 (1960).
- (3) F. Kosikowski: "Cheese and Fermented Milk Foods," Edwards Brothers, Inc., 1966, p.3.
- (4) 仁木 達: チーズ博士の本, 地球社, 1974, p.170.
- (5) S. Algnäs: *Nordisk Mejerriindustri*, **2**, 172 (1975).
- (6) 福田一郎, 坂本寧男: 自然, **31**(8), 44(1976).
- (7) 中江利孝: 乳技協, **26**, 14 (1976).
- (8) 中江利孝: 酪食研, **25**, A65 (1976).
- (9) 乳業技術編集委員会編: 牛乳・乳製品検査, 朝倉書店, 1964, p.34.
- (10) F. Tokita and A. Hosono: *Milchwiss.*, **23**, 758 (1968).
- (11) 鈴木郁生: 薄層クロマトグラフィーの実際, 広川書店, 1973, p.128.
- (12) 京大農化編: 農芸化学実験書, 第 2 巻, 産業図書, 1974, p.791, 794.
- (13) O. Folin and V. Ciocalteu: *J. Biol. Chem.*, **73**, 627 (1927).
- (14) H. W. Modler, J. R. Brunner and C. M. Stine: *J. Dairy Sci.*, **57**, 523 (1974).
- (15) H. W. Modler, J. R. Brunner and C. M. Stine: *ibid.*, **57**, 528 (1974).
- (16) 日乳技協会編: チーズ, 日本乳業技術協会, 1962, p.24, 39, 49.
- (17) B. L. Larson and V. R. Smith 編: *Lactation III*, Academic Press, 1974, p.73.
- (18) C. V. Morr, D. B. Kenkare and I. A. Gould: *J. Dairy Sci.*, **47**, 621 (1964).