

有色素米を基質とした麴の酵素活性と抗酸化活性

福田 翼^{1†}, 吉山 慧², 古下 学¹, 芝 恒男¹, 原田和樹¹

Enzyme and Antioxidant Activities of Koji Prepared with Pigmented Rice

Tsubasa Fukuda, Akira Yoshiyama, Manabu Furushita, Tsuneo Shiba
and Kazuki Harada

Abstract : Pigmented rice is the rice grain having red, black, or green color in its outer covering layers. Koji is a culture product of filamentous fungi on cereal, and has been widely used for fermenting various foods and beverages in East-Asia. We investigated whether these pigmented rices could be used as a substrate for *Aspergillus* strains and *Rhizopus* strain to produce koji. The glucoamylase activities of the bara-koji from the pigmented rices were lower than that from white rice. However, the acidic protease and antioxidant activities of the koji from the pigmented rices were higher than that from white rice. Therefore, the koji from the pigmented rices has a potential to create novel fermented foods.

Key words : pigmented rice, koji, enzyme activity, antioxidant activity

緒 言

有色素米は色素を含む米を指し、赤米、黒米、緑米などが知られている¹⁾。有色素米の色素には、赤米や黒米ではアントシアニンやタンニン、緑米ではクロロフィルが報告されている²⁻⁵⁾。これらの色素には高い抗酸化能が認められ²⁻⁶⁾、赤米や黒米を摂食したウサギは、動脈硬化性プラーク形成を減少させる事が報告されている⁷⁾。有色素米の色素は糠層に存在し、玄米の状態で行われている。したがって、白米の玄米と同様、食物繊維やビタミン類、ミネラルなどが豊富に含まれている。これらの研究を背景に、近年、有色素米の利用に注目が集まり、学校給食への導入⁸⁾や加工品の商品化による地域の活性化⁹⁾などが行われている。また、有色素米を利用した清酒¹⁰⁻¹³⁾、リキュール¹⁴⁾、食酢¹⁵⁾などの発酵食品も開発され、商品化されている。

麴は、穀物に糸状菌を増殖させたアジア地域の伝統的な発酵物である。使用される糸状菌には、日本では

*Aspergillus*属菌、中国や韓国では*Rhizopus*属菌や*Mucor*属菌などが知られている。日本の麴は蒸した精白米や小麦に糸状菌を増殖させたもので、糸状菌が生産するアミラーゼやプロテアーゼを多く含み、清酒、醤油、味噌などの発酵食品に利用されている¹⁶⁾。同様に、伝統的な水産発酵食品であるさけいずしやかぶらずしは、麴に魚肉を漬け込んで製造されている¹⁷⁾。しかしながら、有色素米を使った麴作りはこれまで殆どないので、有色素米による麴を利用すれば、新たな水産発酵食品の創生が可能である。

一般に、*Aspergillus*属菌を用いて玄米を発酵基質とした麴は、酵素活性が低いので、麴作りには精白米が利用されている¹⁸⁾。したがって、玄米である有色素米を基質として利用しようとする、別途抽出した酵素を添加する必要があった¹⁰⁻¹⁵⁾。一方、*Rhizopus*属菌は、玄米上で*Aspergillus*属菌よりも盛んに増殖し、酸性プロテアーゼ活性が高くなるが¹⁹⁾、*Rhizopus*属菌よりも精白米を用いた*Aspergillus*属菌による麴の方が酸性プロテアーゼ活性やグルコアミラーゼ活性が高いので¹⁹⁾、専ら精白米と*Aspergillus*属菌が用い

¹水産大学校食品科学科 (Department of Food Science and Technology, National Fisheries University)

²水産大学校水産学研究科生 (Graduate student, National Fisheries University)

〒759-6595 山口県下関市永田本町2-7-1 (2-7-1 Nagata-Honmachi, Shimonoseki 759-6595, Japan)

[†]別刷り請求先 (corresponding author): tsubasa@fish-u.ac.jp

られている。したがって、*Aspergillus*属菌や*Rhizopus*属菌と有色素米を使用した麴の利用報告はなく、酵素活性や抗酸化活性を測定した報告もない。

本論文では、赤米、黒米、緑米を対象とし、*Aspergillus*属菌および*Rhizopus*属菌による麴を作製した。さらに、麴に含まれる重要な酵素であるグルコアミラーゼ活性、酸性プロテアーゼ活性、中性プロテアーゼ活性および抗酸化活性を測定した。一般的な麴の発酵基質として利用される精白米と比較し、有色素米を発酵基質とした麴の有用性を明らかにした。

実験方法

1. 試料

有色素米は、市販品の赤米（大分県産）、黒米（大分県産）および緑米（大分県産）の玄米を使用した。また、精白米（岡山県産）は精米機により精白したものを使用した。

2. 使用菌株

糸状菌には、研究室で所有している*Aspergillus oryzae* K株、*Aspergillus oryzae* S株、*Aspergillus awamori* AOK1597株および*Rhizopus cohnii* P5株を使用した。菌株をPDA（Poteto Dextrose Agar, 日水製薬株式会社製）斜面培地で、30℃で7日間培養して胞子を形成させ、このPDA斜面培地に滅菌生理食塩水を9 mL添加して胞子懸濁液を調整した。

3. 製麴法

水道水を用いて研いだ各有色素米および精白米を2倍量の水道水に浸漬し、4℃で24時間保存した。これをステンレス製ザルに移し、4℃にて3時間水切りを行った。水切り後、指で軽く押しつぶせるまで蒸し、送風機を使用し、適宜、滅菌手袋で蒸気を逃がしながら、約40℃にまで冷却した。300 mL容の滅菌三角フラスコにこれらの有色素米を100 g入れ、胞子懸濁液を1 mL添加し、30℃で赤米、黒米および緑米については120時間、精白米は48時間の培養を行った。また、胞子懸濁液を添加していないものをコントロールとした。

4. 酵素活性測定

4.1 粗酵素溶液の調製

3で製造した麴に滅菌蒸留水を加え、そのまま4℃で24時間抽出を行った。滅菌蒸留水量は、3で製造した麴重量の2倍とした。抽出終了後、濾紙（No. 2, ADVANTEC社製）にて自然濾過を行い、得られた濾液を粗酵素溶液とした。

4.2 グルコアミラーゼ活性測定

グルコアミラーゼ活性は生成するグルコース量の測定により求めた。すなわち、2% (w/v) 可溶性デンプン（和光純薬工業社製）水溶液（0.1M酢酸緩衝液, pH 4.5）1 mLに、粗酵素溶液1 mLを加え、40℃で20分間反応させた。反応終了後、10分間100℃に保温し、反応を停止させた。生成したグルコース量はGOD法²⁰⁾により測定した。すなわち、反応液（グルコースCIIテストワコー, 和光純薬工業社製）3 mLとデンプン分解液0.02 mLを混ぜて、37℃にて5分間反応させた後、505 nmにおける吸光度を測定した。酵素単位1 unitは、1分間に1 μgのグルコースを生成する酵素量とし、培養基質1 gあたりの酵素活性を酵素生産性の指標とした。

4.3 酸性プロテアーゼ活性測定

酸性プロテアーゼ活性はAnson-hemoglobin変法²¹⁾により測定した。すなわち、0.6% (w/v) ヘモグロビン（シグマ社製）水溶液（0.05 M酢酸緩衝液, pH 4.5）2.5 mLに粗酵素溶液1 mLを加え、40℃で30分間反応後、5% (w/v) トリクロロ酢酸（和光純薬工業社製）水溶液5 mLを加えて反応を停止した。この反応液を40℃で30分間放置して沈殿を形成させた後、濾紙（No. 2, ADVANTEC社製）を用いて濾過した。得られた濾液について280 nmにおける吸光度を測定した。また、酵素単位1 unitは、1分間に1 μgのチロシンを生成する酵素量とし、培養基質1 gあたりの酵素活性を酵素生産性の指標とした。

4.4 中性プロテアーゼ活性測定

中性プロテアーゼの活性は、改良Kunitz法²²⁾により測定した。すなわち、2% (w/v) カゼイン水溶液（pH 6.8, 和光純薬工業社製）1 mlに粗酵素溶液1 mlを加え、

40℃、30分間反応後、5% (w/v) トリクロロ酢酸 (和光純薬工業社製) 水溶液10 mlを加えて反応を停止した。反応液を室温で60分間放置して沈殿を形成させた後、濾紙 (No. 2, ADVANTEC社製) を用いて濾過した。得られた濾液について280 nmにおける吸光度を測定した。酵素単位1 unit は1分間に1 µg のチロシンを遊離する酵素量として、培養基質1 gあたりの酵素活性を酵素生産性の指標とした。

5. 抗酸化活性測定

抗酸化活性測定にはH-ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity: 活性酸素吸収能) 法を用いた。H-ORAC測定用の抽出液はCaoら²³⁾の方法に一部変更を加えて調製した。すなわち、3で製造した麴2 gを精秤後、超純水20 mLを加えた。ホモジナイズ処理 (30,000 rpm, 10分間) により試料を破碎後、遠心分離 (4℃, 3500 rpm, 5分間) を行った上澄をH-ORAC測定試料とした。

H-ORAC測定はTakechiら²⁴⁾の方法を一部変更して測定した。すなわち、H-ORAC測定試料20 µLと94.4 nMフルオレセイン (シグマ社製) 水溶液 (75 mMリン酸緩衝液, pH 7.0) 200 µLを96穴マイクロプレートに分注し、37℃に保ったマイクロプレートリーダー (ベルトールド社製, Mithras LB940) 内で攪拌した。さらに、37℃に加温した31.7 mM AAPH (和光純薬工業社製) 水溶液 (75 mMリン酸緩衝液, pH 7.0) を75 µL添加し、フルオレセインの蛍光強度 (励起波長: 485 nm, 測定波長: 535 nm) の経時変化を測定した。H-ORAC値は蛍光強度の経時変化を追跡したグラフの曲線下面積より算出し、試料100 gあたりのTrolox相当量 (µmol TE/100 g -sample-) とした。

結果および考察

有色素米3種 (赤米, 黒米および緑米) に*A. oryzae* K株, *A. oryzae* S株, *A. awamori* AOK1597株および*R. cohnii* P5株を接種した結果、いずれの場合においても、培養開始120時間後に均一な菌糸の増殖ならびに胞子形成が見られた。一方で、一般的な麴の発酵基質として利用される精白米の場合では、培養開始48時間後に有色素米の場合と同様に均一な菌糸の増殖ならびに胞子形成が見られた。田中ら¹⁹⁾は、精白米の場合、*Aspergillus*属菌および*Rhizopus*属菌は精米よりも玄米上での増殖速度が遅い事を報告して

いる。さらに、佐藤ら¹⁸⁾も*Aspergillus*属菌は玄米上では増殖が困難である事を報告している。これらの報告は、今回の実験で得られた結果と一致する。高橋ら²⁵⁾は、*Aspergillus*属菌や*Penicillium*属菌の産出する玄米組織の分解酵素について検討し、菌株により分解酵素活性は異なり、活性が高い程、玄米果穂皮または胚乳細胞壁に侵入しやすい事を報告している。一方、田中ら²⁶⁾は*Aspergillus*属菌および*Rhizopus*属菌は精白米よりも玄米の方が増殖は弱く、これは表皮への菌糸の侵入が妨げられた為だと推測している。したがって、精白米と有色素米では*Aspergillus*属菌の増殖に差が生じたものと考えられる。以後の研究では、胞子形成が見られた麴を培養終了とし、測定試料とした。すなわち、有色素米は培養開始120時間後、精白米は培養開始48時間後の麴を用いて酵素活性と抗酸化活性を測定した。

グルコアミラーゼ活性を測定した結果をFig. 1に示した。*A. oryzae* K株では、精白米 (662±91.2 U/g -substrate-) と比較し、赤米 (516±33.4 U/g -substrate-) では有意差 ($p<0.05$) が認められなかったが、黒米 (182±91.6 U/g -substrate-) や緑米 (163±17.6 U/g -substrate-) とでは有意差が認められ、精白米よりも低い活性を示した。*A. awamori* AOK1597株においても同様の傾向が見られ、精白米 (867±74.5 U/g -substrate-) と比較し、赤米 (984±25.6 U/g -substrate-) では有意差が認められなかったが、黒米 (500±17.9 U/g -substrate-) と緑米 (544±49.8 U/g -substrate-) は有意差が認められ、精白米よりも低い活性を示した。*A. oryzae* S株については、精白米 (185±126.5 U/g -substrate-) と比較し、赤米 (206±37.9 U/g -substrate-)、黒米 (109±56.7 U/g -substrate-) および緑米 (151±47.7 U/g -substrate-) のいずれにおいても有意差が認められなかった。*R. cohnii* P5株においては、いずれの有色素米 (赤米385±48.8 U/g -substrate-, 黒米167±38.5 U/g -substrate-, 緑米133±43.5 U/g -substrate-) においても精白米 (729±169.4 U/g -substrate-) よりも有意に低い活性を示した。したがって、有色素米を培養基質とした麴のグルコアミラーゼ活性は精白米よりも低い傾向となった。因みに、精白米の場合、*Aspergillus*属菌および*Rhizopus*属菌のグルコアミラーゼ活性は玄米よりも精白米の方が低くなる事が知られている¹⁹⁾。従来検討されてきた有色素米を利用した発酵食品 (清酒, リキュール, 食酢など) は、有色素米より事前に抽出したアミラーゼ等の酵

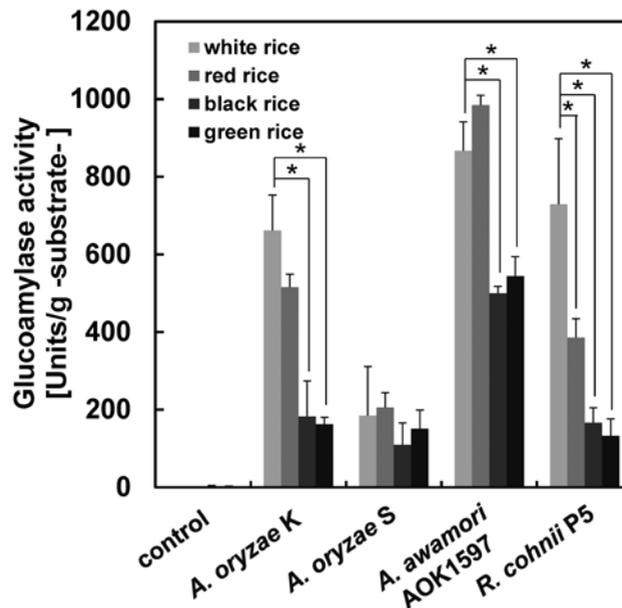


Fig. 1 Glucoamylase activities of Koji prepared with pigmented rice by *Aspergillus* strains and *Rhizopus* strain. The control means non-inoculation of *Aspergillus* strains and *Rhizopus* strain. The histogram with bars indicates the means \pm standard deviation. An asterisk represents a significant difference ($p < 0.05$).

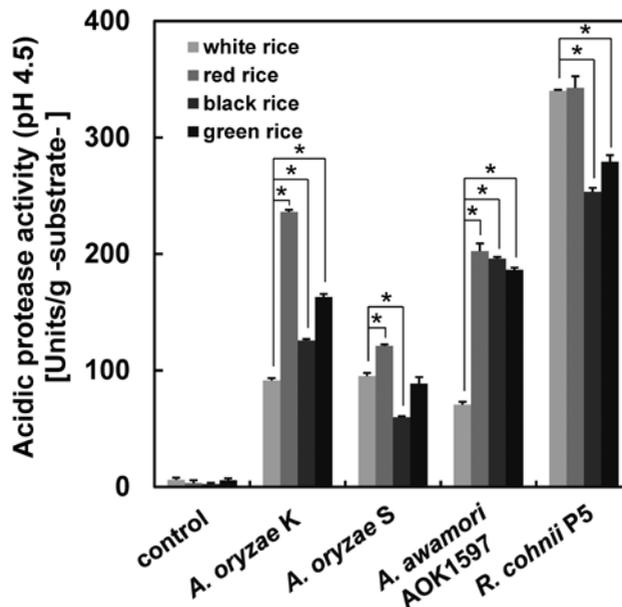


Fig. 2 Acidic protease activities of Koji prepared with pigmented rice by *Aspergillus* strains and *Rhizopus* strain. The control means non-inoculation of *Aspergillus* strains and *Rhizopus* strain. The histogram with bars indicates the means \pm standard deviation. An asterisk represents a significant difference ($p < 0.05$).

素を添加して製造されている¹⁰⁻¹⁵。これらの発酵食品の製造にはデンプンより生成されたグルコースが必要であり、高いグルコアミラーゼ活性が求められる。しかし、玄米を培養基質とした場合、グルコアミラーゼ活性は低い。そのため、精白米を培養基質として利用するしかない。した

がって、有色素米を培養基質として利用するためには、グルコアミラーゼ活性以外の特性を明らかにする必要がある。そこで、麴に含まれる重要な酵素である酸性プロテアーゼ活性ならびに中性プロテアーゼ活性について調べた。

酸性プロテアーゼ活性を測定した結果をFig. 2に示した。*A. oryzae* K株は、精白米 (91 ± 2.1 U/g -substrate-) よりも有色素米 (赤米 236 ± 1.8 U/g -substrate-, 黒米 126 ± 1.4 U/g -substrate-, 緑米 163 ± 2.7 U/g -substrate-) の方で有意に高い酸性プロテアーゼ活性を示した。*A. awamori* AOK1597株についても同様の傾向が見られ、精白米 (71 ± 2.5 U/g -substrate-) よりも有色素米 (赤米 203 ± 6.7 U/g -substrate-, 黒米 196 ± 1.4 U/g -substrate-, 緑米 187 ± 2.0 U/g -substrate-) の方で有意に高い活性を示した。*A. oryzae* S株では、精白米 (95 ± 2.7 U/g -substrate-) よりも赤米 (121 ± 1.4 U/g -substrate-) の方で有意に高い活性を示したが、緑米 (89 ± 5.5 U/g -substrate-) では同等、黒米 (60 ± 0.9 U/g -substrate-) では低い活性を示した。一方、*R. cohnii* P5株の場合、全般に*Aspergillus*属菌よりも高い活性が見られたが、赤米 (343 ± 9.8 U/g -substrate-) は精白米 (340 ± 0.9 U/g -substrate-) と同等の活性で、黒米 (257 ± 3.5 U/g -substrate-) および緑米 (279 ± 5.7 U/g -substrate-) は精白米よりも有意に低い活性を示した。

中性プロテアーゼ活性を測定した結果をFig. 3に示した。*A. oryzae* K株は、精白米 (36 ± 1.0 U/g -substrate-) よりも赤米 (54 ± 5.7 U/g -substrate-) の方が有意に高い活性を示したが、黒米 (43 ± 5.7 U/g -substrate-) および

緑米 (53 ± 14.6 U/g -substrate-) とは有意差が認められなかった。*A. oryzae* S株についても同様の傾向が見られ、精白米 (40 ± 4.2 U/g -substrate-) よりも赤米 (48 ± 2.5 U/g -substrate-) の方が有意に高い活性を示したが、黒米 (29 ± 3.9 U/g -substrate-) および緑米 (44 ± 1.7 U/g -substrate-) とは有意差が認められなかった。また、*A. awamori* AOK1597株も同様であり、精白米 (11 ± 3.4 U/g -substrate-) よりも赤米 (20 ± 2.6 U/g -substrate-) の方が有意に高い活性を示した。しかし、黒米 (15 ± 2.2 U/g -substrate-) および緑米 (14 ± 5.0 U/g -substrate-) とは有意差が認められなかった。*R. cohnii* P5株については、赤米 (15 ± 3.4 U/g -substrate-)、黒米 (13 ± 0.8 U/g -substrate-) および緑米 (14 ± 5.8 U/g -substrate-) のいずれにおいても精白米 (17 ± 4.1 U/g -substrate-) との有意差は認められなかった。いずれの場合においても、中性プロテアーゼ活性は酸性プロテアーゼ活性よりも低かった。

麹には、グルコアミラーゼや酸性プロテアーゼと同様に、抗酸化物質が含まれている事も知られている²⁷⁾。そこで、有色素米を発酵基質とした麹の抗酸化活性を測定した。抗酸化活性はその結果をFig. 4に示す様に、コントロールにおいて、精白米 (43 ± 5 $\mu\text{mol TE}/100$ g -sample-) よりも有色素米の方で有意に高く、黒米 (1,492

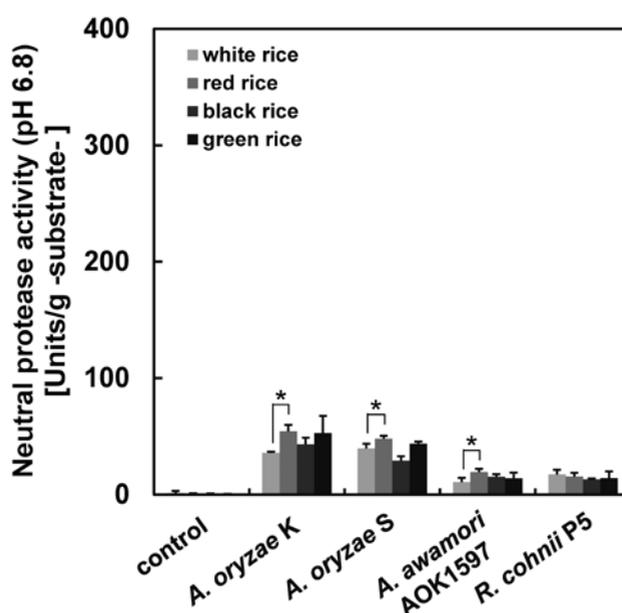


Fig. 3 Neutral protease activities of Koji prepared with pigmented rice by *Aspergillus* strains and *Rhizopus* strain. The control means non-inoculation of *Aspergillus* strains and *Rhizopus* strain. The histogram with bars indicates the means \pm standard deviation. An asterisk represents a significant difference ($p < 0.05$).

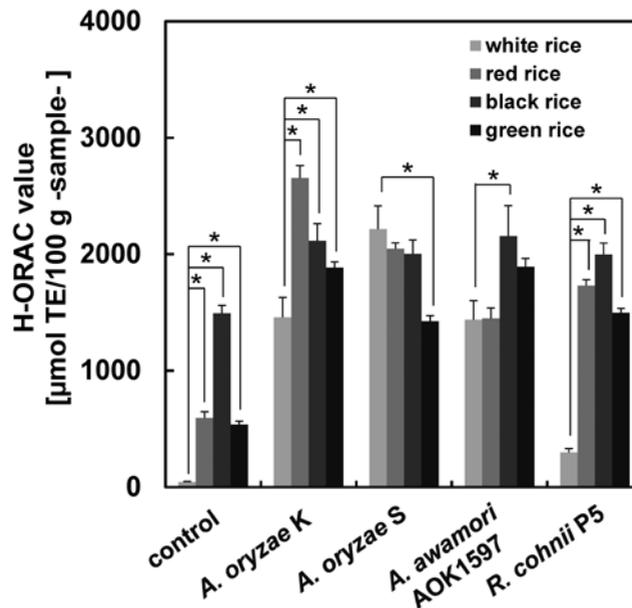


Fig. 4 H-ORAC values of Koji prepared with pigmented rice by *Aspergillus* strains and *Rhizopus* strain. The control means non-inoculation of *Aspergillus* strains and *Rhizopus* strain. The histogram with bars indicates the means \pm standard deviation. An asterisk represents a significant difference ($p < 0.05$).

$\pm 67 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) で最も高い値を示した。安田ら²⁾は、炊飯後の古代米における抗酸化活性をDPPHラジカル消去能により評価し、黒米>赤米>緑米>精白米となる事を報告している。同様に、有色素米の抗酸化活性が精白米よりも高い報告は多い³⁻⁵⁾。これらの報告は、今回得られた精白米よりも有色素米の方が抗酸化活性が高くなる結果と一致する。さらに、これらの有色素米および白米を発酵させた麹はいずれにおいても発酵前に比べてH-ORAC値が増大する傾向となった。*A. oryzae* K株の場合、精白米 ($1,459 \pm 170 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) よりも有色素米 (赤米 $2,655 \pm 107 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$, 黒米 $2,116 \pm 147 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$, 緑米 $1,886 \pm 49 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) の方が有意に高い値を示した。同様に、*R. cohnii* P5株においても、白米 ($299 \pm 32 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) よりも有色素米 (赤米 $1,730 \pm 51 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$, 黒米 $1,998 \pm 99 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$, 緑米 $1,497 \pm 39 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) の方が有意に高い値を示した。*A. awamori* AOK1597株においては、精白米 ($1,439 \pm 162 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) よりも黒米 ($2,156 \pm 263 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) が有意に高い値を示したが、赤米 ($1,449 \pm 89 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) や緑米 ($1,894 \pm 71 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) との間においては有意差が認められなかった。一方、*A.*

oryzae S株の場合、他の菌株とは異なり、精白米 ($2,217 \pm 199 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) よりも緑米 ($1,426 \pm 47 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) のH-ORAC値は有意に低かった。また、赤米 ($2,047 \pm 51 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) や黒米 ($2,002 \pm 122 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g -sample-}$) では有意差が認められなかった。

*Aspergillus*属菌を用いた精白米麹の抗酸化活性は製麹中に増大する²⁸⁾。麹に含まれる抗酸化成分は*Aspergillus*属菌が生産するポリフェノール系抗酸化物質²⁹⁾や精白米に含まれる抗酸化物質に起因する²⁸⁾。同様に、*Rhizopus*属菌を用いた大豆発酵食品であるテンペは、発酵により抗酸化活性が増大する³⁰⁾。テンペに含まれる抗酸化活性は、*Rhizopus*属菌の生産する β -グルコシダーゼによって配糖体から生成するdaidzeinおよびgenisteinに起因する。さらに、これらの抗酸化物質は食品中に含まれる α -トコフェロールとの相乗効果を示す³¹⁾。したがって、H-ORAC値の増大は、麹菌体量、生成する酵素量、精白米または有色素米に含まれる抗酸化物質、分解生成物などの影響が考えられる。今後は、H-ORAC値の増大要因について詳細な調査を行い、メカニズムを明らかにする必要がある。

近年、有色素米は高い機能性や古代から栽培される米として注目され、学校給食への導入⁸⁾や地域特産物としての利用⁹⁾が検討されている。また、古代の酒造りは有色素米

である赤米より製造された麴を使用したとされており、昔の発酵食品は有色素米を利用していた³²⁾。今回の実験で得られた結果より、有色素米を発酵基質として利用した麴は、精白米を利用した麴よりもグルコアミラーゼ活性は低い、酸性プロテアーゼ活性ならびに抗酸化活性は高くなる傾向が明らかとなった。したがって、有色素米を培養基質とした麴利用は、高い酸性プロテアーゼを必要とする発酵食品への応用に適している事が示唆された。水産物を利用した発酵食品であるかぶらずしやなれずしは、麴に含まれるプロテアーゼ活性やアミラーゼ活性などを利用する¹⁷⁾。さらに、マサバを原料とするナレズシは、麴に含まれる抗酸化成分により脂質酸化が抑制される³³⁾。今後は、有色素米を発酵基質として利用した麴を用い、新たな水産発酵食品の創生を試みる予定である。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご尽力を頂きました中村基子氏に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 猪谷富男：赤米・紫黒米・香り米－「古代米」の品種・栽培・加工・利用－。農山漁村文化協会，東京（2000）
- 2) 安田みどり，武富勝彦，尊田民喜，武富和美：古代米の抗酸化性について。西九州大学健康福祉学部紀要，39，23-27（2009）
- 3) 伊藤満敏，大原絵里，小林 篤，山崎 彬，梶 亮太，山口誠之，石崎和彦，奈良悦子，大坪研一：有色素米の抗酸化能とポリフェノール含量の測定。日本食品科学工学会誌，58，576-582（2011）
- 4) 猪谷富雄，建本秀樹，岡本実剛，藤井一範，武藤徳男：有色米の抗酸化活性とポリフェノール成分の品種間差異。日本食品科学工学会誌，49，540-543（2002）
- 5) 磯部由香，森岡めぐみ，寺原典彦，小宮孝志，成田美代：赤混黒米の色素の抗酸化性。日本調理科学会誌，39，247-250（2006）
- 6) Krautler B: Chlorophyll Breakdown and Chlorophyll Catabolites in Leaves and Fruit. *Photochem Photobiol Sci*, 7, 1114-1120（2008）
- 7) Ling WH, Cheng QX, Ma J, Wang T: Red and Black Rice Decrease Atherosclerotic Plaque Formation and Increase Antioxidant Status in Rabbits. *J Nutr*, 131, 1421-1426（2001）
- 8) 岸本律子，長谷川悦子，合田 清，尼子克己，中嶋加代子：紫黒米“むらさきの舞”の学校給食への利用。日本調理科学会誌，40，90-98（2007）
- 9) 猪谷富雄，小川正巳：わが国における赤米栽培の歴史と最近の研究情勢。日本作物學會紀事，73，137-147（2004）
- 10) 前川李義，新家 龍：赤米色素の性質と赤米を原料とした清酒製造試験。日本醸造協会誌，84，787-793（1989）
- 11) 湯 斌，張 慶慶：黒米酒醸造プロセスの開発。日本醸造協会誌，91，212-214（1996）
- 12) 田中 健，西崎文裕，大西甚吾，松澤一幸：高アミノ酸含有玄米酒の製造法の開発。奈良県工業技術センター研究報告，33，34-38（2007）
- 13) 松田義弘，和田弥寿子，菅原哲也，小関敏彦，上木厚子，上木勝司：サクランボ果実から分離した *Saccharomyces cerevisiae* 菌株による紫黒米を原料とした清酒製造。日本醸造協会誌，102，71-82（2007）
- 14) 蓮尾徹夫：清酒を用いたりキュールについて。日本醸造協会誌，81，510-515（1986）
- 15) 山本晃司，奥村千里，伊藤彰敏，西田淑男，鳥居貴佳，近藤正夫：紫黒米を用いた機能性米酢の開発。愛知県産業技術研究所研究報告，5，142-143（2006）
- 16) 村上英也：麴学。日本醸造協会，東京（1986）
- 17) 山下倫明：水産漬物。福田 裕，山澤正勝，岡崎恵美子（編），全国水産加工品総覧。光琳，東京，353-426（2005）
- 18) 佐藤 正，安平仁美：米の精白歩留とこうじ，味噌の品質。信州味噌研究所報告，30，1-2（1989）
- 19) 田中利雄，岡崎直人，木谷光伸：*A. oryzae* と *Rhizopus sp.* の酵素生産-無蒸煮穀類における糸状菌の増殖（第2報）-。日本醸造協会雑誌，77，831-835（1982）
- 20) Kingsley GR, Getchell G: Direct Ultramicro Glucose Oxidase Method for Determination of Fluucose in Biologic Fluids. *Clin Chem*, 6, 466-475（1969）
- 21) Anson ML: The Estimation of Pepsin, Trypsin, Papain and Cathepsin with Hemoglobin. *J Gen Physiol*, 22, 79-89（1983）

- 22) Kunitz M: Crystalline Soybean Trypsin Inhibitor. *J Gen Physiol*, 30, 291-310 (1947)
- 23) Cao G, Alessio HM, Cutler RG: Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay for Antioxidants. *Free Radic Bio Med*, 14, 303-311 (1993)
- 24) Takechi T, Wada R, Fukuda T, Harada K, Takamura H: Antioxidant Activities of Two Sericin Proteins from Cocoon of Silkworm (*Bombyx mori*) Measured by DPPH, Chemiluminescence, ORAC and ESR Methods. *Biomed Rep*, 2, 364-369 (2014)
- 25) 高橋治男, 渋谷直人, 矢崎廣久, 木村修一: *Aspergillus*ならびに*Penicillium*属糸状菌の産生する玄米組織の分解酵素について. 日本農芸化学会誌, 64, 27-34 (1990)
- 26) 田中利雄, 岡崎直人, 木谷光伸: *A. oryzae*と*Rhizopus sp.*の酵素生産 無蒸煮穀類における糸状菌の増殖 (第2報). 日本醸造協会誌, 77, 831-835 (1982)
- 27) 大浦 新, 秦 洋二: 清酒の機能性. 北本勝ひこ (編), 醸造物の機能性. 日本生物工学会スローファー微生物工学研究会, 東京, 5 (2007)
- 28) 阿部恭幸, 齋藤高弘, 岡本竹巳, 佐々木隆浩, 星 佳宏, 杉江正美, 萩原昌司, 志賀 徹: ORAC法による清酒製造工程の抗酸化性変化. 日本醸造協会誌, 107, 693-698 (2012)
- 29) Bhanja T, Rout S, Banerjee R, Bhattacharyya CB: Studies on the Performance of a New Bioreactor for Improving Antioxidant Potential of Rice. *LWT-Food Sci Technol*, 41, 1459-1465 (2008)
- 30) 岡田憲幸: テンペの機能性. 日本醸造協会誌, 85, 358-363 (1990)
- 31) 石川行弘: 新しい酸化防止剤の開発 (微生物起源を中心として). 油化学, 41, 762-767 (1992)
- 32) 蔭山公雄: 古代の酒造り. 日本醸造協会誌, 82, 29-32 (1987)
- 33) 春野 (今津) 涼子, 赤羽義章, 大泉 徹: マサバを原料とするへしこ及びなれずしの製造過程における脂質酸化の進行と抗酸化活性の変化. 日本水産学会誌, 77, 674-681 (2011)