新規な低温発酵用酵素剤「グルク吟」による高級酒製造

岩野君夫・天野 仁*

(秋田県立大学, 天野エンザイム(株)*)

平成 13 年 5 月 21 日受理

High-quality Japanese sake brewing by the newly developed enzyme preparation "Gluc Gin"

Kimio IWANO, Hitoshi AMANO

(Akita Prefectural University, Nakano Shimo-shinjo, Akita 010-0195,

*Amano Enzyme Inc. 4-179-35, Sue-cho, Kakamigahara, Gifu, 509-0108)

A new enzyme preparation "Gluc Gin", which can be used for brewing high-quality Japanese sake (*Junmaiginjou-syu*, *ginjyou-shu* or *junnmai-shu* etc.) at low-temperature fermentation, has been developed. Test brewing using "Gluc Gin" was performed at 13 Japanese sake breweries. "Gluc Gin" was used as a replacement of *tome-koji*, or as an addition to *tome-koji* at the test brewing. Results showed that fermentation (*moromi*) periods, the amount of pure alcohol acquisition, and the ratio of the sake cake of "Gluc Gin" differed only slightly compared with those of the control with no enzyme addition. No significant differences regarding the composition of the general components, amino acid, or the fragrance components between the test sake and control sake were recognized. It was clearly shown that newly developed "Gluc Gin" developed functions almost equally to *Ginjyou-koji*, and can be used as a replacement for *tome-koji* in low-temperature fermentation.

Key words : 酵素剤, 高級酒製造, 低温発酵

緒 言

純米吟醸酒, 吟醸酒, 純米酒など低温発酵で醸造される高級酒は, 高精白した酒造好適米を使用し特徴的な原料処理と麴造りを行い, 低温長期発酵によって製造される。吟醸麴の製麴方法には様々な流儀があるが, 突きハゼタイプの麴造りを目指すことから, 出麴された麴の酵素活性は大きく変動しており, 酵素活性が必要量を満たしていない麴が散見される¹⁾。さらに吟醸麴造りは通常の麴造りに比べて労力を要し製麴量が制限されるため, 高級酒の販売が伸びても製造数量を増やすことが難しい場合が多い。

著者らは, 前報²⁾において低温発酵醪において酸性ホスファターゼとリパーゼ剤を補填することにより蒸

米の溶解が促進され, 製成酒の香気成分も高まることを報告した。今回はその知見に基いて α -アミラーゼ, グルコアミラーゼ, 酸性プロテアーゼ, 酸性ホスファターゼ及びリパーゼをそれぞれ吟醸麴の酵素バランスと同等となるように配合した新規な醸造用酵素剤「グルク吟」を開発し, その効果を確認することを目的として, 全国の 13 社の清酒製造場で現場規模の試験醸造を行ったので, その結果を報告する。

実 験 方 法

1. 酵素活性の測定

酵素活性の測定は α -アミラーゼ, グルコアミラーゼ, 酸性プロテアーゼ, 酸性カルボキシペプチダーゼ, リパーゼは国税庁所定分析法³⁾ により, 酸性ホスファ

Table 1 Details of the test brewing.

Brewing location	Brewing Classification	Test	Polished ratio(%)	Total rice (kg)	Koji(%)		Enzyme dosage(g)	Enzyme/Total rice(g/1000 kg)
					Control	Test		
1	Junmai-ginjou	Replacement	50	600	18.3	11.7	110	183
2	Junmai-ginjou	Replacement	50	2,000	20.5	12.2	500	250
3	Ginjou	Replacement	50	630	20.6	12.2	132	210
4	Ginjou	Replacement	50	1,750	21.4	13.4	350	200
5	Ginjou	Replacement	50	3,515	15.4	10.2	450	128
6	Ginjou	Replacement	50	3,515	15.4	10.2	850	242
7	Ginjou	Replacement	50	3,000	21.0	13.3	600	200
8	Ginjou	Replacement	55	1,900	21.1	12.6	400	211
9	Ginjou	Replacement	58	3,485	21.0	12.6	738	212
10	Ginjou	Replacement	60	13,000	17.7	11.5	2000	154
11	Ginjou	Replacement	60	2,400	20.8	12.5	400	167
12	Junmai	Replacement	55	6,000	19.5	11.5	1500	250
13	Junmai-ginjou	Addition	50	2,020	21.8	21.8	250	124
14	Ginjou	Addition	50	3,000	21.0	21.0	200	67
15	Junmai	Addition	60	1,500	20.8	20.8	190	127

ターゼは既報⁴⁾に従い活性を測定した。

2. 「グルク吟」の配合

高級酒製造用「グルク吟」は *Aspergillus oryzae* 起源の α -アミラーゼ、酸性プロテアーゼ、酸性カルボキシペプチダーゼ、*A. niger* 起源のグルコアミラーゼ、酸性ホスファターゼ、*Rhizopus* 起源の酸性プロテアーゼ、*Mucor* 起源のリパーゼを用いて、酵素活性が吟醸麹と同等になるように配合した。配合後の酵素活性は、酵素剤 1 mg 当たり α -アミラーゼ活性 260 単位、グルコアミラーゼ 120 単位、酸性プロテアーゼ 860 単位、酸性カルボキシペプチダーゼ 490 単位、酸性ホスファターゼ 40 単位、リパーゼ 3,000 単位であった。「グルク吟」250 g に含まれる酵素活性は吟醸麹 100 kg に含まれる酵素活性に相当する。

3. 試験醸造

試験の概要を Table 1 に示した。留麹を酵素剤で代替した試験（以下、留麹代替試験と記す）を 12 区（純米吟醸 2、吟醸 9、純米 1）、「グルク吟」上乗せ（補填）試験（以下、上乗せ試験と記す）を 3 区（純米吟醸、吟醸、純米各 1）について行った（製造場は 13 社）。上乗せ試験では麹歩合として 5 % 分の上乗せとなる酵素剤を補填した。市販高級酒造りを目的とした低温発酵を行い、それぞれ同一品種、同一精米歩合の対照醪を立て、製成酒を比較した。なお、醪の最高品温を 12℃以下とするように各製造場に依頼

した。

4. 一般成分の分析

一般成分は国税庁所定分析法³⁾により分析した。醪の並行複発酵の解析は、アルコール分と日本酒度を用いて既報⁴⁾の方法により求めた。

5. アミノ酸組成及びアミノ酸類似化合物の分析

製成酒のアミノ酸組成は、日立高速アミノ酸分析計 L-8800 型を使用し、生体アミノ酸分析法（分析時間 2 時間 30 分）で行った。試料は、清酒 100 μ l に 900 μ l の 0.02 N 塩酸を加えて調製し、この 20 μ l をアミノ酸分析計に供した。

6. 香気成分の分析

製成酒の香気成分は、Hewlett Packard 社の HP 6890 型ガスクロマトグラフィ（以下、GC 分析と記す）を使用し、ヘッドスペース分析法で行った。カラムは、HP-Wax (Crosslinked Polyethylene Glycol) キャピラリーカラム（カラム直径 0.25 mm、カラム長さ 60 m、溶媒相の厚さ 0.25 μ m）を使用した。ヘッドスペース装置は、HP 7694 型を使用し、10 ml 用バイアルに試料清酒を 5 ml と内部標準（*n*-アミルアルコール 100 ppm、カブロン酸メチル 10 ppm）1 ml を加え、試料の入ったバイアル瓶を 80℃で 20 分加温後、2 ml のヘッドスペースをカラムに注入した。キャリアーガスは、ヘリウムガスを使用し、流速は 2 ml/分とした。カラム温度を 60℃で 2 分間

Table 2 Fermentation condition and components of the general ingredients of test and control sakes

Brewing location	Brewing Classification	Test	Fermentation		Components of general ingredients.									
			Max temperature (°C)		Moromi periods (days)		Alcohol(%)		Meter		Acid		Amino acid	
					Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test
1	Junmai-ginjou	Replacement	11.5	10.5	33	35	16.2	16.0	4.0	5.0	1.3	1.3	1.0	1.1
2	Junmai-ginjou	Replacement	13.0	13.0	23	24	18.2	18.3	3.0	2.0	1.7	1.8	1.5	1.8
3	Ginjou	Replacement	10.5	10.5	27	27	15.7	15.6	-2.0	-2.0	1.5	1.7	0.9	1.0
4	Ginjou	Replacement	12.0	12.0	23	22	17.0	17.0	5.0	4.0	1.6	1.5	0.9	1.0
5	Ginjou	Replacement	10.3	10.7	28	23	17.3	17.7	-4.0	-4.0	1.6	1.6	1.4	1.2
6	Ginjou	Replacement	10.3	10.8	28	24	17.3	17.3	-4.0	-2.0	1.6	1.6	1.4	1.2
7	Ginjou	Replacement	10.7	10.7	35	35	19.2	18.6	5.0	5.0	1.5	1.6	1.4	1.5
8	Ginjou	Replacement	12.5	12.5	19	20	16.4	16.8	-11.0	-9.0	1.8	2.0	1.2	1.6
9	Ginjou	Replacement	12.0	12.0	29	33	18.6	18.8	-4.5	-5.0	2.2	2.2	1.5	2.0
10	Ginjou	Replacement	12.0	11.9	23	25	18.0	17.8	3.0	4.0	2.2	2.2	1.0	1.0
11	Ginjou	Replacement	14.0	14.0	21	20	18.3	18.3	-3.0	0.5	1.5	1.7	1.5	1.3
12	Junmai	Replacement	12.0	12.0	20	26	16.9	17.6	-2.5	5.0	1.9	1.8	1.2	1.2
Average			11.7	11.7	26	26	17.43	17.48	-2.50	-0.20	1.70	1.74	1.23	1.32
13	Junmai-ginjou	Addition	11.0	11.0	31	32	16.8	16.7	1.0	-1.0	1.5	1.6	1.2	1.2
14	Ginjou	Addition	10.7	10.8	35	35	19.2	19.0	5.0	4.0	1.5	1.7	1.4	1.5
15	Junmai	Addition	12.7	13.0	27	23	18.3	18.3	1.5	0.0	1.6	1.6	1.2	1.2
Average			11.5	11.6	31	30	18.10	18.00	5.00	1.00	1.53	1.63	1.27	1.30

Ingredients before alcohol addition are shown.

保持、10°C/分の昇温速度で230°Cまで昇温し（17分間）、230°Cで1分間保持する昇温分析法（分析時間20分間）にて分析した。

実験結果及び考察

1. 醗経過への影響

各製造場からの報告をみると、仕込みの精米歩合は50%から60%、総米は600kgから13,000kgであった（Table 1）。醗経過とアルコール添加前の成分をTable 2に示した。醗の最高温度は12°C以下とするように依頼したが、実際は10.3~14.0°Cの範囲であった。製造場ごとの対照醗と試験醗はほぼ同一の経過をとることができたと推測される。醗日数は、留麴代替え試験、上乗せ試験とも対照区と比べて（一部の製造場を除き）大きな差はなかった。グルク吟を使用しても順調に発酵が進行すると思われた。

2. 一般成分への影響

アルコール添加前のアルコール分、日本酒、酸度及びアミノ酸度は、留麴代替え試験、上乗せ試験とも対照醗と試験醗はほぼ同一であり、両者の間にはほとん

ど差異が認められなかった（Table 2）。

特にアミノ酸度については、従来から市販されている酵素剤を留麴に代替えて用いると極端に減少することが知られているが^{5,6)}、今回開発した酵素剤は対照醗と試験醗の間に差異は認められない。これはグルク吟に酸性カルボキシペプチダーゼが配合されているためと考えられる。

3. 製造実績への影響

製造実績をTable 3に示した。アルコール分と日本酒度から並行複発酵を解析した結果、蒸米の溶解率（%）、推定純アルコール取得量（L/t）及び推定粕歩合（%）は留麴代替え試験、上乗せ試験とも対照醗と試験醗で全く差異が認められなかった。実際の製造場における純アルコール取得量（L/t）と粕歩合（%）は上槽時の搾りの程度によって差が生じ正確に比較できない場合もあるが、対照醗と試験醗の間にはほとんど差異が認められなかった。これらの結果は今回開発した「グルク吟」は、ほぼ吟醸麴と同等の蒸米溶解力、糖化力を有することを示すものと考えられる。

Fig. 1 The influence of Gluc Gin on the amino acid composition (Replacement).

Fig. 2 The influence of Gluc Gin on the amino acid composition (Addition).

4. アミノ酸組成に及ぼす影響

清酒の味に関係が深いと考えられるアミノ酸組成について、タンパク質を構成する20種類のアミノ酸の他に生体分析法で検出されるアミノ酸類似化合物18種類も定量した。これらを酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、中性アミノ酸、疎水性アミノ酸、アミノ酸類似化合物に分けて百分率でFig.1とFig.2に示した。

留麹代替え試験では試験醪は中性アミノ酸がやや少なく塩基性アミノ酸がやや多い傾向が認められた。上乗せ試験では試験醪と対照醪の間にはほとんど差異は認められなかった。Table 4は尿素サイクルに関連するアミノ酸を示したものであるが、留麹代替え試験でアルギニン量は有意差が認められた。アルギニンからアルギナーゼによってカルバミン酸エチルの原因物質で

Table 3 Results of the test brewing

Brewing location	Brewing Classification	Test	Dissolution rate(%)		Estimated 100% Alcohol yield (l/t)		Estimated Sake cake (%)		Measured 100% Alcohol yield (l/t)		Measured Sake cake (%)	
					Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test
1	Junmai-ginjou	Replacement	62.6	61.5	281	277	60.9	63.8	298	281	72.5	80.0
2	Junmai-ginjou	Replacement	74.7	75.0	334	335	30.8	29.9	333	364	46.2	43.7
3	Ginjou	Replacement	68.5	68.3	296	295	46.2	46.7	296	274	47.6	54.2
4	Ginjou	Replacement	71.4	72.2	322	324	39.1	37.0	323	319	37.4	39.4
5	Ginjou	Replacement	76.0	74.9	327	325	27.6	30.3	334	334	39.0	39.5
6	Ginjou	Replacement	76.0	76.1	327	328	27.6	27.2	334	323	39.0	49.2
7	Ginjou	Replacement	74.2	71.7	336	324	31.9	38.3	330	330	43.1	43.9
8	Ginjou	Replacement	74.7	76.1	308	318	30.7	27.3	322	329	42.7	40.1
9	Ginjou	Replacement	76.0	77.6	327	334	27.6	23.6	367	384	27.6	24.1
10	Ginjou	Replacement	77.0	75.7	344	340	25.1	28.3	384	387	29.1	30.4
11	Ginjou	Replacement	76.0	74.6	330	329	27.5	31.0	383	375	31.5	32.5
12	Junmai	Replacement	75.0	75.1	325	339	30.0	29.8	336	360	34.2	34.8
Average			73.5	73.2	321.4	322.3	33.8	34.4	337	338	41	43
13	Junmai-ginjou	Addition	72.6	73.1	320	319	36.1	34.8	—	—	51.5	49.5
14	Ginjou	Addition	74.2	73.8	336	332	31.9	33.0	330	330	43.1	39.5
15	Junmai	Addition	73.8	74.5	327	328	33.1	31.2	349	348	38.7	39.3
Average			73.5	73.8	327.7	326.3	33.7	33.0	340	339	44.4	42.8

Table 4 Amino acid related to the urine base cycle

Brewing location	Brewing Classification	Test	Urea		Citruline		Ornithine		Arginine	
			Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control
1	Junmai-ginjou	Replacement	0.0	0.0	0.3	0.2	0.7	1.4	2.0	1.1
2	Junmai-ginjou	Replacement	3.7	3.5	0.3	0.0	1.8	1.7	31.4	20.0
3	Ginjou	Replacement	0.0	0.0	0.2	0.2	1.1	1.4	3.0	3.7
4	Ginjou	Replacement	5.0	3.1	0.3	0.3	1.3	1.1	5.9	3.1
5	Ginjou	Replacement	3.1	0.0	0.3	0.0	2.6	2.9	24.6	24.8
6	Ginjou	Replacement	2.7	3.2	0.3	0.5	2.3	2.7	29.7	23.2
7	Ginjou	Replacement	4.6	0.0	0.6	0.7	1.9	2.9	10.1	10.4
8	Ginjou	Replacement	6.9	9.5	0.3	0.3	1.6	1.4	36.2	21.1
9	Ginjou	Replacement	7.3	6.4	1.2	0.6	4.7	2.9	29.3	16.3
10	Ginjou	Replacement	3.1	3.2	0.7	0.4	2.7	2.4	22.7	19.1
11	Ginjou	Replacement	5.0	4.7	1.1	0.0	5.1	6.1	13.9	8.9
12	Junmai	Replacement	3.1	0.0	0.0	0.0	2.2	1.8	30.0	25.9
Average			3.7	2.8	0.5	0.3	2.3	2.4	19.9	14.8
13	Junmai-ginjou	Additon	0.0	2.9	0.0	0.0	0.7	0.8	5.2	1.0
14	Ginjou	Additon	3.3	3.1	0.6	0.6	2.5	2.9	2.8	10.5
15	Junmai	Additon	2.7	3.0	0.4	0.0	2.6	2.8	35.8	28.8
Average			2.0	3.0	0.3	0.2	1.9	2.2	14.6	13.4

(mg/100 ml sake)

Table 5 Differences of volatile components (ppm)

Brewing place	Brewing classification	Acetoaldehyde		Ethyl Acetate		Ethyl Butyrate		i-Amyl Acetate		Ethyl n-Caproate		Ethyl n-Caprylate		n-Propanol		i-Butanol		i-Amyl Alcohol	
		Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test
1	Junmai-ginjou	20	25	40	69	1.8	1.6	7.9	6.1	3.7	3.3	0.6	0.4	52	55	46	49	98	113
2	Junmai-ginjou	21	30	111	123	2.1	2.4	6.7	6.9	3.1	2.9	0.5	0.5	65	76	64	64	132	138
3	Ginjou	19	21	93	75	1.6	1.4	4.4	4.6	1.2	1.9	0.3	0.3	61	44	72	54	125	105
4	Ginjou	23	24	49	86	1.3	1.2	8.2	7.4	4.1	4.9	0.6	0.7	65	52	73	68	119	119
5	Ginjou	17	21	109	105	1.9	1.7	4.4	5.2	1.6	1.7	0.5	0.5	67	65	59	60	122	120
6	Ginjou	15	21	109	113	1.9	1.7	4.7	5.7	1.6	1.8	0.4	0.5	65	63	58	61	119	117
7	Ginjou	19	30	69	68	1.8	1.7	4.7	5.0	3.7	3.2	0.5	0.4	60	69	66	70	149	132
8	Ginjou	24	25	76	77	1.9	1.9	4.2	4.3	2.5	2.3	0.5	0.5	81	84	55	52	115	117
9	Ginjou	18	15	68	78	0.0	0.0	4.0	4.3	3.2	2.8	0.0	0.0	43	58	61	66	129	136
10	Ginjou	12	9	94	100	1.6	1.7	4.7	4.9	1.5	1.3	0.0	0.0	72	75	58	59	111	111
11	Ginjou	22	19	50	63	0.0	1.4	2.8	3.7	12.9	10.4	0.9	0.9	100	89	55	58	115	142
12	Junmai	13	13	63	73	1.1	1.2	3.7	3.6	3.5	3.2	0.0	0.0	62	74	50	58	114	135
Average		18.6	21.1	77.6	85.8	1.4	1.5	5.0	5.1	3.5	3.3	0.4	0.4	66.1	67.0	59.8	59.9	120.7	123.8
13	Junmai-ginjou	11	12	81	83	1.7	1.6	3.5	3.3	3.8	3.0	0.7	0.6	37	40	50	53	111	145
14	Ginjou	19	23	70	71	1.8	1.8	4.6	4.8	3.6	3.5	0.5	0.5	61	70	67	67	118	120
15	Junmai	13	19	101	103	2.3	2.3	5.3	5.5	1.6	1.7	0.0	0.0	100	108	55	56	117	123
Average		14.3	18.0	84.0	85.7	2.0	1.9	4.5	4.6	3.0	2.7	0.4	0.4	66.0	72.7	57.3	58.7	115.3	129.3

Table 6 Results of the sense evaluation

Brewing location	Brewing Classification	The number of chosen panelists		Statistical significance
		Control	Test	
1	Junmai-ginjou	17	17	Not significant
2	Junmai-ginjou	16	18	Not significant
3	Ginjou	8	26	Significant at 1 % level
4	Ginjou	14	19	Not significant
5	Ginjou	11	23	Significant at 5 % level
6	Ginjou	15	18	Not significant
7	Ginjou	16	18	Not significant
8	Ginjou	20	13	Not significant
9	Ginjou	19	15	Not significant
10	Ginjou	22	12	Not significant
11	Ginjou	20	14	Not significant
12	Junmai	17	17	Not significant
13	Junmai-ginjou	20	13	Not significant
14	Ginjou	22	12	Not significant
15	Junmai	21	13	Not significant

Sense evaluation was carried out by 34 panelists with a pair-test.

ある尿素が生成されることが知られているが尿素の生成量には試験酒と対照酒の間に有意な差が認められなかった。これまで麴を酵素剤で代替えた仕込みでは尿素量が多くなると報告されていたが⁷⁾、今回の試験醸造では尿素の生成量の増加は認められなかった。これは低温発酵においても「グルク吟」を用いた場合、

発酵が麴を用いて仕込んだ場合と同様に経過し、発酵が遅れないことに起因すると推測される。

5. 香気成分への影響

製成酒の香気成分を GC 分析した結果を Table 5 に示した。製造場間において若干の差があるが、留麴代替え試験では試験麴と対照麴の間にはほとんど差異

が認められなかった。上乘せ試験ではイソアミルアルコールが若干多くなる傾向があった。「グルク吟」を上乘せで使用する場合には酵素活性が過剰となり、発酵が急進し、品質に悪影響を及ぼすことも予測されるため、麴の出来を見極めた上で使用する必要があると考えられる。

6. 官能評価に及ぼす影響

官能評価は、良い方を選択しその理由をコメントするペアーテストで行った。日本酒造組合中央会中部支部の若手技術者 34 人をパネラーとし、試験酒或いは対照酒の良い方を選択しその理由をコメントする評価方法で行った。その結果を Table 6 に示した。評点について平均値の差の検定を行った結果、大部分の試験酒は対照酒と差がないという結果であったが、留麴対代替え試験で 2 点に試験酒の方が統計的に良いとされる結果が得られた。今回の試験醸造の結果から、「グルク吟」は吟醸酒、純米酒などの高級酒製造において、麴を代替えして麴仕込みと同等の品質の製品を造ることが可能であると考えられた。これら高級酒の品質は麴の出来に左右されるが、酵素剤を用いることで酵素活性のバラツキを抑え一定品質の清酒が製造できると予測される。

要 約

1. 高級酒造りの低温発酵において使用可能な酵素剤を開発し、13 製造場において留麴代替え及び上乘せの試験醸造を行った結果、試験醪と対照醪には醪日数、純アルコール収得量、粕歩合ともほとんど差が認められなかった。
2. 試験酒と対照酒の一般成分を比べてみると、アルコール分、日本酒度、酸度、アミノ酸度はほとんど差が認められなかった。アミノ酸組成は試験酒で塩基性ア

ミノ酸がやや多かったが大きな差ではなく、香気成分も大きな差は認められなかった。

3. 官能的には留麴代替え試験 10 点のうち 2 点で試験酒の方が有意に良好との結果となったが、他の留麴代替え試験、上乘せ試験では官能的に有意な差は認められなかった。

4. 「グルク吟」を用いて吟醸酒、純米酒などの高級酒の製造が可能であると考えられた。特に留麴の代替えとしての使用が効果的であった。

終わりに、試験醸造にご協力いただきました 13 製造場の皆様、官能評価にご協力いただきました日本酒造組合中部支部の若手技術者の皆様、愛知県食品工業技術センターの深谷伊和男先生、西田淑男先生をはじめとするスタッフの皆様に対して厚く御礼を申し上げます。

文 献

- 1) 岩野君夫；醸造用資材規格協議会編，日本酒用酵素剤 Q&A p6
- 2) 岩野君夫，三上重明，磯谷敦子，天野 仁，佐藤深雪；醸協，**95**(9)，672-678 (2000)
- 3) 第 4 回改訂国税庁所定分析法注解，(財)日本醸造協会
- 4) 清水弘人，中谷俊多美，岡部正人，三上重明，岩野君夫；醸協，**91**(5)，362-366 (1996)
- 5) 村上英也，原 昌道，大場俊輝，志水伸一，天尾壮一郎，高野文夫；醸協，**66**(12)，1174-1178 (1971)
- 6) 難波康之祐，永谷正治，岩野君夫；醸協，**71**(1)，45-48 (1976)
- 7) 椎木敏，岩野君夫，三上重明；醸協，**83**(4)，276-280 (1988)