

ビール大麦アラビノキシランの 簡易分析法の検討と麦芽品質との関係

小玉雅晴・石川直幸¹⁾・大塚勝・加島典子

摘要：ビール大麦中アラビノキシランは、麦汁粘度を高め、ろ過を遅延させるという報告はあるが、その他の麦芽品質との詳細な関係を調べたものはない。アラビノキシランの分析法は、液体クロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフィーによる方法が用いられているが、多くの時間と労力を必要とする。そこで、アラビノキシランの定量法について、オルシノール呈色法を利用したアラビノキシラン簡易分析法を検討した。その結果、アラビノキシランは、原麦粉1gを30mLの5N塩酸で95℃・1時間抽出後、0.4mLの抽出液を1.4mLの水とともに試験管に入れ、5mLの0.1%塩化第二鉄/5N塩酸溶液と0.5mLの1%オルシノール/100%エタノール溶液を加えて95℃・30分反応させ、660nmと590nmの吸光度の差から求める方法が適当であった。本法により代表的ビール大麦品種を分析した結果、アラビノキシラン含有率に品種間の差がみられた(6.3%~7.4%)。また、麦芽品質との関係ではアラビノキシラン含有率が高いほど麦芽エキスを低下させる傾向が明らかになった。

キーワード：ビール大麦、麦芽品質、アラビノキシラン、オルシノール法、簡易分析法

A Simplified Method for Analyzing Arabinoxylan in Malting Barley, and Effects of Arabinoxylan on Malting Quality

Masaharu KODAMA, Naoyuki ISHIKAWA, Masaru OHTSUKA and Noriko KASHIMA

Summary: There are reports that arabinoxylan in malting barley increases wort viscosity and delays filtration, but there exists no single report which describes in detail the relationship between arabinoxylan content and other malting qualities. Methods generally used for the analysis of arabinoxylan are liquid chromatography, gas chromatography and orcinol reaction method, but liquid chromatography and gas chromatography require a lot of time and labour. In this study, we intended to develop simplified method for quantification of arabinoxylan utilizing orcinol coloration, with a view to enabling simplified and multi-point analysis of arabinoxylan to be used for the selection. As a result, it was found that the best method for quantification of arabinoxylan is a method comprising the steps of extracting of arabinoxylan from 1 g of barley flour for an hour with 30 mL of hot 5N hydrochloric acid at 95°C, putting 0.4 mL of extract in a test tube together with 1.4mL of water, adding 5 mL of 0.1% ferric chloride/5N hydrochloric acid solution and 0.5 mL of 1% orcinol/100% ethanol solution for 30-minute reaction at 95°C, and determining the quantity of arabinoxylan from the difference in absorbency between 660 nm and 590 nm by spectrophotometry. Analysis of typical types of malting barley made by using this method indicated some differences in arabinoxylan contents among types (6.3% ~ 7.4%). Moreover, as for the relationship between arabinxylan content and malting qualities, it became clear that the higher the arabinoxylan content the lower the malt extract content as a general trend.

Key words: malting barley, malt quality, arabinoxylan, orcinol method, simplified analytical method

I 緒言

ビール大麦は優れた醸造品質が要求され、多くの検定項目が定められている。原麦は粗蛋白含有率、発芽勢、水感受性、また、麦芽製造（製麦）からビール醸造の過程では、浸漬時間、発芽率、麦芽収量率、糖化速度、ろ過速度、麦汁色度、麦芽エキス、エキス収量、麦芽ジアスターゼ力、麦芽全窒素、可溶性窒素、最終発酵度等の項目がある¹⁰⁾。これらの分析法についてはすでに確立されており、高品質ビール大麦の育種の中で品質選抜に利用されてきた。しかし近年では、これら確立された項目以外にも問題とされるものが生じてきた。例えば、細胞壁多糖の(1-3,1-4)- β -D-グルカン（ β -グルカン）は、麦汁やビールのろ過を渋滞させ、ビールの濁りを生じる原因となることから問題視されてきた。製麦中に β -グルカナーゼ等の酵素によって低分子に分解される「溶け」と呼ばれる現象がおこるが、溶けが悪いと高分子の β -グルカンが未分解のまま残りろ過等に影響する。栃木分場ではこの問題に対し β -グルカン簡易分析法を確立し、初期世代からの低 β -グルカンの選抜が可能となった³⁾。

前述の β -グルカン以外にも細胞壁を構成している成分としてアラビノキシランがある。 β -グルカンはグルコースの重合によって構成されているが、アラビノキシランは 5 炭糖のアラビノースとキシロースの複合体から構成されている^{2,4)}。 β -グルカンは胚乳細胞壁の約7割を占めるのに対し、アラビノキシランはその 2 割を占めている¹⁾。アラビノキシランの分布は、胚乳の内側では含有率が低く、外側になるほど高くなる。そして、種皮および穀皮の細胞壁ではその比率は逆転し、アラビノキシランの方が多くを占めている。オオムギ全粒中の含有率では、 β -グルカンは、3~5%であり、アラビノキシランは、4~9%程度含まれている⁴⁾。

醸造品質としてのアラビノキシランについては、アラビノキシラン含有率の多いものほど麦汁粘度を高め、ろ過を遅延させる³⁾という報告はあるが、その他の醸造品質との詳細な関係を調べたものはない。細胞壁を構成している以上、溶けに関係していることも考えられ、また、5 炭糖であるため発酵に使われることがなく、発酵性の面でも問題となってくることも予想される。

一般にアラビノキシランの分析法は液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィーおよびオルシノール法による方法^{2~4)}が用いられているが、液体およびガスクロマトグラフィーは多くの時間と労力を必要とする。そのため、育種の過程で品質選抜を目的とする場合の多点数の分析手法としては向いていない。本研究においては、選抜に用いるための簡易かつ多点数のアラビノキシラン分析を可能にすることを目的に、オルシノール呈色法を利用した簡易分析法について

検討を行った。また、この方法を用いて代表的ビール大麦のアラビノキシラン含有率の品種間差と醸造品質との関係を明らかにしたので報告する。

II 材料および方法

1. アラビノキシラン簡易分析法の検討

1) Fleury ら (1997) の方法³⁾をもとに大麦アラビノキシラン抽出条件を検討するため、材料として栃木分場 1997 年産のタカホゴールドの原麦粉および標準に MegaZyme 社 Wheat Arabinoxylan を用いた。原麦粉 1g および標準アラビノキシラン 0.1g を 30mL の塩酸で抽出できる濃度 (2N および 5N) と時間 (30 分および 60 分) の条件について、95℃で抽出後、0.1%塩化第二鉄/5N 塩酸溶液と 1%オルシノール/エタノール溶液を 0.5mL 添加し 95℃で 30 分呈色反応を行い、吸光度を測定した (A_{670} および A_{580})。

2) アラビノキシランの最適測定波長検討のため、大麦を構成する成分のうちスターチ 0.4, 0.6, 0.8g とアラビノキシラン 0.05, 0.075, 0.1g の組み合わせにより、1) の検討で得た 5N 塩酸で 60 分の方法で抽出後反応を行い、760nm から 460nm までの吸光度をスキャンした。測定した吸光度とアラビノキシランとの相関関係を調べ、最適測定波長を求めた。吸光度の測定には日立ダブルビーム分光光度計 U-2001、試料の自動希釈および注入には、日立オートサンプレーAS-3000、試薬の分注には Hirshmann EM ディスペンサー、アラビノキシラン加熱抽出および反応にはシグマテック恒温水槽を用いた。

2. アラビノキシランと麦芽品質との関係

ビール大麦中のアラビノキシランが麦芽品質に与える影響を明らかにするため本研究で開発したアラビノキシラン測定法を用いて 2 集団の分析を行った。

材料 A: 栃木分場 1996 年産ビール大麦 47 品種・系統。製麦方法は A タイプ (250g, 一定浸漬度で製麦)、麦芽分析は 2~4 反復で行った。

材料 B: 栃木分場 1997 年産の関東二条 25 号/南系 B4641 の無選抜 SSD F7 世代 122 系統。製麦方法は B タイプ (60g, 一定浸漬時間で製麦)、麦芽分析は 2 反復で行った。

また、品種間におけるアラビノキシラン含有率の差異を明らかにするため代表的ビール大麦 10 品種・系統を用いて分析を行った。

材料 C: 栃木分場 1998 年産ビール大麦 10 品種・系統。製麦方法は A タイプ (250g, 一定浸漬度で製麦)、麦芽分析は 2~4 反復で行った。

アラビノキシランは 2 反復で定量分析を行った。麦芽品質

は栃木分場の定法¹⁰⁾に従って分析した。

Ⅲ 結果および考察

1. アラビノキシラン簡易分析法の検討

1) 抽出液濃度および抽出時間

抽出液の塩酸濃度については、5Nと比較して2Nは吸光度の差が小さいため抽出が不十分であった。また、抽出時間については安定して完全に抽出させるには60分の抽出が適当であった。したがって抽出液の塩酸濃度は5N、抽出時間は60分が適当であると考えられる。

2) 測定波長

測定波長の精度向上のために760nmから460nmまでの吸光度をスキャンした。大麦を構成する成分比を元にスターチ0.4、0.6、0.8gとアラビノキシラン0.05、0.075、0.1gの組み合わせにより1)の検討で得た方法で抽出と反応を行い吸光度を測定した結果、Fleuryらの方法である670nmと580nmとの差を用いるものはスターチ含有率と高い相関を示した。アラビノキシラン含有率との相関関係については、660nmと590nmの吸光度の差が $r=0.986$ と高い相関を示した。660nmと490nmの差の方が相関は高いがアラビノキシラン含有率の低いものでの吸光度差が小さく、精度が懸念された。そのためアラビノキシランの測定には660nmと590nmの2波長での吸光度差を用いるのが適当であった。

第1表 アラビノキシラン抽出方法の検討

	サンプル量	塩酸濃度	抽出時間	吸光度差
原麦(タカホールデン)	1 g	2N	30分	0.154
原麦(タカホールデン)	1 g	2N	60分	0.158
原麦(タカホールデン)	1 g	5N	30分	0.276
原麦(タカホールデン)	1 g	5N	60分	0.288
アラビノキシラン	0.1g	2N	30分	0.080
アラビノキシラン	0.1g	5N	60分	0.324

注. 吸光度差はFleuryらの方法に基づく670nm-580nmの値

第2表 最適波長と吸光度の検討

アラビノキシラン(g)	スターチ(g)	670nm	660nm	590nm	580nm	490nm	670-580nm	660-590nm	660-490nm
0.05	0.4	0.583	0.600	0.520	0.543	0.562	0.040	0.080	0.038
0.05	0.6	0.816	0.701	0.618	0.638	0.656	0.178	0.083	0.045
0.05	0.8	1.083	0.833	0.733	0.748	0.772	0.335	0.100	0.061
0.075	0.4	0.685	0.836	0.677	0.693	0.673	-0.008	0.159	0.163
0.075	0.6	0.95	0.968	0.798	0.812	0.795	0.138	0.170	0.173
0.075	0.8	1.18	1.072	0.876	0.885	0.881	0.295	0.196	0.191
0.1	0.4	0.82	1.104	0.851	0.861	0.808	-0.041	0.253	0.296
0.1	0.6	1.058	1.198	0.935	0.942	0.906	0.116	0.263	0.292
0.1	0.8	1.255	1.266	0.984	0.987	0.969	0.268	0.282	0.297

第3表 アラビノキシランと吸光度の相関関係

	670nm	660nm	590nm	580nm	490nm	670-580nm	660-590nm	660-490nm
アラビノキシラン	0.413	0.913	0.849	0.848	0.764	-0.225	0.986	0.996
スターチ	0.908	0.402	0.515	0.515	0.638	0.973	0.158	0.070

3) 原麦アラビノキシラン簡易測定法の手順

以上の結果からオルシノール法による改良アラビノキシラン簡易測定法の手順を示す。

(1) 50mL ねじ蓋付き三角フラスコに原麦粉 1gを取り入れる。標準として検量線用に MegaZyme 社 Wheat Arabinoxylan を 0.06, 0.08, 0.1g を取り入る。

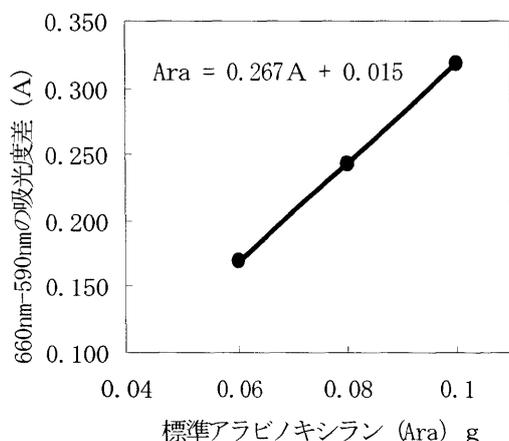
(2) 2mL のエタノールを入れて拡散し、抽出液の 5N塩酸 30mL を入れる。

(3) 95℃恒温水槽で1時間振盪抽出し、ろ紙でろ過した抽出液を試験管に移す。抽出液 0.4mL をオートサンプラーで水 1.4mL とともにねじ口試験管に分取し希釈する。

(4) 0.1%塩化第二鉄/5N塩酸 5mL を分注器で、1%オルシノール/エタノール 0.5mL をマイクロピペットで分注し、95℃恒温水槽で 30 分呈色させる。

(5) 分光光度計で 660nm と 590nm の吸光度を測定し、標準の検量線を作成し含有率を求める (第1図)。

抽出液中の不溶物除去については、遠心分離器の利用も試みたが、完全に沈澱させることができなかったため、ろ紙を用いてのろ過で抽出液を取ることにした。



第1図 標準アラビノキシランと吸光度の関係

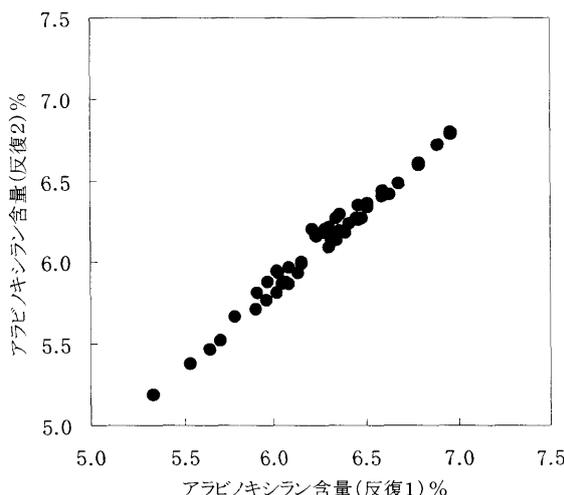
2. アラビノキシランと麦芽品質との関係

1) 分析法の精度

本法によって抽出・反応を行い吸光度を測定した結果、アラビノキシラン含有率の反復間における吸光度測定値は安定しており、アラビノキシランを定量する迅速かつ簡易な測定法として有効な方法と考えられた (第2図)。

2) 材料Aにおけるアラビノキシラン含有率と麦芽品質の関係

アラビノキシラン含有率と相関のみられた形質は、浸漬時間 (穀粒水分 41%に達するまで吸水させる時間のことで速いほうが良い)、麦芽エキス、ジアスターゼ力、麦芽・麦



第2図 材料Aのアラビノキシラン測定値の分布

汁 β -グルカンおよび麦汁粘度であり、それぞれ-0.55, -0.64, -0.48, 0.45, 0.45 および 0.57 の1%水準で有意な相関関係が認められた (第4表)。これより、アラビノキシラン含有率の多い方が吸水速度を速める傾向にあるが、麦芽品質に対しては麦汁粘度を高め、麦芽エキスを低下させる傾向が推測された。麦汁粘度に関しては、 β -グルカンとも相関が高いことから、両者が影響していることが示唆された。また、アラビノキシランは原麦 β -グルカンとは相関が低いものに対し、麦芽 β -グルカンとは相関がみられることから、アラビノキシランは細胞壁での β -グルカンの分解を妨げ、麦汁 β -グルカンを高くするために結果的に麦汁粘度に間接的な関与をしているとも考えられる。

3) 材料Bにおけるアラビノキシラン含有率と麦芽品質の関係

アラビノキシラン含有率と相関のみられた形質は、麦芽エキス、可溶性窒素、ジアスターゼ力および麦汁粘度で、それぞれ -0.34, -0.31, -0.24 および 0.23 の1%水準で有意な相関関係が認められたが、寄与率は低い結果となった (第5表)。これまで麦汁粘度は β -グルカンによって高くなると考えられてきたが、アラビノキシランもこれに関与していることが示唆された。

4) 代表的ビール大麦品種系統のアラビノキシラン含有率と麦芽品質の関係

代表的な 10 品種および系統のアラビノキシラン含有率を調べたところ、6.3%~7.4%の範囲にあった (第6表)。麦芽エキスが高く、高品質で評価の高いミカモゴールドン、関東二条 32 号および九州二条 12 号はアラビノキシラン含有率が低い傾向にあった。

アラビノキシランと麦芽エキスとの相関は-0.80 で1%水準で有意であり、アラビノキシランがエキス低下に影響してい

第4表 材料Aにおけるアラビノキシランとその他麦芽品質間相関 (n=47)

	原麦アラビノキシラン	原麦粗蛋白	浸漬時間	麦芽エキス	麦芽全窒素	可溶性窒素	ジアスターゼ力	最終発酵度	原麦β-グルカン	麦芽β-グルカン	麦汁β-グルカン	麦汁粘度
原麦粗蛋白	0.29											
浸漬時間	-0.55	0.11										
麦芽エキス	-0.64	-0.51	0.32									
麦芽全窒素	0.32	0.90	-0.02	-0.51								
可溶性窒素	-0.10	0.61	0.14	0.03	0.67							
ジアスターゼ力	-0.48	-0.45	0.18	0.59	-0.55	0.24						
最終発酵度	-0.14	-0.20	0.34	0.17	-0.19	-0.18	0.03					
原麦β-グルカン	0.07	0.63	0.30	-0.29	0.61	0.47	-0.26	-0.25				
麦芽β-グルカン	0.45	0.10	-0.55	-0.51	0.05	-0.34	-0.38	-0.55	-0.02			
麦汁β-グルカン	0.45	0.33	-0.46	-0.52	0.24	-0.15	-0.43	-0.57	0.16	0.92		
麦汁粘度	0.57	0.38	-0.39	-0.72	0.31	-0.19	-0.53	-0.40	0.21	0.77	0.82	
ろ過時間	0.27	0.05	-0.41	-0.33	0.05	-0.02	-0.02	-0.32	-0.09	0.46	0.33	0.37

注1. 太字は1%水準で有意

第5表 材料Bにおけるアラビノキシランとその他麦芽品質間相関 (n=122)

	原麦アラビノキシラン	製麦時浸漬度	麦芽エキス	麦芽全窒素	可溶性窒素	ジアスターゼ力	原麦ジアスターゼ力	原麦β-グルカン	麦芽β-グルカン	麦汁β-グルカン
製麦時浸漬度	0.06									
麦芽エキス	-0.34	-0.20								
麦芽全窒素	-0.11	0.22	-0.43							
可溶性窒素	-0.31	0.23	0.31	0.20						
ジアスターゼ力	-0.24	0.03	0.21	0.03	0.26					
原麦ジアスターゼ力	-0.45	-0.02	0.14	0.11	0.34	0.71				
原麦β-グルカン	0.15	-0.07	-0.25	0.29	0.07	-0.39	-0.48			
麦芽β-グルカン	0.20	-0.32	-0.34	0.06	-0.67	-0.40	-0.35	0.25		
麦汁β-グルカン	0.11	-0.19	-0.37	0.07	-0.58	-0.33	-0.34	0.35	0.88	
麦汁粘度	0.23	-0.23	-0.29	0.07	-0.56	-0.35	-0.34	0.22	0.86	0.84

注1. 太字は1%水準で有意

第6表 代表的ビール大麦におけるアラビノキシラン含有率とその他麦芽品質

	原麦アラビノキシラン%	原麦粗蛋白%	浸漬時間	麦芽エキス%	麦芽全窒素%	可溶性窒素	ジアスターゼ力WK/TN	最終発酵度%	麦汁β-グルカンmg/L	麦汁粘度mPas
あまぎ二条	7.4	10.9	36	81.5	1.75	0.74	167	84.3	19	1.534
はるな二条	6.5	10.3	39	84.8	1.75	0.73	172	84.6	17	1.526
ミサトゴールド	6.8	10.1	39	83.2	1.73	0.70	193	86.4	47	1.561
ミカモゴールド	6.3	11.3	40	83.3	1.82	0.77	235	85.6	22	1.529
タカホゴールド	7.1	11.4	40	82.7	1.87	0.77	192	84.4	41	1.591
みょうぎ二条	6.8	11.4	39	84.2	1.84	0.80	144	84.4	20	1.538
なす二条	6.4	9.6	38	84.6	1.65	0.67	212	86.0	29	1.532
きぬか二条	6.6	10.3	34	84.4	1.73	0.75	176	84.8	14	1.529
関東二条32号	6.3	11.6	39	84.7	1.95	0.91	193	84.4	19	1.511
九州二条12号	6.4	10.5	39	84.5	1.81	0.78	210	86.5	20	1.526

注1. 浸漬時間は穀粒水分41%に達するまでの時間

ることが明らかとなった。また、麦汁粘度については 0.59 で 5%水準では有意であった。エキス低下の要因としては、窒素も影響することが知られているが、アラビノキシランと麦芽全窒素との相関はみられなかった。麦汁粘度については、 β -グルカンとの相関が 0.81 であり、 β -グルカンが主要因として影響していることが示された。

IV 総合考察

アラビノキシランは、これまでほとんど注目されてこなかった形質であるが、麦芽エキスに対し負の相関関係が明らかになった。アラビノキシランは穀皮および種皮に多く分布していることから、穀皮歩合が低くアラビノキシラン含有率の少ないものがエキスは高くなると推測できる。ビール大麦の育種の過程では、エキス含有率の高いものを目標として様々な形質に注目して選抜が行われてきた⁹⁾。一つとして穀皮歩合の低いものが選抜されてきたことは、間接的にアラビノキシラン含有率も低くなってきたとも考えることができる。

Debyser らによるアラビノキシランが麦汁粘度を高めるとの報告¹⁾については本研究においても正の相関が確認されたが寄与率が高いとはいえなかった。粘度は麦汁中に含まれる β -グルカンが高い相関を示していることから、主要因は β -グルカンにあるといえるが、本研究において、アラビノキシランは麦芽製造過程で細胞壁の β -グルカンの分解を妨げ、麦汁 β -グルカンを高くするために麦汁粘度に間接的な関与をしているとも考えられた。麦汁中に存在するアラビノキシランについてもその量を測定することにより詳細な関係が明らかになってくることが期待できる。一般に麦汁中にはビール大麦中のアラビノキシランの 10~14%程度が含まれている¹⁾が、今回のオルシノール法を改良することで、麦汁中のアラビノキシランも測定可能と思われる。また、最終発酵度との高い相関はみられなかったが、5 単糖の構造であるアラビノキシランは可溶性アラビノキシランが麦汁中に含まれていても、発酵の段階では酵母に利用されず、アルコール発酵には使われないため発酵性の効率からみても少ない方がよいと考えられる。

エキス含有率の高い高品質なビール大麦の品種を育成する上で、エキス含有率と負の相関関係にあるアラビノキシラン含有率の低い系統を選抜することが有効であることが示唆されたが、このことは麦芽製造を必要としない原麦の分析で選抜可能であることを意味しており、製麦と麦芽分析の労力を必要としないため有効な手法といえる。本研究で改良したオルシノール法を利用したビール大麦中のアラビノキシランの定量法は、70 点程度のサンプルであれば、抽出から吸光度の測定までが 5 時間以内で行うことができるため選抜の効率の向上が期待できる。しかし、実際の育種に

取り入れていくためには、さらにデータを蓄積していき麦芽品質等との関係を明らかにしていくことが必要である。また、SSD 系統を利用してアラビノキシラン遺伝要因の解析および環境によるアラビノキシランの変動について詳細を明らかにしていくことが今後の課題である。

謝辞

本研究を行うにあたり、農研センター小前幸三作物品質評価研究室長、加藤常夫氏にはご指導、ご助言をいただいた。また、栃木分場の星野洋子氏には分析に協力いただいた。ここに心からの感謝を申し上げる。

引用文献

1. Debyser, W., Derdelinckx, G., and Delcour, J. A. (1997) Arabinoxylan and Arabinoxylan Hydrolysing Activities in Barley Malts and Worts Derived from Them. *J. Cereal Sci.* 26: 67-74
2. Fincher, G. B. (1975) Morphology and chemical composition of barley endosperm cell walls. *J. Inst. Brew.* 81: 116-122
3. Fleury, M. D., Edney, M. J., Campbell, L. D. and Crow, G. H. (1997) Total, water-soluble and acid-soluble arabinoxylan in western Canadian barleys. *Can. J. of Plant Sci.* 191-196
4. Han, J. Y., and Schwarz, P. B. (1996) Arabinoxylan Composition in Barley, Malt, and Beer. *Am. Soci. Brew.Chem.* 54: 216-220
5. 石川直幸・大塚勝・小玉雅晴・加島典子 (1998) 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. 栃木農試研報 47: 57-64
6. 小玉雅晴・石川直幸・加島典子・大塚勝 (1998) オオムギ種子中のアラビノキシランと麦芽品質の関係. 育種 48(別 1): 332
7. 小玉雅晴・石川直幸・大塚勝・加島典子・金子隆史・小山内英一・谷口義則・五月女敏範 (1999) 本邦ビール大麦を用いたゲノム解析研究 4. アラビノキシラン含量の QTL 解析. 育研1(別 1): 112
8. Lempereur, I., Rouau, X. and Abecassis, J. (1997) Genetic and agronomic variation in arabinoxylan and ferulic acid contents of durum wheat grain and its milling fractions. *J. Cereal Sci.* 25: 103-110
9. 増田澄夫, 川口数美, 長谷川康一, 東修 編著, わが国におけるビール大麦育種史 ビール大麦育種史を作る会発行, 東京: 287-312
10. 栃木県農業試験場栃木分場ビール大麦醸造用品質改善指定試験地 (1998) 品種改良のためのビール大麦品質検定法 第3版: 1-50