

紅麹サプリメントにおけるプベルル酸汚染の原因究明について

衛生微生物部

吉成知也[#]

Mechanism of puberulic acid contamination in red yeast rice tablets

Tomoya Yoshinari[#]

In March 2024, serious food poisoning among individuals who took supplement tablets for lowering plasma cholesterol levels have been publicized. The tablets were prepared from beni-koji, a product of *Monascus pilosus*. Because this fungus produces monacolin K, which inhibits an enzyme involved in the cholesterol biosynthesis pathway, the tablets have been taken by patients with hypercholesterolemia to reduce plasma cholesterol levels. To identify the causes of the food poisoning, the manufacturer of beni-koji conducted a nontargeted analysis and found an unexpected compound, puberulic acid (PA), in tablets that caused food poisoning. We conducted an on-site investigation at the beni-koji production factory to determine the cause of PA contamination of the tablets. Fungi capable of producing PA were detected in wipe samples from the factory and were identified as *Penicillium adametzioides*. To understand the route through which *P. adametzioides* contaminated beni-koji and produced PA, coculture experiments with *M. pilosus* and *P. adametzioides* were performed. In some co-culture conditions, *P. adametzioides* grew on rice medium with *M. pilosus* and produced PA. These results suggest that PA-producing *P. adametzioides* inhabited the beni-koji production factory and accidentally contaminated the culture of *M. pilosus*. Consequently, the tablets contaminated with PA were manufactured and caused the food poisoning outbreak.

Keywords: beni-koji, puberulic acid, *Monascus pilosus*, *Penicillium adametzioides*

1. はじめに

2024年3月下旬、紅麹を原料とするサプリメント錠剤の摂取により、腎機能障害、疲労、排尿異常などの健康被害が生じていることが紅麹の製造会社による記者会見で公表された。紅麹は、日本を含む東アジア諸国で食品や食品添加物として使用されている発酵製品である¹⁾。紅麹の製造には、赤色色素を産生菌するかびである *Monascus pilosus* が用いられた。このかびは、コレステロールの生合成経路に関与する酵素を阻害するモノコリンKを産生するため、紅麹サプリメントは血漿中のコレステロール値を低下させるために高コレステロール血症

の患者に服用されてきた²⁾。

健康被害の原因を特定するため、紅麹の製造者が網羅的解析を行った結果、保管中の紅麹の一部ロットから想定外の化合物が検出された。さらに分析を進めた結果、この化合物が検出されたロットは健康被害に関連したロットと一致し、*Penicillium* 属の菌が産生する二次代謝産物であるプベルル酸 (PA) と同定された。

PAは、トウモロコシの病原菌である *Penicillium puberulum* の培養物から初めて単離された³⁾。北里大学の研究グループによる、抗マラリア薬のリード化合物としてのPAに関する研究以外には、PAの生物活性に関する報告はほとんどなく、ヒトにおける毒性は不明であった⁴⁾。健康被害の発生を受けて急遽実施されたラットを用いたPAの7日間反復経口投与毒性試験の結果、腎臓で近位尿細管上皮細胞の変性が観察された。この結果より、紅麹サプリメントへのPAの混入が健康被害の原因と考えられた。

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tomoya Yoshinari; Division of Microbiology, National Institute of Health Sciences, 3-25-26, Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki, Kanagawa 210-9501, Japan; Tel +81-44-270-6574; E-mail: t-yoshinari@nihs.go.jp

衛生微生物部においては、これまで食品を汚染する様々なかびやかび毒の研究を行ってきた。その経験を活かし、サプリメントにおけるPA混入の原因究明を担当することとなった。しかし、PA及びその産生菌については扱ったことが無く、全てが手探り状態であった。本特論においては、健康被害発生から約半年の間に我々がやってきた試験研究について述べさせていただく。

2. PA産生菌の探索

1) 紅麹製造工場の立ち入り調査

紅麹の製造元による調査の結果、近畿地方中央部に位置する工場Aにて2023年の中頃に製造されたロットの一部からPAが検出された。2023年末には工場Aは閉鎖され、製造設備は近畿地方南部に位置する工場Bに移されていた。そのため、2024年3月に紅麹サプリメントの摂取による健康被害が公表された時には、工場AはPAが混入した紅麹が製造された時と同じ状態ではなかった。我々は、紅麹にPAが混入した原因を明らかにするため、2024年4月の段階で製造設備が稼働していた工場Bで現

地調査を行った。工場内の製造エリアは、前培養を行う培養室、本培養を行うタンクを回転させる設備のある大部屋、培養後の紅麹を乾燥させる部屋、分析を行う部屋から構成されていた。それぞれの部屋において、床や機械設備などの表面を細菌検査用の綿棒で拭い、計29の検体を採取した。翌日、国立医薬品食品衛生研究所に戻り、すぐに検体をかびの生育用の寒天培地に塗布した。培養6日後には、検体によっては数多くのかびのコロニーが出現した。図1に代表的な培養プレートを示した。冷蔵庫の上部の拭き取り検体では、*Penicillium*属様と酵母様のコロニーが多数出現した（図1A）。クリーンベンチの上部の拭き取り検体からは、*Penicillium*属様と*Aspergillus*属様のコロニーが多数出現した（図1B）。本培養を行う大部屋に設置してあったタンク用ラックの拭き取り検体からは、*M. pilosus*と*Penicillium*属様のコロニーが出現した（図1C）。29の検体のうち、14検体において*M. pilosus*以外の環境由来の真菌が検出された。過去の報告より、*Penicillium*属がPAの産生菌であると考えられたため、*Penicillium*属と推定される

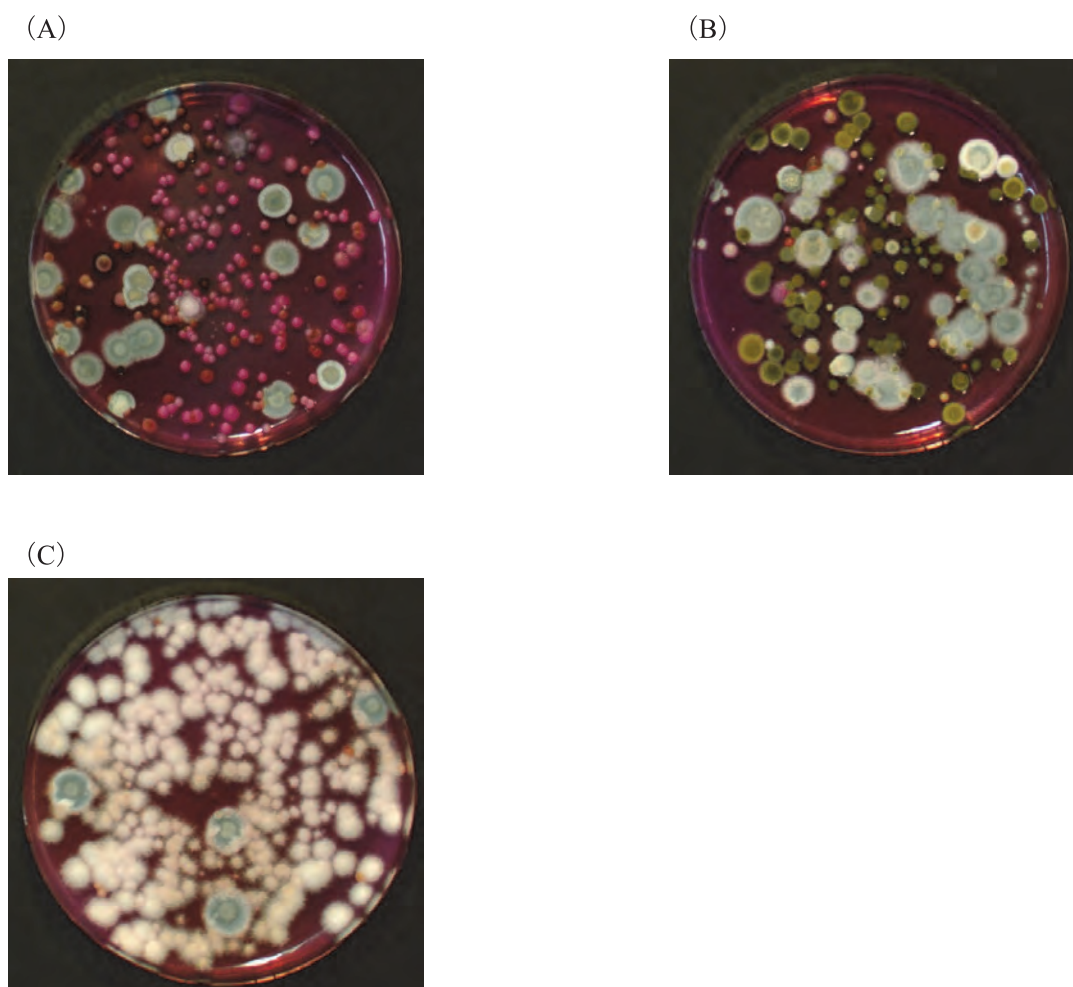
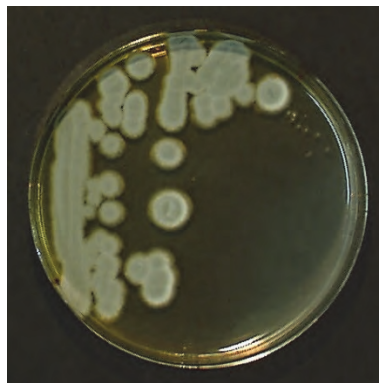


図1 工場Bの培養室の冷蔵庫上部（A）、検査室のクリーンベンチ上部（B）、培養用タンクのラック下部（C）から採取した拭き取り検体の培養結果

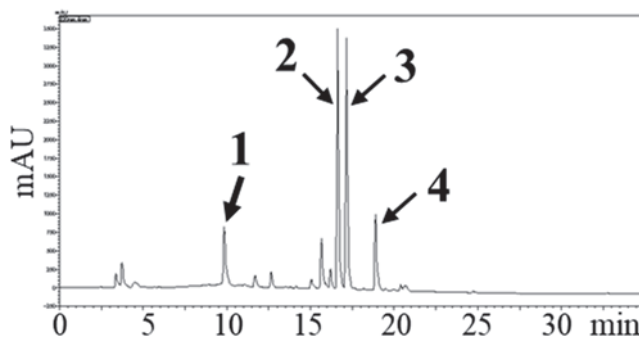
コロニーを分離した。得られた分離株について、PA産生能の有無を調べるために培養を行った。*Penicillium* 属真菌のPA生産を確認する方法については、参考となる報告は無かったため手探り状態であった。かび毒を高生産させることがこれまでの研究で確認されていた液体培地に加えて、米から製造される紅麴で汚染が起きたという事象を踏まえ、米培地（米を滅菌しただけのもの）も用いた。結果を迅速に出してほしいという厚生労働省からの要望があり、5日間というかびの培養期間としては短い時間で培養を終了し、培養物から代謝物を抽出し、分析を行った。その結果、一部の分離株の米培地培養物からPAが検出された。私のこれまでの経験では、かびによっては目的の代謝物を産生する条件を見出すのにかなりの時間を要することがあった。今回、かび毒の産生条件がすぐに見つかったのは非常に幸運であり、今後の解析が非常にスムーズに進んだ。計17株の

*Penicillium*様の単離株のうち、10株の米培地培養物中にPAが検出された。PAを産生したかびの寒天プレート上での培養像、及び米培地培養物のHPLCクロマトグラムの代表例を図2に示した。PAが検出された培養物の全てにおいて、PAの他に共通の主要な3種のピークが認められた。次に、分離株の系統分類を行った。各分離株の β -チューブリン遺伝子の部分塩基配列と顕微鏡下における形態観察の結果を組み合わせた結果、分離されたPA産生株は全て基準株である*Penicillium adametzioides* CBS 313.59と単系統群を形成した。また、閉鎖された工場Aにおいて紅麴の製造元が分離したPA産生菌E-6-2と菌株の保存機関から入手した*P. adametzioides* IFM68223も同じ分岐群に含まれた⁵⁾。これらの結果より、工場Aと工場Bから分離されたPA産生菌株はすべて*P. adametzioides*と同定された。

(A)



(B)



- 1: puberulic acid
- 2: aspergillusol A
- 3: lapatin A
- 4: glyantrypine

図2 拭き取り検体から分離されたPA産生性*Penicillium adametzioides*の寒天培地における培養像 (A) と米培地における培養物のHPLCクロマトグラム (B)

2) *P. adametzioides*について

現在までに*Penicillium*属のかびは多数分離同定されている。有名な種としてはペニシリンを産生する*Penicillium chrysogenum*、チーズの生産に用いられる*Penicillium galaeum*, *Penicillium roqueforti*, かび毒の1種パツリンを産生する*Penicillium expansum*などであり、*P. adametzioides*は研究報告の少ない非常に無名な種である。*P. adametzioides*の最初の論文報告は、1956年に日本の研究者によってなされた⁶⁾。その後、韓国、イタリアなどの研究グループから、ブドウやザクロなどの腐敗した果実からの分離の報告がなされた^{7,8)}。*P. adametzioides*が産生する二次代謝産物に関する報告は限られている。最近では中国の研究グループにより、海綿から分離された*P. adametzioides* AS-53株の代謝物について報告がなされた。AS-53株はキナゾリン骨格を有する化合物やジケトピペラジン誘導体など多様な代謝物を産生する⁹⁾。我々が紅麹の製造工場から分離した*P. adametzioides*は、PAの他にチロシン誘導体のaspergillusol Aやキナゾリン骨格を有するlapatin Aとglyantrypineを産生した⁵⁾。Lapatin AとglyantrypineはAS-53株も産生するが、PAとaspergillusol Aの産生は報告されていない。培養条件が違うので考察は困難であるが、日本で我々が分離した*P. adametzioides*は、中国の分離株と性質が異なる可能性がある。一方、千葉大学真菌医学研究センターで保存されている*P. adametzioides* IFM 68223は、2022年に日本においてヒトの肺検体から分離された株であるが、我々が紅麹製造工場から分離した株と同様にPA, aspergillusol A, lapatin A及びglyantrypineを産生した。分子系統解析の結果において、製造工場から分離された*P. adametzioides*とIFM68223は同一の分岐群に含まれたことから、両株の性質は非常に類似しており、これらPA産生性を有する*P. adametzioides*が日本に分布している可能性が考えられた。

3. 紅麹へのPA混入機構の解析

次に、紅麹製造工場から分離されたPA産生性の*P. adametzioides*が紅麹のPA汚染をどのようにして引き起こしたのか、その原因の究明に取り組んだ。紅麹製造工場における紅麹米の生産工程は、大きく分けて3段階からなる。第1段階は前培養で、紅麹を粉碎して米粉状にしたものを水に懸濁した液体紅麹米粉培地に*M. pilosus*を接種し、振盪培養により増殖させる。第2段階は本培養で、米を加えた本培養用のタンクを滅菌後に前培養液を加え、長期間培養を行い紅麹を生産する。培養の途中において、加水やモノコリンの産生量の確認のためのサンプリングが行われた。第3段階は培養後の処理で、本

培養終了後にタンクごと滅菌を行う。その後、紅麹を乾燥、粉碎し、袋詰めして別の工場に出荷し、錠剤化を行う。これら生産工程を踏まえ、*P. adametzioides*の混入経路を想定したモデル系を用いた*M. pilosus*と*P. adametzioides*の共培養試験を実施した。紅麹の生産工程と共培養試験の概要を図3に示す。

1) 前培養段階における混入を想定した試験

前培養で用いられた液体培地による培養時の*P. adametzioides*混入を想定したモデル試験を実施した。*M. pilosus*については 10^4 又は 10^6 コロニー形成単位(cfu)の胞子を、*P. adametzioides*は100 cfuの胞子を米粉から調製した液体培地に添加し、振とう培養を行った。5日間の培養の後、100 cfuの*P. adametzioides*のみを接種した液体培地は蛍光色の黄色に(図4 A ID : I)、 10^4 cfuの*M. pilosus*のみを接種した液体培地は紅色に染まった(図4 A ID : II)。増殖したそれぞれのかびが培地中で色素を産生したと考えられる。一方で、100 cfuの*P. adametzioides*と 10^4 cfuの*M. pilosus*を同時に接種した液体培地は、それぞれのかびを単独で接種した時とは異なり薄い橙色となった(図4 A ID : III)。また、 10^6 cfuの*M. pilosus*を接種した液体培地は、*P. adametzioides*の接種の有無にかかわらず、暗赤色となった(図4 A ID : IVとV)。米粉から調製した液体培地は濁っているため、目視でかびの生育が確認できなかった。そこで、培養液を寒天培地に移して培養することにより、いずれのかびが生育しているかを調べた。100 cfuの*P. adametzioides*と 10^4 cfuの*M. pilosus*を同時に接種した液体培地を添加した寒天培地では、*P. adametzioides*のみのコロニーが出現した(図4 B 左)。100 cfuの*P. adametzioides*と 10^6 cfuの*M. pilosus*を同時に接種した液体培地を添加した寒天培地では、*P. adametzioides*と*M. pilosus*の2種のコロニーが出現した(図4 B 右)。この結果より、米粉から調製した液体培地中では*M. pilosus*と*P. adametzioides*は共存して増殖することが明らかとなった。

このように前培養の過程で*P. adametzioides*の混入が生じた場合、続く本培養においても*P. adametzioides*の増殖が生じる可能性があるかを調べた。紅麹の生産工程における本培養は、酸性化した米培地で行われていた。一般的に、*Penicillium*属真菌や*Monascus*属真菌は中程度の酸性条件には耐えるが、酢酸を含む酸性溶液で培地のpHを下げると、*M. pilosus*は培地上で選択的に増殖することが報告されている¹⁰⁾。紅麹生産工程における他の微生物による汚染は、*M. pilosus*のこの性質を利用することで防止されてきたと考えられる。本培養のモデル試験には、塩酸と酢酸の混合液により酸性化した米培地を

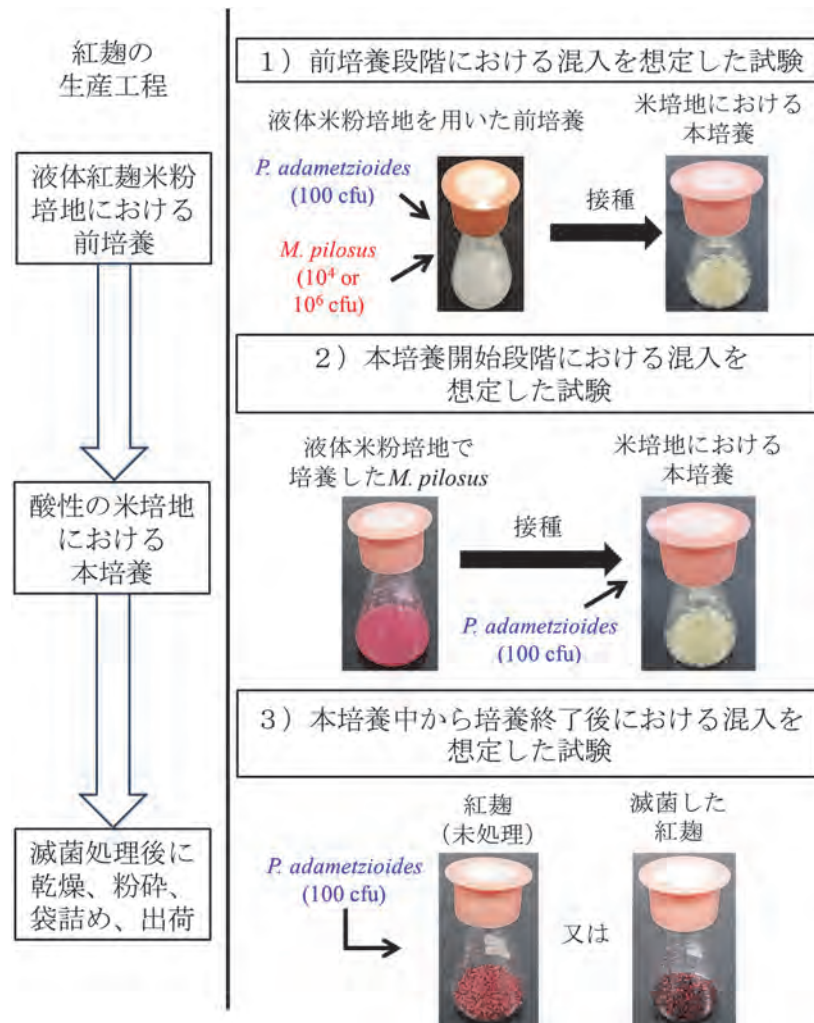


図3 紅麹の生産工程と各工程を反映した共培養試験の概要

紅麹は左側に示した工程で生産された。この工程を踏まえ、*Penicillium adametzoides*の3パターンの汚染経路を想定し、*Monascus pilosus*との共培養試験を行った。一つ目の試験は、前培養段階における混入を想定したもので、*M. pilosus*と*P. adametzoides*の孢子懸濁液を液体米粉培地に添加した。その後、本培養に使用した米培地に接種した。二つ目の試験は、本培養開始段階における混入を想定したもので、液体米粉培地で培養した*M. pilosus*の培養液を、*P. adametzoides*の孢子懸濁液とともに米培地に接種した。三つ目の試験は、本培養中から本培養終了後における混入を想定したもので、*P. adametzoides*の孢子懸濁液を未処理又はオートクレーブ滅菌した紅麹にそれぞれ接種した。

用いた。*P. adametzoides*のみを接種して培養した液体培地を酸性化した米培地に添加して培養した結果、*P. adametzoides*は生育できなかった(図4C ID:I)。*P. adametzoides*とは異なり、*M. pilosus*は酸性化した米培地上でも生育した(図4C ID:IIとIV)。4種類の共培養の培養液をそれぞれ酸性化した米培地に添加したところ、9日間の培養期間では*M. pilosus*のみが増殖した(図4C ID:IIIとV)。培養を16日間続けた結果、一部の検体で*P. adametzoides*が増殖し、紅麹米は緑色の孢子で覆われた(図4D ID:III右)。この検体から抽出液を調製し、分析した結果PAが検出された。*M. pilosus*が酸性化した米培地で生育することで、培地のpHが上昇した可能性がある。その後、生き残っていた*P. adametzoides*

が*M. pilosus*の菌体の上から増殖し、PAを産生したと考えられた。

2) 本培養開始段階における混入を想定した試験

米粉から調製した液体培地を用いた前培養によって増殖した*M. pilosus*を、固体の米培地に接種して本培養を開始する際の*P. adametzoides*混入を想定したモデル試験を実施した。液体培地で十分に増殖させた*M. pilosus*の培養液と*P. adametzoides*の孢子懸濁液(100 cfu)を同時に米培地に接種して培養を行った。まずは酸性化を行わない中性の米培地を用いた。中性米培地に*P. adametzoides*を100 cfu添加すると7日目には緑色の孢子で米が覆われた(図5A ID:I)。*M. pilosus*を増殖さ

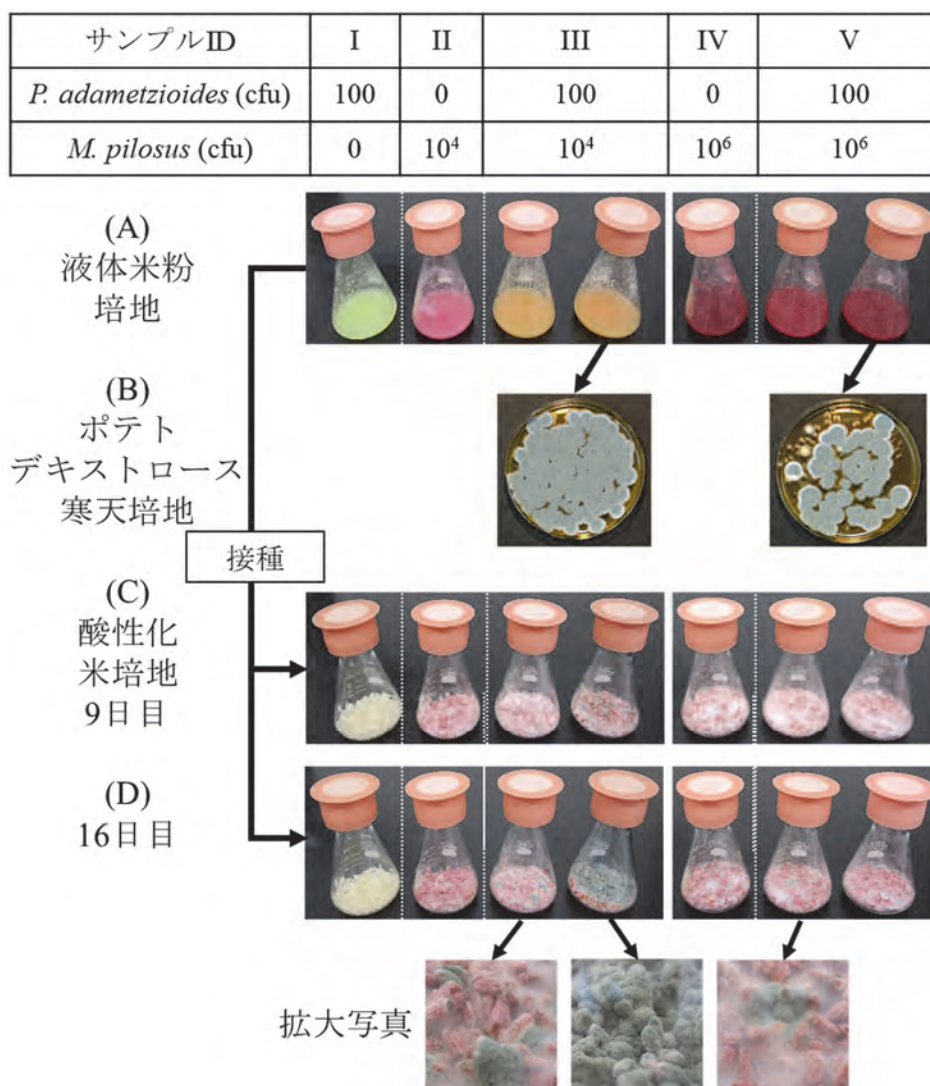


図4 前培養段階における混入を想定した共培養試験の結果

(A) *Monascus pilosus*及び*Penicillium adametzioides*の孢子懸濁液を、液体米粉培地に添加した。各培地に添加した孢子懸濁液のcfuは上部の表に記載した。サンプルID IIIとVについては、それぞれ2検体ずつ調製した。(B) 5日間の培養後、培養液の一部をポテトデキストロース寒天培地に接種し、8日後に観察した。(C) 液体米粉培地の培養液を酸性化した米培地に接種し、9日又は16日後に観察した。16日後のサンプルについては拡大写真も示した。

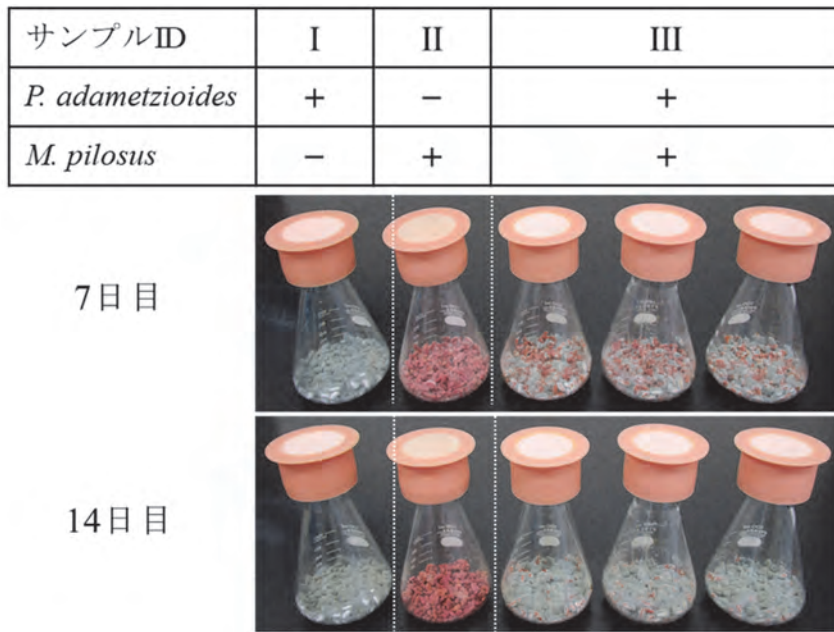
せた培養液を接種した米培地では、紅麹が産生された(図5 A ID: II)。両かびを添加して共培養を行った米培地では、7日目には2種とも培地上で生育して緑色と赤色の部分がまだらであったが、14日目には*P. adametzioides*の緑色の孢子が米培地を覆った(図5 A ID: III)。培養開始時の*P. adametzioides*の菌体量は*M. pilosus*よりもはるかに少なかったにもかかわらず、最終的に*P. adametzioides*が米培地上で優勢となる結果となり、米培地における*P. adametzioides*の生育速度の大きさには目を見張るものがあった。次に、酸性化した米培地で同様の試験を実施した。前述の1)の試験結果と同様に、*P. adametzioides*は酸性化した米培地では生育できなかったが(図5 B ID: I)、*M. pilosus*は培地上に菌糸を

伸長させた(図5 B ID: II)。共培養を行った米培地では、*M. pilosus*の増殖のみが観察された(図5 B ID: III)。中性の米培地では著しい速さで*P. adametzioides*は生育するが、米培地が酸性化され、かつ初期の菌数が少ないと*M. pilosus*より優勢にはならなかった。

3) 本培養中から培養終了後における混入を想定した試験

紅麹を製造するためにタンクで長期間の本培養が行われていた。その期間にタンクを開けて実施されるサンプリング時や、本培養終了後の滅菌乾燥工程以降に*P. adametzioides*の混入が生じることを想定したモデル試験を実施した。*M. pilosus*を固体の米培地に接種し、2

(A)



(B)

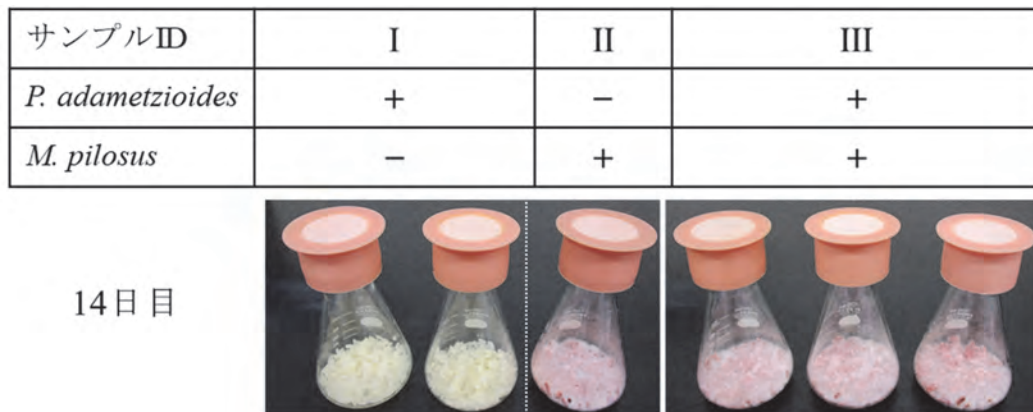


図5 本培養開始段階における混入を想定した共培養試験の結果

(A) *Penicillium adametzioides*の孢子懸濁液と*Monascus pilosus*の液体米粉培地における培養液を、上部の表に従って中性の米培地に接種した。サンプルID IIIについては、3検体調製した。7日間及び14日間の培養後に観察した。(B) *P. adametzioides*の孢子懸濁液と*M. pilosus*の液体米粉培地における培養液を、上部の表に従って酸性化した米培地に接種した。サンプルID I及びIIIについては、それぞれ2及び3検体を調製した。14日間の培養後に観察した。

週間培養することによって紅麹を調製した。そこに100 cfuの*P. adametzioides*の孢子を接種し、培養を続けた。*P. adametzioides*の生育が14日間では認められなかったため、さらに培養を続けた(図6 A)。35日目においても目視では*P. adametzioides*の生育はわからなかったが、顕微鏡で観察するとわずかながら緑色の孢子に覆われた紅麹が認められた(図6 B)。また、紅麹をオートクレーブ処理により滅菌した後に100 cfuの*P. adametzioides*の孢子を接種して同様に培養を行った。その結果、14日後には紅麹は緑色の*P. adametzioides*の

孢子に覆われ、PAの産生も認められた(図6 C)。しかし、オートクレーブ後に十分に乾燥を行った紅麹においては、*P. adametzioides*は生育できなかった(図6 D)。この結果より、ある程度培養が進んだ紅麹に対してわずかに*P. adametzioides*が混入したとしても生育は出来ないこと、及び*M. pilosus*が死滅しており、乾燥が不十分であったならば紅麹に覆われた米の上からでも*P. adametzioides*は生育し、PAを産生することが明らかとなった。

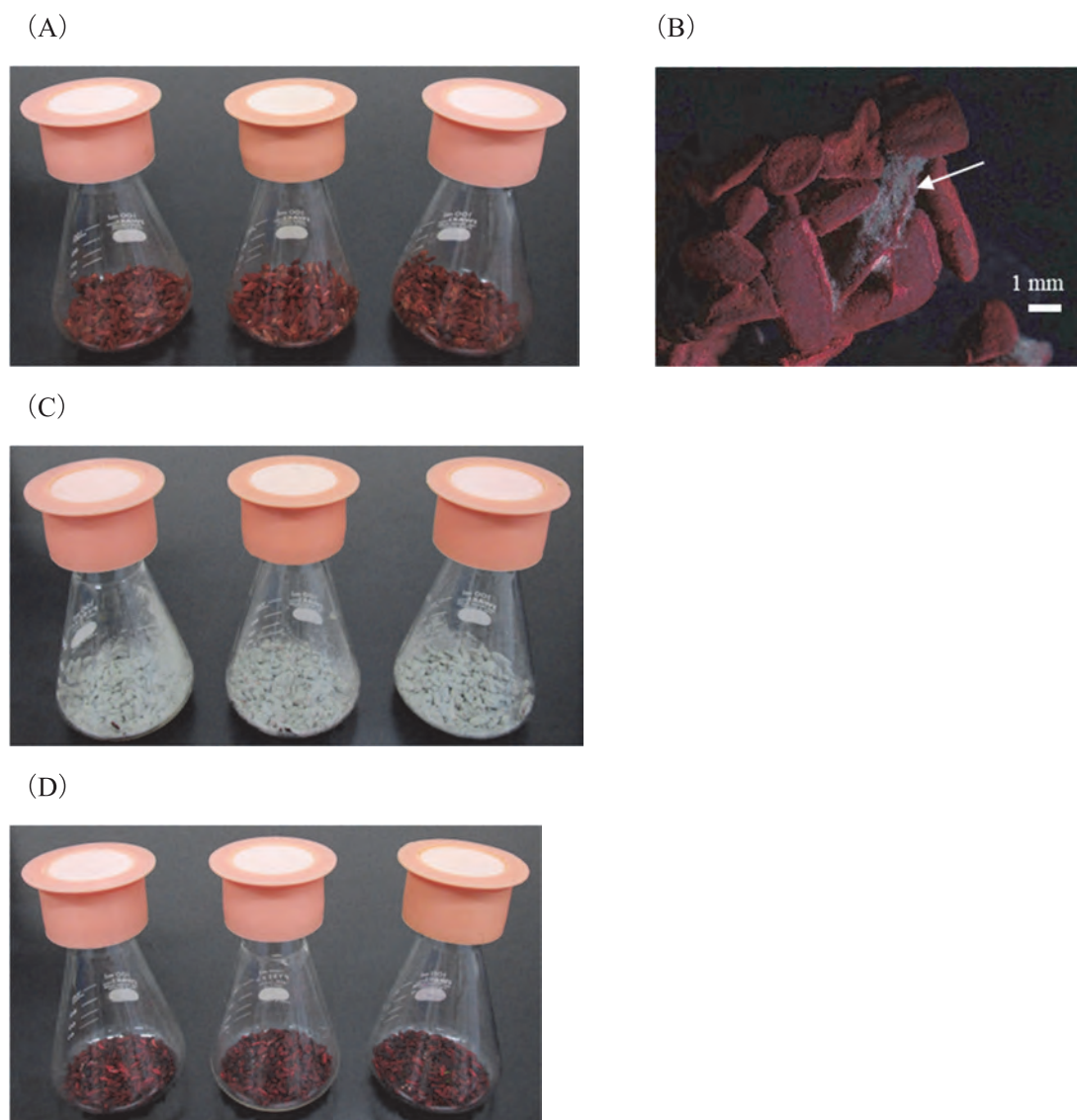


図6 本培養中から培養終了後における混入を想定した共培養試験の結果

(A) 紅麹に*Penicillium adametzioides*の孢子懸濁液を接種し、14日間培養後に観察した。(B) 35日間の培養後に実体顕微鏡で観察した。白い矢印は、紅麹に付着した*P. adametzioides*の孢子を示す。*P. adametzioides*の孢子懸濁液を、オートクレーブ処理した紅麹 (C) とオートクレーブ処理後に乾燥した紅麹 (D) にそれぞれ接種した。14日間の培養後に観察した。各実験は3連で行った。

4. まとめ

紅麹サプリメントにおけるPA汚染の原因を究明するために、まずは紅麹の製造工場に生息するかびの調査を行った。その結果、工場の様々な箇所の拭き取り検体からPAを生産する*P. adametzioides*株が分離された。次に、この株が紅麹のPA汚染を引き起こした機構を調べるために、*M. pilosus*と*P. adametzioides*の共培養試験を実施した。工場から分離された*P. adametzioides*は、前培養段階における混入を想定した試験、本培養開始段階における混入を想定した試験において中性の米培地を用いて場合、本培養中から培養終了後における混入を想定した試験において、滅菌した紅麹に混入させた場合と

いった複数の培養条件において*M. pilosus*とともに生育し、PAを産生した。紅麹の製造工場では、本培養は巨大なタンクで行われており、本実験で使用した小さな三角フラスコ内の培養条件とは大きく異なる。そのため、*P. adametzioides*の混入経路を今回実施した共培養試験の結果のみから特定することは困難であるが、紅麹におけるPA汚染の原因が紅麹の製造工場に生息していた*P. adametzioides*であること、及び紅麹の生産工程における*P. adametzioides*の混入は、前培養の開始から本培養後までのいずれかの時点で発生した可能性が明らかとなった。PAを産生する*P. adametzioides*の自然環境における分布実態やPAの流通食品における汚染実態など、

今回の食中毒事故の再発を防ぐための研究に現在取り組んでいる。

謝辞

本稿で紹介した内容の一部は、厚生労働省科学研究費補助金（22KA2001）による研究事業にて実施されました。また、研究遂行におきましてご協力・ご助言をいただきました衛生微生物部長大西貴弘氏、同部室長渡辺麻衣子氏、同部第四室の皆様にご心より感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Fukami H, Higa Y, Hisano T, Asano K, Hirata T, Nishibe S: A review of red yeast rice, a traditional fermented food in Japan and East Asia: Its characteristic ingredients and application in the maintenance and improvement of health in lipid metabolism and the circulatory system. *Molecules*. 2021;26:1619. doi: 10.3390/molecules26061619
- 2) Cicero AFG, Fogacci F, Stoian AP, Toth PP: Red yeast rice for the improvement of lipid profiles in mild-to-moderate hypercholesterolemia: A narrative review. *Nutrients*. 2023;15:2288. doi: 10.3390/nu15102288
- 3) Birkinshaw JH, Raistrick H: Studies in the biochemistry of micro-organisms: Puberulic acid $C_8H_6O_6$ and an acid $C_8H_4O_6$, new products of the metabolism of glucose by *Penicillium puberulum* Bainier and *Penicillium aurantio-virens* Biourge. With an appendix on certain dihydroxybenzenedicarboxylic acids. *Biochem J*. 1932;26:441-453. doi: 10.1042/bj0260441
- 4) Iwatsuki M, Takada S, Mori M, Ishiyama A, Namatame M, Nishihara-Tsukashima A, Nonaka K, Masuma R, Otoguro K, Shiomi K, Omura S: *In vitro* and *in vivo* antimalarial activity of puberulic acid and its new analogs, viticolins A-C, produced by *Penicillium* sp. FKI-4410. *J Antibiot*. 2011;64:183-8. doi: 10.1038/ja.2010.124
- 5) Yoshinari T, Watanabe M, Aoki W, Tanaka S, Masumoto N, Ito M, Ohnishi T: Mechanism of puberulic acid contamination in red yeast rice tablets that caused a serious food poisoning outbreak in Japan. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2025;101:302-16. doi: 10.2183/pjab.101.017
- 6) Abe S: Studies on the classification of the *Penicillia*. *J Gen Appl Microbiol*. 1956;2:1-194. doi: 10.2323/jgam.2.195
- 7) Deng JX, Paul NC, Sang HK, Lee JH, Hwang YS, Yu SH: First report on isolation of *Penicillium adametzioides* and *Purpureocillium lilacinum* from decayed fruit of Cheongsoo grapes in Korea. *Mycobiology*. 2012;40:66-70. doi: 10.5941/MYCO.2012.40.1.066
- 8) Quaglia M, Moretti C, Cerri M, Linoci G, Cappelletti G, Urbani S, Taticchi A: Effect of extracts of wastewater from olive milling in postharvest treatments of pomegranate fruit decay caused by *Penicillium adametzioides*. *Postharvest Biol Technol*. 2016;118:26-34. doi: 10.1016/j.postharvbio.2016.03.012
- 9) Liu Y, Li XM, Meng LH, Wang BG: (2014) *N*-Formyllapatin A, a new *N*-formylspiroquinazoline derivative from the marine-derived fungus *Penicillium adametzioides* AS-53. *Phytochem Lett*. 2014;10:145-8. doi: 10.1016/j.phytol.2014.08.018
- 10) Tarui S, Kadoya T, Tanabe N: inventor; Gunze Ltd, assignee. Production of 'benikoji' using rice as raw material for producing koji. Japan patent JPH01171476A. 1989.