麴の γ 線照射による殺菌と各種酵素活性の変化

岩野君夫・三上重明・大石篤志・椎木 敏

(国税庁醸造試験所)

昭和 62 年 5 月 7 日受理

Change of Various Enzyme Activities of *Koji* and Sterilization of *Koji* by γ -Radiation

Kimio IWANO, Shigeaki MIKAMI, Atsushi OISHI and Satoshi SHINOKI

(National Research Institute of Brewing, 2-6-30 Takinogawa, Kita-ku, Tokyo 114)

Sterilization and changes of various enzyme activities of *koji* by gamma irradiation were investigated. A dose of 1 Mrad gamma irradiation was effective for the sterilization of *koji*. Various enzymes of *koji* were inactivated about 10-30% by the irradiation, while no influence was observed for *shochu* fermentation. There seemed to be no influence for qualities of sake and *shochu* by the irradiation.

Key words: 清酒麴・焼酎麴・放射線照射・殺菌

緒 論

清酒麴、焼酎麴には多くの野生酵母や細菌が存在することが知られている¹⁻⁹⁾。清酒製造では酒母において乳酸酸性とし、焼酎製造では一次醪においてクエン酸酸性で pH を 3.2~3.5 とし、腐造乳酸菌や一般の細菌の増殖を防止し、添加した培養酵母のみを純粋に増殖させている^{10,11)}。しかし、清酒製造における酒母、焼酎製造における一次醪で添加酵母の育成が順調でない場合、清酒醪や焼酎二次醪で野生酵母や細菌が異常に増殖し腐造となることがある¹²⁻¹⁷⁾。

麴の殺菌については、過酸化水素^{18,19)}、メタ重亜硫酸カリ²⁰⁾、抗生物質²¹⁻²³⁾、紫外線²¹⁾、アルコール浸漬²⁴⁾、ヒロ炭酸ジェチルエステル²⁵⁾、熱殺菌法²⁶⁾等が報告されている。今回、筆者らは γ 線照射により麴中の各種酵素活性を失活させることなく、野生酵母や細菌を殺菌することができれば、麴の貯蔵性の向上と清酒及び焼酎の安全醸造に大きな効果があるのではないかと考え検討したのでその結果を報告する。

実 験 方 法

1. 試料麴と γ 線照射

試料麴として、清酒製造場 5 社及び本格焼酎製造場 3

社より昭和 61 年 1 月中に製麴されたものを集めた。試料麴はハترون紙封筒に入れ、照射前及び照射後ともデシケーター中に入れ、5°C の低温室で保存し分析に供した。 γ 線照射は(財)放射線照射振興協会に依頼し、日本原子力研究所高崎研究所の Co-60 γ 線照射施設で行った。照射線量は 1 Mrad, 3 Mrad の 2 区分とし、無照射の対照麴と比較した。

2. 麴中の酵母数及び細菌数

試料麴 1 g に 0.1% Tween 80 を含む殺菌水 50 ml を加え 21 時間ときどき攪拌し、麴中の微生物を分散させた。この分散液を殺菌水で適宜希釈し、その 0.1 ml をとりプレート培地に塗布し、30°C で 2 日間培養した。培地は野生酵母の検出用としてはカビサイジン 0.1% を添加した麴エキス (Bè 5) を使用し、細菌の検出用として BCG 培地 (朝日麦酒 (株)) を使用した。酵母は培養後 TTC 上層培地 (日水製薬 (株)) を用いて TTC 染色し確認した。

更に生酸菌については YAS 培地 (朝日麦酒 (株)) を用いて細菌酸度を測定しその有無を調べた。

3. 各種酵素活性の測定

麴からの酵素の抽出は国税庁所定分析法注解²⁷⁾に従って行い、10 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.0) に対して透析し、酵素活性の測定用酵素液とした。酵素活性は α -

amylase (AAase), glucoamylase (GAase), acid protease (APase), acid carboxypeptidase (ACPase), transglucosidase (TGase) の5種類の活性について調べた。酵素活性の測定方法は前報²⁹⁾と同様とした。

4. 清酒の小仕込試験

清酒の小仕込試験は難波ら²⁹⁾の方法に準じて、総米200g、麴歩合23%、くみ水歩合130%の小仕込みで行った。原料白米は精米歩合70%の日本晴を使用し、酵母は協会901号をYM培地で前培養したものを添仕込みで1仕込み当り 1.3×10^9 ヶ添加した。仕込みは1l容の試薬ビンを発酵容器とし、これを水槽中に漬け水温を制御して、添仕込み15°C、仲仕込み11°C、留仕込み8°Cとし、その後1日に1°Cずつ温度を上げ、8日目で15°Cとした。以後20日の上槽まで15°Cで発酵を行った。

5. 焼酎の小仕込試験

γ 線照射麴を用いた焼酎の小仕込試験は前報³⁰⁾と同様に焼酎麴50gを使用した一次仕込み、掛原料100gの二次仕込みを行った。掛原料は米麴には破碎精米(昭和56年産)、麦麴には精麦大麦(精麦歩合60%)を使用した。くみ水歩合は160%で、酵母は協会焼酎2号をYM培地で前培養したものを一次仕込みで1仕込み当り 1.1×10^9 ヶ添加した。発酵温度は25°Cと一定にし、一次醪は6日間、二次醪は12日間の発酵とした。発酵終了後、熟成醪の分析及びガラス製蒸留器を使用し、直接・間接併用方式による蒸留を行った。留液は醪容量の半分量まで採り、蒸留水でアルコール分が25%になるように希釈し、官能検査とガスクロマトグラフィーによる低沸点香気成分の分析に供した。ガスクロマトグラフィーによる分析は国税庁所定分析法注解³¹⁾の方法に従った。

6. 生酒の γ 線照射

生酒を常温及び低温(凍結状態)で1Mradの γ 線照射を行い、生酒中に残存する麴由来の各種酵素がどの程度失活するか検討した。 γ 線照射後アミコン社の限外ろ過膜YM-10(分画分子量10,000)で10倍濃縮し、酵素活性の測定の試料とした。

実験結果及び考察

1. 麴の γ 線照射による殺菌及び酵素活性の変化

γ 線照射による麴の殺菌効果を調べた結果を第1表に示した。麴の違いによって麴中に含まれる酵母数、細菌数はかなりの違いが認められるが、これらの雑菌は1Mradの照射で完全に殺菌されることが判明した。

第2表は γ 線照射による各種酵素活性の変化を示したものである。麴の各種酵素活性は γ 線照射によってかな

第1表 放射線照射による殺菌効果

麴の種類	照射線量(MR)	酵母数	細菌数	細菌設置度
清酒麴 A	0	9.2×10^4	4.2×10^4	0.03
	1	0	0	0
	3	0	0	0
B	0	1.5×10^5	8.9×10^4	0
	1	0	0	0
	3	0	0	0
C	0	2.5×10^4	1.9×10^4	1.35
	1	0	0	0
	3	0	0	0
D	0	1.0×10^3	5.0×10^2	0
	1	0	0	0
	3	0	0	0
E	0	1.3×10^5	1.4×10^4	0
	1	0	0	0
	3	0	0	0
焼酎麴 F	0	8.5×10^5	7.5×10^5	0
	1	0	0	0
	3	0	0	0
G	0	1.3×10^4	1.0×10^5	0
	1	0	0	0
	3	0	0	0
H	0	0	0	0
	1	0	0	0
	3	0	0	0

第2表 麴の各種酵素活性の放射線照射による変化

酵素	照射線量(MR)	清 酒 麴					焼 酎 麴		
		A	B	C	D	E	F	G	H
AAase	0	742	1,028	997	918	1,313	83	86	88
	1	677	853	908	711	1,109	85	82	103
	3	585	719	669	597	869	55	39	55
GAase	0	173	206	241	197	267	243	210	216
	1	125	133	175	122	195	156	148	147
	3	121	124	139	99	180	149	127	123
TGase	0	280	457	457	363	447	1,006	1,584	1,220
	1	194	369	331	263	450	794	1,225	931
	3	256	250	269	262	313	788	919	638
APase	0	2,341	2,341	2,713	2,084	2,727	13,276	11,063	13,374
	1	2,232	2,049	2,667	1,909	2,512	14,526	12,211	15,411
	3	2,316	1,867	2,077	1,482	2,175	12,168	9,137	11,326
ACPase	0	4,883	4,320	5,635	3,662	4,977	3,380	3,850	4,977
	1	6,900	5,600	8,000	4,400	6,600	3,900	4,600	6,000
	3	4,900	3,900	4,500	2,860	4,200	3,500	3,200	4,200

(活性単位: U/g-wet koji)

りの影響が認められた。麴の違いによって、失活の程度に若干の差が認められるが、これは麴の水分含量の差によるものではないかと推察される。平均値でみると、 α -amylase, glucoamylase, transglucosidase は活性が減少し、acid protease, acid carboxypeptidase は1Mradの照射ではやや増加し、3Mradの照射ではやや減少することが認められた。

殺菌効果の認められた 1 Mrad の照射区分で活性残存率をみると、清酒麴は α -amylase 85%, glucoamylase 69%, transglucosidase 79%, acid protease 93%, acid carboxypeptidase 133% であり、焼酎麴は α -amylase 105%, glucoamylase 68%, transglucosidase 77%, acid protease 111%, acid carboxypeptidase 118% であった。澱粉分解系の酵素は蛋白分解系の酵素よりも失活が大きく、特に glucoamylase の失活が約 30% でやや問題があると考えられる。Acid carboxypeptidase の活性が 1 Mrad の照射で上昇したが、この理由は菌体に結合している酵素が γ 線照射によって抽出され易くなったものと考えられる。

清酒麴と焼酎麴を比べてみると、焼酎麴の α -amylase は γ 線照射による活性低下が少なく、すでに報告した²⁸⁾耐酸性と考え合わせて焼酎麴の α -amylase の蛋白構造に興味を持たれる。

菱沼ら³²⁾は洗米排水回収澱粉の γ 線照射による殺菌について検討し、0.5 Mrad の線量で著しい殺菌効果があったと報告しているの、酵素活性の失活の点から考えると、麴の γ 線照射による殺菌は 0.5 Mrad の線量が適当でないかと考えられる。

2. γ 線照射清酒麴による清酒小仕込試験

麴の γ 線照射によって α -amylase, glucoamylase の活性がかなり低下するが、小仕込試験を行い酵素活性の低下が清酒醪の発酵にどのような影響を与えるか、更に γ 線照射麴が製成酒の香味にどのような影響を与えるか検討した。

発酵経過を炭酸ガス減量でみると、 γ 線照射によって発酵が最も低下した麴は D で、全く低下しなかった麴は E であった。筆者らは清酒の原料白米 1 g 当りの酵素活性を仕込活性と定義し α -amylase の仕込活性は 200 単位、glucoamylase の仕込活性は 40 単位以上必要であると報告したが³³⁾、麴 E は 3 Mrad の照射麴でも α -amylase が 200 単位、glucoamylase が 41 単位の仕込活性であったため発酵に影響がなかったものと思われる。これに対して、麴 D は 3 Mrad の照射麴の仕込みは α -amylase の仕込活性が 137 単位、glucoamylase の仕込活性が 23 単位であり発酵に影響がでたものと考えられる。

第 3 表は製成酒の一般成分を示したものである。 γ 線照射による影響をみると、酸度には影響がなく、アミノ酸度は γ 線照射によって acid carboxypeptidase 活性が増加したにもかかわらず照射麴の方が低い値であった。アルコール分は大きな違いが認められないが、全糖とグルコースは照射麴の方が低く、照射の影響が認められた。

第 4 表は小仕込試験における製造実績を永谷ら³⁴⁾の方

第 3 表 製成清酒の一般成分

清酒麴	照射線量 (MR)	アルコール分 (%)	日本酒度	酸 度	アミノ 酸 度	全 糖 (%)	グルコー ス (%)
A	0	18.3	-4.5	2.5	3.2	5.49	1.72
	1	18.4	0.0	2.7	2.8	4.00	1.00
	3	18.2	3.0	2.7	2.6	4.00	0.80
B	0	17.9	-6.0	2.9	2.9	4.26	1.82
	1	17.6	-1.0	2.9	2.6	4.20	0.76
	3	17.5	0.0	2.9	2.5	3.61	0.80
C	0	18.5	-5.0	2.4	3.4	4.93	2.58
	1	18.5	2.5	2.6	3.0	4.40	1.44
	3	18.1	5.0	2.6	2.5	3.50	0.58
D	0	18.2	-3.5	2.6	2.5	4.77	1.28
	1	18.0	-1.0	2.7	2.3	4.50	0.90
	3	17.1	0.0	2.5	1.8	4.47	0.58
E	0	18.5	-6.0	2.7	3.4	6.46	2.62
	1	18.4	0.0	2.8	2.9	4.33	1.44
	3	18.5	4.0	2.9	2.6	3.22	0.92

アルコール分は GC 法、酸度とアミノ酸度は平沼製作所の酸度計、全糖はフェノール硫酸法、グルコースはグルコスタット法によった。

第 4 表 清酒小仕込試験の製造実績

清酒麴	照射線量 (MR)	原エキス (%)	蒸米溶解率* (%)	純アル取得* (l/t)	粕 歩 合* (%)
A	0	35.8	77.8	373	23.0
	1	35.2	76.0	373	27.4
	3	34.3	73.6	367	33.6
B	0	35.4	76.5	364	26.2
	1	33.9	72.5	354	36.2
	3	33.5	71.6	351	38.6
C	0	36.3	79.1	379	19.8
	1	34.9	75.3	375	29.2
	3	33.8	72.1	363	37.2
D	0	35.5	76.8	370	25.6
	1	34.6	74.5	364	31.2
	3	32.8	69.6	341	43.5
E	0	36.5	79.6	379	18.6
	1	35.2	76.0	373	27.4
	3	34.7	74.6	374	31.1

* 永谷ら³⁴⁾の式による液率を用いて推定した値、純アル取得は原料 1,000 kg 当りの純アルコール取得量 (l)

法によって原エキス分から液率を求め、更に 1 仕込み中の液量を推定して求めたものである。純アル取得は照射による影響はほとんど認められなかったが、蒸米溶解率は照射によって大きく低下し粕歩合が増加した。この理由は前述のように、麴の α -amylase 活性が γ 線照射によって低下し、仕込活性が 200 単位以下となったためと考えられる。

製成酒の官能審査の結果、 γ 線照射麴を使用して製造した清酒の品質は対照に比べて官能的にほとんど差異は認められなかった。

3. γ 線照射焼酎麴による焼酎小仕込試験

焼酎麴 F (麦麴), G (米麴), H (米麴) を用いて焼酎小仕込試験を行い、発酵や製品に γ 線照射の影響が現わ

れるかどうか検討した。仕込みは麦麴の一次醪には精麦大麥(60%)を、米麴の一次醪には破碎精米を掛原料として使用した。

発酵経過を炭酸ガス減量でみると γ 線照射麴と対照麴との間にほとんど差異はなかった。第5表は一次醪の一般成分を、第6表は二次醪の一般成分を示したものであるが、放射線照射麴と対照麴との間には一次、二次とも大きな違いは認められなかった。

第7表は、焼酎小仕込試験の製造実績を示したものである。純アルコールは原エキスを布川³⁵⁾の方法によって

$$\text{原エキス分 (\%)} = \text{全糖 (\%)} + 1.5894 \times \text{アルコール分 (\%)}$$

の計算式で求め、この原エキスをを用いて前述の方法で計算した。発酵歩合は破碎精米の澱粉価を74、精麦大麥の澱粉価を71として計算した。結果をみると、発酵歩合は1 Mradの照射麴では対照と全く差異はなく、3 Mradの照射麴で若干差が認められた。

第8表は製品焼酎の低沸点香気成分を示したものであるが、1 Mradの照射麴では対照と全く差異がなく、3 Mradの照射麴では*n*-プロピルアルコールの増加が認められた。

製成焼酎の官能審査の結果を第9表に示した。1 Mradの照射麴では対照と官能的に全く差異はなかったが、3

第7表 焼酎小仕込試験の製造実績

焼酎麴	照射線量 (MR)	純アルコール取得* (l/t)	発酵歩合* (%)
F (麦焼酎)	0	404	81.4
	1	409	82.4
	3	384	78.1
G (米焼酎)	0	463	84.6
	1	466	85.1
	3	464	84.6
H (米焼酎)	0	496	89.5
	1	493	89.6
	3	473	86.4

* 永谷ら³⁰⁾の式による波率を用いて推定した値、純アルコール取得は原料1,000 kg 当りの純アルコール取得量 (l)

第8表 製成焼酎の低沸点香気成分

焼酎麴	照射線量 (MR)	AC	EtOAC	<i>n</i> -PrOH	Am-OAC	<i>i</i> -BuOH	<i>i</i> -AmOH
F (麦焼酎)	0	19	99	167	8	108	530
	1	13	102	145	8	99	517
	3	18	97	176	7	112	557
G (米焼酎)	0	24	90	134	6	130	495
	1	23	76	141	6	128	484
	3	14	86	187	7	128	519
H (米焼酎)	0	4	89	153	6	108	431
	1	2	84	165	13	103	421
	3	9	79	206	5	93	440

(単位: ppm)

AC: アセトアルデヒド, EtOAC: 酢酸エチル, *n*-PrOH: *n*-プロピルアルコール, AmOAC: 酢酸イソアミル, *i*-BuOH: *i*-ブチルアルコール, *i*-AmOH: *i*-アミルアルコール

第9表 製成焼酎の官能審査

焼酎麴	照射線量 (MR)	平均値	標準偏差	平均値の差
F (麦焼酎)	0	2.78	0.667	
	1	2.55	0.882	—
	3	4.00	0.500	**
G (米焼酎)	0	2.33	0.707	
	1	2.67	0.707	—
	3	4.33	0.500	**
H (米焼酎)	0	2.11	1.054	
	1	2.67	0.707	—
	3	4.11	0.601	**

パネル9名, 5点法 (1: 優, 5: 不可)
対照との平均値の差の検定 (**: 1% 有意)

第5表 焼酎一次醪の一般成分

焼酎麴	照射線量 (MR)	酸度	アミノ酸度	グルコース (%)	全糖 (%)	アルコール分 (%)	pH
F (麦焼酎)	0	25.4	5.8	3.88	7.08	17.1	3.66
	1	24.2	3.2	3.62	6.18	17.7	3.67
	3	24.8	5.7	2.60	5.40	16.6	3.68
G (米焼酎)	0	18.4	2.4	6.41	8.16	18.0	3.66
	1	18.0	2.7	4.34	6.48	18.1	3.70
	3	19.2	1.1	1.32	2.58	17.5	3.64
H (米焼酎)	0	24.0	5.4	7.58	10.50	16.7	3.66
	1	23.1	5.5	7.58	9.78	16.0	3.65
	3	23.9	4.5	4.71	6.48	16.6	3.65

分析方法は第3表の脚注と同じ

第6表 焼酎二次醪の一般成分

焼酎麴	照射線量 (MR)	酸度	アミノ酸度	グルコース (%)	全糖 (%)	アルコール分 (%)	pH
F (麦焼酎)	0	7.1	4.3	0.015	1.84	17.0	4.13
	1	6.8	4.0	0.017	1.64	17.2	4.11
	3	7.3	4.1	0.016	1.90	16.3	4.14
G (米焼酎)	0	5.2	3.6	0.010	0.40	19.2	4.18
	1	5.1	3.7	0.007	0.40	19.3	4.25
	3	5.5	3.4	0.010	0.50	19.2	4.17
H (米焼酎)	0	6.3	3.9	0.012	0.41	20.3	4.08
	1	6.4	3.9	0.012	0.42	20.2	4.06
	3	6.4	3.7	0.014	0.54	19.6	4.04

(注) 分析方法は第5表の脚注と同じ

第10表 生酒の酵素活性の変化

酵素	照射温度	対照酒 (A)	照射酒 (B)	B/A × 100
AAase	室温	2.5	2.5	100
	低温	2.5	1.5	60
GAase	室温	10.9	11.3	104
	低温	10.9	8.3	76
APase	室温	13.7	10.7	78
	低温	13.7	9.7	71
ACPase	室温	228.0	199.0	87
	低温	228.0	174.0	76

(単位: U/ml sake)

第 11 表 放射線照射生酒の官能検査

区 分	平 均 点	標 準 偏 差	抗 評
対 照	1.95	0.945	無難、クセなし 照射臭強い 照射臭
室 温	4.95	0.022	
低 温	4.15	1.182	

パネル 20 名、5 点法 (1: 優, 5: 不可)

Mrad の照射麴では γ 線照射臭と考えられる異臭が強く感じられ、官能審査の結果も対照との間に危険率 1% 水準で有意な差が認められた。

4. 生酒の γ 線照射

生酒の γ 線照射による残存酵素の変化について検討した結果を第 10 表に示した。室温照射の場合は α -amylase, glucoamylase は全く失活せず, acid protease 78%, acid carboxypeptidase 87% の活性残存率であった。低温照射と室温照射を比べると、低温照射の方が酵素の失活が大であった。第 11 表は γ 線照射生酒の官能審査の結果を示したものであるが、室温照射及び低温照射とも照射臭が強く感じられ、官能の評価は悪かった。これらの結果から、生酒の γ 線照射は火入れ殺菌の替りにはならないことが判明した。

要 約

麴の γ 線照射による殺菌は 1 Mrad 以下の照射線量で十分に効果があることが判明した。麴の各種酵素活性への影響はかなり認められ、清酒醪では酵素活性の低い麴は白米 1g 当りの仕込活性が必要量以下となり、 γ 線照射の影響が若干認められた。焼酎醪では発酵に対して、 γ 線照射による酵素活性の低下の影響は認められなかった。

品質に対する影響は、清酒では全くなかったが、焼酎の場合 1 Mrad の照射麴のものは対照と差がないが、3 Mrad の照射麴のものは照射臭が強く感じられた。

終りに試料麴を提供頂いた清酒製造場及び焼酎製造場の方々に感謝の意を表します。また、本研究の遂行に当り御指導を賜りました当所所長中村欽一博士、当所第 1 研究室長吉沢 淑博士に深謝致します。

なお、本研究の一部は科学技術庁原子力試験研究費によって行った。

文 献

- 1) 村上英也, 大脇京子, 橋本行弘: 醸協, 57, (11) 1046 (1962)
- 2) 芦沢 長, 斎藤孔男: 醸協, 60, (9) 803 (1965)
- 3) 大内弘造: 醸協, 61, (2) 161 (1966)
- 4) 大内弘造, 菅間誠之助, 野白喜久雄: 醸工, 45, 889 (1967)

- 5) 百瀬洋夫, 大沼保義, 外池良三: 醸協, 61, (10) 936 (1966)
- 6) 来間健次, 岩野君夫, 衣山陽三, 中村伝市, 河地元彦: 醸協, 64, (9) 826 (1969)
- 7) 奈良原英樹, 真野史義, 大川弘幸, 川井嘉子, 松山正宣: 醸協, 64, (10) 915 (1969)
- 8) 忍頂寺晃嗣, 木曾邦明, 鈴木英弥, 岡田徳一郎, 田中 康, 菅野信男, 小林信也, 佐原輝光, 桑原健治, 高宮義治, 上田護国, 白上公久, 品川浩: 醸協, 73, (10) 802 (1978)
- 9) 高宮義治: 醸協, 77, (12) 907 (1982)
- 10) (財) 日本醸造協会, 清酒製造技術
- 11) (財) 日本醸造協会, しょうちゅう製造技術
- 12) 外池良三, 百瀬洋夫: 醸造, 56, (6) 632 (1961)
- 13) 外池良三, 百瀬洋夫, 久富鉄也, 阿久津富郎: 醸協, 58, (7) 647 (1963)
- 14) 外池良三, 百瀬洋夫, 椎木 敏, 前川季義: 醸協, 58, (9) 904 (1963)
- 15) 外池良三, 百瀬洋夫, 久富鉄也: 醸協, 59, (2) 165 (1964)
- 16) 百瀬洋夫, 秋山裕一: 醸協, 66, (12) 1195 (1971)
- 17) 山川 譲, 越野 勉, 橋本敏幸: 醸協, 64, (9) 834 (1969)
- 18) 岡田徳一郎, 川崎 恒: 醸協, 59, (5) 383 (1964)
- 19) 村上英也, 高瀬澄夫, 酒井 佑, 牧野正則, 江頭勇次: 醸協, 63, (11) 1201 (1968)
- 20) 武藤 浩, 高橋昭二, 本馬健光, 山中 隆, 斎藤富男, 佐藤玄吉: 醸協, 54, (4) 279 (1959)
- 21) 行本尚志: 醸協, 52, (3) 186 (1957)
- 22) 佐藤 信: 農化, 32, 119 (1958)
- 23) 秋山裕一, 山尾和也, 佐々木 定: 醸協, 53, (4) 312 (1958)
- 24) 大塚謙一, 原 昌道, 高木梅三: 醸工, 44, 623 (1966)
- 25) 原 昌道, 大塚謙一: 醸工, 44, 824 (1966)
- 26) 菅間誠之助, 木郷和男, 村上英也: 醸工, 52, 657 (1974)
- 27) (財) 日本醸造協会, 国税庁所定分析法注解 (3 版) p. 213
- 28) 岩野君夫, 三上重明, 福田清治, 椎木 敏, 島田豊明: 醸協, 81, (7) 490 (1986)
- 29) 難波康之祐, 岩野君夫, 磯見昭夫: 醸協, 71, (1) 61 (1976),
- 30) 岩野君夫, 三上重明, 福田清治, 椎木 敏, 島田豊明: 醸協, 81, (8) 554 (1986)
- 31) (財) 日本醸造協会, 国税庁所定分析法注解 (3 版) p. 482
- 32) 蓼沼 誠, 斎藤和夫, 佐藤俊一, 下飯 仁: 昭和 60 年度国立機関原子力試験研究成果報告書第 26 集 40-5 頁, 科学技術庁
- 33) 岩野君夫, 布川弥太郎: 醸協, 73, (7) 555 (1978)
- 34) 永谷正治, 水谷行夫, 難波康之祐: 醸工, 51, 35 (1973)
- 35) 布川弥太郎, 合瀬健一: 醸協, 72, (8) 593 (1977)