

面筋蛋白三维网络结构计算机重构研究

徐帅帅¹, 张斌², 马爽², 赵萌迪², 李敏³, 巨明月⁴, 牛付阁², 张影全⁴,
王效灵¹, 张波^{4*}, 潘伟春^{2*}

¹浙江工商大学信息与电子工程学院 杭州 310018

²浙江工商大学食品与生物工程学院 杭州 310018

³浙江方圆检测集团股份有限公司 杭州 310018

⁴中国农业科学院农产品加工研究所 北京 100193)

摘要 以小麦面团为研究对象,通过蛋白染色方法,利用荧光显微镜技术获得二维面筋蛋白的平面分布图。在此基础上,开发计算机三维重构技术,再现面筋蛋白在三维空间的分布。据此,面筋蛋白纤维的长度、粗细以及在空间的缠结等信息可以得到,为构建面团的原料、制备工艺条件和面团质构间的量化关系提供一种可能,以指导面团工业以及其它产品的开发和工艺改进。

关键词 面团; 面筋蛋白; 三维纤维网络; 重构

文章编号 1009-7848(2023)10-0101-07 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.10.011

小麦是中国的三大主粮之一,是重要的植物蛋白资源^[1]。小麦中面筋蛋白可以形成网络结构,从而使其制品具有特有的黏弹性和口感^[2-4]。前人研究表明,面团流变性能主要由面筋蛋白所构建的三维网络决定^[5-6]。挤压组织化植物蛋白的质构特性是决定产品品质的关键指标之一,主要来自于原料中所含蛋白质的展开、取向和交联所形成的网络结构,以求所得制品具有类似动物肌肉的纤维状结构。因此,定量表征植物蛋白所形成的网络结构就显得非常重要。

然而,该网络结构的表征,是一个亟待解决的问题。利用扩散波谱技术(DWS)能在微米尺度上实时测量面团形成过程中三维结构的变化^[6],而试验结果主要通过散射光的相关函数,来获取示踪粒子在所研究体系中的均方差位移,再根据广义Einstein-Stokes公式,求取体系的流变参数^[7]。由于在此过程中,用到不少近似和假设,同时,需要大量计算,且结果呈现不够直观,同时所得结果须用其它技术手段来验证其可靠性。此外,固态植物蛋

白制品具有高度透光性,因此,普通的光学方法无法观察到三维介观尺度下的图像。电镜技术需要很薄的切片,制样难度大;同时样品的前处理可能会影响样品本身的形貌;作为典型软物质代表的食品体系,对电流强度非常敏感,长时间或强电流都会破坏样品。原子力显微镜探针精度要求很高,振动速度限制了扫描速度,且表征范围很小,只能观察表面附近的图像。光共聚焦技术可以观察到2-维平面上蛋白纤维的分布^[8]。受医学核磁共振成像技术发展的启发^[9],本研究探究利用2-维图片,在计算机三维重构技术的协助下再现植物蛋白制品中的三维网络。

本研究以面筋蛋白形成的网络结构为标的,以面团为载体,通过三维重建技术,在一系列高度已知的二维照片的基础上,利用计算机三维重建技术,研究面团中蛋白纤维在三维空间的分布。

1 材料与方法

1.1 样品制备

使用商业小麦粉(Rosenmühle,550,德国)制备面团。每100g面粉含有(14.17±0.03)g水分(AACCI 44-01),每100g干面粉含有(12.70±0.04)g蛋白质(AACCI 46-16,N×5.7)、每100g干面粉含有(0.63±0.01)g灰分(ICC 104/1)、每100g面粉含有(28.75±0.81)g湿面筋(AACCI 56-

收稿日期: 2022-10-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(32172245);浙江省自然科学基金项目(LY22C200009)

第一作者: 徐帅帅,男,硕士生

通信作者: 张波 E-mail: zjb1978@126.com

潘伟春 E-mail: wpan@zjsu.edu.cn

81)。根据 AACCI 54-70.01, 在粉质仪(Perten Instruments, doughLAB, 德国)中测量面团阻力和吸水率, 来确定所需的揉制时间和添加比例。为了达到 500 FU 的稠度, 准确称取 50.1 g 面粉, 加入 29.6 g 蒸馏水, 置于和面机(克莱美斯机电科技(深圳)有限公司, HA-3480AS, 中国)中以 63 r/min 的转速搅拌揉和 180 s, 以备使用。

1.2 荧光显微镜下的显微结构分析

用罗丹明 B 溶液 (0.01 g/100 mL 水) 代替 5 mL 水对样品进行染色。在和面机中揉制后, 置于 -20 °C 冰箱中过夜, 用 10% 甲醛磷酸缓冲液固定好面团, 固定 6 h 以上, 固定的标本经 4 个浓度梯度的 (75%, 85%, 95%, 100%) 酒精和二甲苯脱水透明, 用切片机 (Leica, RM2235, 德国) 切成 14 μm 薄片, 用 ZMN-7803 全自动组织包埋机 (常州市华利电子有限责任公司, ZMN-7803, 中国) 做成石蜡切片, 放在载玻片上, 用目镜 (20) × 物镜 (20) 倍成像, 绿光激发的荧光显微镜 (Nexcope, NE910, 美国) 拍摄相片。为每个面团样品拍摄 10 张不同的图像, 每个面团样品重复 3 次。

1.3 数据集与试验装置

本试验采用 80 张小麦面团蛋白质结构切片图像, 图像为 TIFF 格式, 试验采用的 CPU 为 Intel (R) Core (TM) i7-10700 CPU 4.8Ghz, GPU 为 NVIDIA GeForce GTX TitanX。通过 3DMed 以实现对二维切片的三维重建。序列断层图像三维重建就是从一系列平行断层图像数据中恢复被重建对象原有的三维面貌。主要涉及断层图像的获得、图像层间插值、绘制、数据的压缩^[2]。

1.4 算法简介

MarchingCubes (MC)^[10] 是三维重建基于面绘制的算法, 核心是在三维离散数据场中通过线性差值逼近等值面。该算法中, 将多个平行等间距二维切片数据看作一个三维的数据场。

体素一般定义为 8 个领域点所包含的区域^[11]。假设采样点在 3 个坐标轴 (i, j, k) 方向上是均匀分布的, 以等间隔的间距采样为 $\Delta i, \Delta j, \Delta k$, 体数据就可以用三维数据的形式表现。将 8 个采样点当做立方体的 8 个顶点, 立方体区域就是 1 个体素。体素模型如图 1 所示。体素的角点坐标分别为 (i, j, k), ..., ($i+1, j+1, k+1$)。

等值面提取是将二维切片数据中具有某种阈值的物质提取出来, 以某种连接方式构成三角形面片^[12]。通过对立方体 8 个顶点的值进行三线性插值计算得到体素顶点的标量值 $f(x, y, z)$, 将等值面值 C 和标量值进行比较, 以此判断该顶点的位置。R 如果体素值大于等于等值面值, 定义该顶点位于等值面外, 标记为 0, 反之, 则顶点在等值面之内, 标记为 1, 见公式 (1):

$$\begin{cases} f(x, y, z) \geq c & 0 \\ f(x, y, z) < c & 1 \end{cases} \quad (1)$$

MC 算法通过对三维数据场中的每一个立方体的体素进行上述处理, 将所有的三角形面片进行曲面拟合, 最终形成三维立体图。

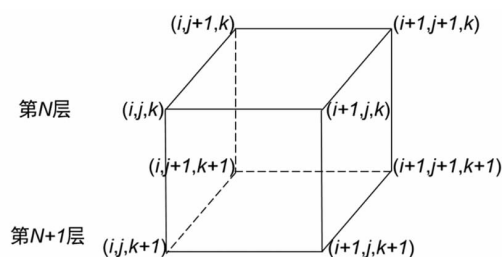


图 1 体素模型

Fig.1 Voxel model

1.5 重建过程

通过对原始数据进行预处理, 得到分割之后的图像, 分割图像的目的是为了减少背景因素的干扰和提高重建速度, 使得重建后的模型准确性更高。对原始数据集进行一系列的预处理过程: 灰度化、降噪、分割等操作, 将目标区域从背景中提取出来^[13]。

灰度化的主要目的是为了避免图像条带失真, 灰度化之后的图像只需要一个字节存放灰度值。灰度图像素通常采用像素 8 位的非线性尺度保存, 因此更易于编程^[14]。图像噪声会对图像分割等操作产生不良影响, 为了最终模型的准确性, 采用高斯滤波器对图像进行平滑去噪^[15]。通过图像灰度级的不同, 将目标以外的背景干扰因素除去, 只保留目标区域, 为三维重建过程做好基础准备。

原始图像集和图像预处理过程如图 2 所示。阈值分割对重建后的模型影响非常大, 阈值选取不当会对目标区域造成过分割现象, 使得目标区域上的一些蛋白质结构被切割掉, 后续提取有用

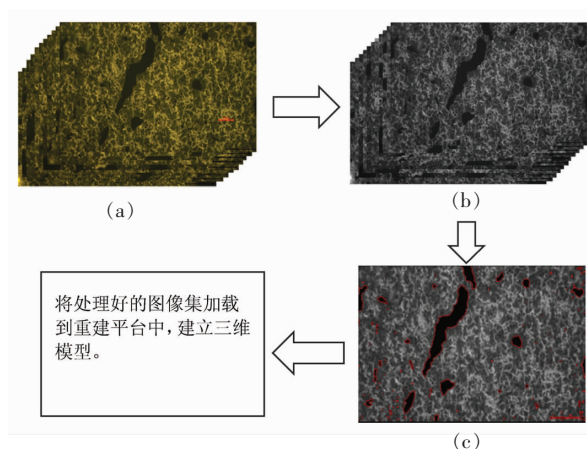


图 2 原始图像集和图像预处理过程: (a)原始图像集, (b)灰度图像集, (c)分割后的图像

Fig.2 Original image set and image preprocessing process: (a) original image set, (b) grayscale image set, (c) image segmentation

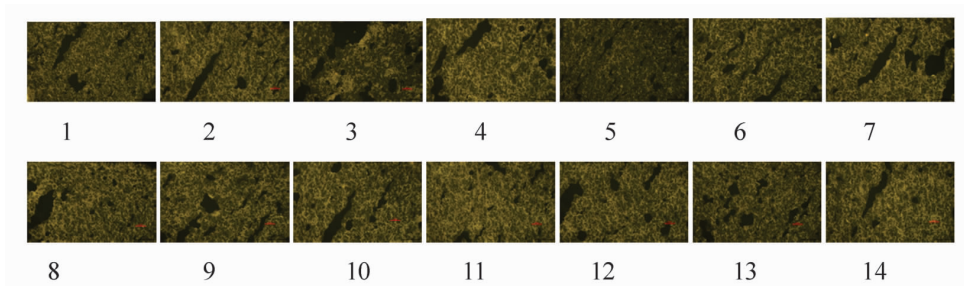
信息将会造成误差^[16]。将处理好的图像输入到 3DMed 软件中, 建立体数据, 并生成网格数据, 最后生成三维模型。

2 结果与分析

2.1 原始照片及处理

图 3 显示的一组垂直方向保持不变而水平方向相差 14 倍数微米差的图像。图像采用等间隔、小间距采样方式, 这对于三维重建至关重要, 可以保证重建后的模型特征不丢失。图中的尺度标志为 200 μm , 非常明显看到蛋白面筋纤维在平面上的分布。

图 4 是用 Opencv 处理后得到的灰度图像。在数字图像处理中, 灰度图像中不同的目标以不同的灰阶显示, 灰阶范围在 0~255 之间。灰度图像的描述与彩色图像一样, 反映了整幅图像的整体和局部的色度和亮度等级的分布和特征, 相较于彩色图像, 灰度图像占用更少的维度, 运算速度大幅度提高, 并且最重要的梯度信息得以保留。将彩色图像灰度化后, 再根据灰度的不同, 对图像做阈值分割, 可以得到蛋白面筋纤维的二值图像。



注: 1~14 分别代表该平面所在的水平位置为 0, 14, 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112, 126, 140, 154, 168, 184 μm 。

图 3 一组在垂直方向一样的面团相片

Fig.3 Pictures of dough with the same vertical orientation

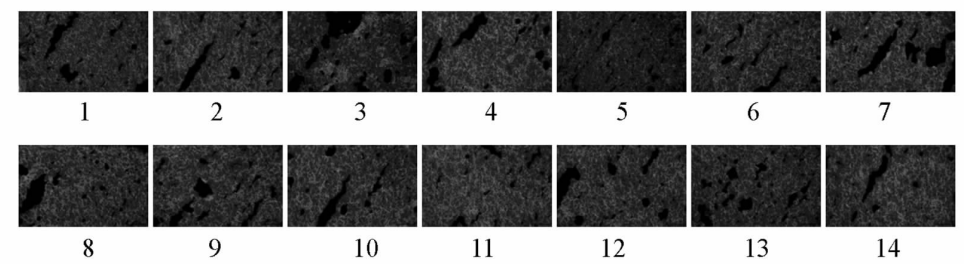


图 4 Opencv 处理后所得的灰度图像

Fig.4 Grayscale image after Opencv processing

图 5 为在图 4 基础上进行二值化处理得到的图像。二值图像分析在对象识别和特征匹配中具有重要作用, 基于灰度的不同设定一个阈值, 将图

像数据分为两部分, 大于此阈值的像素群置为白色, 小于此阈值的像素群置为黑色, 经过二值化处理后, 整幅图像只剩下黑、白两种颜色。二值化处

理将重建目标以外的背景因素干扰去除,减少了三维重建过程所用时间。同时,二值图像又保留了

目标区域的结构特征,确保了重建模型的准确性。

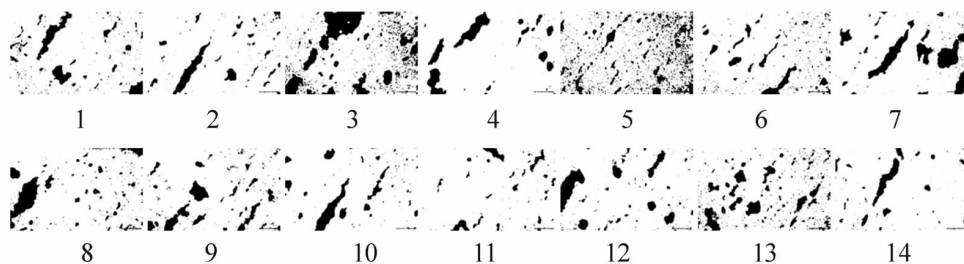


图5 二值图像

Fig.5 Binary image

2.2 蛋白面筋纤维的粗细分布

通过上述操作,对80张 $1024\text{ px} \times 800\text{ px}$ 间距为 $14\text{ }\mu\text{m}$ 的蛋白质结构进行三维重建,重建后的结果如图6所示。生成的模型基于MC算法,模型内部经过投影,生成三角形面片,三角形面片拟合成曲面,将模型放大后,可以更加细致的观察到内部结构如图7所示。

该方法能提供以下关键性参数,纤维的密度和在空间的分布;纤维的长度;每根纤维的粗细。

本试验所重建的小麦面粉团蛋白质模型是基于微米级的三维重建,三维立体模型可以更直观的从不同角度观察到样品特征(图8),快速的提取出所需要的物理信息。

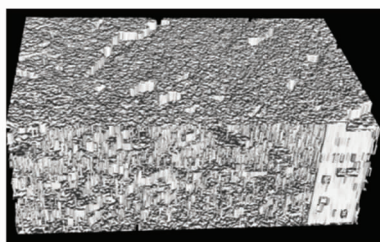


图6 三维重建模型

Fig.6 Three-dimensional reconstruction model



图7 模型内部图

Fig.7 Internal diagram of the model

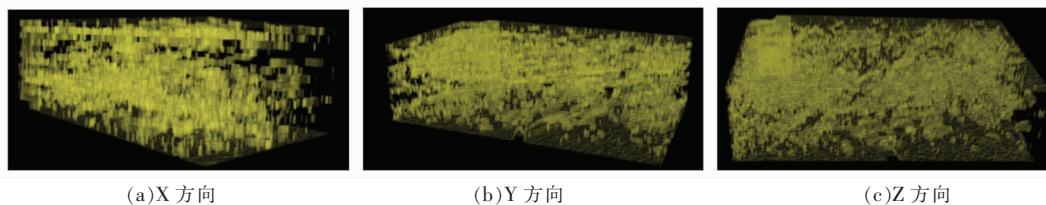


图8 3个相互垂直的方向上面筋蛋白纤维染色模型

Fig.8 Gluten fiber staining model in three mutually perpendicular directions

根据图7和图8,经过测量换算,整个模型内部面筋蛋白纤维的数量约3000个,纤维的粗细为 $2\sim 14\text{ }\mu\text{m}$ (图9a),长度为 $140\sim 420\text{ }\mu\text{m}$ (图9b)。

其中面筋蛋白纤维的粗细主要集中在较小的部分($<7\text{ }\mu\text{m}$),约50%面筋蛋白纤维的粗细在 $2\text{ }\mu\text{m}$ 左右,这和Don等^[9]利用激光共聚焦技术在2

维平面上看得的结果有部分吻合。面团质构和这一参数的分布紧密相连。如果用虎克定律(弹簧拉伸)模型来简化面筋蛋白纤维的机械拉伸赋予面团的机械性能^[17],因为弹簧的弹性系数 $c = \frac{Gd^4}{8D_z n}$,式中, G ——弹簧的切变模量(Pa); d ——弹簧钢丝

的直径(mm); D_z ——弹簧中弹簧环的直径(mm); n ——弹簧的环数^[18]。因此,面团稠度和弹性可以近似用 $\sum n_i d_i^4$ 来估算,式中 n_i 是直径为 d_i 蛋白面筋纤维的空间浓度。同时面团机械性能还与 G 有关。而 G 可能和面团中的营养成分分布、各种化学键(如二硫键等用于构建面团中的三位网状结构)在面团中的时空分布^[19]、麦谷蛋白颗粒的变化^[20]、

水含量^[21]、添加剂的种类和用量^[22]等有关。

利用三维重构技术,使得量化上述参变量以研究对面团机械性能的影响成为可能;同时能更精细化的描述面粉储存等条件的影响。这些影响因素虽然在工业实践中是非常明显的,但其作用机制还存在巨大争议^[23];同时这也为配粉等操作提供理论指导^[24]。

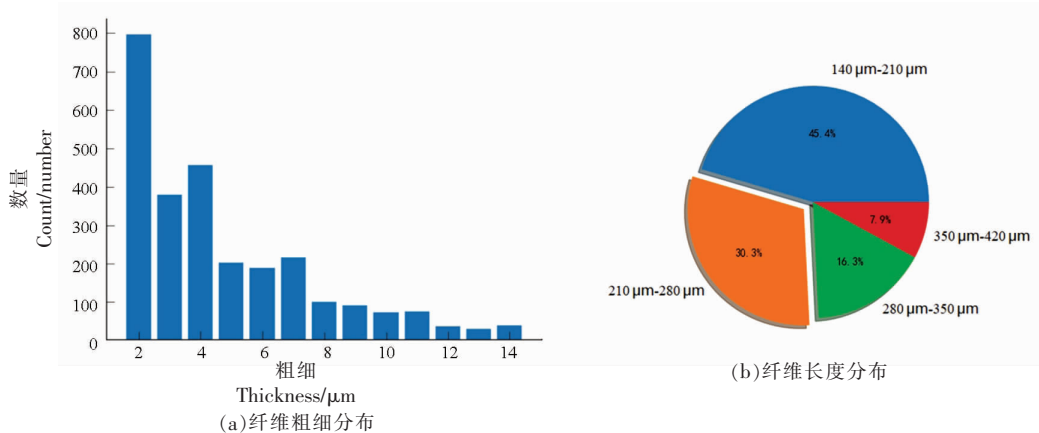


图 9 面筋蛋白纤维长度分布图

Fig.9 Distribution map of gluten protein fiber length

2.3 面团中面筋蛋白纤维长度分布

面团中面筋蛋白纤维长度的分布如图 9b 所示,约 45%的面筋蛋白纤维的长度在 140~210 μm 之间;约 30%的在 210~280 μm,剩下约 24%长度大于 280 μm。这个长度的分布非常重要,因为它决定了面团中纤维所分割的空间大小。Li 等^[6]利用扩散波谱技术(DWS)分析了面团在揉制的不同时间段下,这些空间的变化,发现这一变化规律能揭示面团中面筋蛋白三维网络的发展,同时 DWS 所得的蛋白面筋三维网络中的空间大小和本试验所得有一定的吻合。

2.4 存在的问题及解决策略

受算法的限制,目前还没有考虑面筋蛋白纤维的弯曲和缠绕,这是导致目前试验结果和 DWS 等技术手段所获取的结果存在一定差异的原因。目前,本课题组正在改进算法,优化重构程序,以期能与其它试验结果有更好的吻合度。如特征信息进行分类标记等技术的应用。

目前采用的荧光显微镜技术拍照片,位置控制和照片清晰度等存在很大的提升空间。后期将

利用激光共聚焦技术,以期得到质量更好的照片(位置控制、分辨率、照片的清晰度等)。

3 结论

利用三维重构技术,可以了解面筋蛋白中纤维的数量、大小,及其在空间中的分布。然而目前所得的仅仅是初步结果,验证计算机三维重构在面团中再现面筋蛋白纤维的可能性,且存在不少局限性:如二维平面上蛋白纤维截点之间的连接存在较大的任意性,需要进一步优化算法;同时,该结果还需用扩散波谱等技术证明该方法的可靠性。

参 考 文 献

- [1] 吴舒,穆月英,聂凤英. 中国小麦生产波动成因及产量预测[J]. 农业展望, 2020, 16(6): 40-47, 58. WU S, MU Y Y, NIE F Y, et al. Influencing factors and forecast of China's wheat production fluctuations[J]. Agricultural Outlook, 2020, 16(6): 40-47, 58.

- [2] 张爱东. 基于连续断层的工业 CT 图像三维重建的研究[D]. 四川: 中国工程物理研究院, 2005.
ZHANG A D. Three dimensional image reconstruction of industrial computed tomography based on continuous tomograms[D]. Sichuan: China Academy of Engineering Physics, 2005.
- [3] 董吉林, 朱莹莹, 申瑞玲. 全谷物膳食纤维对小麦面团及其主要组分的影响研究进展[J]. 轻工学报, 2021, 36(5): 1-8.
DONG J L, ZHU Y Y, SHEN R L, et al. Research progress in the effects of whole grain dietary fiber on wheat dough and its main components[J]. Journal of light industry, 2021, 36(5): 1-8.
- [4] 岳媛媛, 刘效谦, 母梦羽, 等. 新收获小麦后熟过程中麦谷蛋白大聚体二级结构变化与面团流变学特性的关系研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2021, 42(5): 39-46, 63.
YUE Y Y, LIU X Q, MU M Y, et al. The relationship between secondary structure of glutenin macropolymer and rheological characteristics in freshly-harvested wheat during postharvest wheat maturation[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2021, 42(5): 39-46, 63.
- [5] DON C, LICHTENDONK W J, PLIJTER J J, et al. Understanding the link between GMP and dough: From glutenin particles in flour towards developed dough[J]. Journal of Cereal Science, 2003, 38(2): 157-165.
- [6] LI F, ZHANG Y, GUO B, et al. The mesoscopic structure in wheat flour dough development[J]. Journal of Cereal Science, 2020, 95: 103087.
- [7] SHORE K A. Microrheology, by E. M. Furst and T. M. Squires[J]. Contemporary Physics, 2018, 59(2): 222-223.
- [8] BERNKLAU I, LUCAS L, JEKLE M, et al. Protein network analysis - A new approach for quantifying wheat dough microstructure[J]. Food Research International, 2016, 89: 812-819.
- [9] 张臣, 范炜. 骨肿瘤影像诊断中多层螺旋 CT 三维重建后处理运用效果观察[J]. 影像研究与医学应用, 2021, 5(12): 61-62.
ZHANG C, FAN W. Effect of post-processing of multi-slice spiral CT three-dimensional reconstruction in imaging diagnosis of bone tumors[J]. Journal of Imaging Research and Medical Applications, 2021, 5(12): 61-62.
- [10] CLINE H E. Two algorithms for the three-dimensional reconstruction of tomograms[J]. Medical Physics, 1988, 15(3): 320-327.
- [11] KIM B S, KOHLI P, SAVARESE S. 3D scene understanding by Voxel-CRF[C]. 2013 IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV), 2014.
- [12] YU R, WEI X, WU L, et al. Research on multi-resolution isosurface extraction method for 3D scalar field[C]// 2017 IEEE Second International Conference on Data Science in Cyberspace (DSC), 2017.
- [13] 李变霞. 基于轮廓线法的工业产品外观造型三维重建方法[J]. 长春工程学院学报(自然科学版), 2019(3): 4.
LI B X. 3D reconstruction method of industrial product appearance modeling based on contour line method[J]. Journal of Changchun Institute of Technology (Natural Science Edition), 2019(3): 4.
- [14] PAN J, YANG X. A topological model for grayscale image transformation[C]. Fourth International Symposium on Parallel Architectures, IEEE, 2012.
- [15] CHANG L, SHANG Z, CHEN Q. An adaptive tone mapping algorithm based on gaussian filter[C]. 2016 7th International Conference on Cloud Computing and Big Data (CCBD), 2016.
- [16] 谭培勇, 陈尽欢, 李鹏, 等. 下颌骨 CT 三维重建中国值分割的改进及应用[J]. 四川大学学报(医学版), 2015, 46(3): 458-462.
TAN P Y, CHEN J H, LI P, et al. Improving threshold segmentation in 3D reconstruction of mandible CT image[J]. Journal of Sichuan University (Medical Science Edition), 2015, 46(3): 458-462.
- [17] 吴奇. 大分子溶液[M]. 北京: 高等教育出版社, 2021: 102-150.
WU Q. Macromolecular solutions[M]. Beijing: Higher Education Press, 2021: 102-150.
- [18] 吴宗泽. 机械设计实用手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 1997: 875-897.
WU Z Z. Practical manual of mechanical design[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1997: 875-897
- [19] LEFEBVRE J, POPINEAU Y, DESHAYES G, et al. Temperature-induced changes in the dynamic rheological behavior and size distribution of polymeric proteins for gluteins from wheat near-isogenic lines differing in HMW glutenin subunit composition [J]. Cereal Chemistry, 2000, 77(2): 193-201.

- [20] DON C, LICHTENDONK W, PLIJTER J J, et al. Glutenin macropolymer: A gel formed by glutenin particles[J]. *Journal of Cereal Science*, 2003, 37(1): 1-7.
- [21] 杨勇, 郑帅帅, 艾志录, 等. 不同冻结方式对非发酵面团的水分状态及品质特性的影响[J]. *食品科学*, 2022, 43(5): 11-16.
- YANG Y, ZHENG S S, AI Z L, et al. Effects of different freezing methods on water state and quality characteristics of non fermented dough[J]. *Food Science*, 2022, 43(5): 11-16.
- [22] 张梦迪, 陆启玉. 不同盐的添加对面条品质影响的研究进展[J]. *中国调味品*, 2020, 45(3): 4.
- ZHANG M D, LU Q Y. Research progress on the effect of different additive amount of salt on the quality of noodles[J]. *China Condiment*, 2020, 45(3): 4.
- [23] 王颖. 不同储藏条件下小麦粉品质改变对馒头品质的影响[D]. 郑州: 河南工业大学, 2016.
- WANG Y. Different storage conditions influence on the quality of wheat flour to change the quality of steamed bread[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2016.
- [24] 刘瑞卿. 新形势下的面粉加工工艺研究[J]. *现代食品*, 2021(14): 1-4.
- LIU R Q. Study on the flour processing technology under the new situation[J]. *Modern Food*, 2021(14): 1-4.

Studies on Reconstruction of 3-Dimension Network Structure of Wheat Gluten Based on IT Technology

Xu Shuaishuai¹, Zhang Bin², Ma Shuang², Zhao Mengdi², Li Min³, Ju Mingyue⁴, Niu Fuge², Zhang Yingquan⁴, Wang Xiaoling¹, Zhang Bo^{4*}, Pan Weichun^{2*}

¹*School of Information and Electronic Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018*

²*School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018*

³*Zhejiang Fangyuan Test Group CO., LTD., Hangzhou 310018*

⁴*Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193*

Abstract Wheat dough was selected as a model system. Via dyeing protein and the fluorescence microscope technique, the pictures of protein aggregates distribution in the 2-dimensional fact surface were obtained. In addition, reconstruction of 3-dimensional structure by IT techniques based on these pictures was developed. Therein, 3-dimensional networks made up by the wheat gluten were obtained as well. This picture offered crucial information, such as the length, the diameter, the entanglement of wheat gluten fibers. And this opens an avenue to build a qualitative relationship among the raw material compositions, the operation conditions to prepare dough, and dough texture properties. Therefore, this study sheds light on the practices in dough industry and other relevant industries.

Keywords wheat dough; wheat gluten; 3-dimensionanl network structure; reconstruction