

# 琉球大学学術リポジトリ

豆腐のような製造に用いる紅麴菌の生産する色素に関する研究(農芸化学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 安田, 正昭, 上地, 玄作 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/3940">http://hdl.handle.net/20.500.12000/3940</a>

## 豆腐よりの製造に用いる紅麴菌の生産する色素に関する研究†

安田正昭\*・上地玄作\*

Masaaki YASUDA and Gensaku UECHI : Studies on the pigment formed by *Monascus* fungus used for tofuyo production

### Summary

Beni koji prepared by growing *Monascus* on steamed rice is an important material for the production of tofuyo (red soybean cheese). Color of the product is always greatly affected by the quality of the koji. In order to find the culture conditions required for improvements of the red pigment production by *Monascus* sp. No. 3403, the organism was grown on the steamed rice. The highest production of the pigment was obtained by employing autoclaved non-glutinous rice. Although the most effective solvent for the extraction of red pigment from the koji was methyl alcohol, we chose ethyl alcohol as the extractive solvent due to its safety in view of the food sanitation. The pigment was extracted with 80% ethyl alcohol solution at 25°C for 2 hrs in the dark place.

The pigment was stable against heat and pH (from 2 to 10), but unstable with light. Metal ions such as  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , and  $\text{Ba}^{2+}$  did not affect its color. While the pigment was stable against ascorbic acid, it faded with hydrogen peroxide. The pigment was a good dye stuff; the water soluble pigment had a great affinity to milk casein, wheat flour, and tofu, while the ethyl alcohol soluble one had an affinity to egg albumin and wheat gluten. The amount of *Monascus* pigment in tofuyo increased through the aging process and became almost constant for 2 – 3 months after ripening.

### 緒 言

紅麴菌 (*Monascus* 属カビ) は通常赤色の紅麴色素を生産し、それを蒸米に生育させた紅麴は中国や台湾において紅酒、紅腐乳、肉類や野菜の漬物などの原料及びその他の飲食品の着色料として広く利用されている<sup>17)</sup>。我国においても琉球料理の中で慶事に用いる赤飯、紅梅卵、花イカ、紅カマボコ、紅染肉などの着色料あるいは豆腐よう (豆腐の醗酵食品) の製造原料として古くから利用されてきた<sup>17)</sup>。

† 本論文の概要は沖縄農業研究会創立20周年記念大会 (昭和56年11月那覇市) で発表した。

\* 琉球大学農学部農芸化学科

琉球大学農学部学術報告 32 : 73~81 (1985)

紅麴菌の色素に関する研究は古く、1926年に西川は *Monascus purpureus* Went の菌体から赤色及び黄色の色素を初めて単離・結晶化し<sup>12)</sup>、1932年に赤色結晶性色素を Monascorubrin、黄色結晶物質を Monascoflavin とそれぞれ命名した<sup>13)</sup>。紅麴色素の化学構造は現在までに6種類のもので既に決定されている<sup>1, 2, 6, 7, 9, 13-15)</sup>。近年、食品添加物に用いる天然色素の開発の立場から本色素に関する数多くの研究報告がみられるようになった<sup>3, 4, 6, 8, 15, 21)</sup>。

著者ら<sup>10, 16-18)</sup>は紅麴菌による豆腐のような製造に関する研究を行っているが、その一環として紅麴菌の特性についても調査中である。これまでに、同麴菌の生産する酸性プロテアーゼやグルコアミラーゼを単離・精製し、その酵素化学的性質を明らかにした<sup>19, 20)</sup>。本報においては、紅麴菌における色素の生産条件、抽出条件及びその基本的な性質を検討した。

## 実験方法

### 1. 使用菌株と紅麴の製麴

供試紅麴菌として赤色色素をよく生産する *Monascus* sp. No.3403 菌株を使用した。種麴調製に使用したウルチ米(50g)は室温で18時間浸漬し、水切後三角フラスコに採り60分間蒸煮した。この蒸煮米に供試菌株の胞子を接種し、32°Cで7日間培養し、種麴とした。

紅麴の製造は麴蓋(縦35×横55×高さ4.5cm)を用いて32°Cの恒温器内で行った。供試原料米にはウルチ米(2kg)を用い、水洗後18時間水に浸漬し、水切後60分間蒸煮を行うか、あるいはオートクレーブにて加圧蒸煮(120°C, 20分間)を行った。放冷後の蒸米(34~37°C)を麴蓋に入れ、種麴を接種混和したのち、32°Cで製麴を行った。種麴接種後38時間目に品温の上昇がみられたので“手入れ”を行った。製麴70時間目に水分補給のために滅菌水の散布を行った。植菌から出麴までの期間は6~7日であった。

### 2. 試料の調整

分析に供する試料の調整は1で得た紅麴を真空定温乾燥器(ヤマト, DPF-131型)により乾燥したのち、粉碎、篩別(20/30メッシュ)することにより行った。

### 3. 豆腐のような製造

豆腐ようは既報<sup>10)</sup>の方法により紅麴を用いて調製した。

### 4. 分析

#### (1) 色素量の測定

紅麴色素の抽出は粉末紅麴0.50gに50mlの有機溶媒を加えて室温(約25°C, 暗所)で2時間、時々攪拌して行い、その抽出液を遠心分離(12,000rpm, 15min)し、上澄液の色素量を求めた。色素量は赤色系色素の場合には500nm, 黄色系色素の場合には420nmの吸光度を分光光度計(Hitachi, 139型, 10mmのセルを使用)にて測定することにより求めた。

## 実験結果

### 1. 製麴過程における紅麴色素の生成

紅麴の製麴過程における紅麴色素(赤色色素)生成の動向について調べた結果をFig. 1に示した。供試菌株の色素生成量は蒸米の調製法によって著しく増大することがわかった。すなわち、ウルチ米を加圧蒸煮(原料米を浸漬、水切後オートクレーブにて121°C, 20分間処理する方法)して得た米麴の色

## 安田・上地：紅麹菌の生産する色素

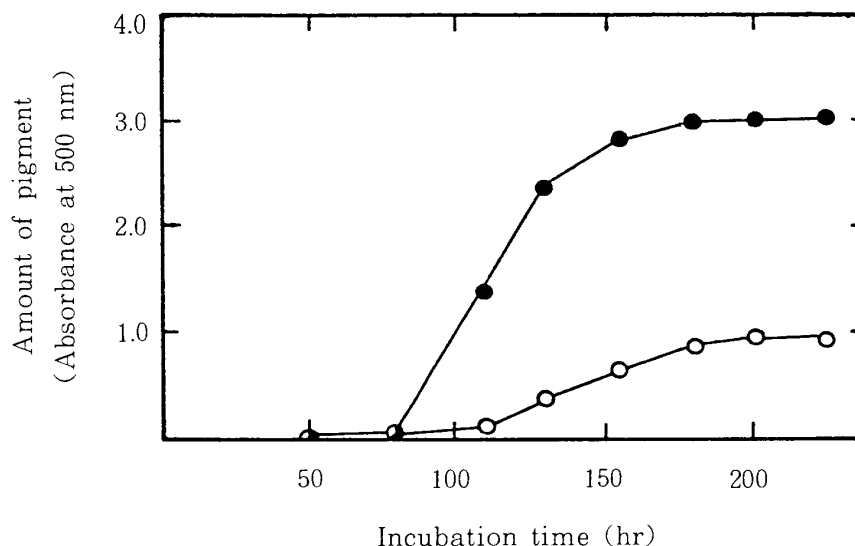


Fig. 1. Time course of the pigment production of Beni koji during cultivation time.

Cultivation was carried out at 32°C for the time indicated. Steamed rice (steaming under atmospheric pressure, —○—, or steaming under pressure, —●—) were inoculated with the seed of *Monascus* sp. No. 3403, and cultured in an incubation box. Koji samples were taken for analysis at the indicated time.

The extraction and analysis of the pigment were carried out as follows: 0.5 g of powdered Beni koji was added to 50 ml of 80% ethyl alcohol solution, and the mixture was occasionally shaken at 25°C for 2 hr in a dark place. The insoluble residue was removed by filtration and centrifugation, and the supernatant thus obtained was used as the crude pigment. The amount of pigment was expressed as the absorbance at 500 nm.

色素は普通蒸煮（原料米を浸漬，水切後蒸器で1時間蒸す方法）によるもの比べて3倍以上も増大した。加圧蒸煮区における紅麹色素の生成量は種麹接種後80時間目以降に急激に増大した。

## 2. 紅麹から紅麹色素を抽出する条件の検討

### (1) 各種溶媒による紅麹色素の抽出

紅麹から紅麹色素を抽出するための各種溶媒の影響を検討し，その結果を Table 1 に示した。本供試菌株の生産する色素は 500nm（赤色系）と 420nm（黄色系）付近に吸収極大を有することから，色素量を両波長でそれぞれ測定した。赤色色素はメチルアルコールで最もよく抽出され，酢酸，エチルアルコール，アセトン，水，酢酸エチル及びエーテルの順に抽出された。しかし，同色素はヘキサンでは全く抽出されなかった。一方，黄色色素においては，酢酸で最もよく抽出され，メチルアルコール，エチルアルコール，アセトン，水，クロロホルム，酢酸エチル，エーテル，ヘキサン及びベンゼンの順に抽出された。酢酸やエチルアルコールでは，420 及び 500 nm における吸光度はほぼ等しく，両色素がよく抽出されることを示している。メチルアルコールやベンゼンでは，500nm における見かけの色素量は 420nm におけるもの比べて高い値を示すが，一方，アセトン，クロロホルム，酢酸エチル，エーテル及びヘキサンでは逆の傾向がみられた。

Table 1. Effect of various solvents on extraction of the pigment from Beni koji

0.5 g of powdered Beni koji was added to 50 ml of various solvents, then the pigment was extracted for 4 hr by the method stated in the legend to Fig. 1. The amount of pigment was expressed as the absorbances at 420 and 500 nm, respectively.

Solvents	Amount of pigment	
	O. D. 420 nm	O. D. 500 nm
Methyl alcohol	1.37	1.99
Acetic acid	1.83	1.88
Ethyl alcohol	1.12	1.20
Acetone	0.61	0.47
Water	0.51	0.38
Chloroform	0.51	0.24
Ethyl acetate	0.33	0.19
Benzene	0.05	0.16
Ethyl ether	0.18	0.07
Hexane	0.06	0

#### (2) エチルアルコール濃度の検討

紅麴色素はメチルアルコールや酢酸で最も効率よく抽出されるが、エチルアルコールでも比較的良好に抽出された（赤色色素：メチルアルコールによる抽出量の60%，黄色色素：酢酸による抽出量の61%，Table 1）。豆腐のような製造には蒸溜酒“泡盛”が用いられること及び食品衛生上安全な色素の抽出溶媒として、ここではエチルアルコールによる紅麴色素の抽出条件を検討した（Fig. 2）。赤色色素の抽出量はエチルアルコール濃度が80%の時に最大の値を示した。また、黄色色素の抽出量も赤色色素の場合と全く同様の傾向を示すことがわかった。

#### (3) 抽出時間の検討

紅麴から色素を抽出するための時間の影響を調べ、その結果を Fig. 3 に示した。色素の抽出は80%エチルアルコール溶液を用いて暗所で各時間行った。赤色及び黄色色素の抽出量はいずれも抽出時間に影響されるが、抽出2時間目で最大の値を示し、それ以上時間を長くしても良好な結果は得られなかった。

#### (4) 抽出温度及び pH の検討

紅麴から色素を抽出するための温度の影響を調べるために80%エチルアルコール溶液で各温度（25，30，40，50，60及び70℃）で2時間、暗所で色素の抽出を行った。色素の抽出量は20～50℃の範囲内では温度の影響を全く受けなかったが、50℃以上では増大した。すなわち、70℃における420及び500 nmの吸光度は室温（25℃）の場合に比べていずれも1.4倍もの高い値を示した。

紅麴から色素を抽出するための溶媒の pH の影響を調べるために各 pH（2-12）に調整した80%エチルアルコール溶液を用いて暗所で2時間抽出を行い、pH 7.0における420及び500 nmの吸光度をそれぞれ100とした時の相対色素量で表わした。色素の抽出量は中性域に比べて酸性域またはアルカリ域でやや高い値を示した。すなわち、pH 2においては420及び500 nmの相対色素量はそれぞれ119%及び113%で、pH 12では、110%及び117%であった。

## 安田・上地：紅麴菌の生産する色素

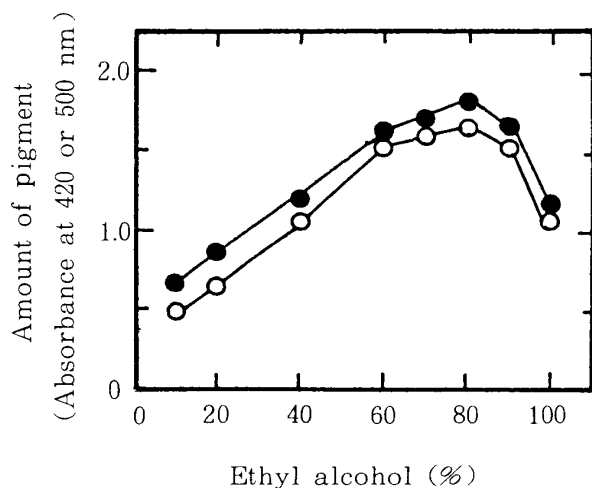


Fig. 2. Effect of ethyl alcohol concentration on extraction of the pigment from the Beni koji.

Absorbances were measured at 420 nm (○) or 500 nm (●), respectively.

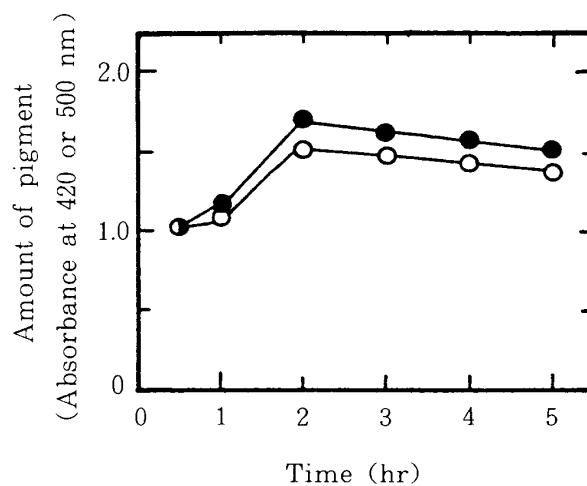


Fig. 3. Effect of time on extraction of the pigment from Beni koji.

Absorbances were measured at 420 nm (○) or 500 nm (●), respectively.

### 3. 紅麴色素の基礎的諸性質

#### (1) pH に対する安定性

80%エチルアルコール溶液で抽出した紅麴色素溶液を各pH (2-12) に調整し、暗所 (25°C) で7日間放置したのちの残存色素量を無処理に対する百分率で表わし、その結果を Fig. 4 に示した。供試色素は pH 2-10 の幅広い範囲内で90%以上、pH 12でさえも約85-90%の残存率を示し、pH に対する安定性が高いことがわかった。なお pH 12における赤色色素の残存率はそれぞれ89及び83%であり、前者のpH安定性は後者のそれに比べてわずかに高いことがわかった。

#### (2) 温度に対する安定性

80%エチルアルコール溶液で抽出した紅麴色素溶液を各温度 (0-70°C) で、2-24時間暗所で加温したのちの残存色素量を無処理に対する百分率で表わし、その結果を Fig. 5 に示した。赤色及び黄色の色素残存率は70°Cで2時間加温しても全く影響を受けなかった。各温度で24時間放置後の色素の残存率を調べたところ、赤色色素では、40°C以上の加温で色素の残存率が低下し始め、70°Cにおいては86%の値を示した。黄色色素においても赤色色素の場合とほぼ同様の傾向を示したが、この場合には、70°C、24時間加温後の色素の残存率は91%であった。従って、黄色色素の温度安定性は赤色色素のそれぞれに比べてわずかに高いことがわかった。

#### (3) 光に対する安定性

80%エチルアルコール溶液で抽出した紅麴色素、特に赤色色素の光安定性を調べるために過酸化水素水、アスコルビン酸をそれぞれ0.01%添加し、蛍光灯下で3,400 luxの光を25°Cで6日間照射した。照射後の残存色素量を無処理に対する百分率で表わした。Fig. 6 から明らかなように、供試色素 (赤色色素) の残存率はいずれの区においても照射時間の影響を受けるが、照射6日後においては無添加区で約50%、過酸化水素水及びアスコルビン酸添加区ではそれぞれ22及び55%であった。

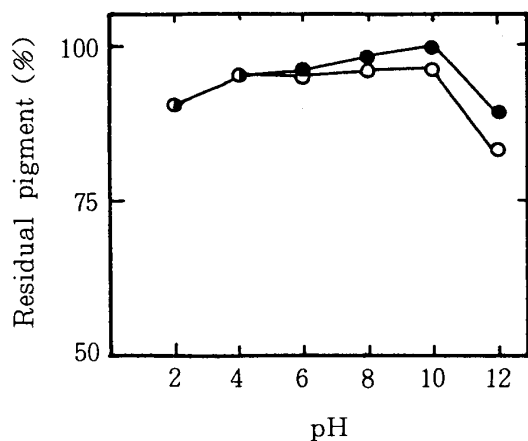


Fig. 4. Effect of pH on stability of the pigment.

Absorbances were measured at 420 nm (○) or 500 nm (●), respectively.

80% エチルアルコール溶液で抽出した紅麴色素 (赤色色素) の安定性に及ぼす金属塩の影響を調べるために色素溶液に各種金属塩 (最終濃度, 10 mM) を添加し, 蛍光灯下で 3,400 lux の光を 25°C で 48 時間照射した。光照射 (48 時間) 後の残存色素量を金属塩無添加に対する百分率で表示した。供試色素の残存率は  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (97%),  $\text{MgCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (100%),  $\text{ZnCl}_2$  (98%),  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (94%) であり, 本色素はこれらの金属塩ではほとんど影響を受けないことがわかった。

#### (4) 食品素材に対する染着性

紅麴色素 (赤色色素) の各種食品素材に対する染着率について調べ, その結果を Table 2 に示した。それによれば, 紅麴の水溶性色素は 80% エチルアルコール可溶性色素に比べて供試食品素材に対する染着率が高いことがわかった。この水溶性色素はミルクカゼインに最もよく染着された (染着率, 67%)。本色素は小麦粉 (36%), 豆腐 (29%), グルテン (28%) には比較的によく染着されたが, 卵アルブミン (10%) に対しては低い染着率を示した。また, 本色素の米に対する染着率は調理することにより増大した。すなわち, 本色素の飯, 粥, 蒸米に対する染着

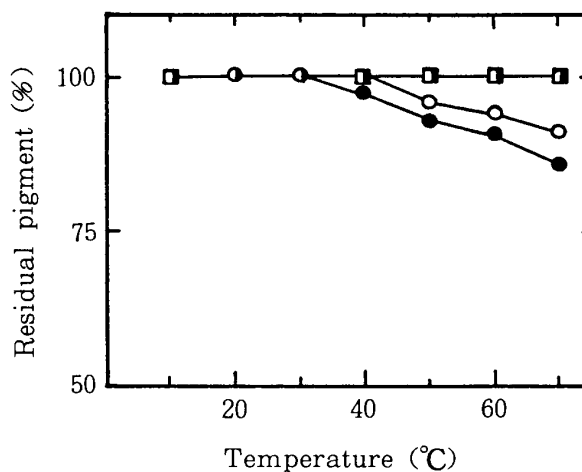


Fig. 5. Effect of temperature on stability of the pigment.

Absorbances were measured at 420 nm (○) or 500 nm (●) after standing for 2 hr. Absorbances were measured at 420 nm (○) or 500 nm (●) after standing for 24 hr.

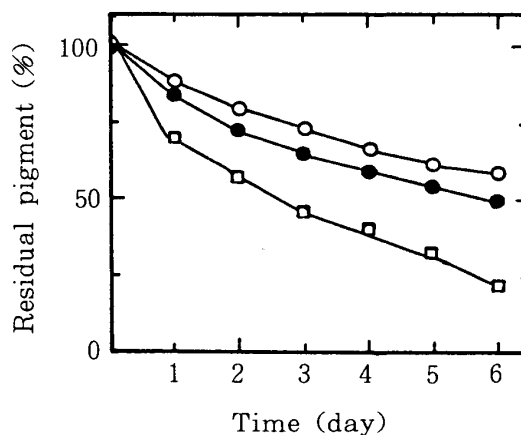


Fig. 6. Effect of ascorbic acid or hydrogen peroxide on photo-stability of the pigment.

After hydrogen peroxide or ascorbic acid was added to the pigment solution (final concentration, 0.01%), the mixture was irradiated with fluorescent lighting (3,400 lux) at 25°C for 6 days. The amount of the residual pigment was expressed as the percentage against that of the reference sample kept in the darkness.

## 安田・上地：紅麴菌の生産する色素

率は生米のそれに比べて3倍も増大した。80%エチルアルコール可溶性色素の染着率は、卵アルブミン(24%)が最も高く、グルテン(14%)、小麦粉(11%)、ミルクカゼイン(9%)の順であり、豆腐に対しては低い値(3%)を示した。また、本色素の飯、粥に対する染着率も低かった。

Table 2. Percentage adsorption of *Monascus* pigment onto various materials.

Into the test tube containing 5 ml of the *Monascus* pigment solution whose absorbance was adjusted to 0.5 at 500 nm of wavelength in 80% ethyl alcohol solution or water, 0.5 g of substance was added, stoppered, and left standing at 28°C in a dark room for 24 hr. The solution was centrifuged and then used for measurement of the absorbance of the supernatant. The amount of adsorption was expressed as the percentage of a decrease in the absorbance with respect to the initial absorbance of the solution used.

Substances	Adsorption of <i>Monascus</i> pigment (%)	
	ethyl alcohol	water
Milk casein	9	67
Egg albumin	24	10
Gluten	14	28
Wheat flour	11	36
Tofu (powder)	3	29
Starch (potato)	0	11
Rice	2	5
Steamed rice	2	14
Cooked rice	3	17
Gruel	3	17

#### 4. 紅麴色素の豆腐ようへの染着

紅麴による豆腐ようの特徴は製品の赤い色調とコクのある風味にある。そこで、豆腐よりの熟成過程における紅麴色素の製品への染着の様子を観察した (Fig. 7)。紅麴の赤色色素は漬込み後2週間目までにかかなり染着(最大時の65%)され、8~12週間目ではほぼ一定の値を示した。製品の外観は漬込み後4週間目で紅赤色で内部は黄どう色を呈し、8週間目までに色調及び風味の良好な製品が得られた。

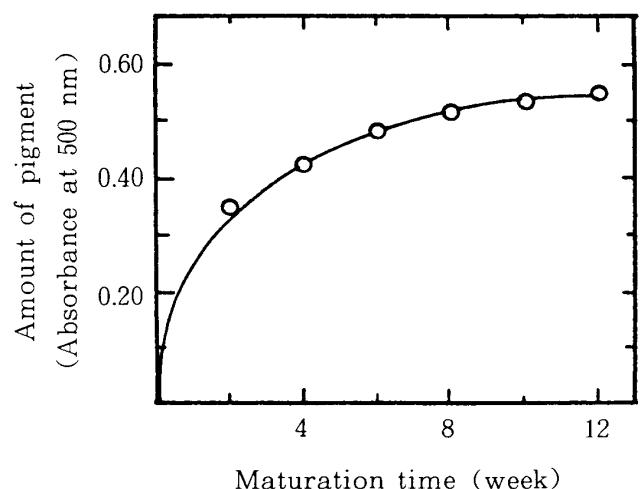


Fig. 7. Adsorption of *Monascus* pigment onto Tofuyo during maturation.



## 考 察

食品の色は味や香りとともに食生活において重要な役割を演じるとともに商品価値を高めるための重要な要素である。本研究では豆腐よう（大豆タンパク質の醗酵食品）の製造に用いる紅麴菌（*Monascus* sp. No. 3403）が生産する色素の性質について検討したのであるが、その目的は同麴菌が生産する色素の化学構造を決定することではなく、豆腐よりの品質の安定化に役立てるための基礎的な知見を得ることである。

本供試菌株の生産する紅麴色素の特性は pH 安定性（pH 2-10 で 7 日間放置後の色素の残存率 90% 以上）、熱安定性（70°C, 24 時間後の色素残存率 86%）に優れていること及びタンパク質に対する染色性（ミルクカゼインで 67% の染色率）が極めて良好であることなどがあげられる。紅麴の水溶性色素は 80% エチルアルコール可溶性色素に比べてその食品素材に対する染色性が極めて高いことが明らかとなった。これは抽出方式の差異により色素-タンパク質複合体<sup>6)</sup> などのような色素成分が何らかの影響を受けたことによるものと思われる。供試色素の光安定性は微量（最終濃度、0.01%）の過酸化水素の添加により低下したが、同濃度のアスコルビン酸の添加によりわずかながら増大した。なお、アスコルビン酸による紅麴色素の保護作用については、効果ありとする報告<sup>15)</sup> や効果なしとする報告<sup>3)</sup> もある。色素類の中には、フラボノイド系の天然色素がアスコルビン酸によってわずかながら退色するものが知られている<sup>11)</sup> が、本供試菌株の生産する紅麴色素の場合にはむしろ呈色の安定化剤として役立った。*Streptomyces propureus* と *Bacillus* sp. との混合培養によって生産されるネオプルプラチン<sup>5)</sup> も同様にアスコルビン酸による色調の保護作用が観察されている。

紅麴色素の呈色の安定化に関しては、豆腐よりの品質の安定化を図る上でも極めて重要であり、今後の研究・開発が期待される。また、供試色素の構成成分を単離・精製し、各成分の基礎的な性質の検討及び分光学的な特性の解明がさらに必要と思われる。

## 要 約

豆腐よりの品質の安定化に役立てる基礎的な知見を得るために紅麴菌における色素の生産条件、抽出条件及びその基本的な諸性質を検討した。供試菌株（*Monascus* sp. No. 3403）の色素生産性はウルチ米を加圧蒸煮して製麴する方法が普通蒸煮法によるものに比べて約 3 倍増大した。紅麴から色素を抽出する溶媒は、赤色系色素ではメチルアルコール、黄色系色素では酢酸が最も抽出効果が高かった。しかし、食品衛生上安全な抽出溶媒としてここではエチルアルコールを選択し、紅麴から色素の抽出条件を検討した。即ち、その色素の抽出は 80% エチルアルコール溶液で約 2 時間行うことにより最大の効果を上げることができた。本色素は pH 安定性（pH 2-10 で 7 日間放置後の色素残存率が 70% 以上）、熱安定性（70°C で 24 時間後の色素残存率が 86%）に優れていた。本色素の光安定性は過酸化水素水の添加により低下したが、アスコルビン酸の添加によりわずかながら増大した。紅麴水溶性色素の食品素材に対する染色性は 80% エチルアルコール可溶性色素のそれに比べて高かった。水溶性色素はミルクカゼイン、小麦粉等に、80% エチルアルコール可溶性色素は卵アルブミン、グルテン等によく染色された。豆腐よりの紅麴色素量は熟成過程に伴って増大するが、漬込み後 8~12 週間目ではほぼ一定の値を示した。

本研究を行うにあたり御助言を賜りました琉球大学農学部農芸化学科故宮里興信教授、当山清善教授及び小波本直忠教授に感謝致します。

## 安田・上地：紅麴菌の生産する色素

## 引用文献

1. Fielding, B. C., Haws, E. J., Holker, J. S. E., Powell, A. D. G., Robertson, A., Stanway, D. N. and Whalley, W. B. 1960 Monascorubrin, *Tetrahedron Letters* **5**: 24~27.
2. Haws, E. J., Holker, J. S. E., Kelly, A., Powell, A. D. G. and Robertson, A. 1959 The Chemistry of Fungi, Part XXXVII. The structure of rubropunctatin, *J. Chem. Soc.*, 3598-3610.
3. 廣井忠夫, 嶋梯子 1979 微生物による食用色素の生産—紅麴菌を例として, 日本農芸化学会昭和54年度関東支部大会講演要旨集, シンポジウム「食用天然色素をめぐる最近の話題」p. 10-12.
4. Hiroi, T., Shima, T., Suzuki, T., Tsukioka, M. and Ogasawara, N. 1979 Hyperpigment-productive mutant of *Monascus anka* for solid culture, *Agric. Biol. Chem.*, **43**: 1975-1976.
5. 今田勝美, 大島正志, 吉田孝則, 安田 侃, 吉野秀一郎 1983 微生物の産生する赤紫色物質ネオプルプラチンの食用色素としての評価, *日食工誌*, **30**: 270-275.
6. 石綿 肇, 渡辺美知子, 谷村顕雄 1974 紅麴色素の衛生化学的研究(第1報) タンパク分解酵素による紅麴色素—タンパク結合体の分解, *食衛誌*, **15**: 36-42.
7. Kumasaki, S., Nakanishi, K., Nishikawa, E. and Ohashi, M. 1962 Structure of monascorubrin, *Tetrahedron* **18**: 1171-1184.
8. Lin, C. F. and Iizuka, H. 1982 Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp. nov., *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**: 671~676.
9. Manchand, P. S., Whalley, W. B. and Chen, F.-C. 1973 Isolation and structure of ankaflavin: a new pigment from *Monascus anka*, *Phytochem.*, **12**: 2531-2532.
10. 宮里興信, 安田正昭, 上地玄作 1980 沖縄における豆腐饅頭の製造に関する研究, *琉大農学報*, **27**: 103-108.
11. 元田節士 1982 ポリフェノールオキシダーゼ処理によるフラボノイド系天然色素の製造, *日食工誌* **29**: 25-30.
12. 西川英次郎 1926 紅麴菌の色素に就て, *農化誌*, **2**: 68.
13. 西川英次郎 1932 糸状菌の生化学(其の一) 紅麴菌(*Monascus purpureus* Went)の色素, *農化誌*, **8**: 1007-1015.
14. Salomon, J. and Karrer, P. 1932 Ein Farbstoff aus "roten" Reis, *Monascin*, *Helv. Chim. Acta*, **15**: 18-22.
15. 蘇 遠志 1975 紅麴菌の性質及びその利用について, *醸協誌*, **33**: 28-36.
16. 安田正昭, 上地玄作, 宮里興信 1983 豆腐饅頭製造に用いる紅麴の製造, *日食工誌*, **30**: 63-67.
17. 安田正昭 1983 豆腐ようとう紅麴(2), *醸協誌*, **83**: 912-915.
18. 安田正昭, 外間郁夫 1984 豆腐よう製造に用いる原料豆腐の製造, *日食工誌*, **31**: 19-23.
19. Yasuda, M., Soeishi, K. and Miyahira, M. 1984 Purification and properties of acid protease from *Monascus* sp. No. 3403, *Agric. Biol. Chem.*, **48**: 1637-1639.
20. 安田正昭, 桑江みさお 1984 紅麴菌(*Monascus* sp.)のグルコアミラーゼ, *生化学*, **56**: 515
21. Yoshimura, M., Yamanaka, S., Mitsugi, K. and Hirose, Y. 1975 Production of *Monascus*-pigment in a submerged culture, *Agric. Biol. Chem.*, **39**: 1789-1795.