

## 総説特集 素材のおいしさを科学する - 4

## 小麦粉製品の組織構造と食感について\*

前田 竜郎\*\*

(\*\*株式会社 日清製粉グループ本社 R&amp;D・品質管理本部 基礎研究所)

食品テクスチャー（食感）は、食品のおいしさを評価する上で極めて重要な要素である。パン、麺に代表される小麦粉製品の特有の食感は組織構造との関連性が指摘されているが、小麦粉製品の食感と組織学的特性についての報告例は少ない。今回、組織学的特性を数値化するための可視化・評価技術を検討した。その結果、小麦粉製品の主要成分であるグルテンと澱粉粒のマトリックス（複合体）を立体的に、同時に可視化する、蛍光イメージング操作 (Fluorescent Imaging Process) を開発した。従来の可視化手法は煩雑で、長時間かかっていたが、この操作により短時間で、迅速に可視化することができた。また、得られたデジタル画像から必要な成分を抽出する手法も検討した結果、適切な画像処理・画像解析手法を採用することにより特定成分の定量化が可能となった。

キーワード：蛍光イメージング技術、画像解析、小麦粉製品、組織構造、食品テクスチャー

## はじめに

食品テクスチャーは、食品のおいしさを評価する上で極めて重要な要素である。Szczesniak<sup>1,2)</sup>は、食品のテクスチャーとは「食品の物理化学的性質の総合的な食感、または、構造およびレオロジー的性質の喫食時の感覚」と定義している。また、テクスチャーを力学的特性、幾何学的特性、その他の特性の3つに分類している。Brandtら<sup>3)</sup>は、食品テクスチャーを段階的にとらえることで、最初の噛んだ感覚、咀嚼中の感覚、咀嚼した残さの3つに分類し、さらに、噛み始めのステージは力学的特性と形状組成的特性に依存しているとしている。山野<sup>4)</sup>は、食品テクスチャーに関連する要素として力学的特性と組織構造をあげている。

## 1. 小麦粉製品の食感の多様性

小麦粉製品はパンに始まり、うどん、パスタ、ケーキ、ビスケット、お好み焼きなどがあり、小麦粉の用途は非常に広い。小麦粉は捏ねる際に加える水の

量によって、さまざまな状態に変化する。これはグルテンと呼ばれる粘弾性のあるタンパク質ができる性質があるからである。小麦粉（100%）に対して、パンでは60～80%の水を加えて捏ねて伸展性と弾力性の付与された生地、麺では30～60%加水で伸展性の少ない硬い生地、そして、ケーキや天ぷらは100%以上の加水でとろっとした状態のバターができる。その後、茹で、蒸し、焼成、揚げなどの加熱工程を経て製品となる。小麦粉製品の食感は、弾力があるソフトなパンや、歯ごたえのある強いこしうどん、そして、サクサク感のあるビスケット等がある。このような特徴ある食感（食品テクスチャー）は小麦粉成分の性状に加えて、製法特性による製品特有の組織構造によってもたらされると考えられている。

## 2. 組織構造と食感についての研究の歴史

食感の力学的特性に関する研究は数多く行われて

\* Received May 19, 2005; Accepted June 22, 2005

Relationships between mesostructure and food texture on flour-based products

\*\* Tatsuro Maeda: Research Center for Basic Science Research and Development, Quality Assurance Division Nisshin Seifun Group Inc., 5-3-1, Tsurugaoka Oi-Machi, Iruma-Gun, Saitama, 356-8511; maedat@mail.ninet.co.jp; Fax +81-49-266-2749

きたが、それに比べて組織学的特性(幾何学的特性)についての報告は少ない。'70年代から肉類、魚類、植物体の組織構造と食品テクスチャーとの関係について報告が一部されている。評価手法は、食品組織を固定化した後、薄片化し、そのままの状態か、染色をして顕微鏡観察するというものである。Herring<sup>5)</sup>らは、位相差顕微鏡により観察した牛肉の筋原線維中の構成単位(筋節)間の長さを測定し、計測値と肉のやわらかさとの関係を示している。SzczesniakとSmith<sup>6)</sup>は、生イチゴ、冷凍イチゴ、真空凍結して再湿させたイチゴについて力学的測定、顕微鏡観察を行っている。冷凍イチゴ、真空凍結して再湿させたイチゴは生イチゴに比べ、硬さや歯ごたえは著しく劣っていた。テクスチャーが劣っていた原因として、細胞の原形質化、細胞質の不規則な凝集、細胞膜の折り重なり、細胞中で部分的に破壊された組織構造との関連を指摘している。Reeve<sup>7)</sup>は、光学顕微鏡により観察した生鮮または加工した果実・野菜の粘弾性と組織構造の関連について報告している。青果物の細胞間形成材料(細胞壁)であるペクチン質、ヘミセルロース、セルロース、リグニン等によりできている。この細胞壁の構造は、いろいろな層を結合材で固めて強度や剛度をもたせて変形に対する抵抗性を持たせている人工的多層構造体とよく類似しているとしている。Reeveは、“テクスチャーは、その物質の各部分が全体を構成しているあり方に関係するので、テクスチャー特質の根源は本質的に組織学である”と述べている。また、豊原<sup>8)</sup>は、鮮魚の肉質の食品テクスチャーについて報告している。肉質の軟らかい魚の筋肉ほど筋繊維は太く結合組織量が少ないが、反対に肉質の硬い魚の筋肉では筋繊維は細く結合組織量が多い傾向があることを示している。また、筋繊維内に多数走行する筋繊維のテクスチャーへの寄与も示唆している。

### 3. 組織構造の可視化技術

#### 3.1 観察手法の発展

従来の観察手法であるデジタルマイクロスコープカメラ(Digital Microscope Camera: DMC)、実体顕微鏡(Stereo Microscope: SM)、光学顕微鏡(Light Microscope: LM)、偏光顕微鏡(Polarizing Microscope: PM)、位相差顕微鏡(Phase Contrast Microscope: PCM)、微分干渉顕微鏡(Differential Interfer-

ence Contrast Microscope: DICM)、走査型電子顕微鏡(Scanning Electron Microscope: SEM)、透過型電子顕微鏡(Transmission Electron Microscope: TEM)に加えて、最近のナノテクノロジー分野の技術革新から、最先端の可視化技術が開発されている。これにより肉眼で観察できるマクロ領域から、原子・分子を観察できるナノ領域へと広がり、可視化できる領域が飛躍的に拡大した。例えば、走査型プローブ顕微鏡(Scanning Probe Microscope: SPM)は細く尖った探針を用いた顕微鏡の総称で、走査トンネル顕微鏡(Scanning Tunneling Microscope: STM)、原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscope: AFM)、そして、走査型近接場光学顕微鏡(Scanning Near field Optical Microscope: SNOM)がある。これらは、電子顕微鏡よりも高い分解能で観察することが可能である。また、医療画像診断の現場で活躍している核磁気共鳴イメージング法(Magnetic Resonance Imaging: MRI)やX線コンピュータ断層撮影法(X-ray Computed Tomography: X-ray CT)などの可視化技術も食品分野での活用が始まっている。

#### 3.2 観察領域について

顕微鏡的な観察に基づいた、食品の内部組織構造の可視化と同時に食感に直接影響すると考えられる幾何学的配列と構造についての情報を解析できる。表1に観察領域とスケールとの関係を示す。上段の小麦粉の主要成分について、製品や生地など肉眼で見えるマクロ領域からグルテンの構成成分であるグルテニンとグリアジンなどのマイクロ領域に対応した可視化装置を下段に示す。これらにおいて、観察する領域によって組織構造の見え方が全く異なってしまうことから、どの領域をターゲットにするかが重要なポイントとなる。本研究では、マクロとマイクロの中間領域に当たるメソ領域に着目して、特徴的な幾何学的配列(パターン)の可視化を行った。パターンは、多孔質構造、網目状構造、多層状構造、ゲル状構造、棒状構造、ひも状構造、粒状構造、薄片状構造、繊維状構造、膨化状構造、造粒状構造などが例として挙げられる。

### 4. 蛍光イメージング可視化技術による小麦粉製品の組織構造観察

#### 4.1 蛍光イメージング可視化技術の開発

小麦粉製品の組織構造と食感について

表1 観察スケールと観察領域との関係。

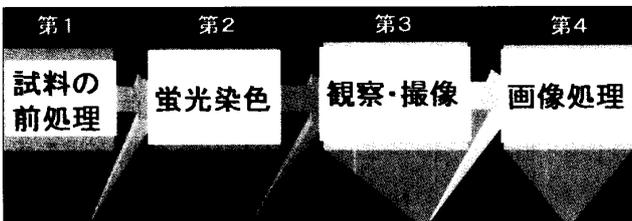
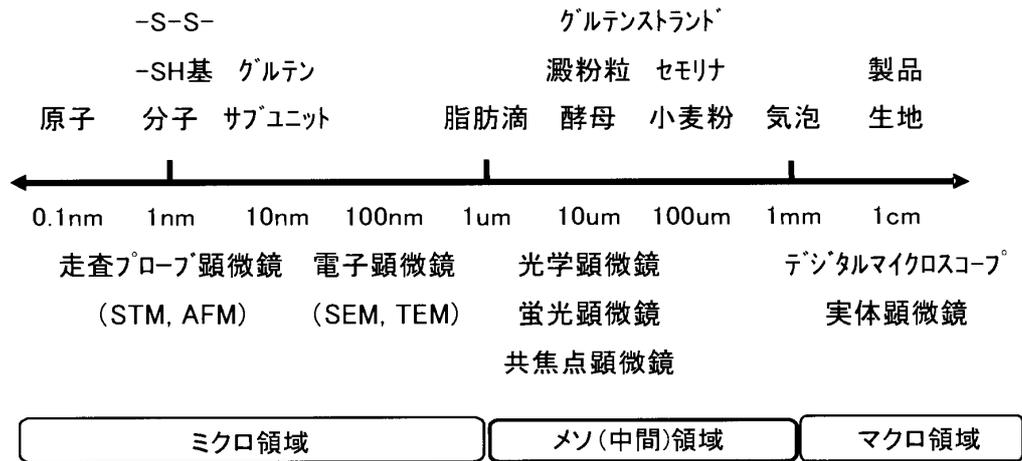


図1 蛍光イメージング操作。

小麦粉製品に共通に存在している澱粉粒-グルテンの複合体（マトリックス）の可視化は組織構造を考える上で必要となる。しかしながら、従来手法のLM、SEM、TEMで澱粉粒-グルテンマトリックスを鮮明に識別することは困難である。また、撮像したデジタル画像から組織構造特性を引き出すための画像処理・解析技術も不足していた。このような観点から筆者は、図1に示すような蛍光イメージング操作（Fluorescent Imaging Process）を開発した。操作手順は、第一は小麦粉製品の試料を急速凍結した後、クライオスタットによって観察に適した厚さまで薄片化した。従来前処理方法としては化学固定（ホルマリン、グルタルアルデヒド）処理や凍結乾燥法が用いられる事が多いが、本法では凍結保護剤中で急速凍結処理した。第二は試料を特定蛍光染色剤により染色した。第三は蛍光顕微鏡もしくは共焦点レーザー顕微鏡などにより主要成分（グルテン、澱粉粒、脂肪他）を観察・撮像した。第四は得られたデジタル画像は、画像処理・画像解析した。本手法の特徴は、従来の組織学的なアプローチは、時間がかかり敬遠されがちであったが、前処理から試料の観察までの時間を1時間以内に短縮した。

4.2 蛍光イメージング技術の小麦粉製品への応用

4.2.1 可視化像について

この技術を活用して各種小麦粉製品（ビスケット、スパゲッティ、うどん、パンなど）の内部組織構造の観察を行った結果、小麦粉製品内部組織構造のグルテン（黒色）と澱粉粒（白色）のマトリックスを特定の蛍光波長で鮮明に識別することが可能となった。また、製造プロセスの生地やバターなどの経時的な変化を追跡することが可能である。

小麦粉製品への応用事例として、図2に、ソフトビスケットとハードビスケットの内部組織構造を観察した蛍光イメージング像を示す。さくさく感のあるソフトビスケットでは多孔質構造が形成されていた。パキパキ感のあるハードビスケットでは緻密な多層状構造を形成していた。図3は、手延べ麺と機械製麺の麺線方向のグルテン束（ストランド）についてイメージング像を示した。茹で上げ直後の澱粉のゲル化構造中に存在しているグルテンストランドは、手延べ麺では麺線方向に配列が見られ、長く、太い棒状構造が観察された。一方、機械製麺では麺線方向に短く、細いひも状構造が見られた。特徴ある手延べ麺の食感はこのグルテンストランドの構造特性に依存する可能性が示唆された。

4.2.2 画像処理・画像解析について

今回、画像処理は特定成分（グルテン、澱粉粒、脂質、パン酵母、気泡）の部分の画像から抽出するため2値化処理を行なった。2値化処理とは、多階層（一般的には256階調（2<sup>8</sup>ビット））で入力した画像の濃度値を2階調（2種類の濃度値）に落とす処

理である。図4に画像処理の一例を示す。最初にカラー原画像を画像解析しやすい48ビットから24ビットの情報まで画質を落とした。次に、周囲と中心部の輝度むらを是正した後、さらに画像のコントラストを上げて見え難い物を見やすくし、特定成分と背景を区別し易くするためにイコライズ等の強調処理を行なった。そして、特定の蛍光色(赤色)に染色されているグルテンストランドだけを2値化処理により画像から抽出した。その結果、抽出された部分は白色として他の部分と完全に識別することができた。

画像解析はこの白い領域に対して形態の領域分割(特徴抽出)を行い、形態の基本情報を得るために定量的解析を行う。一般的には形態の基本的なパラメーターである面積、半径、周囲長、長径短径比(アスペクト比)を求める。また、骨粗鬆症の病態指標を評価するために用いられている骨組織形態計測法<sup>9)</sup>がある。われわれはこのモデルを適用し、骨を澱粉粒のゲル状構造、骨梁をグルテンと見立て形態解析を試みている。代表的な手法として、骨梁の連結性を調べる Node-Strut 法<sup>10)</sup>と Star Volume 法<sup>11)</sup>、骨梁の異方性を調べる Mean Intercept Length 法<sup>12)</sup>、間隔を評価する Run Length 法<sup>13)</sup>、骨梁をフラクタル

図形と考え、そのフラクタル次元(Fractal Dimension)を求める Fractal 解析法、骨梁の分布状況を見るための Fourier 解析法などがある。

#### 4.2.3 3次元画像表示

デジタル画像中の特定成分を各種手法によって3次元画像表示することで、より全体をよりわかりやすくすることができる。3次元画像処理とは、多くの2次元情報の中から目的に応じて取捨選択し、情報量を整理することで付加価値を得る処理である。3次元再構築方法として、サーフェス・レンダリング法とボリューム・レンダリング法の2種類が知られている。

##### 4.2.3.1 サーフェス・レンダリング法

サーフェス・レンダリング法は、全体ではなく画像の指定した特定成分の表面形状を可視化する手法である。閾値で検出した表面境界に、3次元的な濃度勾配をしきい値で検出した表面境界に、3次元的な濃度勾配を陰影付けに反映させるグラディエント法でシェーディングを行っている。しかし、表面境界が急激に変化するためエッジの不自然さが目立ってしまう。

図5にミキシング段階におけるパン生地中のグルテンについてサーフェス・レンダリング法を適用した例を示す。手順は、ミキシング段階におけるパン生地中のグルテンを蛍光イメージング技術により可視化した。そのデジタル画像の2値化処理をして、グルテンストランドのみ抽出を行った。このグルテンに対してサーフェス・レンダリング処理を行い3次元的な画像を得た。その結果、ミキシング段階が進むにつれて、最初は塊だったグルテンが、束状に分散して行き、最適段階から過剰ミキシングI段階でグルテンが均一な網目状構造に分散し

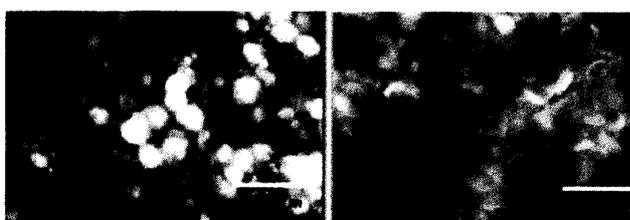


図2 ビスケットの内部組織構造。  
(左側：ソフトビスケット、右側：ハードビスケット)

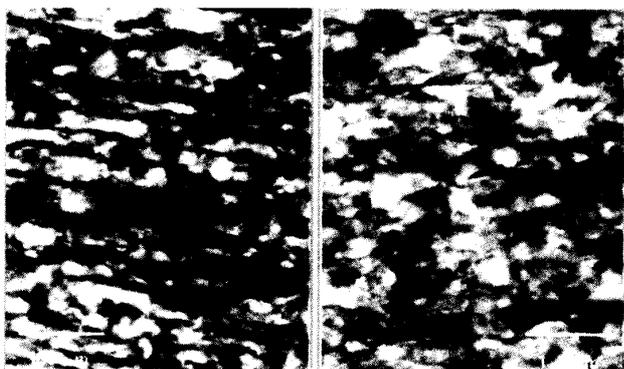


図3 うどんの縦断面(麺線方向)の内部組織構造。  
(左側：手延べうどん、右側：機械製麺うどん)



図4 画像処理操作。

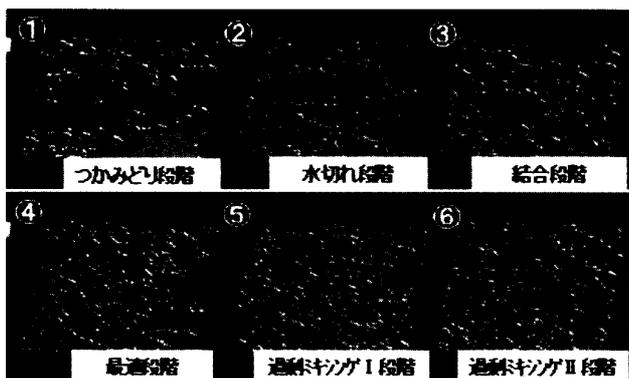


図5 ミキシング段階でのパン生地中グルテンの3次元可視化。(サーフェイス・レンダリング法)

ていることが分かる。さらにミキシングを進めた過剰ミキシングⅡ段階では、グルテンは薄い膜状構造となるため、グルテン網目状構造の均一分散が崩れていた。このように、可視化像から最適ミキシング条件と最適組織構造との関係が示された。また、各ミキシング段階のパンを造り、官能試験、圧縮試験により食感を評価した。その結果、最適ミキシングで最も軟らかく、ソフトなクラム（パンの内側の白い部分）が造られることが分かった。このように小麦粉製品の配合や製法の違いにより、特徴ある組織構造と食感が強く関連していることが推察された。

#### 4.2.3.2 ポリウム・レンダリング法

ポリウム・レンダリング法は、表面形状のみの可視化法ではなく、特徴抽出などにより組織をクラスタリング(区分け)し、各成分を構成するポリウムデータに対し不透明度やシェーディング処理された色情報を与えてレンダリングを行う手法である。このような多値化処理を行うことにより内部情報があるがままの自然な状態で詳細かつ正確、また多様に表現することができる。

図6にパン生地中のパン酵母をポリウム・レンダリング技術により3次元的に再構築した可視化画像を示す。細胞表層工学技術<sup>14,15)</sup>によって創製されたEGFP(緑色蛍光タンパク質変異体)提示パン酵母表層を活用した。この光るパン酵母を通常のパン酵母の代わりにパン生地中に配合し、製パンミキシング段階でパン生地をサンプリングした。この生地を急速凍結した後、回転式の連続スライサーで切削した断面を蛍光顕微鏡(励起波長:490nm、蛍光波長:520nm)で連続的に観察・撮像した<sup>16)</sup>。

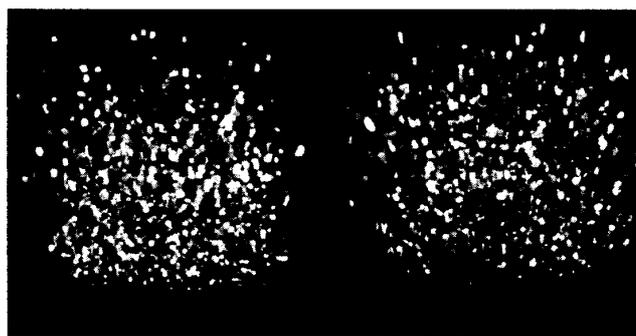


図6

撮像されたデジタル画像はポリウム・レンダリング法によりコンピュータ内で3次元に再構築し、検出された各パン酵母に異なった彩色を施し、パン生地自体には透明化を施す処理により、立体感を伴って全方位からの分布状態の把握できるようにした<sup>16)</sup>。この3次元可視化画像から、初期段階では立方体内部の手前から後ろにかけてパン酵母が凝集しているが、最適段階では均一に分散していることがわかる。ミキシングの初期段階では、パン酵母の分布は均一にはなっておらず、おいしいパン作りに最適とされているファイナル段階でパン酵母がパン生地中に均一に分布していることが明らかとなった。

#### 5. おわりに

組織構造と食感についての研究の歴史をレビューし、さらに、蛍光イメージング技術の最新の動向について紹介した。小麦粉製品の内部組織構造の可視化技術は、製造プロセスにおける組織構造の変化や新製品の評価などに有効と考えられる。また、そこから特定成分の情報を抽出することで画像処理・画像解析により、客観的に評価も可能となる。しかし、食品の2次元構造や3次元構造を解析するための形態解析手法は十分とは言い難く、今後更なる評価手法の改良・開発が必要である。また、蛍光イメージング技術はMRI(核磁気共鳴イメージング法)などの最新技術との技術融合などにより、更なる技術革新を目指し、小麦粉製品の「おいしさ」に関わる品質特性を新たな視点から解析していきたい。

#### 6. 謝辞

この研究を推進するにあたり、技術的なご指導を頂きました。岩手大学農学部農業生命科学科三浦靖助教授、ラトックシステムエンジニアリング社南郷

脩史社長、独立行政法人食品総合研究所食品工学部電磁波情報工学研究室杉山純一室長、日本大学生物資源科学部生物環境工学科都甲洙先生、京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻生体高分子化学研究室植田充美教授、白神博士に深く感謝致します。

## 文 献

- 1) Szczesniak AS and Kleyn DH: Classification of textural characteristics. *J. Food Sci.* 28, 285-289 (1963)
- 2) Szczesniak AS: Consumer awareness of texture and of other food attributes. *J. Texture Studies* 2, 196-206 (1971)
- 3) Beandt MA, Shinner EZ and Coleman JA: Texture profile methods. *J. Food Sci.* 28, 404-409 (1963)
- 4) 山野善正: 食品のテクスチャーの評価. *日食工誌* 44, 83-92 (1997)
- 5) Herring, HK et. al.: Sarcomere length of free and restrained bovine muscles at low temperatures as related to tenderness. *J. Sci. Food Agric.* 16, 379-384 (1965).
- 6) Szczesniak AS and Smith B: Observation on strawberry texture. A threepronged approach. *J. Texture Studies* 1, 65-89 (1969)
- 7) Reeve RM: Relationship of histological structure to texture of fresh and processed fruits and vegetables. *J. Texture Studies* 1, 247-284 (1970)
- 8) 豊原治彦: 水産食品の辞典 (山澤正勝, 藤井建夫, 竹内昌昭編), 朝倉書店, 東京, pp. 98-100 (2000)
- 9) 内山陽介, 谷澤龍彦, 高橋栄明: 骨組織形態計測における骨梁構造の評価法. *日骨形態誌* 4, 83-89 (1994)
- 10) Grarahan NJ, Mellish RWE and Compston JE: A new method for the two-dimensional analysis of bone structure in human iliac crest biopsies. *J. Microsc.* 142, 341-349 (1986)
- 11) Vesterby A, Gundersen HJG and Melsen F: Star volume of marrow space and trabeculae of the first lumbar vertebra: Sampling efficiency and biological variation. *Bone* 10, 7-13 (1989)
- 12) Cowin SC: The mechanical properties of cancellous bone. In "Bone Mechanics" (Cowin SC ed), CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 129-155
- 13) Parfitt, AM, Mathews CHE, Villanueva AR, Kleerekoper M, Frame B and Rao DS: Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. *J. Clin. Invest.* 72, 1396-1409 (1983)
- 14) 村井稔幸, 植田充美: 細胞表層工学(Cell Surface Engineering). *Bio Industry* 15, 19-27 (1998)
- 15) Shibasaki S, Ueda M, Iizuka T, Hirayama M, Ikeda Y, Kamasawa N, Osumi M, Tanaka A: Quantitative evaluation of the enhanced green fluorescent protein displayed on the cell surface of *Saccharomyces cerevisiae* by fluorometric and confocal laser scanning microscopic analyses. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55, 471-5, (2001)
- 16) 都甲洙, 相良泰行, 工藤謙一, 横田秀夫, 樋口俊郎: マイクロスライサ画像処理システムによるブロッコリーの表面積および体積の計測. *農業施設* 28, 21-29 (1997)
- 17) Ogawa Y, Sugiyama J, Kuensting H, Ohtani T, Hagiwara S, Liu X Kokubo, M, Yamamoto A, Kudoh K, and Higuchi T: Advanced technique for three-dimensional visualization of compound distributions in a rice kernel. *J. Agri. Food Chem.* 49, 736-740 (2001)

## < 著者紹介 >

前田 竜郎 (まえだ たつろう) 氏略歴

- 1987年 北海道大学水産学部水産学科卒業
- 1989年 千葉大学大学院園芸学研究科農芸化学専攻修士課程修了
- 1989年 日清製粉(株)食品研究所食品科学研究室
- 1999年 同社基礎研究所
- 2001年 (株)日清製粉グループ本社基礎研究所、現在に至る

