

（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、令和 3 年度から実施している第 5 期中期目標期間の研究課題について、酒類行政的、科学・技術的及び社会・経済的意義、又は目的の妥当性における必要性、計画・実施体制及び費用対効果の妥当性における効率性、目標を達成する手段、新しい知の創出への貢献及び今後見込まれる効果・波及効果における有効性の観点から見込評価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

令和 7 年 6 月 6 日（金）

2 場所

独立行政法人酒類総合研究所

3 出席委員

会長 堀内裕之

委員 奥田 徹、熊谷日登美、後藤正利、塚本芳昭、丸山潤一

（書面評価）

委員 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：日本産酒類の競争力強化等に関する研究

1 実施者

岩下和裕、向井伸彦、磯谷敦子、藤田晃子、篠田典子、長船行雄、神本真紀、小林拓嗣

2 中期計画記載内容

日本産酒類の輸出促進のためには、日本産酒類の競争力強化や輸出環境整備が必要であることから、ブランド価値向上等のための研究、食品添加物の指定要請手続、輸出酒類の分析証明等の各種取組を実施する。

イ 日本産酒類の特長を解明し新たな価値の創造に資する研究として、清酒の長期熟成による影響や清酒の成分と人の嗜好の関係性の解明、更に日本産蒸留酒に特徴的な香味の解明などに取り組む。

また、長期輸送・保管における清酒の品質劣化の抑制を目的とした研究を実施する。

(口～ハは省略)

3 研究目的及び概要

清酒成分とヒトが感じる香味の特徴や嗜好性との関係性について解析を行うとともに、清酒成分から官能評価結果や嗜好性を予測するモデルの構築について検討を行う。これにより清酒成分とヒトの嗜好性との関係性の解明に貢献する。

長期熟成酒の高品質化及び魅力発信に資するため、清酒の長期貯蔵による品質への影響について検討する。また、清酒の品質安定性の向上に資するため、貯蔵劣化臭である老香の主要成分ジメチルトリスルフィド（以下「DMTS」という。）の前駆体（DMTS-P1）低生産酵母の実用化に取り組む。

日本産蒸留酒の海外におけるブランド力向上を図るため、本格焼酎・泡盛の品質に寄与する成分を中心として、蒸留や貯蔵といった製造工程、麴原料をはじめとした製造原料に特徴的な成分を解明する。また、日本産クラフトジンに使用されている原料や、日本産ウイスキーの貯蔵に用いられる樽材に特徴的な成分や特性を解明する。

4 主な研究結果及び知見

（清酒の成分と人の嗜好の関係性の解明に関する研究）

清酒成分と嗜好性の関連について基盤的な知見を得るため、540 点の清酒について十分な官能評価経験を有する専門家による官能評価を実施し、嗜好性データを取得した。さらに、これらの清酒について、醸造酒メタボライト分析法により、n=3 以上の清酒メタボロームデータを取得し、網羅的清酒香気成分分析法により 540 点の清酒の香気成分データを得た（n=3）。

次に、清酒 540 点の清酒メタボロームデータと香気成分データを統合した成分分析データを作成し、嗜好性データとの関連を解析した。初めに、香気成分データを解析し、清酒由来かつ再現性のある 229 ピークを再選抜した。これらのピークを清酒メタボロームデータの 476 ピークと統合し、合計 705 ピークからなる成分分析データとして用い、嗜好性デ

一タの得点予測モデルを種々の線形及び非線形の機械学習アルゴリズムにより構築した。種々の線形及び非線形の機械学習アルゴリズムを検討したところ、予測性能が高いアルゴリズムは評価者により異なることが示唆された。また、全評価者の平均得点の予測性能は比較的良かったものの、個別の評価者については評価者毎に予測性能が大きく異なる結果が得られた。

次に、嗜好性データに適した予測モデルの構築方法を検討した。まず、成分分析データのクラスター分析を行い、クラスター間の距離の大きさを指標に 540 点の清酒を複数のクラスターに分割した。得られたクラスターの特徴はラベルに記載された特定名称等の情報とある程度一致しており、クラスター毎に嗜好データの得点の偏りが見られることから、酒質と嗜好性の間の関連が示唆された。さらに、クラスター毎に予測モデルを構築したところ、評価者とクラスターの組合せによっては予測性能が高いモデルが構築され、清酒成分と嗜好性の一部がモデル構築可能であることが示唆された。

一方、清酒成分から分析型官能評価による官能評価結果を予測するモデルの構築に関する検討として、嗜好型とは別の清酒及び専門家から得られた清酒メタボロームデータ及び官能評価結果を使用し、清酒メタボロームデータから分析型官能評価結果を予測するモデルを構築した結果、線形回帰の一種である OPLS[※]で構築可能であり、嗜好性データの得点予測モデルに比べて予測性能が高い傾向が示された。

ヒトの嗜好性に関する個々人の特性を広く評価するため、一般消費者及び専門家を対象に少数の清酒を用いて嗜好型官能評価を実施した。嗜好性の幅や偏りには個人差があり、また、嗜好型官能評価の再現性は清酒や評価者によって異なることから、嗜好性に個人内の揺らぎがあることが示唆された。この揺らぎは予測モデルの予測性能に影響を与える可能性があり、分析型官能評価による官能評価結果の予測モデルの予測性能との違いの一因と考えられる。ヒトの嗜好性を明らかにするため、個人内の揺らぎを評価可能な官能評価法を構築し、大規模にデータを収集、解析する必要があると推察される。今後は、これまでに構築したモデル等を用いて、成分分析データと嗜好性・官能評価結果の評価点との関連をまとめる予定である。

※ OPLS (Orthogonal Partial Least Squares) : 説明変数と目的変数の共分散が最大になるような潜在変数を計算し、最小二乗法により予測モデルを構築する方法である PLS (Partial Least Squares) を解釈しやすくなるように改良した方法。

(貯蔵条件が品質に及ぼす影響)

市販長期熟成酒の成分の把握及び貯蔵条件が品質に及ぼす影響を調べるため、貯蔵期間が 3 ~ 53 年間の常温熟成酒 21 点と低温 (15℃以下) 熟成酒 20 点の成分分析を行った。その結果、主要香気成分の酢酸イソアミルは経年減少する傾向にあり、低温熟成酒では 30 年貯蔵でも閾値以上を保持するものの、常温熟成酒では 11 年間以降は閾値以下となった。熟成香に寄与が大きいとされているソトロン、DMTS、イソバレルアルデヒドは経年増加傾向を示し、常温熟成酒ではソトロン等の熟成香に寄与が大きいとされている成分の含量の立ち上がり早く、11~20 年の貯蔵期間でピークを迎える傾向がみられた。カルバミン酸エチルについても経年増加傾向を示したが、常温熟成酒では貯蔵期間 10 年以下の平均値が 200 μ g/kg (カナダの規制値) を超えたのに対し、低温熟成酒では貯蔵期間 31 年以上で平

均値が 200 μ g/kg を超えた。

貯蔵温度（0～35℃、2～6ヶ月）が品質に及ぼす影響を調べたところ、甘臭・焦臭への関与が推定されるメチオナールは貯蔵温度の上昇とともに増加し、25℃以上で貯蔵した清酒における含量はすべて閾値を超え、官能評価の老香強度と高い相関を示したことから、老香に寄与する可能性が考えられた。また、甘臭・焦臭への関与が推定されるホモフラネオール^{※1}は貯蔵により減少し、熟成香の主要成分であるソトロンは、35℃で6ヶ月間貯蔵しても検出されなかった。

次に、同一製造場でほぼ同様の製法で作られ、貯蔵期間の異なる清酒 65 点の香気成分（合計 37 成分）の変動を調べた。その結果、純米大吟醸酒（精米歩合 50%）の氷温（-2℃）・瓶熟成（0、5、10、15 年）では香気成分の経年変化は僅かで、熟成香に寄与するソトロン含量は 15 年間貯蔵したものでも閾値（2.3 μ g/L）は超えなかった。大吟醸酒（精米歩合 40%）の 5～10℃の低温・瓶熟成（0、3、5、10、15 年）の香気成分は、氷温・瓶熟成と比べ緩やかに変化し、ソトロン含量は 3 年、5 年貯蔵では閾値以下であるが、10 年、15 年貯蔵で閾値の約 2～3 倍となった。純米大吟醸酒や大吟醸酒の低温熟成では増加した香気成分^{※2}は多いが、閾値を超える成分は少なかった。常温・甕熟成（0、10 年）の純米大吟醸酒（精米歩合 35%）では、10 年目のソトロン含量は閾値の 6 倍となり、温度の他、熟成に使用する容器の影響も推定された。また、アミノ酸や有機酸が多い麴歩合の高い純米酒の常温・瓶熟成（9、15、17、20 年）では、ソトロン、フルフラール、メチオナール、DMTS、ジメチルジスルフィド（以下「DMDS」という。）等多くの香気成分が 15～17 年目でピークを迎え、その後減少した。これらの結果から、貯蔵温度及び期間、成分並びに貯蔵容器が長期熟成酒の品質に影響を及ぼすことが示唆された。今後は結果のまとめを行うとともに、容器の影響等について貯蔵試験により検討する予定である。

※1 ホモフラネオールは醤油や味噌では特徴香成分とされている。

※2 熟成の経過に伴い増加する成分：DMTS, DMDS, methional, ethyl lactate, 3-methylbutanal, sotolon, furfural, ethyl leucate, butyric acid, 2-methylbutyraldehyde, ethyl 2-methylbutyrate, isobutyraldehyde, ethyl isovalerate, ethyl isobutyrate, diethyl succinate, phenylacetaldehyde, ethyl phenylacetate, benzaldehyde, vanillin.

（長期熟成酒の香りに寄与する成分）

長期熟成酒の多様な香りの特徴は、製品の個性を生み出す要因の一つと考えられる。そこで、長期熟成酒の香りの特徴及びそれらに寄与する成分の解明に取り組んだ。市販長期熟成酒の自由記述による官能評価の結果、言及されることの多かった特徴は、カラメル様、甘臭、焦臭、醤油様などであった。これら 4 項目の特徴が顕著に表れている試料を各々 2 点ずつ選び、GC-olfactometry（以下「GC-O」という。）により寄与成分を探索した。その結果、既知のカルボニル化合物やエステル類等に加え[※]、焦臭を呈するチオール類のベンジルメルカプタン（以下「BM」という。）やコーヒー様の香りの 2-フランメタンチオール（以下「2-FM」という。）などを新たに見出した。同定された成分の定量分析の結果、甘臭が顕著な試料でメチオナール濃度が高く、カラメル様の香りが顕著な試料ではソトロンや DMTS が高めなど、香りの特徴ごとに成分濃度に違いが見られた。

また、焦臭が顕著な長期熟成酒では BM 又は 2-FM のいずれかの成分の濃度が高く、閾値

を大幅に上回っており、これらの成分は長期熟成酒の焦臭の特徴に大きく寄与していると考えられた。今後は、市販長期熟成酒における BM や 2-FM の濃度分布を幅広く調査する予定である。

清酒のバニラ香に寄与するバニリンの含量及び閾値を調査した。令和 4 酒造年度全国新酒鑑評会出品酒（40 点）の分析の結果、清酒中の閾値である $78.9 \mu\text{g/L}$ より低く、新酒の香りには寄与しないと考えられた。市販長期熟成酒（貯蔵期間 3～53 年、46 点）では、貯蔵期間 11 年以上で常温熟成酒の平均値が閾値を超えた。最大値は榎樽熟成の純米大吟醸酒で、樽材由来のバニリンと考えられ、瓶熟成の最大値の約 5 倍だった。同一製造場でほぼ同様の製法で作られ、貯蔵期間の異なる清酒（7 製造場、59 点）のバニリン含量を調べたところ、貯蔵温度にかかわらず経年増加し、10～15 年で閾値を超えるものが多かった。カラメル様の香りに寄与するソトロンの挙動と比較すると、経年増加する傾向は同様だったが、貯蔵温度の影響はソトロンほど顕著ではなかった。

清酒中でのバニリンの生成機構は不明であることから、バニリンの前駆体と考えられる 4-ビニルグアイアコール（以下「4-VG」という。）に着目し、4-VG、溶存酸素、貯蔵温度及び貯蔵期間の各条件が異なる清酒の貯蔵試験を実施し、バニリンの生成量を比較することで生成機構の解明を試みた。その結果、貯蔵温度、4-VG 濃度が高く、溶存酸素が豊富な条件で、バニリンが生成されやすいことが判明した。バニリンが生成した条件では、4-VG が減少したことから、バニリンの前駆体は 4-VG である可能性が示唆された。今後は、貯蔵試験酒の解析を進め、生成機構の解明に向けて取り組む予定である。

※ GC-O で検出・同定された成分のうち、既知の成分とは以下のとおり： sotolon, furfural, methional, benzaldehyde, phenylacetaldehyde, ethyl 2-methylbutyrate, ethyl isovalerate, ethyl phenylacetate, DMTS, acetic acid, diacetyl, ethyl butyrate, ethyl caproate, isobutyl acetate, isoamyl acetate, phenethyl acetate, butyric acid, isovaleric acid, isoamyl alcohol, phenethyl alcohol, guaiacol, 4-VG.

（清酒の熟成酒とその他の熟成酒の比較）

清酒の長期熟成酒を世界へ発信するための基盤的知見を得ることを目的として、清酒の熟成酒と、香味の類似性がみられる海外の代表的な熟成酒である紹興酒及び酒精強化ワイン（ポート、マデイラ、シェリー）について、3 年、5 年、10 年貯蔵の市販酒を各 3 点程度、計 44 点を試料として、官能特性や成分を調査、比較し、清酒との共通点や相違点を解析した。

官能評価の結果、清酒・紹興酒は硫化物様の香り及び苦味が強く、ワインはドライフルーツの香りや甘味が強い傾向がみられ、清酒は他の熟成酒と比較して、カラメル様の香りや焦臭の強度のばらつきが大きかった。成分分析（一般成分及び香味成分を含む 70 成分）の結果、清酒・紹興酒はワインに比べてアミノ酸濃度及び pH が高く、エキ스가低かった。香気成分については、ソトロン、アルデヒド類といったカルボニル化合物、分岐脂肪酸や有機酸のエチルエステル類、ポリスルフィドなどが貯蔵期間の長い試料で増加し、酢酸エステル類が減少する傾向は清酒と他の熟成酒で概ね共通していた。一方、上記の貯蔵により増加する成分のうち、清酒、紹興酒はアルデヒド類やポリスルフィドの濃度が相対的に高く、ワインはエチルエステル類が相対的に高い傾向がみられ、これらの違いは、アルデ

ヒド類の前駆体であるアミノ酸や、エステル化を触媒する pH の違いに起因する可能性が考えられた。また、清酒は他の熟成酒に比べて残存する酢酸エステル類の濃度が高く、かつばらつきが大きい傾向がみられた。これらの結果より、官能特性や成分組成において、清酒、紹興酒と酒精強化ワインは大別され、また、清酒は熟成に関わる官能特性や成分に幅があることが示唆された。今後は結果のまとめを行う予定である。

（吟醸酒用老香前駆体低生産酵母の醸造特性）

代表的な吟醸酒の香り成分であるカプロン酸エチルを多く生産しつつ、老香の発生を抑えられる、吟醸酒用老香前駆体低生産酵母の実用化を進めており、第4期中期目標期間中に候補株（以下「Ka8」という。）の分離に成功している。

第5期中期目標期間では、Ka8 の醸造特性及び実用性を調べるため、研究所及び清酒製造場で試験醸造を行い、プラントレベルの醸造特性を検討した。その結果、Ka8 の発酵経過は概ね順調で、代表的な吟醸酒用酵母である K1801 と比較してカプロン酸エチルの生産性は遜色がなく、製成酒の DMTS-P1 濃度や貯蔵後の DMTS 濃度も低く抑えられ、老香低減に有効であることが確認された。製成酒の評価は良好で、全国新酒鑑評会において金賞相当を収めるものもあった。一方、醪のアルコール分が 17%を超え酵母死滅率が高い場合に、製成酒の評価は良くなかった。以上の結果から、醪のアルコール分には注意が必要であるものの、プラントレベルの清酒醸造においても Ka8 の醸造特性に大きな問題はないと考えられた。

さらに多くの製造場からデータを収集するため、令和6年1～3月に酵母の試験販売を行い、製成酒と製造条件等に関する情報の収集・解析を行った。その結果、Ka8 の製成酒のカプロン酸エチルの平均値は対照（明利酵母、金沢酵母、自社酵母）と遜色なく、DMTS-P1 及び製成酒貯蔵後の DMTS 濃度は概ね低い値だった。ただし、1社の製成酒で DMTS-P1 濃度の低下がみられなかったが、その原因として酵母培養液の添加量が少ないことによるコンタミネーションが疑われたため、酵母の添加量にも注意が必要と考えられた。醪経過は、前半はやや遅れるものの後半のボーメの切れは対照と遜色ない傾向だった。これらの結果は日本醸造学会等で情報発信し、令和6年12月より（公財）日本醸造協会では Ka8 の一般販売が開始された。今後は Ka8 の普及に向けた取組みを行う予定である。

（本格焼酎・泡盛）

第4期中期目標期間で明らかにした本格焼酎・泡盛の品質に寄与する成分を中心に、本格焼酎や泡盛の製造条件との関係性を明らかにすることで、日本産蒸留酒に特徴的な香味の解明に取り組んだ。

原料としては、本格焼酎や泡盛に特徴的な原料であり、地理的表示「壱岐」の生産基準にも記載されている麴原料の比較・検討を行った。常圧蒸留の麦焼酎について、小規模製造試験や出品酒を比較した結果、麦麴を用いた場合に4-ビニルグアイアコール（以下「4-VG」という。）やフルフラールの含有量が高くなり、麴原料の違いが麦焼酎の香気特性に影響を与えることを明らかにした。

製造工程としては、はじめに蒸留工程に着目し、新規に開発された3回蒸留泡盛とそれ以外の泡盛に含まれる成分を比較することで蒸留回数による違いを検証した。この結果が

ら、複数回蒸留を行うことで果実様の香りに寄与するエステル類が増加し、甘い風味とクリーンさが特徴として得られることが分かった。一方、複数回の蒸留で低減されるバラ様の香りに寄与する β -フェネチルアルコールや燻製様の香りを呈する 4-VG などは、原則 1 回蒸留で製造される本格焼酎・泡盛の特徴として存在していることを明らかにした。さらに、常圧蒸留及び減圧蒸留で製造された焼酎の比較・検討を行うことで、蒸留時の圧力の影響についても検討した。その結果、香ばしさに寄与するイソバレラルデヒドや煙様の香りを呈するフルフラール、蜂蜜の香りに寄与する β -ダマセノンなど多くの成分が、常圧蒸留で濃度が有意に高く、減圧蒸留では、果実様の香りを呈する酢酸イソアミルとカプロン酸エチル濃度が有意に高かった。以上の通り、蒸留回数や蒸留時の圧力など日本産蒸留酒に特徴的な蒸留条件と得られる本格焼酎・泡盛の酒質の関係性について解明を行った。

貯蔵工程に関しては、タンクや甕で貯蔵した貯蔵酒と類似の条件で製造された新酒を比較した。官能評価や成分分析の結果から、貯蔵酒ではバニラ香やカラメル香といった特徴を有しており、バニリンやソトロンがそれぞれの香りに寄与していることを明らかにした。一方で新酒では原料特性や果実様の香りが高く評価され、甘藷焼酎の原料特性に寄与する β -ダマセノンやローズオキサイド、麦焼酎の原料特性に寄与する 2-フランメタンチオールや 4-VG、さらには果実様の香りを有する酢酸イソアミルが有意に高い濃度で含有されていることを解明した。したがって、世界の蒸留酒と比較して、貯蔵期間の短い焼酎の特徴として、原料特性や果実様の香りに寄与する成分が存在していることを明らかにした。

長期貯蔵焼酎の特性に寄与する成分の生成機構を解明するため、試料として甘藷焼酎（常圧）を用いて 300ml のガラス製密閉容器に充填し、溶存酸素、貯蔵温度及び貯蔵期間の条件を変えて成分の挙動を解析した。その結果、バニリンは貯蔵温度 4℃では増加せず、60℃で増加し、溶存酸素濃度が高い区分でより増加したため、主に酸化反応による生成が示唆された。同じく長期貯蔵焼酎の特性の 1 つでパイナップル様の香りを有するイソ酪酸エチルや 2-メチル酪酸エチルといった分岐エステルは、主に温度のみに依存して増加したことから、エステル交換反応による生成が推察された。一方、甘藷焼酎の特徴香である β -ダマセノンやリナロールやゲラニオール等の成分は、60℃で貯蔵した際に溶存酸素濃度によらず大きく減少し、酸化以外の化学反応によって減少すると推察された。したがって、これらの特徴香は、低温貯蔵により一定期間の保持が可能と考えられる。また、カプロン酸エチルや酢酸イソアミルは前年度までの貯蔵試験では減少傾向を示したが、本試験では明瞭な減少は観察されなかった。これは、本試験では密閉容器を使用したことにより当該成分が揮散しにくくなったためと推察された。

異なる材質の樽を用いた焼酎の官能特性の違いを検討するため、麦焼酎及び甘藷焼酎を鏡板部分の材質の異なる 2 種類の小型樽（焼酎の樽貯蔵で良く用いられる材質であるホワイトオーク及びスギ）を用いて約 3 ヶ月貯蔵の後、官能評価と香気成分の定量分析を行った。その結果、官能評価では、「バニラ」及び「カラメル」はホワイトオークを鏡板に用いた樽で、「草様」はスギを用いた樽で高い強度を示した。香気成分の定量分析では、バニラの香りを有するバニリンの含有量はホワイトオークにおいて高濃度となり、草様の香りに寄与するアセトアルデヒドや木材の精油の香りを有する δ -カジネンなどのセスキテルペン類はスギを鏡板に用いた場合に高い濃度を示すことが判明した。以上の結果から、これらの樽由来の成分の違いが官能特性に反映されたと推察された。

今後は、本格焼酎・泡盛の特性に寄与する成分と製造プロセスとの関係性について、引き続き検討し、取りまとめる予定である。

(日本産ウイスキー、日本産クラフトジン)

日本産ウイスキーの貯蔵に用いられている異なる材質の樽(ホワイトオーク、スギ、ヒノキ、サクラ及びミズナラ)に特徴的な成分を探索するため、鏡板部分の材質の異なる小型樽を用いた貯蔵試験を行った。官能評価の結果、バニラ及びココナッツについてはホワイトオークやミズナラにおいて、草様についてはスギ、ヒノキ及びサクラにおいて、松様についてはヒノキにおいて最も高い強度を示すことを明らかにした。また、理化学分析の結果から、ココナッツ様の香りに寄与する cis-ウイスキーラクトンの含有量はホワイトオークやミズナラを、草様の香りに寄与するアセトアルデヒドはサクラを、松様の香りを有する α -ピネンや β -ピネンはヒノキを、木材の精油の香りを有する δ -カジネンなどのセスキテルペン類はスギを鏡板に用いた場合に高い濃度を示し、これらの成分の違いが異なる材質を用いた各々の官能特性に寄与していることを解明した。

日本産ジンに使用されている原料であるベーススピリッツやボタニカルに特徴的な成分を探索するため、市販されている日本産と海外産のジンの香気成分を比較した。ベーススピリッツ由来の成分としては、前期までに報告した低沸点のエステル類やアルコール類に加えてオクタン酸エチルなどの平均濃度が日本産ジンで高くなることが判明した。また、ジュニパーベリーを中心に製造される海外産ジンと、より幅広いボタニカルが使用される日本産ジンと比較・検討した結果、主にボタニカル由来と考えられる trans-ゲラニオールが、日本産で有意に高い濃度を示した。また、同じく主にボタニカル由来とされる α -ピネンや α -テルピネオールなどの平均濃度や変動係数についても日本産において高い値となったことから日本産ジンの香りの高さと多様性が推察された。併せて茶葉をボタニカルとして用いた場合の特徴香の 1 つでもあるジメチルスルフィドについても、日本産ジンにおいて平均濃度が高くなった。したがって、日本産ジンによく使用されるベーススピリッツやボタニカルといった原料に特徴的な香気特性として、低沸点のエステル類やアルコール類などに起因する香りが存在していることを明らかにした。

5 評価結果

・必要性

- ☒ 極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

- ☐ 高い ☒ やや高い ☐ 妥当な範囲 ☐ やや低い ☐ 低い

- ・ 有効性
 - ☒ 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

日本産酒類の競争力強化に関する研究は、非常に重要な研究テーマであり、当初に比べ重要性が増している。論文等十分発表し、学会賞も受賞しており、日本産酒類の特徴と魅力の発信につながる成果も見込まれる。特に、長期輸送・保存中の劣化防止について、Ka8酵母の販売開始など、大きなアウトカムが期待される成果が得られている。第6期においても重要なテーマであり、着実に研究を進める必要がある。蒸留酒については、本格焼酎において麴の役割に着目することが望ましい。嗜好性の研究については、メタボローム解析を介して、日本酒醸造ビッグデータと連携させることが出来れば、そのインパクトは極めて大きく革新的な知見となる。本研究については、第6期では、十分な予算の裏付けのもと、必要な機器等を整備し強力に研究を進める必要がある。

課題名：技術力の維持強化に資する研究

1 実施者

岩下和裕、赤尾 健、向井伸彦、磯谷敦子、奥田将生、藤田晃子、小山和哉、正木和夫、阿久津武広、金井宗良、高橋 圭、織田 健、長船行雄、飯塚幸子、檜尾篤樹、岸本 徹、小林拓嗣、木下綾華、片岡涼輔

2 中期計画記載内容

酒類業の振興のためには、酒類製造の技術基盤の強化が必要であることから、これに資する研究に取り組むとともに、酒類製造者等が実施する技術基盤の強化のための取組等の支援など、取組を実施する。

イ 酒類製造の技術基盤の強化に資する研究として、酒類に関係する成分の解明、醸造用微生物及び原料の特性の解明並びに醸造用微生物の育種及び利用等の基盤的研究を実施する。

また、酒類及び酒類原料の地域特性に関する研究等、地域ブランド等の価値向上に資する研究を実施する。

（口は省略）

3 研究目的及び概要

清酒の成分を網羅的かつ迅速に解析するための分析法の高度化を行い、原料米の産地や品種、精米条件が清酒の品質に与える影響を検討する。この解析により、原料米の地域性と清酒の品質との関係の解明に貢献する。さらに、玄米の構造、精米特性について検討するとともに、原料米品種と玄米構造、玄米形状に基づいた白米形状及び醸造上の特性、清酒成分との関連についても体系化を試みる。

ワイン用ブドウ産地における気象条件とブドウ・ワインの品質との関係を解析することにより、日本ワインの産地特性を解明、影響する気象要因等の解明を行い、ブランド力や品質の向上に資することを目的とする。

清酒の品質及び製造技術の向上に資するため、マスカット様などの香りを高含有する清酒の醸造条件について検討を行い、当該果実様の香り付与に効果が認められる醸造技術の実用化に取り組む。

ビールの酸化劣化を抑制する醸造技術として、各種工程の内、特にタンパク質分解工程が酸化劣化臭として代表的な「カラメル・飴様」の香りに与える影響について調べる。ビールに特徴的な香りに関する醸造技術としてホップ由来の特徴的な香りを付与する技術について検討を行う。

ビールとスルメの食べ合わせで不快臭を感じる事象に取組み、当該不快臭の成分を解析し、さらに清酒と比較検討することで酒類と食材との相性を解明する。

清酒及び焼酎用の原料について、各種成分等の原料特性と製成酒の品質・製法又は品種栽培要因との関係性について新たな知見を得る。また、気象及び醸造適性分析による米質予測、新規な原料評価手法の開発を行う。

酵母菌株の育種開発、品質管理、選択等の効率化のため、醸造に関する遺伝情報及び醸造特性等情報を収集・整理する。これらを利用し、遺伝情報と醸造特性等を効率的に関連付け

るための遺伝子マッピング系を開発する。また醸造用酵母菌株の利用技術の向上のため、重要な醸造特性指標に関する分子生物学的解析を進める。

多様な麹菌のゲノム情報を集積し、醸造用途と醸造に関する遺伝子の構成関係を明らかにするとともに、集積した麹菌のゲノム情報を提供するためのデータベースシステム開発に取り組む。また、新しい育種法の活用により実用株から醸造の主要酵素の生産改変株を造成し、醸造特性を確認する。

黒麹菌の有用形質の発現制御について調べるため、重要な転写因子の役割を解析する。また、黒麹菌の未知の性質を明らかとするとともに、有用黒麹菌育種に資するため有性生殖[※]の可能性を検討する。

※ *Aspergillus* 属のカビでは MAT1-1 の性質を持つ株と MAT1-2 の株で有性生殖（交配）できるが、黒麹菌では現在まで有性生殖が報告されていない。

4 主な研究成果及び知見

（酒類及び酒類原料の地域特性に関する研究）

UPLC-Q/TOF-MS を用いた醸造酒メタボライト分析法については、各種改良により 339 成分（425 成分中：前期までは 305 成分）の検出が可能となった。また、新たに醸造酒メタボライト分析法（従来法）の高感度化を行ったところ（高感度醸造酒メタボライト分析法）、定量解析した 69 成分の内、約 50% は検出感度及び定量性が向上し、約 10% は感度が減少した。現在は、標準品による検証を順次行い、高感度醸造酒メタボライト分析法により 284 成分（312 成分中）が検出可能であることを確認している。また、清酒香気成分についても網羅的解析方法を開発するため、GC×GC-TOFMS を用いて香気成分の抽出・試料導入法を検討し、ヘッドスペース法による分析方法（HS-GC×GC-TOFMS）の最適化により分析時間は約 30 分に短縮され（3分の1に短縮）、主に低沸点成分についてハイスループット化が可能となった。さらに、低沸点成分以外についてもより網羅性の高い SA-SBSE 法による分析方法（SA-SBSE-GC×GC-TOFMS）について検討した上で、昇温速度やスプリット比を変更することで、分析時間当たりのピーク数を維持しつつ分析時間を 30 分短縮し、1 サンプルにかかる時間を 3/4 にハイスループット化することが可能となった。

原料米産地と清酒成分との関係については、様々な産地の（H30 年産：4 県 5 サンプル、R1 年産：7 県 8 サンプル、R2 年産：11 県 12 サンプル、R3 年産：8 県 9 サンプル）山田錦を 50% に精米し、製造条件を統一した小仕込み試験において、原料米産地の違いにより米麴力価などの醸造特性や一般分析値、一般香気成分に影響があることが明らかになった。また、各年度の栽培地の気象データを収集し、これまでに収集した 4 年分の醸造データとの関連を検討するため、マルチブロック直交成分分析^{※1}を用いて解析した。その結果、登熟期付近の風速が、製成酒のジペプチドや糖類等の濃度と関連することが示唆された。今後は、データをさらに詳細に解析し、研究を総括する。

原料米形状については、異なる産地の原料米の玄米の形状を比較したところ、緯度・経度が高くなるとともに、より球形となる傾向があることが明らかとなった。白米や玄米の形状については、cBN ロール^{※2}による白米と玄米の形状に関して回帰分析による解析を行い、玄米の形状が cBN ロールによる精米で、白米形状に影響を与えること、白米が一定の厚さ以下になると碎米率が上昇することを見出した。原料米には扁平白米が得やすい #80 cBN ロール

でも扁平にならないものが確認されたため、白米形状に影響を与える玄米形状についてさらに解析を進め、短くて厚い玄米は扁平になりにくく、玄米の長さ、厚さの影響が大きいことを確認した。玄米形状、精米条件、白米形状の関係を体系的に検討するため、玄米の球状指数がばらつくように玄米を選抜し、#80 cBN ロールにおいて確認した。その結果、玄米形状に加え、玄米の張込み量と回転数も白米形状に影響を与えることを明らかにした。今後は、目的の白米形状を制御するためのモデル化を検討する。

精米条件が清酒の品質に与える影響については、50%扁平白米と 35%、50%球形白米を用いた仕込みの清酒成分を比較し、50%扁平白米を用いた清酒成分は、35%球形白米を用いた清酒成分と高い類似性を示すことが分かった。

※1 同一のサンプルについて、複数の方法で得られたデータを統合して俯瞰できる解析法。異なる方法で得られたデータ間の関係を可視化可能。今回の場合、気象データと清酒メタボロームの関係性を可視化した。

※2 cBN ロールは、立方晶窒化ホウ素（cBN）砥石を蒸着させた精米ロール。cBN 砥石の粒度が小さくなるに従って扁平傾向（#40:球形、#60:原形、#80:扁平）の白米となる。

（原料産地と日本ワイン及びブドウの品質との関係解析に関する研究）

ワイン用ブドウ産地によるワインの品質の違いを明らかにするため、日本ワインのテロワール解明に係る共同研究の枠組みとして「日本ワインのテロワール解明研究コンソーシアム（2020 年）」及び「日本ワインのテロワール解明に関する共同研究（2021～2023 年）」を実施し、各地の研究機関、大学とともに 3 ヶ年にわたって、全国各地のワイン産地から入手した代表的な 7 つの品種（ソーヴィニヨン・ブラン、デラウエア、シャルドネ、メルロー、ピノ・ノアール、マスカット・ベリーA、シラー）について醸造条件を揃えた小仕込み試験を行い、製成したワインの成分及び官能評価から産地の特徴・傾向の解析を行った。

3 ヶ年のデータを用いて、7 品種のワインの成分分析値及び官能評価値を用いて主成分解析を行った結果、検討したすべての品種で栽培方法等の違いがあるにも関わらず、北海道を含む冷涼な地域と西日本などの温暖な地域で、プロットが偏在する傾向が認められた。

白ワイン用品種のワインの官能評価では、品種によらず、冷涼地ではフレッシュな果実香が高く、温暖地では熟した果実香などが高い傾向が認められた。白ワイン用品種の内、ソーヴィニヨン・ブランのワインの香気成分組成は、全体として地域間の違いが大きく、冷涼地のワインでは、いくつかのテルペン、エステル、チオール、ピラジン類が、温暖な地域では、いくつかのラクトンやバニリン類が高くなる傾向がみられた。また、「フレッシュな果実香」とはエステル類、「甘い果実香」とはラクトン類及び揮発性フェノール類が正の相関を示すなど、各官能評価項目と成分との関連が示された。地域の気象条件が一般成分やワインの香気成分等へ影響し、ひいてはワインの官能的な特徴に寄与すると考えられたことから、各圃場における気象観測装置によって取得された気象データ（気温、降水量、日照時間、湿度等）を生育ステージをベースとして加工し、品質に関連する各種成分濃度との関連についてマルチブロック直交成分分析を行った。その結果、地域間差に関連する多くの成分には気温の影響が大きいことが明らかとなった。

一方、赤ワイン用品種では、香気特性やフェノール化合物組成などに地域間差がみられたが、品種によらず冷涼地ではアントシアニン及び果実香が高い傾向が一貫して認められた。

シラーのワイン（赤ワイン）についても3年間のデータを用いて同様に検討した結果、冷涼地、温暖地等で地域間差があり、冷涼地のワインにはアントシアニン、タンニンが高い傾向が認められた。加えて、香気成分組成でも地域間で特徴的な成分がみられたが、抽出した地域間差に関連する成分の一部はソーヴィニヨン・ブラン等で抽出された成分と共通していた。また、シラーに特徴的に含まれる胡椒様の香気特性をもつロタンドンは冷涼地で顕著に高くなる傾向を示し、官能評価におけるスパイス香と関連することが分かった。さらに地域間差が得られた成分と気象要素の関連を調べたところ、ソーヴィニヨン・ブランと同様、地域間差に関連する多くの成分は、気象要素のうち気温の影響が大きいことが明らかとなった。

今後、その他甲州などの品種についても蓄積した各産地のワインのデータより原料産地の影響を解析する。また、地域間差への関連が示唆される各品質成分へ影響する気象要因等について、さらにデータ解析をすすめ、産地特性の解明、品質向上に資する。

（清酒の特徴香についての研究）

マスカット様、ライチ様、柑橘様などと表現される果実様の香りを生成できる醸造条件を検討するため、まず、これまでの検討で有効と考えられたワイン用酵母発酵助成剤の添加を検討した。発酵助成剤の添加時期を変えた三段仕込みによる小仕込み試験を行った結果、発酵経過やエステル含量などの低沸点香気成分は、添加時期による差異は認められなかったが、添加により発酵の促進とともに低沸点香気成分が増加し、官能評価による柑橘様の香りの指摘も認められた。パイロットスケール（総米 80 kg規模）の清酒醸造試験では、製成酒について、有機酸組成は、発酵助成剤の添加によりピルビン酸含量が大きく減少、リンゴ酸、コハク酸含量が増加し、アミノ酸組成は、発酵助成剤の添加により Met、Arg、Ala などが減少、Pro、Lys、His、Gln、Glu、Asp などが増加した。さらに、滓下げ試験の検討も行ったところ、発酵助成剤の添加は問題なく実施できることを確認した。添加した発酵助成剤の成分分析を実施したところ、Mn、Zn、チアミン、パントテン酸及び葉酸などの含有量が高いことから、これらが発酵促進や低沸点香気成分の増加に影響したと考えられた。

次に、原料米タンパク質の組成変化による果実様の香りの生成を検討した。清酒の果実様の香りは、消化されにくいプロテインボディの比率が多いタンパク質組成変異米の利用により生じやすいとされているが、安定的に高含有する醸造条件は未だ確立されていない。そこで、タンパク質組成変異米を用いて、果実様の香りを高含有する清酒の開発に向け、酒造会社との共同研究により実地醸造試験を行った。試験酒の官能評価の結果、タンパク質組成変異米の利用によりマスカット様の特徴的香気を持たせることができるようになり、その醸造条件が明らかになってきた。なお、これらの試験酒は新商品として市販されるようになっている。

先に述べたとおり、近年、タンパク質組成変異米を原料とする市販酒等の有するマスカットやライチに似た香りと表現される清酒の香りに関心が向けられている。これまで「新規果実様特徴香」として研究を進め、4-mercapto-4-methylpentan-2-one（以下「4MMP」という。）の関連を報告しているが、4MMP は濃度の違いやヒトによる感じ方の違いが大きいとされ、これらの香りに対する共通認識は形成されているとは言い難い。そこで、新たに「新規特徴香」と定義を行い研究を行った。また、従来では水銀法を用いていたが、近年の分析技術の進展も踏まえ香気成分の新規濃縮法を開発し、改めて成分の同定を試みた。その結果、2種

類のカラムにおいて、新規特徴香の保持時間に 4MMP の存在と矛盾しない結果が得られた。今後はさらに分析方法を検討し、新規特徴香と寄与成分との関係解明に取り組む予定である。

（国産クラフトビールの特性解明に係る研究）

ビールの酸化劣化臭として代表的な「カラメル・飴様」の香りへの寄与が報告されている 14 成分^{*}の定量方法を検討し、確立した。特に日光臭の要因物質としても知られる 3-methyl-2-butene-1-thiol の正確な定量は特殊な大型の分析装置を必要としたが、Purge&Trap 法にて捕集方法と内部標準の検討により、GC-MS/MS でも精度と定量性が高い分析方法を実現した。当該 14 成分の生成は、ビールのアミノ酸、糖、脂質、苦味物質に起因すると考えられ、ビールの仕込み工程では、主として麦芽のタンパク質分解工程の条件が重要とされている。

ビール製造の仕込み工程は、一般的にタンパク質分解工程、糖化工程、麦汁ろ過工程、煮沸工程で構成され、仕込み工程の開始（タンパク質分解工程に当たる）をマッシュインと呼ぶが、マッシュイン温度は、通常はプロテアーゼの最適温度（35～45℃）に設定される。醸造所でのマッシュインの設定温度は比較的広い温度帯となっていることも踏まえ（多くの場合は約 35℃から約 65℃の温度帯）、マッシュイン温度を 35℃、50℃、65℃に設定し、ビール香味等への影響を検討した。その結果、マッシュイン温度を 35℃又は 50℃（プロテアーゼが作用しうる温度）とした場合、麦汁のエキス収量は高くなり、ビールはエステルとアミノ酸の濃度が高く、官能ではフルボディー、エステルの特徴を有する傾向が認められた。マッシュイン温度を 65℃（プロテアーゼが作用しにくい温度）とした場合、エキス収量は低くなり、ビールのアミノ酸は少なく、官能では軽い味わいでトーストのような香りを特徴として有する傾向が認められ、発酵にも支障は認められなかった。

次に、30℃で 1 ヶ月間保存したビールの劣化臭成分 14 成分を測定した。マッシュイン温度を 65℃としたビールでは、ストレッカーアルデヒドも含めて複合的に寄与する蜂蜜とシェリー様の香りを有する傾向があり、マッシュイン温度を 35℃又は 50℃としたビールは代表的な劣化臭であるカードボード臭の香りを有する傾向となった。カードボード臭の原因成分は、上記の 14 成分にも含まれる(E)-2-nonenal であるが、(E)-2-nonenal の生成量とマッシュイン温度と負の相関が認められた。以上の結果から、マッシュイン温度を 65℃まで上げることで、カードボード臭の原因成分であり「カラメル・飴様」の香りにも寄与する(E)-2-nonenal の生成量を抑えられることが分かった。

ビール及びワインに特徴的な香りを付与する 3-mercaptohexan-1-ol（以下「3MH」という。）や 4-mercapto-4-methylpentan-2-one（以下「4MMP」という。）などのチオール化合物は、ppt レベルの低い官能閾値を有している。チオール化合物の生成は、前駆体であるアミノ酸とチオール化合物との抱合体からのチオール遊離によると受け入れられてきたが、当該前駆体の寄与度は、発酵中の全増加量の 3～7%であることも報告され、他の前駆体の存在も予想されていた。

そこで、新規な前駆体を解明するため、ホップ中のジスルフィド結合型チオールの存在を探索した。試料にジスルフィド（S-S）結合に特異的な還元剤である Tris(2-carboxyethyl)phosphine（TCEP）を処理し、3MH を測定した。その結果、3MH 濃度

は 8.9~9.9 倍増加した。また、無ホップ麦汁とグルコースを加えたホップ懸濁水溶液の発酵比較試験から、ホップ懸濁水溶液の発酵中に増加した 3MH のうち約 68%~71%が S-S 結合型 3MH であった。以上の結果から、ホップに S-S 結合型 3MH が存在し、ビールの 3MH の主要な前駆体はジスルフィド結合型チオールであることを明らかとした。

ビール及び発泡酒に特徴的な香りを付与する醸造技術の一つであるドライホッピングについて、モルトエキス、上面酵母を用いた 5L 発酵試験系を用いて、主発酵開始時、後発酵開始時、4℃に冷却後の 3 パターンでホップ（シトラ種：アメリカ産）の添加を行い、工程中のホップ由来香氣成分群（linalool、geraniol、myrcene、ionone、citronellol、3MH、4MMP）の挙動を検討した。主発酵開始時のホップ添加は、官能上のホップ香氣強度も弱く、水溶性香氣成分（citronellol、チオール類）が主体となり、後発酵開始時のホップ添加は、官能上のホップ香氣強度は主発酵開始時にホップ添加した場合に比べて向上し、水溶性香氣成分が主体となり、疎水性の香氣成分は少なくなった。4℃冷却後のホップ添加は、官能上のホップ香氣強度も強く、疎水性香氣がホップ由来香氣成分群の主体となり、樹脂的で渋みのある香味を呈した。添加時期の違いによるホップ香氣の官能上の強度や香味の違いは、各工程での炭酸ガス発生に伴うホップ香氣成分の揮散や疎水性成分の多量に存在する浮遊酵母への吸着、浮遊酵母の存在による代謝等の影響と考えられた。

このように、主発酵工程以降にホップ添加する場合でも、そのタイミングによってビール及び発泡酒中の成分が異なることが明らかとなり、香味の特徴に応じて添加時期を考慮する必要性を示した。

以上のように、ホップによる特徴のある香氣に関する知見やタンパク質分解工程に起因する酸化劣化臭等に関する知見、柑橘系の特徴的な香りを付与する 3MH の新規前駆体を見出すなどビール及び発泡酒の香味成分に関する基盤的知見を確立することができた。

※ 14 成分：dimethyl trisulfide, 3-methyl-2-butene-1-thiol（MBT）, γ -nonalactone, (E)- β -damascenone, sotolon, ethyl 2-methylbutyrate, ethyl 2-methylpropionate, methional, 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, furfural, benzaldehyde, 2-phenylacetaldehyde, (E)-2-nonenal

（ビール・清酒のペアリングの違いに係る研究）

酒類と食との相性について語られる中で、魚料理とともに飲む酒の種類によっては生臭さを感じられるが、清酒ではその生臭さが抑えられ、食との相性が良いことが報告されていた。

ビールとスルメを食べ合わせた際には魚由来の特有の「金属臭」を感じられるが、清酒とスルメを食べ合わせた際にはその金属臭が抑えられることが確認された。そこで、当該金属臭への寄与物質の同定を試みたところ、既報の(Z)-1,5-octadien-3-one であった。次に、ビール 10 点、清酒 7 点とスルメを混合した際の(Z)-1,5-octadien-3-one の生成量を測定した結果、清酒では(Z)-1,5-octadien-3-one の生成量が抑えられており、清酒 7 点中での生成量平均値はビール 10 点中での生成量平均値の 7 分の 1 程度の濃度と非常に低い値となった。

以上の結果から、魚の生臭さの要因の一つともされる「金属臭」は清酒中で生成されにくく、清酒と食との相性を定量的に初めて示した。

（酒類原料の特性に関する研究）

毎年、気象データから地域ごとの清酒原料米の酒造適性を予測し、酒造着手時期に情報提供した。なお、予測に対し実際の米質について酒造終了時に聞き取り調査を行い、概ね的中したことを確認した。また、清酒原料米の特性を把握するため、令和3年度～令和6年度に18県で栽培された酒造用原料米41品種230点の醸造適性解析を行い、清酒製造関係者に原料米情報を提供した。

清酒原料米のタンパク質について、これまでに蓄積された酒米早期分析データ及び地域気象観測データを用い、出穂日に基づき算出した気温条件と白米の粗タンパク質含量との関係性を米品種ごとに解析した。その結果、多くの品種で最低気温と粗タンパク質含量が正に相関する傾向が認められたことから、出穂期の夜間の気温が粗タンパク質含量に影響する可能性が示唆された。また、原料米タンパク質組成については、原料米のタンパク質のうち、易消化性のグルテリンや難消化性のプロラミン、その両者に属さないその他のタンパク質に着目し、総タンパク質に占める割合やグルテリン／プロラミン比を算出し、タンパク質組成に対する米品種や精米歩合が与える影響を解析した。その結果、精米歩合90%の白米中のグルテリンはプロラミンの約2倍量存在し、総タンパク質に占めるグルテリンの比率やグルテリン／プロラミン比は米中心部で米品種間の傾向として表れやすく、他の品種と比べて「五百万石」で有意に高いことを明らかにした。さらに、粗タンパク質含量が同程度の米品種であっても、タンパク質組成は有意に異なっている場合があり、「山田錦」では総タンパク質に占めるグルテリンの比率やグルテリン／プロラミン比が比較的高いことを明らかにした。次に、グルテリン分子種（GluA, GluB, GluC, GluD）の米品種間差を検討した。まず、グルテリン分子種毎の米品種間の発現量比を免疫学的検出法により解析したところ、分子種により発現量が米品種間で異なることが分かった。また、総タンパク質に占めるグルテリン比率とグルテリン分子種の米品種間の相対発現量との相関解析から、これまで不明であった米の主要なグルテリン分子種を推定できた。

また、タンパク質の分解産物の定量法に関して比色法による定量分析法の開発に取り組み、分析値に影響を及ぼす一部の妨害成分の影響を評価し、分析法の確立に向け開発を進めた。

焼酎原料米については、デンプン生合成系遺伝子の遺伝的背景の異なる試料を用いてデンプン組成・分子構造と酒造適性との関係を調べた。その結果、インディカ品種はジャポニカ品種と異なりアミロペクチン側鎖の短いものと長いものの両方があり、当該側鎖の短いものはジャポニカ品種と同様に最大吸水率及び蒸米消化性が高いことから、遺伝的背景の違いが消化性に影響する可能性が示唆された。次に、デンプン生合成系遺伝子SSIIa遺伝子型とデンプン組成・分子構造及び酒造適性との関係を調べた。SSIIa遺伝子の強活性型（Alk）は、インディカ品種のみにみられアミロペクチン側鎖が長く蒸米消化性が極端に低かった。一方、SSIIa遺伝子の弱活性型（alk）は、ジャポニカ品種とインディカ品種の両方にみられ、アミロペクチン側鎖が短く蒸米消化性が高かった。以上から、泡盛原料米や海外の清酒醸造でインディカ品種を使う場合、原料米の遺伝的背景の違いが消化性に影響する可能性が明らかになった。

新規原料米評価法は、これまでに尿素やアルカリを用いた簡易溶解性判定法を開発してきたが、当該判定法にデンプン糊化作用を有する塩酸グアニジン、DMSOなども利用できることを明らかにした。また、別の評価法として膨潤温度の測定から溶解性判定する方法（加温膨潤法）を考案した。加温膨潤法は従来からの熱分析による簡易法（DSCやRVA）と比較し

て、精度は同等で試料の粉碎は不要となり、1回に測定できる検体数は従来法の1検体に対し加温膨潤法では8検体の同時測定が可能となっている。また、尿素やアルカリを用いた簡易溶解性判定法と比較しても水分や精米歩合の影響を受けにくいことや清酒用の白米以外の試料（玄米や焼酎原料については、前処理が必要は場合もあるが一部の項目は評価可能）にも適用できるなどを明らかにしてきた。次に、加温膨潤法を現場において初めてでも取り組みやすいように、3検体 20 分加熱とする初期導入用の方法に改良して、同一産地品種で年次の異なる試料を用いて解析した。その結果、当該法で得られた値は DSC 糊化温度や蒸米消化性と高い相関性を示し、年次変動した試料の評価が可能であり、現場での溶解性の評価が可能と考えられた。

今後も引き続き、原料米タンパク質については品種間差の解析とともに、その分解物の分析方法構築に取組み、精米・品種等の影響を明らかにし、原料米の新規評価法については現場への普及を目指した取組みを行う。

（各種酵母菌株のゲノム情報の収集及び解析）

各種酵母菌株のゲノム情報については、公設試験研究機関の菌株、各種の実用酒造菌株、酒造環境分離株、自然界分離株、育種改良菌株等、合計 341 点のゲノム配列を解読・取得した。得られた配列を参照配列（きょうかい7号酵母など）にマッピングし変異箇所を同定後、必要に応じて系統解析、変異分布解析、異数性解析等を実施した。

分子系統解析については、日本各地で様々な自然環境から分離された酵母の遺伝的背景の全体像を把握するとともに、これらの酵母の分離は酒類製造等への利用も背景にあることから醸造特性についても調べることにした。分離機関やカルチャーコレクションから自然環境分離株 84 株の分与を受けた（いずれもゲノム配列解読済み）。これらの菌株の分離源は花 47 株、植物（花以外）4 株、果実 12 株、樹木 6 株、落葉／土壌 9 株、水圏 1 株、昆虫 5 株であり、これら 84 株を系統解析に加えて行った（全 323 株、内自然環境分離株 84 株、内分離源が花のもの 47 株）。その結果、自然環境由来の菌株の約 70%が自然環境由来の株だけで構成された単系統群に属していた。また、日本産の自然環境分離株の系統的位置付けをより広い視野から解析することを目的として、公共 DB から取得した東アジアで分離された野生及び発酵由来菌株（中国産野生 56 株、発酵由来 117 株、台湾産野生 35 株、発酵由来 21 株）のゲノム配列情報に日本産の自然環境分離株 84 株、清酒等の発酵由来株 85 株を加えた 398 株のゲノム系統解析を行った。その結果、系統樹全体としては、野生酵母菌株と醸造用菌株とに大きく系統が二分され、野生酵母の菌株群は、日本産の株だけで構成された2つの単系統と、中国・台湾産の株及び日本産の株で構成された系統に分類され、日本の独自性の高い菌株群が存在し、系統分化後に東アジアから伝播した株の存在が示唆された。

これらの野生酵母の主な系統の菌株（日本産）について清酒小仕込み試験を行った結果、対照の清酒酵母きょうかい7号に比較して発酵力は低く、清酒の酸度は高いものの、アミノ酸度、エステル、高級アルコール類は低い傾向となった。また、すべての清酒酵母は4-ビニルグアイアコール（清酒のフェノール様オフフレーバー物質）の生成能を欠くが、自然環境分離株のほとんどは、検知閾値を大きく超える量を生成した。このような結果は、製造場の蔵付き酵母の非協会系酵母の結果と類似しているが、ゲノム情報による系統解析では分離しており、遺伝的背景は異なると考えられた。なお、菌株提供者には発酵試験結果等を返送し

た。

今後は、ゲノム系統解析については、ゲノム情報収集と併せて対象菌株を拡大していく。

（醸造に関する遺伝子及び特性を関連付ける遺伝子マッピング系の検討）

Quantitative Trait Loci（量的形質遺伝子座：以下「QTL」という。）解析系について、清酒酵母と実験室酵母との交配株由来一倍体を用いた系の改良を行った。具体的には、QTL 解析系の検出力及び分解能向上を目的に、解析に用いる一倍体を 100 から 400 株に増やし、清酒小仕込み試験（総米 100 g）の実施により表現型情報となる株ごとの発酵経過や製成酒の各種成分等のデータ収集に努めるとともに、一塩基多型をマーカーとしてゲノム全域（約 12 Mbp）に約 5,300 個設定し（約 3 kbp ごと）、既存の QTL 解析系を改良した。

QTL 解析系の検証は、既に改良前 QTL 解析系から原因遺伝子が分かっている清酒酵母が有する S-アデノシルメチオニン高蓄積能を指標に行った。その結果、今回の改良の前後で QTL 領域の候補遺伝子数が 165 個から 18 個に減少するとともに有意な QTL が新たに同定されるなど、分解能及び有用性の向上を確認した。

（清酒酵母のエタノールストレス応答機構に関する解析）

改良 QTL 解析系を用いて、清酒酵母のエタノール耐性に関与する遺伝子及び変異の網羅的同定を試みた。方法としては一倍体 400 株を用いて急性エタノール耐性試験（20%エタノール環境下で 30℃、1 時間処理）を実施し、エタノール耐性能を表現型とした。その結果、清酒酵母のエタノール耐性に関与する 5 つの QTL を同定し、その内 2 つの QTL は実験室酵母型アレルであり、清酒酵母のストレス応答欠損の原因として知られている遺伝子（*RIM15*, *MSN4*）が各 QTL に含まれていたため、当該 QTL 解析系が適切に機能することを確認した。一方、その他 3 つの QTL は清酒酵母型アレルであり、清酒酵母のエタノール耐性には新規な遺伝子の関与が示唆された。

今後は、その他の QTL についても優先度を考慮しつつ、原因遺伝子の同定を進める予定である。

（清酒酵母のエタノール高発酵性の解析）

現在までに同定されている清酒酵母に特徴的な遺伝子の内、エタノール高発酵性への寄与が知られている *ERC1* 遺伝子と *RIM15* 遺伝子とのエタノール発酵制御における関連性を検討した。実験室酵母の各遺伝子をそれぞれ清酒酵母型に改変した株を用いて清酒小仕込み試験を行った結果、清酒酵母型 *ERC1* 保有株（正常に機能する *RIM15* を保有）は清酒もろみの前半で特に高い発酵性を示し、*RIM15* を破壊した清酒酵母型 *ERC1* 保有株は、*RIM15* 単独破壊株が示す発酵挙動とほぼ同様であった。なお、*RIM15* 破壊株は清酒もろみの中盤から後半にかけて特に高いエタノール発酵性を示すことが知られている。以上の結果から、清酒酵母型 *ERC1* 遺伝子による発酵促進と、*RIM15* 遺伝子の機能欠失による発酵促進は別々の機構によるものであり、表現型においては、*RIM15* 遺伝子欠損の影響が支配的であることが示唆された。

今後は、清酒酵母型 *ERC1* 遺伝子による発酵促進機構の研究について総括する予定である。

（酵母のエタノール発酵に寄与する遺伝子の解析）

改良 QTL 解析系を用いて、製成酒のエタノール濃度に関与する複数の QTL の内、一つの有意な QTL 領域から 12 個の候補遺伝子を絞り込み、原因遺伝子の同定を試みた。各候補遺伝子について、実験室酵母一倍体において該当遺伝子を清酒酵母きょうかい7号型に置換した遺伝子置換株を造成し、清酒小仕込み試験にて製成酒のエタノール濃度を分析した。その結果、浸透圧ストレス（高糖、高塩濃度）下で活性化するキナーゼ経路の主要因子である遺伝子の置換株は親株と比較してエタノール濃度が約 1/3 に減少したことから、当該遺伝子の清酒における酵母のエタノール生成への寄与が明らかとなった。

今後は、改良 QTL 解析系の一倍体 400 株を用いて実施した清酒小仕込み試験の各種表現型に対する QTL 解析を実施し、引き続き原因遺伝子の同定を進める。

（清酒酵母の孢子発芽異常に関する解析）

清酒酵母は減数分裂による染色体組換えに異常があり、孢子発芽率が低く、孢子形成率の低さと併せ清酒酵母の交配育種の障壁となっている。現在までに、減数分裂前の DNA 二重鎖切断に寄与する実験室酵母型 *SPO11*（以下「*XSPO11*」という。）の発現によって清酒酵母の孢子発芽率の改善が報告されているが、それでも発芽率は 10%と低く *SPO11* 以外の遺伝子の関与も示唆されている。

清酒酵母の孢子発芽異常に関与する新規原因遺伝子を探索するため、様々な清酒酵母に *XSPO11* を発現させた際の菌株間で孢子発芽率の差に着目し、比較ゲノム解析により、孢子発芽率の差への関与が推定される複数の候補遺伝子を抽出した。次に候補遺伝子と *XSPO11* を孢子発芽率の低い菌株に共発現させ、単独の *XSPO11* 発現より孢子発芽率を向上させる遺伝子を同定した。同定された遺伝子はオートファジーに関係することから清酒酵母の孢子発芽異常とオートファジーとの関連性が示唆された。

今後は、今回同定された遺伝子以外のオートファジー関連遺伝子についても清酒酵母の孢子発芽異常との関係性を調べる予定である。

（麴菌群総合ゲノムデータベース（CAoGDX）の開発）

本研究で得た多数の麴菌株のゲノムシーケンス情報やパンゲノム解析結果等を公開するため、既存データベース（CAoGD）利用者のニーズも汲み取り、ベータテスト^{※1}を実施、バグフィクス^{※2}及び機能追加等を行い、麴菌群総合ゲノムデータベース（CAoGDX）として令和7年3月に正式公開をした。今後は、利用者から要望があったデータ取得条件、実験条件、使用方法の説明が表示される機能を実装する予定としている。

※1 完成が近づいたアプリケーションや web サイトをエンドユーザーに公開する前に、旧システムのユーザーなどシステムの使用経験がある者等に公開時に使用するサーバーやネットワーク環境を使って試行することを言う。これにより、想定外のエラーが発見される場合もあり、公開した時に深刻な問題が生じないように実施するもの。

※2 プログラム上のエラーやプログラム上得られたデータの間違いなどを修正する作業。

（黄麴菌 218 株を用いたパンゲノム解析）

研究所に保存されている 55 菌株の実用黄麴菌株を用いたゲノムアレイ解析から黄麴菌ゲ

ノムは 13 の系統に分かれ、当該代表株の 13 株のゲノムデータを用いた醸造関連遺伝子の解析から系統ごとの特定の変異パターンを見出してきた。さらに多様な黄麴菌のゲノム情報を用いて黄麴菌全体の系統解析を行うため、研究所に保存されている 136 株の麴菌株のシーケンス解析及び公開データベース上から多様な用途の黄麴菌 82 株のシーケンスを収集し、218 株のゲノムデータについて遺伝子予測方法を統一して再度の遺伝子予測を行った上で、パンゲノム解析を行った。そのうち、保存性が高い遺伝子（コアゲノム）をベースに各種方法の系統解析を実施した。その結果、いずれからでも得られる系統樹は非常に類似し、過去の一部の菌株を使用した系統解析の結果と一致するとともに、新たな系統も見出された。また、これまでと同様に、各系統は麴菌の用途と関連する結果となった。続いて、 α -アミラーゼなど 40 の醸造関連遺伝子について、全菌株のコピー数や配列の変異などを解析し、アミラーゼの転写因子である *amyR*^{※1} や固体培養での遺伝子発現に関与する *flbC*^{※2} 等で系統特異的な多くの配列変異が明らかとなった。系統の異なる 23 株の完全長ゲノムシーケンス情報を用いて糖質関連酵素（CAZymes）やペプチダーゼ、二次代謝産物関連遺伝子の保有数を比較した結果、これらの保有数は菌株ごとに異なることや染色体レベルでは相互転座などの染色体のリアレンジメント（再編成）が比較的多く見られ、特定の系統では高頻度に発生していることが明らかとなった。醸造に関連する系統について、清酒用の主要な系統として RIBOIS01 株等含む A 系統、清酒や味噌用の主要な系統として RIB128 株を含む C 系統、醤油用の主要な系統として、RIB915 株等を含む E 系統、RIB40 株を含む F 系統など、34 株の麴菌を使用し、製麴及び小仕込みによる清酒の特性解析を行った^{※3}。その結果、C 系統では α -アミラーゼ活性、グルコアミラーゼ活性が非常に高い一方で、E 系統では α -アミラーゼ活性が低く、A 系統ではグルコアミラーゼ活性が低かった。また、発酵特性としては清酒用の主要な系統である A 系統が低い傾向にあった。一方で、A 系統では酢酸イソamil生成量、カプロン酸エチル生成量が高く、吟醸香豊かな清酒が醸成されることが明らかとなった。今後は、さらに製成酒メタボロームとの各系統、菌株の特性を検討する予定としている。

※1 α -アミラーゼなどアミラーゼ類の遺伝子発現制御因子

※2 固体培養特異的な *glaB* 遺伝子などの発現制御に係る制御因子

※3 系統は 10 系統（A, C, D, E, F, G, J, L, M, N）

（実用種麴菌株のゲノム解析と表現型解析）

実用種麴菌の解析については、清酒及び味噌醸造で実利用されている種麴菌 7 株と野生株（RIB40）、初期単離株（RIB430）、醤油株（RIB915）、旧清酒株（RIB128）の計 11 株について α 化米にて米麴を作成し、酵素活性測定及び RNAseq 解析を実施した。その結果、高グルコアミラーゼ菌ではグルコアミラーゼ遺伝子の発現が RIB40 株の約 2 倍と非常に高く検出されたが、同菌株では転写制御因子 *amyR* の発現が高いことが、グルコアミラーゼ発現が高い要因の一つであると推察された。種麴菌での醸造に関わる遺伝子群の α 化米麴での発現プロファイルを取得し、菌株ごとの特性を捉えることができた。今後、清酒小仕込み試験により清酒成分への影響を検討する。

（米麴タンパク質（RKP）遺伝子破壊株の解析）

清酒醸造への寄与が推定される遺伝子の機能解明については、製麴過程に発現される遺伝

子や生産されるタンパク質の全貌が不明であり、その多くは清酒醸造に対する影響が明らかでない。そのため、米麴（普通麴、吟醸麴）のプロテオーム解析により生産が確認されている米麴タンパク質（RKP）に着目し、これをコードする遺伝子が清酒成分に及ぼす影響について検討した。RKP 遺伝子の破壊株の作成を試み 84 株を取得し、これらを用いて製成した清酒についてメタボローム解析を行った。その結果、ピーク強度が大きく変動したピーク（変動ピーク）を多数有する RKP 遺伝子破壊株（ Δrkp 株）13 株では、変動ピークの多くが共通しており、それらは麴菌の生育不良や醗酵不良に関係する成分由来のピークである可能性が示唆された。一方で、変動ピーク数が少数であった Δrkp 株 44 株については各変動ピークの保持時間及び質量電荷比により成分の推定を行った。推定される成分の中には、生合成経路が不明なものもあり、RKP 遺伝子の機能推定に資する知見が得られた。また、メタボローム解析に加え、米麴の菌体量、酵素力価、小仕込みデータ、製成酒の一般分析、香氣成分分析結果を用いて主成分分析を行った結果、ホモカリオン破壊株^{※1}と比べ、ヘテロカリオン破壊株^{※2}ではプロット位置が異なる菌株が多いことが示された。特に、違いが大きかったヘテロカリオン破壊株では、粕重量及びオリゴ糖・多糖由来と推定されるメタボロームピークの強度が高い傾向が示された。ヘテロカリオンとなる RKP 遺伝子は必須遺伝子である可能性が大きいため、遺伝子破壊が生育に影響を与え、さらに酵素生産に影響を与えていることが推測された。また、米麴の特性と製成酒のエタノール濃度に着目すると、遺伝子破壊に対するコントロール株に比べ、米麴菌体量及び酵素力価が同程度に減少した菌株が存在した。しかし、これらの菌株では、酵素力価等は同程度に減少しているものの、製成酒のエタノール濃度がコントロール株並みに高い菌株と減少している菌株が存在した。これらの菌株間の違いについては現在検討を進めている。

※1 麴菌細胞内に存在する複数の核について、全ての核で遺伝子破壊が行われた破壊株。

※2 麴菌細胞内に存在する複数の核について、一部の核のみで遺伝子破壊が行われた破壊株。遺伝子破壊の実験においてヘテロカリオン破壊株のみが取得される場合、破壊対象とする遺伝子が必須遺伝子である可能性があり、生育に欠かせない遺伝子であると考えられる。

（ゲノム編集技術を用いた麴菌の解析と育種）

ゲノム編集を利用した麴菌の育種法による醸造の主要酵素の生産性改変の基盤を構築するため、麴菌株の非相同末端結合遺伝子（*ligD*）を破壊することで相同組換え系を構築し、新たに遺伝子マーカー（*niaD*）を付与した。また、核酸塩基の輸送体（FcyB）をターゲットとして遺伝子破壊株及び相補株を作出し、遺伝子破壊株のみ抗真菌剤に耐性を示すことからマーカーとしての有効性を確認した^{※1}。*fcyB* 破壊株は生育、分生子着生、米麴での酵素活性などの特性が親株と変わらないことから、実利用マーカーとしての有用性が示唆されるとともに、破壊株に対して *ptrI* をマーカーとして共ゲノム編集が可能なことを確認し、これらのマーカーを用いた多重ゲノム編集が可能であることが示された。

実用株で主要醸造酵素 4 種の遺伝子破壊株を作成し、米麴の酵素活性を確認したところ、それぞれの酵素活性が、 α -アミラーゼ破壊株では約 1/3 に、グルコアミラーゼ破壊株では約 1/5 に、酸性プロテアーゼ破壊株では約 1/2 に、酸性カルボキシペプチダーゼ遺伝子破壊株では約 1/3 に低減した株を取得した。醸造酵素の高生産性株については、グルコース抑制に関わる転写因子結合配列欠損やプロモーター挿入により α -アミラーゼ高発現株、グルコアミラ

一ゼ高発現株を得た。これらの主要醸造酵素のうち3種の破壊株及び α -アミラーゼ高発現株、グルコアミラーゼ高発現株について、 α 化米にて製麴し、清酒小仕込み試験を実施した。 α -アミラーゼ破壊株では発酵不順となり、酸性プロテアーゼ破壊株は、明らかに発酵の遅延となり、 α -アミラーゼ及びグルコアミラーゼ高発現株では発酵が促進した。酸性プロテアーゼや酸性カルボキシペプチダーゼの高生産株は、開発した *fcyB* マーカーを活用した多重変異により取得し、今後、各種試験を実施する予定である。*fcyB* マーカーについては、他菌株での利用性の拡充を図るために白麴菌のプロテアーゼの転写因子 *prrR* の破壊株を作成し、ハローの消失により酸性プロテアーゼ活性の低下が確認され、マーカーとしての実用性が確認された。現在、オフターゲット^{※2}解析を実施して安全性の確認を行っている。

また、ゲノム編集を利用して誘導性プロモーターの制御下で有用物質（エルゴチオネイン）の生産系を構築し、生産量が約 34 倍に向上していることを確認するほか、オフフレーバー低減を目的として実用株の *mreA* 破壊の共ゲノム編集を実施し、製麴での当該酵素活性とイソバレルアルデヒドの低減、清酒小仕込み試験により製成酒中のイソバレルアルデヒド量の低減を確認した。また、同株の全ゲノムシーケンスによるオフターゲット解析を実施しオフターゲット変異が生じていないことを確認した。

※1 麴菌では既存のマーカーとして、*niaD*（亜硝酸還元酵素）、*sC*（ATP スルフリラーゼ）、*pyrG*（オロチジン-5'-リン酸デカルボキシラーゼ）などの栄養要求性マーカー、*prrI*（チアミン輸送体と推定）の薬剤耐性マーカーが利用されている。

※2 変異目的以外の部位へ予期せぬ変異が起こること。

（黒麴菌に関する研究）

黒麴菌の有性生殖について、黒麴菌には遺伝子マーカーがないことから、MAT1-2 株として胞子の色が異なる白麴菌 NBRC 4308 と黒麴菌 MAT1-1 株全 10 株について対置培養を行うことで菌核様構造体の形成を確認し、さらに菌核様構造体に混在する分生子等は 55℃加熱処理で除去できることを見出している。分生子等を除去した菌核様構造体から分離・培養した菌株を PCR 法により解析した結果、極度に効率は低いが MAT1-1 株と MAT1-2 株間で有性生殖による染色体交換が行われた可能性が示唆された。同実験を再現した結果、菌核様構造体の形成は確認できたものの、当該構造体から菌株を分離・培養できず再現性が確認されなかった。白麴菌は既に 100 年近い継代培養による変異が蓄積していること、また、塚原らによる黒麴菌の系統解析では大きく 2 つの系統になり MAT1-1 株と白麴菌は各々属する系統の違いが障壁となったことなどが可能性として考えられる。

α -アミラーゼなどアミラーゼ類の遺伝子発現制御因子として、他の *Aspergillus* 属では *AmyR* が知られている。そこで黒麴菌 *Aspergillus luchuensis* の転写因子 *amyR* 破壊株による製麴を行い、各種性質を調べた。その結果、2 つの α -アミラーゼのうち耐酸性 α -アミラーゼは抑制され、中性 α -アミラーゼは発現していたことから、黒麴菌では耐酸性 α -アミラーゼのみが *AmyR* の制御下にあることが明らかとなった。その他、グルコアミラーゼや α -グルコシダーゼも *AmyR* の制御下にあることが明らかとなった。また、*amyR* 破壊株ではクエン酸の生産が低下したことから、炭素源の供給律速が要因となっていることが示唆されたため、炭素源の供給に寄与すると予想される糖質分解系酵素のうちグルコアミラーゼを *amyR* 破壊株において強制発現させた。その結果、グルコアミラーゼの強制発現により、*amyR* 破壊株

の糖化力は2割回復し、クエン酸生産量を2割程度まで回復できることを示した。

キシラナーゼの遺伝子発現制御因子 XlnR についても同様に検討した。xlnR 遺伝子の破壊株の麦麴でのキシラナーゼ活性低下について解析した結果、RNA 発現の網羅的解析から主要な既知の3つのキシラナーゼは転写因子 XlnR の制御下にあることを示した[※]。一方、xlnR 破壊株でも示されるキシラナーゼ活性もあることから、XlnR に制御されない新規のキシラナーゼの存在を予想し、ゲノム情報から候補となるキシラナーゼ遺伝子を検索し、3つの候補遺伝子を見出した。次に当該候補遺伝子のキシラナーゼ活性の有無を調べるため酵母による異種発現を試みた。その結果、シグナル配列の最適化を図った上で酵母の異種発現系に導入すると、3つの候補遺伝子のうち1つにおいてキシラナーゼ活性を確認した。当該キシラナーゼを精製し、性質を詳細に調べたところ、N 末端配列解析により分泌シグナル配列が切断され、培地中に分泌生産されたことが確認できた。RBB-Xylan を基質として諸性質を調べると、最大活性を発揮する至適 pH は 3.0~3.5 であり、pH 2.6~4.0 の間でも最大活性の 70% 以上のキシラナーゼ活性を示すことが確認され、好酸性キシラナーゼであることが明らかとなった。また、至適温度は 40℃、耐熱性は 4~40℃において 18 時間処理でも活性をほぼ 100% 保持していた。エタノール濃度 30% で 18 時間処理後の残存活性は 78% であり、10% エタノール存在下ではエタノール非存在下の活性と比べ 62% の活性を示した。

以上の結果から、新規キシラナーゼは、アルコール濃度が低い焼酎もろみ初期の原料溶解に寄与していると考えられた。今後は、糖質分解酵素と同様に酒類製造原料の分解に重要な酵素であるプロテアーゼの発現を制御している転写因子の解析を行う予定である。

※ *A. oryzae* では XlnR により複数のキシラナーゼの発現が制御されていることが知られているが、*A. luchuensis* の XlnR に制御されている遺伝子は報告されていない。

5 評価結果

・必要性

- ☐極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

- ☐高い ☒やや高い ☐妥当な範囲 ☐やや低い ☐低い

・有効性

- ☒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

酒類産業の技術支援において、基礎的、基盤的研究を行うことは重要なことである。本研究課題では、原料米、ブドウ、醸造微生物（酵母）において、基礎から応用まで幅広い成果が得られており、発表論文数も非常に多く、特に醸造学会技術賞などを受賞している。また、CAoGDXの実装や簡易な原料米の溶解性評価法、清酒酵母のQTL解析法などのアウトカムが見込まれる成果が得られている。第6期においても、酒類総合研究所が高度な基礎研究を元に、技術支援を行うことは極めて重要な課題であり着実にまた迅速に実施すべきと考える。特に、「気候変動への対応」や原料の「地域多様性」について、今後の重要性はさらに増すと考えられる。また、日本酒醸造ビッグデータの研究に見られるように、清酒醸造の基盤とも言えるデータが蓄積しつつある。本研究は、急速に発展している生成AIの開発を考慮すると、迅速に研究を進めることで大きな波及効果が期待される。そこで第6期では、十分な予算を確保するとともに、嗜好性の課題と合わせ研究を進める必要がある。酵母のゲノム研究については、広く利用可能な体制を検討することが望まれる。また、焼酎の研究については、日本産酒類の競争力強化等に関する研究との連携も検討しつつ取り組むことが望まれる。

課題名：酒類の品質及び安全性の確保に関する研究

1 実施者

岩下和裕、赤尾 健、向井伸彦、高橋正之、金井宗良、清水秀明

2 中期計画記載内容

酒類業の振興のためには、酒類が安心して消費される環境が必要であり、酒類の品質及び安全性の確保が不可欠であることから、国税庁及び関係機関と連携して取組を実施する。

イ 酒類の品質及び安全性を確保するため、製造工程中の微生物叢等の実態把握及び研究を実施する。

なお、新たに酒類の品質又は安全性に関わる重大な問題が明らかになった場合は、優先して取り組み、消費者等へ情報を発信する。

(ロ～ハは省略)

3 研究目的及び概要

生醗系酒母造りにおける乳酸菌や、酵母無添加仕込みで生育するいわゆる「蔵付き酵母」のような製造場の醸造環境に生育する微生物の特性を解析し、醸造上の役割や品質に与える影響を明らかにする。また、得られた各醸造環境微生物に関する基礎的知見を活用し、品質安定化や生育予測・制御に基づく製造工程管理技術の向上などに資する。

ワインの品質確保に資するため、亜硫酸及び市販ワイン酵母無添加ワイン製造中に起こりうる微生物の挙動とリスクを整理し、製造現場への技術的フィードバックを行うことで、日本ワインの品質向上及び技術基盤の強化を図る。

4 主な研究成果及び知見

(生醗乳酸菌関係)

従来、生醗系酒母においては *Latilactobacillus sakei* 及び *Leuconostoc mesenteroides* の2種のみが主要な乳酸菌として働いていると考えられてきたが、近年上記2種以外の菌種の検出も報告されてきた。全国各地の清酒製造場の生醗系酒母から乳酸菌を単離・同定した結果、6種18株の酒母由来乳酸菌株（以下「単離乳酸菌」という。）を取得し^{※1}、清酒製造場毎に生育する乳酸菌や菌叢変遷のDNAレベルの網羅的菌叢解析から、乳酸菌や菌叢変遷の多様性を確認した。

同一製造場の異なる年度（令和2酒造年度/令和4酒造年度）における菌叢の違いを調査した結果、2ヶ年の乳酸菌叢変遷は、概ね類似した菌叢となる製造場と大きく異なる菌叢となる製造場の両方が見られた。検出された乳酸菌の系統解析の結果から、異なる醸造年度間で乳酸菌叢が維持されているケースも見られたことから、製造場によっては乳酸菌のハビタットが安定的に存在できる環境が保たれ、その結果、生醗系酒母に関与する乳酸菌を維持できる可能性も考えられた。

技術書では「乳酸球菌である *Leuconostoc* 属が初期に生育し、その後乳酸桿菌である *Latilactobacillus* 属へ優占種が交代する」とされており、この理由については様々な要因が提案されている。これまでの研究から優占種の交代は必須ではないことを明らかとしたが、優占種の交代が起こる場合には何らかの要因により乳酸球菌の生育が抑制、あるいは乳酸桿菌の生育が誘導されている可能性は否定できない。

この要因を明らかにするため、単離乳酸菌株6種 18 株に基準株2株を加えた20株について、栄養要求性や温度等により各株の生育が受ける影響を調査した。亜硝酸に対する感受性やアミノ酸等の栄養要求性を解析した結果、*Leuconostoc* 属と *Latilactobacillus* 属で共通する傾向は見られず、従って、菌叢変遷が起こる場合であっても、亜硝酸やアミノ酸濃度などが主たる要因ではないと考えられた。次に、ジャーファーマンターを用いて pH を変えた低温条件（4℃、6℃、9℃）の生育速度を解析した。その結果、概して *Leuconostoc* 属全 12 株が低温で生育が良好なものの、*Latilactobacillus* 属7株のうち4株は9℃で辛うじて生育し、*Enterococcus* 属1株は生育しなかった。生醗系酒母の初期の品温は、好ましくない微生物の生育を抑えつつ環境由来の乳酸菌の自然増殖を待つことを意図して低温に保持し、環境由来の乳酸菌の自然増殖を待つことから、初期の品温推移が初期の菌叢に影響を与えている可能性が示唆された。前述の各種温度及び pH 条件下での生育速度のデータを拡充することで構築した生醗乳酸菌の生育挙動予測モデルから各乳酸菌株の比増殖速度が温度と pH により受ける影響を評価したところ、*Leuconostoc gelidum*/*Leuconostoc gasicomitatum* は低温増殖性を示し、*Leuconostoc mesenteroides* や *Leuconostoc citreum* は他の生醗系乳酸菌種と比較して低 pH 環境下で生育可能であることが示され、一部のメーカーの菌叢解析で見られた *L. gelidum*/*L. gasicomitatum* から *L. citreum* への菌叢変遷を推定できた。また、暖気等による一時的・局所的品温上昇の影響を評価したが、酒母全体で見た場合に各乳酸菌株の生育速度に大きな影響を与えなかったため菌叢変遷の主要因である可能性は低く、むしろバッチ毎の初期の菌叢（乳酸菌種や各菌数）がバッチの菌叢変遷を決定する要因の一つであることが強く示唆された。この他、令和2酒造年度（2021年）単離乳酸菌株と昭和9年（1934年）に報告された生醗系酒母からの単離乳酸菌株は同一種であるが比増殖速度の温度・pH 依存性などの特性が大きく異なることが明らかとなり、同一乳酸菌種の株間の増殖特性の違いも、技術書通りの菌叢変遷の再現が困難な原因の一つである可能性が示唆された。

今後は単離乳酸菌の乳酸生成能の解析を進め、酒母における菌叢変遷予測モデルの構築を進めるとともに、酒母の初期菌叢を構成する乳酸菌の由来について調査を進める予定である。

なお、本研究で全ゲノム配列を基にバクテリアを正確に同定するため入力配列間で増幅産物のサイズか内部配列の違いが最大化するような増幅産物が得られるプライマーセットを設計するアルゴリズムを開発した^{※2}。開発したツールは Shrs と命名してインターネット上の The Python Package Index に登録した。これにより MIT ライセンスの下で自由に使用することができる。

※1 6種は次のとおり。*Enterococcus faecium*, *Latilactobacillus curvatus*, *Latilactobacillus sakei*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc gelidum*, *Leuconostoc mesenteroides*.

※2 亜種かそれ以下の分類群でのバクテリアの同定のためには、MLST 法や AFLP 法のようなコストや時間のかかる分析を行う必要があるが、当該アルゴリズムにより設計したプライマーセットにより *Lactobacillus delbrueckii* 6 亜種を解析した結果、6 亜種は明確に分類され、その解像度は MLST 法と同程度であった。

（酒造環境酵母関係）

全国で酵母無添加仕込みを採用する清酒製造場が増加傾向にあることから、そのような条件下で生育する酵母の実態解明を目的として、これまでに25製造場の酵母無添加酒母又は醪から酵母菌株を分離した。簡易判別試験の結果、16場では協会系酵母が優勢であり、従来から使用されている純粋培養された協会系酵母の蔵付酵母化が示唆された。一方、残りの9場では非協会系酵母が優勢であ

り、これらが蔵付酵母化していると考えられた。

清酒の生酏系酵母製造の最終段階である温み取り（アルコール存在下での加熱処理）工程は、当初は弱性酵母や雑菌の淘汰、もろみの発酵急進の抑制等の効果があるとされていたが、後に正常に育成された生酏系酵母では不要とされ、次第に行われなくなっていた。しかし、最近では生酏系酵母の増加傾向と併せ、伝統的酒造技術として採用する製造場が散見される。一方、今日の主流の協会系清酒酵母は醸造特性に優れるがストレス耐性が低く、当該酵母が優勢な酒母の温み取りは生菌数低下を招くおそれがある。そこで、生酏酒母環境を模した再現性の高い生酏モデル系を構築し、協会系清酒酵母5株（きょうかい6号、7号、9号、10号、11号、以下「協会系酵母」という。）及び非協会系清酒酵母9株（過去に分譲株等3株、生酏分離株1株、最近の酒造場分離株5株、以下「非協会系酵母」という。）について温み取りによる生菌数変化を調査し、その効果等の再検証を行うこととした。生酏モデル酒母を育成し、アルコール10%弱及びボーメ10強を目安に品温20℃からスタートして温み取り（30℃、32℃、35℃で16時間保持）工程で生菌数を調べた。その結果、協会系酵母では一様に生存率低下が見られ、処理温度が高いほどその程度は大きかった（低下が最も顕著な場合で約3%）。一方、非協会系酵母は、温み取り工程を実施しなかった場合と比較してほとんど生菌数が低下しない（もしくは増加する）株、生菌数が低下する株のいずれも観察されたものの、後者の菌株でも、その程度は協会系酵母ほど顕著ではなかった^{*}。以上から、温み取りによる酵母の生菌数への影響は、菌株により程度の違いはあるが、非協会系酵母は協会系酵母より受けにくい傾向があり、温み取りを実施する際には酒母中で優勢な酵母が協会系酵母か非協会系酵母であるかを考慮することが重要と考えられた。協会系清酒酵母が酒母中で優勢な場合は温み取りによって酵母の生存率が低下し、発酵が緩慢となるおそれがあるため、もろみの踊り工程（三段仕込みの途中で酵母の増幅を図る期間）を通常1日のところ2日間取って生菌数を回復させる必要性が示唆された。

次に、協会系酵母と温み取り耐性の異なる非協会系酵母6株を用いて温み取り処理の有／無、踊り1日／2日の4試験区の生酏モデル酒母を使用した清酒小仕込み試験（三段仕込み）を行い、生菌数、清酒のもろみの経過や製成酒成分に及ぼす影響を検討した。

その結果、協会系酵母では、温み取りで生菌数が低下しても、踊り2日区は1日区より生菌数が回復傾向にあることから「2日踊り」の効果を確認したものの、温み取り実施区では発酵の立ち上がりが遅延する傾向があった。製成酒のアルコール濃度は、温み取り実施区より非実施区の方が、踊り1日区より2日区が高い傾向を示した。ピルビン酸濃度は温み取り非実施区でゼロに近かったが、実施区では高い値を示した。これらのことから、初期の酵母密度が発酵の進行に影響することが示唆された。しかし、その他の成分値には全体として顕著な傾向は認められないことから、温み取りの影響は危惧するほどではないが、安全醸造上のリスクになり得ると考えられた。一方、非協会系酵母では、上槽前生菌密度は温み取り実施の有無に関係なく踊り2日区は1日区より低い傾向にあるが、製成酒の成分値は各試験区の間の特段の差違は観察されなかった。なお、製成酒の成分・酒質に関しては、協会系酵母と非協会系酵母の比較では、協会系酵母の発酵度がより高く（高アルコール濃度、高日本酒度、低ピルビン酸）、酸度がより低く、アミノ酸度がより高く、E/A比がより高い傾向が認められた。

以上の結果から、酵母無添加生酏で温み取り工程の実施を検討する場合、優勢な酵母の系統を事前に把握する必要性があると考えられた。今後、同一製造場での酵母無添加仕込みの経年変化を調査するとともに、温み取りの製成酒への影響についてさらに検討を進める。

※ 協会系清酒酵母の内、きょうかい7号のアルコール耐性変異株（きょうかい 11 号）は例外で、温み取りによる酵母の生菌数の影響を受けにくかった。

（亜硫酸及び市販酵母不使用のワインの品質確保に関する研究）

研究所の圃場のワイン用ブドウを用いて亜硫酸及び市販ワイン酵母の添加・無添加比較試験を小規模試験醸造（以下「ラボ仕込み」という。）で行った。添加条件では *Saccharomyces cerevisiae* が速やかに優勢になり発酵が完了したが、無添加の条件では 12 点の内 11 点でアルコール発酵が起こったものの、*S. cerevisiae* が優勢になったのは 7 点、non-*Saccharomyces* が優勢になったものが 4 点、また、乳酸菌が増殖し、発酵が停止した醪が 1 点あり、酒造りに重要な *S. cerevisiae* が確実に優勢になる訳ではなかった。当該ワインのうち、発酵が停止した 1 点、品質に難があった 2 点を除いた 9 点（*S. cerevisiae* が優勢になったもの 7 点、non-*Saccharomyces* が優勢になったもの 2 点）を、官能評価で比較したところ、「複雑さ」のスコアは無添加ワインが高かったが、「品種特性」「クリーン」のスコアは亜硫酸及び市販ワイン酵母を添加したワインの方が高かった。

次に、同一ブドウを用いて、ワイナリー環境とラボ仕込みの比較試験を亜硫酸及び市販ワイン酵母無添加で行ったところ、ワイナリーのプロセスを経た醸造では、調査したブドウ 4 品種全てで *S. cerevisiae* が優勢になったが、畑で収穫したブドウを用いたラボ仕込みでは、前年同様 *S. cerevisiae* が確実に優勢になる訳ではなかった（26 点の内 16 点が non-*Saccharomyces* 優勢）。ラボ仕込みにおいても、ブドウ由来の多様な non-*Saccharomyces* 酵母によりアルコール発酵自体は起こったものの、*S. cerevisiae* が優勢にならないとアルコール発酵が途中で停滞するとともに、酢酸濃度が 1000mg/L を超える場合もあった。ラボ仕込みでは、ワイナリーで原料ブドウを処理するプレス機や除梗破碎機を使用せず、同等の操作は殺菌した小型器具を用いたことから、ワイナリー環境で *S. cerevisiae* が優勢になったのは、ワイナリー環境に棲みついている *S. cerevisiae* が関与をしている可能性が考えられた。

そこで、醸造プロセスに関係する器具や機器、醸造施設、さらには壁面や通風口など様々なワイナリー環境の拭き取り試験を行ったところ、醸造器具から *S. cerevisiae* が単離され、当該 220 株と発酵終了時の醪から単離した *S. cerevisiae* 240 株（合計 460 株）について、 δ -sequence typing パターン^{※1}（以下「 δ パターン」という。）を調べた結果、醸造器具から 27 パターン、発酵終了時から 25 パターンが観察され、13 パターンが共通していた（発酵終了時の 240 株中 203 株：84.6%）。

さらに、MIG-seq 法^{※2}により単離した 460 株を系統解析した結果、概ね δ パターンを反映した 7 つの主要なクレードに分類され、内 2 つは市販ワイン酵母群の近くに分布し、内 5 つは離れて分布した。全てのクレードに醸造器具由来と醪由来の両方の *S. cerevisiae* が存在していたことや δ パターンの共通性から、醸造器具由来の *S. cerevisiae* はアルコール発酵に関与する一要因と考えられた。また、酵母無添加醪でワインのアルコール発酵に関与した *S. cerevisiae* の菌叢は、 δ パターンでも MIG-seq 法による系統解析でも、同一ワイナリーにおいて単純ではなく、仕込み毎に異なり、様々な系統が優勢になる傾向が観察された。

単離した 460 株の内、各クレードから選抜した 24 株及び市販ワイン酵母 6 株（合計 30 株）による発酵試験を行ったところ、自然発酵醪から単離した株群は、発酵の立ち上がりが市販ワイン酵母群に比べて有意に速かったが、発酵速度に有意な差は観察されなかった。最終アルコール分は、嫌気条件では低いクレードもあったが、発酵初期を好気条件にして発酵終了のタイミングを遅らせたところ市販ワイン酵母と同程度の値となった。

今後は、亜硫酸及び市販ワイン酵母を使用しないワイン製造の知見を踏まえ、より多くのワイナリーの実態を把握するため、調査対象を拡げて研究を実施する予定である。

※1 レトロトランスポゾン末端反復配列である δ -sequence を PCR で増幅させて、電気泳動のバンドパターンによってタイピングする方法。

※2 単純反復配列に挟まれた ISSR (inter-simple sequence repeat) 領域を PCR で増幅、次世代シーケンサーで分析、SNP 抽出して、ジェノタイピング (遺伝子型特定) をする方法。当該手法の開発者の陶山教授らとの共同研究で実施。

5 評価結果

・必要性

- ☒ 極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

- ☐ 高い ☒ やや高い ☐ 妥当な範囲 ☐ やや低い ☐ 低い

・有効性

- ☐ 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

酒類の品質及び安定性の確保、亜硫酸及び酵母不使用のワインの品質確保についてはいずれも重要な課題と認識される。特に、「伝統的酒造り」のユネスコ文化遺産登録、果実酒製造免許場数の急増を受けて、これらの研究の重要性は当初よりも大幅に増していると認められる。研究成果については、長い酒造研究史でも解析が難しいとされていた困難な研究であるにもかかわらず、ゲノムシーケンスをベースとした高度な結果が得られるものと見込まれる。また、第6期においても重要な研究であると考えられる。今後は計画どおりにデータの蓄積を図るとともに、第6期では、予算の裏付けのもと生成 AI 等の利用を視野に入れた研究の展開を検討すべきと思われる。なお、自発的発酵の研究を含め、安全性については引き続き情報収集を行うとともに分析体制等の検討など、継続的な取組を実施する必要がある。

課題名：酒類の適正課税及び適正表示の確保に資する研究

1 実施者

奥田将生、赤松史一

2 中期計画記載内容

国税庁の税務行政に直結する業務を基本とし、適正課税のための取組を実施する。併せて、適正表示確保の観点からは、国税庁が定める酒類の表示の基準の適切な執行を支えるための取組を実施する。

（イ～ハは省略）

ニ 法令等で定められている酒類の表示の適正性の確保に資するため、酒類及び酒類原料の判別手法等の開発・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

清酒無機成分の産地の影響の解明により地理的表示など表示の適正性の確保に資する。

法令等で定められている酒類の表示の適正性の確保に資するため、ワインの補糖推定及び純米酒の炭素安定同位体比の基盤知見を得る。

4 主な研究成果及び知見

（産地等の分析・鑑定の理論的裏付けとなる研究）

日本列島は、糸魚川静岡構造線を境に東北日本と西南日本で地質が異なっており、清酒の仕込水は地質に影響を受けると考えられる。そこで、市販清酒 553 点の 21 無機元素濃度の地域性を検討した。

東北日本と西南日本では、ホウ素及びバナジウムは東北日本が、ストロンチウム、バリウム、リチウムは西南日本で高い傾向がみられた。地域単位では、バナジウムは富士山周辺と九州地方で、リチウムは中国・九州地方でやや高い傾向がみられた。

全国地球化学図（河川堆積物の分析から作成された元素の濃度を示す地図）に用いられた無機元素濃度のデータベースから市販清酒分析試料の産地近傍のデータを抽出し清酒無機元素濃度と比較したところ、単相関解析では両者に強い相関関係は認められなかった。しかし、両者の値を日本地図上にマッピングすると、リチウム、バナジウム、マグネシウム等において、濃度が高い清酒の産地では河川堆積物濃度も高い傾向が認められ、これらの元素濃度が高い清酒は産地の地質の影響を受けている可能性が示唆された。

また、農産物の産地判別指標として報告されるストロンチウム同位体比を解析したところ、同一製造場から入手した 42 組の仕込水と清酒との間には高い相関関係がみられ値は概ね一致した。清酒のストロンチウム同位体比の地理的分布は、北海道・東北、九州北部で低く中部や近畿で高い傾向がみられ、穀物や河川堆積物のストロンチウム同位体比の傾向と概ね一致した。以上から清酒のストロンチウム同位体比は、産地の地質が反映されていることが示唆された。

ストロンチウム同位体比の決定要因を検討するため、ストロンチウム同位体比地図において異なる値を示す地域から水と米を各 3 試料入手し、米と水の組み合わせを変えて小仕込み

試験を行った。仕込水及び製成酒のストロンチウム同位体比分析の結果、製成酒の値は仕込水の値と概ね一致した。すなわち、製成酒のストロンチウム同位体比は仕込水の値を反映することが実証された。

今後も国内清酒の産地の特徴を明らかにするため、引き続き全国的規模で清酒無機元素濃度やストロンチウム同位体比を解析するとともに、ストロンチウム同位体比の決定要因を明らかにする予定である。

（酒類原料の判別手法等の開発・高度化に関する研究）

ワインに関しては、これまでに、ワインのエタノールの炭素安定同位体比から原料ブドウの糖類の炭素安定同位体比を推定する方法を開発している。当該推定法は、ワインのエタノールの基質となった糖類の炭素安定同位体比をワインから直接推定可能とするものであり、今後の日本ワインの補糖量推定の基盤となる知見が得られている。一方で、国産ブドウの糖類の炭素安定同位体比の知見は限られている。そこで、ブドウ果汁に含まれる糖類の炭素安定同位体比の変動について、同一圃場から3年間収穫された白ワイン用ブドウ5品種及び赤ワイン用ブドウ5品種を用いて収穫年と品種の影響を評価した。その結果、ブドウ品種の果汁に含まれる糖類の炭素安定同位体比は、降雨量の少ない年ほど高い値を示し、品種間に有意差が認められた。以上のことから、ブドウ果汁の糖類の炭素安定同位体比を反映する国産ワインのエタノールの炭素安定同位体比は、原料ブドウの品種及び収穫年の影響を受けて変動することが示唆された。各品種の異なる収穫年のブドウ果汁に含まれる糖類の炭素安定同位体比の範囲の把握により、製成ワインのエタノールの炭素安定同位体比の範囲が推定可能となり、日本ワインの補糖量推定の基盤となるデータを取得できた。

清酒に関しては、瓶内二次発酵と二酸化炭素注入で製造された発泡性清酒の二酸化炭素の炭素安定同位体比分析を行い、比較を行った。その結果、瓶内二次発酵で製造された発泡性清酒の二酸化炭素の炭素安定同位体比は、二酸化炭素注入で製造された発泡性清酒よりも高い値を示した。発泡性清酒の主要な製造方法である瓶内二次発酵と二酸化炭素注入は、製品に含まれる二酸化炭素の炭素安定同位体比の違いを利用した判別の可能性が示唆された。

また、原料米の糖分解に伴うグルコースの炭素安定同位体比の変動を評価するため製麴と糖化試験を行った。その結果、グルコースの炭素安定同位体比は、原料米と米麴と同等の値を示し、グルコースの炭素安定同位体比が製麴と糖化を経ても原料米の炭素安定同位体比を保持していることを明らかにした。加えて、並行複発酵におけるグルコースの炭素安定同位体比の変動を明らかにするため、小仕込み試験を行い、清酒中のグルコースとエタノール、酒粕、米麴、原料米の炭素安定同位体比を決定した。並行複発酵後のグルコースの炭素安定同位体比は、原料米の炭素安定同位体比よりも高い値を示した。米麴の糖化ではグルコースの炭素安定同位体比は原料米の炭素安定同位体比を保持していることから、酵母の発酵によるグルコースの消費が清酒中のグルコースの炭素安定同位体比の上昇要因になっていることが明らかになった。一方で、並行複発酵のグルコースの炭素安定同位体比の上昇は、単発酵のグルコースの炭素安定同位体比と比べると緩やかであり、並行複発酵の特徴である発酵中の糖化によるグルコース供給が、発酵によって上昇したグルコースの炭素安定同位体比を押し下げていることが示唆された。酒粕の炭素安定同位体比は、米麴と同様に原料米の炭素安定同位体比を保持しており、清酒製造に使われた原料米の炭素安定同位体比の推定に有用と

なる可能性を見出した。

純米酒の炭素安定同位体比の基盤データとなる清酒の熟成に伴うグルコースの炭素安定同位体比の変化を、新酒の状態を保持できる-80℃保存の清酒試料 26 点と、室温で 19 年間熟成された清酒試料 26 点を用いて検証した。その結果、清酒に含まれているグルコースの濃度及び炭素安定同位体比への熟成の影響は検出されず、-80℃で保存された清酒と室温で熟成された清酒の炭素安定同位体比は、有意差がなかった。これらの結果は、長期熟成を経ても清酒中のグルコースの炭素安定同位体比が、新酒の炭素安定同位体比を保持しており、熟成された清酒でも、新酒と同様に、炭素安定同位体比分析による糖添加の検出が可能なことを示唆している。

今後は、純米酒の炭素安定同位体比の基盤データとなる清酒の熟成に伴うエタノールの炭素安定同位体比の変化を明らかにする予定である。

5 評価結果

・必要性

- ☐極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

- ☐高い ☐やや高い ☒妥当な範囲 ☐やや低い ☐低い

・有効性

- ☐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

本課題における無機成分組成、同位体比についての研究は、酒類の産地推定の基礎的データとして重要である。また、清酒及びワインにおける発酵条件と同位体比の変化についても、適正表示の基礎となる重要な研究であり、目標通りに進捗している。第6期については国税庁との連携、効率性を十分に検討することが望まれる。なお、地域性については、技術力の維持強化に資する研究を含め、県単位ではなく地勢による取組とすべきと考えられる。