

大麦は血中コレステロールを下げる働きや大腸ガンの予防効果があるβ-グルカンが米や小麦に比べて多く含まれていることから健康効果の利用価値は高く、食品への利用が多く報告^{1~5)}されている。大麦は米と同様にうるち種ともち種があり、もち種大麦はうるち種に比べアミロペクチンの含有率が高いことから、その特徴を生かした食品への利用が検討され、もち種大麦を使ったもち麦麺やもち麦カステラ等はすでに製品化されている。

一方、えん麦はえん麦が原料となっているオートミールはよく知られているが、日本では日常的な食品として認知されていないのが現状である。えん麦は日本では古くはタカキビ、モロコシキビと呼ばれ、五穀の一種として食用栽培されていたが、近年は栽培の大部分が飼料用である。本研究に試料として用いたホワイトソルガムはアメリカで栽培開発され、グルテンが含まれないことから食物アレルギーの代替食品として注目されており、自然な白色で無味無臭な粉末状を多種類の調理への利用が検討されている。

大麦とえん麦は穀物の中でも食物繊維含量が高く、機能性食品として見直されている。そこで本研究は日常的な食物繊維の摂取を目的にもち種大麦とえん麦の調理・加工特性を解明するために各々の澱粉のアミロペクチンの鎖長分布と糊化特性について調べ、今後の利用法を考えるうえでの基礎資料とするために行った。

実験方法

1. 試料および澱粉の調製

試料はもち種大麦（愛媛県産、ダイシモチ、平成 14 年度産、以下もち麦澱粉という）とえん麦（ホワイトソルガム、アメリカ穀物協会、以下えん麦澱粉という）の 2 種類とした。2 種類の澱粉と他の穀物澱粉との比較のために筆者の論文⁶⁾に試料としたコシヒカリ澱粉を用いた。もち麦粉はミルで粉碎した後、100 メッシュの篩を通過した粉末を用いた。えん麦粉は 100 メッシュの篩をすべて通過した粉末を用いた。澱粉の調製は山本ら⁷⁾の方法に準じて、0.2% NaOH を用いて除タンパクしさらに Schoch⁸⁾の改変の 85% メタノール抽出法で脱脂した。

2. 測定方法

(1) アミロペクチンの鎖長分布

貝沼ら⁹⁾の方法に準拠し、*Pseudomonas* イソアミラーゼ（林原生物化学研究所製、59,000U/mg protein）を用いて各々の澱粉を枝切りし、Toyopearl HW-50S の充填剤を用いてゲル濾過し、アミロペクチンの鎖長分布を求めた。

① *Pseudomonas* イソアミラーゼによる澱粉の枝切り反応：もち麦とえん麦澱粉 30mg に純水 0.5ml を加え、沸騰水浴中で 10 分間加熱糊化後、5N 水酸化ナトリウム溶液 0.5ml を加えて完全に糊化した。これに純水 0.6ml を加え、さらに 50mM クエン酸緩衝液（pH 3.5）2 ml、6 N

塩酸 0.4ml、次に 1 N 塩酸を加えて pH 3.5 に調整後、*Pseudomonas* イソアミラーゼ 30ul (108 I U/ml) を加え、還元力が一定になる点まで、40℃で 18 時間反応を行った。反応終了後、凍結乾燥し、-20℃にて保存した。測定に際しては試料を純水 0.5ml に懸濁し、沸騰水浴中で 5 分間加熱し、5 N 水酸化ナトリウム溶液 0.5ml を加えて溶解し、純水で 4 ml とした。

② ゲル濾過法による鎖長分布測定：Toyopearl HW-50S、500 g を 1 □ のビーカーに移し、沸騰水中で攪拌しながら 30 分間加熱する。室温に冷却後、カラム (2.2cm × 100cm、Millipore 製) に充填し、20mM 炭酸ナトリウム緩衝液 (pH9.5) を 1 時間 20ml の流速で流し、約 2 日間平衡化した。イソアミラーゼで枝切りした試料 3 ml をカラムに注入し、20mM 炭酸ナトリウム緩衝液 (pH9.5) を用いて流速 20ml で溶出し、各 3 ml をフラクションコレクターで採取した。全糖量および還元末端基の測定は、グルコースを標準として、それぞれフェノール硫酸法¹⁰⁾ およびパーク
ジョンソン法の HIZUKURI らの変法¹¹⁾によって求めた。また数平均鎖長 c.l.n は次式より求めた。

数平均鎖長 (c.l.n) = 全糖量 / 還元末端基数

各フラクションはピークの溶出順に、フラクション I、II、III (Fr. I、II、III) および Fr. I と Fr. II の間を

Intermediate Fr. (中間画分) とし、各試験管中の試料とヨウ素複合体の最大吸収波長 (λ_{\max}) により次のように区分した。

Fr. I : $\lambda_{\max} \geq 620\text{nm}$, 中間画分 : $620\text{nm} > \lambda_{\max} \geq 600\text{nm}$,

Fr. II : $600\text{nm} > \lambda_{\max} \geq 540\text{nm}$, Fr. III : $\lambda_{\max} < 540\text{nm}$

(2) 物理的性質

① 電顕写真 : 澱粉の電子顕微鏡写真は走査型電子顕微鏡 (JSM-6700F、日本電子工業製) を用い、加速電圧 5 kV、観察倍率は $\times 1000$ とした。試料処理はオスミウム蒸着した。

② 測長 : 澱粉の測長は電顕写真の画像で測定した。

③ X線回折 : 澱粉の X線回折は X線回折装置 (XRD-6100、島津製作所製) を用いた。

測定条件は X線 : ターゲット : Cu、管電圧 : 40.0kV、管電流 : 40mA、スリット : DS : 1.00deg、SS : 1.00deg、RS : 0.30mm、走査 : 駆動軸 : $\theta - 2\theta$ 、範囲 : 10.0000 ~ 60.0000deg、速度 : 2.0000deg/min、ステップ : 0.0200deg、計数時間 : 0.60sec とした。

(3) 糊化特性

① 膨潤力・溶解度

澱粉の膨潤力と溶解度は貝沼ら^{1,2)}の方法によった。すなわち、100メッシュの篩を通した試料 1g (無水物換算) を精秤し、容器補正ずみの 50ml の目盛付き共栓

遠沈管にとり、純水を加え 50ml にメスアップした。澱粉が沈澱するのを防ぐため、振動を与え、50、60、70、80、95℃の各温度に設定した恒温槽で1時間加熱した。加熱後直ちに 3,000rpm で30分間遠心分離し、上澄液をとり、液をフェノール硫酸法で測定した。沈澱管は重量を測定し、次式によりそれぞれ溶解度・膨潤力を求めた。

$$\text{溶解度 (S \%)} = (A / 1000) \times 100 = A / 10$$

$$\text{膨潤力} = 100B / 1000 (100 - S) = B / 10 (100 - S)$$

A : 溶解部の澱粉量 (mg) 、 B : 沈澱部の重量 (mg)

S : 溶解度

② ラピットビスコアナライザー (Rapid visco analyser 以後 RVA と略す) による澱粉の粘度

もち麦とえん麦澱粉の加熱による粘度の測定は RVA-3D 型 (オーストラリア, ニューポートサイエンテック社) を用い、2種の澱粉は 100メッシュの粒度にそろえた。測定は常法¹³⁾によった。すなわち、澱粉 3.5g に蒸留水 25ml を加え、50℃で1分間攪拌し、50℃から95℃まで3.7分で昇温し、95℃を2.5分間恒温保持し、その後50℃まで冷却し、さらに50℃で2分間保持させた。測定項目は糊化温度、最高粘度、最低粘度、ブレイクダウン、最終粘度およびコンシステンシィとした。

実験結果および考察

1. もち麦・えん麦澱粉の鎖長分布

(1) アミロペクチンの鎖長分布

アミロペクチンの鎖長分布の測定結果を Table. 1 に示した。ゲル濾過の回収率は 100~105% でほぼ完全に回収された。Fig. 1 にイソアミラーゼで枝切りしたもち麦澱粉、えん麦澱粉、コシヒカリ澱粉（文献 6 を使用）の 3 種類のゲル濾過溶出曲線を示した。Fr. I はアミロースに由来する長鎖長の区分であるが、もち麦澱粉は 3.6% であった。大麦澱粉は普通種大麦は約 25% のアミロースと約 75% のアミロペクチンからなり、30% 以上のアミロースを含む高アミロース種と 10% 以下の少量のアミロースを含むもち大麦と呼ばれる品種がある¹⁴⁾。また Bhattya と Rossnagel¹⁵⁾ は育種的方法を用いて完全なもち種を作出したと報告している。本研究に試料として用いたダイシモチは従来からもち種と呼ばれる大麦澱粉であるが厳密に品種を分別するならば低アミロース種の大麥ということになる。

えん麦澱粉の Fr. I は 37.9% で 3 種類のなかで含有率は最も高い結果であった。コシヒカリ澱粉の 11.0% と比較するともち麦澱粉の 3.6% はコシヒカリ澱粉の 1/3、えん麦澱粉はコシヒカリ澱粉の 3 倍以上となり、えん麦澱粉はコシヒカリ澱粉よりもアミロースが多く、もち麦澱粉は少ない結果であった。Fr. II および Fr. III はアミロペクチンの枝切りされた直鎖部分であり、もち麦澱粉

は Fr. II および Fr. III の割合が 19.2% と 73.9% となり、Fr. II の割合はコシヒカリ澱粉と近似であり、Fr. III の短い鎖長の比率が多い傾向を示した。えん麦澱粉は Fr. II と Fr. III の割合が 15.4% と 43.3% となり、Fr. II と III の割合がコシヒカリ澱粉に比べて低い結果であった。また Fr. III / Fr. II の比率では、もち麦澱粉 3.93、えん麦澱粉 2.82、コシヒカリ澱粉 3.22 となり、もち麦澱粉はコシヒカリ澱粉より高値であり、えん麦澱粉が最も低値であった。他の澱粉の馬鈴薯 1.7¹⁶⁾、トウモロコシ 3.1¹⁶⁾、キャッサバ 2.7¹⁶⁾ に比べてえん麦澱粉はキャッサバに近似であった。

Fr. II と Fr. III の和および Fr. II、III それぞれにつき数平均鎖長、重量% および mol% を Table. 2 に示した。Fr. II と Fr. III の和の数平均鎖長はコシヒカリ澱粉は 21.6、もち麦澱粉は 32.9、えん麦澱粉は 31.7 となり、もち麦とえん麦澱粉は近似であったが、コシヒカリ澱粉よりも長い傾向を示した。Fr. II と Fr. III の重量% は 3 種を比較するともち麦澱粉は長鎖長のアミロペクチンが 20.3% と他の 2 種に比べて少なく、短鎖長のアミロペクチンは 79.7% で多い傾向であった。それに対し、えん麦澱粉は長鎖長のアミロペクチンが 26.2% と 3 種の中で最も多く、短鎖長のアミロペクチンは 73.8% で少ない傾向であった。また 10 鎖長ごとにまとめて、鎖長分布を mol% で示すと Table. 3 になる。長鎖長を見るともち麦澱粉は 60 以上が多く、えん麦澱粉は 40~50 の鎖長が多か

った。長鎖長全体としてはもち麦澱粉が 33.4% と高い傾向を示した。短鎖長ではもち麦澱粉とコシヒカリ澱粉は 10~20 が多く、えん麦澱粉は 10 以下の鎖長が多かった。短鎖長全体の分布ではもち麦澱粉は 66.6% で低く、次にえん麦澱粉は 73.3% でコシヒカリ澱粉 76.5% の鎖長分布に近い傾向を示した。他の澱粉と比較してみると石井ら¹⁶⁾は馬鈴薯は 10 以下が多く、サゴ、トウモロコシは 10~20 未満が多いと報告している。

2. 澱粉の物理的性質

(1) 電顕写真

3 種澱粉の電子顕微鏡写真の結果を Fig. 2 に示した。もち麦澱粉は円形で扁平な形をしており、馬鈴薯澱粉に似た形状をしていた。えん麦澱粉はやや角張った形でトウモロコシ澱粉に似た形であった。コシヒカリ澱粉は角張った不規則な形をしていた。

(2) 測長

測長の結果を Fig. 3 に示した。平均粒径はもち麦澱粉は $16.8 \pm 3.4 \mu\text{m}$ 、えん麦澱粉は $15.0 \pm 2.8 \mu\text{m}$ 、米澱粉は $5.0 \pm 1.0 \mu\text{m}$ であった。もち麦澱粉とえん麦澱粉の平均粒径は米澱粉と比較すると 3 倍ほど長い粒径であった。中村¹⁷⁾は、澱粉粒およびその成分の性質が澱粉粒の大きさあるいはその植物の生長の時期と関係するのを説明するのに 2 つの可能性が考えられるとしている。1

つは澱粉粒の性質はその大きさと密接な関係があるから、澱粉粒の生合成過程は粒の大きさによって規制される何らかのフィードバック機構に調節されている。もう1つは澱粉粒はいったんできるとそれ以上大きくなるのではなく、そのままの性質を保っている。しかし種々の大きさの澱粉粒ができる割合は生長の各時期によって異なり、生長の初期には小粒子が比較的多くでき、後期には大粒子ができる割合が多くなること。また馬鈴薯澱粉は大粒子から小粒子まで連続的に存在し、粒径分布は1つのピークを示すが、大麦や小麦の澱粉では大粒子と小粒子の2つのピークをもつ粒径分布を示し、その中間の大きさの粒子は非常に少ないとしている。大麦澱粉は平均粒径が約 $25 \mu\text{m}$ の大粒子と約 $5 \mu\text{m}$ の小粒子の2つのグループよりなり、数的には小粒子が約 90% を、重量的には大粒子が約 90% を占めると報告している。また大麦は小粒子の方が大粒子よりもアミロース含量が高く、糊化温度も高く、より多くのたんぱく質と結合しているとも報告している。今報告ではもち麦澱粉の大きい粒径は $23.7 \mu\text{m}$ 、小さい粒径は $10.8 \mu\text{m}$ であり、粒径に差があり、同じ麦であるえん麦澱粉も大小の粒径があった。

(3) X線回折

もち麦澱粉とえん麦澱粉のX線回折の結果を Fig. 4 に示した。2種類の澱粉はいずれも穀類澱粉の特徴であるA形すなわち第1環と3a環が欠如し、第4環がa、b

に別れ、同程度に強く、また強い 6 a が存在するなどがみられた。檜作ら^{18~19)}は澱粉の X 線回折形とそれらのアミロペクチンの平均鎖長 (c.l.) との関連性で、アミロペクチンの c.l.20 以下の澱粉は A 形を示し、c.l.22 以上は

B 形を、また c.l.20~22 の範囲のものは A、B 形も存在するが C 形を示すこと、A 形を示す澱粉は、馬鈴薯のような B 形澱粉よりもアミロペクチンの平均鎖長は短いと報告している。今回のもち麦澱粉とえん麦澱粉は A 形を示したが、平均鎖長はもち麦澱粉が 32.9、えん麦澱粉は 31.7 でコシヒカリ澱粉よりも長い結果であった。吉元²⁰⁾は大麥澱粉の結晶型はアミロース含量に関係なく A 形であったと報告しているが、今報告もそれと同じ結果となった。

3. 澱粉の糊化特性

(1) 膨潤力・溶解度

澱粉試料 3 種類の吸水および加熱による膨潤力・溶解度の結果を Fig. 5 に示した。もち麦澱粉は膨潤力は 80℃まで 3 種類の中では最も大きい傾向を示し、95℃では上澄み液と沈殿部の分離ができなかった。溶解度は 80℃までは 3 種とも近似であったが、95℃は最も大きくなり、もち麦澱粉は膨潤力、溶解度ともに高い傾向を示した。えん麦澱粉は膨潤力が低く、溶解度はコシヒカリ澱粉より高かった。

(2) R V A による澱粉の粘度

澱粉の粘度測定の結果を Table. 4 に示した。もち麦澱粉は最高粘度時の温度が 73.8℃ と他の 2 種類の澱粉に比べて低く、最低粘度は高く、コンシステンシイは低い傾向を示した。えん麦澱粉は最高粘度、ブレイクダウンが他の 2 種類の澱粉に比べて低く、最終粘度は高い傾向を示し、最終粘度は最高粘度よりも高い結果であった。コシヒカリ澱粉ともち麦澱粉の最高粘度は近似であった。このことからもち麦澱粉は糊化開始温度と最高粘度の温度は比較的低いがブレイクダウンが大きく膨潤した澱粉粒の崩壊が大きいといえる。それに対し、えん麦澱粉はブレイクダウンが他の 2 種よりも少なく、澱粉粒の崩壊が少ないと考えられた。温度低下時の粘度増加が見られた。吉元²⁰⁾ はアミロースを含まないもち種大麦と低アミロース大麦は普通種大麦に比べて糊化開始温度が 10℃ 以上低く、最高粘度も高いこと、普通種大麦は 92.5℃ 保持中に最高粘度に達するが、もち種大麦と低アミロース大麦は昇温過程で最高粘度に達すること、もち種大麦と低アミロース大麦澱粉は普通種に比べて、膨潤力が大きく、また加熱により澱粉粒が崩壊しやすく、ゲル化しにくいなどの性質を持つと報告しているが、今回のもち麦澱粉の R V A による粘度測定も同様の結果となった。温度低下時の粘度低下はアミロース含量の高い普通種大麦に見られる傾向であるがえん麦澱粉の粘度にその傾向

が見られた。

えん麦澱粉は最高粘度、ブレイクダウンが低く、コンシステンシィが3種類中一番高い結果となった。一般に、最高粘度が低い澱粉はコンシステンシィが高くなる傾向がある。これはアミロース含量との相関が高い。即ち、アミロース含量が多いえん麦は澱粉は最高粘度が低い値を示した。その反対に、コンシステンシィの値は高い結果であった。アミロース含量の多い澱粉はゲル化しやすいことが原因の一つであると考えられた。また、ブレイクダウンが低い値を示したことは、えん麦澱粉の膨潤度は低く、加熱により膨潤した澱粉粒が崩壊しにくく、熱安定性が良い結果であると考えられた。

総括

本研究はもち麦とえん麦の利用法を考えるために行った。もち麦澱粉の特性はアミロペクチンの Fr.Ⅲ / Fr.Ⅱ の値はコシヒカリ澱粉と近似であった。もち種と呼ばれているがわずかにアミロースが含まれていた。アミロペクチンの平均鎖長はえん麦、コシヒカリ澱粉よりも長かった。RVAの粘度測定から見ると糊化開始温度は他の2種の澱粉より比較的低いが高粘度はコシヒカリに次いで高く、ブレイクダウンが大きかった。もち麦澱粉は膨潤力が大きく、高温時の溶解度は大きかった。えん麦澱粉の特性はアミロペクチンの Fr.Ⅲ / Fr.Ⅱ の値はコシヒカリ澱粉やもち麦澱粉より小さかった。アミロース含量は

もち麦澱粉やコシヒカリ澱粉よりも多い結果であった。アミロペクチンの平均鎖長はもち麦より短かった。RVAの粘度測定では最高粘度は3種の中で最も低く、ブレークダウンが小さかった。膨潤力が3種の中で最も低く、溶解度はもち麦に次いで大きかった。以上のことを考慮し、もち麦澱粉、えん麦澱粉をベーグルパンに利用した結果、粘弾性を付与し食感や食味を向上させることができ好評であった。今後は配合量を増やし更に調理・加工への利用を検討していく予定である。

要約

日常の食事の中で食物繊維を多く摂取することを目的にもち麦粉とえん麦粉の利用法を検討するために各々の澱粉のアミロペクチンの鎖長分布と糊化特性をコシヒカリ澱粉と比較した。

①アミロペクチンの鎖長分布より次のことが明らかになった。

- ・ Fr.Ⅲ / Fr.Ⅱ の値はもち麦澱粉は 3.93、えん麦澱粉は 2.82、コシヒカリ澱粉は 3.22 であった。

- ・ 平均鎖長 60 以上の長鎖がもち麦澱粉は 13.3mol%、えん麦澱粉は 6.7mol% となり、コシヒカリ澱粉は 8.8mol% でその割合と比較するともち麦澱粉は多く、えん麦澱粉は少ない傾向であった。短鎖では 10～20 の鎖長がもち麦澱粉とコシヒカリ澱粉が多く、えん麦澱粉は 10 以下の鎖長の分布が多かった。

・ Fr.Ⅱ と Fr.Ⅲ の和の数平均鎖長は、もち麦澱粉 32.9、えん麦澱粉 31.7 となり、コシヒカリ澱粉の 21.6 より数平均鎖長は長かった。

②もち麦澱粉は膨潤力と溶解度がともに高い傾向を示した。えん麦澱粉は膨潤力は他の 2 種に比べて低いが、溶解度は高かった。

③ R V A によるもち麦澱粉は最高粘度、ブレイクダウンの値が高かった。えん麦澱粉は最高粘度、ブレイクダウンは他の 2 種類と比べると低かったが、最終粘度は最高粘度よりも高かった。

この研究を進めるにあたり、機器測定に際しご便宜をはかっていただきました東京農業大学栄養科学科の方々と試料をご提供いただきました共立女子短期大学の津田淑江博士に厚く御礼を申し上げます。

文献

- 1) 中村幸一・谷地田武男・斎藤昭三, 大麦の食品加工原料としての性状とその利用に関する研究－大麦粉の製パンへの利用－: 新潟食研報, **19**, 69-74(1983)
- 2) 諸橋敬子・秋本隆司・山田進, 県産モチ種大麦の性状及び麦飯・大麦麺への利用性: 新潟食研, **29**, 21-25 (1994)
- 3) 竹内枝穂・津田淑江, 品種の異なる大麦粉の食パンへの利用: 調理科学会誌, **36**, 1, 23-31(2003)
- 4) 原たつえ・高崎房子・中ノ瀬千尋・大家千恵子, ベーグルの調理特性(第2報)－大麦粉の利用－: 東京文化短期大学紀要, **21**, 31-38(2004)
- 5) 瀬尾弘子・浜田陽子・高橋恭子・香西みどり・畑江敬子・杉山宏・椿和文: 大麦 β -グルカンの添加が各種調理食品の嗜好性に及ぼす影響: 調理科学誌, **37**, 2, 58-66 (2004)
- 6) 大家千恵子・梅國智子・原たつえ・高崎房子・中ノ瀬千尋: 低アレルギー加工による米澱粉の変化, 日食保蔵誌, **29**, 2, 83~88(2003)
- 7) 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)

- 8) SCHOCH, T.J.: Non-carbohydrate Substances in the Cereal Starches, J. Am. Chem. Soc., **64**, 2955 (1942)
- 9) 貝沼圭二・山本和夫・鈴木繁男・高谷友久・不破英次：澱粉の構造と物性に関する研究 第4報 分級馬鈴薯澱粉の構造および利用特性, 澱粉科学, **25**, 3~11 (1978)
- 10) 中村道徳：フェノール硫酸法による全糖の定量, 澱粉科学ハンドブック (二國二郎監修) (朝倉書店), p. 189 (1984)
- 11) HIZUKURI, S., TAKEDA, Y., YASUDA, M. and SUZUKI, A.: Multi-Branched Nature of Amylose and the Action of Debranching Enzymes, Carbohydr. Res., **94**, 205 (1981)
- 12) 貝沼圭二・小田垣郎・鈴木繁雄：澱粉のリン酸誘導体に関する研究 第一報 無水リン酸による架橋型リン酸澱粉の合成, 澱粉工, **14**, 24~28 (1967)
- 13) 渡辺英夫・鈴木修：ラビットビスコアライザーによる小麦粉ビスコグラム, ブレイクダウンの簡易測定, 日食工, **38**, 44~48 (1991)
- 14) A.W.MacGregor, and G.B.Fincher, "Barley Chemistry and Technology" ed. by A.W.MacGregor and R.S.Bhatty, Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN, 88~89 (1993)
- 15) R.S.BHATTY and B.G.ROSSNAGEL: Zero amylose Lines of Hull-less Barley, Cereal Chem., **74**, 190-191 (1997)
- 16) 石井靖子・永島伸浩・川端晶子・中村道徳：澱粉科

学, **37**, 251 (1990)

17) 中村道徳：澱粉粒の生成と構造，澱粉科学ハンドブック（二國二郎監修）（朝倉書店），p. 130 (1984)

18) HIZUKURI, S., KANEKO, T., TAKEDA, Y.: Measurement of the chain length of amylopectin and its relevance to the origin of crystalline polymorphism of starch granules, *Biochem. Biophys. Acta.*, **760**, 188~191 (1983)

19) 檜作進：澱粉分子の微細構造の解明をめざして，澱粉科学，**40**, 133~147 (1993)

20) 吉元寧，鹿児島大学 博士論文，(2001)

