

加圧蒸米に関する研究 (第1報)

加圧蒸米における麹菌の増殖及び酵素生産

深谷伊和男・細川信男

清酒製造において、麹はもろみの発酵あるいは酒質に大きな影響を与える。特に、もろみの並行複発酵を順調に進める上で麹の果たす役割は重要である。麹菌は製麹環境に適応した増殖及び酵素生産を行う性質を有し、麹菌胞子接種量^{1),2)}、精米歩合^{1)~3)}、蒸米水分^{2),4),5)}、製麹温度⁵⁾、化学成分^{4),6)~8)}、pH^{2),9),10)}、C/N比¹¹⁾などの製麹条件によって麹菌の増殖及び酵素生産が影響を受けることが知られている。本報では、加圧蒸米における麹菌の増殖及び酵素生産に関する検討を行った結果について報告する。

実験方法

1. 試料米の調製

白米(日本晴 精米歩合70%)を15℃で3時間浸漬、水切後、オートクレーブ中で圧力、時間を変えて蒸し、95℃で熱風乾燥してα米の試料を調製した。

2. 製麹方法

試料α米 2.0gを時計皿に採り、ガラス棒の台座を敷いたシャーレ(φ9cm)の中に入れて、90℃で2時間乾熱滅菌後、放冷した。つぎにシャーレ底部に1.0N NaOH 10mlを加え、試料α米に麹菌胞子懸濁液1.0mlを接種して、35℃の恒温器中で培養した。その際、麹菌胞子懸濁液は、*Aspergillus oryzae* var. *viride* MURAKAMI RIB 128(麹菌胞子数 4.8×10^8 /g) 30mgに0.05% Tween80 100μlを加え、50mlの滅菌水に懸濁して調製した。

3. 麹菌増殖測定方法

製麹中に麹菌が生成する炭酸ガスを測定した。すなわち麹採取時にシャーレ中の1.0N NaOHを三角フラスコに採り、20% BaCl₂ 5mlを加え、フェノールフタレンを指示薬として、0.5N HClで中和滴定を行った。炭酸ガス生成量は次式により求めた。

$$A = \frac{B-S}{2} \times \frac{f_{HCl}}{f_{NaOH}} \times \frac{22.4}{2} \times \frac{1}{2}$$

A: 炭酸ガス生成量 (ml /g-rice)

B: 製麹開始時の0.5N HCl 滴定値 (ml)

S: 製麹時の0.5N HCl 滴定値 (ml)

f_{HCl} : 0.5N HCl の factor

f_{NaOH} : 1.0N NaOH の factor

4. 酵素液の調製

麹 2g に0.5% NaCl (pH5.0, 0.2M Acetate buffer を5%含む) 10mlを加え、5℃で一夜抽出した。No. 5C 濾紙で濾過後、0.01M Acetate buffer (pH5.0) 中で一夜透析し、2倍量に定容して酵素液を調製した。

5. 酵素力価の測定

α-アミラーゼ (AAase), 酸性プロテアーゼ (APase) 及び中性プロテアーゼ (NPase) は国税庁所定分析法¹²⁾に準じ、グルコアミラーゼ (GAase) 及び酸性カルボキシペプチダーゼ (ACPase) は岩野の方法¹³⁾に準じて測定した。麹当りの酵素力価は、AAase は U/g-koji, GAase は mg-glucose/hr/g-koji, APase, NPase, ACPase は μg-tyrosine/hr/g-koji で示した。

6. 蒸米成分の溶出試験

試料α米 5g に蒸留水25mlを加え、20℃で、2時間成分溶出を行い、No. 5C 濾紙で濾過後、濾液量、濾液のpH、濾液中の全糖(フェノール硫酸法)、グルコース(グルコスタット法)、アミノ酸(ニンヒドリン法)、無機リン(中村変法)、カリウム、マグネシウム、カルシウム(原子吸光法)などの成分を分析した。

7. 蒸米の消化試験

試料α米 3g に麹酵素抽出液10ml, 0.04M Acetate buffer (pH4.3) 20mlを加え、30℃で24時間酵素消化を行い、No. 5C 濾紙で濾過後、濾液量、濾液のpH、濾液中の全糖、直糖(フェーリング・レーマンシュール法)、アミノ酸(ニンヒドリン法)などの成分を分析した。

実験結果

1. 麹菌の増殖に及ぼす蒸米圧力の影響

加圧蒸米における麹菌の増殖を表1に示す。0(常圧), 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75 kg/cm²の圧力で30分の蒸米を行った。製麹初期, 中期には、蒸米圧力が高いほど、炭酸ガス生成量が多く、麹菌の増殖が速く進む傾向が認められた。一方製麹後期に

表1 加圧蒸米における麹菌の増殖

蒸米圧力 kg/cm ²	炭酸ガス生成量 ml/g-rice							
	製麹時間 hr							
	24	26	29	31	33	36	40	46
0	3.7	5.3	9.4	12.1	16.1	21.2	27.5	38.0
0.25	4.2	6.0	9.8	13.0	16.2	21.3	28.1	38.3
0.50	4.3	6.3	10.1	13.6	16.7	21.0	28.4	38.1
0.75	4.9	7.3	10.5	13.6	16.7	20.9	27.9	36.1
1.00	5.4	7.7	10.9	14.1	16.4	21.3	27.5	35.7
1.25	5.7	8.1	12.1	15.2	17.7	22.9	27.8	35.0
1.50	6.3	9.2	12.5	16.1	18.0	23.2	27.7	35.3
1.75	6.6	9.6	12.9	16.6	18.7	22.2	26.8	34.5

表2 麹菌の増殖に及ぼす蒸米時間の影響

蒸米圧力 kg/cm ²	蒸米時間 min	炭酸ガス生成量 ml/g-rice				
		製麹時間 hr				
		28	30	32	38	44
常圧 0	20	7.3	9.2	13.8	23.1	34.1
	30	7.5	9.0	13.9	23.0	33.9
	40	7.4	9.1	14.0	23.3	33.9
	60	7.4	9.1	13.9	23.4	34.0
加圧 0.5	20	8.6	9.6	14.5	23.9	33.8
	30	8.9	9.9	15.9	24.6	33.5
	40	9.4	10.4	16.8	25.6	34.5
	60	9.5	10.8	17.9	25.6	34.3

なるにしたがって炭酸ガス生成量に差がなくなり、逆に蒸米圧力が高いほど炭酸ガス生成量がやや少なくなった。このことから加圧蒸米では何らかの原因で、製麹後期に麹菌の代謝、増殖の鈍化が生じるものと考えられた。

麹菌の増殖に及ぼす蒸米時間の影響を表2に示す。常圧(0 kg/cm²)及び加圧(0.5 kg/cm²)で、20, 30, 40, 60分の蒸米を行った。常圧蒸米では、蒸米時間が変化しても炭酸ガス生成量にほとんど差はなかった。一方加圧蒸米では、蒸米時間が長くなるほど炭酸ガス生成量が多く、麹菌の増殖が速く進み、蒸米圧力の影響と同様な傾向が認められた。

2. 麹菌の酵素生産に及ぼす蒸米圧力の影響

加圧蒸米における麹菌の酵素生産を表3に示す。その結果、AAase力価は製麹初期から蒸米圧力が高いほど低くなったが、GAase力価は製麹初期にはあまり差はないが、製麹後期には蒸米圧力が高いほど低くなる傾向が認められた。一方APase力価、NPase力価は製麹初期から蒸米圧力が高いほど高くなり、製麹後期にも高くなった。ACPase力価は、製麹初期には蒸米圧力が高いほど高くなるが、製麹中期、後期にはその差が小さくなった。

麹菌の酵素生産に及ぼす蒸米圧力の影響を表4に示す。表4は、表3に比べてさらに細かい蒸米圧力区分で製麹

後期(40時間)における麹菌の酵素生産を示したものであるが、各酵素について前記と同様の傾向が明瞭に認められた。

麹菌の酵素生産に及ぼす蒸米時間の影響を表5に示す。表5は製麹後期(38時間)における麹菌の酵素生産を示したものである。常圧蒸米では、蒸米時間が変化しても、各酵素力価にはほとんど差は生じなかった。一方加圧蒸米では、蒸米時間が長くなるほどAAase力価、GAase力価が低くなり、APase力価、NPase力価、ACPase力価が高くなり、蒸米圧力の影響と同様な傾向が認められた。

3. 蒸米成分の溶出

溶出成分に及ぼす蒸米圧力の影響を表6に示す。蒸米圧力1.25 kg/cm²以上では溶出液がやや糊状で濾過がしにくくなり、濾液量が少なくなった。pH、グルコース濃度はほとんど同じで、蒸米圧力による影響はなかった。しかしカリウム濃度は、蒸米圧力による増加はあまりないものの、加圧蒸米では常圧蒸米に比べて高くなり、全糖、アミノ酸、無機リン、マグネシウム、カルシウムでは、蒸米圧力が高くなるほど溶出液中濃度が高くなる傾向が認められた。

溶出成分に及ぼす蒸米時間の影響を表7に示す。常圧蒸米(0 kg/cm²)では、蒸米時間が変化しても濾液量

表3 加圧蒸米における麹菌の酵素生産

酵 素	蒸米圧力 kg/cm ²	酵 素 力 価				
		培 養 時 間 hr				
		24	28	36	40	46
AAase	0	375	607	1,005	1,195	1,274
	0.5	334	563	773	881	1,148
	1.0	293	376	432	635	792
	1.5	235	377	427	583	795
GAase	0	72	138	261	354	486
	0.5	78	144	266	296	448
	1.0	83	139	225	278	344
	1.5	74	141	207	242	308
APase	0	1,416	1,764	2,722	3,081	3,603
	0.5	1,776	2,383	3,390	3,469	4,207
	1.0	2,438	2,832	4,186	4,381	5,145
	1.5	2,560	3,612	4,392	4,591	5,467
NPase	0	787	1,000	1,849	2,441	2,665
	0.5	1,214	1,888	2,106	2,607	3,035
	1.0	1,630	2,439	3,313	3,466	3,738
	1.5	2,055	2,698	3,393	3,485	3,668
ACPase	0	2,442	6,005	10,109	10,109	11,956
	0.5	3,656	7,325	10,034	10,125	12,702
	1.0	4,792	7,957	10,458	11,162	12,648
	1.5	5,764	10,693	11,535	12,247	13,810

AAase (α-アミラーゼ) : U/g-koji, GAase (グルコアミラーゼ) : mg-glu./hr/g-koji, APase (酸性プロテアーゼ), NPase (中性プロテアーゼ), ACPase (酸性カルボキシペプチダーゼ) : μg-tyr./hr/g-koji

表4 麹菌の酵素生産に及ぼす蒸米圧力の影響

蒸米圧力 kg/cm ²	酵 素 力 価					炭酸ガス生成量 mℓ /g-rice
	AAase	GAase	APase	NPase	ACPase	
0	1,195	354	3,081	2,441	10,109	27.5
0.25	1,075	309	2,984	2,429	10,238	28.1
0.50	881	276	3,469	2,607	10,125	28.4
0.75	729	270	4,276	3,002	10,157	27.9
1.00	635	278	4,381	3,466	11,162	27.5
1.25	600	250	4,388	3,336	11,731	27.8
1.50	583	241	4,591	3,485	12,247	27.7
1.75	606	245	4,815	3,362	12,968	26.8

表5 麹菌の酵素生産に及ぼす蒸米時間の影響

蒸米圧力 kg/cm ²	蒸米時間 min	酵 素 力 価					炭酸ガス生成量 mℓ /g-rice
		AAase	GAase	APase	NPase	ACPase	
常圧 0	20	941	335	2,852	2,208	8,550	23.1
	30	911	328	2,963	2,105	8,355	23.0
	40	923	316	3,004	2,128	8,413	23.3
	60	908	312	2,936	2,095	8,447	23.4
加圧 0.5	20	764	338	3,774	2,111	8,529	23.9
	30	718	330	3,825	2,392	9,359	24.6
	40	572	301	4,209	2,417	9,514	25.6
	60	425	273	4,554	2,571	9,878	25.6

表6 溶出成分に及ぼす蒸米圧力の影響

蒸米圧力 kg/cm ²	pH	濾液量 ml	全糖	グルコース mg/ml	アミノ酸* μg-tyr./ml	リン μg/ml	カリウム μg/ml	マグネシウム μg/ml	カルシウム μg/ml
0	5.60	10.2	0.64	0.09	34.8	4.52	35.9	1.4	1.4
0.25	5.59	10.2	0.64	0.12	43.2	4.99	41.9	1.7	1.7
0.50	5.73	10.3	0.83	0.13	52.7	5.62	47.8	1.9	1.8
0.75	5.72	10.4	2.19	0.14	55.6	5.55	46.0	2.1	2.1
1.00	5.70	10.5	2.42	0.12	84.8	5.96	46.3	2.0	2.0
1.25	5.68	8.5	3.77	0.14	144.1	5.87	44.2	2.4	2.4
1.50	5.69	6.5	3.68	0.12	165.0	6.24	41.9	2.7	2.3
1.75	5.65	4.4	3.75	0.11	184.3	6.71	40.0	2.6	2.2

* Ninhydrin 反応

表7 溶出成分に及ぼす蒸米時間の影響

蒸米圧力 kg/cm ²	蒸米時間 min	濾液量 ml	全糖 mg/ml	グルコース mg/ml	アミノ酸 μg-tyr./ml	リン μg/ml	カリウム μg/ml	マグネシウム μg/ml	カルシウム μg/ml
常圧 0	20	10.3	0.98	0.05	34.5	7.4	40.0	2.5	2.2
	30	10.3	0.92	0.08	33.7	7.1	43.1	2.6	2.2
	40	10.4	0.91	0.07	32.0	7.3	41.0	2.2	2.0
	60	10.3	0.88	0.07	35.9	6.9	41.3	2.4	2.2
加圧 0.5	20	10.3	1.10	0.12	44.2	7.4	41.5	2.6	2.2
	30	10.5	1.35	0.13	49.7	6.8	40.1	2.4	2.2
	40	10.2	1.43	0.13	55.4	6.7	41.0	2.7	2.3
	60	10.3	1.48	0.11	73.4	6.7	38.3	2.4	2.1

及び溶出成分濃度にほとんど差はなかった。一方加圧蒸米 (0.5kg/cm²) では、蒸米時間が変化してもグルコース、無機リン、カリウム、マグネシウム、カルシウムでは濃度にあまり差は生じなかったが、全糖、アミノ酸濃度は蒸米時間が長くなるほど高くなった。このような加圧蒸米における溶出成分の増加は圧力と高温による米の組織破壊によるものと考えられた。

4. 蒸米の消化

蒸米消化試験液中の各酵素力価を表8に示す。温度を30℃と、もろみに比べて高温で消化を行ったために、試料α米当りの酵素力価は、岩野ら¹⁴⁾の指摘した必要酵素力価の半分程度に設定した。

消化性に及ぼす蒸米圧力の影響を表9に示す。その結果、濾液量は蒸米圧力が高くなるほどやや多くなり、ポーメ (Be)、全糖濃度、直糖濃度は蒸米圧力が高くなるほど高くなった。アミノ酸濃度は蒸米圧力が1.0 kg/cm²までは低くなるが、それ以上ではやや高くなる

表8 消化性試験の酵素力価

酵素力価	酵 素 名				
	AAase	GAase	APase	NPase	ACPase
U/ml- 麹抽出液	103	38	266	97	1,367
U/g- 試料α米	342	127	888	324	4,555

傾向が認められた。

消化性に及ぼす蒸米時間の影響を表10に示す。常圧蒸米 (0 kg/cm²) では、蒸米時間が変化しても濾液量、ポーメ (Be)、全糖濃度、直糖濃度、アミノ酸濃度にほとんど差はなかった。一方加圧蒸米 (0.5kg/cm²) では、濾液量、ポーメ (Be)、全糖濃度、直糖濃度は蒸米時間が長くなるほどやや多くなり、アミノ酸濃度は蒸米時間が長くなるほどやや低くなる傾向が認められた。この結果から、加圧蒸米ではでんぷんは消化されやすく、蛋白質は消化されにくくなることが認められた。

考 察

1. 麹菌の増殖

表1、表2に示したように蒸米圧力が高く、蒸米時間が長いほど、製麹初期、中期の加圧蒸米における麹菌の増殖が速くなり、増殖促進効果が認められた。麹菌の発芽及び増殖に関しては、1) プロリン、アラニンによる発芽促進¹⁵⁾、2) ポリペプトンによる発芽促進¹⁶⁾、3) アミノ態窒素、無機リン、カリウムによる製麹初期、中期の増殖促進¹⁷⁾、粗蛋白質、無機リンによる製麹後期の増殖促進が報告されている。一方加圧蒸米では、表6、表7に示したように、アミノ酸、無機リ

表9 消化性に及ぼす蒸米圧力の影響

蒸米圧力 kg/cm ²	Be	濾液量 mℓ	全糖 mg/mℓ	直糖 mg/mℓ	アミノ μg-tyr./mℓ
0	3.3	21.0	53.0	44.0	164.4
0.25	3.3	20.5	54.2	42.2	167.8
0.50	3.7	20.0	53.0	47.2	140.2
0.75	3.8	21.5	60.7	48.9	142.5
1.00	4.0	20.5	64.2	52.1	121.9
1.25	4.6	23.0	83.9	58.4	130.7
1.50	4.5	22.5	80.1	58.4	136.3

ン、カリウムなどが溶出されやすい。この結果から、製麹初期、中期の加圧蒸米における麹菌の増殖促進は、アミノ酸、無機リン、カリウムなどの増殖促進物質に起因するものと考えられた。また加圧蒸米における製麹後期の炭酸ガス生成量の減少傾向は、加圧により米蛋白質の変性が生じ、その結果麹菌が蛋白質を分解、利用しにくくなり、代謝の鈍化、増殖の鈍化が生じたためと考えられた。

2. 麹菌の酵素生産

表3、表4、表5に示したように加圧蒸米では蒸米圧力が高く、蒸米時間が長いほど、AAase 力価及び GAase 力価が低くなり、APase 力価、NPase 力価及び ACPase 力価が高くなることが認められた。

AAase: 加圧蒸米では蒸米圧力が高く、蒸米時間が長いほど、AAase 生産が低くなった。

AAase に関しては、1) 粗蛋白質が多く、カリウムが少ない場合にはよく生産され、また生理的酸性物質 (NH₄Cl など) が存在して pH が低くなった場合には生産されにくくなること¹⁷⁾、2) 蒸米水分が多い場合には生産されにくくなること^{2), 5)}が報告されている。一方表6、表7の溶出試験の結果から、加圧蒸米では、1) 溶出液の pH には差がない、2) 溶出液がやや糊状で濾過がしにくくなり、濾液量が少なくなる、3) 全糖、カリウム濃度が高くなること示された。また表9、表10の消化試験の結果から、加圧蒸米では、1) 消化液のボーメ (Be)、全糖濃度が高くなりでんぷんが消化されやすい、2) アミノ酸濃度が低くなり蛋白質が麹菌により分解、利用されにくいことが示された。このことから加圧蒸米における AAase 生産の低さは、1) カリウム濃度が高いこと、2) 蛋白質が変性し、麹菌が分解、利用できる蛋白質が少ないこと、3) でんぷんが既にある程度可溶化しており、消化されやすい状態になっているので、麹菌はさらに AAase を生産する必要が

表10 消化性に及ぼす蒸米時間の影響

蒸米圧力 kg/cm ²	蒸米時間 min	Be	濾液量 mℓ	全糖 mg/mℓ	直糖 mg/mℓ	アミノ μg-tyr./mℓ
常圧 0	20	4.1	21.5	43.6	44.6	174.7
	30	4.0	21.0	43.0	43.9	175.9
	40	4.0	20.0	41.4	41.4	169.8
	60	4.2	19.0	45.6	44.2	169.9
加圧 0.5	20	4.2	21.0	44.6	42.8	149.4
	30	4.2	20.5	45.9	43.5	144.8
	40	4.5	20.5	49.4	47.7	138.3
	60	4.6	23.0	47.7	47.0	140.2

ないことなどに起因すると考えられた。

GAase: 加圧蒸米では GAase の生産は、製麹初期にはあまり差はないが、製麹後期には蒸米圧力が高いほど低くなった。GAase の生産に関しては、1) 無機リンが多く、アミノ態窒素が多い場合には生産されにくいこと¹⁷⁾、2) 蒸米水分が多い場合には生産されにくくなること^{2), 5)}が報告されている。一方表6、表7の溶出試験の結果から加圧蒸米では、溶出液の無機リン、アミノ酸濃度が高いことが示された。また表9、表10の消化試験の結果から、加圧蒸米では、消化液のボーメ (Be)、直糖濃度が高くなり、でんぷんが糖化されやすいことが示された。このことから加圧蒸米における GAase の生産の低さは、1) 無機リン、アミノ酸濃度が高いこと、2) でんぷんが糖化されやすいので、麹菌はさらに GAase を生産する必要がないことなどに起因すると考えられた。加圧蒸米における GAase 生産の差が製麹後期に顕著となった理由は、GAase 生産が麹菌の増殖に遅れて進行するためと考えられた。

APase, NPase: 加圧蒸米では APase, NPase の生産は、製麹初期から蒸米圧力が高く、蒸米時間が長いほど高くなった。APase, NPase の生産に関しては、無機リン、カリウムが多い場合にはよく生産されること¹⁷⁾が報告されている。一方表6、表7の溶出試験の結果から加圧蒸米では、溶出液の無機リン、カリウム濃度が高いことが示された。また表9、表10の消化試験の結果から加圧蒸米では、アミノ酸濃度が低くなり蛋白質が分解、利用されにくいことが示された。このことから加圧蒸米における APase, NPase の生産の高さは、1) 無機リン、カリウム濃度が高いこと、2) 蛋白質が変性し、麹菌が分解、利用できにくくなり、これに対抗するために麹菌はこれらプロテアーゼの生産を高めることに起因すると考えられた。

ACPase: 加圧蒸米では ACPase の生産は、製麹初期

には蒸米圧力が高いほど高くなるが、製麹中期、後期には、その差が小さくなった。ACPaseの生産は、麹菌の増殖と連動して進行し、カリウム、カルシウムが多い場合にはよく生産されること¹⁷⁾が報告されている。一方表6、表7の溶出試験の結果から加圧蒸米では、溶出液のカリウム、カルシウム濃度がやや高いことが示された。また表9、表10の消化試験の結果から加圧蒸米では、アミノ酸濃度が低くなり蛋白質が分解、利用されにくいことが示された。このことから加圧蒸米におけるACPase生産の高さは、1)カリウム、カルシウム濃度が高いこと、2)蛋白質が変性し、麹菌が分解、利用できにくくなり、これに対抗するために麹菌はACPaseの生産を高めることに起因すると考えられた。

製麹中期、後期にその差が小さくなった理由としてはACPaseの生産は、麹菌の増殖と連動して進行し、増殖に差がなくなったためと考えられた。

要 約

加圧蒸米における麹菌の増殖および酵素生産について検討を行った。

1. 麹菌の増殖

蒸米圧力が高く、蒸米時間が長いほど、製麹初期、中期の加圧蒸米における麹菌の増殖が速くなり、増殖促進効果が認められた。製麹後期になるにしたがって増殖に差がなくなり、逆に蒸米圧力が高いほど、やや増殖が悪くなる傾向が認められた。製麹初期、中期における麹菌の増殖促進は、加圧蒸米では圧力と高温による米の組織破壊、成分の部分分解が生じ、アミノ酸、無機リンなどの増殖促進物質が増加したことに起因すると考えられた。また製麹後期の増殖の悪化は、加圧蒸米により米蛋白質の変性が生じ、その結果麹菌が分解、利用しにくくなり、代謝の鈍化、増殖の鈍化が生じたためと考えられた。

2. 麹菌の酵素生産

加圧蒸米では蒸米圧力が高く、蒸米時間が長いほど、AAase及びGAaseのでんぷん分解酵素の生産が低くなり、一方APase、NPase及びACPaseの蛋白質分解酵素の生産が高くなる酵素生産バランスの変化が生じた。この変化は、1)加圧蒸米により米の組織破壊、成分の部分分解が生じ、麹菌の酵素生産に影響する成分が与えられたこと、2)加圧蒸米により、でんぷんが既にある程度可溶化して分解利用されやすいこと、蛋白質が変性して分解、利用されにくいことにより、麹菌の酵素生産の調節機能が作動したためと考えられた。

文 献

- 1) 岡崎直人, 福田典雄, 菅間誠之助: 醸協, 74, 687 (1979)
- 2) 深谷伊和男, 伊藤欣哉, 豊田哲也, 村井総一郎, 徳村治彦: 愛知食品工試年報, 27, 1 (1986)
- 3) 森本輝彦, 三吉和重, 照井堯造: 醸工, 38, 422 (1960)
- 4) 岡崎直人, 本郷和男, 岩田全旦, 菅間誠之助: 醸協, 73, 399 (1978)
- 5) 岡崎直人, 竹内啓彦, 菅間誠之助: 醸協, 74, 683 (1979)
- 6) 柳田友道: 蛋白質 核酸 酵素, 6, 140 (1961)
- 7) 野白喜久雄, 中川清道: 醸協, 52, 900 (1957)
- 8) 野白喜久雄, 青木光夫: 醸協, 52, 1014 (1957)
- 9) 塩田日出夫, 桜井米吉: 醸協, 58, 392, 396 (1963)
- 10) 照井堯造, 森本輝彦: 醸工, 35, 312 (1957)
- 11) 好井久雄, 石原昭好: 醸工, 40, 620 (1962)
- 12) 国税庁所定分析法注解: 日本醸造協会 (1974)
- 13) 岩野君夫, 風間敬夫, 布川弥太郎: 醸協, 71, 383, 792 (1976)
- 14) 岩野君夫, 布川弥太郎: 醸協, 73, 555 (1978)
- 15) Yanagita, Tomomiti: *Arch. Microbiol.*, 26, 329 (1957)
- 16) Terui, Gyozou: *Technol. Rept. Osaka Univ.*, 5, 219 (1981)
- 17) 岡崎直人, 深谷伊和男, 菅間誠之助, 田中利雄: 醸工, 59, 491 (1981)