

花から分離した酵母の性質と 清酒醸造における特長

木下(小室)友香理*・門倉利守**・数岡孝幸*・穂坂 賢*・中田久保*

(平成 19 年 11 月 30 日受付/平成 20 年 4 月 25 日受理)

要約: 花から分離した酵母(以下, 花酵母)の分類学的性質を調べる目的で, 生理学的試験と染色体 DNA 電気泳動を行った。また, 各花酵母の醸造特性を知るため, 清酒小仕込み試験を行ない, 製成酒の一般成分と香り成分分析を行った。

その結果, 花酵母 13 株は, 清酒酵母 K-9 株と同様に, メレジトースおよび硝酸塩を資化せず, クエン酸塩無添加のビタミン欠培地で増殖し, イーストサイジンに対する抵抗性を有した。TTC 染色は赤色, アルシアンブルー染色は白色~淡青色であった。染色体 DNA 電気泳動パターンは, 第VI染色体が長く, 第III染色体と接近した清酒酵母 K-9 株と同じ泳動パターンを示した。また, 高泡形成試験では全株が高泡を形成しなかったことより, 花酵母 13 株は高泡を形成しない清酒酵母タイプであった。清酒小仕込み試験の結果, 花酵母はカブロン酸エチル生成タイプ (ND-4 株, AB-2 株), 酢酸イソアミル生成タイプ (BK-1 株, MR-4 株, SN-3 株, GE-1 株, KAF-2 株, KS-3 株, ST-4 株, SUNF-5 株), 双方をバランスよく生成するタイプ (HNG-5 株, NI-2 株, CAR-1 株) に大別できた。また, 有機酸組成分析の結果, 前報¹⁾の AB-2 株, KS-3 株, MR-4 株に加え, CAR-1 株, GE-1 株, KAF-2 株, ST-4 株, SUNF-5 株による製成酒はリンゴ酸含有量が高いことが明らかとなった。

花酵母による製成酒は吟醸香成分であるカブロン酸エチルおよび酢酸イソアミル生成量が多く, リンゴ酸の割合が高い有機酸組成を持つことから, 多様化する消費者嗜好に対応する清酒開発を可能にすると思われる。

キーワード: 清酒酵母, 染色体 DNA, 清酒醸造

緒 論

米, 米麹, 水を原料とし, 総米に対する汲水量 135% 前後で仕込む清酒は, 他の酒類にはみられない高濃度な醗環境となる。この清酒醗で優位に生育¹⁾し, 酒類の主成分であるアルコールを高濃度に生成するのが清酒酵母群である。近年の清酒は, 優れた酒質を求めて多くの優良清酒酵母が配布されているが, 消費者側からも「個性ある清酒」が求められている。

そこで筆者らは, 自然界の花に着目し, 新たな特性を有する優良清酒酵母の分離に取り組んできた。本報では, 前報²⁻⁴⁾で報告した 7 株に 6 株を加え, 計 13 株の分類学的性質をアルシアンブルー染色法, 染色体 DNA 電気泳動法で検討したところ, 高泡を形成しない清酒酵母と同じ結果を得た。さらに清酒小仕込み試験を行ない, 各菌株の香味生成について検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 供試菌株

花から分離した酵母(以下, 花酵母)を Table 1 に示し

た。これら 13 株および対照酵母として清酒酵母協会 9 号(以下, K-9 株)の計 14 株を用いた。なお, セルレニンおよび 5-5-5 トリフルオロ-DL-ロイシン(以下, TFL)耐性試験では清酒酵母協会 16 号(以下, K-1601 株), 協会 17 号(以下, K-1701 株)を加えた。

2. 花酵母の生理学的試験

- (1) 糖類発酵性および資化性
“The Yeasts”⁵⁾に準じて行なった。
- (2) ビタミン欠培地での増殖
中田ら⁶⁾の方法に従い行なった。
- (3) 硝酸塩資化性
“The Yeasts”⁵⁾に準じて行なった。
- (4) TTC 染色性
常法⁷⁾に従い行なった。
- (5) イーストサイジンに対する抵抗性

中田ら⁸⁾の方法に従い調製した粗イーストサイジンを Bllg 10° 麹汁培地に 200 ppm となるように添加し, オートクレーブで 121°C, 5 分間加圧殺菌し培地とした。これに分離酵母を 8×10^3 cfu/ml となるように接種し, 30°C, 24 時

* 東京農業大学短期大学部醸造学科

** 東京農業大学応用生物科学部醸造科学科

Table 1 Yeast strains isolated from plant flowers

Strain No.	Plant
ND-4	<i>Dianthus superbus</i> var. <i>longicalycinus</i>
AB-2	<i>Abelia grandiflora</i>
HNG-5	<i>Rosa</i> sp.
NI-2	<i>Vinca rosea</i>
CAR-1	<i>Dianthus caryophyllus</i>
KS-3	<i>Cosmos bipinnatus</i>
BK-1	<i>Begonia</i> sp.
SN-3	<i>Rhododendron metternichii</i>
MR-4	<i>Tagetes patula</i>
GE-1	<i>Epiphyllum oxypetalum</i>
KAF-2	<i>Cattleya hybrids</i>
ST-4	<i>Fragaria grandiflora</i>
SUNF-5	<i>Helianthus</i> sp.

間培養し増殖が認められたものを抵抗性有りと判定した。

(6) 清酒醪での高泡形成能

500 ml 容三角フラスコに米麹 35 g, 蒸米 115 g, 水 200 ml, 乳酸 0.8 ml を加え, Bllg 10⁹ 麹汁培地で前培養した酵母 10 ml を全量添加し, 13°C で発酵を行ない経時的に高泡形成を観察した。

(7) アルシアンブルー染色性

門倉ら⁹⁾の方法に従い行った。すなわちアミノ酸欠 Wickerham 合成培地を用い 30°C で 3 日間培養後, 菌体洗浄し, 0.1% アルシアンブルー / 0.02 N 塩酸溶液にて室温で 30 分染色後, 余剰色素を洗浄し細胞の染色度合いを調べた。

3. 薬剤耐性試験

(1) セルレニン耐性

YM 液体培地で前培養した菌体を殺菌水にて洗浄し, セルレニンを終濃度 25 μM となるよう添加した TTC 培地に接種後 27°C, 3 日間培養した。比較対照株として K-9 株, K-1601 株, K-1701 株を用い, セルレニン無添加培地での生育を基準として耐性の有無を判定した。

(2) TFL 耐性

硫酸を窒素源としたアミノ酸欠 Wickerham 合成培地に, TFL を終濃度 0.1 mM となるよう添加した培地を用いた。YM 液体培地で前培養した菌体を殺菌水にて洗浄し, 接種後 27°C, 3 日間培養した。比較対照株として清酒酵母 K-9 株, K-1601 株, K-1701 株を用い, TFL 無添加培地での生育と比較して耐性の有無を判定した。

4. 染色体 DNA 電気泳動

対照株はすでにゲノム解析がなされている実験室酵母 AB972 株 (*Saccharomyces cerevisiae*) および清酒酵母 K-9 株を使用した。

サンプル調製は CARLE と OLSON の方法を改変した中里ら¹⁰⁾の方法に従い行った。すなわち供試菌株を 7 ml の YPD (グルコース 2%, 酵母エキス 1%, ポリペプトン 2%) 培地で 30°C, 48 時間培養し, 1 サンプル分とした。菌体を 0.35 mg/ml ザイモリエース 100T を含む 1% 低沸点アガロースに包埋後, Tris-EDTA 緩衝液中で 37°C, 24 時間静置し, プロトプラスト化させた。1% ラウロイルサルコシンと 2 mg/ml プロテイナーゼ K を含む Tris-EDTA 緩衝液中で 50°C, 42 時間静置し, ヒストン遊離と除タンパク処理を行った。パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) は CHEF-DR III System (Bio-Rad 社製) を使用した。泳動ゲルは 1% アガロース, 電圧 200 V, 泳動槽温度 11.5°C, パルス時間 60-120 秒, 泳動時間 24 時間とし, 染色体 DNA バンドの検出は Gel Star Nucleic Acid Stain (タカラバイオ社製) を用いた。

5. 清酒小仕込み試験

原料米は精米歩合 65% の一般精白米を用い, 総米 4 kg の三段仕込み⁴⁾ (麹歩合 22%, 汲水歩合 140%) を行なった。酒母には汲水 1 l 当たり 4 ml の乳酸を添加し, YM 液体培地にて前培養した各酵母を 2 × 10⁵ cfu/ml となるように接種した。仕込み温度は初添 15°C, 仲添および留添 10°C とし, 醪最高温度 13°C で醪日数 21 日目に上槽し, 分析試料とした。なお, 使用した麹は麹蓋法にて製麹した。

6. 一般成分分析

一般成分分析は国税庁所定分析法注解⁷⁾に従い行なった。また, 有機酸組成分析は, 前報¹⁾に従い, 電気伝導度検出器を備えた高速液体クロマトグラフにて定量した。

7. 香気成分分析

前報³⁾に従って試料調製し, ガスクロマトグラフィーで低沸点香気成分を定量した。分析条件は, キャピラリーカラム 0.25 mm × 60 m, 充填剤 TC-WAX を用い, N₂ ガス流速 30 ml/分, カラム温度 70°C, 検出器 FID で行なった。

実験結果および考察

1. 花酵母の生理学的性質

花酵母の生理学的性質を Table 2 および 3 に示した。清酒酵母群と同様にメレイトースは全株資化しなかった。

α-メチル-D-グルコシドは K-9 株をはじめ, HNG-5 株, NI-2 株, CAR-1 株, SN-3 株は資化したが, 他の分離株は資化しなかった。SN-3 株はガラクトースの発酵および資化性がなかった。また, 全株, 硝酸塩を資化せず, クエン酸塩無添加のビタミン欠培地で全株増殖し, イーストサイジンに対する抵抗性を有した。さらに, TTC 染色は赤色, アルシアンブルー染色は白色～淡青色であった。清酒醪中での高泡形成能は, 対照株である K-9 株は高泡を形成したが, 花酵母は全て形成しなかった。

以上の結果より, α-メチル-D-グルコシドを資化する株 (4 株/13 株) と資化しない株 (9 株/13 株) があるものの, 他の性質は清酒酵母 K-9 株と同じであることから, 花

Table 2 Physiological characteristics of yeasts isolated from plant flowers

Strain No.	Fermentation of						Assimilation of								
	Glu	Gal	Suc	Mal	Lac	Raf	Glu	Gal	Suc	Mal	Lac	Raf	Mele	α -MG	KNO ₃
K-9	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ND-4	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
AB-2	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
HNG-5	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
NI-2	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
CAR-1	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
KS-3	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
BK-1	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
SN-3	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
MR-4	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
GE-1	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
KAF-2	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
ST-4	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
SUNF-5	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-

Glu:glucose, Gal:galactose, Suc:sucrose, Mal:maltose, Lac:lactose, Raf:raffinose

Mele:melezitose, α -MG: α -methyl-D-glucoside, + ; positive , - ; negative

Table 3 Physiological characteristics of yeasts isolated from plant flowers

Strain No.	Growth in vitamin free medium ^{a)}	Resistance against yeastcin ^{b)}	Froth forming ability on sake mash	TTC staining	Alcian blue staining
K-9	+	+	+	Red	-
ND-4	+	+	-	Red	-
AB-2	+	+	-	Red	-
HNG-5	+	+	-	Red	-
NI-2	+	+	-	Red	-
CAR-1	+	+	-	Red	-
KS-3	+	+	-	Red	-
BK-1	+	+	-	Red	-
SN-3	+	+	-	Red	-
MR-4	+	+	-	Red	-
GE-1	+	+	-	Red	-
KAF-2	+	+	-	Red	-
ST-4	+	+	-	Red	-
SUNF-5	+	+	-	Red	-

+ ; positive , - ; negative

a) Growth in vitamine-free medium containing 20 g glucose, 2.0 g (NH₄)₂SO₄, 0.55 g KH₂PO₄, 0.425g KCl, 0.125g MgSO₄·7H₂O, 0.125g CaCl₂·2H₂O, 2.5mg FeCl₃·6H₂O, 2.5mg MnSO₄·4H₂O in one liter of distilled water.

b) Blg 10⁹ koji extract contained 200ppm yeastcin was used as a test medium.

酵母 13 株は高泡を形成しない清酒酵母タイプであると判定した。

Table 4 Resistance against cerulenin and TFL of yeasts isolated from plant flowers

Strain No.	Resistance against	
	Cerulenin ^{a)}	TFL ^{b)}
K-9	—	—
K-1601	+W	—
K-1701	—	+
ND-4	+	—
AB-2	+	—
HNG-5	+W	—
NI-2	+W	—
CAR-1	—	—
KS-3	—	—
BK-1	—	—
SN-3	—	—
MR-4	—	—
GE-1	—	—
KAF-2	—	—
ST-4	—	—
SUNF-5	—	—

+: growth, +W: weak growth, —: no growth

a) Growth in TTC medium containing 25 μ M cerulenin.

b) Growth in amino acid-free medium containing 0.5mM TFL.

2. 花酵母の薬剤耐性

花酵母の各薬剤耐性を Table 4 に示した。まず、セルレニンに対しては耐性取得株である K-1601 株を対照株として判定した。その結果、対照株と同等の生育を示した HNG-5 株と NI-2 株、それ以上の旺盛な生育を示した ND-4 株と AB-2 株がセルレニン耐性を有することが明らかとなった。また、TFL に対しては耐性取得株である K-1701 株を対照株として判定した。その結果、花酵母で耐性を有する株は認められなかった。

3. 花酵母の染色体 DNA 電気泳動パターン

花酵母の染色体 DNA 電気泳動パターンを Fig. 1 に示した。対照株とした AB972 株と比べ、花酵母は全て第 VI 染色体が長く、第 III 染色体と接近した清酒酵母 K-9 株と同じ泳動パターンを示した。現在、清酒酵母は *Saccharomyces cerevisiae* に分類されているが、清酒酵母では、第 VI 染色体においてはその両端領域が他の醸造酵母よりもそれぞれ長くなっているのが特徴であると報告^{11,12)} されている。また、清酒酵母ゲノム解析コンソーシアムの報告¹³⁾ では、染色体末端領域に実験室酵母と清酒酵母の違いが見出されている。分離株の第 III, VI 染色体は清酒酵母 K-9 株と同様であったことから、生理学的試験結果とあわせ、花酵母は清酒酵母タイプであると考えられた。

4. 花酵母による清酒小仕込み試験

(1) 製成酒の一般成分

花酵母 13 株と対照株とした清酒酵母 K-9 株を用いた清酒小仕込み試験での製成酒の一般成分を Table 5 に示した。

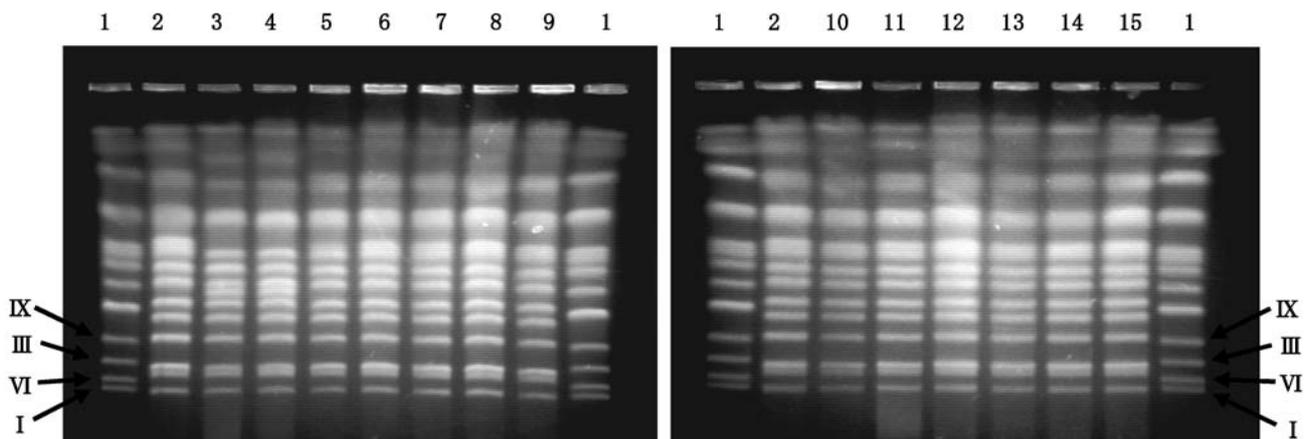


Fig. 1 Pulsed-field gel electrophoresis of chromosome DNA of yeasts isolated from plant flowers

Yeasts were embedded in 1% agarose gel containing zymolyase-100T and were incubated in 10 mM Tris buffer (pH 7.5) containing proteinase K at 50°C for 42 hours after incubation in the buffer supplemented with 50 mM EDTA at 37°C for 24 hours.

A block prepared was subjected to electrophoresis at 6 V at 11°C with 60 to 120 sec pulse time for 24 hours.

I, III, VI and IX represent chromosome I, III, VI and XI, respectively.

Sample No. ; 1 : AB972 (*Saccharomyces cerevisiae*), 2 : K-9 (Kyokai No. 9), 3 : ND-4, 4 : AB-2, 5 : NI-2, 6 : HNG-5, 7 : CAR-1, 8 : KS-3, 9 : SUNF-5, 10 : BK-1, 11 : SN-3, 12 : MR-4, 13 : GE-1, 14 : KAF-2, 15 : ST-4.

Table 5 Ingredients of *sake* mashes fermented with yeasts isolated from plant flowers

Strain No.	<i>Sake</i> meter	Alcohol (%)	Acidity (ml)	Amino acid (ml)
K-9	+5	17.0	1.8	1.4
ND-4	+4	16.4	1.4	1.8
AB-2	+4	16.4	1.4	1.2
HNG-5	+3	17.1	1.6	1.5
NI-2	+2	16.4	1.7	1.4
CAR-1	+5	16.2	1.8	1.4
KS-3	+4	17.0	2.1	1.2
BK-1	+5	16.9	1.6	1.3
SN-3	+6	16.2	1.6	1.1
MR-4	+6	16.4	1.5	1.1
GE-1	+3	17.0	2.0	1.4
KAF-2	+6	17.0	2.1	1.2
ST-4	+1	17.0	1.9	1.0
SUNF-5	+3	16.8	2.2	1.2

対照とした K-9 株による製成酒の一般成分分析値は日本酒度+5, アルコール 17.0%, ND-4 株は日本酒度+4, アルコール 16.4% であった。その他の分離株についても日本酒度は全てプラスまで切れた。アルコール生成量は 16.2% ~17.1% と多少のばらつきがあるものの、強い発酵力を有した。また、総酸度は対照である K-9 株の 1.8 よりも高い値を示した株が、CAR-1 株、GE-1 株、KAF-2 株、KS-3 株、ST-4 株、SUNF-5 株の 6 株であった。アミノ酸度は ND-4 株のみが 1.8 とやや高い値を示したものの、その他は K-9 株と同等あるいは低い結果であった。ND-4 株のアミノ酸度が高くなる傾向については前報³⁾と一致した。

(2) 製成酒の香気成分

製成酒の香気成分を Table 6 に示した。香気成分は吟醸香の主要成分である酢酸イソアミルとカプロン酸エチルが多く生成された。吟醸酒酵母の代表株である K-9 株による製成酒の香気成分は酢酸イソアミル 2.8 ppm, カプロン酸エチル 0.6 ppm であったが、対照株の酢酸イソアミル生成量と同等あるいはそれ以上の値を示したのは BK-1 株、MR-4 株、SN-3 株、GE-1 株、KAF-2 株、KS-3 株、ST-4 株および SUNF-5 株であった。このことから、これら 8 株は酢酸イソアミルを生成するタイプであると推察された。特に、SN-3 による製成酒は酢酸イソアミル 6.4 ppm であり、K-9 株の 2 倍以上の高い生成量を示した。一方、カプロン酸エチルを高生成した株は ND-4 株と AB-2 株であり、これら 2 株はカプロン酸エチルを高生成するタイプであった。薬剤耐性試験において、ND-4 株および AB-2 株はセルレニン耐性を有しており、カプロン酸エチル生成能の高い菌株とセルレニン耐性株は一致する傾向であった。HNG-5

Table 6 Aroma components in *sake* mashes fermented with yeasts isolated from plant flowers

Strain No.	Aroma compounds (ppm)			
	Isobutyl alcohol	Isoamyl alcohol	Isoamyl acetate	Ethyl caproate
K-9	56.2	211.3	2.8	0.6
ND-4	54.0	205.4	0.6	4.5
AB-2	59.2	215.8	1.9	5.2
HNG-5	48.8	198.4	1.4	2.9
NI-2	74.6	248.8	2.3	1.6
CAR-1	73.6	225.8	1.9	1.6
KS-3	68.5	248.3	3.5	0.2
BK-1	60.2	234.2	2.6	0.3
SN-3	92.7	297.6	6.4	0.5
MR-4	82.2	275.4	3.7	0.8
GE-1	54.5	212.9	2.8	0.6
KAF-2	63.2	237.4	3.1	0.8
ST-4	68.6	250.9	3.4	0.8
SUNF-5	80.1	282.8	3.9	1.2

Table 7 Organic acids in *sake* mashes fermented with yeasts isolated from plant flowers

Strain No.	Organic acids (ppm)						MA/SA ratio
	Citra	Malic	Succi	Lac	Fumal	Acet	
CAR-1	62.3	309.4	351.7	300.0	-	14.6	0.89
GE-1	99.4	382.3	396.1	314.9	7.1	22.0	0.97
KAF-2	96.7	377.2	431.9	315.3	-	29.8	0.87
ST-4	98.1	353.2	419.5	334.5	-	23.0	0.84
SUNF-5	66.6	420.3	517.5	352.8	-	20.7	0.81
K-9	96.3	250.0	409.6	275.7	3.7	136.6	0.61

Citra: citric acid, Malic:malic acid, Succi:succinic acid,

Lac:lactic acid, Fumal:fumalic acid, Acet:acetic acid,

MA/SA ratio:malic acid/succinic acid ratio.

株、NI-2 株および CAR-1 株の 3 株は、酢酸イソアミルとカプロン酸エチルの双方を生成するタイプであった。

このように発酵力が強く、吟醸香エステル生成に優れた酵母が自然界から分離されたことは非常に興味深い。

(3) 製成酒の有機酸組成

清酒小仕込み試験での総酸度が対照の K-9 株よりも高かった CAR-1 株、GE-1 株、KAF-2 株、ST-4 株、SUNF-5 株による製成酒の有機酸組成を Table 7 に示した。

なお、KS-3 株については前報⁴⁾で報告しているため割愛した。清酒中の有機酸はコハク酸、乳酸、リンゴ酸が全有

機酸の約 80% を占め、なかでもリンゴ酸が清酒に与える味として「きれい」「爽やか」「後味が軽い」といった高い評価がある。前報⁴⁾でコハク酸の値を 1 としたときのリンゴ酸の値を MA/SA 比 (Malic acid/Succinic acid) で表したところ、0.8 以上である場合にリンゴ酸特有の爽やかさを感じやすいことが示唆されたが、今回供試した 5 株も MA/SA 比 0.8 以上の値を示し、同様の傾向が認められた。また、熟練したパネリスト 5 名による官能検査を行った結果、いずれも後味が軽く、キレのある酒質であるとの評価を得た。

なお、これら分離株は東京農業大学短期大学部醸造学科酒類学研究室卒業生の蔵元が中心となり、東京農大花酵母研究会を設立し、工場規模で清酒および焼酎を製品化していることを付記する。

要 約

花から分離した酵母の分類学的性質を調べる目的で、生理学的試験ならびに染色体 DNA 電気泳動を行った。また、花酵母の醸造特性を知るために清酒小仕込み試験を行ない、製成酒の一般成分および香気成分分析を行った。

その結果、花酵母 13 株はメレジトースおよび硝酸塩を資化せず、クエン酸塩無添加のビタミン欠培地で増殖し、イーストサイジンに対する抵抗性を有した。TTC 染色は赤色、アルシアンブルー染色は白色～淡青色であった。また、染色体 DNA 電気泳動パターンは、第 VI 染色体が長く、第 III 染色体と接近した清酒酵母と同じ泳動パターンを示した。さらに、高泡形成試験で高泡を形成しないことより、泡なしの清酒酵母タイプであった。清酒小仕込み試験の結果、製成酒はカブロン酸エチル生成タイプ (ND-4 株, AB-2 株), 酢酸イソアミル生成タイプ (BK-1 株, MR-4 株, SN-3 株, GE-1 株, KAF-2 株, KS-3 株, ST-4 株, SUNF-

5 株), 双方をバランスよく生成するタイプ (HNG-5 株, NI-2 株, CAR-1 株) に大別できた。また、前報⁴⁾の AB-2 株, KS-3 株, MR-4 株に加え、CAR-1 株, GE-1 株, KAF-2 株, ST-4 株, SUNF-5 株による製成酒はリンゴ酸含有量が高いことが明らかとなった。

これまで優良清酒酵母は主に清酒醪を分離源としてきたが、自然界の花から優良株が分離できたことは興味深い。

参考文献

- 1) 中田久保, 北村恵代, 桑田幸治, 坂井 劭: 醸協, 76, 5, 356 (1981).
- 2) 穂坂 賢, 中田久保, 坂井 劭: 醸協, 95, 837 (2000).
- 3) 小室友香理, 穂坂 賢, 中田久保: 醸協, 99, 10, 743 (2004).
- 4) 小室友香理, 清水大介, 加藤陽子, 穂坂 賢, 中田久保: 醸協, 100, 6, 454 (2005).
- 5) C.P. KURTZMAN, The Yeasts a taxonomic study 4th edition, 77-100 (1998).
- 6) 中田久保, 穂坂 賢, 坂井 劭: 発酵工学, 63, 6, 509 (1985).
- 7) 注解編集委員会編: 第四回改正国税庁所定分析法注解, 日本醸造協会 (1993).
- 8) 中田久保, 坂井 劭, 竹田正久, 塚原真次: 醸協, 75, 9, 761 (1980).
- 9) 門倉利守, 寺嶋則仁, 中條絵理, 橘美貴子, 桑原綾子, 中里厚実, 竹田正久: 平成 11 年度生物工学大会要旨集, 335 (1999).
- 10) 中里厚実, 門倉利守, 山本京子, 原山 格, 大熊盛也, 竹田正久, 工藤俊章, 金子太吉: 醸協, 93, 1, 67 (1998).
- 11) A. NAKAZATO, T. KADOKURA, M. AMANO, T. HARAYAMA, Y. MURAKAMI, M. TAKEDA, T. KUDO and T. KANEKO: Yeast, 14, 723-731 (1998).
- 12) 門倉利守, 天野 誠, 原山 格, 大熊盛也, 中里厚実, 竹田正久, 工藤俊章, 金子太吉: 生物工学会誌, 77, 7, 263-269 (1999).
- 13) 下飯 仁, 藤田信之: 化学と生物, 45, 8, 539-543 (2007).

Characteristics of Yeasts Isolated from Plant Flowers and their Properties on *Sake* Brewing

By

Yukari KINOSHITA-KOMURO*, Toshimori KADOKURA**, Takayuki KAZUOKA*,
Masaru HOSAKA* and Hisayasu NAKATA*

(Received November 30, 2007/Accepted April 25, 2008)

Summary : The present study conducted physiological examinations and chromosome DNA electrophoresis in order to investigate the characteristics of yeast strains isolated from plant flowers. Small scale *sake* production experiments were conducted, and analyses of the principal components and aroma constituents produced in the experiment were performed in order to determine characteristics of the flower yeast strains on *sake* brewing. The results showed that the flower yeast strains were non-froth forming type of *sake* yeasts.

Based on the results of small scale *sake* production experiments with the flower yeast strains, the 13 strains of flower yeast were classified into an ethyl caproate producing type, an isoamyl acetate producing type and a combination type producing both constituents in good balance. *Sake* produced with the flower yeast strains had high rates of ethyl caproate, isoamyl acetate and malic acid. Thus, it is assumed that these strains will be able to develop *sake* that can satisfy a diverse range of consumer preferences.

Key words : *Sake* yeast, chromosome DNA, *sake* brewing

* Department of Brewing and Fermentation, Junior College of Tokyo University of Agriculture

** Department of Fermentation Science, Faculty of Applied Bio-Science, Tokyo University of Agriculture