Williopsis beijeirincii IFO 0941 による 酢酸エステル類の生成について

岩瀬利徳*・森川貴子・福田秀雄
佐々木清祐・吉武正文
<旭化成工業(株)>

平成6年6月30日受理

Production of Acetic Esters by *Williopsis beijeirincii* IFO 0941

Toshinori IWASE*, Takako MORIKAWA, Hideo FUKUDA,
Kiyosuke SASAKI and Masafumi YOSHITAKE
(Asahi Chemical Industry Co., Ltd., Shizuoka 410-23, Japan)

Williopsis beijeirincii IFO 0941 produced several acetic esters (ethyl, isobutyl, isoamyl and β -phenylethyl acetate) in a YPD medium. The production of acetic esters from alcohols and amino acids by *W. beijeirincii* IFO 0941 during fermentation was studied. It was found that isobutyl acetate was produced from L-valine and isobutyl alcohol, isoamyl acetate was produced from L-leucine and isoamyl alcohol, and β -phenylethyl acetate was produced from L-phenylalanine and β -phenylethyl alcohol, respectively. The production of acetic esters by *W. beijeirincii* IFO 0941 during fermentation was not increased by and addition of acetic acid. Moreover, contrary to the report of YOSHIZAWA that the production of acetic esters by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation was greatly reduced [by unsaturated fatty acids added of the medium, the production of acetic esters by *W. beijeirincii* IFO 0941 was not inhibited by them.

Key words: *Williopsis beijeirincii* IFO 0941・酢酸イソアミル・酢酸エステル生成

緒 言

バナナ様の香りを呈する酢酸イソアミルと酢酸イソブチル、バラ様の香りを呈する酢酸 β -フェネチル、およびセメダイン様の香りを呈する酢酸エチル等の酢酸エステル類は、微生物や植物が生成する香り成分の一つである。酢酸エステル類生成についての研究は、著量の酢酸エチルを生成する *Pichia anomala* で始まり、PEEL ら^{1,2)}が、エタノールを基質とする酵素反応であるが、エステラーゼ反応ではないことを報告している。小泉ら³⁾は、麴汁培地を用いて *P. anomala* IFO 0127 が酢酸エチルを 538 ppm 生成し、*Williopsis saturnus* var. *saturnus* K-194 は酢酸イソアミルを 16 ppm 生成することを報告している。山川ら^{4,5)}は、*Cladosporium cladosporioides* No. 9 が合成培地で酢酸イソアミルを約 90 ppm

生成し、さらに、ロイシンを添加した培地では酢酸イソアミルを 240 ppm 生成することを報告した。

一方、発酵食品に広く利用されている *Saccharomyces cerevisiae* では、酢酸エステル類は品質に重要な影響を与えるため、その生成量は *P. anomala* より著しく少ないが、多くの報告がある。NORDSTRÖM⁶⁾ は、酢酸エステルがアルコールとアセチル CoA を基質とする酵素(アルコールアセチルトランスフェラーゼ)反応で生成することを報告した。ÄYRÄPÄÄ ら⁷⁾や吉沢⁸⁾は、不飽和脂肪酸存在下で、酢酸エステル類の生成が抑制されることを報告し、MALCORPS⁹⁾やMINETOKI ら¹⁰⁾により、アルコールアセチルトランスフェラーゼの精製が行われ、さらに、坊垣ら¹¹⁾によりその遺伝子が取得され、*S. cerevisiae* においては酢酸エステル類の生成機構¹²⁾は解明されつつある。

我々は、*W. beijeirincii* IFO 0941 が、著量の酢酸イソアミル等酢酸エステル類を生成することを見い出し

* 現在 岐阜大学院連合農学研究科(静岡大学)

Table 1 Production of alcohols and their acetic esters by *W. beijerinckii* IFO 0941 in various media.

Media	Ethyl acetate	Isobutyl acetate	Isoamyl acetate	β -phenyl-ethyl acetate	Ethyl alcohol	Normal-propyl alcohol	Isobutyl alcohol	Isoamyl alcohol	β -phenyl-ethyl alcohol
Y 0.5%	433	6.1	35.8	18.6	8,450	6.8	38.2	28.5	8.2
Y 1.0%	550	9.4	58.2	27.6	8,360	8.9	47.2	45.2	11.2
P 0.5%	78	1.2	4.2	2.1	2,960	1.4	1.5	2.8	1.2
M 0.5%	20	0.2	1.1	0.5	1,790	0.5	0.8	1.2	0.6
YNB 0.67%	103	0.1	1.3	0.1	5,480	3.2	7.2	4.5	0.3
Y 0.5% & P 0.5%	556	10.0	73.3	33.1	8,920	11.4	59.3	45.9	12.0
Y 1.0% & P 1.0%	628	14.6	100.2	45.6	9,200	14.2	62.5	52.3	16.0
Y 1.5% & P 1.5%	545	9.2	60.2	28.5	8,800	12.6	68.2	60.2	18.7
M 0.5% & P 0.5%	592	16.4	72.6	43.5	8,930	15.2	63.8	55.4	18.2
P 0.5% & I 0.5%	463	8.2	42.1	19.7	8,290	7.4	41.5	29.8	8.0

Y: Yeast extract, P: Peptone, M: Malt extract, I: Potassium and magnesium ion, YNB: Yeast nitrogen base, unit: ppm

た¹³⁾。今回、本菌株の酢酸エステル類の生成について試験し、*S. cerevisiae* K 701, *C. cladosporioides* No. 9 および *P. anomala* NCYC 435 の酢酸エステル類の生成機構と比較検討したので報告する。

実験方法

1. 供試菌株

Williopsis beijerinckii IFO 0941 は、(財)発酵研究所所有の菌株を用いた。酢酸エステル類の生成の対照として *P. anomala* NCYC 435 は、National Collection of Yeast Culture 所有の菌株を用い、*Cladosporium cladosporioides* No. 9 は、山梨大学発酵化学研究施設所有の菌株を用い、*Saccharomyces cerevisiae* K 701 は、(財)日本醸造協会の清酒酵母協会 701 号を用いた。

2. 培地組成と培養条件

各種菌株の酢酸エステル類の生成の検討には、YPD 培地 (酵母エキス 0.5%, ペプトン 0.5%, グルコース 5%) および Wickerham 合成培地 (Difco 社製のイーストナイトロジェンベース 0.67%, グルコース 5%) を用いた。培地の違いによる酢酸エステル類の生成の検討には、グルコースを 5% 含む培地に窒素源として酵母エキス、ペプトンまたは麦芽エキスを各々添加したものをを用いた。アルコール類からの酢酸エステル類の生成の検討には、YPD 培地および Wickerham 合成培地にイソアミルアルコール、イソブチルアルコール、 β -フェニルエチルアルコールを各々最終濃度 200 ppm となるように添加したものをを用いた。アミノ酸からの酢酸エステル類の生成の検討には、YPD 培地および Wickerham 合成培地に L-ロイシン、L-バリン、L-フェニルアラニンを各々最終濃度 200 ppm となるように添加したものをを用いた。酢酸からの酢酸エステル類の生成の検討に

は、YPD 培地に酢酸を最終濃度 200 ppm 添加したものをを用いた。脂肪酸による酢酸エステル類生成の効果の検討には、0.1% の牛血清アルブミンを含む YPD 培地に各脂肪酸を 0.3 mM になるように添加したものをを用いた。培養は、200 ml 容の三角フラスコに 60 ml の上記の各培地を入れ、植菌後、25°C で 3 日間培養した。用いた菌株は清酒酵母を除き産膜を形成するため静置培養 (表面培養) とした。

3. 香気成分等の分析方法

培養上清の香気成分は、(株)島津製作所社製の CBP 1 と CBP 20 のキャピラリーカラムを使用し、ヘッドスペースガスクロマトグラフィー法および秋田ら¹⁴⁾の方法に従い溶媒抽出後のガスクロマトグラフィーで分析した。ただし、イソアミルアルコールの生成量は、 α -アミルアルコールの生成量を含み、酢酸イソアミルの生成量は、酢酸 α -アミルの生成量を含む値で示した。エチルアルコールの分析は HPLC で行った。

実験結果

1. 培地の違いによる酢酸エステル類の生成

Table 1 に示したように、*W. beijerinckii* IFO 0941 は用いる培地により酢酸エステル類の生成量が異なっていた。酵母エキス (0.5% 濃度) を単独の窒素源とした培地では、菌株の産膜の形成が良好 (厚く) であり、かつ、36 ppm の酢酸イソアミルの生成が認められた。しかし、酵母エキス以外のペプトン、麦芽エキスと YNB を各々、単独の窒素源として用いた培地では、菌株の生育が沈殿部では良好であったが産膜の形成は不良 (薄い) であり、イソアミルアルコールと酢酸イソアミルは 5 ppm 以下の生成量に留まった。しかし、ペプトンと麦芽エキスの両者を用いた培地では、産膜の形成も

Table 2 Production of alcohols and their acetic esters from alcohols by microorganisms in a YPD medium.

Strains	Ethyl acetate	Isobutyl acetate	Isoamyl acetate	β -phenyl-ethyl acetate	Ethyl alcohol	Normal-propyl alcohol	Isobutyl alcohol	Isoamyl alcohol	β -phenyl-ethyl alcohol
No addition									
<i>W. beijeirinkii</i> IFO 0941	556.0	9.96	73.30	33.11	8,920	11.4	59.3	45.9	12
<i>P. anomala</i> NCYC 435	1,438.0	0.41	3.54	1.23	15,270	13.4	35.9	85.0	16.2
<i>S. cerevisiae</i> K 701	9.0	0.04	0.56	1.46	25,300	14.3	15.6	74.4	18.3
<i>C. cladosporioides</i> No.9	65.4	17.67	36.90	15.26	2,600	11.9	4.7	12.0	6.2
Addition of isoamyl alcohol									
<i>W. beijeirinkii</i> IFO 0941	602.0	5.28	151.60	18.51	8,700	12.1	61.8	178.6	7.4
<i>P. anomala</i> NCYC 435	1,590.0	0.31	9.24	0.87	14,360	15.6	32.4	281.6	12.1
<i>S. cerevisiae</i> K 701	8.0	0.04	2.40	1.70	25,060	14.2	15.8	271.8	25.2
<i>C. cladosporioides</i> No.9	77.4	12.97	125.2	13.27	2,680	12.2	7.1	137.2	7.1
Addition of isobutyl alcohol									
<i>W. beijeirinkii</i> IFO 0941	645.0	21.29	70.61	13.45	8,650	11.2	243.9	57.1	4.6
<i>P. anomala</i> NCYC 435	1,532.0	3.67	5.71	0.78	15,200	10.7	262.6	86.1	13.2
<i>S. cerevisiae</i> K 701	8.7	0.25	0.56	1.12	25,410	11.9	216.4	73.8	29.5
<i>C. cladosporioides</i> No.9	67.7	124.11	30.14	14.16	2,660	10.7	103.7	12.1	7.2
Addition of β -phenylethyl alcohol									
<i>W. beijeirinkii</i> IFO 0941	658.0	7.26	70.23	121.14	6,490	10.2	58.2	51.2	107.8
<i>P. anomala</i> NCYC 435	1,650.0	0.31	3.24	3.18	15,270	14.2	35.2	83.1	202.1
<i>S. cerevisiae</i> K 701	7.0	0.04	0.54	2.98	25,300	13.6	18.2	105.2	231.6
<i>C. cladosporioides</i> No.9	69.2	11.56	28.76	118.15	2,470	11.2	6.7	110.8	107.2

unit : ppm

良好であり、かつ、酢酸エステル類の生成が認められた。さらに、ペプトンにマグネシウムイオンとカリウムイオンを添加した培地でも、産膜の形成が良好であり、かつ、酢酸エステル類の生成が認められた。酢酸イソアミルは、酵母エキスとペプトンをともに 1% 添加した場合が最も生成量が多く、100 ppm の生成量を示した。この条件において、他の酢酸エステル類も最も多く生成した。酵母エキスとペプトンの添加量を増加しても、生成量は増加しなかった。

2. アルコール類を添加した培地での酢酸エステル類の生成

*S. cerevisiae*⁷⁾ と *C. cladosporioides* No. 9⁸⁾ では、酢酸エステル類の生成の基質の一つとしてアルコール類が報告されている。そこで、YPD 培地にイソアミルアルコール、イソブチルアルコールおよび β -フェニルエチルアルコールを各々添加し、培養後の各種菌株の酢酸エステル類とアルコール類の生成量を測定し、Table 2 に示した。調べた 4 種類の微生物は、培地に添加したアルコール類の酢酸エステル類を生成し、アルコール類を添加しない培地と比較するとその生成量が増加していた。*W. beijeirinkii* IFO 0941 は、イソブチルアルコールを添加した培地で酢酸イソブチルを 21 ppm 生成し、イソアミルアルコールを添加した培地で酢酸イソアミルを 152

ppm 生成し、 β -フェニルエチルアルコールを添加した培地で酢酸 β -フェニルエチルを 121 ppm 生成した。*S. cerevisiae* K 701 と *P. anomala* NCYC 435 では、酢酸エステル類はわずかに増加したにすぎなかった。*C. cladosporioides* No. 9 は、調べた 3 種のアルコール類すべてにおいて添加したアルコールの酢酸エステルを 100 ppm 以上生成した。また、*W. beijeirinkii* IFO 0941 と *C. cladosporioides* No. 9 は、イソアミルアルコールを添加した場合、その他のアルコール類からの酢酸エステル類の生成が抑制される傾向にあった。

3. アミノ酸を添加した培地での酢酸エステル類の生成

酢酸エステル類の基質と考えられるアルコール類は、Ehrlich の経路でアミノ酸が脱アミノ、脱炭酸、還元されて生成すること、およびアミノ酸の生合成経路から生成することが知られている。そこで、イソアミルアルコールの前駆体である L-ロイシンを添加した YPD 培地で、培養後の各種菌株の酢酸エステル類とアルコール類の生成量を測定し、Table 3 に示した。調べた 4 種類の微生物は、培地に L-ロイシンを添加することによりイソアミルアルコールの生成量が増加した。*W. beijeirinkii* IFO 0941 と *C. cladosporioides* No. 9 は、L-ロイシン添加によりイソアミルアルコール生成量の増加と

Table 3 Production of alcohols and their acetic esters from L-Leucine by microorganisms in a YPD medium.

Strains	Ethyl acetate	Isobutyl acetate	Isoamyl acetate	β -phenyl-ethyl acetate	Ethyl alcohol	Normal-propyl alcohol	Isobutyl alcohol	Isoamyl alcohol	β -phenyl-ethyl alcohol
<i>W. beijerinckii</i> IFO 0941	602	5.5	152.6	18.5	6,760	11.8	61.8	172.8	4.8
<i>P. anomala</i> NCYC 435	1,654	0.4	8.2	0.9	14,700	13.6	26.4	274.3	12.5
<i>S. cerevisiae</i> K 701	8	0.0	1.6	1.7	25,400	15.6	19.3	275.3	24.2
<i>C. cladosporioides</i> No.9	67	12.4	116.4	10.6	2,800	13.6	5.6	120.1	5.4

unit : ppm

Table 4 Production of alcohols and their acetic esters from amino acids by *W. beijerinckii* IFO 0941 in a YPD medium.

Amino acids	Ethyl acetate	Isobutyl acetate	Isoamyl acetate	β -phenyl-ethyl acetate	Ethyl alcohol	Normal-propyl alcohol	Isobutyl alcohol	Isoamyl alcohol	β -phenyl-ethyl alcohol	Isobutyl butyrate	Isoamyl butyrate	Isobutyl caproate	Isoamyl caproate
No addition	556	10.0	73.3	33.1	8,920	11.4	59.3	45.9	12.0	tr	tr	tr	tr
L-Leucine	602	5.5	152.6	18.5	6,760	11.8	61.8	172.8	4.8	tr	tr	tr	tr
L-Valine	653	18.9	67.8	20.2	7,900	20.2	137.2	56.6	4.2	tr	tr	tr	tr
L-Phenylalanine	641	7.4	65.7	104.2	6,850	13.0	32.3	48.8	100.2	tr	tr	tr	tr

tr : Trace, unit : ppm

ともに、酢酸イソアミルの生成量も、各株で 153 ppm, 116 ppm と無添加の場合に比べ 2~3 倍に増加した。

次に、L-バリンおよび L-フェニルアラニン を各々添加した YPD 培地で、*W. beijerinckii* IFO 0941 を培養した時の培養後の酢酸エステル類とアルコール類の生成量を Table 4 に示した。L-ロイシンを添加した場合と同様に、L-バリン添加によりイソブチルアルコールと酢酸イソブチルが、L-フェニルアラニン添加により β -フェニルエチルアルコールと酢酸 β -フェニルエチルの生成量が増加した。L-バリンを添加した培地では酢酸イソブチルを 20 ppm 生成し、L-フェニルアラニンを添加した培地では酢酸 β -フェニルエチルを 104 ppm 生成した。

バナナでは、これらのアミノ酸（L-バリンと L-ロイシン）から酪酸イソブチル、酪酸イソアミル、カプロン酸イソブチルとカプロン酸イソアミルを生成するとの報告¹⁰⁾がある。しかし、*W. beijerinckii* IFO 0941 では、それらのエステル類の生成は認められなかった。

また、データには示さなかったが、Wickerham 合成培地にアルコール類またはアミノ酸を添加した培地を用いて同様な試験を試みたところ、*C. cladosporioides* No. 9 では、添加したアルコールや添加したアミノ酸に由来するアルコールの酢酸エステルが YPD 培地の場合と同様に増加した。しかし、*W. beijerinckii* IFO 0941, *P. anomala* NCYC 435 および *S. cerevisiae* K 701 では、各アミノ酸由来と考えられるアルコール類は生成したが、酢酸エステル類の生成は認められなかった。

4. 酢酸添加培地での酢酸エステル類の生成

酢酸エステル類の生成に関与すると考えられる基質としてアルコール類以外に酢酸とアセチル CoA がある。そこで、酢酸を添加した YPD 培地で培養後の各種菌株の酢酸エステル類とアルコール類の生成量を測定し、Table 5 に示した。しかし、調べた 4 種類の微生物は、培地に酢酸を添加しても酢酸エステル類は増加しなかった。*W. beijerinckii* IFO 0941 と *P. anomala* NCYC 435 で酢酸エチルの若干の増加が認められた。また、*W. bei-*

Table 5 Production of alcohols and their acetic esters from acetate by microorganisms in a YPD medium.

Strains	Ethyl acetate	Isobutyl acetate	Isoamyl acetate	β -phenyl-ethyl acetate	Ethyl alcohol	Normal-propyl Alcohol	Isobutyl alcohol	Isoamyl alcohol	β -phenyl-ethyl alcohol
<i>W. beijerinckii</i> IFO 0941	725	8.5	69.7	30.5	7,500	12.3	35.2	53.6	7.2
<i>P. anomala</i> NCYC 435	1,624	0.4	3.0	1.1	15,200	13.8	34.2	78.2	14.5
<i>S. cerevisiae</i> K 701	11	0.0	0.6	1.4	25,300	14.7	12.8	72.9	20.2
<i>C. cladosporioides</i> No.9	69	16.9	35.9	14.2	2,740	12.2	5.5	13.8	8.2

unit : ppm

Table 6 Effects of fatty acids on the production of acetic esters by *W. beijerinckii* IFO 0941 in a YPD medium.

Fatty acids	Ethyl acetate	Isoamyl acetate	Ethyl alcohol	Isoamyl alcohol
Control	554	65.4	2,480	52.6
Myristic acid	505	67.1	2,190	52.0
Palmitic acid	591	65.3	2,130	51.5
Stearic acid	579	71.0	2,130	50.6
Palmitoleic acid	526	62.7	2,120	49.2
Oleic acid	617	70.8	2,140	46.7
Linoleic acid	536	64.3	2,260	50.1
Linolenic acid	523	64.0	2,190	47.8
Triton×100	137	8.7	2,353	98.2

unit: ppm

beijerinckii IFO 0941 で酢酸の代わりにアセトアルデヒド、パントテン酸およびアセチル CoA を添加しても酢酸エステル類の増加は認められなかった。

5. 脂肪酸添加による酢酸エステル類生成の影響

S. cerevisiae において培地中に不飽和脂肪酸が存在すると酢酸エステル類の生成量が減少し^{7,8)}, アルコールアセチルトランスフェラーゼ (酢酸エステル生成酵素)¹⁰⁾ は、不飽和脂肪酸によりその活性が著しく阻害されることが報告されている。各種脂肪酸を添加した YPD 培地で培養後の *W. beijerinckii* IFO 0941 の酢酸エステル類の生成量を Table 6 に示した。飽和脂肪酸であるミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸の添加、および不飽和脂肪酸であるパルミトオレイン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸の添加のいずれにおいても、酢酸エステル類の生成量に変化は認められなかった。

考 察

我々は、*W. beijerinckii* IFO 0941 が、酢酸イソアミルを著量生成する菌株であることを見い出した¹³⁾。今回、YPD 培地を用いて培養したところ 100 ppm の酢酸イソアミルを生成した。糖源以外の栄養分としてペプトンと麦芽エキスを各々単独で用いた培地では、菌株の産膜の形成が不良であり、かつ、イソアミルアルコールと酢酸イソアミルの生成はほとんど認められなかった。しかし、ペプトンと麦芽エキスを合わせた培地やペプトンにカリウムイオンとマグネシウムイオンを加えた培地では、産膜の形成が良好であり、かつ、イソアミルアルコールと酢酸イソアミルが生成された。従って、ペプトンにはマグネシウムイオンやカリウムイオンが不足するため生成が抑制されると推測された。清酒酵母^{16,17)}では、カリウムイオンやマグネシウムイオンは酵母菌体内へのアミノ酸取り込みを促進させ、酢酸エステル類の生成量

の増加に関与しているとの報告がある。また、麦芽エキスではアミノ酸がほとんど含まれていないため、酢酸エステル類が生成されなかったものと推定された。

W. beijerinckii IFO 0941 では、アルコール類を添加した培地においてその酢酸エステル類が著量生成することから、アルコール類が酢酸エステル類の生成の基質の一つであることが推定された。さらに、アミノ酸を添加した培地において、関連するアルコール類とその酢酸エステル類が著量生成したことより、Ehrlich 経路でアミノ酸からアルコール類が生成されることが推察された。添加したアルコール類が酢酸エステル化されること、アルコール類が Ehrlich 経路から生成することは、今回調べた 4 菌株で共通していた。*W. beijerinckii* IFO 0941 の酢酸イソアミルの生成量は、YPD 培地にロイシンを添加した場合、およびイソアミルアルコールを添加した場合ともに 150 ppm であったが、Wickerham 合成培地では、イソアミルアルコールやロイシンを添加しても酢酸イソアミルは著量生成されなかった。このことから、*W. beijerinckii* IFO 0941 の酢酸エステル類の生成は、*C. cladosporioides* No. 9 とは異なり、Wickerham 合成培地には含まれていず、酵母エキスに含まれている、添加試験をした以外のアミノ酸や未知物質を必要とすることが推察された。

一方、*S. cerevisiae* において酢酸が酢酸エステル類の基質とならないとの報告⁶⁾と同様に、*W. beijerinckii* IFO 0941 と *P. anomala* NCYC 435 でも酢酸の添加により酢酸エチル以外の酢酸エステル類は増加しなかった。酢酸の添加試験から、*W. beijerinckii* IFO 0941 の酢酸エステル類の生成では、酢酸エチルの生成とその他の酢酸エステル類の生成とは異なる生成機構であることが推察された。

S. cerevisiae では、不飽和脂肪酸によって酢酸エステル類の生成が抑制されること^{7,8)}, および培地の不飽和脂肪酸を酵母が菌体内に取り込み、細胞膜に蓄積し、酢酸エステル生成酵素活性が阻害を受けることが報告¹⁸⁾されている。しかし、*W. beijerinckii* IFO 0941 は、*S. cerevisiae* とは異なり、不飽和脂肪酸の添加によっても酢酸エステル類の生成に影響を受けなかった。また、*C. cladosporioides* No. 9 は、培地中の不飽和脂肪酸により生成酵素活性が阻害を受けないこと、および細胞膜中の脂肪酸組成の不飽和度が高くなることによる影響を受けにくいことが報告¹⁹⁾されている。不飽和脂肪酸は酢酸エステル類生成に対して、*W. beijerinckii* IFO 0941 では *C. cladosporioides* No. 9 と同様で阻害しなかった。両菌株は、YPD 培地等で培養時に産膜を形成し、好気的条件下で酢酸エステル類を生成し、さらに、酢酸エステ

ル類を著量生成する点でも共通していた。

要 約

(1) *W. beijerinckii* IFO 0941 は、酢酸イソアミルを YPD 培地、イソアミルアルコールを添加した同培地、ロイシンを添加した同培地で各々 100 ppm, 152 ppm, 153 ppm 生成した。

(2) 酢酸の添加試験と Wickerham 合成培地での結果から本菌株は、主に酢酸エチルを生成する機構と酢酸エステル類を生成する機構の二つの機構が存在することが推察された。

(3) 本菌株は、*S. cerevisiae* K 701, *P. anomala* NCYC 435 と *C. cladosporioides* No. 9 と同様にアルコール類から酢酸エステル類を生成した。また、アルコール類は Ehrlich 経路でアミノ酸から生成し、酢酸からは酢酸エチル以外の酢酸エステル類の生成は認められなかった。

(4) 本菌株は、*C. cladosporioides* No. 9 とは、酢酸エチルの生成量と Wickerham 合成培地での酢酸エステル類の生成量で違いを見せた。また、*S. cerevisiae* K 701 とは基本的な酢酸エステル類の生成量に大きな差があること、好氣的条件でより酢酸エステル類を生成すること、不飽和脂肪酸により阻害されないことなどに関して違いが認められた。さらに、*P. anomala* NCYC 435 とは、酢酸エチルの生成では共通点があるものの酢酸イソアミルの生成量には大きな差があった。

文 献

- 1) R. DAVIES, E. A. FALKINER, J. F. WILKINSON and J. L. PEEL : *Biochem. J.*, 49, 58 (1951)
- 2) J. L. PEEL : *Biochem. J.*, 49, 62 (1951)
- 3) 小泉武夫, 角田潔和, 大沢良一, 小玉健吉, 野白喜久雄 : 農化, 56, 757 (1982)
- 4) 山川祥秀, 後藤昭二, 横塚 勇 : 農化, 50, 109 (1976)
- 5) 山川祥秀, 後藤昭二, 横塚 勇 : 農化, 50, 181 (1976)
- 6) K. NORDSTRÖM : *J. Inst. Brew.*, 68, 398 (1962)
- 7) T. ÄYRÄPÄÄ and I. LINDSTRÖM : *Proc. of the 14th Cong. of Eur. Brew. Conv., Salzburg*, p. 271 (1973)
- 8) 吉沢 淑 : 農化, 50, 115 (1976)
- 9) P. MALCORPS and J. P. DUFOUR : *Eur. J. Biochem.*, 210, 1015 (1992)
- 10) T. MINETOKI, T. BOGAKI, A. IWAMATSU, T. FUJII and M. HAMACHI : *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 2094 (1993)
- 11) 坊垣隆之, 峰時俊貴, 布川弥太郎, 岩松明彦, 藤井敏雄, 玉井幸夫 : 農化, 67, 348 (1993)
- 12) P. MALCORPS, J. M. CHEVAL, S. JAMIL and J. P. DUFOUR : *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 49, 47 (1991)
- 13) 岩瀬利徳, 森川貴子, 福田秀雄, 佐々木清祐, 吉武正文 : 醸協 (印刷中)
- 14) 秋田 修, 蓮尾徹夫, 宮野信之, 吉沢 淑 : 醸協, 82 (5) 369 (1987)
- 15) R. TRESSL and F. DRAWERT : *J. Agr. Food Chem.*, 21, 560 (1973)
- 16) 仲田富士男, 浜地正昭, 本馬健光 : 醸酵工学, 66, 17 (1988)
- 17) 北本勝ひこ, 那須信次, 河野正義, 高橋康次郎, 戸塚 昭, 吉沢 淑 : 醸協, 80, (8) 559 (1988)
- 18) K. YOSHIOKA and N. HASHIMOTO : *Agric. Biol. Chem.*, 47, 2287 (1983)
- 19) 岩瀬利徳, 秋田 修, 蓮尾徹夫, 原 昌道, 吉沢淑 : 農化, 62, 416 (1988)