

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：33111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23700889

研究課題名(和文)マイタケを利用した高齢者向け食肉調理法の開発

研究課題名(英文)The development of meat cooking methods using maitake (*Grifola frondosa*) for the elderly people.

研究代表者

山崎 貴子 (Yamazaki, Takako)

新潟医療福祉大学・健康科学部・講師

研究者番号：60318574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、マイタケを利用した高齢者向けの食肉調理法の開発である。牛肉にマイタケ抽出液を作用させて70℃でスチーム加熱すると、未処理と同様に加熱した場合と比べ、破断応力が有意に低かった。官能評価において、真空パック法で作成した肉は軟らかいが肉の表面がべたつくと評価されたが、注入法で作成した肉は真空パック法よりもさらに軟らかいものの表面のべたつきもなく、評価が高かった。SDS-PAGEおよびウエスタンブロットニングの結果、マイタケのプロテアーゼがミオシン及びアクチンに作用し、たんぱく質が低分子化していることが確認された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was the development of meat cooking methods using maitake (*Grifola frondosa*) for the elderly people. The rupture stress of beef steamed at 70 degrees Celsius with maitake extract was significantly lower compared with the one of untreated beef. The sensory evaluation showed that the beef cooked by the vacuum-packed method was tender, but the surface of the beef was sticky. The beef cooked by injecting method was tenderer and less stickiness, and was best in total evaluation. As a result of SDS-PAGE and western blotting, it was suggested that protease of maitake hydrolyzed myosin and actin.

研究分野：専門分野(食品学・調理科学)、科研費の分科・細目(生活科学・食生活学)

キーワード：食肉軟化 調理と加工 高齢者 プロテアーゼ

1. 研究開始当初の背景

食事は健康維持に重要な役割を持つが、加齢に伴い咀嚼機能が低下し、高齢者では摂取する食品が制限される。その結果、栄養素摂取に偏りが生じて、特にタンパク質・エネルギーの低栄養状態 (Protein Energy Malnutrition, PEM) を発症しやすい。

食肉は良質のタンパク質・エネルギー源であるが、魚に比べて肉質が硬く、一般に高齢者向きではないと考えられている。老人保健施設や病院ではミキサー食、刻み食、ソフト食など入所者・患者の状態に応じて食事が提供されているが、硬い、軟らかく調理しにくいという理由から、肉は魚よりも提供しにくく、利用されにくい現状がある。しかし、魚より肉を好む高齢者も存在し、食肉を軟らかく食べやすいものにすることができれば、高齢者が摂取できる食の幅が広がり、PEMの改善やQOLの向上につながると考えられる。

食肉軟化の方法として、キウイフルーツやパパイヤなどのプロテアーゼを利用したものが多く報告されているが、申請者が果実果汁を利用した食肉軟化を検討したところ、よい結果が得られなかった。申請者は新しいプロテアーゼ源としてマイタケに注目した。マイタケには菌糸体および子実体中に種々のプロテアーゼが存在しているが、マイタケを肉軟化に利用した報告は見られない。

2. 研究の目的

申請者はマイタケのプロテアーゼ活性およびその熱安定性が高いこと、牛肉をマイタケ抽出液と一緒に真空パックし70℃で2時間スチーミング加熱すると、水や生姜液の場合より有意に軟らかくなることを報告している。しかし、肉表面のタンパク質が過度に分解しべたつくといった課題もあり、調理法や調理による成分変化についてさらに検討する必要がある。本研究では、マイタケ抽出液の肉への作用方法、加熱方法等を検討するとともに、調理過程における肉タンパク質の変化について基礎的研究を行い、高齢者にとって軟らかく食べやすい食肉調理法の開発をすすめることを目的とした。

3. 研究の方法

高齢者用食肉調理法の開発をすすめるにあたって、(1)高齢者の食事の実態調査、(2)食肉軟化法の検討、(3)肉タンパク質の変化についての基礎的研究を行った。

(1) 高齢者の食事の実態調査

新潟市内の高齢者施設(ケアハウス)2施設において、提供されている料理または食材(46試料)のテクスチャー測定、残食量調査、高齢者への聞き取り調査を行い、高齢者の料理の嗜好と咀嚼力、食事のテクスチャーとの関連について調べた。聞き取り調査の対象は事前に研究目的・内容を説明し、同意が得られた41名(平均年齢81.3±7.6歳)であり、

身体的に自立し常食を喫食している者であった。

(2) 食肉軟化法の検討

マイタケに重量の2倍の水を加え、ミキサーでホモジナイズ後にガーゼで濾過した液をマイタケ抽出液とした。試料にはもも肉(牛・豚)を用いた。浸漬、真空パック、注射針での注入によりマイタケ抽出液を食肉に作用させた後、スチーミング加熱を行った。調理後の肉は、試食、物性測定、官能評価にて評価した。

物性測定：レオナーRE2-33005S(山電)を用い、テクスチャー測定または破断測定を行った。

官能評価：学生10名をパネルとし、硬さ、噛み切りやすさ、表面のべたつき、口中でのまとまり、飲み込みやすさ、苦味、高齢者用の肉としての総合評価について7段階評価を行った。

(3) 肉タンパク質の変化についての研究

マイタケ抽出液の作用により可溶性タンパク質量およびタンパク分子量パターンがどのように変化しているかを調べた。試料として牛もも肉を用い、生肉、未処理肉、マイタケ処理肉を比較した。マイタケ処理肉は、(2)で比較的评价が高いと思われた「マイタケ抽出液1mlを肉内部に注射針で注入し、70℃で2時間または6時間スチーミングした肉」とし、未処理肉はそのまま70℃で2時間または6時間スチーミングした肉とした。可溶性タンパク質量はBradford法およびBCA法で定量した。タンパク分子量はSDS-PAGEおよびウェスタンブロッティングにて確認した。

4. 研究成果

(1) 高齢者の食事の実態調査

高齢者施設における調査の結果、肉料理は魚料理や野菜料理に比べ、咀嚼力と喫食嗜好との関連が高いことがわかった。施設で提供している料理のかたさ応力は0.8-25($\times 10^4$)Paの範囲であり、高齢者は普段から食べなれているもの、味が好きなものは比較的硬くても好んで喫食し、残食も少ない傾向にあった。

(2) 食肉軟化法の検討

浸漬や真空パックでは、マイタケ抽出液の濃度を低くしたり、処理時間を短くしたりしても肉表面がべたつき食味が低下した。しかし、注射針で肉内部にマイタケ抽出液を注入して加熱する方法では、肉表面のべたつきを伴わなかった。

そこで、先行研究で実施したマイタケ抽出液と一緒に真空パックして加熱した肉(以下、mvp)、水と一緒に真空パックして加熱した肉(以下、wvp)と、マイタケ抽出液を注射針で注入して加熱した肉(以下、mi)、未処理の加熱肉(以下、nt)を中心に物性測定および官能

評価を行った。

物性値：

牛もも肉を 70 で 2、4、6 時間加熱したところ、マイタケ抽出液を作用させた mvp、mi の破断応力はマイタケ抽出液を作用させなかった wvp、nt より有意に低かった。mi は使用したマイタケの量が mvp の 1/50 と少ないにも関わらず、mvp の破断応力と差がなかった。また、mi は加熱時間が長くなるほど破断応力が有意に低下した(表 1-1)。85 加熱の場合でも同様の傾向が得られたが、70 ほど明確な差が得られず、また wvp の 6 時間加熱肉も破断応力が低下していた(表 1-2)。このため、85 加熱ではマイタケプロテアーゼの作用よりコラーゲンのゼラチン化の影響が大きいことが考えられた。

表1-1. 70 調理後の牛もも肉の破断応力($\times 10^5$ Pa)

	2時間	4時間	6時間
nt	2.7 ± 0.9 ^{aA}	2.8 ± 0.7 ^{aA}	2.6 ± 0.8 ^{aA}
mi	1.9 ± 0.6 ^{bA}	1.6 ± 0.6 ^{bAB}	1.2 ± 0.5 ^{bB}
mvp	1.9 ± 0.7 ^{bA}	1.7 ± 0.4 ^{bA}	1.6 ± 0.7 ^{bA}
wvp	3.1 ± 0.8 ^{aA}	2.6 ± 1.0 ^{aA}	2.6 ± 1.1 ^{aA}
Mean±SD	(n=16-21)		

a,b:同じ列の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

A,B:同じ行の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

表1-2. 85 調理後の牛もも肉の破断応力($\times 10^5$ Pa)

	2時間	4時間	6時間
nt	1.9 ± 0.4 ^{aA}	1.8 ± 0.6 ^{abA}	1.5 ± 0.8 ^{aA}
mi	1.6 ± 0.5 ^{aA}	1.2 ± 0.4 ^{bA}	0.8 ± 0.2 ^{aB}
mvp	1.7 ± 0.4 ^{aA}	1.2 ± 0.4 ^{bB}	1.2 ± 0.4 ^{aB}
wvp	2.1 ± 0.5 ^{aAB}	2.3 ± 0.8 ^{aA}	1.5 ± 0.9 ^{aB}
Mean±SD	(n=9-15)		

a,b:同じ列の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

A,B:同じ行の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

次に、豚もも肉を 80 で 15、30、120 分加熱したところ、試料間のかたさ応力にマイタケの作用による差は見られず、加熱時間による差もなかった(表 2-1)。しかし、65 で加熱した後に 80 で 15 分加熱し肉の中心温度を 75 まで上げた試料では、65 における加熱時間が長いほど mi のかたさ応力が有意に低くなり(表 2-2)、マイタケプロテアーゼの効果によるものと考えられた。凝集性はどの試料も 80 での加熱時間が長くなるほど低下した(表 3-1)。また、65 加熱後 80 15 分加熱した試料では、nt を除いて 65 における加熱時間が長いほど凝集性が低くなった(表 3-2)。これは長時間の加熱によりコラーゲンのゼラチン化が起こり、ほぐれやすくなったためと考えられた。

表2-1. 80 調理後の豚もも肉のかたさ応力($\times 10^6$ Pa)

	15分	30分	120分
nt	1.5 ± 0.3 ^{aA}	1.7 ± 0.2 ^{aA}	1.4 ± 0.4 ^{bA}
mi	1.3 ± 0.3 ^{aA}	1.3 ± 0.5 ^{aA}	1.2 ± 0.3 ^{bA}
mvp	1.5 ± 0.4 ^{aA}	1.6 ± 0.6 ^{aA}	1.5 ± 0.3 ^{abA}
wvp	1.6 ± 0.4 ^{aA}	1.5 ± 0.2 ^{aA}	1.8 ± 0.3 ^{aA}
Mean±SD	(n=10-13)		

a,b:同じ列の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

A,B:同じ行の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

表2-2. 65 + 80 調理後の豚もも肉のかたさ応力($\times 10^6$ Pa)

	65	15分+80	15分	65	105分+80	15分
nt	1.3 ± 0.3 ^{aA}			1.4 ± 0.4 ^{aA}		
mi	1.2 ± 0.5 ^{aA}			0.8 ± 0.2 ^{bB}		
mvp	1.6 ± 0.5 ^{aA}			1.2 ± 0.4 ^{aA}		
wvp	1.7 ± 0.5 ^{aA}			1.4 ± 0.4 ^{aA}		
Mean±SD	(n=10-14)					

a,b:同じ列の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

A,B:同じ行の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

表3-1. 80 調理後の豚もも肉の凝集性

	15分	30分	120分
nt	0.55 ± 0.06 ^{abA}	0.52 ± 0.07 ^{aAB}	0.43 ± 0.10 ^{aB}
mi	0.48 ± 0.07 ^{aA}	0.49 ± 0.08 ^{aA}	0.37 ± 0.09 ^{aB}
mvp	0.60 ± 0.08 ^{bA}	0.49 ± 0.06 ^{aB}	0.38 ± 0.07 ^{aC}
wvp	0.54 ± 0.09 ^{abA}	0.49 ± 0.06 ^{aAB}	0.41 ± 0.07 ^{aB}
Mean±SD	(n=10-13)		

a,b:同じ列の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

A,B:同じ行の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

表3-2. 65 + 80 調理後の豚もも肉の凝集性

	65	15分+80	15分	65	105分+80	15分
nt	0.46 ± 0.11 ^{aA}			0.49 ± 0.06 ^{aA}		
mi	0.46 ± 0.10 ^{aA}			0.36 ± 0.09 ^{bB}		
mvp	0.55 ± 0.11 ^{aA}			0.44 ± 0.08 ^{aB}		
wvp	0.54 ± 0.08 ^{aA}			0.46 ± 0.05 ^{aB}		
Mean±SD	(n=10-14)					

a,b:同じ列の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

A,B:同じ行の異なるアルファベット間にp<0.05の有意差あり

以上より、マイタケプロテアーゼを作用させ効果的に食肉を軟化させるためには、70 程度の温度で長時間加熱する必要があることが確認された。また、マイタケを作用させる方法として、mi は mvp に比べ軟化効果が高い傾向であった。80 以上の加熱の場合でも、長時間加熱することにより破断応力や凝集性は小さくなったが、これはコラーゲンのゼラチン化によるものと考えられる。食肉の硬さはコラーゲンのような肉基質タンパク質

とアクチンやミオシンのような筋原線維タンパク質に由来するが、コラーゲンがゼラチン化しほぐれやすくなった牛肉は、高齢者にとってパサパサして歯にはさまりやすく食べにくいという報告(戸田ら,2008)もある。高温加熱では、食肉はコラーゲンのゼラチン化によりほぐれやすくなるものの、筋原線維タンパク質が収縮して硬くなり食肉が線維状になって高齢者には食べにくいことが考えられる。高齢者にとって食べやすい食肉の調理法を考える上では、肉基質タンパク質だけでなく筋原線維タンパク質についても考慮する必要がある。したがって、80 以上で加熱した肉については、破断応力や凝集性が小さくても高齢者用の食肉としては適さないと考えられた。

官能評価：

nt の 2 時間加熱肉 (以下、nt2h) を基準とし、mvp の 2 時間加熱肉 (以下、mvp2h)、mi の 2 時間加熱肉 (以下、mi2h)、mi の 6 時間加熱肉 (以下、mi6h) の官能評価を行った。加熱は 70 のスチーミング加熱とした。図 1 に結果を示す。レーダーチャートの外側になるほど評価が高いことを表す。

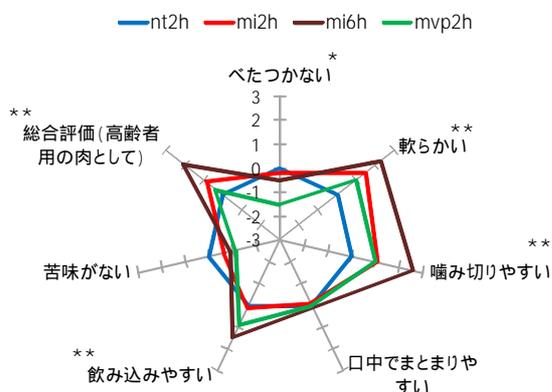


図1. 官能評価結果

*p<0.05, **p<0.01で試料間に有意差あり

mvp2h は nt2h と比べ軟らかく噛み切りやすく飲み込みやすいが、表面のべたつきがあると評価された。mi2h、mi6h も nt2h より軟らかく噛み切りやすいと評価されたが、表面のべたつきは少なく nt2h と差がなかった。特に mi6h は mvp2h より軟らかく噛み切りやすく nt2h と比べ飲み込みやすいと評価され、高齢者用の食肉としての総合評価が高かった。

苦味については有意差が見られなかったものの、nt に比べ mvp、mi では若干苦味があると評価された。これはマイタケの味によるほか、プロテアーゼによりタンパク質が分解されて苦味ペプチドが生成した可能性もある。今後、このことを踏まえた上でさらに調理法を検討する必要がある。なお、マイタケ抽出液のプロテアーゼ活性はマイタケの濃

度に比例するが、mvp の場合、抽出液の 2 倍までの希釈であれば希釈前の抽出液と比べ調理後の肉の破断応力に差はなかった。また、1%の食塩添加ではプロテアーゼ活性を阻害せず、無添加の場合と比べ調理後の肉の破断応力に差はなかったが官能評価において苦味が少ないと評価された。したがって、mi においてもマイタケ抽出液の濃度を低くする、味付けをするなどの方法を検討する余地があると思われる。

(3)肉タンパク質の変化についての研究

表 4-1 に Bradford 法による可溶性タンパク質の量を、表 4-2 に BCA 法による可溶性タンパク質の量を示す。可溶性タンパク質量は、加熱により減少し、加熱時間の長い nt6h は nt2h に比べ少ない傾向が見られた。一方で、mi は nt に比べ可溶性タンパク質量が多く、mi6h は mi2h よりも多い傾向であった。また、Bradford 法に比べ、低分子のペプチド・アミノ酸も測定できる BCA 法における定量値では、mi と nt の差がより大きかった。

表4-1. Bradford法による可溶性タンパク質量

	0時間(生)	2時間	6時間
nt		0.15 ± 0.03	0.12 ± 0.03
mi	3.89 ± 0.83	0.23 ± 0.05	0.26 ± 0.04
生100g中の可溶性タンパク質量(g) (n=5-6)			
Mean±SD			
*p<0.05, **p<0.01			

表4-2. BCA法による可溶性タンパク質量

	0時間(生)	2時間	6時間
nt		0.52 ± 0.05	0.40 ± 0.02
mi	3.70 ± 0.34	0.86 ± 0.15	0.99 ± 0.15
生100g中の可溶性タンパク質量(g) (n=5-6)			
Mean±SD			
**p<0.01			

SDS-PAGE では、加熱により可溶性タンパク質の分子量パターンが大きく変化し、バンド数が減少した(図 2-1)。nt と mi を比べると、mi では分子量 1.5 万以下のバンドが濃かった。筋原線維タンパク質でも同様に nt に比べ mi では分子量 1.5 万以下のバンドが濃く、mi6h ではミオシン重鎖と思われる分子量 20 万のバンドが nt2h や nt6h に比べ薄かった(図 2-2)。

筋原線維タンパク質について、さらにミオシン抗体・アクチン抗体を用いたウェスタンブロットングを行ったところ、ミオシンは重鎖(分子量 20 万)、軽鎖(分子量 2.7 万)ともに nt より mi でバンドが薄くなった(図 3 左)。アクチン(分子量 4.2 万)では顕著な減少は見られなかったが、mi において分子量 3.2 万、1.2 万の所に分解産物と推測される

新たなバンドが確認された(図3右)

これらの結果により、肉は加熱により不溶化するが、mi ではマイタケプロテアーゼの影響により、タンパク質が分解されて低分子化したこと、それに伴って可溶性タンパク質量が増加したこと、マイタケプロテアーゼはミオシン、アクチンの両方に作用したことが示された。今後はコラーゲンについても同様にマイタケプロテアーゼの作用による分子量の変化等を調べる必要がある。

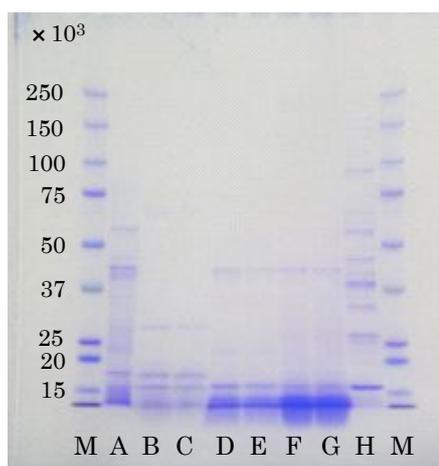


図2-1. SDS-PAGE (可溶性タンパク質)

M : 分子量マーカー
 A : マイタケ抽出液
 B : 2h スチームした抽出液
 C : 6h スチームした抽出液
 D : nt2h
 E : nt6h
 F : mi2h
 G : mi6h
 H : 生

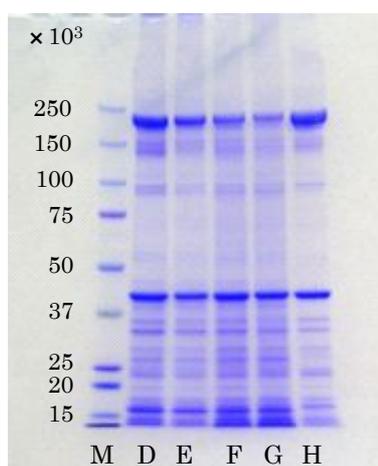


図2-2. SDS-PAGE (筋原線維タンパク質)

M : 分子量マーカー
 D : nt2h E : nt6h
 F : mi2h G : mi6h
 H : 生

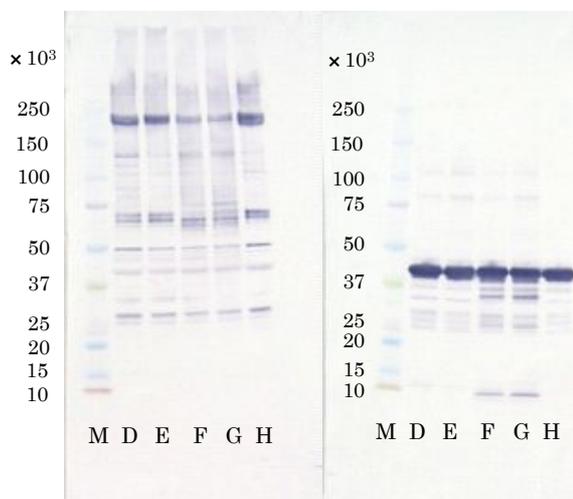


図3. ウェスタンブロッティング
 (左: ミオシン抗体、右: アクチン抗体)

M : 分子量マーカー
 D : nt2h E : nt6h
 F : mi2h G : mi6h
 H : 生

本研究において、マイタケ抽出液を食肉内部に注射針で注入し、70℃でスチームする方法は、食肉を効果的に軟化し、かつ食味の上でも評価が高いものを作成できることがわかった。今後さらに調理法を検討し、高齢者にとって軟らかく食べやすい食肉調理法の開発をすすめていく予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 件)

Miyaoka Y, Ashida I, Tamaki Y, Kawakami S, Iwamori H, Yamazaki T, and Ito N. Synchronisation of masseter activity patterns between the right and left sides during chewing in healthy young males. *Journal of Medical Engineering & Technology*, 2014; 38: 281-285. 査読有, DOI: 10.3109/03091902.2014.916356

Miyaoka Y, Ashida I, Iwamori H, Tamaki Y, Kawakami S, Yamazaki T, Ito N. The effect of masseter activity patterns during chewing on suprahyoid activity in subsequent chewing cycles. *Journal of Behavioral and Brain Science*, 2014; 4:69-74. 査読有, DOI: 10.4236/jbbs.2014.42009

御子貝佳実, 小林未来, 伊藤直子, 岩森大, 山崎貴子. まいたけによる豚肉軟化, *新潟栄養・食生活学会誌*, 2013; 16:10-12. 査読無

Miyaoka Y, Ashida I, Yamazaki T, Ito N. Tamaki Y, Kawakami S, Iwamori H. Classification of masseter activity patterns during chewing in healthy young adults: The effect of taste signals.

Journal of Behavioral and Brain Science.
2013; 3: 432-439. 査読有,
DOI : 10.4236/jbbs.2013.35045
Miyaoaka Y, Ashida I, Tamaki Y, Kawakami
S, Iwamori H, Yamazaki T, Ito N.
Quantitative Analysis of Relationships
between Masseter Activity during
Chewing and Textural Properties of Foods.
Food and Nutrition Sciences. 2013;
4:144-149. 査読有,
DOI:10.4236/fns.2013.42020
Miyaoaka Y, Ashida I, Tamaki Y, Kawakami
S, Iwamori H, Yamazaki T, Ito N. Analysis
of masseter activity patterns using Tp
values during chewing of foods with
different shapes and textural
properties. Journal of Texture Studies.
2013;44:196-204. 査読有,
DOI:10.1111/jtxs.12012
Miyaoaka Y, Ashida I, Tamaki Y, Kawakami
S, Iwamori H, Yamazaki T, Ito N.
Sequential analysis of masseter
activity patterns during chewing in
healthy males. Journal of Medical
Engineering and Technology. 2013;
37:91-95. 査読有,
DOI: 10.3109/03091902.2012.747007
Igarashi G, Higuchi R, Yamazaki T, Ito
N, Ashida I, Miyaoaka Y. Differential
sweetness of commercial sour liquids
elicited by miracle fruit in healthy
young adults. Food Science and
Technology International. 2012; 19:
243-249, 査読有,
DOI:10.1177/1082013212443060

[学会発表](計2件)

山崎貴子, 高齢者における料理の嗜好と咀嚼力の関連, 日本調理科学会平成23年度大会, 2011年8月30日, 高崎健康福祉大学.

山崎貴子, マイタケ抽出液の注入による食肉軟化とタンパク質の変化, 日本調理科学会平成26年度大会, 2014年8月29日-30日, 県立広島大学.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 貴子 (Yamazaki, Takako)
新潟医療福祉大学・健康科学部・講師
研究者番号: 60318574