

酵母を利用した新しい柿葉加工食品の開発

奈良県農業研究開発センター

北條 雅也

1. 研究の目的と背景

奈良県は柿の果実生産量全国第2位の大産地であり、果実以外にも、古くから柿の葉寿司や柿葉茶、精進料理の材料などで柿葉を食品利用する伝統を有している。柿葉で寿司を包んだ柿葉寿司は、年間約4000万食生産される県を代表する郷土料理であり、30社を超える製造業者により地域の一大産業を形成している。この柿の葉寿司に使用される柿葉はこれまで海外からの輸入品が多くを占めていたが、近年の価格上昇や消費者の国産指向により県産の柿葉が求められ、生産が拡大している。

柿葉は農薬取締法上果実とは分けて生産する必要があるが、果実生産をやめ、柿葉だけの生産を目的とする柿園地が県内で増加している (H25 0.7ha → H30 14.7ha)。しかし、寿司用の柿葉のサイズは厳密に規定されているため、柿葉園で採取可能な葉の2割しか寿司に利用することができず、残りの8割の葉のほとんどは規格外として利用されていない。そのため、柿葉園の収益性は低く、単位面積あたりでは果実の1/4以下にとどまっている。規格外の葉の一部は主に柿葉茶に加工され、他にも様々な食品や石鹸などで利用が始まっているが、全体の需要は小さく、ほとんどの規格外品の葉は捨てられている。今後柿葉の安定生産・生産拡大のためには、柿葉園での収益の確保が喫緊の課題であり、そのためには捨てられている規格外の葉をまだ利用できていない地域資源と捉え、その新たな有効活用方法を開発して需要を創造することが必要である。

このような状況を踏まえ、著者は、柿葉を発酵させることによりその風味や機能性などを改良し、新たな柿の葉加工品として提案することで、規格外の柿葉の利用拡大を喚起できないかと考えた。

葉の発酵技術については、チャ (*Camellia sinensis* L.) において我が国や海外で先行事例が多くあり、高知県の碁石茶のように、新たな風味と機能性の高さで近年人気を博しているものもある。また、奈良県には古くから日本酒や醤油などの醸造蔵が多くあることから、県の公設試験場の一つである奈良県産業振興総合センターでは、それら県内の醤油醸造蔵から有用な酵母を複数単離している (都築, 2017)。

そこで本研究では、これらの先行事例や蓄積してきた知見を基に、新たに主に県産の酵母を用いて柿葉の発酵を試みることで、より風味に優れ嗜好性が高い新しい柿葉加工品を開発することを目指した。

2. 研究の方法

2-1. 試料

(1) 液体発酵

50℃, 5時間の条件で熱風乾燥機により乾燥させた‘刀根早生’の柿葉を使用した。供試した酵母は表1に記す。

表1. 供試した酵母

分類番号	採取会社	属種
1-1	A	<i>Debaryomyces hansenii</i>
2-4	A	<i>Candida Glucosophila</i>
1-5	B	<i>Candida Glucosophila</i>
2-5	B	<i>Candida etchellsii</i>
1-6	C	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
2-10	C	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
1-7	D	<i>Debaryomyces hansenii</i>
1-13	D	<i>Debaryomyces hansenii</i>
1-8	E	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
1-19	F	<i>Candida versatilis</i>
2-15	F	<i>Candida etchellsii</i>
2-16	F	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
1-20	G	<i>Candida parapsilosus</i>
1-21	G	<i>Candida parapsilosus</i>
1-15	G	<i>Candida etchellsii</i>
2-31	H	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
2-24	H	<i>Candida versatilis</i>
2-34	I	<i>Candida versatilis</i>
2-25	I	<i>Candida versatilis</i>
1-32	J	<i>Candida etchellsii</i>
2-29	J	<i>Debaryomyces hansenii</i>
2-35	K	<i>Debaryomyces hansenii</i>
1-25	L	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
2-33	L	<i>Debaryomyces hansenii</i>
1-27	M	<i>Candida versatilis</i>

50mlの滅菌遠沈管に柿葉0.8gに40mlの98℃の熱水蒸留水を加え、15分静置し遠心後デカントで新しい滅菌遠沈管に移した。酵母懸濁液と乳酸菌懸濁液を1mlずつ加え21日間培養した。酵母懸濁液は、グリセロールストックの溶液10μlを10mlのYMP液体培地で4日間培養し、培養後4℃で使用するまで数日間保存した。スク

リーニング実験には発酵開始当日に酵母を遠心分離し、上清を捨て滅菌水を2ml加えそのうちの1mlを使用した。それ以外の実験には処理区1本あたり8.5logCFU含まれるように調節した。乳酸菌懸濁液はマイクロバンクに保存した *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* (NBRC株) を1粒加えて一晩前培養したものを多数準備した。処理区1本あたり乳酸菌は、柿葉茶中に9logCFUとなるように調節した。乳酸菌のみ添加したものを対照とした。こうして作成した柿葉後発酵茶の発酵法を以後、液体発酵と称す。

(2) 葉発酵

‘刀根早生’の柿葉をスチームコンベクションオープン(MIC-5TB-GA ホシザキ社製)により100℃のスチームモードで2分間蒸し処理を行った。酸素バリア性のある袋(ナイロンポリGタイプNo18 福助工業株式会社製)に約100gの葉を入れ蒸留水を120ml加え、乳酸菌懸濁液70mlと酵母懸濁液10mlを加え、真空包装機(HVP-482 TOSEI社製)により密封した。乳酸菌懸濁液70mlと滅菌水10mlを加えたものを対照として同様に作成した。室温25℃の条件下で静置し21日間発酵させた。乳酸菌懸濁液は、NBRCより入手したSunki-zuke由来の *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* をMRS液体培地で前培養し各区12logCFUを加えた。酵母は液体発酵の官能評価でスクリーニングした株をYMP液体培地により5日間前培養し各区10logCFU加えた。こうして作成した柿葉後発酵茶の発酵法を以後、葉発酵と称す。葉発酵させた柿葉を50℃、5時間、熱風乾燥機で乾燥させ家庭用電動ミルで粉碎した。50mlの滅菌遠沈管に柿葉0.8gを入れ、40mlの98℃の熱水蒸留水を加え、15分静置した。水冷後、遠心後デカントで新しい滅菌遠沈管に移し熱水抽出液試料とした。発酵茶葉の各区の反復は無し。熱水抽出液試料は3反復。

2-2. 菌数測定

液体発酵は、発酵前と発酵8日目及び発酵21日目に採取した試料を、葉発酵は発酵23日目に採取した漬液をMRS寒天培地とYPD寒天培地により菌数を測定した。

2-3. 官能評価

(1) スクリーニング

すべてのサンプルを著者がおいを評価し、対照と異なるにおいがするもので、腐敗臭等の不快なおいがしないものをあらかじめ選別した。選抜した試料を試飲用プラスチックカップ(容量35ml, 直径45mm, 高さ40mm)に5ml分け取った。3点識別法により対照1点と試料2点を自由に試飲させにおいを区別できるか評価し、正解率を求め二項検定により分析した。パネリストはセンター職員5名。これにより有意に違いの差が認められた酵母を有望株として評価実験に使用した。

(2) 嗜好性評価

液体発酵の試料と葉発酵の熱水抽出液の試料についての嗜好性評価を2点嗜好法により分析した。センター職員(60代~20代, 男性7名, 女性5名)をパネリストとした。試料を試飲用プラスチックカップ(容量35ml, 直径45mm, 高さ40mm)に約10ml分け取り、対照と試料を比べパネリストに試飲させた。好ましいと判断されるものをパネリストの個別の判断基準により自由に回答させた。評価項目は‘香り’, ‘味’, ‘総合評価’とした。結果は二項検定(両側検定)により検定した。

2-4. 品質測定

(1) におい分析

液体発酵の試料を、におい識別装置(FF-2020 島津製作所)を用いてにおいの強さと質を調査した。サンプル液35mlを3Lのサンプルバック(近江オドエアーサービス)に入れ、窒素封入して、室温26℃で3時間静置し、新しいサンプルバックに気相を移し替え、装置で測定した。測定条件は9種類の基準ガス(硫化水素, 硫黄系, アンモニア, アミン系, 有機酸系, アルデヒド系, エステル系, 芳香族系, 炭化水素系)と比較するスタンダードモードを使用して絶対値表現解析を行い、においの強さを表す臭気指数相当値と、においの質を表す基準ガスとの類似度, 臭気寄与を算出した。

(2) GC/MS分析

液体発酵と葉発酵の試料について、スキャンモードで対照と異なるピークをシミュラリティ検索により同定し、SIMで定量分析した。GC/MS/QP2010(島津社製) カラムHP-INNOWax1909 膜厚0.25µm 内径0.25mm 長さ60m・GC条件 カラム温度:40℃(5分) - 4℃/分 - 250℃(10分)

カラムオープン40℃ 気化温度250℃ サンプルング時間1min, キャリアガス:圧力49kPa 流量5.5ml/分 カラム流量0.5ml/分 線速度18.0cm/秒 パージ流量5.0ml/分 スプリットレス・MS条件 イオン温度200℃ インターフェイス温度230℃ 溶媒溶出時間2min

(3) LC/MS分析

液体発酵と葉発酵の試料について、0.22µmのシリンジフィルターにより濾過後、LC/MSにより有機酸含量とアミノ酸含量を測定した。

・LC条件 カラム:DiscoveryHS F5-5 25cm×2.1mm 5µm(SUPELCO社製) カラム温度:40℃ 溶離液:A液0.1%Formic acid B液MeCN 0-2min(B液0%), 2-5min(B液0-25%), 5-11min(B液:25-35%), 11-15min(B液:35-95%) 流速:0.25mL/分

・MS条件 スプレイチャンバ:API-ES キャピラリー電:2500V ドライガス流:10L/min, ネブライザ圧力:50psig, ドライガス温度:350℃ 極性:ネガティブモード

(4) 味分析

液体発酵と葉発酵の試料について、味認識装置 (TS-5000Z インテリジェントセンサーテクノロジー社製) を用い、5 種類の先味 (酸味, 塩味, 苦味雑味, 渋味刺激, 旨味) と 3 種類の後味 (苦味, 渋味, 旨味コク) について評価した。分析に当たっては、対照を基準として測定した。

3. 研究内容

6 種の酵母について対照とにおいて区別がつくか 3 点識別法を行ったところ、1-21, 2-33 が対照に比べ

て有意な差が認められた (表 2)。これらについて、におい識別装置による分析を行ったところ、試料ガスと各基準ガスとの類似性を 0 ~ 100 % で表示する類似度 (青山, 2006) は、対照に比べ酵母添加すると基準ガスと類似する臭いの様相が異なり、2-33 に比べ 1-21 は ‘エステル系’ の値が高かった (図 1)。各基準ガスについて臭気指数に相当する尺度で表示した臭気寄与は、‘硫黄系’, ‘アミン系’, ‘アルデヒド系’, ‘芳香族系’ が対照に比べ、酵母添加区で高い傾向を示した。臭気寄与をまとめた臭気指数相当値は 1-21, 2-33 ではそれぞれ 19.2, 19.8 と対照 17.1 に比べて高かった (図 2)。

表 2. 酵母と乳酸菌を添加し液体発酵した柿葉後発酵茶のにおいの官能評価

分類番号	1-20	1-21	2-35	1-8	1-25	2-33
正答率 (%)	60	100	40	40	40	80
検定 ^z	NS	**	NS	NS	NS	*

^zNSと**はそれぞれ、二項検定により有意差無しと $P < 0.01$ で有意差有りを示す。(n=5)

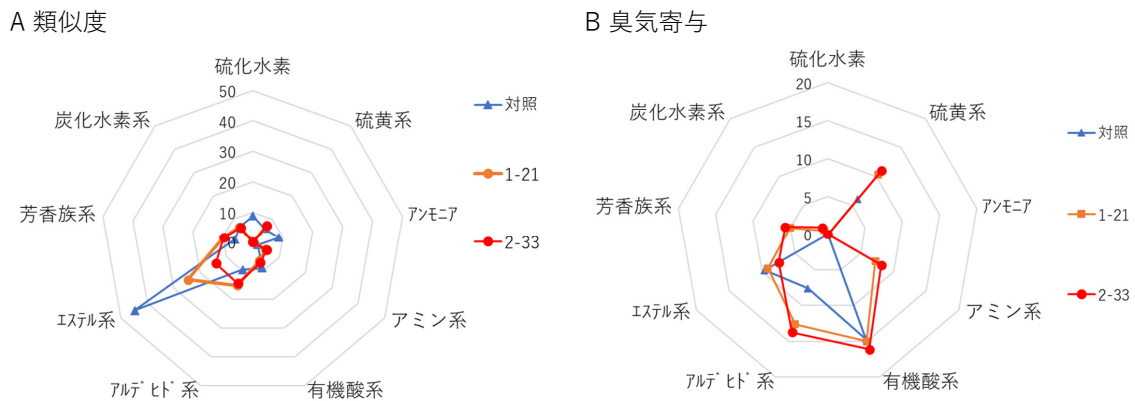


図 1. 液体発酵した柿葉後発酵茶のにおい識別装置による類似度及び臭気寄与度

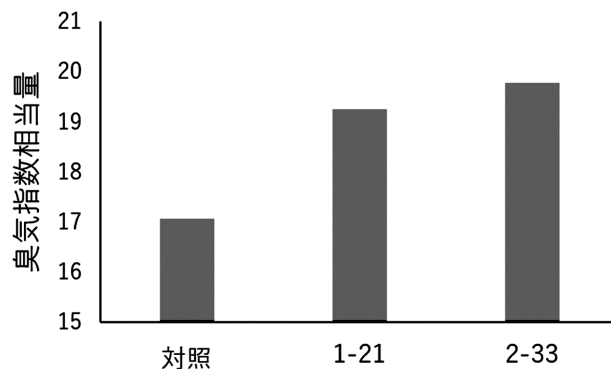


図 2. 液体発酵した柿葉後発酵茶のにおい識別装置による臭気指数に与える影響

1-21, 2-33 の液体発酵の試料と、葉発酵の熱水抽出液の試料をそれぞれ図3と図4に記す。液体発酵の1-21, 2-33は対照が褐色であるのに対して、黄緑色をしていた。葉発酵の熱水抽出液の試料は液体発酵に比べて対照との違いは無かった。

液体発酵の1-21と2-33の酵母は発酵21日目まで生

存していた(図5)。乳酸菌は1-21では発酵8日目に生存が確認できなくなり、発酵21日目は2-33では生存していた。葉発酵の漬液中の発酵23日目の酵母は1-21, 2-33ともに生存していた(図6)。乳酸菌は発酵23日目には対照も含めて生存していなかった(データ省略)。



図3. 液体発酵した柿葉後発酵茶



図4. 葉発酵した柿葉後発酵茶

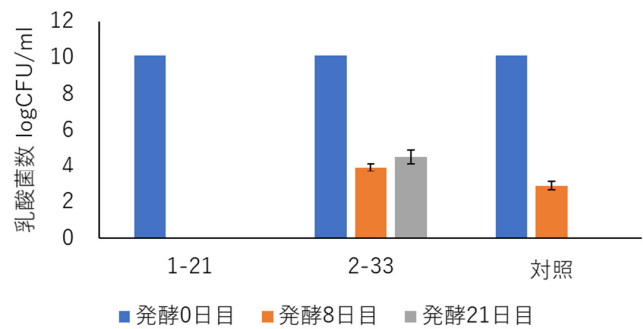
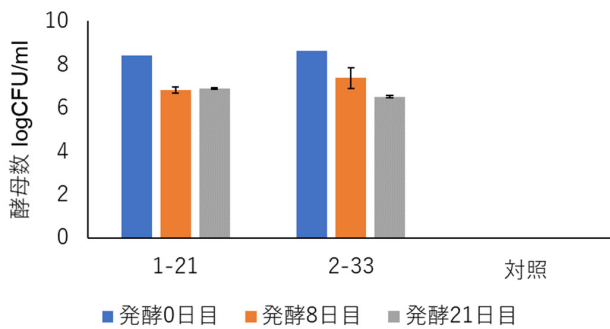


図5. 液体発酵した柿葉後発酵茶の酵母と乳酸菌の発酵期間における菌数
 図中のエラーバーは標準誤差を示す (n=3)

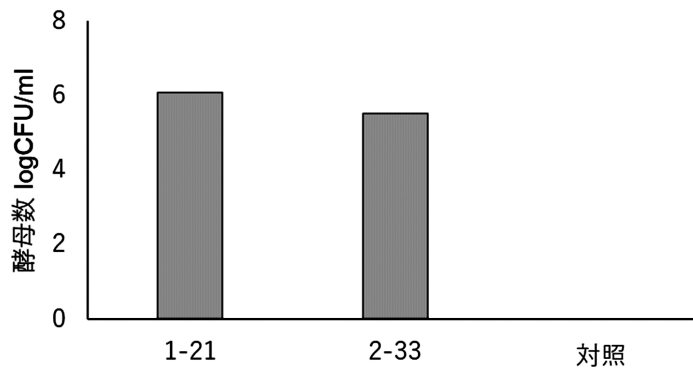


図6 葉発酵した柿葉後発酵茶の発酵23日目の酵母数
 (n=1)

GC/MS 分析により、液体発酵において、対照と異なるピークとして 1-21, 2-33 でイソアミルアルコールが検出された (図 7)。イソアミルアルコールを定量した結果、1-21 が 245 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、と対照に比べて有意な差が認められ

た。葉発酵の熱水抽出液のイソアミルアルコール含量はすべての試料で 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下と液体発酵に比べて低く対照と差は認められなかった (図 8)。

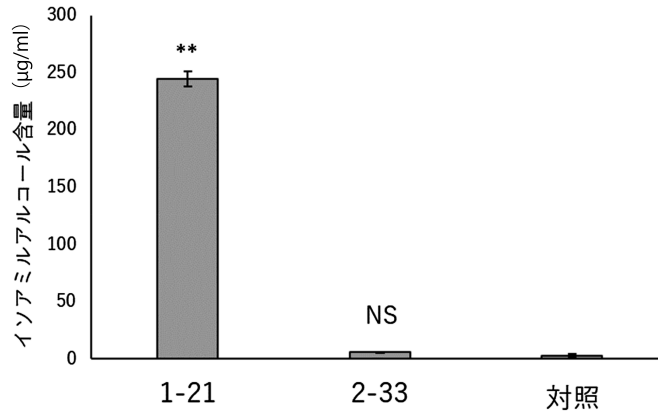


図 7 液体発酵した柿葉後発酵茶のイソアミルアルコール生成量

^z 平均値 (n=3) 図中のエラーバーは標準誤差を示す。

^y Dunnett 検定により対照と比較し ** は $P < 0.01$ で有意差があることを示す。

NS は $P < 0.05$ で有意差が無いことを示す。

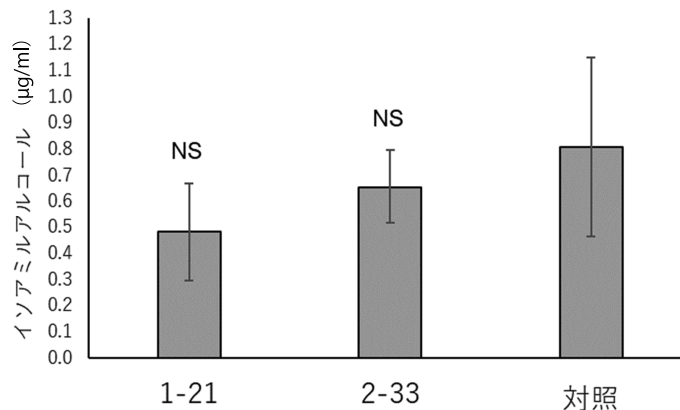


図 8 葉発酵した柿葉後発酵茶のイソアミルアルコール生成量

^z 平均値 (n=3) 図中のエラーバーは標準誤差を示す。

^y Dunnett 検定により対照と比較し NS は $P < 0.05$ で有意差が無いことを示す。

アミノ酸含量は液体発酵において、1-21 は対照と比較して、Val, Ile, Leu, Glu, Phe, Arg 及び Tyr の含量は有意に高く、Ser と Trp の含量は有意に低かった (図 9)。葉発酵の熱水抽出液のアミノ酸含量は、対照に比べて 1-21, 2-33 は各種アミノ酸で増減が認められ、呈味

成分であるグルタミン酸が酵母添加により増加した (図 10)。

有機酸含量は液体発酵において、乳酸含量は対照に比べ、2-33 は有意に低かった (図 11)。

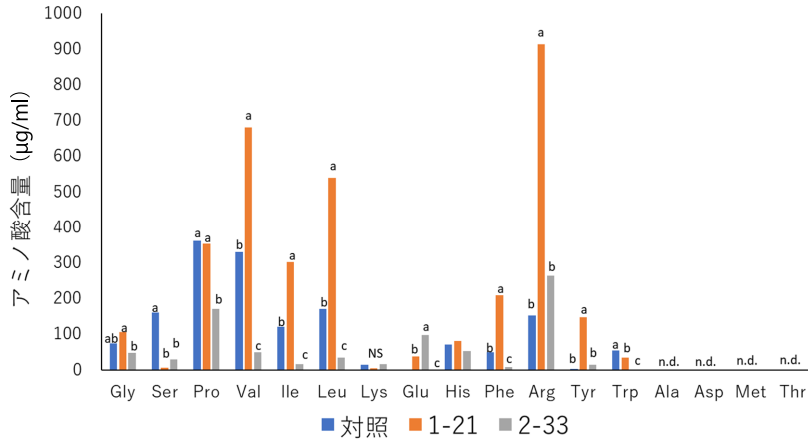


図9 液体発酵した柿葉後発酵茶のアミノ酸含量

^z 平均値 (n=3)

^y 同じ成分における異なるアルファベット間には Tukey の多重検定により 5% 水準で有意差あり。

NS は有意差なしを示す。

^x n.d. は not detected を示す。

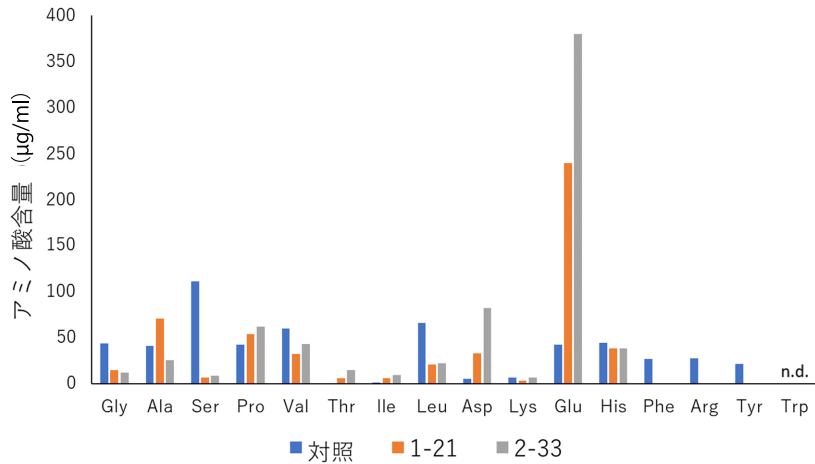


図10 葉発酵した柿葉後発酵茶のアミノ酸含量

^z サンプルの測定値 (n=1)

^y n.d. は not detected を示す。

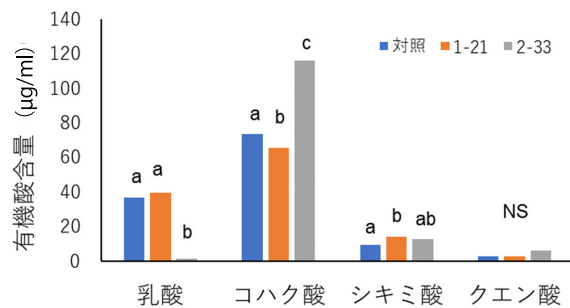


図11 液体発酵した柿葉後発酵茶の有機酸含量に与える影響

^z 平均値 (n=3)

^y 同じ成分における異なるアルファベット間には Tukey の多重検定により 5% 水準で有意差あり。

NS は有意差なしを示す。

コハク酸含量は対照に比べ1-21は有意に低く、2-33は高かった。シキミ酸含量は対照に比べ1-21で有意に高かった。クエン酸含量は試料間で有意差は無かった。葉発酵の熱水抽出液の有機酸含量は対照、1-21及び2-33の乳酸含量はそれぞれ7.1 µg/ml 8.1 µg/ml 及び12.6 µg/mlであった(図12)。コハク酸は対照に比べ1-21及び2-33で低い傾向であった。シキミ酸は他の有機酸に比べて低い値となった。

味認識装置による分析は、液体発酵において対照に比べて1-21は‘酸味’でやや低く、2-33は‘酸味’で低く、‘旨味’が高い傾向を示した(図13A)。葉発酵の熱水抽出液において、対照に比べて1-21は‘酸味’でやや低く、‘旨

味’がやや高く、2-33は‘酸味’で低く、‘旨味’が高い傾向を示した(図13B)。

嗜好性評価では、液体発酵において、‘香り’、‘味’及び‘総合評価’で1-21を好みと評価したのは12名中それぞれ3名、4名及び3名であり、2-33を好みと評価したのは、12名中5名、4名及び3名であった(表3)。すべての項目において、対照と比べて1-21、2-33は有意差は無かった。葉発酵の熱水抽出液において、2-33の‘総合評価’が対照と比べて有意に低い評価となった(表4)。一方、有意差はなかったが、1-21は‘香り’、‘味’及び‘総合評価’で対照に比べて、パネリスト12名中それぞれ7名、8名及び8名が好みであると回答した。

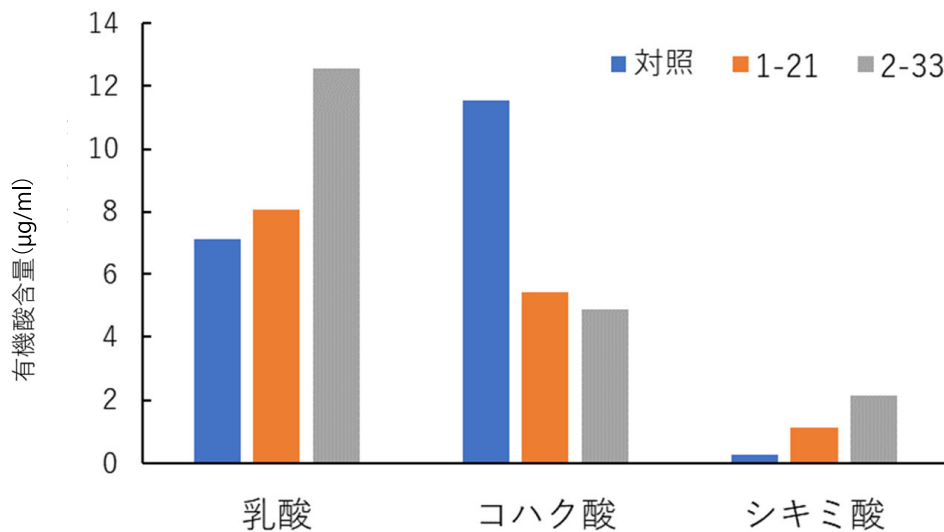


図12 液葉発酵した柿葉後発酵茶の有機酸含量に与える影響

※ サンプルの測定値 (n=1)

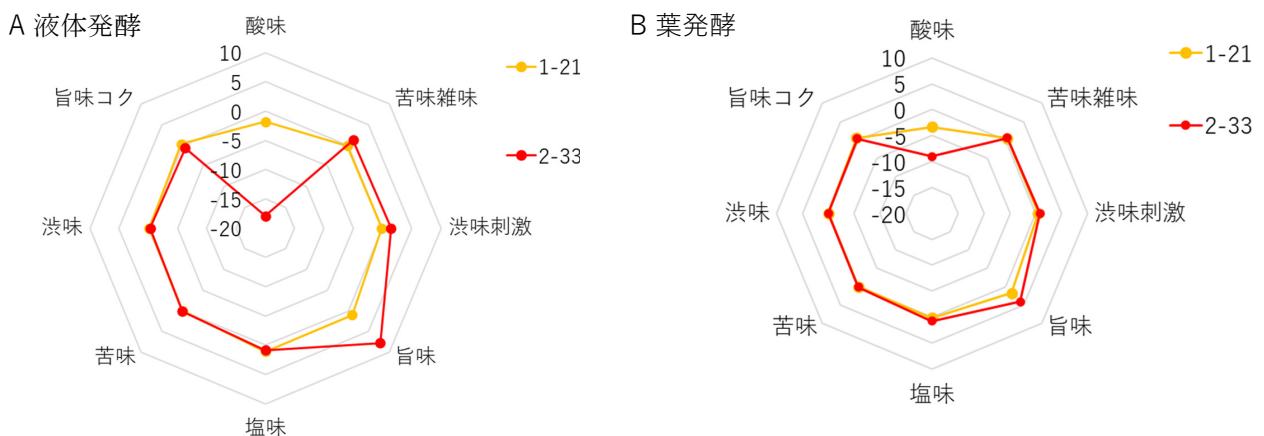


図13 柿葉後発酵茶の味認識装置による味の評価に与える影響

※ 対照を0としたサンプルの測定値の平均値 (n=3)

表 3. 液体発酵した柿葉後発酵茶の 2 点嗜好試験

評価項目	パネリスト数					
	対照 ^z	1-21			対照	2-33
香り	9	3	NS ^y	7	5	NS
味	8	4	NS	8	4	NS
総合評価	9	3	NS	9	3	NS

^z対照は乳酸菌のみ添加

^y二項検定(両側検定)によりNSは5%水準で有意差無しを示す。

表 4. 葉発酵した柿葉後発酵茶の 2 点嗜好試験

評価項目	パネリスト数					
	対照 ^z	1-21			対照	2-33
香り	5	7	NS ^y	8	4	NS
味	4	8	NS	8	4	NS
総合評価	4	8	NS	10	2	*

^z対照は乳酸菌のみ添加

^y二項検定(両側検定)により*は5%水準で有意差有りを示しNSは有意差無しを示す。

4. 研究から得た結論・考察

これまで、柿葉に乳酸菌を添加して発酵させる柿葉後発酵茶を開発してきたが、今回の研究で、さらに酵母を添加することで、新たな風味を有する柿葉後発酵茶を作成することができた。先行研究により、国内の後発酵茶のひとつである碁石茶に *Debaryomyces hansenii* が含まれることが明らかとなっている (岡田ら, 1996)。今回は、*Debaryomyces hansenii* を 3 株含む県内醤油蔵から単離された酵母を使用した (表 1)。官能評価によるスクリーニングで *Debaryomyces hansenii* の 2-33 がスクリーニングで選抜された (表 2)。また、選抜されたもう一つの株である 1-21 は *Candida parapsilosis* で、インドネシアの発酵食品のスターターであるラギから単離されている (Dwidjoseputro ら, 1970)。なお、醤油の主要な香りに関わるとされるのは *Zygosaccharomyces rouxii*, *Candida etchellsii* 及び *Candida versatilis* であり、今回の選抜された株は醤油の香りに大きく影響する菌株ではない。他の酵母については、パネリストによるスクリーニングの官能評価の前に、菌の生育も予備的に調査したが、多くは発酵中に生育が確認できなかった。1-21 と 2-33 は液体発酵、葉発酵共にそれぞれ発酵 21 日、23 日においても酵母の生育が確認された (図 5, 図 6)。これまでの著者らの研究で乳酸菌は発酵中、添加した乳酸菌数が増加せず、減少することが明らかとなっている。今回、乳酸菌は液体発酵において 2-33 が発酵 21 日目まで生育して

いる一方で、1-21 と対照では生育していなかった (図 5)。しかし、乳酸含量については対照と 1-21 が 2-33 に比べて多く (図 11)、乳酸菌の生育数と乳酸含量についての一定の傾向は認められなかった。葉発酵においては、液体発酵に比べて、すべて低い値となったが、乳酸の酸味として感じる閾値は 1.8 µg/ml (前田, 1963) であるため、葉発酵においても乳酸由来の酸味は感じられる程度はあると考えられた。対照に比べて 2-33 が、乳酸含量は高かった (図 12)。発酵時期による乳酸菌と酵母の菌数と乳酸含量の関係については今後の検討課題と考えられた。液体発酵、葉発酵共に、乳酸以外の有機酸では、コハク酸が比較的高い含量を示した (図 11, 図 12)。コハク酸は緑茶に含まれコク味に影響するとされる有機酸である (堀江ら, 2002)。味を識別できる閾値は 200 µg/ml とされ、今回の液体発酵した 2-33 で 116 µg/ml であったので、味として認識はできない濃度と考えられた。一方、葉発酵の試料のアミノ酸分析により、1-21、2-33 で旨味成分であるグルタミン酸がそれぞれ、240 µg/ml、379 µg/ml であった (図 10)。味を識別できる閾値は 200 µg/ml とされ (堀江ら, 2002)、味認識装置による分析でも旨味は、葉発酵の試料では、1-21、2-33 で高い値となった (図 13B)。一方、液体発酵で 2-33 は 99 µg/ml (図 9) とグルタミン酸は閾値以下であるが、味認識装置では旨味が高い値となっていた (図 13A)。旨味との関係については官能評価も含めて今後の検討課題と考えられた。

香りにはにおい認識装置による分析でも、酵母を添加する

ことで、対照とは異なる香りであることが示された(図1)。さらにGC/MSにより、香りの成分について調べた結果、清酒の香りの成分の一つであるイソアミルアルコールが検出され、1-21では245 µg/ml含まれていた(図7, 図8)。イソアミルアルコールの香りはアルコール香、甘い芳香と表現され、弁別閾値は50 ~ 70 µg/mlとされる(日本醸造協会, 1999)。また、吟醸酒で125 µg/ml, 大吟醸酒で349 µg/mlであり(小川ら, 2010), 1-21は吟醸酒より多いイソアミルアルコールを含んでいた。

嗜好性評価では、葉発酵の試料では、過半数以上のパネリストが1-21の方がすべての項目で対照より好ましいと回答した(表4)。今回目指している食品は柿葉を用いた発酵食品であり、柿葉そのものが珍しいもので、さらに発酵させた一般的な既存の食品と異なり特殊なものとなる。食品として消費者から圧倒的な支持を得ることは重要であるが、今回のような食品においては、過半数の人が好ましいと感じたことは、これまでの乳酸菌添加だけでなく、酵母を加えたことにより、より風味に優れ嗜好性が向上したと評価できるのではないかと考えられる。

一方液体発酵の試料では、1-21はすべての評価が低く、2-33では‘味’、‘総合評価’の評価が低いものの、‘香り’については、12名中5名のパネリストが好ましいと評価した(表3)。著者らは、乳酸菌にグルコースを添加してさらに酸味を強くした飲料を開発している。これ単独では、酸味が強すぎて食味の評価は低いが、シロップを添加すると食味評価が非常に高くなる。また、紅茶などでは様々な茶葉のブレンドが品質に影響する。今回の液体発酵についても、糖等、何らかの食品素材の添加や、ブレンドにより、酵母を添加したことによる変化を活かした新たな食品ができると考えられる。

5. 残された問題、今後の課題

本研究は、これまで行ってきた柿葉の乳酸菌の添加による後発酵に、さらに酵母を加えて香りの向上、食味の向上を目指した。後発酵については、既存の研究がすでに多くあるが、それらは茶葉を自然に発酵させた製法について解析したものである。本研究のような、葉に酵母と乳酸菌をスターターとして発酵させた試みは初めてであると考えられる。本研究ではまず、酵母がポリフェノールを有する柿葉で生育するかどうか重要なポイントであると考えられた。今回県内の醤油蔵から既に単離されていた酵母があり、それらを使用した。1-21, 2-33以外にもいくつかの酵母が生育していた。また、清酒用酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)も試したところ液体発酵で生育が確認された(データ省略)。このように、柿葉後発酵に使用できる酵母の属種は広いことが示唆されるため、さらに酵母の種類を変えて、より風味のよい酵母を選抜できる可能性がある。

今回、発酵時期による乳酸菌と酵母の菌数と乳酸含量の

関係、旨味成分と官能評価の関係について、興味ある結果は得られたものの、一定の結論に導くことはできなかった。これらについては、再度検討を行う予定である。

今回、試作した1-21, 2-33の液体発酵、葉発酵の試料を素材として、先にふれたように、食品素材の添加やブレンド等により、より食品として好ましい利用方法について検討する予定である。

6. 参考文献

- 1 青山佳弘．におい識別装置と食品・飲料のにおい評価への応用．日本食生活学会誌 2006, **17**, p.266-270.
- 2 Dakimah, Dwidjoseputro.; Frederick,T,Wolf. Microbiological studies of Indonesian fermented foodstuffs. *Mycopathologia et mycologia applicata*.1970, **41**, p.211-222.
- 3 堀江秀樹, 氏原ともみ, 木幡勝則. 有機酸の緑茶中含有量と茶品質への寄与. 茶業研究報告. 2002, **93**, p.26-33.
- 4 前田清一, 中尾俊. 各種酸類の酸味について. 家政学雑誌. 1963, **14**, p.149-154.
- 5 日本醸造協会編. 醸造物の成分. 日本醸造協会. 1999
- 6 小川治雄, 中島友和, 吉伸敏, 大橋ゆか子. 日本酒の成分分析. 東京学芸大学紀要. 2010, **62**, p.23-31.
- 7 岡田早苗, 高橋尚人, 小原直弘, 内村泰, 小崎道雄. 碁石茶の発酵に関与する微生物. 日本食品科学工学会誌. 1996, **43**, p.1019-1027.
- 8 都築正男. 奈良県内の醤油蔵の蔵付微生物の単離とその特性. 奈良県産業振興総合センター研究報告. 2017, **43**, p.15-22.