

日本醸造協会誌

JOURNAL OF THE BREWING SOCIETY OF JAPAN

NIPPON JŌZŌKYŌKAI SHI

3
2011

解説

「吟醸酒」を世界の言葉に

DNA 多型解析による甲州の分類学的検討

たまり醤油粕由来の ACE 阻害ペプチドの血圧降下作用

酒類の販売数量構成比の特徴と関係について

源氏物語に見える酒 (1)

抜粋要旨 中国醸造雑誌「醸酒科技」

研究

掲載論文は原著論文である

酒類としてのミキの製造

ゲルパーミエーションクロマトグラフィーによる焼酎香気成分の分画

VOL 106

財団法人 日本醸造協会・日本醸造学会
Brewing Society of Japan
2-6-30, Takinogawa, Kita-ku, Tokyo 114-0023, JAPAN
<http://www.jozo.or.jp>

ゲルパーミエーションクロマトグラフィーによる 焼酎香気成分の分画

松原英隆*¹・沖園清忠²
(¹(株)チューケングループ・²西酒造(株))

平成 22 年 8 月 18 日受理

Fractionation of flavor constituents of sweet potato *shochu* by gel permeation chromatography (GPC)

Hidetaka MATSUBARA¹, Kiyotada OKIZONO²

(¹Tyuken Laboratory for Life and Environment, Tyuken Group Co., Ltd, 4-4-16 Mikasagawa, Ohnojyo, Fukuoka, 816-0912
²Nishi Shuzo Co., Ltd, 4970 Yokura, Fukiage, Hioki, Kagoshima, 899-3309)

More than fifty peaks appeared in a GC/MS analysis of a sweet potato *shochu*. Consequently, small peaks hidden in large peaks or peaks of low sensitive constituents were not detected sufficiently. Furthermore, in the sweet smell test using GC separation, instantaneous judgments of the flavors eluted from the column of gas chromatograph were very difficult. To solve these problems, gel permeation chromatography (GPC) of a sweet potato *shochu* flavor was examined and the following matters were introduced.

(1) Overlaps of GC/MS peaks were minimized by GPC fractionation. As a result damaseneone, citronellol, geraniol, and 2,3-dihydro-transe-farnesol were detected as independent peaks; these were difficult to analyze separately by direct GC/MS analysis.

(2) The relationship between the GC/MS peak and specific flavor was able to be investigated easily using fractionated stock solutions of GPC treatment. It became clear that ethyl caprylate, ethyl caprate, Isoamyl acetate, damaseneone, farnesol, isoamyl alcohol and β -phenethyl alcohol strongly affected the flavor of sweet potato *shochu*.

Key words: ゲルパーミエーションクロマトグラフィー, 芋焼酎, 香気成分, GC/MS, 香気試験

諸 言

焼酎香気成分の研究における特徴香検出のため、焼酎の直接 GC-FID 法¹⁾、溶媒抽出 GC-MS 法²⁾、あるいは、固相濃縮 GC-MS 法³⁾等が利用されている。しかし、香気成分の分析では 50 成分以上のピークが観察されることから、それらの中から目的の香気成分を見つけることは容易ではない。しかも、大きなピークに隠れた小さなピークが重要な香気成分である場合も十分に予想されることから、上記の GC-MS 分析のみで、あらゆる香気成分を検出することは困難である。

また、香気成分の確認方法としては、ガスクロマトグラフによって分離された香気成分を、カラムの出口より取り出して香気試験で確認する方法もあるが、焼酎のように多数の香気成分が短い時間間隔で溶出する場合は、人が瞬時にそれぞれの香りの種類を認識し区別することは非常に困難である。

そこで、できるだけ多くの香気成分を GC-MS で同定し、かつ、特徴香気香気試験で確認するためには、以下の 2 つの条件を満足する必要があると考えられる。

(1) GC-MS による分析の際にピーク (成分) の重なりを最小限にすること。

(2) 香気成分を一定の条件で分画分取して保存可能なものとし、複数の人が確認できること。

以上の事項を同時に満足させるため、香気成分を有機溶媒で抽出した後ゲルパーミエーションクロマトグラフィー (GPC) で分画し、それぞれの分画溶液について GC-MS 分析および香気試験を行う方法について検討した。試料は、焼酎の中で香気成分の種類が最も多い、芋焼酎を用いた。

実験方法

1. 香気成分の抽出と GPC 処理

芋焼酎 500ml に塩化ナトリウム 100g を添加した後、ペンタン 100ml で 2 回抽出した。抽出液は、硫酸ナトリウム (無水物) で脱水後、乾固しないように注意しながらロータリーエバポレーター (水浴温度: 30℃) で約 20ml まで濃縮した。さらに、試験管に移した後に窒素を吹き付けながら 20℃ で 5ml まで濃縮した。これに酢酸エチル 5ml を添加して 10ml 溶液とし、GPC 分画用 50 倍濃縮液とした。

GPC 分画用 50 倍濃縮液 10ml のうち 5ml を GPC カラムに注入し 5ml フラクション毎に溶出液 50ml から 150ml まで分取した。以下に GPC 処理条件を示す。

[GPC 分画条件]

装置: G-Prep (GL SCIENCES)

カラム: CLNpak PAE-2000, 20.0mm × 400mm (昭和電工)

溶離液: 酢酸エチル/シクロヘキサン = 7:3,

溶離速度: 3ml/分, 試料注入量: 5ml

分画容量: 5ml, 分画範囲: 50 ~ 150ml

2. GC-MS による分析

GC-MS による分析は、GPC 分画後のそれぞれの 5ml 分画溶液と GPC 分画用 50 倍濃縮液について行った。以下に GC-MS 分析条件を示す。

[GC-MS 分析条件]

装置: TRACE GC ULTRA (Thermo Fisher)

カラム: Inert Cap WAX (GL SCIENCES) (0.25mm × 30m, 0.25 μm)

注入口温度: 220℃, ガスクロ注入量: 2.0 μl

試料注入法: スプリット (10:1)

カラム温度条件: 40℃ (1 分間) - 5℃/分 - 240℃ (5 分間)

検出方法: MS Full Scan 検出法

3. 香気試験

50 ~ 150ml までの 5ml 毎の GPC 分画溶液を共栓試験管に移して数回転倒した後、共栓をはずし 30 秒間放置して GPC 溶離液を完全に揮散させ、酢酸エチルとシクロヘキサンの臭気が感じなくなった時点で香気試験を行った。香気試験は 3 名で行った。

結果及び考察

1. GPC 分画用 50 倍濃縮液調製におけるペンタン抽出の有用性

芋焼酎の香気成分の抽出にはペンタンを用いた。抽出溶媒としては、エーテルの方が多種類の香気成分を抽出すると考えられるが、エーテル抽出は焼酎に含まれるエタノールが多量に抽出されるため、5 倍以上の濃縮率が得られにくいこと、また、エタノールが多量含まれると GPC 分画においてアルコール類の分離が困難になることから利用しなかった。ここで、ペンタン抽出後の抽出残液は、エタノール臭以外の香気はあまり感じられなかった。したがって、焼酎香気成分はペンタンで十分抽出できることが分かった。

次に、香気成分を抽出したペンタン溶液をロータリーエバポレーターで濃縮したときに、香気成分の一部が消失することが心配された。そこで留去したペンタン溶液を GC-MS で分析したところ、検出された化合物の大部分はイソアミルアルコールであった。しかし、イソアミルアルコールは後の Table 1 に示すように GPC 分画液からも高濃度検出されたことから、ペンタン抽出後の濃縮操作が GC-MS 分析や香気試験に及ぼす影響は少ないと考えられる。

2. GPC 分画された香気成分の GC-MS-TIC 検出パターン

GC-MS による焼酎香気成分の分析ではピークの重なり等によって、低濃度成分や低感度成分の検出が困難なことが予想された。この問題を解決する手法としては、GC-MS 分析の前にガスクロマトグラフィーとは異なる分離機構による前処理操作が有効と考えられた。そこで、本研究では GPC 分画法について検討することにした。GPC 分画法は、分子ふるい効果を利用した分離方法⁴⁾であるため、目的成分に対する適切

な溶離液とゲルの選択によって、溶存成分がゲルに吸着しにくく非常に高い回収率の分画処理が可能になると考えられた。一方、成分によってはゲルとの間に若干の相互作用が予想されるが、この相互作用も成分の分離に利用できるのではないかと考えた。ここで、焼酎の香気成分には多種のエステル類やアルコール類が含まれていること^{5,6)}から、GPC カラムは、ポリビニルアルコール系のゲルを選択した。また、溶離液は、香気成分とゲルとの良好な相互作用を保つため酢酸エチルとシクロヘキサンの7:3混合溶液とした。

焼酎の50倍濃縮液5mlをGPC分画し、そのうちの60mlから140mlまでの5ml毎の画分についてGC-MSを行ったときの全イオンクロマトグラム(TIC)をFig. 1に示す。Fig. 1では、それぞれの画分で最も高いピークを100として示している。検出されたピークのうち、香気に関与することが予想されるエステル類やアルコール類等を定量しTable 1に示す。

Fig. 1およびTable 1では、GPC溶離位置とGC-MS分析における保持時間とを考慮して番号を付した。例えば、GPC分画のうち最初にGC-MS-TICピークが出現した65~70ml画分では香気に関連する4種の脂肪酸エチルエステルが出現したが、このうち、GC-MS保持時間が最も短いカプリル酸エチルを①とし、順に④のミリスチン酸エチルまで番号を付した。

Table 1の中央部には、65mlから135mlまで5ml毎に分画したGPC溶出液中の香気成分濃度を示す。Table 1の下段には、それぞれの溶出画分の香気変化と香気強度を示す。また、Table 1には、それぞれの香気成分の分子量(MW)とGPC分画前後の回収率(Recovery)も示した。このとき、回収率は(1)式で定めた。

$$\frac{5\text{ml/画分毎に溶出した各香気成分濃度の総和}}{50\text{倍濃縮液中の各成分の濃度}} \times 100(\%) \dots\dots\dots(1)$$

Table 1に示すように、ほとんどの香気成分は各GPC分画において、幅10mlの範囲内に90%以上が溶出しており各香気成分は精度よく分離されていた。また、GPC分画前後で、ほとんどの香気成分が80%以上回収されておりゲルへの吸着は認められなかった。

Fig. 1において、GPC分画後のGC-MS-TICピークの状態をみると、①カプリル酸エチルから⑥カブロン酸エチルまでの脂肪酸エステル類は、65ml

から95mlまでの間に溶出するが、5ml分画によって、それぞれの画分におけるピークの数が少なくなり、より明確なピークとして確認することができた。また、⑩イソアミルアルコール、⑪イソブチルアルコールおよび⑬β-フェネチルアルコールは分画による効果とこれらの成分が高濃度であることから容易に確認できた。しかし、芋焼酎の特徴香気成分が多く含まれる⑦ネロリドールから⑮ゲラニオールまでの成分は、75~95mlの4画分にそれぞれの大部分が溶出するが、同時に溶出する②カプリン酸エチル、⑤酢酸イソアミルおよび⑫酢酸β-フェネチルに比較するとピークが非常に小さかったため、Fig. 1では確認できなかった。そこで、75~95mlの4画分については、ピークの状態がわかり易いように、これらの成分が検出される14~32分のGC-MS-TICを拡大しFig. 2に示す。Fig. 2から明らかなように、小さなピークの芋焼酎特徴香気成分もGPC分画によって⑦ネロリドールから⑮ゲラニオールまで明確な単独ピークとして検出することが明らかとなった。また、これらのピークに加えて80~85ml画分には香気成分の可能性のある2,3-ジヒドロ-トランス-ファルネソール(Fig. 2のピークA)も検出された。

3. GPC分画によるGC-MS-TICピーク分離の改善と香気成分の分離機構

GPC分画によるGC-MS-TICピーク分離の改善状態を確認するため、GPC分画前の50倍濃縮液をGC-MSで分析した。得られたGC-MS分析結果の中で、⑦ネロリドールから⑮ゲラニオールの芋焼酎特徴香気成分が溶出する時間帯(14~32分)のGC-MS-TICを拡大しFig. 3に示す。Fig. 2とFig. 3を比較すると、Fig. 2では単独で検出された⑨ダマセノン、⑬シトロネロール、⑮ゲラニオールおよび2,3-ジヒドロ-トランス-ファルネソール(ピークA)が、Fig. 3では他の大きなピーク等と重なったため単独ピークとしては検出されなかった。以上の結果から、通常のGC-MS-TICでは大きなピーク等に隠れて検出しにくい小さなピークが、GPC分画によって単独ピークとして検出できるようになることが明らかとなった。

GPCによる香気成分の分離機構について見てみると、GPC分画は、第一義には分子ふるい効果による分画であり、分子量の大きなものから順に溶出するこ

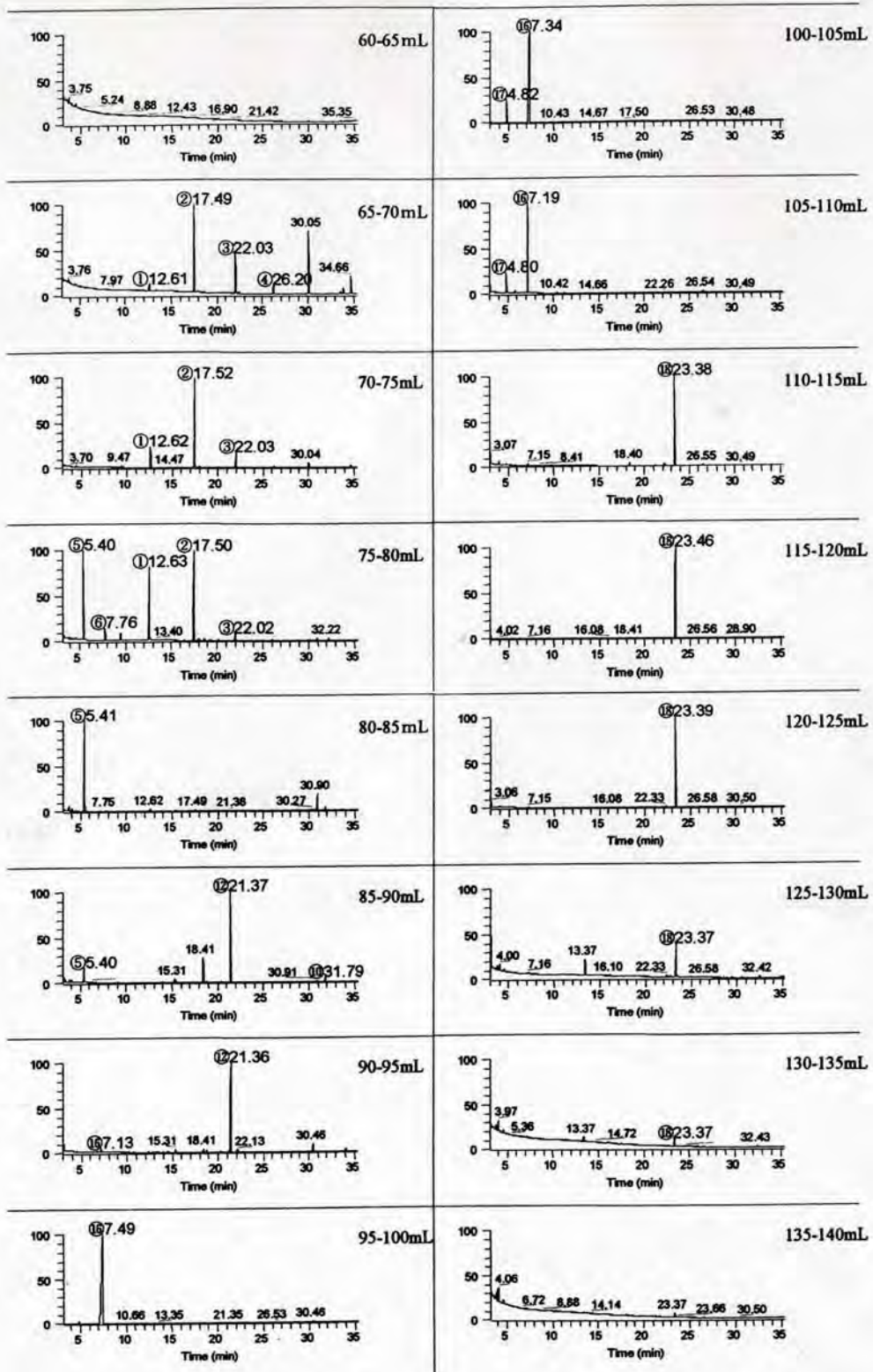


Fig. 1 GC/MS-TIC patterns of a sweet potato *shochu* for 5ml intervals of GPC fractions selected from 60 to 140ml.

Table 1 Concentration (mg/l) of the constituents of a sweet potato *shochu* and flavor changes by GPC Fractionation.

No.	Constituents	MW	Concentration (mg/l)												Recovery		
			65-70ml	70-75	75-80	80-85	85-90	90-95	95-100	100-105	105-110	110-115	115-120	120-125		125-130	
1	Ethyl caprylate	172	1.1	19.1	47.7	4.9											90%
2	Ethyl caprate	200	10.7	65.9	46.5	2.2											81
3	Ethyl laurate	228	5.1	11.2	4.0												79
4	Ethyl tristate	256	1.3	1.2	0.3												80
5	Isoamyl acetate	130		0.4	68.4	21.1	0.4										102
6	Ethyl caproate	144		0.6	8.4	3.0		24.3									91
7	Nerolidol	208		0.9	0.3												85
8	Linalool	154		0.1	0.1	1.8		0.9									114
9	Damascenone	190		0.3	0.3	33.8		13.5									92
10	Farnesol	222			10.8	11.9		10.8									96
11	α -Terpineol	154						1.0	0.3								96
12	β -phenethyl acetate	164						1.4	0.1								105
13	Citronellol	156						75.6	4.1								117
14	Nerol	154						2.0	0.6								86
15	Geraniol	154							1.0	0.2							100
16	Isoamyl alcohol	88							1.4	0.1							83
17	Isobutyl alcohol	74							7.1								110
18	β -phenethyl alcohol	122															105
Flavor transition			1st		2nd	3rd			4th					5th			
Flavor strength			very weak	weak	medium	strong	medium	weak	strong	medium	weak	medium	strong	medium	weak		

とになる。そこで、一連の直鎖型脂肪酸のエチルエステルである⑥カブロン酸エチル (MW: 144), ①カプリル酸エチル (MW: 172), ②カプリン酸エチル (MW: 200), ③ラウリン酸エチル (MW: 228) および④ミリスチン酸エチル (MW: 256) は、分子量の大きな④ミリスチン酸エチルから分子量の小さな⑥カブロン酸エチルまで順に溶出する傾向は認められたが、溶出極大の位置に 15ml 以上の差はなかった。ところが、③ラウリン酸エチル (MW: 228) と⑩ファルネソール (MW: 222) では、同程度の分子量であるにもかかわらず、③ラウリン酸エチルは 70ml 付近に、⑩ファルネソールは 85ml 付近に溶出極大があり、その差は 15ml であった。さらに、Table 1 で分子量の最も小さな⑰イソブチルアルコール (MW: 74) の溶出極大は 100ml 付近であるのに対し、それより分子量の大きな⑱ β -フェネチルアルコールの溶出極大は 120ml 付近であり分子ふるい効果から予想される結果とは異なるものであった。

そこで、ゲルと香気成分との相互作用に注目して見てみると、最初に溶出した①カプリル酸エチルから⑥カブロン酸エチルまでは脂肪酸エステル類であったが、これらの香気成分はアルコール性水酸基を持たないためポリビニルアルコール系ゲルとの相互作用が小さく早い位置に溶出したと考えられる。ところが、⑦ネロリドールから⑮ゲラニオールまでの香気成分は脂肪酸エステルの⑥カブロン酸エチル (分子量: 144) より分子量が大きいにもかかわらず、⑦ネロリドールを除けば⑥カブロン酸エチルより後方に溶出した。その理由は、⑨ダマセノン、⑫酢酸 β -フェネチル以外の香気成分は複数個の二重結合を有する脂肪酸アルコール類であるが、これらはアルコール性水酸基を有するため、同様に水酸基を有するポリビニルアルコール系ゲルとの相互作用が大きく後方に溶出したものと推察される。また、芳香族に類似した環状構造を有する⑨ダマセノン (分子量: 190) や芳香族化合物の⑫酢酸 β -フェネチル (分子量: 164) は、これらより分子量の小さな⑥カブロン酸エチル (分子量: 144) より後方に溶出したことから、ポリビニルアルコール系ゲルと大きな相互作用をすることが分かった。⑯イソアミルアルコールや⑰イソブチルアルコールは、それぞれの分子量が 88, 74 と非常に小さな脂肪酸アルコール類であるため更に後方に溶出した。⑱ β -フェネチルア

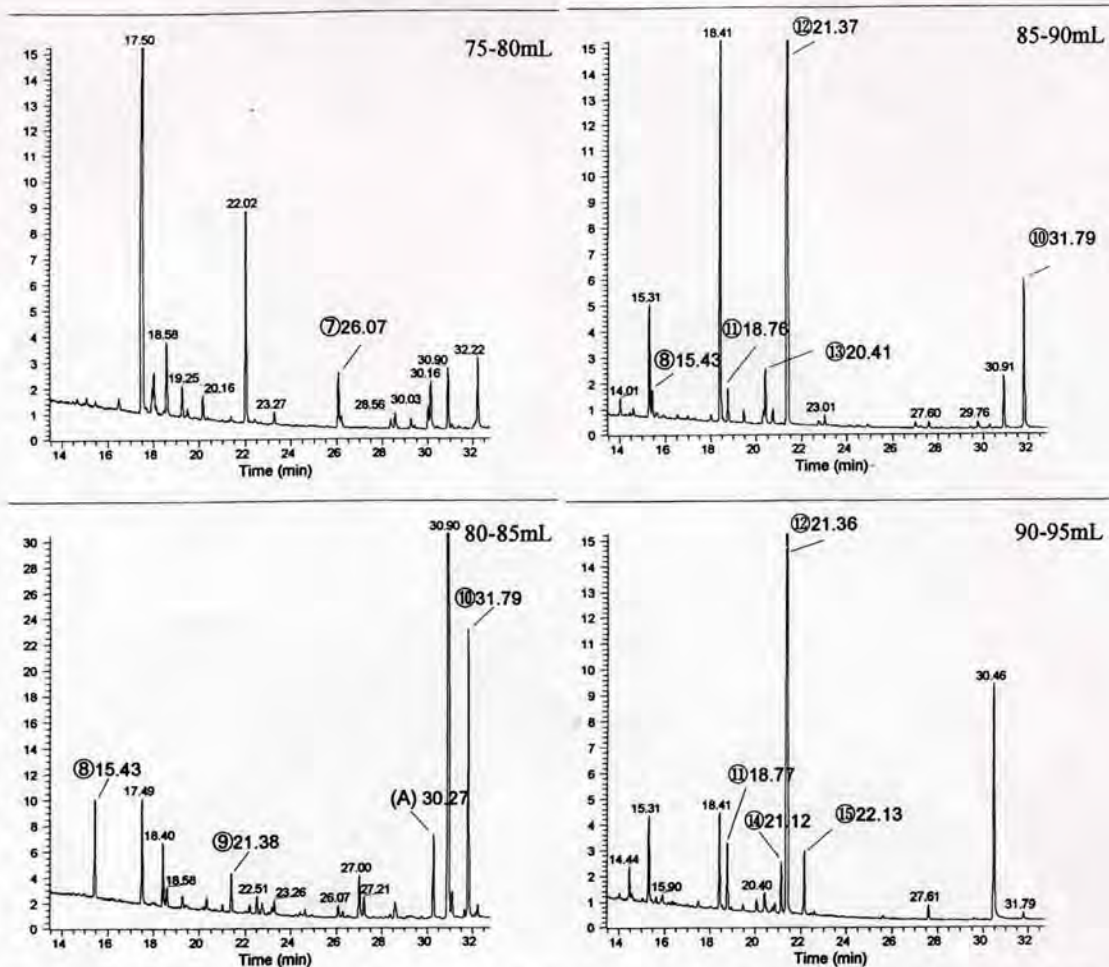


Fig. 2 GC/MS-TIC patterns of a sweet potato *shochu* between 14 and 32 minutes for 5ml intervals of GPC fractions selected from 75 to 95ml.

ルコールは、⑩イソアミルアルコールや⑪イソブチルアルコールより分子量は大きい、芳香族性を有するアルコール類であるため、ゲルとの相互作用が非常に大きく最後に溶出したと推察される。このように、本研究の焼酎香气成分の分離では、分子ふるい効果よりゲルと香气成分との相互作用の方が優勢であることが分かった。

4. GPC 分画溶液の香气成分分析結果と香气試験結果の関係

GPC 分画による 60ml から 140ml までの 5ml 毎の各画分について、溶出した香气成分と香气との関係について以下に述べる。

65ml までは、GC-MS-TIC ピークはほとんど検出されず、芳香臭もほとんど感じられなかった。

Table 1 に示すように 65 ~ 70ml 画分で初めて微かな甘い香气が感じられたが、ここでは香气成分の①カプリル酸エチル、②カプリン酸エチルおよびこれらより分子量が大きく、若干弱い香气の③ラウリン酸エチルや④ミリスチン酸エチルが溶出した。これらのうち濃度が高かったのは②カプリン酸エチル (10.7mg/l) と③ラウリン酸エチル (5.1mg/l) であったことから 1 種類目の甘い香りの主成分はこれらの直鎖型脂肪酸エチルエステル類であると推察される。Fig. 1 には、これらよりさらに分子量の大きなヘキサデカン酸エチルの溶出 (RT: 30.05 分) も見られたが、分子量の大

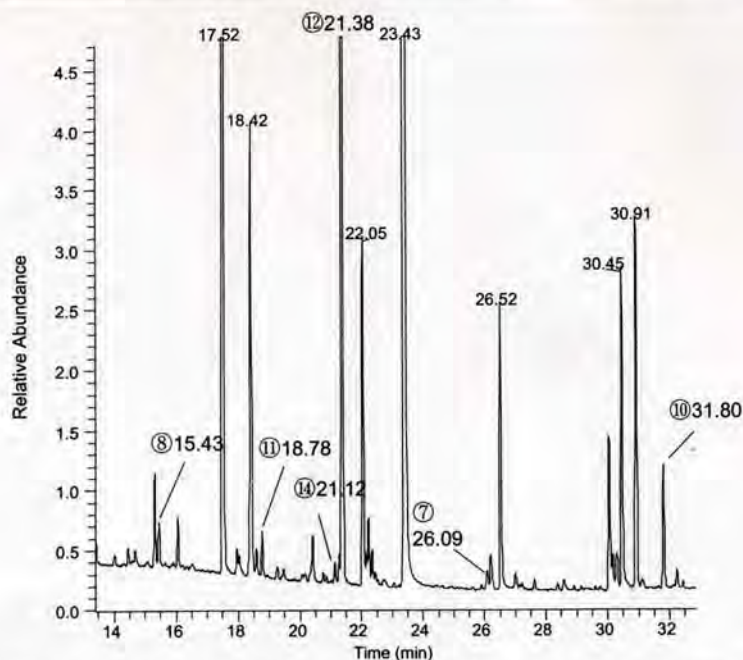


Fig. 3 GC/MS-TIC patterns of a sweet potato *shochu* concentrated 50 times between 14 and 32 minutes.

きなエステルの香气は弱いこと⁵⁾から寄与率は低いと思われる。同様の香りは、70～75ml 画分でさらに明確になったが、これは、強い香气を有する①カプリル酸エチル、②カプリン酸エチルおよび③ラウリン酸エチルの濃度がそれぞれ19.1mg/l、65.9 mg/lおよび11.2 mg/lと高くなったためと考えられる。75～80ml 画分では、さほど強くはなかったが2種類目の香气が感じられた。この画分でも47.7mg/lの①カプリル酸エチルと46.5 mg/lの②カプリン酸エチルが検出されたが、さらに⑤酢酸イソアミルも68.4mg/l検出された。したがって、2種類目の香气にはこの画分で初めて高濃度検出された⑤酢酸イソアミルが関与していると推察される。

80～85ml 画分では3種類目の香气が感じられた。この画分では、①カプリル酸エチルや②カプリン酸エチルは低濃度になり、⑤酢酸イソアミルが高濃度(211mg/l)検出された。そして、この画分では芋焼酎特徴香气成分で強い香气の⑨ダマセノンと⑩ファルネソールがそれぞれ33.8mg/l、11.9mg/lとかなりの濃度で溶出した。⑤酢酸イソアミルは75～80ml 画分でも68.4 mg/l検出されていたことから、3種類目の香气には⑨ダマセノンと⑩ファルネソールの寄与が

大きいと推察される。ダマセノンが強い香气成分であることは、神渡ら⁷⁾によっても確認されている。85～90ml 画分でも同様の香气が感じられ、芋焼酎特徴香气成分の⑨ダマセノン(13.5mg/l)と⑩ファルネソール(10.8mg/l)が10mg/l以上の濃度で検出された。この画分では、新たに⑫酢酸β-フェネチルも高濃度(75.6mg/l)検出されたが、この画分での香りの変化はあまり感じられなかったことから、⑫酢酸β-フェネチルの香气へ影響は小さいと思われる。90～95ml 画分では弱い香气が感じられた。ここでは⑨ダマセノンは検出されず、⑩ファルネソールも非常に低濃度であった。しかし、芋焼酎特徴香气成分の⑪a-テルピネオール、⑬シトロネロール、⑭ネロールおよび⑮ゲラニオールが低濃度であるが検出されことから、これらが香气に寄与したものと推測される。

95～100ml 画分では、4種類目の強い香气が感じられた。この画分は非常に高濃度(4960mg/l)の⑯イソアミルアルコールが溶出し、香りも標準物質の⑯イソアミルアルコールと非常に類似していた。100～105ml 画分でも同様の香りが感じられたが、ここでも高濃度(1820mg/l)の⑯イソアミルアルコールが溶出した。105～110ml 画分では香りが薄くなったが、

このとき⑩イソアミルアルコールの濃度は100～105ml/画分の10%程度になった。したがって、4種類目の強い香気には⑩イソアミルアルコールが寄与していると考えられる。

110～115ml/画分では5種類目の香気を感じられた。ここでは高濃度(61.1mg/l)の⑮β-フェネチルアルコールが溶出した。115～120ml/画分では、⑮β-フェネチルアルコールの香りが更に強く感じられるようになったが、このとき⑮β-フェネチルアルコールの濃度が110～115ml/画分の10倍以上(882mg/l)に増加した。120～125ml/画分でも同様の香りが感じられたが、その後次第に香りは減少し、135ml/以降ではほとんど香りは感じられなくなり、⑮β-フェネチルアルコールの濃度も非常に薄くなった。したがって、5種類目の香気には、⑮β-フェネチルアルコールが寄与していると思われる。

以上、GPC分画した試料溶液を用いることにより、GC-MS分析によって検出された焼酎香気成分の種類と、香気試験によって確認された香気の種類との関連を調査することが容易になることが分かった。GPC分画の利用は、様々な焼酎の香気に寄与している新たな成分の発見につながることを期待される。

要 約

焼酎香気成分の分析においては、溶媒で抽出した試料をGC-MSで分析することが多い。しかし、芋焼酎のGC-MSでは50以上のピークが検出されるため、高濃度成分のピークに隠れた低濃度成分のピークや分析感度が低い成分のピークは検出しにくいのが現状である。また、香気試験においては、抽出液をガスクロマトグラフで分離し、カラムから出てきた香気成分を香気試験で確認する方法がしばしば採用されるが、この際短時間に多くの香気成分が出てくるため分別確認は非常に困難である。そこで、著者らは、まず、抽出濃縮した試料中の香気成分をゲルパーミエーションクロマトグラフィー(GPC)で分画し、それぞれの分画溶液についてGC-MS分析と香気試験を行う方法について検討した。その結果、以下のことが明らかとなっ

た。

- (1) GPC 溶出液を5ml/毎に分画することによって、GC-MS分析の際のピークの重なりを最小限にすることができた。これによって、これまでのGC-MS分析では確認が困難であったダマセノン、シトロネロール、ゲラニオールおよび2,3-ジヒドロ-トランス-ファルネソールを単独ピークとして検出できた。
- (2) 香気成分を分画分取して保存可能なものとするにより、GC-MSピークと特徴香気との関連について調査することが容易になった。

本研究で香気試験結果と香気成分濃度との関連について検討したところ、GPC分画溶液で最初に感じた香気にはカプリル酸エチルやカプリン酸エチル等の直鎖型脂肪酸エチルエステル類、2種類目の香気には酢酸イソアミル、3種類目の香気には芋焼酎特徴香気成分のダマセノンとファルネソール、4種類目の香気にはイソアミルアルコール、5種類目の香気にはβ-フェネチルアルコールがそれぞれ関与していることが推察された。したがって、これらの成分が主体となって芋焼酎の香気を形成していると思われる。

参考文献

- 1) 高峯和則, 瀬戸口眞治, 亀澤浩幸, 神渡巧, 緒方新一郎, 尾ノ上国昭, 濱崎幸男: 焼酎酵母の分離に関する研究, 鹿児島県工業技術センター平成7年度研究報告, 8, 1-6 (1994)
- 2) T. OHTA, R. IKUTA, M. NAKASHIMA, Y. MORIMITSU, T. SAMUTA and H. SAIKI: *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1353-1357 (1990)
- 3) 神渡 巧, 瀬戸口眞治, 緒方新一郎, 間世田春作: 醸協, 98 (10), 729-736 (2003)
- 4) 武内次夫, 森定雄 著, ゲルクロマトグラフィー<基礎編>p.98-176 (講談社)
- 5) 米元俊一: 醸造物の成分 第四章 エステル, p.120, (財)日本醸造協会
- 6) 下田雅彦: 醸造物の成分 第三章 アルコール, p.116, (財)日本醸造協会
- 7) 神渡 巧, 瀬戸口眞治, 上田次郎, 瀬戸口智子, 緒方新一郎: 醸協, 101 (6), 437-445 (2006)