

令和元年6月14日現在

機関番号：35413

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07759

研究課題名(和文)氷結晶誘導を利用した酵素含浸による形状保持型介護食作製に関する研究

研究課題名(英文) Research on preparation of shape-retaining care food by enzyme impregnation using ice crystal induction

研究代表者

坂本 宏司 (Sakamoto, Koji)

広島国際大学・医療栄養学部・教授

研究者番号：80613017

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：介護食や高齢者食は機能性や安全性が重視されており咀嚼や嚥下を助ける食品でもある。これらの食品は元の状態と異なるため、要介護者のQOL低下を招いている。そこで、減圧化で酵素を含浸して形状保持したまま食材を軟化する方法(凍結含浸法)を考案した。しかし、凍結含浸法は真空装置が必須であるため、在宅介護や小規模な介護施設などでは適用が困難である。そこで、真空装置を必要としない拡散を利用した新しい酵素含浸法を考案した。酵素を食材内に効率的に拡散させる方法として、酵素剤を塗布した状態で凍結食材を解凍させる方法を見出した。酵素剤を塗布する工程として、凍結前に塗布する方法と解凍中に塗布する方法が考案された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

見た目がそのままであるにも関わらず、極めて軟らかい物性を有する食材は、介護食として優れた特性を有している。ミキサー食などと異なり、健常者が喫食する食事と同じ見た目の食事をとることができるため、要介護者のQOL向上に大きく寄与する技術である。これまで形状保持型の介護食を調理・製造するには、凍結含浸法が使用されてきたが真空装置が必須で、在宅介護や小規模施設などでは適用が困難であった。今後増加すると予想される在宅介護においても簡単にこれらの介護食が調理できれば、要介護者のQOLは飛躍的に高まる。本研究では、冷凍庫のみの使用で酵素を食材内に含浸させる方法について検討し、新たな酵素含浸法を開発した。

研究成果の概要(英文)： Many foods in the market for elderly persons and those under nursing care are attached importance to safety and functionality, and are manufactured with a form assisting chewing and swallowing. such food products as minced and liquid diets, often deviate from the original food contents, and are not appetizing. However, I developed the freeze-thaw impregnation technology for softening them while retaining their shape by impregnating them with macerating enzymes under reduced pressure after defrosting the frozen food staffs. The freeze impregnation is difficult to apply in home care and small scale care facilities because a vacuum device is essential. Therefore, A new enzyme impregnation method using diffusion was devised. As a process of applying an enzyme agent, a method of applying a foodstuff before freezing and a method of applying it during thawing have been devised. The effects of each treatment process on the hardness of food were also clarified.

研究分野：食品加工学、食品化学

キーワード：介護食 酵素 形状保持 拡散 軟化 ペクチナーゼ セルラーゼ 咀嚼・嚥下

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会に突入した我が国において介護食市場は急速に拡大している。そのため、要介護者のQOL(生活の質)向上は急務で、食品分野においても咀嚼・嚥下困難者用食品を含む高齢者用食品の開発競争は激化している。申請者は食材内に物質を急速導入する技術である「凍結含浸法」を2002年に開発した。ペクチナーゼなどの分解酵素含浸を行い、形状保持型介護食を製造する技術開発を行い、事業化を図ってきた。本法は、凍結と減圧処理を基本とし、食材の体積変化を物質導入の駆動力としている。本法で製造された形状保持型の介護食は、従来のきざみ食やミキサー食と異なり、見た目が自然な形状をしている。そのため、要介護者の食欲増進効果は高く、QOL向上に大きく貢献する技術として全国の食品企業や病院に技術導入され、一方、介護分野を俯瞰すると厚生労働省では、「地域における医療・介護の関係機関が連携して、包括的かつ継続的な在宅医療・介護の提供を行うことが必要である」として、在宅介護を推進する施策を策定しており、凍結含浸法より簡易な酵素含浸法の開発が急がれる。そこで、減圧装置を必須としない簡易な酵素含浸法の開発、在宅調理可能な形状保持型の介護食調理技術の開発、防災・備蓄型の形状保持型介護食の製造技術、を可能とする新たな酵素含浸法を開発するため、本研究課題を立案した。

### 2. 研究の目的

在宅調理可能な形状保持型の軟化介護食の加工・調理技術として、真空装置などの物理的な操作機器を使用しない簡易な酵素含浸法に関する基礎的技術研究を行う。本研究では、氷結晶を食材表面から中心部に徐々に生成させ酵素液移動を生じさせるという仮説に対し、その現象の検証を行う。本工程では冷凍装置と加熱装置(家庭用冷凍冷蔵庫と加熱器具)のみを使用し、酵素や調味料を食材内に導入する。すなわち、食材表面に酵素(ペクチナーゼ)を付着させた状態で食材を凍結・解凍し、そのまま酵素反応させると食材が軟化する現象を見出した。本仮説の含浸メカニズムとして、食材を酵素溶液中で凍結させると、酵素を含む溶液は凍結せず、温度低下に伴い、氷結晶は食材中心部に向けて徐々に生成し、食材表面に付着した酵素溶液も未凍結部分を通じて吸着と分配により食材内部に導入され、氷結晶の生成と相まって酵素溶液は、細胞間隙に濃縮した状態で導入されるとの仮説を立てた。そこで、本研究では、この仮説に基づき、分解酵素の含浸方法及びそのメカニズムを明らかにするとともに、形状保持型介護食の作製方法について、次の各項目について検討する。

### 3. 研究の方法

#### (1) ブルーデキストランを用いた凍結・解凍工程における含浸の確認

凍結から解凍、浸漬に至る各工程において、酵素等の高分子物質の食材内への拡散作用を確認するための試験を行った。含浸効果の確認は、拡散作用を視覚的に確認しやすくするために、高分子物質としてブルーデキストラン(分子量200万、Sigma-Aldrich製)を用いた。食材としてダイコン、ジャガイモを用い、直径2cm、厚さ1cmの円柱状に成形したものを試料として用いた。事前に10分茹で加熱処理し、凍結は-18℃で12時間、解凍は15℃の水温で20分水中解凍を行った。それぞれ下記の方法でブルーデキストラン水溶液(0.5%)への浸漬試験を行った。試験1:ブルーデキストランに浸漬した状態で凍結し、凍結した状態のまま切断した。試験2:試料を凍結し、ブルーデキストラン溶液に浸漬して10分間で解凍した後に切断した。試験3:試料を凍結し、解凍後、ブルーデキストラン溶液に10分間浸漬した後に切断した。

次に、事前加熱の影響を調べるために、同様の実験を行った。試験区分は、未加熱食材、加熱処理食材、加熱後未凍結食材及び浸漬のみの食材についてブルーデキストランの浸透の様子を観察した。

#### (2) 酵素拡散を利用した野菜類の軟化

酵素拡散による酵素含浸方法として、凍結前に酵素を塗布または浸漬する方法と凍結試料を解凍する際に酵素を塗布または浸漬する方法がある。それぞれの酵素含浸の手順は以下のとおりである。なお、コントロールは酵素液の代わりにの水を用いて凍結前に水浸漬を行った。

試料 厚さ1cm、直径4cmの円柱状に繊維を断ち切る方向に切断したものを試料とした。

試料は予め沸騰水またはスチームで所定時間加熱した。

酵素液 軟化酵素として、ヘミセルラーゼ「アマノ」90、天野エンザイム社製)またはペクチナーゼS(ヤクルト薬品製)を等量クエン酸緩衝液(pH5.5)で溶解したものを酵素液とした。

凍結前酵素浸漬法 加熱試料を0.5%酵素液に浸漬後をフィルムで密封し、そのまま家庭用冷凍冷蔵庫の冷凍庫で-18℃、20時間凍結させた。解凍は冷水中で解凍し、50℃で60分間酵素反応させた。酵素反応後、沸騰水中で5分間酵素失活処理を行った。

#### 解凍中酵素浸漬

加熱済み試料を家庭用冷凍冷蔵庫の冷凍庫で-18℃、20時間凍結させた。解凍前試料を酵素液の入ったフィルムに密封し、酵素液に浸漬した状態でそのまま酵素液中で20分間解凍した。解凍後、酵素液に浸漬したまま50℃で60分間酵素反応させた。酵素反応後、沸騰水中で5分間酵素失活処理を行った。

#### 解凍後酵素浸漬

加熱済み試料を家庭用冷凍冷蔵庫の冷凍庫で-18℃、20時間凍結させた。氷水中で20分間試料を解凍後、酵素液に浸漬した。酵素液に浸漬したまま、50℃で60分間酵素反応させた。酵素反応後、沸騰水中で5分間酵素失活処理を行った。

### (3) 凍結方法

凍結方法として、冷凍庫（-18℃）エアブラスト凍結（-7℃及び-30℃）及びブライン凍結（-30℃）を行った。エアブラスト凍結はプラスチック（QXF-005BC5、福島工業製）を用い、ブライン凍結はプロピレングリコール水を用いた。

### (4) 物性測定

硬さはクリープメーター（RE2-33005C、山電製）で測定した。プランジャーは直径 3mm の円柱形を用い、圧縮率は 70%、プランジャー圧縮速度 10mm/sec で測定した。測定は中心部から周辺部に均等に 5 か所、5 回の測定回数で測定し、平均値で示した。検定は t 検定または Tukey-Kramer 法を用いた。

## 4. 研究成果

### (1) ブルーデキストランを用いた凍結・解凍工程における含浸の確認

ブルーデキストランと酵素では、分子組成、分子構造、分子量のいずれも異なるが、高分子物質であり同様の拡散作用を生じると考えられる。写真 1 に各試料の断面におけるブルーデキストランの拡散の様子を示す。写真から明らかなように、ブルーデキストランの浸透は試験 2 の食材を凍結し、解凍時にブルーデキストラン溶液に浸漬したもののみ食材内部に浸透している様子が観察された。試験 1 の凍結状態、及び試験 3 の凍結・解凍後に浸漬した試料においては、ブルーデキストランは食材内部に浸透しなかった。

上記の実験結果は、凍結中にはブルーデキストランは浸透しないこと、また、凍結・解凍後にブルーデキストラン浸漬した場合でもほとんど浸透しないことを示している。ブルーデキストランのような高分子物質でも、食材の解凍時に拡散浸透することがわかった。凍結時に食材内にブルーデキストランが拡散したものではなく、解凍時の拡散現象によってブルーデキストランが食材内部の拡散・浸透したものであることがわかった。これらの結果は、食材の凍結時に外部液の酵素が食材内部に浸透するという仮説を否定する実験データである。すなわち、外部液は食材の凍結時ではなく、解凍時に浸透・拡散していくことを示している。この実験データから軟化酵素を拡散による食材に浸透させ、酵素反応により食材を軟化させる方法として、凍結前に酵素を塗布する方法と凍結食材を解凍時に塗布する方法の 2 通りの方法が想定されることがわかった。以下の実験では、この 2 通りの方法について比較検討するとともに、各処理工程の最適な処理条件について検討を行うこととした。



写真1 ブルーデキストラン(200万Da)浸漬による食材内部への拡散の様子

試験1: ブルーデキストラン水溶液に浸漬後凍結状態で切断  
試験2: ブルーデキストラン水溶液に浸漬しながら解凍後切断  
試験3: 解凍後ブルーデキストラン水溶液に浸漬後切断  
事前加熱: 10分茹で加熱  
凍結温度: -18℃



写真2

事前加熱の効果については写真 2 に示す。事前加熱を行うことでブルーデキストランが中心部にまで浸透される様子が確認された。未加熱の試料または加熱後浸漬のみの場合、ブルーデキストランは中心部にまで浸透されている様子が観察されなかった。すなわちブルーデキストランを食材内部に浸透させるためには食材の事前加熱と凍結処理が必須であった。

### (2) 食材内酵素含浸の影響

ブルーデキストランの含浸実験の結果、事前に加熱と凍結処理を行った食材は、解凍時の浸漬処理中に酵素が食材内部に浸透含浸することが推察された。そこで、事前に 100℃ の沸騰水で 20～30 分茹で加熱した食材（ニンジンとレンコン）について、それぞれ凍結前酵素液浸漬、凍結後解凍中酵素浸漬、解凍後酵素浸漬の各処理を行い、酵素含浸による食材の軟化を調べた。その結果、図 1 及び図 2 に示すように、各食材の軟化度はブルーデキストランの浸透実験と同じ結果となった。すなわち、最も軟化した食材は凍結前酵素液浸漬で、次に軟化したのは解凍中酵素浸漬であった。この 2 つの処理はいずれも良く軟化しており、解凍後酵素浸漬したものは軟化したものの前者 2 つに処理区ほど軟化していなかった。これは凍結した食材を酵素液中で解凍する時に酵素が食材内に浸透することを示している。これは酵素が拡散により食材内水分を通じて浸透しているものと推察された。

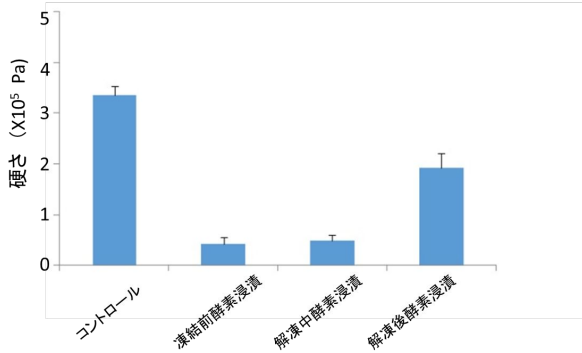


図1 硬さに及ぼす酵素浸漬の影響(ニンジン)

試料: ニンジン(直径4cm、厚さ1cm、円柱状)  
 浸漬した酵素液: 0.5%混合酵素液(ペクチナーゼ、ヘミセルラーゼ)  
 事前加熱: 20分煮沸  
 冷凍: -18℃  
 酵素反応: 50℃、60分

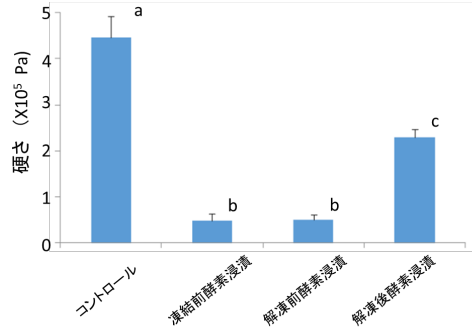


図2 硬さに及ぼす酵素浸漬の影響(レンコン)

試料: レンコン(厚さ1cm、円柱状)  
 浸漬した酵素液: 0.5%混合酵素液(ペクチナーゼ、ヘミセルラーゼ)  
 事前加熱: 30分煮沸  
 冷凍: -18℃  
 酵素反応: 50℃、60分

### (3) 酵素拡散に及ぼす事前加熱及び食材の厚みの影響

食材として円柱状ニンジンを用い、5分、10分、20分、30分間それぞれ沸騰水で茹でて事前加熱処理を行い、続いて、食材をそれぞれ酵素液に浸漬した後、-18℃、20時間冷凍した。次に、冷水中で解凍し、50℃の湯中で60分間酵素反応処理後、沸騰水中で5分間酵素失活処理を行って、軟化食材を得た。事前加熱後と酵素軟化後の軟化食材について硬さを測定した。図3に示すように、酵素軟化後の硬さはいずれも $1 \times 10^6 \text{ Pa} \sim 1 \times 10^3 \text{ Pa}$ の範囲に軟化していた。事前加熱時間と酵素反応条件は食材の軟化は密接な関係が認められ、特に、事前加熱は20分以上行うことで、咀嚼困難者でも摂食可能な硬さである $5 \times 10^4 \text{ Pa}$ 以下にまで軟化することができる。一方、酵素反応を低温(3℃)で長時間行えば、事前加熱は5分程度でも食材を軟化することは可能であった。

また、食材の厚みと食材(ニンジン)の軟化の関係を調べた結果、図4に示すように厚いほど軟化度は低下する傾向がみられ、咀嚼困難者でも摂食可能な硬さである $5 \times 10^4 \text{ Pa}$ 以下にまで軟化するためには本条件下では1cm以下の厚さに切断する必要があった。加熱条件や解凍条

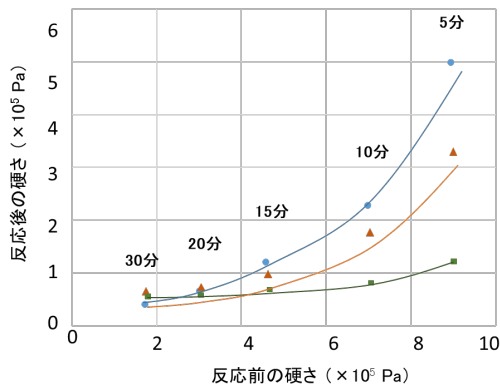


図3 事前加熱後の硬さと反応後の硬さの関係

● 反応温度: 50℃    ▲ 反応温度: 50℃    ■ 反応温度: 3℃  
 ● 反応時間: 30分    ▲ 反応時間: 60分    ■ 反応時間: 14時間  
 酵素濃度: 1%、試料: ニンジン、解凍: 冷水で20分  
 図中の数字は茹で時間

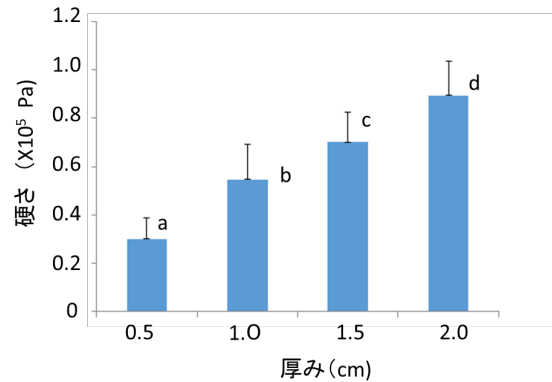


図4 酵素拡散による軟化に及ぼす食材の厚みの影響

試料: ニンジン  
 事前煮沸: 30分  
 酵素反応: 50℃、60分  
 酵素濃度: 0.5%

件などをさらに検討し、厚い食材でも軟化できる条件等を検討する必要がある。

### (4) 酵素拡散に及ぼす酵素濃度、酵素反応条件

食材として円柱状ニンジンを用い、酵素濃度及び酵素反応条件による食材軟化に及ぼす影響を調べた。酵素濃度は0.5%及び1.0%とし、酵素反応温度及び反応時間をそれぞれ50℃、15分、50℃、30分及び3℃、18時間の条件で酵素拡散法に酵素含浸を行い、硬さを調べた。酵素拡散は事前加熱処理10分を行い、-18℃、20時間冷凍した。次に、酵素液中で解凍し、酵素液に浸漬したまま、所定の条件で酵素反応を行い、沸騰水中で5分間酵素失活処理後、軟化した食材について硬さを測定した。図5に示すように酵素の至適温度50℃では30分では完全な軟化には至っていなかったが、3℃で18時間酵素反応を行うと硬さは $5 \times 10^3 \text{ Pa}$ 以下に軟化した。



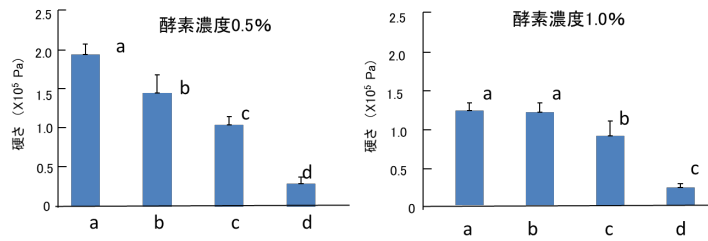


図5 硬さに及ぼす酵素濃度及び酵素反応条件の影響

a: コントロール  
 b: 酵素反応温度55°C、15分  
 c: 酵素反応温度55°C、30分  
 d: 酵素反応温度3°C、18時間  
 事前加熱: 10分茹で加熱

(5) 凍結条件が食材の軟化に及ぼす影響

酵素拡散を行わせるためには凍結処理が必須であった。そこで、酵素の食材内浸透に及ぼす凍結速度の影響を調べた。各処理区の最大氷結晶生成帯通過時間は7時間、4時間30分、1時間、1時間20分であった。図7に異なる4つの凍結方法で凍結後の食材を解冻し、酵素反応条件を変えて軟化させた食材の硬さを示した。事前加熱と酵素反応条件それぞれは、茹で加熱5分、酵素反応3、18時分と茹で加熱30分、酵素反応50、60分を行った。図から明らかのようにいずれも緩慢な凍結速度で食材を凍結した方がより食材は軟化した。一般的に緩慢凍結は氷結晶により食材の細胞を傷つけ、食材は軟化することがわかっており、酵素拡散による食材の軟化には緩慢凍結が適していた。

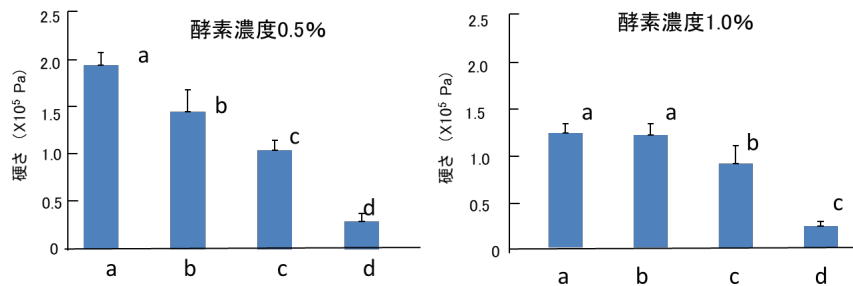


図5 硬さに及ぼす酵素濃度及び酵素反応条件の影響

a: コントロール  
 b: 酵素反応温度55°C、15分  
 c: 酵素反応温度55°C、30分  
 d: 酵素反応温度3°C、18時間  
 事前加熱: 10分茹で加熱

(6) まとめ

本研究で明らかにした酵素拡散法は、解冻中に酵素と接触させることで、その拡散を通じて食材内に酵素を浸透させる方法である。酵素は高分子たんぱく質であるため、拡散しにくい(拡散係数は低い)が、凍結食材の融解時に酵素が拡散・浸透することが明らかとなった。酵素の拡散は食材内の水分を通じて進行するため、含水率は拡散量を高める効果がある。また、拡散効果を高め、食材をより軟化させるために、事前加熱、凍結方法、酵素濃度、解冻温度、酵素反応方法、酵素液の浸漬方法、酵素粉末の塗布方法及び酵素粉末の賦活剤の利用法など各項目について検討を行い、適応可能な条件について明らかにした。硬さについては、ユニバーサルデザインフードの区分2の硬さである  $5 \times 10^4 \text{ N/m}^2$  以下まで軟化させることが可能であった。食材の種類によって酵素の含浸効果は異なったが、軟化度合からみて在宅調理にはそれほど影響しないものと思われる。個別の食材ごとに事前加熱や酵素濃度を最適化する方法と異なり、調理済み食品はそのまま酵素含浸処理するため、厳密な物性調整はできない。しかしながら、酵素拡散法による調理済み食品の軟化法は、在宅介護食調理として利便性に優れており、実用化レベルに達しているものと判断した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計5件)

1)凍結含浸法により酵素処理された形状保持軟化ブロッコリーの品質に及ぼす加工プロセスの影響,日本食品科学工学会誌,中津沙弥香,柴田賢哉,坂本宏司,64,150~156(2017).

2) 凍結含浸法による形状保持型介護食の開発とその応用, 日本咀嚼学会雑誌, 坂本宏司, 27, 2-9(2017)

3) 凍結含浸法を用いた形状保持型介護食の開発とその応用, 日本調理科学会誌, 坂本宏司, 50, 198-203 (2017)

4) 凍結含浸法による形状保持軟化調理食品の嚥下移行食としての適応性, 日本摂食・嚥下リハビリテーション学会雑誌, 藤島一郎, 重松 孝, 金沢 英哲, 西村 立, 長尾菜緒, 大塚純子, 中津沙弥香, 柴田賢哉, 岩崎由香, 渡邊弥生, 梶原 良, 坂本宏司, 22(2), 97-107 (2018)

5) 臨床試験で用いた凍結含浸法による形状保持軟化調理食品の力学特性, 日本摂食・嚥下リハビリテーション学会雑誌, 中津沙弥香, 岩崎由香, 渡邊弥生, 梶原 良, 柴田賢哉, 藤島一郎, 重松 孝, 金沢 英哲, 西村 立, 長尾菜緒, 大塚純子, 神山かおる, 坂本宏司, 22(2), 108-118 (2018).

〔学会発表〕(計3件)

1) 氷結晶誘導を利用した酵素含浸法の開発, 日本食品科学工学会学術総会, 坂本宏司、豊田文彦 (2016).

2) 凍結含浸法で作製した形状保持軟化介護食の繊維感評価, 日本摂食・嚥下リハビリテーション学会学術総会, 梅垣佳津枝、豊田文彦、坂本宏司 (2016).

3) Development of the softening nursing-care foods while still retaining the original sharp processed by freeze-thaw impregnation, the 19th ARAHE Biennial International Congress, Koji Sakamoto (2018).

〔図書〕(計2件)

1) 凍結含浸法による食品加工技術, 高付加価値化・生産性向上のための最先端食品加工技術, 五十部誠一郎監修, 坂本宏司, S&T出版, pp 106-115, (2017).

2) 凍結含浸法を用いた介護用食品の開発, 高齢者用食品の開発と市場動向、坂本宏司, シーエムシー出版, pp 54-64, (2019).

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: 食材への酵素導入方法

発明者: 坂本宏司、豊田文彦

権利者: クリスターコーポレーション

種類: 特許

番号: 特願 2017 - 15915

出願年: 2017

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名: 的場 輝佳

ローマ字氏名: Teruyosi Matoba

所属研究機関名: 関西科学福祉大学

部局名: 健康福祉学部

職名: 客員教授

研究者番号(8桁): 10027196

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。