

点滴比重測定法による麦汁エキスの測定について

—育種試験のための醸造用品質検定法—

川口数美*・赤羽根朋子・関口忠男

I 緒 言

二条オオムギ育種における醸造用品質の検定はEBC (European Brewery Convention)²⁾法に準じて行われてきたが、この方法では測定に非常に大きな労力がかかる。そこで著者らは品質検定方法の省力化を目的として一連の検定方法、とくに麦汁エキス、ジアスターゼ力、粗タンパク質含量の測定法などの改良に努めてきた。

麦汁エキスの測定については、現在、多くの育成地ではEBC法に準じて麦汁抽出を行ったのち、ピクノメーターあるいは比重球を用いて比重を測定し、さらにエキスに換算するという方法をとっている。これらの方法の難点は比重測定に時間を要することと、約50~100mlの麦汁を必要とすることである。そのため育成初期世代のように1系統が極少量で多数の系統の測定を行わねばならないような場合には、上述の比重測定法を用いるわけにはいかない。そこで著者らは比重測定の原理をふまえながら操作の簡便化を図るとともに、少量の麦汁で精度をあまり落とさずに測定を可能にする方法を検討した。その結果、Atkinら¹⁾の比重勾配管法を参考に新たなエキス測定法をみ出すことができたのでこの新手法を点滴比重測定法と名づけ、本報告で、この新手法の測定方法と麦汁エキス測定への応用を報告する。

II 点滴比重測定法について

点滴比重測定法はAtkinら¹⁾の開発した比重勾配管(specific gravity gradient tube)法の変法というべきものである。比重勾配管法は次のような手順である。まず比重の異なるブロム

ベンゼンとケロシンを用い、シリンダーの下部へ比重の大きい液(ブロムベンゼン)を入れ、次にこの上から比重の小さい液(ケロシン)を静かに注ぐ。この時両液は混じり合わずに二層に分離した状態となる。この二層の液をシリンダーの下部から順次段階的に静かにかくはんすると、シリンダーの内部に二つの液による比重の勾配が生じる。この比重勾配管に試料(ブロムベンゼンやケロシンに不溶性のもの)を1滴滴下すると、試料は比重勾配を作っている液体と比重が等しくなった位置で停止する。そこで比重勾配管に比重既知の標準液と比重未知の試料とを滴下し、標準液の停止位置を知ることにより比重未知の液体の比重を求めることができる。

しかし、この比重勾配管法は液体を滴下するごとに少しずつ勾配に変化が生じ、また作成時のかくはんの仕方によって勾配が等間隔にできないなどの難点があり、その都度標準液を滴下しなければならない不便さがある。そこで著者らは1本のシリンダーの中に縦の勾配を作らずに、ブロムベンゼンとケロシンの混合比を変えた14本のシリンダー(比重管)を段階的に用意し、各比重管内の混合液をよくかくはんし、比重管内に比重の勾配が生じないようにした後、試料を点滴してみる方法で比重が測定できるかどうかの検討を行った。

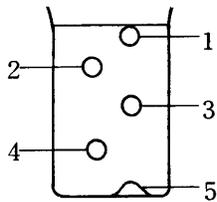
1. 測定器具及び試薬

液温を20℃に保って測定を行うために、恒温水そうと透明塩化ビニル製水そうとをLABO-PUMPで直結し、20℃の水を循環させて透明水そう中の液温を一定にしてその中に比重管を並べた。比重管は標本ビン(内径6 cm, 高さ20 cm)

* 現農事試験場

を用い、混合液を15cm前後の高さまで入れた。標準液は硫酸銅溶液をAtkinらの方法に準じて作成したものを比重球によって比重測定した。ブロムベンゼンは和光純薬d = 1.49を、ケロシンは和光純薬d = 0.79を用いた。

2. 比重管内の混合液調整とその比重決定
ブロムベンゼン・ケロシンの混合比率と、比重、エキスとの関係はAtkinらの表を参考にしそれに準じて調整を行った。なお実際にはエキス(%)を測定することが目的であるため本報告では比重はすべてエキス値に換算した。混合液はほぼ完全に混じり合うように素早く何度もかくはんを行うが、標準液で検定すると混合液の計算上の値と若干差があった。そこで、ブロムベンゼンやケロシンをさらに数滴加え、所定の比重になるように調整を行った。混合液はエキス値に換算して74.5~84.5%の間で0.5~0.9%程度の間隔をおくように順次調整した。なお、標準液はその比重を麦芽水分5%相当のエキス値として換算(EB C法 plato表使用)して、エキス値で72.5~86.5%の間を0.5%間隔にな



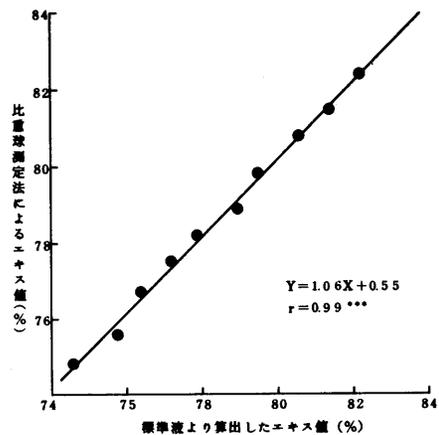
第1図 試料の停止位置番号

るように調整したものである。標準液を用いての比重管の該当エキス値の決定は次の方法で行った。まず比重管の各々のブロムベンゼン・ケロシン混合液に標準液を1滴ずつ滴下し、その停止位置によって第1図のような番号をつけ重みづけをした。この位置番号によって未知の比重管の該当エキス値を求めることができる。すなわち、未知の比重管の該当エキス値(Gx)は次の式により求められる。

$$G_x = S_a + \frac{3 - m_a}{m_b - m_a} (S_b - S_a)$$

- Gx: 未知の比重管の該当エキス値
- Sa: 標準液の軽い方のエキス値
- Sb: 標準液の重い方のエキス値 (SaとSbは隣りあった比重の標準液である)
- ma: 標準液の軽い方の停止位置番号
- mb: 標準液の重い方の停止位置番号 (ma ≤ 3 < mb)

この方法により標準液を用いて比重管の該当エキス値を決定し、また同時にこの混合液を直接比重球を用いて比重測定を行い、エキス値に換算して両者の数値の比較を行った。その相関関係を第2図に示した。この結果調整を行った比重管のエキス値は、比重管の内部ではほぼ均一であり、実際の値とほとんど差がないことが認められた。したがって前記のような数式で数値を決定することは、標準液や比重管のエキス値の間隔が1.0%以下のように小さい場合には誤差の範囲もさらに狭くなり、検定に用いることができると思われた。なお、比重管のエキス値はエキス値決定後1日経過すると0.2%程度変化していることがある。この変化はケロシンが気化することや、混合液が完全にかくはんされていないためと考えられる。したがって、未



第2図 比重管における比重球と標準液より算出したエキス値の比較

知試料のエキス値を測定する際には、かならず測定直前に比重管の該当エキス値を決定しておかねばならない。その方法は、常に特定の標準液が特定の位置に停止するように、ブロムベンゼンあるいはケロシンを極少量ずつ滴下して調整を行えばよい。

3. 比重未知の試料のエキス値の決定方法

比重未知の液体のエキス値は前述の方法でエキス値を定めた比重管にそれぞれ未知の液体を1滴ずつ滴下し、その浮沈によって値を決定した。未知の液体のエキス値(Ex)は次式により求めることができる。

$$Ex = Ga + \frac{na + nb}{4}(Gb - Ga)$$

Ex: 未知の液体のエキス値

Ga: 軽い方の比重管のエキス値

Gb: 重い方の比重管のエキス値

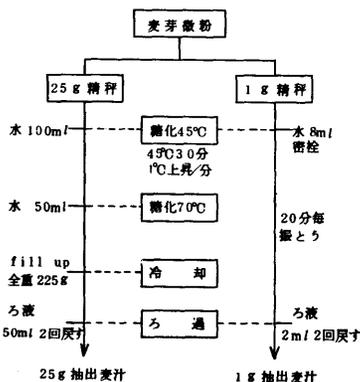
na: 軽い方の比重管での麦汁停止位置番号

nb: 重い方の比重管での麦汁停止位置番号

$$(na > 3 \geq nb)$$

未知の試料のエキス値は未知の試料にもっとも近似した軽い比重管と重い比重管のエキス値から求める。

III 点滴比重測定法による麦汁エキス値の測定について



第3図 麦汁の抽出方法について

1. 同一麦汁のエキス値についての比重球測定法と点滴比重測定法との比較

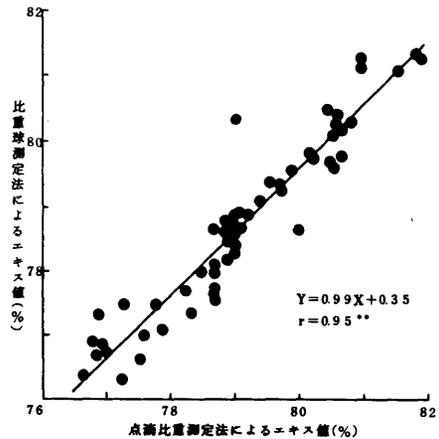
同一試料を用いて比重球測定法によるエキス値と点滴比重測定法による値との相関関係を検討した。

1) 実験材料及び実験方法

250gの原麦から製造した麦芽のうちから25gをひょう量し、第3図に従って麦汁を抽出し、測定に供した。抽出は2回反復で行い、比重球によって測定した後同じ溶液を点滴比重測定法に供し、エキス値を求めた。

2) 実験結果及び考察

比重球及び点滴比重測定法によるエキス値の相関関係を第4図に示した。図にみられるよう



第4図 同一麦汁における比重球と点滴比重両測定法間のエキス値の比較

第1表 同一麦汁を用いた時の分散分析

要因	自由度	平方和	分散	分散比
品種	27	174.42	6.46	65.65**
測定法	1	4.52	4.52	45.94**
品種×測定法	27	2.35	0.87	
誤差	56	5.52	0.098	
測定法間内の品種内				
比重球測定法	28	1.65	0.059	2.34*
点滴比重測定法	28	3.87	0.138	

注: * 5%水準で有意 ** 1%水準で有意

に相関係数は0.95***で非常に高く、回帰係数もほぼ1に近い。次に反復試験の分散分析の結果を第1表に示したが、これによると比重球測定法と点滴比重測定法とは、測定値間に有意な差が認められた。また二つの測定法での誤差の分散を調べたところ、点滴比重測定法の誤差が比重球測定法より大きいことがわかった。

一方、測定法別にそれぞれのLSDを求めたところ、比重球測定法では0.42、また点滴比重測定法では0.74という結果を得た。比重球測定法と比べると点滴比重測定法の方が誤差が大きいが、相関が極めて高く、LSDは0.74という値であることなどから、従来比重球測定法でも反復間におけるエキス値の差が0.5%以下は、誤差とみており、誤差の範囲を1.0%以下とみなせるような試験の場合には相対的なエキス値の関係を知るうえで、点滴比重測定法が十分利用できるものと考えられる。

2. 同一麦芽からの抽出法を変えた場合の麦芽エキス値の比較

同一抽出液の測定の場合には比重球測定法と点滴比重測定法との間に高い相関があることがわかった。ところで点滴比重測定法では材料の少ない原麦から作った少量の麦芽のエキス値を測定するところにその意義がある。したがってまず少量の麦芽からの抽出液を点滴比重測定法で測定し、従来からの方法によるエキス値との比較を行った。

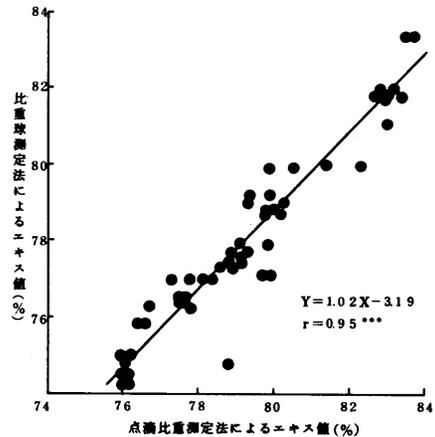
1) 実験材料及び実験方法

麦芽は250gで製麦したものをを用い、従来の25g麦芽での抽出方法の他に、多少その操作を簡単にし、1gでの抽出を行った。抽出法の比較は第3図に示す通りである。反復はそれぞれ2回とした。

2) 実験結果及び考察

点滴比重測定の際の標準液は麦芽水分5%相当のエキス値として計算してあるため、比重球によって測定した比重をすべて麦芽水分5%の

場合として換算しエキス値を求め、点滴比重測定法の値と比較したところ、 $r = 0.95^{***}$ という高い相関を得た。相関関係を第5図に示す。この時の回帰式をもとに、点滴比重測定法によるエキス値と比重球測定法によるエキス値との関係を、ビール麦が一般に示すエキス値の範囲74~84%付近で求めたところ、点滴比重測定法によるエキス値から1.5%を減じると比重球によるエキス値に近似的な値を示すことがわかった。このように点滴比重測定法によるエキス値が高めに出る理由としては、糖化を行う際に、1g抽出の場合最初に全量の水を入れ抽出するため糖化が良く進行するということや、25g抽出の時のように最後に一定量に重量を調整するこ



第5図 同一麦芽での抽出法を変えた場合におけるエキス値の比較

第2表 同一麦芽を用いた時の分散分析

要因	自由度	平方和	分散	分散比
品種	9	251.1	27.90	384.78**
測定法	1	3.36	3.36	46.34**
品種×測定法	9	2.79	0.31	
誤差	20	1.45	0.0725	
測定法間内の品種内				
比重球測定法	10	0.515	0.0515	1.816 ^{NS}
点滴比重測定法	10	0.935	0.0935	

注. ** 1%水準で有意 NS 有意差なし

とがないため、水分がごく微量蒸発している場合など、水分補足による定量化がないことなどがあげられる。

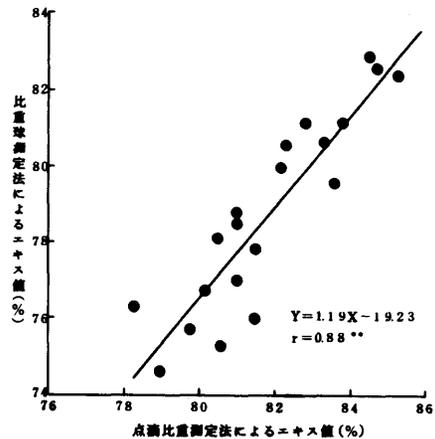
次に、反復試験の分散分析を行ったところ、第2表に示すように測定法間で有意な差があったが、誤差分散は2つの測定法間で大きな開きはなかった。また比重球測定法での品種におけるLSDは0.48、点滴比重測定法では0.62という結果であり、前述の試験結果とほぼ同じであった。したがって、相対的に各系統間で1%程度の段階差を設けてエキスの高低を判別するような試験の場合には十分利用できるといえよう。

3. 同一原麦を用い製麦法を変えた麦芽のエキス値の比較

前記二つの試験により麦芽を1gで抽出しても点滴比重測定法により充分エキス値が測定できることがわかった。ところで今までの試験に用いた麦芽はすべて250g製麦による材料であるが、実際問題として少量の麦芽で抽出を行わなければならないのは原麦が少量しかない場合がほとんどである。これは育成初期世代の材料の場合に特にいえることである。そこで極少量(4g; 1株で約8g採取でき、そのうち4gは次代の種子とする)で麦芽製造を行い、その麦芽1g(原粒4gから約3gの麦芽ができ、1gをエキス、1gをジアスターゼ力測定に供する)で麦汁を抽出し、点滴比重測定法によりエキス値を求めるという一連の操作によるものが、従来からの方法によるエキス値との間でのような関係にあるかの検討を行った。

1) 実験材料及び実験方法

250g製麦の材料は25gエキス抽出ののち比重球によるエキス測定を行った。また4g製麦の材料は1gエキス抽出ののち点滴比重測定法により測定を行った。なお250g製麦法では原麦の吸水速度を測定し43%の浸麦度になるよう浸麦時間を決めているが、4g製麦では材料が少ないため平均的な浸麦時間(58時間)で浸麦



第6図 同一原麦での製麦および抽出法を変えた場合におけるエキス値の比較

を行った。反復は2回である。

2) 実験結果及び考察

二つの測定法によるエキス値の相関関係を第6図に示した。この結果 $r=0.88^{**}$ と相関係数はやや低くなった。しかし、その寄与率は約77%であり、初期世代のエキス測定にはこの4g製麦の点滴比重測定法によるエキス測定を用いることができよう。相関関係が今までに比べて低くなったことは、製麦過程で浸麦時の水分調整をしないことによる誤差、また、乾燥工程の際4gという極少量のため温度に250gの時より極端に影響されてしまうこと、さらに前述した1g抽出による誤差などが加算された結果と考えられる。なおこの時のLSDは1.08であったが74~84%というほとんどのビール麦が示すエキス値の範囲で2%程度の間隔、すなわち5~7段階程度でエキス値の高低を判別するには利用できるであろう。なお、この時実際のエキス値は回帰式から、74~84%の範囲では点滴比重測定法によるエキス値から3.5%を減じた値とほぼ近似している。

IV 総合考察

少量の液の比重を測定するためにAtkinら¹⁾による比重勾配管法を参考にし、点滴比重測定

法について検討した。

点滴比重測定法の比重管はブロムベンゼン・ケロシンの混合液であり、それに不溶性の液体であれば混合液の比重が既知の時2ml程度で測定が可能である。またこの比重管は比重勾配管とは異なり、1本の管内で縦の勾配による比較ではなく、1本の比重管が一定のエクス値を示すものとし、横に比重の段階ができるように比重勾配を14本の管で作成したため、各々の管におけるエクス値は、比重管内ではほぼ均一である。したがって標準液で若干調整を行うことにより、一度準備したブロムベンゼンとケロシンの混合液は長時間測定に用いることができ、きわめて経済的である。

極少量の液量で測定が可能であることがわかったので、麦汁について比重球測定法と点滴比重測定法の両法でのエクス値の比較を行った。この結果、少量の原麦を材料として製麦したのち1gの麦芽を糖化させてエクス値を求めたところ、従来の測定法とでかなり高い相関があり、LSDを考慮し2%ほどの間隔で段階を設けてエクス値の高低を知るには充分利用できることがわかった。

点滴比重測定法で、測定の精度を高め、また日変化を極力避けるために、比重管における標準液の停止位置を常に一定であるように、ブロムベンゼンあるいはケロシンを少量加えて調整を行う必要がある。この調整は慣れるまでにすこし時間を要するが、それでも従来は1日当り40点の測定点数であったものが、点滴比重測定法では80点が測定でき、抽出液も2ml程度で良いという利点がある。

醸造用品質の育成初期世代からの選抜が可能か否かは育成者にとって興味がある課題であるが、この点滴比重測定法が確立したので、今後はそのような問題も解決できることになろう。

V 摘 要

育種試験のためのビールムギ醸造用品質検定法確立に関する試験の一貫として簡便な麦汁エクス値の測定法について検討し次の結果を得た。

1. ブロムベンゼン、ケロシンの混合液を用い、新たに点滴比重測定法を開発した。

2. この方法は比重管1本につき1滴あれば測定でき2mlの試料で測定可能である。

3. 従来の比重測定法の麦汁エクス値と比較したところ結果は次のようであった。

1) 同一麦汁を用いた場合、二つの測定法間で相関が非常に高い ($r = 0.95^{***}$)。

2) 同一麦芽を用い少量抽出(1g)した場合、従来の抽出法(25g)での値と相関が高かった ($r = 0.95^{***}$)。

3) 同一原麦を少量製麦(4g)後、少量抽出(1g)し、点滴比重測定法により測定しても従来の測定法とで相関が認められた ($r = 0.88^{**}$)。

4. 点滴比重測定法はエクス値に換算して2%間隔程度の相対的な比較に有効である。

5. 1日当り80点測定でき試料は2ml程度で充分である。

本試験の実施にあたり一部に従事した栃木分場久保野実技師、藤井敏男技師、並びに園芸特産課鈴木忠技師の各位に対し厚く謝意を表する。

引用文献

1. Atkin, L., I. Stone and P. P. Gray (1948) Wallerstein Lab. Comm., 11, 281~288.
2. European Brewery Convention(1963) Analytica-EBC(Second Edition) Elsvier Publishing Company. Amsterdam—London—New York.