

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

1. 試験のねらい

ビール大麦の胚乳細胞壁の主成分である(1-3,1-4)- β -D-グルカン(β -グルカン)は大部分が製麦中に分解するが、分解せずに麦汁に残った高分子の 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。そのため麦汁中の高分子 β -グルカン含有率の低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。そのため、これまでの育種では品質選抜の初期段階から β -グルカンを分析・選抜することができなかった。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。

また原麦および麦芽の β -グルカンも簡易に測定できるようにして原麦・麦芽・麦汁の β -グルカンおよびその他の麦芽品質の関係を明らかにし、高品質系統の選抜指標について検討した。

2. 試験結果および考察

(1) β -グルカン簡易定量法の確立

改良した点は測定波長、バッファの種類と濃度、Congo Red 溶液の濃度と混合比率、反応時間などである。また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、分析の自動化を図った。測定手順は図-1に示す。検量線は MegaZyme 社の大麦 β -グルカン標準液を用いて作成する(図-2)。Congo Red は高分子の β -グルカンとしか反応せず、麦汁中には多量の低分子 β -グルカンが含まれるため、公定法の1/2~1/3の値を示した。反復測定精度は変動係数で示すと3~4%であり、蛍光色素法(変動係数

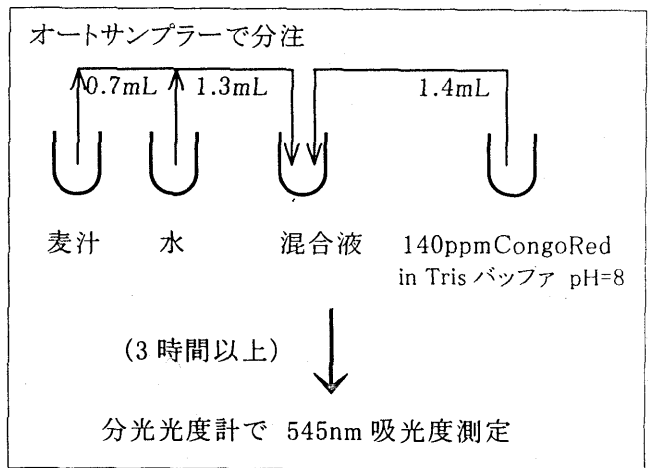


図-1 改良 CongoRed 法の測定手順

1.4%)よりは精度が劣るが酵素法(変動係数 6.9%)よりは優れていた。

原麦・麦芽の β -グルカンも Congo Red 法で簡易に測定できるよう β -グルカンの抽出法を検討したところ、90℃の水で1時間抽出することによって簡易測定が可能となった。原麦については酵素法による測定値とほぼ一致した(図-3)。

Congo Red は高分子の β -グルカンとしか反応しないが、醸造品質に影響を及ぼすのは高分子の β -グルカンなので、実用上支障はない。

(2) β -グルカン関連形質間の関係の解明と選抜指標の検討

126 系統の無選抜分離集団を用いて調べたところ、麦芽 β -グルカンと麦汁 β -グルカンの相関は0.90と高いが、原麦 β -グルカンと麦芽、麦汁の 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。したがって、原麦 β -グルカンによる麦汁 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、麦汁の方が測定が容易なので麦汁による選抜が適すると判断した。

多数の系統を同一条件で栽培・製麦して麦芽品質を調べたところ、麦汁β-グルカンは可溶性窒素、ジアスターゼ力、α-アミラーゼと-0.33~-0.55の負の相関があった(すべて1%水準で有意)。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。

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30分足らずで済む。

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、製麦時の浸漬度に十分注意する必要がある。

3. 成果の要約

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従来法と異なる。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 バッフア、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時間抽出後本法を用いれば簡易に測定できるが、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ての系統の麦汁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的に行えるようになった。

(担当者 栃木分場 石川直幸・大塚勝・小玉雅晴・加島典子)

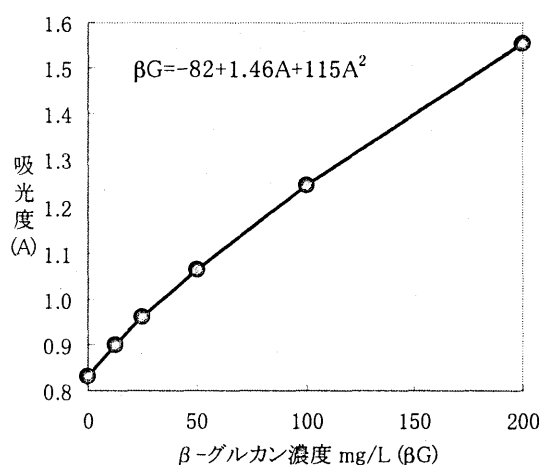


図-2 麦汁β-グルカン測定時における標準液のβ-グルカン濃度と吸光度の関係

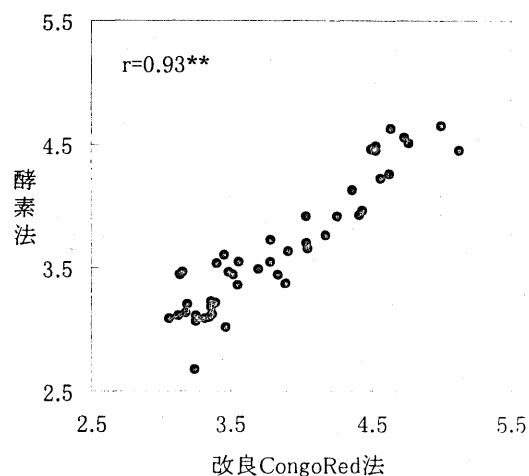


図-3 改良 Congo Red 法と酵素法による原麦β-グルカン含有率(%)の比較
注)**:1%水準で有意