

疑似肉の特性の評価

押し出し混練と電子顕微鏡およびレオロジー測定を組み合わせた

著者

Valerie Louise Pietsch, Fritz Soergel and Mattia Giannini

キーワード

植物由来、疑似肉、大豆タンパク、小麦グルテン、食品押し出し混練、電子顕微鏡、レオロジー

イントロダクション

高加水押し出し混練は、さまざまな植物タンパク質源から幅広い疑似肉製品をつくり出す大きな可能性を提供します。このプロセスによりマッスルミート（動物の筋肉）の触感に似ている製品が作成されます。典型的な高加水押し出しにより中間製品が作成され、これらを肉類似体を製造するために加工し、さらにミンチ、マリネ、および混合などの従来の食肉加工操作を経て、食べることでできる製品となります。

多相系のせん断誘起構造化により、植物タンパク質に異方性の繊維状構造が付与され、骨格筋のようなテクスチャーを実現できることが示されています[1]。このようなメカニズムは、図1に示すように、分散相が連続相と一緒に存在する場合に発生することがあります。分散相の正確な組成は、原材料として使用される植物タンパク質によって異なりますが、通常、遊離水、不溶性のタンパク質、または残留多糖類で構成されます。連続相は通常、水で可塑化された植物タンパク質で構成されています。押し出し加工などのせん断誘起構造化プロセスでは、これらの相が互いに混合され、水中水型エマルジョンの形成につながります。流動特性に基づいて、分散相は流れの方向に変形します。冷却すると、マトリックスは固化し、変形した構造が保持されます。

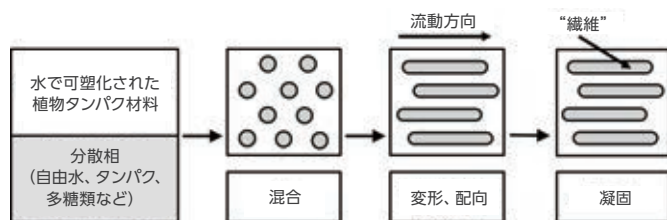


図1. Tolstoguzov [1], [2]によって記述された多相系のせん断誘起構造化のスキーム

異方性の繊維状構造を形成するための高加水押し出し混練プロセスには、一般に肉と同様の含水量、すなわち40~80%で、冷却されたスリットダイを末端部に取り付けた同方向回転二軸押し出し機が使用されます。押し出しプロセス中、植物タンパク質は押し出し機に供給され、水と混合され、回転スクリューに沿って輸送されます。押し出しプロセスのスクリュー部分では、スクリューのせん断とバレルの加熱により、材料が熱機械的応力にさらされます。これらの応力は、タンパク質の変性（反応挙動）、混和性、およびレオロジー特性の観点から、植物のタンパク質-水マトリックスの材料特性に影響を与えます。冷却ダイで支配的である流動特性は、流動方向における分散相の変形と配向を決定します。

せん断誘起構造化のこの一般的な理解から、疑似肉製品の最終製品特性は分散相の最終形態に依存することが導き出されます。分散相の形態は、体積分率と分散相の変形にさらに依存します。これまでの研究結果では、これらの要因は、原料の組成や押し出しプロセスの条件によって影響を受ける可能性があると考えられています[2-4]。したがって、疑似肉製品の製品特性を消費者の期待に合わせて調整するには、最終製品の特性に対する成分組成と押し出し加工条件の影響を考慮する必要があります。

疑似肉製品を製造するために使用される典型的な成分は、さまざまな植物タンパク質源からの植物タンパク質濃縮物または単離物からなります。タンパク質成分の純度およびそれらの技術的特性は、濃縮や単離の際の加工技術に依存します。本書において、タンパク質濃縮物および分離物についてはそれぞれおよそ70%、90%のタンパク質を含有しています。

疑似肉を製造するために現在最も広く利用されているタンパク質源は、大豆タンパク質、小麦グルテン、エンドウ豆タンパク質、またはそれらの混合物です。さらに、キャノーラ種子タンパク質、ピーナッツタンパク質、または藻類など、新たな植物タンパク質源から疑似肉を製造することへの関心が急速に高まっています。植物由来ではありませんが、昆虫も疑似肉製品に利用できる人間の栄養素としての有望なタンパク質源として考えられています。

さまざまなタンパク質源が利用可能であるため、疑似肉製品を製造するための既存および新規のタンパク質源の適用性を定期的に評価する必要があります。材料開発と品質管理の観点から、ラボスケールで疑似肉製品を製造できるThermo Scientific™ Process 11 Hygienicエクストルーダーは、テスト時間、サンプル量、廃棄物量を削減しながら新しい原料組成をテストするソリューションを提供します[5]。このレポートでは、Process 11 Hygienicエクストルーダーをレオメーターおよび電子顕微鏡と組み合わせて、疑似肉製品の特性に対する成分組成の影響を評価する方法を示します。繊維状の異方性構造の微細構造の特性評価は、あらゆるタイプのサンプルに対応する柔軟性を実現するための、独自の環境機能を備えた超多用途の高解像度SEMであるThermo Scientific™ Quattro S 走査電子顕微鏡 (SEM) を使用しました。レオロジー特性の定量的測定は、材料特性評価に用いられるリサーチグレードのレオメーターであるThermo Scientific™ Haake™ MARS™ 60レオメーターを使用しました。

マテリアル&メソッド

押し出し混練

疑似肉製品は、Process 11 Hygienicエクストルーダーと冷却スリットダイで作成しました。植物タンパク質粉末は容量式二軸フィーダーを用いてエクストルーダーに供給しました。給水はペリスタリックポンプを使用しました。プロセス設定の概略図を図2に示します。冷却スリットダイの寸法は、HxWxL: 5x20x200 mmです。

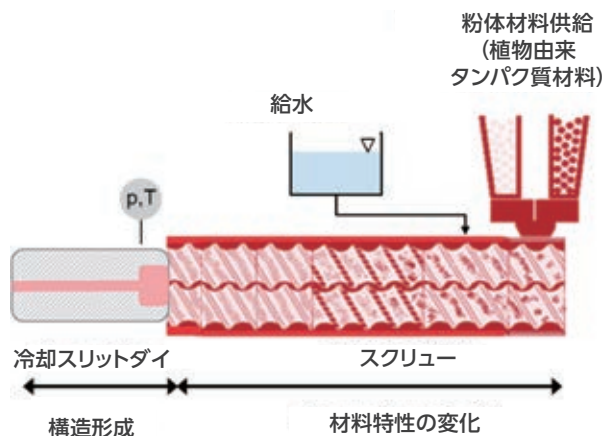


図2. L/D (スクリュー長さ対直径比) 40のProcess 11 Hygienicエクストルーダーと冷却スリットダイの構成概略

疑似肉の製品特性に対する成分組成の影響を調査するために、3つの異なる配合を分析しました。表1に示すように、小麦グルテンと大豆タンパク質、およびそれらの混合物を使用しました。試験は、スクリュー速度を400 rpm、総供給速度を1.1 kg/h、含水率を60%とし、その他は一定のプロセスパラメーター設定で実施しました。混練された材料温度はエクストルーダーの出口(冷却ダイに入る前)で測定され、3つの配合全てで135 °Cとなりました。冷却されたスリットダイの温度は80 °Cで一定に保たれました。

表1. 押し出し混練に用いた材料の配合比

大豆タンパク質濃縮物 (SPC)	小麦グルテン (WG)
100%	0%
70%	30%
0%	100%

試験後、サンプルを採取し、サンプルの乾燥と腐敗を防ぐために気密ビニール袋に -8°C で保存しました。分析のために、サンプルを一晩解凍し、測定の前日にビニール袋から取り出しました。

外観とSEMによる分析

繊維質、異方性、およびテクスチャーといった疑似肉製品の典型的な特徴をサンプルの視覚的観察によって行いました。押し出されたサンプルの微細構造の分析は、Thermo Scientific™ Quattro S ESEMを使用して行いました。サンプルは、凍結切断によってSEM分析用に準備しました。これは、切削工具の使用によるアーチファクトを発生させることなく、材料の断面を露出させる方法です。凍結した押し出しサンプルの薄片を液体窒素でさらに冷却して脆性を高めました。完全に冷却した後、サンプルの中央軸に沿って破面を露出させるために、サンプルは押し出し方向の軸に沿って破壊しました。次に、破碎したサンプルを室温で解凍し、カーボンテープを使用してアルミニウムの試料台に固定しました。最後に、表面を電子伝導性にするために、サンプルをイリジウムでスパッタコーティングしました。SEM分析は、二次電子画像でトポグラフィ情報を収集するためにEverhart-Thornley Detector (ETD) を使用して高真空モードで実施しました。コーティングされた表面の詳細を明らかにするために、 5 keV の加速電圧を用いました。

レオロジー特性評価

疑似肉製品のレオロジー特性を確認するため、圧縮および振動測定を行いました。全ての測定は室温で行いました。図3に示すように、直径 8 mm のプレート形状を備えたHAAKE MARS 60レオメーターで、圧縮速度 0.1 mm/s で圧縮試験を実施しました。

圧縮試験の設定:

- HAAKE MARS 60レオメーター
- プレート-プレート形状:P8
- 圧縮速度: 0.1 mm/s
- 室温
- サンプルサイズ:



図3. HAAKE MARS 60レオメーターとプレート-プレート形状P8を使用した圧縮試験測定の設定

この試験のために、サンプルを円形パンチングアイロンで直径 8 mm の丸いサンプル形状に切断しました。サンプルの厚みは 5 mm で冷却ダイから排出されたサンプルの厚さです。

直径 35 mm のプレート-プレート形状を使用して、振動測定(振幅および周波数スイープ)を実施しました。この試験では、押し出されたストライプ状サンプルの2つを、プレート-プレート形状の間に配置しました(図4)。サンプルの長さは約 35 mm にカットしました。これにより測定ギャップが完全に埋められることが確認されました。サンプルの高さと幅は、冷却ダイの高さと幅(それぞれ 5 mm と 18 mm)に基づいています。 20 N の一定の法線力を与えることにより、サンプルを測定ジオメトリーにロードしました。一定の法線力に達した後、得られたギャップの高さで振動測定を実行しました。振幅と周波数のスイープに使用されるそれぞれのひずみと周波数の設定を表2に示します。

振動試験の設定:

- HAAKE MARS 60レオメーター
- プレート-プレート形状:P 35
- 周波数スイープ:
 $\gamma = 0.25\%$; $f = 100 - 0.3\text{ Hz}$
- 室温
- サンプルローディング: $F_n = 20\text{ N}$
- サンプル形状:
- バルク:



図4. HAAKE MARS 60レオメーターとプレート-プレート形状P35を使用した振幅と周波数(バルク)試験の設定

表2. 振幅と周波数(バルク)試験の設定

	振幅スイープ	周波数スイープ
ひずみ γ	$10^{-2} \sim 10^3\%$	1 Hz
周波数 f	0.25%	$100 \sim 0.3\text{ Hz}$

結果

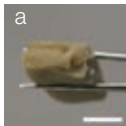
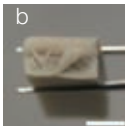
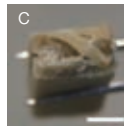
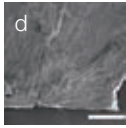
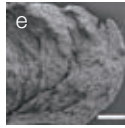
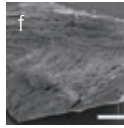
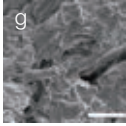
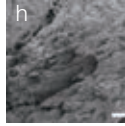
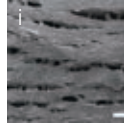
マクロおよびマイクロ構造の視覚的特徴付け

押し出された疑似肉製品のマクロおよびマイクロ構造の視覚的特性評価の結果を表3に示します。マクロ構造を見ると、全ての押し出しサンプルが異方性の繊維状構造を示していることがわかります。最初の視覚的および触覚的分析で、サンプルが全体的に異なる製品特性を示すことが観察できました。例えば、 100% 小麦グルテン(WG)から作られたサンプルは、非常に弾力性があり、歯ごたえがありました。一方、 100% 大豆タンパク質濃縮物(SPC)から作られたサンプルは、非常にもろくて硬いようでした。WGとSPCとは対照的に、SPCとWGの 70% と 30% の比率の混合物は、柔らかいテクスチャーを有するサンプルが押し出されたことが観察されました。

微細構造を詳しく見ると、押し出された全てのサンプルの外観は、多相系の存在に由来します。全てのサンプルで、流れ方向に配向した分散相が観察されました。先に説明したように、このタイプの構造は、筋肉の肉のような質感を持つ疑似肉製品を形成するための前提条件となります。これは、SPCとWGの比率が構造形成と製品特性に大きく影響することが示されている過去の研究[6]と一致しています。さらに、20~30%のWGを含む疑似肉サンプルは、ゆでた鶏肉の食感に近いことが示唆されています[6]。

全体として、これらの結果は、押し出しプロセスのパラメーターだけでなく、成分組成も疑似肉製品の製品特性に影響を与えることを示しています。以下では、疑似肉製品の品質評価のための標準化された操作手順としてレオロジー分析を用いました。

表3. 大豆タンパク質濃縮物 (SPC) および小麦グルテン (WG) のさまざまな比率でのProcess 11エクストルーダーで製造された疑似肉サンプルのマクロおよびミクロ構造。画像のスケールバーは、それぞれ100 mm (a, b, c) 、1 mm (d, e, f) 、100 μ m (g, i) 、200 μ m (h)

混合比 SPC/WG	100 / 0	70 / 30	0 / 100
マクロ構造			
ミクロ構造 (SEM)			
			
視覚的および触覚的特徴	異方性 歯ごたえと弾力性がある	異方性 柔らかい	異方性 もろくて硬い

定量測定ツールとしてのレオロジー分析

レオロジーを比較ツールとして使用して、例えば鶏肉との類似性など、特定の製品品質を持つ押し出し製品を確認することが目的とされました[6]。まず、押し出された試料に一軸ひずみを与えて圧縮解析を行いました。図5の結果は、異なる疑似肉サンプルについて記録された典型的な力-距離曲線を示しています。力-距離曲線は、最初に線形増加を示しており、これは材料の弾性変形に対応します。その後、加えられた力は最大降伏点に近づき、材料は元の構造を維持できなくなります。力-距離曲線の非線形領域では、材料が流れ始め、破裂する可能性があります。これらの測定値の線形粘弾性領域 (LVR) から、押し出されたサンプルの剛性および弾性を比較することができます。ヤング率Eは、力-距離曲線のこの部分から計算できます。ヤング率の増加はサンプルの剛性の増加を表し、ヤング率の低下はサンプルの弾性の増加を示します[4]。

異なるサンプルを比較すると、大豆タンパク質濃縮物 (SPC) の含有量が増えると、ヤング率が高くなるのがわかります。これらの結果は、サンプルの触覚的および視覚的な説明とよく一致しています。したがって、この方法を定量的に使用して、疑似肉サンプルの弾性および剛性に関するテクスチャーが比較できることを示しています。

次に、振幅スイープを実施しました。目的は、疑似肉サンプルの構造強度と歯ごたえを定量化することでした。結果を図6に示します。全てのサンプルは明確な範囲を示しており、貯蔵弾性率 (G') と損失弾性率 (G'') は一定であり、加えられた変形とは無関係です。この領域は、典型的には、線形粘弾性領域 (LVR) と呼ばれます。LVRの幅は、材料の構造強度に依存します。貯蔵弾性率および損失弾性率の変化は、加えられた変形がLVRを超え、サンプル構造の変化を引き起こすことを示します。図6の結果は、ある変形の後、非線形変形は損失弾性率 G'' の非線形増加から始まり、 G' と G'' のクロスオーバーに続くことを示しています。典型的には、クロスオーバーポイントは $G' = G''$ のバランスによって定義されます。損失係数 $\tan \delta$ は、クロスオーバーポイントを決定する特性値として使用できます。これは G'' と G' の比で与られます。クロスオーバーポイントでは、 $\tan \delta$ は1または $\delta = 45^\circ$ に等しくなります。

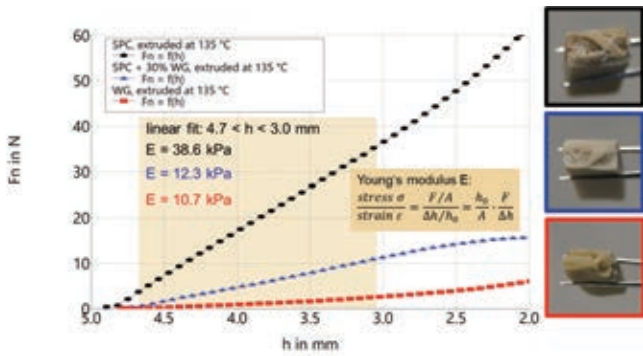


図5. HAAKE MARS 60レオメーターとプレート形状P8を用いた圧縮分析による、大豆タンパク質濃縮物 (SPC) と小麦グルテン (WG) から作られた疑似肉サンプルの弾力性と剛性の変化

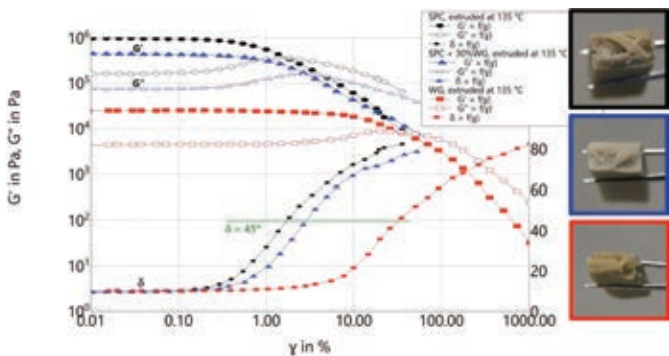


図6. HAAKE MARS 60レオメーターとプレート形状P35を使用した振幅スイープ (バルク) 分析による大豆タンパク質濃縮物 (SPC) および小麦グルテン (WG) から作製された疑似肉サンプルの構造強度の変化

クロスオーバーポイントに近づく前に観察された G'' の増加は、構造要素間の内部摩擦、例えば液体系におけるエマルジョン液滴間の摩擦によって引き起こされる可能性があります。固体系では、この増加は微小亀裂の発生によっても生じます。微細構造レベルでの変形中に何が起きているかについてのさらなる洞察を得るために、RheoScopeモジュールを使用して追加の振幅スイープ測定が行われました。[7]で説明されているように、このモジュールは光学 (偏光) 顕微鏡で構成され、サンプルのせん断中に顕微鏡画像を記録するために使用することができます。適用された測定手順と、その結果得られたRheoScope画像を図7に示します。光学画像を得るためには、サンプルを薄層に切断する必要があります (図7 a)。サンプル画像は、大豆タンパク質濃縮物 (SPC) および小麦グルテン (WG) の変形中に記録しました。表3に描かれたSEM画像と同様に、両方のサンプルの顕微鏡写真は、連続したタンパク質マトリックスに埋め込まれた分散相を示しています。図7のbおよびcの結果は、30%および230%の変形でSPCの振幅スイープ中に記録された顕微鏡画像です。両方の画像で強調されているように、微小な亀裂は変形の増加と

ともに伝播します。同様の所見がWGでも観察され、変形が40%から120%に増加するとより大きな亀裂が現れます。したがって、 G' に対する G'' のクロスオーバーに続いて観察された G'' の増加 (図6) は、変形の増加に伴う特徴的な微細構造の破壊に関連している可能性が高いと考えられます。

製品特性の評価に関して、図7で示された結果は、エクストルーダーで作成された疑似肉製品の構造強度および歯ごたえに関する情報を提供します。SPCは1.7%の変形でクロスオーバーポイントを示しますが、SPC-WG混合のクロスオーバーポイントとWGはそれぞれ2.9%と33%にシフトしました。観察されたクロスオーバーポイントのシフトは、WGで作られた疑似肉製品の構造強度がSPCと比較して高いことを示しています。WGサンプルの構造破壊がより高い変形を必要とするということは、消費者がこのタンパク質源から作られた疑似肉の食感を、より噛み応えのあるものとして知覚することを意味しています。

振幅スイープ測定の設定:

- HAAKE MARS 60 RheoScope
- プレート-プレート形状: P35
- 振幅スイープ:
 $f = 1 \text{ Hz}$; 102~103 %
- 室温
- サンプルサイズ:
押し出し方向に平行な薄片

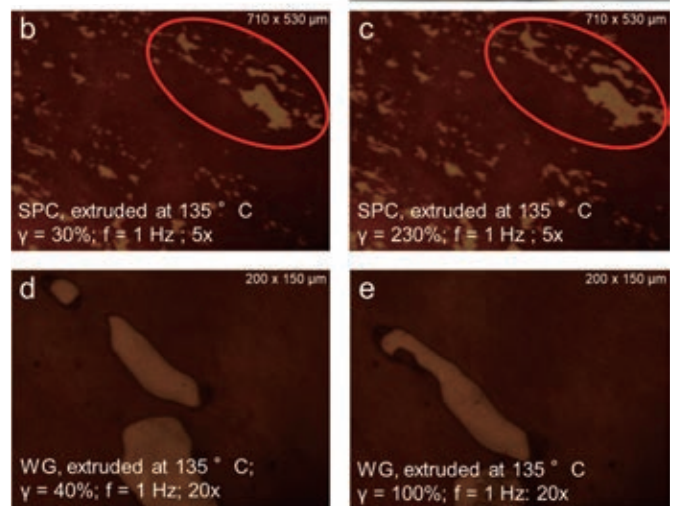
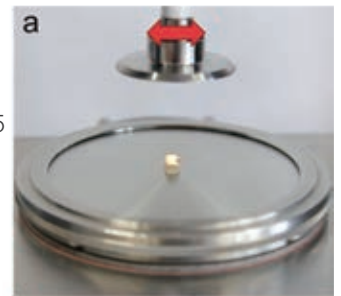


図7. RheoScopeモジュールとプレート-プレート形状P35を備えたHAAKE MARS 60レオメーターを使用した振幅スイープ (薄層) によって分析された、変形の増加に伴う微細構造要素の変化

レオロジー測定の結果は、これらのサンプルの視覚的および触覚的印象と非常に良好に整合しているだけでなく(表3)、振幅スイープ分析の結果(例えば、クロスオーバーポイントでの変形およびレオロジー特性)が、疑似肉製品の製品特性(咀嚼性)を比較するための定量値として使用できることも示しています。

線形粘弾性領域(LVR)内の周波数スイープ測定を使用して、サンプルの硬さまたは柔らかさを示すことができます。異なる疑似肉サンプルの結果を図8に示します。この材料はせん断減粘挙動を示し、主に $G' > G''$ として弾性があります。また、SPCから作製された疑似肉サンプルは、最も高い粘度を示しました。この複合粘度は、SPC-WG混合物からWGへとさらに増加します。これらの測定は複数のサンプルを一括して行ったため、複素粘度が最も高いサンプルがせん断応力に対してより耐性があることを示しています。したがって、より高い粘度を有するサンプルは、消費者にとって、噛み付きにくく、噛みにくいものとして認識される可能性が高くなります。これらの知見は、表3に要約された定性的観察結果に極めて良好に一致します。したがって、これらの結果(例えば、複素粘度)は疑似肉製品の特性(硬さ)を比較するための定量値を与えます。

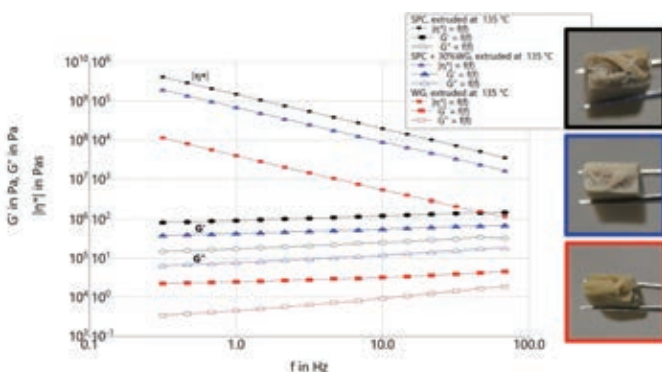


図8. HAAKE MARS 60レオメーターとプレート-プレート形状P35を使用した周波数スイープ(バルク)分析による大豆タンパク質濃縮物(SPC)および小麦グルテン(WG)から作成された疑似肉サンプルの硬さ/柔らかさの変化

まとめ

この研究の結果は、顕微鏡とレオロジーツールの組み合わせによって、疑似肉製品の特性をどのように分析できるかを示しています。

詳細はこちらをご覧ください thermofisher.com/foodextrusion

研究用のみ使用できます。診断用には使用いただけません。
© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.
All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.
実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。
価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。
標準販売条件はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/jp-tc MC062-A22100B

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

thermofisher.com

図9に要約されているように、Quattro S ESEMを使用したSEM分析の結果は、冷却スリットダイを備えたProcess 11 Hygienic二軸エクストルーダーが典型的な特性を有する疑似肉製品を製造できることを示しています。HAAKE MARS 60レオメーターを使用したレオロジー測定の結果、疑似肉製品の弾力性、噛み応え、硬さを表す定量値を決定することができました。全体として、得られる疑似肉製品の特性は、成分組成および押し出しプロセス条件に依存します。ここで使用した分析ツールを利用することで、消費者の要求に応じて、目標とする疑似肉の品質を選択することができるようになります。

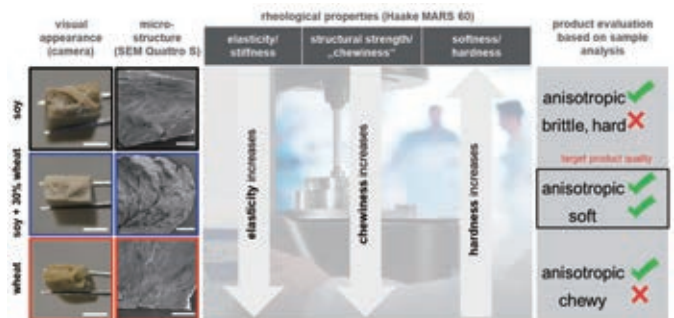


図9. 光学的およびレオロジーツールによるサンプル分析に基づく疑似肉製品の品質評価

参考文献

1. Tolstoguzov, V.B., 1993. Thermoplastic extrusion the mechanism of the formation of extrudate structure and properties. Journal of the American Oil Chemists' Society 70 (4), 417-424.
2. Pietsch, V.L., 2019. High moisture extrusion: Investigations on the reaction behavior of plant proteins. PhD Thesis, Karlsruhe Institute of Technology.
3. Osen, R.J.J., 2017. Texturization of pea protein isolates using high moisture extrusion cooking. PhD Thesis, Technical University of Munich.
4. Dekkers, B., 2018. Creation of fibrous plant protein foods. PhD Thesis, Wageningen University.
5. Guy, R., 2000. Extrusion cooking. Technologies and applications. Woodhead Publishing.
6. Chiang, J.H., Loveday, S.M., Hardacre, A.K., Parker, M.E., 2019. Effects of soy protein to wheat gluten ratio on the physicochemical properties of extruded meat analogs. Food Structure, 19, 100102.
7. Oldörp, K., Application Note V-228, What happens when rheological properties change? Looking into Rheological Properties with Simultaneous Collection of Microscopic Images.