

高品質ビール大麦育成のための グルカン簡易測定法(Congo Red法)の改良

誌名	栃木県農業試験場研究報告
ISSN	03889270
著者名	石川,直幸 大塚,勝 小玉,雅晴 加島,典子
発行元	栃木県農業試験場
巻/号	47号
掲載ページ	p. 57-64
発行年月	1998年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



高品質ビール大麦育成のための β -グルカン簡易測定法(Congo Red法)の改良

石川直幸¹⁾・大塚勝・小玉雅晴・加島典子

摘要：ビール大麦の胚乳細胞壁の主成分である β -グルカンは大部分が製麦中に分解するが、未分解のまま麦汁に残った高分子 β -グルカンは麦汁ろ過の渋滞やビールの混濁の原因となるので、麦汁 β -グルカンの少ない品種の育成が求められている。 β -グルカンの定量は、酵素法と蛍光色素法が公定法となっているが、前者は手間がかかり後者は高価な専用分析装置を必要とする。そこで安価な汎用分析装置を用いて簡易に麦汁 β -グルカンを測定できるようCongo Red法を改良し、低 β -グルカン系統の選抜に利用できるようにした。Congo Redは高分子の β -グルカンとしか反応しない点が公定法と大きく異なる。その操作手順は次のとおりである。オートサンプラーを用いて0.7mLの麦汁を1.3mLの水とともに試験管に入れ、Congo Red溶液(140ppm Congo Red / 0.66M Trisバッファ, pH=8.0) 1.4mLを加え、3時間以上経ってから545nmの吸光度を測定する。原麦の β -グルカンも、90℃の水で1時間抽出した後、改良Congo Red法を用いれば簡易に測定できる。しかし原麦 β -グルカンの麦汁 β -グルカンに対する寄与率は低いので、原麦 β -グルカンは測定しなくてもよい。改良されたCongo Red法により栃木分場で麦芽分析を行っている全系統の麦汁 β -グルカンを簡易に測定できるようになり、低 β -グルカン系統の選抜が効率化した。

キーワード：ビール大麦，育種，麦芽品質，醸造適性， β -グルカン，簡易分析法，Congo Red法

Improvement of the Congo Red Method, a Rapid β -glucan Quantification Method for the Breeding of High Quality Malting Barley

Naoyuki ISHIKAWA, Masaru OHTSUKA, Masaharu KODAMA and Noriko KASHIMA

Summary: Barley (1-3, 1-4)- β -D-glucan (β -glucan), a major component of endosperm cell walls, degrades during the malting process, yet small amounts of β -glucan remain in malt and wort. Because high-molecular weight wort β -glucan has been implicated as a cause of slow wort separation and formation of haze in beer, barley cultivars with low wort β -glucan are desirable. Determination of wort β -glucan can be done by the enzymatic method or the fluorimetric method. The former method is so laborious that only a limited number of lines can be analyzed. The latter requires expensive special instrumentation. In this study, we developed a simple, low-cost and semi-automated method for determination of β -glucan by using Congo Red, a dye which reacts only with high-molecular weight β -glucan. The improved Congo Red procedure is as follows. Place 0.7mL of wort into a test tube with 1.3mL of water by an auto-sampler, add 1.4mL of Congo Red solution (140ppm Congo Red/0.66M Tris buffer, pH=8.0), and measure the absorbance at 545nm by a spectrophotometer. Barley β -glucan can be also determined by this method after extracting β -glucan from barley flour by hot water for one hour. However, barley β -glucan is not closely related to wort β -glucan, so determining barley β -glucan for all samples is not necessary. By incorporating this measurement of wort β -glucan into routine malt analysis, we are now able to measure wort β -glucan of all samples that are analyzed routinely in our breeding program, and select low β -glucan lines efficiently.

Key words: malting barley, breeding, malt quality, brewing quality, β -glucan, rapid analytical method, Congo Red method.

I 緒言

ビール大麦の育種においては収量性や栽培性もさることながら、醸造品質が優れることが不可欠の条件である。ビール大麦に求められる醸造品質は多数の項目からなるが、主なものは(1)一定量のビール大麦からできるビールの量に関わる「麦芽エキス」および「エキス収量」、(2)麦芽を糖化して麦汁を作るときに必要なデンプン分解酵素の活性「ジアスターゼ力」、(3)発酵性やビールの味、香り、色、泡保ち等に影響する「麦芽全窒素」、「可溶性窒素」およびその比である「コールパツハ数」、(4)発酵性に関係する「最終発酵度」などである。これらの項目についてはすでに分析法が確立しており、必須項目として分析され、選抜に利用されてきた⁸⁾。その結果、最近の育成系統はこれらの項目に関しては高いレベルに達している。

これらの項目に加え、近年ますます重要視されるようになってきた品質項目に、細胞壁の「溶け」がある。ビール大麦の胚乳細胞壁はグルコースが1-3結合と1-4結合で重合してできた多糖、(1-3,1-4)- β -D-グルカン(β -グルカン)が主成分であり、胚乳細胞壁の約7割を占める⁷⁾。種子全体から見ると β -グルカンの含有率は約3~5% (乾物重当り)であり、その約8~9割は製麦中に β -グルカナーゼ等の作用により分解する。 β -グルカンは水に可溶ではあるが溶けにくく、水溶液は粘性が高い。そのため麦汁中の β -グルカンが多いと麦汁やビールのろ過が渋滞し、ビール混濁の原因ともなる^{3,11)}。この β -グルカンの製麦中の分解が「溶け」であり、「溶け」の程度を直接調べるには麦芽あるいは麦汁の β -グルカン含有率を定量すればよいことは知られていたが、その分析が容易でなかったために品質選抜の初期段階から分析、選抜することは日本では行われていなかった。そのため、現場製麦・醸造試験の段階で「溶け」が悪いことが判明し、ビール原料として生産不可能となり、ビール大麦の作付計画に大きな狂いが生じたこともある。

β -グルカンの定量は酵素法 (McCleary法, BIOCON法とも言う)⁹⁾と蛍光色素法 (Calcofluor法, FIA法とも言う)¹⁾が公定法になっているが⁵⁾、前者は極めて手間がかかり試薬も高価であるので、多数の試料を分析することはできない。蛍光色素法は手間はあまりかからないものの、専用の高価な分析装置を必要とする。 β -グルカン以外の「溶け」の指標としては、麦芽のフライアピリティ、麦汁粘度、および麦芽エキスの微粉と粗粉の差が知られている^{5,10)}。フライアピリティの測定は比較的安価な装置で行うことができ操作も簡単ではあるが、1時

間に4~5点しか測定できず、しかも自動測定ができないので人手がかかり、育種の初期段階から取り入れることは困難である。麦汁粘度の測定は自動粘度計があれば比較的容易であるが、装置が高価である。麦芽エキスの微粉と粗粉の差は測定に多大な手間がかかる。

そこで、比較的安価な汎用分析装置を用い、少量の試料で簡易に麦汁 β -グルカンを測定できる方法を確立し、品質選抜の初期段階から用いることができるようなシステムの開発に取り組んだ。 β -グルカンの定量は既に報告のあるCongo Red法^{2,12)}を元にし、精度の向上と簡易化・自動化を図るために改良を加えた。また、その方法を応用して原麦および麦芽の β -グルカンを簡易に測定する方法を開発し、原麦・麦芽・麦汁の β -グルカンおよびその他の麦芽品質相互間の関係を明らかにすることによって、高品質系統を選抜するのに適した指標を検討した。

II β -グルカン簡易定量法の確立

1. 目的

比較的安価な汎用分析装置を用い、少量の試料で簡易に麦汁および原麦の β -グルカン含有率を測定する方法を確立する。そのため、Congo Redを用いたYinら(1994)の方法¹²⁾を元に、精度向上のために測定条件を検討・改良するとともに、自動化を図る。次に原麦・麦芽の β -グルカンを麦汁と同様に測定するための β -グルカン抽出法を検討し、原麦・麦芽の簡易測定法を確立する。

2. 材料および方法

材料として、栃木分場における通常の麦芽分析に供した1995~97年産のビール大麦、麦芽、麦汁を用いた。吸光度の測定には日立ダブルビーム分光光度計U-2001、試料の自動注入には日立オートサンプラーAS-3000、試薬の分注にはHirschmann EMディスペンサー、原麦・麦芽 β -グルカンの加熱抽出にはシグマテック恒温水槽を用いた。Congo Red試薬はSigma社C-6767、 β -グルカン標準液はMegaZyme社Calcofluor/FIA用Standard barley β -glucanを用いた。酵素法による測定にはMegaZyme社(1-3)(1-4)-II β -グルカン簡易定量法の確立 β -D-glucan assay kitおよびGlucose assay kitを用いた。

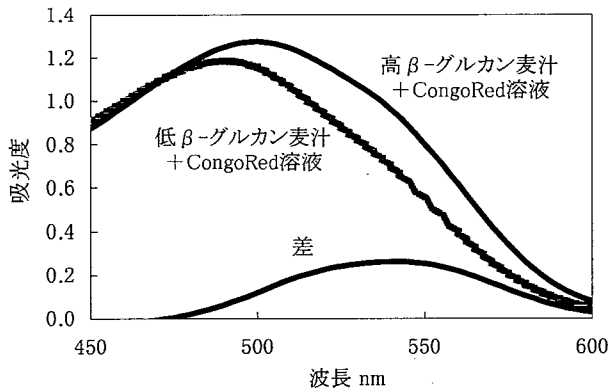
3. 結果および考察

1) 測定波長

β -グルカン濃度の低い麦汁と高い麦汁、それぞれをCongo Red溶液と混合した液の吸光スペクトルを測定した。その結果、第1図に示すように545nmにおいて最も吸光度の差が大きかったので、545nmを用いることにした。

2) パツファの種類と濃度

Congo Red溶液の吸光度はpHの影響を強く受けるので、



第1図 麦汁とCongo Red混合液の吸光スペクトル

正確に測定するためにはpHを一定に保つ必要がある。麦汁のpHは5~6で試料により差があるので、測定時のpHを一定に保つためにはできるだけ緩衝能の大きなバッファを使う必要がある。Yinら¹²⁾は0.1Mリン酸バッファを用いているが、それは緩衝能が低く、麦汁と混ぜることによりpHがかなり変動したので、リン酸バッファより緩衝能の強いTrisバッファを用いることにした。

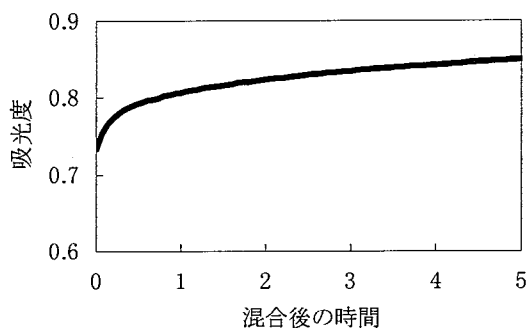
3) Congo Red溶液の濃度およびCongo Red溶液と麦汁の混合比率

測定精度を上げるためには、吸光度が高すぎず(吸光度1.5以下)、β-グルカンの多少による吸光度の差が大きく、分注時の誤差が少ない量・比率にする必要がある。検討の結果、6)に示す濃度・量・比率が最適であった。

なお、Congo Red試薬はメーカーにより濃度が異なるので、Sigma社以外の試薬を用いる場合は調整が必要である。

4) 麦汁とCongo Red溶液を混合してから測定までの時間

混合後の吸光度の変化を調べたところ、第2図に示すように徐々に上昇した。1回に60点余りの試料を分析する必要があるため、最初の試料と最後の試料で吸光度が経時変化しないよう、混合してから3時間以上経ってから吸光度を測定することにした。



第2図 麦汁とCongo Red溶液混合後の吸光度の変化

5) 分析の自動化と麦芽分析への組み込み

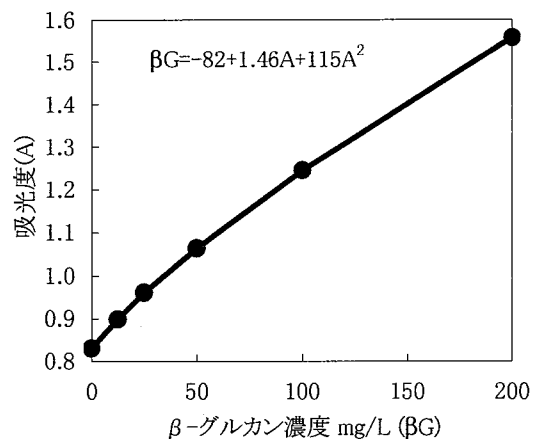
分注機能付き分光光度計用オートサンプラー(日立AS-3000)を用い、麦汁の分注と吸光度測定を自動化した。また、可溶性窒素も同じ麦汁を用いて分光光度計で測定できるので⁵⁾、β-グルカン測定用と可溶性窒素測定用の麦汁の分注を同時に行うことにより、分析時間の短縮と労力軽減を図った。栃木分場においてはBタイプの麦芽分析(F5世代以降の初期選抜)を1日に約60点、年間約1,100系統、1系統につき1~2点分析し、Aタイプの麦芽分析(後期選抜)を1日に約40点、年間約400系統、1系統につき2~4点分析を行っているが、そのすべてについて麦汁β-グルカンの測定を組み入れた。

6) 改良された麦汁β-グルカン定量法の操作手順

オートサンプラーを用いて0.7mLの麦汁を1.3mLの水とともに試験管に注入する。β-グルカン標準液(12.5, 25, 50, 100, 200 mg/L)も同様に注入する。Congo Red溶液は水800mLにTris 80g, Congo Red 140mgを溶かし、2N HClを約200mL加えてpHを8.0にする(結果としてCongo Redは140ppm, Tris濃度は0.66mol/Lとなる)。各試験管にCongo Red溶液1.4mLをビューレットで分注し、試験管ミキサーで攪拌する。麦汁の545nm吸光度をオートサンプラー付き分光光度計を用いて測定した後、Congo Red溶液の分注後3時間以上経ってから混合液の吸光度を同様に測定する。混合液の吸光度から麦汁の吸光度×0.7/(0.7+1.3+1.4)を引き、そのつどβ-グルカン標準液で作成した検量線を使って麦汁β-グルカン濃度を計算する。検量線は直線にはならないので、二次式を用いる(第3図)。

7) 麦汁β-グルカン測定値の公定法との比較

公定法(酵素法および蛍光色素法)による麦汁β-グルカン濃度がわかっているEBC標準麦芽を本研究で開発した改良Congo Red法で測定したところ、第1表に示す



第3図 標準液のβグルカン濃度と吸光度の関係

ように公定法による測定値の1/2~1/3の値を示した。これは、麦汁中には低分子のβ-グルカンが多く含まれているが、酵素法は全β-グルカンを検出するのに対し蛍光色素法では分子量が概ね104以上のみ、Congo Red法では概ね105以上のみ検出されるためと思われる^{2,12)}。醸造品質に影響するβ-グルカンは高分子のみといわれているので¹¹⁾、Congo Red法で高分子β-グルカンしか測定できないことは系統選抜の支障とはならない。

改良Congo Red法の反復測定精度は変動係数で示すと3~4%であり、EBCの標準値と比較すると蛍光色素法(変動係数1.4%)よりは精度が劣るが、酵素法(変動係数6.9%)よりは優れる。

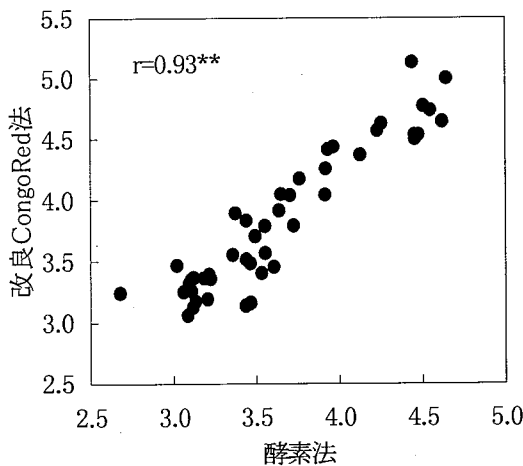
第1表 改良Congo Red法と公定法の比較
EBC標準麦芽の麦汁β-グルカン濃度(mg/L)

	12thEBC	14thEBC
改良 Congo Red 法	109	119
蛍光色素法 ¹⁾	290	246
酵素法 ¹⁾	335	(249) ²⁾

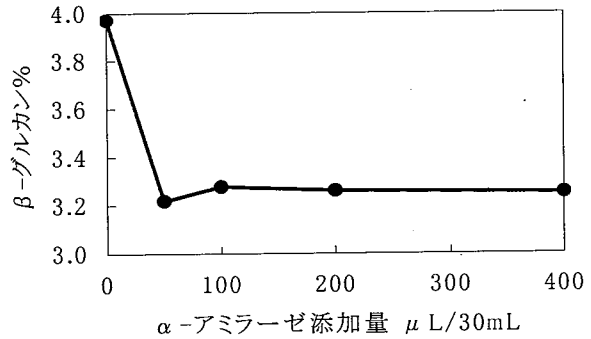
注1. 蛍光色素法と酵素法の値はEBCによる標準値。
2. ()内はデータ数が少ないため参考値。

8) 原麦β-グルカン抽出条件の検討

ビール大麦の原麦β-グルカンを改良Congo Red法で測定するためには、まず原麦からβ-グルカンを抽出する必要がある。従来、原麦β-グルカンの抽出には耐熱性α-アミラーゼ処理後、希酸で加熱抽出する方法がとられていた^{1,4,5)}。より簡易な抽出方法を確立するため、水のみで90℃ 1時間抽出を行い、麦汁と同様に改良Congo Red法で測定したところ、原麦粉を酵素法で直接測定した値とほぼ同じ値が得られた(第4図)。



第4図 改良Congo Red法と発酵法による原麦β-グルカン含有率の比較



第5図 抽出時のα-アミラーゼ添加が改良Congo Red法による原麦β-グルカン測定値に及ぼす影響

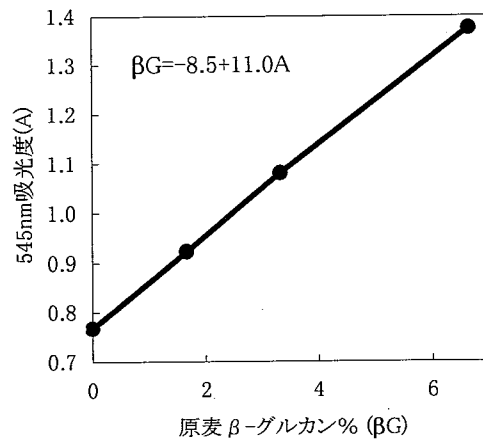
従来の報告によれば、熱水のみでは高分子のβ-グルカンは抽出されるものの低分子のβ-グルカンはタンパク質と結合しているために十分抽出されない^{4,11)}。改良Congo Red法では高分子のβ-グルカンしか測定できないために、熱水による抽出で十分であったものと思われる。

なお、耐熱性α-アミラーゼとしてSigma A3403を使用したところ、第5図に示すように測定値が低下した。この原因としては、α-アミラーゼにリケナーゼが混入していた可能性が示唆される。

麦芽についても原麦と同様に抽出し、改良Congo Red法で測定することができた。ただし、麦芽の場合は酵素法による測定値の1/2程度の値となった。

9) 原麦・麦芽β-グルカン簡易定量法の操作手順

50mLねじ蓋付三角フラスコに原麦粉0.5g(麦芽粉の場合は1.5g)と水30mLを入れ、90℃恒温水槽で1時間振盪抽出する。抽出液を試験管に移して3500rpmで10分間遠沈し、オートサンプラーで抽出液の上清0.09mL(麦芽の場合は0.4mL)を水1.5mLとともに別の試験管



第6図 標準液のβ-グルカン濃度(原液β-グルカン含有率に換算)と吸光度の関係

に注入する。β-グルカン濃度400および800mg/L(麦芽の場合は100, 200, 400mg/L)の標準液も同様に注入する。標準液はそれぞれ原麦β-グルカン含有率2.4, 4.8%(麦芽の場合は0.2, 0.4, 0.8%)に相当する。各試験管にCongo Red溶液1.4mLを加え攪拌する。抽出液(上清)および抽出液とCongo Redの混合液それぞれの545nm吸光度を(混合液の吸光度は混合後3時間以上経ってから)測定する。混合液の吸光度から抽出液(上清)の吸光度×0.09/(0.09+1.5+1.4)を引き、β-グルカン標準液で作成した検量線を用いてβ-グルカン濃度を計算する。検量線はほぼ直線になる(第6図)。

10) 原麦・麦芽β-グルカン測定値の公定法との比較

第4図に示すように本法による原麦β-グルカンの測定値は酵素法による測定値とほぼ一致する。麦芽については本法の測定値は酵素法の半分以下である(データ省略)が、これは麦芽には原麦よりも高い比率で低分子β-グルカンが含まれるためと思われる。

用いたβ-グルカン標準液は大麦から抽出されたβ-グルカンで、分子量の低いものから高いものまで含まれており、その全量を酵素法で定量した値が表示されている。したがって、その中に含まれる改良Congo Red法で検出されるβ-グルカンの量は、表示されている値より少ない。原麦β-グルカンには標準液とほぼ同じ比率で高分子β-グルカンが含まれているために改良Congo Red法による測定値と酵素法による測定値が一致したものと思われる。

本法による原麦β-グルカンの反復測定精度は、変動係数1.6%であり、酵素法の3.3%より優れていた。

Ⅲ β-グルカン関連形質相互間の関係

1. 目的

麦芽および麦芽汁のβ-グルカン含有率は製麦しなければ測定できない。原麦でこれらが推定できれば選抜が飛躍的に効率化する。そこで、原麦β-グルカンと麦芽・麦芽汁β-グルカンの関係を調べ、原麦β-グルカン含有率により麦芽汁β-グルカン含有率の低い系統が選抜可能かどうか明らかにする。また、「溶け」に関連する麦芽β-グルカン、麦芽汁β-グルカン、麦芽粘度等の相互間、およびそれらとその他の麦芽品質との関係を明らかにする。

2. 材料および方法

1) 供試材料

供試材料はすべて栃木分場1997年産のビール大麦で、次の4集団を用いた。

集団A：育成系統・品種等82系統，Aタイプ分析(250g製麦，一定浸漬度，2~4反復分析)を実施。

集団B：育成系統・品種等364系統，Bタイプ分析(60g製麦，一定浸漬度または一定浸漬時間，反復なし)を実施。

集団C：大系HG32/ミサトゴールデンの無選抜SSD F4世代126系統，Bタイプ分析(60g製麦，一定浸漬時間，2反復分析)を実施。

集団D：関東二条25号/南系B4641の無選抜SSD F7世代126系統，Bタイプ分析(60g製麦，一定浸漬時間，2反復分析)を実施。

すべての集団について麦芽β-グルカン，麦芽粘度および一般的な麦芽品質を調べた。集団Dのみ原麦および麦芽のβ-グルカンも調べたが，麦芽収量率は調べなかった。

2) 分析方法

β-グルカンの定量は本研究で開発した改良Congo Red法を用いた。麦芽粘度はヤヨイ社製全自動粘度測定装置Y-VM91を用いて測定した。その他の麦芽品質は栃木分場の定法にしたがって分析した。

3. 結果および考察

1) 原麦，麦芽，麦芽汁のβ-グルカン含有率相互間の関係

原麦から麦芽，麦芽から麦芽汁になる際に，β-グルカンはそれぞれ平均して1/7~1/8に減少した(第2表)。また，麦芽と若ビール(麦芽を発酵させたもの)ではβ-グルカン濃度はほとんど変化しなかった(データ省略)。麦芽β-グルカンと麦芽汁β-グルカンの相関は0.90と極めて高いが，原麦β-グルカンと麦芽，麦芽汁のβ-グルカンの間の相関はそれぞれ0.30, 0.39であり，1%水準で有意ではあるものの寄与率は小さかった(第6表)。したがって，原麦β-グルカンによる麦芽汁β-グルカンの間接選抜は効率が低いと判断した。一方麦芽と麦芽汁のβ-グルカンの相関は高いので，どちらも選抜に利用できるが，麦芽の方が測定が容易であるので，麦芽による選抜が適すると判断した。

第2表 集団Dにおける原麦，麦芽，麦芽汁のβ-グルカン含有率

	原麦 %	麦芽 %	麦芽汁 mg/L
レンジ	2.4 - 4.6	0.22 - 0.86	8 - 193
平均値 (麦芽換算)	3.4	0.48	68 (0.054%)

第3表 集団A(育成系統82点, Aタイプ分析)における麦芽品質間相関

	製麦時 浸漬度	麦芽 収量率	麦芽 エキス	麦芽 全窒素	可溶性 窒素	ジアスタ ゼ力	麦芽β -グルカン
麦芽収量率	-0.58						
麦芽エキス	-0.31	-0.19					
麦芽全窒素	0.31	0.05	-0.69				
可溶性窒素	-0.18	-0.17	0.46	-0.16			
ジアスタゼ力	0.16	0.02	-0.11	0.58	0.12		
麦芽β-グルカン	-0.28	0.35	-0.15	-0.04	-0.41	-0.39	
麦芽粘度	-0.16	0.28	-0.06	-0.16	-0.30	-0.46	0.81

注. 太字は1%水準で有意

第4表 集団B(育成系統364点, Bタイプ分析)における麦芽品質間相関

	製麦時 浸漬度	麦芽 収量率	麦芽 エキス	麦芽 全窒素	可溶性 窒素	ジアスタ ゼ力	麦芽β -グルカン
麦芽収量率	0.32						
麦芽エキス	0.42	0.16					
麦芽全窒素	-0.40	-0.32	-0.62				
可溶性窒素	-0.15	-0.58	0.05	0.33			
ジアスタゼ力	-0.17	-0.28	-0.10	0.54	0.34		
麦芽β-グルカン	-0.04	0.45	0.00	-0.19	-0.36	-0.33	
麦芽粘度	0.03	0.48	-0.05	-0.12	-0.33	-0.36	0.89

注. 太字は1%水準で有意

第5表 集団C(大系HG32/ミナコ-ルデンのSSDF4系統126点)における麦芽品質間相関

	製麦時 浸漬度	麦芽 収量率	麦芽 エキス	麦芽 全窒素	可溶性 窒素	ジアスタ ゼ力	α-アミラ ゼ活性	麦芽β -グルカン
麦芽収量率	-0.78							
麦芽エキス	0.19	-0.36						
麦芽全窒素	0.02	-0.06	-0.07					
可溶性窒素	0.39	-0.51	0.29	0.13				
ジアスタゼ力	0.03	-0.08	0.13	0.36	0.04			
α-アミラゼ活性	0.54	-0.60	0.18	-0.05	0.52	-0.14		
麦芽β-グルカン	-0.45	0.50	-0.23	-0.11	-0.41	-0.48	-0.37	
麦芽粘度	-0.32	0.40	-0.07	-0.09	-0.37	-0.40	-0.31	0.89

注. 太字は1%水準で有意

第6表 集団D(関東二条25号/南系B4641のSSDF7系統126点)における麦芽品質間相関

	製麦時 浸漬度	麦芽 エキス	麦芽 全窒素	可溶性 窒素	ジアスタ ゼ力	α-アミラ ゼ活性	原麦β -グルカン	麦芽β -グルカン	麦芽β -グルカン
麦芽エキス	-0.20								
麦芽全窒素	0.21	-0.48							
可溶性窒素	0.20	0.35	0.15						
ジアスタゼ力	-0.01	0.19	0.08	0.25					
α-アミラゼ活性	0.23	0.19	-0.07	0.73	0.22				
原麦β-グルカン	-0.02	-0.20	0.25	0.09	-0.39	-0.05			
麦芽β-グルカン	-0.26	-0.40	0.16	-0.63	-0.38	-0.66	0.30		
麦芽β-グルカン	-0.13	-0.44	0.16	-0.55	-0.34	-0.55	0.39	0.90	
麦芽粘度	-0.16	-0.35	0.15	-0.49	-0.35	-0.56	0.32	0.86	0.86

注. 太字は1%水準で有意

2) 麦汁の粘度と β -グルカン含有率の関係

麦汁粘度と麦汁 β -グルカン含有率の相関は0.81~0.89と高かった(第3~6表)。どちらも比較的簡易に測定できるが、麦汁 β -グルカンの方がより短時間で測定できる。一方測定精度は麦汁粘度の方が高い。どちらも「溶け」の指標として重要であるといわれているが、どちらがより重要であるかを明らかにすることは今後の課題である。

3) 麦汁の β -グルカンおよび粘度とその他の麦芽品質の関係

調査した4集団に共通して次の傾向が認められた(第3~6図)。麦汁 β -グルカンおよび麦汁粘度は、(1)可溶性窒素、ジアスターゼ力、 α -アミラーゼ活性と-0.30~-0.56の負の相関があり、(2)麦芽収量率と0.28~0.50の正の相関があった。

これらはすべて発芽中に合成される酵素と関係している。麦汁 β -グルカンと麦汁粘度は β -グルカナーゼの作用により減少し、可溶性窒素はプロテアーゼの作用により増加する。ジアスターゼと α -アミラーゼは発芽中に合成される酵素である。麦芽収量率は、芽や根の伸長や呼吸が大きい、すなわち発芽中の酵素活性が高いと減少する形質である。これらの間に相関があるということは、これらの酵素を共通に制御する遺伝的要因の存在を示唆する。

麦汁 β -グルカン含有率の低い系統を選抜することにより可溶性窒素、ジアスターゼ力、 α -アミラーゼ活性が高まることは高品質系統の選抜にとって望ましいことである。一方麦芽収量率の低下は望ましくないが、麦汁 β -グルカンと麦芽エキス間に弱いながらも負の相関があるために、エキス収量(麦芽収量率と麦芽エキスの積)は麦汁 β -グルカンとの相関係数がほぼ0であり、実用上支障がないと思われる(データ省略)。

IV 総合考察

麦汁 β -グルカンはビール大麦の醸造品質に大きな影響を及ぼす重要な形質であり、現在では麦汁 β -グルカン濃度が低い(またはそれに代わる「溶け」の指標が優れる)ことは新品種に必要不可欠な条件である。栃木分場では1日40~60点の麦芽分析を行なっているが、それだけの点数の麦汁 β -グルカンを酵素法で分析することは実際上不可能である。改良Congo Red法を用いれば可溶性窒素と同時に麦汁 β -グルカンを分析でき、そのために付加すべき時間は1日30分足らずで済む。この方法により、栃木分場における麦芽分析材料全点(年間約1500系統)の麦汁 β -グルカンが測定できるようになり、低

β -グルカン系統の選抜が効率化した。また、麦汁 β -グルカンの少ない系統を選抜すれば、デンプン分解酵素の活性(ジアスターゼ力と α -アミラーゼ活性)とタンパク質の溶け(麦芽可溶性窒素)も向上することが示された。

Congo Redは高分子の β -グルカンとしか反応しないところが検量線の作成に用いた β -グルカン標準液は分子量分布が未知であり、全 β -グルカン量を酵素法で定量した値が表示されている。そのため、本法では相対量は測定できるが絶対量を知ることはできない。系統選抜には相対測定で十分であるが、絶対量を知るためには分子量分布を調べる必要がある。

自動粘度計の導入により、麦汁粘度も麦芽分析材料全点について測定できるようになった。麦汁 β -グルカンと麦汁粘度は相関が高く、醸造適性から見てほぼ同じ意味を持つものと思われるが、高品質系統を選抜する際の指標としていずれがより適しているのか、今後さらに研究する必要がある。

麦汁 β -グルカン濃度の遺伝的差異は麦芽糖化時の β -グルカン分解程度ではなく、製麦中の β -グルカン分解程度の寄与が大きいことが示された。また原麦 β -グルカンは麦汁 β -グルカンとの相関が有意ではあるもの高くはない。麦汁 β -グルカンは通常の麦芽分析で製造される麦汁を使って測定できるのであまり労力がかからないが、原麦・麦芽の β -グルカンを測定するには抽出を行う必要があるために麦汁より労力を必要とする。これらを考え合わせると、通常の系統選抜においては原麦・麦芽の β -グルカンを測定する必要はない。

なお、麦芽および麦汁の β -グルカン含有率は栽培環境や製麦条件、糖化条件によって影響を受けやすく、とりわけ製麦時の浸漬度によって大きく変化するので^{6,10}、製麦時の浸漬度に十分注意する必要がある。

引用文献

1. Aastrup, S. and Jorgensen, K. G. (1988) Application of the calcofluor flow injection analysis method for determination of β -glucan in barley, malt, wort, and beer. J. Am. Soc. Brew. Chem. 46(3): 76-81.
2. Anderson, I. W. (1990) The effect of β -glucan molecular weight on the sensitivity of dye binding assay procedures for β -glucan estimation. J. Inst. Brew. 96: 323-326.
3. Bamforth, C. W. (1982) Barley β -glucans. Their role in malting and brewing. Brewers Digest 57(6): 22-27, 35.

4. Beer, M. U., Wood, P. J. and Weisz, J. (1997) Molecular weight distribution and (1R3)(1R4)- β -D-glucan content of consecutive extracts of various oat and barley cultivars. *Cereal Chem.* 74(4): 476-480.
5. European Brewery Convention (1998) In "Analytica-EBC", published by Verlag Hans Carl Getranke-Fachverlag, Nurnberg.
6. 石川直幸・加島典子・大塚勝・小玉雅晴 (1997) 醸造用オオムギにおける低 β -グルカン系統選抜のための麦汁 β -グルカン簡易測定法. 育雑47(別1): 256.
7. MacGregor, A. W. and Fincher, G. B. (1993) Carbohydrates of the barley grains. In "Barley: Chemistry and Technology" MacGregor, A. W. and Bhatt, R. S. (eds.), Am. Soc. Brew. Chem., Minnesota: 73-130.
8. 増田澄夫 (1993) 充実期の育種. 「わが国におけるビール麦育種史」 増田澄夫, 川口敷美, 長谷川康一, 東修 編著, ビール麦育種史を作る会発行, 東京: 34-63
9. McCleary, B. V. and Glennie-Holmes, M. (1985) Enzymic quantification of (1R3)(1R4)- β -D-glucan in barley and malt. *J. Inst. Brew.* 91: 285-295.
10. Smart, J.G., Lukes, B.K., Tie, E. and Ford, T. (1993) Relationship among wort β -glucan, malting conditions, and malt analysis. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 51(3): 88-93.
11. Wainwright, T. (1990) Update on β -glucans. *Brewers' Guardian* 119(1): 9-13.
12. Yin, X.S., Li, Y.X. and Gu, G.X. (1994) Rapid measurement of β -glucans in wort and beer by Congo Red, Proceedings of the 23rd convention, The Institute of Brewing, Asia Pacific Section, South Australia: 204.