

3種の麹菌を用いて調製した玄米麹と玄米塩麹の抗酸化活性とフェルラ酸含量

誌名	日本食品科学工学会誌 : Nippon shokuhin kagaku kogaku kaishi = Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology
ISSN	1341027X
著者名	韓,宝祥 原,崇 城斗,志夫
発行元	日本食品科学工学会
巻/号	67巻7号
巻号補足	
掲載ページ	p. 236-241
発行年月	2020年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



研究ノート

3種の麹菌を用いて調製した玄米麹と玄米塩麹の 抗酸化活性とフェルラ酸含量

韓 宝祥¹, 原 崇², 城斗志夫^{2*}

¹新潟大学大学院自然科学研究科

²新潟大学農学部

Antioxidant Activity and Ferulic Acid Content of Brown Rice Koji and Brown Rice Shio-Koji Prepared Using Three Species of Koji Molds

Baoxiang Han¹, Takashi Hara² and Toshio Joh^{2*}

¹ Graduate School of Science and Technology, Niigata University, 2-8050, Ikarashi, Nishi-ku, Niigata, Niigata 950-2181

² Faculty of Agriculture, Niigata University, 2-8050, Ikarashi, Nishi-ku, Niigata, Niigata 950-2181

For the purpose of improving rice functionality by effectively utilizing rice bran, brown rice (BR) koji and BR shio-koji were prepared using three species of koji molds and their antioxidant activities were investigated. The antioxidant activities of the three BR koji were higher than that of BR, and that of the BR koji of *Aspergillus luchuensis* (AL) was the highest. AL-BR koji contained about 250 times more ferulic acid, an antioxidant component, than BR, and the used AL showed high feruloyl esterase (FAE) activity. However, the ferulic acid content of AL-BR shio-koji was lower than that of AL-BR koji, and the FAE of AL was inhibited by NaCl.

(Received Dec. 6, 2019; Accepted Jan. 14, 2020)

Keywords : brown rice, koji, shio-koji, antioxidant activity, ferulic acid

キーワード : 玄米, 麹, 塩麹, 抗酸化活性, フェルラ酸

米を加工利用する際には製造副産物として米糠が副生される。米糠は、食物繊維、ビタミン、ミネラル等の栄養成分やγ-オリザノール、フェルラ酸、植物ステロール、ワックス、グルコシルセラミド、フィチン酸、イノシトール等の機能性成分を豊富に含む有用資源であり、米油の抽出原料や家畜の配合飼料、きのこ栽培の培地、漬物の糠床等として利用されているが、産業用の利用は約半分に留まる¹⁾。資源の有効利用の観点からその利用率の向上が求められる一方、有用成分を豊富に含む米糠を副生せず米を玄米のまま利用することも米糠の有効利用の一つである。

玄米には機能性成分の一つとしてポリフェノールの一種であるフェルラ酸が含まれる。フェルラ酸は、活性酸素消去活性やラジカル消去活性を持ち²⁾³⁾、その優れた抗酸化活性から酸化防止剤として食品に利用されている。また、フェルラ酸やその誘導体は、抗酸化活性以外に抗ガン作用、心血管疾患や糖尿病の予防作用、皮膚の紫外線防御作用など様々な生理機能を持つことが報告されている⁴⁾。さらに、超高齢社会を迎え我が国でも近年患者数が大きく増加しているアルツハイマー型認知症の予防・改善効果があること

も報告されている^{5)~7)}。

フェルラ酸は植物の細胞壁を構成するフェノール酸のひとつであり、米、小麦、トウモロコシなどのイネ科植物の細胞壁に多く含まれている⁸⁾⁹⁾。リグニン合成の中間体としての役割の他、ヘミセルロースを構成するアラビノキシランにエステル結合した結合型として存在し、フェルラ酸同士が結合してジフェルラ酸を形成することで細胞骨格をより強固なものにしている。樋口らは小麦ふすまに含まれるフェルラ酸の96.4%が結合型であると報告しており¹⁰⁾、植物に存在するフェルラ酸の大部分は細胞壁成分に結合して存在する。ヒトは細胞壁に結合したフェルラ酸を遊離する消化酵素を持っていないことから、結合型フェルラ酸を含む食材を摂取してもフェルラ酸は体内に吸収されず、その生理機能を享受することができない。したがって、フェルラ酸の生理機能を十分に活用するには、結合型フェルラ酸を遊離型に変えなければならない。

これまでに植物バイオマスの有効利用を目的に、細胞壁を分解する各種酵素に関する研究が行われ、その中で細胞壁にエステル結合したフェルラ酸を加水分解により遊離す

¹〒950-2181 新潟県新潟市西区五十嵐2の町 8050, ²〒950-2181 新潟県新潟市西区五十嵐2の町 8050

*連絡先 (Corresponding author), joh@agr.niigata-u.ac.jp

るフェルロイルエステラーゼ (FAE) を産生する様々な微生物が見いだされている¹¹⁾。 *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus luchuensis* (これまで *Aspergillus awamori* と報告されてきた一部の菌株を含む) などの麹菌は、デンプンやタンパク質などを分解する様々な酵素を産生する能力が高く、古くから清酒、味噌、醤油、焼酎などの製造に利用されてきた。その高い酵素産生能からそれらの FAE 活性が調べられ、小麦ふすまを炭素源とした *A. oryzae* VTT-D-85248 と *A. awamori* IFO4033 の培養物では活性があることが示されている¹¹⁾。また、これら 2 つの種の麹菌を使用した清酒¹²⁾、麦味噌および麦麴¹³⁾、黒米糠麴¹⁴⁾ では実際に遊離型フェルラ酸が原料に比べ多く含まれることが報告されている。

玄米には白米に比べ多くの結合型フェルラ酸が含まれる⁸⁾。したがって、精米せずに玄米を麹菌で発酵させることにより遊離型フェルラ酸を豊富に含む麴を製造できると考えられる。そこで本研究では、3 種の麹菌を用いて玄米麴を調製し、その抗酸化活性とフェルラ酸含量を調べた。また、麴に含まれる酵素を利用した発酵調味料として塩麴がある。麴に FAE が含まれる場合、塩麴の製造過程において遊離型フェルラ酸の増加が期待される。そこでこれらの玄米麴を用いて調製した玄米塩麴の抗酸化活性とフェルラ酸含量も合わせて測定した。

1. 実験方法

(1) 実験材料

玄米は市販の新潟県産コシヒカリを使用し、白米はそれを精米機 (MR-E520 W, ツインバード工業) で精米歩合 90 % に精米して用いた。

麹菌は *A. oryzae* (AO), *A. sojae* (AS), *A. luchuensis* (AL) の 3 種を使用し、AO は株式会社菱六の長白菌の種麴, AS は日本醸造工業株式会社のソーヤ菌の種麴, AL は株式会社樋口松之助商店の黒麹菌の種麴を入手して用いた。

(2) 麴と塩麴の調製

麴は次の通り調製した。玄米または白米 10 g を洗米後、玄米は 1 晩、白米は 2 時間室温で水に浸漬した。浸漬した米は電気蒸し器 (ウルトラコンパクト II, グループセブジャパン) で 60 分間蒸煮後、放冷し、100 mL ビーカーに移した。これに 30 mg の種麴を 3 回に分けて振り混ぜ、恒温恒湿器 IG420 (ヤマト科学) 中で 37℃, 湿度 70 % で 7 日間発酵させた。

塩麴は麴、食塩、水を 100 : 30 : 135 (w/w/w) の割合で混合し、毎日 1 回混ぜながら上記の恒温恒湿器中で 25℃, 湿度 70 % で 7 日間発酵させた。

(3) 糖化力の測定

麴の糖化力はキッコーマン社製の「糖化力測定キット」を用いて測定した。

(4) 抗酸化活性の測定

麴および塩麴は凍結乾燥後、DPPH ラジカル消去活性に

よりその抗酸化活性を評価した。凍結乾燥試料 100 mg に 80 % アセトン 7 mL を加えて 3 回抽出し、得られた抽出液を集めて 25 mL に定容した。この溶液を用いて増田らの方法¹⁵⁾により DPPH ラジカル消去活性を測定した。各試料の活性は Trolox 相当量として示した。

(5) フェルラ酸含量の測定

玄米、白米、それらを原料に調製した麴および塩麴に含まれる遊離型フェルラ酸を樋口らの方法¹⁰⁾を一部改変し定量した。凍結乾燥した試料 200 mg に 80 % アセトン 15 mL を加え、往復振とう機 PERSONAL-11 (タイテック) により 100 rpm で 1 時間振とうすることで遊離型フェルラ酸を抽出した。この抽出液を 6.0 N 塩酸溶液により酸性 (pH 2.0) とした後、等量のヘキサンを加えて激しく振とうし、1500 × g で 5 分間遠心分離して上層を除くことで洗浄した。この洗浄操作を 5 回繰り返した後、ジエチルエーテルと酢酸エチルの混合液 (1 : 1, v/v) 10 mL を加えて振とうし、1500 × g で 5 分間遠心分離して上層の有機溶媒層を分取した。この抽出操作を 3 回繰り返して集めた有機溶媒層をロータリーエバポレーターで減圧乾固し、残渣を 50 mM 酢酸緩衝液 (pH 4.0) とアセトニトリルの混合液 (1 : 1, v/v) 3 mL に溶解した。これを孔径 0.45 μm の親水性 PTFE フィルター (アドバンテック東洋) でろ過し、HPLC の試料とした。HPLC 分析では Inertsil ODS-3 カラム (5 μm, 4.6 × 250 mm; ジーエルサイエンス) を接続した高速液体クロマトグラフ L-2130 (日立製作所) を用い、カラム温度 40℃ で分析した。溶離液は流速 1.0 mL/分で流し、A 液として 50 mM 酢酸緩衝液 (pH 4.0), B 液としてアセトニトリルを用い、B 液の濃度を 30 分間で 5 % から 50 % まで直線的に上昇させた。また、フェルラ酸は UV-VIS 検出器 L-4250 (日立製作所) により 320 nm で検出した。

(6) フェルロイルエステラーゼ活性の測定

麴に 50 mM 2-モルホリノエタンスルホン酸 (MES) バッファー (pH 5.5) を加えて氷水中で振とうし、3000 × g, 5 分間遠心後、上清をガラス繊維ろ紙でろ過して得られたろ液を酵素液として使用した。

フェルロイルエステラーゼ (FAE) の基質であるフェルロイルアラビノフラノース (FAra) の調製および活性測定は McCallum らの方法¹⁶⁾に従って行った。FAra は小麦ふすまのシュウ酸加水分解物を Sephadex LH-20 (GE ヘルスケアライフサイエンス) によるゲルろ過および TLC により精製し、N, N'-ジメチルホルムアミドに溶解して使用した。また、活性は 50 mM MES バッファー (pH 5.5) 500 μL, 15 mM FAra 20 μL に酵素液 100 μL を加え、37℃ で 10 分間、340 nm における吸光度の減少をタイムスキャンすることで測定した。FAra とフェルラ酸の 340 nm におけるモル吸光係数の差 (8981 M⁻¹ · cm⁻¹) を用いて反応により分解された FAra の量を算出し、1 分間に 1 μmol の基質を分解する酵素量を 1 U と定義して酵素液の FAE 活性を求

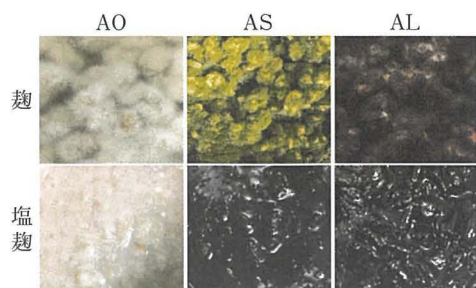


図1 3種類の麹を用いて調製した玄米麹と玄米塩麹

AO: *A. oryzae*, AS: *A. sojae*, AL: *A. luchuensis*.

めた。また、酵素液のタンパク質濃度をプロテインアッセイキット（バイオ・ラッド）を用いて測定し、麹菌が産生するFAEはタンパク質当りの活性として示した。

2. 実験結果および考察

(1) 調製した玄米麹と玄米塩麹

3種類の麹を用いて調製した玄米麹と玄米塩麹の写真を図1に示した。白米の場合、通常数日で麹の調製が完了するが、玄米では菌の生育が遅く、約2倍の時間を要した。また、本研究では麹菌が産生する酵素による結合型フェルラ酸の遊離型への分解を進めるため、胞子が形成する7日目まで時間をかけて培養した。調製した玄米麹の糖化力を測定したところ、AO玄米麹で0.6U/g、AS玄米麹で0.8U/g、AL玄米麹で2.9U/gであった。市販されている2種類の米麹を購入し同様に測定した結果、0.9U/gと2.2U/gであり、また尾関らは12種類の麹菌を用いて精米歩合70%の白米で調製した麹の糖化力を測定したところ、0.1~2.4U/gであったと報告している¹⁷⁾。したがって、今回調製した玄米麹は白米麹と同程度の糖化力を持つ、実用に堪える麹であることが示された。

次にこれら玄米麹を使用し、玄米塩麹を調製した。図1に示す通り、AO玄米塩麹は市販されている塩麹と同様の灰白色様の色調であったが、ASとALの玄米塩麹は黒緑色および暗褐色をしていた。AL（黒麹菌）は遊離アミノ酸を良く生産するペプチダーゼを分泌し¹⁸⁾、またASは澱粉分解酵素だけでなくタンパク質分解酵素産生能が高いことが知られている。したがって、玄米塩麹の発酵過程で酵素分解により生成した糖とアミノ酸によりアミノカルボニル反応が生じ、胞子の色の濃さとの相乗効果によって、塩麹が黒緑色や暗褐色になったと考えられる。

(2) 玄米麹と玄米塩麹の抗酸化活性

3種類の麹を用いて調製した玄米麹と玄米塩麹の抗酸化活性をDPPHラジカル消去活性で評価した。玄米を麹にすることで抗酸化活性は増加し、各々の活性は玄米に比べAO玄米麹で4.7倍、AS玄米麹で3.1倍、AL玄米麹で17.2倍と3種類の麹の中でもALを用いた時の活性の上昇が著しく大きかった（図2）。玄米麹における抗酸化活性を調べた報告はこれまでにないが、AOを用いた清酒¹²⁾、AOと

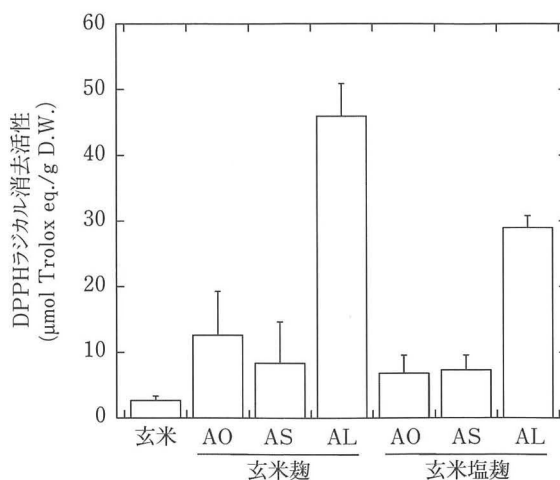


図2 玄米麹と玄米塩麹の抗酸化活性

抗酸化活性はDPPHラジカル消去活性で評価した。エラーバーは標準偏差を示している（ $n=3$ ）。

*A. awamori*を用いた黒米糠麹¹⁴⁾、AO、AS、*A. awamori*を用いた白米麹¹⁷⁾など麹菌による発酵物が高い抗酸化活性を示すことは既に報告されており、今回の結果はそれらと一致した。

一方、3種類の玄米塩麹の抗酸化活性は玄米よりも高いものの玄米麹よりいずれも低くなった。松田と工藤は麦麹の製麹過程で一旦増加した抗酸化物質であるフェルラ酸がその後減少することを見だし、麹菌による代謝作用によるものと推察している¹³⁾。このことから、玄米麹中に存在していた抗酸化物質は塩麹の調製過程で麹菌が産生した酵素の働きにより分解されたと考えられる。

(3) 玄米麹と玄米塩麹のフェルラ酸含量

麹菌による発酵物における代表的抗酸化物質として発酵過程で細胞壁成分から遊離して生じるフェルラ酸がある。そこで次に玄米麹と玄米塩麹に含まれる遊離型フェルラ酸を定量した。玄米に含まれるフェルラ酸は1.7μg/g D.W.と非常に少なかった（図3）。AO玄米麹とAS玄米麹には玄米の約2倍のフェルラ酸が含まれ、AL玄米麹では約250倍多い419μg/g D.W.のフェルラ酸が含まれていた。このように麹菌で穀類を発酵させると遊離型フェルラ酸含量が増加し、この結果は清酒¹²⁾¹⁹⁾、麦味噌および麦麹¹³⁾、黒米糠麹¹⁴⁾の報告と一致した。それらの報告の数値と比較すると、AL玄米麹の含量は麦味噌の1.5~12.7μg/g¹³⁾より多く、米糠そのものを*A. oryzae* ATCC22787および*A. awamori* ATCC38854で発酵させた黒米糠麹の約400~500μg/g¹⁴⁾と同等の含量であった。但し、これらの数値の引用元論文では抽出・分析手法が異なる。

また、玄米塩麹のフェルラ酸含量は玄米麹より少なく、AL玄米塩麹の含量はAL玄米麹の1/3に減少していた。玄米麹を塩麹にすると抗酸化成分であるフェルラ酸が減少したという結果は、抗酸化活性の低下と一致しており、

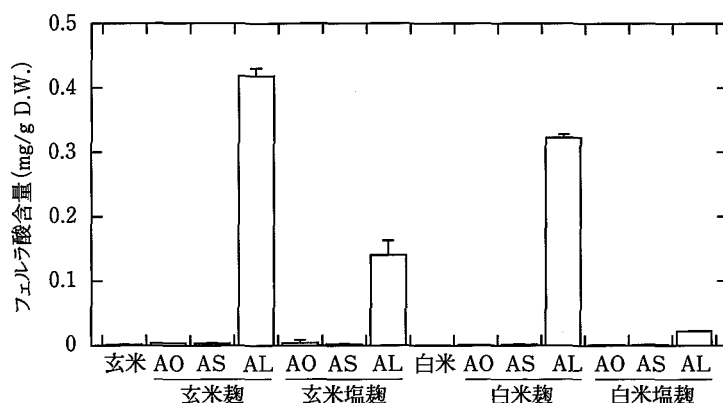


図 3 麴と塩麴のフェルラ酸含量

麴と塩麴は玄米と白米を用い調製した。エラーバーは標準偏差を示している ($n=3$)。

フェルラ酸等の抗酸化成分が塩麴の調製過程で分解されることで抗酸化活性が低下することが示唆された。

玄米には白米より多くの細胞壁結合型フェルラ酸が含まれると報告されている⁸⁾。そこで3種類の種麴で白米麴および白米塩麴を調製し、遊離型フェルラ酸含量を調べた。白米のフェルラ酸含量は $1.0 \mu\text{g/g D.W.}$ と玄米より少なく、調製した白米麴のフェルラ酸含量はAO白米麴で $1.3 \mu\text{g/g D.W.}$ 、AS白米麴で $2.2 \mu\text{g/g D.W.}$ 、AL白米麴で $323 \mu\text{g/g D.W.}$ と玄米麴同様に発酵過程で増加し、特にAL白米麴では著しく増加した。また、白米塩麴の含量は白米麴より少なかった。玄米麴のフェルラ酸含量は白米麴より多く、これは細胞壁結合型フェルラ酸の量が糠層に多いことに起因すると推測された⁸⁾。しかし、予想していたより両者の差は少なく、その理由として玄米麴では表層の果種皮により菌糸の米粒内部への侵入が阻害され、その結果胚乳部分での結合型フェルラ酸の分解が不十分であったことが考えられる。

(4) 玄米麴のFAE活性

細胞壁成分からのフェルラ酸の遊離に直接関与している酵素はFAEである。そこで3種類の種麴を用いて調製した玄米麴のFAE活性を測定した。その結果、図4に示す通りAL玄米麴のみが非常に高い活性を示し、フェルラ酸の量と一致していた。細胞壁成分からのフェルラ酸の効率の良い遊離にはキシラナーゼ等の細胞壁分解酵素も関係することが知られており¹¹⁾、焼酎麴菌であるALにはそれら酵素を多量に産生するという特徴がある²⁰⁾。したがって、ALは単にFAEの作用だけでなく他の細胞壁分解酵素との相乗作用により、より多くのフェルラ酸を産生する能力を発揮しているのかもしれない。また、今回使用したAOおよびASのFAE活性は低く、ALの活性だけが高かった。TenkanenらはAO VTT-D-85248を小麦ふすま培地で培養すると高いFAE活性を示すと報告している²¹⁾。また、Smithらは複数の*A. awamori*の菌株のFAE活性を調べ、*A. awamori* IMI211394やIMI59613では明瞭な活性が

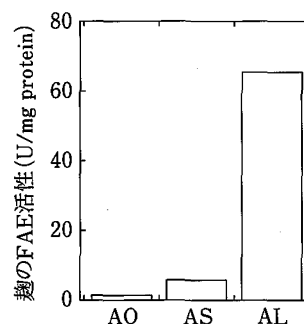


図 4 3種類の玄米麴のFAE活性

玄米麴から調製した酵素液のFAE活性とタンパク質量を測定し、酵素活性はタンパク質当りの活性として示した。

検出されたが、IMI63763やIMI59605では全く活性がなかったと報告している²²⁾。これらのことから、麴菌の遊離型フェルラ酸産生能には菌の属種に加え、菌株の特性も重要と考えられる。

塩麴調製条件下におけるFAE活性を検討するため、酵素活性におよぼす食塩の影響を調べた。様々な濃度の食塩存在下でFAE活性を測定したところ、無添加での活性に比べ10%食塩下で16%、15%食塩下で4%とその活性は食塩により大きく低下した(図5)。玄米塩麴は約11%の食塩存在下で7日間かけて調製しており、玄米麴に含まれていたFAEは食塩により活性を大きく阻害されと考えられた。AL玄米塩麴中のフェルラ酸含量は原料であるAL玄米麴より少なかった(図3)。麴菌にはフェルラ酸の代謝作用があると推察されていることから¹³⁾、本研究で利用したALにはフェルラ酸を代謝する酵素が存在し、その働きにより玄米塩麴中のフェルラ酸が減少するとともに、食塩によるFAE活性の阻害により、玄米からの新たなフェルラ酸の遊離が阻害されたためと推測される。

本研究において、3種類の種麴を用いて調製した玄米麴の抗酸化活性は原料の玄米より高く、その一因は抗酸化物質であるフェルラ酸が増加することにあることを明らかに

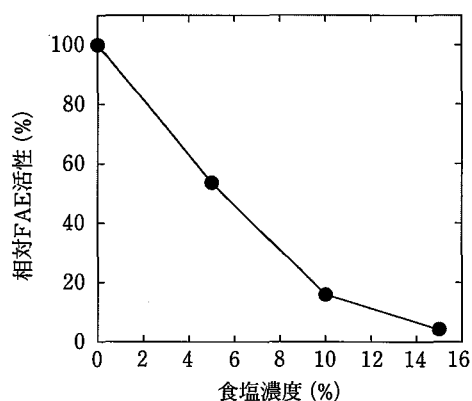


図5 麹菌ALが産生するFAE活性におよぼす食塩の影響
玄米麹から調製した酵素液を用い、食塩の存在下で酵素活性を測定した。数値は食塩無添加の活性を100とした時の相対活性で示した。

した。そこで、試薬として販売されているフェルラ酸の抗酸化活性を測定してフェルラ酸のTrolox相当量を求め、AL玄米麹中のフェルラ酸含量からフェルラ酸に由来する抗酸化活性を算出し、AL玄米麹の抗酸化活性において含有されるフェルラ酸がどの程度寄与しているのかを計算した。その結果、1 molのフェルラ酸は0.598 molのTroloxに相当し、この値よりAL玄米麹の抗酸化活性の60%はフェルラ酸によるものと推定され、ALが産生するFAEの作用によるフェルラ酸の遊離は、玄米麹の抗酸化活性に大きな影響を与えることが示された。フェルラ酸には抗酸化作用以外に多様な生理機能が報告されている。玄米には白米より多くの細胞壁結合型フェルラ酸が含まれていることから、本研究で用いたALの菌株よりさらにFAE産生能が高い菌株を探索して玄米を発酵させることで、フェルラ酸を豊富に含む玄米麹が調製可能であると考えられる。なお、AL玄米麹の抗酸化活性の40%はフェルラ酸以外の化合物に起因すると推定される。また、フェルラ酸を少量しか含まないAOやASの玄米麹や玄米塩麹にも相応の抗酸化活性が検出されている。米の発酵物に含まれる抗酸化物質として報告されているプロトカテキ酸¹⁴⁾、バニリン酸¹⁴⁾、p-クマル酸¹⁴⁾、チロソール¹²⁾などのフェノール性化合物が上述の玄米麹や玄米塩麹の抗酸化性に関与している可能性が考えられる。

3. 要約

糠を有効に活用して米の機能性を向上させるために、玄米を原料に3種類の麹菌 *Aspergillus oryzae* (AO), *Aspergillus sojae* (AS), *Aspergillus luchuensis* (AL) の種麹を用いて玄米麹と玄米塩麹を調製し、抗酸化活性を調べた。3種類の玄米麹の抗酸化活性は玄米より高く、中でもAL玄米麹で最も高かった。また、玄米塩麹の抗酸化活性は玄米より高いが玄米麹に比べ低かった。米に含まれる代表的抗酸化成分であるフェルラ酸を定量したところ、AL玄米麹

はフェルラ酸を玄米の約250倍多く含み、これが玄米麹の抗酸化活性が高い一因であることが示された。また、そのフェルラ酸含量はAL白米麹に比べ1.3倍多かった。米中のフェルラ酸の大部分は細胞壁に結合して存在し、フェルロイルエステラーゼ (FAE) の作用により遊離する。そこで3種類の玄米麹のFAE活性を測定した。その結果、AL玄米麹で著しく高い活性が検出され、玄米麹のフェルラ酸含量の結果と一致した。一方、AL玄米塩麹のフェルラ酸含量はAL玄米麹より低く、ALのFAEが食塩により阻害されたことから、玄米塩麹のフェルラ酸が少ない理由は塩麹の発酵中にFAEが失活するとともにフェルラ酸が分解されたためと推察された。以上より、玄米をFAE産生能が高い麹菌で発酵させることにより、白米を用いた時に比べ、機能性成分であるフェルラ酸を豊富に含む麹を調製できることが明らかにされた。

文 献

- 1) Taniguchi, H., Hashimoto, H., Hosoda, A., Kometani, T., Tsuno, T., and Adachi, S. (2012). Functionality of compounds contained in rice bran and their improvement. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi)*, **59**, 301-318 (谷口久次, 橋本博之, 細田朝夫, 米谷 俊, 築野卓夫, 安達修二. 米糠含有成分の機能性とその向上, 日本食品科学工学会誌).
- 2) Marinova, E. M. and Yanishlieva, N. V. (1992). Effect of temperature on the antioxidant action of inhibitors in lipid autoxidation. *J. Sci. Food Agric.*, **6**, 313-318.
- 3) Terao, J., Karasawa, H., Arai, H., Nagano, A., Suzuki, T., and Takama, K. (1993). Peroxyl radical scavenging activity of caffeic acid and its related phenolic compounds in solution. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 1204-1205.
- 4) Mancuso, C. and Santangelo, R. (2014). Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. *Food Chem. Toxicol.*, **65**, 185-195.
- 5) Yan, J.J., Cho, J.Y., Kim, H.S., Kim, K.L., Jung, J.S., Huh, S.O., Suh, H.W., Kim, Y.H., and Song, D.K. (2001). Protection against β -amyloid peptide toxicity *in vivo* with long-term administration of ferulic acid. *Br. J. Pharmacol.*, **133**, 89-96.
- 6) Cho, J.Y., Kim, H.S., Kim, D.H., Yan, J.J., Suh, H.W., and Song, D.K. (2005). Inhibitory effects of long-term administration of ferulic acid on astrocyte activation induced by intracerebroventricular injection of h-amyloid peptide (1-42) in mice. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **29**, 901-907.
- 7) Jung, J.S., Yan, J.J., Li, H.M., Sultan, M.T., Yu, J., Lee, H.S., Shin, K.J., and Song, D.K. (2016). Protective effects of a dimeric derivative of ferulic acid in animal models of Alzheimer's disease. *Eur. J. Pharmacol.*, **728**, 30-34.
- 8) Nishizawa, C., Ohta, T., Egashira, Y., and Sanada, H. (1998). Ferulic acid contents in typical cereals. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi)*, **45**, 499-503 (西澤千恵子, 太田剛雄, 江頭祐嘉合, 真田宏夫. 穀類のフェルラ酸含量, 日本食品科学工学会誌).
- 9) Shibuya, N. (1984). Phenolic acids and their carbohydrate esters in rice endosperm cell walls. *Phytochemistry*, **23**, 2233-2237.

- 10) 樋口誠一, 高橋 学, 山路明俊 (2008). 小麦由来機能性成分の新規利用技術の開発 (2). 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **6**, 69-73.
 - 11) Topakas, E., Vafiadi, C., and Christakopoulos, P. (2007). Microbial production, characterization and applications of feruloyl esterases. *Process Biochem.*, **42**, 497-509.
 - 12) Ohta, T., Takashita, H., Todoroki, K., Iwano, K., and Ohba, T. (1992). Antioxidant substances in sake. *Journal of Brewing Society of Japan (Nippon Jozo-kyokai-shi)*, **87**, 922-926 (太田剛雄, 高下秀春, 轟木康市, 岩野君夫, 大場俊輝. 清酒中に存在する抗酸化性物質, 日本醸造協会誌).
 - 13) Matsuda, S. and Kudoh, Y. (2000). Ferulic acid contents in mugi miso (barley-koji miso) and antioxidative activity of mugi koji (barley-koji). *Food Preservation Science (Nippon Shokuhin Hozo Kagaku Kaishi)*, **26**, 199-203 (松田茂樹, 工藤康文. 麦味噌および大麦麹に含まれるフェルラ酸と抗酸化活性, 日本食品保蔵科学会誌).
 - 14) Shin, H.Y., Kim, S.M., Lee, J.H., and Lim, S.T. (2019). Solid-state fermentation of black rice bran with *Aspergillus awamori* and *Aspergillus oryzae* : effects on phenolic acid composition and antioxidant activity of bran extracts. *Food Chem.*, **272**, 235-241.
 - 15) Masuda, T., Koyama, Y., Inaba, J., Toi, Y., Arata, T., Takeda, Y., Nakamoto, K., Kuninaga, H., Nishizato, S., and Nonaka, A. (2002). Antioxidant-related activities of ethanol extracts from edible and medicinal plants cultivated in Okinawa, Japan. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi)*, **49**, 652-661 (増田俊哉, 小山保夫, 稲葉 譲, 新田智裕, 武田美雄, 仲本勝男, 國永秀樹, 西里さおり, 野中 亮. 沖縄産食薬用植物エタノール抽出物の抗酸化関連活性, 日本食品科学工学会誌).
 - 16) McCallum, J.A., Taylor, I.E.P., and Towers, G.H.N. (1991). Spectrophotometric assay and electrophoretic detection of *trans*-feruloyl esterase activity. *Anal. Biochem.*, **196**, 360-366.
 - 17) 尾関健二, 桐藤万裕, 筒井健司, 若泉賢功, 尾関清子 (2008). 米麹の糖化および発酵による抗酸化能の付与. 食品・臨床栄養, **4**, 19-26.
 - 18) 一島英治 (2002). 麹菌のタンパク質分解酵素. 日本醸造協会誌, **97**, 7-16.
 - 19) Hashizume, K., Ito, T., Ishizuka, T., and Takeda, N. (2013). Formation of ethyl ferulata by rice koji enzyme in sake and mirin mash conditions. *J. Biosci. Bioeng.*, **116**, 209-213.
 - 20) 伊藤 清 (2005). 焼酎麹菌の酵素生産の特徴. 日本醸造協会誌, **100**, 838-848.
 - 21) Tenkanen, M., Schuseil, J., Puls, J., and Poutanen, K. (1991). Production, purification and characterization of an esterase liberating phenolic acids from lignocellulosic. *J. Biotechnol.*, **18**, 69-84.
 - 22) Smith, D.C., Bhat, K.M., and Wood, T.M. (1991). Xylan-hydrolysing enzymes from thermophilic and mesophilic fungi. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **7**, 475-484.
- (令和元年12月6日受付, 令和2年1月14日受理)