

資 料

メタボローム解析を用いた食品成分の評価技術の確立（第2報）

- 香気成分のメタボローム解析によるブドウ品種特性の顕在化 -

大渡 康夫[†]・杉山 万里[§]・牧野 正知^{*}・松林 和彦^{**}・田畑 光正^{**}

1. 目 的

ブドウの品種はとて多く、世界には10,000種以上あると言われており、世界で生産されるブドウのおよそ7割はワイン用ブドウであるが、日本では生食用ブドウが国内全体の8~9割を占める¹⁾。最近では日本産の生食用ぶどうの品質が海外でも高く評価され、年々輸出量が拡大しており、2018年には1,492トンが輸出された²⁾。また、国内では各地で独自に品種改良が取り込まれ、オリジナルブランドとしての特産化を盛んに行っており、鳥根県においても新品種の開発を行っている。

ブドウの品種には主に欧州種と米国種の2つの系統があり、さらに欧州種と米国種の交雑種（欧米雑種）に分類される。その品種間差の一つの特性として香りの違いがある。欧州系ブドウ品種の特徴香には“マスカット香”があり、米国系ブドウ品種の特徴香は“フォクシー香”と言われる。香りはブドウの差別化のために重視される特性の一つであり、特徴香を活かした品種開発も行われている³⁾。農産物や食品の香りは単一の成分ではなく、多くの揮発性成分によって複雑に構成されるため、特性を評価するには、より多くの成分を解析対象とすることが望まれる。メタボローム解析はサンプル内の多成分を網羅的に観察することが可能で、医療や食品などの分野で盛んに用いられている⁴⁾。今回、ガスクロマトグラフ質量分析装置（GC/MS）を用いて複数のブドウ品種の揮発性成分を対象に、メタボローム解析により網羅的一斉分析を行い、品種特性に寄与する香気成分を探索した。

表1 ブドウ分析試料

略記	品種名	系統
FM	藤稔	欧米雑種
KK	カッタクルガン	欧州種
MA	マスカット・オブ・アレキサンドリア	欧州種
OS	オリエンタルスター	欧米雑種
QN	クイーンニーナ	欧米雑種
RB	ロザリオビアンコ	欧州種
SM	シャインマスカット	欧米雑種
ST	スチューベン	米国種

2. 方 法

2.1 測定試料の調製

分析試料のブドウとして8品種を用意した。品種名および略記、系統を表1に示す。

2.2 GC/MSによるメタボローム解析

2.2.1 GC/MS分析

人の咀嚼時と近い条件になるように、ブドウはミキサーではなく、皮付きのまま2~5mm角程度に細断した。20mLヘッドスペースバイアルに均一にしたサンプル5gをすばやく封入し、ISQ 7000シングル四重極 GC-MSシステム（Thermo Fisher Scientific）により分析に供した（各試料N=5）。測定条件を表2に示す。多機能オートサンプラーTriPlus RSHを搭載し、分析待機中にサンプルが変質しないよう、サンプルトレイを冷却水循環装置と接続することで、サンプルを4℃に保持した。揮発性成分のサンプリング方法はヘッドスペース固相マイクロ抽出法（HS-SPME法）を用いた。バイアルに封入した試料を40℃・10分間加温し揮発性成分を気相に移動させた後、SPMEファイバー（DVB/CAR/PDMS 50/30μm, Sigma Aldrich）を用いて40℃・30分間揮発性成分の抽出、濃縮を行った。

表2 GC/MS測定条件

装置	: Trace1310 GC / ISQ QD MS / TriPlus RSH
SPME	: DVB/CAR/PDMS (50/30μm)
インキュベート	: 40℃/10分（攪拌あり）
抽出条件	: 40℃/30分（攪拌あり）
脱着時間	: 1分
カラム	: SH-Stabilwax (60m, 0.25mm, 0.25μm, Shimadzu GLC)
注入法	: スプリットレス（ページ15mL/min, 1min）
注入口温度	: 250℃
オープン	: 40℃ (2.5min) - 4℃/min - 250℃ (5min)
キャリアガス	: He, 220kPa（定圧モード）
トランスファー炉温度	: 250℃
イオン源温度	: 200℃
イオン化電圧	: 70eV
質量範囲	: m/z 33 - 350
分析モード	: Scan (0.2 sec / scan)

[†]食品技術科（現：生物応用科），[§]農業技術センター特産開発科
^{*}生物応用科（現：食品技術科），^{**}食品技術科

その後、注入口にて250℃ 1分間の熱脱着により濃縮した揮発性成分をGCカラムに導入した。

2.2.2 データ解析

GC/MS分析データ (raw形式) をABF file converter (<https://www.reifycs.com/AbfConverter/>) により、ABF形式に変換した。メタボローム解析用ソフトウェアMS-DIAL (ver. 3.96) およびMSPファイルのスペクトルライブラリー「All records with Kovats RI (15,302 records)」を用いて、ベースライン補正、ピーク検出、デコンボリューション、アライメント、化合物同定を行った^{5),6)}。さらに未同定のピークに対してはNIST 11 MS スペクトルライブラリーのマススペクトルとの照合により化合物を推定した。得られたデータ行列をWeb解析ツールMetaboAnalyst 4.0に供し多変量解析を行った^{7),8)}。データスケリングはAuto Scaling (各代謝物レベルを平均0, 分散1に変換) を採用し、主成分分析 (principal component analysis; PCA) および部分最小二乗判別分析 (Partial Least Squares - Discriminant Analysis; PLS-DA) を実施した。

2.3 官能評価の回帰分析

ブドウの香りの官能評価を島根県農業技術センターの職員11名により実施した。評価には、ブドウ香気の評価用語

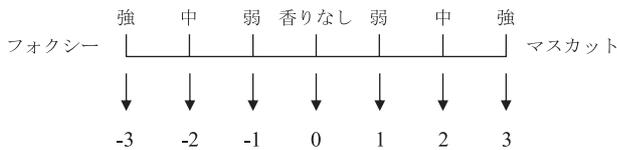


図1 7段階両極尺度による香りの評価

として「フォクシー」と「マスカット」を用いて、7段階の両極尺度で評価した (図1)。なお、今回はブラインド形式で評価しておらず、評価者には香りへのみ着目するよう事前に指示された。11名の平均値を各サンプルの香りの評価値とした。官能評価と成分との部分最小二乗回帰 (PLS regression; PLS-R) はAIoutputを用い、データスケリングはAuto Scalingで実施した⁹⁾。

3. 結果および考察

3.1 GC/MSによるブドウの揮発性成分分析

GC/MSにより分析した各試料のトータルイオンクロマトグラム (TIC) を図2に示す。品種ごとに様々な揮発性成分が同時に多数検出され、MS-DIALを使用して、クロマトグラムのデコンボリューション、アライメントなどを行った。データ処理の結果、220個の成分由来のピークが確認された。群間の違いの評価に有用なピークを抽出するために、分散分析 (ANOVA, $p < 0.05$) によるフィルタリングを行い、ピーク数を171個に絞り込むことで以降の解析に用いた。なお、未同定のピークについてはUnknownとした。また、波形処理の影響を受けにくいように、ピーク高さをデータ行列に出力し、その後の多変量解析に供した。MetaboAnalystを用いて全ての揮発性成分間の相関分析をヒートマップにより図3に示した。相関ヒートマップは複数の成分間の相関関係を俯瞰して理解するのに便利なツールである。解析の結果、171成分はCluster 1~3まで3つのクラスターに大別され、その大半が

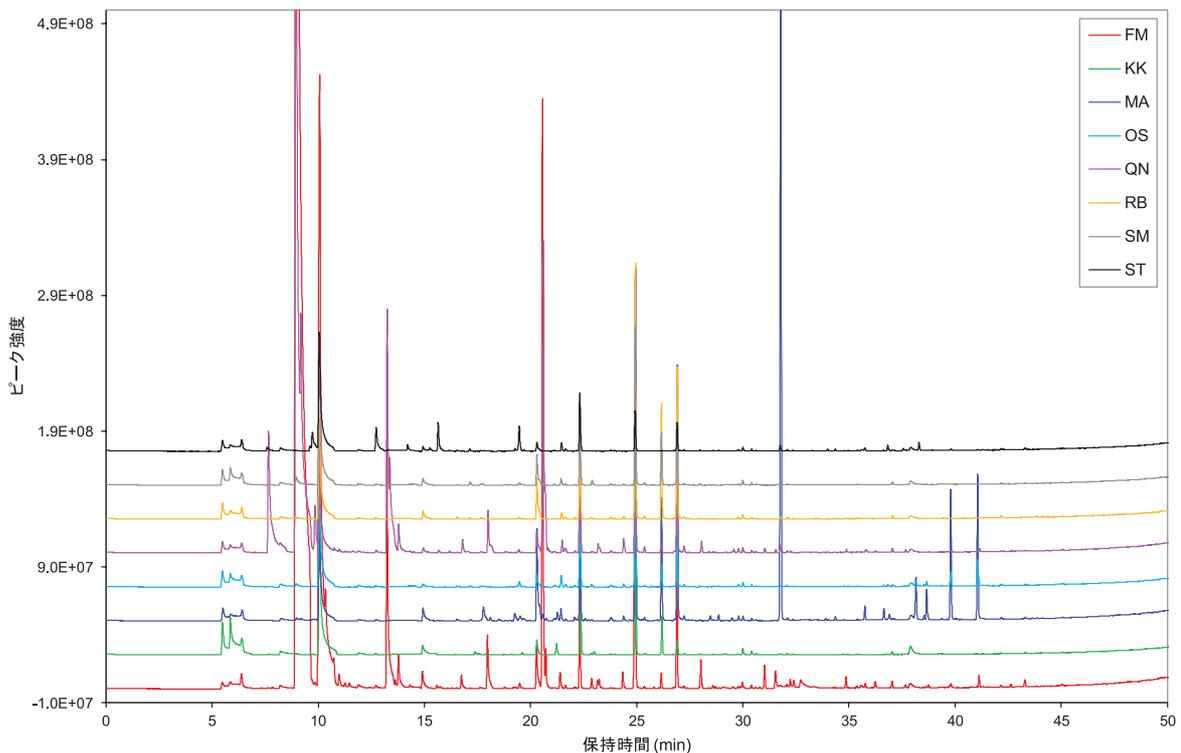


図2 各試料のトータルイオンクロマトグラム

Cluster 2 と 3 によって構成されることが分かった。Cluster 2 にはエステル類の成分が多く、一方、Cluster 3 にはテルペン類の成分が多数含まれていた。一般に欧州種のマスカット香にはテルペン類、米国種のフォクシー香にはエステル類が主要な香り成分であると言われる¹⁰⁾⁻¹⁵⁾。この結果から、ブドウの揮発性成分を網羅的に分析することは、品種間の差異を可視化するのに有用であることが示唆された。

3.2 多変量解析 (PCA, PLS-DA) による品種間比較

GC/MS分析により得られた揮発性成分のメタボロームデータを主成分分析 (PCA) により解析し、得られたスコアプロットを図 4 に示した。横軸の第1主成分 (PC 1) ではFMとQNの2つのサンプルが分離され、縦軸の第2主成分 (PC 2) ではMAサンプルが分離された (図 4 A)。FMとQNはともにフォクシー香を特徴とする米国系の交

雑種であり、MAはマスカット香が強い欧州種のブドウである。ローディングプロットを確認したところ、PC 1はEthyl propionateやEthyl Octanoateなどエステル類の寄与率が高く、PC 2は β -MyrceneやLinaloolなどテルペン類の寄与率が高い結果が得られた (図 4 B)。このことから、PC 1がフォクシー香 (エステル類が主) の強度を表し、PC 2はマスカット香 (テルペン類が主) の強度を表すと解釈された。PCAで分離されなかった残りの5つのサンプル (KK, OS, RB, SM, ST) について、サンプル間の違いをより詳しく調べる目的で部分最小二乗判別分析 (PLS-DA) による解析を行った。PLS-DAはPCAとは異なり、群情報を利用して群間を判別できるようにデータの可視化を行う多変量解析法の一つである。解析の結果、KKとSTは分離されたが、残りの3つ (OS, RB, SM) は完全には分離されなかった (図 4 C)。KK (欧州種) とST (米

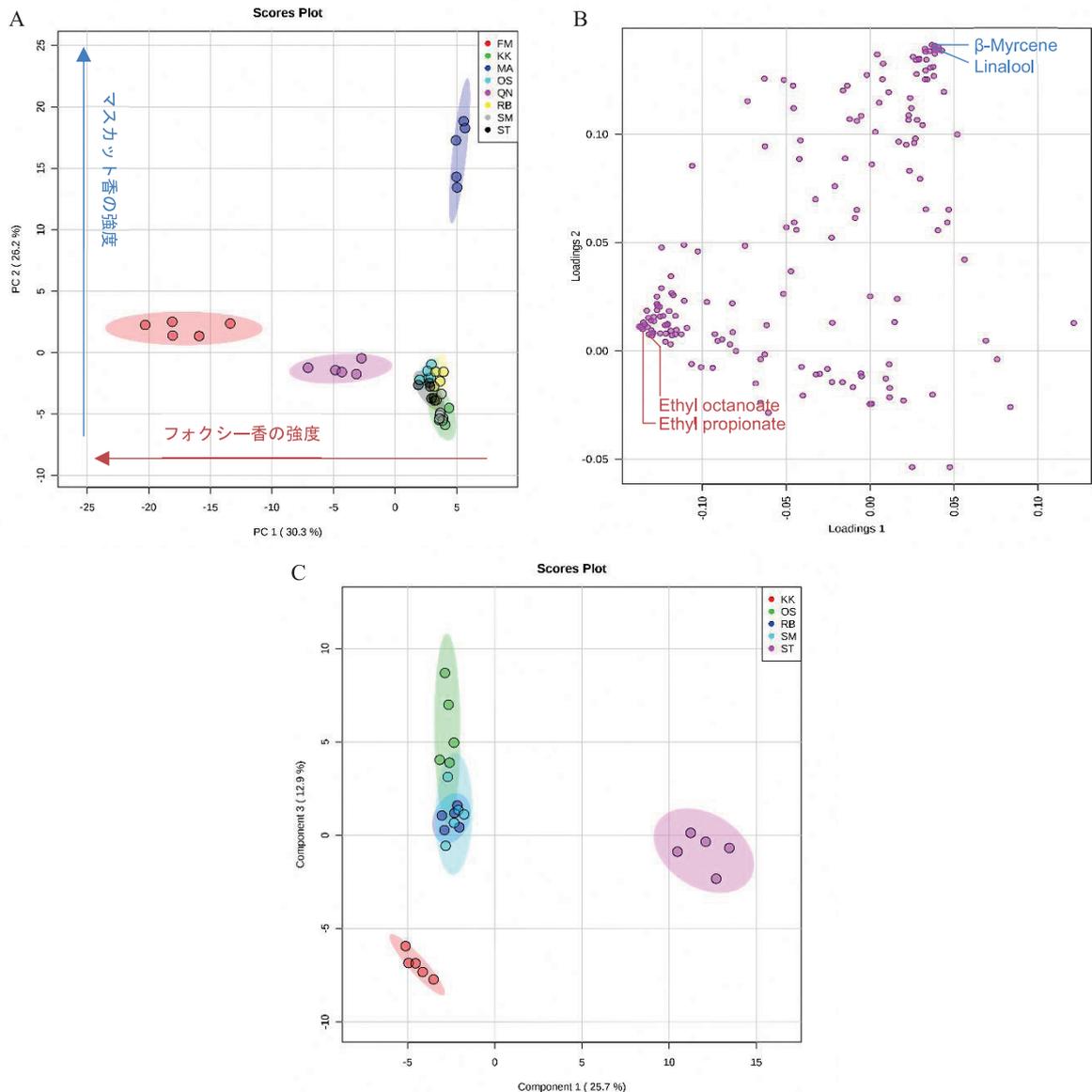


図 4 多変量解析 (PCA, PLS-DA) による品種間比較 (A) PCAスコアプロット, (B) PCAローディングプロット, (C) PLS-DAスコアプロット. 楕円範囲は95%信頼区間を表す

国種) はともに外国が原産の品種で遺伝的背景は異なるが, OS, RB, SMは国内で育種された品種で, その血統はいずれもMAをルーツとしてもっているため比較的近縁である。OSとRBは香りが少ないタイプだが, SMはマスカット香を特徴として開発されたブドウである³⁾。しかし, 今回のSMサンプルからはマスカット香の主要な寄与成分であるGeraniolやLinaloolがほとんど検出されなかった(参照: 図6上段)。その原因としては, 収穫時期(満開後日数)や栽培環境(施肥・灌水などの肥培管理, 気温・日照等)の影響の可能性, あるいは収穫後の貯蔵温度にマスカット香が依存することが報告されていることから¹⁶⁾, 収穫後の貯蔵条件による影響の可能性などが考えられた。

3.3 官能評価の回帰モデル作成

官能評価試験で得られた各サンプルの香りの評価値について, 表3にまとめた。ヒトが感じるフォクシー香やマスカット香に寄与する成分を探索するため, 官能評価の結果を目的変数に, GC/MSで得られた揮発性成分のデータを説明変数とし, これらの間で部分最小二乗回帰(PLS regression; PLS-R)による回帰モデルの作成を行った。回帰式から予測された香りの評価値を横軸に, 実際的评价値を縦軸にプロットした予測モデルのグラフを図5に示す。モデルの評価方法として, R^2 (直線性: モデルの精度), Q^2 (予測性能: モデルの安定性), RMSEE (予測誤差: モデルのズレの程度)を用いて評価を行った。 R^2 及び Q^2 は1に近いほど良い予測モデルであり, 具体的には R^2 が0.65以上で定量的予測が可能で, Q^2 は0.5以上あれば良好な予測モデルとされている¹⁷⁾。今回の結果をみると, R^2 と Q^2 はそれぞれ0.9259, 0.9009となり, またRMSEEは0.5036で, 実測値に対して予測値がおよそ ± 0.5 以内のエラーで収まることから良好なモデルが構築できたと考えられた。これはGC/MSによる揮発性成分のメタボローム解析が, ブドウの香り(フォクシー香あるいはマスカット香)を客観的に評価(予測)できる可能性があることを示している。

続いて, VIP (Variable Importance in Projection: 変数重要度)によりブドウの香りに寄与する重要なマーカーとなる成分の抽出を行った。VIPスコアは, 値が大きいほど予測モデルの予測性能に対する寄与度が大きいとされ, 特に1以上でモデルの構築に重要な成分とされている¹⁷⁾。

表3 ブドウの香りの官能評価値

品種	フォクシー香			香りなし	マスカット			平均
	-3	-2	-1		0	1	2	
FM	7	4	-	-	-	-	-	-2.6
KK	-	-	3	5	3	-	-	0.0
MA	-	-	-	-	1	6	4	2.3
OS	-	-	2	5	4	-	-	0.2
QN	4	6	1	-	-	-	-	-2.3
RB	-	-	1	4	5	1	-	0.5
SM	-	1	-	-	2	9	-	1.6
ST	6	2	3	-	-	-	-	-2.3

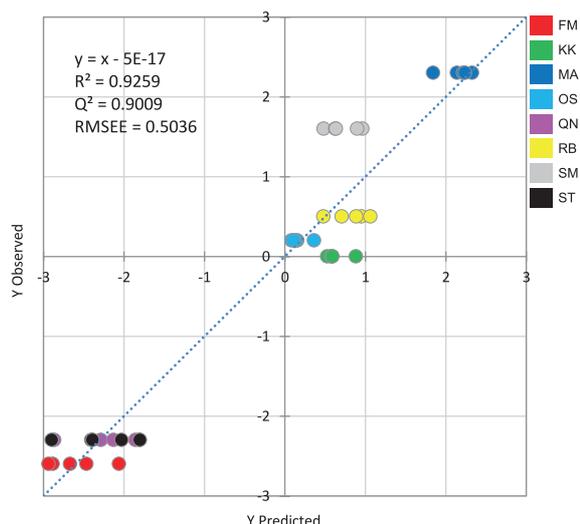


図5 PLS-Rによるブドウの香りの予測モデル

Coefficient (回帰係数)は, 値が正の場合は予測値が正方向(マスカット香側)に, 値が負の場合は予測値が負方向(フォクシー香側)に寄与する成分を表す。表4, 5に, 今回のモデルにおけるVIPスコアおよびCoefficientを示した。マスカット香の関連成分として, VIPスコアが1以上だった19成分のうち10成分がテルペン類であった(表4)。この中には, すでにマスカット香の主要成分として報告されているGeraniolやLinaloolなども含まれていた^{10)-13),18)-22)}。また, 高いVIPスコアを示したcis-3-Hexenol(青葉アルコール)は, ブドウ以外にも広く植物界に存在することが知られる揮発性成分の一種で, いわゆる‘青くさみ’の本体である²³⁾。興味深いことに, 2-Ethylfuran, 2-Pentylfuran, 2-Methylfuranの3種類のフラン類が関連成分として認められた。フラン類は, 一般的に熱処理した食品でよ

表4 VIPを指標にしたマスカット香の関連成分

化合物名_Alignment ID	VIP	Coefficient
2-Ethylfuran_32	1.473	0.030
cis-3-Hexenol_117	1.455	0.024
Geraniol_188	1.180	0.015
2-Pentylfuran_79	1.171	0.018
Butyl Alcohol_63	1.159	0.023
trans-Citral_177	1.152	0.014
Benzaldehyde_141	1.136	0.014
Linalool_143	1.131	0.014
Unknown_223	1.128	0.015
Allo-ocimene_120	1.123	0.014
Nerol_183	1.122	0.013
cis-3-Hexenyl Acetate_102	1.117	0.014
Citronellol_179	1.103	0.013
2-Methylfuran_23	1.082	0.012
β -Myrcene_65	1.080	0.012
cis-Citral_171	1.078	0.011
2,6-Dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol_196	1.076	0.014
Neo-allo-ocimene_116	1.060	0.013
Fenchone_123	1.055	0.010

表5 VIPを指標にしたフокси香の関連成分

化合物名_Alignment ID	VIP	Coefficient
β-Terpinene_60	1.778	-0.037
α-Bergamotene_174	1.472	-0.033
β-Pinene_57	1.460	-0.034
α-Pinene_44	1.444	-0.033
Isovaleraldehyde_25	1.427	-0.034
Ethyl Acetate_19	1.401	-0.018
Ethyl Hexanoate_82	1.384	-0.018
Ethyl Valerate_62	1.369	-0.015
Ethyl Butyrate_46	1.368	-0.019
Ethyl Propionate_33	1.353	-0.014
Isopropyl Butyrate_47	1.348	-0.013
Camphene_52	1.348	-0.031
Ethyl 2-Methylbutyrate_50	1.338	-0.017
Propyl Acetate_35	1.329	-0.012
Ethyl Octanoate_124	1.327	-0.012
Isoamyl Alcohol_74	1.304	-0.030
Ethyl Isovalerate_53	1.277	-0.011
Ethyl Tiglate_83	1.263	-0.018
Ethyl Decanoate_162	1.252	-0.008
Ethyl Isobutyrate_34	1.242	-0.007

く見られ、甘い香りや香ばしい香りと表現される揮発性成分である。3種類ともピーク強度が低いため、含有濃度は微量と考えられるが、マスカット香を構成する複数因子の一つとして影響している可能性が考えられた。関連する6成分のピーク強度データを図6に示す。

次に、フокси香に関連する成分として、VIPスコアが1以上だった41成分のうち上位20成分を表5に示した。このうち13成分がエステル類であり、この結果はフокси香の主要成分がエステル類であるという過去の知見とも一致した^{14), 15), 22), 24)}。ただし、主要成分の一つであるアントラニル酸メチルは、本試験では検出されなかった^{14), 15)}。また、VIPスコアが高い成分にはβ-Terpinene, α-Bergamotene, β-Pinene, α-Pinene, Isovaleraldehydeなどのエステル類以外の成分が上位に並び、これらのほとんどがSTにおいて多く見られる成分だった。一方, Ethyl Acetate, Ethyl Hexanoate, Ethyl Valerate, Ethyl Butyrateなどのエステル類はFMとQNのみ存在が確認された。STは官能的にはフокси香の評価だったが、同じフокси香の分類でも、成分的には他の2品種 (FM, QN) とは異なる特性を示した (図7)。今回の官能評価試験では、ブドウ香気の評価用語として「フокси」と「マスカット」だけに絞って、7段階の両極尺度で評価した。そのためフокси香やマスカット香以外に含まれる香りの存在を一部排除して評価した影響の可能性が考えられた。また、メタボロームデータと官能との相関性を解析する場合に、分析型官能評価の一種である定量的記述分析法 (QDA) を活用した報告例がある^{25), 26)}。厳密な官能評価試験には、外観などの先入観を与えない評価環境が求められ、場合によっては香りの見本などを用いたパネラーの訓練が必要なこと

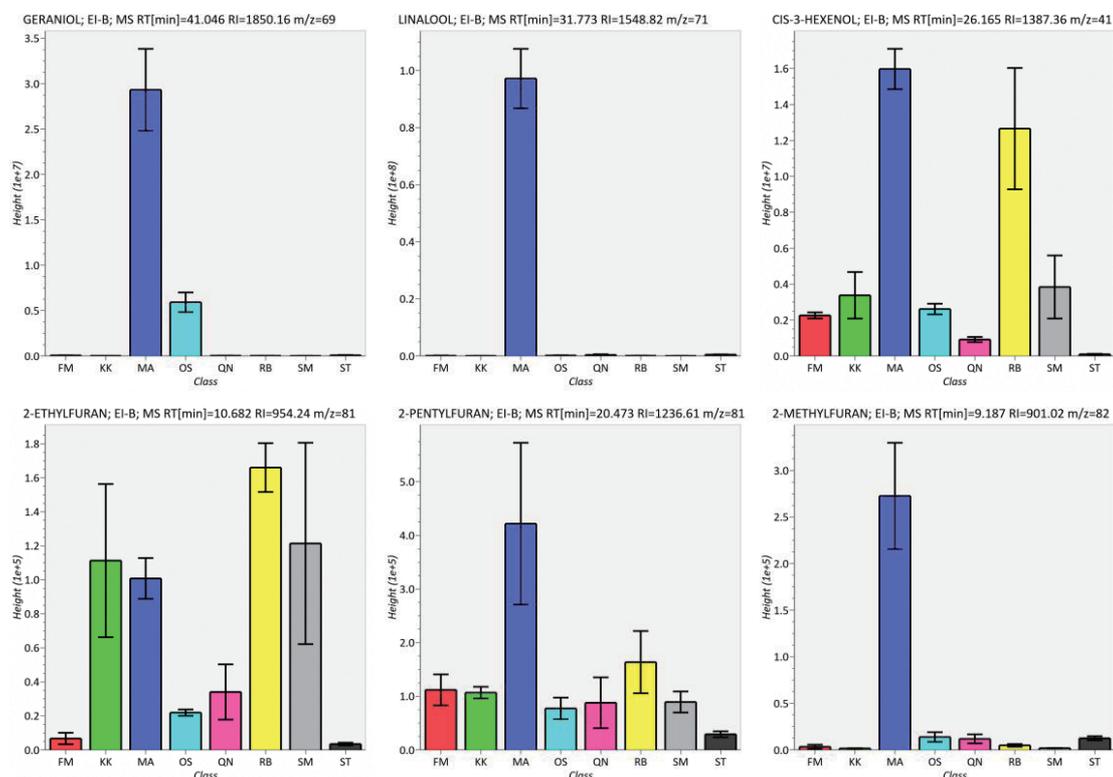


図6 マスカット香の関連成分のピーク強度
 (上段) 左: Geraniol, 中央: Linalool, 右: cis-3-Hexenol
 (下段) 左: 2-Ethylfuran, 中央: 2-Pentylfuran, 右: 2-Methylfuran
 横軸: FM, KK, MA, OS, QN, RB, SM, ST, 縦軸: ピーク強度 (高さ)

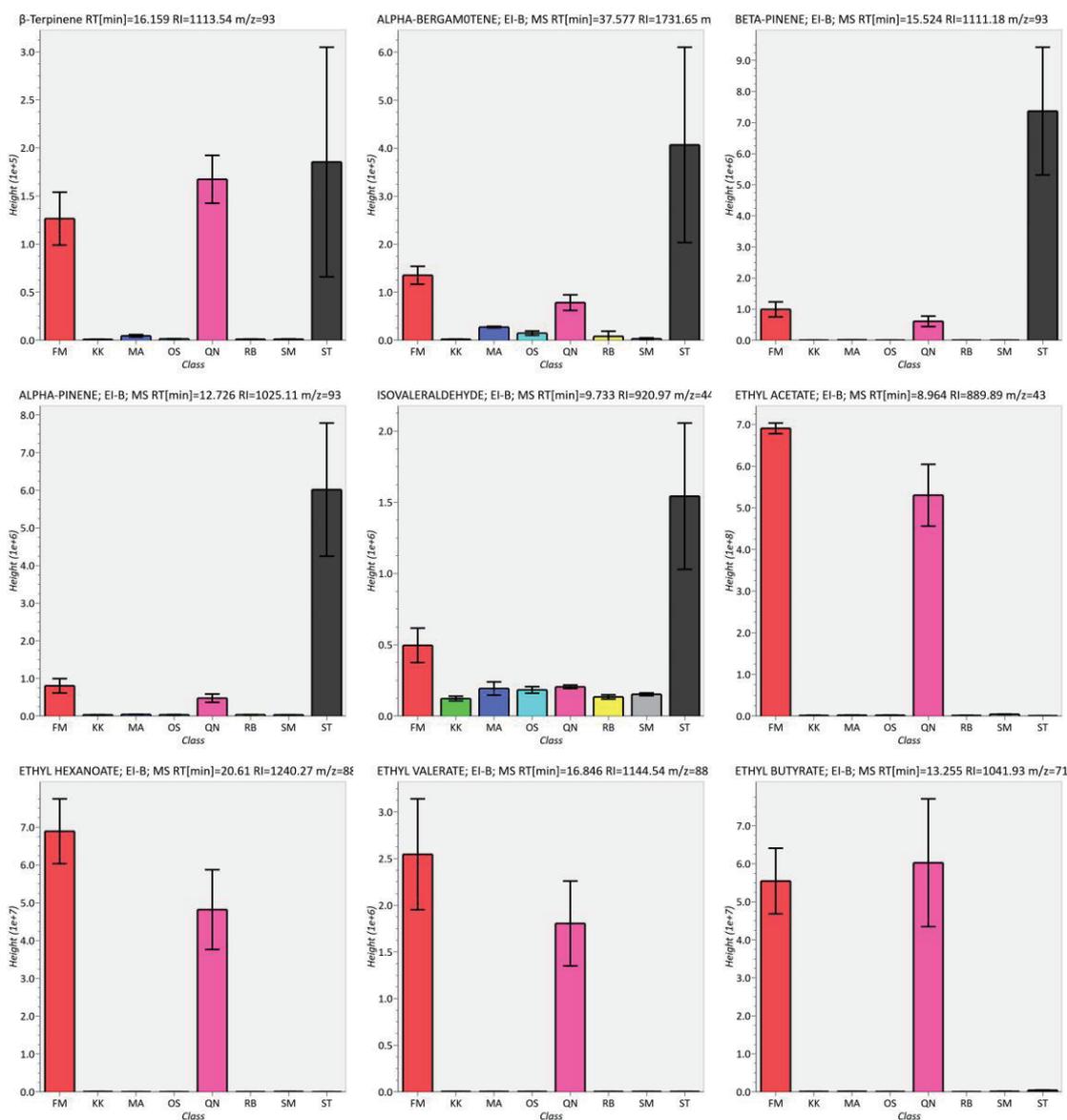


図7 フォクシー香の関連成分のピーク強度
 (上段) 左: β -Terpinene, 中央: α -Bergamotene, 右: β -Pinene
 (中段) 左: α -Pinene, 中央: Isovaleraldehyde, 右: Ethyl Acetate
 (下段) 左: Ethyl Hexanoate, 中央: Ethyl Valerate, 右: Ethyl Butyrate
 横軸: FM, KK, MA, OS, QN, RB, SM, ST, 縦軸: ピーク強度 (高さ)

もあるため、その点に関しては今後の課題である。

本研究では、GC/MSを用いてブドウの揮発性成分を対象にメタボローム解析を行い、品種特性に寄与する香気成分を探索した。網羅的な解析により、品種間の差異を可視化し、官能評価の回帰モデル予測を行うことで、客観的に評価することができた。この手法は、様々な食品にも応用が可能で、目的の製品の特徴(味・香り)について評価したり、他の製品と比較し何がどの程度違うのか、その特徴を明らかにしたりすることができる。また、官能評価や嗜好調査と組み合わせ、官能と成分の予測モデルを構築することで、消費者に好まれる商品群の特徴を明らかにしたり、味や香りの成分と特徴の関連づけに役立てたりすることも可能である。

文 献

- 1) 農林水産省大臣官房広報評価課広報室. 特集1 ぶどう. あふaf f, agriculture forestry fisheries. 2019, vol.50, no.5, p.8.
- 2) 農林水産省. 「平成30年農林水産物・食品の輸出実績(品目別)」.
http://www.maff.go.jp/j/shokusan/export/e_info/attach/pdf/zisseki-179.pdf. (参照: 2019年9月1日)
- 3) 山田昌彦ほか. ブドウ新品種「シャインマスカット」. 果樹研究所研究報告. 2008, vol.7, p.21-38.
- 4) Fiehn, O. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes. Plant molecular biology. 2002, vol.48, no.1-2, p.155-171.

- 5) Tsugawa, H.; Cajka, T.; Kind, T.; Ma, Y.; Higgins, B.; Ideda, K.; Kanazawa, M.; VanderGheynst, J.; Fiehn, O.; Arita, M. MS-DIAL: data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis. *Nature methods*. 2015, vol.12, no.6, p.523-531.
- 6) PRIME: Platform for RIKEN Metabolomics. <http://prime.psc.riken.jp/>. (参照：2019年1月17日)
- 7) Xia, J.; Wishart, DS. Web-based inference of biological patterns, functions and pathways from metabolomic data using MetaboAnalyst. *Nature protocols*. 2011, vol.6, no.6, p.743-760.
- 8) MetaboAnalyst 4.0. <https://www.metaboanalyst.ca/>. (参照：2019年9月1日)
- 9) 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*. 2011, vol.12, p.131.
- 10) Stevens, K.; Bomben, J.; Lee, A.; McFadden, W.H. Volatiles from Grapes. Muscat of Alexandria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996, vol.14, no.3, p.249-252.
- 11) Park, K.S.; Morrison, C.; Adamsand, D.O.; Noble, A.C. Distribution of free and glycosidically bound monoterpenes and mesocarp of Muscat of Alexandria grapes during development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1991, vol.39, no.3, p.514-518.
- 12) 平野健; 芝原律雄; 朝岡克拓; 岡本五郎. ブドウ'マスカット・オブ・アレキサンドリア'果汁の成熟中におけるモノテルペンの変化. *園芸学会雑誌*. 1998, vol.67, no.6, p.907-911.
- 13) Okamoto, G.; Liao, K.; Fushimi, T.; Hirano, K. Aromatic Substances evolved from the Whole Berry, Skin and Flesh of Muscat of Alexandria Grapes. *Scientific Reports of the Faculty of Agriculture Okayama University*. 2001, vol.90, p.21-25.
- 14) Stern, D.J.; Lee, A.; Mcfadden W.H.; Stevens, K.L. Volatiles from grapes. Identification of volatiles from Concord essence. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1967, vol.15, no.6, p.1100-1103.
- 15) Nelson, R.R.; Acree, T.E.; Lee, C.Y.; Butts, R.M. Methyl anthranilate as an aroma constituent of American wine. *Journal of Food Science*. 1978, vol.42, no.1, p.57-59.
- 16) Matsumoto, H.; Ikoma, Y. Effect of postharvest temperature on the muscat flavor and aroma volatile content in the berries of 'Shine Muscat' (*Vitis labruscana* Bailey x *V.vinifera* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 2016, vol.112, no.2, p.256-265.
- 17) Eriksson, L.; Byrne, T.; Johansson, E.; Trygg, J.; Vikstrom, C. Multi- and megavariate data analysis, basic principles and applications. 3rd ed. UMETRICS ACADEMY. 2013, p.89-115.
- 18) Wilson, B.; Strauss, CR.; Williams, PJ. The Distribution of Free and Glycosidically-Bound Monoterpenes Among Skin, Juice, and Pulp Fractions of Some White Grape Varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1986, vol.37, no.2, p.107-111.
- 19) Wilson, B.; Strauss, CR.; Williams, PJ. Changes in free and glycosidically bound monoterpenes in developing muscat grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1984, vol.32, no.4, p.919-924.
- 20) Ribereau, GP.; Boidron, JN.; Terrier, A. Aroma of Muscat grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1975, vol.23, no.6, p.1042-1047.
- 21) Williams, PJ.; Strauss, CR.; Wilson, B. Classification of the Monoterpenoid Composition of Muscat Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1981, vol.32, no.3, p.230-235.
- 22) 平野健; 安原正幸; 岡本五郎. 生食用ブドウの香り成分について. *岡山大学農学部学術報告*. 1994, vol.83, p.1-7.
- 23) 畑中顯和. 青葉アルコールをめぐる(1). *化学と生物*. 1976, vol.14, no.12, p. 788-793.
- 24) 有手友嗣; 石崎佳奈; 伊達彩香; 松田賢一; 笹木哲也; 三輪章志. ブドウ 'ルビーロマン' の糖, 有機酸および揮発性成分の分析. *石川県農林総合研究センター農業試験場研究報告*. 2015, vol.31, p.17-27.
- 25) 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. *Journal of bioscience and bioengineering*. 2012, vol.114, no.2, p.170-175.
- 26) Yamamoto, S.; Shiga, K.; Kodama, Y.; Imamura, M.; Uchida, R.; Obata, A.; Bamba, T.; Fukusaki, E. Analysis of the correlation between dipeptides and taste differences among soy sauces by using metabolomics-based component profiling. *Journal of bioscience and bioengineering*. 2014, vol.118, no. 1, p.56-63.