

ノンターゲットGC/MSによる 清酒の「押し味」のモデル化

玉田 佳大^{1*}・樺島 文恵²・櫻井 昌文²・徳井 美里¹
山下 伸雄¹・窪寺 隆文¹・明石 貴裕¹

¹白鶴酒造株式会社・²LECOジャパン合同会社

(2017年11月24日受付 2018年2月20日受理)

Modeling the *Oshi-aji* intensity of sake using the component profile obtained from GC/MS-based non-targeted analysis

Yoshihiro Tamada^{1*}, Fumie Kabashima², Masafumi Sakurai², Misato Tokui¹, Nobuo Yamashita¹, Takafumi Kubodera¹, Takahiro Akashi¹ (*Hakutsuru Sake Brewing Coporation., Ltd., 4-5-5, Sumiyoshiminami-machi, Higasinada-ku, Kobe, Hyogo, 658-0041, Japan*¹, *LECO Japan Corporation, 2-13-4, Shiba, Minato-ku, Tokyo, 105-0014, Japan*²) *Seibutsu-kogaku* **96**: 234–239, 2018.

The favorable and strong aftertaste of sake is often called *Oshi-aji*. *Oshi-aji* is a characteristic taste of *Nada-shu*, which is produced in the Nada area in Hyogo Prefecture. The *Oshi-aji* intensities are sometimes different among sake samples that are produced using the same brewing methods and have nearly identical analytical values. In this study, we analyzed the correlation between the component profiles obtained from gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)-based non-targeted analysis and the *Oshi-aji* intensity. We showed that the *Oshi-aji* intensity can be modeled with high accuracy using the component profiles of sake samples through a partial least square (PLS) regression analysis.

[**Key words:** sake, *Oshi-aji*, GC/MS, non-targeted analysis, PLS]

諸 言

清酒は、米を原料として麹菌による糖化と酵母による発酵を同時に行う並行複発酵により生産される日本古来の醸造酒である。並行複発酵の過程で微生物により多種多様な成分が生成され、その結果得られる成分プロファイルによって清酒の香味が決定付けられる。

筆者らは、基本的な醸造方法（使用する原料米・精米歩合、麹菌、酵母、仕込配合、醪の温度管理、原酒処理）や一般分析値（アルコール度数、日本酒度、酸度、アミノ酸度）がほぼ同等である清酒間で、「押し味」の強度に違いが見られることを経験的に把握している。この「押し味」とは、後味にごく味（コク）があってしっかりし

た感じの味わいのことであり¹⁾、灘酒の特長とされる味わいの一つである。そうした官能特性を、成分プロファイルを用いてモデル化できれば、品質管理指標の構築や「押し味」を引き出す醸造方法への応用が期待できる。

清酒の香味には単一成分ではなく多種多様な成分が関与しており²⁾、香味特性のモデル化においては多成分のプロファイルから捉えることが有効であると考えられる。伏木は、清酒のごく味（コク）には多くの味覚因子が複雑に絡み合い、個別の味覚としては認識困難であろうことを指摘している³⁾。ごく味（コク）は「押し味」の構成要素の一つであるため、「押し味」にも多種多様な成分が複雑に関与していると推察される。

近年のメタボロミクス技術の進展に伴い、多成分のプ

*連絡先 E-mail: yoshihiro-tamada@hakutsuru.co.jp

ロファイルから醤油、チーズといった食品の香味特性のモデル化を試みた研究例が複数報告されている⁴⁻⁶⁾。こうした試みは清酒にも応用されており、Mimuraらはガスクロマトグラフィー/質量分析 (gas chromatography/mass spectrometry: GC/MS) を用いて数十種類の市販酒中に含まれる不揮発性成分と揮発性成分を網羅的に分析し、それらの成分プロファイルの説明変数とすることで、後味や吟醸香をはじめとする香味特性をモデル化できることを示している⁷⁾。

そこで、本研究では、GC/MSを用いたノンターゲット分析により得られた清酒成分プロファイルの説明変数とすることで、官能評価による「押し味」のスコアをモデル化することを試みた。

実験方法

サンプル、試薬 サンプルには、2013年7月から10月に出荷した同じ市販種麹と自社保存の清酒酵母、同一の精米歩合の原料米を使用し、同じ仕込配合で醸造を行ったTable 1に示した9点の清酒（普通酒）の原酒を用いた。火入れ・ろ過などの原酒処理や貯蔵もすべて同一の条件で行った。各サンプルは、官能評価・分析まで冷凍保存した。Table 1に示すように、日本酒度、アルコール度数、酸度、アミノ酸度といった一般分析値にはサンプル間で顕著な差は認められていない。

Ribitol, pyridine, 2-propanol, methanolは和光純薬工業から、methoxyamine hydrochlorideはSigma-Aldrich (ミズーリ州セントルイス, 米国) から、*N*-methyl-*N*-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (MSTFA) はGLサイエンスから購入した。

官能評価による「押し味」のスコア化 官能評価は、清酒の官能評価に精通した7名のパネルにより実施し

た。各サンプルの「押し味」を3段階 (0-2: 弱-強) で評価し、7名のパネルの平均値を各サンプルの「押し味」のスコアとした。官能評価はすべて暗番で実施した。

不揮発性成分のプロファイリング 不揮発性成分は、オキシム化とトリメチルシリル化による誘導体化を行うことで分析した。清酒サンプル30 μ Lに内部標準物質としてribitol溶液 (0.2 mg/mL) 50 μ Lを加え、2時間遠心濃縮した後、一晚凍結乾燥を行った。凍結乾燥後のサンプルにmethoxyamine hydrochloride (20 mg/mL pyridine) を100 μ L加えた後、30°C, 90分, 1200 rpmでレシプロ振とうした。続いてMSTFAを50 μ L加え、37°C, 30分, 1200 rpmでレシプロ振とうさせ、GC/MSに供した。なお、各サンプルのサンプル調製から誘導体化は3連で実施した。

ガスクロマトグラフ質量分析計には、GCMS-QP2010 Ultra (島津製作所) を用いた。カラムは、CP-SIL 8 CB low-bleed column (0.25 mm \times 30 m, 0.25 μ m, Agilent, カリフォルニア州サンタクララ, 米国) を用いた。分析条件はTable 2に示した。

分析データをAIA形式で出力し、解析ソフトウェアMetAlign⁸⁾にそれらを供することでピーク検出とアライメントを行った。MetAlignの結果はCSV形式で出力した。続いて、出力したCSV形式のファイルを解析ソフトウェアAIoutput⁹⁾に供することで化合物同定を行った後に、ピーク行列、すなわち各サンプルについて各化合物の相対定量値を格納したデータ行列の作成を行った。なお、各化合物の定量 m/z のイオン強度を内部標準物質であるribitolに起因する m/z (217) のイオン強度で除した値を、各化合物の相対定量値とした。

揮発性成分のプロファイリング 揮発性成分は、固相抽出による濃縮後に、2次元ガスクロマトグラフ飛行時間型質量分析計 (GC \times GC-TOFMS) に供することで分析した。サンプル前処理は、Takahashiらの報告¹⁰⁾を参考にして実施した。清酒サンプル15 mLを20 mL

Table 1. Description of samples used in this study.

Sample No.	Sake meter (-)	Ethanol concentration (%v/v)	Acidity (mL)	Amino acidity (mL)
1	-0.6	20.5	1.9	1.5
2	-0.2	20.6	1.9	1.5
3	-0.4	20.5	1.9	1.3
4	-0.9	20.8	1.9	1.5
5	-0.8	20.8	1.9	1.6
6	± 0.0	20.7	1.9	1.4
7	-0.4	20.7	1.9	1.5
8	-0.6	20.5	1.9	1.5
9	-0.4	20.6	1.9	1.4

Table 2. Conditions for GC-MS.

Oven temperature	80°C (2 min) \rightarrow 15°C/min \rightarrow 330°C (6 min)
Carrier gas	Helium, 1.12 mL/min
Injection temperature	230°C
Injection volume	1 μ L
Split ratio	1:60 (v/v)
Ion source temperature	200°C
Ionization method	Electron ionization
Scan range	m/z 85 ~ 500

Table 3. Conditions for GC × GC-TOFMS.

1st Oven temperature	50°C (5 min) → 5°C/min → 240°C (10 min)
2nd Oven temperature	+10°C offset from 1st Oven
Modulator	+15°C offset from 2nd Oven
Modulation period	4.0 s (Hot: 0.8 s, Cold: 1.2 s)
Carrier gas	Helium, 1.2 mL/min
Injection temperature	230°C
Injection volume	1 μL
Inlet mode	splitless
Ion source temperature	230°C
Ionization method	Electron ionization
Scan range	<i>m/z</i> 19 ~ 450

の水で希釈し、30 mgの吸着剤を含んだ1-cc Oasis HLBカートリッジ (Waters, マサチューセッツ州ミルフォード, 米国) に通した。200 μLの水で洗い流した後に、吸着した成分を400 μLの有機溶媒 (2-propanol:methanol = 4:1) で溶出させ、分析まで4°Cで保存した。

GC × GC-TOFMSにはPegasus 4D-C GC × GC-TOFMS (LECO, ミシガン州セント・ジョゼフ, 米国) を用いた。1次元目のカラムにはPure WAX (0.25 mm × 60 m, 0.25 μm, GLサイエンス) を、2次元目のカラムにはInertCap-1 (0.18 mm × 1.1 m, 0.18 μm, GLサイエンス) を用いた。分析条件はTable 3に示した。なお、各サンプルについて、3連で分析を実施した。

得られたクロマトグラムのデコンボリューションにはChromaTOF ソフトウェア ver. 4.50を用いた。化合物ライブラリの検索には、NIST ver.14とWiley ver.10を使用した。

多変量解析 主成分分析 (principal component analysis: PCA), および部分最小二乗 (partial least square: PLS) 回帰分析は、AIoutput⁹)を用いて実施した。なお、多変量解析に先立ってのスケーリング法にはAuto-scalingを採用し、各ピークの相対定量値をサンプル間での平均値が0, 分散が1となるように変換した。

実験結果および考察

官能評価による「押し味」のスコア化 官能評価で得られた各サンプルの「押し味」のスコアをTable 4に示した。なお、官能評価データを一次元分散分析に供した結果、サンプル間で「押し味」のスコアに高い有意差 ($p < 0.001$) があることが確認された。

清酒成分のプロファイリング 不揮発性成分の分析の結果、清酒中成分由来と考えられる84個のピークが

Table 4. Oshi-aji intensity of each sample.

Sample No.	A	B	C	D	E	F	G	average (n = 7)
1	2	2	2	2	2	2	2	2.0
2	2	1	1	1	1	2	1	1.3
3	0	0	1	0	0	0	0	0.1
4	2	2	2	2	2	1	2	1.9
5	1	1	1	1	2	1	1	1.1
6	0	0	0	0	1	0	0	0.1
7	2	2	2	2	2	2	2	2.0
8	1	1	2	1	2	2	2	1.6
9	0	0	1	1	1	1	0	0.6

Each alphabet shows a panel. Oshi-aji intensities are evaluated by sensory test (0–2 (weak-strong)).

検出され、各ピークの保持時間とマススペクトルをライブラリの情報と照らし合わせることで、そのうち51個のピークについて化合物同定を行うことができた。これらの中には、糖、糖アルコール、アミノ酸、有機酸などをはじめとする親水性低分子成分が含まれていた。得られた不揮発性成分プロファイルのデータをTable S1 (doi: 10.6084/m9.figshare.5975383) に示した。化合物を同定できなかったピークについてはピーク名をNV_unknownとしたが、そのマススペクトルからAIoutput⁹)により糖であると推定されたピークについてはピーク名をNV_unknown (sugar like) とした。

一方、揮発性成分の分析の結果、1686個のピークが検出された。サンプル間の違いの評価に有用なピークを抽出するために、検出されたすべてのピークについてfisher ratio (FR) 値を算出した。FR値が10以上である121個のピークを抽出し、以降の解析に用いた。FR値とは、検体間分散値を検体内分散値で除した値であり、値が高いほど検体内での再現性が高く、検体間での有意差が大きいピークであると考えられる¹¹⁾。FR値は以下の式で算出される。

$$FR = \sigma_{class}^2 / \sigma_{error}^2 \quad (1)$$

なお、

$$\sigma_{class}^2 = \frac{\sum (\bar{x}_i - \bar{x})^2 n_i}{(k-1)} \quad (2)$$

$$\sigma_{error}^2 = \frac{\sum (\sum (\bar{x}_{ij} - \bar{x})^2) - (\sum (\bar{x}_i - \bar{x})^2 n_i)}{(N-k)} \quad (3)$$

ここで、 σ_{class}^2 は検体間分散値、 σ_{error}^2 は検体内分散値、

n_i は*i*番目のクラスの測定値の数, \bar{x}_i は*i*番目のクラスの平均値, \bar{x} は全サンプルの平均値, k はクラスの数, \bar{x}_{ij} は*j*番目のクラスの*i*番目の測定値, N はサンプルの総数を示す。抽出された121個のピークについて, 化合物ライブラリを用いたマスペクトルのシミュラティー検索により, 化合物推定を行った。得られた揮発性成分プロファイルのデータをTable S2 (doi: 10.6084/m9.figshare.5975383) に示した。ライブラリとのマッチ率(最大1000)が700を下回ったピークについては, ピーク名をV_unknownとした。

各々の成分プロファイルデータをPCAに供した。得られたスコアプロットをFig. 1に示した。その結果, 不揮発性成分プロファイル, 揮発性成分プロファイルのいずれを用いた場合にも, 9種類のサンプルごとにスコアプロット上のプロット位置に違いが認められた。このことから, GC/MSを用いたノンターゲット分析は, 一般分析値では顕著な差が認められないサンプル間の成分的特性の違いの把握に有用であることが示された。

PLS回帰分析による「押し味」のモデル化 取得した不揮発性成分プロファイル, 揮発性成分プロファイル, および両方のプロファイルを説明変数, 「押し味」のスコアを目的変数としたPLS回帰分析を行った。得られ

た「押し味」のスコアの予測モデルをFig. 2に示した。それぞれの点は各サンプルを示しており, 縦軸は「押し味」のスコアの実測値, 横軸は予測値である。なお, 予測モデルの構築にあたって, 潜在変数の数はモデルの予測性能の指標である Q^2 値が極大値をとるように決定し, 不揮発性成分プロファイルを用いた場合には五つの, 揮発性成分プロファイルを用いた場合には四つの, 両方のプロファイルを用いた場合は三つの潜在変数を用いた。また, Q^2 値はデータセット内の交差検証(クロスバリデーション)によって計算した。各予測モデルの Q^2 値, 直線性の指標である R^2 値, 予測残差を示すRMSEE値をTable 5に示した。一般的にモデルの評価は $Q^2 > 0.5$ でgood, $Q^2 > 0.9$ でexcellentとされ¹²⁾, いずれのデータを説明変数に用いた場合も良好なモデルを構築できた。このことから, GC/MSを用いたノンターゲット分析が, 多種多様な成分が複雑に関与していると推察される「押し味」のモデル化に有効であることが示された。揮発性成分プロファイルを説明変数に用いた場合は $Q^2 > 0.9$ となり, 特に予測性能が高くなったことから, サンプル間の「押し味」のスコアの違いには揮発性成分が大きく寄与している可能性が考えられた。

続いて, 各予測モデルにおいて, 各説明変数のモデル構築への寄与度を示すVIP (variable importance in the projection) 値を指標に, モデル構築に重要なピークを抽出した(Table 6)。Coefficientの値が正のピークが「押し味」のスコアに正の, 負のピークが負の寄与があったピークである。不揮発性成分プロファイルを用いたモデ

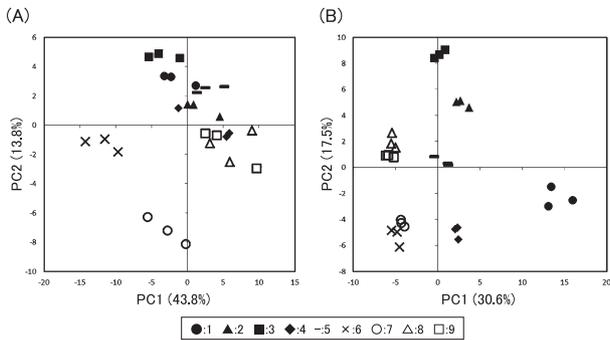


Fig. 1. PCA score plots of 9 samples. (A) Score plot of the non-volatile component profile data. (B) Score plot of the volatile component profile data.

Table 5. R^2 , Q^2 , RMSEE of the each predictive model.

Explanatory variables	R^2	Q^2	RMSEE
non-volatile components	0.972	0.741	0.133
volatile components	0.989	0.947	0.082
non-volatile components + volatile components	0.977	0.834	0.115

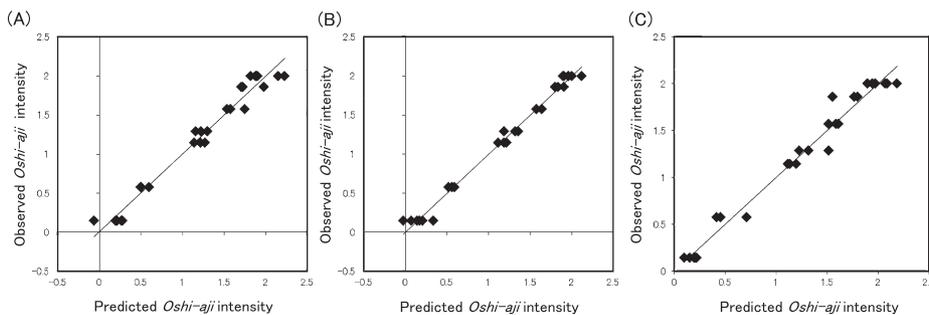


Fig. 2. Relationships between predicted and observed intensities of *Oshi-aji* based on PLS model. (A) PLS model using the non-volatile component profile data. (B) PLS model using the volatile component profile data. (C) PLS model using the non-volatile and volatile component profile data.

Table 6. List of important peaks that influence variables used to create prediction model of the *Oshi-aji* intensity.

(A) PLS model using the non-volatile component profile data.

VIP ranking	VIP	Coefficient	Peak Name
1	1.76	0.137	NV_unknown_34 (sugar like)
2	1.58	0.173	Glycyl-Glycine
3	1.56	-0.125	Pyruvic acid + Oxalacetic acid
4	1.51	0.122	NV_unknown_21 (sugar like)
5	1.49	0.028	NV_unknown_28 (sugar like)
6	1.42	0.088	NV_unknown_31 (sugar like)
7	1.40	0.075	NV_unknown_32 (sugar like)
8	1.36	0.094	NV_unknown_18 (sugar like)
9	1.33	0.062	NV_unknown_16 (sugar like)
10	1.32	-0.005	NV_unknown_20 (sugar like)

(B) PLS model using the volatile component profile data.

VIP ranking	VIP	Coefficient	Peak Name
1	2.23	0.098	Pentadecanoic acid, ethyl ester
2	1.87	0.049	V_unknown_2
3	1.76	0.054	1-Undecanol
4	1.62	0.041	Ethanol, 2-(dodecyloxy)-
5	1.58	0.036	V_unknown_1
6	1.58	0.038	2-[2-(Dodecyloxy)ethoxy]ethanol
7	1.54	-0.062	V_unknown_16
8	1.52	-0.063	V_unknown_17
9	1.50	0.051	Hexanoic acid, ethyl ester
10	1.47	0.028	V_unknown_4

(C) PLS model using the non-volatile and volatile component profile data.

VIP ranking	VIP	Coefficient	Peak Name
1	2.30	0.053	Pentadecanoic acid, ethyl ester
2	2.12	0.033	V_unknown_2
3	1.99	0.039	1-Undecanol
4	1.94	0.026	NV_unknown_34(sugar like)
5	1.85	0.033	Ethanol, 2-(dodecyloxy)-
6	1.81	0.020	V_unknown_1
7	1.80	0.031	2-[2-(Dodecyloxy)ethoxy]ethanol
8	1.77	0.018	NV_unknown_31(sugar like)
9	1.77	0.025	NV_unknown_32(sugar like)
10	1.75	0.022	NV_unknown_18(sugar like)

ルでは、多数の糖由来の未同定ピークが正の寄与のあるピークとして抽出された (Table 6 (A)). 揮発性成分プロファイルを用いたモデルにおいても、正の寄与のあるピークが多数抽出された (Table 6 (B)). 両方のプロファイルを用いたモデルにおいては、VIP 値上位 10 ピークすべての coefficient の値が正であった。このことから、さまざまな成分の量が多いほど、「押し味」のスコアが高くなることが示唆された。VIP 値上位には、各々のプロファイルを個別に用いた場合と同様にある種の揮発性成分のピークや糖由来の未同定ピークが抽出された (Table 6 (C)). これらのピークの成分は「押し味」のスコアに直接的に寄与しているか、あるいは寄与成分と相関を持っていると考えられる。糖は甘みのみならず清酒の濃厚さにも寄与していることは自明であるが、「押し味」の構成要素としても重要であると推察された。一方、VIP 値上位 3 ピークはすべて揮発性成分のピークであった。揮発性成分は清酒の香りのみならず、味わいにも寄与していることが報告されている¹³⁾。また、食品のコクには不揮発性成分のみならず、揮発性成分も寄与しているとの報告があり¹⁴⁾、伏木も清酒のごく味 (コク) には香りも寄与する可能性を指摘している³⁾。今回の結果から、「押し味」についても揮発性成分が不揮発性成分と併せて重要な役割を果たしていることが示唆された。VIP 値上位 3 ピークについて、各サンプルにおけるピーク強度データを Fig. 3 に示した。サンプルによってピーク強度に差が見られた。これらのピークの成分が単一で「押し味」を構成しているとは考えづらいが、「押し味」の一端を担っている可能性が考えられる。もっとも VIP 値の高かったピークは高級脂肪酸エステルである pentadecanoic acid, ethyl ester と推定された。この成分自体の香味への寄与に関する報告はない。しかしながら、一般的に高級脂肪酸エステルは焼酎においては香りのみならず、味わいにもまろみを与えると考えられており¹⁵⁾、pentadecanoic acid, ethyl ester も清酒の味わいに影響を与えている可能性が推察される。2 番目に VIP 値の高かったピークは、揮発性成分由来の未同定ピークであった。3 番目に VIP 値の高かったピークは、高級アルコールである 1-undecanol と推定された。この成分は、caprylic, coconut と形容される香りを持つ¹⁶⁾。1-undecanol 自体の清酒や焼酎の香味への寄与に関する報告はない。しかしながら、一般的に高級アルコールは焼酎においては香りのみならず、調和のとれた味わいに寄与することが知られており¹⁵⁾、また、下面発酵ビールにおいては香味の甘さ・重さに寄与することが報告されている¹⁶⁾。このことから、1-undecanol も清酒の味わいに影響を与えている可能性が推察される。

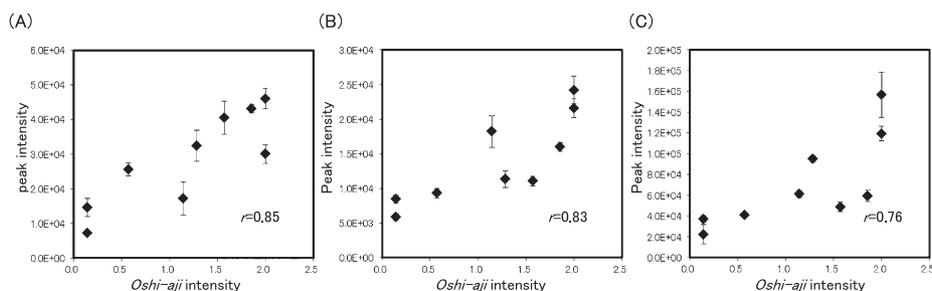


Fig. 3. Relationships between *Oshi-aji* intensities and peak intensities of volatile components. (A) Pentadecanoic acid, ethyl ester, (B) V_unknown_2, and (C) 1-undecanol.

本研究では、成分プロファイルを用いた官能特性のモデル化を行ったが、今後、製造工程と成分プロファイルの関連性を明らかにすることで、サンプル間の「押し味」のスコアの違いの要因解明につながる可能性がある。今回用いた清酒サンプルは基本的な醸造方法は同等であるが、たとえば三段仕込みの各々で使用した麴の糖化酵素の活性や原料米中の脂質などの成分量は異なっていたと考えられる。「押し味」のスコアの違いには糖のプロファイルの違いも寄与していることが示唆されたが、このプロファイルの違いには麴の糖化酵素の活性が関与している可能性がある。これらのパラメータと成分プロファイルの関連性の解明は今後の課題である。

本研究は、基本的な醸造方法や一般分析値がほぼ同じである清酒において、GC/MSを用いたノンターゲット分析を「押し味」の解析に応用した最初の報告である。また、得られた成分プロファイルを説明変数、「押し味」のスコアを目的変数としたPLS回帰分析を行った結果、「押し味」のスコアを高い精度でモデル化することに成功した。このモデルは、「押し味」を担保する品質管理指標の構築に応用可能であると期待される。また、ある種の揮発性成分や糖由来のピークがモデル構築に重要なピークとして抽出された。こうした結果は「押し味」の構成要素を理解する一助になると考えられる。今後、こうした成分と製造工程の関連性を明らかにすることで、灘酒の特長とされる「押し味」をより引き出すような醸造方法の開発に繋がると期待される。

要 約

「押し味」とは後味にごく味（コク）があってしっかりした感じの味わいのことであり、灘酒の特長とされる味わいの一つである。筆者らは、基本的な醸造方法や一般分析値はほぼ同一であるが、「押し味」のスコアに違いが見られる清酒サンプル9点について、GC/MSによ

るノンターゲット分析を行った。得られた成分プロファイルを説明変数、「押し味」のスコアを目的変数としたPLS回帰分析を行った結果、「押し味」のスコアを高い精度でモデル化することに成功した。また、ある種の揮発性成分や糖由来のピークがモデル構築に重要なピークとして抽出された。

文 献

- 1) 蔭山公雄編：灘の酒用語集，228，灘酒研究会（1979）。
- 2) 高橋康次郎：日本醸造協会誌，**85**，286–292（1990）。
- 3) 伏木 亭：日本醸造協会誌，**98**，388–391（2003）。
- 4) Yamamoto, S., Bamba, T., Sano, A., Kodama, Y., Imamura, M., Obata, A., and Fukusaki, E.: *J. Biosci. Bioeng.*, **114**, 170–175（2012）。
- 5) Yamamoto, S., Shiga, K., Kodama, Y., Imamura, M., Uchida, R., Obata, A., Bamba, T., and Fukusaki, E.: *J. Biosci. Bioeng.*, **118**, 56–63（2014）。
- 6) Ochi, H., Naito, H., Iwatsuki, K., Bamba, T., and Fukusaki, E.: *J. Biosci. Bioeng.*, **113**, 751–758（2012）。
- 7) Mimura, N., Isogai, A., Iwashita, K., Bamba, T., and Fukusaki, E.: *J. Biosci. Bioeng.*, **118**, 406–414（2014）。
- 8) Lommen, A.: *Anal. Chem.*, **81**, 3079–3086（2009）。
- 9) Tsugawa, H., Tsujimoto, Y., Arita, M., Bamba, T., and Fukusaki, E.: *BMC Bioinformatics*, **12**, 131（2011）。
- 10) Takahashi, K., Tsuchiya, F., and Isogai, A.: *J. Agric. Food. Chem.*, **62**, 8478–8485（2014）。
- 11) Pierce, K. M., Hoggard, J. C., Hope, J. L., Rainey, P. M., Hoofnagle, A. N., Jack, R. M., Wright, B. W., and Synovec, R. E.: *Anal. Chem.*, **78**, 5068–5075（2006）。
- 12) Eriksson, L., Johansson, E., Kettaneh-Wold, N., and Wold, S.: *Multi- and megavariable data analysis part I: basic principles and applications*, 97, Umetrics AB, Umea, Sweden（2006）。
- 13) 吉沢 淑，鈴木大介，進藤 齊，角田潔和，小泉武夫：日本醸造協会誌，**92**，217–223（1997）。
- 14) 西村敏英，江草 愛：月刊フードケミカル，**30**，25–31，（2014）。
- 15) 西谷尚道：日本醸造協会誌，**75**，641–649（1980）。
- 16) 中谷和夫，角戸洋一：醸造物の成分（日本醸造協会編），206–209，日本醸造協会（1999）。