

平成27年度
革新的ものづくり産業創出連携促進事業
戦略的基盤技術高度化支援事業

「世界市場を開拓する Sake・大吟醸生産システムの革新」

研究開発成果等報告書

平成28年 3月

委託者 近畿経済産業局
委託先 公益財団法人 京都高度技術研究所

目次

第1章 研究開発の概要	1
1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標	1
1-2 研究体制	4
1-3 成果概要	10
1-4 当該研究開発の連絡窓口	12
第2章 本論	13
最終章 全体総括	18

第1章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

1-1-1 研究の目的

従来、先端発酵研究の代表的分析装置である液体クロマトグラフ質量分析装置（LC-MS/MS）は約3千万円の導入コストと精緻な運用が必要であり製造現場での導入は不可能であった。本事業では先端研究成果を反映できる製造現場で使用可能な低コスト分析技術（装置導入コスト150万円以下の、消耗品500円/分析以下で、アミノ酸、有機酸、エステルを各1時間以内で定量可能な迅速分析技術）を開発する。本分析技術を導入することにより、醗酵生産工程を高度化し、以下を目標として、生産性向上、品質向上による新規製品創生を実現する。

- ①大吟醸酒生産のスケールアップ（総米500kg⇒総米6,000kg）が可能な標準製造工程（SOP）を開発し、総米150kgの製造試験を実施する。（高生産性、低コスト化）
- ②乳酸発酵を利用した新規純米大吟醸（総米150kg）を製造可能なSOPを開発し試験製造を実施する。（高品質化）

1-1-2 研究の背景及び目標

1-1-2-1 社会的・販売戦略における背景

経済産業省 産業細分類別統計表（平成22年確報）から、発酵（醸造）製品である清酒製造業出荷額は43,931,705万円であり、我が国発酵関連産業として重要な産業となっている。醸造事業者の特徴は中小企業が多く、大手企業は汎用品（普通酒、本醸造酒）を中心に量産供給し、中小は伝統的な製法でありながら高いブランド力と品質から高付加価値品（大吟醸酒、純米大吟醸酒等）を供給している。特に大吟醸酒の付加価値（3,000～20,000円/もろみ1L）は高く、培養技術製品として先端バイオ技術で生産された臨床診断酵素（3,000円以上/生産培地1L）に匹敵する高付加価値製品である。

国内市場ではこれら高付加価値品の需要が増大しているが、それらの生産は未だ手作業、小スケールバッチ生産でその高度化・高品質化が遅れており、近年日常的に供給が不足し発注先への製品出荷を制限する事業者も出始めている。

一方、清酒の海外輸出についても平成24年度過去最高を更新しており、今後ともその需要は伸びると言われ、近年国内と同様に相対的に高級清酒が好まれる傾向にある。

従って、高付加価値品の生産技術の高度化による増産（低コスト化）は至急の課題となっており、その高度化に必須である最新バイオ計測技術導入への強いニーズがある。

1-1-2-2 研究開発の背景

中小醸造事業者では、HACCP（Hazard Analysis and Critical Control Point）対応など衛生面での取り組み、異物混入対策には設備更新等が図られているが、その生産工程においては、従来の勘、経験、味覚に依存した管理体制をとっており、前述のとおり最新バイオ計測技術に基づいた生産技術の高度化、さらには標準生産工程の構築（低コスト化）が渴望されている。

清酒をはじめとする醸造分野においては、近年大学、公的研究機関などでの先端バイオ研究により、発酵過程の網羅的解析技術が進捗し、先端ラボの LC-MS/MS 等の最新装置では醸造経過予測など高度な工程管理を可能にし得る数多くの研究成果が発表されている。しかしながら、先端バイオ研究用の分析装置は極めて高額、繊細であり、処理能力も非常に低く、中小事業者では導入不可能であり、従来のガラス器具（ビュレット、浮標）使用の状況が続いている。これら器具による生産管理では、高精白化する原料米、ゲノムデータから高度に育種された酵母を利用する大吟醸等の生産には十分に対応できず、このことが高付加価値品増産の大きなネックとなっている。

今回、高付加価値品生産技術の高度化の鍵となる最新バイオ計測技術として、製品の吟醸香に関連する標的成分の分離分析技術（GC）に焦点を当て、中小事業者が現場で活用できる新規分析システムを開発する。

本研究開発の新規性・独創性は、上記最新バイオ計測技術に的を絞り、生産現場の高度化に活用できる簡便・高速な低コスト分析システムを信和化工株式会社らが新規開発することであり、これまで本分野を開拓してきた京都大学等・京都市産業技術研究所との連携により可能となるもので、もって黄桜株式会社における大吟醸製品生産工程に革新をもたらし、その生産量の増大に繋げることで世界市場での今後の販路拡大を図る。

本研究開発では具体的に、従来同時分析が不可能だった標的成分（有機酸、アミノ酸）に対し高効率誘導体化を実現する前処理技術、同時分析可能な高分離 GC カラム、微量香气成分を高度選択的に濃縮するツールを信和化工株式会社らが新規に独自開発することで、GC 装置による簡便で高速分析が可能な低コスト分析システムを開発する。

さらに、これらの革新的生産システムのもとで、黄桜株式会社では海外市場の中で高級長期熟成白ワインに対抗出来る高付加価値新製品（山廃純米大吟醸酒）を海外戦略商品として位置付けて開発する。本ターゲット品は、アルコール発酵と共に、乳酸菌による二次発酵を特徴としている。同長期熟成白ワインに匹敵する芳香で濃醇（高有機酸、高アミノ酸）な純米大吟醸酒であり、上記で開発された新規分析システムを用いて標的成分を同時分析、工程管理し、高度化された生産システムのもとで安定生産を図る。

1-1-2-3 研究開発の高度化目標及び技術的目標値

■黄桜株式会社のニーズにより、最新バイオ計測技術である LC-MS/MS を反映できる簡便・高速な低コスト分析システムを信和化工株式会社が京都大学等・京都市産業技術研究所と連携することで新規開発し、黄桜株式会社の生産現場に導入することで、生産工程の高度化を図り、もって高付加価値製品（大吟醸酒）生産量の増大に繋げる。加えて、黄桜株式会社にて輸出用新規高付加価値製品（山廃純米大吟醸酒）を開発し、同様に新規分析システムを運用してコスト低減高効率生産することで、世界市場での今後の販路を拡大する。

◎最終的な研究開発目標値

■生産工程を高度化する簡便・高速な低コスト分析システムを新規開発

- 1) 8 種以上の微量香気成分を 10 分以内で捕集濃縮し、GC 試料注入口へ導入できる捕集濃縮法の開発
- 2) 10 種類以上の有機酸、アミノ酸を常温で 10 分以内に誘導体化できる前処理法の開発
- 3) 15 種類以上の香気成分、有機酸誘導体、アミノ酸誘導体を同一カラムで同時分析が可能な高分離能カラムの開発
- 4) 1)-3)を統合し、装置導入コスト 150 万円以下、消耗品 500 円/分析以下で、香気成分、アミノ酸、有機酸を 1 時間以内で定量可能な迅速分析技術の開発と分析キットを開発

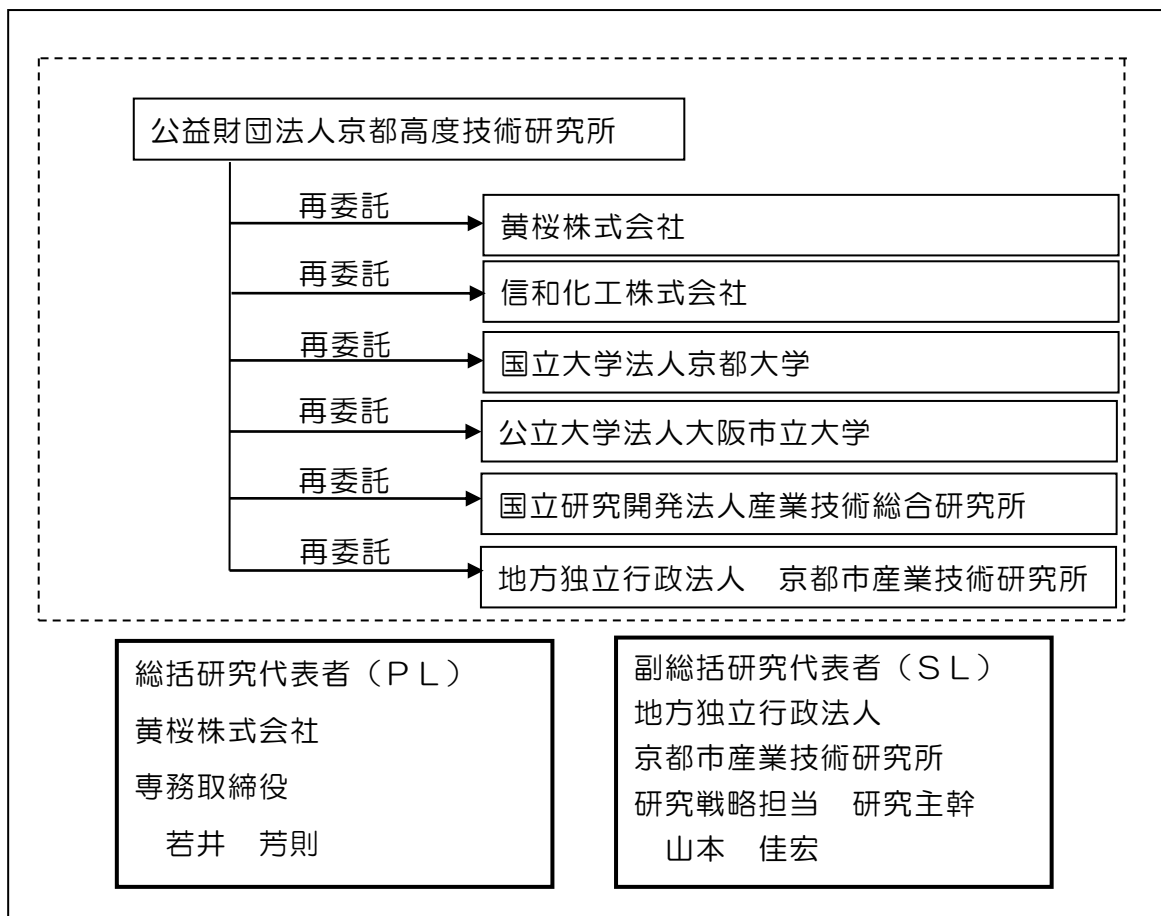
■大吟醸酒の増産及び輸出用新規高付加価値製品（山廃純米大吟醸酒）の開発

- 1) 大吟醸酒生産のスケールアップ（総米 500kg⇒6,000kg）が可能な標準生産工程（SOP）の確立
- 2) 新規山廃純米大吟醸酒の開発と総米 150kg 規模での標準生産工程（SOP）の確立

1-2 研究体制

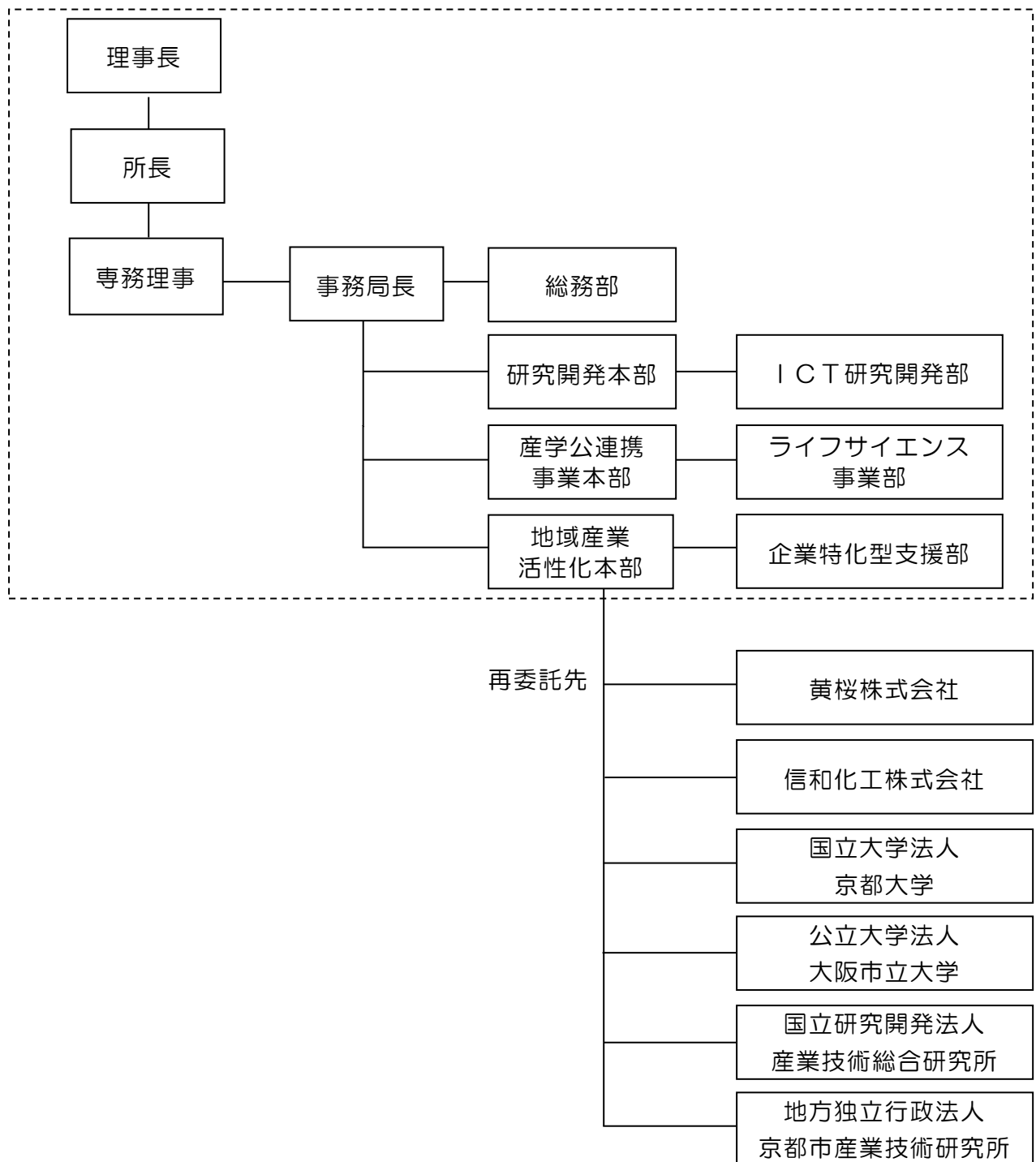
1-2-1 研究組織及び管理体制

1-2-1-2 研究組織（全体）



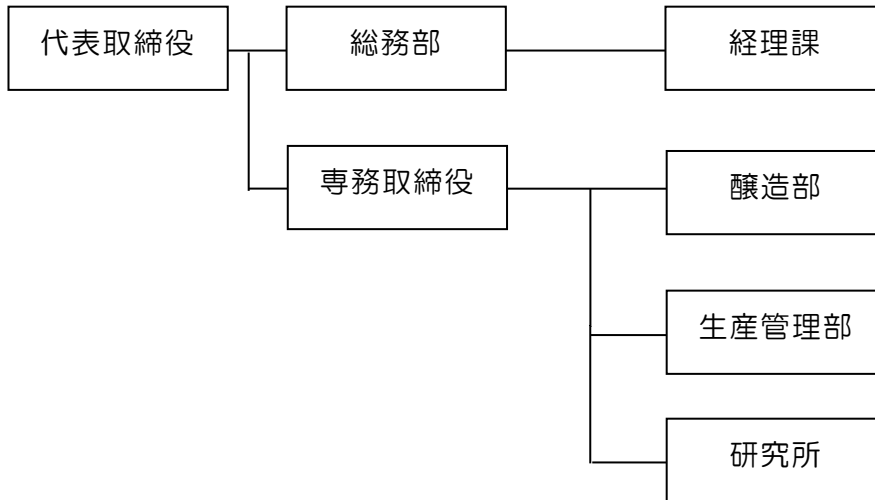
1-2-2 管理体制

1-2-2-1 管理法人 [公益財団法人京都高度技術研究所]

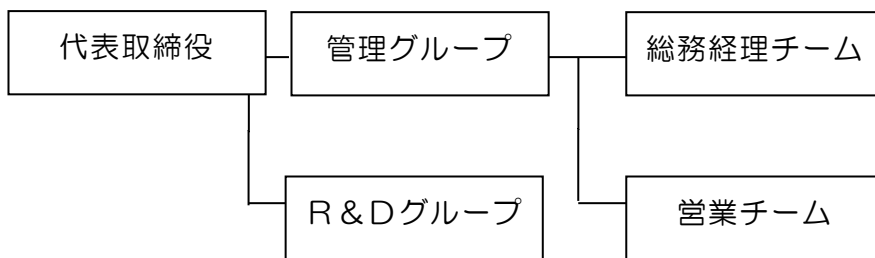


1-2-2-2 (再委託先)

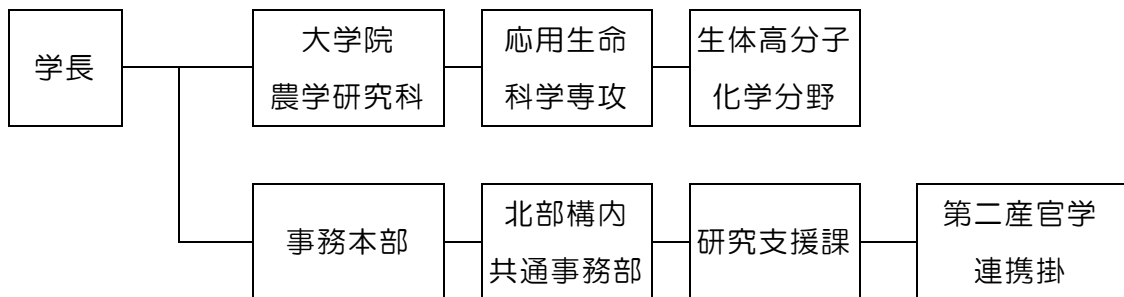
黄桜株式会社



信和化工株式会社



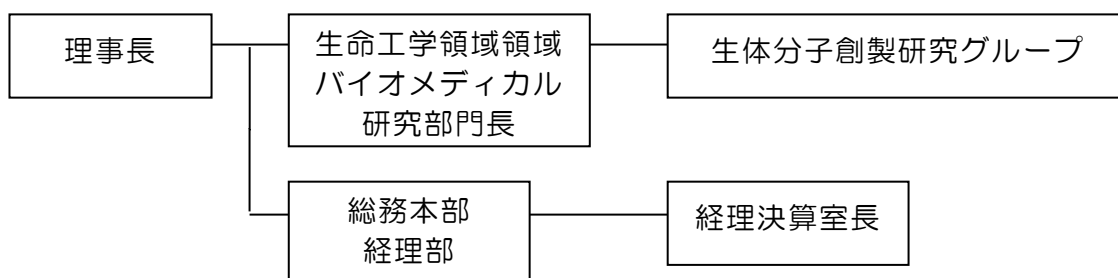
国立大学法人京都大学



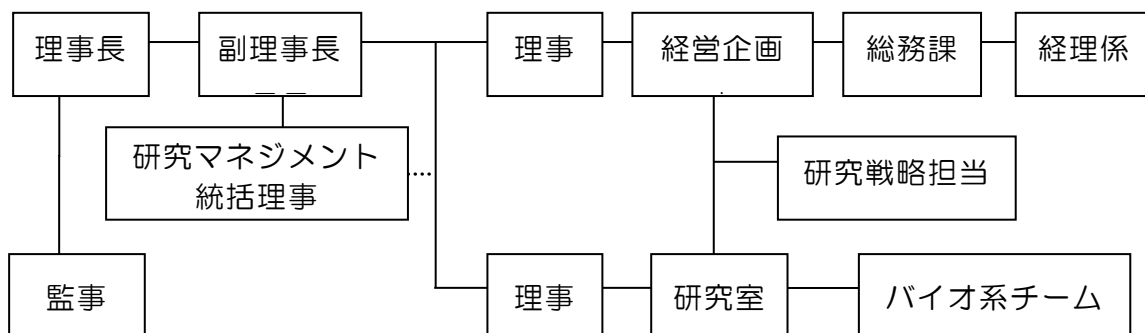
公立大学法人大阪市立大学



国立研究開発法人産業技術総合研究所



地方独立行政法人京都市産業技術研究所



1-2-3 管理員及び研究員

【事業管理機関】公益財団法人京都高度技術研究所

管理員

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
孝本 浩基	地域産業活性化本部長	⑤
山口 敏	企業特化型支援部・次長	
石川 匡美	企業特化型支援部	

研究員

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
市原 謙一	ライフサイエンス事業部 招聘研究員	①-2、①-4
十川 好志	ライフサイエンス事業部 主幹研究員	
筒井 延男	ライフサイエンス事業部 技術指導員	

【再委託先】 ※研究員のみ

黄桜株式会社

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
若井 芳則	専務取締役	
柳内 敏靖	取締役 醸造部 部長	
高倉 敏夫	醸造部 次長	②-1、②-2、②-3
清川 良文	生産管理部 課長	③-1、③-2、③-3
福田 潔	醸造部 課長	④-1、④-2
北岡 篤士	研究所 課長	
藤原 久志	研究所 課長心得	
河西 夏世	研究所 主任	
西村 隆雄	研究所	
榮長 裕晴	研究所	
首藤 大比古	研究所	

信和化工株式会社

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
藤村 耕治	R&Dグループ 課長	①-1、①-2
中根 賢一	R&Dグループ スタッフ	①-3、①-4
彌田 精久	営業チーム 次長	

国立大学法人京都大学

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
植田 充美	大学院農学研究科 応用生命科学専攻 生体高分子化学分野 教授	③-1、③-2

公立大学法人大阪市立大学

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
田中 俊雄	理学研究科 生物地球系専攻 教授	
藤田 憲一	理学研究科 生物地球系専攻 准教授	②-2
荻田 亮	都市健康・スポーツ研究センター 教授	

国立研究開発法人産業技術総合研究所

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
上垣 浩一	生命工学領域 バイオメディカル研究部門 生体分子創製研究グループ長	③-3
中村 努	生命工学領域 バイオメディカル研究部門 生体分子創製研究グループ 主任研究員	

地方独立行政法人京都市産業技術研究所

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
山本 佳宏	研究戦略担当 研究主幹/バイオ系チーム	①-2、①-4 ②-1、②-2 ③-1、③-2 ③-3
廣岡 青央	バイオ系チーム 研究副主幹	
高阪 千尋	バイオ系チーム 次席研究員	
泊 直宏	バイオ系チーム 次席研究員	
和田 潤	バイオ系チーム 主席研究員	
清野 珠美	バイオ系チーム 次席研究員	

アドバイザー

増田 徳兵衛	伏見酒造組合 理事長
木村 紫晃	伏見酒造組合 副理事長
佐々木 晃	京都酒造組合 理事
鈴木 健一郎	独立行政法人製品評価技術基盤機構 技監

1-3 成果概要

研究開発目標値に対する成果

■生産工程を高度化する簡便・高速な低コスト分析システム

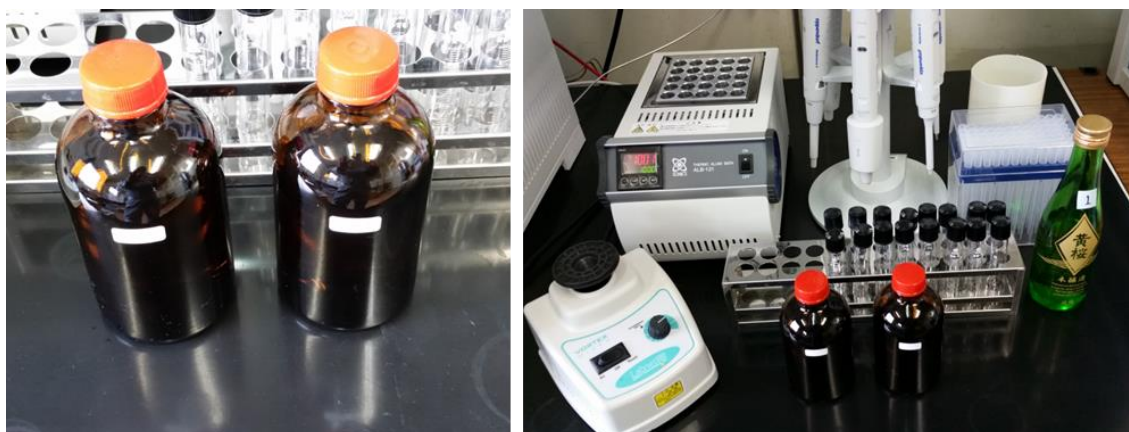
1) 8 種以上の微量香り成分を 10 分以内で捕集濃縮し、GC 試料注入口へ導入できる捕集濃縮法の開発 ⇒

- 従来、簡易分析が困難であった不快な微量香り成分・ダイアセチル及び 5 種類のエステル類(酢酸エチルは低エタノール時のみ測定可能)と 2 種類のアルコールの微量香り成分を 10 分以内に捕集濃縮できる、簡易装置を含む試作分析システムを実現した。



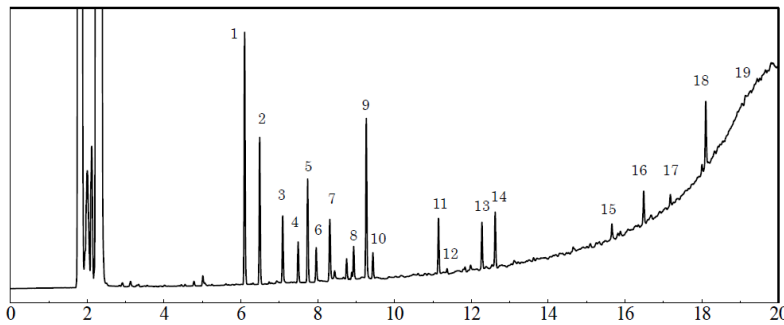
2) 10 種類以上の有機酸、アミノ酸を常温で 10 分以内に誘導体化できる前処理法の開発 ⇒

- 酒母、醪に含まれる乳酸、コハク酸、リンゴ酸、クエン酸、ピルビン酸の 5 種の有機酸及び 28 種のアミノ酸を 10 分で誘導体化可能な前処理法をそれぞれ確立し、製造担当を含む複数機関で試験分析を行い良好な結果を得た。

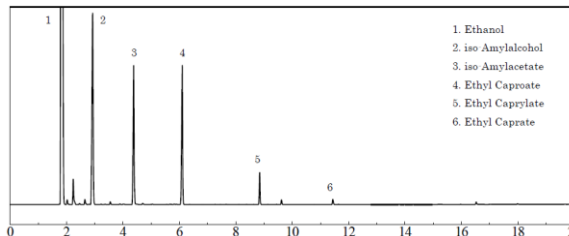


3) 15 種類以上の香り成分、有機酸誘導体、アミノ酸誘導体を同一カラムで同時分析が可能な高分離能カラムの開発 ⇒

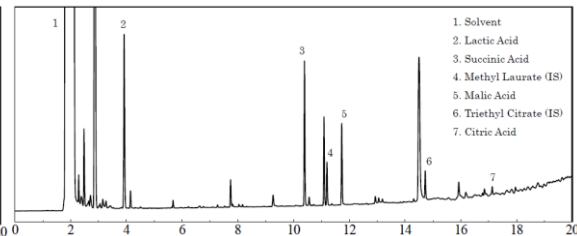
- 新規ジフェニル-ジメチルポリシロキサンを設計・製造し、19 種のアミノ酸、2 種のアルコール、4 種のエステル、5 種類の有機酸を単一カラムで分析可能なことを確認した



1. Alanine
2. Glycine
3. Valine
4. Norvaline (IS)
5. Leucine
6. Isoleucine
7. Threonine
8. Serine
9. Proline
10. Asparagine
11. Aspartic acid
12. Methionine
13. Glutamic acid
14. Phenylalanine
15. Glutamine
16. Lysine
17. Histidine
18. Tyrosin
19. Tyrosin



1. Ethanol
2. iso Amyl alcohol
3. iso Amylacetate
4. Ethyl Caprylate
5. Ethyl Caprylate
6. Ethyl Caprylate



1. Solvent
2. Lactic Acid
3. Succinic Acid
4. Methyl Laurate (IS)
5. Malic Acid
6. Triethyl Citrate (IS)
7. Citric Acid

4) 1)-3)を統合し、装置導入コスト 150 万円以下、消耗品 500 円/分析以下で、香気成分、アミノ酸、有機酸を 1 時間以内で定量可能な迅速分析技術の開発と分析キットを開発 ⇒

- 清酒生産の指標となる香気成分、アミノ酸、有機酸等の成分を選別し、1 時間以内で分析できる分析手法を確立した。試作キットを作成し、複数機関で評価を行い、良好な結果が得られた。

■大吟醸酒の増産及び輸出用新規高付加価値製品（山廃純米大吟醸酒）の開発

1) 大吟醸酒生産のスケールアップ(総米 500kg⇒6,000kg)が可能な標準生産工程(SOP)の確立

- 総米 1, 2Kg の小スケール試験を複数回実施すると共に、150kg 生産スケールの仕込からサンプリング・分析を行うことで、スケールアップに必要な品質管理用パラメータを取得した。
- 分析技術開発担当機関から製造担当機関へ GC-FID による香気成分、有機酸、アミノ酸分析技術を技術移転し、生産管理への応用が可能となった。
- この成果を基に大吟醸酒の増産のための標準生産工程を作成し、スケールアップに繋る。

2) 新規山廃純米大吟醸酒の開発と総米 150kg 規模での標準生産工程(SOP)の確立

- 各種選抜乳酸菌と選抜酵母を使用した総米 150kg の山廃純米吟醸酒の小規模生産を実施し、サンプリング・分析を行うことで、スケールアップに必要な品質管理用パラメータを取得した。

- 生産した清酒を用い、外国人向け市場調査を 2 回実施し、海外戦略向け清酒に必要な特性を調査した。
- この成果を基に新規山廃純米大吟醸酒の標準生産工程を作成し、スケールアップに繋る。



1-4 当該研究開発の連絡窓口

公益財団法人京都高度技術研究所

地域産業活性化本部長 孝本 浩基

〒600-8813 京都市下京区中堂寺南町 134 番地

TEL: 075-315-3625 (代表) FAX: 075-315-3614

E-mail: komo@astem.or.jp

第2章 本論

①高速、高分解能分析を可能とする高分離ガスクロマトグラフ分析技術の開発

①-1 微量香气成分の捕集濃縮方法の開発（信和化工株式会社）

食品の味を決定付ける要素として香气が挙げられる。清酒においては香气によって製品の評価が大きく変わるため、安定した品質を得るために香气成分を測定することは重要である。黄桜株式会社から提供された製造スケールの普通酒および吟醸酒のもろみを密閉容器に加え、容器上層部の気体成分をガスクロマトグラフィーで測定した結果、20種類以上の揮発性有機化合物を検出し、そのうち吟醸香の主成分となるエステル類を10種類同定した。

清酒香气成分中のオフフレーバーであるジアセチルについて、新規誘導体化法を開発し、GC-FID分析によりジアセチル0.1~2.0 ppmの定量方法を確立した。清酒試料11種のジアセチル濃度の定量を実施し、実際の清酒においても定量が可能であることを実証した。

①-2 有機酸、アミノ酸の誘導体手法の開発（信和化工株式会社、地方独立行政法人京都市産業技術研究所、公益財団法人京都高度技術研究所）

食品の甘味、酸味、旨味はそれぞれ糖、有機酸、アミノ酸の含有量によって決定され、食品の味を大きく左右する。これらの成分は分子中に親水性の高い官能基を持つことから、安定したクロマトグラフィー分析を行うためには誘導体化処理が必須である。特にアミノ酸、有機酸は、現在主にHPLCで分析が行われているが、煩雑な前処理が必要であり、さらに各成分を分離するために長い分析時間（最大3時間：遊離アミノ酸・アミノ酸分析装置）を要する。

アミノ酸分析では、新たに固相抽出カートリッジを作製し、試作カートリッジと市販誘導体化キットを用いて検討を行った。最終的に、アミノ酸については、アルギニンを除き工程管理に必要な分析がGC-FIDで可能となり、醸造を担当する黄桜へ移転を行った。また、有機酸成分として、ピルビン酸、乳酸、コハク酸、リンゴ酸をプロピルエステルに誘導体化して高極性キャピラリーカラムを用いてGC分析する方法を開発し、信和化工へプロトコールを移転した。GC/FIDによるこれら4種の有機酸の一斉分析は、工程管理とともに品質評価と発酵終点の判断手法として利用可能となった。

①-3 微量香气成分、有機酸、アミノ酸用GC分離カラムの開発（信和化工株式会社）

清酒製造工程で分析対象となる有機酸およびアミノ酸は複数に渡り、定量するためには各々の成分が完全に分離していることが望ましい。しかし清酒製造工程で指標となるアミノ酸とエステル（≡誘導体化した有機酸）は異なるカラムが指定されており、さらにカラム交換には1日程度かかることから、同時分析には複数台の機器が必要となり、機器の導入コストが極めて大きかった。

液相として新たな液相を設計・合成し、この液相を内壁に結合したキャピラリーカラムを作

製し、各成分が検出可能であることを確認した。さらに耐熱性を調べたところ、比較的高温が必要なアミノ酸誘導体の分析に有利であることが判明した。

本カラムを利用することで、工程管理指標となるアルコール類、エステル類、有機酸（誘導体）、アミノ酸（誘導体）の分離分析が単一カラムにより可能であることが確認できた。今後も製品化を目指し分離度の向上のため、更に製造法を検討している。

①-4 有機酸、アミノ酸及び微量香気成分の工程分析成分抽出及びプロトコルの開発（信和化工株式会社、地方独立行政法人京都市産業技術研究所、公益財団法人京都高度技術研究所）

選抜された各種成分について、①-1～3の成果を反映させながら、現場で対応可能なサンプルの調製法、前処理条件、分離条件、分離プログラムなどを試作した。

清酒製造工程分析に対応できるように、清酒もろみ等のサンプル原液からの試料調製法と有機酸誘導体化法を確立し、それらの手法を黄桜株式会社に提供した。試験醸造を担当する黄桜で有機酸の定量を実施し、評価を行い、工程分析法として良好な結果を得ている。

また香気成分の濃縮ツールを GC に注入し使用後にコンディショニングするための補助装置を設計し、装置を試作し、製造を担当する同社の GC に接続し動作及び分析確認を行った。

②小スケール（実験室スケール）での評価製造

②-1 山廃酒母製造に適する優良乳酸菌の選抜（黄桜株式会社、地方独立行政法人京都市産業技術研究所）

黄桜株式会社乳酸菌ライブラリー及び独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター（NITE）から購入した乳酸菌の中から、本目的に適した乳酸菌を選別するために、清酒製造に準じた条件にて乳酸菌の培養を行い、菌体の増殖能を確認した。黄桜で行った小仕込試験、総米 150kg の小スケール製造試験の結果と併せ、その結果、3種の乳酸菌を選抜した。

②-2 輸出用清酒製造に適した酵母の選抜（黄桜株式会社、地方独立行政法人京都市産業技術研究所、公立大学法人大阪市立大学）

清酵母が生成する成分の一つのコハク酸は清酒中の旨みに影響し、清酒香味に影響する非常に重要な成分である。一方で、コハク酸はざらつくような酸味と表現されることもあり、コハク酸の存在が清酒にとって負のイメージを与えることもある。日本人には馴染のある成分でも、外国人の受け止め方は様々であることは容易に推測できることから、海外での評価を得るためには、敢えて清酒らしさから脱却した、従来の有機酸組成とは異なる特徴的な清酒の製造も必要となると考えられる。

大阪市立大学から提供された酵母及び独自に選択した酵母の有機酸生成能を分析し、輸出用清酒に適した酵母の選別手法を評価するとともに、最終選抜株の代謝物分析を行い、その特性

を評価し、最終的に酸生成に特徴を有する B-35 株を選抜し、黄桜株式会社へ提供した。

②-3 山麩酒母及びもろみ小仕込試験（黄桜株式会社）

総米 250g での山麩酒母試験を実施し、さらにその酒母を用いて黄桜にて総米 170g のもろみ製造試験を実施した。その結果、山麩酒母有用乳酸菌として、黄桜株に加え、NBRC 株を合せ 5 株を選抜した。酵母においては小規模仕込試験で選抜した 16 株、京都市産業技術研究所保有酵母 6 株、黄桜保有酵母 2 株の計 24 株で総米 170g でのもろみ製造試験を黄桜にて実施し、有望な株を 11 株選択した。次に、山麩酒母分析データを活用し、モデル化した山麩酒母（乳酸菌醗酵工程）を用い、②-1、②-2 で選抜した乳酸菌、及び酵母を用いた仕込試験を総米 1.2kg スケールで実施した。

吟醸もろみ試験においては、仕込配合や品温、上槽時期に変化を加え、データを取得のための試料を調製した。最終的に生産用酵母 B-35 株、生産に利用可能な乳酸菌を 3 株を選抜した。

③山麩酒母及びもろみ中の醸造生成成分の分析技術の開発

③-1 山麩酒母（乳酸菌発酵工程）の分析・評価技術の開発（黄桜株式会社、地方独立行政法人京都市産業技術研究所、国立大学法人京都大学）

京都大学による探索的な網羅分析と連携し、地方独立行政法人京都市産業技術研究所では GC-MS (GC 質量分析装置)、LC-MS によるアミノ酸誘導体、有機酸分析を用い、酒母工程管理における成分分析の有効性を確認し、GC-FID、酵素分析等の簡易分析への移行を図った。

平成 26 酒造年度と平成 27 酒造年度の精米歩合 35% の大吟醸酒の醪、及び山麩酒母及びもろみサンプルについて経時的に試料を採取し、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) 及び高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) を用い有機酸、アミノ酸の分析を行った。酒母及びもろみの管理指標となり得る成分を探索し、指標成分を選択した。

③-2 もろみ（発酵工程）の分析・評価技術の開発（黄桜株式会社、地方独立行政法人京都市産業技術研究所、国立大学法人京都大学）

各種試料を用い、吟醸酒で特徴的な成分（工程管理上の指標候補）を国立大学法人京都大学では高分解能 LC/MS/MS（液体クロマトグラフ多重質量分析装置）による評価指標の網羅解析を実施した。これまでに、酒母・もろみ・上槽酒のろ過試料（計 129 種類）に対して、独自に構築した LC/MS システムを用いて測定データを得た。そのデータに基づき、各種火入酒、各種もろみ、もろみ発酵工程の 3 系列に関して、多変量解析を行うことで、系列ごとにサンプルの特徴づけに寄与の大きいピークのリストを作成した。その後、LC/MS による化合物同定を試み、いくつかのペプチドの配列を推定した。予測されたペプチドについては人工合成し、

LC/MS で解析することにより 2 つのペプチドの構造を決定し、各濃度も推定した。

③-3 糖、有機酸、アミノ酸及び微量香気成分の工程成分抽出及びプロトコールの開発（黄桜株式会社、地方独立行政法人京都市産業技術研究所、国立研究開発法人産業技術総合研究所）

山廃酒母（乳酸菌発酵工程）及びもろみからの試料調製法を開発するとともに、GC による清酒工程管理用有機酸工程分析法、酒母、醪の GC によるアミノ酸分析法を開発した。また、GC では分析困難な D-乳酸（DL 比）、クエン酸及び糖について、酵素を利用した選別定量できる簡易分析法の構築を並行して実施した。

④輸出向け高品質清酒製造技術の開発と製造規模の拡大

④-1 小スケール製造試験による製造工程評価法の確立（黄桜株式会社）

小仕込み試験により、仕込配合や品温、上槽時期に変化を加え、データを取得のための試料を調製し、現行法による成分分析を実施した。

精米歩合 35% の山田錦の白米と麴を用いて、6 種類の酵母で総米 170g でもろみ製造試験を実施し、12 点の清酒サンプルを調製した。次に、原料処理条件と品温経過を変えた総米 1.2 kg のもろみ製造試験を実施し、18 点の試料を調製した。調製した計 30 点の清酒サンプルについては次年度分析技術開発の試料として使用する。

大吟醸酒の製造規模の拡大のための指標について検証を行うため、仕込条件を変えたもろみサンプルを調整した。精米歩合 50% の山田錦を用い、温度条件と原料処理条件を変えて総米 1.2 kg で大吟醸清酒製造試験を実施し、36 点のサンプルを調整した。また、精米歩合 35% および 50% の山田錦を用いて総米 1.2 kg で大吟醸清酒製造試験を実施し、44 点のサンプルを調整した。

大吟醸酒の製造規模拡大のための指標について検証を行うため、仕込条件を変えたもろみサンプルを調製した。精米歩合 35% の山田錦を用い、2 種類の酵母の混合比を変えて総米 1.2 kg で大吟醸清酒製造試験を実施し、サンプルを調製した。また、追水条件とチアミン添加条件を変えて総米 1.2 kg で大吟醸清酒製造試験を実施し、同様にサンプルを調製した。

また、大吟醸仕込（総米 150 kg）から醪を経時的にサンプリングし、分析に供した。分析結果を解析し、製造法にフィードバックを行った。

④-2 輸出向け高品質清酒製造のスケールアップを可能とする標準製造工程（SOP）の確立（黄桜株式会社）

山廃酒母製造の技術を応用し、乳酸菌の乳酸生成と速醸酒母を融合した酒母を調製した。さらにその酒母を用いて、10 パターンの総米 170g でのもろみ製造試験を実施した。次に、清酒酵母と乳酸菌のもろみ中での両者の適性を確認するために、②-3 の酒母を用いて総米 170

g のもろみ製造試験を 24 点×1 回実施した。この結果の踏まえ、2 種の乳酸菌と 3 種類の酵母を用いて総米 12 kg での山廃酒母製造試験と総米 10 kg でのもろみ製造試験を実施した。

輸出向け高品質清酒の製造を目的として、②-3 で有望であることを確認した酵母と対照株を含む 14 株と、優良乳酸菌 3 種を用いて、総米 250g での山廃酒母製造試験を実施した。さらにはその酒母を用いて、総米 1.2 kg でのもろみ製造試験を 3 回実施した。

選抜した 3 種類の乳酸菌と 2 種類の酵母を用いて総米 150 kg で 3 種類の純米吟醸酒の試験醸造を実施した。さらに、輸出向け高品質清酒の選択を目的として、得られた清酒を 2 回の外国人向けきき酒会に供した。その結果、きき酒評価から京都市産業技術研究所保有株 B-35 が有望であることを確認した。

⑤プロジェクトの管理・運営（公益財団法人京都高度技術研究所）

本プロジェクトを円滑に推進するため、再委託先の管理・指導、進捗状況の把握、委員会事務及び機械装置の購入手続きなどの業務を行った。

最終章 全体総括

本事業の成果により、アミノ酸、有機酸、エステルを各1時間以内で定量可能な分析技術を開発し、製造現場である酒造メーカーに試作分析技術を移転することができた。本分析技術の実現により、先端研究の成果を反映できる製造現場で使用可能な低コスト分析技術（装置導入コスト150万円以下の、消耗品500円/分析以下）が可能なことを確認した。本分析技術を導入することにより、醗酵生産工程を高度化することが可能となり、生産性向上、品質向上を実現できると期待している。

海外市場の中で高級ワインの代表である長期熟成白ワインに対抗出来る高付加価値新製品を実現するため、新規乳酸菌、及び酵母の開発を行い、製品生産に適する株を取得できた。（山廃純米大吟醸酒）を海外戦略商品として位置付けて開発する。本事業の成果として製品化を目指す商品は、アルコール発酵と共に、乳酸菌による二次発酵を特徴としている。これは、長期熟成白ワインに対抗できる芳香で濃醇（高有機酸、高アミノ酸）な高付加価値製品であり、試験醸造された試作品は外国人を対象とした市場調査でも高い評価を受けている。

本製品も上記で開発された新規分析システムを用いて標的成分を同時分析、工程管理し、高度化された生産システムのもとで安定生産を目指すことが可能となった。