ビールの機能性—I. 風味と香り(2)

高橋 豊三

乾燥ビール酵母のビタミンとミネラル

酵母は、ビタミンB群のビタミンを豊富に含んでいることから、ヒトや動物に対してビタミンB群の優れた栄養源として活用することができる(第5表)。ビタミンB複合体とは、ポルフィリン-スクレオチド(B₁₂)やアミノ酸-カルボン酸(ビオチンやパントテン酸)などのようなピリジン、プリン、ならびにピリミジン(B₁, B₂, B₆, ナイアシン, 葉酸)複合体の誘導体で、水溶性の物質群に対して与えられた呼称である。実際に乾燥酵母は、ヒトのビタミン栄養補強剤として用いられている。これらの乾燥酵母製品のなかには、しばしば錠剤製造者の要求で、B₁₂やB₂,ならびにナイアシンなどのようなビタミンを強化したものもある。ビタミンA, E, K, Dのような脂溶性ビタミンとか、ビタミンCやビタミンB₁₂に関しては、酵母は栄養的に

貢献することが知られていない。にもかかわらず、酵母によって産生されたエルゴステロールのような、いくつかのステロール類は、紫外線照射するとビタミンD₂(カルシフェロール)に転換されることが知られている(第5図)。

乾燥酵母のミネラル、すなわち灰分は、乾燥固形分の約8%(g/w)に相当する。酵母の主要なミネラルは、カリウムとリンで、そのほか低レベルのカルシウムやマグネシウム、それにイオウが含まれている。1日に20gの乾燥酵母を摂取したとすると、平均的な食事の残りの部分でまかなわなければならないミネラル量は、ほとんど十分といえるかもしれない。最近の研究

第5表 栄養酵母製品のビタミン組成

ビタミン	乾燥酵母 ^a μg/g
Thiamine (B ₁)	120
Riboflavin (B ₂)	40
Niacin	300
Pyridoxine (B ₆)	28
Pantothenic acid	70
Biotin	1.3
Folic acid	13
Vitamin (B ₁₂)	0.001

a 製品によってビタミン含量は異なる。この組成は、国際食品K.K. (Universal Foods Corporation) が販売している乾燥酵母製品のビタミン組成と含量である。

第5図 紫外線照射によるステロール類のビタミンDへの変換

プロビタミンDであるエルゴステリンは、紫外線照射でビタミンDとなる。皮膚の下にあるデヒドロコレステリンも紫外線でビタミンDに変わる。

では、酵母に含まれるセレンやクロミウム、モリブデン、あるいは亜鉛などのような微量元素の重要性が認められ、ヒトや動物の栄養にこれらのミネラルが必須であることが、しっかりと認識されるようになった。

ヒトの異常なグルコース負荷に対処する場合に、醸造酵母を補充することが効率のよい改善策であることが多くの動物実験による試みで証明されている⁴⁾。その後、この醸造酵母の活性成分は、3 価のクロミウム複合体であることが分かり、耐糖能因子 (glucose tolerance factor ; GTF) と命名された。In vitro の実験で、GTF には脂肪組織や筋肉内でインシュリンを介したグルコースの吸収と利用を促進する作用のあることが分かった。In vitro で観察されたこの GTF の効果は、マウスが血中のグルコースレベルを低下させるメカニズムを示唆している⁵⁾。

食事におけるセレンの重要性に関する認識も過去数年間にわたって深まっている。実験動物を用いた研究で、毎回セレンを補充した食餌を与えると、ある種のタイプの腫瘍の形成を妨げられることが分かった。有機的に結合したセレンがヒトの栄養に大切なことも示されている。セレン化合物を栄養物として含有させた培地に、ある種の食品酵母を増殖させ、酵母製品を食品レベルで生産させようとする試みも行われている。このようにすると、有機的に結合したセレン化合物が酵母細胞内に貯蓄され、摂取可能なセレン化合物を高レベルに含んだ酵母が得られるからである。無機化合物の形でセレン食品を添加すると、一般に毒性を示してしまうことが多いが、このような栄養酵母製品は、そういうことなしに哺乳類にとって効率のよいセレン供給源となる可能性を十分に秘めている。

酵母の脂質

脂肪は、エネルギーを濃縮した形で包含しており (9 cal/g)、体内の様々な代謝活性に重要な役割を果たしている。食事中に脂肪が重要であることを最初に発見したのは、Burr and Burr (1929)⁶⁾ である。その後、 ω -3 脂肪酸や ω -6 脂肪酸のような高級不飽和脂肪酸がヒトの健康に必須であることが報告された⁷⁾⁻¹¹⁾。ヒトの身体は、これらの脂肪酸を合成することができないので、体外から摂取しなければならない。長鎖の ω -3 脂肪酸 ($C_{18:1}$, $C_{20:1}$, $C_{20:5}$, $C_{22:5}$, ならびに $C_{22:6}$) は、 α -リノレン酸 ($C_{18:3}$) の不飽和によって形成され

るが、リノール酸 ($C_{18:2}$) は、 ω -6 脂肪酸 ($C_{18:3}$, $C_{20:3}$, $C_{20:4}$, $C_{22:4}$, ならびに $C_{22:5}$) に対する前駆体として作用する。ふつう、高脂肪食を過剰に摂ると肥満となり、ある場合には、冠状動脈硬化症やある種のガンになる¹²⁾。すでに ω -3 脂肪酸は、トロンボキサン B3, トロンボキサン A3, プロスタグランジン E3, プロスタグランジン I3, およびロイコトリエンなどの多くの必須化合物を体内で合成する場合の前駆体として作用していることが知られている。

また、これらの物質は、免疫機能や血小板の機能に関して重要な生理学的影響をもたらしている。市販の乾燥酵母製品 (*S. cerevisiae* やトルラ酵母として知られている *C. utilis* など) は、タンパク質やビタミン、ミネラルに関しては、その成分含量について注目されるが、脂質に関しては古くからほとんど重要視されていないのが実状である¹³⁾。このように *S. cerevisiae* や *C. utilis* などの酵母は、他の酵母と比べると、必須脂肪酸含量が少ないが、それでもかなりの量の脂肪酸を含んでいる (第 6 表)。 ω -3 脂肪酸や ω -6 脂肪酸が欠乏すると、脳や心臓、あるいは網膜や肝臓、皮膚などに多くの病的症状を起し、生殖系に不全をきたすことが知られている¹⁰⁾。急性の欠乏症の場合には、食品を介して脂肪乳液を投与したり、あるいは静注することによって回復させることができる¹⁴⁾。

必須脂肪酸は、われわれが日常食べている野菜や肉、魚介類などから供給される。海産性の脂質 (例えば魚油) は、 ω -3 脂肪酸や ω -6 脂肪酸の主要な供給源である。 γ -リノレン酸 (ω -6 脂肪酸) は、ふつうメマツヨイグサ (*Oenothera biennis*) やルリヂサ (*Borago officinalis*; ヨーロッパ産のムラサキ科の植物)、あるいはユキノシタ科のスグリ属の植物 (例えばスグリ; *Ribes grossularioides*) から抽出される。*Mortierella* 属や *Mucor* 属に所属しているある種の糸状菌も ω -3 脂肪酸と ω -6 脂肪酸を産生する。酵母に関しては、このような脂肪酸を産生することが知られていなかった。ヒトの血漿中で重要な ω -3 脂肪酸は、 α -リノレン酸 ($C_{18:3}$) とその誘導体であるエイコサペンタエン酸 (eicosapentaenoic acid) とドコサヘキサエン酸 (docosa-hexaenoic acid) である¹⁵⁾。概して、リノール酸含量は、リノレン酸含量よりも高い。リノレン酸は、ある酵母では欠失している。*Leucosporidium* の菌株は、総不飽和脂肪酸の 80.23~87.35% としてこれら

第6表 各種酵母の脂肪酸含量

各種酵母菌	脂 肪 酸 (%)		総パーセンテージ	
	リノール酸(A)	リノレン酸(B)	A & B ^a	C ^b
<i>Debaromyces castellii</i>	33.7	0.4	43.16	21
<i>D. hansenii</i>	23.2	17.8	48.92	16.2
<i>Hansenula anomala</i>	40.8	4.9	53.13	14
<i>H. anomala</i>	42.8	19.2	73.63	15.8
<i>H. polymorpha</i>	43.4	0.5	59.48	26.2
<i>Lipomyces kononenkoae</i>	25.7	8.2	46.95	28.8
<i>Metschnikowia lunata</i>	49.5	微量	61.95	20.1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	28.7	—	35.96	20.2
<i>S. fibuligera</i>	44.8	0.8	59.14	33.9
<i>Torulospora delbrueckii</i>	42.7	—	47.49	20.1
<i>Yarrowia lipolytica</i>	34.8	—	59.79	47.8
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	43.2	—	51.30	15.8
<i>Rhodotorula glutinis</i>	49	3	65	20
<i>Yarrowia lipolytica</i>	51	1	60.46	14
<i>Brettanomyces anomalus</i>	33.7	0.4	43.16	31
<i>Candida albicans</i>	26.8	19.8	60.9	23.6
<i>C. albicans</i>	33.5	24.7	77.8	25.2
<i>C. guilliermondii</i>	39.1	3.6	51.13	16.5
<i>C. humicola</i>	61.3	微量	71.52	14.3
<i>C. kefyi</i>	36.1	14.9	62.42	19.3
<i>C. kefyi</i>	31.9	16.7	57.17	15
<i>C. rugosa</i>	48.5	nil	57.8	16.1
<i>C. sake</i>	33.8	10.8	51.98	14.2
<i>C. tropicalis</i>	32.8	—	50.53	35.1
<i>C. utilis</i>	54.1	13.8	79.69	14.8
<i>Cryptococcus aler</i>	48.7	9.9	74.17	21
<i>Leucosporidium frigidum</i>	40	33	84.61	9
<i>L. frigidum</i>	25	51	87.35	13
<i>L. nivalis</i>	42	27	80.23	14
<i>R. glutinis</i>	53.1	—	62.69	15.3
<i>R. gracilis</i>	34	18	65	20

a) 総不飽和脂肪酸量に基づいて計算した (リノール酸+リノレン酸) のパーセンテージ

$$A \text{ \& B}^a = \frac{\text{リノール酸量(A)} + \text{リノレン酸量(B)}}{\text{不飽和脂肪酸の総量}} \times 100 (\%)$$

b) 総脂肪酸量に対する飽和脂肪酸量のパーセンテージ

の脂肪酸を含んでいるが, *S. cerevisiae* は, 35.96%しか含んでいない(第6表)。しかし, 酵母由来のリノール酸とリノレン酸が, ヒトの体内でどのように代謝され, 実際にどのように利用されるのか, 詳しいことはまだ分かっていない。このような脂肪酸を摂取すると, それらは体内の代謝に必要な長鎖必須脂肪酸の合成のための前駆体として作用することが示唆されている。バイオテクノロジーを駆使して, 重要な必須脂肪酸をもっとたくさん産生するように *S. cerevisiae* の酵母菌株を改善することも十分に可能である。

最近の進歩

過去数年間にわたって, 醸造産業は発酵に使用する醸造酵母を選択決定するようになったあたりから, 徐々に進歩を遂げてきた。しかしながら, 醸造産業が, 酵母の遺伝や技術工程の開発に乗り出し, その数々の進歩によって技術的な改革に証言をしたのは, わずかここ 20~30 年の間のことである。それらの進歩にもかかわらず, 醸造産業に適用された新しい技術は, 比較的わずかの広がりしか見せていない。これに対して, 製造工程における機械化やその他の改善は, 一定時間

第6図 M₁-dsRNA の構造模式図

β トキシン、 γ 免疫タンパク質ならびに δ トキシンの三つの成分をコードしているプレプロトキシン遺伝子は、先導塩基配列も含めて、上側の(+)鎖の塩基 14 から塩基 964 までの領域である。この遺伝子のほとんどを含む cDNA の制限部位(塩基 111 から塩基 1,140)も制限酵素名で上側に示した。

AU に富んだ変性バブルは、ma 部分鎖転写物の終始部位である。

ER は、小胞体 (Endoplasmic reticulum) の略である。

により速く、より多くの処理ができるように改善されたもので、生産性の向上につながった。

醸造家は、過去数年間にわたって、製品の品質に悪影響を与えずに、しかも低コストで醸造発酵ができるように力を注いできた。最近、注目を浴びているアプローチは、高比重醸造法である。従来の醸造条件下では、発酵させる麦汁の発酵性の糖の濃度は、約 9~12% である。エタノールや浸透圧は、発酵している酵母に影響を与えるが、その影響は、このような条件下では最も少ないと考えられる。高比重醸造法は、一般の濃度よりも高い濃度の麦汁を利用する。しかし、従来の条件と同じ条件下で行ったために、しばしば高比重発酵法は、味感の異なったビールを産んでしまった。

高比重の麦汁は、アルコール度が高く、エタノールによるアルコール発酵の阻害効果は、よく知られた現象である¹⁶⁾。引き続いて行われた研究によって、高比重発酵におけるエタノールと浸透圧に起因する二重阻害効果が示唆された。

つまり、高比重発酵においては、発酵が進展するにつれてエタノールと浸透圧(残渣固形分による)の二重阻害効果が増大して、発酵中の酵母にマイナスの影響を発揮するのである。この二重阻害効果が、ある臨界値を越えると、発酵速度はしだいにゼロに近づいていく傾向がある。しかし、酵母が悪条件によってひどく影響を受けないうちに、発酵過程の適切な段階で希釈ステップを導入することによって発酵活性の回復をはかることができる¹⁷⁾。

この方法で生産されたビールは、従来の方法で生産

された一般ビールと風味、香り、泡の安定性の点でほとんど同じと判断された。ビールの企業生産における連続発酵の活用は、数カ国において研究されている。この技術によって生産されたビールは、官能検査による性質に変動が多いために、これらの試みのほとんどは、必ずしもうまくはいっていない。最近、全く新しい展望から再び連続発酵法が研究されている。そのアプローチは、連続発酵の技術を第一次発酵にのみ適用するものである。従来の技術は、第二次発酵工程や貯蔵工程、ならびに後発酵工程に踏襲されている。しかし、実際に重要視しなければならないことは、この工程操作中の酵母菌株の純度にある。遺伝的に適切に作り上げた酵母菌株を使用することによって貯蔵ステップを削除する試みも行われている。

正常なアルコール含量で、従来よりずっとカロリーが低いビールの生産に関しても数種の方法が報告されている。これらの方法は、真菌のグルコアミラーゼのような酵素を使用して、ビールのカロリー量のもととなっているデキストリン含量を低くするものである。デキストリンを発酵することができる醸造酵母菌株を作り出す努力もなされている。プロトプラスト融合技術や形質転換技術による醸造酵母菌株の遺伝子操作が今日では非常に役に立っている¹⁸⁻²²⁾。

現在、様々な酵素がいろいろな工程段階を促進するものと評価されつつある。このような試みの一つに、大麦を直接的に醸造用の基質として使用することができるよう麦芽製造工程を省略しようとする試みがある。アミラーゼやアミログルコシダーゼ、あるいはブ

第7図 キラー酵母が産生するキラー毒素前駆体とキラー毒素

ロテアーゼなどのように細菌や真菌の酵素が現在、評価の対象となっている。今年(1999年)は、副原料を全く使用しないで発酵生産したビールだとか、従来の大麦の代わりに小麦を原材料としてつくったビールの宣伝がラジオやテレビで盛んに行われている。

醸造発酵において、ある種の野生酵母の細胞質内にウイルスに似た構造でカプセルに包まれた二本鎖RNA(dsRNA; double stranded RNA)の粒子が発見された(第6図)。これらの野生酵母によって醸造発酵が汚染されると、醸造用の酵母菌株が消失して、その結果、醸造酵母菌株が野生酵母によって置き換えられてしまう。これは野生酵母のキラー活性によるものである(第7図)。酵母の中には、ある種の毒素タンパク質を菌体外に分泌して同種ならびに異種の酵母を死滅させる一群の株がある(第8図)。このような酵母菌株をキラー酵母と呼び、殺される方感受性酵母(sensitive yeast)と呼んでいる。キラー酵母は、自己の産生する毒素に対して免疫性があり、死なないが、別のタイプのキラー毒素に対しては感受性を示す。酵母のキラー現象は、プラスミド支配のものがよく知られているが(キラープラスミド; killer plasmid)、核遺伝子支配のキラー株も分離されている。*S. cerevisiae* キラー株の細胞質には、2種類の直鎖状2本鎖RNAプラスミド、すなわち、M dsRNA(1.9~1.3 kb)とL dsRNA(4.9 kb)と呼ばれているプラスミドが含まれている。それぞれ直径約40 nmのウイルス様粒子(VLP; virus like particle)として存在し、M dsRNAには毒素産生遺伝子が、またL dsRNAにはVLPの外被タンパク質の産生を支配する遺伝子がのっている。感受性株はM dsRNAをもたないが、その多くはL dsRNAを含んでいる(第7表)。細胞内でのM

dsRNAの複製維持には、VLP外被タンパク質をつくるL dsRNAのほかに、約30個にも及ぶ多数の核遺伝子(MAK 1, MAK 3~28, SPE 2, SPE 10, PET 18など)が必要とされているが、それらの中にはMAK 1(DNAトポイソメラーゼI合成, MAK 8(リボソームタンパク質L3を合成), SPE 2(ポリアミン類の合成), SPE 10(ポリアミン類の合成), PET 18(ミトコンドリアDNAの維持)など、細胞の基本的な生物機能に重要な役割を果たしている遺伝子が関与していることが注目される。

キラー毒素(killer toxin)は、第7図に示したように、分子量9.5 kDaのαトキシンスブユニットと分子量9.0 kDaのβトキシンスブユニットから成っており、M dsRNA上の遺伝子の指令下に316個のアミノ酸残基を前駆体として合成される(第6図, 第7図)。N末端側の先導部は疎水性アミノ酸に富むシグナル配列を含んでいる。αとβトキシンの間に挟まれたγ領域(免疫タンパク質)には: Asn-X-Ser/Thrの糖鎖付加部が3ヶ所に点在する。前駆体は小胞体上のリボソームでつくられ、細胞膜へと輸送され、そこでプロテアーゼで切断されて、S-S結合で結ばれたα-βトキシン複合体が細胞外に分泌される。シグナル配列とγ領域は細胞膜に残り、後者は免疫性を賦与する(第8図)。毒素は、感受性株の細胞膜受容体と結合し、細胞は、ATP, K⁺イオンの漏出を伴って死滅する。

醸造酵母菌株を操作して、それにキラー活性をもたせることには、二つの利点がある。すなわち、①これらの酵母は、関連するキラー酵母の毒素に対して免疫になる。②毒素の産生は、多くの野生酵母の増殖を妨げ、野生酵母による汚染に対して保護効果を発揮する。これを成し遂げるために、サイトダクション(cytoduc-

第8図 酵母細胞の分泌過程を介したキラー毒素前駆体の成熟²³⁾

M₁-dsRNA の部分鎖 (+鎖) の転写物が、その N 末端付近で ScV-M₁ VLP (①) から突出してリボソームと結合する。合成されたプレプロトキシンは、グリコシル化され、N 末端の δ 成分の疎水性先導配列によって小胞体分泌機構と連関する。引き続き、この δ 成分は、分泌過程の膜にプレプロトキシンをアンカーする (②)。γ セグメントのグリコシル化は小胞体で生じる (③)。この段階で KEX 1 と KEX 2 の遺伝子産物が機能するのかもしれないが、ゴルジ装置を介して通過する時に、sec 18 と sec 7 の突然変異の効果によって定義されている修飾がさらに起こるのかどうかは分かっていない (④)。TPCK で阻害することができるプロテアーゼを含めて、プレプロトキシンの断片化は、細胞膜で融合することによって S-S 結合で結合した α 毒素成分と β 毒素成分が放出される前に分泌顆粒において生じる (⑤)。γ 成分は、細胞膜にある未確定の毒素レセプターと相互作用して、細胞を免疫状態にすると想定されている (⑥)。δ 成分の運命は分かっていない (⑦)。毒素は、おそらく細胞壁の 1,6 β D-グルカンレセプターと相互作用することによって感受性細胞を攻撃するものと思われる (⑧)。α 成分との結合が切れて、α 成分が細胞膜レセプターと相互作用して、致死的な陽イオン通過性の穴をつくる。全長鎖の転写物質は、複製に伴って得られる (⑨)。もちろん、それが形成される時は、初期の dsRNA のカプシド化を伴う。

略語の説明

M₁-dsRNA：表現型 K₁⁺R₁⁺ を決定する塩基配列を一方鎖としてもつ 2 本鎖 RNA で 1.9 kb。

ScV：S. cerevisiae virus (S. cerevisiae ウイルス)

VLP：Virus-like particle (ウイルス様粒子)

sec：Secretion (分泌) に関与している遺伝子

KEX：Killer expression (キラー発現) に関与している遺伝子

TPCK：Tosyl-L-phenylalanyl chloromethyl ketone もしくは Tolylsulfonyl phenylalanyl chloromethyl ketone の略でキモトリプシン (chymotrypsin) のインヒビターもしくはキモトリプシン様プロテアーゼのインヒビターである。TPCK の lysyl 類似体として Tolylsulfonyl lysyl chloromethyl ketone がある。これはトリプシン様酵素のインヒビターである。

tion) のようなある種の遺伝子技術が考案されて成功をおさめている。しかしながら、企業の醸造発酵にこのようなキラー酵母菌株を使用した例は、ほとんど報告されていない¹⁾。

低アルコールビールやノンアルコールビールの生産にも努力が払われている。市販されているアルコー

ル・フリーのビールのほとんどは、麦汁の味が強く、品質的に劣っている。しかし、逆浸透技術と同様に、真空蒸留技術や製造工程での様々な技術が、低アルコールビールやノンアルコールビールの生産に非常に役に立っている。近年、女性をターゲットとした低アルコールビールやノンアルコールビールに加えて、果実

第7表 M dsRNA と L dsRNA

	M dsRNA	L dsRNA
RNA サイズ	1.9~1.3 kb	4.9 kb
粒子の大きさ	約 40 nm VLP*	約 40 nm VLP
遺伝子	キラー毒素産生遺伝子	外被タンパク質産生遺伝子
感受性株	—	+

* VLP：ウイルス様粒子 (virus like particle)

第8表 匂いや香りの閾値

匂いや香りの成分	匂いや香りの性質	閾値 (mg/l)
酢酸アミル	バナナ臭	0.039
酪酸	汗臭	0.009
酢酸エチル	果実臭	0.0036
硫化水素	腐敗臭	0.00018
シトラール	レモン臭	0.000003
エチルメルカプタン	腐敗キャベツ臭	0.00000066
トリニトロブチルキシレン	ジャコウ臭	0.000000075

臭を強くしたいいろいろなビールも考案されている。

臭覚の閾値 (threshold)

味やにおいは、化学物質がわれわれの舌や鼻腔内の感覚細胞を刺激して引き起こす感覚である。その刺激として感ずる量は、物質によってまちまちであり、ある量以下であれば感じないという最低量があり、この限界の量を閾値といっている。一般に臭覚の方が味覚に比べて、はるかに鋭敏で小さい閾値をもっている。味覚は ppm (100 万分の 1) の単位のものが多いが、臭覚は ppb (10 億分の 1) の単位のものが多い (第 8 表)。

文 献

- Doisy, R. J., and co-workers.: "Chromium Metabolism in Men and Biochemical Effects on Trace Elements in Human Health and Diseases," in A. S. Prasad, ed., Trace elements in Human Health and Disease, Vol. 2, Academic Press, New York, 1976.
- Mertz, W.: "Chromium Occurrence and Function in Biological systems," *Physiological Review* **49**: 163-239, 1969.
- Burr, G. O., and Burr, M. M.: A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J. Biol. Chem.*, **82**: 345-367, 1929.
- Holman, R. T.: Quantitative chemical taxonomy based upon composition of lipids. *Prog. Chem. Fats Other Lipids*, **16**: 9-29, 1978.
- Holman, R. J.: In "Essential Fatty Acids and Prostaglandins" (R. Alfin-Slate and D. Eritchevsky, eds.), Vol. 3, 1982.
- Brown, W. R., Hansen, A. E., Burr, G. O., and McQuarrie, I.: Effects of prolonged use of extremely low fat diet on adult human subject. *J. Nutr.*, **16**: 511-524, 1938.
- Connor, W. E., Neuringer, M., and Reisbick, S.: Essential fatty acids: the importance of n-3 fatty acids in the retina and brain. *Nutr. Rev.*, **50** (4, Pt 2): 21-29, 1992.
- Drevon, C. A.: Marine oils and their effects. *Nutr. Rev.*, **50** (4, Pt 2): 38-45, 1992.
- Leibel, R. L.: Fat as fuel and metabolic signal. *Nutr. Rev.*, **50** (4; part 2): 12-16, 1992.
- Osol, A., Pratt, R., eds.: "The United States Dispensatory", 27 th ed., p. 1254., Lippincott, Philadelphia., 1973.
- Kirby, R. R.: In "Critical Care" (J. M. Civetta, R. W. Taylor, and R. R. Kirby, eds), 2 nd ed., p. 559, Lippincott, Philadelphia., 1992.
- Katan, M. B., van Birgelen, A., Deslypere, J. P., Penders, Y., and van Staveren, T. A.: Biological markers of dietary intake, with emphasis on fatty acids. *Ann. Nutr. Metab.*,

- 35 (5) : 249-259, 1991. 1
- 16) Nagdawithana, T. W., and E. Steinkraus. "Influence of the Rate of Ethanol Production and Accumulation on the Viability of *Saccharomyces cerevisiae* in Rapid Fermentations", *Environmental Microbiology* **31** : 158-162, 1976.
- 17) Nagodawithana, T. W. and Cuzner, J. M. : "Mtehod of Fermenting Brewer's Wort" , U. S. Patent 4, 140, 799, 1979.
- 18) Stewart, G. G. : "The Place of Yeast in Biotechnology", *Indian Journal of Microbiology* **21** : 171-210, 1981.
- 19) Hirachi, Y., Takahashi, T., Kurono, M., and Kotani, S. : Further evidence of polyethylene glycol-induced cell fusion of *Staphylococcus aureus* L-form. *Biken Journal*, **27** : 26-31, 1984.
- 20) Takahashi, T., and Okuda, K. : Biological significance of bacterial L-forms. *Yokohama Medical Bulletin*, **34** : 135-157, 1983.
- 21) 高橋豊三 : DNA プローブ〜技術と応用〜, シーエムシー出版, pp. 1-407, 東京, 1988.
- 22) 高橋豊三 : DNA プローブ II, 〜新技術と新展開〜, シーエムシー出版, pp. 1-397, 東京, 1990.
- 23) Tipper, D. J., and Bostian, K. A. : Double-stranded ribonucleic acid killer systems in yeasts. *Microbiol. Rev.*, **48** (2) : 125-156, 1984.
-