

〔醸酵工学 第61巻 第4号 201-205. 1983〕

## ノ ー ト

*Saccharomyces sake* と *Saccharomyces cerevisiae* の  
清酒もろみにおける生存能, アルコール生産の相違\*

竹田 正久・中里 厚実・塚原 寅次

東京農業大学醸造科

Difference in viability in *saké* mash between *Saccharomyces sake* and *S. cerevisiae* and its effect on their alcohol productivity. MASAHISA TAKEDA, ATSUMI NAKAZATO, and TORAJI TSUKAHARA (Department of Brewing and Fermentation, Tokyo University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156, Japan) Hakkokogaku 61: 201-205. 1983.

The relationship between viability and alcohol productivity in *saké* mash was investigated using 2 strains of *Saccharomyces sake* (*saké* yeasts) and 4 strains of *S. cerevisiae* (1 brewer's, 1 baker's, and 2 wine yeasts)

Strains producing more than 19.9% of alcohol in *saké* mash did not show a sudden decrease in viable cells and the remaining cells ( $2 \times 10^7 \sim 3 \times 10^8$ /ml) continued the fermentation until the concentration of alcohol reached 20~22%, whereas strains that could not accumulate a high concentration of alcohol showed a rapid decrease in viable cells and stopped the fermentation when the alcohol concentration reached 17~19%.

The difference in alcohol productivity between *S. sake* and *S. cerevisiae* seemed to be due to the difference in their survival in *saké* mash and this might be the reason why *S. cerevisiae* can not dominate in *saké* mash (*J. Ferment. Technol.*, 53, 103 [1975]).

清酒もろみで20%以上のアルコールを生成するのは、分類学的に *Saccharomyces sake* (清酒酵母)と焼酎酵母、泡盛酵母であり、*S. cerevisiae*, *S. uvarum*, *S. bayanus* は高濃度アルコール生成能を有しないことを報告<sup>1)</sup>した。

酵母のアルコール耐性は増殖能のアルコール耐性<sup>2)</sup>, 発酵能のアルコール耐性<sup>3)</sup>, 生存能のアルコール耐性<sup>4-7)</sup>等の意味が含まれるが、これらのアルコール耐性が高濃度アルコール生成に関係していると思われる。林田<sup>8,9)</sup>らは酵母のアルコール耐性を「酵母自身が生成したアルコールに耐えて、いっそう高濃度のアルコールを生成する酵母の能力」を意味し、発酵試験による生成アルコールの限界濃度で表すと定義した。この

定義に従えば清酒もろみにおいて、*S. sake* は *S. cerevisiae* よりアルコール耐性が強い酵母と言える。生成したアルコールに耐えて、高濃度のアルコールを生成するには発酵能の持続と生菌細胞の存在が必要条件となる。20~22%のアルコール溶液で発酵能を有する酵母でも、生存不可能であれば高濃度のアルコールを生成することはできない。逆に生存できても発酵能がないと高濃度のアルコール生成はできないものと推察される。本報での生存能は「清酒もろみで酵母が生存できる耐性の程度」を意味するが、清酒もろみでの酵母数の変化を haemocytometer で調べた報告<sup>11-21)</sup>は多くあるが、生菌数(平板培養法)の変化と高濃度アルコール生成との関係について検討したのは少ない。

原ら<sup>7,22,23)</sup>は、一般に清酒もろみの発酵末期に、アルコールが18~20%生成されると酵母の大半が死滅す

\* 清酒酵母 (*Saccharomyces sake*) の分類学的研究 (第5報) Taxonomic Study of *Saké* Yeasts (*Saccharomyces sake*) (V)

ることから、アルコール耐性の著しく強い変異株を分離し、これを用いて高濃度のアルコールの生産を得ている。

本報では、*S. sake* と *S. cerevisiae* に属するビール酵母、パン酵母、ぶどう酒酵母を添加した清酒もろみの生菌数を測定し、高濃度のアルコール生成と生存能との関係について検討した。

使用菌株は、前報<sup>1)</sup>の試験結果から高濃度アルコール生成株の代表菌株として、清酒酵母の ATCC 32696 と協会7号、また *S. cerevisiae* の中 (124株) にも高濃度アルコール生成株が数株 (アルコール酵母3株、ぶどう酒酵母4株、樹液酵母1株) 存在するので、その中からぶどう酒酵母の IFO 2252 を選んで計3株、一方高濃度アルコール生成能を有しない代表菌株として、ビール酵母の IFO 2010、パン酵母の IFO 2040、ぶどう酒酵母の WH 1.5 の3株を選んだ。

清酒もろみ (培養基) は、前報<sup>1)</sup>と同じで、米麴、蒸し米とも精白度90~92%の白米を用いた。米麴は蒸し米に清酒用種麴 (*Aspergillus oryzae*) を接種し、麴ぶたを用いて麴室 (室内 28~30°C) で2日間製麴 (最高品温 40~42°C) し、麴の  $\alpha$ -amylase 活性を国税庁所定分析法<sup>24)</sup>に従って測定し、1,000 U/g ( $U = D_{30}^{40}$ ) 以上の力価を有するのをアルコールで殺菌<sup>25)</sup>して使用した。岩野と布川<sup>26)</sup>は、実際の清酒醸造に使用されている麴1g当たりの  $\alpha$ -amylase 活性は870~1,710単位の分布であり、glucoamylase, acid protease の活性に正の相関関係があると報告している。本実験では、 $\alpha$ -amylase 1,000 U/g 以上の麴を用いているが、これは実地での清酒醸造に用いられる麴の平均力価<sup>26)</sup>以上であり、他の酵素活性も充分であると考えられる。これらの麴を用いて、総米160g、麴歩合23%、汲水 (殺菌水) 歩合120%の仕込み量を一次 (初添)、二次 (仲添)、三次 (留添) の3回に分けて500ml 容三角フラスコに仕込んだ。なお、同一のもろみを10数本仕込み、数日おきに、その1本を分析に供した。一次仕込みは蒸し米を500ml 容三角フラスコに入れ、100°Cの蒸気内で30分間処理した後、麴、乳酸溶液 (0.2 ml/100 ml)、沈澱酵母を加えて (仕込み後の pH 3.7~3.9、酵母密度  $1.2 \sim 1.5 \times 10^6$ /ml)、綿栓を付した。なお、試験ごとに酵母無添加のものを2~3本仕込み、二次仕込み前までに野性酵母の汚染による発酵がないことを確かめて試験を行った。

仕込みの trial no. 1 では、一次仕込みを 20°C、3日間、二次仕込みを 15~16°C で2日間、三次仕込みは

11°C で行い、以後は徐々に上昇させて15~34日目の期間を 15~16°C、以後 17~20°C で行った。

trial no. 2 は、一次から三次仕込みまでの間隔は trial no. 1 と同じで、全期間を 20°C で培養した。

生菌数は YM 寒天 (グルコース 1%, ペプトン 0.5%, 酵母エキス 0.3%, マルトエキス 0.3%, 寒天 3%) 培地を溶解し、かび、産膜酵母、細菌の繁殖を防ぐためアルコール (約 4%) を加えてシャーレに分注し固化後、その表面に100個前後のコロニーが出現するように適宜希釈した試料 0.05 ml を塗抹した。30°C、3~4日間培養し、出現したコロニーから計算して、ml 中の酵母の生菌数として表示した。

糖濃度は国税庁所定分析法<sup>24)</sup>に従って測定し、アルコール濃度は容量%で示した。

trial no. 1 の結果を Table 1 (糖濃度変化の記載は省略した) に示した。パン酵母 IFO 2040 は、生菌数が二次仕込み前  $2.2 \times 10^8$ /ml、5日目の  $1.1 \times 10^8$ /ml より減少を始め10日目  $5.6 \times 10^7$ /ml となり、その後、急激に減少して15日目に  $4.6 \times 10^4$ /ml、34日目には生菌細胞は検出されなかった。アルコール濃度は10日目 18.3%、その後、僅かに増加して15日目の18.6%で発酵が停止した。糖濃度は5日目の4.6%を最高に、その後、発酵停止の15日目まで減少した。

ビール酵母 IFO 2010 は、生菌数が三次仕込み前  $1.0 \times 10^8$ /ml、5日目  $8.9 \times 10^7$ /ml、10日目には減少して  $3.5 \times 10^7$ /ml を示したが、その後、28日目まで著しい変化はなく、この間アルコール発酵は行われ、アルコール19.8%、生菌数  $1.6 \times 10^7$ /ml で発酵が停止し、その後、生菌数の減少が徐々に始まり、64日目には  $2.0 \times 10^5$ /ml の生菌細胞が存在した。糖濃度は10日目の7.0%を最高に、その後、発酵停止まで減少した。

ぶどう酒酵母 IFO 2252 は、二次仕込み前に生菌数が  $3.4 \times 10^8$ /ml で、10日目に  $3.1 \times 10^8$ /ml、アルコール17.2%を示した。アルコール21.0%、生菌数  $1.1 \times 10^8$ /ml の21日目より生菌数が減少を始め、アルコール21.3%、生菌数  $5.4 \times 10^7$ /ml の28日目でアルコール発酵が停止したが、64日目には  $2.8 \times 10^8$ /ml の生菌細胞が存在した。糖濃度は5日目に最高の5.2%を示し、アルコールの生産が停止した28日目まで減少した。

清酒酵母 ATCC 32696 は、二次仕込み前で生菌数が  $2.3 \times 10^8$ /ml、もろみ期間は変化なく  $1.8 \times 10^8$ /ml 前後を維持するが、22.0%のアルコールが生成された46日目より減少を始め、アルコール発酵も停止し、64日目には  $6.4 \times 10^6$ /ml の生菌数が存在した。糖濃度は

Table 1. Changes in viable cells and alcohol production of various yeasts during *saké* mash fermentation.

| Experiment 1                            |                          |                       |                        |                        |                        |                    |                       |                      |                        |
|-----------------------------------------|--------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|
| Ferment-<br>ation<br>time <sup>a)</sup> | Temper-<br>ature<br>(°C) | Baker's yeast IFO2040 |                        | Brewer's yeast IFO2010 |                        | Wine yeast IFO2252 |                       | Saké yeast ATCC32696 |                        |
|                                         |                          | Alcohol<br>(%)        | Viable cells<br>( /ml) | Alcohol<br>(%)         | Viable cells<br>( /ml) | Alcohol<br>(%)     | Viable cells<br>( /m) | Alcohol<br>(%)       | Viable cells<br>( /ml) |
| <i>Naka-soe</i>                         | 15                       | 11.8                  | $2.2 \times 10^8$      | 10.2                   | $1.0 \times 10^8$      | 10.0               | $3.4 \times 10^8$     | 11.2                 | $2.3 \times 10^8$      |
| <i>Tome-soe</i>                         | 11                       | 13.0                  | $1.7 \times 10^8$      | 12.2                   | $1.0 \times 10^8$      | 12.4               | $3.4 \times 10^8$     | 12.2                 | $1.5 \times 10^8$      |
| 5                                       | 11                       | 15.5                  | $1.1 \times 10^8$      | 12.7                   | $8.9 \times 10^7$      | 14.7               | $3.2 \times 10^8$     | 13.1                 | $1.5 \times 10^8$      |
| 10                                      | 14                       | 18.3                  | $5.6 \times 10^7$      | 14.9                   | $3.5 \times 10^7$      | 17.2               | $3.1 \times 10^8$     | 14.2                 | $1.8 \times 10^8$      |
| 15                                      | 15                       | 18.6                  | $4.6 \times 10^4$      | 17.8                   | $3.4 \times 10^7$      | 19.6               | $9.1 \times 10^7$     | 16.7                 | $1.6 \times 10^8$      |
| 21                                      | 15                       | 18.6                  | $8.1 \times 10^2$      | 19.2                   | $2.7 \times 10^7$      | 21.0               | $1.1 \times 10^8$     | 17.9                 | $1.7 \times 10^8$      |
| 28                                      | 16                       | 18.7                  | $3.6 \times 10^2$      | 19.8                   | $1.6 \times 10^7$      | 21.3               | $5.4 \times 10^7$     | 19.2                 | $1.6 \times 10^8$      |
| 34                                      | 16                       | 18.6                  | $0 \times 10$          | 19.8                   | $6.9 \times 10^6$      | 21.0               | $1.9 \times 10^7$     | 20.4                 | $1.7 \times 10^8$      |
| 41                                      | 17                       |                       |                        | 19.8                   | $1.7 \times 10^6$      | 21.1               | $2.1 \times 10^6$     | 21.3                 | $1.8 \times 10^8$      |
| 46                                      | 17                       |                       |                        | 19.5                   | $1.1 \times 10^6$      | 21.0               | $5.8 \times 10^5$     | 22.0                 | $1.7 \times 10^8$      |
| 51                                      | 18                       |                       |                        | 19.7                   | $9.7 \times 10^5$      | 20.9               | $2.5 \times 10^5$     | 21.7                 | $8.2 \times 10^7$      |
| 57                                      | 19                       |                       |                        | 19.2                   | $4.9 \times 10^5$      | 20.7               | $1.8 \times 10^4$     | 21.8                 | $4.6 \times 10^7$      |
| 64                                      | 20                       |                       |                        | 19.3                   | $2.0 \times 10^5$      | 20.7               | $2.8 \times 10^3$     | 21.6                 | $6.4 \times 10^6$      |

  

| Experiment 2                            |                          |                   |                        |                         |                        |
|-----------------------------------------|--------------------------|-------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| Ferment-<br>ation<br>time <sup>a)</sup> | Temper-<br>ature<br>(°C) | Wine yeast WH 1.5 |                        | Saké yeast Kyokai no. 7 |                        |
|                                         |                          | Alcohol<br>(%)    | Viable cells<br>( /ml) | Alcohol<br>(%)          | Viable cells<br>( /ml) |
| <i>Naka-soe</i>                         | 20                       | 9.4               | $1.8 \times 10^8$      | 10.0                    | $1.2 \times 10^8$      |
| <i>Tome-soe</i>                         | 20                       | 13.4              | $2.2 \times 10^8$      | 13.8                    | $8.2 \times 10^7$      |
| 4                                       | 20                       | 16.3              | $2.4 \times 10^8$      | 17.0                    | $8.0 \times 10^7$      |
| 8                                       | 20                       | 17.4              | $2.2 \times 10^7$      | 20.6                    | $8.0 \times 10^7$      |
| 12                                      | 20                       | 17.5              | $5.8 \times 10^6$      | 21.4                    | $7.8 \times 10^7$      |
| 15                                      | 20                       | 17.5              | $1.5 \times 10^6$      | 22.2                    | $1.8 \times 10^7$      |
| 18                                      | 20                       | 17.5              | $4.0 \times 10^6$      | 22.2                    | $3.6 \times 10^6$      |
| 20                                      | 20                       |                   |                        | 22.0                    | $1.6 \times 10^6$      |
| 22                                      | 20                       | 17.2              | $2.0 \times 10^4$      | 22.1                    | $2.5 \times 10^5$      |
| 24                                      | 20                       |                   |                        |                         |                        |
| 26                                      | 20                       |                   |                        | 21.8                    | $4.0 \times 10^3$      |

<sup>a)</sup> Days after the final mashing except for *Naka-soe* (at the second mashing) and *Tome-soe* (at the final mashing).

10日目の7.4%を最高に、その後、アルコール発酵が行われる間は減少した。

trial no. 2の結果も Table 1 に示した。おどう酒酵母 WH 1.5 の生菌数は、 $2.4 \times 10^8$ /ml の4日目（アルコール16.3%）から減少を始め、発酵が停止した8日目はアルコール17.4%、生菌数  $2.2 \times 10^7$ /ml であり、22日目の生菌細胞数は  $2.0 \times 10^4$ /ml であった。糖濃度は4日目に7.0%で、その後、アルコール発酵が持続されたにもかかわらず減少せず増加した。これは酵母の発酵能が弱いと思われる。

清酒酵母協会7号は、4日目より生菌数  $8.0 \times 10^7$ /ml 前後であったが、アルコール21.4%に達した12日目より減少を始め、15日目の生菌数  $1.8 \times 10^7$ /ml、アルコール22.2%で発酵が停止し、26日目の生菌細胞数は  $4.0 \times 10^3$ /ml であった。糖濃度は4日目の5.3%を最高に、その後、減少し発酵が停止した15日目は2.7%であった。

以上、高濃度アルコール生成と酵母の生菌数との関係について検討したが、高濃度アルコール生成能を有する菌株は20%濃度のアルコールに達しても生菌数の

著しい減少は起こらず、発酵を持続することである。すなわち、高濃度アルコール生成能を有する清酒酵母は、清酒もろみでの20~22%濃度のアルコールでも急速に死滅しない生存能の強い酵母群であると言える。ぶどう酒酵母 IFO 2252 は、*S. cerevisiae* 群のなかで稀に高濃度アルコール生成能を有する菌株であるが、生存能の強い性質であることがわかる。

ビール酵母 IFO 2010 は、生菌数  $2.7 \times 10^7/\text{ml}$  前後で発酵が持続され、アルコール19.2%から19.8%まで増加した。清酒酵母協会7号は、生菌数  $8.0 \times 10^7/\text{ml}$  前後でアルコール20.6から22.2%まで増加した。ぶどう酒酵母 IFO 2252 は、生菌数  $1.1 \times 10^8/\text{ml}$  から減少を始め1週間で  $5.4 \times 10^7/\text{ml}$  となるが、その間、僅かであるがアルコール21.0%から21.3%までに増加した。これらのことから、高濃度のアルコール存在下で発酵してアルコールが生成されるには、 $2 \sim 3 \times 10^7/\text{ml}$  以上の生菌細胞の維持が必要である。すなわち、酵母が死滅して生菌数が  $10^7/\text{ml}$  以下になるとアルコールの生成が停止する。実地ではもろみ中の最大生菌数は、 $(1.0 \sim 2.0) \times 10^8/\text{ml} \sim (1.7 \sim 2.2) \times 10^8/\text{ml}$  の報告<sup>18, 20, 21)</sup>がある。本実験では $(8.0 \times 10^7) \sim (3.2 \times 10^8)/\text{ml}$ であった。

清酒もろみでの高濃度アルコール生成と酵母の発酵能との関係について論じた報告<sup>3, 9-11, 27-30)</sup>はあるが、酵母の生存能との関係から検討した報告は少ない。筆者らは、清酒もろみでの高濃度アルコール生成は発酵能のアルコール耐性も関係するが、生存能の強弱に関係があると考え。すなわち、清酒酵母群は蒸し米、米麴に含まれる proteinbodies, proteolipid で発酵能のアルコール耐性を獲得<sup>8-10)</sup>し、高濃度のアルコールを生成するが、*S. cerevisiae* が高濃度アルコール生成能を有しないのは発酵能の強弱の問題以前に、生存能が弱く死滅することに大きな原因があると推察している。

清酒もろみでは、*S. sake* 群のみでフローラが形成され *S. cerevisiae* が全く存在しないことを報告<sup>31)</sup>した。これは *S. cerevisiae* の生存能が、清酒もろみで弱いことが要因の1つであると考えられる。

林田ら<sup>32)</sup>は、高濃度アルコール生成能を有するのは清酒酵母に限定されないと報告した。武藤<sup>33)</sup>は21%濃度のアルコール溶液で、パン酵母が糖を消費することを認めている。このように、*S. cerevisiae* の菌株が高濃度のアルコール存在下でも発酵能を有することが報告されている。清酒もろみでは、*S. cerevisiae* も清酒酵母群と同様に高密度の酵母数を形成するが、17~19%濃度以上のアルコール溶液で、生存能の耐性がないた

め死滅し、発酵能を発揮できないものと推察される。山城、<sup>34)</sup>本江<sup>35)</sup>らは、酵母の発酵液中にアルコール以外の発酵阻害物を報告しているが、これらの阻害物がアルコールとの相乗作用で、*S. cerevisiae* の生存能を低下させていることも考えられる。

アルコール溶液中に酵母を浸漬し、その生存率からアルコール耐性が検討<sup>4-7)</sup>されている。原ら<sup>7)</sup>は、清酒酵母(協会7号)を20%濃度のアルコール溶液に7日間(15°C)懸濁しておく、ほとんどの細胞が死滅することを報告している。本実験での清酒もろみでは、アルコール20%以上でも死滅せず発酵が維持され、20%以上のアルコールが生成されたことと矛盾する。これは清酒もろみとの相違によるものと考えられるが。原ら<sup>23)</sup>は、変異株のアルコール耐性酵母は清酒もろみで21.0~21.8%のアルコールを生成するが、親株の協会7号酵母は20~24日目頃より急激な死滅がみられ、アルコールの生成は18.6~18.9%で停止することを報告した。野白、<sup>5)</sup>林田<sup>8-10, 35-37)</sup>らの結果からも協会7号酵母が20%以上のアルコール生成能を有することは明らかであり、前報<sup>1)</sup>で協会7号酵母を含む清酒酵母のほとんどの菌株が清酒もろみで、20%以上のアルコールを生成することを報告した。筆者らの実験は風味を考慮せず、生成アルコール量のみを対象としたもので、使用する米の精白度や品温等の違いが影響することもあると考えられるので検討したい。

## 要 約

清酒酵母2株、ビール酵母1株、パン酵母1株、ぶどう酒酵母2株を用いて仕込んだ清酒もろみ中の酵母細胞の生菌数(平板培養)とアルコール濃度の消長を測定し、酵母の高濃度アルコール生成(20%以上)との関係について検討した。

清酒もろみで20%以上のアルコールを生成する菌株は、20~22%の高い濃度のアルコールでも生菌数の著しい減少を示さず、 $(2 \sim 3) \times 10^7/\text{ml} \sim (1 \sim 3) \times 10^8/\text{ml}$  の生菌数が存在して発酵が持続される。一方、高濃度のアルコールを生成できない菌株は、17~19%のアルコールに達した時点で急激に減少を始め発酵が停止した。

*S. sake* と *S. cerevisiae* との高濃度アルコール生成の差異は、清酒もろみでの生存能の差異によるものと思われる。すなわち、*S. sake* の生存能は、ビール酵母、パン酵母、ぶどう酒酵母の *S. cerevisiae* より高かった。

清酒もろみに *S. cerevisiae* が存在<sup>31)</sup>しないのは、生存

能の弱いことが要因の1つであると推察した。

# 文 献

- 1) 竹田, 中里, 塚原: 醸酵工学, **60**, 137 (1982).
- 2) 井上, 高岡, 奏: 醸工, **40**, 237 (1962).
- 3) 野白, 大内: 醸協, **57**, 824 (1962).
- 4) 七字, 長谷川: 醸研報, **7**, 24 (1952).
- 5) 野白: 醸論文集, **14**, 45 (1959).
- 6) 外池, 百瀬, 渡辺, 阿久津: 醸協, **57**, 153 (1962).
- 7) 原, 佐々木, 小幡, 野白: 醸協, **71**, 301 (1976).
- 8) 林田, 南里, 鄧, 本江: 農化, **48**, 529 (1974).
- 9) 林田: 酵母における適応と制御 (長谷川武治編), p. 127 (1977).
- 10) Hayashida, S., Feng, D. D., Hongo, M.: *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 1025 (1975).
- 11) 須藤, 高木, 藤井, 古坂, 植村: 醸工, **29**, 403 (1951).
- 12) 土井, 根元, 樋口, 若林, 長沼, 佃: 醸工, **31**, 169, 217 (1953).
- 13) 中村, 山田: 醸協, **52**, 582 (1956).
- 14) 池見: 醸協, **52**, 145 (1957).
- 15) 野白: 醸協, **54**, 661 (1959).
- 16) 井上, 高岡, 奏: 醸工, **40**, 499 (1962).
- 17) 原, 大塚, 吉沢, 細矢, 橘田, 森永: 醸工, **43**, 873 (1965).
- 18) 下出, 谷, 福井: 醸協, **60**, 739 (1965).
- 19) 宮崎, 長野, 吉田, 赤木: 醸協, **62**, 168 (1967).
- 20) 本馬, 押川, 長井, 松田: 醸協, **66**, 1002 (1971).
- 21) 布川, 大内, 熊谷, 目名, 村松, 佐藤, 菊池: 醸協, **67**, 964 (1972).
- 22) 原, 深田, 野崎, 小幡, 野白: 醸協, **71**, 569 (1976).
- 23) 原, 梅津, 戸塚, 飯村: 醸協, **74**, 629 (1979).
- 24) 注解編集委員会: 国税庁所定分析法, 日本醸造協会, (1974).
- 25) 大塚, 原, 高林: 醸工, **44**, 623 (1966).
- 26) 岩野, 布川: 醸協, **73**, 555 (1978).
- 27) 大内, 佐藤, 高岸, 植田, 秋山: 醸協, **72**, 667 (1977).
- 28) 山城, 下出, 谷, 福井: 醸工, **44**, 602 (1966).
- 29) 野白, 大内: 醸協, **57**, 824 (1962).
- 30) 野白, 大内: 醸協, **57**, 830 (1962).
- 31) 竹田, 塚原: 醸工, **53**, 103 (1975).
- 32) S. Hayashida and K. Ohta: *J. Inst. Brew.*, **87**, 42 (1981).
- 33) 武藤: 醸協, **56**, 191 (1961).
- 34) 山城, 下出, 谷, 福井: 醸工, **45**, 942 (1967).
- 35) 本江, 林田, 井上, 小泉, 川原田: 農化, **41**, 629 (1967).
- 36) 川原田, 林田, 本江: 醸工, **47**, 682 (1969).
- 37) 川原田, 林田, 本江: 醸工, **47**, 689 (1969).

(昭57. 3.16受付)