

(前文)

独立行政法人酒類総合研究所は、研究開発に関して外部有識者による評価及び助言を求め、業務運営に反映させることを目的とする「研究開発評価委員会」を設置しています。当該委員会は、当研究所研究開発評価委員会運営要領（指針）に基づき、「国の研究開発評価に関する大綱的指針」（平成 28 年 12 月 21 日内閣総理大臣決定）に沿った事前評価、中間評価、事後評価等を行うこととされています。

この度、研究開発評価委員会は、平成 28 年度から実施している第 4 期中期目標期間の研究課題の内、全 5 課題の実績について見込評価を実施し、また、酒類総合研究所が自己評価を行う際の参考とするため各研究課題の年度評価及び助言を実施いたしました。下記のとおり、その報告書を公表いたします。

## 記

### 1 開催日及び場所

令和 2 年 6 月 12 日（金）に独立行政法人酒類総合研究所で委員会を開催予定としていたが、新型コロナウイルス感染症の感染拡大防止のため、開催を中止し、書面審査による評価を実施した（令和 2 年 5 月 18 日（月）～6 月 24 日（水））。

### 2 委員

会長 太田明德

委員 飯島信司、奥田 徹、熊谷日登美、須藤茂俊、塚本芳昭、平田 大

（敬称略、五十音順）

（注）委員には、酒類に関する研究等に関して高い見識をお持ちの方が就任されています。

## <見込評価>

### 課題名：適正課税及び適正表示の確保に関する研究

#### 1 実施者

岩下和裕、福田 央、藤井 力、山田 修、向井 伸彦、奥田将生、小山和哉、清水秀明、織田 健、赤松史一、矢澤 彌、小林拓嗣

#### 2 中期計画記載内容

法令等で定められている酒類の原材料表示、地理的表示等の表示の適正性の確保に資するため、酒類原料、醸造微生物及び製造工程が酒類成分に及ぼす影響について各種分析を行い判別手法等の開発・高度化及び分析・鑑定の理論的裏付けとなる研究・調査等を実施する。

#### 3 研究概要及び目的

法令等で定められている酒類の原材料表示、地理的表示等の表示の適正性の確保に資するため、酒類原料、醸造微生物及び製造工程が酒類成分に及ぼす影響について各種分析を行い判別手法等の開発・高度化及び分析・鑑定の理論的裏付けとなる研究・調査を実施する。

米やブドウ等の原料の生元素の安定同位体比の分布、醸造による原料に含まれる生元素の安定同位体比の変化等を明らかにすることにより、安定同位体比分析による酒類原料判別に取り組み、酒類の適正表示に貢献する。

原料米、醸造微生物及び製造工程と酒類成分との関連について解析を行うとともに、酒類成分に基づいた表示の適正性についての検討を行い、酒類の適正表示に貢献する。

無機成分及び安定同位体比等の分析を行い、産地による特徴を把握するとともに、産地判別の可能性について検討を行い、酒類の適正表示に貢献する。

#### 4 主な研究成果及び知見

(酒類原材料判別技術の高度化に関する研究)

##### ・ワインの産地等による成分の特徴把握に関する研究

果実酒等の製法品質表示基準の制定を受け、安定同位体比及び無機成分分析を用いて日本ワインの成分的特徴を把握するとともに、産地判別の可能性について検討を行った。市販ワイン 214 点（日本ワイン 82 点、輸入ワイン 99 点及びその他の国内製造ワイン 33 点）に含まれる水分子の酸素安定同位体比（ $\delta^{18}O$ ）及び無機成分濃度（18 元素）を分析した。 $\delta^{18}O$  値による線形判別分析の判別精度は 88%、無機成分 18 元素濃度による判別精度は 88% を示し、この 2 つを組み合わせた 19 要素による判別精度は 93% に向上した。市販日本ワインの代わりに、研究所で醸造の日本ワイン 33 点を用いて解析した結果、同様の傾向が示され、結果の妥当性が確認された。一方、国内の主要産地間の  $\delta^{18}O$  値と無機成分 18 元素濃度の差異は小さく、本手法による日本国内の産地判別は困難と示唆された。

さらに、ワインの  $\delta^{18}O$  値及び無機成分 18 元素濃度は品種、収穫年、製造方法等の影響を受けるため、変動要因の程度を検討した。

ワインの  $\delta^{18}O$  値については、補糖と補酸による影響は小さく、原料ブドウ果汁とワインの水分子の  $\delta^{18}O$  値が高い相関を示し、原料ブドウ果汁の  $\delta^{18}O$  値からワインの  $\delta^{18}O$  値が推定可

能である。ブドウ果汁の水分子の $\delta^{18}\text{O}$ 値は収穫時期による差異があり、産地ごとに原料ブドウの $\delta^{18}\text{O}$ 値の変動要因を考慮する必要性が示唆された。

無機成分については、日本固有品種と欧州系品種でカルシウムなどが有意に異なる、滓下げ剤使用でナトリウム濃度が4倍になることを明らかにしたが、これらの影響は小さく、18元素濃度組成の主要因は収穫地の違いによると示唆された。

#### ・酒類の原材料判別に関する研究

ワイン中のエタノールの炭素安定同位体比 ( $\delta^{13}\text{C}$ ) は補糖量に応じて変化し、原料ブドウ果汁の糖類の $\delta^{13}\text{C}$ 値よりも常に一定の低い値を示すことを明らかにし、両者の高い相関を明らかにした。糖類とエタノールの $\delta^{13}\text{C}$ 値の差から、原料ブドウ果汁の糖類の $\delta^{13}\text{C}$ 値が推定でき、補糖量推定の可能性が示唆された。

清酒では、グルコースの $\delta^{13}\text{C}$ 値を少量の試料で正確に分析する技術を開発した。清酒を凍結乾燥した総不揮発性成分（エキス分）とグルコースの $\delta^{13}\text{C}$ 値が高い相関を示し、エキス分の炭素安定同位体分析により、純米酒におけるサトウキビ等の $\text{C}_4$ 植物由来の糖添加量推定が可能と裏付けた。

#### （酒類成分と製造方法との関連に関する研究）

これまでに、UPLC-Q/TOF-MS を用い、清酒、ビール、ワインの多成分の一斉分析に対応可能な醸造酒メタボライト分析法を開発し、清酒の製造条件が製成酒の成分に及ぼす影響を検討した。麴米と掛米の原料米品種（酒造好適米・山田錦／一般米・日本晴）、精米歩合、使用酵母（K701／K1801）を変えた小仕込み試験で得た製成酒のメタボローム解析の結果、未同定マーカを含む多くのマーカ（成分）が複数の製造条件の影響を受け、単独の製造条件に強い影響を受けるマーカは非常に少なく、製造条件の組合せで相乗的な影響を受けるマーカも認められるなど、清酒メタボロームへの複数の製造条件の組合せの影響を評価した。

精米歩合の予測については、小仕込み製成酒や市販清酒の解析で得た知見を基に、清酒成分から精米歩合の予測モデル作成を検討し、誤差5-10%程度の精度の高い予測式を作成した。市販清酒による検証の結果、一定の範囲で精米歩合を予測可能であり、マーカの最適化によって、より堅牢な予測式を作成した。さらに、精米歩合推定に白米形状の影響が示唆されたため、形状の異なる白米で小仕込み試験を行い、超高精白米でやや高く、原形・扁平白米では非常に低く予想されることを明らかにした。

#### （産地による酒類成分の特徴把握に関する研究）

##### ・清酒の産地等による成分の特徴把握に関する研究

清酒の無機成分や安定同位体比に着目して、仕込み試験を行い、ケイ素、ストロンチウム、酸素安定同位体比 ( $\delta^{18}\text{O}$  値) は仕込水、カルシウム、マグネシウム、ナトリウムは米と仕込水の双方の影響が大きいことを明らかにした。

次に、海外産及び国産清酒を分析し、無機成分8元素で有意差が認められ、ケイ素が国産で顕著に高いことを見いだした。18元素を用いた判別分析によって、87%の精度で国産と海外産が判別可能であった。日本は火山国でケイ素を多く含む地質が水に影響し、海外と比べ、日本の水はケイ素濃度が高いとされており、地質学的な裏付けのある日本酒成分を見いだし

たと言える。

海外産と国産清酒で $\delta^{18}O$ 値の有意な差異は認められなかったが、日本列島における地表水及び浅層地下水、世界の降水同位体比の地理的分布に一致する傾向があった。この結果は国産清酒についての以前の報告と一致し、 $\delta^{18}O$ 値は清酒の産地を反映する有力指標であることが明らかになった。

今後、これらの水の影響に関する成果を活用し、国内産地の特徴を明らかにする予定である。また、令和元年度補正予算関連（1(3)口参照）では、仕込水が清酒品質に及ぼす影響を検討する。

## 5 評価結果

### ・必要性

きわめて高くなっている 高くなっている 計画開始時と特段の変化はない

低くなった 必要ではなかった

### ・効率性

高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・進捗状況・達成度（アウトプット）

高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・有効性（アウトカム）

高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・総合評価

目標を十分に達成できた

目標を概ね達成できた

目標の達成が必ずしも十分でなかった

目標の達成が不十分であった

## 6 総合所見

酒類の適正課税及び適正表示の確保を目的とした研究課題であり、酒類行政において重要であり、地理的表示制度による「日本酒」の指定や「日本ワイン」の定義等を定めた果実酒等の製法品質表示基準の制定により、本課題の必要性は高まっている。

本課題では、日本ワインと海外のワインの元素分析と同位体比分析による判別方法を開発し、原料ブドウや品種や収穫年、補酸や補糖の影響などについて検討した。酒類のメタボローム解析技術により、清酒と原料米品種や製造方法、使用酵母と清酒成分との関連について基盤的知見を得るとともに、清酒成分からの原料米の精米歩合の予測方法の開発を行った。また、無機成分や安定同位体比による日本産と海外産清酒の判別に取り組み、無機成分により87%の精度で判別可能であることを示した。また、火山国日本では水がケイ素を多く含んでおり、その地質学的特徴のため、日本産清酒はケイ素濃度が顕著に高いことを示した。

総じて進捗・達成度は概ね妥当な範囲にあり、今後、さらに高精度な判別法確立に向けた基盤的知見が得られるなど有効性は高く評価でき、目標を概ね達成できたと認められる。

## 課題名：酒類の品質及び安全性に関する研究

### 1 実施者

向井伸彦、山田 修、岩下和裕、赤尾 健、日下一尊、水谷 治、高橋正之、織田 健、矢澤 彌、齊藤亮太

### 2 中期計画記載内容

酒類の安全性を確保するため、酒類の微生物汚染に関するリスクの把握及びリスク管理方法の開発並びに酒類中に含まれる可能性のある有害物質の検出法の確立、実態把握及び低減化に関する研究を実施し、第4期中期目標期間中に研究成果等を定期的に国税庁へ情報提供するとともに、消費者等への情報を発信する。

なお、新たに酒類の安全性に関わる重大な問題が明らかになった場合は、優先して取り組む。

### 3 研究概要及び目的

酒類の安全性を確保するため、酒類の微生物汚染に関するリスクの把握及びリスク管理方法の開発並びに酒類中に含まれる可能性のある有害物質の検出法の確立、実態把握及び低減化に関する研究・調査を実施する。

微生物汚染の現状を把握するとともに、リスクについて解析を行い、酒類の品質及び安全性の確保に貢献する。

ゲノム解析の結果、麴菌には多数の2次代謝産物を生産する可能性が示唆されていることから、2次代謝産物に関する情報を収集するとともに、酒類の安全性確保の観点からの研究・調査を実施する。

酒類中に含まれる可能性のある有害物質について、実態把握を行うとともに、その低減方法を開発することにより、酒類の品質及び安全性の確保に貢献する。

### 4 主な研究成果及び知見

(酒類中に存在する汚染微生物の管理に関する研究)

酒類の安全性確保のため、酒類中で検出報告があり、安全性を損なう可能性のある微生物に関して検討した。

清酒で検出事例がある食中毒原因細菌である芽胞形成菌 *Bacillus cereus* について解析し、清酒製造工程及び清酒中で生育せず、毒素生産しないことを示した。また、市販清酒 162 点で *B. cereus* の生菌数が他食品と比較して極めて低く、毒素セレウリドは全て定量下限未満であることを明らかにし、清酒において *B. cereus* の食品安全上のリスクが極めて低いことを示した。本研究による成果を活用し、業界団体における HACCP の制度化に伴う手引書の策定等に貢献した。

ワイン等で乳酸菌汚染が生体アミンであるヒスタミンなどを産出することが知られていることから、汚染乳酸菌の早期検出について検討した。酒類中で汚染乳酸菌が生育する際の遺伝子発現を検討して、種々のストレス環境下で変動を受けるいくつかの遺伝子を抽出し、生育ステージ及びアルコール度数や pH などストレスによる影響を検討した。その結果、特定の

遺伝子（転写因子等）と内在性コントロール遺伝子の発現量比を生育初期と生存後期で比較した場合、一定の傾向がみられ、それらから、汚染乳酸菌の酒類中での生育ステージ予測の可能性が示唆された。

平成 28 年度から 4 年間、全国地ビール品質審査会（全国地ビール醸造者協議会主催）の出品酒 382 点の成分分析及び微生物検査を実施し、地ビールに混入する微生物データを収集した。その結果、各年とも汚染微生物が検出され、菌数の多い出品酒は 1 割以下であり、乳酸及び酢酸含有量が高い傾向にあった。酒類の品質・安全性確保の観点から、引き続き、成分分析及び微生物検査を実施する。

（麴菌の二次代謝産物生産性に関する研究）

・黄麴菌の二次代謝物について

黄麴菌で新規に生産報告があった 14-deacetyl astellolide A (14-DAA) と 14-deacetyl astellolide B (14-DAB) について、醸造条件(米麴)での生産性を検証し、黄麴菌 13 系統代表株のうち 9 株で生産性が確認された。しかし、14-DAA、14-DAB の健康への悪影響等は報告されておらず、最も多く生産する株及び生産条件でも、生産量は生理活性が見られるレベルに至らなかった。さらに、市販清酒 32 点を分析したが、両化合物は検出されなかった。

上記のように、新たな二次代謝産物が報告された場合、標準品を入手し、個々に生産性を検討する必要がある、迅速な対応が困難であった。そこで、黄麴菌 13 系統代表株の全ゲノムシーケンス、米麴や合成培地など多様な培養条件における二次代謝物プロファイルを取得した。これにより、新たな二次代謝物質が報告された場合、精密質量の検索で生産性の検討が可能であり、遺伝子クラスターの有無を確認できる。このデータを用い、黄麴菌 13 系統代表株で農林水産省が優先的にリスク管理を定めるカビ毒 16 種類の生産性を検証し、二次代謝遺伝子クラスターの解析では該当するクラスターは認められず、標準品データ取得可能な 14 のカビ毒はどの培養条件においても生産が認められなかった。今後、農林水産省がリスク管理を進めるカビ毒の生産性について、検討予定である。

また、令和元年度補正予算関連では、世界各地で取得された麴菌群と *A. flavus* 群など Flavi 節の菌株 200 株のゲノムシーケンスを行い、進化系統解析を行う予定である。

・麴菌のゲノム編集技術について

毒性のある二次代謝物質が確認された場合、より自然突然変異に近い手法で当該遺伝子群を除くことが望ましい。そこで、実用麴菌株を用い、Cas9 複合体直接導入<sup>\*1</sup>によるゲノム編集技術を確立し、適用性を確認した。さらに、麴菌の有用二次代謝系を対象に遺伝子マーカーをノックインするゲノム編集法、遺伝子マーカーとターゲット遺伝子を同時に編集する共ゲノム編集法を開発し、ポジティブセレクションが出来ない遺伝子のゲノム編集を可能とした。また、小規模領域欠失などのゲノム編集の技術的基盤を構築し、二次代謝クラスターの大規模領域欠失を実証した。

今後、開発した技術を活用し、制御可能なプロモーターのノックインにより、有用二次代謝産物の生産系構築を図る。また、エレクトロポレーター<sup>\*3</sup>の導入条件検討により、Cas9 や sgRNA 量を減少させ、ゲノム編集効率を高める検討を行う。ゲノム編集株及び一代継代株の全ゲノム比較解析を行って、オフターゲット<sup>\*4</sup>頻度を検討し、直接導入法によるゲノム編集

の精度を検討する。

\*1 本法で実施の場合、変異導入後の株内に sgRNA の配列が認められなければ、カルタヘナ法の適用外、つまり遺伝子組み換え体の扱いから除外される。

\*2 電気パルスで細胞膜に孔をあけ物質を導入する遺伝子導入装置。

\*3 目的とする部位以外に変異が導入されること。

## 5 評価結果

### ・必要性

きわめて高くなっている 高くなっている 計画開始時と特段の変化はない

低くなった 必要ではなかった

### ・効率性

高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・進捗状況・達成度（アウトプット）

高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・有効性（アウトカム）

高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・総合評価

目標を十分に達成できた

目標を概ね達成できた

目標の達成が必ずしも十分でなかった

目標の達成が不十分であった

## 6 総合所見

酒類の品質及び安全性の確保に関する研究は、「酒類業の健全な発達」の実現のために必要であり、酒類総合研究所が取り組むべき課題である。

清酒中の汚染微生物となり得る *Bacillus cereus* について、製品の安全性に与える影響は無視できるレベルであることを科学的に明らかにし、リスクの把握を行うとともにリスク管理方法、早期検出方法の開発につながる重要な知見を得た。麴菌の二次代謝物生産性のゲノム配列及び代謝物精密質量による検討に取り組み、麴菌の安全性の迅速評価体制を整えた。麴菌のゲノム編集育種の基盤構築を図り、将来の実用に繋がるゲノム編集技術開発を実施した。

総じて進捗・達成度は概ね妥当な範囲にあり、得た成果の酒類及び産業界に対する有効性は高く評価でき、目標を概ね達成できたと認められる。

## 課題名：酒類に関する技術力の維持強化に関する研究

### 1 実施者

福田 央、山田 修、藤井 力、岩下和裕、向井伸彦、赤尾 健、磯谷敦子、奥田将生、伊豆英恵、正木和夫、小山和哉、清水秀明、高橋 圭、織田 健、金井宗良、水谷 治、西堀奈穂子、飯塚幸子、五島徹也、冨本和也、岸本 徹

### 2 中期計画記載内容

特徴ある製品開発等に向けての技術力の強化を支援するため、酒類及び酒類原料の各種成分並びに特性の解析技術の高度化、各種醸造用微生物及び原料の特性の把握、特徴的な醸造用微生物の育種等を行い、その成果を広く普及するとともに、酒類製造者による活用を目指す。また、要望に応じ、醸造微生物の保存を実施する。

### 3 研究概要及び目的

特徴ある製品開発等に向けての技術力の強化を支援するため、酒類及び酒類原料の各種成分並びに特性の解析技術の高度化、各種醸造用微生物及び原料の特性の把握、特徴的な醸造用微生物の育種等についての研究・調査を実施する。

清酒揮発成分のデータベースを構築するとともに成分と官能特性のひも付けを行い、品質評価を補助するような分析技術の開発をめざす。

酒類の品質向上や特性把握のためには醸造微生物や醸造技術とともに原料からのアプローチも不可欠であるとともに、醸造用原料植物の育種や栽培技術の向上には、醸造適性の解析を踏まえた醸造サイドからの研究が必要不可欠である。酵母、麹菌などの醸造用微生物とともに、醸造原料に関する基盤的研究・調査を実施することにより、技術力の維持強化に貢献する。

酒類及び醸造副産物の機能性を明らかにし、有効利用や付加価値向上に必要な情報を提供することにより、酒類産業の活性化に貢献する。

### 4 主な研究成果及び知見

(清酒揮発性成分の解析に関する研究)

#### ・チオール化合物に関する研究

清酒に含まれるチオール系香気成分 4-mercapto-4-methylpentan-2-one (4MMP) がマスカット様、ライチ様、柑橘様と表現される果実様の香りに寄与することを明らかにした。これらの香り特性が指摘された全国新酒鑑評会出品酒の 4MMP 含量は清酒における検知閾値 (1.2 ng/L) よりも高く、一部の吟醸酒の香気特性への寄与が示された。また、4MMP 添加清酒の官能評価試験から、4MMP がカプロン酸エチルや酢酸イソアミルの香りと異なる果実様の香りに寄与するが、濃度が高過ぎると硫黄系の香りが増強されて総合評価が下がることがわかった。4MMP を生成しやすい醸造条件を調べるため、小仕込み試験や酒造会社の協力を得た実地醸造試験を実施し、ブドウ様香気の特徴とする良好な酒質の清酒醸造に成功した。また、4MMP 定量方法の効率化に取り組み、Twister 法または MonoTrap 法で前処理後、GC/MS/MS を用いて 10 ng/L 程度まで定量できる可能性が示された。今後、引き続き 4MMP 生成条件を実地醸造規

模で解析し、簡易分析法開発を目指す。

- ・ オフフレーバーに関する成分の解析

最近、開発された Solvent Assisted SBSE (SA-SBSE) 法を清酒に適用し、知見の少なかったホモフラネオール、メチオナル、短鎖脂肪酸等の極性香気成分の分析を可能とした。本法を用いた鑑評会出品酒の分析及び閾値調査から、メチオナルが酵母様・粕臭の寄与成分の一つであることを明らかにした。メチオナルの生成条件を検討し、麴歩合、もろみ日数、もろみ温度が大きく影響を及ぼすこと、比較的低温での貯蔵においても増加することが示された。さらに、火入れ時期を変えた貯蔵試験の結果、メチオナルの生成に化学反応、酵素反応の両方の関与が示唆された。また、甘臭に関与するホモフラネオールの生成機構を検討し、醤油で報告されているメイラード反応生成物を前駆体とする経路と異なり、ペントースリン酸経路を経て生成することが示唆された。

(醸造原料に関する研究)

- ・ 清酒の醸造工程や品質に影響を及ぼす原料米タンパク質の解析

原料米タンパク質のうちグルテリンは、清酒醸造工程及び清酒品質への影響が大きいと考えられていることから、精米歩合や米品種とグルテリンの関連性について解析した。グルテリンは複数の遺伝子にコードされるが、グルテリンタンパク質は遺伝子により米粒胚乳内分布が異なり、精米によりタンパク質量が減少するだけではなく、残存するグルテリンの質(分子種)が異なることを明らかにした。さらに、原料米のグルテリン等のタンパク質量とイネ登熟中の気温が正の相関を示し、米品種ごとにその程度が異なることが示唆された他、米粒中心部では気象よりも米品種の影響が強く顕われることが分かり、精米によるタンパク質低減効果が米品種によって異なることを明らかにした。

- ・ 清酒の醸造工程や品質に影響を及ぼす無機成分及びデンプンの解析

清酒の醸造工程や品質に影響を及ぼす無機成分については、仕込水に関する報告が多い。洗米時の掛け流しによる原料米のカリウム濃度減少で発酵遅延が生じるが、原料米の栽培管理や発酵管理における無機元素濃度の指標は明らかにされていない。無機成分濃度が異なる原料米で小仕込み試験等を行い、20 元素がもろみ初期の発酵速度や製成酒の香気成分に及ぼす影響を調べた結果、発酵速度や酢酸エチル、イソアミルアルコール等の香気成分に対し、原料米のカリウムは低濃度になると大きく影響するが、平均的濃度では影響が少なく、リン及びマグネシウムの影響が大きいと示唆された。

デンプンは分子構造が老化特性を左右し、清酒の原料利用率に影響するが、製造工程における原料米のデンプンの老化の影響は不明点が多い。今後、製造工程で重要とされる蒸米吸水率における老化の影響を明らかにする予定である。

- ・ ビール醸造技術に関する研究

ビール醸造技術に関し、令和元年度途中より新たな検討を開始した(年度計画外)。79 種類のホップ品種を等量の $\alpha$ 酸量で冷麦汁に添加し、ビールを 1L スケールで製造した。品種でホップペレットの添加量が異なるが、添加量が多いほど、発酵後の外観エキス(Brix 値)が

低く、ホップの糖分解酵素の寄与が推測された。ビールを SBSE-GC-MS 法で分析して、ホップ由来化合物 127 種を同定し、主成分分析により、主成分 PC1、PC2、PC3 で大きく 5 方向に分離できた。方向 I にゲラニオールなど柑橘香に寄与するテルペンアルコール、方向 II にホップ香気強度の指標となるリナロールなどの親水性化合物、方向 III にスパイシーな香りに寄与するセスキテルペンアルコール、方向 IV にミルセンなどの疎水性モノテルペン群、方向 V にカリオフィレンなどの疎水性セスキテルペン群が寄与した。今後、ホップ由来のエステル類、チオール類、アルデヒド類の寄与を解析し、ホップ由来化合物と官能評価との相関を検討する。

(醸造用酵母に関する研究)

#### ・酵母のゲノム解析

蔵付き清酒酵母、地方公設試験研究機関所有の清酒及び焼酎酵母等、合計 179 点のゲノム配列を取得し、分子系統解析、比較ゲノム解析、変異分布解析、染色体異数性解析等を行った。分子系統解析から、清酒醸造環境から独自性のある清酒酵母菌株を新たに分離でき、自然界由来菌株は清酒酵母群と遺伝的に遠い傾向にあると示唆された。

現在公開中のきょうかい7号 (K7) のゲノム情報は配列決定当時の技術的限界から、ゲノム全長の 1% 程度の配列情報が欠落している。ゲノム配列を完全にするため、ロングリード型ゲノムシーケンサーで再解析し、完全長染色体構造の再構築及び機械的な遺伝子領域決定と機能のアノテーション (注釈付け) を行った。今後、完全版の公開に向け、検証及び作業を進める。

#### ・きょうかい清酒酵母のゲノム及び染色体の多型に関する研究

代表的清酒酵母菌株 K6、K7、K9、K10 は遺伝的に近縁である。これらの派生株とみられる酒蔵保存菌株等について、簡易で高精度の系統判別法を検討した。電気泳動による染色体の泳動パターン (核型) による判別を検討したが、核型は比較的变化しやすく、これによる判別は困難であった。ゲノム解析結果を活用し、各系統の遺伝的多型も考慮し、DNA の 1 塩基レベルの多型を利用した DNA マーカー (SNP マーカー) による判別を検討した。その結果、判別に利用可能な SNP マーカー候補を複数見いだした。引き続き、判別精度・汎用性・堅牢性の向上を図る。

二倍体酵母からの一倍体<sup>\*1</sup>取得は交配育種や遺伝解析に必須だが、K7 や近縁清酒酵母からの一倍体取得効率は極めて低い。ランダム胞子法で取得した K7 一倍体ライブラリー 80 株のうち 76 菌株で異数性<sup>\*2</sup>が観察され、減数分裂時の染色体分配異常が示唆された。K7 一倍体ライブラリーは交配育種<sup>\*3</sup>への利用が期待できるが、異数性は染色体レベルの大規模な遺伝子のコピー数の増減変異であり、各種特性への影響が無視できない。異数性を有する一倍体同士<sup>\*4</sup>の接合を調べ、異数性の変化 (獲得または喪失) を見だし、一部では培養や保存中の異数性の変化も示唆された。

一方、きょうかい清酒酵母のゲノム解析結果から、減数分裂異常と別に、低くない頻度で染色体の異数性を有すると示唆された。出現頻度や原因は不明だが、菌株の保存管理で考慮すべき要因と考えられた。

<sup>\*1</sup> 酵母の減数分裂とそれに続く胞子形成で得られる細胞で、雌雄に相当する MAT  $\alpha$  型と

MATa 型がある。

- \*2 通常の細胞は正倍数性であり各染色体数の本数が揃っているが、異数性の細胞では、一部の染色体の本数が他と揃っていない。
- \*3 MAT $\alpha$ 型と MATa 型の 2 つの一倍体細胞を掛け合わせ、新しい菌株を育成する方法。
- \*4 交配のため、MAT $\alpha$ 型と MATa 型の 2 つの一倍体細胞を融合させること。

#### ・醸造用酵母の育種・利用に関する研究

染色体高次構造は遺伝子発現を制御する。染色体高次構造に関連するヒストン脱アセチル化酵素 (HDA) 遺伝子群の清酒醸造特性への影響を検討し、HDA1 破壊株でアセチル基転移性を介した酢酸イソアミル、RPD3 破壊株で分岐鎖アミノ酸と酢酸イソアミルの生成向上が見られた。

醸造用酵母は各用途に適した菌株が実用化されているが、酒質多様性の観点から異なる用途への転用への関心が高い。清酒及びワイン酵母 68 株で焼酎小仕込み試験を行い、揮発性成分の特徴を有する焼酎製造に有用な 18 株を選定した。

各種育種方法で取得した酵母菌株は目的以外の形質が変化する可能性があるため、製成酒等の代謝産物全体の動態を把握できる醸造酒メタボローム分析法を用いた効率的な選抜方法と条件を検討した。清酒製造工程で分析し、清酒酵母菌株間でも、各種成分に顕著な差異が認められた。実際にオフ・フレーバー低減候補株を取得し、今後、清酒製造実証試験を行う。

K1801 号酵母は CDC55 遺伝子変異により、細胞周期のチェックポイント機能異常を有することを明らかにした。遺伝的多様性が生じやすく、菌株管理上、留意する必要があるため、効率的なタイピング法で CDC55 遺伝子変異が正常に戻った菌株(復帰変異体)を複数取得した。今後、当該菌株の実用化も視野に醸造試験等を検討する。

#### ・清酒酵母のアルコール耐性と発酵力の解析

これまでに未検討の清酒もろみ後期のエタノール耐性能について調べた。きょうかい清酒酵母はもろみ後期になるほどエタノール耐性が向上し、未知のエタノール耐性機構が活性化しており、RNA-seq による網羅的発現解析で寄与する候補遺伝子を見いだした。

K7 系酵母はアルコール等のストレス耐性に欠損があり、それが高発酵性の原因である。非 K7 系清酒酵母について、発酵性やストレス耐性に関与する遺伝子を探索し、転写因子をコードする SWI6 遺伝子に各菌株特有の一塩基多型 (SNP) があり、ストレス耐性獲得への寄与を明らかにした。

K6 から分離した高アルコール耐性変異株 (K6AT 株) について、比較ゲノム解析から、CDC55 遺伝子の原因変異を同定し、その遺伝子多型のアルコール耐性寄与を明らかにした。

なお、令和元年度補正予算関連では、酵母菌株と酒質等の関係性の解析を行い、清酒と焼酎を特徴付ける酵母の特性解明に活用する計画である。

#### (黒麹菌に関する研究)

黒麹菌有用形質解析の端緒として、主要転写因子破壊株ライブラリー116 株を作製し、今後、黒麹菌研究の基盤として研究所サイトで公開予定である。このライブラリーを活用して

酵素生産に重要な転写因子を絞り込み、その破壊株及び高発現株による製麴を行った結果、糖質関連酵素を制御する転写因子はクエン酸生産にも重要であることが明らかとなった。今後、この転写因子による発現誘導を定量的に評価する。

黒麴菌は一般にプロトプラスト化率が低く、育種や研究上のネックとなっているため、効率的なプロトプラスト化を目指し、研究所保存黒麴菌から実用レベルでプロトプラスト化が可能な菌株2株を見いだした。また、細胞壁  $\alpha$ -1,3-glucan 合成に関与する *agsE* 遺伝子破壊によるプロトプラスト化効率の促進が明らかになった。

黒麴菌の交配育種を可能とするため、これまで知られていない有性生殖の可能性を検討し、白麴菌やゲノム解析株（全て、MAT1-2 タイプ）のペアとなる MAT1-1 タイプの黒麴菌株を見いだした。菌株の組み合わせや培地条件を検討し、近縁種の有性生殖の際に形成される子嚢果と類似した菌核様構造体の形成を確認した。さらに、MAT1-1 株 10 株と MAT1-2 株 24 株の全ての組み合わせで対置培養を行ったところ、菌核様構造体が観察されたほか、無性生殖の分生子形成の低下や気中菌糸伸長など MAT1-1 株及び MAT1-2 株間における相互作用が観察された。また、特定の MAT1-1 株で菌核様構造体の形成効率の高いことを見出したが、有性生殖サイクルの確認には至っていない。

実用黒麴菌株の育種として、甘藷焼酎の特徴香生成に寄与するとされる  $\beta$ -グルコシダーゼ高活性株を、2-デオキシグルコース耐性を指標として取得した。その結果、本変異株は、生育が遅いものの麴重量当たりの糖質分解酵素力価が高いことを確認した。 $\beta$ -グルコシダーゼ高活性株取得法については、特許化を行った。

（酒類及び醸造副産物の機能性等に関する研究）

・ 清酒粕の機能性成分

清酒粕 109 点を分析し、*S*-アデノシルメチオニン（SAM）や葉酸、ポリアミンに加え、グリセロホスホコリン（GPC）、コリン、アグマチン、ビタミン B<sub>6</sub> 等の機能性成分の高含有を明らかにした。これらの蓄積機構や保存安定性、安定化機構、安定化法を検討し、低アルコール清酒から得た清酒粕のビタミン B<sub>6</sub> や GPC 高含有を明らかにした。また、ビタミン B<sub>6</sub> 高蓄積に酵母の代謝が、アグマチンやナイアシン高蓄積に麴と酵母の両方が重要であること、清酒粕中のナイアシンが室温で安定なことなどを示した。

・ 焼酎粕の栄養成分及び機能性成分

全国の焼酎製造者 30 者から収集した焼酎粕 54 点の栄養成分及び機能性成分の含有量を調査し、ビタミン類（葉酸、ビタミン B<sub>6</sub>）や機能性成分（SAM、ポリアミン）を比較的多く含むことを明らかにした。パイロットスケールの甘藷焼酎製造試験を実施して葉酸含量の推移を調べ、葉酸の大部分は甘藷及び酵母由来であることを明らかにした。また、葉酸は通常の保存条件で減少しやすいが、嫌気処理及び凍結乾燥で貯蔵中の 5-メチル THF（葉酸の一種）の減少が抑制されることを明らかにした。

・ 酒類及び酒類副産物の生体への影響

老化促進マウス SAMP8 を用い、清酒粕に含まれる機能性成分 SAM や GPC 及び清酒粕摂取の影響を調べ、学習記憶能力保持、抗不安作用、握力増加効果等の抗老化作用を示した。さら

に清酒粕摂取で脳や腓腹筋の分岐鎖アミノ酸の増加、腸内環境改善効果等を明らかにした。この他、内閣府の戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）に参画して清酒粕摂取のヒト試験を共同実施し、有用性を示唆する結果を得た。

清酒粕の機能性成分への乾熱または凍結乾燥等の加工方法の影響を検討し、ビタミン B<sub>6</sub>、コリン、レジスタントプロテイン等の含量に影響がないことを示す一方、成分によって、加工方法の影響があることを示した。

適量飲酒の J カーブ効果の検証のため、少量エタノール摂取の生体影響について検討し、1,2-ジメチルヒドラジン誘発大腸癌ラットにおける腺癌発生抑制、マウスにおける初期のアレルギー性鼻炎症状軽減が示唆された（共同研究）。

以上のように、本課題は清酒粕や焼酎粕の様々な機能性成分の含有と機能性、エタノールの生体影響を明らかにし、論文 11 報としてまとめたため、令和元年度で終了した。

## 5 評価結果

### ・必要性

- きわめて高くなっている 高くなっている 計画開始時と特段の変化はない  
低くなった 必要ではなかった

### ・効率性

- 高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・進捗状況・達成度（アウトプット）

- 高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・有効性（アウトカム）

- 高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・総合評価

- 目標を十分に達成できた  
目標を概ね達成できた  
目標の達成が必ずしも十分でなかった  
目標の達成が不十分であった

## 6 総合所見

酒類に関する技術力の維持強化については、産業基盤を発展させる観点から、基盤的知見の蓄積及び技術の創出が必要であり、本課題はこれに取り組んでいる。

清酒の香気成分については、新たな特徴香となるマスカット様の香気を示すチオール類や、甘臭、焦げ臭に関与する成分の解明が進展した。

醸造原料については、原料米のタンパク組成や米粒中での分布と品種間差異、無機イオンの醸造特性への効果を検討した他、ホップの種類によるビール香気成分について検討を進めた。

醸造用酵母に関する研究では、多数の菌株のゲノム解析を実施し、ゲノム構造解析、変異同定、菌株判別の DNA マーカー開発など、多くの基盤情報を蓄積した。

黒麹菌に関する研究では、形質転換技術に進展が見られ、有性生殖の可能性を検討すると

ともに、 $\beta$ -グルコシダーゼ高生産株を取得した。また、有用形質解析の端緒として転写因子破壊株ライブラリを作製した。

機能性に関する研究では、酒類あるいは清酒粕、焼酎粕に含まれる有用成分に関する知見を蓄積し、実験動物で効果を確認した。

技術力の維持強化の基盤となる成果が着実に得られており、本課題の有効性は高く評価でき、目標を概ね達成できたと認められる。

## 課題名：日本産酒類の輸出促進に関する研究

### 1 実施者

藤井 力、山田 修、向井伸彦、橋口知一、磯谷敦子、藤田晃子、金井宗良、西堀奈穂子、飯塚幸子、長船行雄

### 2 中期計画記載内容

輸出酒類の品質劣化の抑制を目的とした研究及びその成果の普及を実施する。

### 3 研究概要及び目的

日本産酒類の輸出促進のため、清酒の劣化臭制御に関する研究のほか、酒類の品質及び評価に関する研究・調査を実施する。

清酒の着色及び劣化臭を抑制することにより、清酒の品質向上を図るとともに、日本産酒類の輸出促進に貢献する。

酒類の品質に関与する成分に関するデータを幅広く解析し、その制御技術を開発することにより、酒類の品質及び製造技術の向上を図るとともに、日本産酒類の輸出促進に貢献する。

### 4 主な研究成果及び知見

(清酒の劣化臭制御に関する研究)

#### ・DMTS-P1 低生産性酵母の育種

老香前駆体 DMTS-P1 の低生産性変異株の育種に取り組み、清酒メーカーとの共同研究により突然変異株から DMTS-P1 生産性の低下した株を育種し、当該酵母を用いて新製品が発売された。また、本酵母と同じ変異を持つ酵母をセルフクロニング法により育種した。これらの育種株の醸造特性を検討し、貯蔵劣化防止に有用な菌株であることを検証した。突然変異による育種株については、実製造場における製造データの収集を目的に、日本醸造協会より試験販売を行った。今後は本酵母の普及に向けて、課題となる醸造特性を解析し、その対策に取り組む。このほか、吟醸酒用の老香前駆体低生産酵母を育種し、醸造特性等を検討した。本株についても今後頒布を目指す計画である。

#### ・金ナノ粒子吸着剤による老香除去

金ナノ粒子を利用した清酒の DMTS の除去技術の開発に九州大学と共同で取り組んだ。九大が開発した金ナノ粒子吸着剤により、カプロン酸エチルなどの吟醸香を減らすことなく、DMTS を選択的に除去できることを明らかにした。本吸着剤は焼酎の硫化物臭の除去にも有効であった。また、製造場での作業性の観点から、カラム等による流通式の処理方法を検討し、DMTS を除去できることを示した。今後も引き続き、本吸着剤の実用化に向けた検討に取り組む。

#### ・カビ臭をつくりにくい麹菌の育種

製麹工程で使用する木製用具等に存在する 2,4,6-トリクロロフェノール (TCP) が麹菌によりカビ臭成分 2,4,6-トリクロロアニソール (TCA) に変換されることが、清酒中のカビ臭の原因のひとつであることが明らかにされていることから、TCA 生成能の低い麹菌の育種を

試みた。紫外線で変異処理をした麴菌の分生子からのスクリーニング方法を検討し、TCA の生成量が低くなった麴菌株を取得した。TCP の TCA への変換には麴菌のメチル基転移酵素遺伝子のひとつ (omtT) が関与することが示唆されている。いくつかの取得株の omtT のゲノム塩基配列を解析し、親株と比較したところ、omtT に多数の変異がみられるものがあった。今後も引き続きスクリーニングを行い、より多くの取得株を解析し、取得方法を確立する。

(酒類の品質及び評価に関する研究)

・本格焼酎の品質及び評価

従来、焼酎の官能評価には、抽象的な表現が多く用いられてきたが、焼酎を海外に紹介するには、客観的で定量的な評価が望まれる。そこで、過去の文献や現在の鑑評会で使用されている焼酎の官能評価用語約 300 語 (重複を含む。) を収集し、調和、原料、麴・発酵等の各項目に分類・整理し、客観的・定量的な評価を目指した尺度評価による評価シートを試作した。試作した評価シートを用いて、審査員 8 人で焼酎 12 点の官能評価を行ったところ、各項目の評価の平均値は各焼酎の特徴を定量的に示していると考えられ、「甘味」、「後味・きれ」が「総合評価」との相関が比較的高いことが示された。

本格焼酎・泡盛の成分については、過去の閾値調査により、品質に関与する 22 成分が報告されているものの、香味を特徴付ける成分の解析は十分に進んでいない。そこで、本格焼酎・泡盛鑑評会出品酒等を用いた約 90 成分の平均含量等のデータや過去の報告を検討し、品質への寄与が期待される 32 成分について、検知閾値及び認知閾値の決定を行った。得られた検知閾値を基に、香気寄与度の指標である Odor activity value (濃度を閾値で割った値。以下、OAV という。) を求め、そのうち 27 成分が本格焼酎・泡盛の品質に寄与していることを明らかにした。併せて、各成分について参加者に香り特性を表す用語を表現してもらう特性把握試験を行い、対応する官能評価用語の抽出を行った。

本格焼酎・泡盛の香ばしさに寄与する成分として、新たに 2-furanmethanethiol (以下、2FM という。) を見出した。定量分析の結果、鑑評会出品酒の中には検知閾値を大きく上回る濃度で 2FM が含有されているものも存在した。

さらに、これまでに閾値調査等を実施した 33 成分に既に報告されている 22 成分を加えた 55 成分から、本格焼酎・泡盛の香気特性への寄与が明確で、香気特性が異なる 32 成分を選抜し、適切な濃度を検討して標準見本を設定した。標準見本を用いて、香気特性による分類試験を実施した結果、香気成分は 8 つのクラスターに大別されることを明らかにした。

今後、これらの結果を活用し、本格焼酎の特徴を海外にわかりやすく伝えることを目的にフレーバーホイールを作成し、その普及の開始に努める計画である。また、令和元年度補正予算関連 (1 (3) 口参照) では、世界の蒸留酒と比較して、焼酎等の国産蒸留酒にどのような強みがあるか解明するべく、本格焼酎や国産ジンに使用されている原料に特徴的な成分があるか探索を行う計画である。

・日本酒と食品の相性

酒と食品の組合せには相性の善し悪しや、美味しさの違いがあることが経験的に知られているが、その理由については科学的な研究が少なく、解明が望まれている。そこで、酒に相性がよいとされる食品としてうま味成分が豊富なチーズに清酒とワインを組み合わせた時の

うま味の後味の感じ方の違いとその要因について調べた。

味の数値化が可能な味覚センサーを用い、チーズ等の食品に清酒とワインを組み合わせた時の味の変化（うま味後味）を測定したところ、ワインより清酒の方が値が高くなった。この結果は、チーズにワインを合わせるとチーズの味がすっきりし、食べ飽きしないのに対し、清酒を合わせるとチーズそのものの味（うま味）がよくわかるという人間の感覚と一致した。この感じ方の違いには、ワインに多く含まれる酒石酸等の有機酸が食品に含まれるアミノ酸やペプチドのうま味後味を弱める効果が影響していることがわかった。

以上の結果から、清酒とワインの食品との組合せによる美味しさの違いを科学的にある程度裏付けることができた。なお、本研究は日本酒造組合中央会との共同研究として、平成26-29年度に実施した。

## 5 評価結果

### ・必要性

- きわめて高くなっている 高くなっている 計画開始時と特段の変化はない  
低くなった 必要ではなかった

### ・効率性

- 高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・進捗状況・達成度（アウトプット）

- 高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・有効性（アウトカム）

- 高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

### ・総合評価

- 目標を十分に達成できた  
目標を概ね達成できた  
目標の達成が必ずしも十分でなかった  
目標の達成が不十分であった

## 6 総合所見

日本産酒類の輸出促進に関する研究は、政府の経済成長戦略に関連する重要な課題である。

清酒の劣化臭制御に関する研究では、老香の主要成分 DMTS の前駆体低生産酵母を共同研究により育種し、実用性および劣化臭有効性を検証し、カプロン酸エチル高生産株の DMTS 前駆体低生産酵母を育種した。このほか、金ナノ粒子吸着剤を用いた DMTS 除去技術の開発に取り組んだ。カビ臭については、原因となる TCA 生成能の低下した麹菌の育種方法を開発し株を取得した。本格焼酎の官能評価体系の構築については、「香ばしさ」に寄与する成分を明らかにするとともに、本格焼酎・泡盛のフレーバーホイールの試作段階にある。

今後、広く活用が期待される成果が着実に得られており、本課題の有効性は高く評価でき、目標を十分に達成できたと認められる。

## 課題名：酒類に関する地域振興の推進に関する研究

### 1 実施者

福田 央、岩下和裕、向井伸彦、赤尾 健、奥田将生、小山和哉、清水秀明、金井宗良、高橋 圭、高橋正之、織田 健、五島徹也、富本和也、矢澤 彌、齋藤亮太

### 2 中期計画記載内容

地域の酒類原料及び醸造微生物の開発の支援、酒類及び酒類原料の地域特性に関する研究、日本ワインの品質向上に関する研究など地域ブランド確立に資する研究を実施し、地域の取組を支援する。

### 3 研究概要及び目的

地域の酒類原料及び醸造微生物の開発の支援、酒類及び酒類原料の地域特性に関する研究、日本ワインの品質向上に関する研究など地域ブランド確立に資する研究・調査を実施し、地域振興の推進に貢献する。

### 4 主な研究成果及び知見

(清酒及び焼酎原料の評価方法の開発及び各地域産原料の評価に関する研究)

#### ・清酒関係

清酒原料米の特性把握のため、平成 28 年～令和元年に 18 県で栽培された原料米 54 品種 262 点の醸造適性解析を行い、関係者に情報提供した。現在、地域特性の明確化や醸造適性データの有効活用に向け、相関解析や気象条件との関連を解析している。今後、原料米品質や産地等の清酒醸造への影響を検討する。その他、共同研究等により、玄米貯蔵による成分変化の影響解明や県開発・栽培米の酒造適性評価（10 県）を行った。

また、気象データから地域ごとの清酒原料米の醸造適性を予測し、酒造着手時期に情報提供した。酒造終了時の聞き取り調査により、概ね実際の酒質が的中したことを確認した。

アルカリ又は尿素崩壊性を利用した清酒原料米の簡易溶解性判定方法の開発では、目視判定による定量性向上に取り組んだ。その結果、白米水分及び精米歩合を統一した条件で試料をアルカリ又は尿素の濃度を段階的に変えた溶液に浸漬し、崩壊濃度により、定量的に蒸米酵素消化性を把握できることが明らかになった。本法は多くの機関で採用されつつあるが、白米水分や精米歩合の影響を受けるといった課題が残るため、改善を検討し、今期中に公開予定である。

#### ・蒸留酒関係

泡盛原料米（タイ米丸米）について、吸水性や原料処理方法の効果を明らかにした。タイ米はアミロペクチン側鎖構造の異なる 2 品種の混合状態であり、そのアミロース含有量とアミロペクチン構造が消化・吸水性に影響し、タイ米のデンプン組成及び分子構造が泡盛原料米の原料利用率や原料処理に影響すると示唆された。今後、遺伝子型を判定し、デンプンの性質に影響を及ぼす遺伝的変異を明らかにする予定である。

また、地方公共団体の支援を受けた団体との共同研究により、地域原料を使用したジンの

製造試験を実施した。

・革新的技術開発・緊急展開事業（うち地域戦略プロジェクト）の課題

次世代酒米コンソーシアムとして、5府県の研究機関、関連団体と連携し、兵庫錦、夢ささらなど6品種（次世代酒米）と栽培条件が異なる山田錦の醸造特性について、3年間、検討した。

全国酒米統一分析法に加え、株式会社サタケ開発のcBNロールによる50%精米を含め、原料米の物理特性や米タンパク質組成を分析した。ラボスケールの試験醸造や20kgまたは100kgの実製造規模の仕込みを実施し、協力機関の製成酒を含め、製成酒の一般成分、香気成分、メタボローム分析、官能評価を行い、統計解析でこれらの関連を解析し、各原料米の製麴及び醸造特性を明らかにした。

栽培条件では、施肥料の影響は70%精米では大きいですが、50%精米ではほとんど差が見られず、品種の影響がより大きいことを見出した。さらに、高精白に最適な栽培及び醸造法、製成酒の輸出先について提言を行った。プロジェクト終了までに清酒5点が輸出され、最終年度に石川県20社、栃木県27社など、多くのメーカーが各府県の品種を用い、市販酒を製造した。なお、令和2年度も作付面積が大幅増加または微増している。

醸造酒メタボライト分析法を用い、1gの玄米抽出液のメタボローム解析（玄米メタボローム解析）により、原料米の水分および吸水率、製麴及び発酵条件を一定にして製造した麴の酵素活性及び清酒成分を予測する方法を開発した。コンソーシアムにおいて、玄米メタボローム解析の予測精度を複数年度に渡って検証した結果、一定条件下で29項目の醸造特性が予測可能であった。今後は、プロジェクトで得られた成果を元に、異なる産地で栽培された原料米を用いて小仕込み試験を行い、産地の違いが清酒品質に与える影響を明らかにする。

（醸造用ブドウの醸造特性の解析及び日本ワインの品質向上に関する研究）

・醸造用ブドウ品種とフェノール化合物、香気成分等

日本で栽培されている醸造用ブドウ品種の違いを検討するため、日本の固有品種である甲州及び欧州系品種であるシャルドネの果実中のフェノール化合物及び香気成分（前駆体）を解析した結果、甲州はシャルドネ（欧州種）に比べてヒドロキシシナム酸類等のフェノール化合物及び揮発性フェノール類が顕著に多く含まれ、テルペンの組成が異なるなどの特徴が明らかとなった。また、これらの成分解析を活用し、遮光などの栽培方法がブドウ品質へ及ぼす影響について評価を行った。

・アメリカ系品種と欧州系品種の成分的特徴とQTL解析<sup>\*1</sup>

アメリカ系品種と欧州系品種の成分的特徴を明らかにするため、両品種の交雑実生ブドウ果実中のプロアントシアニジン（タンニン）及び香気成分を2か年にわたって解析した。協定研究先のQTL解析により、欧州系品種で高含有する各テルペン含量、ノルイソプレノイド含量、プロアントシアニジン組成に関連する効果の高いQTL及びアメリカ系交配品種に高濃度で含まれるベンゼン誘導体及びフラン類の量を制御するQTLが明らかとなった（国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹茶業研究部門との協定研究）。

<sup>\*1</sup> 量的形質遺伝子座解析、個体によって連続的な違いのある形や性質に関与する遺伝子の

場所を特定する手法。

・革新的技術開発・緊急展開事業（うち地域戦略プロジェクト）の課題

本事業に採択された日本ワインの競争力強化コンソーシアムで、他の構成員及び協力機関と連携し、次の研究を実施した。

山梨県下の3実証試験地における甲州優良3系統の果実中の香気成分組成を比較検討し、テルペンやチオール前駆体などの蓄積における系統及び栽培地の特性を明らかにした。製成ワインの香気成分組成にも果実と同様の傾向が反映されたが、ワイナリーによる特徴も大きいことが示された。

ブドウの香気・機能性成分への整枝剪定方法の影響について検討した。長梢剪定・棚栽培のカベルネソーヴィニヨン樹では、果皮アントシアニンの蓄積が最も高く、果皮タンニン含量は棚栽培が垣根栽培よりも高い傾向がみられた。また、短梢剪定・棚栽培で、収穫期の果実中のメトキシピラジン含量が低いことが観察され、日本で普及している仕立て方法等栽培管理方法の特性を明確とした。

醸造分野では、ワイナリーの協力を得て、初期低温醸し、高温短期醸しの2条件で赤ワインの試験醸造を実施し、初期低温醸しによるワインカラーの増強効果を実証した。

気象観測装置を設置した全国実証圃場において採取されたブドウ果実を用い、気象条件の香気成分蓄積への影響を検討した。白ワイン用ブドウのソーヴィニヨン・ブラン、ケルナー果粒の香気成分前駆体（テルペン、メトキシピラジン、チオールなど）の蓄積パターン及び組成に地域間で差がみられ、多変量解析の結果、気温等との深い関連が明らかとなった。

以上のように、醸造用ブドウの醸造特性の解析法を確立し、応用を図り、日本で栽培される醸造用ブドウの品種・産地の特性解明、日本ワインの品質向上に貢献した。今後、産地による酒質の特徴の違いについて更に検討し、日本ワインにおけるテロワールの解明につなげていく。

（醸造用酵母の育種等に関する研究）

地域における醸造微生物の開発等については、令和元年度までに酵母に関して20件を支援した。ゲノム解析は20件100点を実施した。令和2年度は、14件を継続して、2件を新規に支援する予定である。

5 評価結果

・必要性

きわめて高くなっている 高くなっている 計画開始時と特段の変化はない

低くなった 必要ではなかった

・効率性

高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

・進捗状況・達成度（アウトプット）

高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

・有効性（アウトカム）

高い やや高い 妥当な範囲 やや低い 低い

・総合評価

- 目標を十分に達成できた
- 目標を概ね達成できた
- 目標の達成が必ずしも十分でなかった
- 目標の達成が不十分であった

6 総合所見

酒類に関する地域振興の推進に関する研究課題として、様々な取り組みを実施している。地方公設試験研究機関等との連携により、地域の酒類原料及び醸造微生物の開発支援、酒類及び酒類原料の地域特性の解明や評価法の開発、日本ワインの品質向上について取り組んだ。

総じて進捗・達成度は概ね妥当な範囲にあり、酒類原料及び醸造用酵母、日本ワインともにその取り組みを通じて、酒類及び原料の地域ブランドの強化に波及効果があり、目標を概ね達成できたと認められる。

## <令和元年度評価>

### 課題名：適正課税及び適正表示の確保に関する研究

#### 1 実施者

山田 修、岩下和裕、向井伸彦、奥田将生、小山和哉、清水秀明、織田 健、赤松史一、矢澤 彌、小林拓嗣

#### 2 中期計画記載内容

(略)

#### 3 研究概要及び目的

(略)

#### 4 令和元年度計画

酒類の適正表示の確保、産地の特徴把握に資するため、ワイン関係では、原料原産地判別の推定に影響を及ぼす要因について年次変動の再現性を確認するため、ブドウの品種や収穫時期の違いによる無機成分の変動を調べ、産地による識別の可能性を検討するほか、補糖量推定の基盤データとするため日本ワインのエタノールと原料ブドウの糖類の炭素安定同位体比の関係を解析する。清酒関係では、各種製造条件等の要因と清酒成分との関連について引き続き基盤的解析を進める。また、精米歩合の推定方法の検証を行うとともに、推定に変動を与える要因について検討する。また、海外産清酒及び国内産清酒の成分的特徴の調査から差異の認められた無機成分について、仕込水の影響を解析する。

#### 5 総合所見

「酒類の適正課税及び適正表示の確保に関する研究」は国の研究機関として取り組むべき重要な研究課題である。ワインの産地判別や海外産・国内産清酒の仕込水に由来するミネラルの影響について、研究が進行している。ワインの原材料判別では、補糖量推定に関する基礎的知見が得られた。清酒成分のメタボライト分析を活用した精米歩合の推定方法の開発では、より堅牢な予測式を構築し、白米形状が推定に変動を及ぼすことを明らかにした。以上のように、計画通り、順調に成果が得られており、今後、精度の検証と向上のための解析技術のさらなる進展を期待する。

## 課題名：酒類の品質及び安全性に関する研究

### 1 実施者

向井伸彦、岩下和裕、赤尾 健、高橋正之、織田 健、齊藤亮太

### 2 中期計画記載内容

(略)

### 3 研究概要及び目的

(略)

### 4 令和元年度計画

酒類について、汚染微生物の管理技術構築のため、それら汚染微生物が成分に与える影響や生育条件等について引き続き検討する。麴菌の二次代謝物については、取得した麴菌 13 系統のゲノムシーケンス及び二次代謝物プロファイルを利用し、既知または未同定二次代謝物の麴菌群での生産機構を解析する。また、開発した実用麴菌株の新しい育種法の技術を活用し、麴菌ゲノムの大規模領域欠損により二次代謝物の生産抑制技術の開発を行う。

研究成果等を年数回国税庁へ情報提供するとともに、消費者等へ必要な情報を発信する。

なお、新たに酒類の安全性に関わる重大な問題が明らかになった場合は、優先して取り組む。

### 5 総合所見

「酒類の品質及び安全性に関する研究」は酒類の品質及び安全性確保の観点から重要な研究であり、引き続き、麴菌の二次代謝産物、ワイン中の汚染乳酸菌に関する研究が進行している。ワインの汚染乳酸菌のストレス耐性について、特定遺伝子の発現変動と増殖の関連を見出し、早期検出法開発につながる基盤的知見が得られた。黄麴菌の安全性確保を目的に、全ゲノムシーケンスデータ及び代謝物プロファイルデータを活用し、カビ毒非生産性を検証した。また、これまでに開発したゲノム編集技術を用い、大規模欠失が可能であることを実証した。いずれも、重要な成果であり、今後の更なる進展が期待される。

## 課題名：酒類に関する技術力の維持強化に関する研究

### 1 実施者

山田 修、岩下和裕、向井伸彦、赤尾 健、磯谷敦子、奥田将生、正木和夫、伊豆英恵、金井宗良、高橋 圭、五島徹也、飯塚幸子

### 2 中期計画記載内容

(略)

### 3 研究概要及び目的

(略)

### 4 令和元年度計画

清酒の製造技術の向上に資するため、成分データの蓄積及び官能特性との関連を解析するとともに、生成要因の解析及び制御方法の開発に取り組む。

酒類原料については、精米歩合及び米品種と原料米タンパク質との関連を引き続き解析する。

醸造用酵母については、ゲノム情報の蓄積と系統解析、各種醸造特性指標の解析、精密識別マーカー候補の評価と実用性を引き続き検討する。また、メタボローム解析手法を用いた優良清酒酵母の効率的な育種方法を検証するとともに、選抜を試みる。

黒麹菌有性生殖の可能性については、引き続き検討する。

前年度までに明らかになった酒粕の疾患予防効果について、その作用機構の解析を行う。

### 5 総合所見

「酒類に関する技術力の維持強化に関する研究」については、清酒の香気成分、原料米、清酒酵母、黒麹菌、副産物の機能性等、様々な基盤的研究が着実に進められている。特に、清酒の香気成分について、生成条件を検討し、酒造メーカーによる実地醸造に協力するなど、清酒の多様化、高品質化に貢献する成果が得られている。いずれも重要な研究で多くの成果が出ており、今後の進展に期待したい。

## 課題名：日本産酒類の輸出促進に関する研究

### 1 実施者

山田 修、向井伸彦、磯谷敦子、藤田晃子、金井宗良、長船行雄、飯塚幸子

### 2 中期計画記載内容

(略)

### 3 研究概要及び目的

(略)

### 4 令和元年度計画

清酒の貯蔵劣化臭である DMTS の前駆物質低生産酵母の頒布に向け、必要な試験及び手続きを進める。清酒のカビ臭を抑制するための麹菌の育種を試みるとともに、育種株の解析を行う。また、本格焼酎の品質への寄与が推定された成分の特性把握及び分類を行い、標準見本の策定を行う。

### 5 総合所見

「日本産酒類の輸出に関する研究」については、主に、香りに関する研究が進んでいる。清酒の老香（主成分は DMTS）について、これまでの成果に基づいて育種された DMTS を生じにくい「DMTS 前駆体低生産性酵母」が試験販売され、汎用に向けて大きく進捗した。本格焼酎については、香ばしさに寄与する成分を新たに見出し、選定された代表的な香気成分を用いた標準見本を設定し、フレーバーホイール作成に向け、研究が大きく進捗した。

## 課題名：酒類に関する地域振興の推進に関する研究

### 1 実施者

岩下和裕、向井伸彦、赤尾 健、奥田将生、小山和哉、清水秀明、高橋 圭、金井宗良、五島徹也

### 2 中期計画記載内容

(略)

### 3 研究概要及び目的

(略)

### 4 令和元年度計画

原料米については、各地域で育成・栽培された酒造用原料米の醸造適性試験及び気象データからの米質予測のほか、原料米の簡易溶解性判定方法の開発に引き続き取り組む。また、気象条件が醸造用ブドウのフェノール化合物、香気成分等蓄積へ及ぼす影響について検討する。

なお、要請に応じて、地域における技術基盤の強化及び新規な醸造微生物や酒類等の開発を引き続き支援する。

### 5 総合所見

「酒類に関する地域振興の推進に関する研究」については、公設試験研究機関等の関係機関と連携し、泡盛原料米特性の解明、清酒原料米の酵素溶解性の簡易判定法の開発、醸造用ブドウの香気成分の地域間差の検討、醸造微生物の開発支援などを進めている。米、ブドウ、酵母について、有用な知見を蓄積し、これらの活用により、地域振興に貢献していると認められる。