

高アミロース米「雪の穂」の胚乳澱粉の性質と米飯物性

誌名	応用糖質科学：日本応用糖質科学会誌 = Bulletin of applied glycoscience
ISSN	21856427
著者名	中浦,嘉子 中尾,恵子 高木,龍一郎 海野,良一 林,靖久 井ノ内,直良
発行元	日本応用糖質科学会
巻/号	1巻1号
掲載ページ	p. 86-94
発行年月	2011年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



報 文

高アミロース米「雪の穂」の胚乳澱粉の性質と米飯物性

(2010年5月25日受付；2010年11月22日採択)

中浦嘉子¹，中尾恵子¹，高木龍一郎²，海野良一³，林 靖久³，井ノ内直良^{1,*}

¹ 福山大学生命工学部生命栄養科学科 (729-0292 広島県福山市学園町 1 番地三蔵)

² むかわ町役場 (054-8660 北海道勇払郡むかわ町美幸 2 丁目 88 番地)

³ 株式会社三和化学研究所 (461-8631 愛知県名古屋市東区東外堀町 35 番地)

Properties of Endosperm Starches and Physical Properties of Cooked Rice of High-amylose Rice “Yukinoho”

Yoshiko Nakaura¹, Keiko Nakao¹, Ryuichiro Takagi², Ryoichi Unno³,
Yasuhisa Hayashi³ and Naoyoshi Inouchi^{1,*}

¹Department of Nutrition and Life Science, Faculty of Life Science and Technology, Fukuyama University
(1 Sanzo, Gakuen-cho, Fukuyama, Hiroshima 729-0292, Japan)

²Mukawa Public Office (2-88 Miyuki, Mukawa, Yufutsu, Hokkaido, 054-8660, Japan)

³Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd. (35 Higashisotobori-cho, Higashi-ku, Nagoya, Aichi 461-8631, Japan)

要旨：糖尿病の食事療法への利用が期待される雪の穂の胚乳澱粉の性質や米飯物性について明らかにするために、2004～2008年産の雪の穂5試料、2006年産の市販コシヒカリ1試料および佃農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所および各地農業研究センターで2006年に栽培された80試料の全86試料米を用いて実験を行った。雪の穂澱粉の構造的な特徴としては、見かけのアミロース含量が日本で栽培されている米品種の中では極めて高いという点である。また、アミロペクチンに注目すると、アミロペクチンの内部鎖領域の鎖長分布は市販のコシヒカリとほぼ変わらないが、アミロペクチンクラスターを構成する側鎖には短鎖が多いことが明らかとなった。しかしながら、超長鎖含量がコシヒカリに比べて有意に高いため、平均単位鎖長やβ-アミラーゼ分解限度、平均外部および内部鎖長には、大きな違いは観察されなかった。物性面では、DSCによる測定の結果、雪の穂澱粉の糊化温度は糖質米であるあゆのひかりに次いで低いことがわかった。また、RVAによる雪の穂澱粉の粘度曲線は、ホシユタカに非常に近かった。雪の穂の米飯物性は、炊飯米、冷飯ともに硬く、粘りが弱い米であることがわかった。

キーワード：高アミロース米，澱粉，炊飯米**

近年、ライフスタイルの変化により、過食、運動不足、ストレスなどが要因となり、日本国内における糖尿病患者数は年々増加している。厚生労働省が行った調査によると、2007年11月現在で糖尿病が強く疑われる人は約890万人、糖尿病の可能性が否定できない人は約1,320万人、合計2,210万人にも上ると推計され、国民全体の17%にも及ぶという結果となった¹⁾。糖尿病の予防や治療法については、様々な研究がなされているが、基本は食事療法である。

食の欧米化が進む現代であるが、やはり日本人の主食は米であり、最も重要な食糧資源の1つである。Goddard *et al.*²⁾は、アミロース含量が0、14～17、23～25%と異なる米を用いて男女33人の健常者に対し血糖上昇やインスリン応答を調べたところ、23～25%のアミロース含量の米を食した場合に最も緩やかであったことを報告している。

また、Miller *et al.*³⁾は、Jenkins *et al.*⁴⁾によって提唱された糖尿病患者の食事管理に有効な測定値の1つとして注目されているグリセミック・インデックス (GI) 値が中程度のアミロース含量の米やモチ米に比べ、高アミロース米は有意に低い値となったことを報告している。このように高アミロース米が、糖尿病の予防や治療に有用な食糧資源であるという報告は数多い。

しかし、日本で栽培されている米のほとんどがジャポニカ種であり、モチ米、低アミロース米、中程度のアミロース含量の米に比べ高アミロース米は少ない。そのため、高アミロース米はタイやインドをはじめとするインディカ米の栽培国より輸入しなければならず、比較的入手が困難である。また、高アミロース米の特徴である硬く粘りが弱いという米飯物性は日本人の嗜好に合わない。そのため、高アミロース米を白飯として日々の食事に完全に置き換える

* 連絡先 (Tel. 084-936-2111, Fax. 084-936-2023, E-mail: inouchi@fubac.fukuyama-u.ac.jp)

** Key words: high-amylose rice, starch, cooked rice

ことは現時点では難しい。糖尿病患者に米中心の日本型食生活の変更を強いることなく食事療法を行うことが望まれる。

雪の穂は、2000年に北海道勇払郡むかわ町にある穂別ヘルシーフード農業センターにおいて彩の突然変異米として発見され、2009年に品種登録されたジャポニカ種の短粒米である(品種登録番号 第18121号)。雪の穂は、脱粒し易く、玄米が腹白で芒が稀短、アミロース含量が高く、穂長および稈長がやや長い、その他の特徴は種子親である彩に類似しており、自然条件下で生じた突然変異体であるとみなされた。アミロース含量が高いことから糖尿病の予防や治療への利用が期待されるが、食味を含め米の主成分である澱粉の性質については明らかにされていない。そこで、本研究では、雪の穂の胚乳澱粉の性質や米飯物性について調べることで、その利用特性を明らかにすることとした。また、雪の穂の胚乳澱粉および米飯物性の特徴をより明確にするために、市販米である三重県産コシヒカリと(株)農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所および各地農業研究センターで2006年に栽培された試料米の性質と比較した結果を併せて報告する。

1. 実験材料と方法

1) 実験材料および試料調製

2006年に(株)農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所および5カ所の農業研究センターでプロジェクト研究「低コストで質の良い加工・業務用農作物の安定供給技術の開発」(略称、加工プロ)のために栽培された試料米80点と、2004~2008年に北海道勇払郡むかわ町で栽培された雪の穂5点および2005年三重県産コシヒカリ(市販品)1点を加えた計86点の米を実験試料として使用した(Table 1)。搗精済みの市販コシヒカリを除く85点の試料米は完熟玄米を搗精して、歩留り約90%の精白米とし、米飯物性の測定および尿素溶液に対する崩壊性試験に供した。また、精白米から冷アルカリ浸漬法⁵⁶⁾にて胚乳澱粉を調製し、実験試料とした。その澱粉試料からSchoch⁷⁾の方法のTakeda *et al.*⁸⁾の改良法によりアミロペクチンを調製し、実験に用いた。さらに調製したアミロペクチンにβ-アミラーゼを作用させ、β-限界デキストリン(β-limit dextrin; β-LD)を調製し、分析試料とした。

2) 実験方法

(1) 澱粉およびアミロペクチンのヨウ素吸収曲線の測定

藤本ら⁹⁾の方法に準じて、調製した澱粉およびアミロペクチンのヨウ素吸収曲線の測定を行った。すなわち、糊化させた澱粉またはアミロペクチン2 mg、ヨウ素4 mg、ヨウ化カリウム40 mgを50 mLに定容し、1 cmの光路長のセルを用いて呈色液の500~700 nmの吸光度を測定し、最大吸収波長(λ_{\max})と680 nmにおける吸光度(靑価, blue value; B.V.)を読み取った。

(2) 澱粉およびアミロペクチンの単位鎖長分布の測定

Inouchi *et al.*¹⁰⁾の方法により、澱粉およびアミロペクチンの α -1,6 グルコシド結合をイソアミラーゼ(*Pseudomonas isoamylase*, 59,000 U/mg/mL, E.C.3.2.1.68, (株)林原生物化学研究所, 岡山)で切断した後、TSKgel TOYOPEARL HW-55S(東ソー, 東京; 20 mm ID × 300 mm L)1本に続いて同HW-50S(20 mm ID × 300 mm L)3本を連結した合計4本の連結カラムに負荷し、3 mLずつ分取した溶出液を酢酸で中和した後、全糖量をフェノール・硫酸法¹¹⁾にて求めた。その後、以下に示す2種類の方法により各フラクション含量を算出した(Fig. 1)。

A法: 溶出液にヨウ素溶液を加え、 λ_{\max} を測定することにより、Fraction (Fr.) I ($\lambda_{\max} \geq 620$ nm), Intermediate (Int.) Fr. ($620 \text{ nm} > \lambda_{\max} \geq 600$ nm), Fr. II ($600 \text{ nm} > \lambda_{\max} \geq 525$ nm), Fr. III ($525 \text{ nm} > \lambda_{\max}$)の4画分に分類した。連結カラムの分離能や溶出液の λ_{\max} の測定値などから、Fr. Iは澱粉の見かけのアミロース画分と考えられる(Fig. 1(a))¹⁰⁾。

B法: 澱粉の溶出曲線を谷で見かけのアミロース画分(Fr. 1, apparent amylose; AAM), アミロペクチンの長鎖画分(Fr. 2), アミロペクチンの短鎖画分(Fr. 3)に分類し

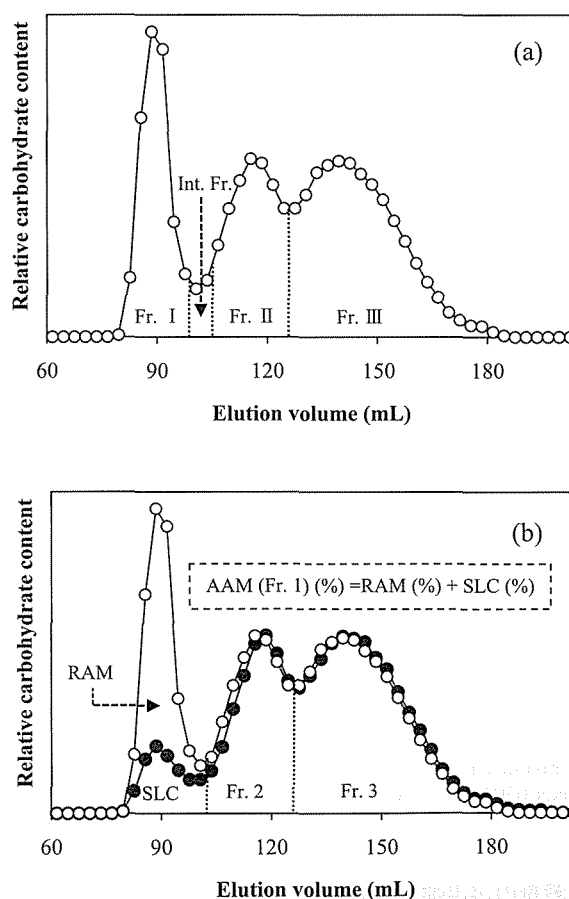


Fig. 1. Elution profiles of isoamylase-debranched starches and amylopectins by GPC through TOYOPEARL HW-55S + HW-50S × 3 columns and their fractions.

Open circle and closed circle show elution patterns of debranched starch and amylopectin, respectively. (a) Fractions of elution profile by method A, (b) fractions of elution profiles of starch and amylopectin by method B.

Table 1. Name, cultivated place and structural properties of endosperm starches of rice.

I. Waxy rice				
Sample name	Cultivated place	λ_{\max}^{*1} (nm)	B.V. ^{*2}	Fr. I ^{*3} (%)
Hiyokumochi	Fukuoka	520	0.05	0.0
Izumi 1280	Fukuoka	521	0.07	0.0
Hakuchomochi	Hokkaido	526	0.07	0.0
Oumurasakimochi 389	Akita	526	0.07	0.0
Mochiminori	Ibaraki	527	0.06	0.0
Hokurikumochi 197	Niigata	527	0.09	0.0
Benizomemochi	Fukuoka	528	0.07	0.0
Mebaemochi	Niigata	530	0.08	0.0
Hokurikumochi 199	Niigata	531	0.08	0.0
Hokurikumochi 210	Niigata	532	0.07	0.0
Asamurasaki	Akita	532	0.08	0.0
Himenomochi	Niigata	532	0.08	0.0
Average		528 ± 4	0.07 ± 0.01	0.0 ± 0.0
II. Low-amylose rice				
Sample name	Cultivated place	λ_{\max}^{*1} (nm)	B.V. ^{*2}	Fr. I ^{*3} (%)
Snow Pearl	Akita	537	0.11	4.0
Silky Pearl	Akita	539	0.12	5.2
Saikai 257	Fukuoka	541	0.10	6.8
Satsukei 05062	Hokkaido	542	0.13	8.1
Satsukei 05064	Hokkaido	542	0.13	8.4
Hanaemaki	Hokkaido	542	0.13	8.9
LGC soft	Hiroshima	543	0.11	6.1
Milky Queen	Ibaraki	544	0.14	7.8
Satsukei 05063	Hokkaido	545	0.14	8.8
Satsukei 04036	Hokkaido	545	0.15	9.8
Chugoku 192	Hiroshima	545	0.16	7.8
Satsukei 03038-1	Hokkaido	545	0.16	10.2
Satsukei 05060	Hokkaido	546	0.14	9.7
Asatsuyu	Niigata	546	0.15	9.7
Kanto 224	Ibaraki	549	0.11	5.9
Chugoku 191	Hiroshima	550	0.13	7.4
Satsukei 05058	Hokkaido	550	0.15	11.1
Kanto 229	Ibaraki	551	0.13	7.3
Satsukei 05055	Hokkaido	551	0.16	10.9
Kanto 230	Ibaraki	552	0.12	11.1
Chukeitoku 80	Hiroshima	553	0.15	10.0
Soft 158	Niigata	553	0.16	13.3
Oborozuki	Hokkaido	554	0.17	11.2
Hokkai 306	Hokkaido	555	0.18	14.6
Izumi 1274	Kumamoto	557	0.20	15.2
Average		547 ± 5	0.14 ± 0.02	9.2 ± 2.7
III. Medium-amylose rice				
Sample name	Cultivated place	λ_{\max}^{*1} (nm)	B.V. ^{*2}	Fr. I ^{*3} (%)
Satsukei 05051	Hokkaido	561	0.20	16.9
Izumi 1273	Fukuoka	561	0.21	15.5
Yawarakomachi	Fukuoka	562	0.18	16.6
Satsukei 03043-1	Hokkaido	562	0.21	10.8
IV. High-amylose rice				
Sample name	Cultivated place	λ_{\max}^{*1} (nm)	B.V. ^{*2}	Fr. I ^{*3} (%)
◆Yukinoho ('07)	Hokkaido	582	0.33	24.9
Beniroman	Kumamoto	586	0.33	26.5
◆Yukinoho ('06)	Hokkaido	589	0.36	29.0
◆Yukinoho ('08)	Hokkaido	591	0.32	29.8
Hoshiyutaka	Kumamoto	591	0.35	27.9
Yumetoiro	Ibaraki	592	0.37	28.5
◆Yukinoho ('05)	Hokkaido	593	0.34	27.0
◆Yukinoho ('04)	Hokkaido	593	0.35	26.1
Average		590 ± 4	0.34 ± 0.02	27.5 ± 1.6

Hokkai 300	Hokkaido	562	0.21	16.4
Izumi 1272	Fukuoka	562	0.25	19.8
Akitakomachi	Akita	563	0.23	16.4
Satsukei 03044-1	Hokkaido	564	0.21	7.5
Saikaiki 256	Fukuoka	564	0.21	19.0
Hokkai 302	Hokkaido	564	0.22	15.0
Koshihikari	Fukuoka	564	0.22	17.2
Izumi 1277	Fukuoka	566	0.21	18.9
Hokkai 303	Hokkaido	566	0.22	15.4
Hokuriku 166	Niigata	566	0.23	16.9
▲Koshihikari	Mie	566	0.24	17.3
Koshihikari	Ibaraki	567	0.24	17.6
Nipponbare	Fukuoka	567	0.24	18.2
Chugokusake 185	Hiroshima	568	0.21	17.5
Izumi 1276	Fukuoka	568	0.22	18.3
Kinuhikari	Fukuoka	568	0.22	19.1
Koshihikari	Niigata	568	0.25	19.5
Izumi 1279	Fukuoka	569	0.21	18.7
Hoshinoyume	Hokkaido	569	0.24	24.9
Kirara 397	Hokkaido	569	0.25	13.7
Satsukei 04015	Hokkaido	569	0.25	18.1
Satsukei 04033	Hokkaido	569	0.26	20.1
Hinohikari	Fukuoka	570	0.22	19.2
Satsukei 05047	Hokkaido	570	0.24	21.5
Nipponbare	Ibaraki	570	0.28	15.6
Kinuhikari	Niigata	571	0.22	18.3
Hokkai 293	Hokkaido	571	0.25	19.6
Hokurikuaka 212	Niigata	571	0.27	18.3
Chugoku 183	Hiroshima	572	0.23	21.7
Nipponbare	Hiroshima	572	0.24	19.1
Hokkai 307	Hokkaido	572	0.25	21.1
Satsukei 04032	Hokkaido	572	0.26	18.8
Shunyou	Niigata	572	0.28	21.6
Hinohikari	Hiroshima	573	0.21	18.8
Ayunohikari	Niigata	573	0.22	23.6
Hokkai 299	Hokkaido	576	0.26	25.7
Hatsushizuku	Hokkaido	577	0.26	22.1
Average		568 ± 4	0.23 ± 0.02	18.3 ± 3.3

IV. High-amylose rice

Sample name	Cultivated place	λ_{\max}^{*1} (nm)	B.V. ^{*2}	Fr. I ^{*3} (%)
◆Yukinoho ('07)	Hokkaido	582	0.33	24.9
Beniroman	Kumamoto	586	0.33	26.5
◆Yukinoho ('06)	Hokkaido	589	0.36	29.0
◆Yukinoho ('08)	Hokkaido	591	0.32	29.8
Hoshiyutaka	Kumamoto	591	0.35	27.9
Yumetoiro	Ibaraki	592	0.37	28.5
◆Yukinoho ('05)	Hokkaido	593	0.34	27.0
◆Yukinoho ('04)	Hokkaido	593	0.35	26.1
Average		590 ± 4	0.34 ± 0.02	27.5 ± 1.6

*¹Maximum absorption wavelength of spectra of iodine-starch complexes. *²Absorbance at 680 nm of spectra of iodine-starch complexes. *³Apparent amylose content measured by the GPC of debranched starch. Closed triangle, commercial rice; closed lozenge, Yukinoho.

た。澱粉の溶出曲線から得られた全面積を100とした時のFr. 2およびFr. 3の合計面積をアミロペクチンの溶出曲線から得られたFr. 2およびFr. 3の合計面積と揃えることにより、澱粉中の真のアミロース (real amylose; RAM) 含量およびアミロペクチン中に存在する超長鎖 (super-long chains; SLC) 含量をそれぞれ算出した (Fig. 1(b))。

$$\text{AAM (Fr. 1) (\%)} = \text{RAM (\%)} + \text{SLC (\%)}$$

(3) 精白米の尿素溶液に対する崩壊性試験

岡本ら¹²⁾の方法に準じて、尿素溶液中における精白米の崩壊性試験を行った。すなわち、マイクロプレートの6穴に3.5 M尿素溶液を200 μL ずつ分注し、そこへ精白米の長軸に対して中心付近を垂直に切断した胚乳部分の断面を

もった精白前から胚芽が無かった方の精白米半粒を完全に浸した。経時的にそれぞれの米粒が尿素溶液によって溶解や崩壊していく様子を、全く崩れていない(評価0)、表面から澱粉がわずかに溶け出している(評価1)、表面から澱粉が少し溶け出しているが、米の粒型は維持されている(評価2)、澱粉が溶け出し、米粒の一部が崩れている(評価3)、澱粉がかなり溶け出し、米粒が膨張している(評価4)、澱粉のほとんどが溶け出し、米粒が大きく変形している(評価5)、米粒はバラバラに崩れ、原型をとどめておらず、ごく一部を残すのみとなっている(評価6)、米粒は完全に溶解し、半透明になっている(評価7)の8段階のスコアによる定義に従い6粒の結果を数値化した。そして、その平均値を算出することにより、精白米の尿素溶液の崩壊性を評価した。

(4) アミロペクチンの短鎖領域における単位鎖長分布の測定

Inouchi *et al.*¹⁰⁾の方法に準じて、パルスドアンペロメトリー検出器を用いた陰イオン交換クロマトグラフィー(HPAEC-PAD, Dionex DX-300, Dionex Corporation, Sunnyvale, USA)によるアミロペクチンの短鎖領域における単位鎖長分布の測定を行った。すなわち、6 mgの澱粉に4.69 mLの超純水を加え、沸騰水浴中にて10分間加熱することにより澱粉を糊化させた。室温まで冷ました後、1 M酢酸緩衝液(pH 3.5) 100 μ Lとイソアミラーゼ(前出) 10 μ Lを加え、45°Cで2時間反応させた。100 mMの水酸化ナトリウムを200 μ L加えて反応を停止させた後、超純水を5 mL加え、メンブレンフィルター(HAWP02500, Millipore Corporate, Billerica, USA)でろ過し、分析試料とした。分析試料を再度ディスポーザブルメンブレンフィルター(13HP020AN, ADVANTEC, アドバンテック東洋株式会社, 東京)に通した後、CarboPac PA1 (4 × 250 mm) ガラムに負荷した。アミロペクチン単位鎖の重合度(DP) 6~45の検出ピーク全面積に対するDP 6~12のピーク面積の割合をFr. A含量として算出した。

(5) アミロペクチンの平均単位鎖長の測定

ネジ蓋付試験管にアミロペクチンを約28 mg秤り取り、イオン交換水4.68 mLを加え、攪拌しながら沸騰水浴中で約10分間加熱することによりアミロペクチンを糊化させた。室温まで冷却した後、1 M酢酸緩衝液(pH 3.5) 100 μ Lとイソアミラーゼ(前出) 20 μ Lを順次加え、45°Cで2.5時間反応させることによりアミロペクチンの枝切りを行った。100 mM水酸化ナトリウム200 μ Lを加えて反応を停止させた後、反応液の全糖量をフェノール・硫酸法¹¹⁾で、還元糖量をSomogyi-Nelson法^{12,13)}で測定し、全糖量を還元糖量で除することにより、アミロペクチンの平均単位鎖長を算出した。

(6) アミロペクチンの β -アミラーゼ分解限度および平均外部・内部鎖長の算出

アミロペクチン約10 mgを1 M水酸化ナトリウムで糊化させた後、1 M酢酸を加えてpHを6.2~6.4に調整し

た。さらに、100 mM酢酸緩衝液(pH 5.5)を9 mL、0.1% β -アミラーゼ酵素液(β -アミラーゼ#1500, 大豆由来, 15,000 AUN/g, ナガセケムテックス(株), 大阪) 1 mLを加えた。40°Cで48時間反応させた後、反応液の全糖量、還元糖量およびグルコース量を測定し、アミロペクチンの β -アミラーゼ分解限度を算出した。また、 β -アミラーゼ分解限度と(5)の方法により求めたアミロペクチンの平均単位鎖長から、平均外部鎖長および平均内部鎖長をHizukuri *et al.*¹⁵⁾の方法に従い算出した。

$$\text{平均外部鎖長} = \beta\text{-アミラーゼ分解限度} \times \text{アミロペクチンの平均単位鎖長} + 2$$

$$\text{平均内部鎖長} = \text{アミロペクチンの平均単位鎖長} - \text{平均外部鎖長} - 1$$

(7) アミロペクチンの β -LDの調製

アミロペクチン1 gを1 M水酸化ナトリウムで糊化させた後、1 M酢酸を加えてpH 5.5に調整した。そこへ0.1% β -アミラーゼ酵素液(前出) 7.5 mLを加え、37°Cにて66時間反応させた。42時間経過時に再度0.1% β -アミラーゼ酵素液2.5 mLを加えた。反応液が β -アミラーゼにより分解限度に達していることを(6)の方法に準じて確認した後、沸騰水浴中で酵素を失活させ、反応液の3倍量のメタノールを加えることにより β -LDを沈澱させた。沈澱物に対してメタノール、アセトン、ジエチルエーテルの順に溶媒を変えて脱水処理を行い、乳鉢と乳棒で微粉末にした。

(8) β -LDの単位鎖長分布の測定

ネジ蓋付試験管に約5 mgの β -LDと4.69 mLのイオン交換水を加え、沸騰水浴中で10分間加熱することにより糊化させた。室温まで放冷後、1 M酢酸緩衝液(pH 3.5)を100 μ L、イソアミラーゼ(前出)を10 μ L順次加え45°Cで2.5時間反応させた。2 M水酸化ナトリウムでpH 5.5に調整後、プルラーゼ(*Klebsiella pneumoniae*, 2,000 U/g, E.C.3.2.1.41, (株)林原生物化学研究所, 岡山)をイオン交換クロマトグラフィー(Q Sepharose Fast Flow, GE Healthcare)およびゲルろ過クロマトグラフィー(Superdex 200, GE Healthcare)により精製した酵素標品10 μ Lを加え、30°Cで2.5時間作用させて枝切りした。Nagamine *et al.*¹⁶⁾の方法に従い、1%水素化ホウ素ナトリウムを250 μ L加えることにより、枝切りした生成物を還元処理し、糖アルコールとした。酢酸でpH 7.0に調整後、減圧乾固を行い4°Cにて長期保存を可能にした。1 M水酸化ナトリウムで再糊化させた後、HPAEC-PAD法を用いて鎖長分布の測定を行った。

(9) 澱粉の糊化温度と糊化熱量の測定

Inouchi *et al.*^{10,17)}の方法によって、澱粉の糊化温度と糊化熱量の測定を示差走査熱量計(DSC) (8240型, (株)リガク, 東京)を用いて行った。

(10) 澱粉の粘度測定

澱粉の10%水懸濁液の加熱時および冷却時の回転粘度の相対変化を、Horibata *et al.*¹⁸⁾の方法に準じてRapid Visco Analyser (RVA) (Model RVA-4, Newport Scientific Pty. Ltd.,

NSW, オーストラリア) を用いて測定した。

(11) 炊飯米および冷飯の物性測定

炊飯米および炊飯米を5°Cで24時間放置した冷飯の硬さおよび粘りを、硬さ・粘り計 (RHS 1A, (株)サタケ, 広島) を用いて常法¹⁹⁾により測定した。

2. 結果と考察

1) 米胚乳澱粉の構造特性

(1) 澱粉およびアミロペクチンのヨウ素吸収曲線のλ_{max}とB.V.および澱粉のアミロース含量による米の分類

全86試料米の試料名, 栽培地, および試料米から調製した米胚乳澱粉のヨウ素・澱粉複合体吸収曲線のλ_{max}, B.V.とゲルろ過分析のA法によって得られた見かけのアミロース含量 (Fr. I) を Table 1 に示した。86試料米澱粉のλ_{max}とB.V.およびλ_{max}とFr. Iとの間には, それぞれ相関係数0.970, 0.965の高い正の相関関係が観察された。λ_{max}の範囲が520~532 nmをモチ米, 537~557 nmを低アミロース米, 561~577 nmを中程度のアミロース含量の米, 582 nm以上を高アミロース米として分類した。2004~2008年産雪の穂のλ_{max}は582~593 nm, 一般的な市販米として用いたコシヒカリのλ_{max}は566 nmであったことから, それぞれ高アミロース米および中程度のアミロース含量の米であることがわかった。さらに, 雪の穂, コシヒカリ, 高アミロース米に分類されたインディカ米のホシユタカ, 夢十色の胚乳澱粉から調製したアミロペクチンのB.V.およびλ_{max}を Table 2 に示した。雪の穂のアミロペクチンのB.V.は0.19~0.22, λ_{max}は561~571 nm, コシヒカリのアミロペクチンのB.V.は0.12, λ_{max}は537 nmとなり, アミロペクチンにおいても雪の穂の方が, B.V., λ_{max}ともにコシヒカリよりも高い値となった。また, 高アミロース米であるホシユタカ, 夢十色と比較すると, アミロペクチンのB.V., λ_{max}はいずれも夢十色が最も高く,

Table 2. Characteristics of absorption spectra of iodine complexes of amylopectins, and contents of AAM, RAM, SLC, and Fr. A of isoamylase-debranched materials of endosperm starches of rice.

Sample name	Amylopectin		Content in starch			
	B.V.* ¹	λ _{max} * ² (nm)	AAM* ³ (%)	RAM* ⁴ (%)	SLC* ⁵ (%)	Fr. A* ⁶ (%)
Yukinoho ('04)	0.19	564	27.3	19.2	8.1	29.7
Yukinoho ('05)	0.20	568	30.3	23.0	7.3	30.0
Yukinoho ('06)	0.20	561	30.0	21.4	8.6	29.7
Yukinoho ('07)	0.19	561	26.1	18.6	7.5	27.7
Yukinoho ('08)	0.22	571	29.8	21.3	8.5	31.5
Koshihikari (commercial rice)	0.12	537	17.3	15.0	2.3	26.5
Hoshiyutaka	0.16	548	29.8	23.5	6.3	25.8
Yumetoiro	0.22	572	33.2	19.0	14.2	26.3

*¹A₆₈₀ of spectra of iodine-starch complexes. *²Maximum absorption wavelength of spectra of iodine-starch complexes. *³Apparent amylose. *⁴Real amylose. *⁵Super long chain. *⁶Percentage of DP 6~12 measured by HPAEC-PAD.

次いで雪の穂, ホシユタカの順に低い値となった。この結果から, 雪の穂のアミロペクチン中にはアミロース様の非常に長い側鎖であるSLCがコシヒカリやホシユタカよりも高く, 夢十色より低い割合で存在している可能性が考えられた。

(2) 澱粉およびアミロペクチンの単位鎖長分布

ゲルろ過分析のB法により, 雪の穂, コシヒカリ, ホシユタカ, 夢十色澱粉中に含まれるAAM, RAM, およびSLCそれぞれの含量を算出した (Table 2)。コシヒカリのAAM含量は17.3%であったが, 雪の穂は26.1~30.3%と高く, ゲルろ過分析のA法と同様, ジャポニカ種の米品種としては極めて高い値となった。また, インディカ米であるホシユタカ, 夢十色も30%前後の高い値を示した。SLC含量に注目すると, コシヒカリの2.3%が最も低く, 次いでホシユタカ, 雪の穂, 夢十色の順に高くなり, アミロペクチンのヨウ素吸収曲線の測定結果と一致していた。雪の穂のSLC含量はホシユタカのSLC含量に比べて約2%高い値であったが, 夢十色のSLC含量はホシユタカの2倍以上高い値となった。そのため, ホシユタカと夢十色のAAM含量に大差は無かったが, RAM含量は夢十色の方が有意に低い値であった。

(3) 精白米の尿素溶液に対する崩壊性

精白米全粒または半粒のアルカリ溶液または尿素溶液に対して観察される崩壊度は, 精白米の主成分である胚乳澱粉中のアミロペクチンの側鎖長分布の違いによって大きく影響を受けることが報告されている^{12,20)}。一般に, 尿素溶液に対する崩壊度が高い精白米ほど, その胚乳澱粉のアミロペクチン側鎖が短く, 逆に崩壊度が低いものほど側鎖が長い傾向にある¹²⁾。Fig. 2に雪の穂およびコシヒカリの精白米半粒の3.5 M尿素溶液に対する崩壊度の経時変化を示した。尿素溶液に浸漬開始後3時間では, 雪の穂の精白

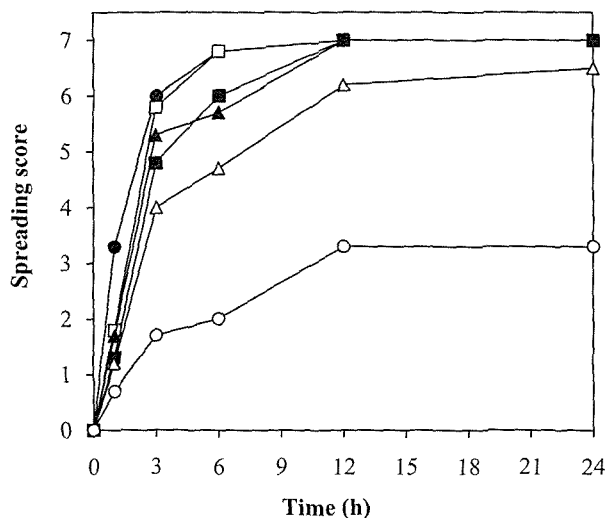


Fig. 2. Changes of spreading scores of halved rice grains in 3.5 M Urea during one day.

Open circle, Koshihikari (commercial rice); closed circle, Yukinoho ('04); open square, Yukinoho ('05); closed square, Yukinoho ('06); open triangle, Yukinoho ('07); closed triangle, Yukinoho ('08).

米は米粒から澱粉がかなり溶け出し、粒も変形しているのに対し、コシヒカリの精白米は、表面から澱粉がわずかに溶け出している程度であった。また、浸漬開始後24時間においては、雪の穂の精白米は原型をとどめないほど崩壊が進んでいたが、コシヒカリは粒の一部が崩れる程度であった。このことから、雪の穂のアミロペクチン側鎖の平均単位鎖長は、コシヒカリのそれに比べて短いと考えられた。

(4) アミロペクチンの短鎖領域における単位鎖長分布

雪の穂とコシヒカリのアミロペクチンの短鎖領域における単位鎖長分布の測定をHPAEC-PAD法により行った。アミロペクチン側鎖のDP 6~45に対するDP 6~12のピーク面積割合として算出したFr. A含量は、雪の穂で27.7~31.5%、コシヒカリで26.5%となり、雪の穂の方がコシヒカリより高い値となった (Table 2)。また、高アミロース米であるホシユタカと夢十色のFr. A含量は、ほぼコシヒカリと同様の値を示したことから、雪の穂のアミロペクチン側鎖にはコシヒカリやホシユタカ、夢十色に比べて短鎖が多いことが明らかとなった。Fr. A含量と澱粉の糊化温度との間には高い負の相関関係があることが知られていることから^{18,21,22)}、雪の穂の糊化温度はこれら3品種に比べて低いと考えられた。

(5) アミロペクチンの平均単位鎖長とβ-アミラーゼ分解限度

雪の穂とコシヒカリのアミロペクチンの平均単位鎖長とβ-アミラーゼ分解限度をTable 3に示した。平均単位鎖長は雪の穂で20.1~22.8、コシヒカリで21.0、β-アミラーゼ分解限度は雪の穂で54.1~57.1%、コシヒカリで56.6%となり、雪の穂とコシヒカリのアミロペクチンの平均単位鎖長およびβ-アミラーゼ分解限度は類似していた。また、これらの結果から平均外部鎖長および平均内部鎖長を算出したところ、平均外部鎖長は、雪の穂で13.1~15.0、コシヒカリで13.9、平均内部鎖長は、雪の穂で6.7~7.5、コシヒカリで7.1とほぼ同様の値となった (Table 3)。雪の穂のアミロペクチン側鎖は、精白米の尿素溶液に対する崩壊性試験の結果から平均単位鎖長が短いことが示唆され、かつHPAEC-PAD法により短鎖含量が多いことが明らかとなった。それにも関わらず、これらのアミロペクチン側鎖に関連する測定値に有意差が認められなかったのは、コシヒカ

Table 3. Average chain lengths and β-AL of amylopectins.

Sample name	CL* ¹	ECL* ²	ICL* ³	β-AL* ⁴ (%)
Yukinoho ('04)	21.7	14.2	7.5	56.4
Yukinoho ('05)	20.5	13.1	7.4	54.1
Yukinoho ('06)	21.0	13.8	7.2	56.4
Yukinoho ('07)	22.8	15.0	7.8	57.1
Yukinoho ('08)	20.1	13.4	6.7	56.6
Koshihikari (commercial rice)	21.0	13.9	7.1	56.6

*¹Average chain-length (hydrolysis with isoamylase). *²Average exterior chain-length. *³Average interior chain-length. *⁴β-Amylolytic limit.

Table 4. Mass distribution for chain length fractions of β-LD debranched with isoamylase and pullulanase.

Sample name	A chain	Short B chain	Long B chain	Short B chain/ Long B chain
	DP 2 + DP 3 (%)	4 ≤ DP ≤ 17 (%)	18 ≤ DP (%)	
Yukinoho ('04)	26.5	52.6	20.9	2.5
Yukinoho ('05)	28.0	52.9	19.1	2.8
Yukinoho ('06)	26.7	52.0	21.3	2.4
Yukinoho ('07)	27.3	52.2	20.5	2.5
Yukinoho ('08)	26.3	52.6	21.1	2.5
Koshihikari (commercial rice)	26.7	51.3	22.0	2.3

りのアミロペクチンに比べて、雪の穂のアミロペクチンにはSLCが多く存在するためと考えられた。すなわち、アミロース様の直鎖構造であるSLCは、イソアミラーゼにより枝切りされると長い単位鎖となるため平均単位鎖長を高め、またβ-アミラーゼによる分解を受けるためβ-アミラーゼ分解限度の値を高めたと推察する。平均外部鎖長および平均内部鎖長に関しては、平均単位鎖長とβ-アミラーゼ分解限度より求めるため、両者の値が試料間で近い値を示すとほぼ同様の値となる。

(6) アミロペクチンの内部鎖長分布

アミロペクチンの内部鎖領域の鎖長分布を調べるため、雪の穂とコシヒカリのアミロペクチンから調製したβ-LDの単位鎖長分布をHPAEC-PAD法により測定した。得られた重合度別面積%によるフラクション分けをTable 4に示した。β-LDの枝切り生成物として得られたDP 2, DP 3はアミロペクチンのA鎖由来の残渣に相当する。Xia *et al.*²³⁾の報告に従い、DP 4以上DP 17以下を短いB鎖、DP 18以上を長いB鎖由来の残渣とした。雪の穂とコシヒカリのそれぞれのA鎖、短いB鎖および長いB鎖の存在割合に違いがほとんどみられなかったことから、雪の穂とコシヒカリのB鎖の内部鎖における鎖長分布はほぼ変わらないと考えられた。

2) 米胚乳澱粉の物理化学的性質

(1) DSCにより測定した糊化温度と糊化熱量

86試料米から調製した胚乳澱粉の糊化特性を明らかにするために、DSCによる胚乳澱粉の吸熱曲線の測定を行った。試料米澱粉の糊化ピーク温度と糊化熱量の関係をFig. 3に示した。雪の穂の糊化熱量は、糊化ピーク温度および糊化熱量がともに最も低い値を示した糖質米のあゆのひかり以外の試料米とほぼ同様な値を示すのに対し、糊化ピーク温度はあゆのひかりに次いで低く、日本で栽培されている米品種の中でも低温で糊化する品種であることがわかった。HPAEC-PAD法によるアミロペクチンの短鎖領域における側鎖長分布の測定の結果、雪の穂のFr. A含量はコシヒカリに比べて高く、糊化温度が低いことが予想されたが、予想通りの結果となった。

(2) RVAによる米胚乳澱粉懸濁液の粘度

RVAを用いた雪の穂、市販のコシヒカリ、および高ア

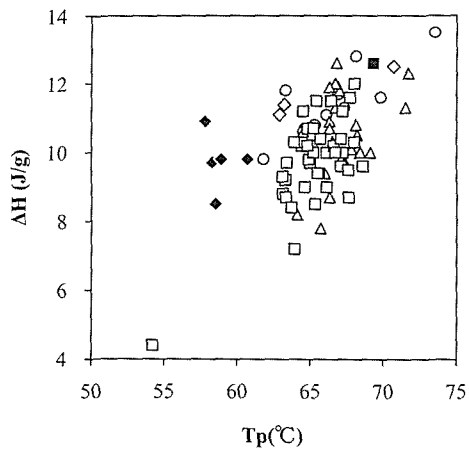


Fig. 3. Relationship between T_p (peak temperature) and ΔH (enthalpy change of gelatinization) of endosperm starches of rice measured by DSC.

Open circle, waxy rice; open triangle, low-amylose rice; open square, medium-amylose rice; open lozenge, high-amylose rice; closed square, Koshihikari (commercial rice); closed lozenge, Yuki-noho.

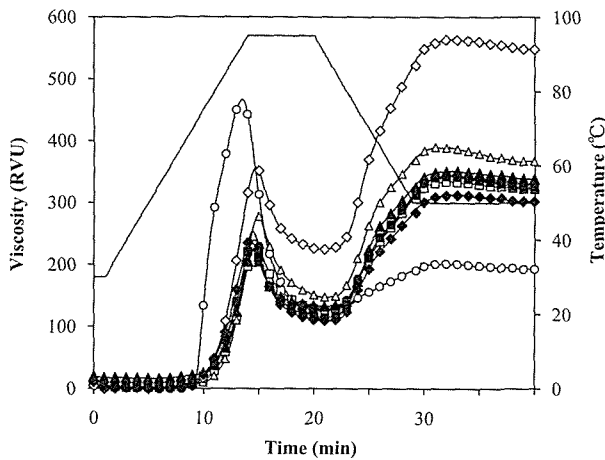


Fig. 4. RVA viscosograms of rice endosperm starches suspended in water (10% w/w).

Open circle, Koshihikari (commercial rice); closed circle, Yuki-noho ('04); open square, Yukinoho ('05); closed square, Yukinoho ('06); open triangle, Yukinoho ('07); closed triangle, Yukinoho ('08); open lozenge, Yumetoiro ('06); closed lozenge, Hoshiyutaka ('06).

ミロース米であるホシユタカと夢十色の胚乳澱粉の粘度曲線を Fig. 4 に示した。雪の穂の粘度曲線は、ホシユタカの粘度曲線と非常に似ており、雪の穂のピーク粘度はコシヒカリおよび夢十色よりも低く、セットバックはコシヒカリと夢十色の間の値となった。一般にセットバックが高い澱粉は老化しやすい澱粉であると考えられていることから、雪の穂の澱粉はコシヒカリよりも老化しやすく、夢十色より老化しにくいと考えられた。DSC による測定で雪の穂の糊化ピーク温度は、コシヒカリより約 10°C 、ホシユタカおよび夢十色より約 4°C 低い値を示したにも関わらず、RVA による測定では雪の穂の粘度上昇開始温度の 5 年平均は 75.3°C となり、コシヒカリの 72.4°C よりも高く、ホシユタカの 76.7°C 、夢十色の 75.3°C とほぼ同様の値となった。先にも述べたように DSC の糊化ピーク温度は、

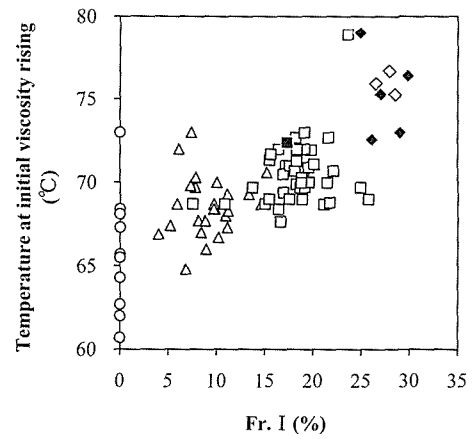


Fig. 5. Relationship between Fr. I and the temperature at initial viscosity rising of endosperm starches of rice.

Open circle, waxy rice; open triangle, low-amylose rice; open square, medium-amylose rice; open lozenge, high-amylose rice; closed square, Koshihikari (commercial rice); closed lozenge, Yuki-noho.

Fr. A 含量と負の相関関係があることから、アミロペクチンの側鎖長分布による影響が大きい。しかしながら、Fr. A 含量が他の 3 品種に比べて有意に高い雪の穂が、RVA の粘度上昇開始温度で高い値を示したことから、RVA の粘度上昇開始温度にアミロペクチンの側鎖長分布が与える影響は小さいと考えられた。また、アミロペクチンに含まれる SLC 含量の影響について検討を行ったところ、ホシユタカの 2 倍以上高い SLC 含量を示した夢十色の粘度上昇開始温度が、ホシユタカの値と大きく変わらなかったことから、SLC 含量も RVA の粘度上昇開始温度に与える影響は小さいと考えられた。アミロペクチンの構造的特徴と RVA の粘度上昇開始温度との間には、強い関連性が認められなかったため、アミロース含量との関連性について注目した。Fig. 5 に見かけのアミロース含量 (Fr. I) と粘度上昇開始温度との関係を示した。両者間には、相関係数 0.735 の高い正の相関関係が見出された。アミロース含量が高くなるに従い、粘度の上昇速度が緩やかになり、粘度上昇開始温度が高温側になったと推察する。以上のことから、RVA の粘度上昇開始温度は、見かけのアミロース含量による影響が大きいと推察する。以上のことから、RVA の粘度上昇開始温度は、見かけのアミロース含量による影響が大きいと推察する。以上のことから、RVA の粘度上昇開始温度は、見かけのアミロース含量による影響が大きいと推察する。以上のことから、RVA の粘度上昇開始温度は、見かけのアミロース含量による影響が大きいと推察する。

3) 硬さ・粘り計による炊飯米および冷飯の硬さと粘りの特性評価

精白米の米飯物性を調べるために、炊飯米および炊飯米を 5°C で 24 時間放置した冷飯の硬さと粘りについて測定を行った。炊飯米と冷飯の硬さの関係、および粘りの関係について調べたところ、それぞれ相関係数 0.857, 0.761 の正の相関関係が観察され、炊飯米で硬い米飯は冷飯でも硬く、炊飯米で粘りの弱い米飯は冷飯でも粘りが弱いという結果となった (Fig. 6)。雪の穂の米飯物性は、炊飯米、冷飯ともに硬く、粘りが弱い米飯であることがわかった。

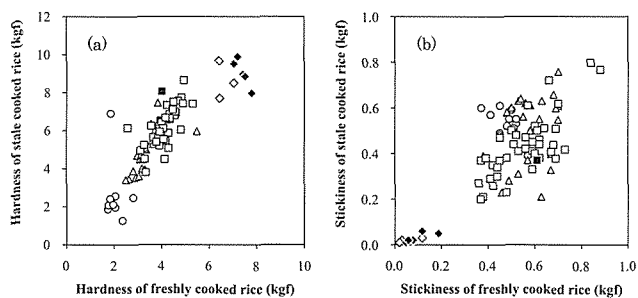


Fig. 6. Correlations between hardness of freshly and stale cooked rice (a) and between stickiness of freshly and stale cooked rice (b) measured using a Katasa-nebari-kei.

Open circle, waxy rice; open triangle, low-amylose rice; open square, medium-amylose rice; open lozenge, high-amylose rice; closed square, Koshihikari (commercial rice); closed lozenge, Yuki-noho.

4) 炊飯米および冷飯の硬さと澱粉特性値との関係

炊飯米および冷飯の硬さと澱粉の見かけのアミロース含量である Fr. I 含量, DSC で測定した澱粉の糊化ピーク温度, RVA で測定した澱粉のセットバックとの関係について調べた (Fig. 7)。Fr. I 含量と炊飯米および冷飯の硬さとの間には, それぞれ相関係数 0.840, 0.802 の高い正の相関関係が観察された (Fig. 7(a), (b))。冷飯に比べ炊飯米の方が幾分高い相関係数となったことから, 見かけのアミロース含量は, 冷飯よりも炊飯米の硬さに, より影響を及ぼす

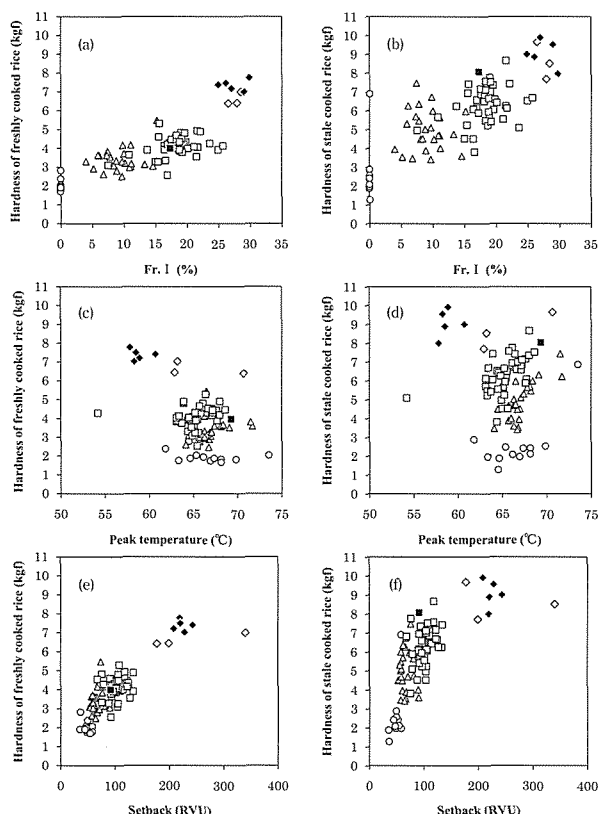


Fig. 7. Correlations between hardness of freshly or stale cooked rice measured using a Katasa-nebari-kei and Fr. I ((a), (b)), peak temperature ((c), (d)) and setback ((e), (f)).

Open circle, waxy rice; open triangle, low-amylose rice; open square, medium-amylose rice; open lozenge, high-amylose rice; closed square, Koshihikari (commercial rice); closed lozenge, Yuki-noho.

と考えられる。糊化ピーク温度と炊飯米および冷飯の硬さとの間には, 相関係数 -0.435 , -0.118 と両者間に相関関係は認められなかった (Fig. 7(c), (d))。しかし, λ_{max} 値で分類したグループ内においては, モチ米の炊飯米で 0.320 ($n = 12$), 冷飯で 0.689 ($n = 12$), 低アミロース米の炊飯米で 0.352 ($n = 25$), 冷飯で 0.704 ($n = 25$), 中程度のアミロース含量の米の炊飯米で 0.160 ($n = 41$), 冷飯で 0.517 ($n = 41$), 高アミロース米の炊飯米で -0.777 ($n = 8$), 冷飯で 0.144 ($n = 8$) の相関係数となり, 高アミロース米を除くグループにおいては, 炊飯米よりも冷飯の硬さとの間に高い正の相関関係が観察された。つまり, アミロース含量が近い値を示す試料間では, 糊化温度が高い, すなわちアミロペクチン側鎖が長い品種ほど冷飯となった際, 硬くなりやすい傾向が観察された。高アミロース米については, 実験に用いた試料数が少なく, 試料間の硬さの違いも小さかったため, 他の米試料のような傾向が観察できなかったと考えられた。セットバックと炊飯米および冷飯の硬さとの間には, 相関係数 0.854 , 0.718 の高い正の相関関係が観察された (Fig. 7(e), (f))。冷飯に比べ炊飯米の硬さの方がセットバックとの間により高い相関係数が得られた理由は, セットバックは澱粉糊の高温域での温度降下による粘度上昇を捉えているため, 炊飯後室温にて 2 時間経過した炊飯米の方が 5°C で 24 時間保存した冷飯に比べて相関係数が高くなったと推察する。

謝辞

本研究は、(株)農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所の「低コストで質の良い加工・業務用農作物の安定供給技術の開発」(略称, 加工プロ)の一環として実施した実験結果も併せて報告させていただきました。

貴重な試料をご提供くださいました作物研究所ならびに各地農業研究センターに感謝の意を表します。

文献

- 厚生労働省：平成 19 年国民健康・栄養調査結果の概要。
<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/12/h1225-5.html>
(取得日：2010 年 9 月 13 日)
- M.S. Goddard, G. Young and R. Marcus: The effect of amylose content on insulin and glucose responses to ingested rice. *Am. J. Clin. Nutr.*, **39**, 388–392 (1984).
- J.B. Miller, E. Pang and L. Bramall: Rice: a high or low glycemic index food? *Am. J. Clin. Nutr.*, **56**, 1034–1036, (1992).
- D.J.A. Jenkins, T.M.S. Wolaver, R.H. Taylor, et al.: Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am. J. Clin. Nutr.*, **24**, 362–366, (1981).
- 山本和夫, 沢田澄恵, 小野垣俊雄：アルカリ法による米澱粉の調製とその性状について。澱粉科学, **20**, 99–104 (1973).
- 山本和夫, 沢田澄恵, 小野垣俊雄：米澱粉調製の際のアルカリ溶液の濃度と種類の影響。澱粉科学, **28**, 241–244 (1981).
- T.J. Schoch: Preparation of starch and the starch fractions. *Methods Enzymol.*, **3**, 5–6 (1954).
- T. Takeda, S. Hizukuri and B.O. Juliano: Purification and structure of amylase from rice starch. *Carbohydr. Res.*, **148**, 299–308 (1986).
- 藤本滋生, 永浜伴紀, 蟹江松雄：甘藷澱粉粒子の成長に伴

- うアミロースの変化について. 農化, **46**, 577-583 (1972).
- 10) N. Inouchi, K. Nishi, S. Tanaka, M. Asai, Y. Kawase, Y. Hata, Y. Konishi, S. Yue and H. Fuwa: Characterization of amaranth and quinoa starches. *J. Appl. Glycosci.*, **46**, 233-240 (1999).
 - 11) M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Robers and F. Smith: Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-351 (1956).
 - 12) 岡本和之, 小林和之, 平澤秀雄, 梅本貴之: アミロペクチン鎖長分布と餅の硬化性の関連. 日作紀, **70** (別1号), 152-153 (2001).
 - 13) M. Somogyi: Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, **195**, 19-23 (1952).
 - 14) N. Nelson: A photometric Adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, **153**, 357-380 (1944).
 - 15) S. Hizukuri: Carbohydrates in Food, A.C. Eliasson ed., Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 352-354 (1996).
 - 16) T. Nagamine and K. Komae: Improvement of a method for chain-length distribution analysis of wheat amylopectin., *J. Chromatography A*, **732**, 255-259 (1996).
 - 17) N. Inouchi, D.V. Glover, Y. Sugimoto and H. Fuwa: DSC characteristics of gelatinization of starches of single-, double-, and triple-mutants and their normal counterpart in the inbred Oh43 maize (*Zea mays* L.) background. *Starch/Stärke*, **43**, 468-472 (1991).
 - 18) T. Horibata, M. Nakamoto, H. Fuwa and N. Inouchi: Structural and physicochemical characteristics of endosperm starches of rice cultivars recently bred in Japan. *J. Appl. Glycosci.*, **51**, 303-313 (2004).
 - 19) 越智龍彦, 川上晃司, 三上隆司, 福森 武: 「硬さ・粘り計」による炊飯米物性の判定. 美味技術研究会誌, **6**, 6-16 (2005).
 - 20) 梅本貴之, 矢野昌裕, 佐藤 光, 正村純彦, 中村保典: イネ胚乳でんぷんのアミロペクチン鎖長とアルカリ崩壊性の関連. 日作紀, **69** (別1号), 40-41 (2000).
 - 21) Y. Nakamura, A. Sakurai, Y. Inaba, K. Kimura, N. Iwasawa and T. Nagamine: The fine structure of amylopectin in endosperm from Asian cultivated rice can be largely classified into two classes. *Starch/Stärke*, **54**, 117-131 (2002).
 - 22) N. Inouchi, H. Ando, M. Asaoka, K. Okuno and H. Fuwa: The effect of environmental temperature on distribution of unit chain of rice amylopectin. *Starch/Stärke*, **52**, 8-12 (2000).
 - 23) H. Xia and D.B. Thompson: Debranching of β -dextrins to explore branching patterns of amylopectins from three maize genotypes. *Cereal Chem.*, **83**, 668-676 (2006).