The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

[J. Ferment. Technol., Vol. 54, No. 3, p. 150～157, 1976]

Dipeptide の *Pediococcus halophilus* に対する増殖促進性*

竹 内 徳 男

愛知県食品工業試験所

Growth Promotion of *Pediococcus halophilus* by Synthetic Dipeptides

Tokuo Takeuchi

Food Research Institute, Aichi Prefecture, Shinpukuji-cho, Nishi-ku, Nagoya

The effect of 59 synthetic dipeptides on growth of *Pc. halophilus* was studied using synthetic medium containing betaine.

About 24 dipeptides slightly stimulated the growth of *Pc. halophilus* when added alone. Of these dipeptides, glycyl-L-serine, L-serylglycine and L-alanyl-L-valine exhibited comparatively high growth promotion. However, on addition of a mixture of dipeptides which have a slight stimulative activity, growth promotion was more obvious and the lag time of *Pc. halophilus* was also reduced. Further, the growth of *Pc. halophilus* was more elevated by adding a mixture of a large number of dipeptides.

On the other hand, growth promotion of *Pc. halophilus* by the low molecular weight peptides (P-fr.) in soybean *miso* was gradually reduced on removing some peptides from P-fr. by treatment on ion-exchange resin, Sephadex gel etc..

All the above results are compatible with the conclusion that the growth promotion of *Pc. halophilus* by the low molecular weight peptides in soybean *miso* depends upon the cooperative action of several peptides having stimulative activity.

L-Histidyl-L-histidine, L-histidyl-L-tyrosine and L-histidyl-L-phenylalanine inhibited the growth of *Pc. halophilus* at a concentration of 50 μg/ml, and L-tyrosyl-L-tyrosine at over 100 μg/ml. However, the growth inhibitory effect of these peptides is probably not seen in *miso* and soysauce, because these are readily hydrolyzed by the proteases produced by *Aspergillus oryzae*.

緒 言

Pediococcus halophilus は B-fr.（豆みその塩基性物質），P-fr.（豆みその低分子 peptide 区分）と仮称した作用性の異なった2種の増殖促進因子[1]の相乗的な作用で最高度に増殖する．

B-fr.[1,2]は合成培地で，betaine と同様に *Pc. halophilus* の増殖を半生育 (half maximal growth) の状態まで促進するが，betaine よりも即効的でかつ若干ながら増殖度も高める．この B-fr. の betaine と幾分異なった作用は B-fr. 中の塩基性 peptide の効果によると考察した．[2] P-fr.[1~3]は単独の補足では *Pc. halophilus* の増殖をほとんど促進しないが，betaine の共存下で高度に増殖を促進する peptide である．その peptide の増殖促進性は低分子のものほど有効であるが，単一な peptide ではなく，微弱な促進作用を示す多種な peptide の協同的な作用によるもので，主として豆みその主要な低分子 peptide 群の溶出する区分に存在する．[3] しかし，微量なため個々の peptide の示す作用を直接的に確認することはできなかった．

* みそ，しょう油の Peptide に関する研究（第15報）
Studies on the Peptides in *Miso* and Soy-sauce (XV)

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

そのため，本報では前報[4]で明らかにした豆みその主要な peptide を中心に59種の合成 dipeptide の増殖促進性を試験した．その結果，*Pc. halophilus* に対する peptide の増殖促進性は単一な peptide では弱いが，混合補足によって明らかに増殖が高まることを確認し，豆みそ peptide の示す *Pc. halophilus* の増殖促進性を明らかにした．

実 験 方 法

試料 合成 dipeptide: α-L-Glutamyl-L-alanine (Glu-Ala), α-L-glutamyl-β-alanine (Glu-β-Ala), α-L-glutamyl-α-aminoisobutyric acid (Glu-AIB), α-L-glutamyl-L-asparagine (Glu-Asn), α-L-glutamylglycine (Glu-Gly), α-L-glutamyl-L-leucine (Glu-Leu), α-L-glutamyl-L-valine (Glu-Val), α-L-aspartyl-L-serine (Asp-Ser), β-L-aspartyl-L-serine (β-Asp-Ser), α-L-aspartyl-L-threonine (Asp-Thr), β-L-aspartyl-L-threonine (β-Asp-Thr) は北海道大学農学部 坂村貞雄教授，α-L-glutamyl-L-aspartic acid (Glu-Asp), α-L-glutamyl-L-glutamic acid (Glu-Glu) は広島大学工学部 岡智教授からそれぞれ恵与されたものを用いた．L-Alanyl-L-alanine (Ala-Ala), L-alanyl-L-aspartic acid (Ala-Asp), L-alanyl-L-glutamic acid (Ala-Glu), L-alanylglycine (Ala-Gly), L-alanyl-L-histidine (Ala-His), L-alanyl-L-isoleucine (Ala-Ile), L-alanyl-L-methionine (Ala-Met), L-alanyl-L-phenylalanine (Ala-Phe), L-alanyl-L-serine (Ala-Ser), L-alanyl-L-tryptophan (Ala-Trp), L-alanyl-L-tyrosine (Ala-Tyr), L-alanyl-L-valine (Ala-Val), glycyl-L-alanine (Gly-Ala), glycyl-L-aspartic acid (Gly-Asp), glycyl-L-glutamic acid (Gly-Glu), glycyl-L-leucine (Gly-Leu), glycyl-L-proline (Gly-Pro), glycyl-L-serine (Gly-Ser), γ-L-glutamyl-L-glutamic acid (γ-Glu-Glu), α-L-glutamyl-L-serine (Glu-Ser), L-histidyl-L-alanine (His-Ala), L-histidylglycine (His-Gly), L-histidyl-L-leucine (His-Leu), L-histidyl-L-phenylalanine (His-Phe), L-histidyl-L-tyrosine (His-Tyr), L-lysyl-L-aspartic acid (Lys-Asp), L-lysylglycine (Lys-Gly), L-leucylglycine (Leu-Gly), L-leucyl-L-serine (Leu-Ser), L-methionyl-L-alanine (Met-Ala), L-methionyl-L-asparagine (Met-Asn), L-methionyl-L-leucine (Met-Leu), L-methionyl-L-methionine (Met-Met), L-methionyl-L-proline (Met-Pro), L-methionyl-L-phenylalanine (Met-Phe), L-methionyl-L-serine (Met-Ser), L-serylglycine (Ser-Gly), L-tryptophyl-L-alanine (Trp-Ala), L-tryptophyl-L-glutamic acid (Trp-Glu), L-tryptophyl-L-tryptophan (Trp-Trp), L-tyrosyl-L-alanine (Tyr-Ala), L-tyrosyl-L-glutamic acid (Tyr-Glu), L-tyrosylglycine (Tyr-Gly), L-tyrosyl-L-leucine (Tyr-Leu), L-tyrosyl-L-tyrosine (Tyr-Tyr) は Sigma 製品を，L-histidyl-L-histidine acetate dihydrate (His-His) は Cyclochemical 社製品を用いた．計59種である．

豆みその低分子 peptide 区分：先に得た豆みその低分子篩区分 (X–16)[5] と X–16 の Amberlite IRA 402 (OH^-) 吸着区分 (P-fr.) および P-fr. を Sephadex G–15 で精製した G–P 区分を試料としたが，いずれも前報[3]で調製したものを用いた．

増殖度測定法 Betaine 培地(合成培地[1]に 30 μg/ml の betaine を補足した培地) を用い，培養はすべて 2 ml で行ない，その他の実験方法は前報[1]に準じた．

実験結果ならびに考察

単独補足で示す dipeptide の増殖促進効果

Pc. halophilus に対する53種の dipeptide の betaine 培地での増殖促進性を Fig. 1 に示した．

図のように，50 μg/ml, 100 μg/ml の濃度に添加した両試験区において，いずれも顕著な増殖促進効果を示す peptide は認められなかった．しかし促進的に作用する peptide は比較的に多種存在し，概して alanyl-peptide, aspartylpeptide, glycylpeptide, glutamyl-peptide, serylpeptide は促進的に作用する傾向がみられ，histidyl-, methionyl-, tyrosyl-peptide は促進性が極弱いかまたは抑制的に作用する傾向があった．

促進的に作用する Ala-Asp, Ala-Val, Gly-Ser, Glu-Ala, Glu-Gly, Glu-Leu, Glu-Val, Ser-Gly の個々の増殖促進性はいずれも弱いものであったが，これらの peptide 混合物 (各 50 μg/ml の混合，図中 Mix. A) あるいは Mix. A にさらに Glu-Glu, Glu-Asp の各 100 μg/ml を補足した Mix. B はかなり高い増殖促進作用を示した．逆に His-His, His-Phe, His-Tyr は 50 μg/ml の濃度で *Pc. halophilus* の増殖を阻止した．

Fig. 1 で比較的に促進的な作用のあった18種の peptide を含めて計24種の dipeptide について，Fig. 1 と同様な実験を行なった (Table 1).

Table 1 のように，個々の dipeptide の示す増殖は Fig. 1 の結果と幾分異なってはいたが，いずれの dipeptide にも増殖促進作用が認められ，それらの dipeptide 混合物は明らかな促進作用を示し，Fig. 1 と類似の結果であった．Fig. 1, Table 1 から，先に豆み

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

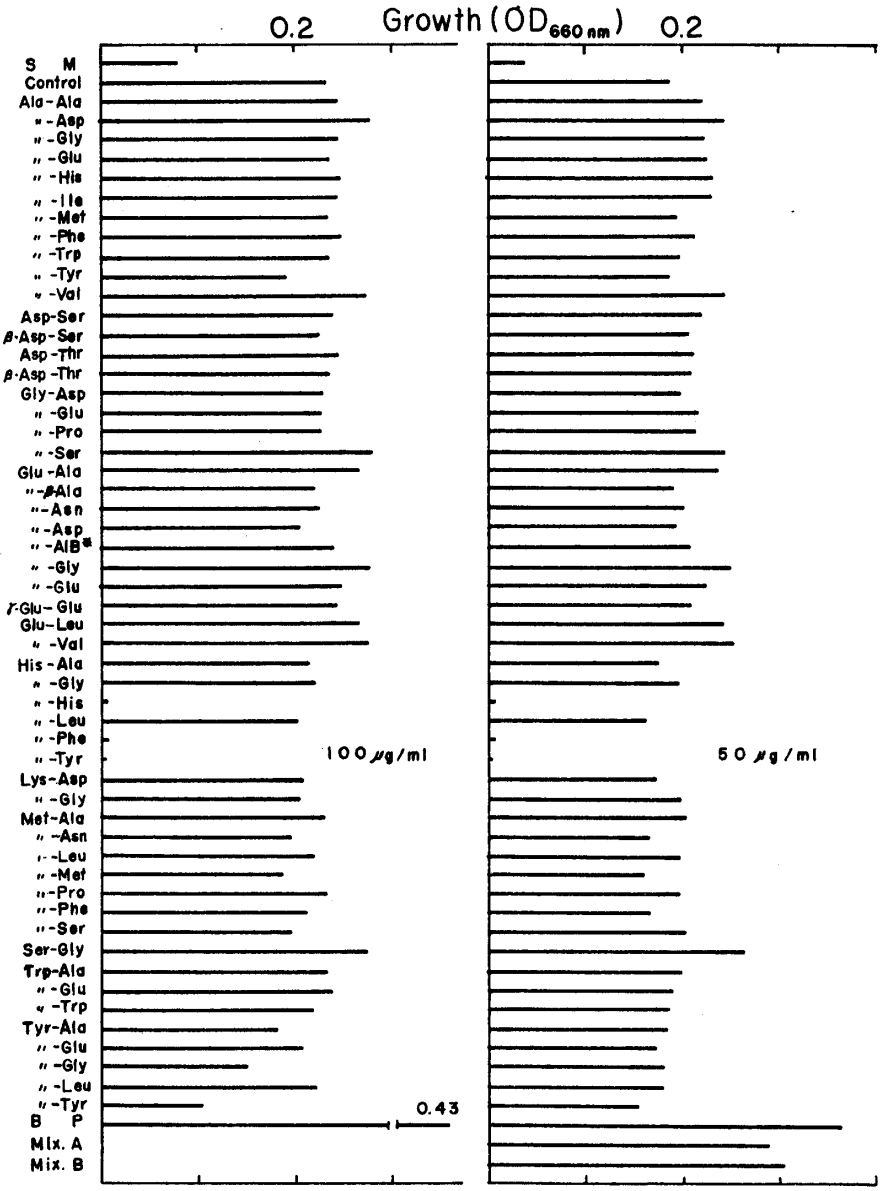

Fig. 1. Effect of the 53 synthetic dipeptides on growth of *Pc. halophilus*.
Each synthetic dipeptide was added at a concentration of 50 μg/ml or 100 μg/ml. After incubation in betaine (30 μg/ml) medium at 30°C for 6 days, growth was determined by reading OD at 660 nm.
SM: Synthetic medium, Control: Betaine (30 μg/ml) medium, BP: Betaine medium supplemented with 1% polypeptone, Mix. A: 50 μg/ml each of 7 peptides (Asp-Asp, Gly-Ser, Glu-Ala, Glu-Gly, Glu-Val, Glu-Leu and Ser-Gly), Mix. B: Mix. A+100 μg/ml each of Glu-Glu and Glu-Asp. *Glu-AIB: α-L-glutamyl-α-aminoisobutyric acid.

その peptide[4] として指摘した Glu-Ser, Ser-Gly, Gly-Ser, Glu-Gly, Glu-Val, Glu-Glu, Glu-Asp は *Pc. halophilus* の増殖に促進的に作用した．しかし，主要な酸性 peptide である Glu-Glu, Glu-Asp の作用は概して弱いものであった．

混合補足で示す dipeptide の増殖促進性

Pc. halophilus の増殖に与える7種の dipeptide の最適濃度を Table 2 に示した．

表のように，各 peptide とも 100 μg/ml の濃度で概して高い増殖を示したが，試験した濃度範囲 (50～1,000 μg/ml) では大差のない増殖度であった．しかし，高濃度の Gly-Ser, Ser-Gly は *Pc. halophilus* の増殖を幾分抑制した．また，50, 100 μg/ml の濃度で対照よりいずれも幾分高い増殖を示す7種の dipeptide 混合物

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

Table 1. Effect of 24 peptides on growth of *Pc. halophilus*.

Concentration Incubation*	50 μg/ml 7 days	100 μg/ml 5 days
L-Alanyl-L-alanine	0.268	0.263
L-Alanyl-L-aspartic acid	0.281	0.243
L-Alanylglycine	0.280	0.255
L-Alanyl-L-glutamic acid	0.293	0.285
L-Alanyl-L-isoleucine	0.290	0.273
L-Alanyl-L-serine	0.292	0.285
L-Alanyl-L-valine	0.285	0.285
α-L-Aspartyl-L-serine	0.280	0.298
β-L-Aspartyl-L-serine	0.259	0.233
Glycyl-L-alanine	0.193	0.237
Glycyl-L-glutamic acid	0.290	0.268
Glycyl-L-leucine	0.290	0.290
Glycyl-L-proline	0.271	0.182
Glycyl-L-serine	0.305	0.290
α-L-Glutamyl-L-alanine	0.307	0.290
α-L-Glutamyl-L-aspartic acid	0.260	0.221
α-L-Glutamylglycine	0.284	0.250
α-L-Glutamyl-L-glutamic acid	0.275	0.234
γ-L-Glutamyl-L-glutamic acid	0.261	0.226
α-L-Glutamyl-L-serine	0.282	0.276
α-L-Glutamyl-L-valine	0.283	0.240
L-Leucylglycine	0.197	0.248
L-Leucyl-L-serine	0.266	0.255
L-Serylglycine	0.309	0.300
Each 40 μg/ml mixture of 24 peptides mentioned above	0.381	—
Control	0.200	0.173
1% Polypeptone	0.430	—

* at 30°C in the betaine (30 μg/ml) medium.

はさらに高い増殖を示し, *Pc. halophilus* に対して明らかな増殖促進効果を示した.

Table 3 に glutamic acid containing peptide (表中, Mixture G) および aspartic acid containing peptide を中心とした dipeptide 混合物 (表中, Mixture H) の増殖促進効果を示した.

表のように, Mixture G および Mixture H の増殖促進性は単一 peptide の示すいずれの効果よりも高く, 両 peptide 区分の混合区 (表中, Mixture G+H) の増殖促進効果はさらに高くなった. また peptide の混合補足は低濃度においても比較的高い増殖促進効果を示した.

ひき続き単一 peptide あるいは混合 peptide の増殖促進性を増殖曲線から比較した (Fig. 2).

供試した 7 種の peptide はいずれも対照(図中B)よりも lag phase を短縮し, 最終の増殖度を高め, 特に Ala-Val, Gly-Ser, Ser-Gly の作用は顕著であった. Peptide 混合物 (図中, M-1, M-2) の作用は低濃度においても初期の増殖速度あるいは最終の増殖度も高め, さらに明瞭な促進効果を示した. しかしながら, Fig. 1, Tables 1, 3 の結果も同様であるが, peptide 混合物の示す促進性は polypeptone の作用より弱いものであった. これらの事実は growth factor としての特定の peptide が存在しなくても, *Pc. halophilus* は微弱な促進作用を示す多くの peptide を利用して顕著に増殖することを示し, また, その増殖は促進的に作用する個々の

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

Table 2. Optimal concentration of peptide on growth of *Pc. halophilus*.

	Addition (μg/ml)			
	50	100	500	1000
L-Alanyl-L-aspartic acid	0.240	0.235	0.234	0.226
L-Alanyl-L-valine	0.263	0.280	0.285	0.290
L-Glycyl-L-serine	0.265	0.276	0.250	0.187
α-L-Glutamyl-L-alanine	0.255	0.272	0.272	0.278
α-L-Glutamylglycine	0.258	0.276	0.272	0.265
α-L-Glutamyl-L-valine	0.249	0.250	0.247	0.225
L-Serylglycine	0.244	0.252	0.178	0.137
Mixture the above 7 peptides*	0.330	—	—	—
Control (betaine medium)	0.215			
Synthetic medium	0.075			

Incubation was performed in betaine (30 μg/ml) medium at 30°C for 6 days.
* each 50 μg/ml.

Table 3. Effect of the synthetic dipeptides and their mixtures on growth of *Pc. halophilus*.

	Addition (μg/ml)		
	25	50	100
α-L-Glutamyl-L-leucine	—	0.255	0.265
α-L-Glutamyl-L-valine	—	0.273	0.266
L-Alanyl-L-aspartic acid	—	0.253	0.255
Glycyl-L-serine	—	0.254	0.289
L-Serylglycine	—	0.289	0.287
Mixture G*	0.290	0.320	—
Mixture H**	0.315	0.321	—
Mixture G+H***	0.358	0.361	—
Control	0.23		
1% Polypeptone	0.46		

Incubation was done in betaine (30 μg/ml) medium at 30°C for 6 days.
* Mixture G: 25 or 50 μg/ml each of Glu-Asp, Glu-Ala, Glu-Asn, Glu-Gly, Glu-Glu, Glu-Val, Glu-Leu, γ-Glu-Glu, Ala-Glu and Gly-Glu.
** Mixture H: 25 or 50 μg/ml each of Asp-Ser, Asp-Thr, β-Asp-Ser, β-Asp-Thr, Gly-Asp, Ala-Asp, Gly-Ser, Gly-Pro, Ser-Gly, Lys-Gly and Lys-Asp.
*** Mixture G+H: 25 or 50 μg/ml each of the above 21 peptides.

peptide の濃度を高めるよりも peptide の種類を多くする方が有効であることを示す．同時に polypeptone には促進的に作用する peptide が多種存在することを示唆する．

Dipeptide と豆みその低分子 peptide 区分の示す増殖促進性の比較

豆みその低分子篩区分 (X–16) と X–16 から B-fr. (塩基性物質区分) を除去した P-fr.* と P-fr. を精製した G–P* 区分の増殖促進性を dipeptide 混合物の作用と比較した (Fig. 3).

図のように，X–16 の 1%相当濃度で実施した 3 区

* P-fr.: Amberlite IRA–402 (OH^-) に吸着する X–16 の両性物質 (peptidic substance).
* G–P: P-fr. 中のアミノ酸を Sephadex G–15 で除いた豆みその低分子 peptide 区分.

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

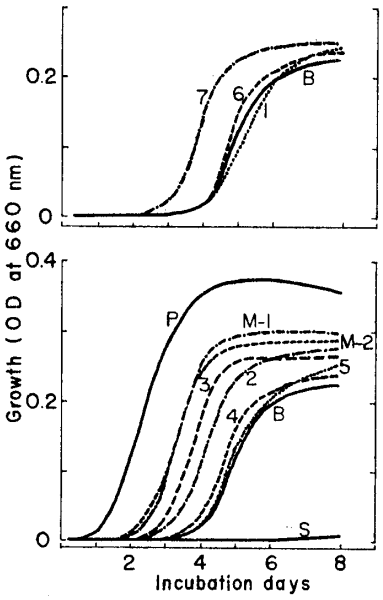

Fig. 2. Growth curves of *Pc. halophilus* in medium supplemented with synthetic dipeptides and their mixtures.

Incubation was done in betaine (30 μg/ml) medium with addition of 100 μg/ml of dipeptide.

S: Synthetic medium, B: Betaine (30 μg/ml) medium, P: Betaine (30 μg/ml) medium supplemented with 1% polypeptone.

1: Ala-Asp, 2: Ala-Val, 3: Gly-Ser, 4: Glu-Ala, 5: Glu-Gly, 6: Glu-Val, 7: Ser-Gly.

M-1, M-2: 100 μg/ml mixture (M-1), 50 μg/ml mixture (M-2) of each of the above 7 peptides.

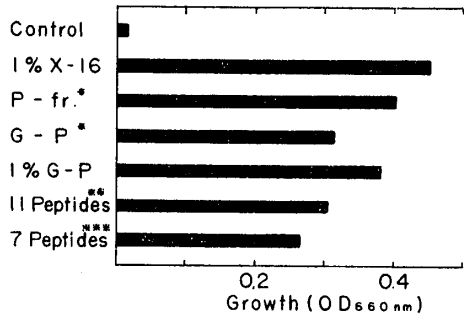

Fig. 3. Comparison of growth promotion of X-16 and its subfractions with that of the synthetic dipeptide mixture.

After incubation in betaine (30 μg/ml) medium at 30°C for 4 days, growth was determined by reading OD at 660 nm.

X-16[5]: The low molecular sieve fraction of soybean *miso* prepared by adsorption on Dowex 50-X16 (H^+ form).

P-fr.[1]: The amphoteric substance prepared from X-16 by removing a basic substance (B-fr.) on Amberlite IRA-402 (OH^- form).

G-P[3,4]: The low molecular weight peptide fraction prepared from P-fr. by gelfiltration on Sephadex G-15.

*Supplement of these fractions was made at a concentration of 1% equivalent of X-16, that is, P-fr. was at 0.93%, G-P at 0.29% (w/v) on dry basis.

**50 μg/ml each of Ala-Asp, Ala-Glu, Ala-Val, Gly-Glu, Gly-Leu, Gly-Ser, Glu-Glu, Glu-Ala, Glu-Ser, Ser-Gly and Leu-Ser.

***100 μg/ml each of Ala-Ala, Ala-Glu, Ala-Val, Glu-Ala, Gly-Glu, Gly-Leu and Val-Leu.

分の増殖促進性は X-16>P-fr.>G-P の順に弱くなった. すなわち, B-fr. に移行した未確認の塩基性 peptide,[2] さらに P-fr. 中の増殖促進作用を示す2画分[3]中に存在する peptide の除去によって, X-16 の顕著な増殖促進性が順次に弱まったことを示す. また G-P の濃度を1%に高めても, その増殖促進性は1% X-16 に相当する P-fr. の作用よりも弱いものであった. これらのことは, *Pc. halophilus* が非常に多種な低分子の peptide を利用し, 高度に増殖することを示し, かつ特定の peptide の濃度を高めるよりも多種な peptide を与える方が本菌の増殖により有効であるという前項の事実を裏付ける.

また peptide 混合物の増殖促進性も, 図のように, 高濃度 (100 μg/ml) の7種の dipeptide よりも低濃度 (50 μg/ml) の11種の dipeptide の補足の方がより顕著であった. これらの事実から, 非常に多種な peptide で構成される豆みその低分子 peptide (100こ以上)[4]の示す *Pc. halophilus* に対する顕著な増殖促進性は十分に説明し得る.

Pc. halophilus の増殖抑制 peptide

Fig. 1 で, *Pc. halophilus* の増殖を阻止あるいは抑制した4種の peptide の betaine 培地における増殖阻害曲線を Fig. 4 に示した.

図のように, 3種の histidylpeptide は 15 μg/ml の濃度で *Pc. halophilus* の増殖を顕著に抑制し, 50 μg/ml の濃度でほぼ完全に阻止した. Tyr-Tyr は 50 μg/ml の濃度でほぼ50%の増殖抑制を示し, 100～500 μg/ml の範囲で完全に阻止するものと考えられる. これらの peptide は *Pc. halophilus* が高度な増殖を示す polypeptone と betaine の併用培地においても同様に顕著な増殖抑制作用を示した (Fig. 5). しかし, 併用培地では, betaine 培地のほぼ10倍量を必要とし, 1,000 μg/ml の濃度でも *Pc. halophilus* の増殖を完全に阻止することはできなかった. Peptide の示す増殖阻害機構は不明であるが, Fig. 6 のように, peptide を構成する

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

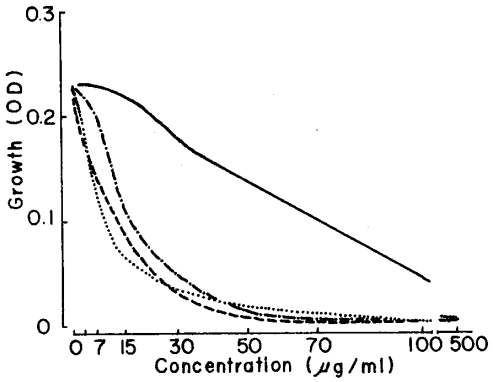

Fig. 4. Growth inhibition curves of peptides on *Pc. halophilus* in the betaine medium.
Incubation was performed in the betaine (30 μg/ml) medium at 30°C for 7 days.
His-His: His-His acetate dihydrate.
—— Tyr-Tyr
-・- His-His
--- His-Tyr
····· His-Phe

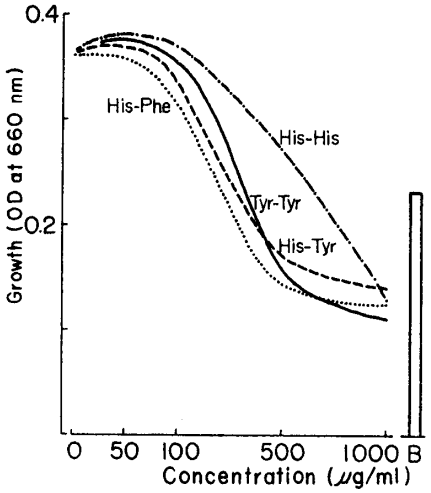

Fig. 5. Growth inhibition curves of peptides on *Pc. halophilus* in the polypeptone medium.
Incubation was performed in betaine (30 μg/ml) medium supplemented with 1% poly peptone, at 30°C for 7 days.
B: Betaine (30 μg/ml) medium.
His-His: His-His acetate dihydrate.

アミノ酸の補足濃度を高めても *Pc. halophilus* の増殖阻害は特に認められなかった．従って，これらの peptide は peptide の形態で阻害作用を示す．

Peptide による *Pc. halophilus* の増殖抑制は peptide の増殖促進作用と併せて充分考慮しなければならない．しかし，これらの peptide は *Aspergillus oryzae* の protease 系の作用性[6,7] あるいはチロシン，ヒスチジン，フェニールアラニンは豆みそ中で最も微量に存在する peptide 構成アミノ酸[8,9] であることなどから，豆みそには極微量にしか存在しないものと考えられ，その作用は無視できる．

要　　約

Betaine 共存下における59種の dipeptide の *Pc. halophilus* に対する作用性を試験した．

1. 多くの dipeptide (約24種) は *Pc. halophilus* の増殖に促進的に作用したが，その効果は一般的に微弱であった．しかし，glycyl-L-serine, L-serylglycine, L-alanyl-L-valine は比較的に高い促進性を示した．

2. 微弱な促進作用を示す dipeptide の混合物は増殖の lag phase を短縮し，増殖度も高め，明らかな促

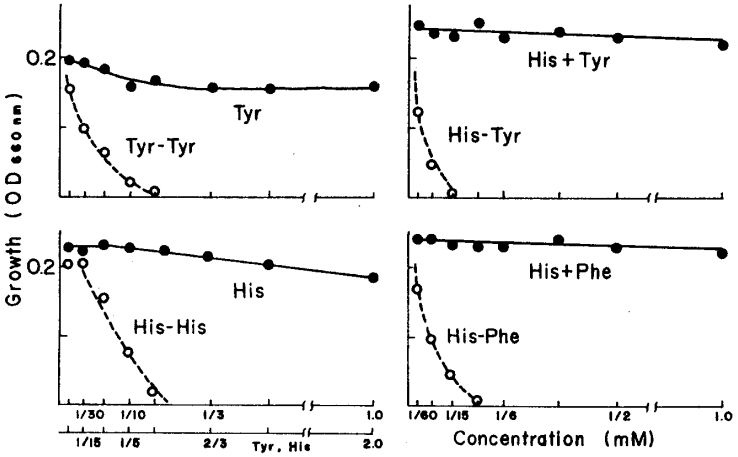

Fig. 6. Comparison of growth inhibitory effect of peptides with that of their component amino acids.
After incubation in betaine (30 μg/ml) medium at 30°C for 7 days, growth of *Pc. halophilus* was determined by reading OD at 660 nm.

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

進効果を示した．また混合する peptide の種類を増すことによって，増殖促進効果はさらに高くなった．

3. 豆みその低分子画区分の増殖促進効果はイオン交換樹脂, Sephadex 処理などによって, 部分的に peptide が除かれると弱くなった．

4. 上述の結果から，豆みその低分子 peptide による *Pc. halophilus* の増殖促進性は微弱な促進作用を持った多種な peptide の協同的な効果によると結論した．

5. L-Histidyl-L-histidine, L-histidyl-L-tyrosine, L-histidyl-L-phenylalanine は 50 μg/ml で，L-tyrosyl-L-tyrosine は 100 μg/ml 以上の濃度で *Pc. halophilus* の増殖を阻止した．しかし, これらの peptide は *Aspergillus oryzae* の protease 系によって分解され易いので，みそ，しょう油中での作用は無視できると考察した．

終りに，本研究について御懇篤なる御指導を賜わり，貴重な標品をも賜わりました北海道大学農学部教授 坂村貞雄先生に衷心より感謝致します．また適切な御教示を戴きました北海道大学農学部教授 高尾彰一先生，同教授 伊沢正夫先生に深謝致します．また終始御懇篤なる御指導と御誘掖をいただきました岐阜大学農学部教授 恩師友枝幹夫先生ならびに当所の後藤富士雄所長，好井久雄発酵食品部長に深謝します．また貴重な標品を賜わり御助言をいただきました広島大学工学部教授 岡智先生に厚く御礼を申し上げます．

なお，本報告の概要は昭和49年度日本醗酵工学会大会において発表した．

文　　献

1) 竹内，好井：醗工，**51**，170 (1973).
2) 竹内：醗工，**53**，1 (1975).
3) 竹内：醗工，**54**，143 (1976).
4) Takeuchi, T.: *J. Ferment. Technol.* **52**, 256 (1974).
5) 竹内，吉田，好井：醗工，**47**，496 (1969).
6) Hayashi, K., Terada, M.: *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 1755 (1972).
7) Nakadai, T., Nasuno, S., Iguchi, N.: *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 1343, 1474, 1481 (1972), **37**, 1237 (1973).
8) 竹内，細川，吉田：醗工，**50**，21 (1972).
9) 竹内，横尾：醗工，**52**，58 (1974).

(昭50. 10. 17受付)

NII-Electronic Library Service