

〔醸酵工学 第58巻 第5号 391-398. 1980〕

 総 説

清酒醸造における諸酵素の役割*

(昭和54年度 日本醸酵工学会江田賞受賞)

布 川 弥 太 郎

国税庁醸造試験所

はじめに

清酒もろみの発酵は、蒸し米の溶解・糖化とアルコールの発酵とが並行して進行する、いわゆる並行複発酵である。この並行複発酵の概念は古くより存在していたが、その定量的、速度論的解析は今まであまりなされなかった。

杉山は、蒸し米の溶解に対し、もろみの原エキス経過図を求め、これに質量作用の定律をあてはめた反応式を設定した。¹⁾ 次にもろみの管理に当たって、ポーメの減少とアルコールの生成に着目し、これらが直線関係にあるという仮定のもとに管理図を作成している。²⁻⁵⁾ これは後に清水ら⁶⁾の提唱するA-B(アルコール-ポーメ)曲線の原型ともいえるものである。その後、萱島⁷⁾は、もろみ管理にB(ポーメ)-曲線を導入することを提案しており、これらA-B曲線やB-曲線は現場におけるもろみ管理に広く利用されている。

しかし、アルコールの生成とポーメの切れが直線関係にあるという理論的根拠はなく、むしろ直線にならないのが普通である。ちなみに、エキスの補給がなくアルコールのみが1%生成した場合は、日本酒度は10切れるが、アルコール生成に相当するエキスが補給されれば2しか切れない。実際のもろみではエキスが補給され、しかもエキスの補給はだんだん減少していく反面、アルコールはほぼ定常的に生成されるので、ポーメの切れはかなり複雑である。すなわち、清酒もろみのポーメの切れは、並行複発酵にあずかる諸作用の総合として現れたものであり、これによる発酵管理はいわば外部からの応急処置とでもいうべきものであ

る。従って、永年の経験にもとづいた従来通りのもろみを仕込み、外気温、蒸し米やこうじのでき具合、その他の変動に応ずる処置としてはポーメの切れによる診断は有用な管理指針となるであろう。しかし、たとえば泡なし酵母仕込み、⁸⁾ 酵素剤仕込み、⁹⁾ 低アルコール酒仕込み、¹⁰⁾ といった新しいもろみの発酵を管理しようとする場合、従来の経過はあまり参考にならず、どうしてももろみの中味の解析が必要になってくる。

かかる解析は、すでに三吉ら¹¹⁻¹³⁾や永谷ら^{14,15)}によって試みられ、貴重な基礎データが得られている。ただ得られた結論がかなり複雑であったり、逆に単純なモデル化から結論が導かれ、要因間の相互関係が不明であるなどして、並行複発酵としてはさらに検討すべき余地が残されている。そこで筆者らは、改めて並行複発酵にあずかると考えられる諸酵素の役割を検討することにし、実際のもろみに近い条件でもろみの発酵を行い、もろみ発酵の場における各酵素の役割、相互の関連性等を総合的に解析した。しかもこれらを単純な形にまとめあげることとした。

実験はすべて蒸し米を用いて行ったが、ノイズをできるだけ少なくするためこうじの代わりに酵素剤を用い、初めに粗酵素剤を用いて蒸し米の溶解、グルコースの生成、およびアルコールの生成に対する速度論的解析を行い、次いで純粋な α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、および酸性プロテアーゼを用い、これらの種々な組み合わせによる仕込み試験結果から、並行複発酵にあずかるこれら酵素の役割を考察した。

1. 速度論的解析

市販の粗酵素剤を用い、蒸し米の溶解には α -アミラーゼ、グルコースの生成にはグルコアミラーゼ、アルコールの生成には酵母が当然関与するものとして、

* Enzymes affecting the parallel fermentation of *saké moromi-mash*. — A monograph — NUNOKAWA, Y. (National Research Institute of Brewing, 2-6 Takinogawa, Kita-ku, Tokyo 114)

これらの関数としてそれぞれの生成速度を求めた。試験もろみの仕込み単位は原則として 100 g の白米をベースとして、解析を容易ならしめるため、もろみは 2 段仕込みで、しかも第 1 段の物料を小さくし、仕込み水 (140%) は全量を初めから汲むという方法をとった。品温は終始一定に保って発酵させた。また酵素量はすべて白米 g 当たりの力価で表現し、溶解、生成量はすべて白米 g 当たりのグルコース量として統一をはかった。

蒸し米の溶解¹⁶⁾ 蒸し米の溶解率 (m) は、ろ液の原エキス (Ex) を基にし、永谷ら¹⁴⁾ の (1) 式により算出した液量 (v) をこれに乗ずることにより求めた。

$$v = v_0 [1 / (1 - 0.612 Ex)] \quad (1)$$

結果の 1 例として、 α -アミラーゼレベルが 100 units/g-白米の場合のデータを示すと Fig. 1 のようになり、蒸し米の溶解は次の (2) 式にほぼ従うことが推定された。

$$-dS/dt = k \cdot E^\alpha \cdot S \quad (2)$$

S : 蒸し米基質量 (g), t : 時間 (日), E : 酵素活性 (u/g), k : 定数, α : $\sim 1/5$

図中破線は、実験値から求めた定数 $k(1/U^{1/5}/日)$ の値を (2) 式に適用して計算したシミュレーションであり、かなりよく適合することが知られた。ここで指数 α の値を $1/5$ としたのは、 α -アミラーゼレベルを種々変えて行った実験結果を比較した場合、適合性が高かったからである。Table 1 に、 α -アミラーゼレベルが 100 units/g-白米の場合の実験データから求めた k の値を示してある。これをもとに各 α -アミラーゼレベルについて、(2) 式により蒸し米溶解初速度 (g/g-白米/日) を求めた。これらの値も Table 1 に示してあるが、これらは実験値とかなりよく一致した。

この速度定数 k は Fig. 2 にみるように良く Arrhe-

Table 1. Initial rate of rice digestion.

Temperature (°C)	k (1/U ^{1/5} /day)	α -Amylase (U/g-Rice)			
		100	200	300	400
12	0.053	0.133	0.153	0.166	0.176
15	0.075	0.187	0.216	0.235	0.248
18	0.101	0.255	0.291	0.316	0.335

The rice dissolution rates are calculated from equation (2) using values indicated for k and expressed by g-glucose/g-rice/day.

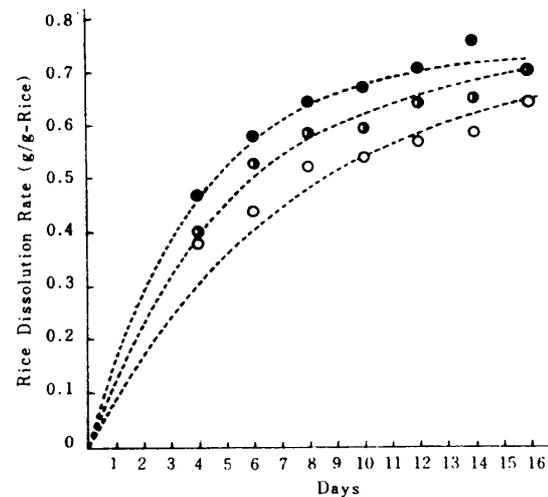


Fig. 1. Rice dissolution during *saké moromi* mash fermentation.

Rice dissolution rate is the total of the glucose fermented and residual sugars in the mash and indicated by g/g-rice.

The *moromi*-mashes were incubated at 12, 15, and 18°C, respectively, with an enzyme preparation, adjusting the α -amylase and glucoamylase activities at 100 and 60 units/g-rice, respectively.

Broken lines are simulation calculated from equation (2).

○ 12°C, ◐ 15°C, ● 18°C.

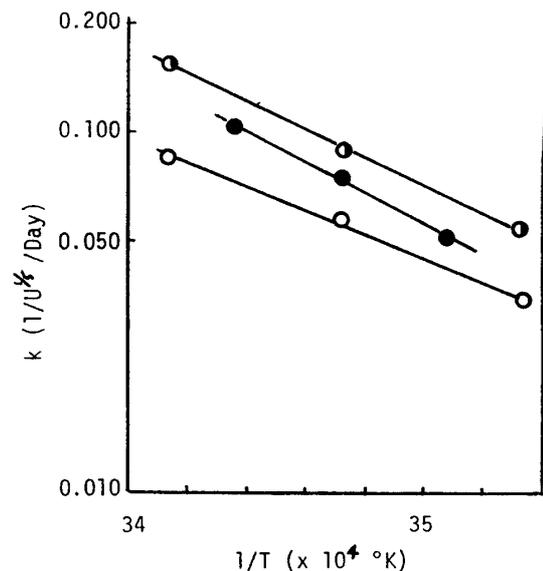


Fig. 2. Arrhenius plots of the constants k , k_1 , and k_a for rice digestion, glucose production, and alcohol production.

● : rice digestion, ◐ : glucose production, ○ : alcohol production.

nus の式に従った。厳密には意味がないかも知れないが、一応これから見掛けの活性化エネルギーを求めると、約 18 kcal/mole となった。

(2)式の α 値が、三吉ら¹¹⁻¹³⁾永谷ら¹⁴⁾が提唱した $\frac{1}{3}$ よりさらに小さくなったが、これは α -アミラーゼの量が多少変動してもあまり蒸し米の溶解速度にはひびいてこないことを物語っている。これは極めて重要な結論であって、後に述べる α -アミラーゼの蒸し米への吸着と深く関係している。

グルコースの生成¹⁷⁾ グルコアミラーゼ量をパラメーターとして、15°Cにおけるグルコース生成量をみたのが Fig. 3 である。その他多くの実験結果より、グルコースの生成は次の(3)式に従い、グルコアミラーゼ量に比例することが推論された。

$$dG/dt = k_1 \cdot E_0 \cdot e^{-k_2 t} \quad (3)$$

G: グルコース量 (mg), k_1, k_2 : 定数, E_0 : 初発酵素量 (U/g-白米), t : 時間 (日)

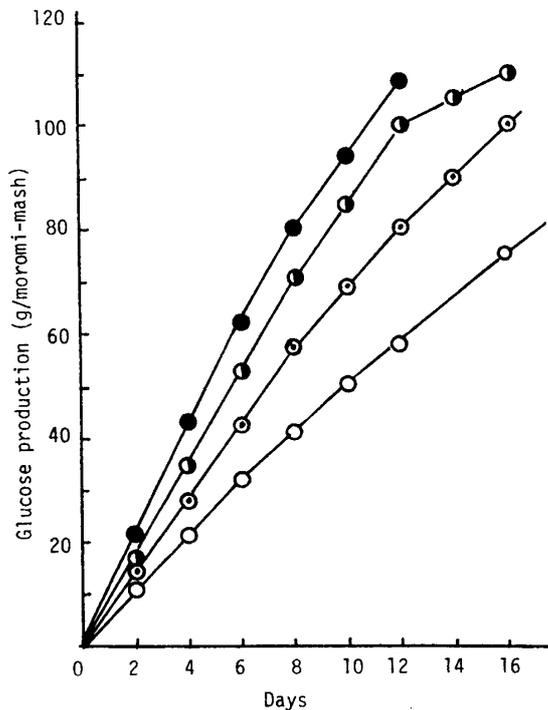


Fig. 3. Glucose production during *saké moromi*-mash fermentation.

Glucose production rate is the total of the glucose fermented and the residual glucose in the mash and indicated by g/g-rice.

The *moromi*-mashes were incubated at 15°C with 25 (○), 40 (⊙), 55 (⊖), or 70 (●) units/g-rice of glucoamylase. α -Amylase level was 200 units/g-rice.

Fig. 3 から分かるように、初期段階ではグルコースはほぼ直線的に生成されるので、指数項は省くことができ0次反応となる。これは次の Table 2 に示すように、蒸し米溶解初速度と比較するとグルコースの生成初速度はほぼ1けた小さく、グルコアミラーゼに対する基質供給が過剰になっているためである。

グルコースの生成も温度により大きく影響を受けることは、Fig. 4 に見るとおりである。これらのデータから k_1 (mg/U/日) の値を求め Table 2 に示した。これを基に各グルコアミラーゼレベルについて生成初速度を求めた値も示してあるが、これらは良く実験値と一致した。この k_1 の値も Arrhenius の式に従い (Fig. 2), これから計算された見掛けの活性化エネルギーも約 18 kcal/mole であった。

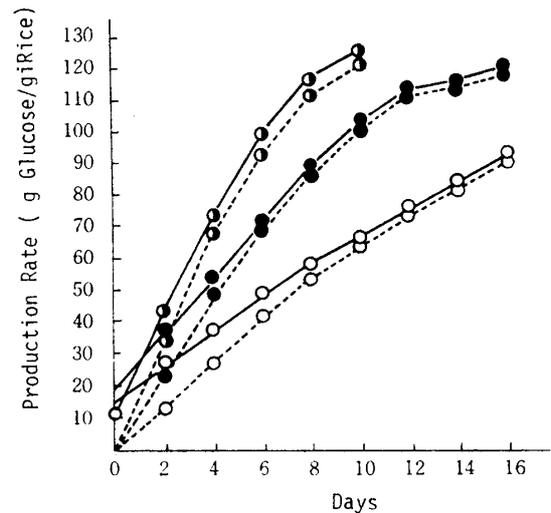


Fig. 4. Glucose production and alcoholic fermentation in the *saké moromi*-mash incubated at various temperatures.

— glucose production, ---- fermentation.
○ 10°C, ● 15°C, ⊖ 20°C.

Table 2. Initial rate of glucose production.

Temperature (°C)	k_1 (mg/U/day)	Glucoamylase (U/g-Rice)		
		40	50	60
10	0.56	0.022	0.028	0.037
15	0.90	0.036	0.048	0.054
20	1.56	0.062	0.078	0.094

The glucose production rates are calculated from equation (3) using values indicated for k_1 and expressed by g-glucose/g-rice/day.

アルコールの生成¹⁷⁾ これはもちろん酵母による。Fig. 5 の例にみるように、アルコールはほぼ直線的に生成される。もろみ中では酵母数は一定と考えられるので、初速度は(4)式のように簡単な式で表される。

$$dA/dt = k_a \quad (4)$$

A : アルコール量 (g グルコース), k_a : 定数,
t : 時間 (日)

Fig. 5 からすれば、アルコール発酵速度はグルコアミラーゼレベルによって支配され、グルコアミラーゼレベルに比例して速度も大きくなるようであった。しかしグルコアミラーゼレベルが 55 units/g-白米 以上では発酵速度はグルコアミラーゼの支配を受けなくなり、グルコアミラーゼレベルに関係なく一定になった。その代わりに、グルコアミラーゼレベルが高ければ、もろみ中の残存グルコース量が多くなることが知られた。

これはグルコース供給による発酵律速¹⁵⁾があるからで、グルコアミラーゼレベルが低く十分なグルコースの供給がない場合は、発酵は律速を受け、見掛け上グルコアミラーゼレベルに支配されるようになる。グルコアミラーゼレベルが 55 units/g-白米 近辺でこの律速がはずれ、それ以上のグルコースの供給があれば

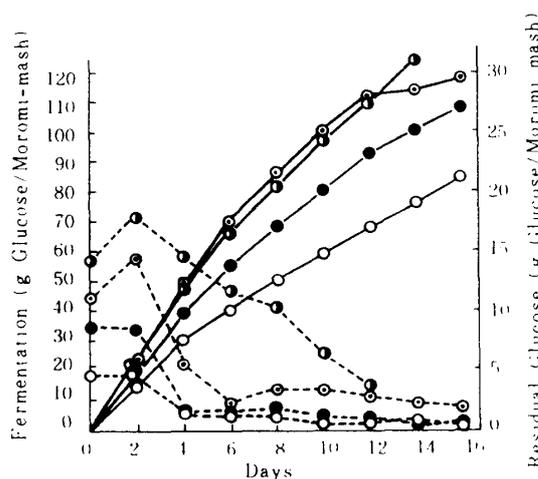


Fig. 5. Alcoholic fermentation of *saké moromi-mash*.

The amounts of glucose converted to alcohol was calculated from the CO_2 liberation.

The *moromi*-mashes were incubated at 15°C with 25 (○), 40 (●), 55 (⊙), or 70 (⦿) units/g-rice of glucoamylase α -Amylase level was 200 units/g-rice.

— : fermentation, ---- : residual glucose.

Table 3. Coefficients for alcohol production by yeast.

Glucoamylase (U/g-rice)	Temperature		
	10°C	15°C	20°C
25	0.020	0.036	0.054
40	0.026	0.045	0.064
55	0.035	0.057	0.085
70	0.035	0.058	0.080

The amounts of glucose converted to alcohol was calculated from the CO_2 liberation. Alcohol production rates are coefficients, k_a (g-glucose/day), in this case.

もろみ中に残ってくるのである。このことは Table 3 によってもうかがうことができる。Table 3 は発酵速度定数, k_a の値を各温度, 各グルコアミラーゼレベルについて求めたものである。本来ならば、温度が一定なら k_a も一定であるはずなのに、グルコースによる発酵律速のために、 k_a の値はグルコアミラーゼレベルに応じて変動している。これがグルコアミラーゼ 55 units/g-白米のところでは律速がはずれ、それ以上高いグルコアミラーゼレベルになっても k_a 値は変わらなくなる。このとき初めて真の k_a 値が与えられることになる。この k_a も Arrhenius の式に従い (Fig. 2), これから計算された見掛けの活性化エネルギーは約 15 kcal/mole であった。

並行複発酵のモデルパターン 以上清酒もろみの並行複発酵を、蒸し米の溶解、グルコースの生成、アルコールの生成に分解して検討したのであるが、これらの結果を1つにまとめてみると、Fig. 6 のようなモデルパターンが描ける。すなわち、もろみにおいては蒸し米の溶解が先行し、十分な基質のもとにグルコースやアルコールの生成が着々と行われていくことがうかがわれる。アルコール発酵速度はグルコース生成速度より大きいから、通常はこの両者は密着して進行する。この三者の関係は酵素バランスによって大きく変わるから、酵素力価のチェックが重要なポイントになる。またこれらは温度によって大きく影響をうけるが、見かけの活性化エネルギーが三者ほぼ同じであることから、温度が変化しても相対的な関係はくずれず、この図形がよりシャープになるかフラットになるかにすぎないであろう。

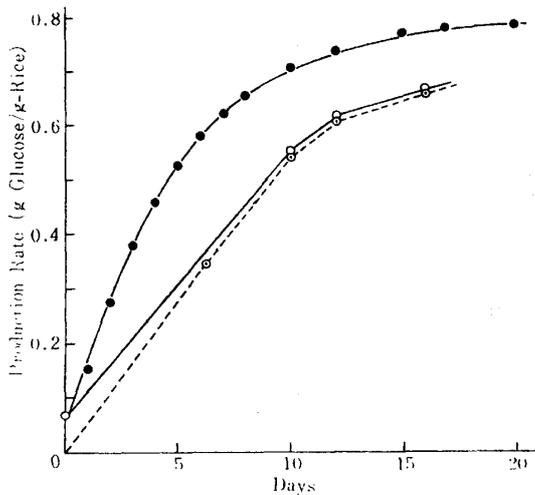


Fig. 6. Model pattern of parallel fermentation. Rice dissolution, glucose production, and alcohol production are all expressed by an equivalent amount of glucose (g/g-rice). α -Amylase 200 U/g-Rice, Glucoamylase 55 U/g-Rice. ● : rice digestion, ○ : glucose production, ⊙ : alcohol production.

2. もろみ発酵における酸性プロテアーゼの役割¹⁸⁾

いままでは、蒸し米の溶解には α -アミラーゼ、グルコースの生成にはグルコアミラーゼ、アルコールの生成には酵母といったように、それに該当する酵素をとりあげて速度論的な検討を行ってきた。実際のもろみにあっては、これらの発酵が総合的に働き、しかも酵素間の交互作用もあることが予想される。また別の研究により^{19,20)} 蒸し米の溶解、グルコースの生成、アルコール生成に対し酸性プロテアーゼが関係してい

ることが推測されていたので、 α -アミラーゼ、グルコアミラーゼの他に酸性プロテアーゼをとりあげ、精製したこれらの酵素を種々組み合わせてもろみを仕込み、それぞれの酵素の清酒もろみの並行複発酵に及ぼす役割を解析した。

グルコアミラーゼを 25, 50, 75 units/g-白米の3水準、 α -アミラーゼを 100, 400 units/g-白米の2水準、酸性プロテアーゼを 250, 500, 1,000 units/g-白米の3水準にして組み合わせた計 18 組のもろみについて解析した。

アルコール発酵 α -アミラーゼが 100, グルコアミラーゼが 50 units/g-白米の場合についての酸性プロテアーゼの影響をみたのが Fig. 7 である。このよ

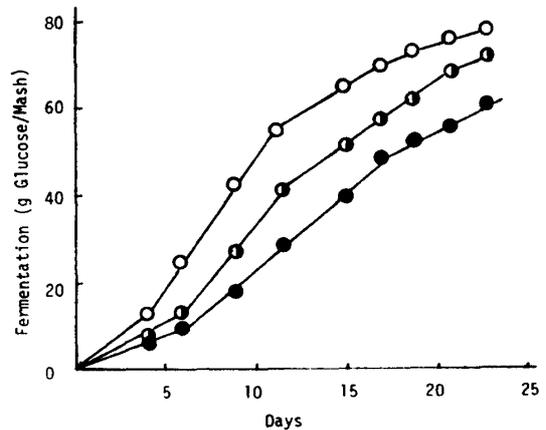


Fig. 7. Fermentation and acid protease.

The amounts of glucose converted to alcohol was calculated from the CO_2 liberation. The *moromi*-mashes were incubated at 15°C with acid protease at 250 (●), 500 (⊙), or 1000 (○) units/g-rice.

α -Amylase and glucoamylase levels were 100 and 50 units/g-rice, respectively.

Table 4. Enzyme levels and fermentation rates.

Glucoamylase (U/g-rice)	α -Amylase (U/g-rice)	Acid protease (U/g-rice)			
		250	500	1000	Mean
25	100	33.95	52.15	49.49	45.20
	400	38.24	48.67	51.53	46.15
50	100	40.90	52.56	68.00	53.82
	400	36.81	50.51	71.98	53.10
75	100	39.47	51.44	65.24	52.05
	400	35.99	52.56	62.78	50.44
Mean		37.56	51.32	61.50	

Total glucose consumption (g) per 100 g white-rice after 15 days fermentation are listed.

Table 5. Significant enzymes affecting the *saké moromi*-mash fermentation.

Enzymes	Fermentation	Rice digestion	Glucose production
Acid protease (A)	***	***	*
α -Amylase (B)		*	
Glucoamylase (C)	*		***
A \times C	*		

*** Greatly significant

* Significant at 5% level

うに酸性プロテアーゼが発酵に影響を及ぼしていることがはっきりわかる。15日間の発酵量（消費されたグルコース量）を求めたのが、Table 4である。これをもとに要因分析を行った結果、Table 5にみるように、酸性プロテアーゼが極めて有意に発酵を支配していることが知られた。グルコアミラーゼも有意に働いていたが、これはさきに述べた発酵律速のためである。さらに酸性プロテアーゼとグルコアミラーゼ間に交互作用がみられたが、これについては後述する。

グルコースの生成 各もろみについて、15日間のグルコース生成量（発酵相当量+もろみ中の残量）を求めて Table 6 にまとめた。これをもとに要因分析を行った結果は、Table 5 にみるように、グルコアミラーゼが極めて有意にきいていることが知られた。これは当然のことであろうが、ここでも酸性プロテアーゼが影響していた。

蒸し米の溶解 各もろみについて、9日間の発酵で100gの蒸し米から放出された全糖量を求めて Table 7 にまとめた。これをもとに要因分析を行った結果も Table 5 に示してある。これによると、蒸し米の溶解には当然 α -アミラーゼが関与しているが、それより酸性プロテアーゼが大きく影響を及ぼしていることが知られた。 α -アミラーゼの影響があまり大きくないことは、(2)式における係数 α の値が $\frac{1}{6}$ と小さいこととよく符合する。

酸性プロテアーゼの意義 以上のように、酸性プロテアーゼは清酒もろみの発酵にとって極めて重要な存在であることが知られたが、その本質的な役割は何であろうか。別の実験により、^{21,22)} α -アミラーゼは蒸

Table 6. Enzyme levels and glucose production rate.

Glucoamylase (U/g-rice)	α -Amylase	Acid protease (U/g-rice)			
		250	500	1000	Mean
25	100	46.80	54.24	51.25	50.76
	400	55.60	52.50	53.93	54.01
50	100	67.61	65.56	72.86	68.68
	400	67.10	71.23	80.76	73.03
75	100	68.57	71.77	79.41	73.25
	400	68.13	75.22	76.62	73.32
Mean		62.30	65.09	69.14	

Total glucose (g) liberated from 100 g rice after 15 days fermentation are listed.

Table 7. Enzyme levels and rice dissolution rates.

Glucoamylase (U/g-rice)	α -Amylase	Acid protease (U/g-rice)			
		250	500	1000	Mean
25	100	44.40	59.75	67.36	57.17
	400	53.00	62.11	67.00	60.70
50	100	47.99	60.85	68.70	59.18
	400	50.91	62.91	71.44	61.75
75	100	49.16	59.20	70.50	59.62
	400	55.30	63.56	68.26	62.37

Total sugars (g) liberated from 100 g rice-grains after 9 days fermentation are listed.

Table 8. Effect of acid protease on rice dissolution.

Reaction system	Liquid volume (ml)	Extract (g)	Free α -amylase (Units)
α -Amylase (A)	7.0	4.39	0
A + NaCl	14.5	7.26	230
A + Acid Protease (P)	17.0	7.25	378
A + P + NaCl	19.0	8.91	996

20 g steamed rice + 40 ml enzyme solution; α -Amylase 100 U/ml; 15°C for 2 days.

し米によく吸着され、 α -アミラーゼが吸着されると蒸し米の溶解が悪いことが知られている。また Table 8¹⁹⁾ に示すように、 α -アミラーゼの反応系に食塩あるいは酸性プロテアーゼが存在すると蒸し米の溶解が促進され、その場合は液中に α -アミラーゼが遊離していることが見いだされた。これらのことから考えると、今までに述べた酸性プロテアーゼの並行複発酵に及ぼす効果は、第一義的には蒸し米の溶解促進であると推察される。それは恐らく α -アミラーゼの蒸し米への無効吸着²³⁾ の解除にあると考えるが、これに関しては目下鋭意研究中である。すなわち、酸性プロテアーゼは α -アミラーゼの蒸し米への吸着を解除してその蒸し米溶解作用を助長し、その結果、グルコアミラーゼへの基質提供も増大し、グルコースの生成、ひいては発酵を増進させるものとする。

このことはまた、さきにもアルコール発酵に対し、酸性プロテアーゼとグルコアミラーゼの交互作用があることから納得される。Fig. 8 にはグルコアミラーゼによるグルコースの生成に対する酸性プロテアーゼの影響^{24, 25)} を示してある。これによれば、グルコースの生成はグルコアミラーゼに依存しているが、グルコアミラーゼが最大の働きをするためには酸性プロテアーゼがある程度以上存在しなければならないことが知られる。そして、グルコアミラーゼレベルが低く、基質要求性が小さい場合は酸性プロテアーゼの必要量は小さく、グルコアミラーゼレベルが高くなるに従って必要な酸性プロテアーゼレベルも高くなるのがうかがえる。これは、酸性プロテアーゼが蒸し米の溶解、すなわちグルコアミラーゼに対する基質供給に関係し、グルコースの生成を制約しているからにはほかならない。グルコアミラーゼはグルコースの生成を通じてアルコール発酵を制約するから、発酵も酸性プロテアーゼの制約を受けることになる。そしてその制約の度合いがグルコアミラーゼレベルによって異なってくることから、

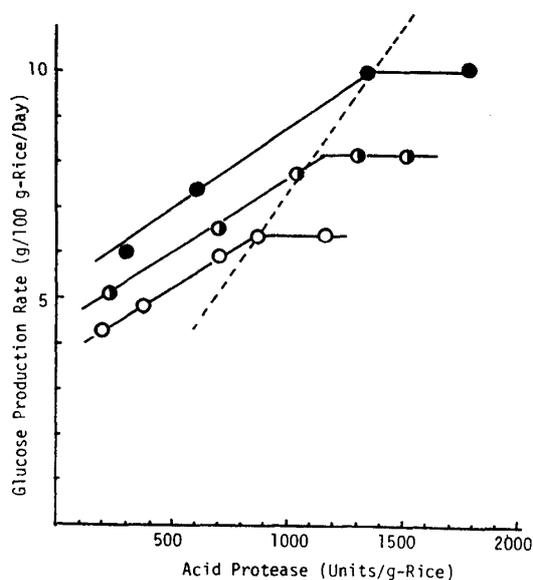


Fig. 8. Glucose production at various glucoamylase and acid protease levels. Glucoamylase concentration (U/g-rice); ○ : 35, ◐ : 55, ● : 75.

この交互作用が生じたのであろう。

おわりに

筆者らは清酒もろみの並行複発酵について、これにあずかる酵素の役割の面から種々解析を試み、本文に述べたような多くの知見を得た。これらの知見は直ちに清酒もろみの実地醸造に応用できるものであるから、もろみの発酵管理上重要と思われるものをひろってみる。

まず速度論的解析結果から、もろみの経過を大きく左右するものは品温であり、その影響の度合(活性化エネルギー)は蒸し米の溶解、糖化、発酵の三者ほとんど同じであることが知られた。従って、雑菌汚染対策、酵母の生理に対する理解が十分あって、温度コン

トロールが自在に行えるなら、別にもろみ前半を低温でひっぱる必要はない。筆者らは前半に品温を高くする、前高後低型品温経過²⁰⁾を設定し、もろみ発酵の合理化を行った。

蒸し米の溶解は本質的には α -アミラーゼによるが、それを左右するのはむしろ酸性プロテアーゼであるという知見を得た。従って粕歩合を少なくするためには、 α -アミラーゼの補強(ある程度は必要)より酸性プロテアーゼを補強すべきである。酸性プロテアーゼが十分あっても、グルコース提供者であるグルコアミラーゼが少なれば発酵は律速される。従って発酵を抑制したい場合はグルコアミラーゼを少なくすればよい。また律速点を越えていくらグルコアミラーゼを多くしても発酵は促進されないことが理解される。もろみ管理のための麴の力価としては、 α -アミラーゼのほかに、酸性プロテアーゼ力とグルコアミラーゼ力をチェックすることが重要なポイントになる。

本研究から α -アミラーゼの蒸し米への吸着および酸性プロテアーゼによる解除が浮かびあがってきた。これは理論的に極めて重大な問題をはらんでおり、 α -アミラーゼによる蒸し米の溶解機構解明の手がかりとなろう。この点に関しては目下鋭意研究を重ねており、二、三の重要な知見が得られつつある。

本研究にあたり、種々ご指導ご鞭撻をいただきました 東京農大野白喜久雄教授、醸試所長塚謙一博士に厚く御礼申し上げます。また共同研究者の方々に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 杉山：醸協，**29** (11)，13 (1934).
- 2) 杉山：醸協，**10**，408 (1952).
- 3) 杉山：醸協，**11**，200 (1953).
- 4) 杉山：醸協，**11**，241 (1953).
- 5) 杉山：醸協，**19**，93 (1961).
- 6) 清水：醸協，**57**，992 (1962).
- 7) 萱島：醸協，**55**，818 (1960).
- 8) 布川，大内：醸協，**67**，242 (1972).
- 9) 小武山：醸協，**64**，403 (1969).
- 10) 日本酒造組合 銘酒研究委員会：醸協，**74**，61 (1979).
- 11) 三吉，照井：醸工，**45**，937 (1967).
- 12) 三吉，照井：醸工，**49**，935 (1971).
- 13) 三吉，照井：醸工，**50**，473 (1972).
- 14) 永谷，水谷，難波：醸工，**51**，178 (1973).
- 15) 永谷，木曾，布川：醸工，**53**，471 (1975).
- 16) 布川，合瀬：醸協，**71**，863 (1976).
- 17) 布川，佐藤，合瀬：醸協，**71**，982 (1976).
- 18) Nunokawa, Y., Sumiya, S., Iwano, K.: *J. Ferment. Technol.*, **56**，380 (1978).
- 19) 岩野，布川：醸協，**71**，943 (1976).
- 20) 岩野，布川：醸協，**72**，78 (1977).
- 21) 椎木，岩野，布川：醸酵工学，**57**，214 (1979).
- 22) 椎木，中野，布川：醸酵工学，**57**，342 (1979).
- 23) 三吉，照井：醸工，**51**，305 (1973).
- 24) 布川，角谷：醸協，**73**，567 (1978).
- 25) 布川，角谷：醸協，**73**，785 (1978).
- 26) 布川，永谷，岩野：醸協，**73**，291 (1978).

(昭55. 7. 8 受付)