初步建置國內水稻品種米質及澱粉特性相關指標資料平台[1]

王柏蓉[2]、鄭佳綺[3]、吳東鴻[4]

摘　要

本研究水稻為臺灣主食，國人飲食多偏好口感軟黏的粳稻，粳稻品種大都具有低直鏈性澱粉與軟膠體口感、是屬於高升糖指數食物；而秈稻品種具有高直鏈性澱粉含量、口感偏乾鬆，升糖指數較低。近年來國人健康意識抬頭，對臺灣推廣品種之米飯升糖指數關注加溫，本試驗係臺中區農業改良場與農業試驗所、國際稻米研究所(IRRI)三方合作，利用粳稻品種台粳9號、台農71號與台農77號、軟秈品種台中秈10號與台中秈198號，及硬秈品種台中秈17號與台中秈197號，共7個品種為材料，建立其米質、米粒外觀、理化特性、GI相關指標及澱粉生合成基因背景資料庫，以期了解上述品種之品質與GI潛力。結果顯示，本研究使用的7個品種可依據其直鏈澱粉含量、膠體軟硬度及Waxy基因型劃分二大類群：低直鏈澱粉、軟膠體的T-A-C單倍型類群，以及高直鏈澱粉、硬膠體的G-A-T單倍型類群。其中，高直鏈澱粉品種台中秈17號及台中秈197號屬於澱粉水解動力常數(k-value)較低的類群；台粳9號、台農71號、台農77號、台中秈10號及台中秈198號等皆為低直鏈澱粉、軟膠體之米飯用品種，又以台中秈10號之澱粉水解動力常數顯著較低，顯示台中秈10號可為國人具中低GI的米飯消費選擇。

關鍵詞：直鏈澱粉、凝膠展延性、澱粉水解動力常數、升糖指數

前　言

糖尿病(diabetes)已成為全球高罹患率的慢性疾病之一。依據行政院衛生署106年十大死因統計，糖尿病高居國人十大死因第五位(1)。人體攝食後的血糖反應通常以升糖指數(glycemic index, GI)表示，其值的測定乃以食用純葡萄糖100 g後2 hr內的血糖增加當作GI=100為基準值，與食物被食用後2 hr內的血糖增加值比較而來，食物GI大致可分成低GI(≤55)、中GI(56~69)及高GI (≥70)三大類(3)。

現代人飲食趨向精緻化，前人研究指出飲食精緻化程度越高，所含之碳水化合物越容易

---

[1] 臺中區農業改良場研究報告第 0959 號。

[2] 臺中區農業改良場前助理研究員，現為臺南區農業改良場助理研究員。
[3] 臺中區農業改良場助理研究員。
[4] 農業試驗所作物組副研究員。

分解成葡萄糖進入人體血液中，使血糖數值急遽升高，即升糖指數越高，促使胰島素分泌頻繁，長時間下來會產生胰島素抗性，導致罹患第二型糖尿病(Type II diabetes)的風險提高[14]。流行病學調查發現，相較於西方國家的人民，亞洲人(中國人及日本人)罹患糖尿病者與米食之間的關聯性更高[16]，菲律賓國際水稻研究所(IRRI)研究報告指出，全球235種稻米的GI值介於48~92[12]，我國消費大宗之粳稻米飯屬中高GI值表現，攝取後血液中的血糖值易迅速提高，對血糖調控不利，尤其是糖尿病患者，不適合食用GI值60以上的食物，因此對米食攝取嚴加限制。

稻米胚乳(白米)主要成分為澱粉，依其結構可分為直鏈澱粉(amylose)及支鏈澱粉(amylopectin)，依人體消化的速率不同，又可將澱粉分為快速消化澱粉(rapidly digestible starch, RDS)、慢速消化澱粉(slowly digestible starch, SDS)，以及在人體內120 mins仍無法被腸道消化分解的抗性澱粉(resistant starch, RS)[27,28]。已有多項研究證實，食品中直鏈澱粉含量高者，其抗性澱粉含量也較高，通常較不易水解消化，GI值相對較低，有益平緩食用後的血糖表現[11,12]。

Tian等人[25]發現米質口感與烹煮的品質與澱粉合成直接相關，並且連結於澱粉的三大特性：直鏈澱粉含量(amylose content, AC)、凝膠展延性(gel consistency, GC)及膠化溫度(gelatinization temperature, GT)。白米中直鏈澱粉的合成主要酵素是顆粒結合澱粉合成酶(granule bound starch synthase, GBSSI)，其調控基因為*Waxy*基因，是控制直鏈澱粉合成的主效基因，直接影響水稻胚乳和花粉中直鏈澱粉的含量。*Waxy*基因位於第6號染色體的短臂，非糯性基因(*Wx*)對糯性基因(*wx*)表現為不完全顯性，存在較為明顯的劑量效應。在非糯品種中，*Wx*基因分化為Wx^a和Wx^b兩種等位基因，其中，野生稻全為Wx^a，秈稻以Wx^a為主，直鏈澱粉含量較高；粳稻基本為Wx^b，直鏈澱粉含量較低，表明Wx^b基因是由Wx^a基因演化而來[22, 23]。

序列分析顯示，與Wx^a相比，Wx^b的第1號內含子(intron 1)5'端剪切處發生由GT轉為TT的核苷酸突變，導致第1內含子剪接效率降低及剪接不正常，使得β-葡萄糖醛酸酶活性下降，從而引起直鏈澱粉含量下降[15,17]；此外，Larkin與Park[19]序列分析，結果發現中直鏈澱粉含量品種Lemont在*Wx*基因的第6號外顯子(exon 6)序列上發生A (TAT)置換為C (TCT)核苷酸導致原本的酪氨酸被絲氨酸殘基取代，其他的中直鏈澱粉含量品種亦有此變異；高直鏈澱粉含量品種Rexmont在*Wx*基因的第10號外顯子C (CCT)置換為T (TCT)導致脯氨酸被絲氨酸取代，且此序列差異僅出現在高直鏈性澱粉含量的水稻品種中，編碼的氨基酸改變，會影響GBSSI的活性與澱粉特性，造成水稻品種間的外觀直鏈澱粉含量與糊液黏度特性差異。膠化溫度是指澱粉顆粒浸水加熱後，因吸水膨脹而不能再恢復原來形狀，並失去其曲折性(birefringence)與結晶構形(crystallinity)時的臨界溫度[25]，其高低與可溶性澱粉合成酶(SSIIa, soluble starch synthase IIa, SSII-3)產物相關，SSIIa之調控基因為*ALK*基因[26]，根據*ALK*基因序列的多型性與澱粉特性可將其分為2種單倍型：高膠化溫度與高直鏈澱粉含量的*ALK*-I以及低膠化溫度與低

直鏈澱粉含量的*ALK*-II等2型，Tian等人[24]的研究將*ALK*-II單倍型品種‘Shuangkezao’的目標基因*ALK*片段轉入*ALK*-I單倍型品種‘Cbao’中，轉殖株的膠化溫度顯著降低，表明*ALK*基因是調控膠化溫度的主效基因。

直鏈澱粉含量、膠化溫度及膠體軟硬度等澱粉理化特性指標皆會影響澱粉消化效率[2, 3]，國內現行食用米推廣品種多數屬高升糖指數類型，目前僅能仰賴加工調製緩和食用後消化升糖幅度，成效有限，高直鏈澱粉含量的水稻品種則因膠體硬度較高、米飯口感乾鬆與國人的食用喜好致差異較大。本研究欲建立國內品種米質、米粒外觀、理化特性、GI相關指標及澱粉生合成基因背景資料庫，以了解該等品種之品質與GI潛力，未來以朝直鏈澱粉含量提升，但膠體性質較軟的材料著力，期以開發兼具口感較佳，又有益人體血糖穩定的稻米品種。

材料與方法

一、試驗材料：利用106年一期作於臺中區農業改良場生產之台粳9號(TK9)、台中秈10號(TCS10)、台中秈17號(TCS17)、台農71號(TNG71)、台農77號(TNG77)、台中秈197號(TCS197)及台中秈198號(TCS198)等7個品種為試驗材料。在分蘗盛期進行葉片組織取樣，並隨即冷凍乾燥保存備用，供後續功能性標誌設計與目標基因型確認使用。

二、碾米品質(milling quality)：碾米品質有糙米率(brown rice percentage)、白米率(milled rice percentage)及完整米率(head rice percentage)等三項，以前述試驗所收穫的稻穀經乾燥調製，並於乾燥過程以稻穀水分測定計詳加注意水分的變化，使調製後樣品的水分含量調控在14~15%之間，並秤量125 g的稻穀為一樣本進行測定，糙米率用小型脫殼機(Satake Rice Machine, Satake Engineering Co, Tokyo, Japan)除去稻殼，並秤其糙米重量，換算為糙米率。糙米經碾白米機(McGill No. 2 Rice Miller, Seedburo Equipment Co., Chicago, USA)碾磨1 mins，所得精白米秤重後，換算為白米率，再經完整米粒篩選機(Rice Size Device, Seedburo Equipment Co., Chicago, USA)將完整米與碎米分開，秤其完整米重量，即得完整米率。

三、米粒外觀(ricegrain appearance)之測定

(一) 粒長與粒形：依國家標準No. 13446訂定，將糙米長度分為四個等級：特長(EL)、長(L)、中間(M)及短(S)；粒形依長寬之比率分為三級：細長形(SL)、中間形(I)及粗短形(B)（表一）。

(二) 米粒透明度(translucency)：依白米的透明程度，由透明玻璃般的0級至糯稻般的5級，共分為六級。

(三) 心白(white center)、腹白(white belly)與背白(white back)：依白堊質(chalkiness)在米粒的心部、與胚同側的腹部或與胚異側的背部中加深或擴大的程度，由無白堊質的0級至糯稻般的5級，共分為六級。

表一、糙米粒長及形狀之分類

Table 1.The classification of brown rice grains charcteristics

Size		Shape	
Symbol	Length (mm)	Symbol	Length/width Ratio
EL	>7.50	SL	≥3
L	7.06~7.50	I	2.1~3.0
M	5.51~7.05	B	≤2.1
S	<5.51	-	-

EL: extra long; L: long; M: medium; S: soft; SL: slender; I:intermediate; B: bold.

四、白米理化性質之測定

(一)直鏈澱粉含量(Amylose Content, AC)：將白米以磨粉機磨成通過 60 mesh 篩網之白米粉末，以 Juliano[19]的樣品處理，自動分析儀(Autoanalyzer, Alpkem Co., USA.)測定。

(二)粗蛋白含量(crude protein content)：係以 Semi-micro Kjeldahl 方法校定，將白米以磨粉機磨成通過 60 mesh 篩網之白米粉末，以近紅外線光譜分析儀(Infra Analyzer 500, Technicon)測定。

(三)凝膠展延性(gel consistency, GC)：採 Cagampany *et al.*[6]的方法分析，凝膠之展延長度 35 mm 以下為硬膠(H)，35~50 mm 為中間(M)，50 mm 以上為軟膠(S)。

(四)鹼性擴散值(alkali spreading value)：採用 Little *et al.*[21]的方法分析，依米粒膨脹、破裂及溶化之程度，可分為以下七個等級，各依其等級數分類，計算其加權平均值：一級為米粒完全不受影響；二級為米粒有膨脹；三級為米粒膨脹，產生狹小不完整的白邊；四級為米粒膨脹，白邊完整而寬大；五級為米粒膨脹而破裂，白邊完整而寬大；六級為米粒破裂而分散，被白邊吞沒；七級為米粒完全分散而且溶化成透明狀。

(五)膠化溫度(gelatinization temperature, GT)：依鹼性擴散值將膠化溫度劃分作高膠化溫度(H)、中高膠化溫度(HI)、中膠化溫度(I)及低膠化溫度(L)四個等級，其中鹼性擴散值 1 及 2 級為高膠化溫度(≧75℃)，3 級為中高膠化溫度，4 及 5 級為中膠化溫度(70~74℃)，6 及 7 級為低膠化溫度(＜70℃)[4]。

五、專一性分子標誌設計與基因型分析

針對 *Waxy* 基因座所使用的分子標誌，Chen 等人[9]在第 1 號內含子、第 6、10 號外顯子上設計功能性引子擴增包含 SNP 位點的片段，其原理是將 SNP 位點設計在 Forward 與 Reverse 的 3’末端，利用 match/mismatch 的特性產生有無之片段，設計出 3 個 AS-PCR(allele-specific PCR)功能性分子標誌，分別為 *Wx*In1、*Wx*EX6 與 *Wx*EX10 等，本次試驗使用此分子標誌作為分析基因型之用。

利用上述分子標誌，將水稻種原依其直鏈澱粉含量，區分為低(Low)、中間(Intermediate)、高(High)及糯性(Glutinous)等 4 個外表型(AC 表現型)；依其糊液黏度特性之最終黏度(Final viscosity)，可區分出 4 個外表型(I: 150-200 RVU、II: 250-300 RVU、III: 300-350 RVU、IV: 400-450 RVU)[8]；依其凝膠展延性，分為軟(S)及硬膠體(H)等 2 個外表型。綜合以上 3 種特性，以日本晴(Nipponbare)為基因組參考序列，依前人研究[9]可分成 5 個單倍基因型(表二)。

表二、位於 *Waxy* 基因座之直鏈澱粉與最終黏度功能性標誌*

Table 2. Functional marker of AC and Final Viscosity on *Waxy* locus*

Haplotypes	SNP marker Waxy			Amylose Content	Final viscosity
	*Wx*In1	*Wx*Ex6	*Wx*Ex10		
Waxy-L	T	A	C	Low	300-350
Waxy-Im	G	C	C	Intermediate	300-350
Waxy-H1	G	A	C	High	250-300
Waxy-H2	G	A	T	High	400-450
Waxy-Glu	T	C	C	Glutinous	150-200
'Nipponbare'	T	A	C	Low	300-350

*Chen *et al.* 2010

針對 Tian 等人[24]文獻所提供 *ALK* 基因序列具多型性之位點，分別位於日本晴(Nipponbare)基因組 IRGSP Build 05 版本上第 6,751,462 位點(G/A)、第 6,751,888 位點(TT/GC)、第 6,751,358 位點(G/A)、第 6751757 位點(A/G)；由水稻基因註解資料庫(The Rice Annotation Project Database, RAP–DB)下載粳稻 *ALK* 基因序列(Os06g0229800)，匯入 BioEdit 編輯軟體(Ibis Biosciences, Carlsbad, CA)進行序列排列比對出 SNP 位點，進行分子標誌設計；其中第 6,751,462 位點、第 6,751,888 位點以引子設計軟體 Primer Premier 5 (Premier Biosoft International, Palo Alto, CA)設計引子擴增包含 SNP 的片段，並利用 SNP2CAPS 軟體(http://pgrc.ipk-gatersleben.de/snp2caps/)分析符合 SNP 切位點的限制酶，對 PCR 產物進行酶切，分別設計出 CAPS 標誌 ALK +3900、CAPS 標誌 ALK +4326；而第 6,751,358 位點、第 6,751,757 位點，則使用引子設計軟體 Primer Premier 5，分別將 SNP 位點設計在 Reverse 與 Forward 的 3'末端，利用 match/mismatch 的特性產生有無之片段，設計出 SNP 標誌 ALK +3796 與 ALK +4195；以日本晴(Nipponbare)為基因組參考序列，可將膠化溫度高、低 2 種外表型區分成 4 種單倍型(表三)。

表三、位於 *ALK* 基因座之膠化溫度與鹼性擴散值功能性標誌

Table 3. Functional marker of gelatinization temperature and Alkali spreading value on *ALK* locus

Haplotypes	ASV[1]	Gelatinization temperature[2]	Marker ALK			
			+3900	+3796	+4195	+4326
ALK-II	Low (1,2)	High (>74℃)	G	G	G	GC
ALK-I (1)	High (5)	Low (<70℃)	T	A	G	TT
ALK-I (2)	High (5)	Low (<70℃)	T	A	G	GC
ALK-I (3)	High (5)	Low (<70℃)	T	A	A	GC
'Nipponbare'	High (5)	Low (<70℃)	T	A	G	TT

[1]ASV, Alkali spreading value.

[2]Gelatinization temperature: High (>74℃), Intermediate (70-74℃), Low (<70℃).

葉片基因組 DNA 萃取如 Wu *et al.*[23]所描述；Waxy 標誌 *Wx*In1、*Wx*Ex6、*Wx*Exn10 標誌的 PCR 反應條件為 94℃ 5min；94℃ 30s、63℃、71℃或 66℃、75℃(依黏合溫度最佳化測試結果) 15s、72℃ 30s，預擴產物循環 20 次(每次循環-0.3℃)；94℃ 15s，57℃、60℃、65℃、69℃ 15s，72℃ 30s，循環 22 次(因不同分子標誌的擴增效率不同，將正負加減 2 次循環)；72℃ 7 min；反應結束後以 15℃保存擴增產物。ALK 標誌 ALK +3900 和 ALK +4326 的 PCR 反應條件為 95℃ 5 min；95℃ 30s、65℃(依黏合溫度最佳化測試結果) 15s、72℃ 2 min，預擴產物循環 10 次(每次循環-1℃)；95℃ 15s，55℃ 15s，72℃ 2 min，循環 27 次；72℃ 8 min；反應結束後以 15℃保存擴增產物，之後再分別使用 *MspI*、*BanII* 限制酶對 ALK +3900 和 ALK +4326 標誌的 PCR 產物進行酶切。ALK +3796 marker、ALK +4195 標誌的 PCR 反應條件為 95℃ 1 min；95℃ 15s、60℃、64℃(依黏合溫度最佳化測試結果) 15s、72℃20s，預擴產物循環 35 次；72℃ 1 min；反應結束後以 15℃保存擴增產物。最後，以電泳分析 PCR 產物片段的差異來辨認多型性，PCR 產物進行電泳分析時，為提高膠體上之電泳功率，僅讓電泳液與膠體兩端接觸即可，避免 0.5X TBE 電泳緩衝液淹沒膠體，於 26 cm × 26 cm 之 3% Agarose I (Amresco, USA) 膠體上以 350 V (15 V/cm)進行電泳分析。

六、澱粉水解試驗(starch amylolysis)

(一) 體外澱粉水解試驗[13]： 將白米粉震盪處理後取通過 35 mesh 篩網之粉末，稱取 500 mg，置於 50 ml 玻璃試管後加水(加水量依 AC 調整[6]：<20%加 0.7 ml；20~25%加 0.8 ml；>25% 0.9 ml)，以 100℃水浴 30 min 再移至 37℃水浴 30 min，並以磁性攪拌器攪拌(350 rpm)。為避免澱粉回凝影響水解測試，須立即加入 6 ml 37℃水將米粉團塊攪散，接著依序加入 5 μL 胃蛋白酶(1 mg/mL 溶於 pH 2.0, 0.01 M HCl)攪拌 30 分鐘、加入 5 mL 0.02 M 氫氧化鈉攪拌 1 min、加入 20 mL 0.2 M 醋酸鈉緩衝液(pH 6.0, 0.49 mM 氯化鎂及 4 mM 氯化鈣)攪拌 10min。取 200 μL 的試液移至微量離心管(二重複，標示為 0 分鐘)。將 5 mL 胰酶/葡萄糖苷酶(AMG)溶液加入微量離心管(0.49 mM 氯化鎂、4 mM 氯化鈣溶於 0.2 M pH 6.0 醋酸鈉緩衝液後，加入 2 mg/ml 胰酶及 28 U/mL AMG)的同時開始計時，分別於加入胰酶/葡萄糖苷酶溶液後 5、10、20、30、45、60、90、120 及 180 min 取出 200 μL 反應試液(二重複)。試液取出後立即冰浴中止酵素反應，13,000 rpm (4°C)離心 10min 後取上清液測量葡萄糖濃度（若不立即測量，可置於−80 °C 保存）。葡萄糖濃度是以 Megazyme 的 D-葡萄糖測定套組(K-GLUC)測量：取 50 μL 試液移入 2 ml 微量離心管，加入 5 μL AMG 溶劑(300 U/mL AMG 溶於 0.2 M pH 6.0 醋酸鈉緩衝液)後 50 °C 水浴 20 min，加 1.5 mL GOPOD 試劑再 50 °C 水浴 20 min。以分光光度計(Beckman Coulter DU 800)讀取 510 nm 吸光值(空白處理為水，用經過與試液相同酵素處理的葡萄糖溶液標準品建立檢量線)。

(二) 平衡水解動力學常數(k)之計算：

(1)澱粉水解速率(starch hydrolysis rate)以下列算式將讀值換算成葡萄糖含量：

水解速率(%) = ΔA ×(F/W) × FV × 0.9

ΔA = 扣除空白試驗的吸光值；F = 100μg 葡萄糖標準品含量/100μg 葡萄糖吸光值(將吸

光值換算成 μg)；FV=定量後的體積；W =樣品重量(mg)；0.9 =澱粉水解成葡萄糖之轉換係數=162/180

(2)澱粉水解動力學常數(kinetics of starch hydrolysis)：以下列算式將不同時間點測得的澱粉水解速率算出水解曲線，可得平衡水解動力學常數(k)：$C=C_{\infty}(1-e^{-kt})$

C：於 t 時間之澱粉水解速率；C_{∞}：水解 180 min 後的平衡澱粉水解率；k：動力學常數(kinetic constant, min^{-1})

七、總澱粉(total starch, TS)含量測定：總澱粉含量是以 Megazyme 總澱粉測定套組(K-TSTA)測定。待測樣品及試劑濃度乃依 de Guzman 等人[10]設定條件所配製。操作流程簡列：10mg 糙米粉末加入 0.5 ml 乙醇(80%v/v)，在 80 °C 水浴 5min 後，再加入同體積乙醇後離心。離心後沉澱物再以 1 ml 乙醇(80%v/v)回溶重複離心步驟。離心後移除上清液，加 0.2ml2M KOH。樣品溶液冰浴攪拌 20 min，期間依序加入 0.8 mL 1.2 M 醋酸鈉緩衝液(pH 3.8)、0.01 ml α-澱粉酶(3,000 U/ml)及 0.01 ml AMG 溶液(3,300 U/ml)，而後 50 °C 水浴 30 min(過程中需偶爾攪拌)，離心，取 0.1 ml 上清液加 3.0 ml GOPOD 反應試劑，50 °C 水浴 20 min 後測 510 nm 吸光值(Beckman Coulter DU 800 分光光度計)，空白處理為水加 GOPOD。依 1 mg/ml D-glucose 標準品的吸光度換算總澱粉含量。

八、抗性澱粉(resistant starch, RS)測定：抗性澱粉含量是以 Megazyme 抗性澱粉測定套組(K-RSTAR)測定。待測樣品及試劑濃度乃依 de Guzman *et al.*[10]設定條件所配製。

九、直鏈澱粉含量(分子篩層析法 size exclusion chromatography, SEC)：總澱粉萃取、去除分支流程，以及樣品、普魯蘭多糖標準品(P-82 Shodex, Showa Denko, K. K. Kawasaki, Japan)和自行設定之標準品(in-house standard)製備如王[2]所述，以 Waters 2695 高效液相層析儀搭配 Ultrahydrogel 250 管柱(相對分子量 1,000～80,000)上機。通用分子量校正法(Universal Calibration, UC)參考馬克-霍溫克方程式(普魯蘭多糖 K=0.00126 mL/g, a=0.733； K=0.0544 mL/g, 線性澱粉 a=0.486)[7]。

結　果

一、參試品種的稻米品質檢定

(一) 碾米品質

本試驗所使用水稻品種材料之糙米率介於77.8~82.8%，以台農77號最高，台中秈10號最低；白米率介於66.6~72.8%，以台中秈197號最高，台粳9號最低；完整米率介於32.9~61.3%，以台中秈197號最高，台農77號最低；粒長屬短粒者有台粳9號、台農71號及台農77號，中等者有台中秈10號、台中秈17號及台中秈198號，僅台中秈197號為長粒形；粒形為粗短形(B)者有台粳9號、台農71號及台農77號，中間形(I)者有台中秈10號、台中秈17號、台中秈197號及台中秈198號(表四)。

表四、參試品種的碾米品質

Table 4. Milling quality of tested varieties

Variety	Water content(%)	Brown rice (%)	Milled rice (%)	Head rice (%)	Length	Shape
TK9	12.9	78.9	66.6	50.6	S	B
TCS10	12.0	77.8	68.6	38.7	M	I
TCS17	13.4	81.0	70.2	41.8	M	I
TNG71	12.7	79.8	69.2	54.6	S	B
TNG77	12.2	82.8	68.6	32.9	S	B
TCS197	13.2	81.3	72.8	61.3	L	I
TCS198	13.7	78.1	68.8	56.5	M	I

(二) 米粒外觀

白米透明度以台中秈198號最佳，台中秈10號、台農77號及台中秈197號次之，優於台粳9號、台中秈17號及台農71號。心白以台中秈197號最多，其他品種無心白；腹白以台粳9號最多、台中秈17次之；背白以台農77號最多。白米外觀以台中秈10號及台中秈198號最佳，心腹背白皆為0(表五)。

表五、參試品種米粒外觀

Table 5. Rice grain appearance of tested varieties

Variety	Transparency	White center	White belly	White back
TK9	5	0	5	0
TCS10	4	0	0	0
TCS17	5	0	2.39	0
TNG71	5	0	1.31	0
TNG77	4	0	0	5
TCS197	4	1.39	0.31	0
TCS198	3	0	0	0

(三) 白米理化性質

本試驗參試 7 個水稻品種的鹼性擴散程度為 6~7 級，屬低膠化溫度(＜70℃)。直鏈澱粉含量以台粳 9 號、台中秈 10 號、台農 71 號、台農 77 號及台中秈 198 號介於 14.4~17.3%，屬低直鏈澱粉品種；台中秈 17 號及台中秈 197 號則分別為 35.7 及 30.9%，屬高直鏈澱粉種類(>25%)。粗蛋白質含量介於 5.65~6.70%，以台中秈 197 號最高，以台粳 9 號最低。凝膠展延長度以台中秈 198 號最長(100 mm)，台農 71 號(90 mm)、台農 77 號(87 mm)及台中秈 10 號(83 mm)次之，皆屬軟膠體(S)；台中秈 17 號及台中秈 197 號分別為 30 mm 及 27 mm，屬硬膠體(H)(表六)。

表六、參試品種白米理化性質

Table 6. Physiochemical traits of tested varieties

Variety	gelatinization temperature[1](℃)	Amylose Content (%)	Protein content (%)	Gel consistency[2] (mm)
TK9	6/L	15.7	5.65	77 S
TCS10	6/L	14.4	5.83	83 S
TCS17	7/L	35.7	6.06	30 H
TNG71	6/L	16.1	5.85	90 S
TNG77	6/L	16.9	5.78	87 S
TCS197	7/L	30.9	6.70	27 H
TCS198	6/L	17.3	5.90	100 S

[1] gelatinization temperature： L (low): ＜70℃.

[2] gel consistency type S：soft, M：medium, H：hard.

二、參試品種Waxy及ALK基因座多型性與表型分析

於水稻第 6 條染色體短臂上的 Waxy 基因座第 1 號內含子(intron 1)、第 6 號外顯子(exon 6)及第 10 個外顯子(exon 10)位置所設計之 3 個單一核苷酸多型性分子標幟(SNP)，根據前人研究[9]可將水稻品種組合區分成 5 個單倍型(表二)，可將本次參試品種歸類至其中 2 種單倍型，台粳 9 號、台中秈 10 號、台農 71 號、台農 77 號及台中秈 198 號為 Waxy-L 單倍型(T-A-C)，屬於低直鏈澱粉軟膠體類型(Low)，粳稻參試品種均屬於此類型；台中秈 17 號及台中秈 197 號為 Waxy-H2 單倍型(G-A-T)，屬於高直鏈澱粉硬膠體類型(High2)，參試品種中並無高直鏈澱粉軟膠體者(Waxy-H1 單倍型)。在水稻 ALK 基因座上設計的 4 個 SNP 分子標幟中，利用 ALK +3796 及 ALK +3900 即可將水稻品種有效區分為高及低膠化溫度等 4 種單倍型，唯本次參試水稻品種皆屬於低膠化溫度外表型之 ALK-II 單倍型。綜合以上 2 個基因座之 7 個分子標幟分析結果，參試之 7 個品種可分為 2 大屬性：屬於低直鏈澱粉含量、軟膠體及低膠化溫度的 Waxy-L/ALK-II 類型，以及高直鏈澱粉含量、硬膠體及低膠化溫度的 Waxy-H2/ALK-II 類型(表七)。

表七、參試品種功能性分子標誌之單倍型及其相對表型

Table7. Genotypesand the relating phenotypes of tested varieties using functional markers

Variety	Waxy haplotype	Gel consistency (rank)	Amylose content	ALK haplotype	Pasting temperature
TK9	Waxy-L	S	Low	ALK-II	Low
TCS10	Waxy-L	S	Low	ALK-II	Low
TCS17	Waxy-H2	H	High2	ALK-II	Low
TNG71	Waxy-L	S	Low	ALK-II	Low
TNG77	Waxy-L	S	Low	ALK-II	Low
TCS197	Waxy-H2	H	High2	ALK-II	Low
TCS198	Waxy-L	S	Low	ALK-II	Low

本試驗參試之 7 個水稻品種總澱粉含量介於 74.2~81.3%，以分子篩層析法測得之直鏈澱粉含量結果，台稉9號、台中秈10號、台農71號、台農77號及台中秈198號等5個品種介於7.36~10.81%，屬低直鏈澱粉品種；台中秈 17 號及台中秈 197 號分別為 21.9 及 23.08%。抗性澱粉含量以台中秈 10 號的 1.02%最高，其次為台稉 9 號(0.87%)，台農 77 號抗性澱粉含量則<1%(0.09%)，遠低於其他參試品種。澱粉水解動力常數(k value)的表現台稉 9 號、台中秈 198 號、台農 71 號及台農 77 號分別為 0.44、0.32、0.30 及 0.36；而台中秈 17 號、台中秈 197 號及台中秈 10 號分別為 0.04、0.04 及 0.07，呈現較低結果(表八)。

表八、參試品種消化特性相關指標

Table8. Starch amylolysis-relating indexes of tested varieties

Variety	TS (%)	AC (%)±95%CI	RS (%)±95%CI	K value±95% CI
TK9	78.5	9.28±1.63^{bc}	0.87	0.44±0.01^{a}
TCS10	73.0	7.36±0.64^{c}	1.02	0.07±0.01^{c}
TCS17	76.0	21.90±1.03^{a}	0.35±0.05	0.04±0.01^{d}
TNG71	74.2	10.81±0.39^{b}	0.73±0.00	0.30±0.07^{b}
TNG77	78.5	10.02±0.55^{b}	0.09±0.01	0.26±0.07^{b}
TCS197	74.3	23.08±0.90^{a}	0.64±0.07	0.04±0.00^{d}
TCS198	81.3	7.41±1.49^{c}	0.27±0.03	0.32±0.04^{b}

AC: Amylose Content (SEC method); TS: Total Starch; RS: Resistant Starch;
K value: Kinetic constant of starch hydrolysis
For each parameter (column), values with the same letters are not significantly different (P > 0.05).

討　論

白米外觀品質中，透明度以台中秈198號及台中秈10號二個秈米品種優於台稉9號及台農71號，白堊質方面台農71號及高雄145號最佳(心腹背白皆為0)(表五)。本試驗參試7個水稻品種屬低糊化溫度(＜70℃)類群，與*ALK*基因座之功能性分子標誌結果一致(表七)，顯示ALK基因座的分子標誌可應用於臺灣育成之秈稻及稉稻品種之低膠化溫度判定，中、高膠化溫度(>70℃)區段可應用之相對應分子標誌則尚待近一步實驗篩選。本試驗應用澱粉碘藍呈色法測得之直鏈澱粉含量，台稉9號、台中秈10號、台農71號、台農77號及台中秈198號介於14.4~17.3%，屬低直鏈澱粉品種，利用分子篩層析法測得直鏈澱粉含量則介於7.36~10.81%；台中秈17號及台中秈197號之直鏈澱粉含量分別為35.7及30.9%，屬高直鏈澱粉品種，以分子篩層析法測得直鏈澱粉含量分別為21.90及23.08% (表六、表八)。相較於分子篩層析法測定之直鏈澱粉含量，澱粉碘藍呈色法因支鏈澱粉之鏈長及聚合度的差異，導致在水溶液加熱後亦會部分與碘結合，以致高估直鏈澱粉含量[8]。各參試白米材料之粗蛋白質含量介於5.65~6.70% (表六)，唯粗蛋白質含量易與環境交感[29,5]，品種間含量差異並不顯著。凝膠展延性主要被應用於直鏈澱粉含量相近白米的食用品質，尤其高直鏈澱粉含量之白米，其口感軟硬程度差異較大[5]。然本

次試驗，高直鏈澱粉含量的台中秈17號及台中秈197號皆屬硬膠體，食用品質較不受消費者喜好，但其膠體強度足以用於加工製作純米米粉絲、碗粿等傳統米食。本次參試粳稻品種台粳9號、台農71號、台農77號與秈稻品種台中秈198號均屬於低直鏈澱粉軟膠體種原，雖食味優良，但澱粉水解動力常數較高(表六、表八)，其預測升糖指數屬於較高者；台中秈10號雖屬於低直鏈澱粉軟膠體品種，但其澱粉水解動力常數顯著較低於參試之低直鏈品種台粳9號、台農71號、台農77號與台中秈198號，因此預測升糖指數較低，與Lai等人[20]報導之人體升糖指數(白吐司對照)為中升糖指數，而台粳9號為高升糖指數的結果一致，顯示台中秈10號是兼具良好食味且GI相對較低的米種；而台中秈17號及台中秈197號屬於高直鏈澱粉硬膠體品種，且具有較低的澱粉水解動力常數，預測升糖指數屬於較低者，然此類型品種口感乾鬆、質地較硬，不易符合國人對於鮮食米飯的偏好，較適合加工碗粿、蘿蔔糕、米粉絲等傳統米食；本研究參試品種並無高直鏈性澱粉且兼軟膠體性質的品種，未來可擴大篩選國內外水稻品種，希望能蒐尋出帶有高直鏈性澱粉含量、軟膠體且低鹼性擴散程度的基因型，可供作為低升糖指數的潛力材料。

誌　　謝

本試驗蒙行政院農業委員會經費支持(「中華民國行政院農業委員會及國際稻米研究所(IRRI)農業技術合作瞭解備忘錄」合作計畫)與IRRI米質中心協助GI相關指標之測定平台建置，謹此併致謝忱。

參考文獻

1. 衛生福利部統計處 2017 106 年死因統計結果分析 https://www.mohw.gov.tw/cp-3795-41794-1.html
2. 王柏蓉 2016 赴國際稻米研究所研習水稻 GI 評估指標之心得出國報告(系統識別號:C10504398)。
3. 林筱涵、劉珍芳 2010 食物昇糖指數之測定與應用 台灣膳食營養學雜誌 2: 7-12。
4. 洪梅珠、楊嘉凌、林再發、邱運全 1999 台灣近年來秈稻新品系之米質 臺中區農業改良場研究彙報 62: 1-22 。
5. 許愛娜 2004 稻米品質分析項目與其影響因素 科學農業 52: 299-307。
6. Cagampang, G. B., C. M. Perez and B. O. Juliano. 1973. A gel consistency for eating qualityof rice. Journal of the Science of Food and Agriculture. 24: 1589-1594.
7. Castro, J. V., R. M. Ward, R. G. Gilbert and M. A. Fitzgerald 2005. Measurement of the molecular weight distribution of debranched starch. Biomacromolecules. 6(4): 2260-2270.
8. Chen, M. H. and C. J. Bergman. 2007. Method for determining the amylose content, molecular weights, and weight-and molar-based distributions of degree of polymerization of amylose and fine-structure of amylopectin. Carbohydrate Polymers. 69(3): 562-578.

9. Chen, M. H., R. G. Fjellstrom, E. F. Christensen and C. J. Bergman. 2010. Development of three allele-specific codominant rice Waxy gene PCR markers suitable for marker-assisted selection of amylose content and paste viscosity. Molecular Breeding. 26: 513-523.
10. de Guzman, M. K., S. Parween, V. M. Butardo, C. M. Alhambra, R. Anacleto, C. Seiler, A. R. Bird, C. P. Chow and N. Sreenivasulu. 2017. Investigating glycemic potential of rice by unraveling compositional variations in mature grain and starch mobilization patterns during seed germination. Scientific Reports. 7: 5854.
11. Denardina, C. C., M. W. Leila, P. da Silva, G. D. Soutoa and C. A. A. Fagundesb. 2007. Effect of amylose content of rice varieties on glycemic metabolism and biological responses in rats. Food Chemistry. 105: 1474-1479.
12. Fitzgerald, M. A., S. Rahman, A. P. Resurreccion, J. Concepcion, V. D. Daygon, S. S. Dipti and K. A. Kabir, B. Klingner, M. K. Morell and A. R. Bird. 2011. Identification of a major genetic determinant of glycemic index in rice. Rice. 4: 66-74.
13. Goni, I., A. Garcia-Alonso and F. Saura-Calixto. 1997. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. Nutrition Research. 17: 427-437.
14. Greenwood, D. C., D. E. Threapleton, C. E. L. Evans, C. L. Cleghorn, C. Nykjaer, C. Woodhead and V. J. Burley. 2013. Glycemic index, glycemic load, carbohydrates, and type 2 diabetes: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. Diabetes Care. 36: 4166-4171.
15. Hirano, H. Y., M. Eiguchi and Y. Sano. 1998. A single base change altered the regulation of the waxy gene at the posttranscriptional level during the domestication. Molecular Biology and Evolution. 15: 978-987.
16. Hu,E. A., A. Pan, V. S. Malik and Q. Sun. 2012. White rice consumption and risk of type 2 diabetes: meta-analysis and systematic review. British Medical Journal. http://dx.doi.org/10.1136/bmj.e1454.
17. Isshiki, M., K. Morino, M. Nakajima, R. J. Okagaki, S. R. Wessler, T. Izawa and K. Shimamoto. 1998. A naturally occurring functional allele of the rice waxy locus has a GT to TT mutation at the 5' splice site of the first intron. Plant Journa. 15: 133-138.
18. Perez, C. M. and B. O. Juliano. 1978. Modification of the simplified amylose test for milled rice. Starch-Stärke. 30(12): 424-426.
19. Larkin, P. D. and W. D. Park. 2003. Association of waxy gene single nucleotide polymorphisms with starch. Molecular Breeding. 12: 335-339.
20. Lai, M. H., K. L. Liu, P. Y. Chen, N. J. Ke , J. J. Chen, J. M. Sung ,Y. L. Wu and S. D. Lin. 2016. Predicted glycemic index and glycemic index of rice varieties grown in Taiwan. Cereal Chemistry. 93(2): 150-155.

21. Little, R. R., G. H. Hilder and E. H. Dawson. 1958. Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milledwhite rice. Cereal Chemistry.35: 111-126.
22. Sano, Y. 1984. Differential regulation of waxy gene expression in rice endosperm. Theoretical and Applied Genetics. 68: 467-473.
23. Sano, Y., M. Katsumata and K. Okuno 1986. Genetic studies of speciation in cultivated rice. 5. Inter- and intraspecific differentiation in the waxy gene expression of rice. Euphytica. 35: 1-9.
24. Tian, Z., Q. Qian, Q. Liu, M. Yan, X. Liu, C. Yan, G. Liu, Z. Gao, S. Tang, D. Zeng, Y. Wang, J. Yu, M. Gu and Jiayang Li. 2009. Allelic diversities in rice starch biosynthesis lead to a diverse array of rice eating and cooking qualities. PNAS. 106: 21760-21765.
25. Tomar, J. B. and J. S. Nanda. 1984. Genetics of gelatinization temperature and its association with protein content in rice. Zeitschrift fur Pflanzenzuchtung= Journal of plant breeding. 92: 84-87.
26. Umemoto, T. and Aoki, N. 2005. Single-nucleotide polymorphisms in rice starchsynthase IIa that alter starch gelatinization and starch association. Functional Plant Biology. 32: 763-768.
27. Ward, R. M., Q. Gao, H. de Bruyn, R. G. Gilbert and M. A. Fitzgerald. 2006. Improved methods for the structural analysis of the amylose-rich fraction from rice flour. Biomacromolecules. 7: 866-876.
28. Wu, D. H., H. P. Wu., C. S. Wang., H. Y. Tseng. and K. K. Hwu. 2013. Genome-wide InDel marker system for application in rice breeding and mapping studies. Euphytica. 192(1): 131-143.
29. Yang, L. and Y. Wang. 2019. 13-Impact of climate change on rice grain quality. Rice (Fourth Edition). Chemistry and Technology. 427-441.

Development of Quality and Starch Hydrolysis-relating indexes Database of Domestic Rice Varieties[1]

Po-jung Wang[2],Chia-Chi Cheng[3] and Dong-hong Wu[4]

ABSTRACT

Rice is the staple food in Taiwan. People prefer soft-and-sticky texture of japonica rice varieties, most of them have lower amylose content (AC) and longer distance of gel consistency (GC). On the other hand, indica rice varieties have higher amylose content and lower glycemic index (GI). Recently people are paying more attention to their health, and the concern of building GI database of Taiwan promote good rice varieties has been rising. In this study, TDARES, TARI and IRRI Grain Quality and Nutrition Center collaboratively established the data set of rice quality, grain appearance, physiochemical characteristics, GI-relating indexes, and starch biosynthesis genes of japonica rice varieties TK9, TNG71, TNG77, soft gel indica rice varieties TCS10 and TCS198, and high amylose indica rice varieties TCS17 and TCS197. The results of above indexes indicate that the 7 varieties could be divided into 2 groups based on AC, GC and Waxy haplotypes. “T-A-C” haplotype members in Waxy locus WxIn1, WxEx6, WxEx10 have lower AC and soft GC, and “G-A-T” haplotype possess high amylose contentand hard gel. For the high AC and hard gel varieties TCS17 and TCS197 are the ones with significantly lower k value (Kinetic constant of starch hydrolysis), representing relatively lower GI. The members of other group, TK9, TCS10, TNG71, TNG77, and TCS198 are for direct-cooking with soft and sticky texture and are mostly with high k value except for TCS10. Lower k value in TCS10 implying its potential preference of relatively low GI for consumers.

Key words: amylose, gel consistency, K value (Kinetic constant of starch hydrolysis), GI (glycemic index)

---

[1]Contribution No.0959 from Taichung DARES,COA.

[2] Pre-assistant Researcher of Taichung DARES, COA，Currently Assistant Researcher of Tainan DARES, COA.
[3]Assistant Researcher of Taichung DARES, COA.
[4]Associate Researcher of TaiwanAgricultural Research Institute, COA.