

# 大学院入学試験問題用紙

2026 年度一般入試

科目名	受験専攻	受験番号	氏名
英語	醸造学専攻 博士後期課程		

Read the following passage and answer the questions Q1~Q4.



(出展 : Ferreira et al. Food Research International 169 (2023) 112793)

- Q1. What is the purpose of coffee fermentation?
- Q2. Describe what occurs during coffee fermentation.
- Q3. Explain what is meant by Microorganisms' development.
- Q4. What nutrients do microorganisms use in coffee fermentation?

# 大学院入学試験問題用紙

2024年度 1期入試

科目名	受験専攻	受験番号	氏名
醸造微生物学	醸造学 専攻 博士後期 課程		

問1 出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* においてグルコースを出発原料としてエタノールおよびカプロン酸エチルが合成される過程についてそれぞれについて説明せよ。また、清酒中に含まれるエタノールとカプロン酸エチルのおよその濃度を記述したうえで、エタノールと比較してカプロン酸エチル生成量が低い理由について生体内のエネルギー代謝の観点から説明せよ。

<解答例>

グルコースは解糖系によりピルビン酸へと変換された後に、ピルビン酸がアセトアルデヒドを経てエタノールに変換される。解糖系において、細胞外から取り込まれたグルコースは ATP を使用しグルコース 6リン酸に変換される。その後、さらに ATP を利用しフルクトース 1,6-ビスリン酸へと変換される。この様に解糖系の最初の反応では 1mol のグルコースに対し 2mol の ATP を使用して物質変換を行う。1mol のフルクトース 1,6-ビスリン酸は開裂し、2mol のグリセルアルデヒド 3-リン酸へと変換される。ここから 5つの反応を経てピルビン酸へと変換されるが、この際に 2つの経路で ATP が生成される。結果として、2mol の ATP を使用し 4mol の ATP を得るため、解糖系では 2mol の ATP を生成することになり、この ATP のエネルギーを利用し細胞内の各種反応が進行する。ピルビン酸はピルビン酸デカルボキシラーゼによりアセトアルデヒドになり、アルコール脱水素酵素によりエタノールへと変換されることでグルコースからエタノールが生成される。

カプロン酸エチルの生成経路は脂肪酸生合成経路の一部を介して生成される。細胞内の脂肪酸はピルビン酸を基に作られたアセチル-CoA を出発原料として作られる。アセチル-CoA からマロニル-CoA が生成されこれらが縮合することで炭素数が増加しカプロイル-CoA まで延長する。これとエタノールが結合することでカプロン酸エチルが生成される。

清酒中には含まれるエタノールは 15%~20%であるのに対して、カプロン酸エチルは 0.0001%から多くても 0.001%程度と、含有量は顕著に異なる。解糖系では細胞内のエネルギーを得ることと細胞を構成する成分を作り出すために多量の物質変換が必要である点で脂肪酸生合成経路と異なる。また、解糖系では ATP を生成する経路で会ったのに対し、脂肪酸生合成経路では ATP を使用する点で異なる。これら代謝経路がどの様に利用されるか、またエネルギー生産機構の違いによっても生成量が異なる要因の一つと考えられる。

問2 以下の語句について説明せよ。

a) セルレニン

*Cephalosporium caerulens* によって生産される脂肪酸生合成阻害する抗生物質。セルレニンに耐性を示す酵母は脂肪酸生合成遺伝子 *FAS2* に変異が導入され、カプロン酸エチルの前駆体であるカプロイル-CoA 生合成能が高まり、その結果としてカプロン酸エチル生成量が高まる。このことからカプロン酸エチル高生産株への育種の際に使用される。

b) GC/MS

ガスクロマトグラフ質量分析計のこと。気化した気体のサンプルあるいは液体サンプルを GC 装置で気化した気体をキャリアガスで運び、カラム内を通過する際に成分毎に分離能が異なることを利用して物質を分離する。その後、質量分析計にて分離した物質をイオン化し、質量電荷比に応じて分離後検出器で検出することで、各成分を定量することが可能となる。また、未知化合物についてもデータベースと照合することで同定することも可能となる。

# 大学院入学試験問題用紙

2026 年度一般入試

科目名	受験専攻	受験番号	氏名
微生物工学	醸造学 専攻 博士後期 課程		

問 1 : バイオプロセスとケミカルプロセスの相違点を 5 つ以上列記し、それぞれについて具体的に説明せよ。

解答例 :

## 1. 反応主体(触媒)の違い

- ・バイオプロセス : ①主として酵素や微生物・細胞。②触媒は高い選択性を有し、温和な条件で高効率に反応が進行する。③生体触媒は環境変化に敏感に応答する。
- ・ケミカルプロセス : ①用いられるのは金属触媒、酸・塩基触媒、固体触媒である。②高温・高圧でも安定して作用する。③触媒設計の自由度が高く、反応機構は比較的単純である。

## 2. 反応条件(温度・圧力)の違い

- ・バイオプロセス : ①反応温度:20~40°C 程度。②反応圧力:ほぼ常圧。③反応 pH:概ね中性付近。
- ・ケミカルプロセス : ①反応温度:数百°C。②反応圧力:一般に数十~数百 atm → 高温・高圧条件で反応速度を上げる。

## 3. 反応速度と制御性

- ・バイオプロセス : ①反応速度は酵素活性や細胞増殖速度に依存し、非線形で複雑なことが多い。②代謝経路の相互作用に起因して、プロセス制御が容易ではないこともある。③試料に固有の変動(=ロット間の変動)も少なくない。
- ・ケミカルプロセス : ①反応速度は化学反応速度論に従い、経過シミュレーションも比較的容易。②スケールアップはバイオプロセスよりも容易。

## 4. 原料の性質と供給

- ・バイオプロセス : ①原料は糖、アミノ酸、培地成分など生物由来で複雑。②原料の品質変動がプロセスに影響しやすい。③無菌状態の確保が必須。
- ・ケミカルプロセス : ①原料は石油化学品や無機化学品などであり、高純度で安定性も高い。②供給体制が確立されており、品質の変動も少ない。

## 5. 設備・運転の特徴

- ・バイオプロセス : ①多くの場合、無菌操作が不可欠。②CSTR 型バイオリクターでは複雑な制御が必要。
- ・ケミカルプロセス : ①無菌性は不要。②高温・高圧に耐える反応器、蒸留塔、熱交換器などが必要。③設備は堅牢で、長期連続運転が可能。

## 6. 生成物(製品)の性質と精製

- ・バイオプロセス : ①タンパク質、抗体、ワクチン、代謝産物など高分子・複雑分子が多い。②精製はクロマトグラフィーなど多段階であることが多く。コストを要する。
- ・ケミカルプロセス : ①低分子化合物が多く、主に蒸留・抽出などにより分離・精製される。②熱や溶媒に対する安定性が高い。

## 7. スケールアップの難度

- ・バイオプロセス : ①酸素移動、せん断応力、代謝変動などに関わる問題が生じやすい。②実験室規模から工業規模への移行が必ずしも容易ではない。
- ・ケミカルプロセス : ①物理化学的パラメータが明確であり、スケールアップ方針が立てやすい。②大規模化が比較的容易である。

# 大学院入学試験問題用紙

2026 年度一般入試

科 目 名	受 験 専 攻	受 験 番 号	氏 名
微生物工学	醸造学 専攻 博士後期 課程		

問 2：微生物を利用して工業的に物質生産されている事例を一つあげ、利用されている微生物とその分離や選抜の経緯、実用化までにどのような研究がなされて工業化に至ったのか、および近年の動向など、知りうる限りのことを詳しく述べよ。ただし、伝統的な酒類・発酵食品などは除き、狭義の発酵工業の範囲で事例を一つあげよ。

解答例：L-グルタミン酸発酵。*Corynebacterium glutamicum* およびその類縁菌により生産されている。*C. glutamicum* は協和発酵工業の鶴高らにより、糖から直接グルタミン酸を生産し、培養液中に大量に蓄積する細菌として分離され、1956 年に報告された。当時は $\alpha$ -ケトグルタル酸を発酵生産してアミノ化する手法が盛んに検討されていたが、*C. glutamicum* の分離により、1 工程で L-グルタミン酸が生産できるようになり、極めて効率的であることから急速に普及した。スクリーニングにおいては、グルタミン酸の C/N 比に相当する高濃度のアンモニア源を加えた培地を利用したこと、分離源として既知の保存菌株のみならず自然界から広く分離を試みたこと（当該菌を分離した検体は動物園の鳥類の糞）、グルタミン酸要求性の乳酸菌を用いたバイオアッセイを利用し、多数の分離菌コロニーからグルタミン酸生産菌を検出するなど各種工夫を凝らしたスクリーニング法により当該菌は分離された。工業的な生産はグルコースなどを原料として 1957 年から開始されたが、それと並行して様々な条件検討がなされ、対糖収率は 50~60% に達している。また、*C. glutamicum* はビオチン要求性株であり、ビオチン制限下でグルタミン酸の過剰生産を起こすことが明らかとされている。よって糖源として安価な廃糖蜜を用いるとビオチンが多く含まれることなどからグルタミン酸の生産量が低下するが、ペニシリンや界面活性剤を加えることでビオチン制限下と同様に高効率の生産が行えることなどが明らかとなり、広く利用されている。近年ではデンプン質原料も利用されており、世界各地で大量に生産・消費されている。

# 大学院入学試験問題用紙

2026 年度一般入試

科 目 名	受 験 専 攻	受 験 番 号	氏 名
酒類生産科学	醸造学 専攻 博士後期 課程		

問1 清酒醸造工程におけるグルコアミラーゼ(GAase)について以下の観点から述べよ

1)製麹操作の概略と GAase 生産及び醪での発酵への関与

## 解答例

麹菌 *Aspergillus oryzae* の種麹を用いて製麹する。粒状種麹の孢子数はグラムあたり  $10^8$  であり、標準使用量は対白米で 0.1% である。品温経過としては  $30^{\circ}\text{C}$  前半から  $40^{\circ}\text{C}$  超に徐々に昇温させながら行われ、製麹時間は 40~46 時間である。この時、麹菌の酸素呼吸による増殖に伴い、米デンプンが二酸化炭素と水に分解され、増殖熱が発生する。この熱発散をコントロールしつつ、一般に  $30\sim 35^{\circ}\text{C}$  付近の経過を維持するとプロテアーゼ系の酵素が多く生産され、 $40^{\circ}\text{C}$  と高温経過をとればアミラーゼ系の酵素が高生産される。標準的な GAase 力価は、 $200\text{Unit/g}\cdot\text{koji}$  であるが、近年では高 GAase 生産菌による  $400\text{Unit}$  程度の麹が、高香気の特徴とする吟醸酒生産などに用いられる。

一方で経験的に GAase 高生産は、液体培養では見られず、製麹つまり固体培養での特徴とも言われている。この要因としては、米麹中でのグルコアミラーゼ生産に関わる主要遺伝子 *glaB* の関与が示されている。この発現誘導条件を列記すると、デンプン基質、低水分活性、高温培養、菌糸伸長ストレス等が挙げられている。これらは、遺伝子解析以前から製麹管理で実践されて来た高 GAase 製麹操作と合致していた。合わせて列記すると、蒸米上への生育、水分蒸発を促す手入れ、製麹中期以降で  $40^{\circ}\text{C}$  超の経過、外硬内軟の蒸米に菌糸を破精込ませることなどである。

この GAase は、清酒醪の並行複発酵において、主要糖であるグルコースの供給に関与し、これにより清酒酵母によるアルコール発酵が行われる。このため製麹が不十分で GAase 力価が低いとグルコース供給が緩慢になり発酵が遅れると言われてきたが、近年では、先の高 GAase 生産菌の利用や製麹装置の発達等もあり、この理由で発酵が緩慢になる例は、以前よりも減ったと言われているようである。

問2 清酒中でのオフフレーバーについて物質名を 2 つ以上列記し、その成因について述べよ

## 解答例

1)ダイアセチル；ダイアセチル臭は、以前は、つわり香とも称され、バターやヨーグルト様のやや甘い匂いで、清酒では、オフフレーバー扱いである。醪中の  $\alpha$  アセト乳酸が多い時点で上槽すると生成される。一方で上記の様に他製品では、好ましい特徴香とされることもある為、市販酒では評価が分かれることも見られるようである。

2)アセトアルデヒド；アルデヒド臭は、木香様臭ともいわれ、木や青草などを連想させる匂いで、主としてアルコール発酵の中間産物であるピルビン酸が多い時点でのアルコール添加により生じるとされる。

# 大学院入学試験問題用紙

2026 年度一般入試

科 目 名	受 験 専 攻	受 験 番 号	氏 名
発酵食品化学	醸造学専攻 博士後期課程		

全ての解答について裏面を使用しても良い。その際該当する問い番号を記載すること。

問 1. 発酵食品成分もしくは微生物代謝産物のクロマトグラフィー分析について以下の分離モードの選択肢から 3つを選び、a)原理、b)測定対象化合物、c)カラムの特徴、d)分離機構 について詳細に説明せよ。

選択肢: イオン, 逆相, ゲル濾過, イオン交換, アフィニティー, 順相, GPC, イオン排除

解答は各項目を分けて記載もしくは文章にて記載のどちらでも可

解答例: 【ゲル濾過カラムクロマトグラフィー】 対象とする化合物の分子量の大きさを利用して化合物を精製する原理である。具体的には、カラムに多孔性の担体を充填し、カラム上部に試料をアプライする。この試料には高分子から低分子の化合物がいくつか含まれているとする。試料がカラムに入ると、担体の細孔よりも大きな分子は担体中に拡散せず通過し(素通りする)、小さな分子は担体中に入り留まりゆっくり溶出される。すなわち、試料をカラムにアプライすると、大きな分子→小さな分子に順に溶出されてくる。これにより、試料中の化合物を分離するのが「ゲル濾過カラムクロマトグラフィー」である。本クロマトグラフィーの特徴は、化合物が担体に結合しない(反応や吸着性を持たない)ため、溶出液の組成が直接的に分離能に影響することが無いことである。これにより、ゲル濾過カラムクロマトグラフィーは、ペプチドやタンパク質をはじめ様々な化合物の分離に適応できる。

問 2. 微生物の代謝について以下の中から 2つを選び詳細を説明せよ。

a) ポリケチド合成の 3つの分類, b) NRPS, c) シキミ酸経路, d) 塩もしくは酸耐性機構

基本的な内容を中心として重要な点などについて、例をあげて説明しても良い。

解答例: 【NRPS】 Non-ribosomal peptide synthetase (NRPS) は、非リボソームペプチドを合成する酵素である。NRPS は複数のモジュールから構成される巨大なタンパク質であり。モジュール 1つに対して 1つのアミノ酸が縮合していくため、ペプチドの数だけモジュールが存在する (8 個のアミノ酸を縮合する場合モジュールは 8 個)。各モジュールにおいて、A ドメイン、PCP ドメイン、C ドメインはほぼ全てのモジュールがもっており、その他 E ドメインなど修飾に関わるドメインもある。リボソームは通常 20 種類程度のアミノ酸のペプチド合成しか行えないのに対し、NRPS はそれ以上のアミノ酸のペプチド合成が可能になるという特徴がある。

問 3. 質量分析計を用いた化合物分析・解析について詳細に説明せよ。

解答には、イオン化法, 質量分析部,  $m/z$ , マススペクトル の説明を加えること。

本問いは質量分析計についてなので、解答の際は GC-MS もしくは LC-MS の両方、もしくはいずれかを例にとって記載されていてもよい。

【解答例】 質量分析計は、主に液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーなどに接続して使用され、化合物の原子をイオン化してその質量電荷比( $m/z$ )を測定することでイオン・分子の質量を分析する装置である。質量分析計は、物質をイオン化するイオン源、質量に応じて分離する質量分析部、イオンを検出する検出部で構成される。質量分析計におけるイオン化法は、電子イオン化(ED)法やエレクトロスプレーイオン化(ESI)法があり、装置により様々である。分離されたイオンは検出器で検出され、その結果はマススペクトルとして表示される。マススペクトルは、横軸に  $m/z$ 、縦軸にイオン強度をとった図であり、ピークの位置から分子量やフラグメントイオンの情報を得ることができる。

# 大学院入学試験問題用紙

2026 年度一般入試

科 目 名	受 験 専 攻	受 験 番 号	氏 名
調味食品科学	醸造学専攻 博士後期課程		

Q1 Explain what koji is. Also, describe the characteristics of the koji used in shoyu production.

解答例

Koji is a culture of koji mold grown on grains or soybeans. Since it is rich in hydrolytic enzymes such as amylase and protease, it is used as a starter in the production of many Japanese fermented foods, including sake, miso, shoyu, mirin, and shochu.

Shoyu koji, used in shoyu production, is made by growing koji mold on a mixture of steamed soybeans and roasted wheat. As *Aspergillus oryzae*, which has high protease productivity, is used to make shoyu koji, so it has high protease and peptidase activity, especially neutral protease activity. It also has high amylase, glutaminase, and pectinase activity.

Q2 Explain the pathway for glutamic acid production in shoyu production. Also, explain the conditions necessary to increase glutamic acid production from the perspective of koji and raw material processing.

解答例

The protease in the koji mold produces peptides from soybean and wheat proteins, and the peptidase produces glutamic acid. The glutaminase in the koji mold also acts on the glutamine produced from the peptides to produce glutamic acid.

To produce the koji for shoyu, koji mold with high protease and glutaminase productivity is used. The cultivation temperature is kept low and the cultivation time is extended to increase the amount of protease produced.

Heat treatment of soybeans is important because it increases the utilization rate of the nitrogen contained in the raw materials. By thoroughly denaturing the proteins through heating under pressure, the hydrolysis of proteins by the koji mold protease is promoted, the rate of solubilization of nitrogenous components is increased, and proteins are hydrolyzed efficiently.

Q3 Write the scientific name of the salt-tolerant lactic acid bacterium that grows predominantly in shoyu mash during natural fermentation. Also, explain the characteristics of this lactic acid bacterium, its role in shoyu production, and the risks involved in shoyu production.

解答例

*Tetragenococcus halophilus*

It is a Gram-positive tetragenococci. It undergoes homolactic fermentation, producing only lactic acid from glucose. It assimilates citric acid to produce acetic acid. It is acid-sensitive, with growth inhibited at pH 5.5 or below. It is salt-tolerant, able to grow even in 25% NaCl. There is wide diversity between strains, including its ability to assimilate sugars and decompose amino acids.

Its role in shoyu production is to grow early in the brewing process, lowering the pH of the moromi and creating an environment suitable for yeast growth. It also produces lactic acid, creating a sour taste and removing the soybean odor.

Since the shoyu lactic acid bacterium *T. halophilus* can cause cloudiness in the kiage obtained by pressing the moromi, the shoyu lactic acid bacteria that easily aggregate are easy to remove and preferred. Furthermore, the existence of phages that infect *T. halophilus* is known, it is necessary to prevent from phage contamination. There are strains of wild *T. halophilus* that have the ability to produce histamine, and when these strains grow in shoyu moromi, they produce the allergen histamine, so measures are needed to prevent the growth of histamine-producing *T. halophilus*.

# 大学院入学試験問題用紙

2026 年度一般入試

科目名	受験専攻	受験番号	氏名
醸造環境科学	醸造学 専攻 博士後期 課程		

問1 嫌気性微生物と好気性微生物のエネルギー代謝の違いについて説明しなさい。

## 解答例

嫌気性微生物：

酸素以外の無機受容体、硝酸 ( $\text{NO}_3^-$ )、亜硝酸 ( $\text{NO}_2^-$ )、硫酸 ( $\text{SO}_4^{2-}$ )、硫黄、鉄(III)、 $\text{CO}_2$ 等が最終電子受容体として存在し、基質レベルのリン酸化（基質の酸化）により ATP を生産する。その際に生じた NAD(P)H などの中間電子受容体を再酸化し、細胞内での酸化還元バランスを維持するために水素や有機酸等を生成する。好気性代謝に比べて ATP 生成量（グルコース 1 分子あたり 2ATP）が少ない。菌体の増殖やエネルギーを多く必要とする化合物の合成では不利である。

好気性微生物：

酸素が最終電子受容体として役割を持ち、電子伝達系と酸化的リン酸化の共役反応により基質（有機物）を  $\text{CO}_2$  と  $\text{H}_2\text{O}$  まで完全に酸化できる。ATP 収量が高く、最大でグルコース 1 分子あたり 36ATP が生成される。また菌体の増殖速度・代謝産物の生成収率も嫌気性微生物に比べて高いである。

問2 環境中に存在する微生物の実に 99%以上が未だ培養されたことがない、あるいは培養の困難ないわゆる未知微生物であると言われている。嫌気環境における未知微生物を探索と分離するための研究戦略と手法について説明しなさい。

## 解答例

① 嫌気環境における微生物生態系の解析

未知な微生物を分離する前にまず環境における微生物生態系を解明する必要がある。16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域を対象とした PCR で増幅後、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) を用いて塩基配列の違いに基づいて微生物群集解析を行う。また、次世代シーケンサーを用いてターゲットアンプリコンシーケンシングおよびメタゲノム解析で環境を網羅的に解析することで、従来の培養方法では困難であった未知の微生物のゲノム情報が収集することが可能である。

② 環境試料の特性の理解

環境試料をサンプリングする際の温度、pH、塩分濃度、揮発性短鎖脂肪酸（有機酸）濃度を測定する。特に嫌気環境の場合では気相部のガス組成（水素、二酸化炭素、メタンガス）、酸化還元電位 (ORP) などを測定し、環境の条件を把握する。

③ 環境条件に基づく培養方法の検討

供試培地に環境試料から得られた抽出物を添加することや培養環境の気相部の組成を調整すること（窒素、水素、二酸化炭素等の割合）で微生物の探索および純粋分離を試みる。

# 大学院入学試験問題用紙

2026 年度 1 期

科 目 名	受 験 専 攻	受 験 番 号	氏 名
醸造環境科学	醸造学 専攻 博士後期 課程		

問3 メタン発酵における有機廃棄物（炭水化合物、タンパク質、脂質）からメタンガスに変換する過程について知るところを説明しなさい。

解答例

## (I) 加水分解過程

高分子の有機性廃棄物(炭水化物、タンパク質、脂質等)から高級脂肪酸やアミノ酸類へ低分子化する過程。主に加水分解菌が寄与する。

## (II) 酸生成過程

高級脂肪酸、アミノ酸などを経て低級脂肪酸（プロピオン酸や酪酸等）、酢酸、水素、二酸化炭素などに分解される過程。主に通性嫌気性細菌、偏性嫌気性細菌などの酸発酵細菌が寄与する。

## (III) 酢酸生成過程

酸生成過程で低級脂肪酸（プロピオン酸など）になった中間物は、本過程を経て酢酸、水素、二酸化炭素に変換される。主に酢酸生成細菌、共生酢酸生成細菌などが働き、一部の有機物を十分に酢酸などまで低分子化され、メタン生成古細菌に利用される形に変換する。

## (IV) メタンガス発生過程

本過程は主にメタン生成古細菌が働き、酸生成過程で生じたものを利用し、メタンと二酸化炭素へ変換される。