

2. 新たな理化学的測定による食味評価法

五十嵐 俊 成*

1) 北海道産米の良食味育種の現状と課題

米の食味は、硬さや粘りなど米飯の物理的特性が大きく影響している³⁴⁾。この物理的特性は米胚乳中のアミロース含有率とタンパク質含有率が多いほど劣る。このため、水稲の良食味米育種では主にアミロース含有率とタンパク質含有率の低い系統を選抜している。特に、北海道産米のアミロース含有率は府県産米よりも高く、これを低下させることにより良食味化を図ることが提唱され、北海道は1980年(昭和55年)から「優良米の早期開発試験」を開始し、これまでに「きらら397」³⁰⁾、「ほしのゆめ」³²⁾、「ななつぼし」⁴³⁾など良食味品種を開発してきた。また、北海道立農試では全国に先駆け、アミロース含有率の測定を簡易迅速に行うため、オートアナライザーを導入し¹⁰⁾、これにより、低アミロース遺伝子を導入した「彩」^{20),38)}、「あやひめ」が育成された。

これらの品種開発により北海道産米の食味は確実に向上してきた。しかし、産地間差や年次間の食味の差が大きく、特に、土壌条件に伴うタンパク質含有率の変動が大きく、品種だけでは改善出来ない問題も抱えており、依然として本州産良食味品種に比べ食味が劣っている。

近年、食生活の変化に伴い、家庭内における米の消費量は年々低下している。一方、業務用米や加工炊飯などの需要が伸びており、求められる米の性質は多様化している¹⁹⁾。

業務用米に求められる品質は、一般的な食味計の食味値では73.6~81.0、アミロース含有率18.6~19.9%、タンパク質含有率6.8~7.4%、白米白度39.5~42.3%、整粒歩合93.9~100.0%、水分14.0~15.1%である。また、中食などの実需者からは炊飯後冷めても硬くなりにくい性質の米が求められている⁸⁾。これらに対応するため、更なる品質の向上と求められる米の特性を評価する新しい育種選抜手法の開発が重要となっている。

2) 新しい食味評価法の開発

米の食味は、タンパク質含有率との関連性^{26),15),22)}が指摘されているが、ここでは、米の主成分である澱粉について述べる。米粒の80%が澱粉で構成されていることから、食味に及ぼす澱粉の影響は大きいと思われるが、

これまで、アミロース含有率の測定とアミログラムなど糊化特性が調べられてきただけで、澱粉の分子構造と食味の関係については明らかではなかった。オートアナライザーを活用したアミロース含有率の測定は、Williamsら⁴⁰⁾の方法をJulianoが¹⁷⁾改良して稲津¹¹⁾が応用した方法でアミロースとヨウ素の複合体を620nmの単一波長の吸光値の測定で行われている¹²⁾。この方法ではヨウ素と α -1, 4-グルカンが結合したヨウ素複合体を比色定量するため、アミロペクチンの最長鎖画分のヨウ素吸収も含まれた測定値であり、見かけのアミロース含有率である³⁶⁾。すなわち、ヨウ素親和力の高いアミロペクチンはアミロペクチンの側鎖にアミロース様の長い枝を持っており³⁷⁾、これまでの見かけのアミロース含有率ではこれらアミロペクチン側鎖の影響を受けており、真のアミロース含有率は米飯のテクスチャーとは小さな影響しか示さず、むしろ炊飯米のテクスチャーはアミロペクチンの構造と関係があると考えられている²⁹⁾。アミロース含有率がほぼ等しい米についてRVAによるブレイクダウンとアミロペクチン鎖長分布の関係を見た結果、アミロペクチン長鎖画分とブレイクダウンには負の相関関係が、アミロペクチン短鎖画分とは正の相関関係が認められており、アミロース含有率よりもアミロペクチンの構造が熱糊化特性と密接な関係が認められている。そこで、アミロース含有率は1980年代までは米の食味を決定する最も重要な要因として研究されてきたが、米品質の研究はアミロースからアミロペクチンへ180°の転換が図られている⁴¹⁾。近年、澱粉の分子構造解析手法^{6),21),5)}の発達により、澱粉の分子構造と食味特性^{1),35)}、熱糊化性^{3),25)}、登熟温度¹³⁾についての解析が行われており、アミロース含有率が低く、アミロペクチンの長鎖長区分(B2+B3)の値が高く、平均単位鎖長の小さい米ほど、軟らかく、粘りのあるご飯となること³⁵⁾、アミロペクチンの側鎖の最長鎖画分(LC)と米飯の咀嚼特性に関係が認められている²³⁾。

すなわち、アミロペクチンのLCが多い品種ほど米飯は硬く、付着性と粘着力が弱くなり、RVAにおけるブレイクダウンと負の相関関係が認められ、澱粉粒の崩壊性にLCが関与していることが指摘されている²³⁾。

澱粉は糊化直後から老化が始まり、時間が経つに伴い品質が低下する。炊飯後の米飯も同様な時間経過をたど

*上川農業試験場 078-0387 上川郡比布町

り、老化の進行は「かたさの増加」, 「粘りの減少」などの物性面の変化として現れ、食味上好まれないものになる。いずれにしても、澱粉の糊化と老化は、アミロース含有率とアミロペクチン鎖長分布が関連している。

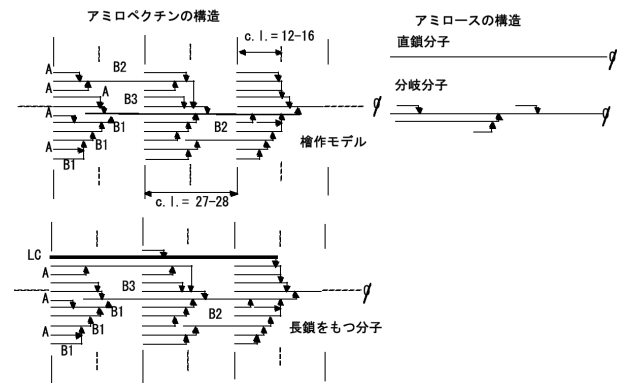
北海道産米は炊飯直後の食味が良いが、冷めた後固くなりやすく老化しやすいとの指摘がある。このため、老化しにくい米の育種が必要である。澱粉の老化度の測定は、一般的には澱粉分解酵素を使ったBAP法¹⁸⁾で測定されるが、試料を脱水乾燥後粉末化させる必要があること、手法が大変煩雑であること、再現性を得るには熟練を要するなどの問題点があり、総じて大変に面倒である。井川ら⁹⁾は冷蔵24時間後までの初期老化について、白濁程度の評価、X線回折、示差走査熱量測定(DSC測定)、BAP法による糊化度測定¹⁸⁾の3つの測定法で評価し、いずれの測定法間においても高い相関関係があることを示した。ただし、白濁程度は正確さに問題があること、X線回折はデータの定量化と使用する装置から簡便とは言えないため、冷蔵期間の早期から試料の差を検出でき、直接測定が可能である点から米飯の初期老化の評価にはDSC測定が適するとしている。DSCによる老化度の測定の場合にも脱水乾燥後粉末化させた試料が必要となる。これらに対し、佐原ら³¹⁾は伝導型微少熱量計を用いて炊飯米の熱測定を試みた結果、老化に起因すると考えられる発熱ピークを観察している。伝導型微少熱量計による熱測定においては、実験操作が簡便であり、炊きあげた米飯に何ら手を加えることなくそのままの状態、等温条件下における熱収支の経時変化を直接測定して、老化に関わるエンタルピー変化(老化熱)を取り出すことが可能であるため、老化の程度およびその経時変化の直接測定が期待されている。

3) 米粉のヨウ素吸収マルチスペクトル解析による新食味評価法の開発

うるち米の澱粉は、一般におよそ20%のアミロースと80%のアミロペクチンから構成されている。アミロースはグルコースが α -1, 4-結合で結合した基本的に直鎖の多糖であるが、少ないながらも分岐した分子と直鎖の分子の混合物である。米のアミロースは平均重合度が約1000、1分子あたり平均1~3本の分岐をもち、分岐分子の割合は25~50%である。アミロペクチンは α -1, 4-結合で結合したグルコース鎖に別の糖鎖が α -1, 6-結合で結合した分岐構造である。

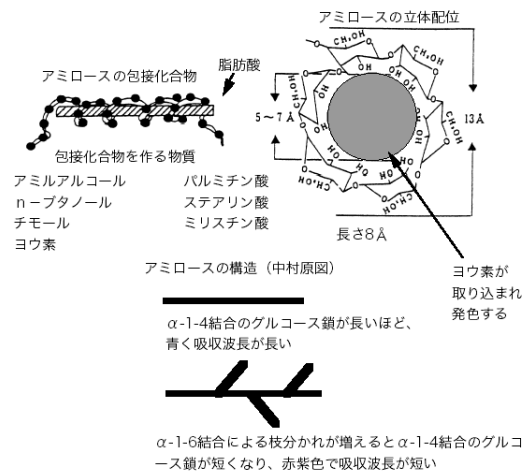
アミロペクチンを構成する単位鎖はグルコース残基が6~60程度つながったものである。アミロペクチンは単位鎖が房状に集まり、この房と房をつなぐ別の単位鎖に

よりいくつも繋がって大きな構造(クラスター構造)をしている。クラスターをまたがっている鎖をB鎖と呼んでいる。クラスター内で他のクラスターと結合していない単位鎖をA鎖と呼んでいる。また、B鎖はまたがっているクラスターの数に応じて、B1, B2, B3(クラスター3個にまたがる)と呼ばれている(図III-2-1)³⁶⁾。

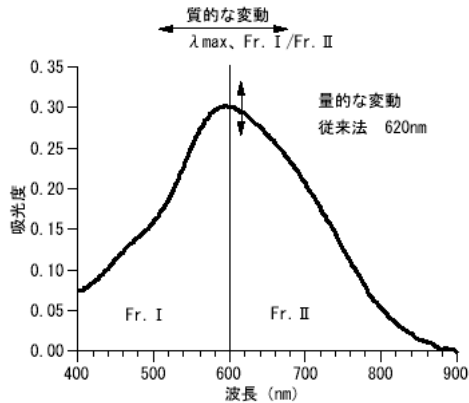


図III-2-1 アミロペクチンの構造

澱粉をヨウ素-ヨウ化カリウム溶液で染色した場合、アミロースはグルコース6個で一順する直径13~13.76 Åのラセン構造の中にヨウ素イオンがポリヨウ素イオンとして収納されて青色を呈する(図III-2-2)。これに対し、アミロペクチンはヨウ素との複合体をほとんど形成しないため、染色溶液は茶色の呈色を示す。米粉のヨウ素吸収曲線は図III-2-3に示したような曲線を描くが、従来は620nmの吸光度でアミロース含有率を測定していた。一方、アミロースとアミロペクチンでは α -1, 4-グルカンの重合度が異なるため、その最大吸収波長が異なることが知られている。従ってヨウ素吸収曲線を得ることにより、最大吸収波長およびFr. I /Fr. II比などの測定を行えば、従来の量的な変動と同時に質的な変動を捉えることが可能と考えられる。



図III-2-2 澱粉の構造とヨウ素デンプン反応



図Ⅲ-2-3 ヨウ素吸収曲線の概念図

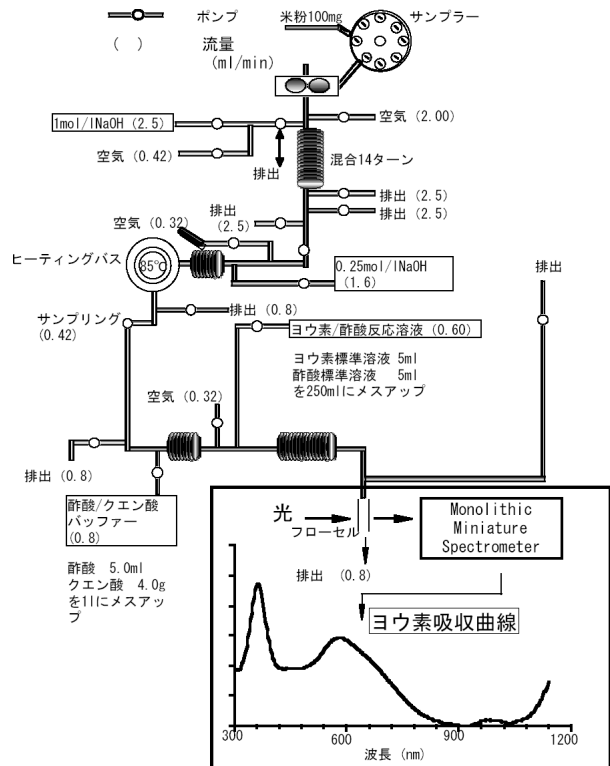
注) Fr. I=400~600nmの吸光度の積算値
 Fr. II=600~900nmの吸光度の積算値
 $Fr. I / II = (400 \sim 600nmの吸光度の積算値) / (600 \sim 900nmの吸光度の積算値)$
 λ_{max} =最大吸収波長 (nm)

オートアナライザー法は、試料調製が簡便で測定精度の再現性が高く、測定が迅速であるが、アミロースとアミロペクチンという性質の異なる成分の合成された吸収スペクトルであるため、従来の620nmの吸光度の測定ではアミロペクチンのヨウ素吸収の影響を受ける。最近、白石³³⁾は測定波長をアミロペクチンの影響を受けない770nmの測定が望ましいことを提唱しているが、770nmの吸光度は小さいため、試料濃度を高める必要があり、実際にはアミロペクチンの吸収を除去することには限界があるとしている。一方、井ノ内¹⁴⁾は玄米のヨウ素吸収曲線の最大吸収波長と酵素クロマト法によるアミロース含有率との関係式から簡易な米のアミロース含有率の測定方法を開発している。また、山下⁴²⁾は二波長測定法によるアミロース・アミロペクチンの測定を提案している。しかし、これらの方法は有用な方法であるが分析方法が自動化されていないため、育種現場での導入が進んでいない。

そこで、この装置を活用し、育種現場で実用的かつ簡



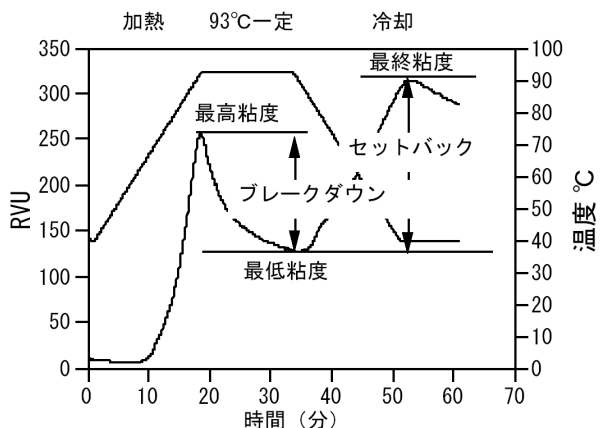
写真Ⅲ-2-1 マルチチャンネルオートアナライザー



図Ⅲ-2-4 オートアナライザーを用いたヨウ素吸収曲線の分析プロセス

便な分析手法を確立するため、マルチチャンネル検出器を備えたオートアナライザー(AA II /MMS)を開発した(写真Ⅲ-2-1, 図Ⅲ-2-4)。現在、アミロース含有率を測定専用のオートアナライザーは国内で60台以上導入されており、ほとんどの農業試験場で活用されている。そこで、従来のアミロース分析用オートアナライザーに310nm~1100nmまで256波長を瞬時に測定できるドイツZEISS社製Monolithic Miniature Spectrometerを接続し、1時間に20点のヨウ素吸収曲線の自動測定と分析項目の出力プログラムを開発した。この装置は、従来の検出器と置き換えるだけで利用できるため、分析機器の新規投資が少なく済むと考えられる。この装置を活用して、ヨウ素澱粉複合体吸収曲線(IAS)の特性解析を行い、アミロース含有率、熱糊化性、老化性および食味官能総合値との関連性を検討した。尚、ここでは炊飯米が冷めた後、硬くなる現象を便宜的に老化性と表記した。また、RVA(ラピッド・ビスコ・アナライザー)で測定したセットバックを糊化後に冷却したあとの硬くなりやすさの指標とした(図Ⅲ-2-5)。

最大吸収波長(λ_{max})は、アミロースの分子量が70,000以上で差は小さく約598であった。一般に米のアミロースの分子量は162,000前後、数平均重合度が1,000前後であり、米粉を測定する場合、最大吸収波長に及ぼすアミ



図Ⅲ-2-5 熱糊化特性と食味の関係

	食味良 ←	→ 食味不良
最高粘度	大 (大きすぎても不良)	小
ブレークダウン	大	小
最終粘度	小	大
セットバック	小	大

ローズの分子量の影響は少ないと考えられた(表Ⅲ-2-1)。一方、最大吸収波長は、アミロースとアミロペクチンの割合に応じて変動し、最大吸収波長はアミロース含有率が高いほど長くなった(図Ⅲ-2-6)。このため、

表Ⅲ-2-1 λ maxに及ぼすアミロースの分子量の影響

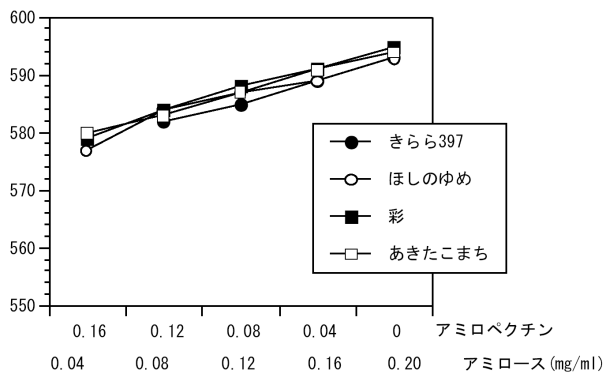
	分子量 M.W.	DPn*	λ max (nm)
AS-30	22,680	140	580
AS-70	69,660	430	597
AS-110	84,240	520	598
AS-320	372,600	2300	598
AS-1000	712,800	4400	597

*: 数平均重合度

大吸収波長を測定することにより、アミロース含有率とアミロペクチン含有率の測定が可能である。次に、アミロース含有率の検量線を従来の単一波長(620nm)と400~900nmの吸光度の積算値、522nmと778nmの吸光度の差、および595,713,716nmの3波長で作成した重回帰式で比較検討した。いずれの検量線も実用レベルの精度で

表Ⅲ-2-2 熱糊化性の推定結果の比較

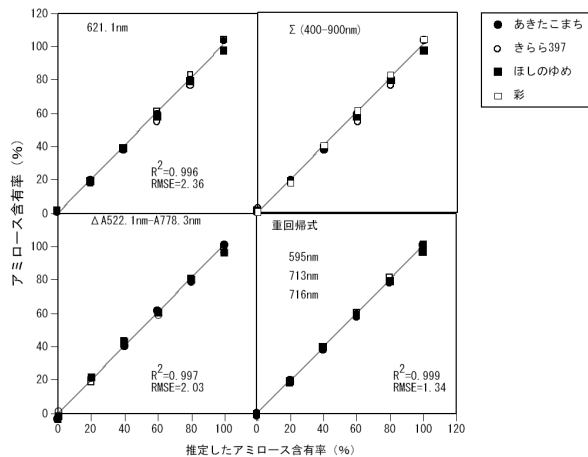
説明変数	項目	最高粘度	最低粘度	ブレークダウン	最終粘度
アミロース含有率	R ²	0.893	0.248	0.930	0.550
	RMSE	12.3	4.3	10.4	11.2
AA II/MMS	R ²	0.916	0.669	0.935	0.897
	RMSE	11.5	3.0	10.6	5.7
アミロース含有率	標準回帰	5.52	25.96	1.98	24.35
	λ max	-0.07	-0.64	0.02	-0.53
Σ (400-900nm)	係数	-6.41	-24.95	-2.96	-23.19



図Ⅲ-2-6 アミロースとアミロペクチン濃度がλ maxに及ぼす影響

注) 各品種のデンプンからアミロースとアミロペクチンを分別し、再び混合したサンプルを試料とした。

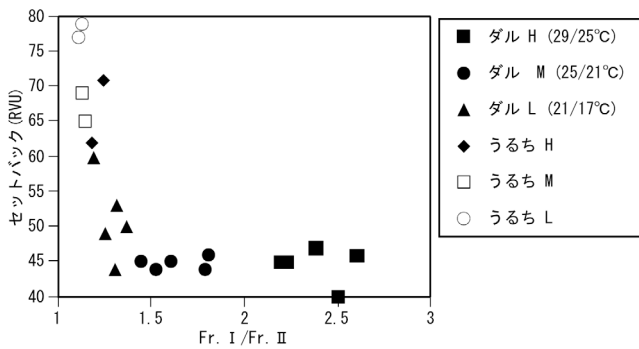
あり、単一波長よりも2波長や重回帰式を用いた方法は精度が高く測定できる(図Ⅲ-2-7)。さらに、本法から



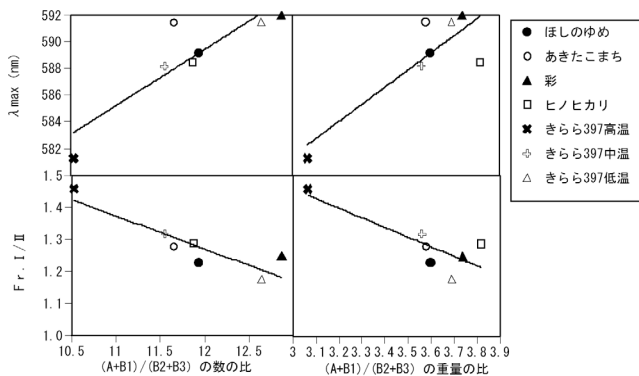
図Ⅲ-2-7 アミロースとアミロペクチンを混合したときのアミロース含有率の検量線ヨウ素吸収曲線の概念図

得られた見かけのアミロース含有率、400~900nmの吸光度の積算値、λ maxの3項目を説明変数としてRVAによる熱糊化特性の推定式を比較した結果、見かけのアミロース含有率のみで推定するよりも、いずれの項目も

推定精度が向上し、特に、最低粘度、最終粘度の推定精度が著しく向上した(表Ⅲ-2-2)。RVAによる熱糊化老化曲線は澱粉の糊化と老化を評価でき、セットバック(最終粘度-最低粘度)は糊が冷却後に硬くなる程度を示し、この数値が高いほど老化しやすい(図Ⅲ-2-5)。しかし、この測定には時間がかかる。そこで、これらは澱粉の老化性を推定する簡便な指標を得るため、Fr. I / Fr. II比とセットバックの関係をみた。この結果、Fr. I / Fr. II比が1.5以下ではセットバックは大きく変動するが、1.5以上では変動が少なかった(図Ⅲ-2-8)。したがって、老化しにくい米の選抜指標値として最大吸収波長およびFr. I / Fr. II比が有効と判断した。また、最大吸収波長およびFr. I / Fr. II比は、アミロペクチン単位鎖の短鎖(A+B1)と長鎖(B2+B3)の比と相関関係が認められた(図Ⅲ-2-9)。従って、ヨウ素吸収曲線の波長解析による最大吸収波長およびFr. I / Fr. II比は澱粉の鎖長分布を反映した指標と言える。



図Ⅲ-2-8 Fr. I / Fr. IIとセットバックの関係



図Ⅲ-2-9 アミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比とFr. I / Fr. IIおよびλmaxの関係

注) アミロペクチン単位鎖の分析は花城らの蛍光標識とゲルろ過HPLC法で行った。

以上のことから、本方法は従来の方法と全く同じ操作で、ヨウ素吸収曲線の測定を自動化した初めての方法であり、育種現場における利用が期待される。今後、北海道産米に求められる「さめても柔らかく、粘りがあり、

老化しにくい性質」を選抜するために活用できる。

4)澱粉の構造と生合成

澱粉の生合成は胚乳細胞中のアミロプラスト内で行われるが、合成は(1)基質であるADPグルコースの合成、(2)初発反応、(3)α-1, 4直鎖の伸長、(4)α-1, 6分枝の形成、および、(5)形成されたアミロペクチン前駆体のα-1, 6鎖のトリミングと結晶構造の形成、の5つのステップが考えられる。それぞれのステップに異なる酵素が関与し、かつ、それぞれの酵素に複数のアイソザイムが存在することが報告されている。即ち、(1)澱粉合成の主要な基質と考えられているADP-Glucoseの合成にはADPグルコースピロホスホラーゼ(ADP-Glucose pyrophosphorylase : AGPase)、α-1, 4直鎖の合成に関わる澱粉粒結合型澱粉合成酵素(Granule-bound starch synthase : GBSS)と2種の可溶性澱粉合成酵素(Soluble starch synthase : SSS)、α-1, 6分枝及びα-1, 4グルカンリセプターとしての非還元末端の形成に関わる枝作り酵素(Branching enzyme : BE)、或いはBEとSSSによって形成された多数のα-1, 6分枝を持つプレアミロペクチンとも呼ぶべき分子を枝切りしトリミングすることによって完成された結晶構造を持つアミロペクチン分子に導くと考えられる枝切り酵素(Debranching enzyme ; DBE)など、植物の澱粉合成には多様な酵素の関与が明らかにされている。これらの酵素に関わる突然変異体はその酵素の機能と澱粉生合成に果たす役割、或いは形成された澱粉の澱粉化学的特性を明らかにする上で極めて有効である。イネでも、上述のようにGBSSをコードする遺伝子の変異体waxyや、GBSSの発現制御に関わると考えられる低アミロース変異体dull、3種存在するBEの内、胚乳特異的BEであるBE I Ibをコードする遺伝子の変異体amylose-extender、枝切り酵素の1種isoamylaseに関する変異体sugary 1、あるいは、BE Iと共にGBSSやBE I Ib、さらにDBEやAGPaseなど澱粉生合成に関わる複数の酵素類の発現に影響を与えるfloury 2変異体など、さらに、shrunken 1及びshrunken 2の両変異体はいずれもAGPaseの活性を著しく減少させることから、この両変異体の遺伝子はAGPaseあるいはADPグルコースの合成に関わりがあるものと考えられ、現在、解析が進められている。

5)稲の澱粉変異体の作成と良食味化の可能性

澱粉合成酵素の発見以来、植物生理・生化学の分野で急速に解明が進められてきたが、その遺伝的調節機構に関してはまだ不明な部分が多い。これまでに

sugary⁴⁾や shrunken, brittle, waxy, dull²⁷⁾, amylose-extender²⁴⁾など多様な変異体が発見され、これらは成分育種に大きく貢献するとともに、澱粉生合成の遺伝的調節機構の解明に多くの情報を提供してきた^{2),39),16)}。

イネでは、胚乳成分に関する突然変異として古くからモチ突然変異(wx)が知られ利用されてきたが、近年有効な突然変異誘起法の開発や選抜法の改良により、様々な変異体の存在が確認された。これらの変異体はコメ品質改良の育種素材として利用されるとともに、これらの変異体を用いてイネ胚乳澱粉の生合成・集積の遺伝的調節機構の解明が進められている。

突然変異誘起法は変異原物質を用いて同一品種を処理することで比較的容易に同質遺伝子系統を作製することができることから、X線やγ線等の放射線、あるいはエチルメタンスルホン酸(EMS)等の化学変異原物質を用いた物理・化学的処理、また最近では細胞培養やトランスポゾンなど生物学的処理によって胚乳成分に関する突然変異の誘起が行われている。

九州大学ではイネの開花受精直後の1細胞期受精胚にメチルニトロソウレア(N-metyl-N-nitrosourea: MNU)を用いて処理する受精卵処理法によって、アミロースを欠くモチ突然変異体(waxy: wx)に加え、胚乳澱粉中のアミロース含量を変更する変異体、糖含量や可溶性多糖(WSP)含量を変更する変異体など、胚乳貯蔵澱粉に関与する様々な変異体を得ている。本法は、1細胞期処理のためM1植物がキメラとならず、変異体の発見が容易なので、このような胚乳成分に関する変異体の作出に有効である。

北海道産米の食味向上には、寒い気象条件に於いても安定的に低アミロース米を生産することが重要であるが、Park²⁸⁾らはイネのアミロース含量が18%以上の品種では、GBSSのリーダーイントロン5'スプライスサイトにAGGTATAの配列があり、アミロース含量の低い品種にはAGTTATAの配列があって、この単一塩基多型がGBSSの前mRNAプロセッシングの効率を減じていること。このG-T多型が穀粒発育中の温度感受性の差に関係していることを見いだした。AGTTATA配列を持つ品種では、18°Cにおいて25°Cや32°Cより、成熟GBSS転写物の蓄積が増加した。リーダーイントロン5'スプライスサイトの選択もまた温度によって影響を受けることが明らかにしている。北海道産米は登熟温度によりアミロース含有率の変動が大きい。これはアミロース合成酵素GBSSの発現量が登熟温度で変動することが要因として考えられる。この温度反応性は品種により異なり、粳品種では温度反応性は小さく、dull遺伝子をもつ品種は

温度反応性が大きい。このことから、前者はGBSSのリーダーイントロン5'スプライスサイトにAGGTATAの配列があり、後者はAGTTATAの配列があって、この単一塩基多型がGBSSの前mRNAプロセッシングの効率を減じているのではないかと推察している。このことから、北海道産米を選抜するに当たり、GBSSのリーダーイントロン5'スプライスサイトにAGGTATAの配列があり、アミロース含有率の低い系統を選抜する必要があるものと考えられる。

6)まとめ

以上のことから、突然変異育種を活用して、澱粉の変異体を作成して、北海道の気象条件でも冷めても柔らかく、粘りがあって、口当たりも良く、味の良い品種が出来る可能性があり、これら変異体の選抜には、新しく開発した分析方法が役に立つかも知れない。これからの育種の益々の発展に期待したい。

引用文献

- 1) 朝岡正子, 高橋慶一, 中平 健, 井ノ内直良, 不破英次. "新形質米胚乳澱粉の構造特性-1990, 91年産うるち米について-". 応用糖質科学. **41**(1), 17-23 (1994).
- 2) Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V., and Ball, S. "Starch granules structure and biosynthesis" J. Biol. Macromol., **23**, 85-112(1998).
- 3) Fitzgerald, M. A., Martin, M., Ward, R. M. Park, W. D. and Shead, H. J. "Viscosity of rice flour A Rheological and Biological study". J. Agric. Food Chem, **51**, 2295-2299 (2003).
- 4) Fujita, N., Kubo, A., Suh, DS., Wong, KS., Jane, JL., Ozawa, K., Takaiwa, F., Inaba, Y., Nakamura, Y. "Antisense inhibition of isoamylase alters the structure of amylopectin and the physicochemical properties of starch in rice endosperm". Plant. Cell. Physiol. **44**(6), 607-18 (2003).
- 5) Hanashiro, I., Tagawa, M., Shibahara, S., Iwata, K., takeda, Y. "Examination of molar-based distribution of A, B and C Chains of amylopectin by fluorescent labeling with 2-aminopyridine". Carbohydr. Res. **337**, 1208-1212 (2002).
- 6) Hizukuri, S. "Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin

- and the crystalline structure of starch granules". *Carbohydr. Res.* **141**, 295-306 (1985).
- 7) Hizukuri, S. "Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance". *Carbohydr. Res.* **147**, 342-347(1986).
 - 8) 五十嵐俊成. "業務用米の実需者ニーズと産地対応—北海道産米を中心に—". *フードシステム研究*, **11**, 18-29(2004).
 - 9) 井川佳子, 菊池智恵美, 兼平咲江, 村川由起子, 井尻 哲. "米飯における初期老化の評価方法". *応用糖質科学*. **49**, 29-33 (2002).
 - 10) 稲津脩. "北海道立農業試験場資料". **15**, 57-61 (1981).
 - 11) 稲津 脩. "北海道における水稲・小麦の良質品種早期開発—プロジェクト研究合同セミナー集録—". *北海道立農業試験場資料*. **15**, 49-64 (1982).
 - 12) 稲津 脩. "北海道産米の食味向上による品質改善に関する研究" *北海道立農業試験場報告*. **66**, 1-89 (1988).
 - 13) Inouchi, N., Ando, H., Asaoka, M. "The effect of environmental temperature on distribution of unit chains of rice amylopectin". *Starch*. **52**, 8-12 (2000).
 - 14) 井ノ内直良, 池内南美, 高美正, 朝岡正子, 不破英次. "米のアミロース含量簡易測定法の検討". *応用糖質科学*. **43**, 1-5 (1996).
 - 15) 石間紀男, 平 宏和, 平 春枝, 御子柴穆. "米の食味におよぼす窒素施肥および精白中の蛋白質含量率の影響". *食糧研究所研究報告*. **29**, 9-15 (1974).
 - 16) James, M. G., Robertson, D. S., and Myers, A. M. "Characterization of the Maize Gene *sugary1*, a Determinant of Starch Composition in Kernels". *Plant Cell*. **7**, 417-429 (1995).
 - 17) Juliano, B. O. "A simplified assay for milled-rice amylose". *Cereal. Sci. Today*. **16**, 334-338 (1971).
 - 18) 貝沼圭二, 松永暁子, 板川正秀, 小林昭一. " β -アミラーゼ-プルラナーゼ(BAP)系を用いた澱粉の糊化度, 老化度の新測定法". **28**, 235-240 (1981).
 - 19) 上川農業試験場. "業務用米の実需者ニーズと品質に係る実態調査". *北海道農業試験会議資料*. 1-34 (2000).
 - 20) 菊地治己, 国広泰史. "水稲新品種「彩」". *農業技術*. **46**, 472 (1991).
 - 21) Koizumi, K., Fukuda, M. and Hizukuri, S. "Estimation of the distributions of chain length of amylopectins by high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection". *J. Chromatogr.* **585**, 233-268 (1991).
 - 22) 松田裕之. "精米中のタンパク質含有率からみた米の食味向上に関する研究". *山形県農事特別研究報告*. **24**, 1-29 (2002).
 - 23) 水上浩之, 竹田靖史. "新形質米米飯の咀嚼特性と澱粉の分子構造との関係". *応用糖質科学*. **47**, 61-65 (2000).
 - 24) Nishi, A., Nakamura, Y., Tanaka, N., and Satoh, H. "Biochemical and genetic analysis of the effects of amylose-extender mutation in rice endosperm". *Plant. Physiology*. **127**, 459-472 (2001).
 - 25) Noda, T., Nishiba, Y. Sato, T., and Suda, I. "Properties of starches from several low-amylose rice cultivars". *Cereal. Chem.* **80**(2), 193-197 (2003).
 - 26) 農林水産技術会議事務局. "米の食味改善に関する特別研究資料". (1970).
 - 27) Okuno, K., Fuwa, H. and Yano, M. "A new mutant gene lowering amylose content in endosperm starch of rice, *oryza sativa* L". *Jpn. J. Breed.* **33**, 387-394 (1983).
 - 28) Patric D.Larkin and William D.Park. "Transcript accumulation and utilization of alternate and non-consensus splice sites in rice granule-bound starch synthase are temperature-sensitive and controlled by a single-nucleotide polymorphism". *Plant. Molecular. Biology*. **40**, 719-727(1999).
 - 29) Radhika Reddy, K., Zakiuddin Ali, S., and Bhattacharya, K.R. "Fine structure of rice-starch amylopectin and relation to the texture of cooked rice". *Carbohydr.Polym.* **22**, 267-275 (1993).
 - 30) 佐々木多喜雄, 佐々木一男, 柳川忠男. "水稲新品種「きらら397」の育成について". *北海道立農試集報*. **60**, 1-18 (1990).
 - 31) 佐原秀子, 貝沼やす子, 原田茂治. "炊飯米の老化熱測定を試み". *静岡県立大学短期大学部 研究紀要*. **13**, 1-4(1999).
 - 32) 新橋 登, 前田 博, 國廣泰史ら. "水稲新品種「ほしのゆめ」の育成". *北海道立農試集報*. **84**, 1-12 (2003).

- 33) 白石真貴夫. “イネ胚乳澱粉のアミロース含有率に関する育種学的研究”. 大分県農業技術センター研究報告. **24**, 91-134(1994).
- 34) 竹生新治郎. “コメの味 食の科学”. **1**, 79-86 (1971).
- 35) 高橋節子, 杉浦智子, 内藤文子, 渋谷直人, 貝沼圭二. “米の食味と米澱粉の構造”. 応用糖質科学. **45** (1), 99-106 (1998).
- 36) 竹田靖史. “でん粉と食品”. **19**, 1-9 (1994).
- 37) Takeda, Y., Hizukuri, S. and Juliano, B.O. "Structures of rice amylopectins with low and high affinities for iodine". Carbohydr. Res. **168**, 79-89(1987).
- 38) 丹野 久, 國廣泰史, 江部康成. “水稻新品種「彩」の育成について”. 北海道立農試集報. **72**, 37-53 (1997).
- 39) TL, Wang., T, Bogracheva., and C, Hedley., "Review article. Starch : as simple as A, B, C". J. Exp. Bot. **49**, 481-502(1998).
- 40) Williams, V. R., Wu, W-T., Tsai, H. Y., and Bates, H. G. "Varietal differences in amylose content of rice starch". J. Agric. Food Chem., **6**, 47-48 (1958)
- 41) Xian-Zhong, H., and Bruce R, H., "Amylopectin fine structure and rice starch paste breakdown". J.Cereal.Sci. **34**, 279-284 (2001).
- 42) 山下純隆, 馬場紀子, 森山弘信. “2 波長測定法による米のアミロース及びアミロペクチンの定量”. 福岡農総研報. **A-13**, 13-16 (1994).
- 43) 吉村 徹, 丹野 久, 菅原圭一ら. “水稻新品種「ななつぼし」の育成”. 北海道立農試集報. **83**, 1-10 (2002).