IV. 腐造臭本体の発見並びに考察 著者等 (山田, 吉沢) は守随等が清酒もろみの醗酵中に各種の鎖状脂肪酸又はその Na 塩を投入して対応するエチルエステルの芳香を得る試験中酢酸に限りそのエステルの特異の香を感知し得られない理由を明にするため再度激しく醗酵中の清酒もろみに蟻酸より stearic acid に及ぶ各種脂肪酸を投入してエステルの造成を試験中であつたが, その酢酸を投入したものに於て矢張り酢酸エチルでは無く実に永い間本体を突きとめ得なかつた腐造臭乃至は酸臭 (輕微にはつわり臭と呼ばれるもの) を明に認める事が出来た。時に昭和 33 年 3 月 17 日。これは腐造酒中から腐造臭本体の検索を行つて多量の酢酸を得ている事によく符合するものであり, 実に忌むしい腐造臭は酢酸臭であつた訳である。

かくて腐造酒の悪臭を消去する方法としてその酒の総酸を中和して行き 10 ml に対する N/10 NaOH 滴定数 1.2 ml に及ぶときその臭が全く消失し, そのものに酸を加え又は他の清酒を混合する時悪臭が再現する理由も明かとなった。即ち腐造酒中の腐造臭を完全に消去するにはこの悪臭成分である酸をイオン交換樹脂等により吸着除去するのが最も適当な方法である事を思ひ合せたので, 目下その方向に向つて研究中である。腐造酒中には実験の示す通り不揮発酸部に多量の乳酸を保有している。即ち腐造は清酒もろみの初期に侵入してきた乳酸菌により惹起され, 特にその菌がヘテロ型の場合酢酸を副生して悪臭の源をなすものであると考えられる。

摘 要

(1) 腐造酒 180 l より腐造臭の本体の存在する揮発酸部を分離した結果, その部分の主体をなすものは酢酸である事を再度確認した。

(2) 腐造酒中には多量の乳酸を保有する。

(3) 腐造酒中の中性エーテル溶出区分は acetoin, butylene glycol 等で格別健全酒中の成分と異つたものではない。

(4) 激しく醗酵中の清酒もろみに酢酸を投入して数日後これをかいで顕著な腐造臭を感知する事が出来た。即ち腐造臭の本体は酢酸である事を明にする事が出来た。

(1) 山田正一: 釀協, 46, 釀研 1~3 (1951)。

郎: 釀協, 46, J 9~11 (1951)。

(3) 秋山裕一, 中山大樹: 釀協, 46, K 38~44 (1951)。

(5) 山田正一, 高岸勝一郎: 釀造試報, 122, 143~148 (1935); 守随稀雪, 山本銀二, 杉田脩: 釀協, 45, 12~15 (1950)。

(3) 山田正一, 小武山温之, 二瓶孝夫, 阿部秀雄: 釀協, 46, 釀研 4 (1951)。

(6) 大高洋一, 山内あつ: 本誌, 29, 880 (1955)。

(4) 小武山温之, 二瓶孝夫, 阿部秀雄, 佐々木二

麴菌プロテアーゼの天然性阻害物質に関する研究 (第 5 報)*

阻害物質の作用機作並びに活性に及ぼす各種蛋白質試薬の影響に就いて

松 島 欽 一 (三重大学農学部農芸化学科)

昭和 33 年 7 月 2 日 受 理

緒 言

自然界の各種の動植物性物質中に存在する麴菌プロテアーゼの天然性阻害物質に関しては既に数報に亘つて報告して来たが^(1~4), 之等の阻害物質の作用機作並びにそれらの活性に及ぼす各種蛋白質試薬の影響に就いて試験を行った結果を本報で述べる。

実 験 方 法

酵素液 タカジアスターゼ抽出液より天野等⁽⁵⁾の方法に準じて精製を行った前報⁽⁶⁾記載の標品を用いた。同報告で明らかにした如く本標品中にはアルカリ性プロテアーゼ (これのみが特異的に阻害せられる) の他に尚酸性プロテアーゼ及び微酸性プロテアーゼが含有されるが, pH 8 以上の酵素作用条件では前者のみの単一酵素系

* 糸状菌類の蛋白分解酵素に関する研究 (第 18 報)

On the Naturally Occurring Inhibitors of *Aspergillus*-protease. Part V. Mode of Action of the Inhibitors, and Influence of Group Specific Reagents.

By Kin'ichi MATSUSHIMA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Mie University)

第 1 図 裸麦より阻害物質の精製

(註) 図中の数字は既報⁽⁷⁾の potato inhibitor の場合と同じく比活性度を示す。

第 2 図 そら豆より阻害物質の精製

(註) 図中の数字は既報⁽⁷⁾の potato inhibitor の場合と同じく比活性度を示す。

第 3 図 反応物の混合順序と阻害度

(註) EI (又は SI) は 35°, 10 分間作用せしめた。
○—○ SI+E ●—● EI+S

として取り扱い得る。

阻害物質 阻害物質の素材としては馬鈴薯、裸麦、そら豆及び卵白の 4 種をえらんだ。之等の素材からの各々の阻害物質の精製分離は、馬鈴薯及び卵白の場合は既報^(3,7)の如くして、又裸麦及びそら豆の場合は第 1 図及び第 2 図の如くして行った。

酵素作用並びに測定方法 既報⁽⁷⁾に於けると同様である。但し pH 10 に於いて酵素作用を行わせた。

結果及び考察

I. 阻害物質の作用機作

1) 反応物の混合順序と阻害力: Viswanatha 等⁽⁸⁾は soybean inhibitor⁽⁹⁾, Kunitz⁽¹⁰⁾ 及び Kazal⁽¹¹⁾ の pancreatic inhibitor のトリプシン阻害作用が酵素、阻害物質及び基質の混合順序の如何によって異った結果を示すという興味ある報告を行っている。即ち同氏等によれば、酵素と阻害物質との混合物に基質を添加する反応系(EI+S)よりも基質と阻害物質との混合物に酵素を添加して反応を開始せしめる系(SI+E)の方がより大きな阻害の起ること、換言すれば基質が存在する場に於ける方が然らざる場合よりも一定量の阻害物質と結合する酵素の量はより大であるという事実を認めている。そして斯る現象はトリプシンが monomer-polymer の平衡状態にある中性附近でみられるが、それが monomeric form として存在し易い酸性溶液やカルシウムイオンの存在下では起らないと述べている。

そこで、麴菌プロテアーゼに対する筆者の阻害物質の場合にも斯る現象が実際に認められるや否やに就いて試験したのであるが、第 3 図にその 1 例を示した如く何れの阻害物質の場合にも EI+S の方が SI+E よりも阻害の程度は大で、上記トリプシンの場合の如き現象は認めることが出来なかった。尚本実験結果は、酵素と阻害物質とは化学量論的な関係に於いて反応することを示している。

2) 酵素阻害物質の反応時間の影響: 上の実験結果から基質添加前予め酵素と阻害物質とを preincubation した方が阻害力大きいことが明らかとなったので、次に酵素と阻害物質との反応の時間(各温度に於ける)と阻害力との関係を試験した。この場合にも 4 種の阻害物質について全く同じ結果が得られたので、その 1 例として potato inhibitor についての実験結果を第 4 図に示した。この結果から酵素と阻害物質との反応は極めて速かに平衡に達し、且つ低温よりも高温に於ける方がその速度はより大であることがわかる。

3) 阻害型式について: 酵素反応の阻害型式に就

第 4 図 各温度に於ける酵素阻害物質 (EI) の preincubation の影響

第 5 図 Lineweaver, Burk 法による阻害型式の解析

●—● 対照 ○—○ 阻害物質添加
V: 初速度 (O.D.) S: カゼイン濃度 (%)

いては拮抗的阻害, 非拮抗的阻害がよく知られている。前者は基質と阻害物質とが酵素分子の特定の作用基に対してせり合いをするのに対して, 後者の場合には両者は酵素分子の各々異った点に於いて結合する。尚この他に前二者と異り, 阻害物質が遊離の酵素とは結合せず基質と結合している酵素とのみ結合して反応の進行を阻害する反拮抗的阻害も比較的稀な例ではあるが知られている⁽¹²⁾。

さて, 筆者の阻害物質の麹菌プロテアーゼに対する阻害作用は以上の阻害型式の何れに属するかを知るために Lineweaver, Burk⁽¹³⁾ の double reciprocal plot 法を用いて解析した結果は第 5 図に示した如くである (4 種の阻害物質悉く同じ結果を示した)。尚反応速度 (V) は上記の測定方法で反応が時間と比例して進行する (各基質濃度に於いて) 範囲内で測定を行い吸光度を以て表わした。又基質濃度 (S) はカゼインの % で表わした。この結果よりすれば対照系と阻害物質添加系の与える直線の intercept は異なるから阻害物質, 酵素及び基質間の反応は拮抗的阻害でないことは明らかである。然らば非拮抗的阻害と反拮抗的阻害との中の何れであろうか。Lineweaver, Burk⁽¹³⁾ の表現法による関係式⁽¹²⁾よりすれば, 前者の場合には slope 及び intercept の相異なる直線が得られる筈であり, 後者の場合には intercept の異なる互いに平行なる直線が得られる筈である。図の結果よりすれば各々の直線は見掛け上殆んど平行であり, 一見反拮抗的阻害であるかの如く思われる。併し乍ら本酵素の場合, その初速は基質濃度に関係なく殆んど同じ (供試濃度範囲に於いて) であり (蔭山等⁽¹⁴⁾も既にこれと全く同様の事実を認めている), 従って $1/S$ と $1/V$ との関係直線の傾斜は極めて小であることから, このグラフの示す結果からその何れのタイプと断定することは甚だ危険と思われる。寧ろ第 4 図に示した実験事実, 即ち酵素と阻害物質との preincubation の効果が明らかに認められ, 而もそれが温度が高くなる程より顕著であるという事実の方が遙かに鮮明に阻害物質が遊離の酵素と結合すること (従って反拮抗的阻害ではない) をあきらかにしているのであって, このことから阻害物質, 酵素及び基質間の反応は非拮抗的阻害と考えるのが妥当であろう (上記の方法以外に, 銅-Folin 呈色法⁽¹⁵⁾, ゼラチンを基質とするホルモール滴定法によっても同様の解析を行ったが, 何れの場合にも同じ結論に達した)。尚各種のトリプシン阻害物質についてもその阻害型式が非拮抗的であることが報告せられている^(16~18)。

4) 阻害の可逆性について: 上記の如く, 阻害物質は酵素と結合して酵素阻害物質複合体を形成することは

第 1 表 EI-complex よりペプシン消化による E の回収

番号	系	吸光度	%
1	E	0.381	100
2	E+I	0.131	34.3
3	(E+I)+ペプシン	0.381	100

(註) ペプシンは pH 3.5, 30° で 30 分間作用せしめた。又 (1) 及び (2) の系には煮沸ペプシンを加えて同一条件で処理した。

明らかであるが, 酵素活性を喪失したこの複合体から阻害物質を抹消することによって酵素を再びもとの活性に復させ得るかどうかを試験した。Miller 及び Kneen⁽¹⁹⁾ はアセラーゼ (麦芽) と阻害物質 (Leoti Sorghum) との複合体から, 両者のアセトン溶液 (66%) 中に於ける溶解度が pH によって異なる性質を利用して再びもとの活性な酵素と活性な阻害物質とに分けられることを報告しているが, 筆者の阻害物質の場合硫酸による沈澱性に於いて

酵素との間にかなり顕著な隔りがあるので、この性質の差を利用して両者を分離せんと試みたが成功するには至らなかった。そこで阻害物質がペプシンによって極めて容易に消化される（但し馬鈴薯の阻害物質のみは例外である）性質を利用して、酵素・阻害物質複合体中の阻害物質を抹消することにより酵素を復活せしめ得るか否かを試験した処、第 1 表にその 1 例を示した如く酵素は完全にもとの活性に復元することを知った。

II. 各種蛋白質試薬の阻害力に及ぼす影響 自然界に存在する等の各種の阻害物質はその本体が何れも蛋白質性のものであるという共通性をもっているが、耐熱性、酸及びアルカリに対する抵抗性、ペプシン又はパインによる失活性、その他吸着性等においてかなり異った性質を示し、物質としては必ずしも同一種のものとは考えられないことは既報^(2,3)の実験結果から容易に首肯せられる。処が物質としては異った等の阻害物質が酵素反応という場に於いては上述の如く非拮抗的な型式に於いてこれを阻害するという共通の作用能を発揮する。一般に阻害物質が酵素と結合して反応の進行を阻害するには必ずや酵素との結合にあずかる原子団がある筈である。さて本阻害物質の場合、物質としては各々相異なるけれども上述の如く共通の阻害型式を示すからにはそれらに共通した活性基がある筈であると考えてよいであろうか。それ共又、物質としてのちがいが酵素との結合に与る原子団の種類に迄もその影響を及ぼしているものであろうか。換言すれば阻害物質の活性基はその種類を問わず常に一定のものであろうか、それ共又それぞれにちがったものであろうか。斯る観点から各種の group specific reagents を各々の阻害物質に作用せしめてその活性の変化を比較したのが第 2 表に示した結果である。以下この結果を基にして論議を試みんとするのであるが、各々の試薬の反応性に就いては赤堀等編集の成書^(20,21)によったので個々の場合の文献は特に記載を省略した。

第 2 表 各種蛋白質試薬の阻害力に及ぼす影響（残存活性、%）

試薬	濃度	馬鈴薯	裸麦	そら豆	卵白	備考	物質が各種の試薬に
酸化剤	Ferricyanide M/50	92.1	95.3	100	90.0	pH 7, 25°, 20 hrs.	よって受ける影響にはかなり差が存在することが認められる。例えばシステイン、チオグリコール酸に
	I ₂ M/500	80.3	93.8	93.6	116.5	pH 3, 0°, 30 min.	
	H ₂ O ₂ M/100	80.9	56.1	96.1	14.4	pH 6.6, 25°, 24 hrs.	
還元剤	Cysteine M/100	94.3	136.3	112.6	25.1	pH 7, 25°, 18 hrs.	inhibitor が、又ホルマリン (pH 7) によ
	Thioglycolic acid M/10	100	100	100	25.6	pH 7, 25°, 20 hrs.	
	H ₂ SO ₃ M/100	93.8	87.2	91.0	86.1	pH 7, 20°, 18 hrs.	
	Cyanide M/50	87.0	81.5	94.5	75.4	pH 7, 20°, 18 hrs.	
アルキル化剤	Iodoacetate M/20	100	97.8	100	94.0	pH 7, 25°, 1 hr.	よってそら豆中の阻害物質がそれぞれ特異的に活性の喪失を
	PIC-S* M/100	58.2	35.8	52.8	52.2	pH 7, 25°, 18 hrs.	
その他	HCHO (pH 7) 2 M	94.2	92.7	20.8	85.2	pH 7, 25°, 60 min.	来し、又ヨード (pH 8) によ
	HCHO (pH 11) 2 M	28.2	55.8	20.2	57.9	pH 11, 25°, 10 min.	
	PCMB** M/100	100	87.9	100	96.3	pH 7, 25°, 30 min.	
	Acid-alcohol M/10	31.9	16.0	57.7	116.5	0~5°, 24 hrs.	
	I ₂ M/500	82.5	13.8	47.6	9.5	pH 8, 25°, 3 hrs.	

(註) * Picrylsulfonate (Trinitrobenzenesulfonate) ** *p*-Chloromercuribenzoate

阻害物質と試薬（対照は同一緩衝液又は同一溶剤）とを反応せしめた後、過剰の試薬は透析（或いは阻害物質をアセトンで沈澱せしめること）により除去した。但し I₂ の場合のみは、反応後チオ硫酸ソーダを添加した。

来し、又ヨード (pH 8) によつては馬鈴薯中の阻害物質のみが、HCl-飽和メタノールによつては ovo-inhibitor のみがそれぞれ殆んど、或いは全く影響を蒙らないが如きである。

ピクリルスルホン酸は何れの阻害物質に対してもその活性を約半分或いはそれ以下に迄低下せしめる作用を有するが、本試薬は最近佐竹等⁽²²⁾によつてアミノ基とのみ特異的に、而も容易に反応する試薬として見出されたものであり、この結果から各阻害物質に共通的にこの基が活性に関与していることが知られる。

又ホルマリン (pH 11) によつても阻害物質は例外なく失活する（その程度には勿論差異があるが）ことが認められるが、本試薬は pH 11 に於いてはアミノ基、インドール基、アミド基と容易に反応しその他グアニジル基、スルフヒドリル基とも反応することが知られている。只アミノ基との反応は可逆的でその誘導体を透析すれば再びもとの遊離状態にもどるので、この場合の失活とは一応無関係と思われる。又スルフヒドリル基については、その特異的試薬として知られているモノヨード酢酸、*p*-chloromercuribenzoate、その他 ferricyanide、ヨード（酸性に於いて）等によつて何も全く影響をうけない事実から、この基が活性とは無関係であると考えて差支えなからう。尚又グアニジル基は後述の所論（註）よりしてこの場合の失活には一応無関係と考えられる。従つて pH 11 に於けるホルマリンとの反応の結果招来される阻害物質の失活には上記の各種の反応基の中で特にインドール基とアミド基が之に関与している公算が大きい。

以上各阻害物質に共通した活性基と考えられるものの他に、個々の阻害物質に特有なるものの存在も観察され

る。上述の如く ovo-inhibitor のみがシステイン又はチオグリコール酸によって顕著に失活するという事実は、ジサルファイド基がこの阻害物質に対してのみ活性基としての意義をもっていることを物語っており、又そら豆の阻害物質に対するホルマリン (pH 7) の特異的な作用はグアニジル基が本阻害物質の活性に関与している可能性を強く示している。

過酸化水素によっては ovo-inhibitor が顕著に、又裸麦の阻害物質も相当程度の失活をうける。これは之等の阻害物質の活性にチオメチル基が関係していることを推測せしめる (H_2O_2 とは -SH 基の方が寧ろ速かに反応するが、既に述べた理由により本基については問題としない)。

HCl-飽和メタノールによっては ovo-inhibitor のみを例外として他の植物性阻害物質は共に活性の低下を来すが、このことからカルボキシル基が之等の阻害物質の活性に必要であることが知られる。

ヨード (pH 8) によって potato inhibitor を除いて活性に変化を蒙る事実からフェノール基が之等の阻害物質の活性基として関与している公算が大きい。同条件でヒスチジン残基及びトリプトファン残基とも反応するから早急には断定出来ない (-SH 基もこの条件で I_2 とよく反応 (可逆的) するが、既に述べた理由から本基は問題としない)。

第 3 表 各種阻害物質の活性に関与すると考えられる反応基 (+を以て示す)

反 応 基	阻 害 物 質			
	馬鈴薯	裸麦	そら豆	卵白
アミノ基	+	+	+	+
インドール基又はアミド基	+	+	+	+
グアニジル基	—	—	+	—
チオメチル基	—	+	—	+
ジサルファイド基	—	—	—	+
フェノール基、イミダゾール基又はインドール基	—	+	+	+
カルボキシル基	+	+	+	—

勿論つつまなければならぬが、然し乍ら少く共これらの阻害物質は必ずしも全く共通の活性基を以て酵素との結合に与るものではない、という事のみは謂い得ると考える。要するに阻害物質の物質としての性質のちがいはその活性に与る原子団の種類にも差を生ぜしめているのであって、之等の阻害物質は各々種類を異にする反応基群によって酵素の catalytic point 以外の部分に於いて之れと結合する結果、型的には非拮抗的阻害という共通の作用機作によって酵素反応の進行を阻害するものといひ得よう。

要 約

馬鈴薯、そら豆、裸麦及び卵白中の 4 種の阻害物質を用いてそれらの作用機作並びに活性に及ぼす各種の蛋白質試薬の影響を試験した結果を要約すれば次の如くである。

- (1) 何れの阻害物質も非拮抗的阻害型式に於いて酵素反応の進行を阻害する。
- (2) 阻害は可逆的である。
- (3) 酵素との結合に与る反応基は必ずしも同じではない。

終りに臨み常々御助言、御鞭達を戴いている東大応用微生物研究所北原教授、北大農学部小幡教授並びに三重大学農学部田中教授に感謝の意を表す。又特に本研究に対して貴重な御助言を賜った名大理学部江上教授並びに

(註) pH 7 でホルマリンと反応する基としてはアミノ基の他にグアニジル基があり、又ある場合には -SH 基もこれと反応することが知られている。併し乍らアミノ基とホルマリンとの反応は可逆的であり、一方アミノ基が各阻害物質に共通した活性基と考えられることは前述の如くであるので、この場合アミノ基に就いては考える必要はない (若しホルマリンによる失活がアミノ基のマスクによる結果と仮定すれば他の阻害物質にも一様に失活がみられる筈である)。又 -SH 基は凡ての阻害物質の活性に無関係であることは既述の如くである。従って pH 7 におけるホルマリンとの反応によって起る失活はグアニジル基を措いては他に求められない。又斯る見解よりして上述の pH 11 に於けるホルマリンとの反応で凡ての阻害物質が例外なく失活をうける機作としては、グアニジル基が関与せず (若し然らずとせば pH 7 の反応条件でも一様に活性の低下が認められる筈である) として之を考慮外においた所以である。

阪大理学部奥貫教授に対して、更に又ピクリルスルホン酸を恵与され種々御教示を得た東京都立大学理学部佐竹教授並びに奥山典生氏に対して厚く御礼申上げる。

- (1) 松島欽一：本誌，29，883 (1955).
- (2) 松島欽一：同上，31，38 (1957).
- (3) 松島欽一：同上，32，211 (1958).
- (4) 松島欽一：三重大農学報，16，151 (1958).
- (5) T. Amano, S. Isojima, H. Fujio : *Med. J. Osaka Univ.*, 4, 255 (1953).
- (6) 松島欽一：本誌，33，120 (1959).
- (7) 松島欽一：同上，33，116 (1959).
- (8) T. Viswanatha, I. E. Liener : *J. Biol. Chem.*, 210, 97 (1954).
- (9) M. Kunitz : *J. Gen. Physiol.*, 30, 291 (1947).
- (10) M. Kunitz, J. H. Northrop : *J. Gen. Physiol.*, 19, 991 (1936).
- (11) L. A. Kazal et al. : *J. Am. Chem. Soc.*, 70, 3034 (1948).
- (12) 江上不二夫：蛋白質，核酸，酵素，2，116 (1957).
- (13) H. Lineweaver, D. Burk : *J. Am. Chem. Soc.*, 56, 658 (1934).
- (14) 藤山公雄，杉田 脩：醸工，33, 53 (1955).
- (15) 萩原文二：酵素研究法，I, p. 166, 朝倉書店 (1955).
- (16) H. Fraenkel-Conrat et al. : *J. Biol. Chem.*, 177, 385 (1949).
- (17) R. Borchers et al. : *Arch. Biochem.*, 12, 367 (1947).
- (18) N. M. Green, E. Work : *Biochem. J.*, 54, 347 (1953).
- (19) B. S. Miller, E. Kneen : *Arch. Biochem.*, 15, 251 (1947).
- (20) 蛋白質化学，2 巻，p. 25, 朝倉書店 (1954).
- (21) 酵素化学の進歩，第 5 集の 1, p. 1, 共立出版 (1954).
- (22) 佐竹一夫，奥山典生，篠 治男：蛋白質，核酸，酵素，2，355 (1957).

エンシレーズの化学的成分と品質に関する研究 (第 3 報)*

アンモニヤ態窒素と酪酸含量について

須藤 浩, 内田 仙二 (岡山大学農学部)

昭和 33 年 7 月 3 日 受理

I. 緒 言

著者らの一人須藤は、さきにエンシレーズの有機酸含量、一般成分と品質について報告したが^(1,2)、本報では有機酸とアンモニヤ態窒素の定量結果を示し、あわせてこれら因子に関係をもつ品質鑑定結果の比較について述べる。

II. 実験材料及び方法

エンシレーズ試料は、昭和 32~33 年 (1957~58) 岡山県津山市の酪農家が生産したもの 54 例で、1958 年 1 月 28 日なるべく空気に触れざる部分を団塊状に注意深く採取し、ビニール袋に密封し、これを電気冷蔵庫内に格納し、なるべく変化しないように注意し、分析用に供した。

pH 価の測定⁽³⁾は 100 g の細切試料を 500 cc のコニカルビーカーにとり、100 ml の蒸溜水を加え、よく攪拌し、これを乾燥濾紙で濾過し、pH メーター (ガラス電極) をもって測定した。水分はトルオール使用による蒸溜法により⁽⁴⁾、全窒素及びアンモニヤ態窒素は常法によった⁽⁵⁾。有機酸の定量は Flieg 氏法によった⁽⁶⁾。

分析結果について、Flieg 氏法^(7,8)、Gneist 氏法⁽⁹⁾、アメリカ酪農協会委員会の標準 (A. D. S. A. 法)⁽¹⁰⁾による評価を行った。なお Archibald 氏等⁽¹¹⁾が、良質エンシレーズの条件として示している条項に照合してみた。すなわち pH 価は 4.5 ないしそれ以下、乾物対の乳酸含量 3~5% 以上、酪酸含量は 2% ないしそれ以下、及びアンモニヤ態窒素の含量は 0.5% 以下ということになっているので、仮に 4 条件を充すものは○、2~3 条件を充すものは△、3 条件以上を充さないものは×をもって示した。

III. 実験結果及び考察

分析の結果及び評価の結果を示せば第 1~4 表のとおりである。

* Studies on the Chemical Composition and Quality of Silage. Part III. On the Contents of Ammoniacal Nitrogen and Butyric Acid.
By Hiroshi SUTOH and Senji UCHIDA (Laboratory of Animal Feeding, Faculty of Agriculture, Okayama University, Japan)