

各種食品デンプン粒の形態観察および 光学顕微鏡標本の作り方

今 中 鏡 子*

Morphological Observation of Starch Particles in Various Foods and Methodology of Preparing Samples for Optical Microscopes

Kyouko IMANAKA

Key words : デンプン粒 starch particle, 植物性食品組織 structures of vegetal food, 標本作製 preparing of observational samples, 光学顕微鏡 optical microscopes, 偏光十字 a polarized cross, 加熱デンプン粒 heated starch particles

緒 言

デンプンを多く含む身近な食品の組織を光学顕微鏡で観察した。

デンプンは植物の光合成により作られ、生命体が最も利用しやすいエネルギー源である。それは、我々が利用するのみならず、食物連鎖の第一次消費者である草食動物などに取り込まれ、次々と食物連鎖を展開してゆく。この壮大な生命の営みに関わる根源にデンプンは存在する。

このデンプンの構造は、ブドウ糖が α 1-4結合した直鎖状のアミロースと所々 α 1-6結合して枝分かれしたアミロペクチンとがある。いずれにしてもブドウ糖が重合した物質であり、どの食品のデンプンも成分としては同じであるが、貯蔵デンプン粒を観察すると食品によって全く異なった形態をしている。ここで観察する貯蔵デンプンは、光合成された同化デンプンが水に溶けやすい糖に変化し、植物の貯蔵器官に送られて再びデンプンに合成されたものである。

これまでこうしたデンプン粒の観察は行われているが、一般にはそれのみを抽出して扱ったものが多い。今回は植物組織のまま顕微鏡標本を作り、自然の形で貯蔵されたデンプン粒を観察した。

そのために植物組織を5 μ m厚さの薄片にし、着色して目的の物質を識別する。こうした形態の記録は、最終的に写真によるので、真実を伝えて美しい方がよい。まずはこのような観察の例をジャガイモの組織を使って述べ、つづいて次のような観察結果を報告する。

観察1. 食品によって形態が異なるデンプン粒を観察し、同じ位置を偏光顕微鏡でも観察する。ここで偏光十字が交差する点（ハイラム デンプン形成中心 hilum: 臍¹⁾）の位置から、各デンプン粒の形を考察し大きさを測定した。また、その周辺の組織も観察した。

観察2. 食に適した頃合いの加熱デンプン粒の形態を報告する。

以上の観察に当たり写真データ1,200枚を記録したが、紙面の関係で85枚を紹介する。

それら論点の前に、今回観察に用いた試料標本（以下プレパラートと記す）は、作りにくいと一般に認識されているので、今回はその技術を「方法」で詳しく明記したい。通常、動物性のパラフィン標本は、約20時間以内で完成するが、植物組織には細胞壁があり、その上デンプン粒が多いので完成まで2週間を要する。それは主に溶液の浸透時間が長いためで、作業の延べ時間は動物性標本作製とあまり差はない。植物組織は種による差があり、染色にも微妙な操作が必要である。凍結切片も試みたが、デンプン粒が多い組織からは、5 μ mの切片は得られなかった。

こうした操作に工夫を加えながら、長年食品組織のままデンプン粒を観察してきた。この技術は、1967年から広島大学川上いつゑ教授に教えを受けた定法や工夫であり、その技術を基礎として、さらに著者がそれぞれの食品組織に合わせて考案したものである。現在のこの技術によれば、日々2時間トレーニングをして、1ヶ月で習得できる作業になった。

* 広島文化学園短期大学食物栄養学科

方 法

光学顕微鏡では電子顕微鏡の倍率は得られないが、物質を色分けして、広範囲な組織の観察に適している。

1. 試料

ジャガイモ、サツマイモ、ナガイモ（青森県産）、ムカゴ（広島県産）、サトイモ（鹿児島県産）、レンコン（熊本県産）、ショウガ（高知県）、クワイ（広島県産）、ユリネ、カボチャ、クリ、バナナ（フィリピン産）、アズキ、エンドウ（広島県産）、ウズラマメ、ソラマメ（広島県産）、ダイズ（アキシロメ広島県産）、トウモロコシ、コメ（コシヒカリ広島県産）

2. 試料標本（プレパラート）の作製

作業の流れは、試料採取→固定→脱水→パラフィン浸透→包埋→切片作製→染色→封入に至る。すなわち植物組織中の水分とパラフィンを置換して、顕微鏡観察に適した5μm厚さの切片にする。この切片を採取する技術に熟練がいる。切片採取後スライドグラスに貼り付け染色した後、カバーグラスをかけて封入する。

倍率は、40倍、100倍、400倍、1,000倍で観察するが、報告では主に400倍観察を用いた。実際には印刷された写真の大きさに換算して倍率を示す。

(1) 固定（図1）

試料をカルノア氏液で固定する。試料瓶に固定液を入れ、試料名と条件を鉛筆で書いたラベルも入れる。このラベルは、後に試料をパラフィン包埋保存する場合の認識票であり、長期保存後も必要に応じて活用できるように実験条件を明記する。紙質は普通の白いコピー用紙でよい。このラベルの記録は、あらゆる試薬に堪えるように鉛筆を用いる。用紙の大きさは、試料瓶（高さ5cm弱のガラス小瓶）に入る長さとし、下方はパラフィンに埋め込むので空白部分を要する。固定液にラベルと小さく切り出した試料を最低4個保存し24時間置く。条件別に試料瓶を準備する。

(2) 脱水：アルコール脱水（図2）

試料瓶に試料やラベルを残したまま、傾けて固定液を

除き濾紙で軽く液を切る。70%アルコール溶液を試料瓶に入れて24時間。その後は図2のように99.5%までアルコール濃度を上げてゆく。

(3) 透徹（図2）

クレオソートキシロールに3時間、キシロールに3時間、試料に透明感が出れば脱水が成功している。

(4) パラフィン浸透（図2）

次にソフトパラフィンに入れ替え、試料瓶をキシロールの揮発を防いで蓋付きの金属製容器に入れ、3日間63℃の恒温器で保存。その後ハードパラフィンと入れ替えて3日63℃の恒温期で保存。この時は試料瓶の蓋を取り、残っている微量のキシロールをなるべく揮発させる。植物性組織は強靱な細胞壁が存在するため、この工程まで10日間を要する。使用するパラフィンの融点は58℃前後。

(5) パラフィン包埋（図3）

パラフィンに試料を埋める作業である。包埋をするため、いろいろな道具があるが、ここではハガキ程度の強度を持つ用紙で小さな箱を作る。出来上がった箱の巾12~15mm、長さ50~60mm、高さ10mm~12mm程度が使いやすい。図3の手順で包埋する。パラフィンは白濁せず、透明感があるほど密度が高く試料薄片を切り出しやすい。このため、パラフィンは使い古し、何回も恒温器の中で濾過し、銜色になったものが良い。

(6) 台木につける（図4）

包埋した試料は、図4のように台木にしっかりパラフィンで接着する。パラフィンブロックをカミソリの刃で丁寧に切り出し、実験用の細いナイフで台木につけるなど普通に行われているが、著者は料理用のディナーナイフを図のようにアルコールランプで暖めながら、作業を安全にすすめ、時間も短縮できる。このようにそれぞれ自分に適した方法を工夫しながら、試料を傷つけない操作をする。取り付けのコツは、パラフィンブロックの中の試料がマイクロームで切りやすいように方向を定め、適度に熱したナイフなどを使いながら、パラフィンを溶かして台木にしっかり取り付ける。

(7) 切片の切り出し（図5）

回転式マイクロームを使って5μm厚さに切り出し試

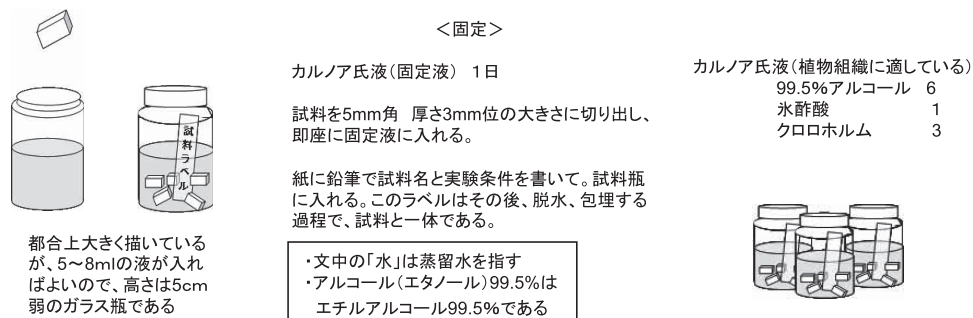


図1 試料の固定



図2 脱水 透徹 パラフィン浸透

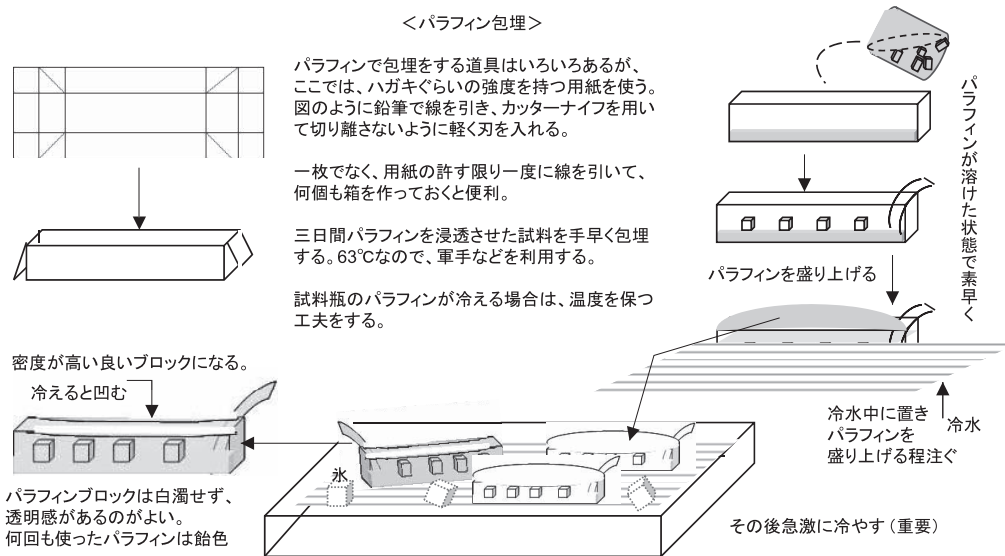


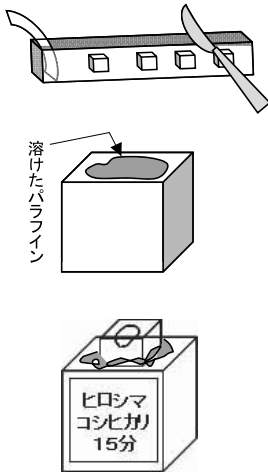
図3 パラフィン包埋

料薄片(切片)を採取する。室温は23℃以下が必要。ここで用いる回転式ミクロトームが便利なのは、デンプンが多い食品の場合、非常にもろく固いため、ブロックに息をかけ湿り気を与えながら一枚一枚丁寧に切り取るので、図5の角度が良い。デンプンが少なくなるほど、息を吹きかける操作は不要となり、容易に連続した切片が

得られる。

また、室温は薄い切片ほど低温が要る。例えばサトイモはデンプン粒が1μmと小さいため、切片は2μmと極く薄く切る。室温が8℃以下になる冬を待つようやく薄片を得た。

<台木につける>



台木は2cm立方くらいの大きさを用いる。試料の条件を鉛筆で書いた紙を図のように貼っておく。

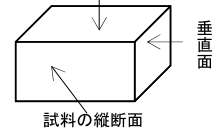
包埋した組織片の一個をナイフで切り出す。強引に切ると、中にある大切な組織片まで傷が付くので慎重に切り出す。カッターでパラフィンを慎重に削りながら、切り離す。筆者はアルコールランプでナイフを暖め、パラフィンを少しずつ溶かしながら切り離す。

ブロックにパラフィンの小片をのせナイフを熱くして溶かし、切り出した組織片を貼り付け、直ちに水道水などで冷やす。

図のように台木の方向に合わせて、組織片のパラフィンの形を整える。

試料の方向を確かめて貼り付ける。縦断面か横断面か垂直面かが分かるように、固定液に入れる前の採取時に長方形に切り出す。三方向の面に長さの差を付け、どの方向か記録をしておくを便利。観察したい面の面積を大きく。

例：試料の横断面を観察したい場合、この面を大きくするなど



試料の方向が分かるような形に切り出す(例：横断面観察)

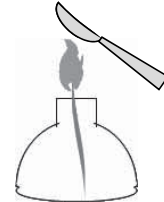
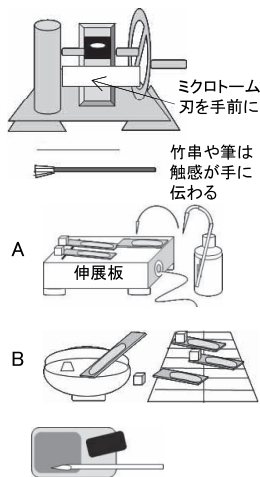


図 4 試料ブロックを台木につける

<薄片の切りかた>



ここまで約2週間をかけて準備し、脱水やパラフィン浸透も完全であるので、順調に5 μ mの薄片が得られる。しかし、もろくハラハラ崩れてしまうものがある。容易に薄片が得られない。これは、デンプン粒が多い組織である。その場合は、回転式マイクロームを図のように刃を手前にして切る。それは、台木のパラフィンブロックに息を吹きかけ、湿り気を与えて一枚一枚丁寧に切り取る。切り取った一枚は、非常に貴重であり、皺や巻き込みが少々あっても次の伸展の操作に移る。

<伸展>

A. 伸展版を使う場合に卵白グリセリンを塗布し薄くのばして水滴をのせ、薄片を浮かせると元の大きさに伸展する。伸展版の温度は、パラフィンの融点より、5~6 $^{\circ}$ C低めにする。2日間乾燥。
B. 内側黒塗り椀を使う場合：湯をはる。温度は40 $^{\circ}$ Cを中心に適当に調整する。薄片を浮かべて元の大きさに伸展するのが適温である。用心して低めの温度から浮かべ、湯を足しながら様子を見る。伸展した薄片をスライドガラスの適度な位置まで、竹串などで誘導して貼り付ける。木製マッペに置いて2日間乾燥。

マイクロームの目盛りを調節して5 μ m厚さに切る。刃の傾きも重要なので、切れ具合をみて調節する。室温は23 $^{\circ}$ C以下であること。

卵白グリセリン
泡立てた卵白を一晩濾過し同量のグリセリンを混入

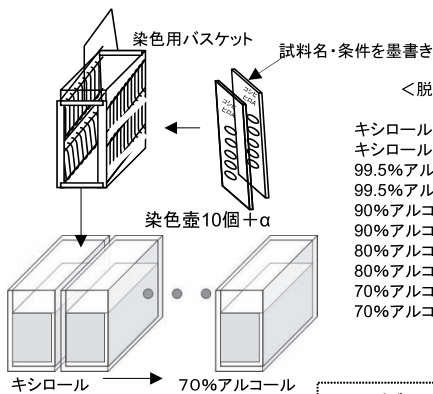
食器の椀は保温性があり、内側が黒塗りであると薄片の白が見やすい。

スライドガラス上に試料名と実験条件を墨で書くまでは、切り出したブロック(台木)をのせて試料を間違えぬよう細心の注意を払う。乾燥したスライドガラスに試料名と条件を墨で書き写す。

面相筆の根本から穂先に向けて細かな文字が書き易くなるまで、糸を巻いて用いる。



図 5 薄片の切り出しと伸展



<脱パラフィン(Down)>

キシロール I	10分間浸漬
キシロール II	すすぎ
99.5%アルコール I	5分間浸漬
99.5%アルコール II	すすぎ
90%アルコール I	5分間浸漬
90%アルコール II	すすぎ
80%アルコール I	5分間浸漬
80%アルコール II	すすぎ
70%アルコール I	5分間浸漬
70%アルコール II	保存

条件を墨で記入しおえたスライドガラスは、染色用バスケットに収納する。枚数が多いときは、スライドガラスの裏同士を合わせて処理。

99.5%アルコール5分間浸漬後スライドガラスに組織片のみ残っていれば成功。パラフィンが残っているようであれば、濾紙でアルコールを軽く切ってキシロールへ戻す。

それぞれのすすぎの後濾紙で液を軽く切る

スライドガラスが少ないときは、溝入り染色壺を使い、ピンセットで一枚ずつ作業を進める

図 6 脱パラフィン (Down)

(8) 伸展 (図5)

卵白グリセリン：伸展に入る前にスライドガラスに卵白グリセリンを塗布しておく。切片（薄片）を貼り付ける糊の役目をする。

塗布する適量を見付ける。少ないと剥離しやすく多過ぎると不要な染色剤が残る。美しく真実を伝えるための加減のしどころである。

これを約2日間室温で乾燥する。熟練後の技術として、やや温度をかけ、柔らかい風を送って時間を短縮することもあり、著者は調理用の高速レンジを利用した。朝切り出した切片を2時間前後で染色できるので急ぐときによいが、乾燥しすぎる危険も大きい。失敗分を含め、必要以上に切片を用意する。慣れない間は乾燥しすぎた像を真実と誤るので、組織構造が分からない初めての試料には使わない

(9) 脱パラフィン (図6)

切片に残っているパラフィンを取り除く操作である。染色壺10個を準備し、キシロールⅠ、Ⅱから図6のように70%アルコールⅠ、Ⅱまでダウンして保存する。この

時、いずれの染色壺もⅠの段階では図6のようにその時間浸漬して自然にパラフィンを融解離脱させ、次の染色壺Ⅱでは、軽く揺らしてすすぎ、アルコール70%Ⅱに全てのスライドガラスを収納する。枚数が少ない場合、溝入り染色壺とピンセットを用い、一枚ずつ作業を行う。

(10) 染色 (図7)

ここではデンプンの染色について述べる。たんぱく質や脂質などの染色は定法で十分染められるので文献を参照していただきたい。

ライトグリーン、ゲンチャンバイオレット、ヨードヨードカリの三重染色を行う。他にライトグリーン、サフラニンの二重染色も美しいので、図8下で紹介する。

1) ライトグリーン染色 (図7)：染色壺を用いてライトグリーン溶液に一晩浸ける（習慣として15時間以上最低時間を究明していない）。取り出して軽く水洗し、余分のライトグリーンが残っている状態で常温乾燥。乾燥を怠るとその後の操作でライトグリーンが落ちやすい。ライトグリーンは、細胞質を染めるが、細胞壁付近が好染し、その位置を鮮明にする。しかし、このライトグ

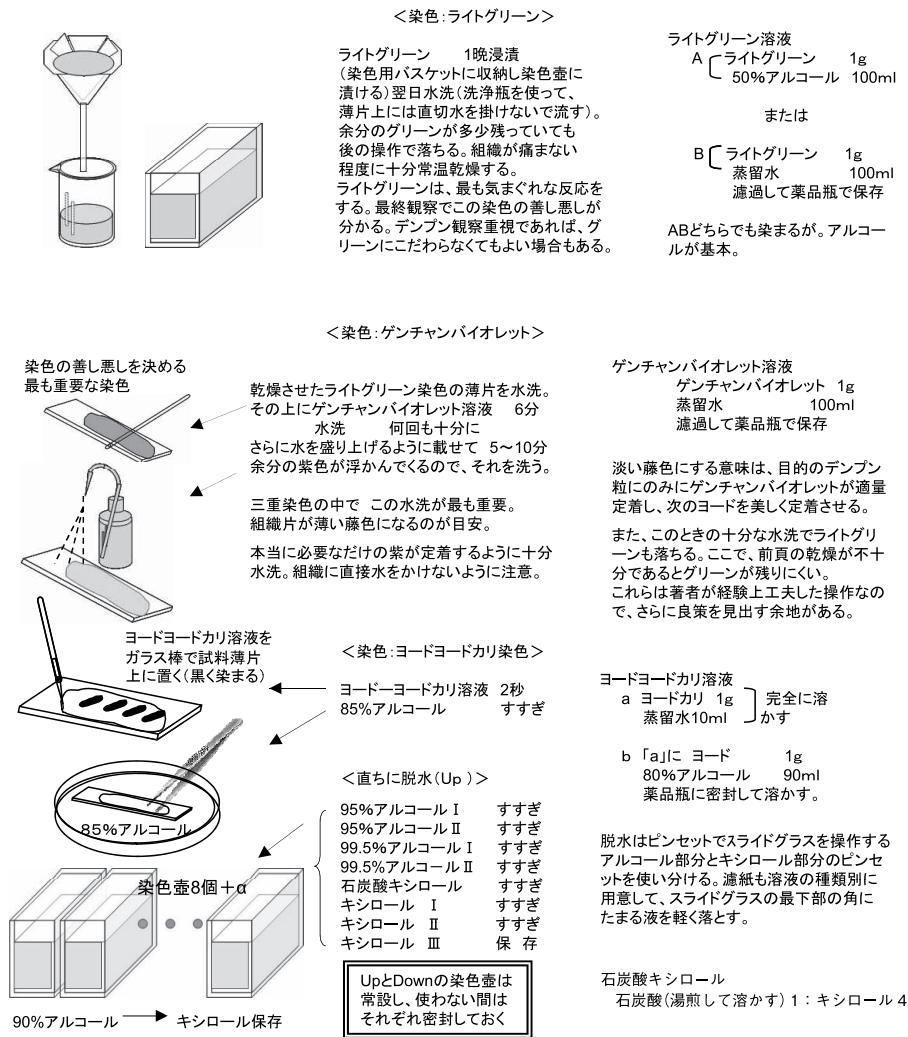


図7 ライトグリーン、ゲンチャンバイオレット、ヨードヨードカリの三重染色と脱水 (Up)

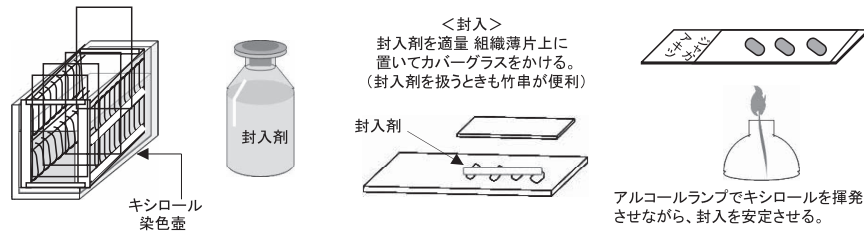


図8 封入

<サフランン染色>	
図6の試料薄片を貼ったスライドグラスをつくる	
サフランン溶液	1時間
50%アルコール	すすぎ
75%アルコール	すすぎ
95%アルコール	すすぎ
ライトグリーン溶液	2分前後
	直ちに図7の脱水(Up)95%アルコールへ
	その後は封入まで同じ
サフランン溶液	50%アルコール100ml
	サフランン1g)
ライトグリーン溶液	
ライトグリーン	1g
99.5%アルコール	100ml

サフランン染色変法:ライトグリーンを先に染め、サフランンを後で染めると別の色調になる。

リーンの染色は難しい。それは植物によって細胞質の性質が異なるためと推察する。

2) ゲンチャンバイオレット染色(図7):ライトグリーンをかけて乾燥したプレパラートにスポイドで水を掛け、ガラス棒でゲンチャンバイオレット溶液を置いて6分放置。10~20枚一度に操作可能。10分間経過しても弊害はない。原則6分染色が終わったら水洗する。洗浄瓶を使って切片の周囲から水をかける。

この操作一回では紫の色素が落ちないので、同じ組織切片上に再び水が盛り上がるようにのせしばらく置く。切片が薄い藤色になるまで繰り返す。余分な紫が残ると正確な形態観察がしにくい。

3) ヨードヨードカリ染色(図7):薄い藤色の組織にヨードヨードカリ溶液をガラス棒で掛ける。一瞬に切片は焦げ茶色になる。これをピンセットで素早く85%アルコールを張ったシャーレに浸けてすすぐ。そのピンセットのまま、次のアップ(Up)にすすむ。

4) 脱水(UP 図7):染色壺8個を準備し、95%アルコールI、IIから図7のようにキシロールI、IIまで脱水し、最後にキシロールIIIで保存する。いずれの染色壺でもピンセットを用いて緩やかに動かしてすすいでゆく。溶液濃度が変わる毎に濾紙にスライドガラスの下側の角を当て、軽く溶液を吸収させながら次の溶液に移る。

(11) 封入(図8)

キシロールIIIの染色壺からスライドグラスを引き上げ、軽く液を濾紙に落として、多少キシロールが残った状態にする。その上に封入剤を適量置いて、カバーガラスをかけ、アルコールランプの柔らかい火にこれをかざしながらキシレンを飛ばす(可燃性なので注意)。

以上でプレパラートが完成する。封入剤が落ち着いていれば、検鏡が可能である。

3. 検鏡

顕微鏡は、常に整備して光軸も合わせておく(略)。観察時には、観察倍率に合わせてコンデンサーの調節と

フィルターの使い分けが必要である。

接眼レンズはほとんど10倍を用いる。対物レンズは4倍、10倍、40倍、100倍を用いる。接眼レンズ10倍×対物レンズ4倍で観察倍率は40倍。対物レンズ10倍で観察倍率100倍こままでを低倍。それ以上を高倍で観察と表現する。顕微鏡の構造と機能は専門書に頼って欲しい。ここでは、観察時の操作について述べる。

フィルターはNCBフィルター(深い青色:色温度を上げて画面を白く調整)、NDフィルター(銀色:色を変えず明るさを落とす)、HEフィルター(ピンク:マゼンタを鮮やかにする)を主に使う。

観察に用いるフィルターの組み合わせ例は、100倍観察にND・HE・NCBの三種のフィルターを使い、400倍観察にHE・NCBフィルターを使うなど。

今回はジャガイモデンプン粒(3, 結果)の写真で染色剤とフィルターの違いを紹介する。良い光量とフィルターを使い染色されていない部分が白く抜けて観察されることがひとつの目安である。偏光顕微鏡にする場合は、二つの偏光板アナライザー(上部)とポラライザー(下方)を装着する。

結果と考察

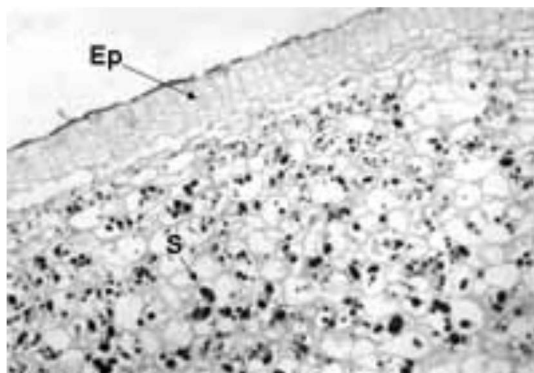
1. 各食品組織中のデンプン粒の形態および偏光像

各食品の組織中のデンプン粒を光学顕微鏡で観察した。偏光顕微鏡で観察した像を並列している(以下 偏光顕微鏡で観察した像を「偏光像」と記す)。染色は二種類行ったが、すべてライトグリーン、ゲンチャンバイオレット、ヨードヨードカリ三重染色の像を紹介し、一部ライトグリーン、サフランン染色を紹介する。

(1) ジャガイモ

今回の観察を行った染色剤とフィルターの条件をジャガイモの組織で述べるが、まず低倍観察についてみる。

1) 倍率:写真M1は、ジャガイモの組織を低倍(40倍)で観察。



写真M1 ジャガイモ 皮層部 (Ep) デンプン粒 (S)
×40

ここでは可食する髓質部にはデンプン粒 (黒い粒子) が豊かに存在するが、皮層部 (Ep) にはデンプン粒は全く認められない。細胞の形も髓質部の円形と異なり、扁平な小さな細胞が規則的に並んでいる。いかにも皮を感じ、日常のジャガイモの皮むきを連想させる楽しさが低倍観察にはある。

このように低倍ならではの広範囲な視野が得られ、組織の構造が把握できる。この視野の中から何を観察するか、何処を拡大するかを確認する。今回は、次の大きな澱粉粒を探し出した。

2) 染色法およびフィルター等による色調の変化：二種類の染色法を用いた。ひとつはライトグリーン、ゲンチャンバイオレット、ヨードヨードカリの三重染色 (写真1~4)。もうひとつはライトグリーン、サフラニン二重染色 (写真5~8) である。フィルターは、写真下方に示したように適切に使う。

光量とフィルターを正しく使うと染色されていない部分が白く抜けてみえる。白く抜けた部分は切片の厚さが $5\mu\text{m}$ なので物質が存在していても光が透過する。例えば豆類の写真32, 38の第二細胞壁 (Secondary Cell Wall)²⁾ などである。

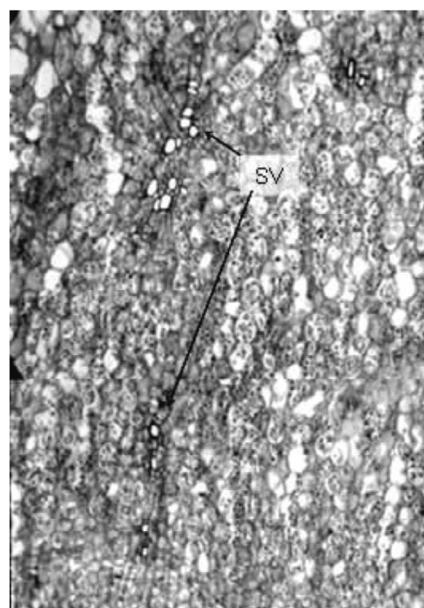
3) 有意で正確なデータ：形態観察は、前記のように色による識別であるが正確なデータとして像を選ぶ必要がある。定量実験のように数量化できれば統計的な有意差として判断ができるが、検鏡の場合もなるべく多くの個体からサンプルをとり観察を行う。実験を伴う観察で判断が難しい場合は、観察者を補佐して別人がプレパラートを顕微鏡下で差し替え、観察者が条件を判断する。100%近く正確であれば有意な差になる。

4) ジャガイモの組織について：写真1, 2, 5, 6共に細胞壁部分がライトグリーンに好染し、デンプン粒は写真1, 2ではヨードに写真5, 6ではサフラニンに好染している。特に注意したいのは写真6のデンプン粒の周囲にグリーンに染まった膜がみられる。この膜は写真2でも確認できるが、デンプン粒を染めるバイオレットやヨードの色と判別がつきにくい。

写真3, 4は写真1, 2の偏光像である。偏光十字が鮮明であり、十字の交差点にハイラムがみられる。写真7, 8も偏光像十字やハイラムの位置が鮮明である。これらの偏光像から明視野のデンプン粒にもハイラムの位置が分かるものがある。写真6の大きなデンプンのほぼ中心のピンクに染まった物質は細胞核の一部である。この時分に使用したサフラニンは植物細胞の核を良く染めた⁵⁾。

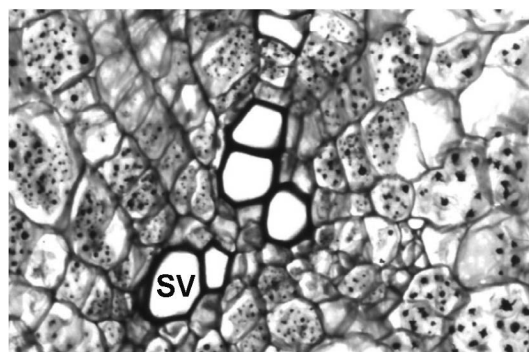
(2) サツマイモ

写真M2は、サツマイモ横断面を低倍で観察した。



写真M2 サツマイモ根茎 螺旋紋導管 (SV) ×30
(写真は上下2枚をつないでいる)

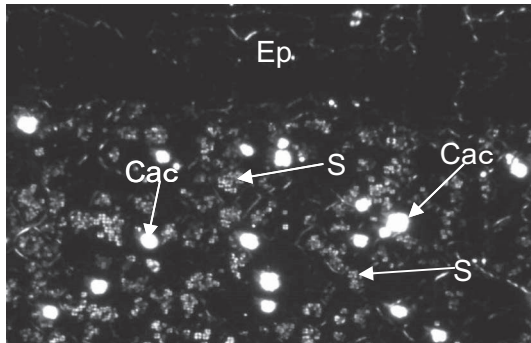
表面から中心部に向かって細胞が筋状に配列し、感覚的には流れ落ちるような細胞の連なりが観察される。螺旋紋導管など維管束も多く認められる。写真M3も管束と周辺の細胞。他の食品にも多数の導管が認められる。



写真M3 サツマイモ根茎 螺旋紋導管 (SV) ×140

また、サツマイモ表皮下の組織には針状結晶が多く、暗視野では、写真M4のようなものである。ここではピントを

デンプン粒に合わせてある。結晶を拡大すると写真50, 51のようであり、蓚酸カルシウム結晶と推察する。



写真M4 サツマイモ 皮層部 (Ep)
針状結晶 (Cac) デンプン粒 (S) ×80

写真9は、サツマイモ組織を観察したなかでは、最大のデンプン粒3個である。周囲には大小のデンプン粒があり、扇形など多角形である。同じ組織を写真10の暗視野で観察すると偏光十字が明確な像となり、ハイラム位置が鮮明である。このハイラムは、明視野では黒い点として澱粉粒に認められる。さらに、この3個はひとつのグループと推察され、サツマイモデンプンが複粒であることを示唆している。それについては、写真46のようにライトグリーン、サフフラニン染色をするとデンプングループの周囲にグリーンの膜が認められる。同じ位置を暗視野写真47で観察するとグループであることがより明らかである。

(3) ナガイモ

写真11に非常になめらかな楕円形のデンプン粒が多数観察される。成長したデンプン粒は、やや末広がり形状になり、暗視野で観察すると扇形のデンプン粒が多い。偏光観察では、サツマイモデンプン粒のような朱色でも観察できるが、ここでは、あえて虹色に反応した写真12を掲載した。他のデンプン粒でもこの現象はみられるが、今回観察したデンプン粒の中では、このナガイモが最も鮮明な虹色になった。

これは、デンプン粒が合成される時ハイラムを中心同心円状に分子が形成され、微細で規則的な溝が層状に生じて¹⁾、角度によって光が干渉し合っていると推察する。今回の観察ではレンコンのデンプン粒のみ、虹色の観察が不透明であった。

(4) ムカゴ

写真13, 14のように片方がやや細めの楕円形のデンプン粒が多い。扇形のものもある。山芋 (ナガイモ) の胎芽なのでデンプンの形状も似ている。

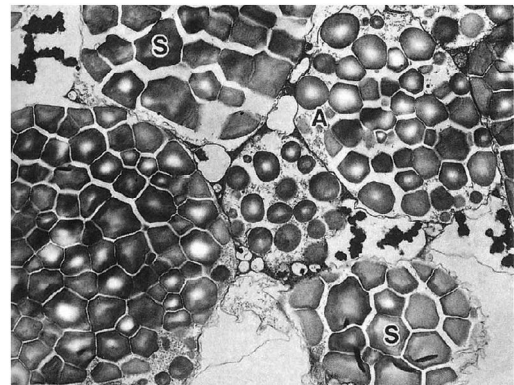
このムカゴと親のナガイモには針状結晶の束が特定の細胞の中に認められる (写真略)。サツマイモのそれとは形状が異なり長い針状結晶の束が観察された。これも蓚酸カルシウムと推察する。

その他、ムカゴの粘液やそれに関わる細胞の写真52, 53に掲載したが、ナガイモ、サトイモにも類似の細胞が豊かであった。

(5) サトイモ

写真15は最も微細なサトイモのデンプンである。組織切片5 μm 厚さでは微細なデンプン粒の観察は不可能なので、切片の厚さを2 μm にしてようやく観察ができた。しかし、400倍観察でも微細なデンプン粒は確認できず、粒子の集合部分が薄紫の霞状に見える。同じ部分を暗視野の写真16で見ると直径およそ2 μm のデンプン粒の偏光十字像が多少は確認できるが、他は微細なため、個々のデンプン粒は確認しにくい。

このように微細なデンプン粒であるが、電子顕微鏡では明確に確認され、デンプン粒は複粒である。その鮮明な像を田村咲江氏による透過型電子顕微鏡像³⁾写真M5で紹介し、光学顕微鏡との違いをみたい。



写真M5 サトイモの球茎に見られるアミロプラスト (A)、
複粒のデンプン粒 (S) を明確に示している。
×3500

田村咲江監修：食品・調理・加工の組織学 53 学窓社 1999

この写真から、ひとつの細胞の中にいくつものアミロプラストが存在し、その中に多数のデンプン粒がある。光学顕微鏡の写真15を観ると微かにデンプン粒のグループが確認できる。この写真のグリーンの膜は細胞壁部分である。一方、高い技術による透過型電子顕微鏡の写真M5では、細胞内器官のアミロプラストの膜まで鮮明であり、多数のデンプン粒が確認できる。

(6) レンコン

写真17は、今回観察した中では最大のデンプン粒である。写真18の暗視野では、成長したデンプン粒の末端は滑らかさがなくいびつに成長している。このようないびつなデンプン粒が所々に存在し、レンコン特有である。

(7) ショウガ

写真19, 20のように成長したデンプン粒は、扇形をしてハイラムが観察される。細長いデンプン粒が観察されるが、ハイラムの位置から、厚さが薄いデンプン粒である可能性がある。

(8) クワイ

写真21 ひとつの細胞の中に大小様々のデンプン粒がみられるのが特徴である。成長したデンプン粒はほぼ楕円形で写真22のデンプン粒は、偏光十字が鮮明である。

このように組織の状態を観察した場合、デンプン粒の最大は測定できるが、最小のデンプン粒を測定できるであろうか。アミロプラストの中で形成が始まったばかりのデンプンが微細であることを推察すれば、光学顕微鏡では計測できない。

(9) ユリネ

写真23, 24のように成長したデンプン粒は、扇形をして大きく成長し整った形である。さらに成長したデンプン粒の末端は、なめらかさを越えてやや変形している。しかし、レンコンのデンプン粒ほどの変形は認められない。

(10) カボチャ

写真25, 26 これも一個の細胞の中に大小のデンプン粒が観察される。写真48にライトグリーン・サフラニン染色の組織を写真49にその半暗視野の写真を載せた。ひとつの細胞の中に幾つかのデンプングループがありそれぞれのグループはグリーンに膜に囲まれているので複粒と推察する。この細胞は第二細胞壁(CW₂)が厚みを帯びて観察される。また、カボチャには螺旋紋導管が多く観察される(写真略)。

(11) クリ

写真27, 28 やや小さめのデンプン粒なので暗視野観察の方が形や分布が良くわかる。細胞壁にそってデンプン粒がサークル状に分布しているものが多い。細胞中心に染まりにくい細胞内器官があり、第二細胞壁も厚い。

(12) バナナ

写真29, 30は、やや縦長の扇形。採取したデンプン粒の数が少なく、詳しい判断を控えるが、デンプン粒の厚さが薄い可能性がある。重なりに影が微かに認められる。細長い澱粉粒に偏光十字が認められないのは、薄いデンプン粒の側面から観察している可能性がある。「(7) ショウガ」のデンプン粒もその可能性がある(断定はできない)。

(13) アズキ

写真32, 33 豆類の中で最も大きなデンプン粒である。このアズキの組織に代表されるように、いずれもグリーンに好染した細胞質に満たされ、その周囲を分厚い第二細胞壁が囲んで白く光が抜けた状態で観察される(写真32, 34, 36, 38)。サイズは全く違った細胞配列である。

(14) エンドウ

写真34, 35 デンプン粒はグループで存在するものが多い。暗視野ではデンプングループの縁が明るく光に反応している。偏光に反応するほど分子配列密度が高ければ、このエンドウのデンプン粒に構造上の特徴がある。

(15) ウズラマメ (再掲)⁵⁾

写真36, 37 大きさが比較的均一に整った円形と楕円形のデンプン粒。暗視野の写真37は、写真36に対応していない。サフラニン染色をしたデンプン粒。偏光十字に一定の方向性がある。デンプンの形と大きさが整うほど、この方向性が現れる。写真43のトウモロコシに見られる。

(16) ソラマメ

写真38, 39 ほぼ円形のデンプン粒が多いが、所どころに写真36のように大きく成長した楕円形のデンプン粒が観察される。その偏光像は複雑であるがデンプン粒の成長に伴う変形と判断する。

(17) ダイズ (再掲)⁴⁾

写真40の黒い粒は、デンプングループであり、写真41の半暗視野に極小の偏光十字が認められ、ようやく一粒のデンプン粒が確認できる。このデンプン粒は子葉の接合部に集中して存在する。以前乾燥ダイズ(アキシロメ)の組織を無処理のまま5 μ mの切片にして観察⁴⁾したが、他の豆類の細胞がほぼ円形であるのに対し、ダイズの細胞は細長く、薪を積み上げたような構造であった。これが乾燥すると長径方向が収縮し、楕円形であったダイズが球形となる。そのためダイズの縦断面の細胞は乾燥により円形から収縮した形になり、ジグソウパズル状⁴⁾に観察される。写真40, 41は乾燥ダイズの横断面である。

(18) トウモロコシ

トウモロコシの粒(胚乳)の構造は複雑なので、観察により様々な組織像が見られる。写真42, 43は胚乳の粉質部の組織、中央のグリーン好染の部分で多数の小さなデンプン粒が観察できる。稲科なのでコメのように微細である。

(19) コメ

炊飯米の研究で炊飯過程の差や品種による差などについて述べた⁶⁾。乾燥したコメは固くてもろいので薄片を得ることは不可能である。写真44, 45はコメを水に浸漬して得た像である。微細なデンプン粒がグループ(複粒)¹⁾で存在しているが、この写真での判断はむづかしい。

以上のように各食品のデンプン粒を観察したので、それぞれ最大のデンプン粒の長径と短径を測り、表1、図A-1にした。

前記のようにデンプン粒が形成し始めるころの大きさは測定不可能なことから最小デンプン粒の測定は行えない。

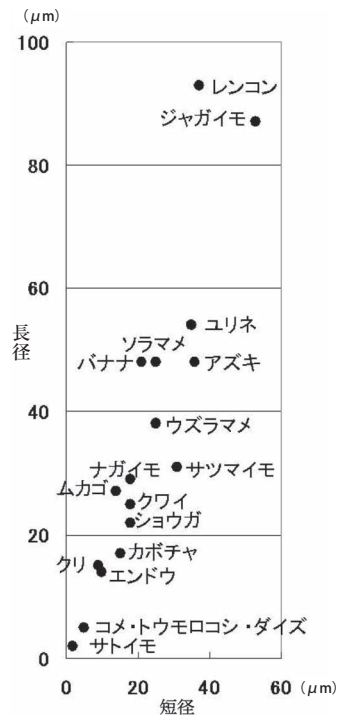
次に偏光顕微鏡観察から偏光十字の交叉位置により、デンプン粒の形態を判断し、表2のような分類を試みた。この中で多角形のデンプン粒は、複粒の可能性はあるが、光学顕微鏡レベルではアミロプラストの膜およびその構造を確認することはできない。

2. 煮熟した各食品のデンプン粒の形態

美味と感じる段階で食品中のデンプン粒が、どのよう

表1 観察した食品の最大デンプン粒の大きさ(μm)

食品名	長径	短径
レンコン	93	37
ジャガイモ	87	53
ユリネ	54	35
アズキ	48	36
ソラマメ	48	21
バナナ	48	25
ウズラマメ	38	25
サツマイモ	31	31
ナガイモ	29	18
ムカゴ	27	14
クワイ	25	18
ショウガ	22	18
カボチャ	17	15
クリ	15	9
エンドウ	14	10
コメ	5	5
トウモロコシ	5	5
ダイズ	5	5
サトイモ	2	2



図A-1 本観察における最大澱粉粒の長径と短径

表2 デンプン粒の形

食品名	デンプン貯蔵組織	円形, 楕円形	扇型	多角形	備考
ジャガイモ	塊茎	○			
サツマイモ	塊根			○	
ナガイモ	塊根		○		
ムカゴ	珠(胎)芽		○		
サトイモ	根茎			○	
レンコン	塊茎	○	○		不規則
ショウガ	根茎		○		薄い可能性
クワイ	塊茎	○			
ユリネ	鱗形	○	○		
カボチャ	果皮	○			
クリ	胚乳	○			
バナナ	果皮		○		薄い可能性
アズキ	子葉	○			
エンドウ	子葉			○	
ウズラマメ	子葉	○			
ソラマメ	子葉	○			
ダイズ	子葉			○	
トウモロコシ	胚乳			○	
コメ	胚乳			○	

に変化しているかを観察し、写真54~85、表3に示した。今回は、美味と決めた茹で時間や食味について、パネラーの判断に頼るなど統計的な吟味をしていない。

ただ、著者が美味と判断した段階で、どの食品も共通して言えることは、いずれの食品もデンプン粒は膨潤しているが、細胞外への流出はなく、組織も自然の規則性を保っていた。では、熱を加え過ぎるとどのようなことになるか。

このたびは、過熱実験はしていないが、炊飯では様々な加熱実験を行った⁶⁾。米飯は過熱により自然の規則性が崩れ、食感や味が悪くなった。今回のようなデンプンが多い食品の加熱時間と食品組織の変化については追試の余地がある。

この観察で、デンプン粒の膨潤の状態を次のように分けた。

- タイプ1 デンプン粒の単位で膨潤
- タイプ2 細胞内全体に膨潤しているが、デンプン粒の痕跡が見分けられる
- タイプ3 細胞内全体に膨潤している

さらに、加熱実験を続けた場合、いずれのデンプン粒もタイプ1、タイプ2、タイプ3へ移行するか等は不明である。

表3 食品の膨潤タイプと加熱条件および検鏡観察面

膨潤のタイプ	食品名	茹時間(分)	条件	切片の観察方向	
タイプ1	ナガイモ	11	厚さ2cm	横断面	
	ムカゴ	5	粒	横断面	
	アズキ	30	粒	横断面	
	エンドウ	8	粒	横断面	
	デンプングループ単位で膨潤				
	ソラマメ	8	粒	横断面	
	トウモロコシ	8	粒	縦断面	
	コメ	20	粒	横断面	
炊飯98℃以上20分					
タイプ2	ジャガイモ	16	厚さ2cm	横断面	
	レンコン	25	厚さ1cm	横断面	
	クワイ	5	丸	横断面	
タイプ3	サツマイモ	16	厚さ1cm	横断面	
	サトイモ	17	厚さ2cm	横断面	
	ユリネ	3	片	横断面	
	カボチャ	11	厚さ2cm	縦断面	
	クリ	20	鬼皮付き	横断面	

- タイプ1 デンプン粒単位に膨潤
- タイプ2 細胞内に糊状に膨潤しているがデンプン粒の痕跡が見られる
- タイプ3 細胞壁内に糊状に膨潤している

今回の茹で時間は、各食品を同じ大きさにして10個茹で始め、沸騰後食べられる頃合いから、適度に取り出し、最も美味である時間のものを標本にした。しかし、著者のみの判断である。時間は沸騰後経過した時間であり、沸騰温度は海拔約 70 m 地点なので98℃であった。

ま と め

過去30年間、植物性食品の形態に関する研究を継続してきたが、主に米飯と豆類に関する研究であった。その間、他のデンプンが多い食品の形態を明らかにしたいと希望していたが、それは、単なる観察で終わることに物足りなさを覚え、作業を見送っていた。

しかし、これまで研究に用いてきた川上いつゑ門下の染色法は、他に類をみない美しく鮮明な像を得られることから、その方法を実践可能な状態まで詳しく明記する責任を感じた。同時にその方法で念願の貯蔵デンプン観察を食品組織のまま行った。光学顕微鏡観察は、さまざまな物質を染め分けて判断するので、鮮明で美しい染め分けの技術が貴重である。それを証明する写真1～85を掲載した（本観察に当たり、実際の記録写真は1,200枚に及ぶ）。自然の営みの中にあるデンプン粒は、それぞれ個性的であり、次のような結果を得た。

1. 色素および観察時のフィルターの使用方で観察時の色調が変化することを写真1～8のジャガイモデンプン粒で示した。

2. ライトグリーン、ゲンチャンバイオレット、ヨードヨードカリの三重染色の各食品のデンプン粒と同位置に偏光顕微鏡観察して写真9から45に示した。今回観察したそれぞれの食品の最大デンプン粒の長短と短径を計測し表1図A-1にした。最大はレンコンの長径 93 μm 、最小はサトイモの2 μm であった。最小のデンプン粒の測定は不可能である。それは貯蔵デンプンがアミロプラストの中で最初に形成される大きさは、光学顕微鏡による観察では不可能である。

3. 偏光像のハイラムの位置から、デンプン粒の形を分

類し、表2にした。平面観察なので円・楕円形、扇形、多角形に分けた。細長いデンプン粒もあるが、偏光十字が見られないので真横からデンプン粒の厚みを見ている可能性がある。扁平なデンプン粒であろうか。

4. さらにデンプンを食べごろに煮熟して加熱したデンプンを観察し写真54～85と表3に示した。この段階で、共通して言えることは、いずれの食品もデンプン粒は膨潤しているが、細胞外への流出はなく、組織も自然の規則性を保っていた。加熱したデンプン粒のタイプを分けた（表3）。

このような観察を行うために試料標本（プレパラート）を作成するが、植物組織は、細胞壁やデンプンが多いため難しいとされているので、今回は「方法」に詳しく、その作成方法を紹介した。

本研究にあたり、植物性食品の形態観察を終始ご指導くださいました川上いつゑ先生、ならびに当初から詳細な技術や理論をお教えいただいたばかりでなく、その後も困難な観察にいつも暖かくご指導くださいました医学博士田村咲江先生に謹んで深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 川上いつゑ：デンプンの形態、3-5, 24, 25 (1975), 医歯薬出版株式会社
- 2) Myron C. Ledbetter・Keith R. Poter: Introduction to the Fine Structure of Plant Cells, 56 74 (1970) Springer—Verlag New York
- 3) 田村咲江監修：食品・調理・加工の組織学 53 (1999), 学窓社
- 4) 今中鏡子：食品組織の基礎的研究 I, 広島文化女子短期大学紀要 29, 37 (1988)
- 5) 今中鏡子：食品組織の基礎的研究 II, 広島文化女子短期大学紀要 43 (1989)
- 6) 今中鏡子, 加藤集子, 川野純子, 田方真由美, 畠山敏慧：炊飯米の形態学的研究 広島文化女子短期大学紀要 22, 23 (2006)

Summary

It is difficult to prepare a thin sliced observational sample of a starch-rich plant structure for optical microscopic observation because such plants have high density of starchy particles. To solve this problem, the commonly employed method for observing starch particles has often been to extract them from such starch-rich plants.

In this study, the writer employed a unique technique to prepare 5-micrometer-thick observational samples slicing the structures of various starch-rich food plants. In addition to this specific technique, a carefully-considered method of dyeing and a carefully-selected optical filter were employed to observe the structure of a certain food plant for optical microscopic observation.

Employing such unique techniques and methods, structures of starch particles in various food plants were observed using optical microscopes. In this study, 1,200 morphological samples of starch-rich food plants were observed and around 80 photographs of them were shown. In addition to introducing the photographs taken, morphological classification of the starch particles observed in the study was suggested considering the hilum position of a starch particle with a polarized cross of polarizing microscopic observation. The specific techniques and methods of preparing samples and observation employed in the study were also introduced.

The longest and shortest dimension of each individual starch particle observed in the study was measured. The result of the measurement in order of the longest dimension measured in micro-meters was shown as in following: lotus roots 93, potatoes 87, lily bulbs 54, azuki beans 48, broad beans 48, bananas 48, pinto beans 38, sweet potatoes 31, Chinese yams 29, bulbils 27, arrowhead bulbs 25, ginger roots 22, pumpkins 17, chestnuts 15, peas 14, rice 5, corns 5, soybeans 5, taros 2. This observational study of starch particles was also conducted in heated condition.

As an additional comment to the study, because the starch particles of taros are the smallest ones, observations of a starch particle were possible only when the structures were sliced into 2 micro-meters thick.

ジャガイモ (potato)

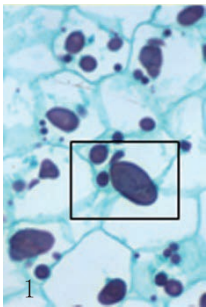
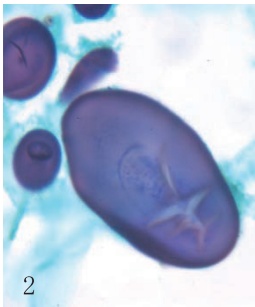
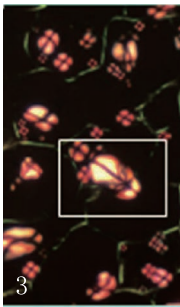
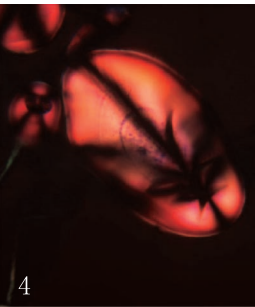
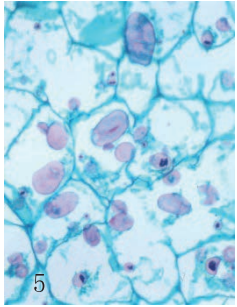
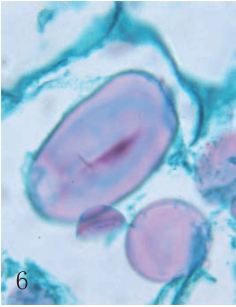
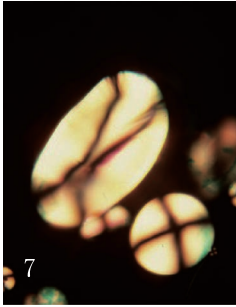
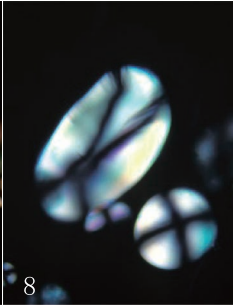
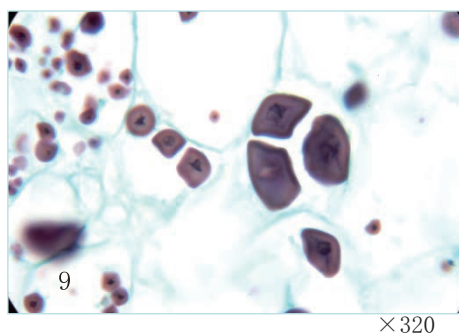
	光学顕微鏡観察	偏光顕微鏡観察
ライトグリーン, ゲンチャン バイオレット, ヨードヨードカリ の三重染色	 <p>1 ×80</p>  <p>2 ×320</p> <p>NDフィルター NCBフィルター HEフィルター</p> <p>NCBフィルター HEフィルター</p>	 <p>3 ×80</p>  <p>4 ×320</p> <p>NCBフィルター HEフィルター 偏光板</p> <p>HEフィルター 偏光板</p>
ライトグリーン, サフラニン染色	 <p>5 ×80</p>  <p>6 ×320</p> <p>NDフィルター NCBフィルター HEフィルター</p> <p>NCBフィルター HEフィルター</p>	 <p>7 ×320</p>  <p>8 ×320</p> <p>偏光板 シャッタースピード 33秒</p> <p>NCBフィルター 偏光板 シャッタースピード 90秒</p>

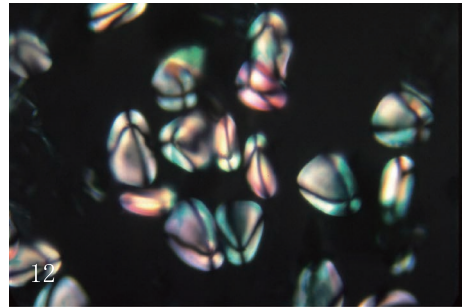
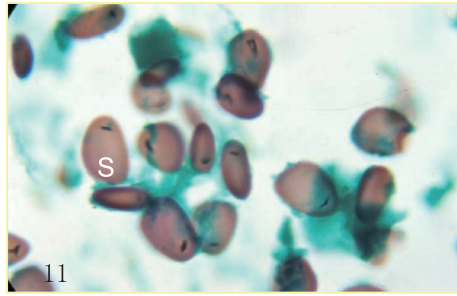
写真1～8 ジャガイモ組織中の澱粉粒
倍率 染色法 観察時のフィルター 偏光顕微鏡観察による色調の変化

サツマイモ
(sweet potato)

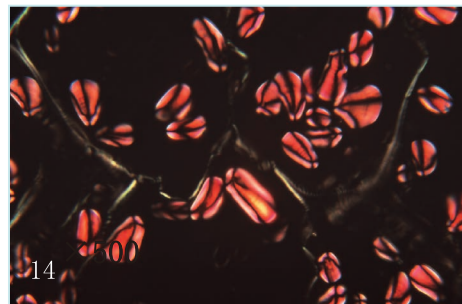
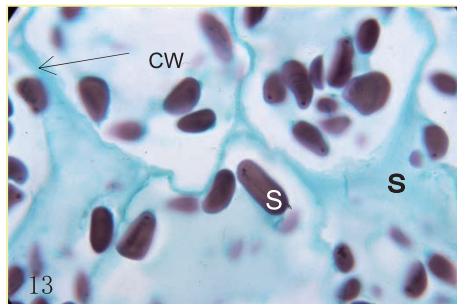
ライトグリーン,
ゲンチャン
バイオレット,
ヨードヨードカリ
の三重染色



ナガイモ
(Japanese yam)

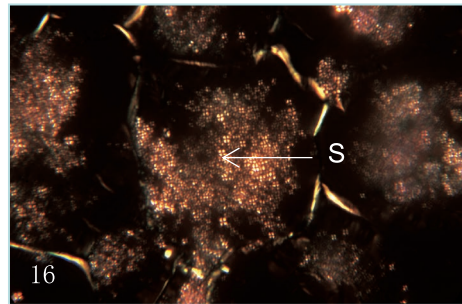
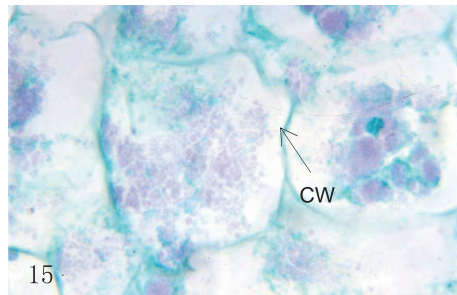


ムカゴ
(mukago)



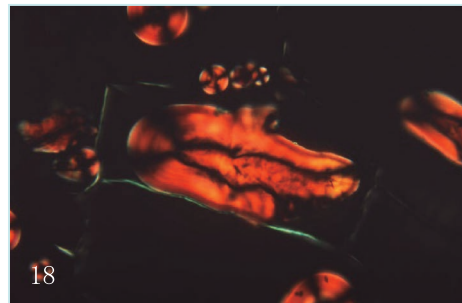
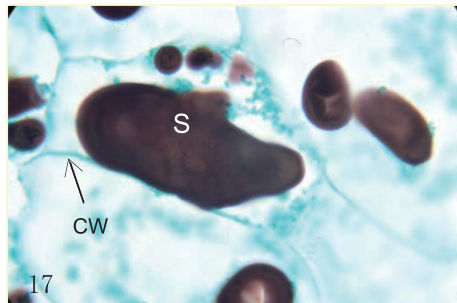
サトイモ
(taro)

本観察中最
小の澱粉粒
切片の厚さ
2 μ mで観察



レンコン
(East Indian
lotus)

本観察中最大
の澱粉粒



ショウガ
(ginger)

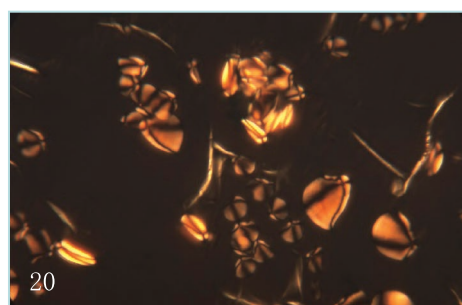
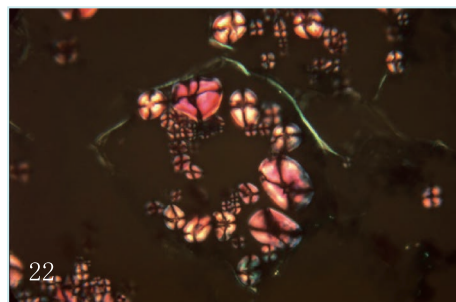
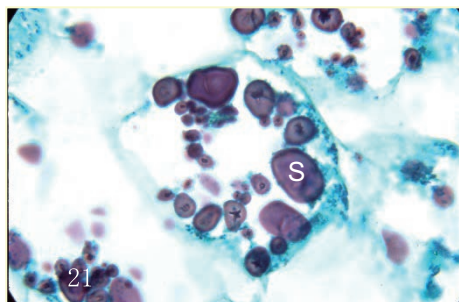
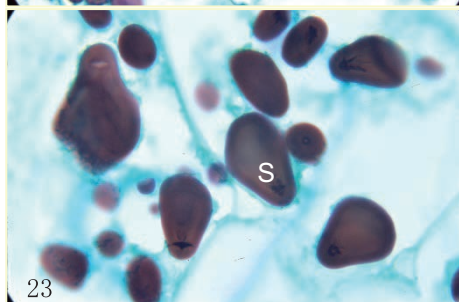


写真11~20 ライトグリーン，ゲンチャンバイオレット，ヨードヨードカリの三重染色 $\times 320$
写真12, 14, 16, 18, 20は，それぞれ写真11, 13, 15, 17, 19の偏光顕微鏡像。偏光十字およびデンプン粒形成の核
(ハイラム：hilum) が鮮明である。

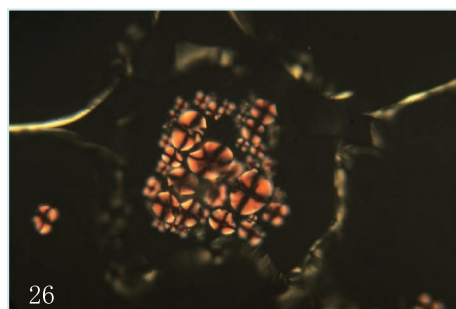
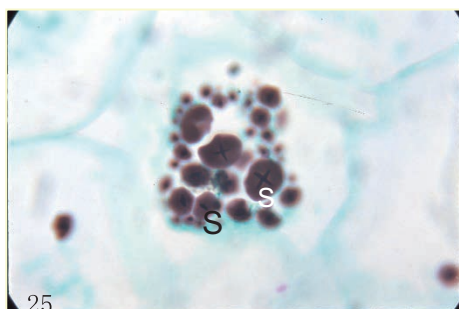
クワイ
(arrowhead)



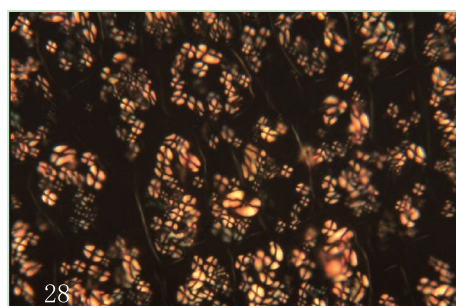
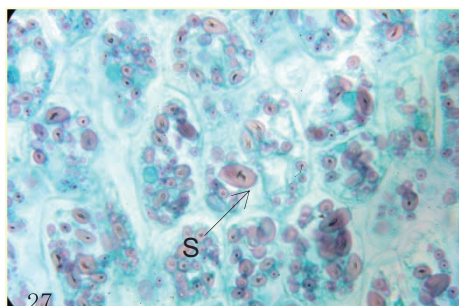
ユリネ
(lily)



カボチャ
(pumpkin)



クリ
(Japanese chestnut)



バナナ
(banana)

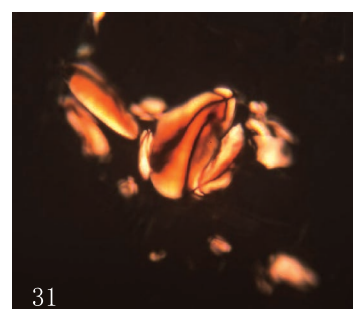
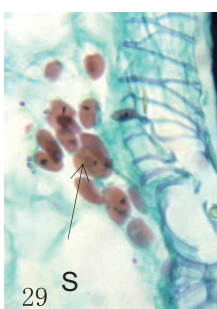
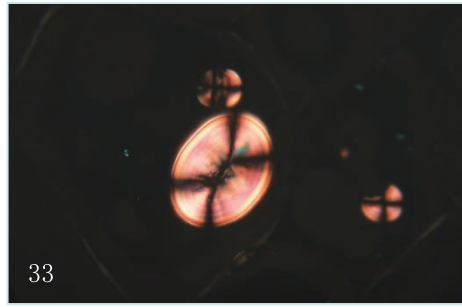
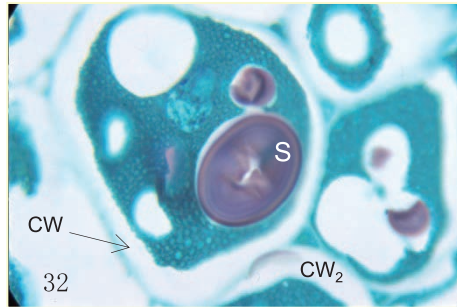


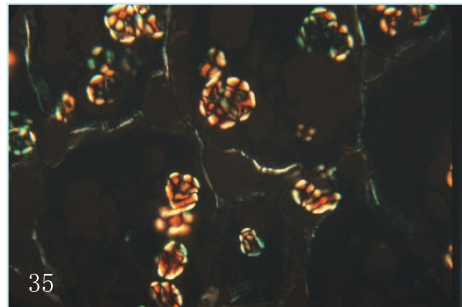
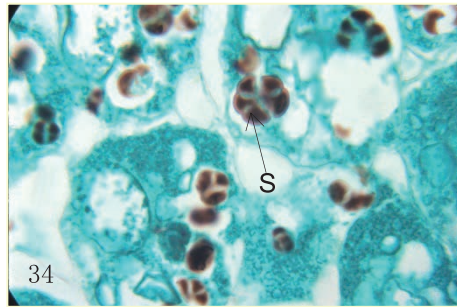
写真21～31は、ライトグリーン、ゲンチャンバイオレット、ヨードヨードカリの三重染色 ×320
 写真22, 24, 26, 28, 31は、それぞれ写真21, 23, 25, 27, 30の偏光顕微鏡像。偏光十字およびデンプン粒形成の核
 (ハイラム)が鮮明である。

アズキ
(adzuki bean)

豆類は第二細胞壁が鮮明である。細胞質と細胞壁の間の白い部分。

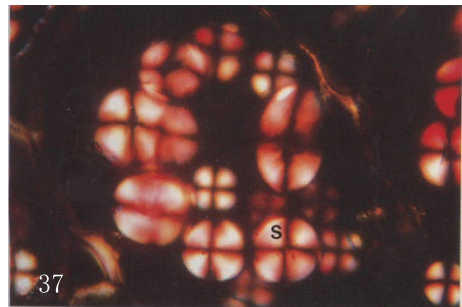
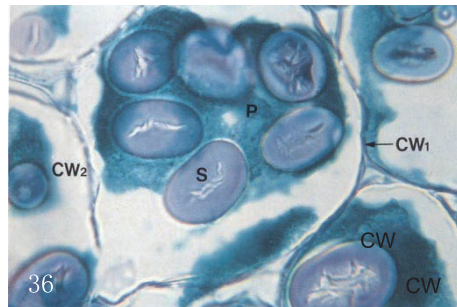


エンドウ
(gerden pea)

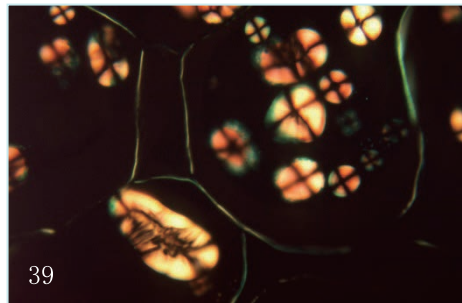
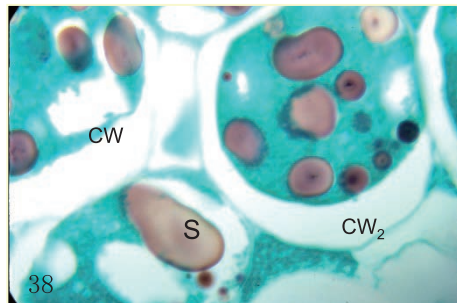


ウズラマメ
(uzura-mame)

再掲:1989
広島文化女子
短大紀要p.41



ソラマメ
(broad bean)



ダイズ 乾燥
(soybean dried)

再掲:1988
広島文化女子
短大紀要p.35

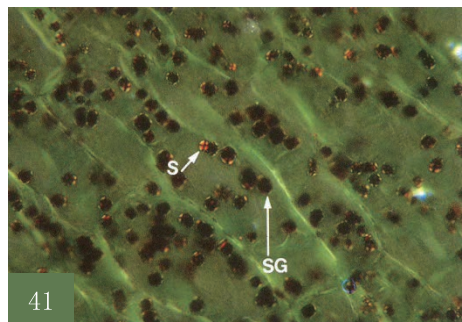
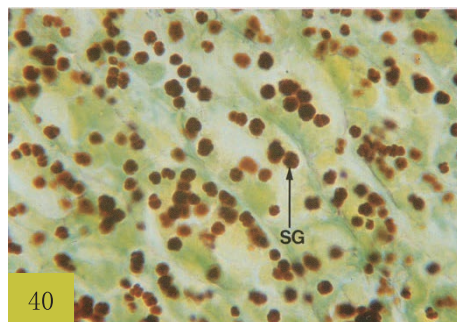
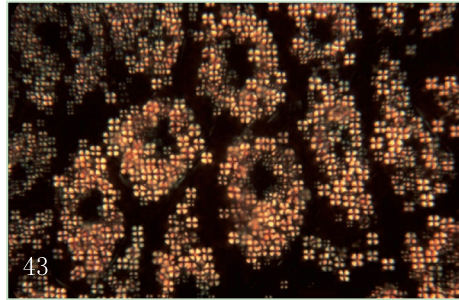
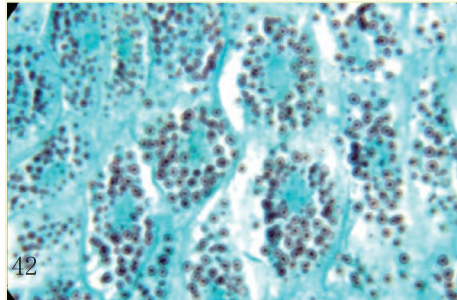


写真32~41 ライトグリーン, ゲンチャンバイオレット, ヨードヨードカリの三重染色 ×320
写真33, 35, 37, 39, 41は, それぞれ写真32, 34, 36, 38, 40の偏光顕微鏡像。偏光十字およびデンプン粒形成の核(ハイラム)が鮮明である。

トウモロコシ
(corn)

トウモロコシは
部位によって
澱粉粒の分布
が異なる。
今回は規則性
のある部分。
全ての偏光十
字に一定の方
向性がある



コメ
(rice)

写真44は、乾燥
米を水に浸漬

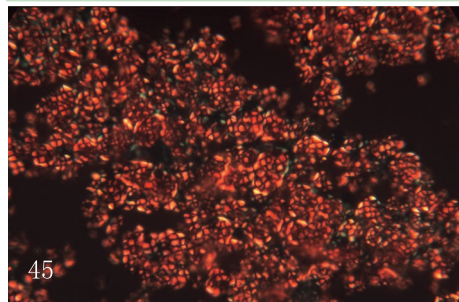
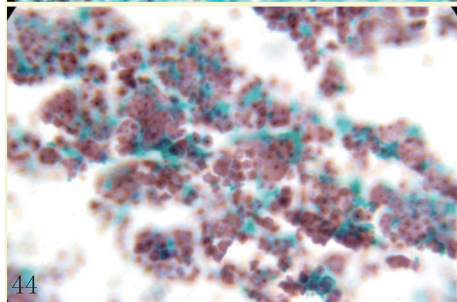


写真42～45 ライトグリーン，ゲンチアンバイオレット，ヨードヨードカリの三重染色 ×320
写真43, 45は，それぞれ写真42, 44の偏光顕微鏡像。トウモロコシはイネ科であり，澱粉粒は小さい。

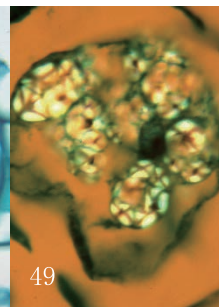
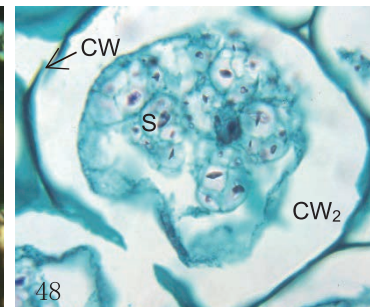
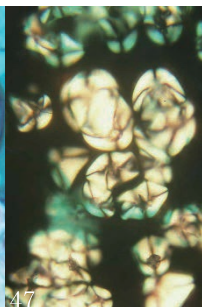
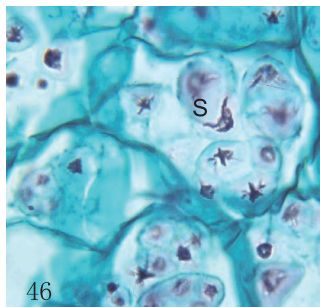


写真46 サツマイモ ライトグリーンサフラン
染色。細胞壁の中に幾つかのデンプングループが
あり，そのグループの表面をグリーンに好染した
膜が覆っている。同じ位置を暗視野で観察した写
真47でグループであることが鮮明。×320

写真48と49はカボチャの組織。これもグループ単位でデ
ンプン粒が認められる。ここでは，厚い第二細胞壁が存在しているが，これを染める色素を使用していないので
白く抜けて観察される。写真49は写真48を半暗視野で撮
影。ライトグリーンサフラン染色 ×320

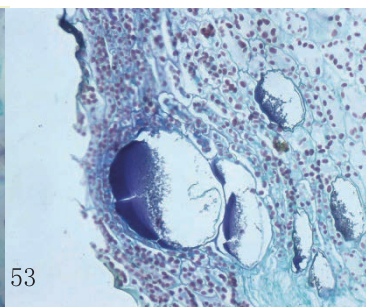
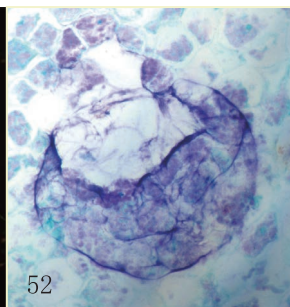
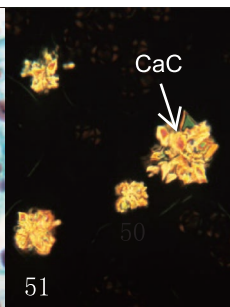
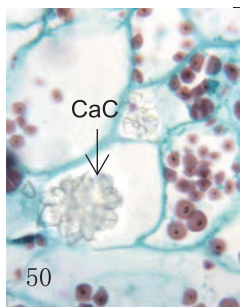
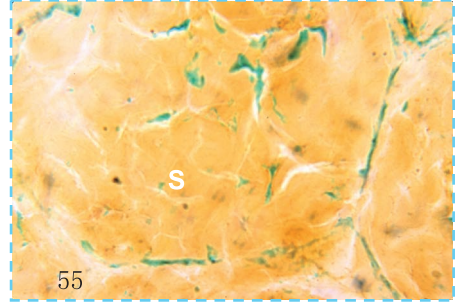
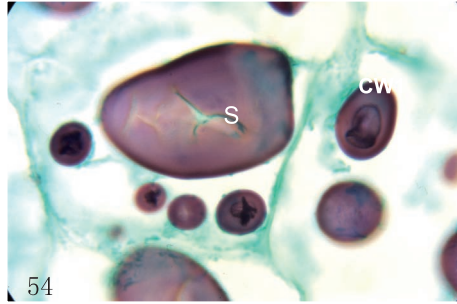


写真50は，サツマイモの針状結晶 ×320
写真51は針状結晶の偏光顕微鏡観察 ×320

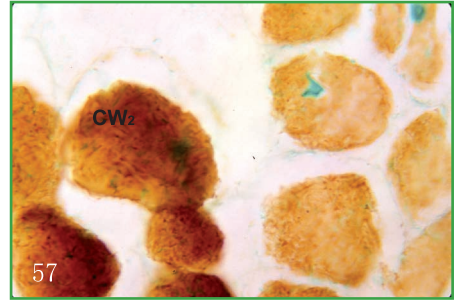
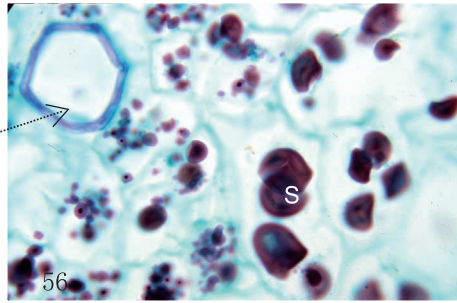
写真52は，ムカゴの粘液と推察 ×80
写真53は粘液に関わる細胞と推察 ×32

ジャガイモ
(potato)

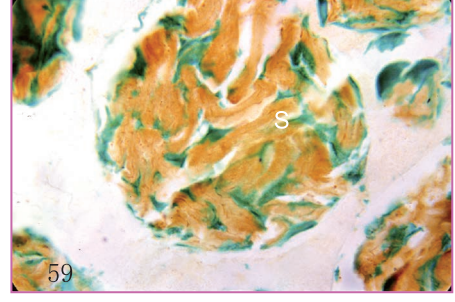
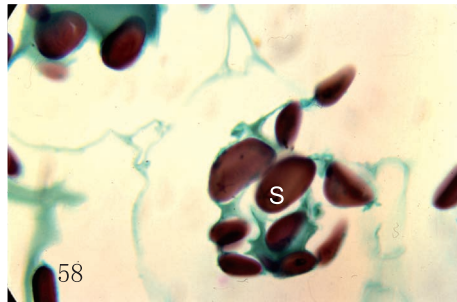


サツマイモ
(sweet potato)

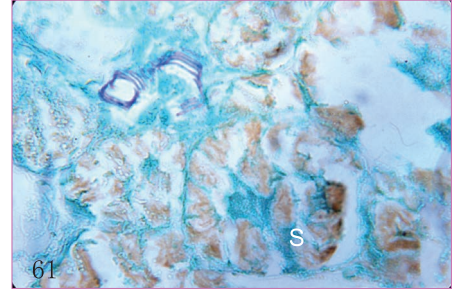
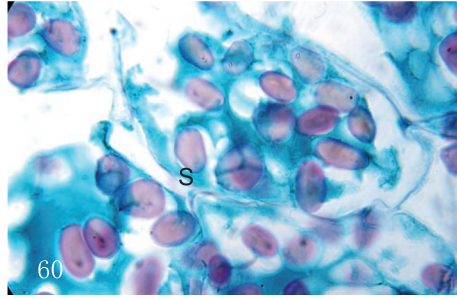
螺旋紋導管
横断面



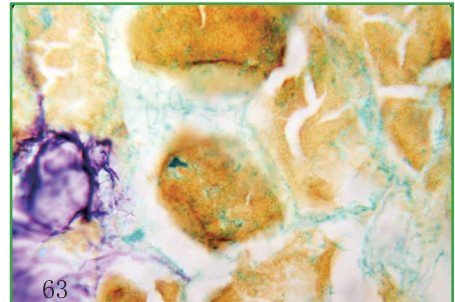
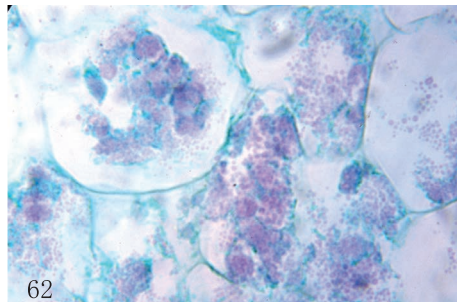
ナガイモ
(Japanese yam)



ムカゴ
(mukago)



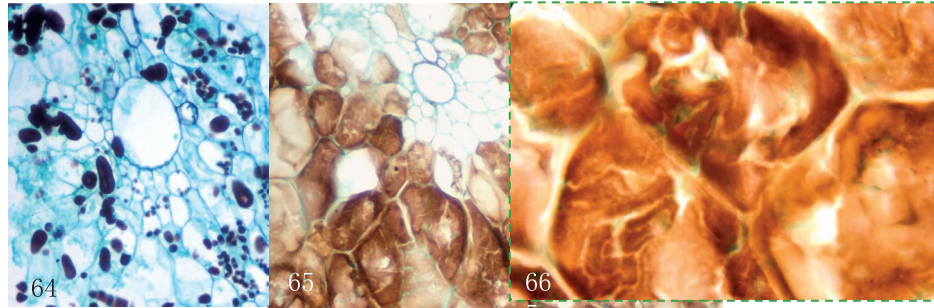
サトイモ
(taro)



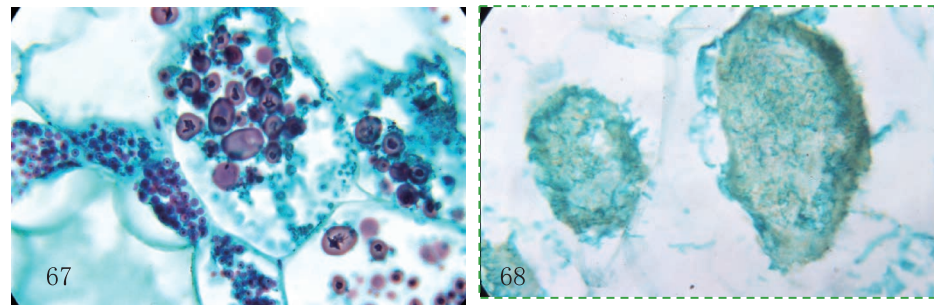
- デンプン粒単位に膨潤
- 細胞内に糊状に膨潤
- 細胞内糊状ながら粒の痕跡あり

写真54~63 ライトグリーン, ゲンチャンバイオレット, ヨードヨードカリの三重染色 ×320
 写真55, 57, 59, 61, 63はそれぞれ写真54, 56, 58, 60, 62の煮熟(加熱)した組織。いずれの食品も澱粉粒が膨潤しているが, 細胞内にとどまり, 自然の規則性を保っている。

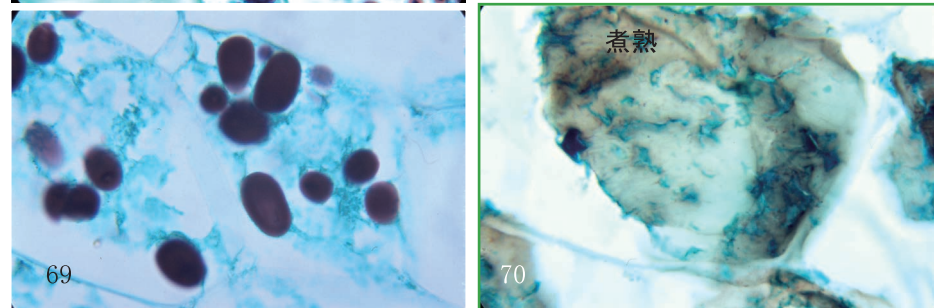
レンコン
(East Indian
lotus)



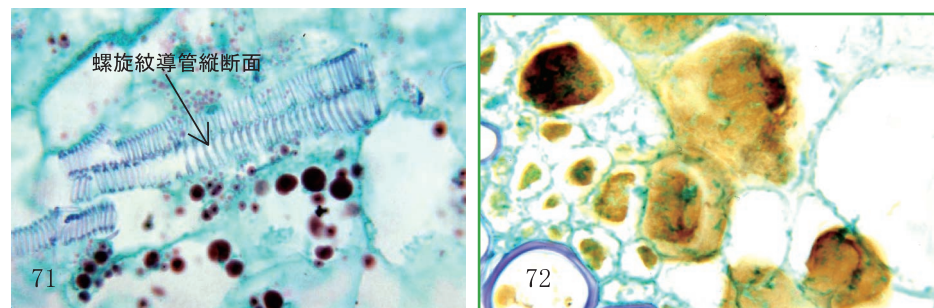
クワイ
(arrowhead)



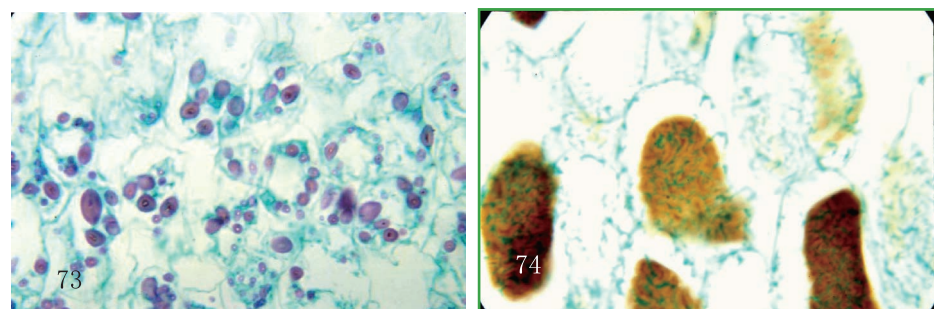
ユリネ
(lily)



カボチャ
(pumpkin)



ク
リ
(Japanese
chestnut)



□ 細胞内に糊状に膨潤

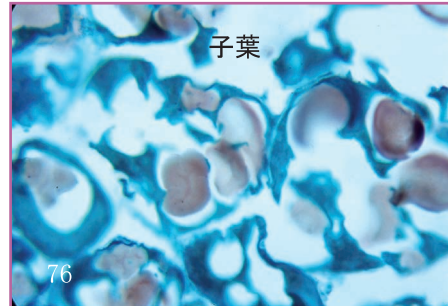
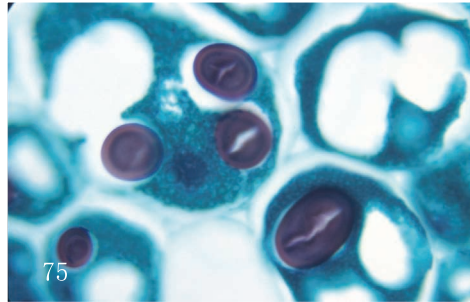
▤ 細胞内糊状ながら
粒の痕跡あり

写真64～74 ライトグリーン、ゲンチャンバイオレット、ヨードヨードカリの三重染色

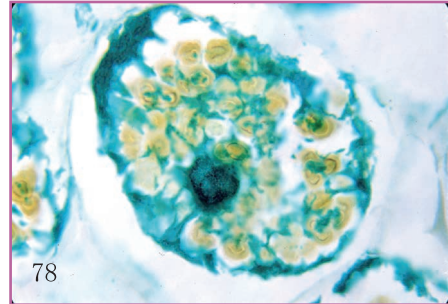
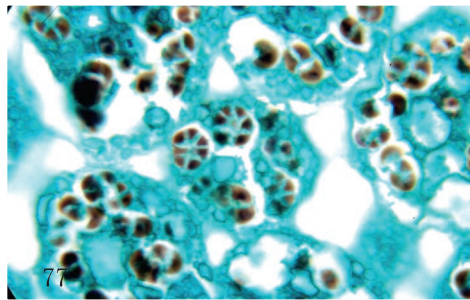
写真65, 66, 68, 70, 72, 74はそれぞれ写真64, 67, 69, 71, 73の煮熟(加熱)した組織。いずれの食品も澱粉粒が膨潤しているが、細胞内にとどまり、自然の規則性を保っている。

写真64, 65は×80 写真66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74は×320

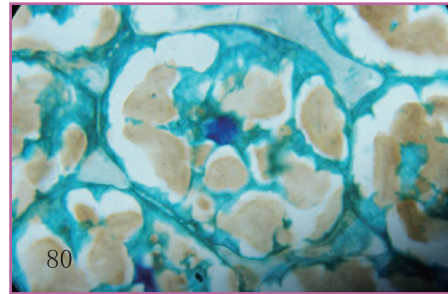
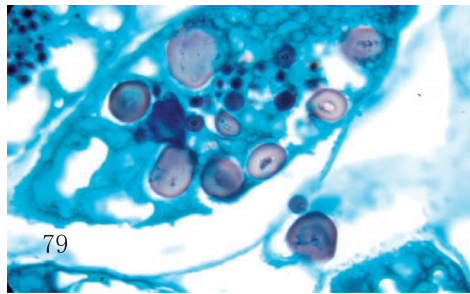
アズキ
(adzuki bean)



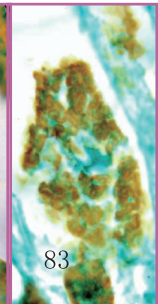
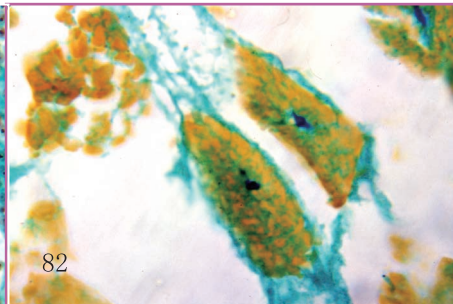
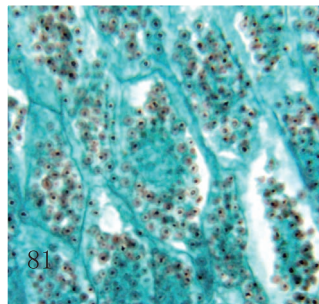
エンドウ
(gerden pea)



ソラマメ
(broad bean)

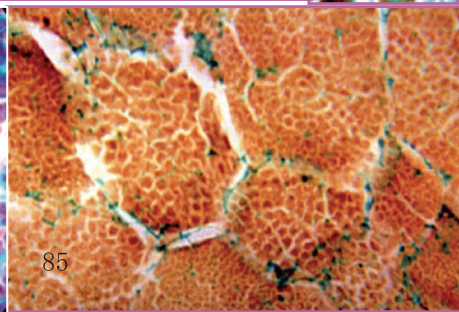
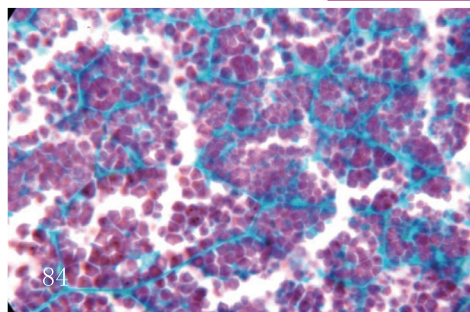


トウモロコシ
(corn)



コメ
(rice)

写真83は、乾燥
米を水に浸漬
写真84は炊飯米



□ デンプン粒単位で膨潤

写真75～85 ライトグリーン，ゲンチャンバイオレット，ヨードヨードカリの三重染色 ×320

写真76，78，80，82，83，85はそれぞれ写真75，77，79，81，84の煮熟（加熱）した組織。いずれの食品のデンプン粒も膨潤しているが，細胞内にとどまり，自然の規則性を保っている。