

大麦成熟籽粒中 β -淀粉酶水平与 麦芽糖化力的相关分析

林亚康 俞志隆

(杭州大学生物系)

对 10 个二棱啤酒大麦品种和 10 个 F_2 杂种的成熟籽粒进行了 β -淀粉酶活性和麦芽糖化力的分析。结果发现, β -淀粉酶水平与麦芽糖化力之间相关极显著 ($r = 0.991$)。 β -淀粉酶和 α -淀粉酶之间以及 α -淀粉酶与糖化力之间的相关系数分别为 0.499 和 0.55, 其相关密切程度不如 β -淀粉酶和糖化力。因此, 在啤酒大麦育种程序中, 测定籽粒中 β -淀粉酶的活性水平可以预测麦芽糖化力的高低。

关键词: β -淀粉酶, 糖化力, 大麦, 相关性

在啤酒酿造中, 啤酒产量与麦芽糖化力有直接关系, 而参与糖化作用的酶主要是 α -淀粉酶和 β -淀粉酶。 α -淀粉酶主要在种子萌发过程中产生; 而 β -淀粉酶则在种子发育过程中合成, 合成后以两种形式存在于成熟的种子中, 即游离态 (free) 和束缚态 (bound), 束缚态 β -淀粉酶在种子萌发过程中逐渐释放^[7,8,13,14,16,18]。Bendelow 和 Meredith^[4,15] 等提出了种子中 β -淀粉酶的活性与麦芽的糖化力有关。为了进一步证明和阐述 β -淀粉酶与麦芽糖化力的关系, 为选育具有高糖化力的啤酒大麦品种提供依据, 作者等在 1986—1988 年对国内选用的 10 个二棱啤酒大麦品种和 10 个 F_2 杂种进行了 β -淀粉酶活性和麦芽糖化力的分析测定。

材料和方法

(一) 材料

供试材料 (表 1), 均来自杭州大学生物系试验田。

(二) 方法

1. β -淀粉酶的提取 参照文献[11]等作适当的修改。取干燥大麦成熟种子 50 粒, 研磨成粉, 过 80 目筛, 用瑞士 AE 260 型分析电子天平精确称取 100 mg (± 0.1 mg) 麦粉, 分别

加入 2.5ml 蒸馏水提取游离态 β -淀粉酶, 加 2.5 ml 1% 木瓜蛋白酶水溶液提取总的 β -淀粉酶, 在 20℃ 下浸提 12 小时, 将样品重新悬浮后, 离心 10 分钟 (5000 转/分), 上清液置冰箱备用。

2. β -淀粉酶活性测定 参照文献 [1, 5, 11] 作适当的修改。用微量吸液器精确吸取 20 μ l 酶提取液, 置于试管中, 将试管移至冰槽内, 加入 500 μ l 1% 淀粉液 (pH 4.8), 以 10 支试管为 1 组, 同时放在 35℃ 水浴中, 保温 5 分钟后再将试管移至冰槽内, 迅速冷却, 然后加入 1000 μ l 二硝基水杨酸试剂, 在沸水中煮 10 分钟, 冷却后加入 10ml 蒸馏水稀释。(采用 1 组试样同时保温的优点是误差小、重复性好)。试样在岛津 265 型紫外分光光度计上扫描, 选波长 490 nm 处测定光密度。每个样品一般重复二次, 最后结果取平均值。单位以每 0.8mg 麦粉在 35℃ 下保温 5 分钟所产生的麦芽糖毫克数表示。对照样品每半天做一个。用不同浓度的麦芽糖作标准曲线。

Lin Yakang et al.: Correlation Analysis of β -amylase Activity in Barley Mature Grains and Malt Diastatic Power

本文于 1989 年 1 月 30 日收到。

3. 麦芽的制作 参照文献 [2,9], 各取 100 粒种子, 用蒸馏水在 18°C 中浸泡 7 小时, 然后把种子放在 15°C 培养箱内, 萌发 4 天, 在 50°C 下烘干后去根芽, 磨粉过筛。

4. α -淀粉酶活性和糖化力测定 参考文献 [5]。

数据由长城 0520 C-H 型电子计算机处理。

结 果

10 个二棱大麦品种和 10 个 F_2 种子的 β -淀粉酶活性以及糖化力列表 1。由表 1 可以看出总的 β -淀粉酶水平与麦芽的糖化力紧密相关, 凡是总的 β -淀粉酶水平高的品种, 如 8166、甘木二条、早熟 3 号、墨 2 等, 其糖化力也高。

反之, 凡是总的 β -淀粉酶活性低的品种, 如 81 原 308、付 8 等, 它们的糖化力也较低。在这些品种中麦芽的糖化力水平与籽粒中总的 β -淀粉酶水平完全相对应。在 F_2 的 10 个试样中糖化力与总的 β -淀粉酶水平除 20 号样品外也完全相吻合。在这些数据中表明: 凡是籽粒中 β -淀粉酶活性水平差异较大的品种之间, 其麦芽的糖化力也相差较大; 凡是籽粒中 β -淀粉酶活性比较接近的品种之间, 其麦芽的糖化力也比较接近。如品种 8166 与 81 原 308 之间, β -淀粉酶水平相差 1.0545 单位, 糖化力相差 158.87 L°, 两者相差很大。但在 F_2 种子中 β -淀粉酶水平相差不大, 它们之间的糖化力也比较接近。

相关分析结果表明, β -淀粉酶活性与糖化

表 1 亲本和 F_2 杂种籽粒 β -amylase 活性[单位: 毫克麦芽糖/0.8 毫克麦芽粉] 以及麦芽 α -amylase 活性和糖化力 (D. P.) [单位: Lintner 度]

No.	样 品	F_{β} (mg)	T_{β} (mg)	F/T(%)	α -(L°)	D. P. (L°)
1	8166	0.6728	1.6811	40.02	66.14	245.54
2	甘木	0.7713	1.4306	53.91	78.60	220.46
3	早三	0.5987	1.3585	44.08	53.02	187.31
4	824593	0.4750	1.0611	44.76	84.11	179.67
5	84-114	0.5315	1.2998	40.89	43.32	186.29
6	墨 2	0.1423	1.3598	10.46	37.20	205.88
7	81 原 308	0.0955	0.6266	15.24	18.46	86.67
8	付 8	0.2360	0.7889	29.92	66.50	130.36
9	福引 1 号	0.5783	1.1588	49.91	50.08	182.38
10	阿恩特 13	0.6433	1.2952	49.67	67.62	184.73
11	8166×早三	1.2838	2.0973	61.21	65.20	294.53
12	早三×8166	1.2430	2.1602	57.54	84.69	310.94
13	8166×甘木	1.2382	2.0164	61.41	62.76	279.59
14	甘木×8166	1.1192	1.9968	56.05	72.79	272.13
15	8166×824593	1.7215	2.1996	78.26	58.55	319.73
16	824593×8166	1.4250	2.1759	65.49	61.23	316.35
17	824593×早三	1.4660	2.1367	68.61	73.01	308.18
18	早三×824593	1.3685	2.1326	63.79	69.93	307.34
19	824593×甘木	1.1962	2.0957	57.93	83.79	299.66
20	甘木×824593	1.3130	2.1367	61.45	69.28	294.66

注: 表中甘木为甘木二条, 早三为早熟 3 号

F_{β} : 游离型 β -淀粉酶 T_{β} : 总的 β -淀粉酶(游离型+束缚型)

力之间的相关系数为 0.991, $t = 31.36$, $P < 0.001$, 具有极显著的正相关。

回归分析也表明, $y = 19.191 + 133.35x$, 它们之间呈强直线正相关。这些结果都说明了

籽粒 β -淀粉酶水平与麦芽的糖化力具有十分密切的关系。

在我们的试验中还发现, 麦芽的糖化力与 α -淀粉酶水平也有关系, $r = 0.55$, $t = 2.7918$,

P 在 0.01—0.02 之间, 表明它们之间也具有较显著的正相关。

β -淀粉酶与 α -淀粉酶之间的相关系数为 0.498, 显著性测验结果, $P < 0.05$, 表明相关显著。

讨 论

人们在早期的研究中已指出 β -淀粉酶活性水平对麦芽品质具有重要的意义, 籽粒中 β -淀粉酶活性与麦芽糖化力有密切的关系^[4,6]。我们的分析结果也证明成熟籽粒中 β -淀粉酶活性与麦芽的糖化力紧密相关。总的 β -淀粉酶活性与糖化力的相关系数达 0.991, 相关极显著, 这与 Rutyer^[17]、Hayter 等^[10]及 Allison^[3]的结果基本相符。 α -淀粉酶活性与糖化力之间的相关性以及 α -淀粉酶与 β -淀粉酶之间的相关性也显著, 但与 β -淀粉酶与糖化力之间的相关性相比, 其显著性就相差很大。这与 John 等^[12]和 Allison^[3]的结果相似。Rutyer^[17]指出, α -淀粉酶与 β -淀粉酶无相关存在, 认为这两者具有不同的遗传系统, 是独立遗传的。Swanston^[19]认为 β -淀粉酶是糖化力的主要组成部分, 而 α -淀粉酶所占的相对比例很小, 并没有观察到 α -淀粉酶与糖化力间的显著相关。本实验与上述结果有所不同。造成这些结果的差异可能是由于所采用的实验材料和方法不同所致。

Bendelow 认为游离的 β -淀粉酶占总的 β -淀粉酶的比例对评价大麦芽品质是重要的, 并指出两个总的 β -淀粉酶水平相同的品种中, 游离 β -淀粉酶比例高的品种其糖化力要高于游离 β -淀粉酶比例低的品种^[4]。但在我们的结果中看不出这种关系, 在我们的结果中, 糖化力的高低主要取决于籽粒中总的 β -淀粉酶水平。这一点在品种墨 2 和 81 原 308 中显得更加明显。

回归分析也表明, 总的 β -淀粉酶水平与糖化力之间呈强直线型相关 ($y = 19.191 + 133.35x$), 说明 β -淀粉酶活性对糖化力影响很大。大麦成熟籽粒中 β -淀粉酶水平与麦芽糖

化力的这种高度相关性以及 β -淀粉酶与 α -淀粉酶之间也存在一定的相关性, 在啤酒大麦育种上具有重要的意义。在啤酒大麦育种程序中, 要提高麦芽的糖化力水平, 关键是要选育籽粒中总的 β -淀粉酶水平高的品种。当然作为一个优良的啤酒大麦品种还需考虑到与麦芽品质有关的其他性状, 如籽粒的蛋白质含量, 麦芽浸出率以及千粒重、抗病性等。但在育种中, 测定籽粒中 β -淀粉酶活性可以预测麦芽的糖化力高低, 同时也可以作为早期世代的筛选指标之一。

参 考 文 献

- [1] 上海植物生理学会编: 1985. 植物生理学实验手册, 第138—139页。
- [2] 管敦仪主编: 1985. 啤酒工业手册, 上, 中册。
- [3] Allison, M. J. and J. S. Swanston: 1974. *J. Inst. Brewing*, 80: 285—291.
- [4] Bendelow, V. M. and W. O. S. Meredith: 1955. *Sci. Agr.*, 35: 252—258.
- [5] Bendelow, V. M.: 1963. *J. Inst. Brewing*, 69: 467—472.
- [6] Bendelow, V. M.: 1964. *Can. J. Plant Sci.*, 44: 550—554.
- [7] Daussant, J. and P. Corvazier: 1970. *FEBS Letters*, 7: 191—194.
- [8] Daussant, J. and A. W. MacGregor: 1979. *Proc. Eur. Brew.*, 17: 663—675.
- [9] Gothard, P. G.: 1974. *J. Inst. Brewing*, 80: 387—390.
- [10] Hayter, A. M., T. J. Riggs: 1973. *J. Agr. Sci., Camb.* 80: 297—302.
- [11] Hejgaard, J., et al.: 1979. *Hereditas*, 90: 145—147.
- [12] John, G. S., et al.: 1966. *Crop. Sci.*, 6: 151—154.
- [13] Lauriere, C., et al.: 1985. *In: PEBCC*, pp. 675—682.
- [14] MacGregor, A. W.: 1983. *In: J. Daussant, J. Mosse and J. Vanhan (Eds), Seed Proteins, Academic press, New York*, pp. 1—27.
- [15] Meredith, W. O. S., et al.: 1942. *Sci. Agr.*, 22: 761—771.
- [16] Pollock, J. R. A., et al.: 1958. *J. Inst. Brew.*, 64: 151.
- [17] Rutyer, J. N.: 1967. *Crop. Sci.*, 7: 325—326.
- [18] Shinke, R., et al.: 1971. *Agr. Bio. Chem.*, 35: 1391.
- [19] Swanston, J. S.: 1980. *J. Inst. Brew.*, 86: 81—83.