

ブドウ酒発酵中における酵母の窒素代謝について

(第1報) アミノ態窒素の消長

小原巖, 加賀美元男, 野々村英夫

(昭和35年6月15日受理)

Nitrogen Metabolism during Fermentation in various vinification Processes

Part 1. Fate of Amino Nitrogen

By YUWAO OHARA, MOTO-O KAGAMI and HIDEO NONOMURA

Most of the literature on nitrogen content of wine has dealt with the elimination of it from must as much as possible, because of the lower nitrogen content, the wine has greater stability. We have been considered, however, that the deficiency of nitrogenous substances especially amino nitrogen content in Japanese wines is one of the most noticeable difference between our products and the wines of world-wide repute, and a suitable amount of amino nitrogen accumulated by either excretion or partial autolysis of yeast should be responsible for the amiable flavor and much of the characters in palatability of the wines.

The purpose of this paper is to present a further consideration of these nitrogen metabolism of yeast during fermentation of the musts previously treated with usual agents.

Experiments on the vinification practised during the past two years in our laboratory suggest that the differences between the amount of nitrogen remaining in must unassimilated (R) and excreted again (S) by yeast, seemed to indicate the activity of nitrogen metabolism of yeast, whereas these activity (S-R) was not linearly proportional to the yeast growth or yeast count (n). Moreover, the increase in excretion of amino nitrogen (i. e. (S-R)/n) was promoted by a steady growth in rather small yeast populations of the musts, which was either treated with bentonite or with gelatine and tannin, or prepared by adding magnesium sulfate and ammonium phosphate.

The occurrence of an appreciable increase in amount of amino nitrogen was also observed during the short period of settling and filtration of a sulfited must before vigorous assimilation began.

The possible importance of must treatments for stimulating the accumulation of

amino nitrogen in the must is discussed.

緒 言

ブドウ酒に含有される窒素 (N) 化合物の多少は、ブドウ酒の香味に最も関係の深いものであると考え著者ら ('55-'57)¹⁻³⁾ はさきに脱脂大豆蛋白や磷酸アンモニアを添加した白ブドウ酒を試醸し、N-化合物がブドウ酒の香味増強に及ぼす影響を検討したが、ブドウ酒に残存するN-化合物の含量はそのブドウ酒の発酵に関与する酵母の種類及び増殖状態によって左右されるばかりでなく、その生理的還境によってもN-代謝作用に変異をきたすことも当然考えられる。また滓になった酵母の自己分解物がブドウ酒に蓄積されるようになり、アミノ酸としてはアルギニン、リジン、ヒスチジン及びメチオニンが増加してくること等については SSISSAKGAN ('53),⁴⁾ HENNIG ('55-'58),⁵⁻⁷⁾ BOURDET ('58),⁸⁾ NILOW ('58),⁹⁾ DUMITRESCU ('59),¹⁰⁾ ら多くの研究が報告されているが、著者らは昨年及び一昨年度のブドウ酒仕込試験に当って発酵条件を異にする各種の果醪についてN化合物特にアミノ態-Nの量的消長を研究し、或る条件ではその代謝作用が異常に促進されることを認めたので取りあえずそれらの事実を報告した。

実 験 の 部

甲州種のブドウを原料とし除梗破碎したのち軽く压榨して得た果汁に糖分 26% まで白砂糖で補糖し TABLE I の如き区分に従って処理したのちいづれもブドウ酒酵母, OC-2 (*Saccharomyces cerevisiae*) を加え、発酵栓をつけた斗瓶に分注し室温で発酵させた。実験Aは昭和 33 年 (1958) 度、実験BとCは同一の果汁を折半して昭和 34 年 (1959) 度に実施したものである。

実験 A

酵母の増殖を計るため発酵前の果汁にビタミン B₁、ビオチン及びパントテン酸を添加したもの(A-1)、瀉利塩 (MgSO₄·7H₂O) と酸性磷酸アンモニウム (磷安) を添加し

TABLE I

果醪の調製(実験A) *Preparation and Nitrogen Content of the Musts used (Series A)*

区分	添加物の種類及びその量	全-N	アンモニア-N	アミノ-N	糖度	
Must Lot	Additions or Dosage	T. N. a)	NH ₃ -N ^{b)}	NH ₂ -N ^{c)}	Sugar ^{d)}	
	l	mg per l				
A-0	20	Control	395	40	55	25
A-1	20	Vitamin B ₁ , 2 ; Biotin, 003 ; Pa, *2	395	40	55	25
A-2	20	MgSO ₄ ·7H ₂ O, 200 ; (NH ₄) ₂ HPO ₄ , 200	590	64	55	25
A-3	20	"Kokulase"***300	395	40	55	25
A-4	20	Aeration (bubbled for 10 days)	395	40	55	25

a) Total Nitrogen by the method of Kjeldahl, b) Ammonium N by the method of micro-diffusion analysis, c) Amino N by the method of van Slyke, d) From refractometer readings after sugaring.

* Pantothenic acid, ** A enzymic preparation made from a culture of *Aspergillus oryzae* (Sankyo Pharm. CO., Tokyo).

たもの (A-2), 三共製菓 K. K. より提供された醸造用酵素剤《コクラーゼ》を添加したもの (A-3) 及び酵母添加と同時に綿糸管及び吸引ポンプをつけ 10 日間通気したものの (A-4) を対照区 (A-0) と比較した。

実験 B

果汁の主として蛋白質を除去するため, あらかじめメタカリ ($K_2S_2O_8$) を SO_2 として 150 ppm 加えたのち, 1,500 分の 1 量のベントナイトで処理し 24 時間放置したのち沈澱物を除去したもの (B-1), 果汁をそのまま 24 時間静置し, いわゆる発酵前の滓引 (debourbage) を行い, 発酵開始後の 9 日目に氷で冷却し約 15 時間静置して再び沈澱物を除去したもの (B-2), 常法により果汁 1*l* 当り 1% タニン液 20*ml* を加えたのち同量の 1% ゼラチン液を加え 24 時間放置したのち沈澱物を除去したもの (B-3), 及び直火で加熱し品温が $90^\circ C$ になってから 2 分間同温に保ったのち急冷して沈澱物を除去したものの (B-4) を対照区 (B-0) と比較した。

TABLE Ib

果醗の前処理 (実験 B)

Treatment and Nitrogen Content of the Sulfited Must before Fermentation*
(Series B)

区分 Must	Lot	処 理 法 Treatment	全-N T. N.	アンモニア-N NH_3 -N	アミノ-N NH_2 -N	糖度 Sugar
	<i>l</i>		<i>mg per l</i>			
B-0	18	Untreated (control)	349	52	46	25
B-1	18	Bentonite (1 : 1,500) ^{a)}	316	52	46	25
B-2	18	Débourbage ; Chilling ^{b)}	293	52	45	25
B-3	18	Gelatin (1 : 5,000) ^{c)}	316	52	45	25
B-4	18	Heat ^{d)}	321	52	45	25

* $K_2S_2O_8$ (SO_2 150 ppm) was added to each lot of must.

a) Racked after fining for 24 hr. b) Racked twice : before fermentation by settling for 24 hr. and after 90 days by chilling for 15 hr. c) Racked after fining for 24 hr. by 1% gelatin and tannin, d) Heated for 2 min, at $90^\circ C$, followed by cooling prior to racking.

For other abbreviations see TABLE Ia.

実験 C

実験 B と同じ果汁に瀉利塩と燐安をそれぞれ 0.2*g/l* 宛添加し, 発酵前の果汁処理法は実験 B と同様に 5 区に分けたが発酵前の滓引きをしたもの (C-2) には大五 栄養化学 K. K. 製合成清酒調味料《アミックス》0.6*g/l* を添加し, 発酵途中での冷却処理を行なわなかった。

TABLE Ic

果醪の前処理 (実験C)

Preparation and Nitrogen Content of the Must containing Magnesium and Ammonium Salt* before Fermentation (Series C)

区分 Must	Lot	処 理 法 Treatment	全-N T.N.	アンモニア-N NH ₃ -N	アミノ-N NH ₂ -N	糖度 Sugar
			<i>mg per l</i>			
C-0	18	Untreated (control)	356	72	46	25
C-1	18	Bentonite (1 : 1,500)	345	72	45	25
C-2	18	Débourbage ; "Amix"***	342	72	65	25
C-3	18	Gelatin (1 : 5,000)	356	72	45	25
C-4	18	Heat	345	72	46	25

* 0.2 g/l MgSO₄·7H₂O and 0.2 g/l (NH₄)₂HPO₄ added to each lot of sulfited (SO₂ 150ppm) must at the time of inoculation.

***A hydrolysed product of proteinous materials.

For other abbreviations and treatments see TABLE Ib.

各区共発酵経過中トーマ氏血球計数器により酵母数を測定し, 全-N をケルダール法, アンモニア態-N を Conway ('50)¹¹⁾ の微量拡散法, アミノ態-N をバエン・スライク法により定量したが, 本報では初づ酵母によるアミノ態-N の資化及び分泌量を算出し, その増減を比較した。

実験結果及び考察

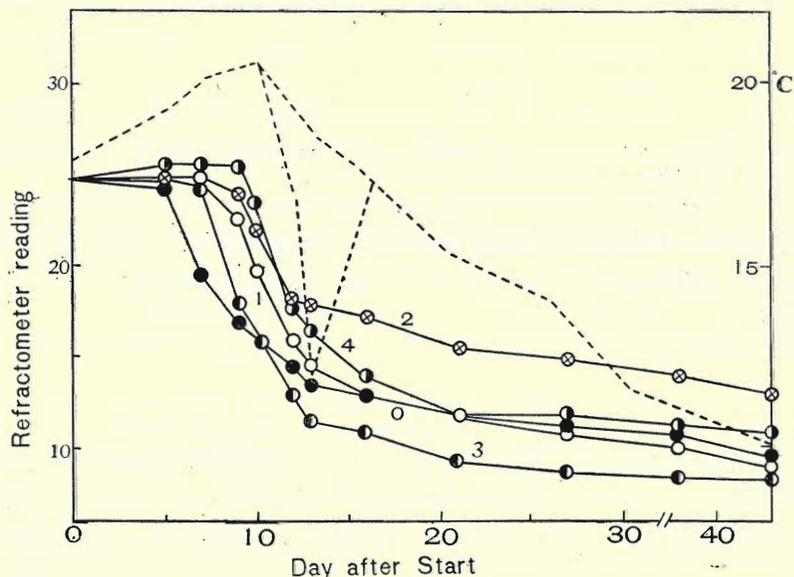


Fig. 1. Fermentation of Series B: Changes in Refractometer Reading (—) and Temperature (-----). For must No. see TABLE Ib.

1. 酵母数 (n)

実験Aにおいて各区分別に酵母の増殖状態を比較すると Fig.2 のようになり、酵母数 (n) は酵素剤を添加したもの (A-3) が通気したもの (A-4) のより少し日数がかかっているが両方とも対照区 (A-0) よりも多くなった、しかし酵母の栄養物としてビタミン (A-2) または塩類を添加したもの (A-3) では、返って対照区より少なくなり、増殖状態も A-3, A-4 が急激であるのに反し A-0 よりもかなり緩慢であった。酵母の増殖により n は時間の経過と共に一旦最高値に達し、そののち次第に死滅沈澱して減少するが、その減少状態は A-4, が最も大きく A-0, A-1, A-2 の各区ではごく僅かであった。

実験B及びCにおいても A-2, A-3 の場合と同様に予想に反し、瀉利塩と燐安を添加したもの (Fig.3C) が C-0 は例外であるが、各区共それらの塩類を添加しないもの (Fig.3B) よりも返って n が少なくなっている。果汁の処理方法の影響をみるとペントナイト処理のもの (B-1, C-1) の n が少なく、ゼラチン処理のもの (B-3, C-3) が多くなっている。

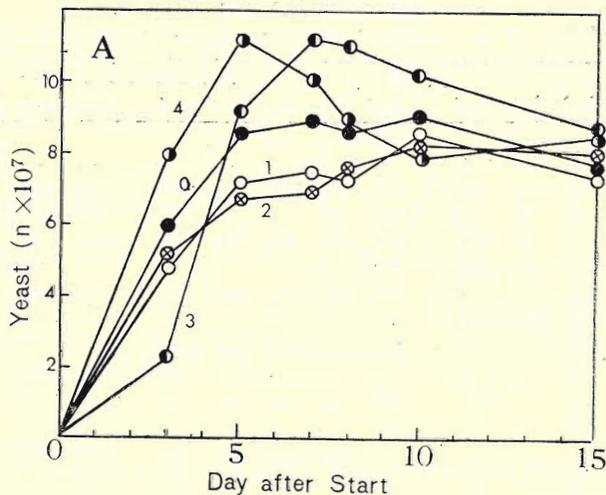


Fig. 2. Effect of Dosage of various Growth Promoting Agents on the Yeast Count during Fermentation with the Musts (Series A). For must No. see TABLE Ia.

2. 全-N及びアンモニア態-N

発酵中の消長は TABLE II に示したような結果となり全-Nは7~10日目にアンモニア態-Nは4~6日目に一旦減少するが再び増加し全-Nは元の大体半分位となり、実験Aではアンモニア態-Nは10日目以後急激に増加し50~55mg/lに達しているが、通気したもの (A-4) では6mg/lしか残っていなかった。

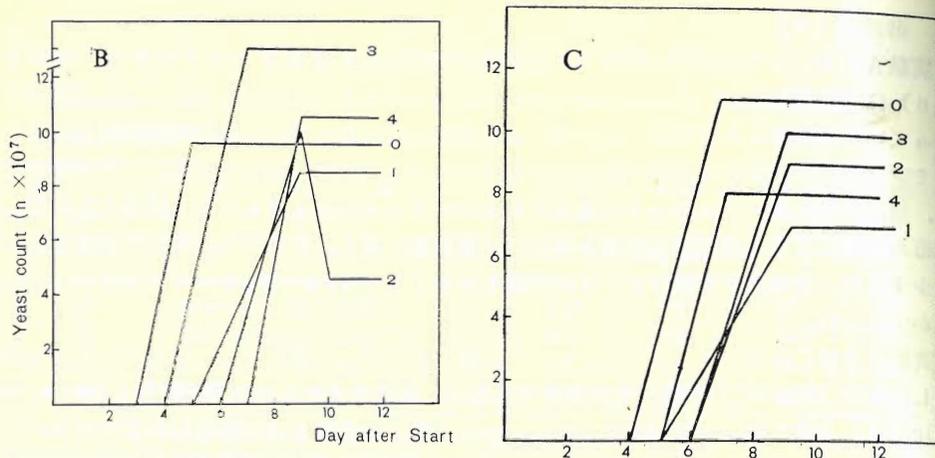


Fig. 3. Effect of various Treatments of Must on the Yeast count during Fermentation with the Musts (Series B, C). For must No. see TABLE Ib ; Ic.

TABLE II

果醪中窒素分の変化

Variation with Time of the Amount of Nitrogenous Compounds in the Musts

発酵日数 After	窒素含量					Amount of N found									
	A-0	A-1	A-2	A-3	A-4	B-0	B-1	B-2	B-3	B-4	C-0	C-1	C-2	C-3	C-4
<i>days</i>	全-Nとして					as Total-N (mg per l)									
3	205	250	221	289	251	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	91	—	85	—	55	283	322	300	312	351	368	351	425	351	329
7	85	97	88	90	70	101	330	—	—	322	335	—	—	335	316
10	97	99	95	92	108	130	130	193	114	142	108	158	250	159	113
15	110	101	110	93	108	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23	—	—	—	—	—	142	125	142	142	150	120	140	259	158	146
25	123	112	123	105	99	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	NH ₃ -Nとして					as Ammonium-N (mg per l)									
2	4	2	9	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	36	44	44	48	52	—	—	—	—	—
4	2	10	8	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	5	52	52	36	52	72	72	72	72	72
6	2	2	10	10	30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	10	16	12	45	40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	50	58	50	52	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	50	55	50	55	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	NH ₂ -Nとして					as Amino-N (mg per l)									
3	20	15	15	45	39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	17	12	10	19	19	45	56	77	74	69	63	84	95	73	73
7	19	18	18	20	19	20	63	70	58	74	72	53	93	86	75
10	20	19	20	21	22	26	17	42	24	58	24	31	—	21	7
15	20	21	22	23	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	—	—	—	—	—	28	21	33	31	23	30	24	49	43	31
25	20	20	21	22	23	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
27	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	38	48	58	45	33

For must No. see TABLE I.

3. アミノ態-N

1) アミノ態-Nの消長 果醗中のアミノ態-Nは発酵の開始と共に酵母により資化され一旦最低値(R)まで下がるが、そののち次第に増加し或る最高値(S)まで上昇することは既に HENNIG ら ('55)¹²⁾ 及びビールについて THORNE ('58)¹³⁾ の明らかにしている通りであった。即ち実験Aでは発酵開始後5日目前後にRまで下がり大体15日目にSに達しているが、実験B・Cでは約10日目にRに下がり20~27日目にSに上がっている、その他にペントナイト処理等により当然発酵前のN-含量が少なくなっている筈のものもSO₂をやや多量に使用したため沸き付きまでに時日を要し、その間に果汁の蛋白分解酵素によるものと考えられるが、果醗中のアミノ態-N含量が原果汁のそれよりかなり増加する現象が認められた。(TABLE III, T)

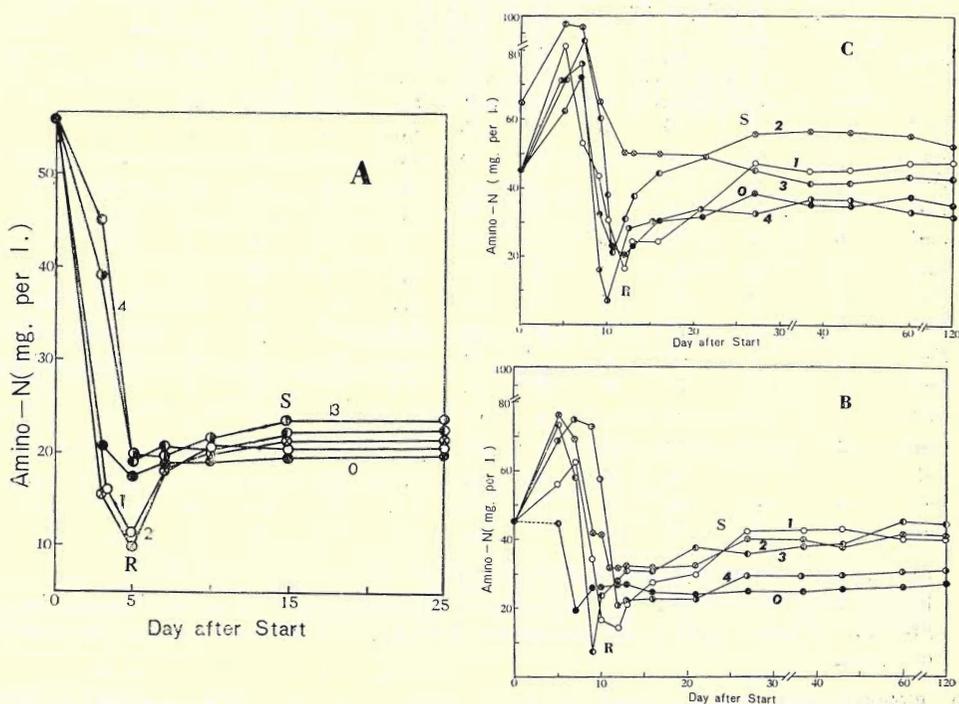


Fig. 4. Variation with Time of the Amount of Amino Nitrogen in the Musts.

A, B, C, Series A, B, C, respectively. For must No. see TABLE I.

2) 酵母による資化吸収 果醗の発酵中アミノ態-N含量がRまで下がる時期とnの最高に達する時期とを比較してみると通気して酵母を急激に増殖せしめたもの(A-4)以外の区ではnが最高に達する以前に既にアミノ態-Nは最低値(R)を示している、盛んに増殖中の若い酵母細胞による資化の大きいことが解る。しかしその資化量(T-R)はnとは比例せず逆になの少ない区分で多くなっている、このことはBAHADUR ら ('59)¹³⁾ の報告しているように酵母の発育が良いとき栄養源の吸収が最も少ないためではなからうかと考えられる。

3) 酵母の分泌(excretion)等による増加 nの少ない果醗ではアミノ態-Nの含量がRまで下がった時期以後、酵母により分泌または自己分解によって増加するアミノ態-Nの量(S-R)も多く、実験Aではその量がビタミン添加区(A-1)及び塩類添加区(A-2)で酵母の増殖が除々に続く

ていた場合, 最も多く, 通気したもの (A-4) 及び酵素剤《コクラゼ》を添加し酵母を急激に増殖させたもの (A-3) の2~3倍となっている (TABLE III, Fig. 5) 即ち各区共アミノ態-Nは或る時期には大体同じレベル (S) になったが酵母の分泌等による量 (S-R) に大差があるため結局ブドウ酒に残存するアミノ酸の組成が違っていることが推定される。

TABLE III

アミノ態窒素含有量の発酵中における増減
Relation between the Amount of Amino N and the Number of Yeast cells
at each Periods of Extremes

区分 Must	発酵開始 までの日 数 $t_0^a)$	酵母数 cells $n^b)$	アミノ態 -N Te)	Amount of $\text{NH}_2\text{-N}$ found at the time of Extremes								増加率 (S-R) (T-R)
				Min. level $t_1^d)$			Decrease $(T-R)$			Max. level $t_2^e)$		
	days	$\times 10^7$	mg/l	days	mg	per	l	days	mg	per	l	%
A-0	0	9	55	5	17	38	4.2	15	20	3	0.3	8
A-1	0	9	55	5	12	43	5.1	15	21	9	1.1	21
A-2	0	8	55	5	10	45	5.4	15	22	12	1.4	26
A-3	0	11	55	5	19	36	3.2	15	23	4	0.3	10
A-4	0	11	55	5	19	36	3.2	15	24	5	0.4	13
B-0	3	10	46	7	20	27	2.8	13	28	8	0.8	30
B-1	5	9	63	12	14	48	5.7	27	42	28	3.3	57
B-2	6	10	77	12	32	45	4.5	27	41	9	0.9	20
B-3	4	13	44	9	7	37	5.2	21	37	30	2.3	45
B-4	7	11	74	12	21	53	5.0	27	30	9	0.8	16
C-0	4	11	72	12	21	51	4.7	27	38	17	1.7	33
C-1	5	7	84	12	17	67	9.5	27	48	31	4.5	47
C-2	6	9	95	16	49	46	5.1	27	58	9	1.0	19
C-3	6	10	86	10	21	65	6.5	21	50	29	2.9	44
C-4	5	8	75	10	7	68	8.5	37	38	31	3.8	45

a) t_0, t_1, t_2 , Time to commence the fermentation, to fall to lowest level, and to rise to highest level respectively, b) The number of yeast cells at a period of maximum growth, c) Initial level, d) By assimilation of yeasts, e) By secretion and autolyses of yeasts.

4) 果汁処理の影響 実験Bでは果汁をペントナイト処理 (B-1) 或はゼラチン処理 (B-3) した場合, 酵母の資化量 (T-R) 並びに分泌量 (S-R) 共に明らかに多く, 同じことが実験Cでも特にアミノ酸を添加したもの (C-2) 以外いづれの区分についても認められた。次に n をその最大に達した時の数とし (TABLE III) アミノ態-Nの増減をその時の単位細胞当りの量即ち $(T-R)/n$ 及び $(S-R)/n$ の値で比較してみると, ペントナイト処理したのち瀉利塩と燐安を添加して発酵させたもの (C-1) が最高の値を示し, 対照区 (C-0) の2~3倍となり, その次に加熱処理したもの (C-4) の値が大であった。また発酵前の滓引きをしたもの (B-2, C-2) では酵母の増殖に伴うアミノ態-Nの減少度 (資化) が比較的少ないが, それよりもこのような条件のもとでは酵母によって生成されるアミノ態-Nの量が他の区分のものと比較して特に少なく, その原因は NILOW (58) のように低温により自己分解が抑制されるということは当然考えられる。

5) 分泌増加率 酵母により資化されたアミノ態-Nに対する分泌その他により再び増加したアミノ態-N含量の比率 $(S-R)/(T-R)$ を仮に分泌増加率として比較してみると最低は 8% (A-0)

であるが最高は 57% (B-1) となり区分別に大差のあることが解る。また加熱処理区では瀉利塩と燐安を加えたもの (C-4) と加えないもの (B-4) との差が顕著であり Mg^{++} が酵母のアミノ態-N分泌に関係のあることが伺える。

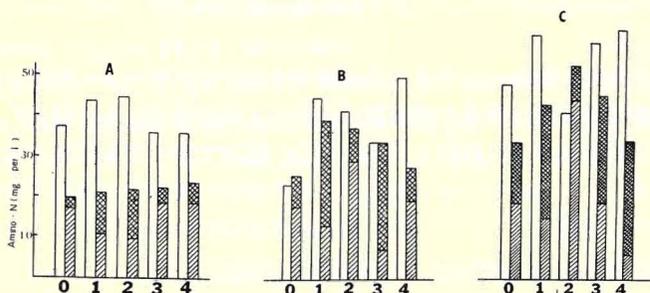


Fig. 5. Proportion of Amino Nitrogen Decreased and Remained during the whole period of Fermentation in each Must tested. A, B, C, Series A, B, C, respectively. □, Relative amount of decrease by yeast assimilation; ▨, Relative amount of Increase by yeast excretion or autolysis; ■, Remained unassimilated. For the must No. see TABLE I.

4. ブドウ酒の品質

加熱処理区 (B-4, C-4) は発酵終了後も清澄せず, また急激に酵母を増殖せしめ発酵期間の短くなった場合は苦味を感ずるようであった。

一般にブドウ酒に残存するアミノ態-N量の多いもの程, 熟成した香味があり, また酵母の資化には減少したアミノ態-N量 (T-R) に対する酵母の分泌その他により生成された量 (S-R) の比率が高い場合程, 香味が良いようである。

TABLE IV
試醸酒の分析成績 *Analysis of the New Wines Obtained*

区分 Wine	酒精 Alc.	エキス Ex	還元糖 R.S. a)	総酸 T.A. b)	エステル T.E. c)	pH	全-N T.N.	アミノ態-N NH ₂ -N	NH ₃ -N T.N.
	vol. %		g per l				mg/l		%
A-0	15.2	3.4	1.44	7.0	1.1	2.8	130	20	15
A-1	15.2	3.4	0.94	6.8	1.3	2.6	106	20	19
A-2	15.2	3.4	1.44	7.3	1.2	2.6	120	21	18
A-3	15.1	3.4	1.95	7.0	1.2	2.6	114	22	19
A-4	13.5	3.4	1.06	7.8	1.1	2.6	97	23	24
B-0	14.5	6	2.10	6.0	0.8	3.11	160	29	18
B-1	14.5	5	1.77	6.0	0.9	3.09	140	39	28
B-2	10.8	11	6.75	6.0	0.3	3.12	179	41	23
B-3	14.6	4	0.48	6.2	0.7	3.16	160	44	28
B-4	12.7	8	3.80	4.6	1.0	3.18	161	32	20
C-0	14.8	5	1.67	6.2	0.7	3.10	147	35	24
C-1	13.9	7	2.82	6.2	0.7	3.12	175	48	27
C-2	13.0	8	4.17	6.2	1.2	3.16	245	53	22
C-3	15.0	6	1.31	6.3	1.0	3.11	180	43	24
C-4	14.0	8	3.62	6.1	1.2	3.12	159	32	20

a) Reducing sugars as glucose, b) Total acids as tartaric, c) Total esters as ethylacetate.

総 括

1) 果汁をあらかじめペントナイト等で処理した果醪では全-Nの量が減少しているのが当然であるが, SO₂を加え湧き付きがおくれると, その間(約1週間)にアミノ態-Nの量がかかり増加した。

2) 果醪において発酵中酵母により資化され減少するアミノ態-Nの量並びに再び酵母により分泌され増加する量は, 酵母の増殖数とは殆んど無関係であり, 酵母数(n)の少ない場合及び酵母の増殖が除々に持続していた場合, 返って多くなる傾向がある。

3) 果汁をペントナイト或はゼラチン処理した場合並びに瀉利塩と燐安を添加して発酵させた場合, 明らかに酵母によるアミノ態-Nの資化並びに分泌量が増大した。

終りに, 本実験に協力された宮沢長雄, 三枝貞子両君に感謝します。

文 献

- 1) 小原, 斎藤, 榊田: 窒素源として脱脂大豆蛋白を添加した白ブドウ酒の試醸成績, 山梨大醸酵研 **2**, 1 (1955)
- 2) 小原, 野々村, 榊田: 脱脂大豆蛋白を添加した白ブドウ酒の試醸, 醸工, **34**, 431 (1951)
- 3) 小原, 榊田, 野々村, 丸山: 脱脂大豆蛋白を添加した白ブドウ酒の試醸 山梨大醸酵研, **4**, 25 (1957)
- 4) SSISSAKGAN, N. M. & E. N. BEZINGER: Changes in the Amino-acid composition of wine in the primary Fermentation period. *Biochemia*, **18**, 412 (1953)
- 5) HENNIG, K.: Der Einfluss der Eiweiss- und Stickstoffbestandteile auf den Wein. *Weinb. u. Keller*, **2**, 283 (1955)
- 6) HENNIG, K.: Ueber die Vergärung von Mosten unter Zusatz verschiedener Enzyme. *Ibid.* **3**, 435 (1965)
- 7) HENNIG, K. und P. VENTER: Der qualitative Nachweis der Aminosäuren im frischen und gärenden Traubenmost. *Naturwissensch.*, **45**, 130 (1958)
- 8) BOURDET, A. et J. HERARD: Influence de l'autolyse des levures sur la composition phosphorée et azotée des vins. *Ann. Tech. Agr. I. N. R. A.* **7**, 177-202 (1958)
- 9) NILOW, B. I. und G. G. WALUIKO: Schwankung des Gehalts an stickstoffhaltigen Substanzen während der Gärung von Traubenmost. (transl.) *Vinod. Vinog.*, **8**, 4 (1958); Ref. *Weinb. u. Keller*, **6**, 349 (1959)
- 10) DUMITRESCU, L., A. CIOFU und E. BIRNAURE: Schwankung des Stickstoffgehalts in Most und Wein in Abhängigkeit von der Verarbeitungsweise der Trauben sowie von der Mostbehandlung und der Gärung. (transl.) *Gradina, via si livada*, **8**(5), 38 (1959); Ref. *Weinb. u. Keller*, 351, 351 (19

59)

- 11) CONWAY, E. J. : *Microdiffusion analysis and volumetric Error*. 3rd Ed. Lockwood, London (1950)
- 12) THORNE, R. S. W. : Some recent work on yeast metabolism. *Brew. Digest*, **33**, 54 ; 62 (1958)
- 13) BAHADUR, K. and H. CHANDRA VERMA : Influence of K ion concentration on carbon and nitrogen consumption, and Ca^{++} , Mg^{++} and PO_4''' absorption by the yeast cells. *Zent. Bakt.*, II Abt. **112**, 34 (1959)