

استفاده از یک روش مناسب استخراج نشاسته برای تعیین درصد آمیلوز
در لاین‌های جو بدون پوشینه
Using a Favorite Starch Extraction Method to Survey the Amylose Content
in Naked Barley (*Hordeum vulgare Nudum*) Lines

علی محمدخانی

مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بدر

تاریخ دریافت: ۸۲/۸/۱۳

چکیده

محمدخانی، ع. ۱۳۸۴. استفاده از یک روش مناسب استخراج نشاسته برای تعیین درصد آمیلوز در لاین‌های جو بدون پوشینه. نهال و بدر ۲۱: ۳۷-۴۷

هدف از این تحقیق انتخاب روشی مناسب جهت استخراج نشاسته از جو بدون پوشینه و استخراج و تعیین درصد آمیلوز نشاسته در ۱۴۵ لاین جو بدون پوشینه بود. ابتدا با سه روش استخراج (شستشوی نشاسته)، نشاسته دو لاین از جو بدون پوشینه استخراج گردید. درصد آمیلوز آن‌ها توسط روشی که اخیراً برای دو تا سه بدر غلات سازگار شده بود تعیین گردید. در این آزمایش یک طرح آماری فاکتوریل (۳ در ۲ با ۳ تکرار) به کار گرفته شد. استخراج نشاسته با خیساندن بدرها در داخل میکروتیوب (Eppendorf tube) حاوی محلول آمونیوم به مدت یک شبانه روز و سپس خرد کردن و نرم کردن آن‌ها توسط پستلی که روی بهم زن نصب شده بود، انجام گردید. مواد حاصل از الک‌های استیل میکرو (160 um) عبور داده و سپس سانتریفیوژ گردیدند. پلت‌های حاصل به وسیله محلول 4M NaCl و سپس محلول 5% SDS (سولفات دودسیل سدیم) و در نهایت استون شستشو داده شدند و در دسیکاتور خشک گردیدند. نتایج درصد آمیلوز حاصل از روش فوق در مقایسه با دو روش دیگر (روش کاربرد اسید استیک و اتانول و روش استفاده از محلول شکر و نمک و 2% SDS بدون مصرف محلول آمونیوم) در سطح معنی‌دار آماری برتری داشت و این برتری به ترتیب ۱۳ درصد و ۳۴ درصد نسبت به روش ۱ و ۳ بود. با این روش نشاسته، تعداد ۱۴۵ لاین جو بدون پوشینه استخراج و سپس آمیلوز آن‌ها به روش اسپکتروفتومتری در طول موج 620nm مشخص گردید. نتایج بین ۱۸ تا ۳۴ درصد نوسان داشتند. پایین‌ترین میزان درصد آمیلوز مربوط به لاین شماره ۶۲-۴۰ از پاکستان و بالاترین آن مربوط به لاین شماره ۷۴۳ از ترکمنستان بود. اختلاف در میزان آمیلوز در لاین‌های تجزیه شده آنقدر قابل ملاحظه می‌باشد که بتوان در آینده با تجزیه تعداد بیشتری از لاین‌ها، به لاین‌های مناسبی جهت توصیه‌های تغذیه‌ای و صنعتی دست یافت.

واژه‌های کلیدی: جو بدون پوشینه، لاین‌ها، آمیلوز، نشاسته، روش‌های استخراج.

مقدمه

به طور متوسط در غلاتی مثل گندم و جو نشاسته از ۲۵ درصد آمیلوز و ۷۵ درصد آمیلوپکتین تشکیل یافته است. تفاوت در میزان آمیلوز و آمیلوپکتین نشاسته می تواند بر وظایف فیزیکی، شیمیایی و خواص عملی آن ها تأثیر گذارده و در نتیجه بر تبدیلات غذایی یا کاربردهای صنعتی آن مؤثر باشد (Kobayashi et al., 1986; Yan et al., 1993).

ارقام جو بدون پوشینه با دامنه وسیعی از صفات مختلف تولید گردیده اند، از جمله می توان به جو بدون پوشینه با آمیلوز نشاسته پائین اشاره کرد که دارای خصوصیات جالبی جهت تغذیه انسان و دیگر جانداران و همچنین مصارف صنعتی است. جوهای واکسی که نشاسته آن دارای آمیلوزی برابر صفر یا نزدیک به صفر درصد بوده و دارای ثبات در فریز شدن می باشند، گزارش شده است (Bahatty and Rossangel, 1997).

آندرسسون و همکاران (Andersson et al., 1999)، اشاره کرده اند که نشاسته این قبیل جوها ممکن است برای نشاسته های تغییر شیمیائی یافته ذرت که در حال حاضر در غذاهای فریز شدنی استفاده می شوند، مکمل های خوبی باشد. نشاسته های با آمیلوز بالا، جهت مصرف به صورت منبعی از فیبرهای رژیمی مناسب هستند. در صورتی که نشاسته های واکسی ژل های روشنی با

برگشت پذیری کم تولید می کنند که برای استفاده به صورت غلیظ کننده ها و یا تهیه محصولات ژله ای به کار می روند (Whistler, 1984). تعدادی از گزارش ها نشان داده اند که در انسان و دیگر موجودات تک معده ای، آمیلوز بسیار آهسته تر از آمیلوپکتین جذب می شود و گلوکز خون و سطح انسولین بعد از هر وعده غذای دارای آمیلوز بالا کمتر و پائین تر، سیری طولانی تر و وعده غذای بعدی کمتر خواهد بود (Heijnen et al., 1995; Holt and Brand Miller, 1995). بنابراین افزایش درصد آمیلوز در رژیم غذایی برای بسیاری از افراد اجتماع مفید به نظر می رسد. دامنه تنوع ژنتیکی درصد آمیلوز در جو (Morrison et al., 1986; Salomonsson and Sundberg, 1994; Nakamura et al., 1995; Sano et al., 1986) از صفر تا ۴۰ درصد گزارش گردیده است.

روش های متعددی برای استخراج نشاسته غلات گزارش گردیده است، از جمله می توان به روش تکرار در شستشوی آرد گندم در آب همراه با استفاده متناوب از سانتریفیوژ اشاره کرد که در نهایت ماده جامد و روشن نشاسته حاصل می شود (Knight and Olson, 1984; Barr, 1989). این روش بیشتر در صنعت کاربرد داشته و میزان آب فراوانی مصرف می گردد (۱۰ تن آب برای یک تن آرد). در تحقیقات کشاورزی نیز گزارش های مختلفی در مورد

به آن اضافه می‌گردد و در حمام شنی در درجه حرارت ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود، پس از سرد کردن با آب مقطر آن را در با لون‌های شیشه‌ای به حجم ۲۵ سانتی‌متر مکعب رسانده و سپس به محلول به دست آمده ۲ میلی‌لیتر اسید سیتریک ۳٪، نرمال و یک میلی‌لیتر محلول تهیه شده ید اضافه می‌گردد و در داخل یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار می‌گیرد. در پایان در طول موج 620nm به وسیله اسپکتوفتومتر آمیلولز آن اندازه‌گیری می‌شود. با توجه به این که روش استخراج نشاسته ابتدا جهت گندم به وجود آمده است (Mohammadkhani *et al.*, 1999)، و به علت این که مواد و سیستم‌های شیمیایی در گندم و جو متفاوت است لذا لازم دیده شد که در مورد به کارگیری آن در جو بدون پوشینه بررسی مستدلی صورت پذیرد تا برای رسیدن به نشاسته‌ای با کیفیت و کمیت بالا همراه با تکرارپذیری قابل قبول به عنوان روش برتر به کار گرفته شود. هدف از این تحقیق انتخاب روشی مناسب جهت استخراج نشاسته از جو بدون پوشینه و نیز استخراج و تعیین درصد آمیلولز نشاسته در ۱۴۵ لاین جو بدون پوشینه همراه با مشخص کردن بالاترین و پایین‌ترین میزان آن بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های استاندارد نشاسته شامل نشاسته با آمیلولز صفر درصد ذرت (واکسی)، ۲۷ درصد

استخراج نشاسته از گندم به روش‌های میکروارایه گردیده است. از آن جمله روش South and Morrison (1990) است که در آن استخراج نشاسته با خیساندن دانه در آب و خرد و نرم کردن آن همراه با استفاده از سانتریفیوژ و یک سری از مواد شیمیایی مثل CsCl و استون انجام می‌گیرد. همچنین با خیساندن دانه‌ها در آب و نرم کردن و عمل‌آوری قسمت خمیری به طوری که تا حد ممکن مقدار گلوتن بیشتری را از بین برده و حداکثر نشاسته حاصل گردد (D, Appolonia *et al.*, 1971) گزارش شده است. درصد آمیلولز نشاسته ممکن است به چند روش تعیین گردد. روشی که اغلب به کار گرفته می‌شود بر اساس اندازه‌گیری تغییرات رنگ آبی ید در برابر مقادیر مختلف آمیلولز نشاسته می‌باشد که در عین این که روش سریعی است، از نظر اقتصادی نیز بر دیگر روش‌ها برتری دارد. این روش به طور وسیعی در برنامه‌های اصلاح کیفیت گندم (Kumar and Khush, 1986) و (Mohammadkhani *et al.*, 1998, 1999) و برنج (Welsh and Blakeney, 1992)؛ (Juliano, 1971) به کار گرفته شده است. در تعیین آمیلولز نشاسته به روش محمدخانی و همکاران (Mohammadkhani *et al.*, 1999): ابتدا حدود ۵ میلی‌گرم نشاسته را در داخل بیکر وزن کرده و یک میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۹۵ درصد و ۲/۷ میلی‌لیتر سود سوزآور یک نرمال

طعام 0.5M جایگزین شده پس از خرد و نرم کردن بذرها با بلندر (بهم زن) از الک ۱۶۰ مش عبور داده شد و سانتریفیوژ گردید. روی مواد جامد محلول نمک طعام 4M افزوده شده و با ورتکس بهم زده و سپس سانتریفیوژ گردید و محلول رویی دور ریخته شد. مشابه مرحله اخیر به ترتیب با اتانول، آب مقطر، 5% SDS و آب مقطر عمل شستشو ادامه یافت. در پایان استون افزوده شده ورتکس و سانتریفیوژ گردید و نشاسته حاصل در دسیکاتور گذاشته شد تا خشک گردد.

روش سوم

دو تا سه بذر ۲۴ ساعت در آمونیم 0.2 M خیسانده شد. سپس آمونیم با 0.5 میلی لیتر نمک طعام 0.5M جایگزین شد پس از خرد و نرم کردن بذرها با بلندر از الک عبور داده شد و سانتریفیوژ گردید. پس از حذف محلول رویی مواد جامد نگهداری شد و سپس روی آن محلول نمک طعام 4M افزوده شد، ورتکس و سانتریفیوژ گردید و محلول رویی دور ریخته شد. مشابه مرحله اخیر به ترتیب با محلول نمک طعام همراه با محلول شکر و نمک طعام (6MNaCl/50%Sucrose)، آب مقطر، 2% SDS و آب مقطر عمل شستشو ادامه یافت. در پایان استون افزوده، ورتکس و سانتریفیوژ گردید و نشاسته حاصل در دسیکاتور گذاشته شد.

برای تجزیه داده‌های حاصله از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کورت‌های کامل

(نرمال) و ۹۵ درصد آمیلوز (آمیلوز بالا) تهیه شدند. ارقام جو بدون پوشینه به تعداد ۱۴۵ نمونه از واحد کلکسیون بخش تحقیقات غلات دریافت گردید. در این بررسی ابتدا برای تعیین بهترین روش برای استخراج نشاسته از بذر جو بدون پوشینه، از سه روش استخراج نشاسته استفاده شد و این سه روش روی بذر دو لاین جو بدون پوشینه به شرح زیر به کار گرفته شدند. در هر سه روش برای تعیین درصد آمیلوز از روش محمدحانی و همکاران (Mohammadkhani et al., 1999) استفاده گردید:

روش اول

دو تا سه بذر ۲۴ ساعت در آمونیم 0.2 M خیسانده شد. سپس آمونیم با 0.5 میلی لیتر نمک طعام 0.5M جایگزین شد پس از خرد و نرم کردن بذرها با بلندر (بهم زن)، از الک عبور داده و سپس سانتریفیوژ گردیدند و مواد جامد نگهداری شد. روی ماده حاصل اسید استیک 0.1M افزوده شد، ورتکس و سانتریفیوژ گردید و محلول دور ریخته شد. مشابه مرحله اخیر به ترتیب با آب مقطر، اتانول ۹۵٪ و آب مقطر عمل شستشو ادامه یافت. روی ماده جامد باقی مانده استون افزوده شد، ورتکس و سانتریفیوژ گردید و نشاسته حاصل در دسیکاتور گذاشته شد.

روش دوم

دو تا سه بذر ۲۴ ساعت در آمونیم 0.2 M خیسانده شد. سپس آمونیم با 0.5 میلی لیتر نمک

پروتئینی گزارش گردیده است (Osborne, 1907). در روش استخراج ۳ با توجه به این که از SDS 2% به جای SDS 5% استفاده گردید و برخلاف روش های ۱ و ۲ از اتانول نیز استفاده نشده است در بین سه روش بررسی شده ضعیف ترین نتیجه را داشت. روش استخراج نشاسته فوق در مقایسه با روش هایی که اغلب در صنعت کاربرد داشته و با تکرار زیاد شستشوی آرد در آب و با استفاده متناوب از سانتریفیوژ همراه می باشد (Knight and Olson, 1984؛ Barr, 1989)، سریع تر بوده و در مقایسه با دیگر روش هایی که در تحقیقات کشاورزی گزارش شده است از جمله (South and Morrison, 1990) که با خیساندن بذر در آب و خرد و نرم کردن آن همراه با استفاده از سانتریفیوژ و یک سری از مواد شیمیایی مثل CsCI و استون انجام می گیرد اقتصادی تر می باشد.

نتایج حاصل از تعیین درصد آمیلوز ۱۴۵ لاین جو بدون پوشینه تفاوت قابل ملاحظه ای از این نظر را بین لاین های جو نشان داد (جدول ۳ و شکل ۱) آمیلوز لاین ها از ۱۸ تا ۳۴ درصد (پایین ترین درصد آمیلوز مربوط به لاین شماره ۴۰۶۲ از پاکستان و بالاترین مربوط به لاین شماره ۷۴۳ از ترکمنستان) متغیر بود (جدول ۲) و بالاترین فراوانی که بیش از حدود یک هفتم از مجموع لاین های کلکسیون را در بر می گرفت در سطح حدود ۲۵ درصد آمیلوز بود. به نظر می رسد تفاوت به دست آمده از نظر میزان

تصادفی با سه تکرار استفاده شد که در آن ترکیب سه تیمار روش استخراج نشاسته و دو رقم جو از نظر آماری مقایسه شدند. محاسبه میانگین جذب نوری آمیلوز نشاسته در طول موج ۶۲۰ nm مربوط به سه روش مختلف استخراج نشاسته و دو لاین جو بدون پوشینه تعیین گردید. با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش های بالا، روش شماره ۲ برای تعیین درصد آمیلوز ۱۴۵ لاین جو بدون پوشینه همراه با روش تجزیه نشاسته اشاره شده در بالا مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

همان گونه که جدول تجزیه واریانس نشان می دهد (جدول ۱)، اثر اصلی استخراج نشاسته (شستشو) در سطح بالای آماری معنی دار می باشد. در بین سه روش استخراج نشاسته روش شماره ۲ به ترتیب با اختلاف ۱۳ درصد و ۳۴ درصد به ترتیب برتر از روش های ۱ و ۳ بود چرا که نه تنها بر طبق نتایج گزارش شده SDS تنها ماده مؤثر و شناخته شده در کاهش میزان پیوندهای پروتئینی در نشاسته است بلکه همراه شدن آن با اتانول (مانند روش استخراج ۲) راه مؤثری در از بین بردن پیوندهای لیپیدی سطحی نشاسته نیز می باشد (Morrison et al., 1986؛ South and Morrison, 1990).

همچنین اثر کاربرد اتانول به تنهایی (مانند روش استخراج ۱) در کاهش پیوندهای

آمیلوز در لاین‌های موجود به قدر کافی وسیع بوده تا بتوان با کارهای اصلاحی بعدی به نتایج قابل ملاحظه‌ای رسید که در نهایت ارقامی با کمترین میزان آمیلوز جهت استفاده به صورت تغلیظ کننده‌ها یا مواد شکل دهنده ژل و به طور کلی تهیه مواد غذایی سریع‌الجذب و ارقامی با بالاترین میزان آمیلوز برای تهیه مواد غذایی رژیمی و طیف وسیعی از پلاستیک‌های محلول در آب معرفی نمود. به طور کلی از نظر آماری تقریباً توزیع فراوانی‌ها در میان لاین‌ها نرمال بود (شکل ۱). در جدول ۲ نتیجه تجزیه ده لاین از پایین‌ترین و ده لاین از بالاترین میزان درصد آمیلوز نشاسته و مبدا و شماره ثبت مربوط نشان داده شده است. با استفاده از ترکیبات مختلف نشاسته‌های استاندارد با آمیلوز صفر درصد ذرت (واکسی)، ۲۷ درصد (نرمال) و ۹۵ درصد آمیلوز (آمیلوز بالا) و تعیین طول موج نوری مربوط به وسیله اسپکتروفتومتر فرمول تبدیل طول موج نوری آمیلوز به درصد آمیلوز از طریق فرمول خط رگرسیون به دست آمده تعیین گردید (جدول ۵).

جدول ۱- میانگین جذب نوری آمیلوز نشاسته در طول موج ۶۲۰ nm مربوط به سه روش مختلف

استخراج نشاسته و دو رقم جو بدون پوشینه

Table 1. Absorption means resulted from three different methods of starch extraction and two lines of naked barley(reading at 620nm)

Treatment	طول موج نوری	
	تیما	Absorption mean (nm)
First method	روش اول	0.206
Second method	روش دوم	0.233
Third method	روش سوم	0.173
First line	لاین اول	0.204
Second line	لاین دوم	0.204
First method × First line	روش اول × لاین اول	0.209
First method × Second line	روش اول × لاین دوم	0.203
Second method × First line	روش دوم × لاین اول	0.234
Second method × Second line	روش دوم × لاین دوم	0.231
Third method × First line	روش سوم × لاین اول	0.169
Third method × Second line	روش سوم × لاین دوم	0.177

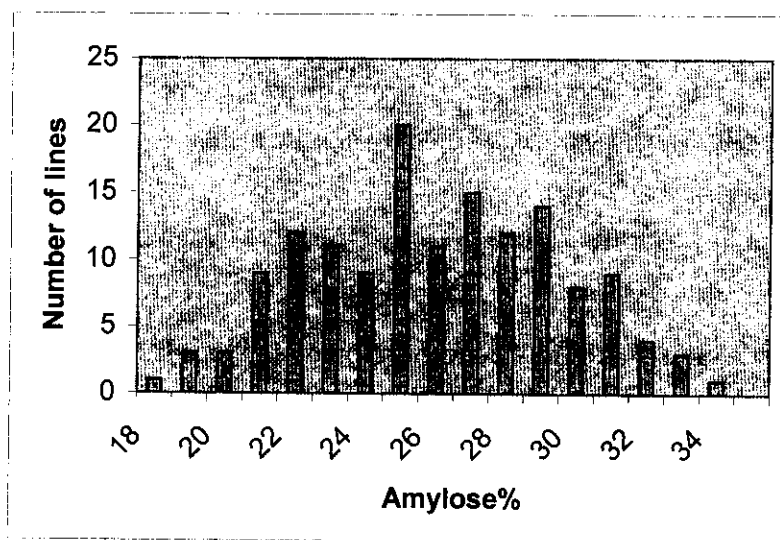
جدول ۲- تجزیه واریانس جذب نوری نشاسته دو لاین جو بدون پوشینه برای سه روش استخراج در

طول موج 620nm

Table 2. Summary analysis of variance for absorbance at 620nm of starch of two lines of naked barley with three different extraction

S. O. V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS	F
Replication	تکرار	2	1.0300	0.5150	0.0016
Methods (M)	روش‌ها	2	10.7740	5.3870	0.0170
Lines (L)	لاین‌ها	1	0.0009	0.0009	0.000003
L × M	لاین × روش	2	0.1410	0.0710	0.0002
Error	اشتباه	10	3.1130	0.3110	
Total	کل	17	15.060		

CV: 0.0086 %



شکل ۱- توزیع فراوانی درصد آمیلوز نشاسته در ۱۴۵ لاین جو بدون پوشینه

Fig. 1. Frequency distribution of amylose % in naked barley

جدول ۳- حد اقل و حد اکثر میزان درصد آمیلوز نشاسته ۱۴۵ لاین جو بدون پوشینه براساس تعداد لاین و

کشورهای مربوطه

Table 3. Range of amylose% in starch of 145 naked barley lines based on number of lines and countries

کشور Country	تعداد لاین No. of lines	درصد آمیلوز Amylose%	کشور Country	تعداد لاین No. of lines	درصد آمیلوز Amylose%
China	9	19.3-28.8	England	3	23.4-32.6
Germany	1	25.4	Egypt	1	28.5
Pakistan	16	18.8-29.2	Japan	3	21.2-31.5
India	17	21.3-28.8	Iran	8	19.2-27.8
Etuopia	9	20.3-28.8	Russia	30	20.6-33.4
Unknown	20	21.1-32.7	U. S. A.	14	21.1-32.7
Sweden	1	30.3	Turkministan	1	33.9
Afghanistan	9	19.5-28.9	Australia	1	20.1
			Morocco	2	32.7-33.1

جدول ۴- ده لاین با پایین ترین و ده لاین با بالاترین میزان درصد آمیلوز از میان ۱۴۵ لاین جو بدون پوشینه براساس نام کشور مبداء لاین و شماره ثبت مربوط

Table 4. Ten lines with min. and max. of amylose% from 145 lines of naked barley collection with certificate no. and country of origin

کشور Country	شماره ثبت Line no.	درصد آمیلوز Amylose%	کشور Country	شماره ثبت Line no.	درصد آمیلوز Amylose%
USA	امریکا 2080	31.5	Pakistan	پاکستان 4062	18.3
Japan	ژاپن 5899	31.5	Iran	ایران 80173	19.2
USA	امریکا 5624	31.7	China	چین 4206-2	19.3
Russia	روسیه 5204	31.9	Afghanistan	افغانستان 4150-2	19.5
USA	امریکا 5701	32.1	Pakistan	پاکستان 4078	19.8
England	انگلستان 587	32.6	Australia	استرالیا 6022	20.1
USA	امریکا 5675	32.7	Etuopia	اتیوپی 6049-5	20.3
USA	امریکا 5698	32.7	Etuopia	اتیوپی 3909-1	20.5
Russia	روسیه 3978-3	33.4	Russia	روسیه 3995-1	20.6
Turkmisnistan	ترکمنستان 743	33.9	Russia	روسیه 7554	20.8

* شماره ثبت در دفاتر واحد کلکسیون بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر.

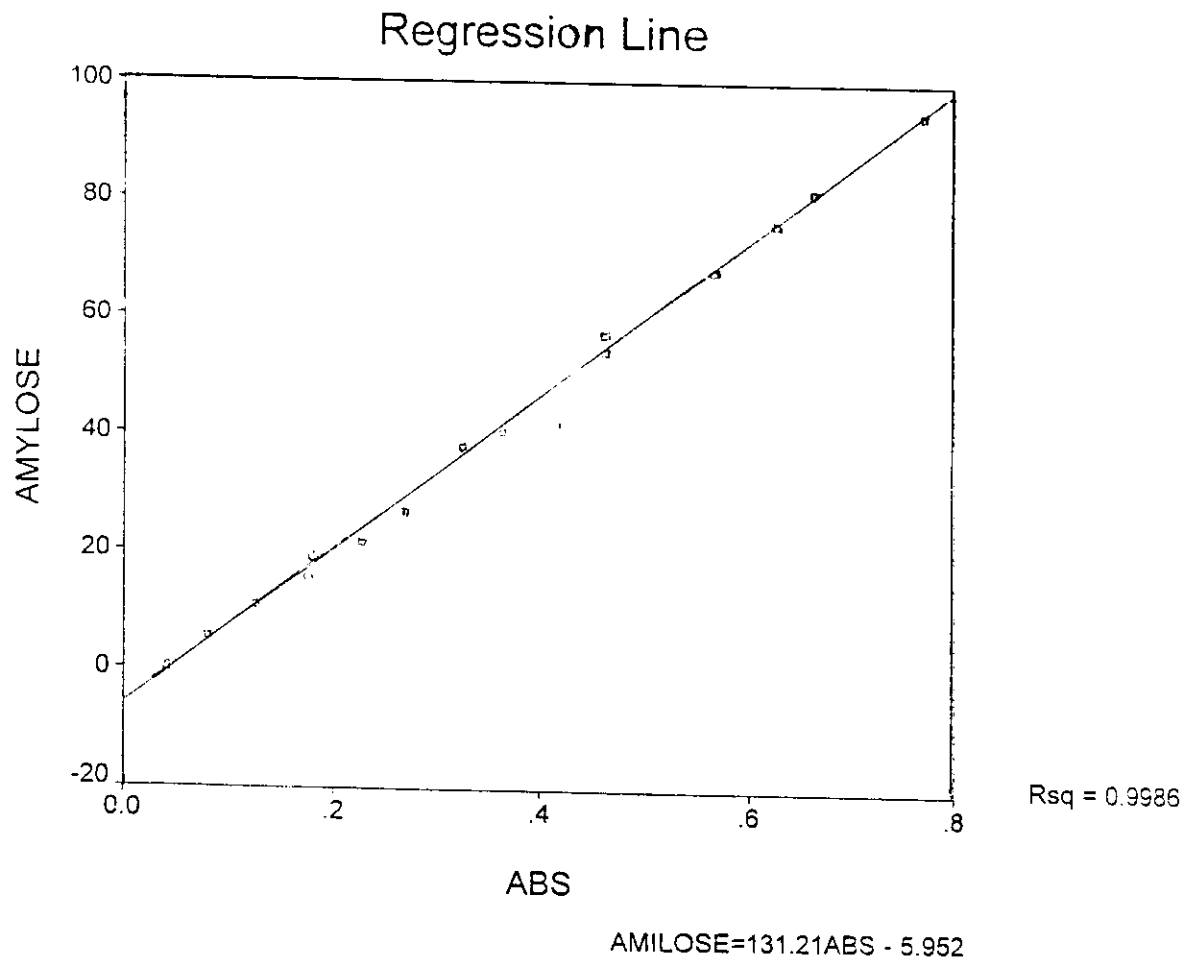
Line no. recorded in Collection Unit of Cereal Research Department, SPII, Iran.

جدول ۵- ترکیبات مختلف از نشاسته‌های استاندارد با درصدهای مختلف آمیلوز و میزان طول موج جذب مربوطه

Table 5. Combination of different concentration of amylose from standard starch with related absorption wave length

طول موج جذب آمیلوز Abs. at 620 nm	درصد آمیلوز Amylose %	آمیلوز ۲۷٪ (ml) ml am. 27%	آمیلوز صفر٪ (ml) ml am. 0%	شماره No.
0.041	0.0	0.0	2.5	1
0.080	5.4	0.5	2.0	2
0.127	10.8	1.0	1.5	3
0.173	16.2	1.5	1.0	4
0.224	21.6	2.0	0.5	5
0.268	27.0	2.5	0.0	6
طول موج جذب آمیلوز Abs. at 620 nm	درصد آمیلوز Amylose %	آمیلوز ۹۵٪ (ml) ml am. 95%	آمیلوز صفر٪ (ml) ml am. 0%	شماره No.
0.18	19	0.5	2.0	7
0.324	38	1.0	1.5	8
0.462	57	1.5	1.0	9
0.626	76	2.0	0.5	10
0.769	95	2.5	0.0	11
طول موج جذب آمیلوز Abs. at 620 nm	درصد آمیلوز Amylose %	آمیلوز ۹۵٪ (ml) ml am. 95%	آمیلوز ۲۷٪ (ml) ml am. 27%	شماره No.
0.364	40.5	0.5	2.0	12
0.463	54.2	1.0	1.5	13
0.565	67.8	1.5	1.0	14
0.662	81.4	2.0	0.5	15
0.77	95.0	2.5	0.5	16

فرمول خط رگرسیونی به دست آمده مربوط به دو ستون اول (طول موج جذب آمیلوز مربوط به ترکیب نشاسته‌های استاندارد) و دوم (درصد آمیلوز مربوط به داده‌های ستون ۱) جدول فوق با $r = 0.9986$ $Amylose \% = 131.21 * Abs - 5.952$ می‌باشد (شکل ۲).



شکل ۲- خط رگرسیون مربوط به طول موج جذب نوری نشاسته و درصد آمیلوز نشاسته‌های استاندارد (ترکیب شده) همراه با فرمول مربوط

Fig. 2. Regression line of absorption wave length at 62. nm and related concentration of amylose from standand starch

References

- Andersson, A. A. M., Andersson, R., Autio, K., and Aman, P. 1999.** Chemical composition and microstructure of two naked waxy barley. *Journal of Cereal Science* 30: 183-191.
- Bahatty, R. S., and Rossangel, B. G. 1997.** Zero amylose lines of hull-less barley. *Cereal Chemistry* 74: 190-191.
- Barr, D. J. 1989.** The engineering of a modern wheat starch process. pp. 501-508. In: Pomeranz, Y. (ed.) *Wheat is Unique: Structure, Composition, Processing, End-use Properties and Products*. American Association of Cereal Chemists. St Paul, MN, USA.

- D'Appolonia, B. L., Gilles, K. A., Osman, E. M., and Pomeranz, Y. 1971.** Carbohydrates. pp.301-392. In: Pomeranz, Y. (ed.) Wheat: Chemistry and Technology, 2nd Ed. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN, USA.
- Heijnen, M. L. A., van Amelsvoort, J. M. M., and Westrate, J. A. 1995.** Interaction between physical structure and amylose:amylopectin ratio of food on postprandial glucose and insulin responses in healthy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition* 49: 446-457.
- Holt, S. A., and Brand Miller, J. 1995.** Increased insulin responses to ingested foods are associated with lessened satiety. *Appetite* 24: 43-54.
- Juliano, B. O. A. 1971.** Simplified assay for milled-rice amylose. *Cereal Science Today* 16: 334-340, 360. The method is also published as ISO 6647 by the International Organization for Standardization, ISO.
- Knight, G. W., and Olson, R. M. 1984.** Wheat starch :production, modification, and uses. pp. 491-505. In: Whistler, R. L., BeMiller, J. N., and Paschall, E. F. (eds.) *Starch: Chemistry and Technology*, 2nd Ed. Academic Press. Orlando, FL. U.S.A.
- Kobayashi, S., Schwartz, S. J., and Lineback, D. R. 1986.** Comprison of the structures of amylopectins from different wheat varieties. *Cereal Chemistry* 63: 71-74.
- Kumar, I., and Khush, G. S. 1986.** Genetics of amylose content in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Genetics* 65: 1-11.
- Mohammadkhani, A., Stoddard, F. L., and Marshall, D. R. 1998.** Survey of amylose content in *Secale cereale*, *Triticum monococcum*, *T. turgidum* and *T. tauschii*. *Journal of Cereal Science* 28: 273-280.
- Mohammadkhani, A., Stoddard, F. L., Marshall, D. R., Nizam Uddin, M., and Zhao, X. 1999.** Starch extraction and amylose analysis from half seeds. *Starch* 51 (2&3): 62-66.
- Morrison, W. R., Scott, D. C., and Karkalas, J. 1986.** Variation in the composition and physical properties of barley starches. *Starch* 38: 374-379.

- Nakamura, T., Yamamori, M., Hirano, H., Hidaka, S., and Nagamine, T. 1995.** Production of waxy (amylose-free) wheats. *Molecular and General Genetics* 248: 253-259.
- Osborne, T. B. 1907.** The proteins of the wheat kernel. Publication no.84, Carnegie Institute of Washington, Washington DC, USA.
- Salomonsson, A. C., and Sundberg, B. 1994.** Amylose content and chain profile of amylopectin from normal, high amylose and waxy barleys. *Starch* 46: 325-328.
- Sano, Y., Katsumata, M., and Okuno, K. 1986.** Genetic studies of speciation in cultivated rice. 5. Inter- and intra-specific differentiation in the waxy gene expression of rice. *Euphytica* 35: 1-9.
- South, J. B., and Morrison, W. R. 1990.** Isolation and analysis of starch from single kernels of wheat and barley. *Journal of Cereal Science* 12: 43-51.
- Welsh, L. A., and Blakeney, A. B. 1992.** Choosing an amylose standard for cereal starch analysis. pp 347-350. In: Proceedings of the 42nd Australian Cereal Chemistry Conference.
- Whistler, R. L. 1984.** History and future expectation of starch use. pp. 1-9. In: Whistler, R. L., BeMiller, J. N., and Paschall, E. F. (eds.) *Starch: Chemistry and Technology*, 2nd Ed. Academic Press, Orlando, FL, U.S.A.
- Yan, R. C., Thompson, D. B., and Boyer, C. D. 1993.** Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. *Cereal Chemistry* 70: 81-89.