

オートアナライザーによる麦芽のジアスターゼ力と全窒素の測定法について

—育種試験のための醸造用品質検定法—

川口数美*・関口忠男・赤羽根朋子

松永 隆・久保野実

I 緒 言

ビールムギ醸造用品質検定法確立のための一連の研究として、オートアナライザー（テクニコン社，U.S.A）によるジアスターゼ力及び全窒素の測定法についての試験を行った。

ジアスターゼ力及び全窒素の測定について、それぞれEBC法^{1,3)}及びケルダール法をオートアナライザー（以下オートという）に導入できないかどうかについて検討を加え、ほぼ目的を達したので報告する。

II ジアスターゼ力の測定について

①テクニコン社製の機器と日立社製の機器との接続が可能かどうか検討し、次に、②フローダイアグラムを設定し、ついで③オートによる測定法と用手法**との関係調べた。

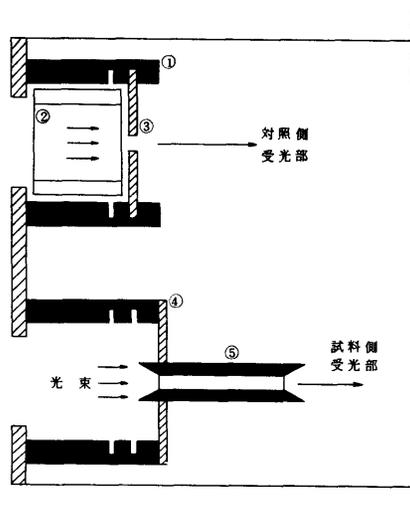
1. 機器の接続について

機器の接続で問題となった点は加熱槽（テクニコン社製）と分光光度計（日立社製，ダブルビーム124型）との接続方法であった。分光光度計はダブルビーム方式であるため、第1図に示したように対照側に水の入ったキューベットの備え付け、試料側にホルダーを作製してフローセル（テクニコン社製，15mm）を取り付けた。このフローセルに加熱槽からのチューブをつなぐことによって、加熱槽から流れてくる反応溶液を分光光度計に導くことができた。この場合、分光光度計の対照側と試料側の光の通過量を等しくすることが難しかったので、対照側のキューベットの前にアパーチャーをつけて光の通過量を調節できるようにした。

2. フローダイアグラムの設定について

EBC法に定められた測定条件を満たすように第2図に示すフローダイアグラムを設定した。この場合、糖化反応後生成された還元糖の測定は、テクニコン工業分析法のグルコース測定用フローダイアグラムを参考にした。

第2図のフローダイアグラムにしたがってマニホールドを作製し、数品種の麦芽のジアスターゼ抽出液を各品種とも4～5点ずつ採取し、オートにかけてピークが描かれるかどうかを調べた。その結果各品種とも最初のピークは、前の品種のピークが高い（低い）場合には前の試料の影響を受けて高く（低く）なったが、2番めのピークからはそのような影響はみられず、ピークの頂点がそろい良好なピークを描くことが



第1図 分光光度計のフローセルの接続方法

- ① キューベットホルダー（日立社製）
- ② キューベット（"）
- ③ アパーチャー（作製）
- ④ フローセルホルダー（"）
- ⑤ フローセル（テクニコン社製）

*現農事試験場

**用手法とは、オートアナライザーによる測定法に対して手操作で行う測定法をいう。

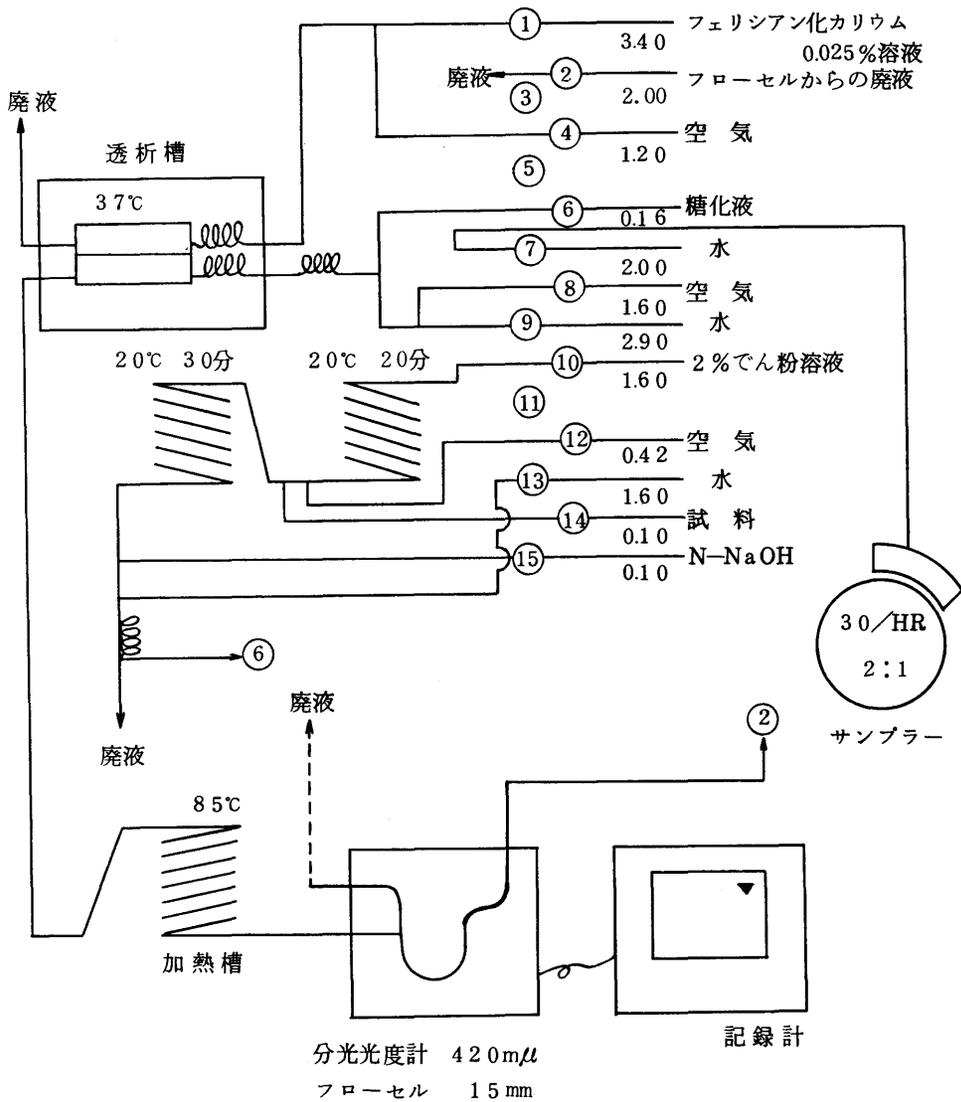
できた（カムは30/HR 2:1）。このように、2番めのピークからはピークがそろったので再現性は充分にあるものと考えられ、測定液は同一材料の抽出液から2点採取してオートにかけ、ピークは2番めのピークを読みとることにした。

3. オートアナライザーによる測定値と用手手法による測定値との関係について

オートで測定した場合と用手手法で測定した場合との測定値の関係を調べるため、次のような試験を行った。

1) 実験材料及び実験方法

麦芽96品種についてEBC法にしたがって40℃1時間で抽出を行った。抽出に用いた麦芽粉の量はEBC法の20gに対し4g、加える水の



第2図 ジアスターゼ力測定用フローダイアグラム

量は 500 g に対し 100 ml であった。抽出後、通常のろ過方法でろ過し、ろ液を各品種毎に折半して、オートと用手法とでジアスターゼ力を測定した。

オートに使用した試薬は次のとおりである。

試薬

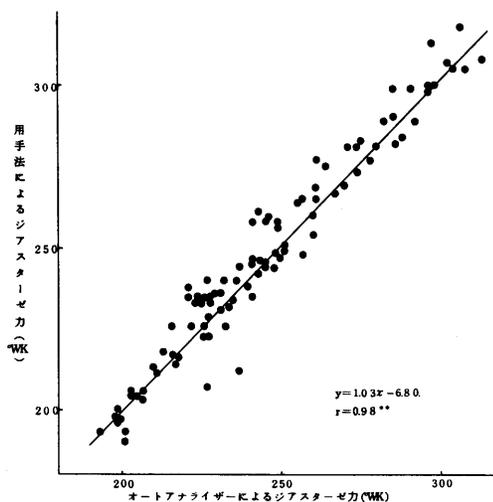
フェリシアン化カリウム 0.025 % 溶液：
フェリシアン化カリウム 0.25 g 及び炭酸ナトリウム 20 g を純水で溶かして 1 l とした。

2 % でん粉溶液： 国産化学社製の可溶性でん粉を使用し、でん粉溶液 100 ml に対し酢酸緩衝液を 5 ml 加えた。

酢酸緩衝液 (pH 4.3)： N/2 酢酸 100 ml (純水酢酸 3.0 g を純水 100 ml に溶かす) と結晶酢酸ナトリウム 3.4 g を純水 50 ml に溶かした液を加えて全体を 150 ml とした。

N-水酸化ナトリウム溶液

2) 実験結果及び考察



第3図 ジアスターゼ力についてのオートアナライザーと用手法との関係

測定した96品種の中でジアスターゼ力の最高と最低のものを標準とし、この2点のジアスターゼ力(用手法の測定値)とオートのピーク値から比例配分によって残りの94品種のジアスターゼ力を算出した。

オートで測定したジアスターゼ力と用手法で測定したジアスターゼ力との関係を第3図に示す。図にみられるように、両者の間に相関係数 0.98** という極めて高い相関が認められた。

以上のようにオートによる測定値と用手法による測定値との間に極めて高い相関が認められ、フローダイアグラムの設定の項でピークの再現性も認められたことから麦芽のジアスターゼ力測定は用手法による測定からオートによる測定に代えても充分に行うことができるものと考えられる。

III 全窒素の測定について

①フローダイアグラムを設定し、ついで②オートによる測定法と用手法との関係について分解剤をかえて調べ、ついで③ブロックダイジェスターを用いた場合の分解方法の試験を行った。

1. フローダイアグラムの設定について

麦芽の全窒素含量は約 1~3 % 位であり、麦芽 1 g を分解し純水で 100 ml に定容した場合、窒素濃度は約 100~300 ppm となる。窒素濃度を 10~60 ppm (予備試験の結果、この範囲が適当であった) にするためには試料のひょう取量を少なくするか、分解後の定容量を多くしなければならないが、前者はひょう量誤差が大きくなり、後者は時間と労力を要する。そこでこの問題をオートで解決するため試料希釈用の水のラインを多くして分解後の定容量を多くすることを考え、第4図に示すフローダイアグラムを設定した。

第4図のフローダイアグラムにしたがってマニホールドを作製し、100~300 ppm の範囲に濃度の異った硫酸アンモニウム溶液を14点用意

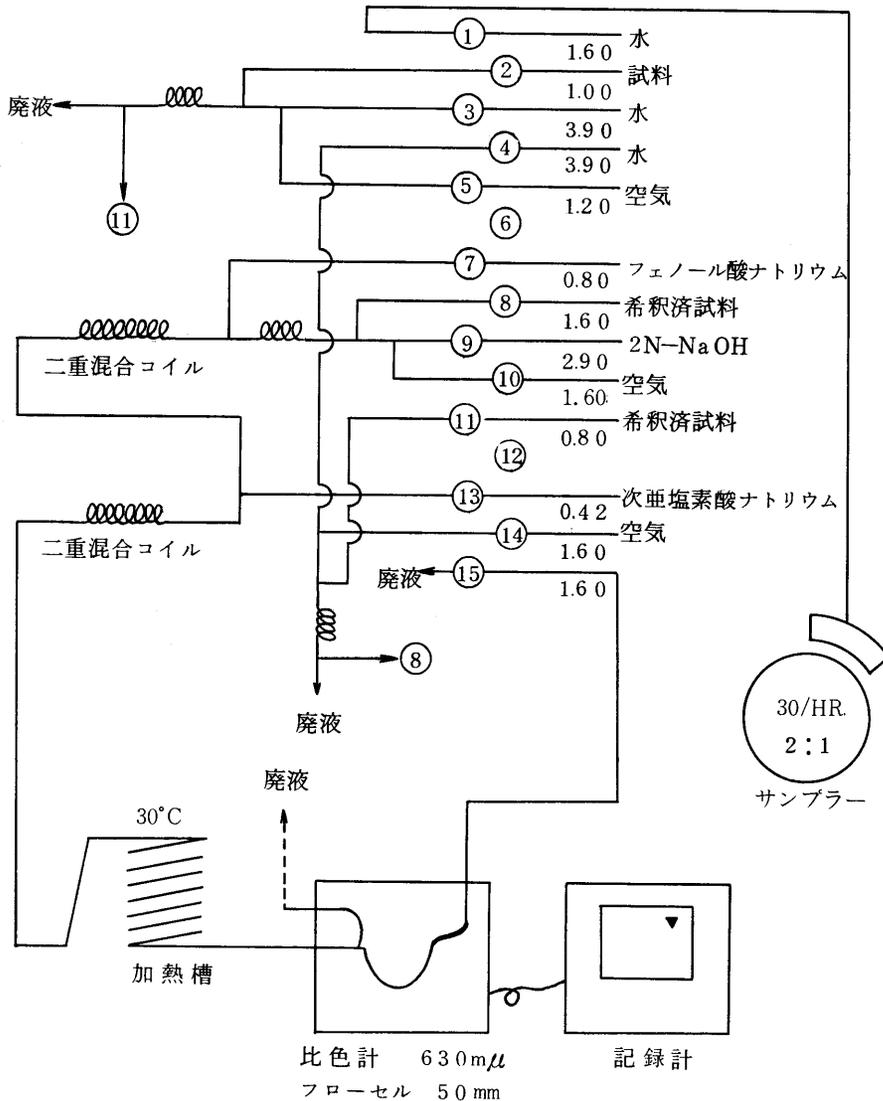
し、各々から2点ずつ測定液を採取して1区と2区に分け、両区ともサンプラーに任意に並べてオートにかけた。

その結果良好なピークが描かれ、各濃度の溶液の1区及び2区のピークはいずれもほぼ同じ値を示した。したがってジアスターゼの場合のような前試料の影響はほとんどないものと考えられるので、オートの測定液は同一材料の分解定容後の溶液から1点採取することにした。

えられるので、オートの測定液は同一材料の分解定容後の溶液から1点採取することにした。

2. オートアナライザーによる測定値と用手法による測定値との関係について

2種の異なる分解剤を用いてそれぞれにおけるオートによる測定値と用手法による測定値との関係を調べるため次のような試験を行った。



第4図 全窒素測定用フローダイアグラム

1) 実験材料及び実験方法

(1) 硫酸銅硫酸カリ分解剤による分解について

麦芽36品種を粉碎し、各々1gを精ひょうした。濃硫酸10ml及び分解剤(硫酸銅1+硫酸カリウム9)を約4~6g加え分解した。分解後純水で100mlに定容してオートと用手法の両法で全窒素含量を測定した。

オートに使用した試薬は次のとおりである。

試薬

フェノール酸ナトリウム溶液：5N一水酸化ナトリウム溶液500mlにフェノール276mlをゆっくりかくはんしながら加え、冷却後純水で全体を1lとした。

2N一水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム80gと重金属の沈殿を防ぐため酒石酸カ

リウムナトリウム 11.4gを純水に溶かし全体を1lとした。

次亜塩素酸ナトリウム：5.0%の有効塩素を含むものである。

(2) 酸化分解混液*による分解について
麦芽17品種を粉碎精ひょうし、酸化分解混液10mlを加えて分解した。分解後(1)と同様にしてオートと用手法の両法で全窒素含量を測定した。

オートに使用した試薬は(1)とまったく同じである。

2) 実験結果及び考察

測定に供試した材料の中で全窒素含量の最も高いものと低いものとを標準として、この2点の材料の全窒素含量(用手法の測定値)とオートのピーク値から比例配分によって残りの材料の全窒素含量を算出した。

(1) 硫酸銅硫酸カリ分解剤による分解について

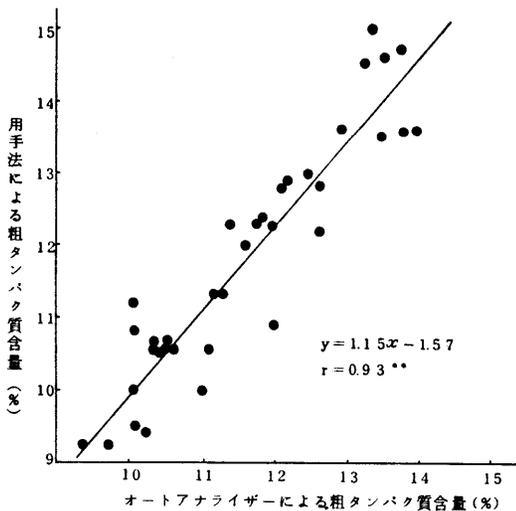
麦芽36品種の全窒素含量をオートと用手法で測定した関係を第5図に示す。図にみられるように、やや広がりをもった分布を示しており、相関係数も0.93**期待した寄与率0.90以上よりやや低かった。

本研究ではないが濃度の異なる硫酸銅溶液(0.5~3.0%溶液)を全窒素用マニホールドでオートにかけた場合、0.5%溶液でも検出されてしまうので分解剤中の硫酸銅の影響(分解剤の量は一定でない)がオートと用手法間の相関が低くなった原因のひとつと考えられる。

したがって硫酸銅硫酸カリ分解剤を用いる場合、オートの測定精度をより高めるためには分解剤の量のある程度一定にしなければならないであろう。

(2) 酸化分解混液による分解について

麦芽17品種の全窒素含量をオートと用手法で測定した関係を第6図に示す。図にみられるように、先の硫酸銅硫酸カリ分解剤の場合にく



第5図 硫酸銅硫酸カリ分解剤を用いた場合の粗タンパク質含量についてのオートアナライザーと用手法との関係

注 粗タンパク質含量：全窒素(%)に6.25を乗した値

* 酸化分解混液とは、約50mlの純水に二酸化セレン6.0gを溶かし、それに過塩素酸40ml、濃硫酸約900mlを加えて全体を1lとした混合液をいう。

らべて分布のひろがりは狭く、相関係数が0.98**、寄与率も0.96で期待以上であった。

以上の(1)及び(2)から酸化分解混液を使用すればオートによる全窒素の測定は充分用手法に代えうるものと考えられる。また、硫酸銅硫酸カリ分解剤を使用する場合でも、労力を要するであろうが分解剤を一定量加えるようにすれば、オートによる測定は可能なものと考えられる。

3. 分解方法について

著者らの用手法による麦芽の窒素分析では、分解時(試料ひょう取を含む)の誤差が蒸留滴定の誤差にくらべてかなり大きいことを報告した²⁾。分解時の誤差を小さくすれば当然分析の精度は高まるものと考えられる。

そこで、ブロックダイジェスター(テクニコ

ン社)がこの目的にかなうかどうかを検討するため次のような試験を行った。

1) 実験材料及び実験方法

麦芽5品種について0.5g精ひょうして、ブロックダイジェスターのI・II(機種は変わらない)及びドラフトの3条件で6反復して分解した。

ブロックダイジェスター(I・II)では、75ml容分解瓶を用い、酸化分解混液10mlを加えた。分解温度は、はじめ200℃で30分、次に350℃で2時間30分加熱して分解を行うことが麦芽の場合最も能率的であることを予備試験で確かめたので、所定の温度で分解した。分解後純水で75mlに定容してオートで窒素含量を測定した。

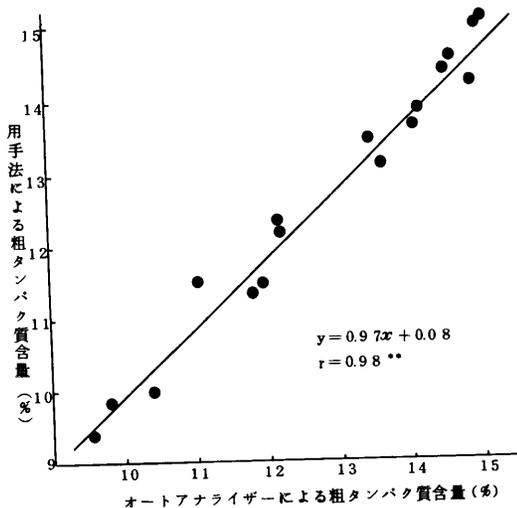
2) 実験結果及び考察

ブロックダイジェスターのI・II及びドラフトで試料を分解し、オートで全窒素含量を測定した測定値の分散分析の結果を第1表に示す。

表にみられるようにドラフト分解における品種内の誤差分散が最も大きく、ブロックダイジェスターの誤差分散は小さい。この誤差分散から反復のない場合の最小有意差を求めると、ブロックダイジェスターのI・II及びドラフトで、それぞれ0.33、0.28及び1.46である。

このようにブロックダイジェスターによる分解は従来のドラフト分解にくらべて非常に安定した分解ができた。このような差が生じたことについては、ドラフト分解の場合にはガスバーナーの火力の調節が比較的難しく、突沸によって試料が消失してしまうこともあろうが、ブロックダイジェスターではその調節が容易で突沸による試料の消失がなかったためであろうと考えられる。

したがって酸化分解混液を加えてブロックダイジェスターで分解を行い、ついでオートアナライザーで全窒素含量を測定する方法はドラフト分解から用手法という方法より測定精度が高い分析法であるものと考えられる。



第6図 酸化分解混液を用いた場合の粗タンパク質含量についてのオートアナライザーと用手法との関係

以上のように本研究で確立したオートアナライザーによる麦芽のジアスターゼ力及び全窒素の測定法は、著者らが行っていた用手法にくらべてその精度は同じかあるいはそれ以上に高いものであることが認められたので、今後醸造用品質検定試験のジアスターゼ力及び全窒素の測定はオートアナライザーで行うことにする。

IV 摘 要

1. ビールムギ醸造用品質検定法確立のための一連の研究として、オートアナライザーによる麦芽のジアスターゼ力及び全窒素の測定法について試験を行った。

2. ジアスターゼ力の測定ではテクニコン社製の機器と日立社製の機器の接続が可能かどうか検討し、フローダイアグラムの設定を行い、オートアナライザーによる測定法と用手法との関係について調べた。

その結果、機器の接続は可能であり、EBC法に定められた測定条件を満たすことができるフローダイアグラムを設定した。オートアナライザーによる測定値と用手法による測定値の間には極めて高い相関が認められ、麦芽のジアスターゼ力測定は用手法からオートアナライザ

ーによる測定に代えても充分行うことができるものと判断された。なお、オートアナライザーの測定液は前試料の影響が認められたので同一材料の抽出液から2点採取し、ピークは2番めのピークを読み取ることにした。

3. 全窒素の測定ではフローダイアグラムの設定を行い、オートアナライザーによる測定法と用手法との関係について分解剤をかえて調べ、ついでブロックダイジェスターを用いて分解方法について試験を行った。

その結果、麦芽粉1gを分解して純水で100mlに定容して測定するフローダイアグラムを設定した。オートアナライザーによる測定値と用手法による測定値の間には、酸化分解混液を使用した場合に高い相関が認められた。分解方法ではブロックダイジェスターによる分解がドラフトによる分解よりも安定していた。

したがって酸化分解混液を加えてブロックダイジェスターで分解を行いオートアナライザーで全窒素含量を測定する方法は、著者らの行っている用手法にまさるものであると判断された。

4. 以上のことから、今後醸造用品質検定試験のジアスターゼ力及び全窒素の測定は本研究で確立したオートアナライザーによる測定法を

第1表 ブロックダイジェスターとドラフト分解法で分解した場合の粗タンパク質含量の分散分析

要 因	自由 度	平 方 和	分 散	分 散 比
品 種	4	260.900	65.22	∞
分 解 法	2	0.132	0.066	1.01
品種 × 分解法	8	0.560	0.070	1.07
誤 差	75	4.888	0.065	
分解法間内の品種内				
ド ラ フ ト	25	4.308	0.172	19.11**
①ブロックダイジェスター I	25	0.334	0.013	1.44
② " II	25	0.223	0.009	

注. **は1%で有意

用いて行うことに決定した。

本試験の実施にあたり御協力をいただいた栃木県農業試験場阿部盟夫主任研究員並びに栃木県食品工業指導所林幹技師に厚く謝意を表す。

引用文献

1. European Brewery Convention(1963)

Analytica—EBC(Second Edition)
Elsevier Publishing Company Amster-
dam - London - New York.

2. 川口数美・関口忠男・赤羽根朋子・久保野実(1976) 栃木農試研報21:15~26
3. 中川淳(1955) 麦酒工業試験法 槇書店東京.