

乾燥酵母を用いた清酒の試験醸造

浅野行蔵・富永一哉・吉川修司

The Dehydration of *Saccharomyces cerevisiae* Yeast and Its Use in Sake Brewing

Kozo ASANO, Kazuya TOMINAGA and Shuji YOSHIKAWA

Dry yeast was produced from Kyokai 701, a yeast strain, provided by the Brewing Society of Japan and used in experimental sake brewing at six breweries in Hokkaido. Fundamental to the use of the dry yeast was its rehydration. The highest viability ratio was obtained when rehydration was carried out with water that was about 40°C, while almost all of the cells perished when the water temperature was 0°C. In these brewery tests, rehydration was conducted one day before the start of mash fermentation to confirm yeast activity. The subsequent fermentations progressed well, and proceeded reliably to completion. As a result, high-quality sake, with a clear, refreshing flavor, was produced. The companies involved in testing were enthusiastic in their recognition of the dry yeast's value.

The use of dry yeast will result in shortened work hours, the increased attraction of young workers, reduced costs and other benefits. Different flavors of sake will also be easier to produce as different strains of dry yeast are prepared.

乾燥酵母を研究テーマとした理由には幾つかある。まず、北海道の酒造企業を調査したところ酵母への関心が高かった。清酒は、米という味も香りも淡泊な素材を原料とするため、酵母が酒質を左右する重要な要因となる。良質の酵母を安定して使用できるなら酒質向上に役立つ。乾燥酵母は、1年以上の長期間保存が可能で、同一ロットなら同じ活性の酵母が使用できるので、清酒発酵の安定化に役立つ。さらに、従来の清酒製造では、酵母は小規模培養から酒母の工程を経て菌数を増やし、これに2週間以上を要する。乾燥酵母を使用すれば、酒母が不要になるため省力化できコストダウンにつながる。加えて、週末や正月に休暇を取ることが可能になり、労働条件の改善につながる。また、乾燥酵母による仕込みは、どの清酒企業においても実施しやすい技術である。

乾燥酵母には、これらの他にもメリットがある。酵母は活性のある状態で保存されているので、異なったタイプの乾燥酵母を準備しておけば、酒質の異なる原酒の製造にも迅速に対応できる。また、発酵の途中で酵母を添加する、いわゆる追い種も容易になる。

また、乾燥酵母のテーマは、北海道の特性を生かすこ

ともなる。北海道には日本で数少ないパン用乾燥酵母の製造工場がある。この設備で清酒用乾燥酵母を作ることができれば、異業種融合となる。乾燥酵母の製造価格は、日本では割高になっているため、ワイン用乾燥酵母の生産地は、カナダ、オーストラリア、フランスなどで、そこから世界各地に販売してスケールメリットを出している。しかし、清酒は日本独特の飲料であるので、割高であっても清酒用乾燥酵母を日本で製造する意義がある。

乾燥酵母を製造し、北海道内6社の清酒企業で試験醸造を行った。本報では、その結果を報告する。

実験方法

1. 供試酵母

供試した酵母の選択は、次のような観点から行った。異なった企業で試験するため、各社で使用実績のある株かつ、省力効果をより高めるため、タンクあたりの仕込量の多くできる「泡なし酵母」¹⁾。これらの条件から、協会701号および901号を供試した（いずれも *Saccharomyces cerevisiae*）。また、酒質の差別化を目的に使用さ

れる酵母の代表として、香りが高いことで有名なカブロン酸エチル高生成株を供試した^{2,3)}。この株は、協会7号の変異株であり特許を所有する月桂冠(株)より試験使用を許可された。

2. 酵母の培養と乾燥

酵母はジャーファーメンターを用いて好氣的に培養した。廃糖蜜を糖源として全量5%を3回に分けてフィードした。培地には尿素0.8%を加え酵母の持つureaseによって生ずるアンモニアによって低下するpHを高めた。機械的なpH制御は行わなかった。培養温度30°C、回転数300 rpm、通気量3 L/分。酵母は速やかに増殖し、24時間で菌体を集めた。酵母は、遠心分離機で集め、さらに水を加えて洗浄し再び遠心分離機で集め、プレスで水分を除きイーストケーキとした。このイーストケーキは、水分含量63~68%であった。次にこれをふるい(2 mmメッシュ)に押しつけて細分化し、通風乾燥もしくは流動層乾燥で水分8%付近まで乾燥した。

3. 酵母の復水と生菌数の測定

生菌数の測定方法には、メチレンブルー染色法を用いた⁴⁾。水(約50 ml)を一定温度で保温し、乾燥酵母(約0.5 g)を入れ、さらに30分保温した。この1 mlをメチレンブルー染色液に入れ、穏やかに攪拌し5分以内に顕

微鏡で観察し、写真撮影して写真上で酵母の染色率をカウントして生菌率を求めた。メチレンブルー染色液の調製は、メチレンブルー溶液(0.02%, 4.5 ml)とリン酸緩衝液(0.2 M, 4.5 ml)混合した。

復水に用いる溶液は、蒸留水と水麴(麴糖化液)を用いた。水麴とは、米麴を水の中へ入れ麴の持つ α アミラーゼとグルコアミラーゼによって麴米の澱粉を液化し、さらに糖化させグルコースを生成させたものである。水麴は、炭素源だけでなく麴カビの菌体からビタミンや蛋白質が抽出されている。本実験では、水麴として麴を50°Cのお湯に入れて、4時間保温し、澱粉の液化と糖化を行い、遠心分離した上澄みを用いた。

4. 仕込み方法

現場テストで使用した米の種類、精米歩合、用水は、試醸した6つの清酒メーカーによってそれぞれ異なっていた。しかし、仕込み方法については、おおよそ次のような具合であった(図1)。酵母仕込みには発酵タンクあたり麴米30 kgを使用した。麴を温水に浸し、液化と糖化を進め、その後、乾燥酵母を添加し、二酸化炭素の発生で酵母の活性を確認し、翌日に添え仕込みを行った。添え仕込み以降の醸造工程は、定法通りであった⁵⁾。

図1 乾燥酵母の仕込み方法(従来法と現場試験での代表的な例)

従来法(酒母仕込み)

スラント or アンプル
↓
フラスコ培養(麴エキス培地)
数日
↓
酒母タンク培養(100~300 L程度)
2週間程度
↓
添え仕込みに使用

酵母仕込み(方法1)

麴米(総麴の3%)
水(麴の等量位, 55±2°C)
↓
放置2時間
↓←水, 乳酸
35±2°C
↓←酵母溶液**
6~18時間後に使用 ポーメ 6~7
総酸度 7~8

**) 40°Cの温水20 Lに乾燥酵母を懸濁した。

酵母仕込み(方法2)

麴米(90 kg, 3本合併)
水(240 L, 55°C)
↓
放置3時間
↓←水60 L, 乳酸400 ml
30°C
↓←乾燥酵母 1500 g
翌日使用(添)

5. モロミ成分の分析

アルコール、日本酒度、酸度は、国税庁所定分析法に従って各清酒メーカーで行った。ピルビン酸濃度は、酵素キット（ペーリンガーマンハイム社製）で測定した。

6. 菌体の脂質組成

脂肪酸組成は、乾燥酵母菌体をクロロホルム：メタノール(2:1 v/v)で抽出し、エバポレーターで乾固させ、越酸メタノールでメチル化して、ガスクロマトグラフィーで分子種と成分比を測定した。使用したカラムは、TC-WAX 0.32 mm×30 m (GLサイエンス)で、初期温度 40°C、昇温 4°C/min、最終温度 170°C、キャリアガスヘリウム 2 kg/cm²、検出 FID。脂肪組成は、前項の抽出操作後、クロロホルム：メタノール(2:1 v/v)で数回洗浄し、キャピラリーに乗せ展開し、n-ヘキサン：ジエチルエーテル：蟻酸=90:10:2(v/v)、イアトロスキャン(通気量 2 L/min、水素圧：0.7 kg/cm、scan speed: 30 sec/scan、Iatroscan MK-5)で検出した。

7. 乾燥酵母の電子顕微鏡試料の調製

乾燥酵母をそのまま試料台に固定してイオンスパッターで白金コーティングし、走査型電子顕微鏡で観察した(加速電圧 15 KV, S-2400 Hitachi)。

結果および考察

1. 酒母(従来法)と乾燥酵母の違い

清酒製造において、主発酵に先立つ酵母の増殖工程は、酒母と呼ばれる。酒母は主発酵と同じく静置培養で酵母の増殖を図る。本報で試験した乾燥酵母の製造条件は、酵母の増殖方法が伝統の方法と大きく異なる。すなわち、乾燥酵母にする酵母の増殖は、空気を吹き込み好氣的に培養した。酵母は、同一量の糖を原料として増殖しても、好氣的条件では糖を有機酸そして二酸化炭素まで酸化する酸化的リン酸化で多くのエネルギーを生み出し、その結果より多くの菌体を生成することができる。好気培養では、アルコール発酵を起こしにくいように、糖源を分割フィードし、培地の糖濃度を低く保って糖の利用効率を上げるように制御した。糖源は、酵母の生育に好適なビタミン類の豊富な廃糖蜜を使用した点も清酒の酒母とは違っている。

酒造メーカーが心配しているのは、この好氣的増殖方法である。清酒の酒母の育成方法については、今まで多くの報告があり⁹⁾、酒母の段階で清酒酵母は、アルコール耐性を獲得して醸造の後半でも発酵が衰えず切れの良い清酒が出来るとするものも多かった。アルコール発酵を伴わない増殖方法で製造した乾燥酵母は、長いモロミ期

間のあいだアルコール発酵が正常に行われるかを酒造メーカーは心配していた。

2. 乾燥酵母の電子顕微鏡観察

協会 701 号の表面の様子は、酵母以外の物質は観察されず、酵母菌体のみであることがよく判る。ふっくらとした酵母が重なり合っている様子ははっきりと観察される(図 2)。酵母表面に出芽痕は、ほとんど観察されずフレッシュな酵母であることを意味している。

3. 復水条件の検討

復水とは、乾燥酵母を水に浸けて、生菌に戻すことだが、この工程が生菌数に影響を及ぼすかを検討した。調べた条件は、復水する溶液の温度と栄養成分である。

復水の温度は、きわめて重要であった。最も生菌率が高かったのは、40°Cで復水したときであった。一方、0°Cの場合は、酵母の生菌率はゼロとなった。その間の温度では、最高値とゼロとの間を連続的に結ぶプロットとなった(図 3)。

復水する溶液の栄養成分の違いについて、蒸留水のように栄養分の全く入っていない溶液と栄養分の入っている溶液とによって生菌率に違いがあるかを調べた。栄養分を含んだ溶液としては、清酒業界では麴エキスや水麴がしばしば用いられるが、本実験では容易に調製できる水麴(麴糖化液)を使用した(本報での水麴調製法は実験方法を参照)。

その結果は、水麴液でも蒸留水でも生菌数には違いがなかった。これによって、水が乾燥酵母の菌体内に流入するときの温度が大切であることが示唆された。すなわち、乾燥酵母は、いわば仮死状態にあるといえる。水が入ってくる際に酵母が死ぬか生きるかが決定されている

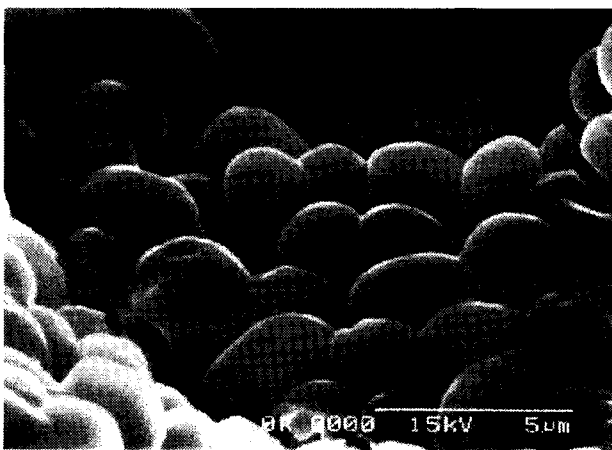


図 2 協会 701 号の乾燥酵母の表面

走査型電子顕微鏡による観察。酵母はふっくらとして、出芽痕もほとんど観察されず、酵母が若いことを示している。写真中のマーカーは、5 μm。

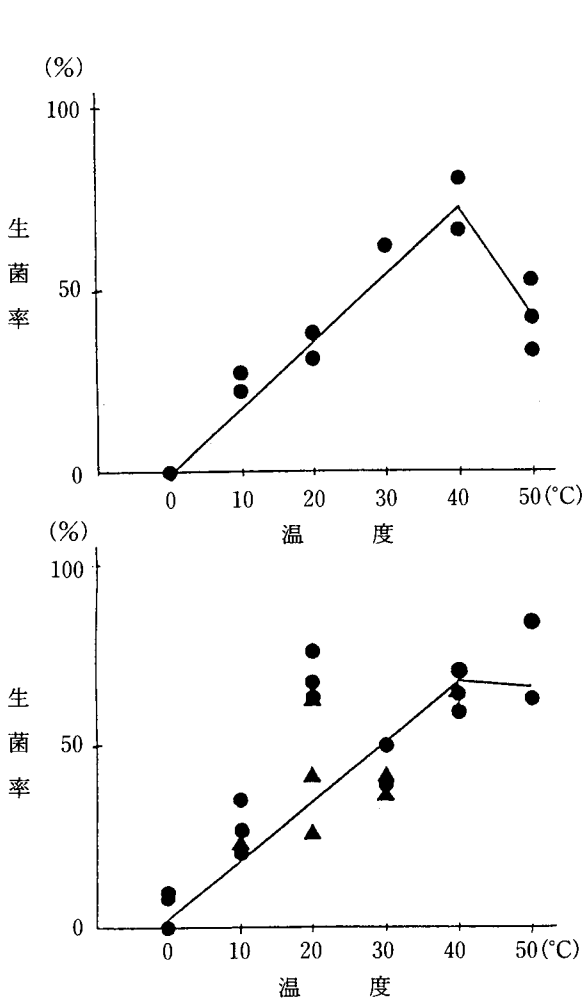


図3 乾燥酵母の復水時の温度と溶液による生菌率の相違
協会701号を各種温度に調製した蒸留水(上図)もしくは水麴液(下図)に入れて復水した。●と▲は、異なった実験日の結果。水麴液の調製法と生菌率の測定法は、実験方法を参照。

と考えられる。

醸造現場での使用方法としては、40°Cに保温した水麴液へ乾燥酵母を入れて復水するのが適当である。これは、復水後30分の段階では、生菌率に違いがないが、その後の酵母の増殖を考えると栄養源が枯渇した場合には、酵母は自己消化を始め死んでしまう。水麴液で復水するのが適当であろう。

3. カブロン酸エチル高生成株の乾燥化

(1) 生菌数：カブロン酸エチル高生成株を同様に培養し、乾燥化した。生菌率は、一般的に低かった。復水による温度の傾向は、やはり40°Cが最も生菌率が高く、低温では低下した(図4)。蒸留水でも水麴液でも同様であった。次に、生菌率の低い理由を考察するため、形態および脂質組成について調べた。

(2) 形態：電子顕微鏡で乾燥酵母の表面を観察した。カ

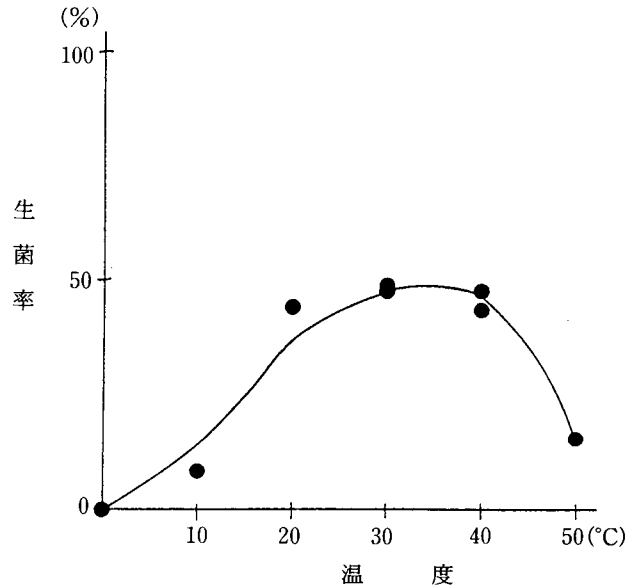


図4 乾燥カブロン酸エチル高生成酵母の復水温度による生菌率の変化

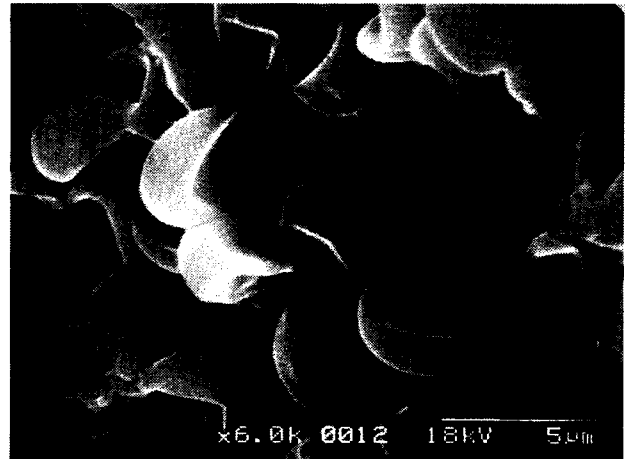


図5 乾燥カブロン酸エチル高生成酵母の表面
走査型電子顕微鏡による観察。写真中のマーカーは、5μm.

ブロン酸エチル高生成株の表面構造は、協会701号酵母と大変違っていた。酵母のふくらした様子は見られず、酵母がつぶれているのが明瞭に判る(図5)。電子顕微鏡用の試料は、真空蒸着などの処理工程を経るため、つぶれる可能性もある。しかし、両酵母は同じ処理法を行っている。よって協会701号酵母で菌の形がしっかりと保たれているのは、菌の強度が高いためと言えるだろう。

(3) 菌体脂質組成：カブロン酸エチル高生成株は、脂質合成系阻害剤であるセルレニンの耐性変異株である。セルレニン耐性によって脂質合成系の一部を変化させ、細胞膜の脂質として合成されて行く前駆体の短鎖脂肪酸を蓄積させ、エステル化によってフルーティーな香気となる。そのため、膜の脂質組成が変化して細胞構造が弱く

なっていることも考えられた。カブロン酸エチル高生成株(CE株)と協会7号および協会701号酵母について菌体内脂肪酸と脂肪組成を調べた(表1)。カブロン酸エチル高生成株では、12:0脂肪酸が全体の2.6%, 16:0が7.4%, 16:1(n-9)と予想されるものが3.6%であった。協会701号では、それぞれ0.4%, 6.1%, 0.3%であり、前者の方が短鎖脂肪酸比率が高かった。他の脂肪酸は、18:1(n-9)が、前者で40.0%, 後者(701号)で47.7%と短鎖脂肪酸比率の違いをここで埋め合せている。その他は大きな違いはなかった。これらの短鎖脂肪酸は、エステル化されて香气成分となっているのであろう。また、この様な脂肪酸組成の変化によって細胞膜の流動性などの性質が変化して、乾燥耐性や生菌数に影響していると考えられた。

(4) 醸造特性：カブロン酸エチル高生成株は乾燥酵母の

生菌率が低かったため、協会701号の倍量を用いて小仕込み試験を行った。協会701号での小仕込みの経過と比べて、カブロン酸エチル高生成株は発酵力が劣っており、発酵後期にはエタノール生成が遅れ、同時にポーメの減少が遅くなり、切れの悪い発酵となった(図6)。このことからカブロン酸エチル高生成株は、アルコール耐性も低いと考えられた。アルコール耐性と乾燥耐性の間に何らかの関連があるかもしれない。

4. 現場試験結果

清酒メーカー各社で行った現場試験の結果を比べた。メーカーによって米も違えば、水質も造り方も異なる。種々の状況の異なる中で比較すれば、乾燥酵母の特徴が現われると考えた。

清酒メーカーの要望によれば、乾燥酵母の満足すべき醸造特性は、「発酵の後半でも良く切れる」、「後半でもアミノ酸度が低い」、「有機酸生成が少ない」こと等である。これらの点に注目して試験したデータを比較した。

試験データは、各タンクごとに品温、アルコール濃度、日本酒度、アミノ酸度、総酸度、およびピルビン酸濃度を記録した。試験の経過表の例としてA酒造 Lot1号のデータを示した(図7)。留め後5日目からアルコールは、急速に生成され、それとともにポーメは減少した。モロミの後半になってもアルコール生成とポーメの減少は順調であり、すなわち「切れの良い」発酵経過となった。

表1 乾燥酵母の脂肪と脂肪酸の組成の比較

	CE株	協会701号
脂肪酸 (12:0)	2.63	0.38
16:0	7.43	6.09
16:1 (n-9)	3.6	0.26
16:1 (n-7)	33.86	33.02
18:0	5.93	5.37
18:1 (n-9)	40	47.68
18:1 (n-7)	2.36	2.42
Others	4.19	4.78

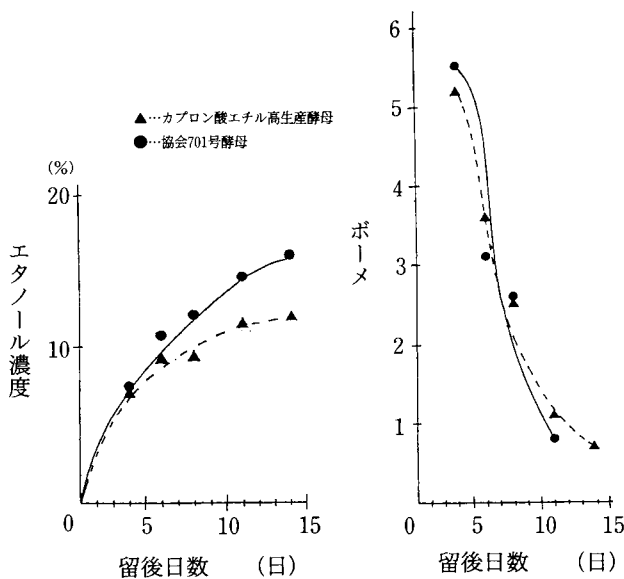


図6 協会701号乾燥酵母とカブロン酸高生成乾燥酵母で醸造した。清酒モロミの経時変化
総米3kgの実験室規模での発酵。発酵温度15°C。
エタノール濃度(左図)とポーメの変化(右図)

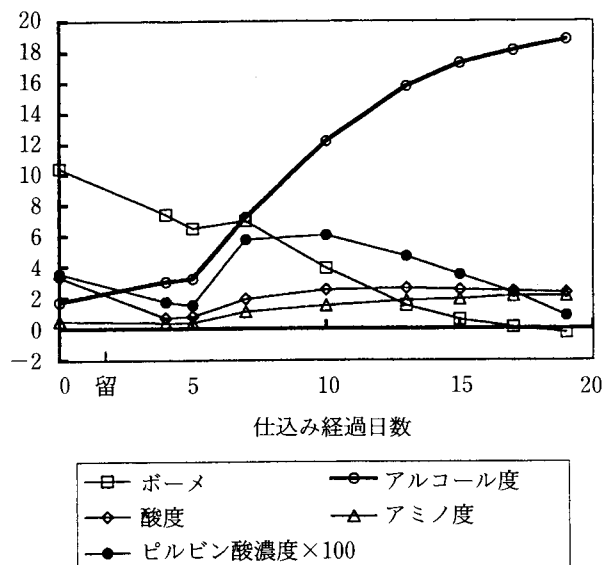


図7 現場醸造試験の経時変化
協会701号乾燥酵母を使用した現場醸造試験。A酒造 Lot1。図中Y軸の単位は、ポーメ：単位なし、アルコール：%(v/v)、酸度とアミノ酸度：ml、ピルビン酸：Y軸の値を100倍した値がmg/L、とそれぞれ表わした。

ピルビン酸濃度は、留め後7~10日目を最大値として、発酵に従って穏やかに減少した。酸度が高くなりすぎると酒質を落とすが、発酵の前半に2mlを超えた後は、それ以上の増加は少なく、良好なレベルであった。

モロミの状況も良好で、発酵後半の泡の様子は穏やかな「ちりめん」状となった。A酒造で試醸したどのLotも再現性は良く良質の原酒が造られた。

ところで、現場試醸された清酒は、純米酒のほか普通酒、三増酒など種々の酒に仕上げられている。そのため、それぞれの原酒は、四段仕込みの配合、アルコール添加量が異なるので、出来上がった酒を比較しても意義が少ない。どの様に比較すると乾燥酵母の性質が判断できる

かを考察した。後半の切れ具合とその時期の成分について比較するとが目的に合うと考え、日本酒度がプラスマイナス・ゼロ付近の組成について集計した(表2)。発酵途中のモロミは、必ずしも毎日サンプリングされているわけではないのでゼロに近いサンプリング日のモロミ日数を記載し、その時の日本酒度、アルコール濃度、酸度、アミノ酸度、ピルビン酸濃度を示した。また、その日までのモロミの経歴として、日々の品温の平均値と最高温度を示しモロミ日数との関連を考察できるようにした。

B酒造では、協会901号を主に使用したが、発酵は速く良く切れて、モロミ日数15日付近で日本酒度は既にプラスとなった。これは、使用した米の精米歩合が少なく、

表2 協会701号乾燥酵母試醸結果
日本酒度ゼロ付近でのモロミの状況

Lot	モロミ 日数	日本 酒度	アル コール (%)	酸度 ml	アミノ 酸度 ml	ピル ビン酸 ppm	品 温		備 考	
							平均 °C	最高 °C		
A酒造	1号	17	+0.5	18.3	2.4	2.0	208	13.6	15.7	
	2号	17	-1.0	18.1	2.4	2.1	231	13.5	15.7	
	3号	17	+0.5	18.2	2.4	2.0	204	13.1	15.3	
	4号	17	+1.0	18.0	2.4	2.0	150	13.0	15.2	
	5号	19	-2.0	17.8	2.5	2.1	308	13.2	15.7	用水：UF膜処理
B酒造	6号	15	+3.0	17.8	2.6	1.5	200	12.6	14.5	秋田75% K901*
	7号	15	+1.0	17.8	2.5	1.7	142	12.7	14.5	〃 K901*
	8号	13	+2.0	17.3	2.6	1.4	175	12.8	14.5	〃 K901*
	9号	15	+3.0	17.3	2.4	1.5	208	12.3	14.6	〃
	10号	23	+0	17.0	2.5	2.1	104	11.0	15.0	〃
	11号	22	+0	17.0	2.4	2.0	25	11.0	15.0	〃
C酒造	12号	18	-7.6	17.6	3.1	2.0	266	13.7	17.5	酵母100g/麴米100kg
	13号	15	-6.6	17.3	3.0	1.9	279	14.4	17.8	50g
	14号	15	-9.7	17.3	2.8	1.7	84	13.6	16.2	30g
	15号	15	-6.0	18.1	2.5	1.6	92	14.6	17.7	30g
	16号	15	-7.9	17.3	2.6	1.7		14.8	16.5	30g
D酒造	17号	19	-0.5	18.8	2.2	2.0		12.8	16.4	酵母500g/麴米30kg
	18号	19	+0	18.8	2.2	1.8		13.0	17.8	〃
	19号	19	-0.5	19.0	2.0	1.8		13.5	18.2	〃
	20号	21	+2.0	19.1	2.3	1.7	97	12.0	16.1	〃
	21号	17	-1.0	18.6	2.3	1.7		13.1	17.4	〃
	22号	19	+1.0	18.0	2.4	1.4		12.6	16.7	〃
E酒造	23号	23	+0	18.7	2.1	1.2		11.8	15.2	酵母18g/3kg
	24号	25	+1.5	19.5	2.5	1.3		11.8	16.5	〃
	対照	21	+0	17.3	1.9	1.0		11.9	15.0	従来法(速醸)**
F酒造	普通酒	16	+1	19.5	2.8	1.9		13.5	16.0	酵母500g/120kg
	三増酒	14	+3	19.1	3.0	1.8		13.4	17.0	〃

*：これらの仕込みは協会901合乾燥酵母を用いた。

**：乾燥酵母を用いずに、従来法の酒母仕込みを行った。酵母は協会701号

表3 乾燥酵母による醸造酒の香気成分の比較 (ppm)

成分	協会 901 号	協会 701 号
酢酸エチル	260.4	200.6
n-プロパノール	47.5	40.0
i-ブタノール	94.2	54.8
酢酸イソアミル	22.8	11.4
i-アミルアルコ-IU	208.6	146.6
カブロン酸エチ IU	9.9	3.1

蛋白質やカリウムがより多く残っていたため、酵母の生育が速まったと解釈された。一方、協会 701 号では発酵は遅れた。協会 901 号と 701 号の醸成酒の香気成分を比較したが、前者の方が香りが高く、従来法での精製酒と同様の傾向であった (表 3)。

C 酒造では、甘口の酒に仕上げており、モロミ日数は 15 日で終了しているため、その際の成分を記載した。また、使用した酵母の量をいろいろに変えて試醸している。酵母仕込みの水麴の麴米 100 kg あたりには乾燥酵母を 100 g からさらに減少させ 30 g まで減少させた。乾燥酵母の使用量は、30 g でも良好な発酵を示した。

D 酒造では、モロミの平均温度は A 酒造とさほど変わらなかったが、日本酒度ゼロになる日数は 19 日付近まで延びた。これは、使用した米が、より高度に精米したもので、A 酒造の米よりモロミ日数が増加したと考えられた。これと相応して D 酒造ではアミノ酸度も低かった。

E 酒造では、対照区として従来法の酒母の協会 701 号を使用して同時に試醸した。乾燥酵母では E 酒造のモロミ日数は最も長かった。モロミ初期での発酵が弱いという観察であった。そこで乾燥酵母の使用状況をより詳しく調べてみると、復水の際の温度が低かった。そのため、酵母の生菌率が低下していた可能性があることが判った。F 酒造での試醸も良好であった。

5. 今後の課題

このたびの試醸では、添え仕込みの前日に、乾燥酵母を麴糖化液に入れ、1 夜の培養後使用した。今回は、乾燥酵母の初めての現場試醸であり、乾燥酵母の活性を確かめるためにこの様な仕込み方法をとった。問題点は二つある。省力化という観点からは、添え仕込みの際に直接乾燥酵母を用いる (通称スッポン仕込み) と、酒母を完全に省略することが出来る。もう一つの問題点は、前夜から乾燥酵母を水麴で培養すると、使用時に活性が低

下しているような感じを受けたという観察があった。この原因として考えられるのは、水麴液のなかの栄養素の枯渇である。乾燥酵母の活性はとて高く、それに比べ麴の酵素活性が低いため、還元糖を生成する能力が追いつかなかった可能性がある。今後、水麴の時間を長くしたり温度を高めたりして、澱粉の分解を進めた後に乾燥酵母を投入する方法や予め酵母の資化できる糖類を添加しておくなどの仕込み方法を検討することも必要だろう。次の酒造シーズンも現場試醸を行う予定である。

要 約

日本醸造協会 701 号酵母を試験的に乾燥し、北海道内 6 社の清酒工場で試験醸造を行った。乾燥酵母の使用法として、注意すべき最大の点は、復水過程にあった。乾燥酵母を 40°C 付近のお湯に入れて復水すると生菌率は最も高かった。0°C の水では、ほとんどが死滅した。添え仕込みの前日に、乾燥酵母を復水し、水麴中で発酵することを確認し、仕込んだ。モロミ経過は順調で後半になっても発酵は衰えることなく、切れの良い、すがすがしい香りの清酒ができあがった。

謝 辞

男山、北の誉酒造、金滴酒造、合同酒精、小林酒造、日本清酒の各清酒メーカーで乾燥酵母を用いた試験醸造をしていただきました。また、日本甜菜製糖からは、乾燥酵母の製造法等についてご援助を頂きました。各社に御礼申し上げます。

文 献

- 1) 大内弘造：アワなし酵母「清酒酵母の研究」清酒酵母研究会 (編)、(清酒酵母研究会) p.199 (1972)。
- 2) 市川英治、日本醸造協会誌、88, 101 (1993)。
- 3) ICHIKAWA, E., HOSOKAWA, N., HATA, Y., ABE, Y., SUGINAMI, K., IMAYASU, S.: *Agric. Biol. Chem.* 55, 2153 (1991)。
- 4) 飯村 穰：酒母管理の要点「清酒製造技術」難波康之祐ら (編)、(日本醸造協会) p.162 (1978)。
- 5) 清酒、合成清「酒国税庁所定分析法注解」第三回改訂、注解編集委員会 (編)、(日本醸造協会) p. 6 (1974)。