清酒酵母の有機酸生成について

清酒中には種々の有機酸が含まれているが、その含量の80%は乳酸、リンゴ酸及びコハク酸であると言われている。また、有機酸は清酒の特徴を形づくる成分として重要な成分で、清酒酵母の育種により酸の生成を制御することも可能になる。

本校では、清酒酵母の有機酸の生成、特に TCA 回路を中心にした有機酸の生成について解説していただいた。

浅野 忠男・黒瀬 直孝

はじめに

清酒の成分の中で有機酸は香味に影響を与える重要な因子であり、清酒の有機酸に関しては数多くの研究報告がある。清酒には約40種類もの有機酸が含まれており^{1,2)}、その中でも乳酸、リンゴ酸、コハク酸の3種類で全有機酸の80%を占める³⁾。清酒酵母は清酒中の乳酸の半分以上を生成し⁴⁾、またリンゴ酸、コハク酸のほとんどを生成する^{3,5)}。有機酸が清酒に与える味としては、乳酸は「渋み」を、リンゴ酸は「爽やかな」「すっきりした」「後味の軽い」味を、コハク酸は「くどい」「重い」味を、クエン酸は「苦味」「酸味」を与えるとされている⁶⁾。特に、リンゴ酸に対する味の評価は高く、清酒に軽快なすっきりした酸味を与える重要な成分である。

近年、消費者の嗜好の変化に伴い、清酒の品質の多様化が求められている。この解決方法の一つとして有機酸組成の異なる清酒製品が考えられる。従来の清酒とは異なった酸味をもつ新タイプの清酒を商品化するために、清酒メーカーや公的研究機関などでは変異技術を用いてリンゴ酸やコハク酸などの生成量が異なる新酵母を種々開発している。また、清酒酵母による有機酸の生成メカニズムを解明するために、遺伝子破壊などの遺伝子組換え技術を利用した研究も行われており、清酒酵母の有機酸生成機構が少しずつ明らかになってきている。今回は、従来の育種技術（変異、交雑）

や最新の遺伝子組換え技術によって育種された有機酸生成の変化した清酒酵母の例や、これらの研究から明らかとなった清酒酵母の醪中での有機酸生成機構について、酵母がその大部分を生成するリンゴ酸およびコハク酸の生成を中心に説明し、ピルビン酸や酢酸の生成についても述べる。

1. 有機酸生成の変化した清酒酵母の育種

清酒酵母は主として TCA 回路(第1図)によって有機酸を生成する。酵母の TCA 回路は環状の酸化的代謝経路であり、酵母の増殖期に働いてエネルギーを供給する。しかしながら、清酒醪の中期以降では嫌気的環境になるために酵母細胞内では2つの経路に分岐する嫌気的有機酸生成経路が主流を占める⁷⁾。1つは、ピルビン酸からオキサロ酢酸、リンゴ酸、フマル酸を経てコハク酸に至る還元的方向の経路であり、もう1つはピルビン酸からクエン酸、イソクエン酸を経て α -ケトグルタル酸に至る酸化的方向の経路である。また、清酒醪中で TCA 回路のバイパスであるグリオキシル酸回路を経てコハク酸が生成されることも示唆されている⁸⁾。

変異技術を用いた清酒酵母の有機酸生成能の改変例としては、TCA 回路中の酵素コハク酸デヒドロゲナーゼの阻害剤であるジメチルコハク酸の感受性株から親株の清酒酵母の約3倍のリンゴ酸を生成する変異株が分離された報告⁹⁾がある。また、シクロヘキシミドに

Mechanism of Organic Acids Production by Sake Yeast

Tadao ASANO, Naotaka KUROSE (*Alcoholic Beverages, Seasoning & Food Research Laboratories, Takara Shuzo Co. Ltd.*,

第1図 酵母のTCA回路

清酒酵母において遺伝子破壊が行われ、醸造特性が確認された酵素並びに遺伝子を図中に示した。

耐性を示す変異株の中からもリンゴ酸高生産株が分離された¹⁰⁾。この方法を利用して育種された多酸酵母の実用菌株として、日本醸造協会の酵母2種 (No.28, No.77)¹¹⁾ があげられる。また、セルレニンやシクロヘキシミドなどの複数の薬剤に耐性を示す清酒酵母の多剤耐性変異株もリンゴ酸やコハク酸の生成濃度が変化することが示された¹²⁾。

筆者らは、TCA回路中の α -ケトグルタル酸に耐性を示す変異株からリンゴ酸およびコハク酸の両方を高生産する多酸酵母を取得した。 α -ケトグルタル酸はクエン酸シンターゼの阻害剤であることが知られており、このことが耐性株の多酸性に関係しているのではないかと推定している。

以上のような清酒酵母の変異株取得研究から、TCA回路中の酵素活性の強弱や多剤耐性が清酒中の有機酸組成に影響を及ぼすことは示唆されていたが、詳細な有機酸生成機構は不明であった。最近になって、遺伝子破壊技術を用いることにより有機酸生成の異なる清

酒酵母が取得され、これらの組換え酵母を利用して有機酸生成機構を解明しようと試みられてきた。これまで清酒酵母のTCA回路に関わる数種類の遺伝子の破壊株が作製され、それぞれの酵素活性の消失と清酒中の有機酸組成変化の関係が調べられており、現在までに報告されている清酒酵母での破壊遺伝子については第1図のTCA回路中に記入した。

2. 清酒酵母の有機酸生成機構

2-1 リンゴ酸およびコハク酸の生成について

清酒醪の中期以降においては嫌気的な環境になるため、リンゴ酸およびコハク酸はTCA回路の還元的方向で主に生成されるという報告^{7,13,14)}があるが、その詳細はまだ解明されていない。ここでは、遺伝子破壊や遺伝子解析技術を用いた清酒酵母の育種研究から明らかとなったリンゴ酸とコハク酸の生成機構について詳述する。

(1) 還元的方向による生成

清酒酵母の嫌氣的有機酸生成経路の還元的方向の酵素遺伝子を破壊し、清酒醪中での有機酸生成を解析する研究は進んでおり、このような技術による清酒酵母の育種例はいくつか報告されている。

TCA 回路の還元的方向で、まず最初に作用する酵素はオキザロ酢酸からリンゴ酸への変換を触媒するリンゴ酸デヒドロゲナーゼである。清酒酵母協会 7 号由来の一倍体株を親株としたリンゴ酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (*MDH1*, *MDH2*, *MDH3*) 破壊株で、清酒小仕込を行うと、*MDH2* 遺伝子(細胞質に存在するリンゴ酸デヒドロゲナーゼをコードする)破壊株の清酒中のリンゴ酸は特異的に減少する¹⁵⁾。また、*MDH2* 遺伝子を高発現させるとリンゴ酸は親株の 2.5 倍、コハク酸は 1.3 倍に増加する。このことは、この遺伝子が有機酸生成に深く関与していることを示唆している¹⁶⁾。この他にも、アルコール耐性酵母を使用した清酒醪中にリンゴ酸が高生産されるが、その原因として *MDH2* 遺伝子が高発現しているためであるとの報告がある¹⁷⁾。*MDH2* 遺伝子プロモーターには STRE 配列が 3 カ所あり、アルコールのストレスで *MDH2* 遺伝子が誘導され高発現しているのではないかと推定され、このことは細胞の外部の環境と有機酸生成が結びついている事を示している点で興味深い。

リンゴ酸デヒドロゲナーゼにより生成されたリンゴ酸はフマラーゼによりフマル酸に変換される。フマラーゼは細胞質及びミトコンドリアに存在し、*FUM1* 遺伝子にコードされている。*FUM1* 遺伝子の破壊された実験室酵母一倍体株を用いた清酒小仕込において、有機酸組成の変化が確認されたことから、この酵素が有機酸生成に関わっている可能性が示唆された¹⁸⁾。最近では、清酒酵母協会 901 号の *FUM1* 遺伝子破壊株を用いた清酒醪において発酵後期でコハク酸の増加がみられなかったことから、コハク酸の一部は発酵後期に TCA 回路の還元的方向で生成されることが明らかとなった¹⁹⁾。

嫌気条件下では、細胞質においてフマル酸からコハク酸を生成するフマル酸レダクターゼは少なくとも 2 種類存在し、*OSM1* 遺伝子²⁰⁾ 及び *FRDS* 遺伝子²¹⁾ がすでにクローニングされている。*SDH1*, *SDH2*, *SDH3* および *SDH4* 遺伝子のコードするコハク酸デヒドロゲナーゼ (*SDH*) も可逆的にフマル酸からコハク酸を

触媒する作用を持っているが、ミトコンドリアに局在しており、嫌気条件下ではその活性が抑制される²²⁾。*SDH1* 遺伝子を破壊した協会 901 号の清酒醪中の有機酸生成は協会 901 号とほぼ同様のパターンであった¹⁹⁾。フマル酸レダクターゼをコードする *OSM1* 遺伝子を破壊した協会 901 号は予想に反して親株の 1.5 倍のコハク酸生成を示した¹⁹⁾。この原因は、酸化的方向でのコハク酸生成系が活性化されたためであると考えられているが、*OSM1* 遺伝子のコハク酸生成における役割を明確にするには更なる研究が必要である。

以上のような清酒酵母の遺伝子破壊研究から得られた知見より、清酒中のリンゴ酸およびコハク酸の大半は醪中期以降の嫌氣的条件のもとで、細胞質において TCA 回路の還元的方向で生成されることがより一層明瞭になった。

(2) 酸化的方向による生成

ピルビン酸からクエン酸、イソクエン酸を経て α -ケトグルタル酸に至る酸化的方向での清酒醪中の有機酸生成については、いままであまり知見がなかった。一倍体の実験室酵母の呼吸欠損株を用いて清酒小仕込を行うと有機酸生成が減少することから、発酵初期の好氣的条件において TCA 回路の酸化的方向での有機酸の生成が行われることはすでに考えられていた¹⁸⁾。

筆者らは、清酒酵母のミトコンドリアに局在する TCA 回路中の酵素遺伝子の破壊を行い、その遺伝子破壊株の清酒醪中での有機酸生成変化を分析して酸化的方向での有機酸生成機構をより明確にした。以下に、これらの研究結果を中心に説明する。

① イソクエン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (*IDH1*, *IDH2*) 破壊の影響²³⁾

イソクエン酸デヒドロゲナーゼは TCA 回路の酸化的方向の中央に位置し、イソクエン酸から α -ケトグルタル酸への生成を触媒する。酵母のイソクエン酸デヒドロゲナーゼには、NAD を補酵素とする *IDH*、NADP を補酵素とする *IDP1*, *IDP2* の 3 つのアイソザイムが存在し、*IDH*, *IDP1* はミトコンドリア、*IDP2* は細胞質にそれぞれ局在する。協会 701 号から分離した 1 倍体株 (α 10, α 41)²⁴⁾ をオーレオバシジン A 耐性遺伝子をマーカーとして *IDH* をコードする *IDH1* または *IDH2* 遺伝子を破壊し、清酒小仕込試験(総米 200 g)を行った。*IDH1* または *IDH2* 遺伝子のどちらか片方の遺伝子を破壊すると *IDH* の酵素活性

第2図 酸化的方向の酵素の遺伝子破壊株を用いた清酒の酸度および有機酸組成

清酒小仕込試験は総米 200 g 規模の三段仕込で行った。

親株 (■: a 10, □: α 41) の数値を 100 とし、酵素遺伝子破壊株の値はその比で表わした。

Δidh 1: イソクエン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (*IDH1*) 破壊株

Δidh 2: イソクエン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (*IDH2*) 破壊株

Δkgd 1: α-ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (*KGD1*) 破壊株

は消失した。上槽酒の有機酸組成を分析した結果, IDH 遺伝子破壊株 (a 10 Δidh 1, a 10 Δidh 2, α 41 Δidh 1 および α 41 Δidh 2) は各親株と比較してクエン酸 (イソクエン酸を含む) とリンゴ酸が増加し, コハク酸は約半分に減少した (第2図)。クエン酸 (イソクエン酸を含む) の増加した原因は IDH の酵素活性が消失したために, 基質であるクエン酸 (イソクエン酸を含む) が α-ケトグルタル酸に変換されず蓄積されたものと考えられる。リンゴ酸の増加は, TCA 回路の酸化的方向が進み難いためにピルビン酸から還元的方向に代謝が傾いて蓄積したためであると考えている。清酒醪中でのコハク酸生成においては, 親株 (a 10) および親株に pAUR 101 (遺伝子破壊用プラスミド作製の際に用いたプラスミド) を組込んでオーレオバシジン A 耐性とした株 (a 10 AUR 1) は同じ経過を示したが, IDH 遺伝子破壊株 (a 10 Δidh 2) のコハク酸生成濃度は醪初期に低くなった (第3図)。醪初期においてはグルコース濃度が高いためにグリオキシル酸回路が働かないことを考慮すると, コハク酸の約半分は主に発酵初期において酸化的方向で生成されると考えられる。

オーレオバシジン A 耐性とした形質転換酵母のプラスミド (pAUR 101) は清酒醪中でも安定に保持され, 上槽酒の酒質も宿主とほとんど同等であった。取得した遺伝子破壊一倍体株の発酵能が弱いため, 一倍体遺伝子破壊株 (a 型および α 型) 同士の交雑を行って発酵能の改善を試みた。その結果, 一倍体と比較して清酒醪での発酵能は高まり, 元株 (K 701) とは異なる

った有機酸組成を呈する交雑二倍体株が得られた。この交雑二倍体の IDH 遺伝子破壊株は, 清酒中の有機酸の中では「くどさ」「重さ」を呈するコハク酸を低生産する株であった。

② α-ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (*KGD1*) 破壊の影響^{19,25)}

清酒醪中で TCA 回路の酸化的方向において有機酸が生成されていることを更に確認するために, イソク

第3図 *IDH* 遺伝子破壊株を用いた清酒醪中のコハク酸濃度経過

清酒小仕込試験は総米 400 g 規模の三段仕込で行った。

菌株は協会 701 号由来の一倍体株 (a 10) を使用し, 品温は 15°C 一定で 15 日間発酵させた。

○, a 10: K 701 由来一倍体株

□, a 10 AUR: a 10 に pAUR 101 を組み込みオーレオバシジン A 耐性とした株

■, a 10 Δidh 2: a 10 の *IDH2* 遺伝子破壊株

第1表 清酒酵母における破壊遺伝子とその有機酸生成への影響

	破壊遺伝子	酵 素	局在部位	有機酸生成への影響		文献
				リンゴ酸	コハク酸	
還元的方向	<i>MDH 2</i>	リンゴ酸デヒドロゲナーゼ	細胞質	減少	変化なし	15)
	<i>FUM 1</i>	フマラーゼ	細胞質及びミトコンドリア		減少	19)
酸化的方向	<i>ACO 1</i>	アコニターゼ	ミトコンドリア	増加	減少	19)
	<i>IDH 1</i>	イソクエン酸デヒドロゲナーゼ	ミトコンドリア	やや増加	減少	23)
	<i>IDH 2</i>	イソクエン酸デヒドロゲナーゼ	ミトコンドリア	やや増加	減少	23)
	<i>KGD 1</i>	α -ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼ	ミトコンドリア	変化なし	減少	19, 25)

エン酸デヒドロゲナーゼの次に働く α -ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼ複合体 (α -ケトグルタル酸からサクシニル CoA を触媒) を構成する酵素遺伝子の1つである *KGD1* 遺伝子の破壊を行い、その遺伝子破壊株の有機酸生成を検討した。 α -ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼは *KGD1* 遺伝子にコードされ、ジヒドロリポアミドサクシニルトランスフェラーゼ (*KGD2* 遺伝子)、ジヒドロリポアミドデヒドロゲナーゼ (*LPD1* 遺伝子) と共に、 α -ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼ複合体を形成する。ジヒドロリポアミドデヒドロゲナーゼは、ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体の構成成分でもある。上記と同様に、協会 701 号由来の1倍体株 (a 10, α 41) の *KGD1* 遺伝子破壊株 (a 10 Δ kgd 1, α 41 Δ kgd 1) で清酒を仕込み、その上槽酒の有機酸組成を調べた。第2図に示したように、クエン酸、リンゴ酸は親株と同等であったがコハク酸のみが半分以下に減少した。また、上槽酒の酸度も減少した。蟻川ら¹⁹⁾の作製した *KGD1* 遺伝子破壊株も *IDH* 遺伝子破壊株と同様に、清酒醪の初期でのコハク酸生成濃度が低下することを示した。これらの結果からも発酵初期において TCA 回路の酸化的方向で約半分近くのコハク酸が生成されることが考えられる。また、醪中においてコハク酸の一部は、グルタミン酸からも α -ケトグルタル酸を経由して生成されることが報告されている¹³⁾。

協会 901 号を用いてクエン酸からイソクエン酸を触媒するアコニターゼをコードする *ACO1* 遺伝子を破壊した場合、親株と比較して約2倍のリンゴ酸と約半分のコハク酸を生成する¹⁹⁾ こともコハク酸の約半分が TCA 回路の酸化的方向で生成されることを裏付けるものである。

以上の結果より、清酒中のコハク酸の約半分はミトコンドリアに存在する酵素が連携して、TCA 回路の酸化的方向で生成されることが考えられる。

(3) プリン²⁶⁾ またはピリミジン生合成系からの生成

核酸のプリン系の一つであるアデニンが培地中に不足する場合、酵母はアデニンを生合成する必要がある。1分子のアデニンを生合成するときには、2分子のフマル酸を生じる。しかしながら、培地中や清酒醪中にはフマル酸は僅かしか検出されないことから、アデニン生合成の際生じたフマル酸はさらにリンゴ酸やコハク酸に変換されることが考えられる。清酒中のリンゴ酸とコハク酸の約20%¹⁸⁾ は、この系で生合成されると推定されている。

また、清酒酵母の *URA3* 遺伝子を破壊することにより、リンゴ酸は親株と比較して約3倍、コハク酸は約3.5倍となること²⁷⁾ から、有機酸生成はピリミジン生合成系とも何らかの関連があるものと推測される。

TCA 回路中の酵素をターゲットとして作製した清酒酵母の遺伝子破壊株について、清酒醪中でのリンゴ酸とコハク酸の生成の変化を親株と比較した結果を第1表にまとめた。また、このような清酒酵母の遺伝子破壊株の解析研究から明らかとなった清酒酵母における清酒醪中でのリンゴ酸及びコハク酸の生成経路を第4図にまとめた。

2-2 ピルビン酸および酢酸の生成について

ピルビン酸や酢酸は TCA 回路の上流で生成される有機酸であるが、清酒の品質には良い香味を与えない有機酸として評価されている。ピルビン酸は異臭であるアセトアルデヒドやダイアセチルの前駆体で、清酒醪中においては高泡時に増加して醪後半には漸減する。この特性を利用して清酒の上槽時期の指標の一つとなっている。ピルビン酸をターゲットにした育種例としては、ピルビン酸生成能の低い清酒酵母を β -フルオロピルビン酸耐性から選択している例²⁸⁾ があり、ピルビン酸を細胞内に取り込む遺伝子 (*JEN1*) についても

第 4 図 清酒酵母における清酒醪中でのリンゴ酸及びコハク酸の生成経路

報告がある²⁹⁾。

清酒製品では酢酸濃度が高いと酸臭として感じられるため、清酒醪中で低い濃度に制御される。酵母では酢酸の代謝経路は 6 通りある³⁰⁾が、清酒酵母を用いた最近の報告によると、高糖濃度条件で酢酸の高くなる原因としてアルデヒドデヒドロゲナーゼ遺伝子 (*ALD2*) の転写誘導が考えられている³¹⁾。

3. 有機酸生成の変化した育種酵母による清酒製造例

遺伝子破壊技術を用いることによって、リンゴ酸生成が増加したり、あるいは逆に減少する清酒酵母、またコハク酸生成が減少する清酒酵母など、清酒製造にとって有用な有機酸生成パターンを呈する新酵母がすでに取得されている。しかしながら、まだ遺伝子組換え酵母の清酒の実生産への利用ができないことから、これらの遺伝子破壊株から得られる有機酸生成のメカニズムを参考にして変異株を取得し、実用に供することが急務になっている。筆者らが取得した α -ケトグルタル酸耐性で、リンゴ酸およびコハク酸を高生産する変異株は、上記の遺伝子破壊株からは得られなかった有機酸生成パターンの清酒酵母であるが、この新酵母

を用いて貴醸酒の製造を行い、製成酒の有機酸組成の優位性を評価した。製成酒の一般分析値を第 2 表に示したが、協会 701 号では、甘さのみが強い清酒となったが、リンゴ酸とコハク酸の両方の有機酸が多くなる多酸酵母 2 OG-R 39 株を用いることによって糖と酸のバランスが調和した官能的にも評価の良い貴醸酒が得られた。このように、リンゴ酸やコハク酸などの酵

第 2 表 多酸酵母 (2 OG-R 39) を用いた貴醸酒の成分分析

	酵 母	
	K 701	2 OG-R 39 ¹⁾
日本酒度	-48	-54
アルコール (%)	18.3	17.2
酸度 (mL)	3.0	4.8
アミノ酸度 (mL)	3.4	3.2
クエン酸 (ppm)	125	155
リンゴ酸 (ppm)	503	1191
コハク酸 (ppm)	591	1032
乳酸 (ppm)	833	794

総米 25 kg 規模の貴醸酒仕込(留時アルコール濃度 9 %)で行った。

¹⁾ 2 OG-R 39 : K 701 の α -ケトグルタル酸に耐性を示す株から分離した多酸酵母

母が生成する有機酸の清酒中での組成を変えることで、従来にない新しいタイプの清酒が製造できることが示された。

お わ り に

この数年間で、急速に進歩する遺伝子組換え技術や遺伝子解析技術を用いて、清酒醪中での清酒酵母の有機酸生成機構が解明されつつある。その結果、清酒酵母が清酒醪中で生成する有機酸の中でリンゴ酸およびコハク酸は、TCA 回路の酸化的あるいは還元的方向の両方で生成されることがより明確となった。また、ピルビン酸および酢酸についても、その生成機構は明らかになりつつあり、清酒中での含量を減少させる方向で技術開発が進んでいる。1996 年に *Saccharomyces cerevisiae* のゲノム DNA の全塩基配列が決定されて以来、今日では酵母の遺伝子発現を解析することができる DNA チップというツールも誕生した。これらの最新の遺伝子解析技術を駆使することにより、近い将来には清酒酵母の有機酸生成のメカニズムの全容が解明されるであろう。そして、遺伝子組換え技術を通して明らかとなった有機酸生成に関する知見を応用して、いろいろな有機酸生成パターンをもつ実用的な清酒酵母の変異株や交雑株などが多く造成され、これらの新酵母を使用することによって清酒の酸度を調節したり、コハク酸、リンゴ酸、クエン酸等の主要な有機酸の比率を自由自在に変えられる清酒の製造技術が確立できることを期待するものである。

参 考 文 献

- 1) 日本醸造協会編：醸造物の成分，日本醸造協会（1999）
- 2) 蓼沼 誠：醸協，**61**，1092-1097（1966）
- 3) 林田正典，上田隆蔵，寺本四郎：J. Ferment. Technol., **46**，85-91（1968）
- 4) 原 昌道，戸塚 昭，水野昭博，讃岐仁史：醸協，**74**，838-841（1979）
- 5) 豊沢 誠，米崎治男，上田隆蔵，林田正典：醸酵工学，**38**，342-350（1960）
- 6) 佐藤 信，大場俊輝，高橋康次郎，国分伸二，小林幹男，小林宏治：醸協，**72**，801-805（1977）
- 7) Muratsubaki, H. : J. Biochem., **102**，705-714（1987）
- 8) 近藤洋大，井端紀史，吉田 清，小林信也：日本農芸化学会大会講演要旨集，p.313（1995）
- 9) 相川元庸，水津哲義，市川英治，川戸章嗣，阿部康久，今安 聡：醸酵工学，**70**，473-477（1992）
- 10) 吉田 清，稲橋正明，中村欽一，野白喜久雄：醸協，**88**，645-647（1993）
- 11) 吉田 清：醸協，**90**，751-758（1995）
- 12) 曲淵哲朗，森川貴子，岩瀬利徳，福田秀雄，佐々木清祐：醸協，**92**，143-150（1997）
- 13) 若井芳則，嶋崎孝行，原 昌道：醸酵工学，**58**，363-368（1980）
- 14) Chapman, C., and Bartley, W. : Biochem. J., **107**，455-465（1968）
- 15) 桶詰和久，尾関健二，浜地正昭，熊谷知栄子：日本生物工学会大会講演要旨集，p.201（1997）
- 16) 桶詰和久，尾関健二，浜地正昭，熊谷知栄子：日本生物工学会大会講演要旨集，p.31（1998）
- 17) 小川義明，新田朝子，下飯 仁，伊藤 清，内山博文，今村武司：日本農芸化学会大会講演要旨集，p.262（1999）
- 18) Magarifuchi, T., Goto, K., Iimura, Y., Tadenuma, M., and Tamura, G. : J. Ferment. Bioeng., **80**，355-361（1995）
- 19) Arikawa, Y., Kobayashi, M., Kodaira, R., Shimosaka, M., Muratsubaki, H., Enomoto, K., Okazaki, M. : J. Biosci. Bioeng., **87**，333-339（1999）
- 20) Enomoto, K., Ohki, R., Muratsubaki, H. : DNA Res. **3**，263-267（1996）
- 21) Muratsubaki, H., Enomoto, K. : Arch. Biochem. Biophys. **352**，175-181（1998）
- 22) Rossi, C., Hauber, J., Singer, T. P. : Nature, **204**，167-170（1964）
- 23) Asano, T., Kurose, N., Hiraoka, N., Kawakita, S. : J. Biosci. Bioeng., **88**，258-263（1999）
- 24) 黒瀬直孝，浅野忠男，垂水彰二，川北貞夫：生物工学，投稿中
- 25) 浅野忠男，黒瀬直孝，平岡信次，川北貞夫，中村輝也：特開平 11-235170（1999）
- 26) 神田晃敬，石川有紀子，浜地正昭，布川弥太郎：日本生物工学会大会講演要旨集，p.53（1993）
- 27) 北本勝ひこ，小田佳緒子，五味勝也，高橋康次郎：特公平 7-114689（1995）
- 28) 福田和郎，古川忠康，大内弘造：日本醸造学会大会講演要旨集，p.10（1998）

- 29) 西森千春, 秋田 修, 藤井 力, 家藤治幸, 黒須
猛行: 日本生物工学会大会講演要旨集,
p.342 (1999)
- 30) Jost, P., and Piendl, A.: J. Amer. Soc.
Brew. Chem., **34**, 31-37 (1976)
- 31) 赤松誠治, 劉宏芳, 山下伸雄, 西村 顕, 後藤
(山本) 奈美, 石川雄章, 岡崎直人: 日本農芸化
学会大会講演要旨集, p.263 (1999)

執筆者紹介 (順不同・敬称略)

浅野忠男 <Tadao ASANO>

昭和36年1月23日生れ<勤務先とその所在地>宝
酒造(株)酒類・調味料研究所, 〒520-2193 滋賀県大津
市瀬田3丁目4-1<略歴>昭和59年北海道大学薬学
部卒, 61年同大学院薬学研究科修了, 同年宝酒造(株)
入社, 平成10年同社次席研究員, 現在に至る。<抱負>
生物の現象を化学的に解き明かしたい。<趣味>近場
(比良山, 鈴鹿山系)の山歩き。

黒瀬直孝 <Naotaka KUROSE>

昭和32年12月27日生れ<勤務先とその所在地>
宝酒造(株)酒類・調味料研究所, 〒520-2193 滋賀県
大津市瀬田3-4-1<略歴>昭和56年大阪府立大学農
学部農芸化学科卒, 同年宝酒造(株)入社, 平成元年酒
類研究所勤務, 8年主任研究員, 11年酒類・調味料研
究所, 主任研究員, 現在に至る。昭和57年4月~60年
3月京都大学食糧科学研究所, 受託研究員。農学博士。
<抱負>微生物の未知なる能力の検索と醸造への応
用。<趣味>旅行, ドライブ, DIY。

赤星亮一 <Ryoichi AKAHOSHI>

大正11年3月10日生れ<勤務先とその所在地>赤
星技術研究所(私設), 〒350-0806 川越市天沼新田310
-51<略歴>昭和19年9月東京帝国大学工学部火薬学
科卒, 21年東京大学農学部大学院入学, 24年東京大学
農学部助手, 35年東洋大学助教授, 41年東洋大学工
学部応用化学科教授, 50~55年同大学工業技術研究所長
(兼務), 平成4年東洋大学名誉教授, 昭和35年~平成
10年資生堂研究所顧問(香料化学), 昭和54年~平成
4年関東信越国税局地方酒類審議会委員, 平成5年赤

星技術研究所設立(研究・大学院生指導)。<抱負>酒
の熟成研究, 食品工学の論文投稿。著書(円熟の酒を
求めて)の執筆。<趣味>写真, 音楽会, 観劇, 芳香器
の開発(快適空間, ルームフレグランス)(お酒の香り
も出せます)。

佐々木 定 <Sadamu SASAKI>

昭和6年5月17日生れ<勤務先とその所在地>三
笠フーズ(株), 〒530-0001 大阪市北区梅田1丁目1
番3-B200号<略歴>昭和31年立教大学理学部卒業,
同年国税庁醸造試験所入所, 熊本国税局, 名古屋国税
局鑑定官室鑑定官, 43年退官, 同年美少年酒造(株)入
社, 取締役製造部長, 常務取締役, 参与を経て平成11
年退社, 9年から三笠フーズ(株)顧問。<趣味>旅行,
スポーツ観戦。

日向寺昭夫 <Teruo HYUGAJI>

昭和12年7月18日生れ<勤務先とその所在地>ブ
ラスチック容器包装リサイクル推進協議会, 〒105-
0003 港区西新橋1-1-21日本酒造会館<略歴>東京工
業大学理学部化学科卒, 昭和37年4月三井東圧化学
(株)(現・三井化学)入社, 昭和63年同総合研究所分
析研究部長, 平成5年同分析物性センター長, 平成7
年(社)プラスチック処理促進協会総合企画室長, 平成
10年プラスチック容器包装リサイクル推進協議会事
務局長, 現在に至る。<抱負>プラスチックのリサイク
ルを円滑にまわすことをとおして, プラスチック容器
の評価を高める。<趣味>ゴルフ, 食歩歩き, スポーツ
観戦。