

Title	メタボローム解析技術に基づく醤油醸造微生物と成分プロファイルの相関の解析
Author(s)	原田, 里紗
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/69532">https://doi.org/10.18910/69532</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

博士学位論文

メタボローム解析技術に基づく  
醤油醸造微生物と成分プロファイルの相関の解析

原田 里紗

2018年1月

大阪大学大学院工学研究科  
生命先端工学専攻 生物工学コース





# 目次

用語集.....	1
第1章 緒論.....	3
1.1. 醤油について.....	3
1.2. 醤油の種類.....	5
1.3. 近年の醤油の多様化.....	7
1.4. 醤油中の品質と成分.....	11
1.5. 醤油の醸造と微生物.....	13
1.6. メタボロミクスとその食品研究への応用.....	15
1.7. これまでの醤油のメタボロミクス研究と現在の課題について.....	18
1.8. 本研究の目的.....	19
第2章 乳酸菌と酵母が醤油醸造中に成分プロファイルに及ぼす影響の解析.....	21
2.1. 緒言.....	21
2.2. 実験材料および実験方法.....	22
2.2.1. 醤油の調製.....	22
2.2.2. 試葉.....	23
2.2.3. 前処理.....	23
2.2.3.1. 親水性低分子成分の誘導体化.....	23
2.2.3.2. 酢酸エチルによる揮発性成分の抽出.....	24
2.2.3.3. スタティックヘッドスペース装置による揮発性成分のサンプリング.....	24
2.2.4. GC/MS 分析.....	24
2.2.4.1. 親水性低分子成分.....	25
2.2.4.2. 揮発性成分 (酢酸エチル抽出).....	25
2.2.4.3. 揮発性成分 (スタティックヘッドスペースサンプリング).....	26
2.2.5. データプロセス.....	26
2.2.6. 統計解析.....	27
2.3. 結果と考察.....	28
2.3.1. 醤油の成分プロファイリング結果.....	28
2.3.2. 主成分分析による全体のデータ構造の把握.....	30
2.3.3. 醸造期間中の変化.....	38
2.3.4. 微生物による成分プロファイルへの影響の解析.....	43
2.3.4.1. 酵母添加の影響.....	46
2.3.4.2. 乳酸菌添加の影響.....	54
2.4. 小括.....	57
第3章 乳酸菌と酵母が生産する lactic acid・acetic acid・ethanol が醤油醸造中に成分プロファイルに及ぼす影響の解析.....	59
3.1. 諸言.....	59

3.2. 実験材料および実験方法.....	61
3.2.1. 醤油の調製.....	61
3.2.2. 試薬.....	62
3.2.3. 前処理.....	63
3.2.3.1. 親水性低分子成分の誘導体化.....	63
3.2.3.2. 酢酸エチルによる揮発性成分の抽出.....	63
3.2.3.3. スタティックヘッドスペース装置による揮発性成分のサンプリング.....	63
3.2.4. GC/MS 分析.....	64
3.2.4.1. 親水性低分子成分.....	64
3.2.4.2. 揮発性成分(酢酸エチル抽出).....	64
3.2.4.3. 揮発性成分(スタティックヘッドスペースサンプリング).....	65
3.2.5. データプロセス.....	65
3.2.6. 統計解析.....	66
3.3. 結果と考察.....	67
3.3.1. 醤油の成分プロファイリング結果.....	67
3.3.2. 主成分分析による全体のデータ構造の把握.....	70
3.3.3. 微生物添加と成分添加の違い.....	74
3.3.3.1. 酵母添加と ethanol 添加による影響.....	76
3.3.3.2. 乳酸菌添加と lactic acid・acetic acid 添加による影響の違い.....	86
3.4. 小括.....	90
第4章 総括と展望.....	91
4.1. 本研究の総括.....	91
4.2. 今後の展望.....	93
引用文献.....	94
発表論文.....	102
総説等.....	102
学会発表.....	104
謝辞.....	105
付録.....	107

## 用語集

GC/MS : Gas chromatography/mass spectrometry, ガスクロマトグラフィー質量分析法

EI : Electron ionization, 電子イオン化

HCA : Hierarchical cluster analysis, 階層クラスター分析

HDMF : 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone, 4-ヒドロキシ-2,5-ジメチル-3(2*H*)-フラン  
ノン

HEMF : 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2*H*)-furanone, 4-ヒドロキシ-2(or 5)-エチ  
ル-5(or 2)-メチル-3(2*H*)-フラン

JAS : Japanese Agricultural Standard, 日本農林規格

MSTFA : *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide, *N*-メチル-*N*-(トリメチルシリル)-  
トリフルオロアセタミド

NIST : National Institute of Standards and Technology, 米国標準技術局

PCA : Principal component analysis, 主成分分析

RI : Retention index, 保持指標





## 第1章 緒論

### 1.1. 醤油について

日本には様々な醗酵食品があり，例えば醤油，味噌，みりん，酢などの調味料，清酒，焼酎，泡盛などの酒類，さらに漬物，納豆などの食品が含まれる．何れの醗酵食品も日常の食生活に常に関わりがあり，醗酵の技術は日本の食文化に無くてはならないものである．醗酵食品の研究には長い歴史があり，大阪大学も生産・技術の発展に重要な役割を果たしてきた．現在は大阪大学工学部応用自然科学科応用生物工学科目という名称であるが，そのルーツは明治 29 年に創設された日本初の醸造科をもつ大阪工業学校である．その後，スコッチ・ウイスキーの製法を始めて日本に伝えた竹鶴政孝を始めとして醸造関係の技術分野において革新的な業績を残した研究者を輩出してきた (松永和浩 2012)．現在も醗酵食品の研究は続けられているが，長い研究の歴史を持ってしても未解明な点が多い．醗酵食品は様々な要素が関連していることから複雑であり，その解析が困難である一方で，それが魅力の一つにもなっている．

醤油は微生物の醗酵によって作られる醗酵食品の一つであり，日本では古くから幅広い料理に用いられてきた．一般的に醤油といえば，本醸造方式のものを指す．農林水産省による，日本農林規格等に関する法律 (Japanese Agricultural Standard : JAS 法) に基づく「JAS 規格」に含まれる，「しょうゆの日本農林規格」によると，醤油はその製法によって主に 3 つに区分される (資料 A1)．まず，本醸造方式の醤油として定義されるものは，原料となる大豆と小麦を麹菌や酵母など微生物を用いて醗酵・熟成させたものである (図 1-1)．次に混合醸造方式の醤油として定義されるものは，諸味にアミノ酸液 (大豆等の植物性タンパク質を酸やプロテアーゼにより処理したもの) や酵素分解調味液などを加えて醗酵・熟成させたものである．最後に混合方式による醤油として定義されるものは，本醸造方式の醤油や混合醸造方式の醤油にアミノ酸液，酵素分解調味液若しくは醗酵分解調味液又などを混合したものである．本醸造方式が最も一般的な生産方式であり，2015 年の醤油の出荷数量の 86.4% を占める．次いで混合方式は生産量の 13.0%，混合醸造方式は生産量の 0.6% である (しょうゆ情報セン

ター，生産と消費， <https://www.soyssauce.or.jp/arekore/index.html>，2017年12月現在).  
 従って，酵素や酸を用いて製造する方式と比較して，醗酵・熟成によって製造する本醸造方式の醤油は，日本において最も使用されているという背景から，日本の食文化や産業上重要であると言える。

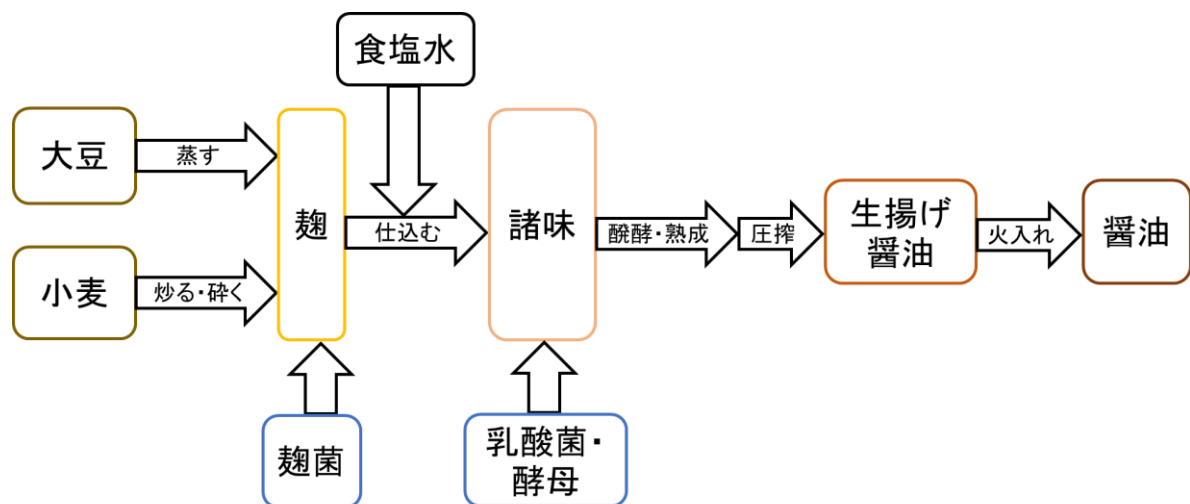


図 1-1. 本醸造方式の醤油の製造方法

「しょうゆの日本農林規格」による醤油の区分のうち，原料となる大豆と小麦を麴菌や酵母など微生物を用いて醗酵・熟成させたものとして定義される本醸造方式の醤油の製造方法を示した。本醸造方式は2015年の醤油の出荷数量の86.4%を占め，日本国内において最も一般的な生産方式である。

図は「こいくちしょうゆ 一本醸造方式」（しょうゆ情報センター，<https://www.soyssauce.or.jp/syurui/koikuchi.html>，2017年12月現在）を参考にして作成した。

## 1.2. 醤油の種類

製造方式だけではなく、原材料の配合割合などの違いによる醤油の種類も、JAS 法により同様に定義されている (農林水産省, 2017 年 12 月現在). 醤油の種類として「こいくち (濃口)」、「うすくち (淡口)」、「たまり (溜)」、「さいしこみ (再仕込)」、「しろ (白)」が説明されており、それぞれ特徴の違いによって用途が異なる (JAS においては濃口醤油などの各項目は平仮名で表記されている. 本博士論文では漢字で統一しているが、規格から引用している文章は平仮名を用いて表記する).

濃口醤油は、大豆にほぼ等量の麦 (小麦)を加えたもの (又はこれに米等の穀類を加えたもの)を醤油麴の原料とし、醗酵・熟成したものであり、上に述べた 5 種類の醤油のうち、出荷数量の 84.0%を占める最も一般的な種類の醤油である (しょうゆ情報センター, 生産と消費, <https://www.soysauce.or.jp/arekore/index.html>, 2017 年 12 月現在). 重厚な香りと濃厚な味で日本における調理の主役であり (栃倉 2012a), 「つけ, かけ」だけでなく, 「煮物, 焼物, だし, たれ」など調理用醤油としても使われている (小幡, 桑垣 2013).

淡口醤油は、大豆にほぼ等量の麦 (小麦)を加えたもの (又はこれに米等の穀類もしくは小麦グルテンを加えたもの)を醤油麴の原料とし、諸味は米を蒸したもの (又はこれを麴菌により糖化したもの)を使用し、製造工程において色沢の濃化を抑制したものである. 醤油の出荷数量のうち、12.5%を占める二番目に多い醤油である (しょうゆ情報センター, 生産と消費, <https://www.soysauce.or.jp/arekore/index.html>, 2017 年 12 月現在). 淡口醤油は材料の味や香り、色合いを生かすようにうす味、うす色に仕上げることが多い関西では特に必要とされてきた (小西ら. 2004). うどんのだし汁の色などにも東は濃く、西は薄いという特徴が表れている (真部ら. 1996).

溜醤油は、大豆もしくは大豆に少量の麦 (小麦)を加えたもの (又はこれに米等の穀類を加えたもの)を醤油麴の原料とするもので、原料における小麦の割合が少ないことが特徴である. 出荷数量の 2.0%が溜醤油に相当し、溜醤油はその味の濃厚さに特徴があり、家庭用では刺身用醤油として、業務用ではおかきやあらねなどの米菓や佃

煮用などに用いられる(栃倉 2012a).

再仕込醤油は、大豆にほぼ等量の麦 (小麦)を加えたもの (又はこれに米等の穀類を加えたもの)を醤油麴の原料とし、かつ諸味は食塩水の代わりに生揚げ (諸味から圧搾して得られた、火入れをする前の液体)を使用するものである。出荷数量の 0.9%が再仕込醤油である。濃口醤油と比較して、色・味が濃厚で粘度や密度が高い。その芳醇で独特な香りから、鰻のたれや刺身用のかけ醤油として用いられる (栃倉 2012a).

白醤油は、少量の大豆に麦 (小麦)を加えたもの(又はこれに小麦グルテンを加えたもの)を醤油麴の原料とし、かつ製造工程において色沢の濃化を強く抑制したものであり、出荷数量の 0.6%が白醤油にあたる。一番の特徴は色度が極めて淡く、煮込み料理などのうち、色を濃く出さない料理のために使用される (栃倉 2012a).

製法に基づく様々な種類の醤油がある中で、消費者の醤油の好みと消費傾向は地域や年代によって差がある。高木らの研究では、24 道府県の 1,740 人に対して行ったアンケート調査によると全体の約半数が調理に使用する醤油にこだわりを持っていると報告されている。また全体の 37%が料理に応じて醤油を使い分けており、特に沖縄をのぞく関西以西で 50%を超える人が醤油の使い分けをしている (高木 2005)。加えて、醤油と郷土料理の相性に関する研究でも北海道・九州において郷土料理と醤油の相性に相関がある可能性が議論されている (三田村ら. 2017; 武田ら. 2017)。

以上のことから、一口に醤油と言っても、その消費者の好みや用途は多岐にわたり、世代や地域によって様々な醤油が選択されていることがわかる。つまり何れの醤油も日本人の食文化に重要である。

### 1.3. 近年の醤油の多様化

近年、1.2 で述べた従来の醤油に加えて、生醤油や、減塩醤油、主原料として醤油を使用しだし醤油、刺身醤油などの汎用調味料、原料の一部に醤油を含むめんつゆ、たれ類など、基本調味料としての醤油以外に、醤油加工品として用いられることが増加している。この事実から、醤油の多様化と、それに対するニーズの増加が伺える。

生醤油は、1.2 で述べた醤油と同様の製法で醗酵・熟成させた諸味を圧搾して得られた状態のままの液体に火入れを行わずに微生物の除去を行った醤油のことである。火入れによる微生物の加熱殺菌を行わずに精密な濾過により除去する技術が発達したことで、生醤油が製造されるようになった(小幡, 桑垣 2013)。生醤油は、火入れをしないことから、「穏やかな香り」、「鮮やかな澄んだ色」などが特徴であり、品質の劣化を防ぐ密封容器の開発によって、一般の食卓に普及した。

減塩醤油は食塩の過剰摂取による高血圧や腎臓疾患などの悪影響が原因で食塩の制限を受けている人を対象として普及を始めた(析倉 2012a; 高木 2005)。加えて、醤油に含まれる成分の抗酸化活性などの機能性が期待されており、今後も更に高付加価値醤油が求められていく可能性がある(古林 2007)。

醤油加工品には、だし醤油、刺身醤油、めんつゆ、たれ類などがあり、醤油をベースとして他の調味料などを加えたものである。しょうゆ情報センターの都道府県別醤油等出荷数量を元に、醤油と醤油加工品の出荷数量の変化を2008年から2016年にかけてグラフ化した(図 1-2)。販売用、自家加工用の醤油の出荷数量を合計したグラフは年々減少傾向を見せるのに対し、醤油加工品、麺類など用つゆ(めんつゆと表記)、たれ類の合計出荷数量は年々増加傾向にある。未だに販売数量には差があるが、日本における醤油加工品類の需要が増加しつつあることが伺える。

また、海外における醤油の需要については年々増加傾向にあり、日本からの輸出量は2011年以降2016年まで増加を続け、約30000 kLとなっている(図 1-3)(しょうゆ情報センター、生産と消費、<https://www.soyssauce.or.jp/arekore/index.html>, 2017年12月現在)。加えて、先進国を中心とする日本食ブームや“和食；日本人の伝統的な食

文化”のユネスコ無形文化遺産への登録 (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, 2013)を追い風にして今後も世界規模での更なる市場拡大が見込まれる。従って、醤油は世界中で嗜好されている醗酵調味料であり、日本の食品産業上重要であるといえる。以上のように、国内外の食生活の変化によって、醤油の多様性は広まりつつあり、その需要も多岐にわたっている。

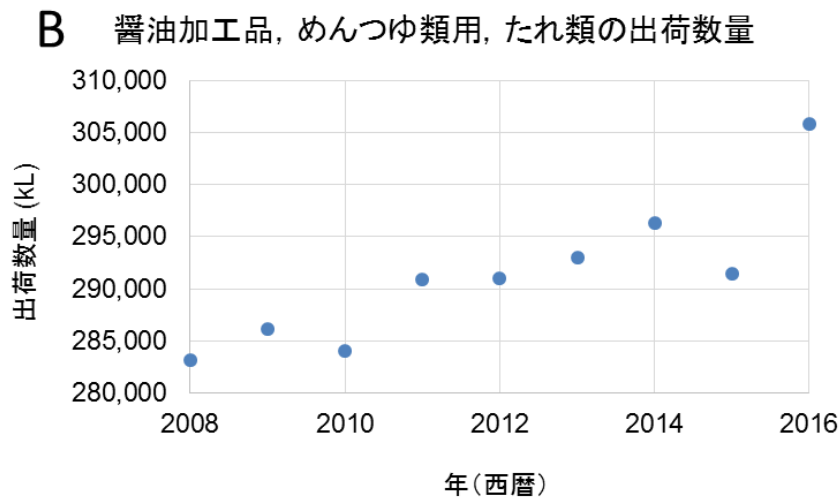
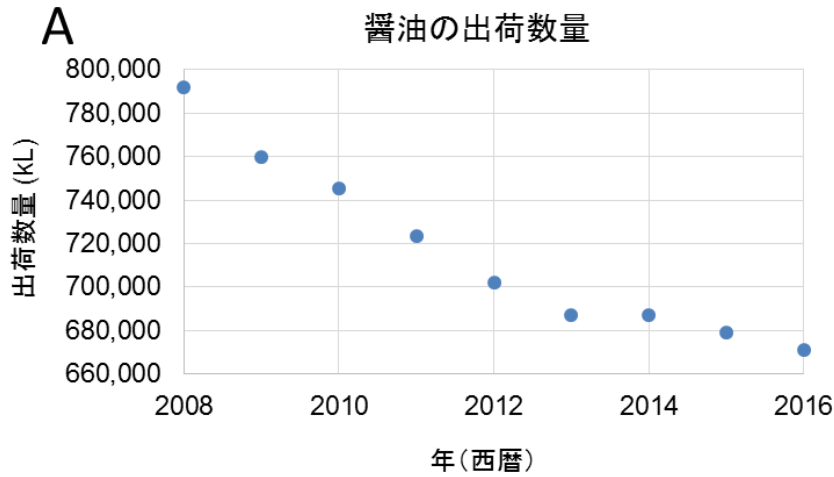


図 1-2. 醤油と醤油加工品等の出荷数量の変化

(A)醤油の出荷数量の変化

(B)醤油加工品, めんつゆ類用, たれ類の出荷数量の変化

2008年(平成20年)から2016年(平成28年)の出荷数量の推移を示した。しょうゆ情報センターの都道府県別醤油等出荷数量を合算した値を使用した。

醤油の出荷数量を合計したグラフは年々減少傾向を見せるのに対し、醤油加工品、麺類など用つゆ(めんつゆと表記)、たれ類の合計出荷数量は年々増加傾向にある。未だに販売数量には差があるが、日本における醤油加工品類の需要が増加しつつあることがうかがえる(しょうゆ情報センター, 生産と消費, <https://www.soyasauce.or.jp/arekore/index.html>, 2017年12月現在)。

### 醤油の輸出数量の推移

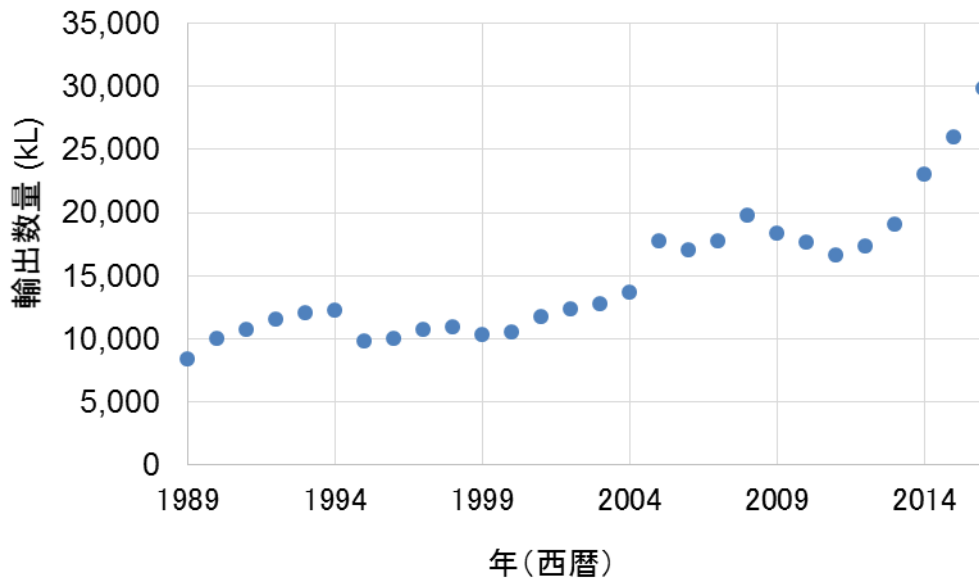


図 1-3. 醤油の輸出量の推移

1989年(平成元年)から2016年(平成28年)の醤油の輸出量の推移を示した。しょうゆ情報センターの輸出数量の各国の推移を合算した値を使用した。

輸出先は1989年には53カ国、2016年には64カ国であり、アメリカ合衆国、英国、中華人民共和国、香港、オーストラリア、大韓民国、フランス、ドイツ、タイ、オランダ、シンガポール、フィリピン、イスラエル、スペイン、台湾、インドネシア、マレーシア、ニュージーランド、イタリア、ベトナム、デンマーク、ロシア、スウェーデン、アラブ首長国連邦、カナダなどが含まれる。海外における醤油の需要は年々増加傾向にあり、日本からの輸出量は2011年以降2016年まで増加を続けている(しょうゆ情報センター、生産と消費、<https://www.soyssauce.or.jp/arekore/index.html>, 2017年12月現在)。



#### 1.4. 醤油中の品質と成分

醤油の特徴は、味、香り、色の3つの要素から成り立つ。JASでは、濃口醤油などの各醤油に対して、特級・上級・標準の等級を用いている(資料 A1)。醤油の等級は醤油の品質を表すため、醸造方式、性状(色、香り)、色度、全窒素分、無塩可溶性固形分などの指標によって規定されており(表 1-1, 資料 A1)、検査は、(財)日本醤油技術センターが実施する「醤油官能検査院認定試験」に合格したものが行っている。中でも、特選・超特選の表示は濃口、溜、再仕込醤油では窒素分がそれぞれの特級に比較して10%以上多いものにのみ許されている(表 1-2, 資料 A2, 農林水産省, 2017年12月現在)。全窒素分は醤油に含まれるアミノ酸やペプチドの総量を測定するもので、この表示規定から醤油の品質を決定する上でアミノ酸が重要視されていることがわかる。実際に、醤油のうま味に寄与する glutamic acid (Lioe et al. 2010)やアミノ酸の存在 (Kirimura et al. 1969)が醤油の品質にとって重要であることは明らかであり、アミノ酸の量を間接的に表す全窒素の比率は、年々増加傾向にある(日本醤油協会 2012)。

一方で、他の低分子化合物として glucose は甘味、lactic acid や acetic acid は酸味、原料由来の NaCl は塩味、苦味ペプチドは苦味などと、基本五味に関わる成分はこれまでに議論されており、アミノ酸以外の成分の重要性も示唆されている(佐々木ら. 1999)。醤油には多様な成分が含まれているが、醤油の品質にはこれらの成分の違いが反映されていない。加えて、醤油には特徴香である 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF)のほか、エステル、アルコール、酸、ケトン、フラノン、ラクトンなどの香気成分が含まれている。他にもメイラード反応を通じた香ばしい火香の生成など醗酵・熟成の間に様々な要因によって醤油の成分が生成される(日本醤油協会 2012)。しかし醤油の香りは「しょうゆの日本農林規格」に記載されている性状である「よく発酵、熟成した醸造こいくちしょうゆの特徴である独特の透明感のある鮮やかな赤橙色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが優良であり、かつ、意味異臭及びかびがないこと(こいくちしょうゆの規格・特級, 資料 A1) .」という指標のみで評価されており、具体的な香気成分は品質評価において考

慮されていない。

以上のことから、「しょうゆの農林規格」による指標は醤油の香味の評価としては完全ではない。実際に、醤油の品質向上のために毎年開催されている全国醤油品評会では、同じ規格の醤油が優劣を評価されることから、同じ規格の中であっても全て同じ香味になるとは限らないことは明らかである。つまり醤油の味や香りをより理解するためにはさらなる研究が必要である。これまでに指標として挙げられていた成分だけでなく、醤油に含まれる様々な成分が醤油の特徴に寄与している可能性を考え、これまでに成分プロファイルと醤油の味・香りに関する研究が行われてきた。その詳細については 1.6 で述べた。

**表 1-1. こいくちしょうゆの JAS 規格**

規格	全窒素分 / %	色度 <sup>a</sup> / 番	無塩可溶性固形分 (エキス分) <sup>b</sup> / %
特級 <sup>c</sup>	1.50 以上 (1.50~1.60)	18 未満 (10~13)	16 以上 (16~19)
上級	1.35 以上	〃	14 以上
標準	1.20 以上	〃	—

<sup>a</sup> 色度の番数は「しょうゆの標準色」の番数。番数が小さくなるほど色が濃く、番数が大きくなるほど色は淡い。

<sup>b</sup> 成分が溶け込んでいる固形分 (可溶性固形) から塩分を除いたもの。

<sup>c</sup> ()内は実績値。

**表 1-2. JAS によるこいくち, たまり, さいしこみしょうゆの特選・超特選の表示規準**

用語	等級	規準
超特選	特級	特級の窒素分の 1.1 倍以上
特選	特級	特級の窒素分の 1.2 倍以上

## 1.5. 醤油の醸造と微生物

醤油の醸造は麹菌，乳酸菌，酵母によって行われる．図 1-4 にそれぞれの微生物の主な役割を示した．まず，醤油醸造の第一段階として，麹菌 *Aspergillus oryzae* もしくは *A. sojae* の生産する酵素（プロテアーゼ，アミラーゼ）によって大豆由来のタンパク質のアミノ酸への分解，および小麦由来のデンプンの糖への分解が始まる．麹菌は，プロテアーゼ，アミラーゼなどの生産によって，1.4 で挙げた醤油中の原料の分解率や全窒素分に大きく関与するため，従来から麹菌の選択と育種は酵素の生産性の増強を目的として行われてきた（柝倉 2012b）．次いで，耐塩性の乳酸菌 *Tetragenococcus halophilus* が乳酸醗酵による lactic acid の生産と，citric acid からの acetic acid の生産を行い，その結果として諸味の pH の低下が起こる．乳酸菌の菌株ごとに pH の降下速度や最終的な pH は異なるが，一般的に 4.6 程度まで下がる．乳酸醗酵が過度になると酵母の醗酵が不十分になるため，優良な乳酸菌は酵母の醗酵終了後の香りを評価することによって選ばれる場合がある（柝倉 2012b）．最後に，酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* や *Candida versatilis* によるアルコール醗酵によって醤油の独特な味，香りが生成する（Sugiyama 1984）．*Z. rouxii* は主醗酵酵母と呼ばれ，醤油醸造において最も重要な酵母である．高塩条件下で糖類からアルコール醗酵を行うとともに，Ehrlich 経路によってアミノ酸から炭素数の一つ少ない高級アルコール類を生成する（Sluis et al. 2001）他，酵母の醗酵過程で有機酸を基質としたエチルエステルの生成，グリセロールなどの糖アルコールの生成などにも関与している（柝倉 2012b）．一方 *C. versatilis* は揮発性フェノール類の生産を特徴とする．酵母は醤油の香りにとって最も大事な要素の一つで，優良酵母の育種が研究されている．

以上のように，醤油醸造に使用される微生物はそれぞれ重要な役割をもっており，それぞれの役割を果たす上で適した菌株が選択されてきた．




	醸造微生物	代表的な役割
	麹菌 ( <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>A. sojae</i> )	酵素による原料の分解
	乳酸菌 ( <i>Tetragenococcus halophilus</i> )	乳酸・酢酸の生成 (pH低下)
	酵母 ( <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> )	香気成分の生成

図 1-4. 醤油中の醸造微生物とその代表的な役割

麹菌，乳酸菌，酵母はそれぞれ醤油醸造において重要な役割を持っている。

麹菌 *Aspergillus oryzae* もしくは *A. sojae* の生産する酵素によって大豆由来のタンパク質のアミノ酸への分解，および小麦由来のデンプンの糖への分解を行う。乳酸菌 *Tetragenococcus halophilus* は lactic acid と acetic acid の生産を行い，結果として醤油諸味の pH の低下が起こる。酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* はアルコール醗酵によって香気成分を生成し，醤油の独特な味，香りを作る。

## 1.6. メタボロミクスとその食品研究への応用

微生物，植物，動物などの生物が生命活動を営む過程において，様々な代謝物が生成される．これらの代謝産物のすべて（代謝産物の総体）をメタボロームと呼び，メタボロームを網羅的に解析する研究領域がメタボロミクスである．メタボロミクスはオーム科学の中で最も新しい学問領域であり，遺伝情報であるゲノムや，ゲノム情報から実行への「媒体の流れ」を表すトランスクリプトームやプロテオームとは異なり，ゲノム情報の実行の結果を表す最下流の表現型と直結する．従って，メタボロームを解析することによって，表現型や代謝の変動などを“高解像度”で捉えることが可能となる．メタボロミクスの応用領域は代謝フラックス解析などの生命科学への応用 (Zamboni and Sauer 2009)，医療診断に向けたバイオマーカー探索などの実用技術への応用 (Nishiumi et al. 2012) など多岐にわたる．また，ゲノム情報が必須ではないので，実用植物などのフィンガープリンティングへの応用が可能である (福崎 2008)．

様々な分野への応用や，メタボロミクス技術の発展へのニーズに従って，使用する機器・解析方法などが研究されてきた．メタボロミクスを行うための機器には核磁気共鳴分光分析法 (Nuclear magnetic resonance spectroscopy : NMR)，ガスクロマトグラフィー質量分析法 (Gas chromatography mass spectrometry : GC/MS)，液体クロマトグラフィー質量分析法 (Liquid chromatography mass spectrometry : LC/MS)，キャピラリー電気泳動質量分析法 (Capillary electrophoresis mass spectrometry : CE/MS) などがある．それぞれの機器には検出できる化合物，サンプルの状態，価格 (コスト)，方法の簡便さなどの面で異なった特徴を持ち，研究の目的に応じて選択される．また，メタボロミクスの機器分析によって得られたデータは，多くの場合，多くの化合物情報と機器によって得られた強度，サンプル情報からなるデータ構造をしており，サンプル間の違いやサンプルごとの特徴を一目で理解することは困難である．そのため，解析には階層的クラスタ分析 (Hierarchical cluster analysis : HCA) や主成分分析 (Principle component analysis : PCA) などの教師無し手法や，予測やモデル構築を行うための PLS (Projection to latent structures) 回帰分析などの教師有り手法が用いられる．それぞれの

解析方法にも長所と短所があり，目的に応じて様々な組み合わせが選択される．

メタボロミクスによる解析でターゲットとしている分子は，糖やアミノ酸などの親水性代謝物であり，食品中の呈味成分と共通する部分がある．そのためメタボロミクス技術が進歩する中で発展してきた分析手法や解析手法は，食品研究にも応用されてきた（図 1-5）．食品中には多数の代謝物が存在し，多成分の網羅的解析は食品の機能解析を行うにあたって有用なツールとなり得る．実際に，フルーツ，野菜，醗酵食品，乳製品などの様々な食品に関する，製品の品質向上，安全性への応用が報告されている（Cevallos-Cevallos 2009; Ochi et al. 2012; Mimura et al. 2014; Jumhawan et al. 2016）．メタボロミクス技術を用いた食品研究では，検出された幅広い成分郡をこれまでの常識に捕らわれずにノンバイアスで解析する．このことによって，今までに明らかになっていなかった知見を得ることができるため，複雑な食品中の成分の調査に有用である．

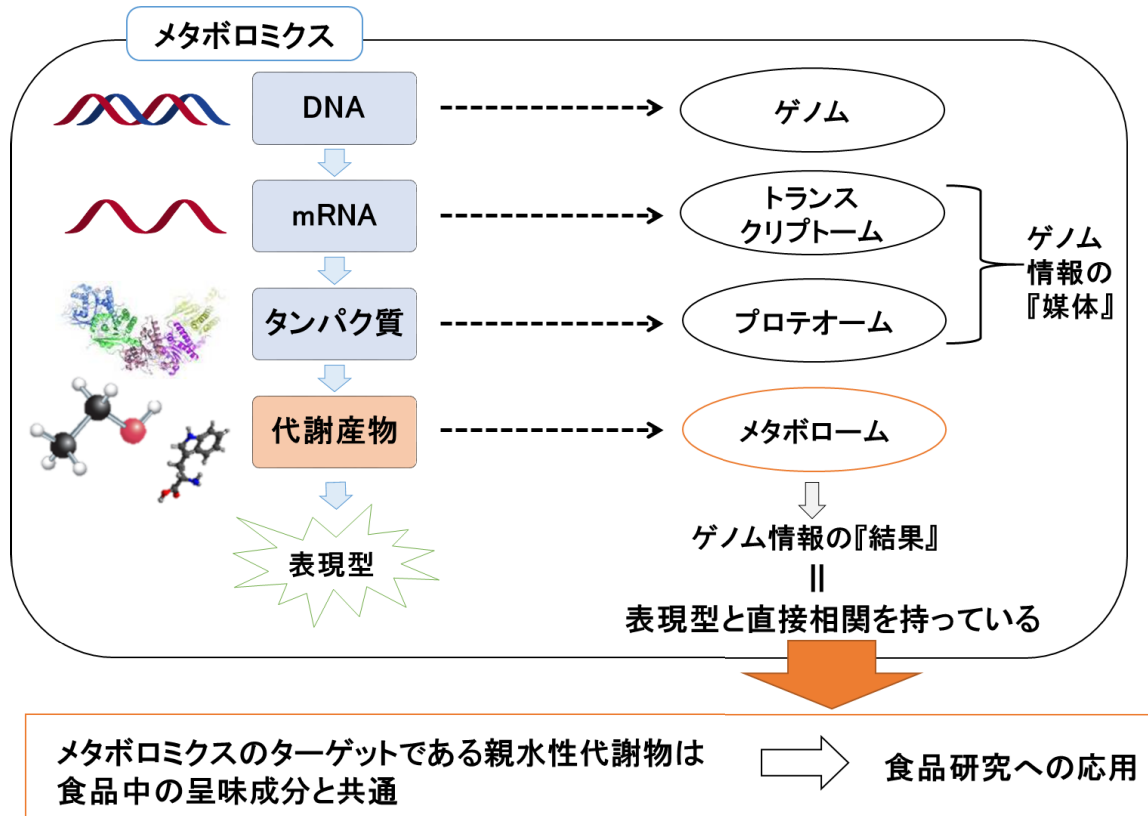


図 1-5. メタボロミクスの食品研究への応用

メタボロミクスで注目される成分は全ての生物に共通に存在する、糖・アミノ酸・有機酸などの親水性代謝物であるが、これらは食品の呈味においても重要な成分である。そのため、メタボロミクスで用いられている分析手法、解析手法はそのまま食品研究への応用が可能である。

## 1.7. これまでの醤油のメタボロミクス研究と現在の課題について

1.4 で述べたように、醤油にはアミノ酸、有機酸、糖・アルコール・フラノンなどの様々な成分が含まれている (栃倉 2012c). それぞれの成分が醤油の特徴に関与するにも関わらず、醤油の等級は JAS が定めた全窒素分や無塩可溶性固形分などの一定の基準によって決定する. そのためこれらの指標は醤油の風味の評価として不十分であると考えられた. そこで醤油の味に関わる主要成分だけでなく、様々な成分と味の関係を詳細に解析するために、メタボロミクス技術を用いて官能評価による呈味と成分との相関関係の解析が行われた. その結果、糖類が甘味以外にもうま味、苦味、塩味、酸味、渋みへ寄与する可能性や (Yamamoto et al. 2012), 糖化アミノ酸がうま味に寄与する可能性があることなど (Shiga et al. 2014), 他の食品と同様に醤油においても、メタボロミクスによる成分プロファイリングによって新規知見が明らかになった.

また香気成分の研究では、サンプルを段階的に希釈して人の鼻がその成分を感じることができる濃度である flavor dilution factor (FD factor) を求める aroma extract dilution analysis (AEDA)を用いて、既に重要だと知られている成分だけでなく、多成分を対象として探索的に香りに寄与する成分の研究が行われている (Steinhaus and Schieberle 2007) (Kaneko et al. 2012). これまで重要な香気成分は HEMF であると考えられてきた (Nunomura et al. 1976)が、これに加えて、2-phenylethyl alcohol, 3-(Methylthio)-1-propanal (Methional), 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF), ethyl 2-methylbutanoate など (Steinhaus and Schieberle 2007; Kaneko et al. 2012; Kaneko et al. 2013; Meng et al. 2017), 新たに醤油の香りに寄与する成分が同定されてきている.

以上の研究結果は、過去に注目されてきた重要な成分だけでなく、醤油に含まれる様々な成分が醤油の特徴に寄与している可能性を示してきた. しかしそれぞれの成分がどの微生物と相関を持つかが明らかになっていないため、醸造中に何に起因して変化するのかの議論が極めて困難である.



## 1.8. 本研究の目的

そこで本研究では、メタボロミクス技術を用いて醤油醸造中に成分プロファイリングを行い、微生物と成分との関連が醤油の品質に与える影響を議論するための情報を得ることを目的とした。微生物の中でも、諸味中で醗酵に関与し、有機酸や香気成分への生成に寄与していると考えられる乳酸菌と酵母に着目した。

まず、第2章では微生物の添加・非添加によって醸造中にどのような成分プロファイルの変化が起こるかを明らかにした。醤油諸味に含まれ、醸造を通して変化する成分は、(1) 乳酸菌の添加で生成する成分、(2) 酵母の添加で生成する成分、(3) それ以外の麴などに由来する成分に区別できる。そこで、それぞれの微生物を添加することによる成分プロファイルの変化から、(1)、(2)の乳酸菌・酵母の添加と相関をもつ成分を明確にした。具体的には、乳酸菌・酵母を添加した通常の醤油とともに、乳酸菌と酵母をそれぞれ添加・非添加の醤油を醸造した (①乳酸菌・酵母添加, ②乳酸菌添加, ③酵母添加, ④乳酸菌・酵母添加なし)。マススペクトルライブラリが充実しており、イオン化サプレッションの影響を受けることが少なく、定量性に優れているという特徴を有することから、分析機器として電子イオン化 (EI)法を用いた GC/MS を選択し低分子成分プロファイリングを行った。その後、得られた成分情報を、多変量解析を使用して考察した。

続く第3章では、乳酸菌と酵母がそれぞれ生産する、lactic acid・acetic acid・ethanolの醸造中の影響を考察した。これらの成分は諸味環境の変化を引き起こすことにより、微生物の生育(Kusumegi et al. 1998)や成分変化に寄与する可能性が知られているため (Martins and Van Boekel 2005)、その影響は醤油醸造において重要な要因のひとつである。第2章では微生物と成分の相関を解析したが、乳酸菌の添加によって増加する成分の中には、乳酸菌が酵素的に関与して生産する成分以外に、乳酸菌に作られた lactic acid や acetic acid によって変化する成分があることが予想される。加えて、酵母の添加によって増加する成分の中には、酵母が酵素的に関与して生産する成分以外に、酵母によって作られた ethanol 自体に影響を受ける成分も存在することが考えられる。

そこで、乳酸菌と酵母が生産する lactic acid・acetic acid・ethanol が成分プロファイルに及ぼす影響に着目した。微生物によって生成する成分とそれ以外の要因によって諸味中で微生物なしに生成する成分をそれぞれ明らかにすることは、微生物の役割をより深く理解するために重要な知見となる。そのため、乳酸菌・酵母を添加した通常の醤油とともに、乳酸菌の代わりに lactic acid・acetic acid を、酵母の代わりに ethanol を添加した醤油を醸造し、lactic acid・acetic acid・ethanol の存在が成分プロファイルにどう影響するかを考察した。最後に、第2章と第3章の結果を総括し、醤油諸味において乳酸菌、酵母および、lactic acid・acetic acid・ethanol が成分プロファイルに与える影響について考察した。

## 第2章 乳酸菌と酵母が醤油醸造中に成分プロファイルに及ぼす影響の解析

### 2.1. 緒言

醤油の醸造には、微生物による醗酵が重要である。しかし醤油中に含まれる成分は多岐にわたり、うま味に関与する glutamic acid をはじめとするアミノ酸類や、重要な香気成分である HEMF などの一部の成分を除き、微生物と成分プロファイルの詳細な解析は行われていない。醤油の多様化が進み、日々新しい特徴を持つ醤油が求められている状況の中で、微生物と成分の関わり方の議論に資する情報を得ることは重要な課題の一つである。

そこで本章では、微生物と各成分を紐付けるための基礎となる情報として、微生物の添加・非添加に基づく成分プロファイルの変化を分析し、その違いから、微生物の及ぼす影響を考察することを目的とした。麴菌は醤油醸造を行う上で最も重要な微生物であり、醤油中のアミノ酸の生成量に直接関与している (枥倉 2012b)。酵素や酸を添加する混合醸造とは異なり、麴菌は本醸造方式の醤油製造には必須である。そこで原料分解に必要な麴菌添加の段階はすべての醤油について同様の方法で行い、それより後の段階の乳酸菌と酵母の成分プロファイルへの影響を考察することとした。そのために乳酸菌・酵母を添加した通常の醤油とともに、乳酸菌と酵母を添加しない醤油を醸造した。成分プロファイリングには、マススペクトルライブラリの情報が充実しており、理論段数の高さから食品などの複雑なサンプルのノンターゲット解析に適している GC/MS を選択した。GC/MS では、3種類の分析方法を使用した。まず、アミノ酸、糖、有機酸など醤油の味に関わると考えられる親水性低分子化合物の一斉分析が可能であるメトキシム化とトリメチルシリル化を組み合わせた誘導体化法による分析を使用した。次に、香りに関わると考えられる揮発性成分の分析としてアルコール、フラノンなどを有機溶媒による液液抽出法によって、エステルなどをサンプル自

体のヘッドスペースの成分を捕集するスタティックヘッドスペースサンプリング法によって分析法した。

## 2.2. 実験材料および実験方法

### 2.2.1. 醤油の調製

本実験に用いたサンプルはキッコーマン株式会社に提供していただいた。醤油諸味は伊藤らによって報告された手法により製麹，出麹を行った (Ito et al. 2013)。等量の蒸した大豆と炒った小麦を混合し，麹菌 (*Aspergillus sojae* NBRC 4239) の着生した分生子を白金耳で掬い取り，播種を行った。また，微生物の混入を防ぐために調製した麹に，penicillin (2 U/g-麹) を添加した。麹の調製後，飽和食塩水と混合した。食塩水との混合の時点で諸味のろ液をろ紙 (定性濾紙 No. 2, 東洋濾紙株式会社, 東京, 日本) を用いて回収し 0 週目のサンプルとした。仕込みより 1, 3 週目の時点で同様にサンプリングを行った。3 週目のサンプリング後に乳酸菌 (*Tetragenococcus halophilus* NBRC 12172) の培養液を添加した。その後 5 週目時点でサンプリングを行い，その後酵母 (*Zygosaccharomyces rouxii* NBRC 1876) の培養液を添加した (pH がおおよそ 5.0 になる時点)。また，この諸味を時折激しく攪拌することにより通気を行った。仕込みより 6 週目でサンプリングを行い，その後攪拌をせず，嫌気的な条件で醸造を行い，10 週目と 18 週目にサンプリングを行った。サンプリングポイントは，0, 1, 3, 5, 6, 10, 18 週目の 7 点である。回収したろ液は全て-20℃で保存した。今回行った醤油醸造では，微生物の影響を比較するために，表 2-1 に従って乳酸菌・酵母の添加・非添加の条件を変更し，各条件における成分の比較を行った。各サンプルは今後，Control: 乳酸菌・酵母添加，LAB: 乳酸菌添加，Yeast: 酵母添加，None: 乳酸菌・酵母添加なしと表記する。それぞれの諸味は， $n=3$  で醸造した。

表 2-1. 第 2 章で用いた醤油サンプル

Sample	Microbes		
	<i>A. sojae</i>	<i>T. halophilus</i>	<i>Z. rouxii</i>
	NBRC 4239	NBRC 12172	NBRC 1876
Control : 乳酸菌・酵母添加	○	○	○
LAB : 乳酸菌添加	○	○	×
Yeast : 酵母添加	○	×	×
None : 乳酸菌・酵母添加なし	○	×	×

## 2.2.2. 試薬

Ribitol, pyridine (Infinity pure grade), ethyl acetate, ultrapure water, phosphoric acid, sodium dihydrogen phosphate dehydrate, 2-ethyl-1-hexanol, *n*-hexane, *n*-heptane は和光純薬工業株式会社 (大阪, 日本)から購入した. Methoxyamine hydrochloride, 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> は Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, USA)から購入した. MSTFA, *n*-alkanes (C9-C40), *n*-pentane, *n*-octane はジーエルサイエンス株式会社 (東京, 日本)から購入した.その他ピークアノテーションに用いた試薬は関東化学株式会社 (東京, 日本)から購入した.

## 2.2.3. 前処理

### 2.2.3.1. 親水性低分子成分の誘導体化

超純水によって 10 倍希釈した醤油諸味のろ液 20  $\mu$ L に内部標準物質として ribitol 水溶液 (0.2 mg/mL) を 60  $\mu$ L 添加し, ボルテックスでよく混和した. その後液体窒素で凍らせて凍結乾燥機 (FREEZE DRYER VD-800F, タイテック株式会社, 埼玉, 日本)に一晩供し, よく乾固させた. 誘導体化にはオキシム化とトリメチルシリル (trimethylsilylation, TMS) 化を用いた. まず, methoxyamine hydrochloride (20 mg/ml-

pyridine) を 100  $\mu$ L 加え, Thermomixer comfort (エッペンドルフ株式会社, 東京, 日本) にて 30  $^{\circ}$ C, 90 分, 1200 rpm でインキュベートし, メトキシ化反応させた. これにさらに, MSTFA を 50  $\mu$ L 加え, 37  $^{\circ}$ C, 30 分, 1200 rpm でインキュベートし, トリメチルシリル化反応させた.

#### 2.2.3.2. 酢酸エチルによる揮発性成分の抽出

揮発性成分の抽出には ethyl acetate による液液抽出法を用いた. 醤油諸味のろ液サンプル 1 mL に内部標準物質として 2-ethyl-1-hexanol (1 mg/mL)を加え, NaCl を 300 mg 添加した. これに ethyl acetate を 400  $\mu$ L 加え, Ball Mill (Retsch Co., Haan, Germany)を用いて 30 分, 25 Hz で攪拌することで抽出を行った.

#### 2.2.3.3. スタティックヘッドスペース装置による揮発性成分のサンプリング

NaCl を 1000 mg 計量し, ヘッドスペースサンプリング用バイアル (COMBIPAL 用 10 ml バイアル, エーエムアール株式会社, 東京, 日本)に入れ, そこに醤油諸味のろ液 2.5 mL を添加した. その後 pH の調整のため, 1 mol/L の sodium phosphate 水溶液 (7.8 g の sodium dihydrogen phosphate dihydrate と 3.42 mL の phosphoric acid (70%)を混和して, 100 mL に調製した)を 0.5 mL 添加した. また, 内部標準物質として 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> (12  $\mu$ L/mL)を 10 $\mu$ L 加えた.

#### 2.2.4. GC/MS 分析

分析機器は SHIMADZU GCMS-QP2010 Ultra システム, SHIMADZU AOC-20s オートサンプラー (島津製作所, 京都, 日本)を用いた. システム管理とデータ取得は GCMS solutions ver.4.2.0 ソフトウェア (島津製作所, 京都, 日本)で行った.

#### 2.2.4.1. 親水性低分子成分

誘導体化処理したサンプル (1  $\mu$ L) をスプリットモード (25:1 (v/v)) でインジェクションした。インジェクション部の温度は 250°C に設定した。キャリアガスには He を用い、カラムには CP-SIL 8 CB low bleed/MS column (30 m  $\times$  0.25 mm i.d. fused silica capillary column coated with 0.25  $\mu$ m, Agilent Technologies, CA, USA) を用いた。カラム流量は 1.12 mL/min とした。カラムオーブンはサンプルインジェクション後、80°C を 2 分保持後、15°C/min で 330 °C まで昇温させ、その後 330°C を 6 分保持した。イオン化は電子イオン化 (Electron Ionization, EI) 法によりエネルギー 70 eV で行い、トランスファーラインは 250°C、イオン源温度は 200°C に設定した。スキャン範囲は  $m/z$  85-500 で、スキャンスピード 20 scan/sec でマススペクトルを取得した。検出器電圧は、直前にオートチューニングを行い自動で設定した。

#### 2.2.4.2. 揮発性成分 (酢酸エチル抽出)

抽出サンプル (1  $\mu$ L) をスプリットレスモードでインジェクションした。インジェクション部の温度は 250°C に設定した。キャリアガスには He を用い、カラムには InertCap Pure WAX column (30 m  $\times$  0.25 mm i.d. with 0.25  $\mu$ m film thickness, GL Sciences Inc., 東京, 日本) を用いた。カラム流量は 1.24 mL/min とした。カラムオーブンはサンプルインジェクション後、35 °C を 2 分保持後、8 °C/min で 250 °C まで昇温させ、その後 250 °C を 15 分保持した。イオン化は EI 法によりエネルギー 70 eV で行い、トランスファーラインは 250°C、イオン源温度は 200 °C に設定した。スキャン範囲は  $m/z$  35-350 で、スキャンスピード 10 scan/sec でマススペクトルを取得した。検出器電圧は、直前にオートチューニングを行い自動で設定した。

#### 2.2.4.3. 揮発性成分 (スタティックヘッドスペースサンプリング)

分析機器は SHIMADZU GCMS-TQ8040 と HS-20 ヘッドスペースサンプラを用いた。HS-20 による捕集は、1 mL サンプルループを用いたループモード (150°C)で行い、オープン温度 50°C, 30 分, バイアル加圧時間 0.5 分, 圧力平衡時間 0.1 分, ロード時間 0.5 分, ロード平衡時間 0.1 分, インジェクション時間 0.5 分, ニードルフラッシュ時間 5 分, バイアルミックス 3 で行った。

捕集した気相を 150°C で GC へ送り, スプリットモード (7:1 (v/v))でインジェクションした。インジェクション部の温度は 280°C に設定した。キャリアガスには He を用い, カラムには, DB-1 column (60 m × 0.25 mm i.d. fused silica capillary column coated with 1.00 μm, Agilent Technologies, CA, USA)を用いた。カラム流量は 1.60 mL/min とした。カラムオープンはサンプルインジェクション後, 35°C を 5 分保持後, 8°C/min で 230°C まで昇温させ, その後 230°C を 10 分保持した。続いて-5°C/min で 200°C まで降温した。イオン化は電子イオン化 (Electron Ionization, EI) 法によりエネルギー70 eV で行い, トランスファーラインは 280°C, イオン源温度は 230°C に設定した。スキャン範囲  $m/z$  34-500, スキャンスピード 10 scan/sec でマススペクトルを取得した。検出器電圧は, 直前にオートチューニングを行い自動で設定した。

#### 2.2.5. データプロセス

親水性成分分析と, 酢酸エチル抽出による揮発性成分分析で得られた生データは, netCDF 形式に変換して出力した。続いて, MetAlign ver.041012 ソフトウェア (Lommen 2009)を用いて, ベースライン補正, ピーク検出, ピークアライメントを行い, CSV (comma-separated values)形式で結果を出力した。得られたデータを AIoutput ソフトウェア (Tsugawa et al. 2011)で読み込み, ピーク行列を作成した。続いて分析を行った *n*-alkanes のうち, ピークが取得された C10 – C23 を用いて Kovats インデックス



(Retention index: RI) を計算し、各ピークのマススペクトルと RI を、インハウスライブラリのマススペクトルと RI と照合することによって、ピークのアノテーションを行った。また、AIoutput によりアノテーションされなかったピークを LabSolutions GCMSsolution Ver 4.20 (島津製作所, 京都, 日本) に導入した NIST11 MS spectral library のマススペクトルとの比較により化合物のアノテーションを行った。その後、内部標準物質を基準にしてピーク強度を標準化した。

ヘッドスペースサンプリングによる揮発性成分分析で得られた生データは、LabSolutions GCMSsolution を用いてピーク検出を行った。ピーク行列を作成後、各ピークのマススペクトルを、LabSolutions GCMSsolution に導入した NIST11 MS spectral library のマススペクトルと比較し、化合物のアノテーションを行った。また、分析を行った *n*-alkanes のうち、ピークが取得された C5–C12 を用いて RI を計算し各ピークのピーク面積を求め、その後、内部標準物質 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> を基準にしてピーク強度を標準化した。

#### 2.2.6. 統計解析

GC/MS 分析によって得られたデータから作成した、アノテーションされたピークの内部標準物質に対する相対強度のデータセットを用いて多変量解析を行った。主成分分析 (PCA) は、SIMCA-P+ version 13 (Umetrics, Umeå, Sweden) により、AutoScaling (Unit variance) で正規化した後行った。階層クラスター分析 (HCA) は Multiexperiment View Version 4.9120 (Howe et al. 2010) により、AutoScaling で正規化した後行った。Distance metric は Person Correlation, Linkage method は Average linkage clustering を使用した。

## 2.3. 結果と考察

### 2.3.1. 醤油の成分プロファイリング結果

作製した 0, 1, 3, 5, 6, 10, 18 週目の醤油諸味のろ液を GC/MS によって分析した。図 2-1 には、Control (乳酸菌・酵母添加) の 18 週目のサンプルの親水性低分子成分分析 (図 2-1 A), 酢酸エチル抽出による揮発性成分分析 (図 2-1 B), ヘッドスペースサンプリングによる揮発性成分分析 (図 2-1 C) による全イオン電流クロマトグラム (TICC) を示した。GC/MS により得られたピークを, Aloutput, NIST ライブラリ及び標準品を用いてアノテーションを行った。その結果, 合計 133 個のピークが検出された (表 2-2, 表 A1-3)。親水性低分子成分分析からはアミノ酸, 糖, 有機酸などの 36 成分, 酢酸エチル抽出による揮発性成分分析からはアルコール, フラノンなどの 52 成分, ヘッドスペースサンプリングによる揮発性成分分析からはエチルエステル, 酢酸エステルなどの 45 成分が検出された。検出された親水性低分子化合物の数は同様の手法を使用して醤油の分析を行った報告 (Shiga et al. 2014; Yamamoto et al. 2012) と比較して少なかった (それぞれ, 100, 68 成分)。これは, 以前の報告が日本・アメリカ・中国で購入した様々な醤油と, 野菜のタンパク質を加水分解して作製したアミノ酸液などを含む, 全てのサンプルの成分数の合計であることが成分数の差に起因すると考えられる。揮発性成分に関しては, 近年の醤油の香りに関する研究と (Kaneko et al. 2012; Kaneko et al. 2013; Steinhaus and Schieberle 2007) 比較しても重要な香気成分を初めとして, 十分な数を網羅していると考えられる。しかし, サンプル自体が火入れを行っていない生醤油であること, 後熟酵母である *Candida versatilis* を使用していないことによって 4-ethyl guaiacol などの一部の成分は検出されなかった。この成分データを用いてデータ行列を作成し, 以後の解析に用いた (表 A4-6)。

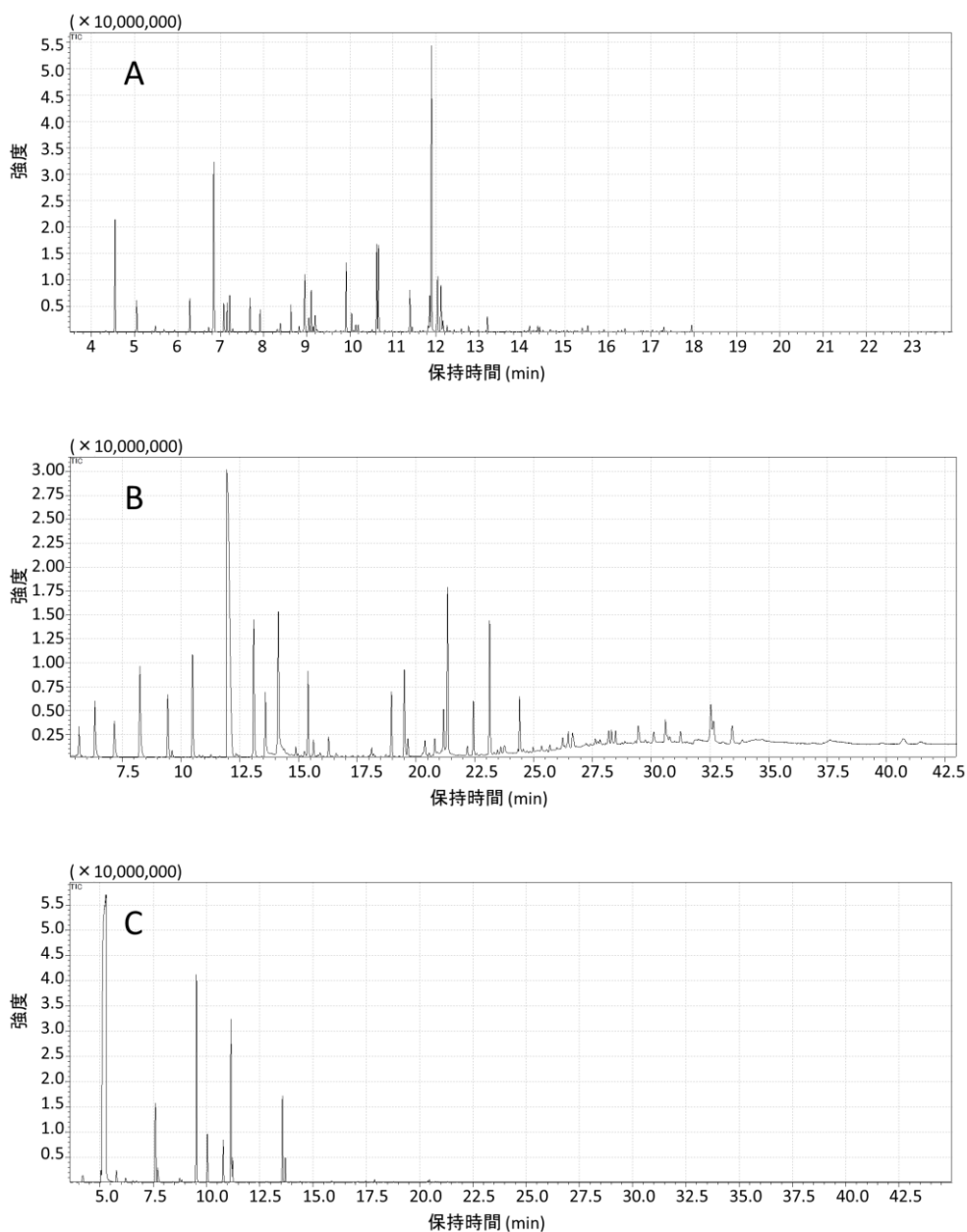


図 2-1. GC/MS により得られた各分析系の全イオン電流クロマトグラム (TIC)

サンプルには Control (乳酸菌・酵母添加) の 18 週目を用いた。

(A) 親水性低分子成分分析

(B) 酢酸エチル抽出による揮発性成分分析

(C) ヘッドスペースサンプリングによる揮発性成分分析

親水性低分子成分分析からはアミノ酸, 糖, 有機酸などの 36 成分, 酢酸エチル抽出による揮発性成分分析からはアルコール, フラノンなどの 52 成分, ヘッドスペースサンプリングによる揮発性成分分析からはエチルエステル, 酢酸エステルなどの 45 成分が検出された。

表 2-2. GC/MS によりアノテーションした成分の一覧

親水性	Alanine	Malic acid
低分子成分	Arabinose	Mannitol
36 成分	Arabitol	<i>meso</i> -Erythritol
	Aspartic acid	Methionine
	Citric acid + Isocitric acid	Ornithine
	Fructose	Phenylalanine
	Galactose	Phosphate
	Glucose	Proline
	Glutamic acid	Pyroglutamic acid
	Glutamine	Ribose
	Glycerol	Serine
	Glycine	Succinic acid (or aldehyde)
	Histidine	Threonine
	Inositol	Tryptophan
	Isoleucine	Tyrosine
	Lactic acid	Valine
	Leucine	Xylitol
	Lysine	Xylose
酢酸エチル抽出による揮発性成分	( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one
52 成分	( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	3,5-Dimethyl-4-heptanone
	1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)
	1,4-Benzenediol	3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)
	1-Butanol	3-Methyl-1-butanol (Isoamyl alcohol)
	1-Hydroxy-2-butanone	3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone
	1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)
	1-Propanol	4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol
	2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	4-Hydroxy-5-methyl-furanone
	2(5 <i>H</i> )-furanone	4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)
	2,3-Butanediol	5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)
	4-Hydroxy-2,5-dimethyl3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone

表 2-2. (続き) GC/MS によりアノテーションした成分の一覧

	2-Acetylpyrrole	5-Ethylidihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)
	2-Butenoic acid	Acetic acid
	2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	Benzoic acid
	2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	Butanoic acid (Butyric acid)
	2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	Caprolactam
	2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)
	2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)
	2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	Ethyl hexadecanoate (Ethyl palmitate)
	2-Methyl-2-butenic acid	Ethyl lactate
	2-Methylbutanoic acid	Hexanoic acid (Caproic acid)
	2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	mono-Ethyl succinate
	2-Phenylethyl alcohol	<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)
	3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	Phenylacetaldehyde
	3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	Phenylacetic acid
ヘッド スペース サンプリングによる 揮発性成分 45 成分	( <i>Z</i> )-1,5-Octadien-3-ol	3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)
	( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	3-Octanone
	1-Octen-3-ol	Acetaldehyde
	2,3-Butanedione (Diacetyl)	Benzaldehyde
	2,3-Pentanedione	Butyl acetate
	2,6-Dimethyl-pyrazine	Dimethyl disulfide
	2-Butanone	Ethyl 2-methylbutanoate
	2-Butenal	Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)
	2-Ethoxy-2-methyl-propane	Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)
	2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	Ethyl benzoate
	2-Methyl-2-propanol	Ethyl butanoate
	2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)
	2-Methylbutyl acetate	Ethyl formate
	2-Methyl-furan	Ethyl heptanoate

表 2-2. (続き) GC/MS によりアノテーションした成分の一覧

---

2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	Ethyl propionate
2-Pentanone	Furan
2-Propanol	Hexanal
2-Propanone (Acetone)	Methanethiol
3,4-Hexanedione	Methyl acetate
3-Methyl-2-butanone	<i>n</i> -Propyl acetate
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	

---

### 2.3.2. 主成分分析による全体のデータ構造の把握

GC/MS 分析によって得られた成分プロファイルデータは膨大な量のデータを含んでいるため、詳細な解析を行う前にその特性を調査し、データが含んでいる情報の内容を確認する必要がある (福崎 2008). そのためにまず全てのサンプル情報と、全ての成分データを主成分分析によって解析した. 成分プロファイルデータを説明変数として, AutoScaling (Unit variance)で強度を規格化した後, 第1主成分 (PC 1)と第2主成分 (PC 2)を用いたスコアプロット (図 2-2 A)を作成した.

スコアプロットは, データの分散が最大になるように選ばれた軸 (主成分軸)上に主成分得点に基づいてサンプルをプロットしたものであり, サンプル間の成分プロファイルに基づく違いを可視化することができる. PC1 が成分データの分散の 49.9%を, PC2 が 15.3%を説明しており, 本スコアプロットでは, データ全体の分散の 65.2%を説明していた. プロットされたサンプルの情報から考察すると, 主成分軸はどちらも, 正の方向に向かって醸造期間の進捗を表していた (図 2-2 A 矢印). つまり, 成分プロファイルの変化は, 醸造の進行によるものが最大であった. 醸造を開始してから 5 週目までは, Control (乳酸菌・酵母添加), LAB (乳酸菌添加), Yeast (酵母添加), None (乳酸菌・酵母添加なし)の何れも区別されることなく醸造開始から週ごとにわかれてプロットしていた. つまり, サンプル全体の分散から見ると, 0 から 5 週目までは, 微生物の添加・非添加の条件が異なるサンプル間の分散は小さく, 成分プロファイルの違いが少ないと言える. 実際には, 3 週目のサンプリング後に乳酸菌を添加するため, 0 から 3 週目までは同じ環境であるはずである. その後 5 週目までには乳酸菌による成分プロファイルの変化が起きていることが予想される. しかしこの解析結果には, 乳酸菌による成分プロファイルの変化が現れていなかった. これは, 解析に全てのサンプル情報 (全ての微生物条件および, 0~18 週目までの全てのサンプリングポイント)を用いており, 乳酸菌による成分プロファイルの変化が醸造の進行による変動と比較して小さいためであると考えられる. 一方で, 6 週目以降のサンプルは, PC2 方

向に分かれてプロットした (図 2-2 A 緑の丸). 5 週目のサンプリング後に酵母を添加しており, 酵母を含むサンプルである, Control と Yeast が PC2 軸上で負に位置し, 酵母を含まないサンプルである, LAB と None が 5 週目以前のサンプルに比較的近い正の場所に位置した. このことから, 酵母の添加が成分プロファイルに与える影響は, 醸造の進度によるものの次に大きいことがわかった. またこの酵母の添加・非添加による差の傾向は 6 週目以降 18 週目まで継続していた.

ローディングプロットは, 主成分軸 (説明変数の線形結合)における各説明変数の係数をプロットしたものであり, 主成分得点 (スコア)と相関の高い説明変数 (成分)を視覚的に容易に特定することができる. ローディングプロット (図 2-2 B)では, 多くの成分が PC1 軸の正の領域に位置していた. スコアプロットの考察によると, 醤油の醸造が進むと, サンプルは PC1 の正方向に移動することから, 正の領域に位置している成分群は醤油醸造の後期に特徴的であると言える. アミノ酸の多くは, 微生物の添加・添加なしに関わらず, 醸造中に麹由来の酵素によって増加するため (田中 2012), 醸造後期になるに従ってその量が増加したといえる. また, PC1 が正, PC2 が負の位置 (グラフの右下の位置)にはアルコール, 酢酸エステル, エチルエステル, フラノンなどの揮発性成分がプロットされた. スコアプロットでは, 酵母を含む 6 週目以降のサンプルが当該位置と相関を持っており, これらの揮発性成分の増加への酵母の寄与を示している. 同様に, 糖類は PC1 が負, PC2 が負の場所(グラフの左下の位置)に位置しており, 醗酵の前半に多いといえる. これは glucose などの糖類が微生物の生育によって消費されたことが一因であると考えられる.

PCA と同様に, データ構造の確認を目的とした階層クラスタ分析 (HCA)を行った (図 A1). 得られた樹形図では, 醗酵初期, 中期, 醗酵後期のそれぞれのサンプルが異なったクラスターとなり, 特に醗酵後期は酵母の添加・非添加で異なったクラスターとなった. 異なる解析方法を用いても成分プロファイルから得られる情報は類似しており, 何れも醸造期間と, 酵母の添加・非添加による違いに起因する成分プロファイルの特徴を最もよく表していた.



この結果から、GC/MS で取得した成分データは醤油の醸造期間による違いと、微生物の添加条件による違いを最もよく反映していた。更に詳細な考察を行うため、最も大きな差を示した醤油醸造中の経時変化と、最終週 (18 週目)の微生物条件の違いにそれぞれ着目し、それぞれ 2.3.2, 2.3.4 で議論した。

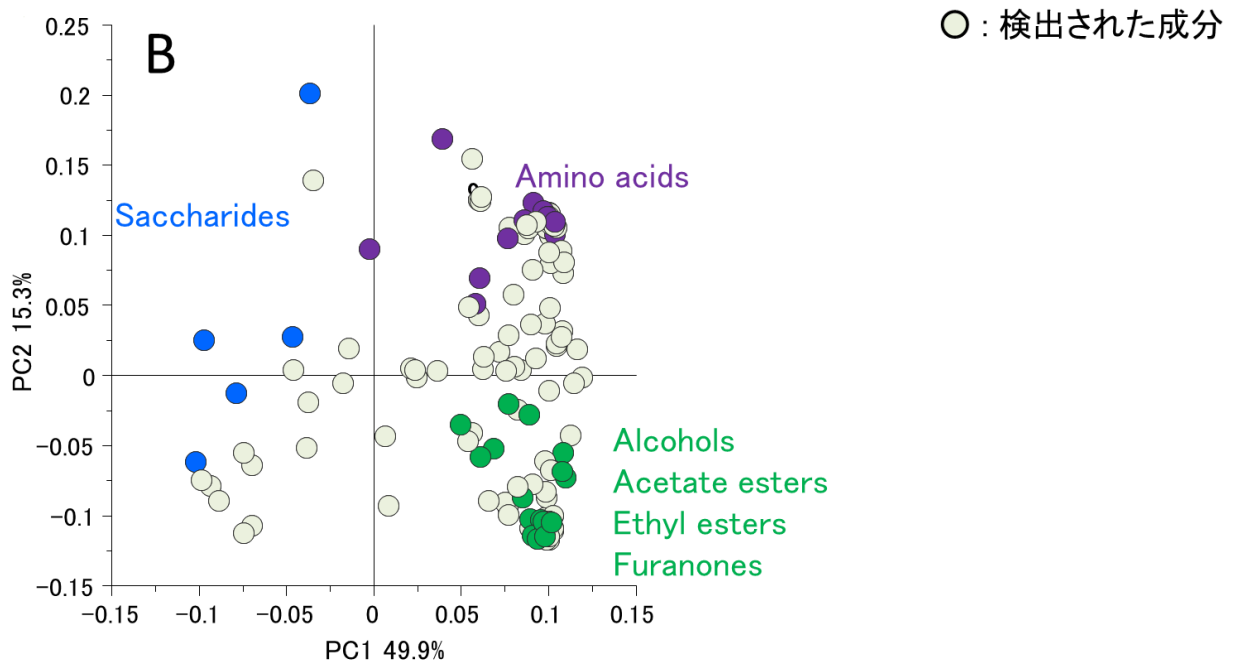
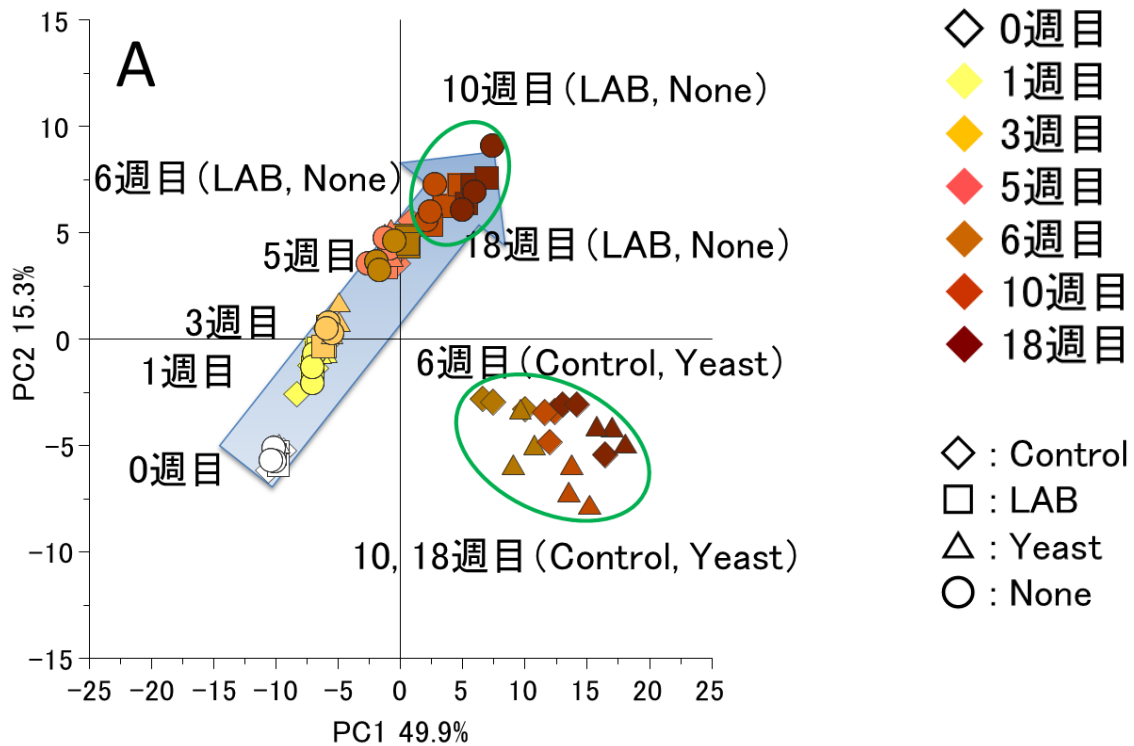


図 2-2. GC/MS によって取得した成分プロファイルを用いた醤油サンプルの主成分分析の結果

サンプルとして、全ての条件 (Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB : 乳酸菌添加, Yeast : 酵母添加, None : 乳酸菌・酵母添加なし) の, 0, 1, 3, 5, 6, 10, 18 週目を用いた (それぞれ  $n=3$ ).

スケーリング : Auto Scaling, トランスフォーム : None, サンプル数 : 84, 説明変数 : 133

(A) サンプルのスコアプロット

PC1 が成分データの分散の 49.9% を, PC2 が 15.3% を説明しており, 本スコアプロットでは, データ全体の分散の 65.2% を説明していた. プロットされたサンプルの情報から考察すると, 主成分軸はどちらも, 正の方向に向かって醸造期間の進捗を表している (青の矢印で記した). 6 週目以降のサンプルが PC2 方向に分かれてプロットしたことから, PC2 は酵母の添加・非添加による違いも示していることがわかった (緑の円で記した).

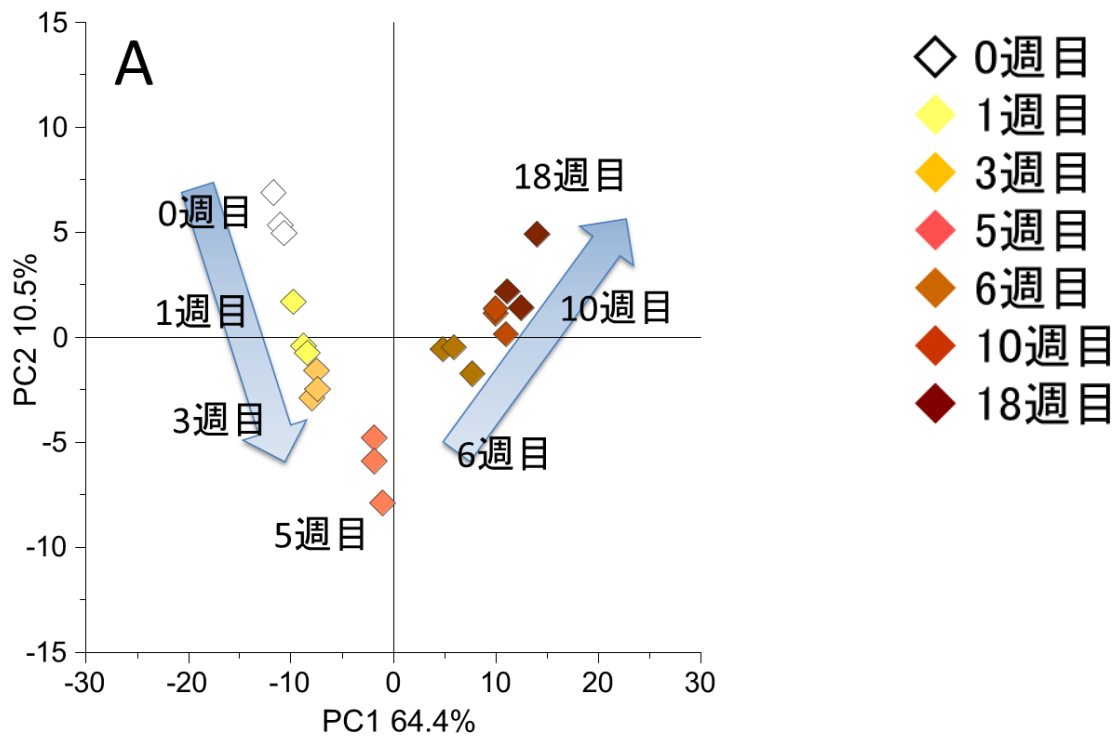
(B) 成分のローディングプロット

多くの成分が PC1 軸の正の領域に位置しており, 醤油の醸造が進むとこれらの成分が増加したことがわかった. PC1 が正, PC2 が負の位置 (グラフの右下の位置) にはアルコール, 酢酸エステル, エチルエステル, フラノンなどの揮発性成分がプロットされたため, これらの揮発性成分には酵母の添加との相関が見られる.

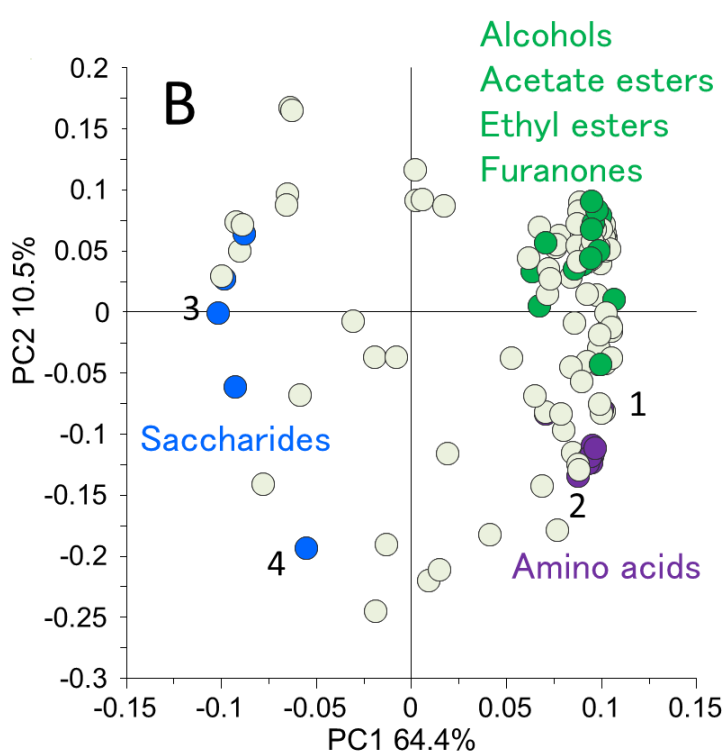
### 2.3.3. 醸造期間中の変化

2.3.2 では、全ての醤油サンプルの成分プロファイルの違いについて主成分分析を用いて考察した。その結果、成分プロファイルの違いの中で最も大きかったのは醸造の進行による変化であった。本章の目的である、微生物の添加・非添加が成分プロファイルにどのように影響するのかを考察する前に、乳酸菌及び酵母を添加した通常の醤油醸造を行ったサンプル (Control)を用いて成分プロファイルが醸造期間の進度に応じてどのように変化していくのかを主成分分析を用いて解析した (図 2-3)。PC1 が成分データの分散の 64.4%を、PC2 が 10.5%を説明しており、本主成分分析結果は、データ全体の分散の 74.9%を説明していた。スコアプロットのサンプルの情報から考察すると、PC1 が醗酵の進行と相関していることが明らかになった (図 2-3 A)。一方で PC2 軸に着目すると、サンプルは醗酵中の 5 週目まで PC2 軸に対して負側に移動し、6 週目以降は正側に移動した。この結果は、醗酵の 0 から 5 週目と 6 から 18 週目のサンプルで成分プロファイルの変化の傾向が異なっていることを示した (図 2-3 A 矢印)。

ローディングプロット(図 2-3 B)では、多くの成分が PC1 軸の正の領域に集中して位置していた。PC1 の正の位置にプロットしている成分にはアルコール、酢酸エステル、エチルエステル、フラノンなどの揮発性成分が多かった。醸造後期になるに従って揮発性成分は酵母の生育により増加するため(柝倉 2012b)、6 週目以降のサンプルに揮発性成分が多いことは合理的である。



- ◇ 0週目
- ◊ 1週目
- ◊ 3週目
- ◊ 5週目
- ◊ 6週目
- ◊ 10週目
- ◊ 18週目



○ : 検出された成分

図 2-3. GC/MS によって取得した成分プロファイルを用いた Control 醤油サンプルの主成分分析の結果

サンプルとして、Control (乳酸菌・酵母添加)の、0、1、3、5、6、10、18 週目を用いた (それぞれ  $n=3$ ).

スケーリング : Auto Scaling, トランスフォーム : None, サンプル数 : 21, 説明変数 : 133

(A)スコアプロット

PC1 が成分データの分散の 64.4%を, PC2 が 10.5%を説明しており, 本スコアプロットでは, データ全体の分散の 74.9%を説明しており, PC1 が醗酵の進行と相関しているとともに, PC2 は, 0 から 5 週目までと 6 から 18 週目で成分プロファイルの変化の傾向が異なっていることを示した (青の矢印で記した).

(B)成分のローディングプロット

1 : Alanine, 2 : Glutamic acid, 3 : Arabinose, 4 : Glucose

多くの成分が PC1 軸の正の領域に集中して位置していた. 成分にはアルコール, 酢酸エステル, エチルエステル, フラノンなどの揮発性成分 (緑で示した)とアミノ酸 (紫で示した)が含まれていた. 一方で, arabinose などの糖類は PC1 軸に対して負側に位置していた (青で示した). この成分は醸造初期から後期にかけて減少していた. 一方 glucose は 5 週目にかけて上昇し, その後減少した. これは諸味中の単糖が, 麹菌由来のアミラーゼなどによって増加した後, 乳酸菌や酵母による醗酵によって減少するため, 増減のタイミングが微生物の糖の種類によって異なることによるもの考えられる.

アミノ酸も揮発性成分と同様に PC1 の正の位置にプロットした。例として alanine と glutamic acid の醸造中の変化を示した(図 2-4)。醸造後期になるにつれて、それぞれの成分の相対強度が増加しており、醸造が進むにつれて増加していることがわかる。他のいくつかのアミノ酸も同様の結果を示しており、アミノ酸類は醸造が進むにつれて、原料に含まれる大豆のタンパク質から麴菌由来の酵素によって増加していることが予想される。

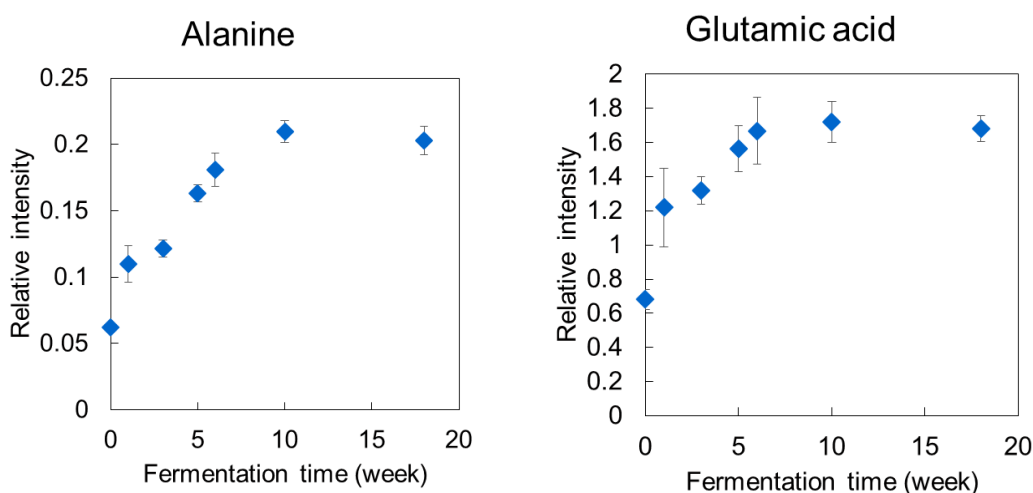


図 2-4. Alanine と glutamic acid の Control (乳酸菌, 酵母添加) 中の変化

親水性低分子成分分析によって得られた, ribitol を内部標準物質として基準化した相対強度を, 醗酵時間に対してプロットした ( $n=3$ ).

どちらのアミノ酸も醸造期間を通して増加している。その結果, 醸造後期のサンプルと相関が高かった。醸造開始から 10 週目前後で最も多くなり, その後一定となった。

一方で, arabinose などの PC1 軸に対して負側に位置している成分は醸造後期にかけて減少することが明らかになった。しかし同じ糖類でも glucose は 5 週目にかけて増加し, arabinose は 3 週目にかけて増加した(図 2-5)。諸味中の単糖は, 原料に含まれるでんぷんに由来し, 麴菌由来のアミラーゼなどによって増加した後, 乳酸菌や酵母による醗酵によって減少する(柝倉 2012c)。そのため, 増減のタイミングは原料に存在する量や微生物の資化性によって異なると考えられる。

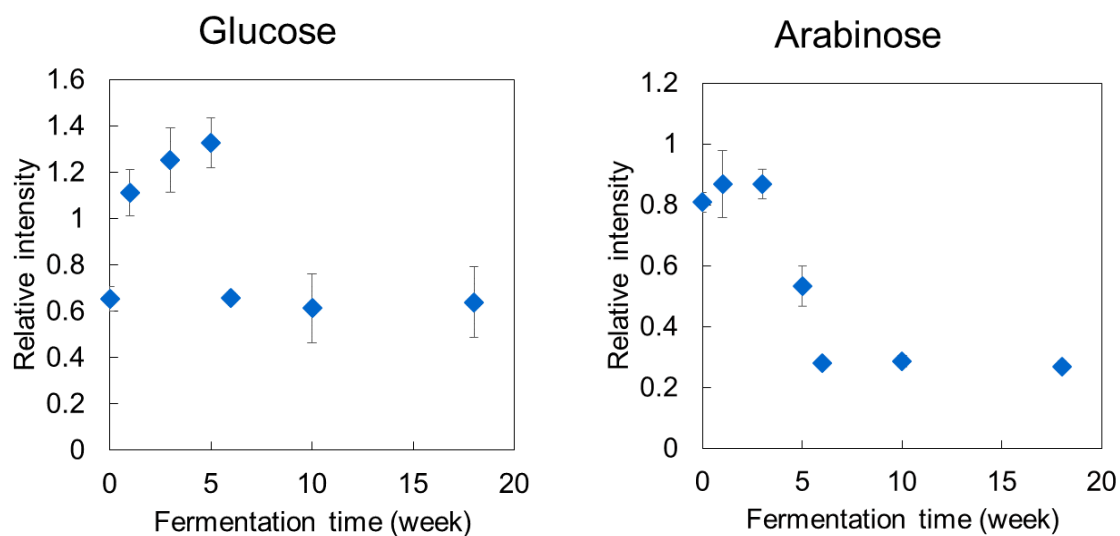


図 2-5. Glucose と arabinose の Control (乳酸菌, 酵母添加) 中の変化

親水性低分子成分分析によって得られた, ribitol を内部標準物質として基準化した相対強度を, 醗酵時間に対してプロットした ( $n=3$ ).

Glucose は 5 週目まで増加してその後減少する. 一方 arabinose は 5 週目の時点で減少を開始している. この傾向の違いがローディングプロットでの位置の違いと相関をもっている.

検出された成分の種類と主成分分析の結果から, 今回作製したサンプルは過去に報告されている醤油諸味の成分中の変化の特徴を現しており, いくつかの既知の知見との適合性を確認した.



#### 2.3.4. 微生物による成分プロファイルへの影響の解析

微生物による成分プロファイルの変化を考察するために、微生物の添加・非添加による違いの大きい醸造終了時の 18 週目に着目し、微生物条件の違う醤油サンプルを主成分分析によって比較した (図 2-6). PC1 が成分データの分散の 38.7%を, PC2 が 26.5%を説明しており, 本スコアプロットでは, データ全体の分散の 65.2%を説明していた. プロットされたサンプルの情報から考察すると, PC1 は酵母の添加・非添加 (負方向に酵母を含むサンプルがあり, 正方向に酵母を含まないサンプルがある), PC2 は乳酸菌の添加・非添加 (正方向に乳酸菌を含まないサンプルがあり, 負方向に乳酸菌を含むサンプルがある)を示しており, 醸造中の微生物条件に従ってサンプルは完全に分かれてプロットした(図 2-6 A). ローディングプロットでは主成分得点 (スコア)と相関の高い説明変数 (成分)を視覚的に容易に特定することができるため, 酵母・乳酸菌の添加に関連して変動する成分を選択することができる. しかし成分の選択に関しては, どの程度までの説明変数を選択すべきかの指標はない. また, 多数の成分情報がある中から全ての成分の比較を行うことは効率的ではない. そこで近年, 主成分分析のスコア (主成分負荷量)と説明変数の値との相関係数として定義される因子負荷量を用いた説明変数の選択方法が山本らによって報告された (Yamamoto et al. 2014). 本方法を用いて主成分と統計的に有意な相関をもつ成分を選択した (表 2-3). 次項 2.3.4.1 でその詳細を議論する.

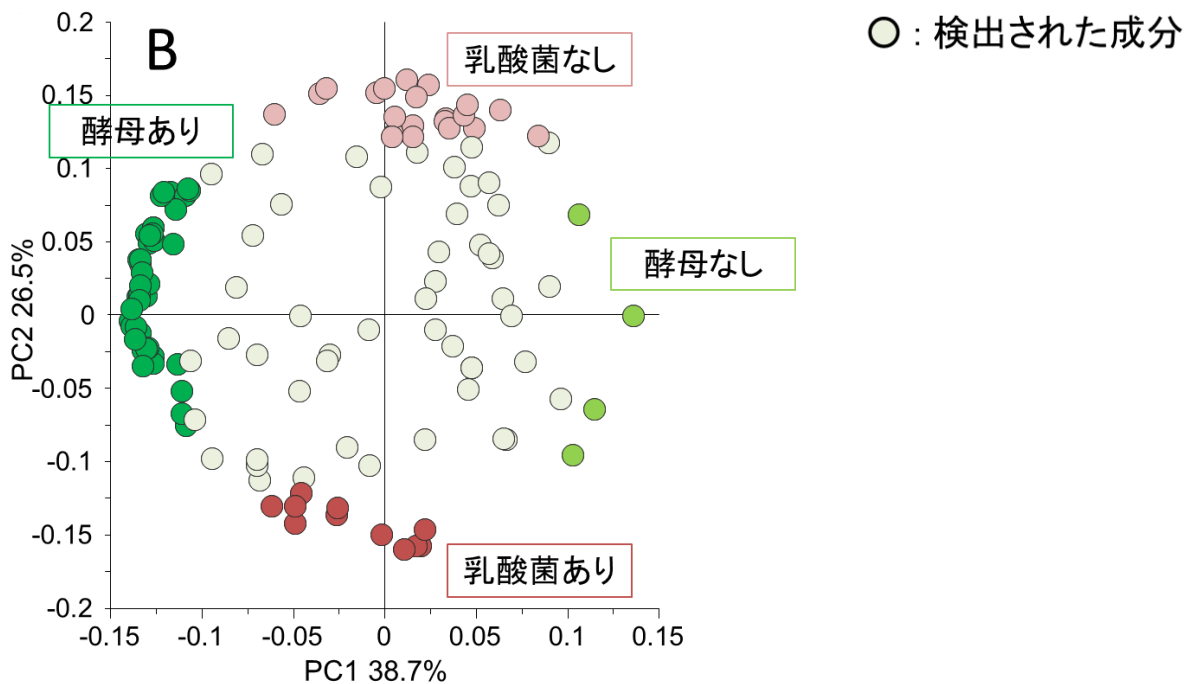
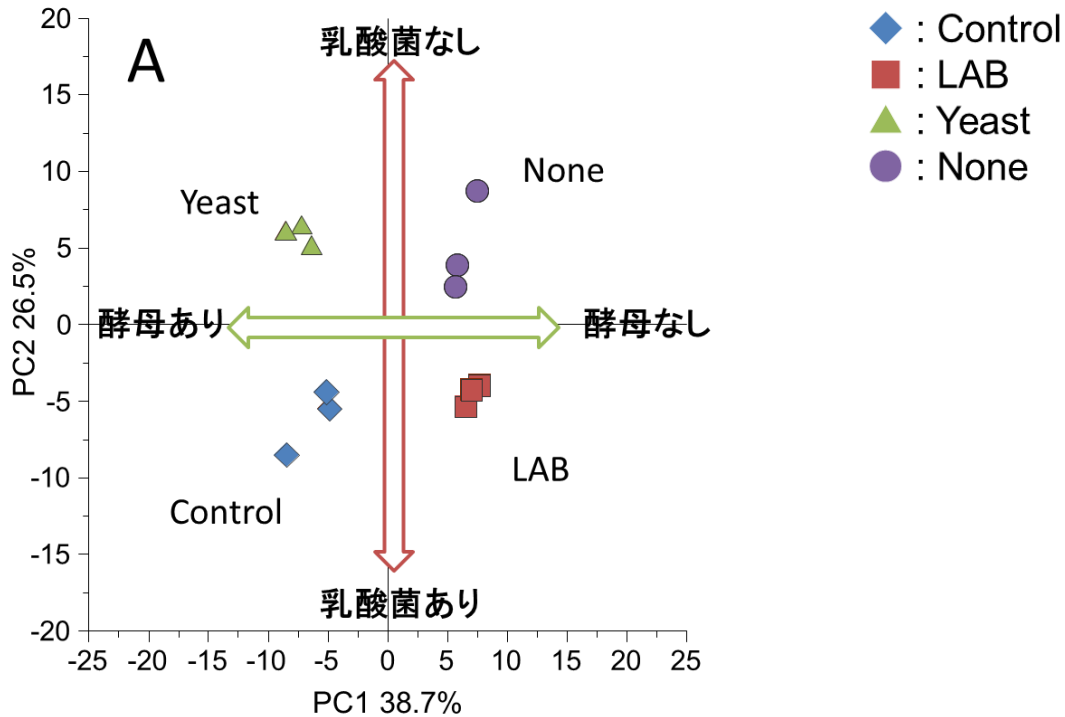


図 2-6. GC/MS によって取得した成分プロファイルを用いた 18 週目の醤油サンプルの主成分分析の結果

サンプルとして、全ての条件 (Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB : 乳酸菌添加, Yeast : 酵母添加, None : 乳酸菌・酵母添加なし) の 18 週目を用いた (それぞれ  $n=3$ ).

スケーリング : Auto Scaling, トランスフォーム : None, サンプル数 : 12, 説明変数 : 131 (2-octenal と 2-octanol はサンプル間に差が無かったことから解析には用いていない)

(A)スコアプロット

PC1 が成分データの分散の 38.7%を，PC2 が 26.5%を説明しており，本スコアプロットでは，データ全体の分散の 65.2%を説明していた．PC1 は酵母の添加・非添加，PC2 は乳酸菌の添加・非添加を示しており，醸造中の微生物条件に従ってサンプルは完全に分かれてプロットした．

(B)成分のローディングプロット

因子負荷量を用いた説明変数の選択方法によって酵母あり，酵母なし，乳酸菌あり，乳酸菌なしのそれぞれの条件に相関が高いとして選択された成分を，図中に色つきで示した（酵母あり：濃緑，酵母なし：薄緑，乳酸菌あり：濃赤，乳酸菌なし：薄赤）

### 2.3.4.1. 酵母添加の影響

主成分分析の結果から、51成分が酵母の添加・非添加を表すPC1軸と高い相関を持つことが明らかになった(表2-3)。酵母を含むサンプルに相関の高い成分は47成分であり、アルコール類が10成分、エチルエステル類が12成分、フラノン類が4成分、酢酸エステル類が5成分であった。一方で、glucoseなどの4成分は、酵母を含まないときに量が多いという結果となった。

表 2-3. 主成分分析のPC1(酵母の添加・非添加)と有意に相関を持つ成分

Constituent	<i>p</i> ( <i>corr</i> ) [PC1]	<i>p</i> -value [PC1]
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	-0.990	< 0.001
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	-0.985	< 0.001
Butyl acetate	-0.984	< 0.001
<i>n</i> -Propyl acetate	-0.969	< 0.001
Ethyl 2-methylbutanoate	-0.965	< 0.001
2-Methylbutyl acetate	-0.963	< 0.001
Succinic acid (or aldehyde)	-0.962	< 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl palmitate)	-0.959	< 0.001
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	-0.956	< 0.001
Ethyl propionate	-0.955	< 0.001
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	-0.953	< 0.001
Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	-0.950	< 0.001
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	-0.948	< 0.001
Ethyl butanoate	-0.948	< 0.001
5-Ethylidihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)	-0.948	< 0.001
Ethyl heptanoate	-0.947	< 0.001
2-Butenoic acid	-0.943	< 0.001
Ethyl formate	-0.941	< 0.001
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	-0.941	< 0.001
Caprolactam	-0.929	< 0.001
Ethyl benzoate	-0.928	< 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	-0.927	< 0.001
Acetaldehyde	-0.919	< 0.001

表 2-3. (続き)主成分分析の PC1(酵母の添加・非添加)と有意に相関を持つ成分

Constituent	<i>p</i> ( <i>corr</i> ) [PC1]	<i>p</i> -value [PC1]
3-Octanone	-0.916	< 0.001
1-Propanol	-0.914	< 0.001
3-Methyl-1-butanol (Isoamyl alcohol)	-0.914	< 0.001
2-Phenylethyl alcohol	-0.902	< 0.001
2-Butenal	-0.901	< 0.001
Glycerol	-0.900	< 0.001
Phenylacetaldehyde	-0.900	< 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	-0.898	< 0.001
2,3-Butanediol	-0.895	< 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	-0.870	< 0.001
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	-0.861	< 0.001
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	-0.833	< 0.001
2-Acetylpyrrole	-0.824	< 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	-0.812	0.0013
1-Butanol	-0.812	0.0013
Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)	-0.808	0.0015
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	-0.791	0.0022
mono-Ethyl succinate	-0.789	0.0023
3,5-Dimethyl-4-heptanone	-0.779	0.0028
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	-0.773	0.0032
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	-0.766	0.0037
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy- 2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	-0.761	0.0041
Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)	-0.754	0.0046
3,4-Hexanedione	-0.738	0.0062
Glucose	0.970	< 0.001
Xylose	0.821	0.0011
2-Methylbutanoic acid	0.755	0.0045
Methyl acetate	0.735	0.0064

選ばれた成分の中で、最も数が多かったものはエチルエステル類であり、検出された13個のエチルエステル類のうち ethyl 2-methylbutanoate, ethyl 3-methylbutanoate (図 2-7), ethyl hexadecanoate (ethyl palmitate), ethyl propionate, ethyl dodecanoate (ethyl laurate), ethyl 2-methylpropanoate (ethyl isobutyrate), ethyl butanoate, ethyl heptanoate, ethyl formate, ethyl benzoate, ethyl hexanoate (ethyl caproate), mono-ethyl succinate の12成分は酵母添加のサンプルで増加した (図 A2)。エチルエステル類は、清酒やビール、ワインにおいては重要な香り成分である (Pires et al. 2014)。しかし醤油中では、エチルエステル類は含有量が微量であることから、HEMF を初めとする他の香り成分と比較して香味への影響は低いとされてきた (佐々木ら. 1999)。ところが近年、生醤油中の Fruity aroma に、ethyl 2-methylpropanoate, ethyl butanoate, ethyl 2-methylbutanoate, ethyl 3-methylbutanoate などが寄与することが報告され、エチルエステル類が生醤油の香気に影響する可能性が明らかになった (Meng et al. 2017)。清酒・ワインでは、エチルエステル類は酵母による酵素的な反応と、ethanol と有機酸との化学反応の両方によって生成することが報告されている (Pires et al. 2014)。今回の結果は、酵母が代謝することで、もしくは ethanol の供給を行うことによってエチルエステル類の生成に寄与をしていることを示唆する結果となった。また、ethyl lactate は酵母の添加を示す PC1 との相関では選ばれなかったが、酵母と乳酸菌が両方添加されたサンプルでのみ増加した (図 A3)。これは乳酸菌が生産した lactic acid と、酵母が生産した ethanol がエステル化することによって生成すると言われており (佐々木ら. 1999)、今回の結果も同様の機構で生成したことを示唆している。

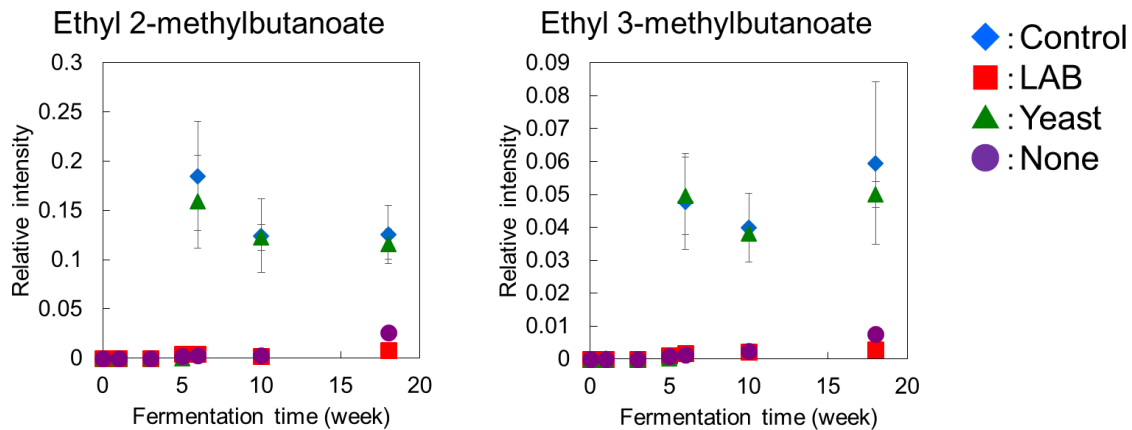


図 2-7. Ethyl 2-methylbutanoate と ethyl 3-methylbutanoate (ethyl isovalerate)の醸造中の変化

ヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた、1-propanol-1,1-d<sub>2</sub>を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

他にも Ethyl hexadecanoate (ethyl palmitate), ethyl propionate, ethyl dodecanoate (ethyl laurate), ethyl 2-methylpropanoate (ethyl isobutyrate), ethyl butanoate, ethyl heptanoate, ethyl formate, ethyl benzoate, ethyl hexanoate (ethyl caproate), mono-ethyl succinate (図 A1)はこの2成分のように、酵母を含む Control, Yeast でのみ増加した。近年、生醤油中の fruity aroma に、エチルエステル類が寄与することが明らかになり、成分の研究の重要性は高まっている。今回の結果は、酵母が代謝することで、もしくはエタノールの供給を行うことによってエチルエステル類の生成に寄与していることを示唆している。

次に多かったものは、アルコール類であった。*Saccharomyces cerevisiae* と *Z. rouxii* は対応するアミノ酸から高級アルコールを生成する Ehrlich 経路を持つことが知られている (Hazelwood et al. 2008; Van Der Sluis et al. 2002)。従って、3-methyl-1-butanol (isoamyl alcohol), 2-phenylethyl alcohol (図 2-8), 2-methyl-1-butanol (active amyl alcohol), 2-methyl-1-propanol (isobutyl alcohol), 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol, 3-(methylthio)-1-propanol (methionol) (図 A4), はそれぞれ, leucine, phenylalanine, isoleucine, valine, tyrosine, methionine (図 A5)から生成したことが予想される。また、1-butanol (図 A6)は近年 *S. cerevisiae* がアミノ酸から生成する経路を持つことが報告されており (Si et al. 2014), 過去の醤油の香気成分に関する論文でも検出されている (Hayashida et al. 1998;

Kaneko et al. 2013; Wang et al. 2014). 諸味中においても、大豆由来のアミノ酸から酵母によって生産されている可能性がある。他にも選択されたアルコール類である glycerol (図 A6)は、醤油諸味中で適合溶質として酵母によって生産されるという報告がある (Wang et al. 2001)。また、glycerol 自体は甘味を呈し、酵母による生産によって醤油の香味を変化させる可能性がある。過去の研究より、これらの成分が酵母添加の条件でのみ増加していることは理にかなっている。



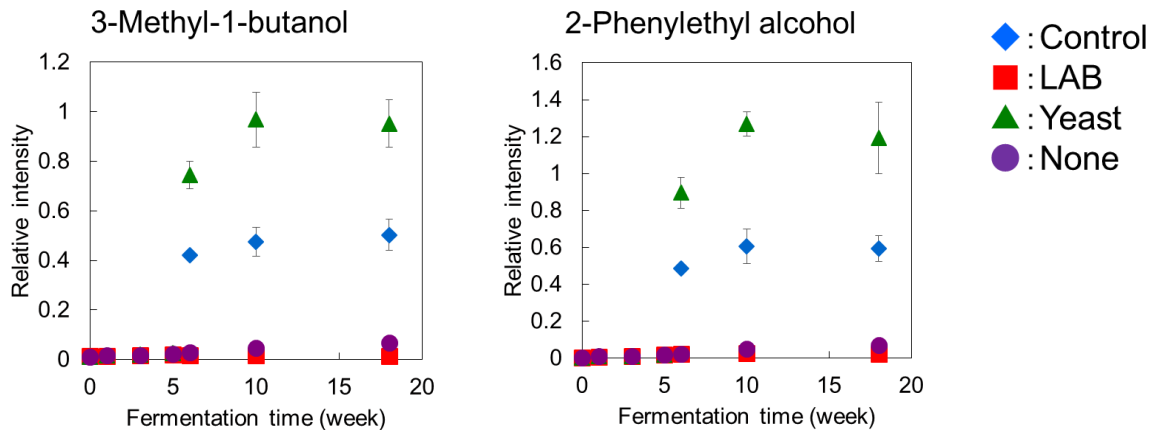


図 2-8. 3-Methyl-1-butanol (Isoamyl alcohol) と 2-phenylethyl alcohol の醸造中の変化

揮発性成分分析によって得られた、2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

これらの alcohols は酵母がを含む Control と Yeast でのみ増加した。本文中に挙げた 3-methyl-1-butanol (isoamyl alcohol), 2-methyl-1-propanol, 2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol, 3-(methylthio)-1-propanol (methionol) (図 A3) も同様に酵母を添加したサンプルで増加した。過去の研究より、*Z. rouxii* は対応するアミノ酸から高級アルコールを生成する Ehrlich 経路を持っていることがわかっているため、これらの isoamyl alcohol と 2-phenylethyl alcohol は対応するアミノ酸である leucine, phenylalanine から生成することが予想される。

酢酸エステル類は酵母を添加したサンプルでのみ生成する結果となった。これらの成分は apple の香りを持つ butyl acetate (Larsen and Poll 1992), fruity aroma を持つ 2-methylpropyl acetate (isobutyl acetate) (Pires et al. 2014)(図 2-9), banana-like aroma を持つ 3-methylbutyl acetate (isoamyl acetate) (Pires et al. 2014), fruity, apple の香りを持つ 2-methylbutyl acetate (Mehinagic et al. 2006), fruity, floral の香りを持つ *n*-propyl acetate (Mehinagic et al. 2006) (図 A7) など、それぞれ様々な香りを有し、果物だけでなく、ワイン (Escudero et al. 2007), ビール (Pires et al. 2014), 酒 (Arikawa et al. 2000) など重要な香気成分である。*S. cerevisiae* では、これらの酢酸エステルはアルコールと acetyl-CoA を前駆体として生成する (Pires et al. 2014)。清酒やビールでは alcohol acetyltransferase (AATFase) の働きにより生成する。醤油においても同様のメカニズム

で生成する可能性があるが、未だ明らかにはなっていない (佐々木ら, 1999). 本結果は、酢酸エステル類の生成へ酵母の寄与がある可能性を新たに示した.

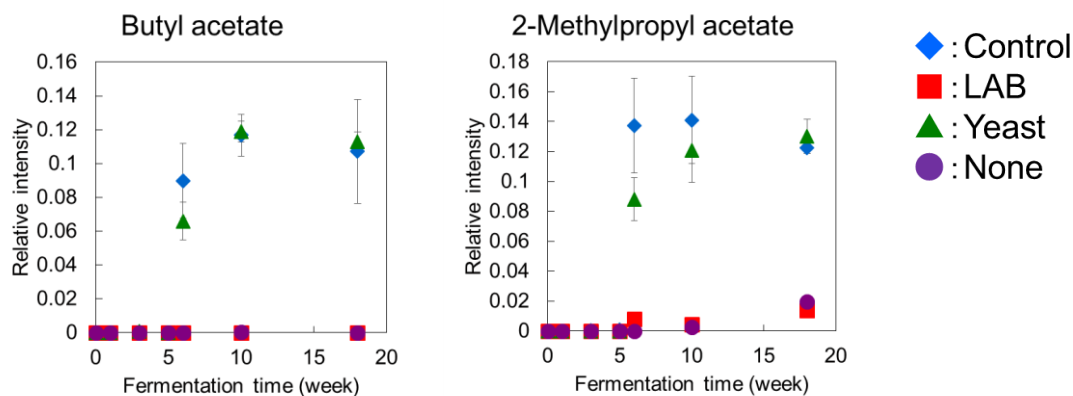


図 2-9. Butyl acetate と 2-methylpropyl acetate (isobutyl acetate) の醸造中の変化

ヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた、1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

Butyl acetate は apple, 2-methylpropyl acetate は fruity aroma を持つ成分である. 他にも 3-methylbutyl acetate, *n*-propyl acetate は酵母を含む Control, Yeast でのみ増加した. *S. cerevisiae* は、これらの酢酸エステルはアルコールと Acetyl-CoA を前駆体として生成するが醤油酵母 *Z. rouxii* の本成分の生成への関与は報告されていない.

フラノン類も酵母と相関を持つものがあつた (図 2-10). 5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2*H*)-furanone (HEMF) は醤油の特徴的な香りの一つで、カaramel様の香りをもつ成分であり、過去に *Z. rouxii* によって生産することが明らかになっている (Sasaki et al. 1991). 今回の結果からも、作製した醤油サンプルの中で酵母の生育によって生成していることが示唆される. また、herb, green, incense の香りを持つ 5-ethyl-dihydro-2(3*H*)-furanone ( $\gamma$ -hexalactone) (Pham et al. 2008) の増加からも、他のフラノン類の増加にも酵母が関与していることが示唆された. 同様に dihydro-2(3*H*)-furanone ( $\gamma$ -butyrolactone) や 5-ethyl-2(3*H*)-furanone (図 A8) も増加したが、一方で 5-ethyl-dihydro-2(3*H*)-furanone と dihydro-2(3*H*)-furanone は酵母を添加した場合と比較す

ると少ないが、酵母を添加しない場合にも増加していることから、酵母以外の要因によっても生成することが示唆された。

結果として、PCA の各主成分軸に相関を持つ成分が選択された。多くの揮発性成分が酵母と関連を持ったという事実は、酵母が醤油の香りに重要であることを示唆した。

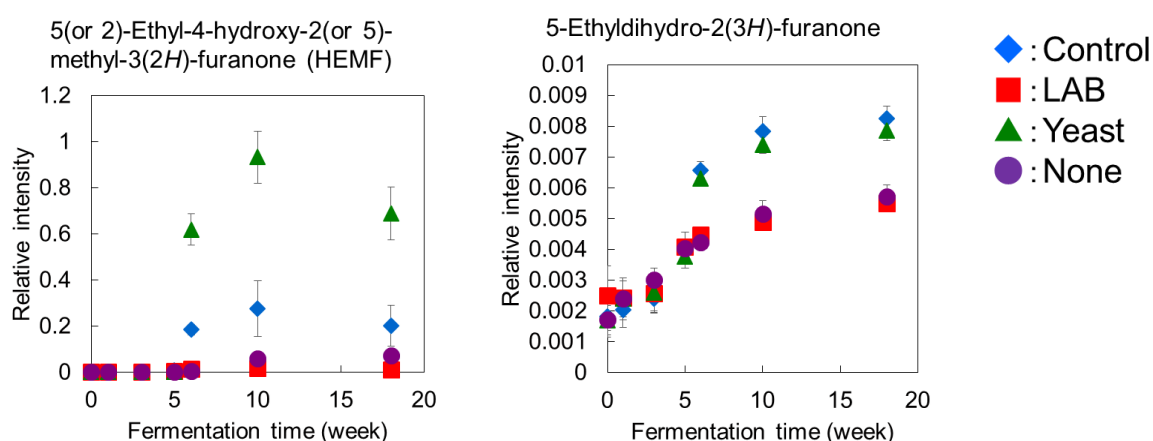


図 2-10. 5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF) と 5-ethylidihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone) の醸造中の変化

酢酸エチルによる液液抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた、2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ )。

4 種類のフラノン類は酵母を含む Control, Yeast で増加した。醤油の特徴的な香りをもつ HEMF と同様に、herb, green, incense の香りを持つ 5-ethylidihydro-2(3H)-furanone が増加していた。一方で、5-ethylidihydro-2(3H)-furanone と dihydro-2(3H)-furanone は、酵母を添加した場合と比較すると少ないが、酵母を添加していない場合にも増加していることから、酵母以外の要因によっても生成することが示唆された。

### 2.3.4.2. 乳酸菌添加の影響

酵母の場合と同様に、PCAの結果から、32成分が乳酸菌の添加・非添加を表すPC2軸と高い相関を持つことが明らかになった(表2-4)。乳酸菌を含むサンプルに相関の高い成分は11成分であり、酸類、アルコール類、アルデヒド類などが乳酸菌を含むサンプルでのみ増加した。一方で、arabinose, riboseなどの糖類, glycineなどのアミノ酸類など21成分は、乳酸菌を添加していないときに多いという結果となった。

表 2-4. 主成分分析のPC2(乳酸菌の添加・非添加)と有意に相関を持つ成分

Constituent	<i>p</i> (corr) [PC2]	<i>p</i> -value [PC2]
Acetic acid	-0.944	< 0.001
Lactic acid	-0.932	< 0.001
Ornithine	-0.928	< 0.001
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	-0.886	< 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	-0.867	< 0.001
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	-0.836	< 0.001
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	-0.805	0.0016
Benzaldehyde	-0.778	0.0029
Furan	-0.770	0.0034
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	-0.769	0.0035
2-Butanone	-0.719	0.0085
Arabinose	0.944	< 0.001
2-Methyl-2-butenic acid	0.921	< 0.001
Citric acid + Isocitric acid	0.909	< 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.908	< 0.001
Aspartic acid	0.891	< 0.001
Mannitol	0.886	< 0.001
3,5-Dihydroxy-6-methyl- 2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.872	< 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.843	< 0.001
Ribose	0.822	0.0010
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.804	0.0016

表 2-4. (続き)主成分分析の PC2(乳酸菌の添加・非添加)と有意に相関を持つ成分

Constituent	<i>p</i> (corr) [PC2]	<i>p</i> -value [PC2]
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.798	0.0019
Valine	0.795	0.0020
Glycine	0.787	0.0024
Histidine	0.779	0.0028
Lysine	0.762	0.0040
Serine	0.748	0.0051
Fructose	0.747	0.0052
Isoleucine	0.724	0.0078
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.716	0.0088
Threonine	0.712	0.0093
4-Hydroxy-2,5-dimethyl3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.712	0.0095

Lactic acid は, *T. halophilus* による諸味中での乳酸醗酵によって生産されることが明らかになっており, lactic acid の増加は乳酸菌の正常な生育を示唆している (図 A8). Citric acid (図 A9)に関しては, 醤油乳酸菌には, citric acid 分解菌能を有するものもあり, citric acid の減少は乳酸菌によるものであることが示唆され, 同時に acetic acid の増加も citric acid の代謝であることが伺える(栃倉 2012b).

2-Furancarboxaldehyde (furfural)は bread, sweet flavor (Nosaka and Miyazawa 2014), 2-furanmethanol (furfuryl alcohol)は sugar burnt flavor (LEE et al. 2006)の香りをそれぞれ持つ(図 2-11). Furfural と furfuryl alcohol は, Maillard 反応によって増加することが報告されている (佐々木ら. 1999). 今回の結果では, これらの成分が増加していることから, これまで微生物ではなく醸造中に起こる非酵素的な反応で生成することが予想されてきたこれらの成分に対して, その増加に乳酸菌が関与している可能性を示した.

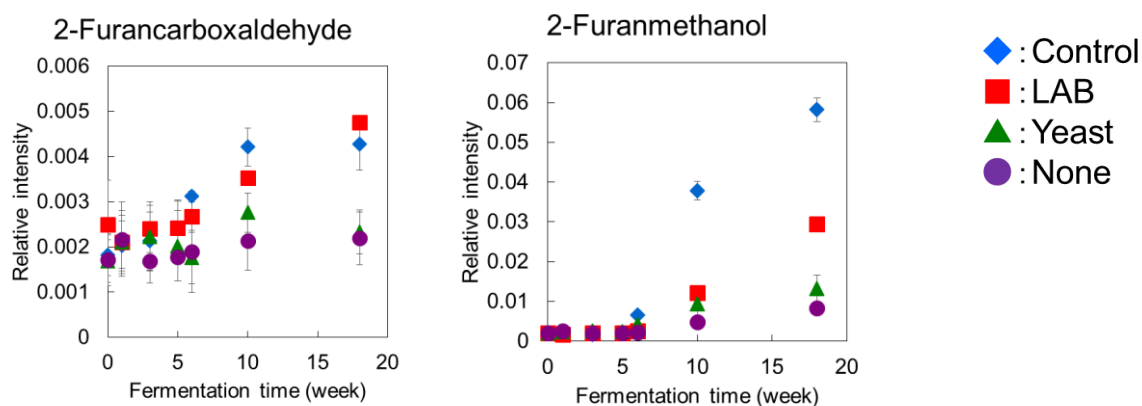


図 2-11. 2-Furancarboxaldehyde (Furfural) と 2-furanmethanol (furfuryl alcohol) の醸造中の変化

酢酸エチルによる液液抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n=3$ ).

Furfural と furfuryl alcohol は、醤油乳酸菌との関連はいままで議論されたことがなく、Maillard 反応によって生成すると予想されてきたが、本結果はこれらの成分の増加には乳酸菌が関与している可能性を示した。

さらに、2-hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (cyclotene) (図 2-12) は caramel-like flavor (Regional and Departnzext 1965) を持つ香気成分であり、乳酸菌を添加したサンプルで増加した。また、cooked potato-like flavor (Kaneko et al. 2012) を持つ 3-(methylthio)-1-propanal (methional) (図 2-12) も同様に乳酸菌を添加したサンプルで増加した。Methional は、醗酵食品中で strecker 分解 (Landaud et al. 2008) か Maillard 反応、火入れ (孟ら. 2014) により生成することが知られている。また、チーズでは、乳酸菌による生成が (Landaud et al. 2008)、ワインでは酵母による生成 (Landaud et al. 2008) が報告されている。今回の結果は、醤油中での methional の増加に乳酸菌が関与する可能性を示す初めての報告である。

醤油醸造期間中の成分プロファイリングを行い、乳酸菌の添加・非添加を比較した結果、醤油の香りには、酵母だけでなく乳酸菌が寄与している可能性が明らかになった。

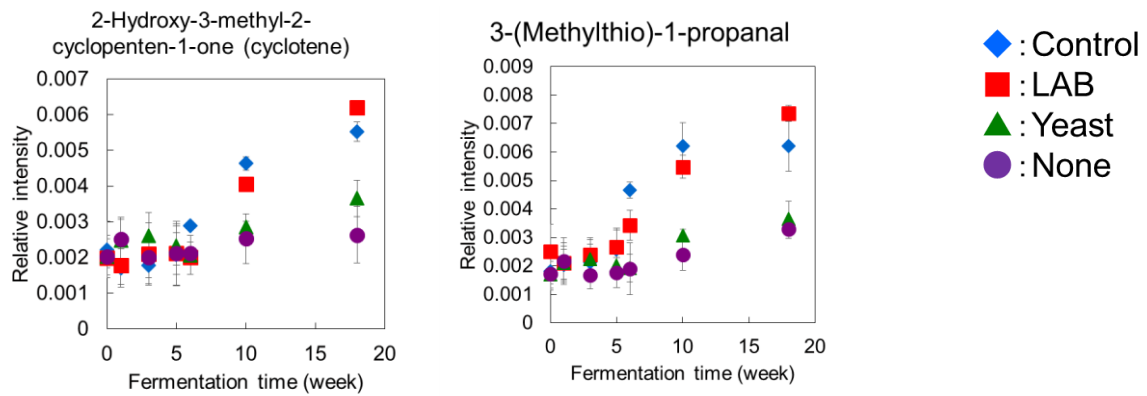


図 2-12. 2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (cyclotene) と 3-(methylthio)-1-propanal (methional) の醸造中の変化

酢酸エチルによる液液抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた、2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n=3$ )。

Caramel-like flavor を持つ cyclotene と cooked potato-like flavor を持つ methional は、何れも醤油中で乳酸菌が関連して生成するという報告はない。今回の結果は、醤油中でのこれらの揮発性成分の増加に乳酸菌が関与する可能性を示す初めての報告である。

#### 2.4. 小括

本章では GC/MS による成分プロファイルによって、醤油醸造中の成分変化と、微生物の影響を調査した。まず、乳酸菌と酵母を添加した通常の醸造 (Control) 中の成分プロファイルの変化を確認した後、各微生物の添加・非添加による影響の比較を行った。その結果、成分プロファイルの変化に酵母と乳酸菌が関与していることが明らかになった。各微生物に関連する成分の詳細を確認することで、酵母の香気成分生成への関与が確認された。特にアルコール類、エチルエステル類、酢酸エステル類、フラノン類が酵母の添加と強く相関を持ち、これらのいくつかの結果は、過去の知見と一致していた (Hazelwood et al. 2008; Van Der Sluis et al. 2002; Sasaki et al. 1991)。

さらに重要なこととして、乳酸菌が醤油の香りに重要な揮発成分の生成へ関与する可能性が初めて示唆された。Cyclotene, furfural, furfuryl alcohol, methional のように、過去に醤油乳酸菌との議論が行われていない成分と、乳酸菌との相関を示した結果は、従来の重要な

成分のみに着目している研究では知りえることができなかった貴重な知見である。

本章での成果は、ノンバイアスな高解像度の食品メタボロミクス技術を用いることによって、微生物の新たな可能性に資する情報を明らかにすることができたことである。



## 第3章 乳酸菌と酵母が生産する lactic acid・acetic acid・ethanol が醤油醸

### 造中に成分プロファイルに及ぼす影響の解析

#### 3.1. 諸言

醤油醸造は、麴菌・乳酸菌・酵母による醗酵によって行われ、それぞれの微生物が重要な役割を担っている (柄倉 2012b). 第1章でも述べたように、近年、従来の特定の成分に着目した研究だけではなく、幅広い成分を同時に解析する成分プロファイリングによって、今まで注目されていなかった成分が醤油の香味に寄与する可能性が示唆されてきた. 成分と味の関係が研究されているにも関わらず、未だに醸造中のどの要因が各成分の変化に関与しているか詳細に研究されておらず、成分と微生物を紐づけることは難しい. そこで第2章では微生物の醗酵の添加・非添加による影響に着目して研究を行った. 一方で、それぞれの微生物が生産する、lactic acid, acetic acid, ethanol も醤油醸造において重要な要因のひとつである. 諸味中の pH などの環境的要因を変化させることにより、微生物の生育 (Kusumegi et al. 1998)だけでなく Maillard 反応のような化学反応にも影響することが知られている (Martins and Van Boekel 2005). そして、さらにはそれら自身が反応基質となることで様々な成分の形成に寄与している.

乳酸菌は醤油だけでなく様々な食品に使用されている微生物である. 醤油と同様に日本の醗酵食品である清酒の醸造も、本来は麴菌, 乳酸菌, 酵母を用いて行われていた. しかし、それまで行われてきた乳酸菌を使用する生醸造りに対して、時間や工程を短縮できることから、乳酸菌の代わりに lactic acid を添加する速醸醗が開発された (吉沢ら. 2010; 吉澤 2011). 現在では、乳酸菌による醗酵の段階は、lactic acid の添加によって代替されるつつある. しかし近年、乳酸菌の味への寄与も研究され始めている (郷上ら. 2012; 老川 2015). ワインでは malic acid を lactic acid や carbon dioxide に変換するためのマロラクティック醗酵が重要であることが明らかになっている (吉沢ら. 2010). つまり乳酸菌の重要性はその醗酵食品によって全く異なる. 第2章では

醤油醸造を行う際に乳酸菌と酵母の添加・非添加を比較してそれぞれの微生物の重要性を議論した。しかし成分プロファイルは、乳酸菌の作る lactic acid・acetic acid の引き起こす諸味環境中の pH の低下の影響も受けて変化していることが予測され、乳酸菌添加の醤油には、乳酸菌の生産した lactic acid・acetic acid の影響も加わっている。そのため本章では、乳酸菌の代わりに、lactic acid・acetic acid を添加した諸味を調製し、乳酸菌添加と比較することでその差から乳酸菌の役割を議論する。

また、酵母は香気成分の生成という点で、清酒、ビール、ワイン、醤油、味噌などの多くの醗酵食品において重要な役割を持つ (吉沢ら. 2010)。酵母の代謝による香気成分の生成が注目される一方で、味噌ではエチルエステル類の形成には酵母の生産する ethanol の濃度が寄与することが示唆されている (大西 1983)。一方で、清酒・ワインではエチルエステル類が化学反応だけではなく、酵母による酵素的な反応によって生成することが明らかになっている (Pires et al. 2014; 篠原, 清水 1981)。醤油中では特徴香である HEMF などの代謝経路は研究されている (Sasaki et al. 1991)が、酢酸エステルやエチルエステルに関して、酵母の関与は詳細には解析されていない。乳酸菌の場合と同様に、第2章で行った微生物の添加・非添加の検討では、酵母添加を行った諸味には、酵母が生産する ethanol の影響が含まれている。そこで本章では、酵母の代わりに ethanol を添加し、酵母添加を比較することで、揮発性成分プロファイルの変化と酵母の役割を考察した。

## 3.2. 実験材料および実験方法

### 3.2.1. 醤油の調製

醤油の調製方法は、第2章に準じて行った。

本実験に用いたサンプルはキッコーマン株式会社に提供していただいた。醤油諸味は伊藤らによって報告された手法により製麹、出麹を行った (Ito et al. 2013)。等量の蒸した大豆と炒った小麦を混合し、麹菌 (*Aspergillus sojae* NBRC 4239) の着生した分生子を白金耳で搦み取り、播種を行った。また、微生物の混入を防ぐために調製した麹に、penicillin (2 U/g-koji) を添加した。麹の調製後、飽和食塩水と混合した。食塩水との混合の時点で諸味のろ液をろ紙 (定性濾紙 No. 2, 東洋濾紙株式会社, 東京, 日本) を用いて回収し 0 週目のサンプルとした。仕込みより 1, 3 週目の時点で同様にサンプリングを行った。3 週目のサンプリング後に乳酸菌 (*Tetragenococcus halophilus* NBRC 12172) の培養液を添加した。その後培養 4, 5 週目時点でサンプリングを行い、6 週目のサンプリングの後、酵母 (*Zygosaccharomyces rouxii* NBRC 1876) の培養液を添加した (pH がおおよそ 5.0 になる時点)。この諸味を時折激しく攪拌することにより通気を行った。仕込みより 7 週目の時点でサンプリングを行った。その後 10 週目以降では攪拌をせず、嫌気的な条件で醸造を行い、その後 15, 17, 18 週目) にサンプリングを行った。サンプリングポイントは、0, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 15, 17, 18 週目の 10 点である。回収したろ液は全て -20°C で保存した。Lactic acid・acetic acid の影響を調べるために、乳酸菌・酵母を添加した諸味と同じ濃度になるように 6 週目で lactic acid・acetic acid を添加した。また、ethanol も同様に、7, 10 週目の時点で添加した (表 3-1)。各サンプルは今後、Control: 乳酸菌 + 酵母添加, LAB + EtOH: 乳酸菌添加 + エタノール添加, Acids + Yeast: 乳酸・酢酸添加 + 酵母添加, Acids + EtOH: 乳酸・酢酸 + エタノール添加と表記する。それぞれの諸味は、 $n=3$  で醸造した。

表 3-1. 第 3 章で用いた醤油サンプル

Sample	Microbes		Reagents		
	<i>A. sojae</i> NBRC 4239	<i>T. halophilus</i> NBRC 12172	<i>Z. rouxii</i> NBRC 1876	Lactic acid + Acetic acid	Ethanol
Control: 乳酸菌・酵母 添加	○	○	○	×	×
LAB + EtOH: 乳酸菌 + EtOH 添加	○	○	×	×	○
Acids + Yeast : Acids + 酵母添加	○	×	×	○	×
Acids + EtOH : Acids + EtOH 添加	○	×	×	○	○

### 3.2.2. 試薬

Ribitol, pyridine (Infinity pure grade), ethyl acetate, ultrapure water, phosphoric acid, sodium dihydrogen phosphate dehydrate, 2-ethyl-1-hexanol, *n*-hexane, *n*-heptane は和光純薬工業株式会社 (大阪, 日本)から購入した. Methoxyamine hydrochloride, 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> は Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, USA)から購入した. MSTFA, *n*-alkanes (C<sub>9</sub>-C<sub>40</sub>), *n*-pentane, *n*-octane はジーエルサイエンス株式会社 (東京, 日本)から購入した.その他ピークアノテーションに用いた試薬は関東化学株式会社 (東京, 日本)から購入した.

### 3.2.3. 前処理

#### 3.2.3.1. 親水性低分子成分の誘導体化

超純水によって 10 倍希釈した醤油諸味のろ液 20  $\mu\text{L}$  に内部標準物質として ribitol 水溶液 (0.2 mg/mL) を 60  $\mu\text{L}$  添加し、ボルテックスでよく混和した。その後液体窒素で凍らせて凍結乾燥機 (FREEZE DRYER VD-800F, タイテック株式会社, 埼玉, 日本) に一晩供し, よく乾固させた。誘導体化にはオキシム化とトリメチルシリル (trimethylsilylation, TMS) 化を用いた。まず, methoxyamine hydrochloride (20 mg/ml-pyridine) を 100  $\mu\text{L}$  加え, Thermomixer comfort (エッペンドルフ株式会社, 東京, 日本) にて 30  $^{\circ}\text{C}$ , 90 分, 1200 rpm でインキュベートし, メトキシ化反応させた。これにさらに, MSTFA を 50  $\mu\text{L}$  加え, 37  $^{\circ}\text{C}$ , 30 分, 1200 rpm でインキュベートし, トリメチルシリル化反応させた。

#### 3.2.3.2. 酢酸エチルによる揮発性成分の抽出

揮発性成分の抽出には ethyl acetate による液液抽出法を用いた。醤油諸味のろ液サンプル 1 mL に内部標準物質として 2-ethyl-1-hexanol (1 mg/mL)を加え, NaCl を 300 mg 添加した。これに ethyl acetate を 400  $\mu\text{L}$  加え, Ball Mill (Retsch Co., Haan, Germany)を用いて 30 分, 25 Hz で攪拌することで抽出を行った。

#### 3.2.3.3. スタティックヘッドスペース装置による揮発性成分のサンプリング

NaCl を 1000 mg 計量し, ヘッドスペースサンプリング用バイアル (COMBIPAL 用 10 ml バイアル, エーエムアール株式会社, 東京, 日本)に入れ, そこに醤油諸味のろ液 2.5 mL を添加した。その後 pH の調整のため, 1 mol/L の sodium phosphate 水溶液 (7.8 g の sodium dihydrogen phosphate dihydrate と 3.42 mL の phosphoric acid (70%)を混和して, 100 mL に調製した)を 0.5 mL 添加した。また, 内部標準物質として 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> (12  $\mu\text{L}/\text{mL}$ )を 10 $\mu\text{L}$  加えた。

### 3.2.4. GC/MS 分析

分析機器は SHIMADZU GCMS-QP2010 Ultra システム, SHIMADZU AOC-20s オートサンプラー (島津製作所, 京都, 日本) を用いた. システム管理とデータ取得は GCMS solutions ver.4.2.0 ソフトウェアで行った.

#### 3.2.4.1. 親水性低分子成分

誘導体化処理したサンプル (1  $\mu$ L) をスプリットモード (25:1 (v/v)) でインジェクションした. インジェクション部の温度は 250°C に設定した. キャリアガスには He を用い, カラムには CP-SIL 8 CB low bleed/MS column (30 m  $\times$  0.25 mm i.d. fused silica capillary column coated with 0.25  $\mu$ m, Agilent Technologies, CA, USA) を用いた. カラム流量は 1.12 mL/min とした. カラムオーブンはサンプルインジェクション後, 80°C を 2 分保持後, 15°C /min で 330 °C まで昇温させ, その後 330°C を 6 分保持した. イオン化は電子イオン化 (Electron Ionization, EI) 法によりエネルギー 70 eV で行い, トランスファーラインは 250°C, イオン源温度は 200°C に設定した. スキャン範囲は  $m/z$  85-500 で, スキャンスピード 20 scan/sec でマススペクトルを取得した. 検出器電圧は, 直前にオートチューニングを行い自動で設定した.

#### 3.2.4.2. 揮発性成分(酢酸エチル抽出)

抽出サンプル (1  $\mu$ L) をスプリットレスモードでインジェクションした. インジェクション部の温度は 250°C に設定した. キャリアガスには He を用い, カラムには a InertCap Pure WAX column (30 m  $\times$  0.25 mm i.d. with 0.25  $\mu$ m film thickness, GL Sciences Inc. , 東京, 日本) を用いた. カラム流量は 1.24 mL/min とした. カラムオーブンはサンプルインジェクション後, 35 °C を 2 分保持後, 8 °C /min で 250 °C まで昇温させ, その後 250 °C を 15 分保持した. イオン化は EI 法によりエネルギー 70 eV で行い, トランスファーラインは 250°C, イオン源温度は 200 °C に設定した. スキャン範囲は

$m/z$  35-350 で、スキャンスピード 10 scan/sec でマススペクトルを取得した。検出器電圧は、直前にオートチューニングを行い自動で設定した。

#### 3.2.4.3. 揮発性成分(スタティックヘッドスペースサンプリング)

分析機器は SHIMADZU GCMS-TQ8040 と HS-20 ヘッドスペースサンプラを用いた。HS-20 による捕集は、1 mL サンプルループを用いたループモード (150°C)で行い、オープン温度 50°C, 30 分, バイアル加圧時間 0.5 分, 圧力平衡時間 0.1 分, ロード時間 0.5 分, ロード平衡時間 0.1 分, インジェクション時間 0.5 分, ニードルフラッシュ時間 5 分, バイアルミックス 3 で行った。

捕集した気相を 150°C で GC へ送り、スプリットモード (7:1 (v/v))でインジェクションした。インジェクション部の温度は 280°C に設定した。キャリアガスには He を使い、カラムには、DB-1 column (60 m × 0.25 mm i.d. fused silica capillary column coated with 1.00 μm, Agilent Technologies, CA, USA)を用いた。カラム流量は 1.60 mL/min とした。カラムオープンはサンプルインジェクション後、35°C を 5 分保持後、8°C/min で 230°C まで昇温させ、その後 230°C を 10 分保持した。続いて -5°C/min で 200°C まで降温した。イオン化は電子イオン化 (Electron Ionization, EI) 法によりエネルギー 70 eV で行い、トランスファーラインは 280°C, イオン源温度は 230°C に設定した。スキャン範囲  $m/z$  34-500, スキャンスピード 10 scan/sec でマススペクトルを取得した。検出器電圧は、直前にオートチューニングを行い自動で設定した。

#### 3.2.5. データプロセス

親水性成分分析と、酢酸エチル抽出による揮発性成分分析で得られた生データは、netCDF 形式に変換して出力した。続いて、MetAlign ver.041012 ソフトウェア (Lommen 2009)を用いて、ベースライン補正, ピーク検出, ピークアライメントを行い、CSV

(comma-separated values)形式で結果を出力した。得られたデータを AIoutput ソフトウェア (Tsugawa et al. 2011)で読み込み、ピーク行列を作成した。続いて分析を行った *n*-alkanes のうち、ピークが取得された C10 – C23 を用いて Kovats インデックス (Retention index: RI) を計算し、各ピークのマススペクトルと RI を、インハウスライブラリのマススペクトルと RI と照合することによって、ピークのアノテーションを行った。また、AIoutput によりアノテーションされなかったピークを LabSolutions GCMSsolution Ver 4.20 (島津製作所, 京都, 日本) に導入した NIST11 MS spectral library のマススペクトルとの比較により化合物のアノテーションを行った。その後、内部標準物質を基準にしてピーク強度を標準化した。

ヘッドスペースサンプリングによる揮発性成分分析で得られた生データは、LabSolutions GCMSsolution を用いてピーク検出を行った。ピーク行列を作成後、各ピークのマススペクトルを、LabSolutions GCMSsolution に導入した NIST11 MS spectral library のマススペクトルと比較し、化合物のアノテーションを行った。また、分析を行った *n*-alkanes のうち、ピークが取得された C5 – C12 を用いて RI を計算し各ピークのピーク面積を求め、その後、内部標準物質 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> を基準にしてピーク強度を標準化した。

### 3.2.6. 統計解析

GC/MS 分析によって得られたデータから作成した、アノテーションされたピークの内部標準物質に対する相対強度のデータセットを用いて多変量解析を行った。主成分分析(PCA)は、SIMCA-P+ version 13 (Umetrics, Umeå, Sweden)により、AutoScaling (Unit variance)で正規化した後行った。階層クラスター分析 (HCA)は Multiexperiment View Version 4.9120 (Howe et al. 2010)により、AutoScaling で正規化した後行った。Distance metric は Person Correlation, Linkage method は Average linkage clustering を使用した。



### 3.3. 結果と考察

#### 3.3.1. 醤油の成分プロファイリング結果

作製した 0, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 15, 17, 18 週目の醤油諸味のろ液を GC/MS によって分析した。第 2 章と同様に, GC/MS により得られたピークを, AIoutput, NIST ライブラリ及び標準品を用いてピークのアノテーションを行った結果, 合計 133 個のピークが検出された (表 3-2, 表 A7-9)。親水性低分子成分分析からはアミノ酸, 糖, 有機酸などの 36 成分, 酢酸エチル抽出による揮発性成分分析からはアルコール, フラノンなどの 52 成分, ヘッドスペースサンプリングによる揮発性成分分析からはエチルエステル, 酢酸エステルなどの 45 成分が検出された。この成分データを用いてデータ行列を作成し, 以後の解析に用いた (表 A10-12)。

表 3-2. GC/MS によりアノテーションした成分の一覧

親水性	Alanine	Malic acid
低分子成分	Arabinose	Mannitol
36 成分	Arabitol	<i>meso</i> -Erythritol
	Aspartic acid	Methionine
	Citric acid + Isocitric acid	Ornithine
	Fructose	Phenylalanine
	Galactose	Phosphate
	Glucose	Proline
	Glutamic acid	Pyroglutamic acid
	Glutamine	Ribose
	Glycerol	Serine
	Glycine	Succinic acid (or aldehyde)
	Histidine	Threonine
	Inositol	Tryptophan
	Isoleucine	Tyrosine
	Lactic acid	Valine
	Leucine	Xylitol
	Lysine	Xylose

表 3-2. (続き) GC/MS によりアノテーションした成分の一覧

酢酸エチル	( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy-	3,5-Dihydroxy-6-methyl-
抽出による	4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one
揮発性成分	( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic	3,5-Dimethyl-4-heptanone
52 成分	acid)	
	1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)
	1,4-Benzenediol	3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)
	1-Butanol	3-Methyl-1-butanol (Isoamyl alcohol)
	1-Hydroxy-2-butanone	3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone
	1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)
	1-Propanol	4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol
	2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	4-Hydroxy-5-methyl-furanone
	2(5 <i>H</i> )-furanone	4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)
	2,3-Butanediol	5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)- methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)
	4-Hydroxy-2,5-dimethyl3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone
	2-Acetylpyrrole	5-Ethyl-dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)
	2-Butenoic acid	Acetic acid
	2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	Benzoic acid
	2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	Butanoic acid (Butyric acid)
	2-Hydroxy-3-methyl-	Caprolactam
	2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)
	2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiaicol)	Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)
	2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	Ethyl hexadecanoate (Ethyl palmitate)
	2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	Ethyl lactate
	2-Methyl-2-butenic acid	Hexanoic acid (Caproic acid)
	2-Methylbutanoic acid	mono-Ethyl succinate
	2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)
	2-Phenylethyl alcohol	Phenylacetaldehyde
	3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	Phenylacetic acid
	3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	

表 3-2. (続き) GC/MS によりアノテーションした成分の一覧

ヘッド		3-Methylbutyl acetate
スペース	(Z)-1,5-Octadien-3-ol	(Isoamyl acetate)
サンプル	(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	3-Octanone
による	1-Octen-3-ol	Acetaldehyde
揮発性成分	2,3-Butanedione (Diacetyl)	Benzaldehyde
45 成分	2,3-Pentanedione	Butyl acetate
	2,6-Dimethyl-pyrazine	Dimethyl disulfide
	2-Butanone	Ethyl 2-methylbutanoate
	2-Butenal	Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)
	2-Ethoxy-2-methyl-propane	Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)
	2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	Ethyl benzoate
	2-Methyl-2-propanol	Ethyl butanoate
	2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)
	2-Methylbutyl acetate	Ethyl formate
	2-Methyl-furan	Ethyl heptanoate
	2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)
	2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	Ethyl propionate
	2-Pentanone	Furan
	2-Propanol	Hexanal
	2-Propanone (Acetone)	Methanethiol
	3,4-Hexanedione	Methyl acetate
	3-Methyl-2-butanone	<i>n</i> -Propyl acetate
	3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	

### 3.3.2. 主成分分析による全体のデータ構造の把握

第2章で行った解析と同様に、データの特徴を調査し、データが含んでいる情報の内容を確認するために、全てのサンプル情報と、全ての成分データを主成分分析によって解析した。成分プロファイルデータを説明変数として、AutoScaling (Unit variance) で強度を規格化した後、第1主成分 (PC 1) と第2主成分 (PC 2) を用いたスコアプロット (図 3-1 A) を作成した。

PC1 が成分データの分散の 55.4% を、PC2 が 13.5% を説明しており、本スコアプロットでは、データ全体の分散の 68.9% を説明していた。プロットされたサンプルの情報から考察すると、主成分軸はどちらも、正の方向に向かって醸造期間の進捗を表している。醸造を開始してから 4 週目までは、Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB + EtOH : 乳酸菌 + ethanol 添加, Acids + Yeast : lactic acid, acetic acid + 酵母添加, Acids + ethanol : lactic acid, acetic acid + ethanol 添加の何れも区別されることなくプロットしており、サンプル全体の分散と比較して、サンプル間の分散は小さく、成分プロファイルの違いが少ないと言える。3 週目のサンプリング後に乳酸菌を添加するため、0 から 3 週目までは全く同じ環境である。また、乳酸菌添加後の 4 週目には乳酸菌の代表的な生成物である lactic acid が増加し始めていないこと (図 A1) などから、乳酸菌添加による変化が成分プロファイルにまだ現れていなかったことが原因であると考えられる。

一方で、7 週目以降のサンプルは、PC2 方向に分かれてプロットした。酵母を含むサンプルである、Control と Acids + Yeast は PC2 で負に位置し、酵母を含まないサンプルである、LAB + EtOH と Acids + EtOH は PC2 の正の場所に位置していた。このことから、酵母の添加が成分プロファイルに影響を与えることがわかった。またこの傾向は最終週である 18 週目まで継続していた。

ローディングプロット (図 3-1 B) では、多くの成分が PC1 軸の正の領域に位置していた。スコアプロットの考察によると、醤油の醸造が進むと、サンプルは PC1 の正方向に移動することから、これらの PC1 の正の位置にプロットした成分群は醤油醸造の後期に特徴的であると言える。また、PC1 が正、PC2 が負の位置(グラフの右下の位

置)にアルコール，フラノン，酢酸エステルなどがプロットされた．スコアプロットより，これらの成分は，7週目以降の酵母を含むサンプルに特徴的であると言える．一方で，エチルエステルはローディングプロットの右下の位置ではなく，PC1 軸上 (PC2 軸が 0 の付近)にプロットされたことから，エチルエステルは7週目以降の全てのサンプルで増加していることが示唆された．また，第2章と同様に，糖類はPC1 が負の場所 (グラフの左側の位置)に位置しており，醗酵の前半に多いといえる．これは glucose などの糖類が微生物の生育によって消費されたことが一因ではないかと考えられる．

PCA と同様に，データ構造の確認を目的とした階層クラスタ分析 (HCA)を行った (図 A10)．得られた樹形図は醗酵初期，中期，後期で異なったクラスタとなり，醗酵中期は乳酸菌の添加と添加なし (酸添加)，醗酵後期は酵母の添加と添加無 (エタノール添加)で異なったクラスタとなった．第2章の結果と比較すると，酵母に特徴的な成分や乳酸菌に特徴的な成分のいくつかは全てのサンプルで最終的に増加していたため，添加した lactic acid ・ acetic acid ・ ethanol が成分プロファイルに影響していることが明らかになった．また，PCA と HCA の異なる解析方法を用いても成分プロファイルから得られる情報は類似しており，サンプルの特徴をよく表していた．

以上の結果から，GC/MS で取得した成分データは醤油の醸造期間による違いと，微生物もしくは lactic acid ・ acetic acid ・ ethanol の添加条件による違いを反映していた．さらに詳細な考察を行うため，最終週である 18 週目のサンプルを用いた微生物条件の違いによる成分プロファイルの変化に着目し，議論した結果を次項以降に記す (Control の醸造期間の変化は図 A11 に示す) ．

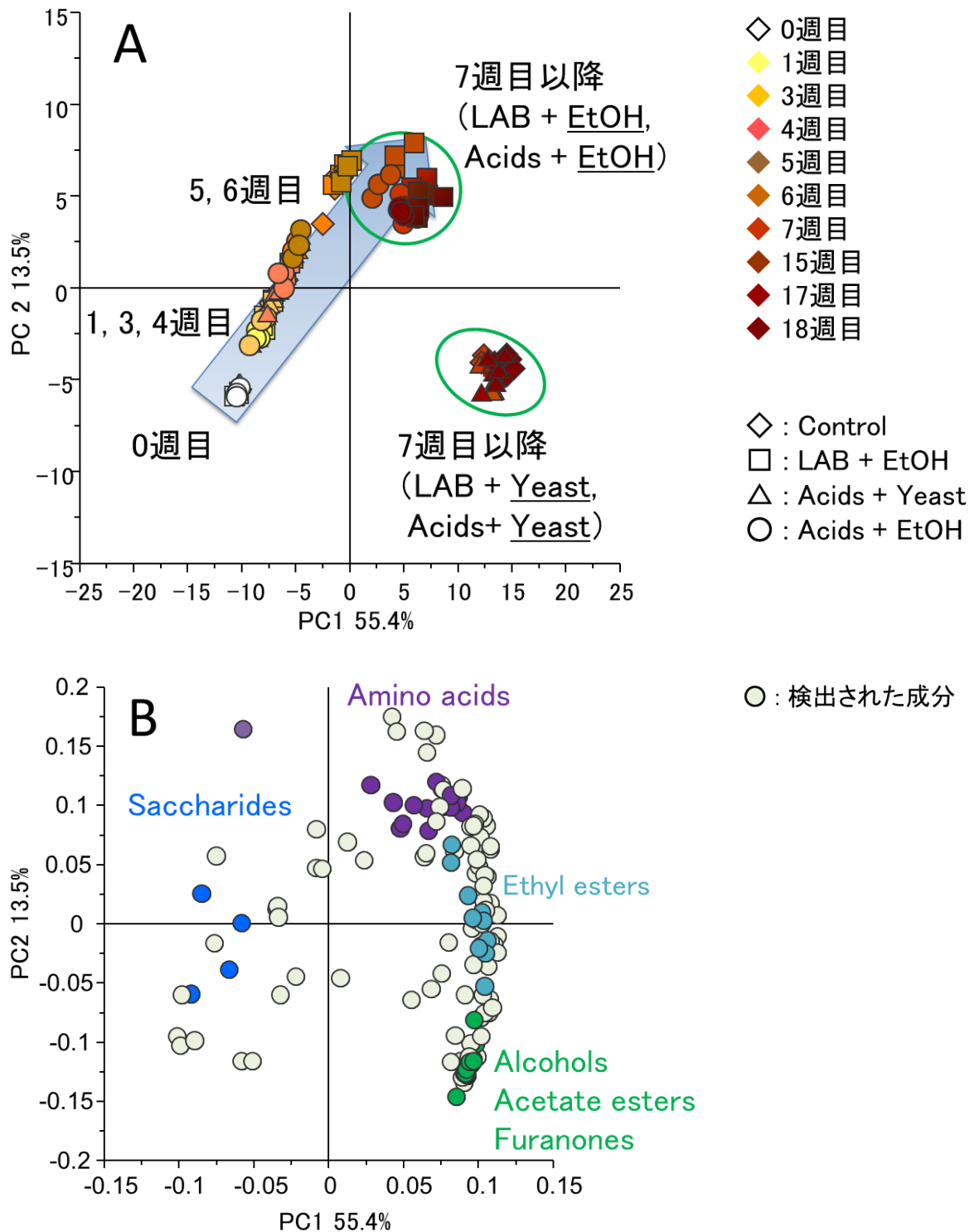


図 3-1 GC/MS によって取得した成分プロファイルを用いた醤油サンプルの主成分分析の結果

サンプルとして、全ての条件 (Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB + EtOH : 乳酸菌 + ethanol 添加, Acids + Yeast : lactic acid, acetic acid + 酵母添加, Acids + ethanol : lactic acid, acetic acid + ethanol 添加)の, 0, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 15, 17, 18 週目を用いた (それぞれ  $n=3$ ).

スケーリング : Auto Scaling, トランスフォーム : None, サンプル数 : 120, 説明変数 : 133

(A) サンプルのスコアプロット

PC1 が成分データの分散の 55.4% を, PC2 が 13.5% を説明しており, 本スコアプロットでは, データ全体の分散の 68.9% を説明していた. プロットされたサンプルの情報から考察すると, 主成分軸はどちらも, 正の方向に向かって醸造期間の進捗を表している (青の矢印で記した). 7 週目以降のサンプルが PC2 方向に分かれてプロットしたことから, PC2 は酵母の添加・非添加による違いを示していることがわかる (緑の円で記した).

(B) 成分のローディングプロット

多くの成分が PC1 軸の正の領域に位置しており, 醤油の醸造が進むとこれらの成分が増加したことがわかった. PC1 が正, PC2 が負の位置(グラフの右下の位置)にはアルコール, フラノン, 酢酸エステルなどの揮発性成分がプロットされたため, これらの揮発性成分には酵母のとの相関が見られる. 一方, エチルエステルは PC1 軸上 (PC2 軸が 0 の付近) にプロットされたことから, は 7 週目以降のサンプルの全てに含まれていることが示唆された.

### 3.3.3. 微生物添加と成分添加の違いによる成分プロファイルへの影響の解析

第3章の緒言で述べたように、本章では第2章で考察した微生物の添加・非添加による成分プロファイルへの影響に加えて、醸造中に生成する lactic acid・acetic acid・ethanol の影響に着目した。そこで、微生物、成分添加の差が最も大きい醸造終了時の18週目に着目し、乳酸菌及び酵母を添加した諸味と、lactic acid・acetic acid・ethanol を添加した諸味の成分プロファイルを主成分分析によって解析した (図 3-2)。PC1 が成分データの分散の 48.3% を、PC2 が 22.2% を説明しており、本スコアプロットでは、データ全体の分散の 70.0% を説明していた。プロットされたサンプルの情報から考察すると、PC1 は酵母と ethanol の添加の違い (正方向に酵母を添加したサンプルがあり、負方向にエタノールを添加したサンプルがある)、PC2 は乳酸菌と lactic acid・acetic acid の添加の違い (正方向に乳酸菌を添加したサンプルがあり、負方向に lactic acid・acetic acid を添加したサンプルがある)を示しており、醸造中の微生物や成分添加の条件に従ってサンプルが分かれてプロットした。ローディングプロットでは、アルコール、フラノン、酢酸エステルなどの揮発性成分が酵母添加サンプルと相関を持ち、ornithine や HDMF が乳酸菌添加サンプルと相関を持っていた。第2章と同様に、因子負荷量を用いた説明変数の選択を行った上でその詳細を議論する。



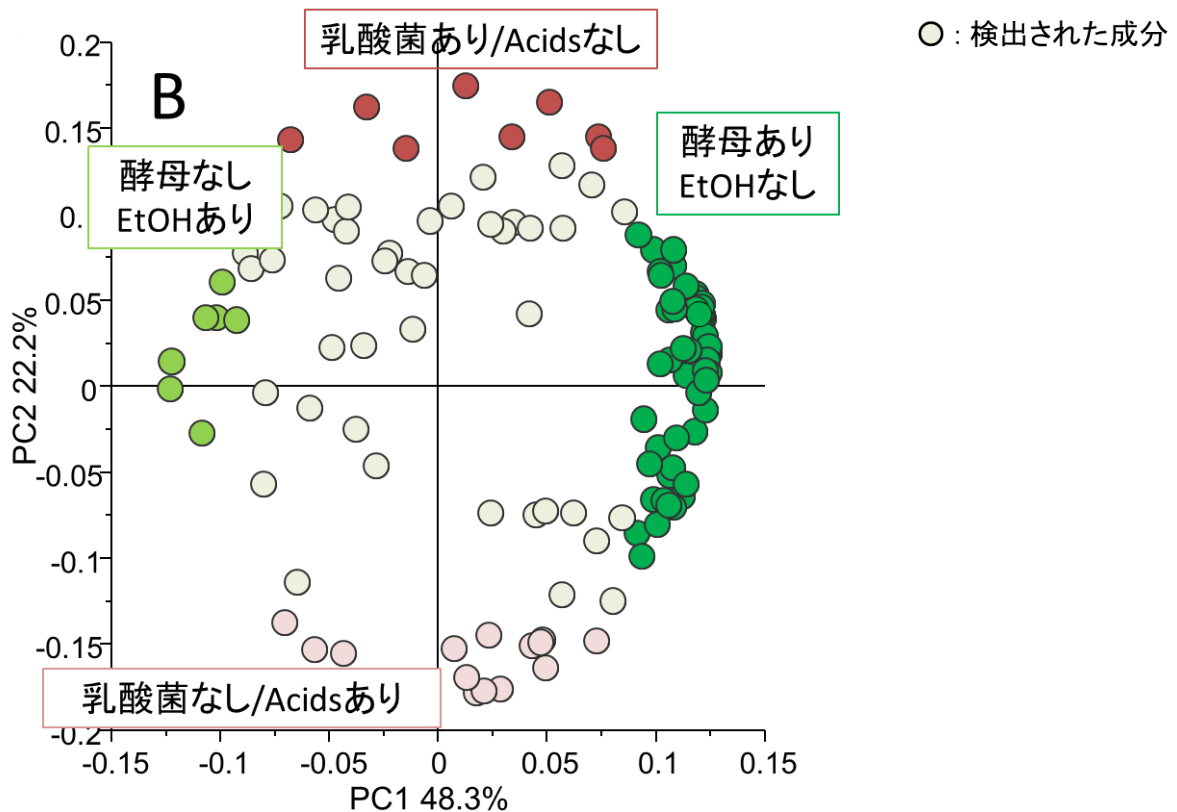
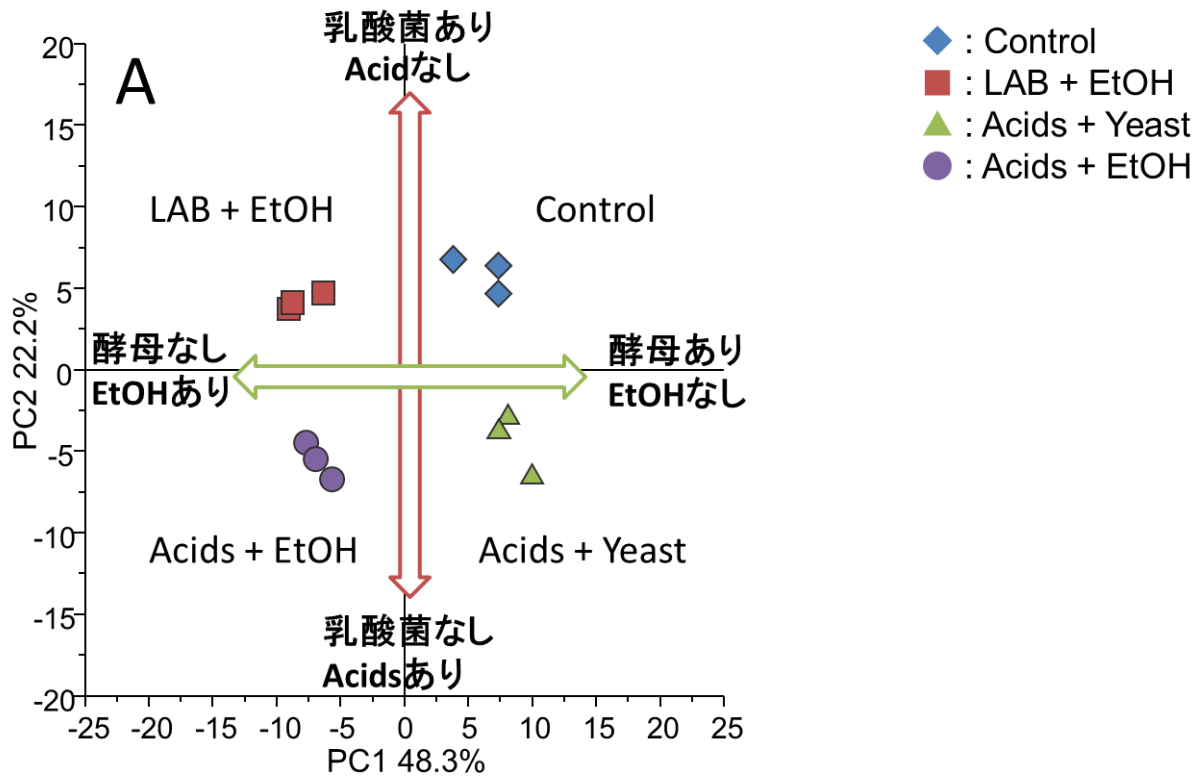


図 3-2. GC/MS によって取得した成分プロファイルを用いた 18 週目の醤油サンプルの主成分分析の結果

サンプルとして、全ての条件 (Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB + EtOH : 乳酸菌 + ethanol 添加, Acids + Yeast : lactic acid, acetic acid + 酵母添加, Acids + ethanol : lactic acid, acetic acid + ethanol 添加)の 18 週目を用いた (それぞれ  $n=3$ ).

スケーリング : Auto Scaling, トランスフォーム : None, サンプル数 : 12, 説明変数 : 129 (2-octenal と hexanal はサンプル間に差が無かったことから解析には用いていない. また, lactic acid と acetic acid はデータセットから除いた. )

#### (A)スコアプロット

PC1 が成分データの分散の 48.3%を, PC2 が 22.2%を説明しており, 本スコアプロットでは, データ全体の分散の 70.0%を説明していた. PC1 は酵母・ethanol の添加, PC2 は乳酸菌・lactic acid, acetic acid の添加を示しており, 醸造中の微生物条件に従ってサンプルは完全に分かれてプロットした.

#### (B)成分のローディングプロット

因子負荷量を用いた説明変数の選択方法によって酵母あり, 酵母なし, 乳酸菌あり, 乳酸菌なしのそれぞれの条件に相関が高いとして選択された成分を, 図中に色つきで示した (酵母あり/EtOH なし : 濃緑, 酵母なし/EtOH あり : 薄緑, 乳酸菌あり/Acids なし : 濃赤, 乳酸菌なし/Acids あり : 薄赤).

### 3.3.3.1. 酵母添加と ethanol 添加による影響

酵母と ethanol の影響を調査するため, 乳酸菌による乳酸醗酵後の諸味に対し, 酵母もしくは ethanol を添加した諸味を調製した. それぞれの諸味において, 酵母の影響で増加する成分は, 酵母を添加した諸味でのみ増加し, ethanol 添加によって増加する成分は, 酵母も醸造中に ethanol を生産することから, 両方の諸味で増加すると考えられる. つまり, 酵母添加, ethanol 添加を比較し, 酵母添加サンプルに特徴的な成分は酵母の影響を受けていると予想され, 両方の諸味に含まれる成分は, ethanol の影響を受けているか, 元々諸味に含まれる成分であり, 酵母の関与なしに存在していると考えられる. PCA 結果から因子負荷量を計算した結果, 65 成分が PC1 軸と高い相関を持ち, 58 成分が酵母の添加に, 7 成分が ethanol の添加によって増加することが明らかになった (表 3-3).

第 2 章で微生物の添加・非添加が成分プロファイルに与える影響を考察した際と比

較すると、同様の結果になったものと、異なる結果となったものがあった。以下に成分の種類ごとに考察する。

表 3-3. 主成分分析の PC1(酵母, ethanol の添加・非添加)と有意に相関を持つ成分

Constituent	<i>p</i> (corr)	<i>p</i> -value
	[PC1]	[PC1]
1-Butanol	0.985	< 0.001
Succinic acid (or aldehyde)	0.985	< 0.001
mono-Ethyl succinate	0.984	< 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.982	< 0.001
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.981	< 0.001
3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone	0.98	< 0.001
Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)	0.98	< 0.001
Glycerol	0.977	< 0.001
Butyl acetate	0.976	< 0.001
2,3-Butanedione (Diacyl)	0.971	< 0.001
2,3-Butanediol	0.971	< 0.001
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.969	< 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy- 2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.968	< 0.001
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.968	< 0.001
Arabitol	0.964	< 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.964	< 0.001
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.963	< 0.001
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.961	< 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.956	< 0.001
2-Phenylethyl alcohol	0.955	< 0.001
1-Propanol	0.95	< 0.001
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.946	< 0.001
3-Methyl-1-butanol (Isoamyl alcohol)	0.944	< 0.001
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.941	< 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.939	< 0.001

表 3-3. (続き)主成分分析の PC1(酵母, ethanol の添加・非添加)と有意に相関を持つ成分

Constituent	<i>p</i> (corr) [PC1]	<i>p</i> -value [PC1]
3,4-Hexanedione	0.939	< 0.001
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.937	< 0.001
Phenylalanine	0.936	< 0.001
2-Pentanone	0.91	< 0.001
2-Methylbutyl acetate	0.905	< 0.001
Threonine	0.902	< 0.001
2-Butenoic acid	0.901	< 0.001
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.895	< 0.001
Glutamic acid	0.888	< 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl palmitate)	0.864	< 0.001
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.862	< 0.001
5-Ethylidihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)	0.859	< 0.001
Acetaldehyde	0.855	< 0.001
Isoleucine	0.854	< 0.001
<i>meso</i> -Erythritol	0.852	< 0.001
3-Octanone	0.852	< 0.001
Phenylacetaldehyde	0.844	< 0.001
Inositol	0.842	< 0.001
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.839	< 0.001
2-Butenal	0.838	< 0.001
Valine	0.82	0.0011
<i>n</i> -Propyl acetate	0.81	0.0014
( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	0.809	0.0015
Ethyl propionate	0.806	0.0015
Lysine	0.802	0.0017
Leucine	0.795	0.002
Butanoic acid (Butyric acid)	0.785	0.0025
Histidine	0.781	0.0027
Methionine	0.769	0.0035
Dimethyl disulfide	0.746	0.0053
Proline	0.74	0.006
2-Butanone	0.73	0.007

表 3-3. (続き)主成分分析の PC1(酵母, ethanol の添加・非添加)と有意に相関を持つ成分

Constituent	<i>p</i> (corr) [PC1]	<i>p</i> -value [PC1]
Galactose	0.725	0.0076
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	-0.968	< 0.001
Tryptophan	-0.964	< 0.001
2-Acetylpyrrole	-0.857	< 0.001
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	-0.84	< 0.001
2-Methyl-2-butenic acid	-0.798	0.0018
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	-0.78	0.0028
Ethyl 2-methylbutanoate	-0.726	0.0075

選ばれた成分の中で、最も第2章との結果が類似していたものは3-methyl-1-butanol, 2-phenylethyl alcohol (図 3-3), 2-methyl-1-butanol (active amyl alcohol) , 2-methyl-1-propanol (isobutyl alcohol) , 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol , 3-(methylthio)-1-propanol (methionol) (図 A12)などのアルコールであった。アルコールの生成に関して、第2章との再現が確認できるとともに、ethanol の存在だけではこれらの成分は生成しないことを確認した。第2章で述べたように、Ehrlich 経路による対応するアミノ酸から高級アルコールを生成するため、アルコール類の増加には酵母が必要であることが示唆された。

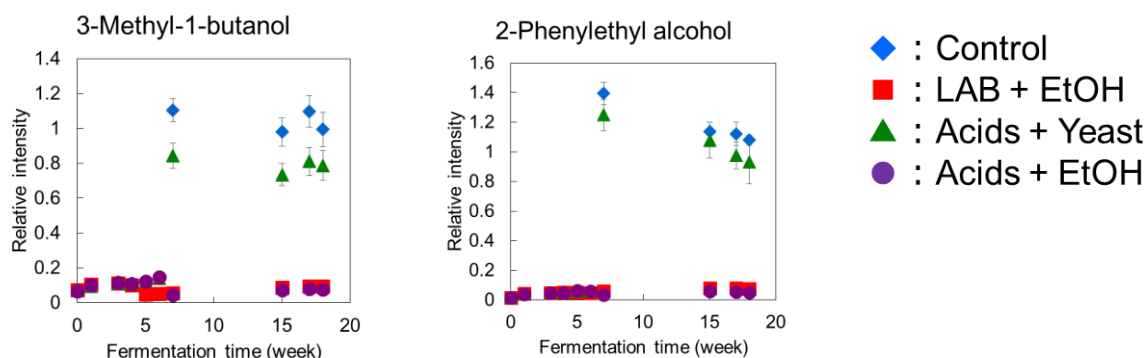


図 3-3. 3-Methyl-1-butanol (isoamyl alcohol)と 2-phenylethyl alcohol の醸造中の変化

揮発性成分分析によって得られた、2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

これらのアルコールは酵母を添加した Control, Acids + Yeast でのみ増加した. 本文中に挙げた 2-methyl-1-butanol (active amyl alcohol), 2-methyl-1-propanol (isobutyl alcohol), 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol, 3-(methylthio)-1-propanol (methionol)も第 2 章の結果と同様に, 酵母を添加したサンプルで増加した. 過去の研究より, *Z. rouxii* は対応するアミノ酸から高級アルコールを生成する Ehrlich 経路を持っていることがわかっているため, これらのアルコールは対応するアミノ酸から生成することが予想される.

醤油の香気に重要なフラノン類も第 2 章と結果が類似していた. 既に醤油酵母での生産が報告されている HEMF や herb, green, incense の香りを持つ 5-ethyl-dihydro-2(3H)-furanone (図 3-4) sweet/vanilla の香りを持つ dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-valerolactone), 5-ethyl-2(3H)-furanone (図 A13)の増加は酵母が関与していることが強く示唆された. また, 第 2 章の結果と同様に, 5-ethyl-dihydro-2(3H)-furanone と dihydro-2(3H)-furanone は酵母を添加していない場合にも増加していることから, 酵母に加えて, 酵母以外の要因によっても生成することが示唆された.

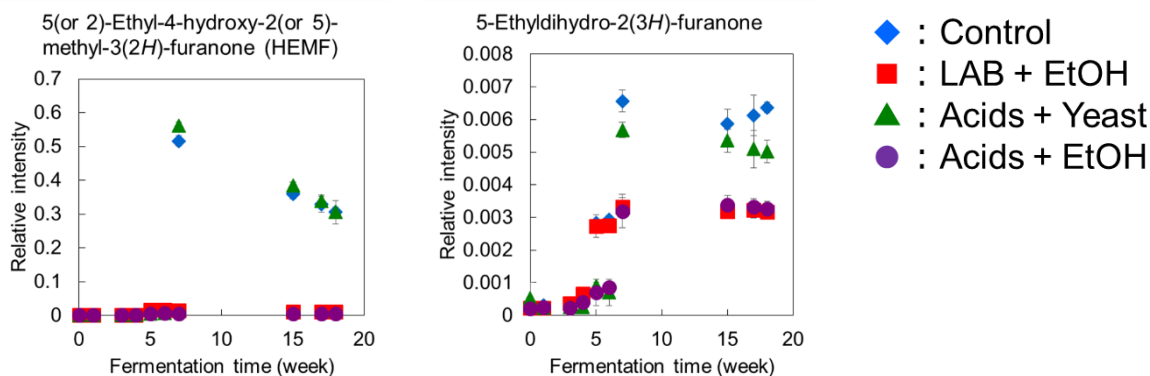


図 3-4. 5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF) と 5-ethylidihydro-2(3H)-furanone ( $\gamma$ -hexalactone)の醸造中の変化

揮発性成分分析によって得られた、2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

醤油の特徴的な香りをもつ HEMF や herb, green, incense の香りを持つ 5-ethylidihydro-2(3H)-furanone を含む 4 種類のフラノンに酵母を添加した Control, Acids + Yeast で増加した。5-Ethylidihydro-2(3H)-furanone と dihydro-2(3H)-furanone は HEMF と異なり、酵母を添加した場合と比較すると少ないが、酵母を添加していない場合にも増加していることから、酵母以外の要因によっても生成することが示唆された。

いくつかの酢酸エステルは酵母を添加したサンプルでのみ増加した。これらの成分は第 2 章でも述べたように、apple の香りを持つ butyl acetate (Larsen and Poll 1992), Fruity aroma を持つ 2-methylpropyl acetate (isobutyl acetate) (Pires et al. 2014) (図 3-5), banana-like aroma を持つ 3-methylbutyl acetate (isoamyl acetate) (Pires et al. 2014), fruity, apple の香りを持つ 2-methylbutyl acetate (Mehinagic et al. 2006), fruity, floral の香りを持つ *n*-propyl acetate (Mehinagic et al. 2006) (図 A14)など、それぞれ様々な香りを有し、果物だけでなく、ワイン (Escudero et al. 2007), ビール (Pires et al. 2014), 酒 (Arikawa et al. 2000)などの醗酵食品でも重要な香気成分である。本章の結果では、これらの酢酸エステルは酵母を添加していない場合には増加しなかった。これらの酢酸エステルは、清酒においては *S. cerevisiae* の alcohol acetyltransferase (AATFase)の働きによってアルコールと acetyl-CoA を前駆体として生成する (Pires et al. 2014)。醤油酵母でも AATFase

活性があったと報告している論文もあり(久寿米木ら. 1997), 醤油においても同様のメカニズムで生成する可能性がある(佐々木ら. 1999). その場合, butyl acetate, 2-methylpropyl acetate (isobutyl acetate), 3-methylbutyl acetate (isoamyl acetate), 2-methylbutyl acetate, *n*-propyl acetate (図 A12)はそれぞれ, 1-butanol, 2-methyl-1-propanol (isobutyl alcohol) (図 3-6), 3-methyl-1-butanol (isoamyl alcohol), 2-methyl-1-butanol (active amyl alcohol), 1-propanol (図 A15)を前駆体として生成することが予想される. これらの前駆体と予想される成分も酵母を添加したサンプルでのみ増加していることから, 酢酸エステル類は酵母を添加した場合でのみ増加したと考えられる.

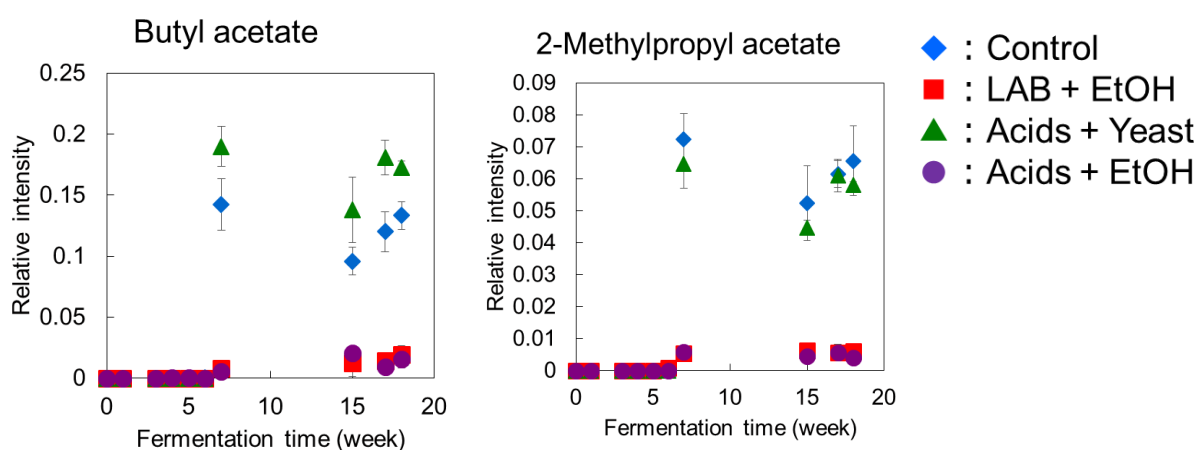


図 3-5. Butyl acetate と 2-methylpropyl acetate (isobutyl acetate)の醸造中の変化

揮発性成分分析によって得られた, 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub>を内部標準物質として基準化した相対強度を, 醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

Butyl acetate は apple, 2-methylpropyl acetate は fruity aroma を持つ成分である. 他にも 3-methylbutyl acetate , *n*-propyl acetate は酵母を添加した Control, Yeast でのみ生成した. *S. cerevisiae* は, これらの酢酸エステルはアルコールと acetyl-CoA を前駆体として生成するが醤油酵母 *Z. rouxii* におけるの本成分の生成は報告されていない.



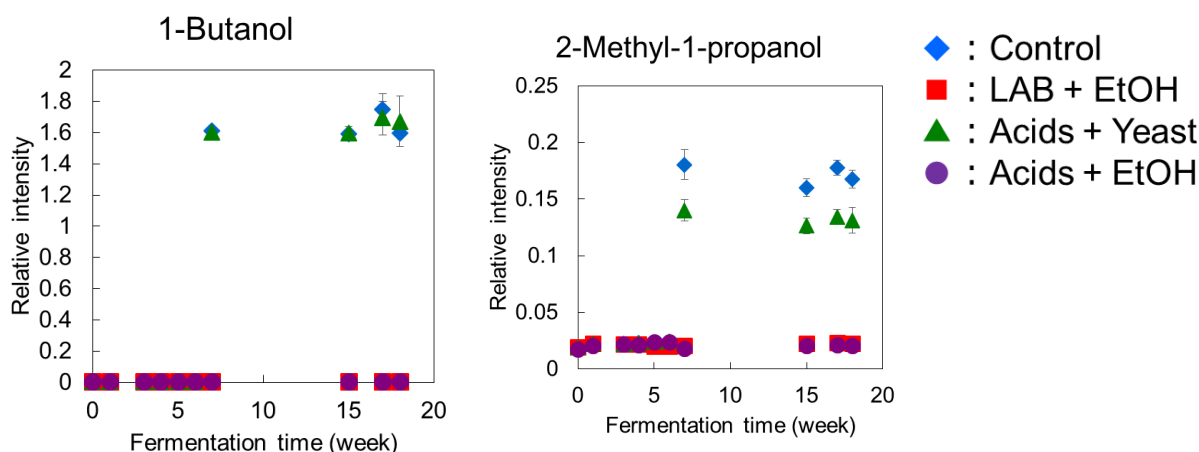


図 3-6. 1-butanol, 2-methyl-1-propanol (isobutyl alcohol)の醸造中の変化

揮発性成分分析によって得られた, 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を, 醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

Butyl acetate, 2-methylpropyl acetate (isobutyl acetate) はそれぞれ, 1-butanol, 2-methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol) を前駆体として, 生成することが予想される. これらの前駆体と予想される成分も酵母によって生産されることが示唆される. *S. cerevisiae* では, これらの酢酸エステルはアルコールと acetyl-CoA を前駆体として生成する. 清酒やビールでは alcohol acetyltransferase (AATFase)の働きにより生成するが, 実際に醤油酵母に AATFase 活性があったと報告している論文もあり, 醤油においても同様のメカニズムで生成する可能性がある.

第2章と異なる結果を示した成分はエチルエステルであった. 第2章ではエチルエステルは酵母を添加したサンプルに特徴的な成分として選択されていたが, 第3章ではほとんどのエチルエステルは全てのサンプルで増加した. 第3章で酵母が添加されたサンプルに特徴的な成分として選択された mono-ethyl succinate, ethyl hexadecanoate (ethyl palmitate), ethyl propionate (図 A16)は, 酵母を添加したサンプルとエタノールを添加したサンプルで18週目における強度に差があった. これは, succinic acid などの前駆体が酵母によって生産されることが関与しているか, 酵母自身がこれらの成分の増加に関わっている可能性を示唆した. しかし, 第2章での結果とは異なり, 酵母を添加していないサンプルにおいても増加がみられた. また, 他のエチルエステルは酵母, ethanol の添加・非添加が異なるサンプル間で差は無かった. これらの結果より, ethyl 2-methylbutanoate, ethyl 3-methylbutanoate (ethyl isovalerate) (図 3-7), ethyl benzoate,

ethyl 2-methylpropanoate (ethyl isobutyrate), ethyl hexanoate (ethyl caproate), ethyl butanoate (図 A17)はそれぞれ対応する酸類である, 2-methylbutanoic acid , 3-methylbutanoic acid (isovaleric acid) (図 3-8), benzoic acid, 2-methylpropanoic acid (Isobutyric acid), hexanoic acid, butanoic acid (butyric acid) (図 A18)と, エタノールが, 醸造中に非酵素的に起こる脱水縮合によって増加する可能性が示唆された.

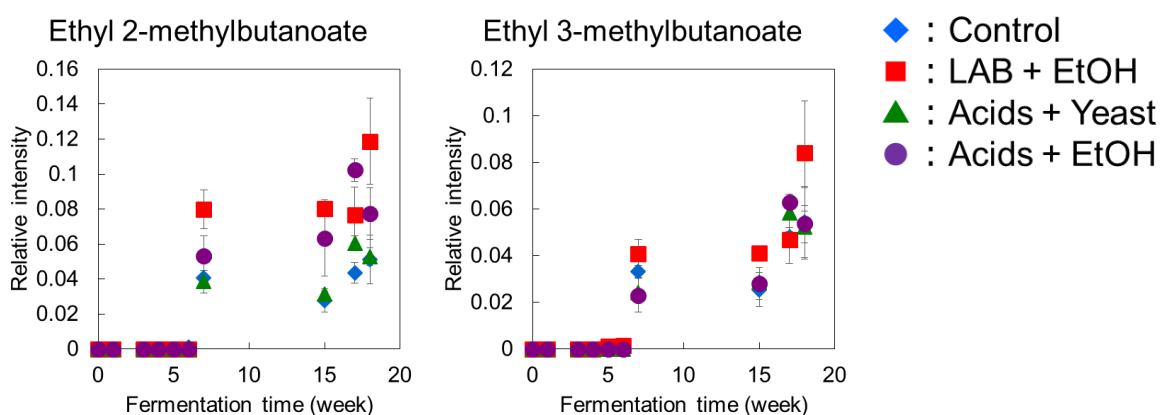


図 3-7. Ethyl 2-methylbutanoate と ethyl 3-methylbutanoate (ethyl isovalerate)の醸造中の変化

ヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> を内部標準物質として基準化した相対強度を, 醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

第 3 章ではほとんどのエチルエステルは全てのサンプルで増加した. 第 2 章において酵母を添加したサンプルでのみ増加したことを考えると, 酵母の生産する ethanol がこれらの成分の増加に寄与したことが考えられる.

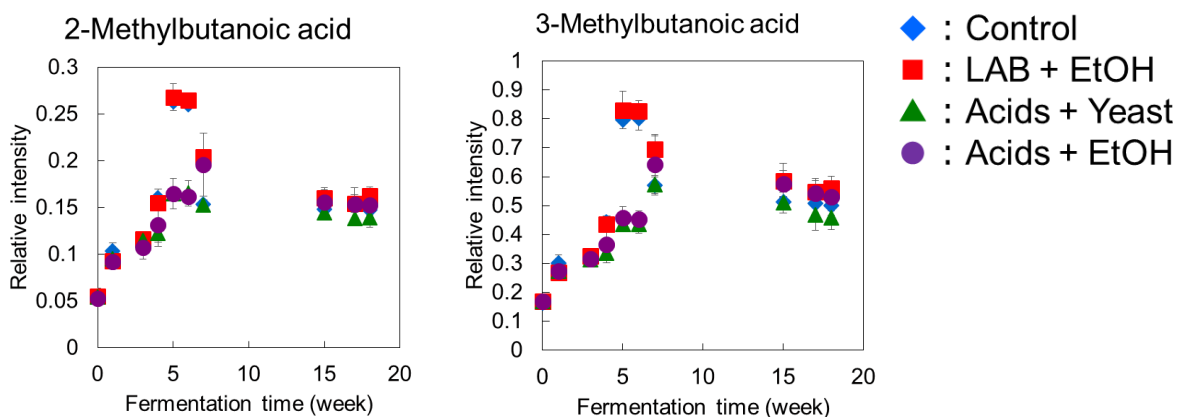


図 3-8. 2-Methylbutanoic acid , 3-methylbutanoic acid (isovaleric acid)の醸造中の変化

揮発性成分分析によって得られた, 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を, 醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

これらの脂肪酸は ethanol と反応することで ethyl 2-methylbutanoate と ethyl 3-methylbutanoate を生成する可能性があるとして示唆された。

今回の結果から, 第 2 章で酵母が関連すると予想された成分のうち, エチルエステルを除くほとんどの成分は ethanol の添加だけでは生成しないということがわかった。その中には, 今まで醤油酵母との関係が議論されたことのないフラノンや酢酸エステルなどが含まれていた。これらの成分は特徴的な香りをもつため, 酵母による醗酵が醤油醸造において重要な役割を持つことが確認された。一方で, エチルエステルが酵母を添加していない場合にも醸造中に ethanol が存在する場合に生成していることが明らかになった。これらのエチルエステルは, 微生物の株を変えても ethanol が酵母によって生産される限り諸味中に存在する可能性がある。そのためこれらの成分の制御のためには ethanol や有機酸のような前駆体の濃度などの条件を変化させることがより重要であるという可能性が示された。

### 3.3.3.2. 乳酸菌添加と lactic acid・acetic acid 添加による影響の違い

乳酸菌と、lactic acid・acetic acid 添加の成分プロファイルへの影響を比較するために、乳酸菌を添加した諸味と、乳酸菌の代わりに lactic acid と acetic acid を添加した諸味を調製し、それぞれの諸味に酵母もしくは ethanol を添加した。乳酸菌の影響で増加する成分は、乳酸菌を添加した諸味でのみ増加し、lactic acid・acetic acid 添加によって増加する成分は、乳酸菌が lactic acid・acetic acid を生産することから、両方の諸味で増加すると考えられる。PCA 結果から因子負荷量を計算した結果、22 成分が PC2 軸と高い相関を持ち、8 成分が乳酸菌を添加したサンプルに、14 成分が lactic acid・acetic acid を添加したサンプルに高い相関をもつことが明らかになった(表 3-4)。

表 3-4. 主成分分析の PC2(乳酸菌, lactic acid, acetic acid の添加・非添加)と有意に相関を持つ成分

Constituent	<i>p</i> (corr) [PC2]	<i>p</i> -value [PC2]
Ornithine	0.945	< 0.001
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.894	< 0.001
1,4-Benzenediol	0.877	0.0002
Ethyl heptanoate	0.788	0.0023
Xylitol	0.785	0.0025
4-Hydroxy-2,5-dimethyl3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.775	0.0031
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	0.748	0.0051
Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.744	0.0056
Citric acid + Isocitric acid	-0.967	< 0.001
Ribose	-0.961	< 0.001
Arabinose	-0.956	< 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	-0.914	< 0.001
Aspartic acid	-0.887	< 0.001
Fructose	-0.843	< 0.001

表 3-4. (続き)主成分分析の PC2(乳酸菌, lactic acid, acetic acid の添加・非添加)と有意に相関を持つ成分

Constituent	<i>p</i> (corr)	<i>p</i> -value
	[PC2]	[PC2]
Tyrosine	-0.83	< 0.001
2(5 <i>H</i> )-furanone	-0.822	0.001
Xylose	-0.819	0.0011
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	-0.816	0.0012
Serine	-0.804	0.0016
Mannitol	-0.798	0.0019
2-Propanone (Acetone)	-0.789	0.0023
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	-0.752	0.0048

酵母と ethanol 添加を比較した場合はほとんどの成分の増加は、酵母を添加したサンプルでのみおこり, ethanol 添加の影響はエチルエステル類においてのみ顕著であったという結果を得た. しかし乳酸菌と lactic acid・acetic acid 添加を比較した場合は, 酵母の場合の結果と比べ, 選択された成分は少なく, 第2章で乳酸菌の添加と相関を持つとして着目した成分のうち 2-furancarboxaldehyde (furfural), 2-furanmethanol (furfuryl alcohol) (図 3-9), 3-(methylthio)-1-propanal (methional) (図 A19)などの成分には, 乳酸菌との相関はみられなかった. 特に, furfural, furfuryl alcohol は酵母を添加したサンプルで相対的に強度が大きく, 酵母と, lactic acid・acetic acid の全てが諸味中に含まれている時にこれらの成分が増加するということが示唆された. このことから, lactic acid・acetic acid の存在が成分プロファイルに影響を与えていることが明らかになった.

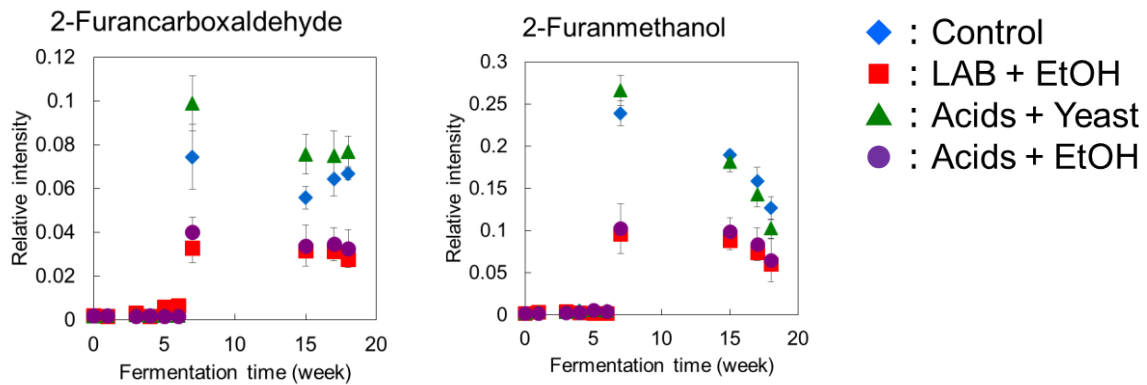


図 3-9. 2-Furancarboxaldehyde (furfural), 2-furanmethanol (furfuryl alcohol)の醸造中の変化

揮発性成分分析によって得られた、2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ )。

第 2 章では furfural, furfuryl alcohol が乳酸菌を添加したサンプルと相関をもつという結果となったが、第 3 章では furfural, furfuryl alcohol は酵母を添加したサンプルで相対的に強度が大きく、酵母と、lactic acid・acetic acid の全てが諸味中に含まれている時にこれらの成分が増加するということが示唆された。

HEMF とともに重要な香気成分である 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone (HDMF) (Hayashida et al. 1998) (図 3-10)は、微生物の添加・非添加による違いに着目した第 2 章では、乳酸菌を添加したサンプルと負に相関していた。しかし今回の結果では乳酸菌添加の条件で他のサンプルより多く存在しており、さらに、LAB+EtOH の条件下ではさらに多かったことから、乳酸菌の影響に加えて、ethanol 濃度が高くなることによる諸味環境の変化が成分の変化に関与していることが示唆された。HDMF はこれまでに乳製品に使用される乳酸菌での生産が研究されており (Hayashida et al. 2001; Preininger et al. 1995), 醤油では酵母が生産へ関与することが報告されている (Hecquet et al. 1996)。しかし一般的には Maillard 反応によって 5 炭糖から生成されるといわれており (Blank and Fay 1996), 今回の結果から、諸味環境を含めた、乳酸菌との関与の研究の必要性が明らかになった。

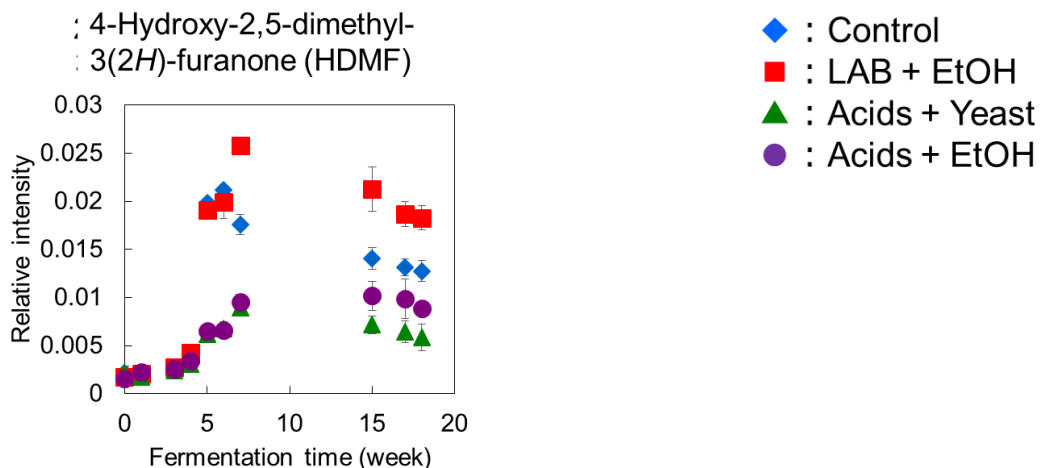


図 3-10. 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF)の醸造中の変化

揮発性成分分析によって得られた、2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

第2章では乳酸菌を添加したサンプルと負に相関していた。しかし今回の結果では乳酸菌の条件での他より多く存在しており、さらに、乳酸菌+EtOH の条件下ではさらに多かったことから、乳酸菌の影響に加えて、エタノール濃度が高くなることによる諸味環境の変化が成分の変化に関与していることが示唆された。

以上の結果から、乳酸菌が重要な香気成分である HDMF と相関を持つ可能性が示唆されたため、乳酸菌の風味への寄与については詳細な解析が必要であるといえる。一方で、多くの成分は乳酸菌の生産した lactic acid, acetic acid による影響を受けていることが明らかになった。

### 3.4. 小括

本章では乳酸菌の作る lactic acid・acetic acid の引き起こす諸味環境中の pH の低下の影響を考察するため、乳酸菌の代わりに、lactic acid・acetic acid を添加した諸味を調製し、乳酸菌添加と比較することで乳酸菌の役割を議論した。また、酵母の変わりに ethanol を添加し、酵母添加と比較することで、成分プロファイルの変化と酵母の役割を考察した。

その結果、エチルエステル生成への ethanol の寄与の可能性やが明らかになった。第 2 章で示唆された乳酸菌の揮発性成分プロファイルへの影響について、その一部は乳酸菌の生産する lactic acid・acetic acid が寄与していることが明らかになった。また HDMF のように、lactic acid・acetic acid 添加による成分プロファイルの変化と、成分プロファイルの酵母による変化の組み合わせによって第 2 章と異なる結果となった成分もあり、乳酸菌と酵母、それらが作る成分は成分プロファイルの変化に複雑に寄与していることが示された。

本章での成果は、醸造中の成分変化は乳酸菌・酵母の代謝によるものだけではなく、微生物の生産した成分が影響を与えていることを明らかにしたことである。



## 第4章 総括と展望

### 4.1. 本研究の総括

醤油は古くから使用され続けている重要な醗酵食品であり、微生物の醗酵を用いた伝統的な本醸造方式による製造が今現在も行われている。近年の分析技術の進歩によって醤油の風味と成分の解析が進められてきた。その次なる課題として、醤油の成分と微生物の関係についての解析を行うことが期待されている。そこで本博士研究では、メタボロミクス技術を用いて醤油醸造中に成分プロファイリングを行い、成分と微生物の関わりの議論に資する情報を得ることを目的とした。これから先の未来に、更に複雑になっていく食の多様性に応じて、醤油へのニーズは変化していくと予想される。このニーズに対応し、食の豊かさへ貢献するためには、醤油醸造の改良や品質向上が求められると考えられる。当該博士研究はそのための基礎的な情報を得ることによって、その端緒を開くものとなり得る。

研究対象として、醤油醸造に用いられる微生物である乳酸菌・酵母に着目し、これらの微生物の添加・非添加を比較した際に成分プロファイルがどのように変化するかを調査した。その結果からそれぞれの微生物の役割や各成分への影響を考察した。対象化合物を醤油の味に関わると考えられる親水性低分子成分、香りに関わると考えられる揮発性成分とし、アミノ酸、糖、有機酸などの一斉分析が可能であるメトキシム化とトリメチルシリル化を組み合わせた誘導体化法、アルコール、フラノンなどを抽出する有機溶媒による液液抽出法、サンプル自体のヘッドスペースに含まれるエステルなどの成分を捕集するスタティックヘッドスペースサンプリング法の3種類の方法を用いて、各成分を分析した。分析機器としては、マススペクトルライブラリ情報が充実しており、理論段数の高さから食品などの複雑なサンプルのノンターゲット解析に適しているGC/MSを選択した。

第2章では、乳酸菌と酵母が醤油醸造中に成分プロファイルに及ぼす影響の解析を行った。GC/MSを用いた成分プロファイリングの結果、親水性低分子成分分析からはアミノ酸、糖、有機酸などの36成分、酢酸エチル抽出による揮発性成分分析からは

アルコール、フラノンなどの 52 成分、ヘッドスペースサンプリングによる揮発性成分分析からはエチルエステル、酢酸エステルなどの 45 成分が検出され、合計 133 個のピークがアノテーションされた。これらの成分情報を用いて乳酸菌と酵母が醤油醸造中に成分プロファイルに及ぼす影響を解析した結果、アルコール類、エチルエステル類、酢酸エステル類、フラノン類などの多くの揮発性成分を含む 47 成分が、酵母の添加と相関を持つことが明らかになった。また、醤油中の重要な香気成分を含む 11 成分が、乳酸菌の添加と相関を持つことが明らかになった。乳酸菌と相関を持つ成分の中には、過去に醤油乳酸菌との議論が行われていない成分が含まれており、乳酸菌が醤油の香りに関与する可能性が初めて示唆された。

第 3 章では乳酸菌と酵母が生産する lactic acid・acetic acid・ethanol が醤油醸造中に成分プロファイルに及ぼす影響の解析を行った。第 2 章において、酵母の添加で増加した 47 成分のうち、12 成分が ethanol の添加で増加していることが明らかになり、ethanol のエチルエステル生成への寄与の可能性など、より詳細な相関関係を明らかにすることができた。また、第 2 章において、乳酸菌の添加で増加した 11 成分のうち lactic acid, acetic acid を含む 9 成分が lactic acid, acetic acid の添加で増加していたことが明らかになった。さらに、乳酸菌の生産する lactic acid・acetic acid が成分プロファイルへ影響していることに加えて、その影響が酵母と相関のある成分の変動にも寄与している可能性を明らかにした。つまり醸造中に醤油諸味に含まれるそれぞれの成分は、乳酸菌・酵母の代謝によって変化するだけでなく、微生物の生産した成分の影響を受けて変化することが示唆された。この結果は、それぞれの成分が醸造中のどの要因によって変動するのかを理解する一助になったと言える。

本研究の成果は、ノンバイアスな高解像度の食品メタボロミクス技術を用いることによって、微生物と成分の新たな相関関係を明らかにすることができたことである。

## 4.2. 今後の展望

醗酵食品の成分プロファイルの変化の解析は、原料、仕込み、微生物による醗酵など様々な要因が複雑に絡み合い、非常に困難である。今回の結果から、微生物の添加・非添加だけでは説明のできない、諸味環境の変化が成分プロファイルに寄与する可能性が明らかになった。微生物の代謝によらず、諸味中で自然に進む化学反応は、微生物の株を換えたり、育種したりするだけでは制御することが難しい。本研究ではどの成分が微生物の影響を受け、どの成分が lactic acid・acetic acid・ethanol の影響をうけるのかを、成分プロファイリングによる醗酵中の成分変化の調査によって解析することができた。この結果はそれぞれの成分を変動させたい場合に、どの要素に着目して研究すべきかを議論するきっかけとなる。

今後の展望として、醤油成分データの拡張とその先の品質改善への発展が考えられる。醤油の成分データには味や香りの情報を更に集積する必要がある。近年のメタボロミクスに基づく成分プロファイリングと官能評価の組み合わせによって、各成分の寄与や成分同士の関係が研究されつつある。特に生醤油などの新しい種類の醤油は、火入れをしないことなどからいままでの醤油とは異なった特徴を持つため、醤油の種類に応じた解析が更に必要となる。様々な種類の醤油の香味と、成分の関係を調査した情報を集積し、その結果と醗酵の解析を組み合わせることで、醤油の品質改善のための道筋が示される。さらに、当該博士論文で行った醗酵食品の解析手法は、他の醗酵食品への応用も可能である。将来的には、様々な醗酵食品からの情報を統合し、醗酵食品データベースの構築によって、醗酵食品間の知見の共有ができる。加えて、近年魚醤や清酒などで行われている、他の醗酵食品に使用される微生物を用いることによる新しい特徴をもった食品の開発にも貢献することができると期待できる。

## 引用文献

- Arikawa, Y., Yamada, M., Shimosaka, M., Okazaki, M., Fukuzawa, M.:** Isolation of sake yeast mutants producing a high level of ethyl caproate and/or isoamyl acetate. *J. Biosci. Bioeng.*, **90**, 675–677 (2000).
- Blank, I., Fay, L.B.:** Formation of 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone and 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2*H*)-furanone through Maillard reaction based on pentose sugars. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 531–536 (1996).
- Cevallos-Cevallos, J.:** Metabolomic analysis in food science: a review. *Trends Food Sci. Technol.*, **20**, 557–566 (2009).
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., Ferreira, V.:** Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 4501–4510 (2007).
- Hayashida, Y., Hatano, M., Tamura, Y., Kakimoto, M., Nishimura, K., Igoshi, K., Kobayashi, H., Kuriyama, H.:** 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone (HDMF) production in simple media by lactic acid bacterium, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* IFO 3427. *J. Biosci. Bioeng.*, **91**, 97–99 (2001).
- Hayashida, Y., Nishimura, K., Slaughter, J.C.:** The importance of the furanones HDMF and HEMF in the flavour profile of Japanese barley miso and their production during fermentation. *J. Sci. Food Agric.*, **78**, 88–94 (1998).
- Hazelwood, L. a, Daran, J.-M., van Maris, A.J. a, Pronk, J.T., Dickinson, J.R.:** The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 2259–66 (2008).
- Hecquet, L., Sancelme, M., Bolte, J., Demuynck, C.:** Biosynthesis of 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone by *Zygosaccharomyces rouxii*. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 1357–1360 (1996).

- Howe, E., Holton, K., Nair, S., Schlauch, D., Sinha, R., Quackenbush, J.:** MeV: MultiExperiment Viewer. *Biomed. Informatics Cancer Res.*, 267–277 (2010).
- Ito, K., Koyama, Y., Hanya, Y.:** Identification of the glutaminase genes of *Aspergillus sojae* involved in glutamate production during soy sauce fermentation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 1832–40 (2013).
- Jumhawan, U., Putri, S.P., Yusianto, Bamba, T., Fukusaki, E.:** Quantification of coffee blends for authentication of Asian palm civet coffee (Kopi Luwak) via metabolomics: A proof of concept. *J. Biosci. Bioeng.*, **122**, 79–84 (2016).
- Kaneko, S., Kumazawa, K., Nishimura, O.:** Comparison of key aroma compounds in five different types of soy sauces by aroma extract dilution analysis (AEDA). *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 3831–3836 (2012).
- Kaneko, S., Kumazawa, K., Nishimura, O.:** Studies on the key aroma compounds in raw (unheated) and heated Japanese soy sauce. *J. Agric. Food Chem.*, **61**, 3396–3402 (2013).
- Kirimura, J., Shimizu, A., Kimizuka, A., Ninomiya, T., Katsuya, N.:** The contribution of peptides and amino acids to the taste of foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.*, **17**, 689–695 (1969).
- Kusumegi, K., Yoshida, H., Tomiyama, S.:** Inhibitory effects of acetic acid on respiration and growth of *Zygosaccharomyces rouxii*. *J. Ferment. Bioeng.*, **85**, 213–217 (1998).
- Landaud, S., Helinck, S., Bonnarme, P.:** Formation of volatile sulfur compounds and metabolism of methionine and other sulfur compounds in fermented food. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **77**, 1191–205 (2008).
- Larsen, M., Poll, L.:** Odor thresholds of some important aroma compounds in strawberries. *Zeitschrift für Leb. und Forsch.*, **195**, 120–123 (1992).
- Lee, K.E., Lee, S.M., Choi, Y.H., Hurh, B.S., Kim, Y.-S.:** Comparative volatile profiles in soy sauce according to inoculated microorganisms. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 2192–2200 (2013).

- LEE, S.M., SEO, B.C., KIM, Y.-S.:** Volatile compounds in fermented and acid-hydrolyzed soy sauces. *J. Food Sci.*, **71** (2006).
- Lioe, H.N., Selamat, J., Yasuda, M.:** Soy sauce and its umami taste: A link from the past to current situation. *J. Food Sci.*, **75**, 71–76 (2010).
- Lommen, A.:** MetAlign: interface-driven, versatile metabolomics tool for hyphenated full-scan mass spectrometry data preprocessing. *Anal. Chem.*, **81**, 3079–86 (2009).
- Martins, S.I.F.S., Van Boekel, M.A.J.S.:** Kinetics of the glucose/glycine Maillard reaction pathways: Influences of pH and reactant initial concentrations. *Food Chem.*, **92**, 437–448 (2005).
- Mehinagic, E., Royer, G., Symoneaux, R., Jourjon, FREÄDEÄRIQUE, R., Ique, Prost, C.:** Characterization of odor-active volatiles in apples: Influence of cultivars and maturity stage. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 2678–2687 (2006).
- Meng, Q., Imamura, M., Katayama, H., Obata, A., Sugawara, E.:** Key compounds contributing to the fruity aroma characterization in Japanese raw soy sauce. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **8451**, 1–6 (2017).
- Mimura, N., Isogai, A., Iwashita, K., Bamba, T., Fukusaki, E.:** Gas chromatography/mass spectrometry based component profiling and quality prediction for Japanese sake. *J. Biosci. Bioeng.*, **118**, 406–14 (2014).
- Nishiumi, S., Kobayashi, T., Ikeda, A., Yoshie, T., Kibi, M., Izumi, Y., Okuno, T., Hayashi, N., Kawano, S., Takenawa, T., Azuma, T., Yoshida, M.:** A novel serum metabolomics-based diagnostic approach for colorectal cancer. *PLoS One*, **7**, 1–10 (2012).
- Nosaka, S., Miyazawa, M.:** Characterization of volatile components and odor-active compounds in the oil of edible mushroom *Boletopsis leucomelas*. *J. Oleo.Sci.*, **63**, 577–583 (2014).
- Nunomura, N., Sasaki, M., Asao, Y., Yokotsuka, T.:** Isolation and identification of 4-

- hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2*H*)-furanone, as a flavor component in shoyu (soy sauce). *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 491–495 (1976).
- Ochi, H., Naito, H., Iwatsuki, K., Bamba, T., Fukusaki, E.:** Metabolomics-based component profiling of hard and semi-hard natural cheeses with gas chromatography/time-of-flight-mass spectrometry, and its application to sensory predictive modeling. *J. Biosci. Bioeng.*, **113**, 751–758 (2012).
- Pham, A.J., Schilling, M.W., Yoon, Y., Kamadia, V. V., Marshall, D.L.:** Characterization of fish sauce aroma-impact compounds using GC-MS, SPME-Osme-GCO, and Stevens' Power Law exponents. *J. Food Sci.*, **73**, 268–274 (2008).
- Pires, E.J., Teixeira, J.A., Brányik, T., Vicente, A.A.:** Yeast: the soul of beer's aroma--a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **98**, 1937–49 (2014).
- Preininger, M., Grosch, W., Forschungsanstalt, D., Garching, D.-:** Determination of 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3 (2*H*)-furanone (HDMF) in cultures of bacteria. *Zeitschrift für Leb. und Forsch.*, **201**, 97–98 (1995).
- Regional, E., Departnzent, U.S.:** The identification of methylcyclopentenolone and other compounds in maple sirup flavor extract. *J. Food Sci.*, **30**, 1008–1015 (1965).
- Sasaki, M., Nunomura, N., Matsudo, T.:** Biosynthesis of 4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3 (2*H*)-furanone by yeasts. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 934–938 (1991).
- Shiga, K., Yamamoto, S., Nakajima, A., Kodama, Y., Imamura, M., Sato, T., Uchida, R., Obata, A., Bamba, T., Fukusaki, E.:** Metabolic profiling approach to explore compounds related to the umami intensity of soy sauce. *J. Agric. Food Chem.*, **62**, 7317–7322 (2014).
- Si, T., Luo, Y., Xiao, H., Zhao, H.:** Utilizing an endogenous pathway for 1-butanol production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Metab. Eng.*, **22**, 60–68 (2014).
- Van Der Sluis, C., Rahardjo, Y.S.P., Smit, B. a., Kroon, P.J., Hartmans, S., Ter Schure,**

- E.G., Tramper, J., Wijffels, R.:** Concomitant extracellular accumulation of alpha-keto acids and higher alcohols by *Zygosaccharomyces rouxii*. *J. Biosci. Bioeng.*, **93**, 117–124 (2002).
- Sluis, C. Van Der, Tramper, J., Wijffels, R.:** Enhancing and accelerating flavour formation by salt-tolerant yeasts in Japanese soy-sauce processes. *Trends Food Sci. Technol.*, **12**, 322–327 (2001).
- Steinhaus, P., Schieberle, P.:** Characterization of the key aroma compounds in soy sauce using approaches of molecular sensory science. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 6262–6269 (2007).
- Sugiyama, S.:** Selection of micro-organisms of soy sauce for use in fermentation of soy sauce. *Food Microbiol.*, **1**, 339–347 (1984).
- Sun, S.Y., Jiang, W.G., Zhao, Y.P.:** Profile of volatile compounds in 12 Chinese soy sauces produced by a high-salt-diluted state fermentation. *J. Inst. Brew.*, **116**, 316–328 (2010).
- Tsugawa, H., Tsujimoto, Y., Arita, M., Bamba, T., Fukusaki, E.:** GC/MS based metabolomics: development of a data mining system for metabolite identification by using soft independent modeling of class analogy (SIMCA). *BMC Bioinformatics*, **12**, 131 (2011).
- Wang, X., Fan, W., Xu, Y.:** Comparison on aroma compounds in Chinese soy sauce and strong aroma type liquors by gas chromatography–olfactometry, chemical quantitative and odor activity values analysis. *Eur. Food Res. Technol.*, **239**, 813–825 (2014).
- Wang, Z., Zhuge, J., Fang, H., Prior, B.A.:** Glycerol production by microbial fermentation: A review. *Biotechnol. Adv.*, **19**, 201–223 (2001).
- Yamamoto, H., Fujimori, T., Sato, H., Ishikawa, G., Kami, K., Ohashi, Y.:** Statistical hypothesis testing of factor loading in principal component analysis and its application to metabolite set enrichment analysis. *BMC Bioinformatics*, **15**, 51 (2014).
- Yamamoto, S., Bamba, T., Sano, A., Kodama, Y., Imamura, M., Obata, A., Fukusaki,**



- E.:** Metabolite profiling of soy sauce using gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry and analysis of correlation with quantitative descriptive analysis. *J. Biosci. Bioeng.*, **114**, 170–175 (2012).
- Zamboni, N., Sauer, U.:** Novel biological insights through metabolomics and <sup>13</sup>C-flux analysis. *Curr. Opin. Microbiol.*, **12**, 553–558 (2009).
- 吉沢叔, 石川雄章, 蓼沼誠, 長澤道太郎, 永見憲三: 醸造・発酵食品の事典. 朝倉書店 (2010).
- 吉澤淑: 酒の科学. 朝倉書店 (2011).
- 久寿米木一裕, 出永直樹, 吉田秀恵: アナログアミノ酸耐性酵母および味噌・醤油における酢酸エステル分解活性. *J. Ferment. Bioeng.*, **92**, 842–845 (1997).
- 郷上佳孝, 岡田かおり, 森山昌和, 溝口晴彦, 老川典夫: 生酏, 乳酸菌添加生酏, 速醸酏造りの日本酒醸造工程中のD-アミノ酸の定量的解析. *Trace Nutr. Res.*, **29**, 1–6 (2012).
- 古林万木夫: 醤油の新しい機能性 -醤油の低アレルギー性と抗アレルギー活性-. 日本食生活学会誌, **17**, 304–309 (2007).
- 佐々木正興, 中台忠信, 栗村芳郎, 古林万木夫, 辻安信, 中田佳幸, 田村順一, 佐藤正美, 稲森和夫: 醸造物の成分 しょう油編. 財団法人 日本醸造協会, 449–509 (1999).
- 三田村理恵子, 宮田信吾, 牛尼翔太, 今村美穂: しょうゆと郷土料理の相性に関する研究(第一報)—北海道—. 日本調理科学会平成29年度大会 (2017).
- 篠原隆, 清水純一: ワインの熟成中における主要有機酸のエチルエステルの生成と熟成の指標. 日本農芸化学会誌, **55**, 679–687 (1981).
- 小西春江, 青山佐喜子, 片寄眞木子, 川原崎淑子, 富永しのぶ, 阪上愛子, 澤田参子, 志垣瞳, 正井千代子, 山本信子, 山本由喜子, 米田泰子: 関西のうす味・うす色食文化の形成とうすくち醤油の利用に関する研究(第1報): 江戸期の料理本に見るしょうゆの出現数と地域性. 日本調理科学会誌, **37** (2004).

- 小幡明雄, 桑垣傳美: 話題の調味料: 生しょうゆ. 日本調理科学会誌, **46**, 402–404 (2013).
- 松永和浩: ものづくり上方”酒”ばなし V大阪高工醸造科スピリッツ. 大阪大学出版会, 79–94 (2012).
- 真部真里子, 落合由佳, 高村仁知, 的場輝佳: 東海道「うどんだし汁」の調査による味の地域的特徴の検証. 日本家政学会誌, **47**, 69–64 (1996).
- 大西邦男: みそ熟成中の脂質変化に及ぼすエタノールの影響. 日本食品工業学会誌, **30**, 88–93 (1983).
- 田中昭光: 醤油醸造での醤油乳酸菌の働きとその影響. 生物工学, **90**, 320–323 (2012).
- 枡倉辰六郎: 増補 醤油の科学と技術 第11章 各種醤油. 財団法人 日本醸造協会, 394–418 (2012a).
- 枡倉辰六郎: 増補 醤油の科学と技術 第4章 微生物. 財団法人 日本醸造協会, 152–170 (2012b).
- 枡倉辰六郎: 増補 醤油の科学と技術 第6章 成分. 財団法人 日本醸造協会, 277–293 (2012c).
- 日本醤油協会: 世界を駆ける調味料 しょうゆの不思議 改訂版. 株式会社東成社 (2012).
- 武田珠美, 木本いつか, 大友裕得, 牛尼翔太, 今村美穂: しょうゆと郷土料理の相性に関する研究(第二報)—九州—. 日本調理科学会平成29年度大会 (2017).
- 福崎英一郎: メタボロミクスの先端技術と応用 第25章 メタボロミクスの食品工学への応用. シーエムシー出版, 288–299 (2008).
- 孟琦, 熊丸陽奈, 今村美穂, 中尾隆人, 小幡明雄, 菅原悦子: 生醤油の香気成分の調理加熱による変化. 日本調理科学会誌, **47**, 214–220 (2014).
- 老川典夫: 日本酒の新たな呈味性成分「D-アミノ酸」. 日本醸造協会誌, **110**, 189–197 (2015).
- 高木亨: 醤油の好みと地域特性 (Regional characteristics and palatability of soy sauce in

Japan). 日本食生活学会誌, **15**, 267-277 (2005).

## 発表論文

○ Risa Harada, Masanobu Yuzuki, Kotaro Ito, Kazuki Shiga, Takeshi Bamba, Eiichiro Fukusaki.: Influence of yeast and lactic acid bacterium on the constituent profile of soy sauce during fermentation, *J. Biosci. Bioeng.*, **123**, 203-208 (2017)

○2) Risa Harada, Masanobu Yuzuki, Kotaro Ito, Kazuki Shiga, Takeshi Bamba, Eiichiro Fukusaki.: Microbe participation in aroma production during soy sauce fermentation, *J. Biosci. Bioeng.*, (印刷中, 2017年12月現在)

## 総説等

山本慎也, 原田里紗, 馬場健史, 福崎英一郎, 小川由高, 加藤妙子, 中野京子, 楠本憲一: “ガスクロマトグラフィー/質量分析による味噌のメタボローム解析(1)サンプルの前処理と分析条件の検討”, 中央味噌研究所研究報告 = Report of Central Miso Research Institute (35), 34-37, 2014

楠本憲一, 山本慎也, 原田里紗, 小川由高, 加藤妙子, 中野京子, 馬場健史, 福崎英一郎: “ガスクロマトグラフィー/質量分析による味噌のメタボローム解析(2)味噌の香りに関する官能特性表現用語の抽出”, 中央味噌研究所研究報告 = Report of Central Miso Research Institute (36), 34-38, 2015

原田里紗, 入船智哉, 福崎英一郎: “『機能性食品開発のための初期評価試験プロトコール集』, 第2章 作用機序解析, 3 メタボローム解析, 3.2 「GC/MS を用いたメタボロミクスの食品研究への応用」”, シーエムシー出版刊, 329-333, 2017

入船智哉，谷口百優，中野洋介，原田里紗，福崎英一郎：“解説Ⅱ-3 メタボロミクスの食品機能解析への応用”工業材料，(65)，43-47，2017

## 学会発表

○Harada, R. Yuzuki. M. Shiga, K. Bamba, T. Fukusaki, E. "Investigation of component changes in soy sauce resulted from microbial activities during fermentation using metabolome analysis",

Metabolomics2014, Tsuruoka, Japan, June 24<sup>th</sup>, 2014

○Harada, R. Yuzuki. M. Shiga, K. Bamba, T. Fukusaki, E. "Metabolomics-based investigation of component changes in soy sauce fermentation"

SeleCa-Symposium 2015, Aachen, Germany, September 2<sup>nd</sup>, 2014

○Harada, R. Yuzuki. M. Shiga, K. Bamba, T. Fukusaki, E. "Food Metabolomics"

Degree Programs in English International Credit-Exchange and Double-Degree Programs

Short-Term International Exchange Programs, Bandung, Indonesia, February 16<sup>th</sup>, 2016

○原田里紗, 柚木雅信, 志賀一樹, 馬場健史, 福崎英一郎. "Metabolomics-based investigation of component changes in soy sauce fermentation"

第 67 回日本生物工学会大会(鹿児島大会), 鹿児島, 日本, 2015 年 10 月 27 日

○Harada, R. Yuzuki. M. Shiga, K. Bamba, T. Fukusaki, E. "Influence of yeast and lactic acid bacterium on the constituent profile of soy sauce during fermentation ",

Metabolomics2017, Brisbane, Australia, June 25-29<sup>th</sup>, 2017

## 謝辞

本論文は、著者が大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻において行った研究をまとめたものです。

本研究を遂行するにあたり、終始ご指導とご鞭撻を賜りました大阪大学大学院工学研究科 福崎英一郎 教授に謹んで感謝の意を表します。

本研究に当り、ご指導ならびに日頃からの貴重なご助言と励ましの言葉を頂きました新聞秀一 准教授ならびに **Sastia Prama PUTRI** 助教に心から感謝申し上げます。

また、本論文作成に当り有益なご指導、ご助言、及びご校閲を賜りました大阪大学大学院工学研究科 大政健史 教授、大阪大学生物工学国際交流センター 藤山和仁 教授に厚く感謝申し上げます。

また、日頃より貴重なご助言を頂きました大阪大学工学研究科九州大学生体防御医学研究所兼大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 馬場健史 教授、大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 小野比佐好 元助教に厚く御礼申し上げます。

本研究に深いご理解と全面的なご支援を頂きましたキッコーマン株式会社 松山旭 研究開発部長に深く感謝申し上げます。

本研究で使用した醤油サンプルの提供と日頃より有益なご助言を頂きましたキッコーマン株式会社 基盤研究第2部、伊藤考太郎氏、柚木雅信氏に感謝の意を表します。

また、本研究を進めるにあたり、細部に渡る懇切なるご指導を賜り、また日頃からご助言と励ましの言葉を頂きました大阪大学大学院工学研究科 キッコーマン株式会社 基盤研究第2部 志賀一樹氏に深く感謝いたします。

本研究を行うに際し、多大なる協力を賜りました大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻生物資源工学領域、食品研究グループ **Anjaritha Aulia Rizky Parijadi** 修士、**Adinda Darwati Kadar** 修士、山本佳奈学士、**Safira Latifa Erlangga Putri** 学士、入船智哉 学士、山名智之氏および生物資源工学領域、諸先輩方、学生諸氏、研究員、事務の方々

に心から感謝の意を表します。

最後に、博士後期課程に進学する機会を与え温かく見守ってくれた家族ならびに親族の方々、そして応援し続けてくれた多くの友人に深い感謝の意を表して謝辞と致します。



## 付録

### 第 1 章に関わる付録

資料 A1. しょうゆの農林規格, 農林水産省, 2017 年 12 月現在

資料 A2. しょうゆ品質表示規準, 農林水産省, 2017 年 12 月現在

### 第 2 章に関わる付録

表 A1. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた親水性低分子成分

表 A2. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (酢酸エチル抽出)

表 A3. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (スタティックヘッドスペースサンプリング)

表 A4. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた親水性低分子成分の各サンプルにおける相対強度

表 A5. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (酢酸エチル抽出)の各サンプルにおける相対強度

表 A6. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (スタティックヘッドスペースサンプリング)の各サンプルにおける相対強度

図 A1. GC/MS によって取得した成分プロファイルを用いた第 2 章の醤油サンプルの階層クラスタ分析の結果

図 A2. Ethyl hexadecanoate (ethyl palmitate), ethyl propionate, ethyl dodecanoate (ethyl laurate), ethyl 2-methylpropanoate (ethyl isobutyrate), ethyl butanoate, ethyl heptanoate, ethyl formate, ethyl benzoate, ethyl hexanoate (ethyl caproate), mono-ethyl succinate の醸造中の変化

図 A3. Ethyl lactate の醸造中の変化

図 A4. 2-Methyl-1-butanol (active amyl alcohol) , 2-methyl-1-propanol (isobutyl alcohol) , 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol, 3-(methylthio)-1-propanol (methionol)の醸造中の変化

図 A5. Leucine, phenylalanine, isoleucine, valine, tyrosine, methionine の醸造中の変化

図 A6. 1-Butanol , glycerol の醸造中の変化

図 A7. 3-Methylbutyl acetate (isoamyl acetate), 2-methylbutyl acetate, n-propyl acetate の醸造中

の変化

図 A8. Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone), 5-ethyl-2(3H)-furanone の醸造中の変化

図 A9. Acetic acid, lactic acid, citric acid + isocitric acid の醸造中の変化

### 第 3 章に関わる付録

表 A7. 第 3 章のサンプルでアノテーションされた親水性低分子成分

表 A8. 第 3 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (酢酸エチル抽出)

表 A9. 第 3 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (スタティックヘッドスペースサンプリング)

表 A10. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた親水性低分子成分の各サンプルにおける相対強度

表 A11. 第 3 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (酢酸エチル抽出)の各サンプルにおける相対強度

表 A12. 第 3 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (スタティックヘッドスペースサンプリング)の各サンプルにおける相対強度

図 A10. GC/MS によって取得した成分プロファイルを用いた第 3 章の醤油サンプルの階層クラスタ分析の結果

図 A11. GC/MS に基づく成分データを用いた Control 醤油サンプルの PCA 結果.

図 A12. 2-Methyl-1-butanol (active amyl alcohol) , 2-methyl-1-propanol (isobutyl alcohol) , 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol, 3-(methylthio)-1-propanol (methionol)の醸造中の変化

図 A13. Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-butyrolactone), 5-ethyl-2(3H)-furanone の醸造中の変化

図 A14. 3-Methylbutyl acetate (isoamyl acetate), 2-methylbutyl acetate, n-propyl acetate の醸造中の変化

図 A15. 3-methyl-1-butanol (isoamyl alcohol), 2-methyl-1-butanol (active amyl alcohol), 1-propanol の醸造中の変化

図 A16. mono-Ethyl succinate, ethyl hexadecanoate (ethyl palmitate), ethyl propionate の醸造中の変化

- ☒ A17. Ethyl benzoate, ethyl 2-methylpropanoate, (ethyl isobutyrate), ethyl hexanoate (ethyl caproate), ethyl butanoate の醸造中の変化
- ☒ A18. Benzoic acid, 2-methylpropanoic acid (isobutyric acid), hexanoic acid, butanoic acid (butyric acid)の醸造中の変化
- ☒ A19. 3-(Methylthio)-1-propanal (methional)の醸造中の変化

資料 A1. しょうゆの農林規格，農林水産省，2017 年 12 月現在

しょうゆの日本農林規格

全部改正 平成16年9月13日農林水産省告示第1703号  
 改 正 平成21年8月31日農林水産省告示第1218号  
 改 正 平成26年8月29日農林水産省告示第1140号  
 改 正 平成27年5月28日農林水産省告示第1387号  
 最終改正 平成27年12月3日農林水産省告示第2596号

(適用の範囲)

第1条 この規格は、しょうゆのうち、こいくちしょうゆ、うすくちしょうゆ、たまりしょうゆ、さいしこみしょうゆ及びしろしょうゆに適用する。

(定義)

第2条 この規格において、次の表の左欄に掲げる用語の定義は、それぞれ同表の右欄に掲げるとおりとする。

用 語	定 義
し ょ う ゆ	次に掲げるもの（これらに砂糖類（砂糖、糖蜜及び糖類をいう。以下同じ。） 、アルコール等を補助的に加えたものを含む。）をいう。 1 大豆（脱脂加工大豆を含む。以下同じ。）若しくは大豆及び麦、米等の穀類（これに小麦グルテンを加えたものを含む。）を蒸煮その他の方法で処理して、こうじ菌を培養したもの（以下「しょうゆこうじ」という。）又はしょうゆこうじに米を蒸し、若しくは膨化したもの若しくはこれをこうじ菌により糖化したものを加えたものに食塩水又は生揚げを加えたもの（以下「もろみ」という。）を発酵させ、及び熟成させて得られた清澄な液体調味料（製造工程においてセルラーゼ等の酵素（たん白質分解酵素にあつては、しろしょうゆのたん白質を主成分とする物質による混濁を防止する目的で生揚げの加熱処理時に使用されるものに限る。）を補助的に使用したものを含む。以下「本醸造方式によるもの」という。） 2 もろみにアミノ酸液（大豆等の植物性たん白質を酸により処理したものをいう。以下同じ。）、酵素分解調味液（大豆等の植物性たん白質をたん白質分解酵素により処理したものをいう。以下同じ。）又は発酵分解調味液（小麦グルテンを発酵させ、分解したものをいう。以下同じ。）を加えて発酵させ、及び熟成させて得られた清澄な液体調味料（以下「混合醸造方式によるもの」という。） 3 1、2若しくは生揚げ又はこのうち2つ以上を混合したものにアミノ酸液、酵素分解調味液若しくは発酵分解調味液又はこのうち2つ以上を混合したものを加えたもの（以下「混合方式によるもの」という。）
こいくちしょうゆ	しょうゆのうち、大豆にほぼ等量の麦を加えたもの又はこれに米等の穀類を加えたものをしょうゆこうじの原料とするものをいう。
うすくちしょうゆ	しょうゆのうち、大豆にほぼ等量の麦を加えたもの又はこれに米等の穀類若しくは小麦グルテンを加えたものをしょうゆこうじの原料とし、かつ、もろみは米を蒸し、若しくは膨化したもの又はこれをこうじ菌により糖化したものを加えたもの又は加えないものを使用するもので、製造工程において色沢の濃化を抑制したものをいう。
たまりしょうゆ	しょうゆのうち、大豆若しくは大豆に少量の麦を加えたもの又はこれに米等の穀類を加えたものをしょうゆこうじの原料とするものをいう。
さいしこみしょうゆ	しょうゆのうち、大豆にほぼ等量の麦を加えたもの又はこれに米等の穀類を加えたものをしょうゆこうじの原料とし、かつ、もろみは食塩水の代わりに生揚げを加えたものを使用するものをいう。
しろしょうゆ	しょうゆのうち、少量の大豆に麦を加えたもの又はこれに小麦グルテンを加え

	たものをしょうゆこうじの原料とし、かつ、製造工程において色沢の濃化を強く抑制したものをいう。
生 揚 げ	発酵させ、及び熟成させたもろみを圧搾して得られた状態のままの液体をいう。
アミノ酸液等の使用割合	原料として使用したアミノ酸液、酵素分解調味液及び発酵分解調味液の全窒素の製品の全窒素に対する割合をいう。

(こいくちしょうゆの規格)

第3条 こいくちしょうゆの規格は、次のとおりとする。

区 分	基 準		
	特 級	上 級	標 準
製 造 方 式	本醸造方式によるものであること。	—	—
性 状	よく発酵、熟成した醸造こいくちしょうゆの特徴である独特の透明感のある鮮やかな赤橙色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが優良であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。	よく発酵、熟成した醸造こいくちしょうゆの特徴である独特の透明感のある鮮やかな赤橙色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが良好であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。	こいくちしょうゆ独特の透明感のある鮮やかな赤橙色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが良好であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。
色 度	しょうゆの標準色18番（日本工業規格Z 8781-4（2013）（以下「JIS Z 8781-4」という。）の物体色の表示方法によるL*（明度指数）=30.0、a* =46.1、b* =51.6とする。以下同じ。）未満であること。ただし、火入れを行わず、火入れの殺菌処理と同等な処理を行ったものにあつては、しょうゆの標準色22番（JIS Z 8781-4の物体色の表示方法によるL*（明度指数）=36.7、a* =45.6、b* =62.9とする。以下同じ。）未満であること。	同左	しょうゆの標準色18番未満であること。
全 窒 素 分	1.50%（容重）以上であること。	1.35%（容重）以上であること。	1.20%（容重）以上であること。
無塩可溶性固形分	16%（容重）以上であること。	14%（容重）以上であること。	—
原 材 料	次に掲げるもの以外のものを使用していないこと。 1 大豆 2 小麦、大麦及び裸麦 3 米 4 はと麦 5 小麦グルテン		

	6 食塩 7 アミノ酸液、酵素分解調味液及び発酵分解調味液 8 砂糖類 9 アルコール、焼酎及び清酒 10 米発酵調味料、醸造酢、みりん及びみりん風調味料
添 加 物	1 国際連合食糧農業機関及び世界保健機関合同の食品規格委員会が定めた食品添加物に関する一般規格（CODEX STAN 192-1995, Rev. 7-2006）3.2の規定に適合するものであって、かつ、その使用条件は同規格3.3の規定に適合していること。 2 使用量が正確に記録され、かつ、その記録が保管されているものであること。 3 1の規定に適合している旨の情報が、一般消費者に次のいずれかの方法により伝達されるものであること。ただし、業務用の製品に使用する場合には、この限りでない。 (1) インターネットを利用し公衆の閲覧に供する方法 (2) 冊子、リーフレットその他の一般消費者の目につきやすいものに表示する方法 (3) 店舗内の一般消費者の目につきやすい場所に表示する方法 (4) 製品に問合せ窓口を明記の上、一般消費者からの求めに応じて当該一般消費者に伝達する方法
内 容 量	表示容積に適合していること。

(うすくちしょうゆの規格)

第4条 うすくちしょうゆの規格は、次のとおりとする。

区 分	基 準		
	特 級	上 級	標 準
製 造 方 式	前条の規格の製造方式と同じ。	—	—
性 状	よく発酵、熟成した醸造うすくちしょうゆの特徴である独特の黄色みを含んだ淡い赤橙色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが優良であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。	よく発酵、熟成した醸造うすくちしょうゆの特徴である独特の黄色みを含んだ淡い赤橙色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが良好であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。	うすくちしょうゆ独特の黄色みを含んだ淡い赤橙色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが良好であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。
色 度	しょうゆの標準色22番以上であること。	同左	しょうゆの標準色18番以上であること。
全 窒 素 分	1.15%（容重）以上であること。	1.05%（容重）以上であること。	0.95%（容重）以上であること。
無塩可溶性固形分	14%（容重）以上であること。	12%（容重）以上であること。	—
原 材 料	前条の規格の原材料と同じ。		
添 加 物	前条の規格の添加物と同じ。		
内 容 量	前条の規格の内容量と同じ。		

(たまりしょうゆの規格)

第5条 たまりしょうゆの規格は、次のとおりとする。

区 分	基 準
-----	-----

	特 級	上 級	標 準
製 造 方 式	第3条の規格の製造方式と同じ。	—	—
性 状	よく発酵、熟成した醸造たまりしょうゆの特徴である独特の赤褐色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが優良であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。	よく発酵、熟成した醸造たまりしょうゆの特徴である独特の赤褐色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが良好であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと	たまりしょうゆ独特の赤褐色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが良好であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。
色 度	しょうゆの標準色18番未満であること。		
全 窒 素 分	1.60%（容重）以上であること。	1.40%（容重）以上であること。	1.20%（容重）以上であること。
無塩可溶性固形分	16%（容重）以上であること。	13%（容重）以上であること。	—
原 材 料	第3条の規格の原材料と同じ。		
添 加 物	第3条の規格の添加物と同じ。		
内 容 量	第3条の規格の内容量と同じ。		

（さいしこみしょうゆの規格）

第6条 さいしこみしょうゆの規格は、次のとおりとする。

区 分	基 準		
	特 級	上 級	標 準
製 造 方 式	本醸造方式によるもの又は混合醸造方式によるものであること	—	—
性 状	よく発酵、熟成した醸造さいしこみしょうゆの特徴である独特の赤褐色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが優良であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。	よく発酵、熟成した醸造さいしこみしょうゆの特徴である独特の赤褐色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが良好であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。	さいしこみしょうゆ独特の赤褐色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが良好であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。
色 度	しょうゆの標準色18番未満であること。		
全 窒 素 分	1.65%（容重）以上であること。ただし、混合醸造方式によるものにあつては2.00%（容重）以上であること。	1.50%（容重）以上であること。	1.40%（容重）以上であること。
アミノ酸液等の使用割合（混合醸造方式によるものに限る。）	20%以下であること。	—	—
無塩可溶性固形分	21%（容重）以上であること。	18%（容重）以上であること。	—
原 材 料	第3条の規格の原材料と同じ。		
添 加 物	第3条の規格の添加物と同じ。		
内 容 量	第3条の規格の内容量と同じ。		

(しろしょうゆの規格)

第7条 しろしょうゆの規格は、次のとおりとする。

区 分	基 準		
	特 級	上 級	標 準
製 造 方 式	第3条の規格の製造方式と同じ。	—	—
性 状	よく発酵、熟成した醸造しろしょうゆの特徴である独特の淡い琥珀色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが優良であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。	よく発酵、熟成した醸造しろしょうゆの特徴である独特の淡い琥珀色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが良好であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。	しろしょうゆ独特の淡い琥珀色を呈し、特有の香りと円熟した塩味及び旨みを有しており、その全てが良好であり、かつ、異味異臭及びかびがないこと。
色 度	しょうゆの標準色46番 (JIS Z 8781-4の物体色の表示方法によるL* (明度指数) =76.7、a*=12.5、b*=81.9とする。) 以上であること。		
全 窒 素 分	0.40% (容重) 以上0.80% (容重) 未満であること。	0.40% (容重) 以上0.90% (容重) 未満であること。	同左
無塩可溶性固形分	16% (容重) 以上であること。ただし、添加した砂糖類を含まないものであること。	13% (容重) 以上であること。	10% (容重) 以上であること。
直 接 還 元 糖	12% (容重) 以上であること。	9% (容重) 以上であること。	6% (容重) 以上であること。
原 材 料	次に掲げるもの以外のものを使用していないこと。 1 大豆 2 小麦、大麦及び裸麦 3 小麦グルテン 4 食塩 5 アミノ酸液、酵素分解調味液及び発酵分解調味液 6 砂糖類 7 アルコール、焼酎及び清酒 8 米発酵調味料、醸造酢、みりん及びみりん風調味料		
添 加 物	第3条の規格の添加物と同じ。		
内 容 量	第3条の規格の内容量と同じ。		

(測定方法)

第8条 第3条から前条までの規格における色度、全窒素分及び無塩可溶性固形分並びに前条の規格における直接還元糖の測定方法は、次のとおりとする。

事 項	測 定 方 法
色 度	試料を口径10mmの試験管にとり、しょうゆの標準色と比色する。
全 窒 素 分	ケルダール法又は燃焼法により測定する。 1 ケルダール法 (1) 測定の手順 ア 試料の分解 イ 出力可変式分解台 (ケルダールフラスコを熱せられるもので、ケルダールフラスコに沸騰石3～5個と水50mlを入れ、10分間最大出力に保った熱源に乗せたとき、5分以内に沸騰させる能力を有するもの。



以下同じ。)を用いる場合

試料 1 ml を 50~300ml 容ケルダールフラスコに入れ、分解促進剤 (硫酸カリウムと硫酸銅 (II) 五水和物を 9 : 1 の割合で混合したもの。以下同じ。) 5 g 及び硫酸約 8 ml を加える。出力可変式分解台で泡立ちが穏やかになるまで弱く加熱し、その後出力を最大にする。分解液が清澄になった後、さらに約 90 分間加熱を続ける。全加熱時間は 2 時間以上とする。分解終了後、室温まで放冷し、以降の蒸留に用いる装置の最適な処理容量に応じて水 20~50ml を加え、必要に応じて弱く加熱して分解物を溶解する。空試験については、試料を入れずに同様の操作を行う。

- (i) 加熱ブロック分解装置 (420°C において分解チューブに入れた 50ml の水を 2 分 30 秒以内に沸騰させる能力を有するもの。以下同じ。) を用いる場合

試料 1 ml を 250~300ml 容分解チューブに入れ、分解促進剤 5 g 及び硫酸約 8 ml を加える。200°C に設定した加熱ブロック分解装置で泡立ちが穏やかになるまで加熱し、その後 420°C にする。分解液が清澄になった後、さらに約 90 分間加熱を続ける。分解終了後、室温まで放冷し、以降の蒸留に用いる装置の最適な処理容量に応じて水 20~50ml を加え、必要に応じて弱く加熱して分解物を溶解する。空試験については、試料を入れずに同様の操作を行う。

#### イ 蒸留

- (7) 塩入・奥田式蒸留装置を用いる場合

蒸留液捕集容器 (以下「捕集容器」という。) にほう酸溶液 (ほう酸を水で加温溶解し、1,000ml 中に 10~40 g のほう酸を含むよう調製したもの。以下同じ。) 25~30ml を入れ、プロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合指示薬 (95% エタノール 200ml 中にプロモクレゾールグリーン 0.15 g 及びメチルレッド 0.10 g を含むよう調製したもの。以下同じ。) を 2~3 滴加え、これを留液流出口が液中に浸るように置く。分解液の入ったケルダールフラスコを蒸留装置に接続し、16 g 以上の水酸化ナトリウムを含むよう 25~45% 水酸化ナトリウム溶液を加え分解液をアルカリ性にし、留液が 100ml 以上得られるまで蒸留する。留液流出口を液面から離し、少量の水で先端を洗い込む。

- (i) パルナス・ワグナー型蒸留装置を用い、分解液の全部を蒸留する場合

捕集容器にほう酸溶液 25~30ml を入れ、プロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合指示薬を 2~3 滴加え、これを留液流出口が液中に浸るように置く。分解液を蒸留管に水で 3 回洗い込む。洗い込む水量は、蒸留管容量に応じて 30ml 以上とする。16 g 以上の水酸化ナトリウムを含むよう 25~45% 水酸化ナトリウム溶液を加え分解液をアルカリ性にし、留液が 100ml 以上得られるまで蒸留する。留液流出口を液面から離し、少量の水で先端を洗い込む。

- (ii) パルナス・ワグナー型蒸留装置を用い、分解液の一部を蒸留する場合

分解液を 100ml 容全量フラスコに水で洗い込み、定容としたものを供試液とする。捕集容器にほう酸溶液 25~30ml を入れ、プロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合指示薬を 2~3 滴加え、これを留液流出口が液中に浸るように置く。供試液 25ml を全量ピペットで蒸留管に入れ、4 g 以上の水酸化ナトリウムを含むよう 25~45% 水酸化ナトリウム溶液を加え供試液をアルカリ性にし、留液が 100ml 以上得られるまで蒸留する。留液流出口を液面から離し、少量の水で先端を洗い

込む。

- (ε) 自動蒸留装置（ケルダール法の水蒸気蒸留を自動で迅速に行う装置をいい、自動蒸留装置と自動滴定装置（滴定の終点の判定を自動で行う装置で、20ml以上のビュレット容量を有するもの。以下同じ。）を組み合わせた装置を含む。以下同じ。）を用いる場合

捕集容器にほう酸溶液25～30mlを入れ、プロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合指示薬を2～3滴加え、これを留液流出口が液中に浸るように置く。分解液に水30ml及び16g以上の水酸化ナトリウムを含むよう25～45%水酸化ナトリウム溶液を加え分解液をアルカリ性にし、自動蒸留装置の操作方法に従い留液が100ml以上得られるまで蒸留する。留液流出口を液面から離し、少量の水で先端を洗い込む。自動蒸留装置と自動滴定装置を組み合わせた装置では、装置に適した方法で蒸留及び滴定する。

ウ 滴定

- (7) 手動滴定（滴定の終点を指示薬の変色により目視で判定する方法）

パルナス・ワグナー型蒸留装置を用い、分解液の一部を蒸留して得られた留液にあつては0.025mol/L硫酸で、それ以外の分解液の全部を蒸留して得られた留液にあつては0.05mol/L硫酸で、25ml容ビュレットを用いて滴定する。液が緑色、汚無色を経て微灰赤色を呈したところを終点とする。滴定値は0.01mlまで記録する。空試験で得られた留液についても同様に滴定する。

- (4) 自動滴定（滴定の終点の判定を自動で行う方法）

自動滴定装置の操作方法に従い滴定する。空試験で得られた留液についても同様に滴定する。

(2) 計算

ア 分解液の全部を蒸留し、滴定した場合

$$\text{全窒素分 (w/v \%)} = (T - B) \times F \times M \times A \times 2 / (1,000 \times V) \times 100$$

イ 分解液の一部を蒸留し、滴定した場合

$$\text{全窒素分 (w/v \%)} = (T - B) \times F \times M \times A \times 2 / (1,000 \times V) \times (100/25) \times 100$$

T：試料溶液の滴定に要した滴定液の体積 (ml)

B：空試験の滴定に要した滴定液の体積 (ml)

F：滴定液のファクター

M：窒素の原子量 14.007

A：滴定に用いた硫酸の濃度 (mol/L)

V：試料採取量 (ml)

注1：試験に用いる水は、日本工業規格K 0557 (1998)（以下「JIS K 0557」という。）に規定するA 2又は同等以上のものとする。

注2：試料の採取に用いる体積計は、ピストンを備えた空気置換式若しくは直接置換式のもののうち、日本工業規格K 0970 (2013)（以下「JIS K 0970」という。）に従い、1mlの設定容量において、系統誤差及び偶然誤差を求め、それぞれ±1.0%以内、0.3%以下であるもの。当該体積計が利用できない場合は、試料の密度を日本工業規格K 0061 (2001)（以下「JIS K 0061」という。）に従い測定し、試料約1.0～1.3gを0.1mgの単位まで正確に量りとることにより、試料採取量 (ml) を算出する。なお、空気置換式体積計を試料の採取に用いる場合は、リバースピペット法（ブローアウトを含めた2段階で液体を排出するピペットにおいて、ブローアウト分まで試料溶液を吸引し、1段階目までの排出により、ブローアウト分の試料溶液をチップ内に残し、設定体積を採取する方法

)による。

注3：試験に用いる試薬は、日本工業規格の特級等の規格に適合するものとする。

注4：加熱ブロック分解装置において、発生する硫酸ミストに対応する排気マニホールド等を備え、安全な分析環境が確保できる場合は、硫酸添加後、30%過酸化水素約1mlを加えることにより、420°Cから分解を開始することができる。発泡等により分解液の漏出のおそれがある場合は、加熱を中止し、発泡が収まるまで放冷した後、再び加熱を開始する。

注5：試験に用いるガラス製体積計は、日本工業規格R 3505 (1994) (以下「JIS R 3505」という。)に規定するクラスA又は同等以上のものとする。

注6：空試験の滴定で1滴で明らかに終点を越える色を呈したときは、空試験の滴定値を0mlとする。

## 2 燃焼法

(1) 燃焼法全窒素測定装置として、次のアからオまでの能力を有するものを用いる。

ア 酸素(純度99.9%以上)中で試料を熱分解するため、最低870°C以上の操作温度を保持できる燃焼炉(しょうゆ専用装置の場合は、酸素ヘリウム混合ガス中で最低680°C以上の操作温度を保持できる燃焼炉)を持つこと。

イ 熱伝導度検出器による窒素(N<sub>2</sub>)の測定のため、遊離した窒素(N<sub>2</sub>)を他の燃焼生成物から分離することができる構造を持つこと。

ウ 窒素酸化物(NO<sub>x</sub>)を窒素(N<sub>2</sub>)に変換する機構を持つこと。

エ ニコチン酸(純度99%以上のもの)又はリシン塩酸塩(純度99%以上のもの)を用いて10回繰り返し測定したときの窒素分の平均値が理論値±0.15%であり、相対標準偏差がニコチン酸の場合は1.3%、リシン塩酸塩の場合は0.98%以下であること。

オ 塩分濃度が20%程度の試料の測定が可能ないように塩分に対する対策がとられていること。

(2) 測定の手順

ア 各装置の操作方法に従って検量線作成用標準品(エチレンジアミン四酢酸(EDTA)(純度99%以上で窒素率が記載されたもの)、DL-アスパラギン酸(純度99%以上で窒素率が記載されたもの)又は他の同純度の標準品(2の(1)のエにおいて用いたものを除く。))を用いる。)を0.1mg以下の単位まで正確に量りとり、各装置に適した方法で測定し、検量線を作成する。

イ 各装置の操作方法に従って試料を100mg以上採取する場合は0.1mgの単位、試料を100mg未満、40mg以上採取する場合は0.01mgの単位まで正確に量りとり、各装置に適した方法で測定する。

ウ 試料の密度をJIS K 0061に従い測定する。

(3) 計算

検量線から試料の全窒素分(w/w%)を算出し、次式を用いて全窒素分(w/v%)を求める。

全窒素分(w/v%) = 試料の全窒素分(w/w%) × 密度(g/ml)

注：試料の採取方法は、正確に設定容量を量りとることができる体積計(ピストンを備え、空気層容量が設定容量の25%以下の空気置換式又は直接置換式のもののうち、JIS K 0970に従い、設定容量において系統誤差及び偶然誤差を求め、それぞれ±1.0%以内、0.3%以下であるもの。)を使用する方法に代えることができる。この場合、全窒素分(w/v%)は、検量線から得られた窒素量を設定容量で除することにより求める。

無塩可溶性固形分

1 可溶性固形分の測定

試料及び糖用屈折計を20℃に保った時の示度を読み取り、その値をパーセントで表す。

2 食塩分の測定

電位差滴定法又はモール法により測定する。

(1) 試料溶液の調製

試料5mlを全量ピペットを用いて250ml容全量フラスコに量りとり、水を加えて定容としたものを試料溶液とする。

(2) 滴定

ア 電位差滴定法

試料溶液10mlを全量ピペットを用いて100～200ml容ビーカーにとり、電極が浸る高さまで水を加えた後、硝酸(1+1)(水に等容量の硝酸を加えたもの)1ml及びツィーン20溶液(ツィーン20を1～2g量りとり、メスシリンダーで水100mlを加えて混合したもの。以下同じ。)1mlを加え、これを電位差滴定装置に装着する。かき混ぜながら0.05mol/L又は0.1mol/L硝酸銀溶液で滴定し、滴定装置の操作に従い終点を検出する。空試験については、試料溶液の代わりに水を用いて同様に滴定する。この場合において、終点が検出されないとき又は滴定に要した硝酸銀溶液の体積が0.01ml未満のときは、その滴定値は0mlとする。

イ モール法

試料溶液5mlを全量ピペットを用いて磁製蒸発皿又は三角フラスコにとり、指示薬として2%クロム酸カリウム溶液を1ml加え、0.02mol/L硝酸銀溶液で褐色ビュレットを用いて滴定する。液の色が微橙色になる点を終点とする。空試験については、試料溶液の代わりに水5mlを用いて同様に滴定する。この場合において、1滴で明らかに終点を越える色を呈したときは、その滴定値は0mlとする。

(3) 計算

ア 電位差滴定法

$$\text{食塩分 (\%)} = \left\{ \frac{(T - B)}{1000} \right\} \times A \times F \times M \times \left( \frac{250}{10} \right) \times \left( \frac{1}{V} \right) \times 100$$

イ モール法

$$\text{食塩分 (\%)} = \left\{ \frac{(T - B)}{1000} \right\} \times A \times F \times M \times \left( \frac{250}{5} \right) \times \left( \frac{1}{V} \right) \times 100 \times C$$

T: 試料溶液の滴定に要した硝酸銀溶液の体積 (ml)

B: 空試験の滴定に要した硝酸銀溶液の体積 (ml)

A: 滴定に用いた硝酸銀溶液の濃度 (mol/L)

F: 硝酸銀溶液のファクター

M: 58.44 (塩化ナトリウムの式量)

V: 試料採取量 (ml)

C: 補正係数 (しろしょうゆ: 1.00、うすくちしょうゆ: 0.99、こいくちしょうゆ: 0.98、たまりしょうゆ及びさいしこみしょうゆ: 0.97)

注1: 試験に用いる水は、JIS K 0557に規定するA2又は同等以上のものとする。

注2: 試験に用いる試薬は、日本工業規格の特級等の規格に適合するものとする。

注3: 試験に用いるガラス製体積計は、JIS R 3505に規定するクラスA又は同等以上のものとする。

注4: 試料溶液は、正確に一定容量を量ることができる装置を使用して試料を採取し、これを水で希釈したものに代えることができる。この場合にお

	<p>いて、(3)の計算式中「<math>\times (250/10)</math>」又は「<math>\times (250/5)</math>」を削る。</p> <p>注5：電位差滴定装置は、20ml以上のビュレット容量を持つものとする。この場合において、電極については、塩化物測定に適した指示電極（銀電極等）及び参照電極、又はこれらの複合型電極を用いるものとする。</p> <p>注6：電位差滴定装置の終点判別を正確に行うことができる場合においては、硝酸銀溶液の濃度を変更することができる。</p> <p>注7：ツィーン20溶液の代わりに、電位差滴定装置に適したアニオン界面活性剤を含む溶液を使用することができる。</p> <p>注8：褐色ビュレットは、25ml以上のビュレット容量を持つものとする。</p> <p>3 無塩可溶性固形分の算出</p> <p>無塩可溶性固形分 (%) = 可溶性固形分 (%) - 食塩分 (%)</p>
直接還元糖	<p>試料10mlを20～25倍に希釈し、その希釈液5～20mlをとり、これにフェーリング液20ml及び水を加えて全量を50mlとし、正確に2分間煮沸した後急冷し、25%硫酸10mlとよう化カリウム3gを加え、1%でん粉液を指示薬として0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム液で滴定し、別に試料を加えないブランク試験を行って両滴定値の差を直接還元糖とする。</p>

改正の改正文・附則（平成26年8月29日農林水産省告示第1140号）抄  
平成26年9月28日から施行する。

附 則

- 1 この告示の施行の際現にこの告示による改正前のしょうゆの日本農林規格により格付の表示が付されたしょうゆについては、なお従前の例による。
- 2 この告示による改正後の第3条から第5条までの表食品添加物の項の規定の適用については、同項の規定にかかわらず、平成28年3月27日までの間は、なお従前の例によることができる。

改正の改正文（平成27年5月28日農林水産省告示第1387号）抄  
公布の日から施行する。

最終改正の改正文・附則（平成27年12月3日農林水産省告示第2596号）抄  
平成28年1月2日から施行する。

附 則

この告示の施行の際現にこの告示による改正前のしょうゆの日本農林規格により格付の表示が付されたしょうゆについては、なお従前の例による。

資料 A2. しょうゆ品質表示規準，農林水産省，2017 年 12 月現在

しょうゆ品質表示基準

制 定 平成16年 9 月13日農林水産省告示第1704号  
 改 正 平成21年 3 月26日農林水産省告示第 424号  
 最終改正 平成21年 8 月31日農林水産省告示第1219号

(趣旨)

第1条 しょうゆ（容器に入れ、又は包装されたものに限る。）の品質に関する表示については、加工食品品質表示基準（平成12年 3 月31日農林水産省告示第 513号）に定めるもののほか、この基準の定めるところによる。

(定義)

第2条 この基準において、次の表の左欄に掲げる用語の定義は、それぞれ同表の右欄に掲げるとおりとする。

用 語	定 義
しょうゆ	次に掲げるもの（これらに砂糖類（砂糖、糖みつ及び糖類をいう。）、アルコール等を補助的に加えたものを含む。）をいう。 1 大豆（脱脂加工大豆を含む。以下この条において同じ。）若しくは大豆及び麦、米等の穀類（これに小麦グルテンを加えたものを含む。）を蒸煮その他の方法で処理して、こうじ菌を培養したもの（以下「しょうゆこうじ」という。）又はしょうゆこうじに米を蒸し、若しくは膨化したもの若しくはこれをこうじ菌により糖化したものに加えたものに食塩水又は生揚げを加えたもの（以下「もろみ」という。）を発酵させ、及び熟成させて得られた清澄な液体調味料（製造工程においてセルラーゼ等の酵素（たん白質分解酵素にあつては、しろしょうゆのたん白質を主成分とする物質による混濁を防止する目的で生揚げの加熱処理時に使用されるものに限る。）を補助的に使用したものを含む。以下「本醸造方式によるもの」という。） 2 もろみにアミノ酸液（大豆等の植物性たん白質を酸により処理したものをいう。以下同じ。）、酵素分解調味液（大豆等の植物性たん白質をたん白質分解酵素により処理したものをいう。以下同じ。）又は発酵分解調味液（小麦グルテンを発酵させ、分解したものをいう。以下同じ。）を加えて発酵させ、及び熟成させて得られた清澄な液体調味料（以下「混合醸造方式によるもの」という。） 3 1、2若しくは生揚げ又はこのうち2つ以上を混合したものにアミノ酸液、酵素分解調味液若しくは発酵分解調味液又はこのうち2つ以上を混合したものを加えたもの（以下「混合方式によるもの」という。）
こいくちしょうゆ	しょうゆのうち、大豆にほぼ等量の麦を加えたもの又はこれに米等の穀類を加えたものをしょうゆこうじの原料とするものをいう。
うすくちしょうゆ	しょうゆのうち、大豆にほぼ等量の麦を加えたもの又はこれに米等の穀類若しくは小麦グルテンを加えたものをしょうゆこうじの原料とし、かつ、もろみは米を蒸し、若しくは膨化したもの又はこれをこうじ菌により糖化したものに加えたもの又は加えないものを使用するもので、製造工程において色沢の濃化を抑制したものをいう。
たまりしょうゆ	しょうゆのうち、大豆若しくは大豆に少量の麦を加えたもの又はこれに米等の穀類を加えたものをしょうゆこうじの原料とするものをいう。
さいしこみしょうゆ	しょうゆのうち、大豆にほぼ等量の麦を加えたもの又はこれに米等の穀類を加えたものをしょうゆこうじの原料とし、かつ、もろみは食塩水の代わりに生揚げを加えたものを使用するものをいう。
しろしょうゆ	しょうゆのうち、少量の大豆に麦を加えたもの又はこれに小麦グルテンを加えたものをしょうゆこうじの原料とし、かつ、製造工程において色沢の濃化を強く抑制したものをいう。
生 揚 げ	発酵させ、及び熟成させたもろみを圧搾して得られた状態のままの液体をいう。

(表示の方法)

第3条 名称及び原材料名の表示に際しては、製造業者等（加工食品品質表示基準第3条第1項に規定する製造業者等をいう。）は、次の各号に規定するところによらなければならない。

(1) 名称

加工食品品質表示基準第4条第1項第1号本文の規定にかかわらず、次に定めるところにより記載すること。

ア こいくちしょうゆであって、本醸造方式によるものは「こいくちしょうゆ（本醸造）」と、混合醸造方式によるものは「こいくちしょうゆ（混合醸造）」と、混合方式によるものは「こいくちしょうゆ（混合）」と記載すること。

イ うすくちしょうゆであって、本醸造方式によるものは「うすくちしょうゆ（本醸造）」と、混合醸造方式によるものは「うすくちしょうゆ（混合醸造）」と、混合方式によるものは「うすくちしょうゆ（混合）」と記載すること。

ウ たまりしょうゆであって、本醸造方式によるものは「たまりしょうゆ（本醸造）」と、混合醸造方式によるものは「たまりしょうゆ（混合醸造）」と、混合方式によるものは「たまりしょうゆ（混合）」と記載すること。

エ さいしこみしょうゆであって、本醸造方式によるものは「さいしこみしょうゆ（本醸造）」と、混合醸造方式によるものは「さいしこみしょうゆ（混合醸造）」と、混合方式によるものは「さいしこみしょうゆ（混合）」と記載すること。

オ しろしょうゆであって、本醸造方式によるものは「しろしょうゆ（本醸造）」と、混合醸造方式によるものは「しろしょうゆ（混合醸造）」と、混合方式によるものは「しろしょうゆ（混合）」と記載すること。

カ アからオまでに規定するもの以外のしょうゆであって、本醸造方式によるものは「しょうゆ（本醸造）」と、混合醸造方式によるものは「しょうゆ（混合醸造）」と、混合方式によるものは「しょうゆ（混合）」と記載すること。

(2) 原材料名

大豆にあつては「大豆」又は「脱脂加工大豆」の別に記載し、アミノ酸液にあつては「アミノ酸液」と、酵素分解調味液にあつては「酵素分解調味液」と、発酵分解調味液にあつては「発酵分解調味液」と記載すること。

(表示禁止事項)

第4条 加工食品品質表示基準第6条各号に掲げるもののほか、次に掲げる事項は、これを表示してはならない。ただし、(1)に掲げる事項についてはしょうゆの日本農林規格（平成16年9月13日農林水産省告示第1703号。以下「農林規格」という。）第3条から第7条までに規定する規格による格付が行われたものに表示する場合、(2)及び(3)に掲げる事項については農林規格第3条から第7条までに規定する規格による格付が行われたものであって別表1の区分に該当するしょうゆに対し、それぞれ同表に規定する用語を表示する場合、(8)に掲げる事項については別表2の区分に該当するしょうゆに対し、それぞれ同表に規定する用語を表示する場合、(9)に掲げる事項（品評会等で受賞したものであるかのように誤認させる用語に限る。）については品評会等で受賞したものと同一仕様によって製造された製品であつて受賞年を併記してあるものに表示する場合は、この限りでない。

(1) 「特級」、「上級」又は「標準」の用語

(2) 「超特選」、「特選」、「特製」、「特吟」、「上選」、「吟上」、「優選」又は「優良」その他前号に掲げる等級を示す用語と紛らわしい用語

(3) 「濃厚」の用語

(4) 混合方式によるものについての「醸」の用語（原材料名の表示に使用する場合を除く。）

(5) 「天然」又は「自然」の用語（本醸造方式によるものであって、セルラーゼ等の酵素によって醸造を促進したものでなく、かつ、食品衛生法施行規則（昭和23年厚生省令第23号。以下「規則」という。）別表第1に掲げる添加物を使用していないものについての「天然醸造」の用語を除く。）

(6) 「純」、「純正」その他純粹であることを示す用語（本醸造方式によるもの（セルラーゼ等の酵素によって醸造を促進したものを除く。）であつて、規則別表第1に掲げる添加物を使用しない

ものうち、品質の均一化を図る程度に添加した食塩、ぶどう糖又はアルコール以外のものを添加していないものについての「純」及び「純正」の用語を除く。）

(7) 「生」（「生引き」の用語を除く。以下同じ。）、「生」又は「生引き」の用語。ただし、次に掲げる用語を除く。

ア 食塩以外のものを添加していないものについての「生」の用語

イ 火入れを行わず、火入れの殺菌処理と同等な処理を行ったものについての「生」の用語

ウ たまりしょうゆの本醸造方式によるものについての「生引き」の用語

(8) 「うす塩」、「あさ塩」、「あま塩」、「低塩」又は「減塩」その他食塩分が少ない旨を示す用語

(9) 品評会等で受賞したものであるかのように誤認させる用語及び官公庁が推奨しているかのように誤認させる用語

別表1

区 分	用 語
1 こいくちしょうゆ又はたまりしょうゆのうち、特級のものであって、全窒素分が特級の基準の数値に1.2を乗じて得た数値以上であるもの	「超特選」
2 うすくちしょうゆ又はしろしょうゆのうち、特級のものであり、かつ、砂糖類を添加していないものであって、無塩可溶性固形分が特級の基準の数値に1.2を乗じて得た数値以上であるもの	
3 さいしこみしょうゆの本醸造方式によるものうち、特級のものであって、全窒素分が特級の基準の数値に1.2を乗じて得た数値以上であるもの	
1 こいくちしょうゆ又はたまりしょうゆのうち、特級のものであって、全窒素分が特級の基準の数値に1.1を乗じて得た数値以上であるもの	「特選」
2 うすくちしょうゆ又はしろしょうゆのうち、特級のものであり、かつ、砂糖類を添加していないものであって、無塩可溶性固形分が特級の基準の数値に1.1を乗じて得た数値以上であるもの	
3 さいしこみしょうゆの本醸造方式によるものうち、特級のものであって、全窒素分が特級の基準の数値に1.1を乗じて得た数値以上であるもの	
特級のもの	「特製」、「特吟」その他これに類似するもの
上級のもの	「上選」、「吟上」、「優選」、「優良」その他これに類似するもの
こいくちしょうゆ、たまりしょうゆ又はさいしこみしょうゆのうち、全窒素分が特級の基準の数値に1.2を乗じて得た数値以上であるもの	「濃厚」

別表2

区 分	用 語
こいくちしょうゆ、うすくちしょうゆ、たまりしょうゆ、さいしこみしょうゆ、しろしょうゆ	「うす塩」、「あさ塩」、「あま塩」又は「低塩」



又はその他のしょうゆのうち、食塩分が通常の当該しょうゆの食塩分比べて80%以下のものであって、かつ、健康増進法（平成14年法律第103号）第31条第1項の規定に基づく表示を行ったもの	
しょうゆ100g中の食塩量が9g以下のものであって、かつ、健康増進法第31条第1項の規定に基づく表示を行ったもの	「減塩」

附 則

（施行期日）

- 1 この告示は、公布の日から起算して30日を経過した日から施行する。  
（経過措置）
- 2 この告示の施行の日以前に製造され、加工され、又は輸入されたしょうゆの品質に関する表示については、この告示による改正前のしょうゆ品質表示基準の規定の例によることができる。
- 3 この告示の施行の日から起算して1年6月を経過した日までに製造され、加工され、又は輸入されるしょうゆの品質に関する表示については、この告示による改正前のしょうゆ品質表示基準の規定の例によることができる。

附 則（平成21年3月26日農林水産省告示第424号）

平成22年3月31日以前に製造され、加工され、又は輸入されるしょうゆの品質に関する表示については、この告示による改正前のしょうゆ品質表示基準の規定の例によることができる。

附 則（平成21年8月31日農林水産省告示第1219号）

平成23年3月31日以前に製造され、加工され、又は輸入されるしょうゆの品質に関する表示については、この告示による改正前のしょうゆ品質表示基準の規定の例によることができる。

（最終改正の施行期日）

平成21年8月31日農林水産省告示第1219号については、平成21年9月30日から施行する。

表 A1. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた親水性低分子成分

Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative		Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative	
			<i>m/z</i>				<i>m/z</i>
Lactic acid	1049.85		131	Phenylalanine	1622.71		218
Alanine	1094.29		117	Xylose	1635.18		103
Valine	1207.05		144	Arabinose	1642.50		103
Phosphate	1260.96		299	Ribose	1657.55		103
Glycerol	1261.78		149	Xylitol	1684.43		217
Leucine	1262.77		159	Arabitol	1697.98		217
Isoleucine	1284.56		158	Glutamine	1762.21		156
Proline	1292.27		142	Citric acid + Isocitric acid	1800.19		147
Glycine	1298.33		174	Ornithine	1803.78		142
Succinic acid (or aldehyde)	1305.46		147	Fructose	1849.04		103
Serine	1348.19		204	Galactose	1869.64		147
Threonine	1373.55		117	Glucose	1875.14		320
Malic acid	1474.63		147	Mannitol	1907.58		147
<i>meso</i> -Erythritol	1489.68		147	Lysine	1908.08		174
Aspartic acid	1507.46		232	Histidine	1911.35		154
Methionine	1512.94		176	Tyrosine	1929.42		218
Pyroglutamic acid	1518.41		156	Inositol	2073.70		147
Glutamic acid	1606.80		246	Tryptophan	2212.76		202

a: *n*-alkanes C11 – C32 を用いて算出した Retention indices (RI)

表 A2. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (酢酸エチル抽出)

Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative <i>m/z</i>	Reliability <sup>b</sup>
1-Propanol		59	C
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)		74	A, C
1-Butanol		56	A
3-Methyl-1-butanol	1149.97	55	A, C
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	1227.20	88	A, B, C
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	1240.23	74	A, B, C
Ethyl lactate	1298.79	75	A, B, C
1-Hydroxy-2-butanone	1324.91	57	C
Acetic acid	1383.95	59	A, B, C
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	1409.20	57	A, B, C
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	1413.51	96	A, B, C
2,3-Butanediol	1486.80	57	A, B, C
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	1517.22	73	A, B, C
Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)	1555.36	56	A, C
Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)	1569.25	86	A, B, C
Butanoic acid (Butyric acid)	1574.49	60	A, B, C
Phenylacetaldehyde	1592.12	91	A, C
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	1602.27	98	A, B, C
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	1617.25	60	A, B, C
2-Methylbutanoic acid	1618.38	74	A, B, C
5-Ethyl-dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)	1646.87	85	A, B, C
3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone	1657.23	69	A, B, C
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	1661.51	106	A, B, C
2(5 <i>H</i> )-furanone	1687.97	55	A, C
2-Butenoic acid	1711.38	86	B, C
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	1765.36	112	A, B, C
2-Methyl-2-butenoic acid	1787.22	55	A, B, C
Hexanoic acid (Caproic acid)	1791.57	60	A, B, C
2-Phenylethyl alcohol	1852.67	91	A, B, C
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	1893.55	126	A, B, C
2-Acetylpyrrole	1903.58	94	A, B, C
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	1910.29	83	B, C
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy- 4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	1956.56	71	A, C
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	1960.30	128	A, B, C

Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative <i>m/z</i>	Reliability <sup>b</sup>
3,5-Dimethyl-4-heptanone	1992.01	57	C
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy- 2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	2018.41	71	A, B
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	2029.52	114	A, B
Caprolactam	2085.86	55	A, C
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	2104.73	135	A, B, C
3,5-Dihydroxy-6-methyl- 2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	2161.96	101	C
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	2166.28	154	A, C
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	2202.60	69	C
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	2214.11	56	C
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	2221.26	88	A, C
mono-Ethyl succinate	2272.30	101	A, C
Benzoic acid	2324.42	105	A, C
Phenylacetic acid	2440.35	91	C
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	2461.65	180	A, C
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	2818.48	73	C
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	2856.72	107	A, C
1,4-Benzenediol	2872.33	110	A, C
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	3177.31	81	C

a: *n*-alkanes C11 – C32 を用いて算出した Retention indices (RI)

b: ピークアノテーションの信頼度: A, マススペクトルと RI を, 標準品と確認 ; B, 他の文献と RI を確認 (Kaneko et al. 2013; Lee et al. 2013; LEE et al. 2006; Sun et al. 2010) ; C, NIST11 MS spectral library とマススペクトルを確認.

表 A3. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (スタティックヘッドスペースサンプリング)

Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative <i>m/z</i>	Reliability <sup>c</sup>
Acetaldehyde		44	A, B
Methanethiol		48	A, B
2-Propanone (Acetone)		43	A, B
2-Propanol		45	A, B
Furan		68	A, B
Ethyl formate	501.72	45	B
2-Methyl-2-propanol	510.20	59	A, B
Methyl acetate	512.43	43	A, B
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	535.67	43	A, B
2,3-Butanedione (Diacetyl)	562.23	43	A, B
2-Butanone	572.36	43	A, B
2-Methyl-furan	592.73	82	B
2-Ethoxy-2-methyl-propane	617.63	59	B
2-Butenal	624.46	39	A, B
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	634.48	44	A, B
3-Methyl-2-butanone	639.92	43	A, B
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	645.17	57	A, B
2-Pentanone	666.55	43	A, B
2,3-Pentanedione	671.32	43	A, B
Ethyl propionate	693.64	57	A, B
<i>n</i> -Propyl acetate	695.99	43	A, B
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	722.58	57	A, B
Dimethyl disulfide	730.63	94	A, B
Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	744.68	43	A, B
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	757.38	43	B
3,4-Hexanedione	775.64	57	A, B
Hexanal	778.87	43	A, B
Ethyl butanoate	782.75	71	B
Butyl acetate	793.96	43	A, B
Ethyl 2-methylbutanoate	835.74	57	A, B
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	837.28	88	A, B
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	858.39	43	A, B
2-Methylbutyl acetate	861.32	43	A, B
2,6-Dimethyl-pyrazine	890.79	108	A, B
( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	893.43	70	A, B
Benzaldehyde	942.12	106	A, B

Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative <i>m/z</i>	Reliability <sup>c</sup>
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	958.45	57	A, B
1-Octen-3-ol	964.02	57	B
3-Octanone	968.48	43	A, B
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	978.96	88	A, B
3-Octanol	981.38	59	A, B
2-Octenal	1038.39	41	B
Ethyl heptanoate	1078.22	88	A, B
Ethyl benzoate	1158.33	105	B
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	1177.38	88	A, B

a: *n*-alkanes C11 – C32 を用いて算出した Retention indices (RI)

b: ピークアノテーションの信頼度: A, マススペクトルと RI を, 標準品と確認; B, NIST11 MS spectral library とマススペクトルを確認.

表 A4. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた親水性低分子成分の各サンプルにおける  
相対強度

Constituent name	0week_Control	0week_LAB	0week_Yeast	0week_None
Lactic acid	0.029 ± 0.003	0.027 ± 0.002	0.025 ± 0.004	0.03 ± 0.001
Alanine	0.062 ± 0.001	0.056 ± 0.007	0.061 ± 0.004	0.058 ± 0.003
Valine	0.42 ± 0.028	0.399 ± 0.033	0.436 ± 0.022	0.418 ± 0.049
Phosphate	0.331 ± 0.009	0.329 ± 0.021	0.341 ± 0.031	0.303 ± 0.013
Glycerol	0.102 ± 0.008	0.122 ± 0.02	0.134 ± 0.029	0.139 ± 0.034
Leucine	0.079 ± 0.007	0.081 ± 0.006	0.089 ± 0.004	0.083 ± 0.012
Isoleucine	0.308 ± 0.025	0.307 ± 0.033	0.332 ± 0.014	0.317 ± 0.043
Proline	0.418 ± 0.028	0.369 ± 0.059	0.394 ± 0.016	0.398 ± 0.062
Glycine	0.408 ± 0.049	0.342 ± 0.024	0.384 ± 0.022	0.378 ± 0.027
Succinic acid (or aldehyde)	0.077 ± 0.012	0.058 ± 0.008	0.059 ± 0.012	0.056 ± 0.003
Serine	0.217 ± 0.026	0.207 ± 0.028	0.229 ± 0.017	0.227 ± 0.047
Threonine	0.084 ± 0.004	0.082 ± 0.007	0.09 ± 0.003	0.086 ± 0.012
Malic acid	0.145 ± 0.023	0.085 ± 0.016	0.101 ± 0.032	0.086 ± 0.018
<i>meso</i> -Erythritol	0.773 ± 0.117	0.635 ± 0.143	0.586 ± 0.146	0.548 ± 0.096
Aspartic acid	0.255 ± 0.018	0.224 ± 0.014	0.25 ± 0.009	0.221 ± 0.035
Methionine	0.039 ± 0.002	0.038 ± 0.005	0.04 ± 0.004	0.04 ± 0.005
Pyroglutamic acid	0.288 ± 0.056	0.256 ± 0.031	0.291 ± 0.084	0.256 ± 0.011
Glutamic acid	0.681 ± 0.06	0.62 ± 0.046	0.667 ± 0.041	0.651 ± 0.073
Phenylalanine	0.106 ± 0.006	0.1 ± 0.003	0.112 ± 0.007	0.107 ± 0.015
Xylose	0.639 ± 0.056	0.606 ± 0.027	0.625 ± 0.018	0.62 ± 0.065
Arabinose	0.81 ± 0.033	0.81 ± 0.018	0.818 ± 0.051	0.812 ± 0.093
Ribose	0.105 ± 0.004	0.099 ± 0.01	0.103 ± 0.016	0.099 ± 0.005
Xylitol	0.021 ± 0.002	0.017 ± 0.001	0.018 ± 0.001	0.017 ± 0.002
Arabitol	0.886 ± 0.006	0.663 ± 0.115	0.686 ± 0.129	0.618 ± 0.123
Glutamine	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Citric acid + Isocitric acid	0.038 ± 0.008	0.04 ± 0.008	0.036 ± 0.011	0.041 ± 0.016
Ornithine	0.042 ± 0.033	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.004	0.019 ± 0.003
Fructose	0.025 ± 0.003	0.024 ± 0.004	0.025 ± 0.005	0.025 ± 0.006
Galactose	0.347 ± 0.034	0.332 ± 0.012	0.316 ± 0.055	0.337 ± 0.053
Glucose	0.655 ± 0.054	0.698 ± 0.048	0.681 ± 0.044	0.682 ± 0.037
Mannitol	0.286 ± 0.024	0.24 ± 0.036	0.276 ± 0.058	0.244 ± 0.017
Lysine	0.222 ± 0.01	0.214 ± 0.018	0.222 ± 0.011	0.216 ± 0.025
Histidine	0.035 ± 0.005	0.035 ± 0.006	0.039 ± 0.009	0.034 ± 0.009
Tyrosine	0.128 ± 0.015	0.119 ± 0.001	0.118 ± 0.023	0.139 ± 0.034
Inositol	0.029 ± 0.003	0.03 ± 0.002	0.028 ± 0.003	0.028 ± 0.003
Tryptophan	0.028 ± 0.003	0.024 ± 0.004	0.027 ± 0.006	0.022 ± 0.005

Constituent name	1week_Control	1week_LAB	1week_Yeast	1week_None
Lactic acid	0.028 ± 0.005	0.027 ± 0.003	0.026 ± 0.002	0.027 ± 0.004
Alanine	0.11 ± 0.014	0.115 ± 0.01	0.118 ± 0.016	0.094 ± 0.014
Valine	0.88 ± 0.11	0.961 ± 0.023	0.963 ± 0.058	0.848 ± 0.08
Phosphate	0.416 ± 0.04	0.428 ± 0.043	0.447 ± 0.065	0.428 ± 0.08
Glycerol	0.105 ± 0.012	0.139 ± 0.03	0.139 ± 0.021	0.137 ± 0.016
Leucine	0.181 ± 0.026	0.202 ± 0.013	0.205 ± 0.016	0.173 ± 0.023
Isoleucine	0.703 ± 0.095	0.744 ± 0.052	0.781 ± 0.061	0.641 ± 0.088
Proline	1.001 ± 0.208	1.004 ± 0.151	1.014 ± 0.088	0.748 ± 0.136
Glycine	0.781 ± 0.086	0.806 ± 0.036	0.802 ± 0.065	0.735 ± 0.045
Succinic acid (or aldehyde)	0.082 ± 0.014	0.075 ± 0.007	0.074 ± 0.011	0.067 ± 0.01
Serine	0.477 ± 0.075	0.52 ± 0.052	0.533 ± 0.057	0.405 ± 0.086
Threonine	0.177 ± 0.033	0.184 ± 0.022	0.182 ± 0.015	0.146 ± 0.022
Malic acid	0.174 ± 0.044	0.125 ± 0.019	0.128 ± 0.036	0.112 ± 0.039
<i>meso</i> -Erythritol	0.728 ± 0.116	0.643 ± 0.109	0.579 ± 0.146	0.53 ± 0.16
Aspartic acid	0.532 ± 0.09	0.548 ± 0.032	0.556 ± 0.057	0.457 ± 0.077
Methionine	0.088 ± 0.013	0.097 ± 0.007	0.1 ± 0.012	0.084 ± 0.019
Pyroglutamic acid	0.377 ± 0.041	0.438 ± 0.016	0.394 ± 0.03	0.478 ± 0.141
Glutamic acid	1.221 ± 0.231	1.279 ± 0.061	1.319 ± 0.099	1.082 ± 0.124
Phenylalanine	0.237 ± 0.029	0.271 ± 0.014	0.27 ± 0.016	0.227 ± 0.033
Xylose	0.685 ± 0.108	0.763 ± 0.039	0.748 ± 0.049	0.703 ± 0.051
Arabinose	0.869 ± 0.109	1.01 ± 0.108	0.97 ± 0.099	0.936 ± 0.077
Ribose	0.128 ± 0.014	0.125 ± 0.007	0.124 ± 0.019	0.117 ± 0.013
Xylitol	0.022 ± 0.005	0.02 ± 0.003	0.02 ± 0.003	0.02 ± 0.003
Arabitol	0.973 ± 0.071	0.822 ± 0.109	0.829 ± 0.159	0.718 ± 0.185
Glutamine	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.043 ± 0.013	0.049 ± 0.01	0.045 ± 0.012	0.046 ± 0.011
Ornithine	0.048 ± 0.034	0.03 ± 0.009	0.03 ± 0.006	0.028 ± 0.009
Fructose	0.028 ± 0.006	0.03 ± 0.004	0.031 ± 0.005	0.031 ± 0.004
Galactose	0.431 ± 0.036	0.439 ± 0.044	0.411 ± 0.037	0.423 ± 0.05
Glucose	1.113 ± 0.101	1.231 ± 0.049	1.193 ± 0.043	1.161 ± 0.13
Mannitol	0.341 ± 0.034	0.328 ± 0.014	0.353 ± 0.044	0.311 ± 0.035
Lysine	0.407 ± 0.058	0.432 ± 0.006	0.458 ± 0.037	0.405 ± 0.044
Histidine	0.071 ± 0.021	0.077 ± 0.008	0.092 ± 0.007	0.071 ± 0.01
Tyrosine	0.334 ± 0.059	0.278 ± 0.041	0.269 ± 0.036	0.282 ± 0.06
Inositol	0.061 ± 0.008	0.072 ± 0.006	0.074 ± 0.005	0.067 ± 0.009
Tryptophan	0.053 ± 0.014	0.065 ± 0.004	0.068 ± 0.008	0.057 ± 0.009



Constituent name	3week_Control	3week_LAB	3week_Yeast	3week_None
Lactic acid	0.027 ± 0.001	0.027 ± 0.002	0.026 ± 0.003	0.026 ± 0.005
Alanine	0.122 ± 0.007	0.111 ± 0.015	0.135 ± 0.003	0.129 ± 0.009
Valine	1.066 ± 0.073	1.041 ± 0.081	1.158 ± 0.083	1.122 ± 0.07
Phosphate	0.411 ± 0.028	0.439 ± 0.056	0.459 ± 0.026	0.417 ± 0.03
Glycerol	0.105 ± 0.008	0.129 ± 0.02	0.137 ± 0.026	0.143 ± 0.021
Leucine	0.217 ± 0.016	0.214 ± 0.015	0.245 ± 0.01	0.244 ± 0.015
Isoleucine	0.841 ± 0.059	0.812 ± 0.047	0.947 ± 0.059	0.912 ± 0.058
Proline	1.173 ± 0.033	1.039 ± 0.183	1.278 ± 0.056	1.222 ± 0.042
Glycine	0.92 ± 0.038	0.892 ± 0.027	0.943 ± 0.057	0.916 ± 0.05
Succinic acid (or aldehyde)	0.08 ± 0.011	0.066 ± 0.005	0.074 ± 0.009	0.069 ± 0.003
Serine	0.537 ± 0.027	0.551 ± 0.05	0.637 ± 0.034	0.615 ± 0.037
Threonine	0.195 ± 0.008	0.187 ± 0.015	0.222 ± 0.016	0.217 ± 0.018
Malic acid	0.174 ± 0.025	0.119 ± 0.023	0.13 ± 0.029	0.119 ± 0.035
<i>meso</i> -Erythritol	0.697 ± 0.132	0.615 ± 0.122	0.575 ± 0.135	0.534 ± 0.135
Aspartic acid	0.629 ± 0.037	0.566 ± 0.053	0.689 ± 0.059	0.641 ± 0.034
Methionine	0.106 ± 0.009	0.103 ± 0.008	0.118 ± 0.01	0.118 ± 0.009
Pyroglutamic acid	0.48 ± 0.099	0.536 ± 0.183	0.397 ± 0.046	0.443 ± 0.138
Glutamic acid	1.32 ± 0.083	1.223 ± 0.129	1.489 ± 0.104	1.405 ± 0.112
Phenylalanine	0.297 ± 0.019	0.291 ± 0.024	0.343 ± 0.031	0.319 ± 0.019
Xylose	0.679 ± 0.059	0.718 ± 0.014	0.736 ± 0.073	0.758 ± 0.066
Arabinose	0.869 ± 0.048	0.947 ± 0.085	0.975 ± 0.131	0.991 ± 0.128
Ribose	0.116 ± 0.008	0.107 ± 0.009	0.113 ± 0.014	0.106 ± 0.009
Xylitol	0.024 ± 0.002	0.02 ± 0.003	0.021 ± 0.003	0.02 ± 0.002
Arabitol	0.939 ± 0.062	0.754 ± 0.094	0.804 ± 0.147	0.755 ± 0.178
Glutamine	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.045 ± 0.006	0.046 ± 0.009	0.047 ± 0.015	0.049 ± 0.015
Ornithine	0.051 ± 0.033	0.03 ± 0.003	0.028 ± 0.004	0.029 ± 0.002
Fructose	0.029 ± 0.004	0.03 ± 0.004	0.03 ± 0.003	0.032 ± 0.004
Galactose	0.456 ± 0.034	0.432 ± 0.034	0.44 ± 0.073	0.452 ± 0.053
Glucose	1.255 ± 0.14	1.26 ± 0.046	1.296 ± 0.074	1.281 ± 0.067
Mannitol	0.343 ± 0.02	0.312 ± 0.022	0.355 ± 0.048	0.333 ± 0.028
Lysine	0.465 ± 0.029	0.457 ± 0.009	0.5 ± 0.029	0.487 ± 0.051
Histidine	0.079 ± 0.01	0.077 ± 0.005	0.108 ± 0.01	0.087 ± 0.01
Tyrosine	0.456 ± 0.019	0.468 ± 0.027	0.513 ± 0.03	0.481 ± 0.027
Inositol	0.075 ± 0.008	0.085 ± 0.008	0.095 ± 0.007	0.092 ± 0.007
Tryptophan	0.064 ± 0.008	0.068 ± 0.017	0.079 ± 0.013	0.074 ± 0.013

Constituent name	5week_Control	5week_LAB	5week_Yeast	5week_None
Lactic acid	0.094 ± 0.01	0.066 ± 0.006	0.024 ± 0.005	0.027 ± 0.002
Alanine	0.164 ± 0.007	0.161 ± 0.006	0.176 ± 0.006	0.152 ± 0.021
Valine	1.476 ± 0.038	1.479 ± 0.073	1.59 ± 0.053	1.483 ± 0.113
Phosphate	0.707 ± 0.041	0.665 ± 0.011	0.677 ± 0.139	0.651 ± 0.054
Glycerol	0.108 ± 0.005	0.138 ± 0.021	0.142 ± 0.025	0.147 ± 0.027
Leucine	0.292 ± 0.006	0.301 ± 0.012	0.313 ± 0.012	0.29 ± 0.031
Isoleucine	1.188 ± 0.012	1.186 ± 0.091	1.252 ± 0.023	1.144 ± 0.123
Proline	1.505 ± 0.064	1.498 ± 0.115	1.608 ± 0.042	1.294 ± 0.207
Glycine	1.226 ± 0.034	1.255 ± 0.054	1.28 ± 0.012	1.27 ± 0.04
Succinic acid (or aldehyde)	0.079 ± 0.007	0.068 ± 0.005	0.071 ± 0.011	0.068 ± 0.003
Serine	0.754 ± 0.02	0.758 ± 0.095	0.802 ± 0.032	0.68 ± 0.11
Threonine	0.268 ± 0.019	0.269 ± 0.025	0.279 ± 0.008	0.25 ± 0.035
Malic acid	0.172 ± 0.024	0.119 ± 0.023	0.122 ± 0.025	0.121 ± 0.036
<i>meso</i> -Erythritol	0.706 ± 0.161	0.592 ± 0.108	0.551 ± 0.106	0.523 ± 0.133
Aspartic acid	0.908 ± 0.029	0.88 ± 0.054	0.924 ± 0.055	0.818 ± 0.122
Methionine	0.145 ± 0.002	0.151 ± 0.012	0.148 ± 0.005	0.141 ± 0.018
Pyroglutamic acid	0.62 ± 0.131	0.59 ± 0.059	0.468 ± 0.128	0.705 ± 0.168
Glutamic acid	1.566 ± 0.135	1.604 ± 0.027	1.775 ± 0.067	1.534 ± 0.152
Phenylalanine	0.374 ± 0.026	0.398 ± 0.015	0.419 ± 0.021	0.378 ± 0.027
Xylose	0.575 ± 0.089	0.616 ± 0.058	0.641 ± 0.057	0.654 ± 0.075
Arabinose	0.534 ± 0.066	0.734 ± 0.112	0.902 ± 0.135	0.928 ± 0.138
Ribose	0.046 ± 0.005	0.051 ± 0.007	0.064 ± 0.004	0.062 ± 0.006
Xylitol	0.024 ± 0.004	0.022 ± 0.002	0.021 ± 0.002	0.021 ± 0.002
Arabitol	0.988 ± 0.037	0.798 ± 0.077	0.777 ± 0.119	0.752 ± 0.116
Glutamine	0.007 ± 0.001	0.009 ± 0.003	0.008 ± 0.003	0.005 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.047 ± 0.012	0.054 ± 0.017
Ornithine	0.92 ± 0.16	0.416 ± 0.061	0.028 ± 0.002	0.029 ± 0.002
Fructose	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.035 ± 0.005	0.037 ± 0.005
Galactose	0.472 ± 0.054	0.471 ± 0.035	0.452 ± 0.06	0.509 ± 0.06
Glucose	1.328 ± 0.109	1.391 ± 0.007	1.497 ± 0.071	1.474 ± 0.11
Mannitol	0.291 ± 0.005	0.284 ± 0.038	0.357 ± 0.032	0.343 ± 0.023
Lysine	0.552 ± 0.024	0.592 ± 0.009	0.612 ± 0.043	0.616 ± 0.038
Histidine	0.091 ± 0.01	0.099 ± 0.008	0.135 ± 0.024	0.116 ± 0.028
Tyrosine	0.326 ± 0.006	0.325 ± 0.006	0.344 ± 0.018	0.319 ± 0.03
Inositol	0.175 ± 0.006	0.178 ± 0.013	0.158 ± 0.012	0.161 ± 0.004
Tryptophan	0.104 ± 0.015	0.1 ± 0.011	0.1 ± 0.007	0.103 ± 0.021

Constituent name	6week_Control	6week_LAB	6week_Yeast	6week_None
Lactic acid	0.155 ± 0.01	0.11 ± 0.011	0.031 ± 0.001	0.024 ± 0.001
Alanine	0.181 ± 0.013	0.172 ± 0.011	0.188 ± 0.016	0.148 ± 0.004
Valine	1.499 ± 0.043	1.543 ± 0.08	1.646 ± 0.171	1.425 ± 0.127
Phosphate	0.592 ± 0.038	0.623 ± 0.063	0.386 ± 0.036	0.466 ± 0.048
Glycerol	0.229 ± 0.017	0.125 ± 0.021	0.361 ± 0.053	0.128 ± 0.018
Leucine	0.301 ± 0.012	0.32 ± 0.022	0.326 ± 0.026	0.287 ± 0.027
Isoleucine	1.173 ± 0.057	1.207 ± 0.091	1.33 ± 0.171	1.135 ± 0.101
Proline	1.606 ± 0.112	1.545 ± 0.072	1.731 ± 0.173	1.351 ± 0.16
Glycine	1.257 ± 0.087	1.233 ± 0.042	1.35 ± 0.081	1.191 ± 0.085
Succinic acid (or aldehyde)	0.177 ± 0.023	0.065 ± 0.005	0.188 ± 0.019	0.06 ± 0.005
Serine	0.745 ± 0.047	0.788 ± 0.033	0.871 ± 0.118	0.723 ± 0.085
Threonine	0.265 ± 0.011	0.272 ± 0.018	0.31 ± 0.029	0.253 ± 0.029
Malic acid	0.17 ± 0.025	0.105 ± 0.01	0.119 ± 0.016	0.105 ± 0.027
<i>meso</i> -Erythritol	0.719 ± 0.123	0.588 ± 0.102	0.535 ± 0.102	0.459 ± 0.115
Aspartic acid	0.898 ± 0.063	0.93 ± 0.051	1.011 ± 0.077	0.861 ± 0.059
Methionine	0.146 ± 0.013	0.151 ± 0.008	0.161 ± 0.015	0.138 ± 0.013
Pyroglutamic acid	0.513 ± 0.102	0.644 ± 0.028	0.493 ± 0.077	0.656 ± 0.099
Glutamic acid	1.67 ± 0.196	1.599 ± 0.143	1.737 ± 0.218	1.453 ± 0.081
Phenylalanine	0.395 ± 0.027	0.388 ± 0.012	0.438 ± 0.051	0.368 ± 0.034
Xylose	0.498 ± 0.048	0.515 ± 0.108	0.549 ± 0.097	0.515 ± 0.045
Arabinose	0.281 ± 0.012	0.434 ± 0.023	0.842 ± 0.196	0.763 ± 0.089
Ribose	0.037 ± 0.005	0.037 ± 0.007	0.052 ± 0.006	0.045 ± 0.007
Xylitol	0.033 ± 0.004	0.022 ± 0.001	0.022 ± 0.003	0.019 ± 0.002
Arabitol	0.971 ± 0.045	0.772 ± 0.086	0.813 ± 0.093	0.651 ± 0.141
Glutamine	0.012 ± 0.002	0.011 ± 0.002	0.012 ± 0.004	0.006 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.046 ± 0.016	0.045 ± 0.011
Ornithine	1.351 ± 0.026	1.238 ± 0.167	0.029 ± 0.004	0.027 ± 0.004
Fructose	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.022 ± 0.005	0.033 ± 0.006
Galactose	0.443 ± 0.038	0.425 ± 0.071	0.462 ± 0.081	0.435 ± 0.038
Glucose	0.658 ± 0.021	1.207 ± 0.262	0.51 ± 0.065	1.306 ± 0.139
Mannitol	0.268 ± 0.009	0.252 ± 0.03	0.367 ± 0.019	0.307 ± 0.027
Lysine	0.585 ± 0.023	0.605 ± 0.036	0.628 ± 0.069	0.547 ± 0.055
Histidine	0.105 ± 0.019	0.097 ± 0.015	0.13 ± 0.022	0.093 ± 0.007
Tyrosine	0.264 ± 0.006	0.264 ± 0.047	0.313 ± 0.056	0.265 ± 0.023
Inositol	0.196 ± 0.022	0.194 ± 0.011	0.171 ± 0.022	0.148 ± 0.013
Tryptophan	0.058 ± 0.006	0.104 ± 0.003	0.097 ± 0.011	0.107 ± 0.017

Constituent name	10week_Control	10week_LAB	10week_Yeast	10week_None
Lactic acid	0.159 ± 0.008	0.165 ± 0.011	0.026 ± 0.003	0.028 ± 0.004
Alanine	0.21 ± 0.009	0.222 ± 0.026	0.172 ± 0.012	0.191 ± 0.004
Valine	1.664 ± 0.016	1.628 ± 0.109	1.634 ± 0.132	1.739 ± 0.048
Phosphate	0.897 ± 0.035	0.903 ± 0.06	0.632 ± 0.088	0.682 ± 0.052
Glycerol	0.287 ± 0.022	0.132 ± 0.028	0.418 ± 0.018	0.148 ± 0.019
Leucine	0.338 ± 0.006	0.331 ± 0.029	0.32 ± 0.014	0.346 ± 0.005
Isoleucine	1.344 ± 0.037	1.345 ± 0.126	1.321 ± 0.076	1.435 ± 0.102
Proline	1.809 ± 0.076	1.765 ± 0.245	1.562 ± 0.065	1.734 ± 0.151
Glycine	1.333 ± 0.009	1.289 ± 0.067	1.271 ± 0.085	1.466 ± 0.04
Succinic acid (or aldehyde)	0.2 ± 0.017	0.066 ± 0.001	0.189 ± 0.004	0.069 ± 0.004
Serine	0.833 ± 0.008	0.857 ± 0.072	0.805 ± 0.075	0.894 ± 0.05
Threonine	0.305 ± 0.012	0.299 ± 0.031	0.286 ± 0.026	0.31 ± 0.014
Malic acid	0.175 ± 0.017	0.116 ± 0.017	0.108 ± 0.032	0.121 ± 0.032
<i>meso</i> -Erythritol	0.761 ± 0.155	0.599 ± 0.095	0.539 ± 0.165	0.538 ± 0.156
Aspartic acid	0.987 ± 0.024	0.861 ± 0.08	0.977 ± 0.08	1.093 ± 0.034
Methionine	0.162 ± 0.007	0.156 ± 0.018	0.15 ± 0.009	0.164 ± 0.009
Pyroglutamic acid	0.624 ± 0.069	0.542 ± 0.073	0.698 ± 0.057	0.648 ± 0.038
Glutamic acid	1.721 ± 0.12	1.746 ± 0.186	1.462 ± 0.063	1.803 ± 0.082
Phenylalanine	0.444 ± 0.02	0.444 ± 0.036	0.418 ± 0.034	0.451 ± 0.03
Xylose	0.45 ± 0.011	0.584 ± 0.062	0.343 ± 0.031	0.521 ± 0.035
Arabinose	0.288 ± 0.019	0.29 ± 0.066	0.629 ± 0.05	0.844 ± 0.068
Ribose	0.033 ± 0.004	0.041 ± 0.006	0.035 ± 0.003	0.043 ± 0.002
Xylitol	0.04 ± 0.004	0.031 ± 0.002	0.023 ± 0.003	0.021 ± 0.001
Arabitol	1.102 ± 0.055	0.764 ± 0.099	0.898 ± 0.146	0.742 ± 0.152
Glutamine	0.01 ± 0.002	0.015 ± 0.003	0.008 ± 0.002	0.006 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.042 ± 0.008	0.056 ± 0.014
Ornithine	1.359 ± 0.06	1.464 ± 0.138	0.031 ± 0.002	0.033 ± 0.001
Fructose	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.042 ± 0.003
Galactose	0.498 ± 0.025	0.494 ± 0.068	0.41 ± 0.04	0.502 ± 0.031
Glucose	0.614 ± 0.15	1.455 ± 0.116	0.304 ± 0.035	1.518 ± 0.018
Mannitol	0.286 ± 0.013	0.24 ± 0.008	0.349 ± 0.042	0.345 ± 0.019
Lysine	0.625 ± 0.031	0.637 ± 0.063	0.609 ± 0.036	0.659 ± 0.017
Histidine	0.114 ± 0.022	0.109 ± 0.022	0.097 ± 0.005	0.123 ± 0.016
Tyrosine	0.284 ± 0.048	0.29 ± 0.021	0.222 ± 0.011	0.287 ± 0.02
Inositol	0.203 ± 0.007	0.208 ± 0.013	0.175 ± 0.006	0.198 ± 0.006
Tryptophan	0.039 ± 0.009	0.098 ± 0.013	0.084 ± 0.011	0.128 ± 0.002

Constituent name	18week_Control	18week_LAB	18week_Yeast	18week_None
Lactic acid	0.156 ± 0.001	0.175 ± 0.011	0.024 ± 0.004	0.025 ± 0.002
Alanine	0.203 ± 0.011	0.239 ± 0.005	0.216 ± 0.01	0.211 ± 0.031
Valine	1.686 ± 0.081	1.73 ± 0.112	1.917 ± 0.034	1.886 ± 0.284
Phosphate	0.851 ± 0.029	0.901 ± 0.108	0.763 ± 0.1	0.816 ± 0.245
Glycerol	0.298 ± 0.018	0.13 ± 0.025	0.452 ± 0.024	0.159 ± 0.007
Leucine	0.331 ± 0.017	0.356 ± 0.023	0.362 ± 0.019	0.366 ± 0.053
Isoleucine	1.363 ± 0.085	1.413 ± 0.059	1.554 ± 0.094	1.512 ± 0.272
Proline	1.808 ± 0.158	1.959 ± 0.103	1.933 ± 0.19	2.11 ± 0.399
Glycine	1.337 ± 0.06	1.39 ± 0.049	1.534 ± 0.067	1.635 ± 0.283
Succinic acid (or aldehyde)	0.198 ± 0.015	0.069 ± 0.008	0.207 ± 0.011	0.074 ± 0.02
Serine	0.819 ± 0.084	0.931 ± 0.062	1.006 ± 0.055	1.008 ± 0.213
Threonine	0.298 ± 0.025	0.327 ± 0.007	0.354 ± 0.019	0.336 ± 0.059
Malic acid	0.168 ± 0.016	0.118 ± 0.018	0.12 ± 0.029	0.126 ± 0.063
<i>meso</i> -Erythritol	0.739 ± 0.148	0.616 ± 0.103	0.607 ± 0.124	0.579 ± 0.265
Aspartic acid	1.011 ± 0.07	0.952 ± 0.058	1.225 ± 0.048	1.263 ± 0.226
Methionine	0.161 ± 0.006	0.171 ± 0.005	0.181 ± 0.009	0.177 ± 0.03
Pyroglutamic acid	0.672 ± 0.066	0.641 ± 0.172	0.615 ± 0.211	0.724 ± 0.117
Glutamic acid	1.681 ± 0.076	1.855 ± 0.078	1.916 ± 0.076	2.006 ± 0.389
Phenylalanine	0.434 ± 0.035	0.462 ± 0.032	0.514 ± 0.036	0.46 ± 0.073
Xylose	0.374 ± 0.024	0.509 ± 0.035	0.305 ± 0.003	0.412 ± 0.051
Arabinose	0.269 ± 0.02	0.283 ± 0.039	0.604 ± 0.053	0.706 ± 0.046
Ribose	0.024 ± 0.003	0.029 ± 0.002	0.031 ± 0.002	0.035 ± 0.004
Xylitol	0.037 ± 0.004	0.032 ± 0.003	0.027 ± 0.001	0.023 ± 0.005
Arabitol	1.114 ± 0.024	0.806 ± 0.1	0.994 ± 0.128	0.77 ± 0.295
Glutamine	0.006 ± 0.002	0.01 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
Citric acid + Isocitric acid	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.052 ± 0.013	0.06 ± 0.007
Ornithine	1.282 ± 0.091	1.416 ± 0.081	0.032 ± 0.001	0.033 ± 0.004
Fructose	0.007 ± 0.001	0.004 ± 0.003	0.02 ± 0.002	0.054 ± 0.009
Galactose	0.485 ± 0.008	0.51 ± 0.053	0.462 ± 0.055	0.512 ± 0.03
Glucose	0.641 ± 0.152	1.553 ± 0.115	0.402 ± 0.028	1.618 ± 0.218
Mannitol	0.281 ± 0.005	0.248 ± 0.008	0.392 ± 0.032	0.365 ± 0.068
Lysine	0.622 ± 0.017	0.649 ± 0.031	0.7 ± 0.026	0.693 ± 0.095
Histidine	0.102 ± 0.009	0.128 ± 0.008	0.142 ± 0.007	0.138 ± 0.03
Tyrosine	0.239 ± 0.025	0.29 ± 0.02	0.241 ± 0.01	0.274 ± 0.056
Inositol	0.204 ± 0.006	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.007	0.222 ± 0.031
Tryptophan	0.03 ± 0.004	0.089 ± 0.014	0.084 ± 0.025	0.127 ± 0.032

各化合物の相対強度は mean ± standard deviation で表した. Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB : 乳酸菌添加, Yeast : 酵母添加, None : 乳酸菌・酵母添加なし

表 A5. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (酢酸エチル抽出) の各サンプルにおける相対強度

Constituent name	0week_Control	0week_LAB	0week_Yeast	0week_None
1-Propanol	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1-Butanol	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.002
3-Methyl-1-butanol	0.014 ± 0.003	0.014 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.011 ± 0.003
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl lactate	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Acetic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.01 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.001
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma- Butyrolactone)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
Phenylacetaldehyde	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.081 ± 0.004	0.088 ± 0.005	0.093 ± 0.007	0.083 ± 0.009
2-Methylbutanoic acid	0.039 ± 0.004	0.041 ± 0.002	0.041 ± 0.004	0.039 ± 0.005
5-Ethyldihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2(5H)-furanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Methyl-2-butenic acid	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.095 ± 0.003	0.099 ± 0.004	0.101 ± 0.009	0.089 ± 0.015
2-Phenylethyl alcohol	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3-Hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one (Maltol)	0.029 ± 0.007	0.033 ± 0.005	0.031 ± 0.004	0.027 ± 0.002
2-Acetylpyrrole	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001

Constituent name	0week_Control	0week_LAB	0week_Yeast	0week_None
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
4-Hydroxy-2,5-dimethyl3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Caprolactam	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	0.233 ± 0.061	0.222 ± 0.067	0.208 ± 0.043	0.235 ± 0.022
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzoic acid	0.007 ± 0.002	0.009 ± 0.002	0.009 ± 0.002	0.008 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.024 ± 0.006	0.029 ± 0.004	0.03 ± 0.004	0.026 ± 0.001
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.006 ± 0.003	0.008 ± 0.003	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.018 ± 0.008	0.02 ± 0.002	0.016 ± 0.006	0.018 ± 0.008
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1,4-Benzenediol	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.034 ± 0.013	0.046 ± 0.01	0.033 ± 0.015	0.038 ± 0.017

Constituent name	1week_Control	1week_LAB	1week_Yeast	1week_None
1-Propanol	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Butanol	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.016 ± 0.002	0.015 ± 0.002	0.019 ± 0.002	0.018 ± 0.002
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Ethyl lactate	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Acetic acid	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.017 ± 0.002	0.022 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.02 ± 0.004
Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma- Butyrolactone)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.002	0.009 ± 0.001	0.008 ± 0.002
Phenylacetaldehyde	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.128 ± 0.026	0.135 ± 0.009	0.139 ± 0.011	0.134 ± 0.013
2-Methylbutanoic acid	0.061 ± 0.012	0.064 ± 0.006	0.06 ± 0.002	0.058 ± 0.005
5-Ethyldihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.009 ± 0.004	0.008 ± 0.001
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Methyl-2-butenic acid	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.165 ± 0.025	0.174 ± 0.002	0.162 ± 0.005	0.162 ± 0.006
2-Phenylethyl alcohol	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.002	0.011 ± 0.003	0.01 ± 0.002
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	0.052 ± 0.005	0.056 ± 0.005	0.054 ± 0.004	0.055 ± 0.006
2-Acetylpyrrole	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy- 4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.007 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.008 ± 0.001



Constituent name	1week_Control	1week_LAB	1week_Yeast	1week_None
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.01 ± 0.001	0.013 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.001
Caprolactam	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	0.363 ± 0.054	0.383 ± 0.057	0.384 ± 0.075	0.388 ± 0.17
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.003
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Benzoic acid	0.011 ± 0.002	0.014 ± 0.002	0.014 ± 0.003	0.014 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.047 ± 0.009	0.054 ± 0.008	0.062 ± 0.011	0.06 ± 0.003
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.019 ± 0.003	0.025 ± 0.005	0.028 ± 0.003	0.027 ± 0.004
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.007 ± 0.002	0.008 ± 0.002	0.006 ± 0.002	0.008 ± 0.002
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1,4-Benzenediol	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.013 ± 0.009	0.021 ± 0.004	0.003 ± 0.001	0.015 ± 0.011

Constituent name	3week_Control	3week_LAB	3week_Yeast	3week_None
1-Propanol	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1-Butanol	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.018 ± 0.001	0.019 ± 0.003	0.022 ± 0.005	0.017 ± 0.001
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl lactate	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Acetic acid	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.02 ± 0.001	0.02 ± 0.001	0.022 ± 0.001	0.024 ± 0.004
Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.009 ± 0.002	0.008 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.002
Phenylacetaldehyde	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.138 ± 0.019	0.132 ± 0.012	0.142 ± 0.002	0.139 ± 0.013
2-Methylbutanoic acid	0.066 ± 0.011	0.062 ± 0.009	0.06 ± 0.003	0.062 ± 0.006
5-Ethyldihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.01 ± 0.005	0.009 ± 0.001
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Methyl-2-butenic acid	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.178 ± 0.019	0.174 ± 0.003	0.172 ± 0.004	0.169 ± 0.015
2-Phenylethyl alcohol	0.011 ± 0.001	0.01 ± 0.002	0.012 ± 0.003	0.011 ± 0.003
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	0.06 ± 0.003	0.058 ± 0.008	0.061 ± 0.006	0.06 ± 0.006
2-Acetylpyrrole	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy- 4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.007 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.002

Constituent name	3week_Control	3week_LAB	3week_Yeast	3week_None
4-Hydroxy-2,5-dimethyl3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy- 2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.035 ± 0.002	0.036 ± 0.003	0.037 ± 0.003	0.037 ± 0.001
Caprolactam	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.001
2-Methoxy-4-vinylphenol (4- Vinylguaiacol)	0.43 ± 0.094	0.374 ± 0.087	0.387 ± 0.144	0.462 ± 0.07
3,5-Dihydroxy-6-methyl- 2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.006 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.006 ± 0.002
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzoic acid	0.014 ± 0.003	0.016 ± 0.002	0.016 ± 0.002	0.017 ± 0.004
Phenylacetic acid	0.055 ± 0.004	0.062 ± 0.003	0.069 ± 0.002	0.064 ± 0.011
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.029 ± 0.009	0.033 ± 0.003	0.036 ± 0.004	0.032 ± 0.004
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.005 ± 0.002	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.007 ± 0.003
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1,4-Benzenediol	0.002 ± 0.001	0.005 ± 0.004	0.004 ± 0.003	0.006 ± 0.003
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.003 ± 0.001	0.008 ± 0.01	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001

Constituent name	5week_Control	5week_LAB	5week_Yeast	5week_None
1-Propanol	0.007 ± 0.002	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.002
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Butanol	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.019 ± 0.001	0.021 ± 0.003	0.028 ± 0.003	0.024 ± 0.003
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl lactate	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Acetic acid	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.035 ± 0.006	0.033 ± 0.002	0.027 ± 0.002	0.029 ± 0.003
Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.017 ± 0.002	0.014 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.013 ± 0.002
Phenylacetaldehyde	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.003	0.006 ± 0.001	0.008 ± 0.001
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.166 ± 0.04	0.151 ± 0.011	0.158 ± 0.012	0.161 ± 0.006
2-Methylbutanoic acid	0.083 ± 0.02	0.075 ± 0.008	0.076 ± 0.004	0.079 ± 0.005
5-Ethyldihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001
3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.014 ± 0.002	0.015 ± 0.003	0.018 ± 0.006	0.017 ± 0.004
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Methyl-2-butenic acid	0.012 ± 0.002	0.011 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.155 ± 0.017	0.158 ± 0.007	0.195 ± 0.007	0.205 ± 0.002
2-Phenylethyl alcohol	0.019 ± 0.003	0.018 ± 0.004	0.021 ± 0.008	0.019 ± 0.008
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	0.088 ± 0.008	0.09 ± 0.009	0.091 ± 0.007	0.096 ± 0.006
2-Acetylpyrrole	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy- 4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.01 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.002	0.011 ± 0.001

Constituent name	5week_Control	5week_LAB	5week_Yeast	5week_None
4-Hydroxy-2,5-dimethyl3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.01 ± 0.002	0.008 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.01 ± 0.003	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy- 2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.008 ± 0.003	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.002
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.224 ± 0.016	0.266 ± 0.027	0.427 ± 0.029	0.43 ± 0.012
Caprolactam	0.021 ± 0.003	0.019 ± 0.001	0.022 ± 0.003	0.024 ± 0.004
2-Methoxy-4-vinylphenol (4- Vinylguaiacol)	0.478 ± 0.12	0.466 ± 0.134	0.448 ± 0.151	0.419 ± 0.052
3,5-Dihydroxy-6-methyl- 2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.01 ± 0.001
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.01 ± 0.005	0.009 ± 0.006	0.007 ± 0.003	0.007 ± 0.002
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.009 ± 0.002	0.008 ± 0.001	0.015 ± 0.006	0.011 ± 0.003
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzoic acid	0.021 ± 0.003	0.022 ± 0.005	0.02 ± 0.004	0.022 ± 0.002
Phenylacetic acid	0.087 ± 0.021	0.081 ± 0.009	0.081 ± 0.016	0.084 ± 0.007
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.07 ± 0.004	0.071 ± 0.001	0.064 ± 0.012	0.057 ± 0.013
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.008 ± 0.009	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1,4-Benzenediol	0.025 ± 0.001	0.025 ± 0.002	0.023 ± 0.002	0.024 ± 0.001
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001

Constituent name	6week_Control	6week_LAB	6week_Yeast	6week_None
1-Propanol	0.1 ± 0.005	0.008 ± 0.001	0.186 ± 0.002	0.008 ± 0.002
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.044 ± 0.003	0.003 ± 0.001	0.081 ± 0.006	0.004 ± 0.001
1-Butanol	0.18 ± 0.035	0.003 ± 0.001	0.602 ± 0.026	0.002 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.421 ± 0.015	0.019 ± 0.003	0.745 ± 0.056	0.03 ± 0.005
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.186 ± 0.01	0.002 ± 0.001	0.136 ± 0.015	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Ethyl lactate	0.087 ± 0.008	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.006 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Acetic acid	0.031 ± 0.005	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.006 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.002 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.054 ± 0.009	0.005 ± 0.001	0.137 ± 0.008	0.003 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.038 ± 0.007	0.036 ± 0.003	0.038 ± 0.003	0.03 ± 0.001
Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.025 ± 0.001	0.017 ± 0.001	0.037 ± 0.003	0.013 ± 0.002
Phenylacetaldehyde	0.017 ± 0.004	0.011 ± 0.002	0.014 ± 0.003	0.009 ± 0.002
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.007 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.146 ± 0.027	0.15 ± 0.019	0.164 ± 0.006	0.154 ± 0.006
2-Methylbutanoic acid	0.067 ± 0.013	0.076 ± 0.011	0.077 ± 0.004	0.078 ± 0.001
5-Ethyl-dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)	0.007 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.005 ± 0.001
3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.016 ± 0.002	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.051 ± 0.003	0.017 ± 0.002	0.096 ± 0.004	0.02 ± 0.003
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.01 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.013 ± 0.001	0.013 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.075 ± 0.004	0.146 ± 0.013	0.13 ± 0.012	0.198 ± 0.003
2-Phenylethyl alcohol	0.486 ± 0.009	0.022 ± 0.002	0.897 ± 0.085	0.024 ± 0.009
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	0.11 ± 0.008	0.102 ± 0.005	0.113 ± 0.011	0.104 ± 0.006
2-Acetylpyrrole	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy- 4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.015 ± 0.001	0.013 ± 0.002	0.012 ± 0.003	0.011 ± 0.001

Constituent name	6week_Control	6week_LAB	6week_Yeast	6week_None
4-Hydroxy-2,5-dimethyl3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.017 ± 0.002	0.017 ± 0.001	0.014 ± 0.002	0.005 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.245 ± 0.025	0.019 ± 0.004	0.774 ± 0.076	0.009 ± 0.005
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy- 2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.186 ± 0.024	0.015 ± 0.002	0.62 ± 0.067	0.008 ± 0.005
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.03 ± 0.004	0.229 ± 0.013	0.078 ± 0.011	0.53 ± 0.032
Caprolactam	0.026 ± 0.003	0.021 ± 0.002	0.028 ± 0.005	0.024 ± 0.003
2-Methoxy-4-vinylphenol (4- Vinylguaiacol)	0.411 ± 0.074	0.449 ± 0.011	0.585 ± 0.061	0.482 ± 0.096
3,5-Dihydroxy-6-methyl- 2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.017 ± 0.003	0.014 ± 0.001
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.013 ± 0.005	0.011 ± 0.004	0.015 ± 0.002	0.01 ± 0.003
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.017 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.057 ± 0.005	0.018 ± 0.009
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.006 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.002 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.017 ± 0.005	0.003 ± 0.001	0.03 ± 0.017	0.002 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.136 ± 0.019	0.003 ± 0.001	0.101 ± 0.019	0.002 ± 0.001
Benzoic acid	0.027 ± 0.002	0.024 ± 0.003	0.022 ± 0.006	0.022 ± 0.002
Phenylacetic acid	0.097 ± 0.011	0.085 ± 0.004	0.088 ± 0.01	0.082 ± 0.005
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.075 ± 0.003	0.07 ± 0.005	0.091 ± 0.008	0.068 ± 0.009
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.229 ± 0.005	0.01 ± 0.013	0.343 ± 0.026	0.003 ± 0.001
1,4-Benzenediol	0.033 ± 0.002	0.029 ± 0.001	0.034 ± 0.003	0.029 ± 0.003
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001

Constituent name	10week_Control	10week_LAB	10week_Yeast	10week_None
1-Propanol	0.125 ± 0.015	0.008 ± 0.001	0.248 ± 0.003	0.01 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.055 ± 0.008	0.003 ± 0.001	0.121 ± 0.014	0.007 ± 0.002
1-Butanol	0.313 ± 0.083	0.003 ± 0.001	1.129 ± 0.114	0.003 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.476 ± 0.058	0.016 ± 0.002	0.969 ± 0.112	0.048 ± 0.008
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.11 ± 0.014	0.003 ± 0.001	0.045 ± 0.011	0.003 ± 0.002
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001
Ethyl lactate	0.181 ± 0.032	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.015 ± 0.003	0.003 ± 0.001	0.024 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Acetic acid	0.031 ± 0.001	0.03 ± 0.004	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.013 ± 0.006	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.136 ± 0.052	0.007 ± 0.001	0.284 ± 0.028	0.005 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.033 ± 0.006	0.044 ± 0.002	0.037 ± 0.004	0.035 ± 0.001
Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.01 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.025 ± 0.003	0.018 ± 0.001	0.045 ± 0.005	0.016 ± 0.003
Phenylacetaldehyde	0.025 ± 0.003	0.014 ± 0.003	0.02 ± 0.003	0.013 ± 0.001
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.038 ± 0.003	0.013 ± 0.001	0.01 ± 0.004	0.005 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.122 ± 0.025	0.179 ± 0.008	0.166 ± 0.028	0.161 ± 0.003
2-Methylbutanoic acid	0.054 ± 0.01	0.081 ± 0.007	0.072 ± 0.008	0.083 ± 0.002
5-Ethylidihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)	0.008 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.006 ± 0.001
3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone	0.005 ± 0.003	0.003 ± 0.001	0.032 ± 0.003	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.076 ± 0.005	0.018 ± 0.002	0.127 ± 0.003	0.035 ± 0.004
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Methyl-2-butenic acid	0.01 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.014 ± 0.002	0.015 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.062 ± 0.001	0.117 ± 0.006	0.122 ± 0.013	0.207 ± 0.012
2-Phenylethyl alcohol	0.606 ± 0.094	0.026 ± 0.004	1.27 ± 0.066	0.051 ± 0.015
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	0.14 ± 0.011	0.137 ± 0.01	0.139 ± 0.004	0.131 ± 0.009
2-Acetylpyrrole	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy- 4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.025 ± 0.003	0.02 ± 0.001	0.02 ± 0.001	0.014 ± 0.002



Constituent name	10week_Control	10week_LAB	10week_Yeast	10week_None
4-Hydroxy-2,5-dimethyl3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.014 ± 0.002	0.031 ± 0.005	0.025 ± 0.004	0.013 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.381 ± 0.164	0.023 ± 0.002	1.16 ± 0.217	0.065 ± 0.03
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy- 2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.277 ± 0.122	0.018 ± 0.002	0.934 ± 0.114	0.059 ± 0.03
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.157 ± 0.03	0.234 ± 0.015	0.352 ± 0.14	0.777 ± 0.068
Caprolactam	0.032 ± 0.005	0.023 ± 0.002	0.04 ± 0.003	0.029 ± 0.004
2-Methoxy-4-vinylphenol (4- Vinylguaiacol)	0.435 ± 0.061	0.329 ± 0.101	0.466 ± 0.088	0.463 ± 0.087
3,5-Dihydroxy-6-methyl- 2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.018 ± 0.002	0.01 ± 0.001	0.036 ± 0.003	0.034 ± 0.001
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.018 ± 0.003	0.01 ± 0.006	0.013 ± 0.004	0.011 ± 0.001
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.038 ± 0.007	0.003 ± 0.001	0.084 ± 0.011	0.025 ± 0.006
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.003	0.003 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.027 ± 0.003	0.003 ± 0.001	0.027 ± 0.002	0.003 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.363 ± 0.057	0.003 ± 0.001	0.145 ± 0.018	0.003 ± 0.001
Benzoic acid	0.024 ± 0.002	0.028 ± 0.004	0.025 ± 0.002	0.022 ± 0.003
Phenylacetic acid	0.085 ± 0.013	0.084 ± 0.007	0.101 ± 0.015	0.085 ± 0.002
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.079 ± 0.004	0.072 ± 0.002	0.091 ± 0.007	0.098 ± 0.007
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.275 ± 0.029	0.033 ± 0.004	0.452 ± 0.026	0.024 ± 0.005
1,4-Benzenediol	0.04 ± 0.003	0.04 ± 0.002	0.041 ± 0.01	0.04 ± 0.003
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001

Constituent name	18week_Control	18week_LAB	18week_Yeast	18week_None
1-Propanol	0.129 ± 0.017	0.01 ± 0.001	0.25 ± 0.003	0.008 ± 0.006
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.062 ± 0.008	0.002 ± 0.001	0.123 ± 0.015	0.011 ± 0.001
1-Butanol	0.327 ± 0.071	0.002 ± 0.001	1.099 ± 0.101	0.003 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.503 ± 0.063	0.016 ± 0.001	0.953 ± 0.095	0.069 ± 0.005
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.095 ± 0.014	0.002 ± 0.001	0.036 ± 0.008	0.004 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.002
Ethyl lactate	0.198 ± 0.03	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.023 ± 0.004	0.004 ± 0.001	0.034 ± 0.002	0.01 ± 0.001
Acetic acid	0.037 ± 0.003	0.037 ± 0.003	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.007 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.148 ± 0.05	0.009 ± 0.001	0.29 ± 0.03	0.006 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.035 ± 0.006	0.051 ± 0.005	0.039 ± 0.003	0.038 ± 0.002
Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)	0.005 ± 0.002	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.014 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.016 ± 0.002	0.005 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.027 ± 0.002	0.018 ± 0.001	0.048 ± 0.005	0.018 ± 0.002
Phenylacetaldehyde	0.034 ± 0.004	0.022 ± 0.002	0.032 ± 0.003	0.019 ± 0.004
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.059 ± 0.003	0.03 ± 0.001	0.014 ± 0.004	0.009 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.116 ± 0.019	0.179 ± 0.017	0.169 ± 0.04	0.166 ± 0.011
2-Methylbutanoic acid	0.055 ± 0.009	0.086 ± 0.011	0.073 ± 0.005	0.085 ± 0.003
5-Ethyldihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)	0.009 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.006 ± 0.001
3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone	0.005 ± 0.003	0.002 ± 0.001	0.031 ± 0.004	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.081 ± 0.006	0.019 ± 0.002	0.128 ± 0.008	0.056 ± 0.003
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Methyl-2-butenic acid	0.01 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.015 ± 0.001	0.016 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.067 ± 0.005	0.114 ± 0.003	0.121 ± 0.002	0.205 ± 0.008
2-Phenylethyl alcohol	0.594 ± 0.071	0.023 ± 0.003	1.194 ± 0.195	0.069 ± 0.009
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	0.164 ± 0.002	0.191 ± 0.006	0.159 ± 0.005	0.169 ± 0.015
2-Acetylpyrrole	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone ( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy-	0.004 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.001
4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.034 ± 0.003	0.028 ± 0.002	0.026 ± 0.004	0.018 ± 0.003
4-Hydroxy-2,5-dimethyl3(2 <i>H</i> )-furanone	0.014 ± 0.002	0.023 ± 0.002	0.03 ± 0.005	0.023 ± 0.001

Constituent name	18week_Control	18week_LAB	18week_Yeast	18week_None
<b>(HDMF)</b>				
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.284 ± 0.13	0.019 ± 0.003	0.915 ± 0.131	0.082 ± 0.012
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy- 2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF)	0.203 ± 0.088	0.013 ± 0.002	0.69 ± 0.115	0.074 ± 0.015
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.217 ± 0.018	0.319 ± 0.007	0.54 ± 0.143	0.765 ± 0.051
Caprolactam	0.048 ± 0.004	0.027 ± 0.005	0.05 ± 0.007	0.029 ± 0.005
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	0.4 ± 0.048	0.378 ± 0.047	0.498 ± 0.053	0.329 ± 0.119
3,5-Dihydroxy-6-methyl- 2,3-dihydro-4H-pyran-4-one	0.023 ± 0.001	0.019 ± 0.001	0.041 ± 0.003	0.056 ± 0.004
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.018 ± 0.003	0.018 ± 0.005	0.018 ± 0.003	0.011 ± 0.005
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.02 ± 0.004	0.003 ± 0.001	0.042 ± 0.009	0.012 ± 0.001
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.008 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.029 ± 0.007	0.002 ± 0.001	0.036 ± 0.01	0.003 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.56 ± 0.086	0.004 ± 0.001	0.223 ± 0.014	0.003 ± 0.001
Benzoic acid	0.026 ± 0.001	0.027 ± 0.003	0.026 ± 0.002	0.026 ± 0.003
Phenylacetic acid	0.089 ± 0.007	0.079 ± 0.005	0.109 ± 0.017	0.097 ± 0.007
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.084 ± 0.003	0.085 ± 0.009	0.097 ± 0.003	0.116 ± 0.011
n-Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.278 ± 0.01	0.033 ± 0.003	0.437 ± 0.024	0.028 ± 0.003
1,4-Benzenediol	0.043 ± 0.001	0.044 ± 0.002	0.042 ± 0.011	0.049 ± 0.002
(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001

各化合物の相対強度は mean ± standard deviation で表した. Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB : 乳酸菌添加,

Yeast : 酵母添加, None : 乳酸菌・酵母添加なし

表 A6. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (スタティックヘッドスペースサンプリング)の各サンプルにおける相対強度

Constituent name	Oweek_Control	Oweek_LAB	Oweek_Yeast	Oweek_None
Acetaldehyde	0.337 ± 0.136	0.238 ± 0.016	0.196 ± 0.025	0.246 ± 0.071
Methanethiol	0.036 ± 0.021	0.034 ± 0.011	0.05 ± 0.003	0.057 ± 0.011
2-Propanone (Acetone)	0.065 ± 0.034	0.048 ± 0.011	0.062 ± 0.018	0.068 ± 0.011
2-Propanol	0.047 ± 0.008	0.046 ± 0.009	0.043 ± 0.01	0.048 ± 0.014
Furan	0.004 ± 0.003	0.003 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001
Ethyl formate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-2-propanol	0.007 ± 0.003	0.01 ± 0.005	0.005 ± 0.002	0.008 ± 0.003
Methyl acetate	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.001 ± 0.001
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.085 ± 0.016	0.076 ± 0.012	0.079 ± 0.011	0.09 ± 0.006
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.006 ± 0.006	0.008 ± 0.003	0.007 ± 0.005	0.008 ± 0.001
2-Butanone	0.107 ± 0.09	0.14 ± 0.031	0.091 ± 0.037	0.136 ± 0.045
2-Methyl-furan	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Ethoxy-2-methyl-propane	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Butenal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.133 ± 0.016	0.109 ± 0.017	0.138 ± 0.014	0.166 ± 0.059
3-Methyl-2-butanone	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.125 ± 0.02	0.113 ± 0.024	0.112 ± 0.019	0.123 ± 0.026
2-Pentanone	0.008 ± 0.004	0.007 ± 0.003	0.007 ± 0.002	0.008 ± 0.002
2,3-Pentanedione	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0
Ethyl propionate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001
<i>n</i> -Propyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0.002 ± 0.002	0 ± 0
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.041 ± 0.01	0.045 ± 0.005	0.036 ± 0.004	0.044 ± 0.016
Dimethyl disulfide	0.007 ± 0.003	0.008 ± 0.003	0.01 ± 0.005	0.012 ± 0.004
Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0.004 ± 0.007	0.004 ± 0.006	0.001 ± 0.001	0.006 ± 0.007
Hexanal	0.014 ± 0.003	0.012 ± 0.003	0.013 ± 0.001	0.014 ± 0.002
Ethyl butanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Butyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 2-methylbutanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002
( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0
Benzaldehyde	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001
( <i>Z</i> )-1,5-Octadien-3-ol	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.002	0.007 ± 0.003	0.005 ± 0.001

Constituent name	0week_Control	0week_LAB	0week_Yeast	0week_None
1-Octen-3-ol	0.217 ± 0.185	0.136 ± 0.058	0.165 ± 0.025	0.165 ± 0.044
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Octanol	0.007 ± 0.003	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001
2-Octenal	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002
Ethyl heptanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl benzoate	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Constituent name	1week_Control	1week_LAB	1week_Yeast	1week_None
Acetaldehyde	0.29 ± 0.079	0.232 ± 0.048	0.221 ± 0.02	0.183 ± 0.01
Methanethiol	0.055 ± 0.017	0.075 ± 0.038	0.041 ± 0.011	0.085 ± 0.025
2-Propanone (Acetone)	0.171 ± 0.046	0.104 ± 0.032	0.126 ± 0.026	0.139 ± 0.05
2-Propanol	0.06 ± 0.01	0.046 ± 0.008	0.048 ± 0.007	0.05 ± 0.008
Furan	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.004 ± 0.002
Ethyl formate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-2-propanol	0.027 ± 0.008	0.013 ± 0.003	0.017 ± 0.008	0.02 ± 0.011
Methyl acetate	0.005 ± 0.004	0.006 ± 0.004	0.005 ± 0.003	0.002 ± 0.001
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.153 ± 0.045	0.118 ± 0.004	0.103 ± 0.006	0.13 ± 0.015
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.013 ± 0.005	0.005 ± 0.004	0.007 ± 0.002	0.005 ± 0.005
2-Butanone	0.119 ± 0.042	0.098 ± 0.061	0.097 ± 0.056	0.104 ± 0.058
2-Methyl-furan	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.002
2-Ethoxy-2-methyl-propane	0.019 ± 0.004	0.011 ± 0.004	0.015 ± 0.002	0.011 ± 0.004
2-Butenal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.193 ± 0.052	0.109 ± 0.015	0.124 ± 0.02	0.133 ± 0.028
3-Methyl-2-butanone	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.004	0.005 ± 0.003
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.224 ± 0.064	0.158 ± 0.01	0.138 ± 0.011	0.172 ± 0.01
2-Pentanone	0.016 ± 0.003	0.012 ± 0.003	0.013 ± 0.004	0.012 ± 0.003
2,3-Pentanedione	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl propionate	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0
<i>n</i> -Propyl acetate	0.002 ± 0.003	0 ± 0	0.002 ± 0.003	0 ± 0
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.058 ± 0.004	0.041 ± 0.005	0.044 ± 0.01	0.044 ± 0.009
Dimethyl disulfide	0.009 ± 0.005	0.016 ± 0.007	0.009 ± 0.003	0.014 ± 0.007
Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0.006 ± 0.01	0.005 ± 0.005	0.005 ± 0.006	0.003 ± 0.005
Hexanal	0.017 ± 0.002	0.009 ± 0.002	0.011 ± 0.005	0.011 ± 0.004
Ethyl butanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Butyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 2-methylbutanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001
( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Benzaldehyde	0.006 ± 0.003	0.011 ± 0.005	0.006 ± 0.001	0.012 ± 0.002
( <i>Z</i> )-1,5-Octadien-3-ol	0.007 ± 0.003	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.001
1-Octen-3-ol	0.341 ± 0.173	0.175 ± 0.073	0.174 ± 0.067	0.193 ± 0.066
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Constituent name	1week_Control	1week_LAB	1week_Yeast	1week_None
3-Octanol	0.008 ± 0.004	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002
2-Octenal	0.006 ± 0.003	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Ethyl heptanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl benzoate	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001

Constituent name	3week_Control	3week_LAB	3week_Yeast	3week_None
Acetaldehyde	0.43 ± 0.058	0.277 ± 0.019	0.323 ± 0.074	0.251 ± 0.034
Methanethiol	0.043 ± 0.034	0.059 ± 0.013	0.05 ± 0.017	0.066 ± 0.01
2-Propanone (Acetone)	0.142 ± 0.037	0.165 ± 0.014	0.166 ± 0.03	0.27 ± 0.038
2-Propanol	0.054 ± 0.009	0.048 ± 0.007	0.052 ± 0.005	0.063 ± 0.009
Furan	0.003 ± 0.003	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.007 ± 0.003
Ethyl formate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-2-propanol	0.014 ± 0.002	0.018 ± 0.01	0.014 ± 0.003	0.016 ± 0.004
Methyl acetate	0.003 ± 0.002	0.008 ± 0.007	0.009 ± 0.004	0.009 ± 0.001
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.137 ± 0.023	0.156 ± 0.02	0.15 ± 0.011	0.225 ± 0.051
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.006 ± 0.003	0.005 ± 0.002	0.007 ± 0.004	0.009 ± 0.004
2-Butanone	0.136 ± 0.075	0.117 ± 0.022	0.148 ± 0.092	0.232 ± 0.014
2-Methyl-furan	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2-Ethoxy-2-methyl-propane	0.01 ± 0.003	0.009 ± 0.001	0.011 ± 0.003	0.008 ± 0.001
2-Butenal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.168 ± 0.031	0.155 ± 0.046	0.159 ± 0.01	0.251 ± 0.08
3-Methyl-2-butanone	0.006 ± 0.003	0.003 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.008 ± 0.003
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.186 ± 0.03	0.202 ± 0.04	0.188 ± 0.009	0.278 ± 0.057
2-Pentanone	0.015 ± 0.002	0.014 ± 0.003	0.014 ± 0.002	0.017 ± 0.004
2,3-Pentanedione	0 ± 0	0.001 ± 0.002	0.001 ± 0.001	0 ± 0
Ethyl propionate	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
<i>n</i> -Propyl acetate	0 ± 0	0.002 ± 0.003	0 ± 0	0.002 ± 0.004
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.05 ± 0.005	0.046 ± 0.008	0.044 ± 0.007	0.059 ± 0.006
Dimethyl disulfide	0.005 ± 0.005	0.011 ± 0.002	0.008 ± 0.003	0.01 ± 0.002
Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0 ± 0	0 ± 0	0.003 ± 0.005	0.004 ± 0.004
Hexanal	0.013 ± 0.004	0.011 ± 0.003	0.012 ± 0.002	0.016 ± 0.002
Ethyl butanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Butyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0
Ethyl 2-methylbutanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0 ± 0	0.002 ± 0.002	0.001 ± 0.002	0 ± 0
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001
( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Benzaldehyde	0.006 ± 0.005	0.011 ± 0.004	0.01 ± 0.002	0.013 ± 0.003
( <i>Z</i> )-1,5-Octadien-3-ol	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002
1-Octen-3-ol	0.128 ± 0.058	0.204 ± 0.057	0.161 ± 0.038	0.303 ± 0.12
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001



Constituent name	3week_Control	3week_LAB	3week_Yeast	3week_None
3-Octanol	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.002
2-Octenal	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.007 ± 0.002
Ethyl heptanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl benzoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0 ± 0

Constituent name	5week_Control	5week_LAB	5week_Yeast	5week_None
Acetaldehyde	0.233 ± 0.035	0.223 ± 0.023	0.25 ± 0.078	0.231 ± 0.046
Methanethiol	0.043 ± 0.004	0.029 ± 0.006	0.033 ± 0.006	0.026 ± 0.012
2-Propanone (Acetone)	1.012 ± 0.048	0.581 ± 0.2	0.738 ± 0.129	0.551 ± 0.241
2-Propanol	0.056 ± 0.005	0.051 ± 0.012	0.064 ± 0.015	0.056 ± 0.012
Furan	0.019 ± 0.006	0.009 ± 0.003	0.013 ± 0.007	0.008 ± 0.006
Ethyl formate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-2-propanol	0.01 ± 0.007	0.009 ± 0.004	0.027 ± 0.004	0.022 ± 0.015
Methyl acetate	0.115 ± 0.013	0.158 ± 0.02	0.044 ± 0.009	0.073 ± 0.009
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.442 ± 0.026	0.32 ± 0.08	0.451 ± 0.131	0.405 ± 0.145
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.015 ± 0.006	0.012 ± 0.005	0.014 ± 0.003	0.008 ± 0.005
2-Butanone	0.51 ± 0.063	0.28 ± 0.107	0.313 ± 0.03	0.21 ± 0.092
2-Methyl-furan	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.008 ± 0.003	0.006 ± 0.005
2-Ethoxy-2-methyl-propane	0.005 ± 0.002	0.006 ± 0.002	0.011 ± 0.003	0.009 ± 0.002
2-Butenal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.409 ± 0.064	0.376 ± 0.065	0.484 ± 0.169	0.443 ± 0.192
3-Methyl-2-butanone	0.03 ± 0.008	0.021 ± 0.009	0.018 ± 0.006	0.019 ± 0.013
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.429 ± 0.03	0.342 ± 0.083	0.493 ± 0.172	0.425 ± 0.176
2-Pentanone	0.031 ± 0.005	0.022 ± 0.007	0.029 ± 0.002	0.026 ± 0.005
2,3-Pentanedione	0 ± 0	0.004 ± 0.002	0.006 ± 0.003	0.003 ± 0.002
Ethyl propionate	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0 ± 0
<i>n</i> -Propyl acetate	0.002 ± 0.003	0.012 ± 0.005	0.002 ± 0.003	0.012 ± 0.006
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.056 ± 0.001	0.061 ± 0.011	0.088 ± 0.006	0.08 ± 0.017
Dimethyl disulfide	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001
Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0 ± 0	0.002 ± 0.002	0 ± 0	0.002 ± 0.003
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.001 ± 0.002	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0.002 ± 0.003	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.004	0.001 ± 0.002
Hexanal	0.006 ± 0.001	0.002 ± 0.002	0 ± 0	0.003 ± 0.003
Ethyl butanoate	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0
Butyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 2-methylbutanoate	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.003	0 ± 0	0.002 ± 0.002
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0 ± 0	0.003 ± 0.004	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0 ± 0	0.002 ± 0.002	0 ± 0	0.001 ± 0.002
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002
( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.001 ± 0.001
Benzaldehyde	0.013 ± 0.003	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002
( <i>Z</i> )-1,5-Octadien-3-ol	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002
1-Octen-3-ol	0.061 ± 0.007	0.064 ± 0.005	0.086 ± 0.017	0.096 ± 0.04
3-Octanone	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.003
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0.002 ± 0.001	0.011 ± 0.004	0.002 ± 0.001	0.006 ± 0.004

Constituent name	5week_Control	5week_LAB	5week_Yeast	5week_None
3-Octanol	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.002	0 ± 0	0 ± 0
2-Octenal	0.001 ± 0.002	0 ± 0	0 ± 0	0.002 ± 0.003
Ethyl heptanoate	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl benzoate	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0.001 ± 0.001
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Constituent name	6week_Control	6week_LAB	6week_Yeast	6week_None
Acetaldehyde	3.271 ± 0.247	0.229 ± 0.015	4.036 ± 0.588	0.221 ± 0.084
Methanethiol	0.036 ± 0.006	0.036 ± 0.005	0.024 ± 0.005	0.022 ± 0.006
2-Propanone (Acetone)	0.632 ± 0.07	0.667 ± 0.079	0.592 ± 0.071	0.534 ± 0.041
2-Propanol	0.061 ± 0.003	0.051 ± 0.003	0.076 ± 0.012	0.057 ± 0.006
Furan	0.021 ± 0.005	0.013 ± 0.004	0.019 ± 0.009	0.006 ± 0.003
Ethyl formate	0.063 ± 0.007	0.003 ± 0.003	0.032 ± 0.013	0.001 ± 0.001
2-Methyl-2-propanol	0.017 ± 0.007	0.017 ± 0.005	0.013 ± 0.001	0.016 ± 0.003
Methyl acetate	0.162 ± 0.03	0.19 ± 0.014	0.1 ± 0.017	0.07 ± 0.005
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.344 ± 0.042	0.304 ± 0.036	0.419 ± 0.062	0.361 ± 0.018
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.123 ± 0.039	0.012 ± 0.006	0.1 ± 0.032	0.007 ± 0.002
2-Butanone	0.332 ± 0.093	0.335 ± 0.062	0.284 ± 0.082	0.214 ± 0.062
2-Methyl-furan	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.003	0.007 ± 0.003	0.006 ± 0.004
2-Ethoxy-2-methyl-propane	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.002	0.009 ± 0.002	0.007 ± 0.003
2-Butenal	0.052 ± 0.012	0 ± 0	0.09 ± 0.009	0.001 ± 0.002
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.583 ± 0.064	0.437 ± 0.065	0.701 ± 0.12	0.394 ± 0.089
3-Methyl-2-butanone	0.019 ± 0.004	0.024 ± 0.004	0.014 ± 0.002	0.014 ± 0.001
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.384 ± 0.058	0.371 ± 0.062	0.459 ± 0.109	0.38 ± 0.035
2-Pentanone	0.012 ± 0.003	0.026 ± 0.003	0.011 ± 0.004	0.026 ± 0.003
2,3-Pentanedione	0.014 ± 0.006	0.004 ± 0.002	0.025 ± 0.005	0.005 ± 0.002
Ethyl propionate	0.08 ± 0.023	0.002 ± 0.002	0.179 ± 0.037	0.002 ± 0.001
<i>n</i> -Propyl acetate	0.067 ± 0.015	0.016 ± 0.004	0.039 ± 0.002	0.008 ± 0.004
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.697 ± 0.102	0.061 ± 0.01	1.257 ± 0.164	0.092 ± 0.006
Dimethyl disulfide	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0.184 ± 0.055	0.003 ± 0.001	0.231 ± 0.077	0.004 ± 0.003
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.138 ± 0.032	0.008 ± 0.001	0.088 ± 0.015	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0 ± 0
Hexanal	0 ± 0	0.001 ± 0.002	0 ± 0	0.002 ± 0.002
Ethyl butanoate	0.04 ± 0.011	0 ± 0	0.054 ± 0.012	0.001 ± 0.001
Butyl acetate	0.09 ± 0.023	0 ± 0	0.066 ± 0.012	0 ± 0
Ethyl 2-methylbutanoate	0.185 ± 0.056	0.005 ± 0.002	0.159 ± 0.048	0.003 ± 0.003
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.048 ± 0.015	0.002 ± 0.001	0.05 ± 0.012	0.002 ± 0.002
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.165 ± 0.058	0.009 ± 0.001	0.101 ± 0.022	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0.036 ± 0.01	0.001 ± 0.002	0.026 ± 0.005	0 ± 0
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001
( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.001 ± 0.001
Benzaldehyde	0.017 ± 0.004	0.007 ± 0.002	0.01 ± 0.002	0.003 ± 0.001
( <i>Z</i> )-1,5-Octadien-3-ol	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
1-Octen-3-ol	0.055 ± 0.006	0.05 ± 0.004	0.048 ± 0.008	0.069 ± 0.009
3-Octanone	0.006 ± 0.003	0.004 ± 0.001	0.012 ± 0.005	0.002 ± 0.003
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0.188 ± 0.098	0.008 ± 0.004	0.244 ± 0.086	0.008 ± 0.007

Constituent name	6week_Control	6week_LAB	6week_Yeast	6week_None
3-Octanol	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$
2-Octenal	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$
Ethyl heptanoate	$0.006 \pm 0.003$	$0 \pm 0$	$0.011 \pm 0.004$	$0 \pm 0$
Ethyl benzoate	$0.018 \pm 0.005$	$0 \pm 0$	$0.02 \pm 0.007$	$0.001 \pm 0.001$
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	$0.016 \pm 0.004$	$0 \pm 0$	$0.038 \pm 0.011$	$0.001 \pm 0.001$

Constituent name	10week_Control	10week_LAB	10week_Yeast	10week_None
Acetaldehyde	1.818 ± 0.493	0.279 ± 0.014	2.016 ± 0.262	0.381 ± 0.16
Methanethiol	0.028 ± 0.008	0.061 ± 0.012	0.029 ± 0.002	0.042 ± 0.011
2-Propanone (Acetone)	0.824 ± 0.233	1.146 ± 0.236	0.852 ± 0.135	1.09 ± 0.205
2-Propanol	0.097 ± 0.036	0.049 ± 0.002	0.094 ± 0.015	0.071 ± 0.003
Furan	0.028 ± 0.016	0.036 ± 0.014	0.03 ± 0.008	0.018 ± 0.008
Ethyl formate	0.074 ± 0.017	0.003 ± 0.001	0.075 ± 0.026	0.002 ± 0.002
2-Methyl-2-propanol	0.026 ± 0.012	0.018 ± 0.007	0.018 ± 0.006	0.018 ± 0.005
Methyl acetate	0.139 ± 0.02	0.219 ± 0.028	0.093 ± 0.013	0.072 ± 0.014
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.723 ± 0.254	0.584 ± 0.144	0.952 ± 0.196	0.646 ± 0.057
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.193 ± 0.111	0.017 ± 0.005	0.064 ± 0.008	0.014 ± 0.003
2-Butanone	0.365 ± 0.063	0.499 ± 0.155	0.357 ± 0.102	0.37 ± 0.057
2-Methyl-furan	0.005 ± 0.002	0.008 ± 0.006	0.012 ± 0.005	0.01 ± 0.004
2-Ethoxy-2-methyl-propane	0.015 ± 0.004	0.009 ± 0.004	0.013 ± 0.002	0.01 ± 0.002
2-Butenal	0.029 ± 0.014	0 ± 0	0.022 ± 0.011	0 ± 0
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.848 ± 0.281	0.631 ± 0.177	1.039 ± 0.202	0.643 ± 0.076
3-Methyl-2-butanone	0.025 ± 0.013	0.047 ± 0.014	0.02 ± 0.006	0.035 ± 0.007
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.694 ± 0.23	0.649 ± 0.197	0.859 ± 0.17	0.656 ± 0.076
2-Pentanone	0.023 ± 0.007	0.031 ± 0.01	0.035 ± 0.009	0.035 ± 0.004
2,3-Pentanedione	0.017 ± 0.005	0.007 ± 0.004	0.024 ± 0.013	0.006 ± 0.004
Ethyl propionate	0.129 ± 0.032	0.002 ± 0.001	0.226 ± 0.072	0.003 ± 0.002
<i>n</i> -Propyl acetate	0.051 ± 0.008	0.015 ± 0.006	0.052 ± 0.01	0.009 ± 0.001
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.884 ± 0.15	0.05 ± 0.017	1.539 ± 0.298	0.164 ± 0.02
Dimethyl disulfide	0.007 ± 0.004	0.008 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001
Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0.181 ± 0.067	0.006 ± 0.002	0.289 ± 0.036	0.005 ± 0.005
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.141 ± 0.03	0.005 ± 0.004	0.121 ± 0.022	0.003 ± 0.003
3,4-Hexanedione	0.005 ± 0.002	0.001 ± 0.002	0.007 ± 0.002	0.001 ± 0.001
Hexanal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.002
Ethyl butanoate	0.037 ± 0.01	0.001 ± 0.001	0.066 ± 0.007	0.001 ± 0.001
Butyl acetate	0.117 ± 0.013	0 ± 0	0.119 ± 0.007	0.001 ± 0.001
Ethyl 2-methylbutanoate	0.125 ± 0.038	0.002 ± 0.002	0.123 ± 0.014	0.003 ± 0.003
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.04 ± 0.011	0.003 ± 0.001	0.039 ± 0.003	0.003 ± 0.002
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.162 ± 0.05	0.008 ± 0.004	0.151 ± 0.034	0.003 ± 0.003
2-Methylbutyl acetate	0.05 ± 0.006	0 ± 0	0.042 ± 0.015	0.002 ± 0.003
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.003
( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzaldehyde	0.012 ± 0.005	0.016 ± 0.003	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.001
( <i>Z</i> )-1,5-Octadien-3-ol	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001
1-Octen-3-ol	0.056 ± 0.008	0.038 ± 0.008	0.045 ± 0.006	0.054 ± 0.014
3-Octanone	0.012 ± 0.005	0.005 ± 0.002	0.016 ± 0.004	0.002 ± 0.002
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0.252 ± 0.133	0.003 ± 0.001	0.389 ± 0.014	0.006 ± 0.002

Constituent name	10week_Control	10week_LAB	10week_Yeast	10week_None
3-Octanol	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.002	0 ± 0
2-Octenal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.002
Ethyl heptanoate	0.005 ± 0.002	0 ± 0	0.012 ± 0.002	0 ± 0
Ethyl benzoate	0.02 ± 0.008	0.001 ± 0.001	0.021 ± 0.003	0.002 ± 0.001
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0.013 ± 0.002	0 ± 0	0.042 ± 0.006	0.002 ± 0.002

Constituent name	18week_Control	18week_LAB	18week_Yeast	18week_None
Acetaldehyde	1.36 ± 0.711	0.265 ± 0.015	1.296 ± 0.165	0.255 ± 0.011
Methanethiol	0.038 ± 0.01	0.047 ± 0.002	0.033 ± 0.006	0.041 ± 0.009
2-Propanone (Acetone)	1.209 ± 0.211	1.02 ± 0.123	1.21 ± 0.142	1.236 ± 0.355
2-Propanol	0.083 ± 0.02	0.057 ± 0.011	0.098 ± 0.009	0.098 ± 0.024
Furan	0.048 ± 0.024	0.029 ± 0.006	0.019 ± 0.003	0.018 ± 0.005
Ethyl formate	0.1 ± 0.041	0.003 ± 0.001	0.08 ± 0.014	0.003 ± 0.002
2-Methyl-2-propanol	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Methyl acetate	0.162 ± 0.024	0.264 ± 0.027	0.099 ± 0.012	0.17 ± 0.014
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	1.545 ± 0.355	1.065 ± 0.047	1.368 ± 0.169	1.091 ± 0.122
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.197 ± 0.059	0.019 ± 0.005	0.051 ± 0.015	0.016 ± 0.006
2-Butanone	0.486 ± 0.058	0.439 ± 0.075	0.396 ± 0.06	0.366 ± 0.048
2-Methyl-furan	0.009 ± 0.004	0.009 ± 0.002	0.011 ± 0.001	0.018 ± 0.007
2-Ethoxy-2-methyl-propane	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0
2-Butenal	0.016 ± 0.009	0 ± 0	0.013 ± 0.003	0 ± 0
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	1.167 ± 0.493	0.879 ± 0.027	0.949 ± 0.028	1.281 ± 0.165
3-Methyl-2-butanone	0.04 ± 0.016	0.05 ± 0.008	0.038 ± 0.006	0.038 ± 0.01
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	1.292 ± 0.333	1.146 ± 0.006	0.994 ± 0.039	1.155 ± 0.187
2-Pentanone	0.034 ± 0.024	0.039 ± 0.008	0.041 ± 0.009	0.056 ± 0.008
2,3-Pentanedione	0.023 ± 0.018	0.011 ± 0.004	0.011 ± 0.002	0.005 ± 0.001
Ethyl propionate	0.19 ± 0.083	0.001 ± 0.002	0.244 ± 0.074	0.007 ± 0.001
<i>n</i> -Propyl acetate	0.049 ± 0.009	0.02 ± 0.004	0.051 ± 0.004	0.017 ± 0.008
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	1.049 ± 0.369	0.064 ± 0.004	1.568 ± 0.143	0.29 ± 0.067
Dimethyl disulfide	0.01 ± 0.004	0.007 ± 0.002	0.009 ± 0.001	0.008 ± 0.002
Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0.199 ± 0.098	0.012 ± 0.002	0.291 ± 0.026	0.019 ± 0.004
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.123 ± 0.002	0.014 ± 0.005	0.131 ± 0.012	0.02 ± 0.002
3,4-Hexanedione	0.007 ± 0.005	0 ± 0	0.003 ± 0.002	0 ± 0
Hexanal	0 ± 0	0.001 ± 0.002	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl butanoate	0.036 ± 0.01	0.002 ± 0.001	0.061 ± 0.004	0.004 ± 0.001
Butyl acetate	0.108 ± 0.031	0 ± 0	0.113 ± 0.006	0 ± 0
Ethyl 2-methylbutanoate	0.126 ± 0.03	0.008 ± 0.004	0.116 ± 0.016	0.026 ± 0.005
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.06 ± 0.025	0.003 ± 0.001	0.051 ± 0.004	0.008 ± 0.002
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.133 ± 0.013	0.015 ± 0.007	0.13 ± 0.014	0.024 ± 0.004
2-Methylbutyl acetate	0.036 ± 0.002	0.008 ± 0.008	0.041 ± 0.006	0.01 ± 0.003
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.002
( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	0.003 ± 0.002	0.002 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzaldehyde	0.011 ± 0.006	0.007 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.002
( <i>Z</i> )-1,5-Octadien-3-ol	0.003 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.001
1-Octen-3-ol	0.06 ± 0.013	0.048 ± 0.003	0.05 ± 0.011	0.073 ± 0.01
3-Octanone	0.022 ± 0.012	0.003 ± 0.003	0.029 ± 0.004	0.006 ± 0.003
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0.142 ± 0.012	0.01 ± 0.009	0.262 ± 0.014	0.089 ± 0.021



Constituent name	18week_Control	18week_LAB	18week_Yeast	18week_None
3-Octanol	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Octenal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl heptanoate	0.007 ± 0.002	0 ± 0	0.01 ± 0.003	0.001 ± 0.001
Ethyl benzoate	0.021 ± 0.007	0.001 ± 0.001	0.017 ± 0.006	0.003 ± 0.001
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0.02 ± 0.008	0 ± 0	0.026 ± 0.009	0.003 ± 0.001

各化合物の相対強度は mean ± standard deviation で表した. Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB : 乳酸菌添加,

Yeast : 酵母添加, None : 乳酸菌・酵母添加なし

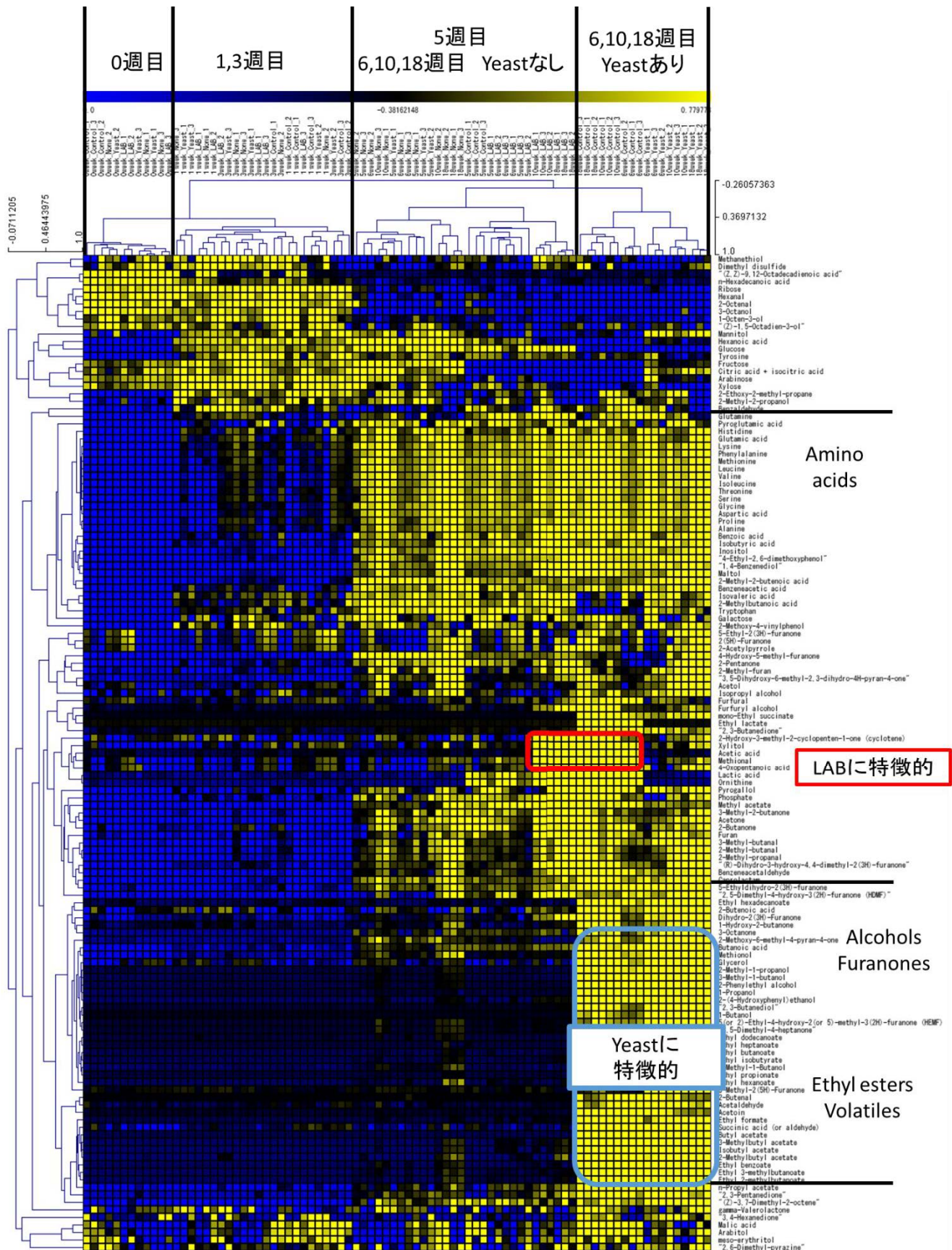
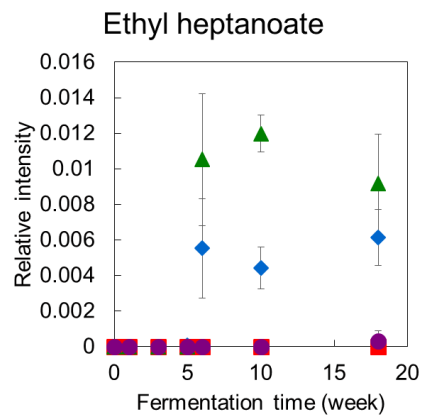
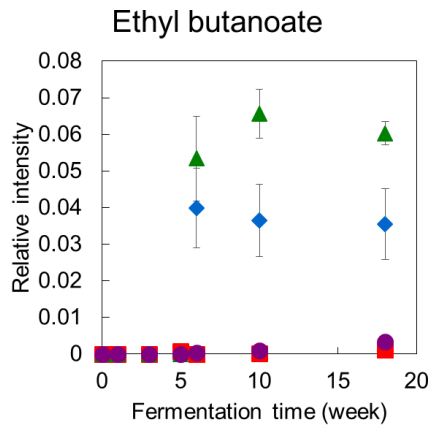
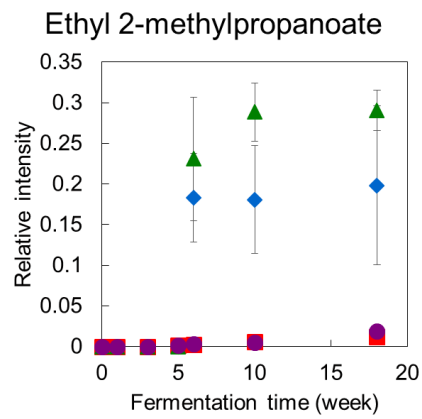
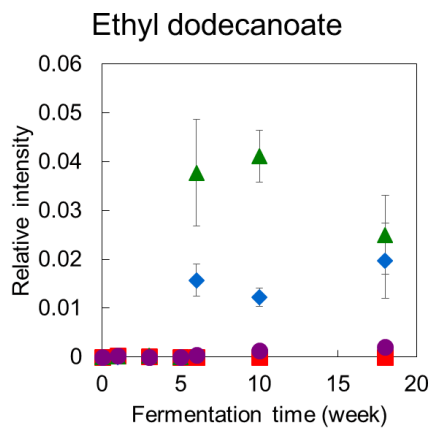
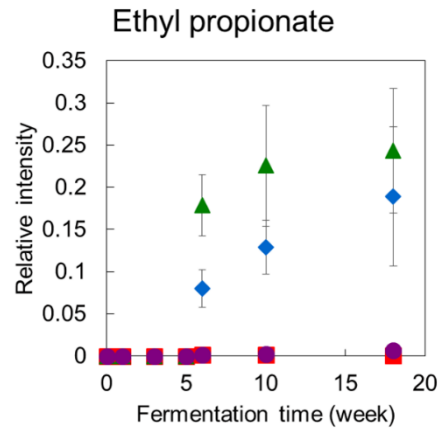
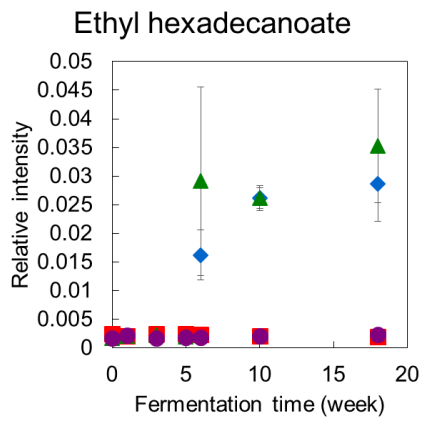
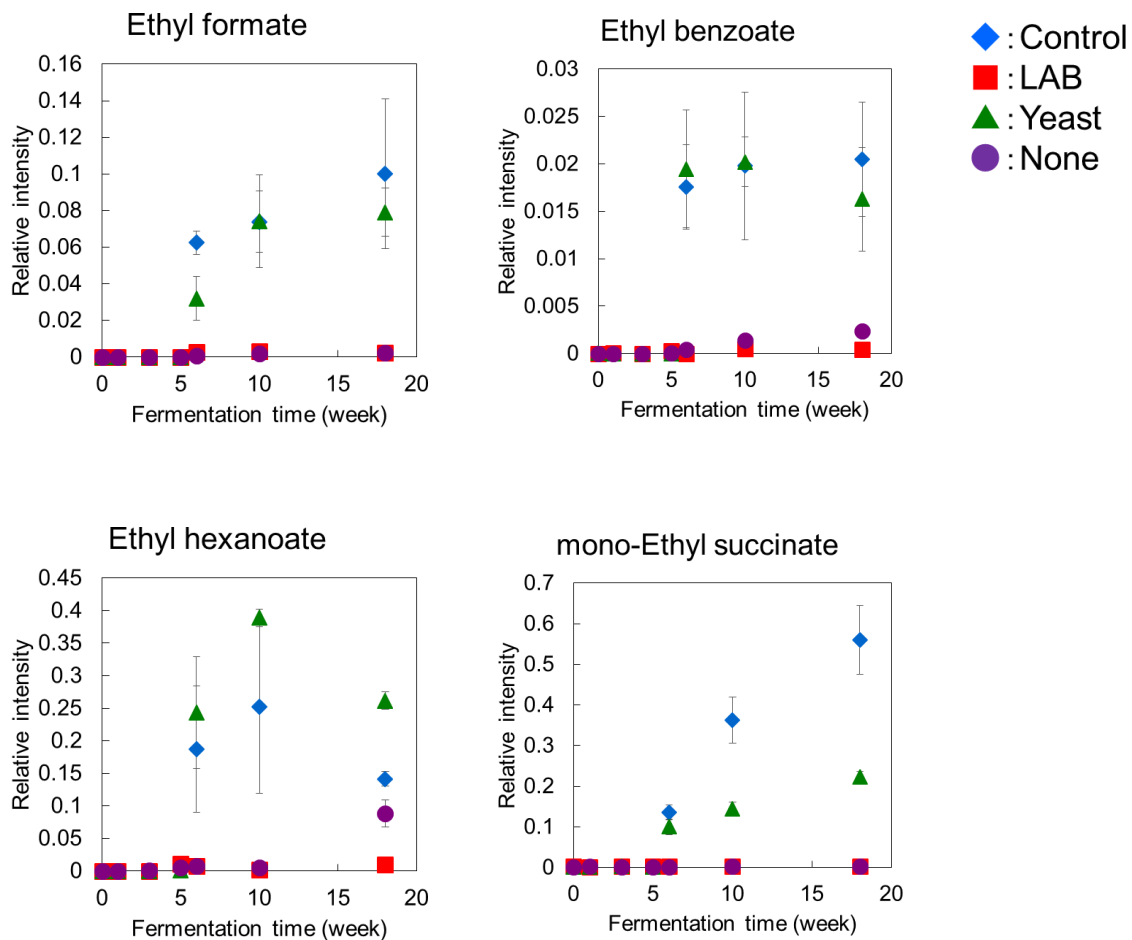


図 A1. GC/MS によって取得した成分プロファイルを用いた第 2 章の醤油サンプルの階層クラスタ分析の結果

Distance metric は Person Correlation, Linkage method は Average linkage clustering を使用した。

得られた樹形図では、醗酵初期, 中期, 醗酵後期のそれぞれのサンプルが異なったクラスターとなり, 特に醗酵後期は酵母の添加・非添加で異なったクラスターとなった。





☒ **A2. Ethyl hexadecanoate (ethyl palmitate), ethyl propionate, ethyl dodecanoate (ethyl laurate), ethyl 2-methylpropanoate (ethyl isobutyrate), ethyl butanoate, ethyl heptanoate, ethyl formate, ethyl benzoate, ethyl hexanoate (ethyl caproate), mono-ethyl succinate の醸造中の変化**

Ethyl hexadecanoate と mono-ethyl succinate は酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol, その他の esters はヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).

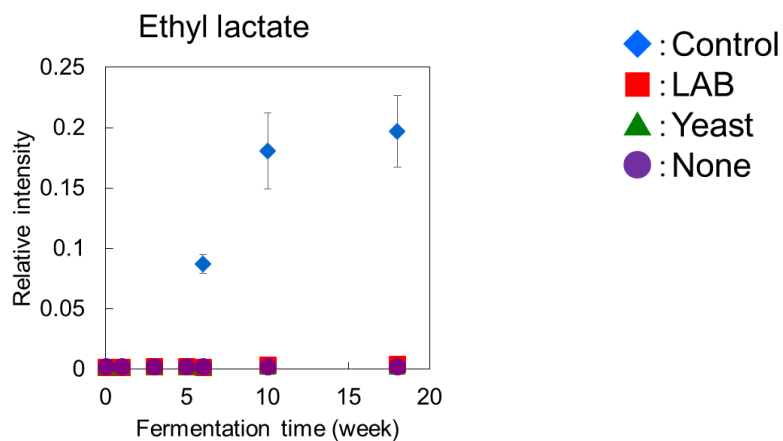
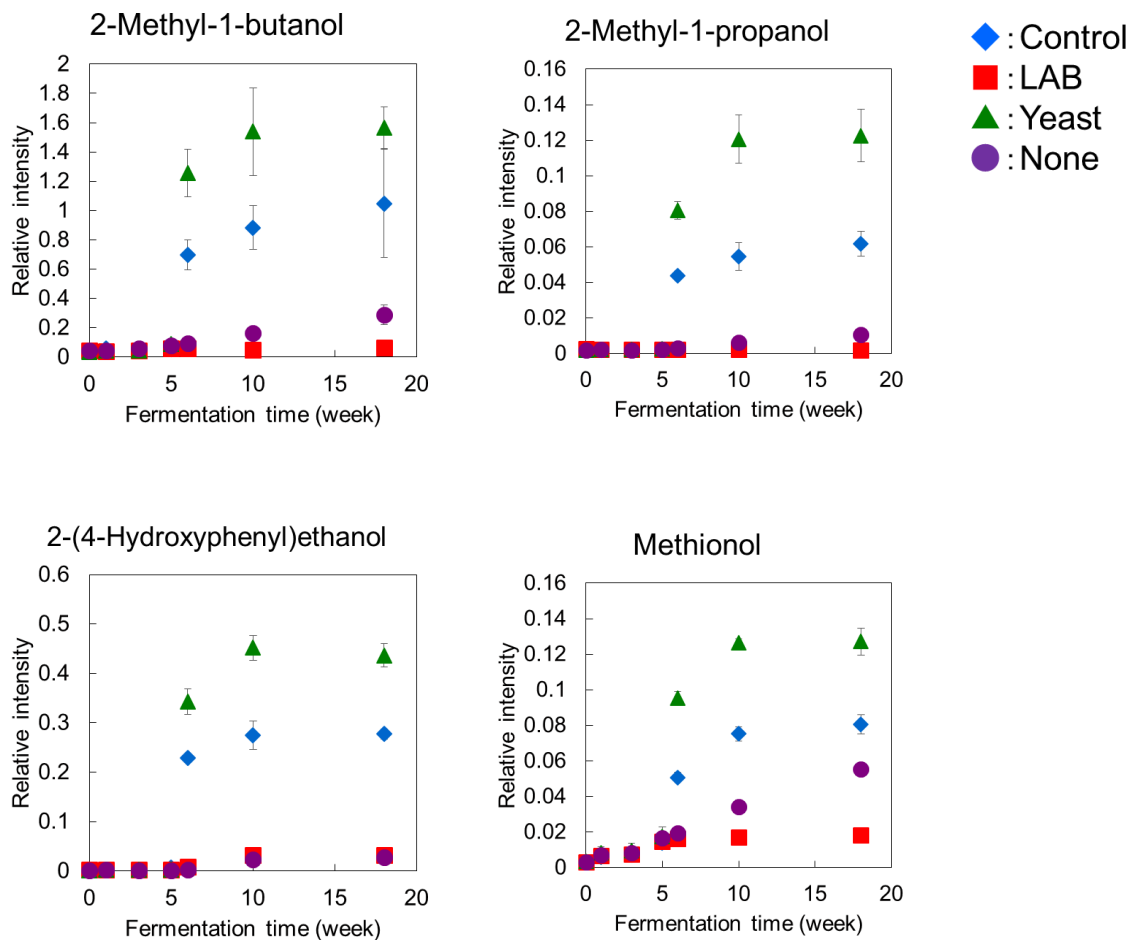


図 A3. Ethyl lactate の醸造中の変化

酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).



☒ A4. 2-Methyl-1-butanol (active amyl alcohol) , 2-methyl-1-propanol (isobutyl alcohol) , 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol, 3-(methylthio)-1-propanol (methionol)の醸造中の変化

2-Methyl-1-butanolはヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた1-propanol-1,1-d<sub>2</sub>をその他の alcohols は酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした (n = 3).

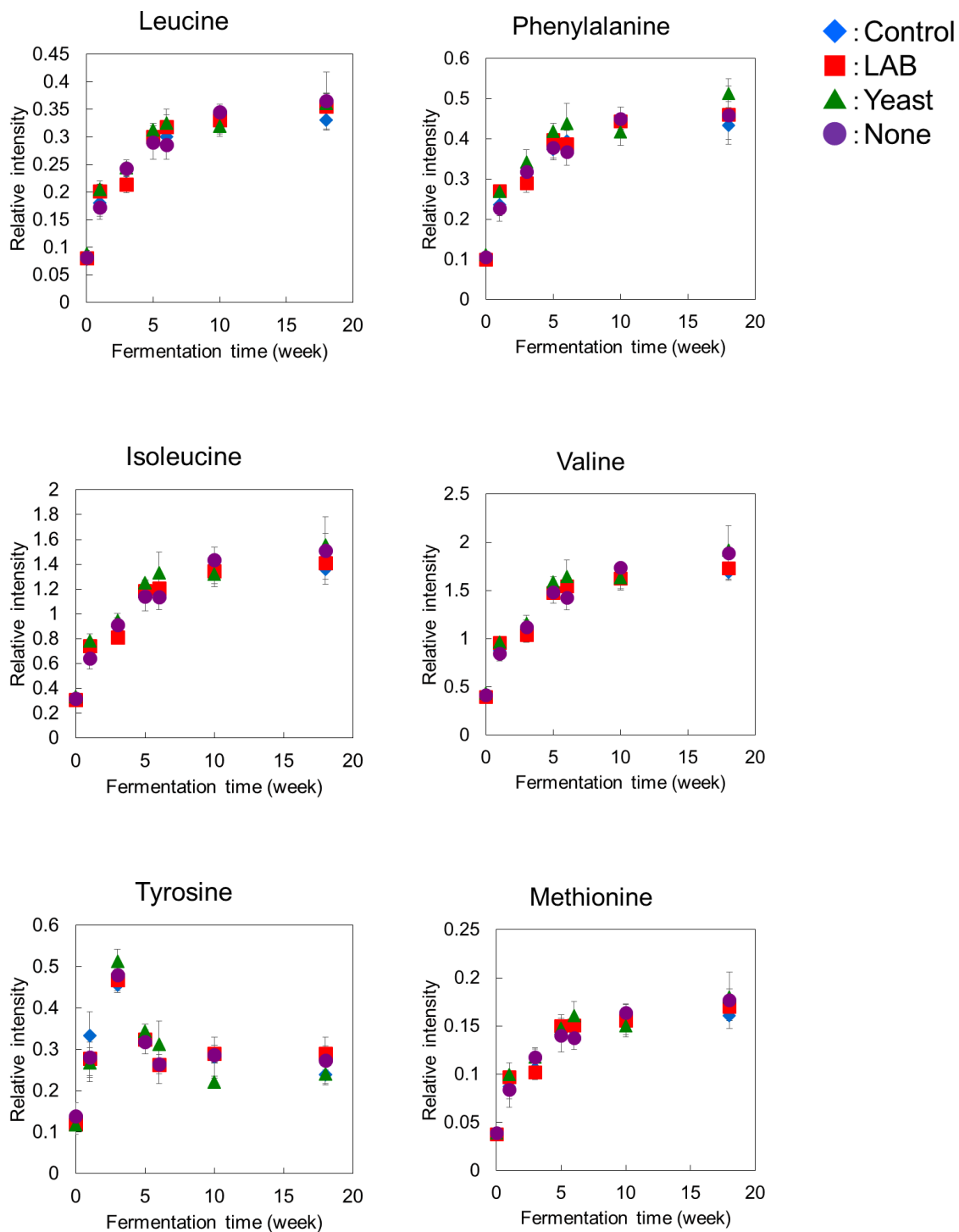


図 A5. Leucine, phenylalanine, isoleucine, valine, tyrosine, methionine の醸造中の変化

親水性低分子成分分析によって得られた ribitol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n=3$ ).

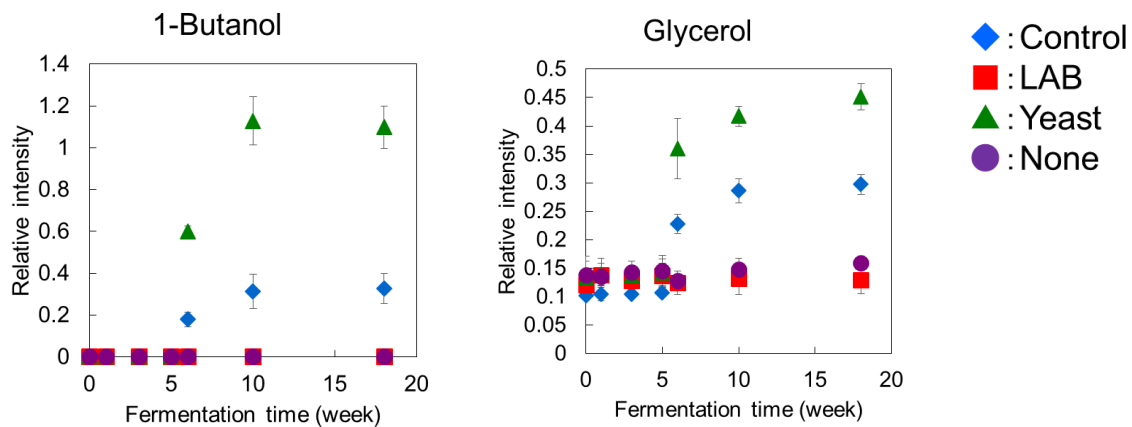
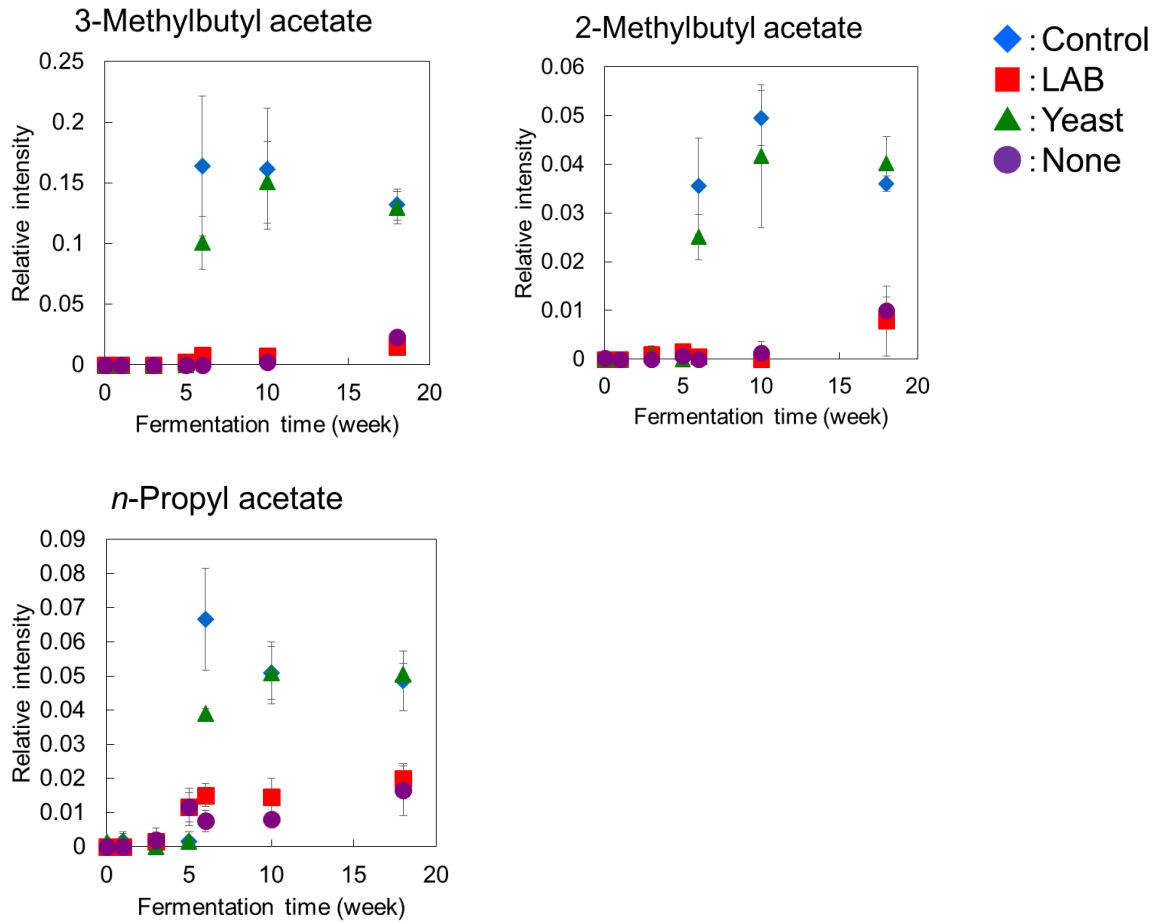


図 A6. 1-Butanol , glycerol の醸造中の変化

1-Butanol は酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol, glycerol は親水性低分子成分分析によって得られた ribitol を内部標準物質として基準化した相対強度を, 醗酵時間に対してプロットした ( $n=3$ ).





☒ A7. 3-Methylbutyl acetate (isoamyl acetate), 2-methylbutyl acetate, n-propyl acetate の醸造中の変化

ヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした (n = 3).

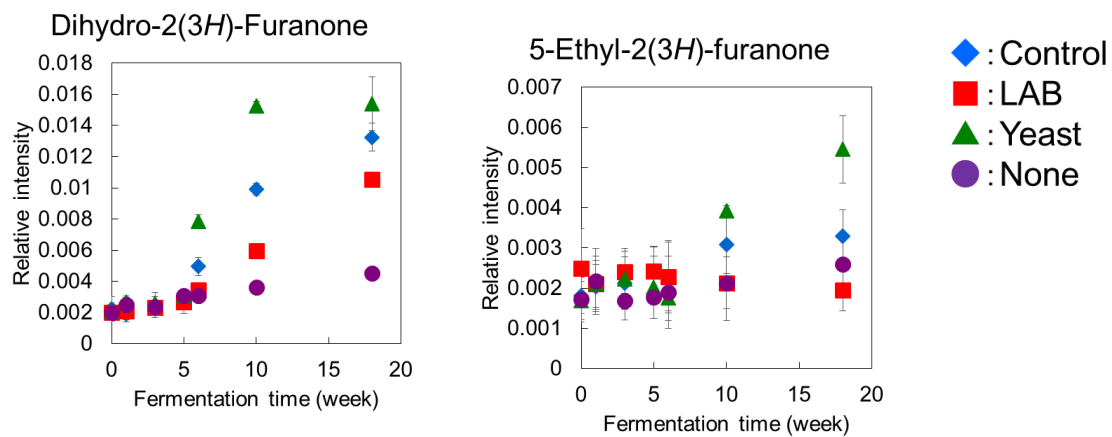
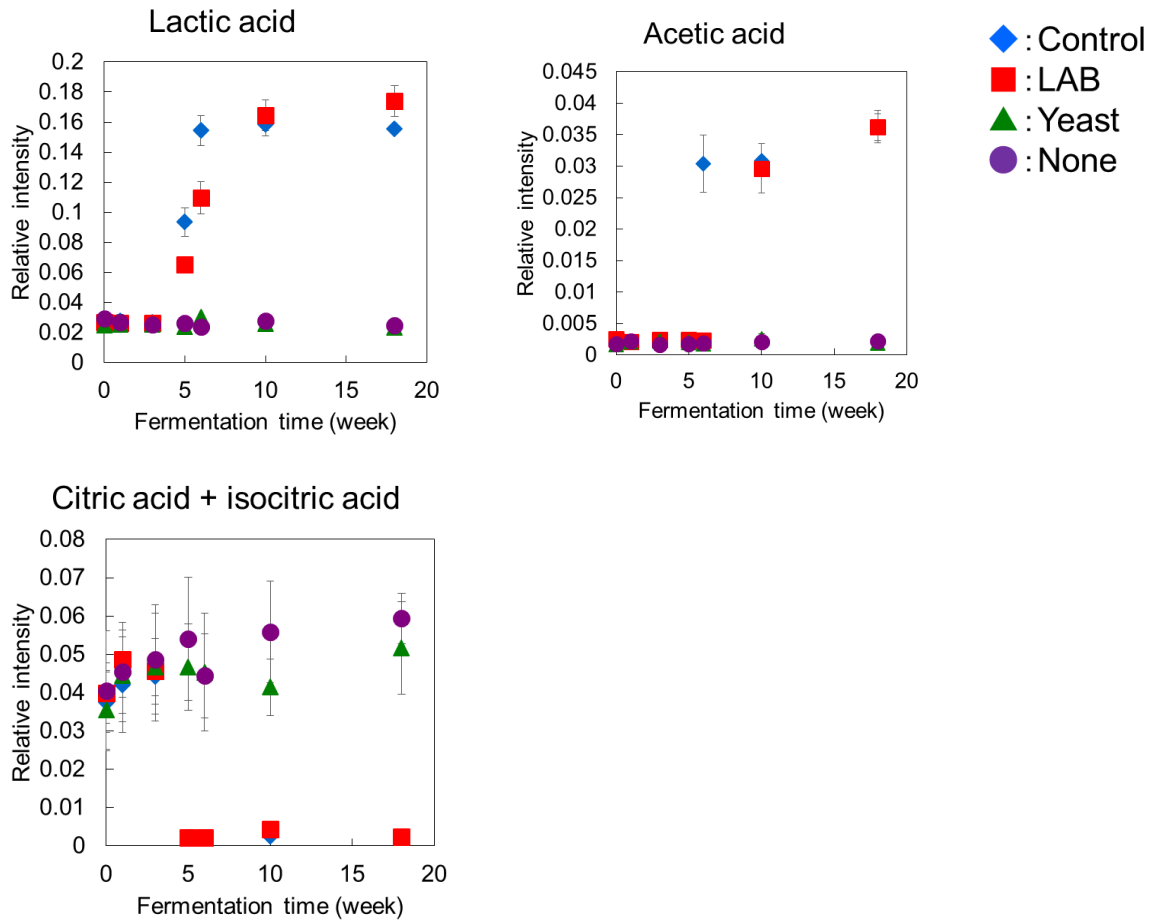


図 A8. Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone), 5-ethyl-2(3H)-furanone の醸造中の変化

酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした( $n = 3$ ).



☒ A9. Acetic acid, lactic acid, citric acid + isocitric acid の醸造中の変化

Lactic acid と citric acid + isocitric acid は親水性低分子成分分析によって得られた ribitol, 酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を, 醗酵時間に対してプロットした ( $n=3$ ).

表 A7. 第 3 章のサンプルでアノテーションされた親水性低分子成分

Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative		Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative	
			<i>m/z</i>				<i>m/z</i>
Lactic acid	1050.89		87	Phenylalanine	1624.37		218
Alanine	1094.65		116	Xylose	1634.02		103
Valine	1207.39		144	Arabinose	1641.31		103
Glycerol	1260.98		147	Ribose	1655.47		147
Phosphate	1261.06		299	Xylitol	1682.93		217
Leucine	1263.10		158	Arabitol	1696.87		217
Isoleucine	1284.84		158	Glutamine	1763.13		156
Proline	1293.33		142	Citric acid + Isocitric acid	1800.10		147
Glycine	1299.05		174	Ornithine	1803.90		142
Succinic acid (or aldehyde)	1306.40		147	Fructose	1847.48		103
Serine	1348.11		204	Galactose	1868.19		205
Threonine	1373.21		218	Glucose	1875.81		147
Malic acid	1474.32		147	Mannitol	1905.36		205
meso-Erythritol	1488.33		147	Lysine	1908.12		174
Aspartic acid	1507.17		232	Histidine	1912.76		154
Methionine	1513.65		176	Tyrosine	1929.67		218
Pyroglutamic acid	1519.72		156	Inositol	2072.92		217
Glutamic acid	1606.99		246	Tryptophan	2214.31		202

a: *n*-alkanes C11 – C32 を用いて算出した Retention indices (RI)

表 A8. 第 3 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (酢酸エチル抽出)

Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative <i>m/z</i>	Reliability <sup>b</sup>
1-Propanol		59	C
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)		74	A, C
1-Butanol		56	A
3-Methyl-1-butanol	1205.48	55	A, C
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	1274.97	88	A, B, C
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	1287.97	74	A, B, C
Ethyl lactate	1334.19	75	A, B, C
1-Hydroxy-2-butanone	1360.78	57	C
Acetic acid	1419.88	59	A, B, C
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	1440.77	57	A, B, C
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	1448.22	96	A, B, C
2,3-Butanediol	1525.25	57	A, B, C
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	1553.84	73	B, C
Dihydro-5-methyl-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Valerolactone)	1570.28	56	A, C
Dihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-Butyrolactone)	1606.45	86	A, B, C
Butanoic acid (Butyric acid)	1612.62	60	B, C
Phenylacetaldehyde	1624.42	91	A, C
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	1643.06	98	A, B, C
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	1654.63	60	A, B, C
2-Methylbutanoic acid	1655.64	74	A, B, C
5-Ethyldihydro-2(3 <i>H</i> )-furanone (gamma-hexalactone)	1679.10	85	A, B, C
3-Methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone	1695.06	69	B, C
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	1698.43	106	A, B, C
2(5 <i>H</i> )-furanone	1730.55	55	A, C
2-Butenoic acid	1754.92	86	B, C
2-Hydroxy-3-methyl- 2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	1805.57	112	B, C
2-Methyl-2-butenic acid	1827.69	55	A, B, C
Hexanoic acid (Caproic acid)	1829.06	60	B, C
2-Phenylethyl alcohol	1891.20	91	A, B, C
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	1938.84	126	A, B, C
2-Acetylpyrrole	1947.68	94	A, B, C
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	1952.29	83	B, C
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy- 4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	2003.10	71	C
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	2008.05	128	A, B, C

Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative <i>m/z</i>	Reliability <sup>b</sup>
3,5-Dimethyl-4-heptanone	2039.48	57	C
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy- 2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	2070.65	71	A, B
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	2088.91	114	A, B
Caprolactam	2144.00	55	A, C
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	2170.61	135	A, B, C
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	2237.13	154	C
3,5-Dihydroxy-6-methyl- 2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	2240.95	101	C
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	2249.03	88	C
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	2279.45	69	C
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	2296.21	56	A, C
mono-Ethyl succinate	2353.65	101	C
Benzoic acid	2422.49	105	C
Phenylacetic acid	2530.37	91	C
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	2541.07	180	A, C
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	2883.57	73	C
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	2961.10	107	C
1,4-Benzenediol	2982.95	110	C
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	3177.31	81	C

a: *n*-alkanes C11 – C32 を用いて算出した Retention indices (RI)

d: ピークアノテーションの信頼度: A, マススペクトルと RI を, 標準品と確認 ; B, 他の文献と RI を確認 (Kaneko et al. 2013; Lee et al. 2013; LEE et al. 2006; Sun et al. 2010) ; C, NIST11 MS spectral library とマススペクトルを確認.

表 A9. 第 3 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (スタティックヘッドスペースサンプリング)

Constituent name	RI <sup>a</sup>	Quantitative <i>m/z</i>	Reliability <sup>b</sup>
Acetaldehyde		44	A, B
Methanethiol		48	A, B
2-Propanone (Acetone)		43	A, B
2-Propanol		45	A, B
Furan		68	A, B
Ethyl formate	501.72	45	B
2-Methyl-2-propanol	510.20	59	A, B
Methyl acetate	512.43	43	A, B
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	535.67	43	A, B
2,3-Butanedione (Diacetyl)	562.23	43	A, B
2-Butanone	572.36	43	A, B
2-Methyl-furan	592.73	82	B
2-Ethoxy-2-methyl-propane	617.63	59	B
2-Butenal	624.46	39	A, B
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	634.48	44	A, B
3-Methyl-2-butanone	639.92	43	A, B
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	645.17	57	A, B
2-Pentanone	666.55	43	A, B
2,3-Pentanedione	671.32	43	A, B
Ethyl propionate	693.64	57	A, B
<i>n</i> -Propyl acetate	695.99	43	A, B
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	722.58	57	A, B
Dimethyl disulfide	730.63	94	A, B
Ethyl 2-methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	744.68	43	A, B
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	757.38	43	B
3,4-Hexanedione	775.64	57	A, B
Hexanal	778.87	43	A, B
Ethyl butanoate	782.75	71	B
Butyl acetate	793.96	43	A, B
Ethyl 2-methylbutanoate	835.74	57	A, B
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	837.28	88	A, B
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	858.39	43	A, B
2-Methylbutyl acetate	861.32	43	A, B
2,6-Dimethyl-pyrazine	890.79	108	A, B
( <i>Z</i> )-3,7-Dimethyl-2-octene	893.43	70	A, B
Benzaldehyde	942.12	106	A, B

(Z)-1,5-Octadien-3-ol	958.45	57	A, B
1-Octen-3-ol	964.02	57	B
3-Octanone	968.48	43	A, B
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	978.96	88	A, B
3-Octanol	981.38	59	A, B
2-Octenal	1038.39	41	B
Ethyl heptanoate	1078.22	88	A, B
Ethyl benzoate	1158.33	105	B
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	1177.38	88	A, B

a: *n*-alkanes C11 – C32 を用いて算出した Retention indices (RI)

b: ピークアノテーションの信頼度: A, マススペクトルと RI を, 標準品と確認 ; B, NIST11 MS spectral library とマススペクトルを確認.



表 A10. 第 2 章のサンプルでアノテーションされた親水性低分子成分の各サンプルにおける

相対強度

Constituent name	0week_Control	0week_LAB+EtOH	0week_Acids+Yeast	0week_Acids+EtOH
Lactic acid	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.002
Alanine	0.479 ± 0.026	0.377 ± 0.025	0.406 ± 0.097	0.355 ± 0.081
Valine	0.329 ± 0.02	0.28 ± 0.018	0.299 ± 0.041	0.276 ± 0.049
Glycerol	0.686 ± 0.025	0.673 ± 0.013	0.673 ± 0.032	0.673 ± 0.069
Phosphate	0.294 ± 0.021	0.254 ± 0.015	0.272 ± 0.011	0.273 ± 0.028
Leucine	0.449 ± 0.011	0.395 ± 0.029	0.398 ± 0.05	0.395 ± 0.073
Isoleucine	0.254 ± 0.01	0.221 ± 0.01	0.219 ± 0.024	0.219 ± 0.038
Proline	0.396 ± 0.04	0.319 ± 0.016	0.336 ± 0.079	0.335 ± 0.11
Glycine	0.385 ± 0.019	0.367 ± 0.01	0.377 ± 0.039	0.343 ± 0.008
Succinic acid (or aldehyde)	0.072 ± 0.005	0.065 ± 0.006	0.069 ± 0.01	0.062 ± 0.005
Serine	0.208 ± 0.013	0.187 ± 0.02	0.186 ± 0.027	0.188 ± 0.026
Threonine	0.066 ± 0.006	0.061 ± 0.005	0.061 ± 0.008	0.061 ± 0.008
Malic acid	0.169 ± 0.014	0.149 ± 0.016	0.156 ± 0.021	0.149 ± 0.028
<i>meso</i> -Erythritol	0.493 ± 0.022	0.468 ± 0.024	0.475 ± 0.051	0.473 ± 0.037
Aspartic acid	0.283 ± 0.012	0.272 ± 0.027	0.277 ± 0.027	0.259 ± 0.026
Methionine	0.037 ± 0.003	0.034 ± 0.004	0.037 ± 0.004	0.034 ± 0.004
Pyroglutamic acid	0.146 ± 0.031	0.202 ± 0.056	0.166 ± 0.071	0.144 ± 0.079
Glutamic acid	0.753 ± 0.062	0.661 ± 0.045	0.713 ± 0.117	0.705 ± 0.095
Phenylalanine	0.115 ± 0.003	0.112 ± 0.004	0.113 ± 0.01	0.109 ± 0.01
Xylose	0.544 ± 0.038	0.454 ± 0.023	0.484 ± 0.065	0.471 ± 0.055
Arabinose	0.542 ± 0.028	0.46 ± 0.037	0.476 ± 0.084	0.46 ± 0.057
Ribose	0.024 ± 0.001	0.022 ± 0.001	0.023 ± 0.004	0.02 ± 0.003
Xylitol	0.016 ± 0.001	0.015 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.014 ± 0.002
Arabitol	0.953 ± 0.032	0.981 ± 0.055	1.004 ± 0.047	0.942 ± 0.032
Glutamine	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.035 ± 0.002	0.028 ± 0.004	0.028 ± 0.008	0.027 ± 0.01
Ornithine	0.154 ± 0.006	0.138 ± 0.007	0.138 ± 0.027	0.125 ± 0.029
Fructose	0.021 ± 0.002	0.017 ± 0.002	0.018 ± 0.004	0.017 ± 0.002
Galactose	0.153 ± 0.008	0.144 ± 0.013	0.146 ± 0.015	0.156 ± 0.018
Glucose	1.439 ± 0.043	1.699 ± 0.07	1.686 ± 0.216	1.729 ± 0.183
Mannitol	0.194 ± 0.005	0.194 ± 0.007	0.2 ± 0.005	0.186 ± 0.013
Lysine	0.193 ± 0.009	0.185 ± 0.012	0.19 ± 0.02	0.18 ± 0.02
Histidine	0.045 ± 0.005	0.036 ± 0.004	0.039 ± 0.01	0.036 ± 0.015
Tyrosine	0.15 ± 0.017	0.124 ± 0.004	0.148 ± 0.009	0.137 ± 0.014
Inositol	0.025 ± 0.002	0.025 ± 0.002	0.025 ± 0.002	0.025 ± 0.001
Tryptophan	0.018 ± 0.002	0.02 ± 0.003	0.018 ± 0.002	0.017 ± 0.001

Constituent name	1week_Control	1week_LAB+EtOH	1week_Acids+Yeast	1week_Acids+EtOH
Lactic acid	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.007 ± 0.002	0.004 ± 0.001
Alanine	0.749 ± 0.206	0.794 ± 0.147	0.489 ± 0.059	0.566 ± 0.036
Valine	0.652 ± 0.127	0.66 ± 0.007	0.438 ± 0.048	0.556 ± 0.062
Glycerol	0.758 ± 0.092	0.754 ± 0.022	0.586 ± 0.071	0.714 ± 0.083
Phosphate	0.34 ± 0.036	0.347 ± 0.055	0.242 ± 0.041	0.314 ± 0.009
Leucine	0.905 ± 0.152	0.945 ± 0.016	0.652 ± 0.081	0.809 ± 0.101
Isoleucine	0.525 ± 0.112	0.539 ± 0.012	0.364 ± 0.037	0.447 ± 0.046
Proline	0.83 ± 0.241	0.903 ± 0.102	0.544 ± 0.074	0.715 ± 0.112
Glycine	0.72 ± 0.096	0.698 ± 0.01	0.616 ± 0.082	0.633 ± 0.049
Succinic acid (or aldehyde)	0.084 ± 0.016	0.083 ± 0.003	0.06 ± 0.009	0.073 ± 0.006
Serine	0.418 ± 0.077	0.427 ± 0.014	0.346 ± 0.041	0.366 ± 0.02
Threonine	0.129 ± 0.019	0.129 ± 0.004	0.105 ± 0.013	0.111 ± 0.002
Malic acid	0.199 ± 0.031	0.2 ± 0.011	0.135 ± 0.023	0.172 ± 0.018
<i>meso</i> -Erythritol	0.491 ± 0.065	0.5 ± 0.018	0.373 ± 0.065	0.442 ± 0.022
Aspartic acid	0.598 ± 0.074	0.589 ± 0.011	0.53 ± 0.067	0.512 ± 0.018
Methionine	0.076 ± 0.011	0.078 ± 0.002	0.061 ± 0.009	0.066 ± 0.004
Pyroglutamic acid	0.395 ± 0.092	0.261 ± 0.183	0.13 ± 0.012	0.39 ± 0.077
Glutamic acid	1.226 ± 0.201	1.304 ± 0.069	1.272 ± 0.159	1.08 ± 0.089
Phenylalanine	0.241 ± 0.024	0.25 ± 0.011	0.196 ± 0.027	0.222 ± 0.009
Xylose	0.611 ± 0.143	0.588 ± 0.008	0.409 ± 0.06	0.548 ± 0.07
Arabinose	0.648 ± 0.147	0.629 ± 0.011	0.419 ± 0.065	0.569 ± 0.078
Ribose	0.036 ± 0.006	0.035 ± 0.001	0.028 ± 0.005	0.031 ± 0.003
Xylitol	0.02 ± 0.003	0.021 ± 0.001	0.017 ± 0.003	0.017 ± 0.003
Arabitol	1.167 ± 0.08	1.16 ± 0.037	1.047 ± 0.193	1.046 ± 0.109
Glutamine	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.007 ± 0.002	0.004 ± 0.001
Citric acid + Isocitric acid	0.039 ± 0.009	0.035 ± 0.004	0.024 ± 0.004	0.032 ± 0.004
Ornithine	0.307 ± 0.067	0.321 ± 0.03	0.214 ± 0.027	0.278 ± 0.027
Fructose	0.024 ± 0.006	0.023 ± 0.001	0.014 ± 0.002	0.02 ± 0.001
Galactose	0.235 ± 0.011	0.223 ± 0.012	0.183 ± 0.031	0.207 ± 0.029
Glucose	1.677 ± 0.302	1.721 ± 0.077	2.509 ± 0.072	1.721 ± 0.229
Mannitol	0.222 ± 0.027	0.226 ± 0.01	0.203 ± 0.039	0.206 ± 0.019
Lysine	0.367 ± 0.037	0.365 ± 0.013	0.286 ± 0.049	0.319 ± 0.023
Histidine	0.088 ± 0.027	0.094 ± 0.014	0.06 ± 0.011	0.057 ± 0.023
Tyrosine	0.164 ± 0.025	0.302 ± 0.2	0.169 ± 0.008	0.307 ± 0.074
Inositol	0.042 ± 0.003	0.04 ± 0.003	0.034 ± 0.005	0.037 ± 0.004
Tryptophan	0.046 ± 0.005	0.04 ± 0.008	0.029 ± 0.004	0.038 ± 0.01

Constituent name	3week_Control	3week_LAB+EtOH	3week_Acids+Yeast	3week_Acids+EtOH
Lactic acid	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002
Alanine	0.921 ± 0.065	0.829 ± 0.144	0.799 ± 0.151	0.59 ± 0.227
Valine	0.844 ± 0.038	0.798 ± 0.085	0.758 ± 0.087	0.56 ± 0.163
Glycerol	0.757 ± 0.018	0.709 ± 0.05	0.706 ± 0.027	0.549 ± 0.143
Phosphate	0.415 ± 0.024	0.405 ± 0.03	0.353 ± 0.045	0.283 ± 0.089
Leucine	1.213 ± 0.034	1.162 ± 0.119	1.125 ± 0.105	0.834 ± 0.24
Isoleucine	0.691 ± 0.005	0.667 ± 0.06	0.635 ± 0.067	0.474 ± 0.134
Proline	1.099 ± 0.08	1.003 ± 0.155	0.972 ± 0.192	0.771 ± 0.278
Glycine	0.89 ± 0.049	0.84 ± 0.077	0.844 ± 0.018	0.604 ± 0.188
Succinic acid (or aldehyde)	0.082 ± 0.003	0.078 ± 0.01	0.075 ± 0.006	0.054 ± 0.018
Serine	0.552 ± 0.022	0.519 ± 0.055	0.506 ± 0.04	0.378 ± 0.121
Threonine	0.16 ± 0.008	0.151 ± 0.013	0.155 ± 0.01	0.112 ± 0.037
Malic acid	0.204 ± 0.013	0.19 ± 0.021	0.176 ± 0.021	0.128 ± 0.033
<i>meso</i> -Erythritol	0.48 ± 0.009	0.452 ± 0.038	0.446 ± 0.021	0.322 ± 0.098
Aspartic acid	0.766 ± 0.044	0.744 ± 0.077	0.729 ± 0.055	0.513 ± 0.152
Methionine	0.102 ± 0.002	0.093 ± 0.011	0.097 ± 0.004	0.069 ± 0.022
Pyroglutamic acid	0.27 ± 0.124	0.396 ± 0.163	0.255 ± 0.15	0.19 ± 0.065
Glutamic acid	1.532 ± 0.096	1.364 ± 0.213	1.45 ± 0.14	1.067 ± 0.388
Phenylalanine	0.324 ± 0.016	0.313 ± 0.036	0.301 ± 0.009	0.22 ± 0.067
Xylose	0.634 ± 0.03	0.575 ± 0.075	0.55 ± 0.053	0.419 ± 0.131
Arabinose	0.677 ± 0.025	0.609 ± 0.091	0.567 ± 0.056	0.431 ± 0.121
Ribose	0.033 ± 0.001	0.031 ± 0.005	0.029 ± 0.003	0.021 ± 0.007
Xylitol	0.02 ± 0.001	0.019 ± 0.002	0.019 ± 0.001	0.014 ± 0.006
Arabitol	1.107 ± 0.013	1.049 ± 0.043	1.087 ± 0.012	0.762 ± 0.244
Glutamine	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.039 ± 0.004	0.037 ± 0.007	0.031 ± 0.004	0.022 ± 0.006
Ornithine	0.339 ± 0.01	0.314 ± 0.065	0.299 ± 0.026	0.206 ± 0.062
Fructose	0.026 ± 0.002	0.025 ± 0.004	0.021 ± 0.001	0.016 ± 0.006
Galactose	0.252 ± 0.019	0.234 ± 0.021	0.235 ± 0.008	0.175 ± 0.045
Glucose	1.445 ± 0.032	1.541 ± 0.169	1.746 ± 0.226	1.715 ± 0.152
Mannitol	0.221 ± 0.008	0.213 ± 0.02	0.219 ± 0.001	0.158 ± 0.054
Lysine	0.432 ± 0.018	0.426 ± 0.055	0.407 ± 0.01	0.306 ± 0.097
Histidine	0.135 ± 0.02	0.116 ± 0.032	0.113 ± 0.026	0.074 ± 0.034
Tyrosine	0.474 ± 0.074	0.545 ± 0.058	0.535 ± 0.079	0.366 ± 0.125
Inositol	0.047 ± 0.003	0.047 ± 0.003	0.045 ± 0.002	0.035 ± 0.01
Tryptophan	0.057 ± 0.008	0.06 ± 0.004	0.057 ± 0.007	0.036 ± 0.007

Constituent name	4week_Control	4week_LAB+EtOH	4week_Acids+Yeast	4week_Acids+EtOH
Lactic acid	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002
Alanine	0.903 ± 0.051	1.008 ± 0.266	0.747 ± 0.12	0.901 ± 0.104
Valine	0.919 ± 0.04	0.954 ± 0.131	0.744 ± 0.141	0.923 ± 0.044
Glycerol	0.743 ± 0.012	0.762 ± 0.015	0.59 ± 0.112	0.789 ± 0.05
Phosphate	0.428 ± 0.031	0.446 ± 0.018	0.33 ± 0.061	0.488 ± 0.025
Leucine	1.337 ± 0.079	1.418 ± 0.186	1.077 ± 0.231	1.341 ± 0.051
Isoleucine	0.764 ± 0.034	0.819 ± 0.107	0.615 ± 0.122	0.768 ± 0.048
Proline	1.083 ± 0.086	1.203 ± 0.291	0.925 ± 0.264	1.066 ± 0.125
Glycine	0.971 ± 0.025	0.987 ± 0.051	0.77 ± 0.111	0.985 ± 0.03
Succinic acid (or aldehyde)	0.074 ± 0.003	0.079 ± 0.008	0.062 ± 0.007	0.08 ± 0.001
Serine	0.58 ± 0.018	0.641 ± 0.079	0.491 ± 0.113	0.57 ± 0.051
Threonine	0.182 ± 0.009	0.193 ± 0.023	0.14 ± 0.032	0.17 ± 0.005
Malic acid	0.182 ± 0.018	0.188 ± 0.016	0.145 ± 0.012	0.198 ± 0.013
<i>meso</i> -Erythritol	0.44 ± 0.013	0.467 ± 0.038	0.362 ± 0.054	0.467 ± 0.024
Aspartic acid	0.871 ± 0.045	0.933 ± 0.056	0.697 ± 0.132	0.858 ± 0.023
Methionine	0.112 ± 0.005	0.119 ± 0.014	0.09 ± 0.016	0.114 ± 0.007
Pyroglutamic acid	0.364 ± 0.171	0.352 ± 0.173	0.312 ± 0.051	0.47 ± 0.2
Glutamic acid	1.557 ± 0.085	1.578 ± 0.112	1.228 ± 0.245	1.51 ± 0.145
Phenylalanine	0.347 ± 0.002	0.361 ± 0.011	0.282 ± 0.059	0.354 ± 0.003
Xylose	0.531 ± 0.006	0.578 ± 0.077	0.457 ± 0.039	0.62 ± 0.046
Arabinose	0.57 ± 0.023	0.611 ± 0.084	0.474 ± 0.057	0.67 ± 0.055
Ribose	0.024 ± 0.001	0.025 ± 0.003	0.02 ± 0.002	0.027 ± 0.002
Xylitol	0.02 ± 0.002	0.02 ± 0.001	0.015 ± 0.003	0.018 ± 0.002
Arabitol	1.078 ± 0.053	1.133 ± 0.045	0.871 ± 0.139	1.06 ± 0.028
Glutamine	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.021 ± 0.005	0.017 ± 0.005	0.028 ± 0.003	0.041 ± 0.004
Ornithine	0.3 ± 0.037	0.339 ± 0.078	0.242 ± 0.039	0.312 ± 0.016
Fructose	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.019 ± 0.003	0.026 ± 0.002
Galactose	0.268 ± 0.021	0.274 ± 0.009	0.203 ± 0.031	0.271 ± 0.023
Glucose	1.737 ± 0.084	1.612 ± 0.317	1.622 ± 0.156	1.539 ± 0.158
Mannitol	0.214 ± 0.008	0.228 ± 0.006	0.178 ± 0.031	0.214 ± 0.008
Lysine	0.461 ± 0.022	0.488 ± 0.027	0.374 ± 0.061	0.48 ± 0.018
Histidine	0.125 ± 0.004	0.143 ± 0.048	0.098 ± 0.022	0.13 ± 0.027
Tyrosine	0.262 ± 0.014	0.273 ± 0.017	0.215 ± 0.045	0.294 ± 0.011
Inositol	0.055 ± 0.005	0.058 ± 0.003	0.041 ± 0.008	0.054 ± 0.004
Tryptophan	0.074 ± 0.011	0.082 ± 0.007	0.058 ± 0.014	0.076 ± 0.005

Constituent name	5week_Control	5week_LAB+EtOH	5week_Acids+Yeast	5week_Acids+EtOH
Lactic acid	0.056 ± 0.008	0.065 ± 0.003	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001
Alanine	0.846 ± 0.215	1.128 ± 0.119	1.072 ± 0.141	1.085 ± 0.03
Valine	0.794 ± 0.173	0.99 ± 0.068	1.036 ± 0.069	1.074 ± 0.059
Glycerol	0.656 ± 0.096	0.754 ± 0.036	0.697 ± 0.005	0.761 ± 0.045
Phosphate	0.825 ± 0.15	0.928 ± 0.045	0.43 ± 0.035	0.466 ± 0.032
Leucine	1.18 ± 0.28	1.445 ± 0.095	1.484 ± 0.054	1.549 ± 0.076
Isoleucine	0.673 ± 0.16	0.788 ± 0.061	0.861 ± 0.065	0.898 ± 0.059
Proline	0.915 ± 0.276	1.161 ± 0.128	1.261 ± 0.128	1.256 ± 0.099
Glycine	0.859 ± 0.127	1.012 ± 0.042	1.066 ± 0.014	1.093 ± 0.026
Succinic acid (or aldehyde)	0.062 ± 0.012	0.075 ± 0.007	0.075 ± 0.007	0.078 ± 0.005
Serine	0.409 ± 0.113	0.492 ± 0.057	0.672 ± 0.032	0.689 ± 0.022
Threonine	0.15 ± 0.035	0.179 ± 0.015	0.196 ± 0.002	0.199 ± 0.007
Malic acid	0.148 ± 0.033	0.181 ± 0.012	0.171 ± 0.007	0.191 ± 0.015
<i>meso</i> -Erythritol	0.374 ± 0.057	0.446 ± 0.022	0.432 ± 0.029	0.459 ± 0.006
Aspartic acid	0.725 ± 0.138	0.858 ± 0.054	0.967 ± 0.035	0.956 ± 0.035
Methionine	0.1 ± 0.021	0.118 ± 0.009	0.129 ± 0.002	0.129 ± 0.004
Pyroglutamic acid	0.397 ± 0.082	0.327 ± 0.042	0.286 ± 0.139	0.399 ± 0.121
Glutamic acid	1.309 ± 0.226	1.599 ± 0.084	1.625 ± 0.119	1.645 ± 0.177
Phenylalanine	0.3 ± 0.048	0.361 ± 0.027	0.372 ± 0.016	0.382 ± 0.016
Xylose	0.432 ± 0.1	0.556 ± 0.058	0.517 ± 0.042	0.572 ± 0.032
Arabinose	0.243 ± 0.059	0.308 ± 0.051	0.554 ± 0.052	0.643 ± 0.045
Ribose	0.011 ± 0.003	0.014 ± 0.001	0.019 ± 0.001	0.021 ± 0.002
Xylitol	0.021 ± 0.004	0.025 ± 0.002	0.018 ± 0.001	0.018 ± 0.003
Arabitol	0.916 ± 0.083	1.047 ± 0.079	1.012 ± 0.012	1.038 ± 0.013
Glutamine	0.009 ± 0.003	0.014 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001
Citric acid + Isocitric acid	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.035 ± 0.004	0.041 ± 0.002
Ornithine	0.851 ± 0.19	1.061 ± 0.024	0.289 ± 0.027	0.308 ± 0.009
Fructose	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.025 ± 0.004	0.029 ± 0.003
Galactose	0.255 ± 0.042	0.283 ± 0.01	0.259 ± 0.006	0.287 ± 0.021
Glucose	1.742 ± 0.27	1.505 ± 0.097	1.627 ± 0.264	1.452 ± 0.073
Mannitol	0.143 ± 0.019	0.163 ± 0.011	0.209 ± 0.009	0.207 ± 0.013
Lysine	0.414 ± 0.086	0.508 ± 0.028	0.503 ± 0.021	0.519 ± 0.017
Histidine	0.09 ± 0.033	0.136 ± 0.016	0.158 ± 0.026	0.151 ± 0.034
Tyrosine	0.171 ± 0.044	0.219 ± 0.031	0.26 ± 0.02	0.255 ± 0.004
Inositol	0.129 ± 0.019	0.147 ± 0.011	0.058 ± 0.004	0.06 ± 0.001
Tryptophan	0.06 ± 0.012	0.067 ± 0.004	0.096 ± 0.009	0.086 ± 0.004

Constituent name	6week_Control	6week_LAB+EtOH	6week_Acids+Yeast	6week_Acids+EtOH
Lactic acid	0.069 ± 0.007	0.067 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002
Alanine	1.23 ± 0.158	1.456 ± 0.128	1.167 ± 0.023	1.143 ± 0.211
Valine	1.011 ± 0.085	1.113 ± 0.046	1.144 ± 0.042	1.118 ± 0.133
Glycerol	0.775 ± 0.027	0.785 ± 0.016	0.767 ± 0.017	0.79 ± 0.056
Phosphate	1.003 ± 0.04	0.999 ± 0.022	0.504 ± 0.062	0.516 ± 0.066
Leucine	1.534 ± 0.058	1.596 ± 0.066	1.644 ± 0.063	1.621 ± 0.184
Isoleucine	0.85 ± 0.043	0.922 ± 0.023	0.959 ± 0.022	0.936 ± 0.133
Proline	1.207 ± 0.148	1.402 ± 0.074	1.326 ± 0.065	1.356 ± 0.305
Glycine	1.047 ± 0.026	1.071 ± 0.036	1.157 ± 0.02	1.147 ± 0.066
Succinic acid (or aldehyde)	0.075 ± 0.006	0.079 ± 0.002	0.082 ± 0.003	0.078 ± 0.005
Serine	0.538 ± 0.035	0.568 ± 0.027	0.702 ± 0.057	0.691 ± 0.096
Threonine	0.198 ± 0.004	0.205 ± 0.009	0.209 ± 0.014	0.203 ± 0.028
Malic acid	0.178 ± 0.014	0.192 ± 0.009	0.192 ± 0.013	0.188 ± 0.03
<i>meso</i> -Erythritol	0.444 ± 0.037	0.477 ± 0.017	0.461 ± 0.02	0.458 ± 0.009
Aspartic acid	0.827 ± 0.037	0.83 ± 0.024	0.985 ± 0.052	1.013 ± 0.096
Methionine	0.124 ± 0.012	0.13 ± 0.005	0.142 ± 0.003	0.137 ± 0.015
Pyroglutamic acid	0.534 ± 0.17	0.271 ± 0.059	0.534 ± 0.133	0.259 ± 0.107
Glutamic acid	1.57 ± 0.091	1.725 ± 0.046	1.627 ± 0.079	1.769 ± 0.163
Phenylalanine	0.367 ± 0.01	0.382 ± 0.016	0.397 ± 0.007	0.401 ± 0.011
Xylose	0.532 ± 0.049	0.537 ± 0.081	0.579 ± 0.006	0.575 ± 0.077
Arabinose	0.29 ± 0.034	0.296 ± 0.039	0.641 ± 0.006	0.643 ± 0.084
Ribose	0.014 ± 0.001	0.014 ± 0.002	0.021 ± 0.001	0.02 ± 0.002
Xylitol	0.026 ± 0.002	0.027 ± 0.003	0.02 ± 0.001	0.019 ± 0.002
Arabitol	1.093 ± 0.01	1.11 ± 0.014	1.07 ± 0.028	1.083 ± 0.035
Glutamine	0.011 ± 0.003	0.017 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.042 ± 0.002	0.041 ± 0.008
Ornithine	1.067 ± 0.095	1.183 ± 0.045	0.324 ± 0.013	0.312 ± 0.049
Fructose	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.03 ± 0.002	0.029 ± 0.004
Galactose	0.304 ± 0.017	0.278 ± 0.027	0.278 ± 0.012	0.303 ± 0.032
Glucose	1.661 ± 0.288	1.514 ± 0.115	1.433 ± 0.022	1.602 ± 0.163
Mannitol	0.174 ± 0.005	0.172 ± 0.004	0.22 ± 0.009	0.219 ± 0.004
Lysine	0.492 ± 0.02	0.525 ± 0.01	0.537 ± 0.026	0.541 ± 0.042
Histidine	0.112 ± 0.025	0.153 ± 0.009	0.157 ± 0.01	0.179 ± 0.038
Tyrosine	0.194 ± 0.007	0.203 ± 0.008	0.22 ± 0.059	0.209 ± 0.025
Inositol	0.163 ± 0.008	0.168 ± 0.012	0.062 ± 0.004	0.064 ± 0.005
Tryptophan	0.076 ± 0.009	0.065 ± 0.004	0.09 ± 0.005	0.09 ± 0.003

Constituent name	7week_Control	7week_LAB+EtOH	7week_Acids+Yeast	7week_Acids+EtOH
Lactic acid	0.077 ± 0.009	0.075 ± 0.005	0.066 ± 0.008	0.057 ± 0.009
Alanine	1.691 ± 0.22	1.851 ± 0.2	1.171 ± 0.081	1.108 ± 0.081
Valine	1.104 ± 0.103	1.098 ± 0.085	1.105 ± 0.023	1.04 ± 0.084
Glycerol	2.524 ± 0.228	0.751 ± 0.034	2.484 ± 0.107	0.76 ± 0.095
Phosphate	0.982 ± 0.049	1.052 ± 0.044	0.999 ± 0.07	1.034 ± 0.101
Leucine	1.65 ± 0.079	1.696 ± 0.111	1.662 ± 0.053	1.528 ± 0.114
Isoleucine	0.933 ± 0.06	0.93 ± 0.066	0.949 ± 0.005	0.838 ± 0.055
Proline	1.287 ± 0.227	1.369 ± 0.149	1.436 ± 0.071	1.216 ± 0.022
Glycine	1.041 ± 0.028	1.046 ± 0.051	1.081 ± 0.026	1.081 ± 0.121
Succinic acid (or aldehyde)	0.171 ± 0.016	0.075 ± 0.004	0.152 ± 0.009	0.071 ± 0.006
Serine	0.543 ± 0.033	0.546 ± 0.047	0.717 ± 0.009	0.646 ± 0.025
Threonine	0.202 ± 0.018	0.198 ± 0.019	0.209 ± 0.006	0.185 ± 0.01
Malic acid	0.171 ± 0.014	0.174 ± 0.009	0.171 ± 0.006	0.173 ± 0.016
<i>meso</i> -Erythritol	0.479 ± 0.039	0.445 ± 0.011	0.456 ± 0.007	0.437 ± 0.042
Aspartic acid	0.637 ± 0.027	0.579 ± 0.045	1.014 ± 0.022	0.969 ± 0.042
Methionine	0.131 ± 0.008	0.13 ± 0.012	0.13 ± 0.003	0.124 ± 0.011
Pyroglutamic acid	0.479 ± 0.155	0.485 ± 0.025	0.34 ± 0.158	0.413 ± 0.207
Glutamic acid	1.592 ± 0.089	1.554 ± 0.093	1.66 ± 0.082	1.569 ± 0.17
Phenylalanine	0.415 ± 0.01	0.397 ± 0.015	0.413 ± 0.024	0.394 ± 0.031
Xylose	0.335 ± 0.044	0.399 ± 0.023	0.382 ± 0.017	0.444 ± 0.076
Arabinose	0.201 ± 0.028	0.212 ± 0.017	0.5 ± 0.03	0.552 ± 0.058
Ribose	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.014 ± 0.003
Xylitol	0.042 ± 0.002	0.034 ± 0.003	0.029 ± 0.002	0.019 ± 0.003
Arabitol	1.255 ± 0.034	1.018 ± 0.056	1.185 ± 0.012	0.991 ± 0.128
Glutamine	0.009 ± 0.001	0.013 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.008 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.04 ± 0.002	0.041 ± 0.007
Ornithine	1.016 ± 0.117	1.021 ± 0.05	0.293 ± 0.023	0.265 ± 0.04
Fructose	0.004 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.014 ± 0.002	0.036 ± 0.004
Galactose	0.294 ± 0.006	0.299 ± 0.006	0.287 ± 0.008	0.302 ± 0.034
Glucose	1.05 ± 0.107	1.493 ± 0.056	1.634 ± 0.179	1.377 ± 0.067
Mannitol	0.181 ± 0.011	0.182 ± 0.02	0.21 ± 0.005	0.199 ± 0.023
Lysine	0.512 ± 0.032	0.523 ± 0.039	0.514 ± 0.02	0.482 ± 0.056
Histidine	0.124 ± 0.025	0.133 ± 0.012	0.13 ± 0.012	0.123 ± 0.012
Tyrosine	0.211 ± 0.003	0.226 ± 0.006	0.203 ± 0.002	0.222 ± 0.019
Inositol	0.166 ± 0.002	0.161 ± 0.016	0.167 ± 0.007	0.162 ± 0.024
Tryptophan	0.005 ± 0.002	0.069 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.053 ± 0.004

Constituent name	15week_Control	15week_LAB+EtOH	15week_Acids+Yeast	15week_Acids+EtOH
Lactic acid	0.082 ± 0.005	0.079 ± 0.006	0.064 ± 0.005	0.061 ± 0.006
Alanine	1.446 ± 0.061	1.703 ± 0.138	1.284 ± 0.101	1.013 ± 0.255
Valine	1.012 ± 0.05	1.109 ± 0.076	1.16 ± 0.02	0.961 ± 0.158
Glycerol	2.653 ± 0.065	0.798 ± 0.015	2.434 ± 0.194	0.764 ± 0.035
Phosphate	1.008 ± 0.03	1.06 ± 0.036	1.038 ± 0.08	1.014 ± 0.114
Leucine	1.593 ± 0.082	1.699 ± 0.127	1.743 ± 0.065	1.499 ± 0.22
Isoleucine	0.872 ± 0.048	0.917 ± 0.074	0.982 ± 0.021	0.818 ± 0.136
Proline	1.153 ± 0.126	1.278 ± 0.135	1.465 ± 0.097	1.182 ± 0.254
Glycine	0.988 ± 0.034	1.072 ± 0.034	1.126 ± 0.014	1.021 ± 0.094
Succinic acid (or aldehyde)	0.151 ± 0.005	0.071 ± 0.005	0.155 ± 0.003	0.064 ± 0.009
Serine	0.533 ± 0.039	0.561 ± 0.067	0.774 ± 0.015	0.633 ± 0.127
Threonine	0.197 ± 0.012	0.195 ± 0.014	0.217 ± 0.013	0.178 ± 0.03
Malic acid	0.155 ± 0.01	0.173 ± 0.017	0.175 ± 0.011	0.16 ± 0.02
<i>meso</i> -Erythritol	0.452 ± 0.015	0.446 ± 0.026	0.474 ± 0.01	0.412 ± 0.054
Aspartic acid	0.67 ± 0.057	0.622 ± 0.06	1.072 ± 0.019	0.935 ± 0.155
Methionine	0.119 ± 0.006	0.126 ± 0.008	0.13 ± 0.004	0.113 ± 0.022
Pyroglutamic acid	0.47 ± 0.072	0.749 ± 0.066	0.381 ± 0.128	0.387 ± 0.115
Glutamic acid	1.511 ± 0.095	1.453 ± 0.095	1.674 ± 0.02	1.515 ± 0.181
Phenylalanine	0.402 ± 0.002	0.409 ± 0.021	0.423 ± 0.029	0.375 ± 0.049
Xylose	0.27 ± 0.007	0.329 ± 0.031	0.364 ± 0.016	0.349 ± 0.059
Arabinose	0.163 ± 0.005	0.188 ± 0.019	0.495 ± 0.013	0.453 ± 0.069
Ribose	0.009 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.013 ± 0.002	0.012 ± 0.002
Xylitol	0.041 ± 0.001	0.034 ± 0.002	0.028 ± 0.002	0.018 ± 0.003
Arabitol	1.266 ± 0.067	1.023 ± 0.027	1.215 ± 0.075	0.964 ± 0.069
Glutamine	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.003
Citric acid + Isocitric acid	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.041 ± 0.001	0.04 ± 0.008
Ornithine	0.894 ± 0.038	0.945 ± 0.062	0.292 ± 0.006	0.226 ± 0.026
Fructose	0.005 ± 0.002	0.008 ± 0.001	0.015 ± 0.003	0.034 ± 0.007
Galactose	0.293 ± 0.011	0.288 ± 0.02	0.291 ± 0.008	0.281 ± 0.035
Glucose	1.135 ± 0.122	1.577 ± 0.182	1.55 ± 0.182	1.575 ± 0.165
Mannitol	0.177 ± 0.009	0.183 ± 0.009	0.214 ± 0.006	0.195 ± 0.022
Lysine	0.473 ± 0.026	0.523 ± 0.021	0.505 ± 0.026	0.463 ± 0.05
Histidine	0.093 ± 0.019	0.113 ± 0.017	0.138 ± 0.018	0.115 ± 0.024
Tyrosine	0.171 ± 0.004	0.209 ± 0.007	0.199 ± 0.012	0.198 ± 0.017
Inositol	0.163 ± 0.002	0.17 ± 0.012	0.167 ± 0.005	0.161 ± 0.015
Tryptophan	0.006 ± 0.001	0.059 ± 0.003	0.004 ± 0.001	0.04 ± 0.009



Constituent name	17week_Control	17week_LAB+EtOH	17week_Acids+Yeast	17week_Acids+EtOH
Lactic acid	0.081 ± 0.001	0.069 ± 0.003	0.064 ± 0.003	0.06 ± 0.009
Alanine	1.499 ± 0.128	1.855 ± 0.022	1.167 ± 0.047	1.152 ± 0.296
Valine	1.048 ± 0.032	1.105 ± 0.076	1.073 ± 0.011	1.035 ± 0.103
Glycerol	2.72 ± 0.094	0.746 ± 0.015	2.509 ± 0.201	0.759 ± 0.028
Phosphate	1.019 ± 0.048	0.997 ± 0.016	1.022 ± 0.026	0.991 ± 0.036
Leucine	1.66 ± 0.091	1.675 ± 0.099	1.606 ± 0.04	1.603 ± 0.117
Isoleucine	0.91 ± 0.042	0.908 ± 0.04	0.901 ± 0.032	0.887 ± 0.093
Proline	1.233 ± 0.097	1.325 ± 0.087	1.326 ± 0.035	1.41 ± 0.273
Glycine	1.028 ± 0.005	1.029 ± 0.006	1.082 ± 0.043	1.052 ± 0.079
Succinic acid (or aldehyde)	0.158 ± 0.008	0.072 ± 0.002	0.149 ± 0.005	0.064 ± 0.011
Serine	0.564 ± 0.016	0.556 ± 0.057	0.706 ± 0.031	0.687 ± 0.041
Threonine	0.21 ± 0.005	0.196 ± 0.011	0.205 ± 0.004	0.193 ± 0.017
Malic acid	0.157 ± 0.002	0.171 ± 0.005	0.167 ± 0.015	0.156 ± 0.007
<i>meso</i> -Erythritol	0.456 ± 0.009	0.431 ± 0.027	0.459 ± 0.025	0.412 ± 0.025
Aspartic acid	0.672 ± 0.064	0.584 ± 0.043	1.047 ± 0.024	0.972 ± 0.018
Methionine	0.128 ± 0.005	0.127 ± 0.005	0.13 ± 0.005	0.12 ± 0.006
Pyroglutamic acid	0.535 ± 0.02	0.512 ± 0.067	0.382 ± 0.094	0.331 ± 0.195
Glutamic acid	1.569 ± 0.037	1.512 ± 0.042	1.624 ± 0.056	1.516 ± 0.169
Phenylalanine	0.403 ± 0.004	0.399 ± 0.005	0.412 ± 0.008	0.384 ± 0.008
Xylose	0.253 ± 0.022	0.335 ± 0.017	0.337 ± 0.035	0.329 ± 0.065
Arabinose	0.163 ± 0.013	0.197 ± 0.016	0.452 ± 0.04	0.438 ± 0.063
Ribose	0.008 ± 0.002	0.01 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.002
Xylitol	0.04 ± 0.002	0.032 ± 0.001	0.028 ± 0.001	0.019 ± 0.003
Arabitol	1.195 ± 0.057	1.018 ± 0.023	1.156 ± 0.031	0.946 ± 0.041
Glutamine	0.006 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002
Citric acid + Isocitric acid	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.04 ± 0.006	0.037 ± 0.003
Ornithine	0.963 ± 0.031	0.946 ± 0.005	0.277 ± 0.014	0.239 ± 0.034
Fructose	0.005 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.015 ± 0.003	0.033 ± 0.008
Galactose	0.278 ± 0.012	0.276 ± 0.014	0.282 ± 0.013	0.263 ± 0.038
Glucose	1.086 ± 0.112	1.358 ± 0.077	1.592 ± 0.134	1.562 ± 0.193
Mannitol	0.174 ± 0.006	0.185 ± 0.003	0.209 ± 0.01	0.196 ± 0.013
Lysine	0.48 ± 0.004	0.497 ± 0.008	0.507 ± 0.022	0.472 ± 0.03
Histidine	0.106 ± 0.008	0.125 ± 0.004	0.127 ± 0.006	0.116 ± 0.019
Tyrosine	0.174 ± 0.006	0.203 ± 0.01	0.183 ± 0.005	0.195 ± 0.011
Inositol	0.165 ± 0.003	0.163 ± 0.004	0.166 ± 0.002	0.159 ± 0.004
Tryptophan	0.005 ± 0.002	0.043 ± 0.005	0.005 ± 0.002	0.037 ± 0.007

Constituent name	18week_Control	18week_LAB+EtOH	18week_Acids+Yeast	18week_Acids+EtOH
Lactic acid	0.075 ± 0.008	0.079 ± 0.001	0.066 ± 0.005	0.062 ± 0.008
Alanine	1.76 ± 0.281	1.45 ± 0.165	1.417 ± 0.11	1.092 ± 0.088
Valine	1.105 ± 0.129	0.944 ± 0.092	1.224 ± 0.097	1.03 ± 0.03
Glycerol	2.461 ± 0.101	0.732 ± 0.019	2.448 ± 0.195	0.785 ± 0.022
Phosphate	0.999 ± 0.032	0.971 ± 0.047	1.042 ± 0.008	0.997 ± 0.011
Leucine	1.646 ± 0.107	1.46 ± 0.136	1.826 ± 0.108	1.597 ± 0.011
Isoleucine	0.927 ± 0.065	0.787 ± 0.058	1.007 ± 0.072	0.87 ± 0.032
Proline	1.307 ± 0.233	1.039 ± 0.146	1.582 ± 0.12	1.296 ± 0.048
Glycine	1.023 ± 0.062	0.976 ± 0.051	1.187 ± 0.054	1.06 ± 0.009
Succinic acid (or aldehyde)	0.164 ± 0.016	0.063 ± 0.007	0.16 ± 0.005	0.067 ± 0.003
Serine	0.564 ± 0.04	0.486 ± 0.035	0.786 ± 0.048	0.658 ± 0.026
Threonine	0.201 ± 0.014	0.175 ± 0.012	0.224 ± 0.008	0.184 ± 0.006
Malic acid	0.162 ± 0.026	0.148 ± 0.019	0.183 ± 0.002	0.166 ± 0.012
<i>meso</i> -Erythritol	0.455 ± 0.025	0.407 ± 0.037	0.487 ± 0.022	0.424 ± 0.007
Aspartic acid	0.673 ± 0.068	0.564 ± 0.085	1.107 ± 0.026	0.984 ± 0.005
Methionine	0.128 ± 0.014	0.112 ± 0.012	0.135 ± 0.009	0.12 ± 0.005
Pyroglutamic acid	0.405 ± 0.107	0.58 ± 0.007	0.288 ± 0.086	0.445 ± 0.167
Glutamic acid	1.62 ± 0.119	1.389 ± 0.085	1.826 ± 0.115	1.479 ± 0.057
Phenylalanine	0.409 ± 0.019	0.368 ± 0.016	0.43 ± 0.008	0.375 ± 0.01
Xylose	0.286 ± 0.032	0.261 ± 0.032	0.358 ± 0.027	0.347 ± 0.018
Arabinose	0.183 ± 0.031	0.151 ± 0.02	0.503 ± 0.028	0.472 ± 0.054
Ribose	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.013 ± 0.001	0.013 ± 0.001
Xylitol	0.041 ± 0.003	0.031 ± 0.001	0.03 ± 0.001	0.018 ± 0.002
Arabitol	1.214 ± 0.074	0.981 ± 0.029	1.256 ± 0.073	0.979 ± 0.027
Glutamine	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Citric acid + Isocitric acid	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.043 ± 0.002	0.04 ± 0.004
Ornithine	1.008 ± 0.119	0.81 ± 0.093	0.303 ± 0.029	0.243 ± 0.017
Fructose	0.005 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.017 ± 0.003	0.036 ± 0.003
Galactose	0.281 ± 0.013	0.264 ± 0.012	0.302 ± 0.018	0.278 ± 0.003
Glucose	1.044 ± 0.056	1.719 ± 0.117	1.479 ± 0.127	1.501 ± 0.13
Mannitol	0.175 ± 0.007	0.174 ± 0.005	0.219 ± 0.006	0.198 ± 0.015
Lysine	0.508 ± 0.055	0.465 ± 0.017	0.532 ± 0.021	0.474 ± 0.007
Histidine	0.129 ± 0.028	0.103 ± 0.016	0.157 ± 0.017	0.116 ± 0.017
Tyrosine	0.169 ± 0.003	0.186 ± 0.005	0.19 ± 0.008	0.201 ± 0.006
Inositol	0.168 ± 0.008	0.158 ± 0.003	0.173 ± 0.002	0.162 ± 0.005
Tryptophan	0.006 ± 0.003	0.046 ± 0.004	0.004 ± 0.001	0.033 ± 0.004

各化合物の相対強度は mean ± standard deviation で表した。Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB + EtOH : 乳酸菌 + ethanol 添加, Acids + Yeast : lactic acid, acetic acid + 酵母添加, Acids + ethanol : lactic acid, acetic acid + ethanol 添加

表 A11. 第3章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (酢酸エチル抽出)の各サンプルにおける相対強度

Constituent name	0week_Control	0week_LAB+EtOH	0week_Acids+Yeast	0week_Acids+EtOH
1-Propanol	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.019 ± 0.001	0.02 ± 0.001	0.019 ± 0.001	0.018 ± 0.001
1-Butanol	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.003
3-Methyl-1-butanol	0.077 ± 0.006	0.074 ± 0.008	0.073 ± 0.01	0.067 ± 0.007
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl lactate	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Acetic acid	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.003
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.025 ± 0.002	0.026 ± 0.003	0.026 ± 0.004	0.027 ± 0.004
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.012 ± 0.001	0.013 ± 0.003	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.002
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Phenylacetaldehyde	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.003	0.005 ± 0.002
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.163 ± 0.011	0.169 ± 0.026	0.168 ± 0.022	0.17 ± 0.007
2-Methylbutanoic acid	0.055 ± 0.003	0.056 ± 0.01	0.055 ± 0.007	0.053 ± 0.006

Constituent name	0week_Control	0week_LAB+EtOH	0week_Acids+Yeast	0week_Acids+EtOH
5-Ethyl-dihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.017 ± 0.001	0.017 ± 0.001	0.018 ± 0.001	0.018 ± 0.003
2(5H)-furanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.014 ± 0.003	0.016 ± 0.002	0.017 ± 0.004	0.017 ± 0.002
2-Phenylethyl alcohol	0.014 ± 0.002	0.016 ± 0.002	0.015 ± 0.002	0.015 ± 0.002
3-Hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one (Maltol)	0.013 ± 0.002	0.015 ± 0.003	0.013 ± 0.001	0.013 ± 0.001
2-Acetylpyrrole	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
5-Ethyl-2(3H)-furanone	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.002
(R)-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3H)-furanone	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Caprolactam	0.01 ± 0.001	0.01 ± 0.002	0.011 ± 0.002	0.012 ± 0.002

Constituent name	0week_Control	0week_LAB+EtOH	0week_Acids+Yeast	0week_Acids+EtOH
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	0.35 ± 0.038	0.355 ± 0.102	0.366 ± 0.096	0.355 ± 0.056
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.005 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.007 ± 0.004
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.002
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzoic acid	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.001
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.503 ± 0.063	0.562 ± 0.093	0.382 ± 0.055	0.493 ± 0.107
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1,4-Benzenediol	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.156 ± 0.012	0.167 ± 0.042	0.12 ± 0.013	0.173 ± 0.041

Constituent name	1week_Control	1week_LAB+EtOH	1week_Acids+Yeast	1week_Acids+EtOH
1-Propanol	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.022 ± 0.002	0.023 ± 0.001	0.022 ± 0.001	0.021 ± 0.001
1-Butanol	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.105 ± 0.004	0.106 ± 0.01	0.093 ± 0.009	0.103 ± 0.005
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Ethyl lactate	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Acetic acid	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.023 ± 0.002	0.021 ± 0.002	0.019 ± 0.002	0.022 ± 0.003
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.023 ± 0.003	0.02 ± 0.002	0.021 ± 0.002	0.02 ± 0.004
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.002
Phenylacetaldehyde	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.003 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.301 ± 0.029	0.27 ± 0.025	0.274 ± 0.011	0.274 ± 0.028
2-Methylbutanoic acid	0.104 ± 0.009	0.093 ± 0.007	0.096 ± 0.005	0.093 ± 0.007
5-Ethyldihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001

Constituent name	1week_Control	1week_LAB+EtOH	1week_Acids+Yeast	1week_Acids+EtOH
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.033 ± 0.004	0.032 ± 0.001	0.031 ± 0.003	0.031 ± 0.002
2(5H)-furanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.009 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.002
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.029 ± 0.003	0.025 ± 0.002	0.027 ± 0.003	0.026 ± 0.005
2-Phenylethyl alcohol	0.044 ± 0.006	0.043 ± 0.001	0.043 ± 0.004	0.038 ± 0.003
3-Hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one (Maltol)	0.043 ± 0.002	0.035 ± 0.008	0.034 ± 0.004	0.039 ± 0.007
2-Acetylpyrrole	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
5-Ethyl-2(3H)-furanone	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
(R)-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3H)-furanone	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Caprolactam	0.018 ± 0.003	0.016 ± 0.003	0.018 ± 0.002	0.016 ± 0.001
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	0.631 ± 0.079	0.501 ± 0.107	0.448 ± 0.037	0.6 ± 0.123

Constituent name	1week_Control	1week_LAB+EtOH	1week_Acids+Yeast	1week_Acids+EtOH
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.011 ± 0.003	0.01 ± 0.001	0.009 ± 0.002	0.008 ± 0.002
3,5-Dihydroxy-6-methyl- 2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran- 4-one	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methoxy-6-methyl-4- pyran-4-one	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzoic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
4-Ethyl-2,6- dimethoxyphenol	0.015 ± 0.001	0.012 ± 0.003	0.009 ± 0.001	0.013 ± 0.003
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.092 ± 0.036	0.076 ± 0.016	0.084 ± 0.021	0.115 ± 0.037
2-(4- Hydroxyphenyl)ethanol	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1,4-Benzenediol ( <i>Z,Z</i> )-9,12- Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
	0.041 ± 0.018	0.028 ± 0.01	0.029 ± 0.011	0.052 ± 0.023



Constituent name	3week_Control	3week_LAB+EtOH	3week_Acids+Yeast	3week_Acids+EtOH
1-Propanol	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.023 ± 0.001	0.023 ± 0.002	0.022 ± 0.002	0.023 ± 0.002
1-Butanol	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.12 ± 0.005	0.114 ± 0.017	0.113 ± 0.004	0.118 ± 0.002
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.003	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Ethyl lactate	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Acetic acid	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.025 ± 0.002	0.025 ± 0.001	0.022 ± 0.002	0.025 ± 0.003
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.003	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.025 ± 0.002	0.027 ± 0.001	0.026 ± 0.002	0.023 ± 0.005
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001
Phenylacetaldehyde	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.009 ± 0.006	0.006 ± 0.001
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.003	0.004 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.324 ± 0.014	0.326 ± 0.023	0.314 ± 0.028	0.317 ± 0.021
2-Methylbutanoic acid	0.114 ± 0.004	0.117 ± 0.008	0.116 ± 0.007	0.108 ± 0.012
5-Ethyl-dihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001

Constituent name	3week_Control	3week_LAB+EtOH	3week_Acids+Yeast	3week_Acids+EtOH
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.033 ± 0.002	0.036 ± 0.006	0.032 ± 0.005	0.036 ± 0.003
2(5H)-furanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.011 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.011 ± 0.002	0.01 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.03 ± 0.002	0.029 ± 0.002	0.029 ± 0.005	0.03 ± 0.002
2-Phenylethyl alcohol	0.047 ± 0.003	0.05 ± 0.007	0.047 ± 0.006	0.047 ± 0.003
3-Hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one (Maltol)	0.062 ± 0.008	0.059 ± 0.003	0.053 ± 0.013	0.06 ± 0.003
2-Acetylpyrrole	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
5-Ethyl-2(3H)-furanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
(R)-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3H)-furanone	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.01 ± 0.001
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.026 ± 0.005	0.025 ± 0.003	0.02 ± 0.007	0.026 ± 0.004
Caprolactam	0.019 ± 0.002	0.021 ± 0.001	0.02 ± 0.002	0.021 ± 0.002
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	0.711 ± 0.032	0.554 ± 0.039	0.594 ± 0.195	0.681 ± 0.05
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.014 ± 0.001	0.01 ± 0.004	0.012 ± 0.004	0.014 ± 0.003

Constituent name	3week_Control	3week_LAB+EtOH	3week_Acids+Yeast	3week_Acids+EtOH
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzoic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.025 ± 0.002	0.022 ± 0.003	0.022 ± 0.007	0.024 ± 0.001
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.059 ± 0.006	0.047 ± 0.026	0.045 ± 0.025	0.042 ± 0.005
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.007 ± 0.005	0.008 ± 0.005	0.005 ± 0.005	0.003 ± 0.001
1,4-Benzenediol	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.027 ± 0.007	0.02 ± 0.015	0.018 ± 0.012	0.019 ± 0.002

Constituent name	4week_Control	4week_LAB+EtOH	4week_Acids+Yeast	4week_Acids+EtOH
1-Propanol	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.023 ± 0.002	0.023 ± 0.002	0.023 ± 0.002	0.022 ± 0.002
1-Butanol	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.099 ± 0.005	0.103 ± 0.007	0.113 ± 0.003	0.109 ± 0.01
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Ethyl lactate	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Acetic acid	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.02 ± 0.001	0.02 ± 0.002	0.022 ± 0.003	0.021 ± 0.005
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.04 ± 0.003	0.039 ± 0.002	0.028 ± 0.005	0.028 ± 0.005
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.011 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.01 ± 0.003
Phenylacetaldehyde	0.009 ± 0.002	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.002
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.002
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.445 ± 0.021	0.435 ± 0.021	0.336 ± 0.035	0.367 ± 0.048
2-Methylbutanoic acid	0.16 ± 0.01	0.155 ± 0.003	0.123 ± 0.014	0.132 ± 0.019
5-Ethyl-dihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001

Constituent name	4week_Control	4week_LAB+EtOH	4week_Acids+Yeast	4week_Acids+EtOH
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.04 ± 0.004	0.039 ± 0.006	0.036 ± 0.001	0.037 ± 0.003
2(5H)-furanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.013 ± 0.001	0.014 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.002
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.037 ± 0.004	0.034 ± 0.004	0.03 ± 0.003	0.03 ± 0.007
2-Phenylethyl alcohol	0.058 ± 0.006	0.054 ± 0.007	0.052 ± 0.007	0.05 ± 0.005
3-Hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one (Maltol)	0.078 ± 0.005	0.08 ± 0.013	0.071 ± 0.002	0.078 ± 0.006
2-Acetylpyrrole	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
5-Ethyl-2(3H)-furanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
(R)-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3H)-furanone	0.012 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.011 ± 0.001
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF)	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.08 ± 0.006	0.081 ± 0.018	0.068 ± 0.005	0.093 ± 0.019
Caprolactam	0.028 ± 0.003	0.026 ± 0.003	0.023 ± 0.001	0.025 ± 0.002
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	0.601 ± 0.045	0.724 ± 0.133	0.631 ± 0.025	0.845 ± 0.118
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.017 ± 0.001	0.017 ± 0.002	0.015 ± 0.002	0.018 ± 0.004

Constituent name	4week_Control	4week_LAB+EtOH	4week_Acids+Yeast	4week_Acids+EtOH
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.009 ± 0.001	0.012 ± 0.002
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzoic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.032 ± 0.003	0.038 ± 0.01	0.029 ± 0.003	0.041 ± 0.008
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.016 ± 0.003	0.02 ± 0.001	0.015 ± 0.003	0.02 ± 0.003
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.021 ± 0.002	0.023 ± 0.004	0.015 ± 0.001	0.018 ± 0.002
1,4-Benzenediol	0.008 ± 0.001	0.01 ± 0.005	0.004 ± 0.001	0.009 ± 0.003
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.003 ± 0.001	0.007 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.009 ± 0.002

Constituent name	5week_Control	5week_LAB+EtOH	5week_Acids+Yeast	5week_Acids+EtOH
1-Propanol	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.021 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.024 ± 0.001	0.024 ± 0.001
1-Butanol	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.048 ± 0.002	0.05 ± 0.005	0.122 ± 0.021	0.123 ± 0.01
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
Ethyl lactate	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Acetic acid	0.051 ± 0.003	0.046 ± 0.013	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.029 ± 0.002	0.029 ± 0.001	0.022 ± 0.002	0.026 ± 0.004
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.022 ± 0.001	0.023 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.176 ± 0.003	0.182 ± 0.015	0.038 ± 0.003	0.037 ± 0.005
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.054 ± 0.001	0.055 ± 0.007	0.009 ± 0.001	0.011 ± 0.002
Phenylacetaldehyde	0.024 ± 0.004	0.023 ± 0.004	0.008 ± 0.002	0.009 ± 0.002
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.001
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.797 ± 0.006	0.831 ± 0.066	0.437 ± 0.011	0.46 ± 0.037
2-Methylbutanoic acid	0.264 ± 0.004	0.269 ± 0.015	0.165 ± 0.006	0.165 ± 0.017
5-Ethyl-dihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001

Constituent name	5week_Control	5week_LAB+EtOH	5week_Acids+Yeast	5week_Acids+EtOH
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.043 ± 0.004	0.043 ± 0.005	0.042 ± 0.001	0.045 ± 0.002
2(5H)-furanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.018 ± 0.001	0.019 ± 0.001	0.015 ± 0.001	0.014 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.028 ± 0.003	0.026 ± 0.002	0.036 ± 0.004	0.039 ± 0.003
2-Phenylethyl alcohol	0.051 ± 0.006	0.05 ± 0.004	0.061 ± 0.004	0.063 ± 0.001
3-Hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one (Maltol)	0.147 ± 0.006	0.143 ± 0.008	0.092 ± 0.008	0.088 ± 0.003
2-Acetylpyrrole	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
5-Ethyl-2(3H)-furanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
(R)-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3H)-furanone	0.021 ± 0.001	0.02 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.013 ± 0.001
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF)	0.02 ± 0.001	0.02 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.021 ± 0.002	0.02 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.002
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF)	0.018 ± 0.001	0.018 ± 0.001	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.188 ± 0.013	0.181 ± 0.005	0.302 ± 0.016	0.312 ± 0.025
Caprolactam	0.038 ± 0.014	0.031 ± 0.013	0.032 ± 0.001	0.031 ± 0.003
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	1.18 ± 0.049	1.131 ± 0.138	0.548 ± 0.057	0.548 ± 0.072
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.084 ± 0.008	0.077 ± 0.025	0.017 ± 0.002	0.017 ± 0.003



Constituent name	5week_Control	5week_LAB+EtOH	5week_Acids+Yeast	5week_Acids+EtOH
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.008 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.022 ± 0.003	0.016 ± 0.002
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.009 ± 0.001	0.01 ± 0.002	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzoic acid	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.317 ± 0.012	0.335 ± 0.013	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.13 ± 0.01	0.131 ± 0.016	0.037 ± 0.009	0.035 ± 0.003
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.021 ± 0.003	0.02 ± 0.004	0.007 ± 0.005	0.008 ± 0.005
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.051 ± 0.002	0.051 ± 0.002	0.024 ± 0.002	0.024 ± 0.001
1,4-Benzenediol	0.061 ± 0.004	0.059 ± 0.004	0.022 ± 0.004	0.027 ± 0.002
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001

Constituent name	6week_Control	6week_LAB+EtOH	6week_Acids+Yeast	6week_Acids+EtOH
1-Propanol	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.022 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.025 ± 0.001	0.025 ± 0.002
1-Butanol	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.051 ± 0.002	0.051 ± 0.007	0.14 ± 0.002	0.15 ± 0.003
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
Ethyl lactate	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-butanone	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Acetic acid	0.052 ± 0.003	0.051 ± 0.016	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.028 ± 0.001	0.028 ± 0.001	0.027 ± 0.002	0.029 ± 0.004
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2,3-Butanediol	0.022 ± 0.001	0.023 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.177 ± 0.009	0.182 ± 0.009	0.038 ± 0.004	0.035 ± 0.002
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.053 ± 0.005	0.054 ± 0.004	0.009 ± 0.001	0.011 ± 0.003
Phenylacetaldehyde	0.026 ± 0.004	0.026 ± 0.007	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.002
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.002
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.804 ± 0.042	0.827 ± 0.037	0.437 ± 0.031	0.453 ± 0.031
2-Methylbutanoic acid	0.261 ± 0.005	0.266 ± 0.006	0.166 ± 0.014	0.163 ± 0.006
5-Ethyl-dihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001

Constituent name	6week_Control	6week_LAB+EtOH	6week_Acids+Yeast	6week_Acids+EtOH
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.044 ± 0.005	0.043 ± 0.005	0.042 ± 0.003	0.045 ± 0.004
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.017 ± 0.001	0.018 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.015 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.027 ± 0.001	0.025 ± 0.002	0.04 ± 0.004	0.038 ± 0.009
2-Phenylethyl alcohol	0.051 ± 0.005	0.049 ± 0.007	0.059 ± 0.008	0.059 ± 0.005
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	0.144 ± 0.003	0.144 ± 0.006	0.099 ± 0.007	0.097 ± 0.003
2-Acetylpyrrole	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.022 ± 0.002	0.022 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.013 ± 0.002
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.022 ± 0.001	0.02 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.022 ± 0.002	0.019 ± 0.003	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.018 ± 0.001	0.017 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.007 ± 0.002
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.178 ± 0.002	0.161 ± 0.013	0.33 ± 0.038	0.317 ± 0.021
Caprolactam	0.041 ± 0.013	0.037 ± 0.01	0.033 ± 0.004	0.034 ± 0.003
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	1.096 ± 0.076	0.923 ± 0.045	0.494 ± 0.091	0.626 ± 0.087
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.101 ± 0.008	0.069 ± 0.014	0.017 ± 0.004	0.021 ± 0.001

Constituent name	6week_Control	6week_LAB+EtOH	6week_Acids+Yeast	6week_Acids+EtOH
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.01 ± 0.002	0.01 ± 0.001
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.018 ± 0.005	0.017 ± 0.003
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.009 ± 0.003	0.01 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
mono-Ethyl succinate	0.005 ± 0.003	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzoic acid	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.285 ± 0.043	0.317 ± 0.011	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.115 ± 0.01	0.11 ± 0.013	0.035 ± 0.007	0.044 ± 0.009
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.022 ± 0.013	0.023 ± 0.008	0.007 ± 0.004	0.008 ± 0.001
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.05 ± 0.003	0.048 ± 0.002	0.023 ± 0.004	0.022 ± 0.002
1,4-Benzenediol	0.061 ± 0.002	0.06 ± 0.004	0.025 ± 0.009	0.024 ± 0.004
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001

Constituent name	7week_Control	7week_LAB+EtOH	7week_Acids+Yeast	7week_Acids+EtOH
1-Propanol	0.221 ± 0.012	0.002 ± 0.001	0.197 ± 0.007	0.002 ± 0.001
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.181 ± 0.014	0.021 ± 0.001	0.141 ± 0.01	0.018 ± 0.001
1-Butanol	1.611 ± 0.02	0.005 ± 0.001	1.603 ± 0.011	0.004 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	1.106 ± 0.066	0.056 ± 0.003	0.843 ± 0.072	0.045 ± 0.004
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.788 ± 0.02	0.007 ± 0.001	1.146 ± 0.035	0.003 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.011 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.015 ± 0.001	0.012 ± 0.002
Ethyl lactate	1.099 ± 0.008	0.614 ± 0.037	1.188 ± 0.02	0.533 ± 0.112
1-Hydroxy-2-butanone	0.097 ± 0.004	0.013 ± 0.001	0.108 ± 0.005	0.008 ± 0.001
Acetic acid	0.063 ± 0.002	0.064 ± 0.004	0.06 ± 0.002	0.051 ± 0.01
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.023 ± 0.002	0.016 ± 0.002	0.022 ± 0.002	0.014 ± 0.001
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.075 ± 0.015	0.033 ± 0.007	0.099 ± 0.013	0.041 ± 0.007
2,3-Butanediol	0.478 ± 0.024	0.029 ± 0.002	0.434 ± 0.05	0.025 ± 0.004
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.137 ± 0.006	0.168 ± 0.013	0.133 ± 0.002	0.145 ± 0.033
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.015 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.02 ± 0.002	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.022 ± 0.002	0.016 ± 0.001	0.017 ± 0.001	0.01 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.071 ± 0.002	0.049 ± 0.004	0.061 ± 0.003	0.048 ± 0.001
Phenylacetaldehyde	0.069 ± 0.008	0.047 ± 0.004	0.071 ± 0.002	0.042 ± 0.005
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.239 ± 0.015	0.096 ± 0.008	0.267 ± 0.018	0.103 ± 0.03
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.571 ± 0.034	0.697 ± 0.05	0.572 ± 0.027	0.642 ± 0.1
2-Methylbutanoic acid	0.154 ± 0.005	0.204 ± 0.008	0.153 ± 0.007	0.196 ± 0.034
5-Ethyldihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.007 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.062 ± 0.004	0.003 ± 0.001	0.071 ± 0.007	0.003 ± 0.001

Constituent name	7week_Control	7week_LAB+EtOH	7week_Acids+Yeast	7week_Acids+EtOH
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.189 ± 0.013	0.045 ± 0.002	0.178 ± 0.004	0.037 ± 0.001
2(5H)-furanone	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.015 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.021 ± 0.002	0.006 ± 0.002
2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.013 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.017 ± 0.001	0.019 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.017 ± 0.003
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.016 ± 0.001	0.019 ± 0.002	0.013 ± 0.001	0.018 ± 0.003
2-Phenylethyl alcohol	1.395 ± 0.077	0.061 ± 0.002	1.251 ± 0.106	0.035 ± 0.002
3-Hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one (Maltol)	0.263 ± 0.011	0.27 ± 0.011	0.266 ± 0.004	0.256 ± 0.013
2-Acetylpyrrole	0.011 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.001
5-Ethyl-2(3H)-furanone	0.016 ± 0.002	0.002 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.002 ± 0.001
(R)-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3H)-furanone	0.076 ± 0.003	0.067 ± 0.003	0.084 ± 0.004	0.079 ± 0.008
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF)	0.018 ± 0.002	0.026 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.01 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.691 ± 0.024	0.019 ± 0.001	0.776 ± 0.044	0.008 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF)	0.517 ± 0.016	0.015 ± 0.001	0.561 ± 0.012	0.007 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.212 ± 0.014	0.786 ± 0.023	0.151 ± 0.018	0.714 ± 0.098
Caprolactam	0.074 ± 0.005	0.046 ± 0.01	0.087 ± 0.011	0.046 ± 0.018
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	1.238 ± 0.058	1.053 ± 0.139	1.001 ± 0.061	0.892 ± 0.051
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.1 ± 0.018	0.091 ± 0.01	0.098 ± 0.011	0.074 ± 0.024

Constituent name	7week_Control	7week_LAB+EtOH	7week_Acids+Yeast	7week_Acids+EtOH
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.037 ± 0.004	0.048 ± 0.002	0.036 ± 0.001	0.043 ± 0.005
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.121 ± 0.017	0.052 ± 0.003	0.136 ± 0.012	0.047 ± 0.035
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.146 ± 0.004	0.035 ± 0.003	0.151 ± 0.005	0.029 ± 0.007
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.018 ± 0.002	0.021 ± 0.002	0.024 ± 0.002	0.026 ± 0.003
mono-Ethyl succinate	1.458 ± 0.063	0.338 ± 0.009	1.529 ± 0.033	0.268 ± 0.013
Benzoic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.306 ± 0.01	0.323 ± 0.019	0.292 ± 0.018	0.326 ± 0.056
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.177 ± 0.013	0.182 ± 0.017	0.159 ± 0.007	0.183 ± 0.023
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.022 ± 0.003	0.019 ± 0.002	0.022 ± 0.004	0.026 ± 0.011
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.769 ± 0.035	0.066 ± 0.002	0.707 ± 0.019	0.03 ± 0.002
1,4-Benzenediol	0.11 ± 0.002	0.104 ± 0.003	0.094 ± 0.001	0.088 ± 0.005
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.01 ± 0.01

Constituent name	15week_Control	15week_LAB+EtOH	15week_Acids+Yeast	15week_Acids+EtOH
1-Propanol	0.209 ± 0.007	0.113 ± 0.005	0.185 ± 0.009	0.109 ± 0.004
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.161 ± 0.008	0.023 ± 0.001	0.127 ± 0.008	0.021 ± 0.001
1-Butanol	1.593 ± 0.026	0.006 ± 0.001	1.596 ± 0.044	0.006 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.981 ± 0.082	0.088 ± 0.01	0.735 ± 0.064	0.073 ± 0.002
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.702 ± 0.004	0.008 ± 0.001	1.056 ± 0.033	0.004 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.015 ± 0.002
Ethyl lactate	1.072 ± 0.014	1.092 ± 0.035	1.185 ± 0.046	1.035 ± 0.149
1-Hydroxy-2-butanone	0.106 ± 0.004	0.019 ± 0.002	0.12 ± 0.003	0.013 ± 0.002
Acetic acid	0.058 ± 0.009	0.061 ± 0.011	0.06 ± 0.004	0.063 ± 0.004
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.019 ± 0.002	0.02 ± 0.001	0.019 ± 0.002	0.019 ± 0.002
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.056 ± 0.006	0.032 ± 0.001	0.076 ± 0.01	0.034 ± 0.01
2,3-Butanediol	0.485 ± 0.048	0.03 ± 0.003	0.409 ± 0.018	0.025 ± 0.003
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.133 ± 0.004	0.147 ± 0.013	0.129 ± 0.009	0.13 ± 0.02
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.016 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.026 ± 0.003	0.019 ± 0.002	0.02 ± 0.002	0.014 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.068 ± 0.003	0.043 ± 0.005	0.057 ± 0.006	0.043 ± 0.005
Phenylacetaldehyde	0.066 ± 0.008	0.061 ± 0.006	0.071 ± 0.005	0.057 ± 0.007
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.19 ± 0.006	0.089 ± 0.011	0.182 ± 0.012	0.1 ± 0.017
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.513 ± 0.02	0.586 ± 0.06	0.511 ± 0.036	0.575 ± 0.047
2-Methylbutanoic acid	0.148 ± 0.003	0.161 ± 0.009	0.145 ± 0.006	0.156 ± 0.016
5-Ethyl-dihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.056 ± 0.004	0.003 ± 0.001	0.066 ± 0.008	0.003 ± 0.001



Constituent name	15week_Control	15week_LAB+EtOH	15week_Acids+Yeast	15week_Acids+EtOH
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.168 ± 0.014	0.046 ± 0.005	0.164 ± 0.003	0.043 ± 0.005
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.013 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.016 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.023 ± 0.003	0.006 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.014 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.005 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.015 ± 0.001	0.017 ± 0.002	0.014 ± 0.001	0.016 ± 0.001
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.001
2-Phenylethyl alcohol	1.14 ± 0.061	0.082 ± 0.007	1.079 ± 0.122	0.06 ± 0.008
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	0.264 ± 0.018	0.277 ± 0.018	0.271 ± 0.018	0.286 ± 0.015
2-Acetylpyrrole	0.012 ± 0.001	0.016 ± 0.002	0.013 ± 0.001	0.016 ± 0.002
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.016 ± 0.003	0.002 ± 0.001	0.018 ± 0.002	0.002 ± 0.001
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.084 ± 0.003	0.082 ± 0.005	0.097 ± 0.004	0.094 ± 0.008
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.015 ± 0.002	0.022 ± 0.003	0.008 ± 0.001	0.011 ± 0.002
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.471 ± 0.03	0.017 ± 0.002	0.542 ± 0.058	0.009 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.36 ± 0.014	0.012 ± 0.001	0.385 ± 0.011	0.006 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.182 ± 0.007	0.474 ± 0.017	0.142 ± 0.016	0.459 ± 0.088
Caprolactam	0.078 ± 0.003	0.073 ± 0.013	0.09 ± 0.016	0.066 ± 0.028
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	1.032 ± 0.092	0.904 ± 0.1	0.817 ± 0.038	0.881 ± 0.224
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.091 ± 0.026	0.081 ± 0.018	0.088 ± 0.018	0.109 ± 0.019

Constituent name	15week_Control	15week_LAB+EtOH	15week_Acids+Yeast	15week_Acids+EtOH
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.035 ± 0.003	0.058 ± 0.003	0.034 ± 0.001	0.048 ± 0.007
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.111 ± 0.008	0.099 ± 0.005	0.142 ± 0.008	0.085 ± 0.009
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.099 ± 0.006	0.051 ± 0.002	0.1 ± 0.003	0.042 ± 0.004
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.019 ± 0.001	0.024 ± 0.003	0.025 ± 0.004	0.028 ± 0.007
mono-Ethyl succinate	1.571 ± 0.021	0.727 ± 0.035	1.591 ± 0.043	0.753 ± 0.118
Benzoic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.29 ± 0.006	0.301 ± 0.01	0.282 ± 0.005	0.283 ± 0.018
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.154 ± 0.004	0.174 ± 0.012	0.136 ± 0.007	0.169 ± 0.013
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.029 ± 0.006	0.02 ± 0.001	0.024 ± 0.003	0.015 ± 0.002
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.736 ± 0.028	0.071 ± 0.003	0.69 ± 0.031	0.032 ± 0.002
1,4-Benzenediol	0.108 ± 0.001	0.109 ± 0.002	0.094 ± 0.007	0.098 ± 0.007
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001

Constituent name	17week_Control	17week_LAB+EtOH	17week_Acids+Yeast	17week_Acids+EtOH
1-Propanol	0.232 ± 0.006	0.111 ± 0.006	0.194 ± 0.012	0.11 ± 0.004
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.178 ± 0.007	0.024 ± 0.002	0.135 ± 0.007	0.022 ± 0.001
1-Butanol	1.751 ± 0.101	0.006 ± 0.001	1.694 ± 0.108	0.006 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	1.097 ± 0.091	0.095 ± 0.008	0.81 ± 0.082	0.082 ± 0.001
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.732 ± 0.016	0.007 ± 0.001	1.078 ± 0.023	0.004 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.013 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.017 ± 0.002
Ethyl lactate	1.195 ± 0.026	1.098 ± 0.026	1.23 ± 0.027	1.055 ± 0.148
1-Hydroxy-2-butanone	0.11 ± 0.003	0.02 ± 0.001	0.121 ± 0.006	0.015 ± 0.002
Acetic acid	0.048 ± 0.015	0.061 ± 0.006	0.051 ± 0.012	0.06 ± 0.001
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.022 ± 0.001	0.023 ± 0.001	0.024 ± 0.002	0.023 ± 0.002
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.065 ± 0.008	0.032 ± 0.002	0.075 ± 0.012	0.035 ± 0.008
2,3-Butanediol	0.554 ± 0.077	0.031 ± 0.001	0.462 ± 0.071	0.026 ± 0.003
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.137 ± 0.009	0.142 ± 0.01	0.122 ± 0.009	0.129 ± 0.023
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.017 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.021 ± 0.002	0.003 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.027 ± 0.003	0.02 ± 0.002	0.02 ± 0.002	0.014 ± 0.001
Butanoic acid (Butyric acid)	0.069 ± 0.005	0.041 ± 0.005	0.055 ± 0.005	0.042 ± 0.004
Phenylacetaldehyde	0.071 ± 0.009	0.059 ± 0.005	0.07 ± 0.001	0.06 ± 0.004
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.159 ± 0.017	0.074 ± 0.007	0.143 ± 0.016	0.084 ± 0.02
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.507 ± 0.049	0.547 ± 0.047	0.47 ± 0.054	0.544 ± 0.042
2-Methylbutanoic acid	0.153 ± 0.007	0.155 ± 0.01	0.139 ± 0.009	0.154 ± 0.018
5-Ethylidihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.007 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.057 ± 0.003	0.003 ± 0.001	0.064 ± 0.007	0.003 ± 0.001

Constituent name	17week_Control	17week_LAB+EtOH	17week_Acids+Yeast	17week_Acids+EtOH
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.172 ± 0.007	0.045 ± 0.007	0.161 ± 0.01	0.042 ± 0.004
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.014 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.015 ± 0.002	0.014 ± 0.002
2-Butenoic acid	0.016 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.02 ± 0.004	0.006 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.015 ± 0.002	0.011 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.005 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.016 ± 0.001	0.017 ± 0.002	0.014 ± 0.001	0.015 ± 0.002
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.015 ± 0.002	0.015 ± 0.002	0.011 ± 0.002	0.014 ± 0.002
2-Phenylethyl alcohol	1.122 ± 0.078	0.079 ± 0.011	0.977 ± 0.092	0.058 ± 0.007
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	0.269 ± 0.031	0.275 ± 0.011	0.261 ± 0.023	0.301 ± 0.018
2-Acetylpyrrole	0.013 ± 0.002	0.016 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.017 ± 0.002
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.017 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.018 ± 0.002	0.002 ± 0.001
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.091 ± 0.002	0.081 ± 0.005	0.1 ± 0.005	0.098 ± 0.008
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.014 ± 0.001	0.019 ± 0.002	0.007 ± 0.002	0.01 ± 0.003
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.415 ± 0.067	0.015 ± 0.002	0.45 ± 0.053	0.008 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.33 ± 0.024	0.012 ± 0.001	0.339 ± 0.018	0.006 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.146 ± 0.015	0.375 ± 0.015	0.115 ± 0.013	0.381 ± 0.067
Caprolactam	0.108 ± 0.02	0.071 ± 0.015	0.056 ± 0.039	0.069 ± 0.027
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	0.924 ± 0.146	0.86 ± 0.053	0.686 ± 0.054	0.865 ± 0.091
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.07 ± 0.037	0.082 ± 0.022	0.059 ± 0.028	0.097 ± 0.01

Constituent name	17week_Control	17week_LAB+EtOH	17week_Acids+Yeast	17week_Acids+EtOH
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.037 ± 0.036	0.054 ± 0.003	0.012 ± 0.017	0.049 ± 0.007
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.135 ± 0.017	0.143 ± 0.002	0.189 ± 0.023	0.127 ± 0.019
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.094 ± 0.005	0.049 ± 0.004	0.092 ± 0.006	0.038 ± 0.006
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.02 ± 0.001	0.024 ± 0.002	0.026 ± 0.004	0.03 ± 0.005
mono-Ethyl succinate	1.724 ± 0.095	0.798 ± 0.02	1.67 ± 0.093	0.851 ± 0.089
Benzoic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.304 ± 0.007	0.293 ± 0.015	0.267 ± 0.013	0.285 ± 0.023
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.147 ± 0.006	0.165 ± 0.007	0.129 ± 0.005	0.165 ± 0.004
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.038 ± 0.003	0.027 ± 0.011	0.03 ± 0.004	0.018 ± 0.001
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.733 ± 0.029	0.069 ± 0.002	0.663 ± 0.025	0.032 ± 0.002
1,4-Benzenediol	0.106 ± 0.008	0.109 ± 0.006	0.09 ± 0.006	0.098 ± 0.008
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.004	0.006 ± 0.003	0.004 ± 0.001

Constituent name	18week_Control	18week_LAB+EtOH	18week_Acids+Yeast	18week_Acids+EtOH
1-Propanol	0.208 ± 0.005	0.111 ± 0.005	0.189 ± 0.013	0.113 ± 0.005
2-Methyl-1-propanol (Isobutyl alcohol)	0.168 ± 0.008	0.023 ± 0.001	0.132 ± 0.012	0.021 ± 0.001
1-Butanol	1.597 ± 0.02	0.007 ± 0.001	1.673 ± 0.161	0.006 ± 0.001
3-Methyl-1-butanol	0.994 ± 0.1	0.094 ± 0.012	0.789 ± 0.085	0.079 ± 0.006
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	0.676 ± 0.026	0.007 ± 0.001	1.038 ± 0.05	0.004 ± 0.001
1-Hydroxy-2-propanone (Acetol)	0.013 ± 0.001	0.013 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.017 ± 0.002
Ethyl lactate	1.079 ± 0.019	1.109 ± 0.03	1.217 ± 0.083	1.082 ± 0.127
1-Hydroxy-2-butanone	0.106 ± 0.006	0.021 ± 0.001	0.121 ± 0.007	0.016 ± 0.001
Acetic acid	0.062 ± 0.003	0.057 ± 0.005	0.052 ± 0.01	0.055 ± 0.01
3-(Methylthio)-1-propanal (Methional)	0.021 ± 0.001	0.023 ± 0.001	0.022 ± 0.001	0.022 ± 0.002
2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	0.067 ± 0.004	0.028 ± 0.002	0.077 ± 0.008	0.033 ± 0.009
2,3-Butanediol	0.46 ± 0.065	0.032 ± 0.001	0.448 ± 0.051	0.027 ± 0.004
2-Methylpropanoic acid (Isobutyric acid)	0.135 ± 0.007	0.148 ± 0.01	0.123 ± 0.005	0.129 ± 0.026
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanone (gamma-Valerolactone)	0.017 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.021 ± 0.003	0.002 ± 0.001
Dihydro-2(3H)-furanone (gamma-Butyrolactone)	0.029 ± 0.001	0.02 ± 0.002	0.02 ± 0.002	0.014 ± 0.002
Butanoic acid (Butyric acid)	0.068 ± 0.004	0.043 ± 0.004	0.055 ± 0.001	0.043 ± 0.003
Phenylacetaldehyde	0.068 ± 0.003	0.059 ± 0.006	0.07 ± 0.004	0.058 ± 0.005
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	0.127 ± 0.014	0.061 ± 0.006	0.103 ± 0.012	0.066 ± 0.026
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	0.5 ± 0.034	0.561 ± 0.04	0.459 ± 0.041	0.531 ± 0.049
2-Methylbutanoic acid	0.148 ± 0.006	0.163 ± 0.003	0.14 ± 0.011	0.153 ± 0.02
5-Ethyl-dihydro-2(3H)-furanone (gamma-hexalactone)	0.007 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.001
3-Methyl-2(5H)-furanone	0.056 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.063 ± 0.01	0.002 ± 0.001

Constituent name	18week_Control	18week_LAB+EtOH	18week_Acids+Yeast	18week_Acids+EtOH
3-(Methylthio)-1-propanol (Methionol)	0.173 ± 0.008	0.046 ± 0.002	0.153 ± 0.013	0.04 ± 0.003
2(5 <i>H</i> )-furanone	0.013 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.014 ± 0.001	0.015 ± 0.001
2-Butenoic acid	0.016 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.02 ± 0.005	0.006 ± 0.001
2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (Cyclotene)	0.015 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.005 ± 0.001
2-Methyl-2-butenoic acid	0.014 ± 0.001	0.017 ± 0.001	0.013 ± 0.001	0.016 ± 0.003
Hexanoic acid (Caproic acid)	0.013 ± 0.001	0.014 ± 0.001	0.01 ± 0.003	0.013 ± 0.001
2-Phenylethyl alcohol	1.08 ± 0.033	0.075 ± 0.005	0.93 ± 0.147	0.054 ± 0.002
3-Hydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one (Maltol)	0.272 ± 0.008	0.282 ± 0.018	0.256 ± 0.022	0.295 ± 0.021
2-Acetylpyrrole	0.013 ± 0.001	0.016 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.016 ± 0.002
5-Ethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.017 ± 0.002	0.002 ± 0.001	0.018 ± 0.002	0.003 ± 0.001
( <i>R</i> )-Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3 <i>H</i> )-furanone	0.092 ± 0.003	0.085 ± 0.004	0.101 ± 0.004	0.1 ± 0.006
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HDMF)	0.013 ± 0.002	0.019 ± 0.002	0.006 ± 0.002	0.009 ± 0.001
3,5-Dimethyl-4-heptanone	0.409 ± 0.007	0.015 ± 0.002	0.404 ± 0.072	0.008 ± 0.001
5(or 2)-Ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2 <i>H</i> )-furanone (HEMF)	0.307 ± 0.014	0.011 ± 0.001	0.306 ± 0.035	0.006 ± 0.001
4-Hydroxy-5-methyl-furanone	0.122 ± 0.014	0.321 ± 0.012	0.092 ± 0.015	0.303 ± 0.047
Caprolactam	0.076 ± 0.019	0.077 ± 0.008	0.092 ± 0.035	0.081 ± 0.006
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguaiacol)	0.962 ± 0.1	0.856 ± 0.02	0.66 ± 0.088	0.771 ± 0.074
1,2,3-Benzenetriol (Pyrogallol)	0.101 ± 0.01	0.079 ± 0.019	0.064 ± 0.03	0.087 ± 0.024

Constituent name	18week_Control	18week_LAB+EtOH	18week_Acids+Yeast	18week_Acids+EtOH
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4 <i>H</i> -pyran-4-one	0.03 ± 0.003	0.054 ± 0.003	0.045 ± 0.051	0.049 ± 0.012
Ethyl hexadecanoate (Ethyl Palmitate)	0.151 ± 0.015	0.117 ± 0.012	0.185 ± 0.008	0.116 ± 0.014
2-Methoxy-6-methyl-4-pyran-4-one	0.084 ± 0.005	0.044 ± 0.001	0.083 ± 0.008	0.036 ± 0.007
4-Oxopentanoic acid (Levulinic acid)	0.019 ± 0.003	0.026 ± 0.001	0.026 ± 0.002	0.03 ± 0.003
mono-Ethyl succinate	1.593 ± 0.032	0.883 ± 0.03	1.666 ± 0.148	0.914 ± 0.063
Benzoic acid	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Phenylacetic acid	0.289 ± 0.013	0.302 ± 0.013	0.27 ± 0.017	0.28 ± 0.04
4-Ethyl-2,6-dimethoxyphenol	0.144 ± 0.017	0.174 ± 0.01	0.127 ± 0.002	0.164 ± 0.018
<i>n</i> -Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	0.037 ± 0.004	0.029 ± 0.001	0.038 ± 0.002	0.025 ± 0.004
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	0.737 ± 0.036	0.07 ± 0.002	0.657 ± 0.065	0.031 ± 0.002
1,4-Benzenediol	0.109 ± 0.007	0.108 ± 0.001	0.09 ± 0.008	0.095 ± 0.003
( <i>Z,Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001

各化合物の相対強度は mean ± standard deviation で表した. Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB + EtOH : 乳酸菌 + ethanol 添加, Acids + Yeast : lactic acid, acetic acid + 酵母添加, Acids + ethanol : lactic acid, acetic acid + ethanol 添加



表 A12. 第 3 章のサンプルでアノテーションされた揮発性成分 (スタティックヘッドスペースサンプリング)の各サンプルにおける相対強度

Constituent name	0week_Control	0week_LAB+EtOH	0week_Acids+Yeast	0week_Acids+EtOH
Acetaldehyde	0.366 ± 0.031	0.366 ± 0.055	0.341 ± 0.023	0.34 ± 0.041
Methanethiol	0.03 ± 0.009	0.038 ± 0.007	0.038 ± 0.011	0.031 ± 0.005
2-Propanone (Acetone)	0.105 ± 0.012	0.114 ± 0.012	0.131 ± 0.012	0.102 ± 0.036
2-Propanol	0.101 ± 0.007	0.108 ± 0.004	0.112 ± 0.005	0.087 ± 0.025
Furan	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Ethyl formate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-2- propanol	0.01 ± 0.003	0.009 ± 0.003	0.01 ± 0.002	0.012 ± 0.001
Methyl acetate	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0.001 ± 0.001
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.057 ± 0.004	0.056 ± 0.008	0.06 ± 0.015	0.052 ± 0.011
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.007 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.001	0.006 ± 0.001
2-Butanone	0.07 ± 0.03	0.089 ± 0.042	0.11 ± 0.011	0.114 ± 0.047
2-Methyl-furan	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Ethoxy-2-methyl- propane	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002
2-Butenal	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.001
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.118 ± 0.004	0.106 ± 0.01	0.108 ± 0.024	0.101 ± 0.017
3-Methyl-2- butanone	0.002 ± 0.002	0.002 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.08 ± 0.003	0.085 ± 0.011	0.082 ± 0.019	0.079 ± 0.01
2-Pentanone	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.007 ± 0.001
2,3-Pentanedione	0.007 ± 0.003	0.007 ± 0.002	0.007 ± 0.003	0.005 ± 0.002
Ethyl propionate	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
<i>n</i> -Propyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0.002 ± 0.002	0.002 ± 0.002
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.045 ± 0.006	0.047 ± 0.006	0.046 ± 0.006	0.042 ± 0.007
Dimethyl disulfide	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001
Ethyl 2- methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Constituent name	0week_Control	0week_LAB+EtOH	0week_Acids+Yeast	0week_Acids+EtOH
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Hexanal	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.001
Ethyl butanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Butyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 2-methylbutanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001
(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Benzaldehyde	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.002	0.011 ± 0.002	0.01 ± 0.002
1-Octen-3-ol	0.128 ± 0.025	0.189 ± 0.068	0.223 ± 0.105	0.182 ± 0.114
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Octanol	0.01 ± 0.001	0.01 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.01 ± 0.002
2-Octenal	0.013 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.004	0.012 ± 0.001
Ethyl heptanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl benzoate	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Constituent name	1week_Control	1week_LAB+EtOH	1week_Acids+Yeast	1week_Acids+EtOH
Acetaldehyde	0.74 ± 0.136	0.858 ± 0.107	0.65 ± 0.045	0.715 ± 0.239
Methanethiol	0.03 ± 0.006	0.04 ± 0.004	0.039 ± 0.007	0.038 ± 0.018
2-Propanone				
(Acetone)	0.174 ± 0.05	0.204 ± 0.027	0.179 ± 0.04	0.17 ± 0.021
2-Propanol	0.082 ± 0.005	0.081 ± 0.01	0.081 ± 0.012	0.074 ± 0.014
Furan	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002
Ethyl formate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-2-				
propanol	0.039 ± 0.024	0.062 ± 0.014	0.043 ± 0.023	0.029 ± 0.007
Methyl acetate	0.002 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.002	0.001 ± 0.001
2-Methyl-propanal				
(Isobutyraldehyde)	0.091 ± 0.019	0.11 ± 0.011	0.102 ± 0.023	0.103 ± 0.026
2,3-Butanedione				
(Diacetyl)	0.006 ± 0.003	0.008 ± 0.002	0.007 ± 0.004	0.007 ± 0.002
2-Butanone	0.077 ± 0.052	0.128 ± 0.038	0.105 ± 0.028	0.08 ± 0.038
2-Methyl-furan	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.002
2-Ethoxy-2-methyl-				
propane	0.004 ± 0.004	0.006 ± 0.004	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.001
2-Butenal	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.003	0.004 ± 0.002
3-Methyl-butanal				
(Isovaleraldehyde)	0.184 ± 0.017	0.222 ± 0.019	0.194 ± 0.034	0.198 ± 0.035
3-Methyl-2-				
butanone	0.007 ± 0.006	0.004 ± 0.003	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.001
2-Methyl-butanal				
(Valeraldehyde)	0.125 ± 0.018	0.153 ± 0.011	0.147 ± 0.019	0.144 ± 0.035
2-Pentanone	0.009 ± 0.003	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.004	0.008 ± 0.003
2,3-Pentanedione	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.003 ± 0.001
Ethyl propionate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001
<i>n</i> -Propyl acetate	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.004	0.001 ± 0.002	0.001 ± 0.001
2-Methyl-1-butanol				
(Active amyl				
alcohol)	0.073 ± 0.002	0.077 ± 0.004	0.066 ± 0.006	0.071 ± 0.005
Dimethyl disulfide	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.003	0.004 ± 0.001
Ethyl 2-				
methylpropanoate				
(Ethyl isobutyrate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylpropyl				
acetate (Isobutyl				
acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001

Constituent name	1week_Control	1week_LAB+EtOH	1week_Acids+Yeast	1week_Acids+EtOH
Hexanal	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Ethyl butanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Butyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 2-methylbutanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0.001 ± 0.002	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.002
(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Benzaldehyde	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.003
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	0.008 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.009 ± 0.002	0.01 ± 0.002
1-Octen-3-ol	0.209 ± 0.124	0.265 ± 0.109	0.207 ± 0.187	0.223 ± 0.149
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Octanol	0.011 ± 0.003	0.01 ± 0.002	0.009 ± 0.002	0.01 ± 0.002
2-Octenal	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.011 ± 0.002	0.009 ± 0.002
Ethyl heptanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl benzoate	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0.001 ± 0.001
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Constituent name	3week_Control	3week_LAB+EtOH	3week_Acids+Yeast	3week_Acids+EtOH
Acetaldehyde	1.303 ± 0.062	1.231 ± 0.08	1.028 ± 0.135	1.056 ± 0.229
Methanethiol	0.022 ± 0.007	0.031 ± 0.003	0.038 ± 0.011	0.033 ± 0.007
2-Propanone (Acetone)	0.183 ± 0.014	0.23 ± 0.012	0.222 ± 0.008	0.206 ± 0.008
2-Propanol	0.078 ± 0.008	0.091 ± 0.001	0.089 ± 0.007	0.069 ± 0.016
Furan	0.002 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002
Ethyl formate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-2- propanol	0.017 ± 0.008	0.014 ± 0.006	0.016 ± 0.007	0.01 ± 0.002
Methyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.099 ± 0.009	0.146 ± 0.014	0.15 ± 0.033	0.147 ± 0.035
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.007 ± 0.003	0.013 ± 0.005	0.007 ± 0.004	0.01 ± 0.001
2-Butanone	0.109 ± 0.031	0.136 ± 0.015	0.109 ± 0.033	0.073 ± 0.043
2-Methyl-furan	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Ethoxy-2-methyl- propane	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.003
2-Butenal	0.005 ± 0.002	0.008 ± 0.002	0.007 ± 0.002	0.005 ± 0.001
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.218 ± 0.02	0.306 ± 0.027	0.306 ± 0.064	0.296 ± 0.045
3-Methyl-2- butanone	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.142 ± 0.025	0.213 ± 0.018	0.23 ± 0.037	0.209 ± 0.041
2-Pentanone	0.01 ± 0.003	0.009 ± 0.003	0.01 ± 0.001	0.009 ± 0.002
2,3-Pentanedione	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001
Ethyl propionate	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001
<i>n</i> -Propyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.002
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.077 ± 0.006	0.084 ± 0.003	0.083 ± 0.009	0.077 ± 0.004
Dimethyl disulfide	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.003	0.003 ± 0.002
Ethyl 2- methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0.002 ± 0.002	0 ± 0

Constituent name	3week_Control	3week_LAB+EtOH	3week_Acids+Yeast	3week_Acids+EtOH
Hexanal	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.001
Ethyl butanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Butyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 2-methylbutanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0 ± 0	0.002 ± 0.002	0 ± 0	0.001 ± 0.002
2-Methylbutyl acetate	0 ± 0	0.001 ± 0.002	0 ± 0	0.001 ± 0.002
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzaldehyde	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.002
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	0.008 ± 0.002	0.009 ± 0.002	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001
1-Octen-3-ol	0.109 ± 0.011	0.325 ± 0.047	0.296 ± 0.086	0.322 ± 0.154
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Octanol	0.009 ± 0.001	0.012 ± 0.003	0.011 ± 0.001	0.013 ± 0.003
2-Octenal	0.011 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.01 ± 0.002
Ethyl heptanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl benzoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Constituent name	4week_Control	4week_LAB+EtOH	4week_Acids+Yeast	4week_Acids+EtOH
Acetaldehyde	1.174 ± 0.049	1.056 ± 0.218	1.03 ± 0.178	1.158 ± 0.343
Methanethiol	0.035 ± 0.003	0.029 ± 0.007	0.032 ± 0.006	0.028 ± 0.01
2-Propanone (Acetone)	0.205 ± 0.025	0.236 ± 0.032	0.243 ± 0.036	0.174 ± 0.024
2-Propanol	0.107 ± 0.007	0.105 ± 0.006	0.105 ± 0.012	0.095 ± 0.023
Furan	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002
Ethyl formate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-2- propanol	0.029 ± 0.019	0.031 ± 0.01	0.011 ± 0.003	0.017 ± 0.002
Methyl acetate	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.177 ± 0.015	0.183 ± 0.041	0.193 ± 0.01	0.165 ± 0.028
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.01 ± 0.002	0.011 ± 0.003	0.015 ± 0.001	0.012 ± 0.005
2-Butanone	0.105 ± 0.064	0.206 ± 0.043	0.132 ± 0.019	0.088 ± 0.008
2-Methyl-furan	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.002
2-Ethoxy-2-methyl- propane	0.002 ± 0.002	0.006 ± 0.004	0.003 ± 0.001	0.007 ± 0.006
2-Butenal	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.003	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.002
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.347 ± 0.031	0.361 ± 0.063	0.386 ± 0.023	0.327 ± 0.03
3-Methyl-2- butanone	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.252 ± 0.016	0.264 ± 0.055	0.275 ± 0.019	0.235 ± 0.039
2-Pentanone	0.011 ± 0.002	0.014 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.008 ± 0.001
2,3-Pentanedione	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.003	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001
Ethyl propionate	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
<i>n</i> -Propyl acetate	0.002 ± 0.004	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.068 ± 0.008	0.067 ± 0.006	0.077 ± 0.007	0.071 ± 0.007
Dimethyl disulfide	0.003 ± 0.002	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.002 ± 0.001
Ethyl 2- methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0.002 ± 0.002	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.002

Constituent name	4week_Control	4week_LAB+EtOH	4week_Acids+Yeast	4week_Acids+EtOH
Hexanal	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
Ethyl butanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Butyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001
Ethyl 2-methylbutanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.001
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.002	0.001 ± 0.002	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.002	0.001 ± 0.002	0 ± 0
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	0.002 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzaldehyde	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	0.008 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.002
1-Octen-3-ol	0.243 ± 0.043	0.38 ± 0.24	0.285 ± 0.073	0.206 ± 0.155
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Octanol	0.009 ± 0.002	0.009 ± 0.004	0.01 ± 0.002	0.008 ± 0.002
2-Octenal	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.007 ± 0.002	0.008 ± 0.002
Ethyl heptanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl benzoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0



Constituent name	5week_Control	5week_LAB+EtOH	5week_Acids+Yeast	5week_Acids+EtOH
Acetaldehyde	0.251 ± 0.022	0.229 ± 0.025	1.266 ± 0.388	0.953 ± 0.058
Methanethiol	0.049 ± 0.002	0.047 ± 0.003	0.022 ± 0.009	0.024 ± 0.001
2-Propanone (Acetone)	0.762 ± 0.104	0.666 ± 0.02	0.28 ± 0.06	0.259 ± 0.014
2-Propanol	0.238 ± 0.053	0.22 ± 0.027	0.271 ± 0.067	0.215 ± 0.029
Furan	0.019 ± 0.004	0.018 ± 0.006	0.004 ± 0.003	0.004 ± 0.001
Ethyl formate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-2- propanol	0.046 ± 0.05	0.044 ± 0.02	0.026 ± 0.015	0.014 ± 0.001
Methyl acetate	0.054 ± 0.008	0.053 ± 0.011	0.001 ± 0.001	0 ± 0
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.319 ± 0.057	0.305 ± 0.016	0.211 ± 0.038	0.209 ± 0.011
2,3-Butanedione (Diacyetyl)	0.012 ± 0.003	0.013 ± 0.004	0.014 ± 0.005	0.014 ± 0.004
2-Butanone	0.375 ± 0.096	0.31 ± 0.013	0.144 ± 0.051	0.11 ± 0.041
2-Methyl-furan	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.003	0.006 ± 0.001
2-Ethoxy-2-methyl- propane	0.005 ± 0.001	0.008 ± 0.003	0.007 ± 0.003	0.007 ± 0.004
2-Butenal	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.476 ± 0.051	0.43 ± 0.061	0.424 ± 0.081	0.415 ± 0.005
3-Methyl-2- butanone	0.022 ± 0.002	0.02 ± 0.007	0.006 ± 0.003	0.007 ± 0.002
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.383 ± 0.059	0.357 ± 0.041	0.281 ± 0.072	0.29 ± 0.009
2-Pentanone	0.014 ± 0.004	0.016 ± 0.002	0.011 ± 0.003	0.011 ± 0.003
2,3-Pentanedione	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.006 ± 0.003	0.005 ± 0.001
Ethyl propionate	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0
<i>n</i> -Propyl acetate	0.002 ± 0.003	0.002 ± 0.003	0 ± 0	0.002 ± 0.002
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.038 ± 0.001	0.034 ± 0.007	0.08 ± 0.014	0.086 ± 0.009
Dimethyl disulfide	0.004 ± 0.003	0.003 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
Ethyl 2- methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0.001 ± 0.001

Constituent name	5week_Control	5week_LAB+EtOH	5week_Acids+Yeast	5week_Acids+EtOH
Hexanal	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002
Ethyl butanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Butyl acetate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.002
Ethyl 2-methylbutanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0 ± 0	0.001 ± 0.001
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.003	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0.003 ± 0.002	0.002 ± 0.002	0.001 ± 0.001	0 ± 0
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001
(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzaldehyde	0.021 ± 0.007	0.021 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.003 ± 0.001
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.002
1-Octen-3-ol	0.172 ± 0.027	0.164 ± 0.04	0.224 ± 0.178	0.221 ± 0.064
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
3-Octanol	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.001
2-Octenal	0 ± 0	0 ± 0	0.007 ± 0.002	0.006 ± 0.001
Ethyl heptanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl benzoate	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Constituent name	6week_Control	6week_LAB+EtOH	6week_Acids+Yeast	6week_Acids+EtOH
Acetaldehyde	0.233 ± 0.017	0.234 ± 0.011	0.738 ± 0.073	0.932 ± 0.064
Methanethiol	0.044 ± 0.005	0.046 ± 0.006	0.025 ± 0.006	0.019 ± 0.008
2-Propanone (Acetone)	0.596 ± 0.033	0.629 ± 0.034	0.315 ± 0.051	0.257 ± 0.017
2-Propanol	0.079 ± 0.008	0.089 ± 0.001	0.076 ± 0.007	0.069 ± 0.011
Furan	0.014 ± 0.003	0.016 ± 0.004	0.005 ± 0.002	0.003 ± 0.002
Ethyl formate	-0.002 ± 0.003	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Methyl-2- propanol	0.088 ± 0.006	0.059 ± 0.047	0.027 ± 0.02	0.017 ± 0.001
Methyl acetate	0.061 ± 0.005	0.065 ± 0.009	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.002
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	0.288 ± 0.03	0.297 ± 0.028	0.222 ± 0.041	0.182 ± 0.047
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.01 ± 0.002	0.01 ± 0.004	0.014 ± 0.002	0.014 ± 0.002
2-Butanone	0.295 ± 0.038	0.298 ± 0.047	0.11 ± 0.029	0.147 ± 0.016
2-Methyl-furan	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.007 ± 0.003	0.004 ± 0.002
2-Ethoxy-2-methyl- propane	0.009 ± 0.002	0.008 ± 0.002	0.009 ± 0.003	0.008 ± 0.003
2-Butenal	0.003 ± 0.002	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	0.404 ± 0.052	0.413 ± 0.046	0.451 ± 0.091	0.381 ± 0.08
3-Methyl-2- butanone	0.021 ± 0.003	0.023 ± 0.002	0.007 ± 0.002	0.004 ± 0.001
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	0.308 ± 0.03	0.326 ± 0.047	0.316 ± 0.074	0.258 ± 0.057
2-Pentanone	0.016 ± 0.002	0.016 ± 0.001	0.014 ± 0.003	0.011 ± 0.002
2,3-Pentanedione	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.002
Ethyl propionate	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
<i>n</i> -Propyl acetate	0.002 ± 0.003	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.04 ± 0.006	0.039 ± 0.002	0.096 ± 0.012	0.096 ± 0.006
Dimethyl disulfide	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.002 ± 0.002	0.001 ± 0.001
Ethyl 2- methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.002	0 ± 0	0 ± 0
3,4-Hexanedione	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001

Constituent name	6week_Control	6week_LAB+EtOH	6week_Acids+Yeast	6week_Acids+EtOH
Hexanal	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl butanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Butyl acetate	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 2-methylbutanoate	0.002 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.003 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0 ± 0	0.001 ± 0.001
2-Methylbutyl acetate	0.003 ± 0.003	0.003 ± 0.003	0 ± 0	0.001 ± 0.002
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002
(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	0.002 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
Benzaldehyde	0.019 ± 0.002	0.019 ± 0.005	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.002
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001
1-Octen-3-ol	0.167 ± 0.029	0.161 ± 0.021	0.223 ± 0.07	0.156 ± 0.08
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0 ± 0	0.001 ± 0.001	0 ± 0	0 ± 0
3-Octanol	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.009 ± 0.002
2-Octenal	0 ± 0	0 ± 0	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001
Ethyl heptanoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl benzoate	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Constituent name	7week_Control	7week_LAB+EtOH	7week_Acids+Yeast	7week_Acids+EtOH
Acetaldehyde	3.716 ± 0.366	0.589 ± 0.023	3.131 ± 0.358	0.371 ± 0.028
Methanethiol	0.03 ± 0.002	0.044 ± 0.005	0.029 ± 0.003	0.033 ± 0.009
2-Propanone (Acetone)	0.677 ± 0.02	0.775 ± 0.118	0.776 ± 0.026	1.129 ± 0.236
2-Propanol	0.093 ± 0.004	0.078 ± 0.008	0.084 ± 0.013	0.068 ± 0.024
Furan	0.033 ± 0.004	0.037 ± 0.018	0.034 ± 0.007	0.036 ± 0.011
Ethyl formate	0.069 ± 0.001	0.086 ± 0.025	0.06 ± 0.005	0.031 ± 0.008
2-Methyl-2- propanol	0.022 ± 0.011	0.022 ± 0.011	0.026 ± 0.008	0.022 ± 0.003
Methyl acetate	0.062 ± 0.004	0.072 ± 0.008	0.062 ± 0.006	0.082 ± 0.019
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	1.111 ± 0.038	0.969 ± 0.158	1.257 ± 0.041	1.289 ± 0.222
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.554 ± 0.042	0.019 ± 0.001	0.602 ± 0.036	0.014 ± 0.004
2-Butanone	0.319 ± 0.015	0.337 ± 0.05	0.314 ± 0.031	0.333 ± 0.063
2-Methyl-furan	0.006 ± 0.001	0.008 ± 0.004	0.008 ± 0.003	0.017 ± 0.005
2-Ethoxy-2-methyl- propane	0.02 ± 0.005	0.022 ± 0.007	0.021 ± 0.004	0.016 ± 0.003
2-Butenal	0.025 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.039 ± 0.003	0.007 ± 0.002
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	1.393 ± 0.049	0.749 ± 0.134	1.519 ± 0.045	0.866 ± 0.096
3-Methyl-2- butanone	0.021 ± 0.002	0.026 ± 0.012	0.014 ± 0.002	0.023 ± 0.003
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	1.009 ± 0.05	0.998 ± 0.202	1.227 ± 0.057	1.33 ± 0.237
2-Pentanone	0.018 ± 0.005	0.013 ± 0.002	0.024 ± 0.002	0.015 ± 0.004
2,3-Pentanedione	0.033 ± 0.002	0.007 ± 0.002	0.029 ± 0.004	0.005 ± 0.002
Ethyl propionate	0.108 ± 0.004	0.036 ± 0.008	0.1 ± 0.003	0.02 ± 0.008
<i>n</i> -Propyl acetate	0.024 ± 0.003	0 ± 0	0.008 ± 0.007	0 ± 0
2-Methyl-1-butanol (Active amyl alcohol)	0.566 ± 0.006	0.047 ± 0.004	0.502 ± 0.034	0.035 ± 0.004
Dimethyl disulfide	0.011 ± 0.001	0.009 ± 0.005	0.012 ± 0.002	0.016 ± 0.005
Ethyl 2- methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0.101 ± 0.003	0.092 ± 0.018	0.101 ± 0.007	0.048 ± 0.012
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.073 ± 0.009	0.006 ± 0.002	0.065 ± 0.008	0.006 ± 0.002
3,4-Hexanedione	0.013 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0 ± 0

Constituent name	7week_Control	7week_LAB+EtOH	7week_Acids+Yeast	7week_Acids+EtOH
Hexanal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl butanoate	0.022 ± 0.002	0.013 ± 0.001	0.015 ± 0.003	0.009 ± 0.001
Butyl acetate	0.143 ± 0.022	0.008 ± 0.007	0.19 ± 0.017	0.006 ± 0.007
Ethyl 2-methylbutanoate	0.041 ± 0.003	0.08 ± 0.012	0.039 ± 0.007	0.054 ± 0.012
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.034 ± 0.003	0.041 ± 0.007	0.025 ± 0.002	0.023 ± 0.008
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.057 ± 0.003	0 ± 0	0.043 ± 0.003	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0.023 ± 0.003	0 ± 0	0.023 ± 0.001	0 ± 0
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.007 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.005 ± 0.001
(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	0.004 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.001 ± 0.001
Benzaldehyde	0.02 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.007 ± 0.001
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Octen-3-ol	0.059 ± 0.008	0.038 ± 0.008	0.055 ± 0.01	0.035 ± 0.002
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0.012 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.009 ± 0.002	0.004 ± 0.001
3-Octanol	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.002 ± 0.001
2-Octenal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl heptanoate	0.002 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.001 ± 0.001
Ethyl benzoate	0.014 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.013 ± 0.001	0.01 ± 0.004
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.003	0.003 ± 0.001

Constituent name	15week_Control	15week_LAB+EtOH	15week_Acids+Yeast	15week_Acids+EtOH
Acetaldehyde	2.514 ± 0.157	1.014 ± 0.116	2.254 ± 0.199	0.792 ± 0.065
Methanethiol	0.034 ± 0.004	0.037 ± 0.008	0.036 ± 0.005	0.041 ± 0.01
2-Propanone (Acetone)	0.939 ± 0.035	0.904 ± 0.071	1.139 ± 0.095	1.393 ± 0.13
2-Propanol	0.084 ± 0.016	0.077 ± 0.008	0.07 ± 0.006	0.077 ± 0.019
Furan	0.04 ± 0.019	0.032 ± 0.014	0.041 ± 0.01	0.038 ± 0.009
Ethyl formate	0.076 ± 0.015	0.169 ± 0.04	0.073 ± 0.011	0.098 ± 0.021
2-Methyl-2- propanol	0.07 ± 0.034	0.096 ± 0.125	0.027 ± 0.017	0.036 ± 0.034
Methyl acetate	0.05 ± 0.003	0.051 ± 0.01	0.048 ± 0.006	0.059 ± 0.006
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	1.295 ± 0.055	1.176 ± 0.104	1.666 ± 0.083	1.556 ± 0.243
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.661 ± 0.059	0.018 ± 0.002	0.788 ± 0.068	0.016 ± 0.004
2-Butanone	0.436 ± 0.038	0.333 ± 0.006	0.389 ± 0.061	0.321 ± 0.022
2-Methyl-furan	0.007 ± 0.004	0.009 ± 0.005	0.012 ± 0.003	0.02 ± 0.005
2-Ethoxy-2- methyl-propane	0.011 ± 0.005	0.014 ± 0.009	0.007 ± 0.003	0.01 ± 0.005
2-Butenal	0.015 ± 0.003	0.007 ± 0.002	0.02 ± 0.001	0.01 ± 0.001
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	1.457 ± 0.111	0.918 ± 0.146	1.683 ± 0.142	1.147 ± 0.119
3-Methyl-2- butanone	0.033 ± 0.003	0.036 ± 0.007	0.03 ± 0.003	0.037 ± 0.008
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	1.168 ± 0.131	1.129 ± 0.127	1.57 ± 0.078	1.527 ± 0.201
2-Pentanone	0.016 ± 0.006	0.012 ± 0.008	0.026 ± 0.007	0.011 ± 0.004
2,3-Pentanedione	0.025 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.02 ± 0.003	0.007 ± 0.001
Ethyl propionate	0.106 ± 0.01	0.073 ± 0.008	0.11 ± 0.009	0.056 ± 0.017
<i>n</i> -Propyl acetate	0.017 ± 0.004	0.008 ± 0.001	0.018 ± 0.004	0.01 ± 0.001
2-Methyl-1- butanol (Active amyl alcohol)	0.531 ± 0.03	0.08 ± 0.002	0.477 ± 0.061	0.068 ± 0.007
Dimethyl disulfide	0.016 ± 0.005	0.011 ± 0.003	0.02 ± 0.003	0.016 ± 0.008
Ethyl 2- methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0.079 ± 0.023	0.103 ± 0.012	0.089 ± 0.007	0.085 ± 0.032
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.053 ± 0.012	0.007 ± 0.002	0.045 ± 0.003	0.005 ± 0.001
3,4-Hexanedione	0.015 ± 0.003	0.002 ± 0.001	0.014 ± 0.001	0.002 ± 0.001

Constituent name	15week_Control	15week_LAB+EtOH	15week_Acids+Yeast	15week_Acids+EtOH
Hexanal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl butanoate	0.015 ± 0.003	0.016 ± 0.002	0.013 ± 0.004	0.013 ± 0.002
Butyl acetate	0.096 ± 0.012	0.013 ± 0.011	0.139 ± 0.027	0.021 ± 0.003
Ethyl 2-methylbutanoate	0.028 ± 0.007	0.081 ± 0.002	0.032 ± 0.002	0.064 ± 0.022
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.026 ± 0.008	0.042 ± 0.003	0.029 ± 0.005	0.028 ± 0.007
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.036 ± 0.009	0 ± 0	0.027 ± 0.005	0 ± 0
2-Methylbutyl acetate	0.016 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.017 ± 0.003	0.006 ± 0.002
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.002
(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.001 ± 0.001
Benzaldehyde	0.014 ± 0.002	0.01 ± 0.003	0.011 ± 0.001	0.008 ± 0.002
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Octen-3-ol	0.043 ± 0.006	0.044 ± 0.007	0.047 ± 0.004	0.046 ± 0.01
3-Octanone	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.001 ± 0.002
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0.01 ± 0.003	0.011 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.002
3-Octanol	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
2-Octenal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl heptanoate	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl benzoate	0.017 ± 0.003	0.015 ± 0.006	0.015 ± 0.004	0.014 ± 0.004
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001



Constituent name	17week_Control	17week_LAB+EtOH	17week_Acids+Yeast	17week_Acids+EtOH
Acetaldehyde	2.643 ± 0.569	0.705 ± 0.601	2.19 ± 0.22	0.891 ± 0.03
Methanethiol	0.034 ± 0.005	0.041 ± 0.008	0.027 ± 0.003	0.037 ± 0.008
2-Propanone (Acetone)	1.176 ± 0.049	1.113 ± 0.019	1.419 ± 0.084	1.596 ± 0.06
2-Propanol	0.132 ± 0.009	0.131 ± 0.012	0.127 ± 0.005	0.119 ± 0.011
Furan	0.043 ± 0.013	0.04 ± 0.004	0.03 ± 0.01	0.027 ± 0.01
Ethyl formate	0.086 ± 0.014	0.216 ± 0.019	0.08 ± 0.002	0.114 ± 0.015
2-Methyl-2- propanol	0.051 ± 0.042	0.056 ± 0.011	0.028 ± 0.026	0.017 ± 0.009
Methyl acetate	0.065 ± 0.005	0.066 ± 0.005	0.073 ± 0.003	0.09 ± 0.002
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	1.564 ± 0.121	1.409 ± 0.098	2.007 ± 0.057	2.052 ± 0.169
2,3-Butanedione (Diacetyl)	0.692 ± 0.059	0.02 ± 0.002	0.734 ± 0.085	0.016 ± 0.004
2-Butanone	0.517 ± 0.017	0.391 ± 0.015	0.41 ± 0.033	0.394 ± 0.016
2-Methyl-furan	0.008 ± 0.002	0.011 ± 0.002	0.008 ± 0.004	0.014 ± 0.006
2-Ethoxy-2- methyl-propane	0.007 ± 0.006	0.006 ± 0.003	0.007 ± 0.005	0.006 ± 0.004
2-Butenal	0.018 ± 0.004	0.007 ± 0.001	0.02 ± 0.002	0.008 ± 0.002
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	1.546 ± 0.174	1.082 ± 0.057	1.518 ± 0.211	1.067 ± 0.174
3-Methyl-2- butanone	0.046 ± 0.002	0.041 ± 0.003	0.036 ± 0.003	0.053 ± 0.006
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	1.425 ± 0.148	1.343 ± 0.048	1.85 ± 0.151	1.866 ± 0.2
2-Pentanone	0.017 ± 0.003	0.012 ± 0.003	0.02 ± 0.004	0.013 ± 0.002
2,3-Pentanedione	0.026 ± 0.002	0.012 ± 0.005	0.017 ± 0.002	0.008 ± 0.002
Ethyl propionate	0.172 ± 0.014	0.095 ± 0.008	0.197 ± 0.004	0.112 ± 0.008
<i>n</i> -Propyl acetate	0.019 ± 0.006	0.01 ± 0.003	0.023 ± 0.004	0.009 ± 0.002
2-Methyl-1- butanol (Active amyl alcohol)	0.61 ± 0.01	0.092 ± 0.011	0.509 ± 0.025	0.075 ± 0.009
Dimethyl disulfide	0.018 ± 0.003	0.014 ± 0.003	0.02 ± 0.006	0.013 ± 0.003
Ethyl 2- methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0.127 ± 0.019	0.118 ± 0.024	0.18 ± 0.014	0.187 ± 0.024
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.062 ± 0.005	0.006 ± 0.002	0.062 ± 0.006	0.006 ± 0.003
3,4-Hexanedione	0.017 ± 0.002	0.002 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.001 ± 0.001

Constituent name	17week_Control	17week_LAB+EtOH	17week_Acids+Yeast	17week_Acids+EtOH
Hexanal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl butanoate	0.023 ± 0.002	0.015 ± 0.004	0.021 ± 0.002	0.019 ± 0.004
Butyl acetate	0.121 ± 0.017	0.015 ± 0.004	0.181 ± 0.015	0.01 ± 0.005
Ethyl 2-methylbutanoate	0.044 ± 0.006	0.077 ± 0.016	0.061 ± 0.005	0.103 ± 0.007
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.048 ± 0.005	0.047 ± 0.011	0.059 ± 0.009	0.063 ± 0.003
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.042 ± 0.009	0 ± 0	0.04 ± 0.005	0.008 ± 0.003
2-Methylbutyl acetate	0.019 ± 0.003	0.007 ± 0.002	0.017 ± 0.002	0.007 ± 0.002
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.007 ± 0.002
(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	0.003 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Benzaldehyde	0.012 ± 0.002	0.011 ± 0.002	0.01 ± 0.003	0.007 ± 0.002
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
1-Octen-3-ol	0.049 ± 0.002	0.05 ± 0.008	0.057 ± 0.004	0.067 ± 0.012
3-Octanone	0.01 ± 0.003	0.004 ± 0.003	0.012 ± 0.001	0.005 ± 0.001
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0.012 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.012 ± 0.001
3-Octanol	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2-Octenal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl heptanoate	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
Ethyl benzoate	0.011 ± 0.002	0.018 ± 0.004	0.013 ± 0.003	0.015 ± 0.003
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0.006 ± 0.002	0.007 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001

Constituent name	18week_Control	18week_LAB+EtOH	18week_Acids+Yeast	18week_Acids+EtOH
Acetaldehyde	2.516 ± 0.337	1.27 ± 0.358	2.239 ± 0.272	0.713 ± 0.024
Methanethiol	0.035 ± 0.003	0.043 ± 0.004	0.036 ± 0.004	0.033 ± 0.003
2-Propanone (Acetone)	1.182 ± 0.077	1.223 ± 0.2	1.58 ± 0.036	1.491 ± 0.118
2-Propanol	0.102 ± 0.015	0.118 ± 0.027	0.1 ± 0.007	0.079 ± 0.016
Furan	0.041 ± 0.01	0.044 ± 0.004	0.048 ± 0.005	0.032 ± 0.002
Ethyl formate	0.093 ± 0.007	0.243 ± 0.03	0.106 ± 0.002	0.103 ± 0.016
2-Methyl-2- propanol	0.057 ± 0.039	0.012 ± 0.006	0.007 ± 0.004	0.01 ± 0.004
Methyl acetate	0.059 ± 0.015	0.08 ± 0.022	0.073 ± 0.003	0.072 ± 0.008
2-Methyl-propanal (Isobutyraldehyde)	1.605 ± 0.115	1.706 ± 0.357	2.162 ± 0.075	1.659 ± 0.097
2,3-Butanedione (Diacyetyl)	0.74 ± 0.074	0.022 ± 0.007	0.898 ± 0.048	0.014 ± 0.002
2-Butanone	0.516 ± 0.031	0.435 ± 0.084	0.491 ± 0.022	0.354 ± 0.018
2-Methyl-furan	0.007 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.003	0.017 ± 0.006
2-Ethoxy-2- methyl-propane	0.012 ± 0.005	0.009 ± 0.006	0.004 ± 0.004	0.009 ± 0.003
2-Butenal	0.01 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.017 ± 0.003	0.007 ± 0.003
3-Methyl-butanal (Isovaleraldehyde)	1.549 ± 0.156	1.165 ± 0.105	1.776 ± 0.084	0.962 ± 0.06
3-Methyl-2- butanone	0.04 ± 0.009	0.052 ± 0.015	0.041 ± 0.008	0.045 ± 0.003
2-Methyl-butanal (Valeraldehyde)	1.494 ± 0.066	1.591 ± 0.17	2.096 ± 0.09	1.678 ± 0.14
2-Pentanone	0.019 ± 0.004	0.009 ± 0.007	0.02 ± 0.003	0.008 ± 0.001
2,3-Pentanedione	0.026 ± 0.006	0.011 ± 0.003	0.018 ± 0.007	0.006 ± 0.003
Ethyl propionate	0.186 ± 0.037	0.142 ± 0.035	0.191 ± 0.011	0.082 ± 0.007
<i>n</i> -Propyl acetate	0.022 ± 0.007	0.008 ± 0.001	0.016 ± 0.007	0.005 ± 0.002
2-Methyl-1- butanol (Active amyl alcohol)	0.58 ± 0.009	0.111 ± 0.032	0.514 ± 0.033	0.064 ± 0.007
Dimethyl disulfide	0.02 ± 0.004	0.015 ± 0.005	0.025 ± 0.004	0.014 ± 0.005
Ethyl 2- methylpropanoate (Ethyl isobutyrate)	0.144 ± 0.044	0.228 ± 0.056	0.159 ± 0.016	0.122 ± 0.029
2-Methylpropyl acetate (Isobutyl acetate)	0.066 ± 0.011	0.007 ± 0.002	0.059 ± 0.002	0.005 ± 0.002
3,4-Hexanedione	0.016 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.013 ± 0.002	0.001 ± 0.001

Constituent name	18week_Control	18week_LAB+EtOH	18week_Acids+Yeast	18week_Acids+EtOH
Hexanal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl butanoate	0.022 ± 0.007	0.023 ± 0.007	0.019 ± 0.003	0.016 ± 0.004
Butyl acetate	0.134 ± 0.012	0.02 ± 0.007	0.173 ± 0.006	0.016 ± 0.008
Ethyl 2-methylbutanoate	0.052 ± 0.014	0.119 ± 0.025	0.053 ± 0.005	0.078 ± 0.015
Ethyl 3-methylbutanoate (Ethyl isovalerate)	0.055 ± 0.016	0.084 ± 0.023	0.053 ± 0.007	0.054 ± 0.016
3-Methylbutyl acetate (Isoamyl acetate)	0.042 ± 0.01	0.008 ± 0.003	0.033 ± 0.002	0.006 ± 0.002
2-Methylbutyl acetate	0.019 ± 0.005	0.007 ± 0.004	0.017 ± 0.002	0.004 ± 0.001
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001
(Z)-3,7-Dimethyl-2-octene	0.003 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.001 ± 0.001
Benzaldehyde	0.013 ± 0.003	0.012 ± 0.002	0.011 ± 0.002	0.006 ± 0.002
(Z)-1,5-Octadien-3-ol	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001
1-Octen-3-ol	0.05 ± 0.006	0.059 ± 0.021	0.051 ± 0.003	0.049 ± 0.004
3-Octanone	0.01 ± 0.003	0.004 ± 0.002	0.009 ± 0.003	0.002 ± 0.001
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	0.01 ± 0.002	0.013 ± 0.004	0.008 ± 0.001	0.009 ± 0.002
3-Octanol	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2-Octenal	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ethyl heptanoate	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.001
Ethyl benzoate	0.014 ± 0.001	0.017 ± 0.004	0.014 ± 0.001	0.011 ± 0.003
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	0.007 ± 0.003	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002

各化合物の相対強度は mean ± standard deviation で表した. Control : 乳酸菌・酵母添加, LAB + EtOH : 乳酸菌 + ethanol 添加, Acids + Yeast : lactic acid, acetic acid + 酵母添加, Acids + ethanol : lactic acid, acetic acid + ethanol 添加

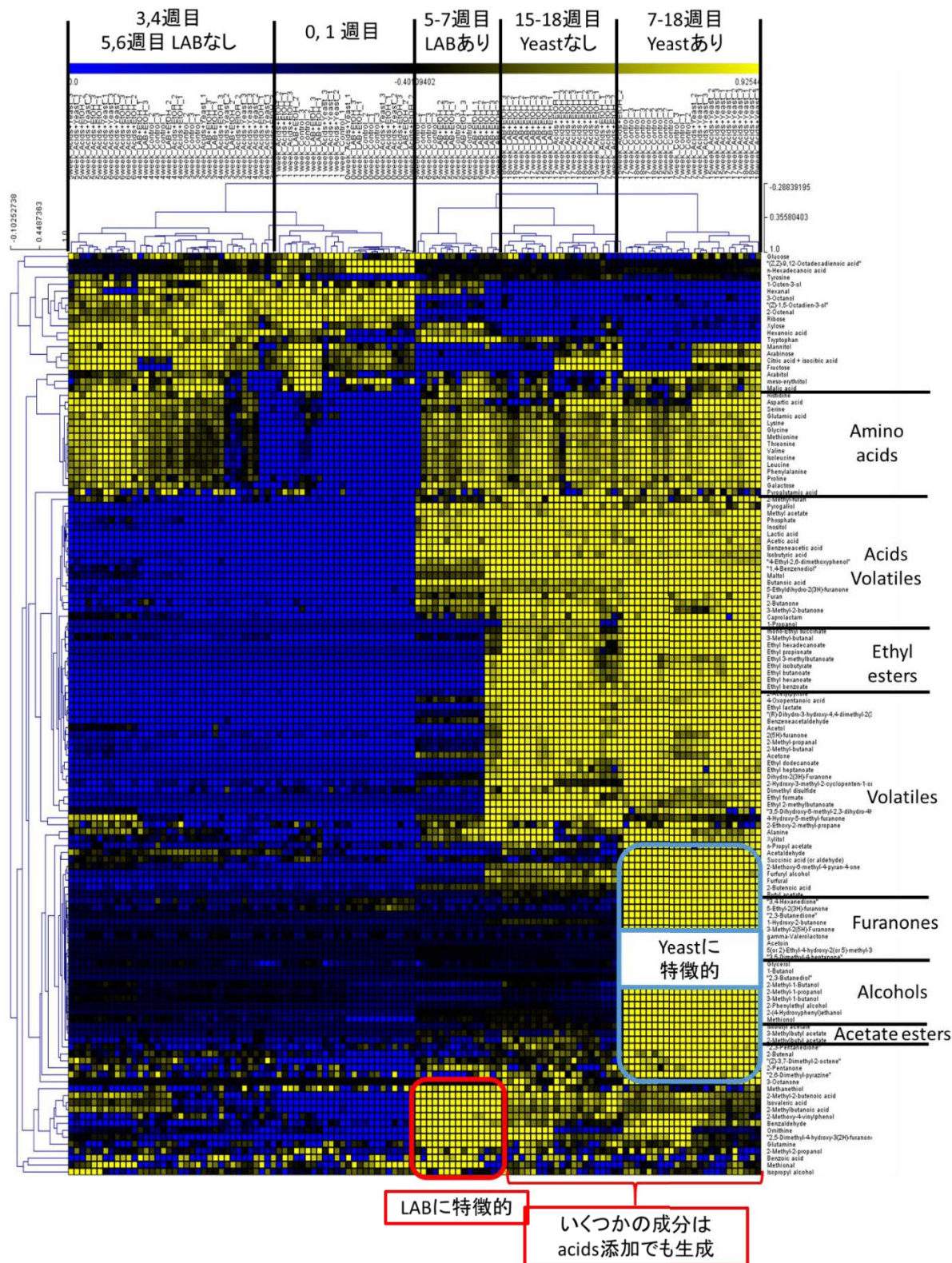


図 A10. GC/MS によって取得した成分プロファイルを用いた第 3 章の醤油サンプルの階層クラスター分析の結果

Distance metric は Person Correlation, Linkage method は Average linkage clustering を使用した。得られた樹形図は醗酵初期, 中期, 醗酵後期で異なったクラスターとなり, 醗酵中期は乳酸菌の添加と添加なし (酸添加), 醗酵後期は酵母の添加と添加無 (エタノール添加) で異なったクラスターとなった。

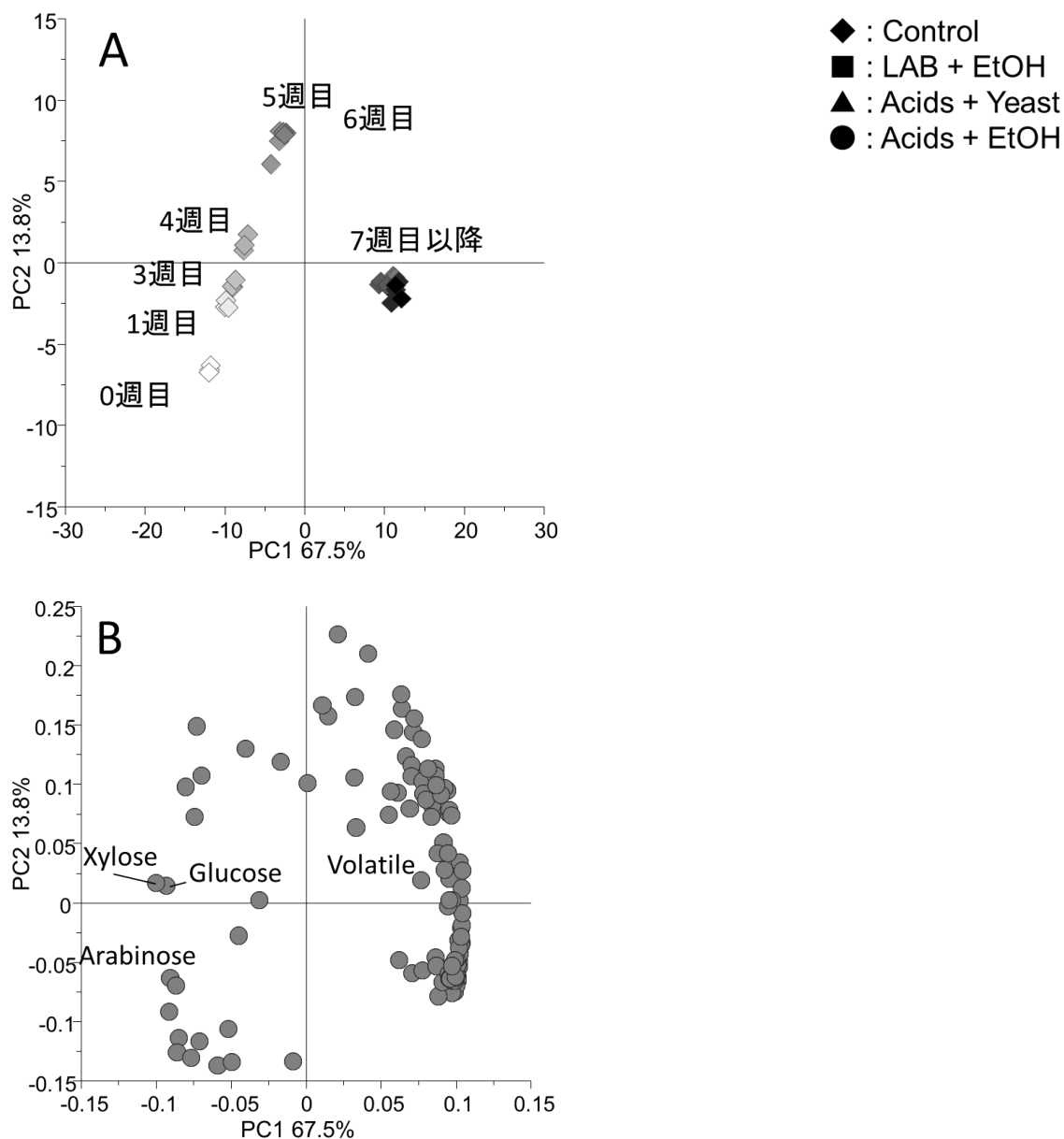


図 A11. GC/MS に基づく成分データを用いた Control 醤油サンプルの PCA 結果.

サンプルとして、Control(乳酸菌・酵母添加)の、0, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 15, 17, 18 週目を用いた(それぞれ  $n=3$ ).

スケールリング : Auto Scaling, トランスフォーム : None, サンプル数 : 30, 説明変数 : 133

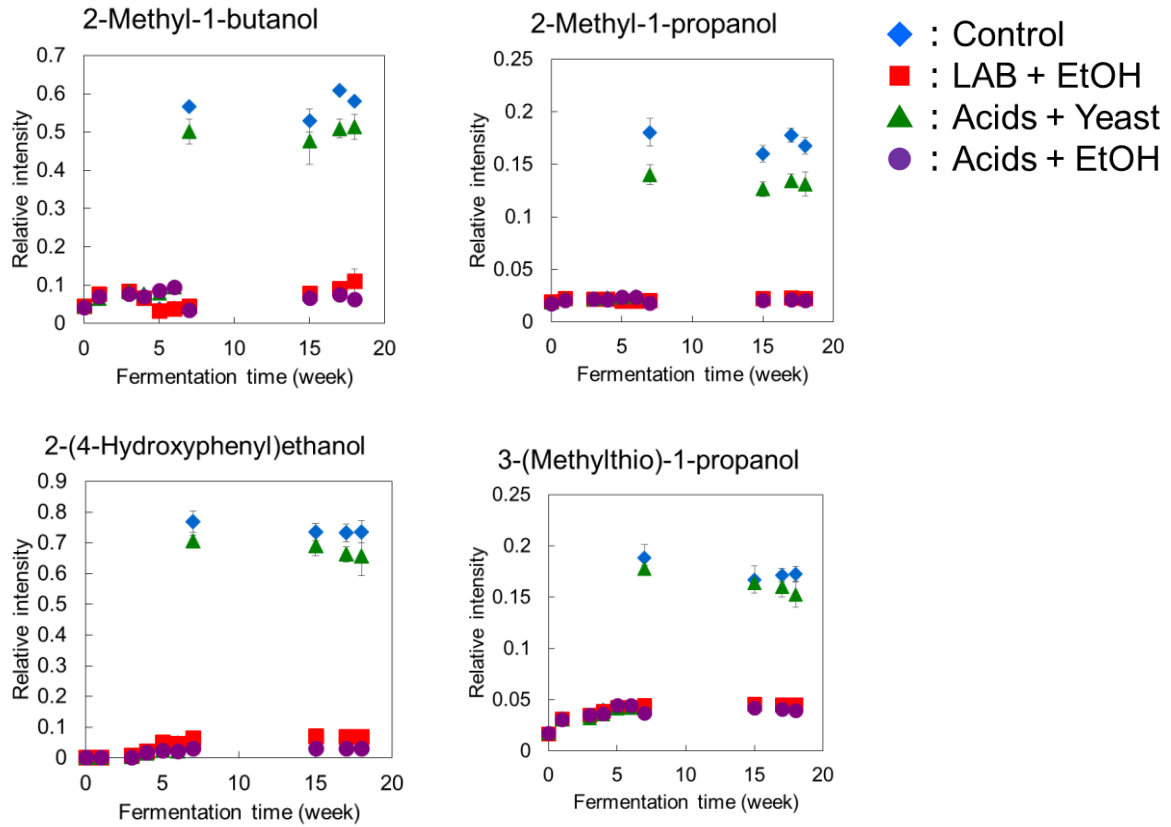
(A)スコアプロット.

3.3.2 で行った全ての醤油サンプルの成分プロファイルの違いについての考察に加えて、乳酸菌及び酵母を添加することで通常の醤油醸造を行ったサンプルを用いて成分プロファイルが醸造期間に応じてどのように変化していくのかを解析した. このサンプルは第 2 章の 2.3.3 と同様の結果になることが期待できる. 主成分分析を行った結果, PC1 が成分データの分散の 67.5%

を、PC2が13.8%を説明しており、本スコアプロットでは、データ全体の分散の81.3%を説明していた。プロットされたサンプルの情報から考察すると、PC1が醗酵の進行と相関していることが明らかになった。一方でPC2に関して、サンプルは醗酵中の6週目までPC2軸に対して正側に移動し、7週目以降18週目までは負側に移動した。正負の方向は異なるが、醸造期間の進行に従って成分プロファイルが変化していくことと、途中で変化の傾向が異なること移管しては第2章で用いたサンプルと類似していることがわかる。

#### (B)成分のローディングプロット

アルコール、酢酸エステル、エチルエステルなどの揮発性成分を含む多くの成分がPC1軸の正の領域に集中して位置しているのは醸造後期になるに従って酵母の生育に由来する香気成分の増加したため、また糖類が醸造前半に相対的に多く、これらの糖が微生物によって消費されたことを示唆しているなど、主な通常醸造の特徴は同様であった。



☒ A12. 2-Methyl-1-butanol (active amyl alcohol) , 2-methyl-1-propanol (isobutyl alcohol) , 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol, 3-(methylthio)-1-propanol (methionol)の醸造中の変化

2-Methyl-1-butanol はヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub>をその他の alcohols は酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を, 醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).



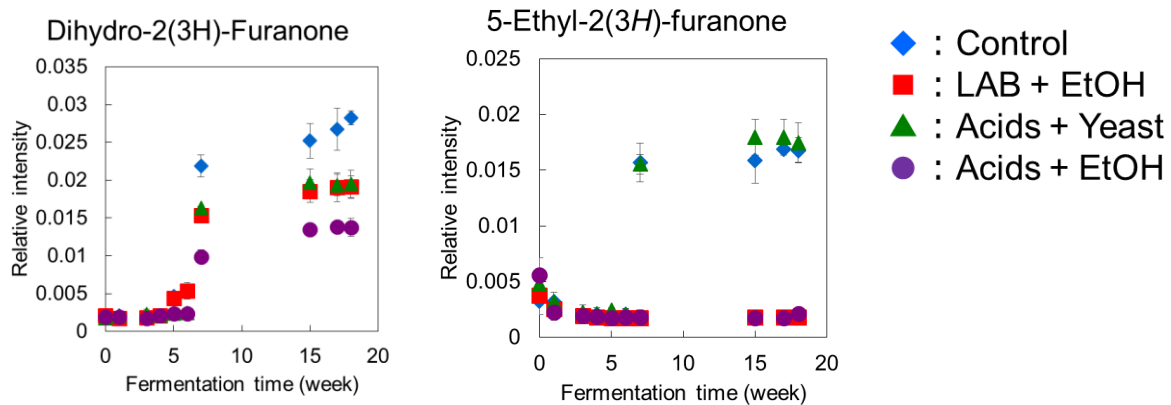
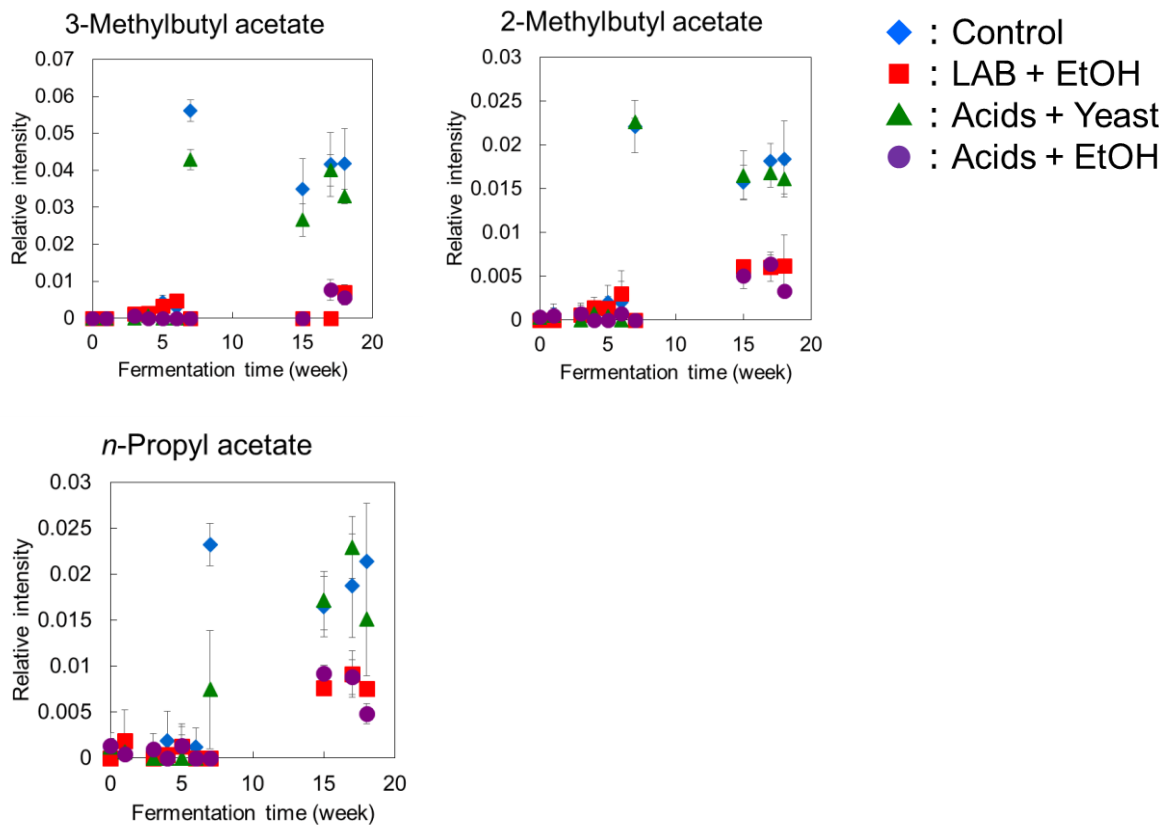


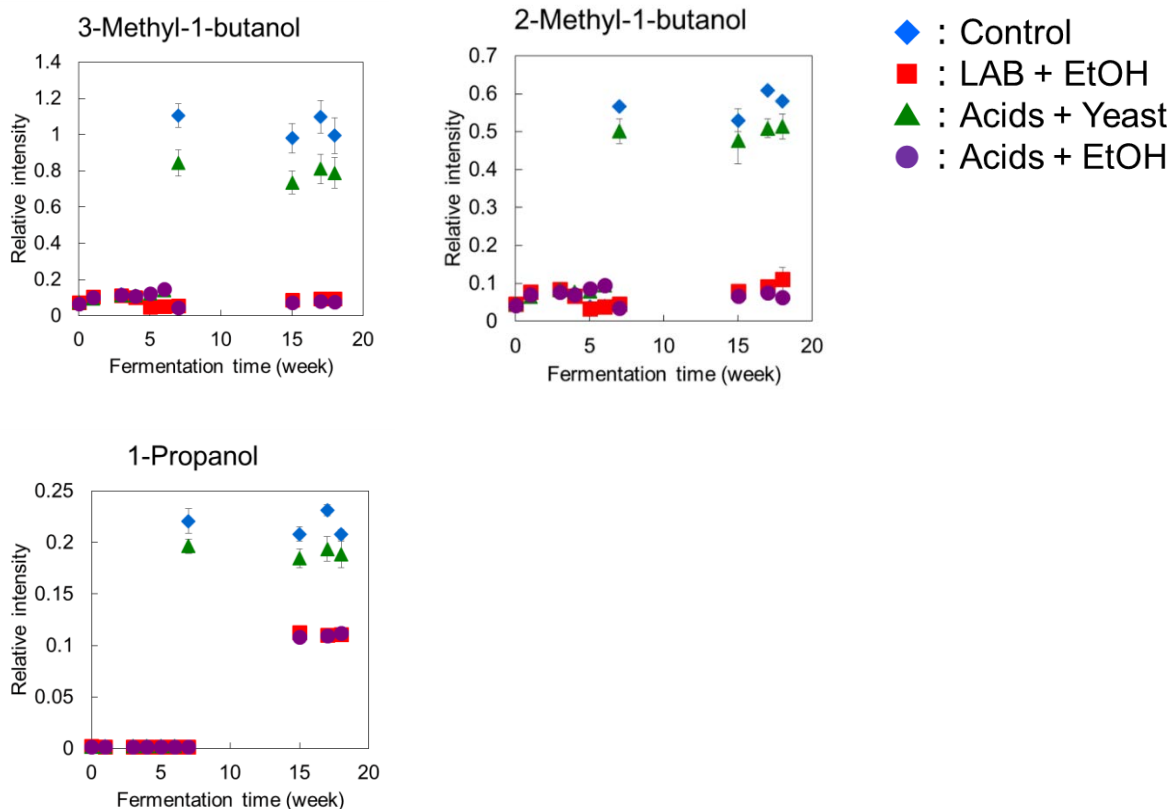
図 A13. Dihydro-2(3H)-furanone ( $\gamma$ -butyrolactone), 5-ethyl-2(3H)-furanone の醸造中の変化

酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を，醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).



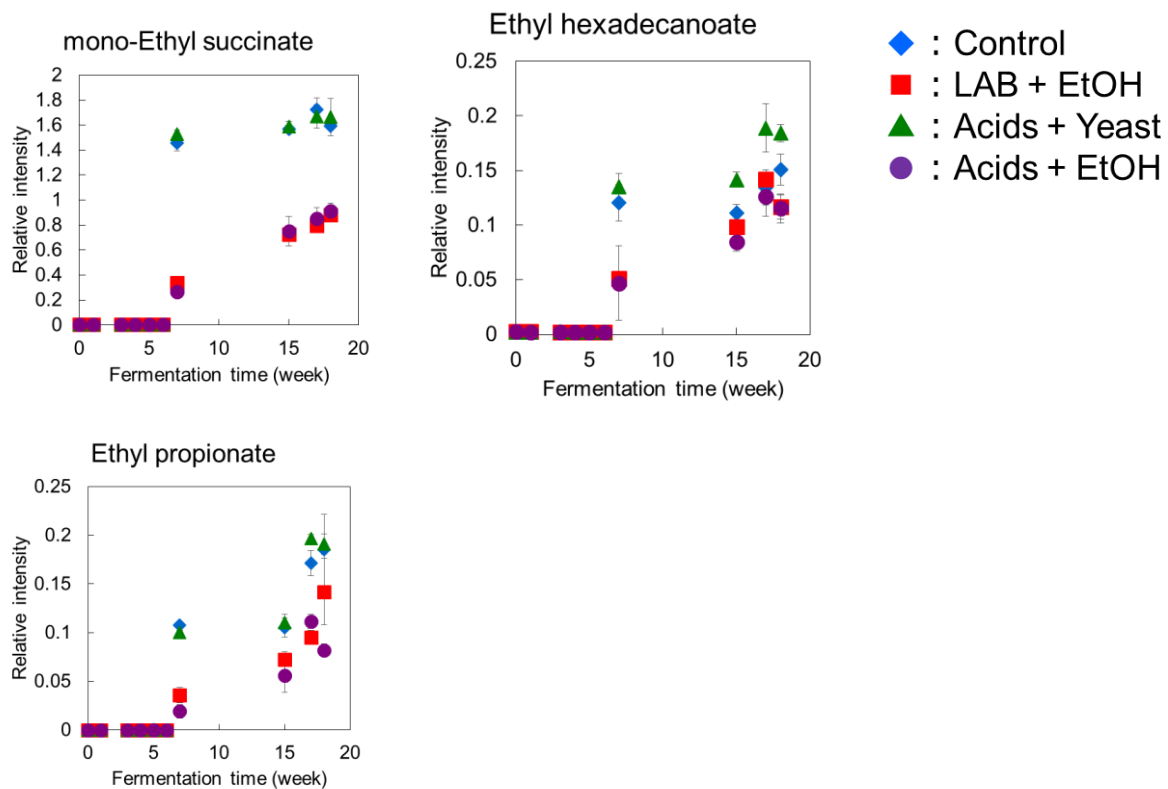
☒ A14. 3-Methylbutyl acetate (isoamyl acetate), 2-methylbutyl acetate, *n*-propyl acetate の醸造中の変化

ヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).



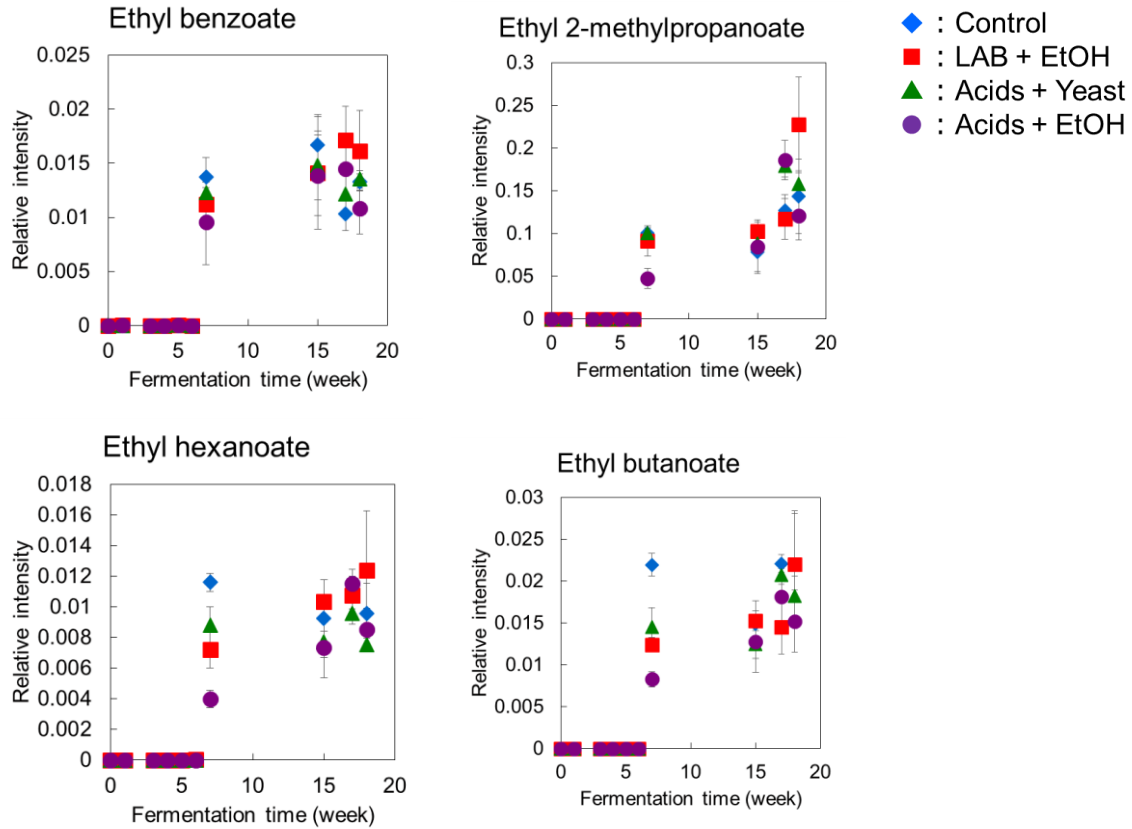
☒ A15. 3-methyl-1-butanol (isoamyl alcohol), 2-methyl-1-butanol (active amyl alcohol), 1-propanol の醸造中の変化

2-methyl-1-butanol はヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> を, 他の 2 成分は酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を, 醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).



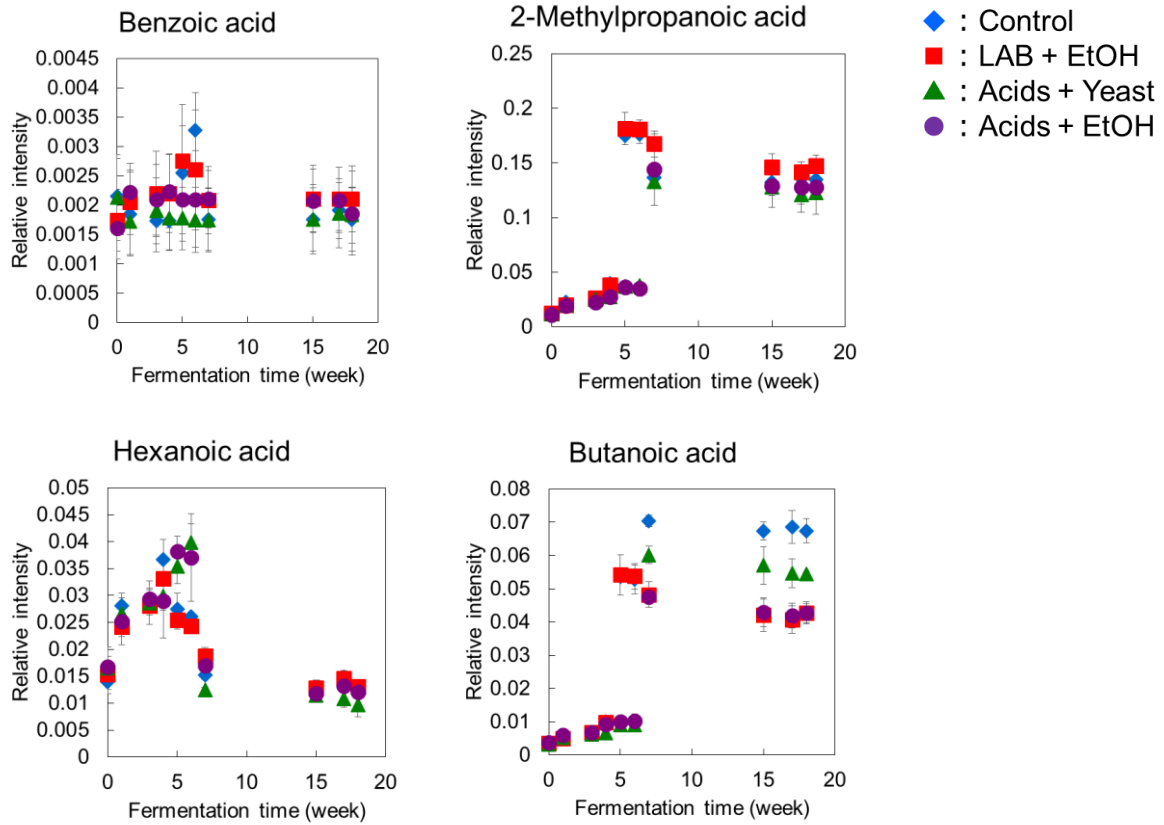
☒ A16. mono-Ethyl succinate, ethyl hexadecanoate (ethyl palmitate), ethyl propionate の醸造中の変化

ヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub> を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).



☒ A17. Ethyl benzoate, ethyl 2-methylpropanoate, (ethyl isobutyrate), ethyl hexanoate (ethyl caproate), ethyl butanoate の醸造中の変化

ヘッドスペースサンプリングを用いた揮発性成分分析によって得られた 1-propanol-1,1-d<sub>2</sub>を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).



☒ A18. **Benzoic acid, 2-methylpropanoic acid (isobutyric acid), hexanoic acid, butanoic acid (butyric acid)の醸造中の変化**

酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした(N = 3).

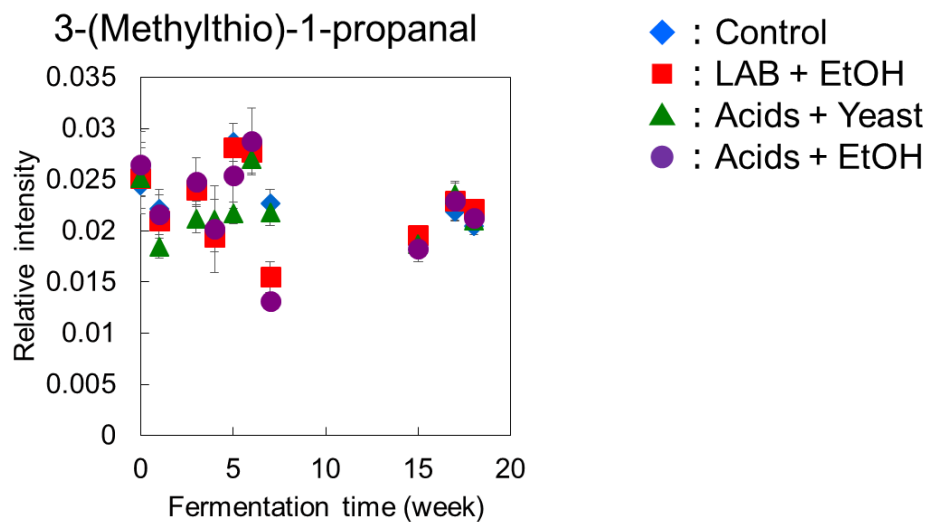


図 A19. 3-(Methylthio)-1-propanal (methional)の醸造中の変化

酢酸エチル抽出を用いた揮発性成分分析によって得られた 2-ethyl-1-hexanol を内部標準物質として基準化した相対強度を、醗酵時間に対してプロットした ( $n = 3$ ).





