

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：27103

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500951

研究課題名(和文) 酵素を用いた調理によるテクスチャー改善の試みとその高齢者向け食品開発への応用

研究課題名(英文) Texture modification by preparation with proteases and its application to the development of food for elderly people

研究代表者

舟木 淳子 (FUNAKI, Junko)

福岡女子大学・人間環境学研究科・准教授

研究者番号：60219079

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、高齢者など咀嚼・嚥下に困難をもつ人でもおいしく食べるために必要な調理方法を示すことを目的とした。そのために、タンパク質を多く含有する食品(豆腐など)のテクスチャーを、タンパク質分解酵素(プロテアーゼ)を用いることにより改変できることを示すことを試みた。プロテアーゼを作用させた豆腐は、やわらかくなめらかであり、対照との間に組織構造の差違が認められた。これはタンパク質のネットワーク構造がプロテアーゼにより切断されたためと考えられた。プロテアーゼ処理によるテクスチャー修飾は他のタンパク質を多く含む食品へ適用することができ、高齢者用食品への応用が可能であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to develop a food preparation method that would benefit people who have difficulty in swallowing and mastication, such as elderly individuals. We used proteases to modify the texture of protein-rich food, specifically, tofu. The protease-treated tofu was soft and smooth and its structure was different from that of non-proteas-treated tofu (control). These textural changes can be attributed to the breaking of protein networks by the proteases. This method of texture modification using protease treatment could be applied to other protein-rich foods, and it would be particularly useful in preparing food for elderly people.

研究分野：調理科学

キーワード：テクスチャー 酵素 プロテアーゼ

### 1. 研究開始当初の背景

日本は超高齢社会となったが、その中でさらに健康寿命を延ばすことが望まれている。そのためには食べ物をおいしく食べることが重要であるとされているが、一方で咀嚼・嚥下困難者が増加している。固形状の食べ物では味よりもテクスチャーの方がおいしさを感じる上で重要であるとされており<sup>1)</sup>、咀嚼・嚥下困難の問題を解決して、だれもが食べ物をおいしく食べられることが望まれている。しかし、高齢化が急速に進んだため、咀嚼・嚥下の問題に社会が対応できておらず、基礎的な研究でさえ端緒についたばかりであった。

### 2. 研究の目的

高齢者をはじめとする咀嚼・嚥下困難者が摂取しやすい食品の開発を目指し、酵素を用いた調理によるテクスチャー改善を試みた。

テクスチャーを改善するためには、それまでは、材料の配合を変更する、出来上がった料理の機械的破碎を行うという方法が行われることが多かった。しかし、材料の配合を変更すると味や栄養がもとと異なり、機械的破碎を行うと外観が変わってしまって食欲を減退させるものになるという欠点があった。そこで、本研究では酵素を利用してテクスチャーの改善を試みた。家庭などの調理でも活用することを想定し、できるだけ簡単な方法を設定した。

本研究は特に、高齢者が摂取不足になりやすいタンパク質を多く含む食品をタンパク質分解酵素(プロテアーゼ)で処理することにより、テクスチャーを改善することを目指した。タンパク質を多く含む食品は、かたく、高齢者などの咀嚼・嚥下困難者が摂取しにくいことがある。そこで、プロテアーゼによりタンパク質を分解し、やわらかくなめらかなテクスチャーにすることを試みた。

### 3. 研究の方法

#### (1) 食品のプロテアーゼ処理

タンパク質を多く含む食品は、可能な場合は2 cm×2 cm×2 cmに切断して使用した。食品は各種市販プロテアーゼ溶液に浸漬し、0~96時間保存した。保存温度は4℃としたが、その旨記載してある場合は他の温度でも行った。なお、保存のためプロテアーゼ溶液には食塩を5%添加した。対照はプロテアーゼを使用しないこと以外はプロテアーゼ処理する場合と同様に作製した。

#### (2) プロテアーゼ処理した食品の性質の測定

##### 破断強度解析

クリープメータ(RE-33005S,株式会社山電)を用いて破断強度解析を行った。直径3 mmのプランジャーを用い、圧縮速度1.0 mm/sで歪率95%まで測定した。

##### クリープ解析

クリープメータ(RE-33005S,株式会社山電)を用いてクリープ解析を行った。加重および除重時の保持時間は各1分間とした。プランジャーは直径40 mmの円板を用い、移動速度は1.0 mm/sで測定した。電子式恒温システム(ETC-3305,株式会社山電)を使用し、14±2℃の範囲内で測定を行った。予備荷重をかけ、試料とプランジャーが接触する際の密着度を高めた。クリープ曲線を求め、この曲線を力学的モデルに従って解析し、粘弾性定数を求めた。測定は6回行い、各粘弾性定数の平均値を示した。

##### 共焦点レーザー顕微鏡による観察

共焦点レーザー顕微鏡観察試料は以下のように調製した。両刃剃刀(FH-10,フェザー安全剃刀株式会社)で試料を5 mm×5 mm×5 mmに切断し、型に入れた凍結組織切片作製用包埋剤(ティシュー・テック0.C.T.コンパウンド,サクラファインテックジャパン株式会社)に包埋した。液体窒素を使用して凍結し、-80℃で保存した。クリオスタット(LEICACM 1860,ライカマイクロシステムズ株式会社)により庫内温度-20℃で厚さ20 μmの薄切切片を作製した。切片をスライドガラスに載せ、室温で解凍、乾燥させた。長野らの方法<sup>2)</sup>に従い、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)によりタンパク質の蛍光標識を行った。共焦点レーザー顕微鏡(共焦点レーザー顕微鏡システムC2+,株式会社ニコン)により試料の観察を行った。20倍対物レンズを用い、アルゴンレーザーを使用して488 nmで励起し、蛍光画像を取得した。

##### 走査電子顕微鏡による観察

走査電子顕微鏡観察試料は以下のように調製した。両刃剃刀(FH-10,フェザー安全剃刀株式会社)で試料を5 mm×5 mm×5 mmに切断し、3%グルタルアルデヒドに4℃で3日間浸漬した。0.1 Mリン酸緩衝液で1日間洗浄後、50%~100%のエチルアルコールを用い段階的に脱水した。さらに、50%~100%のt-ブチルアルコールに段階的に置換した。-20℃で凍結後、遠心式濃縮機(VC-360,タイテック株式会社)により乾燥した。蒸着器(オートファインコーター:JEC-3000FC,日本電子株式会社)により白金蒸着を行い、走査電子顕微鏡(JSM-IT300LA,日本電子株式会社)を用いて、加速電圧20 kV,1000倍で表面を観察した。

##### SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)

SDS-PAGEはLaemmliの方法により行った。

### 4. 研究成果

#### (1) プロテアーゼ処理方法等の検討

タンパク質ゲル(豆腐など)に市販プロテアーゼ製剤数種をそれぞれ作用させ、適当な

反応条件を見いだした。プロテアーゼ製剤はモルシン F (キッコーマン株式会社) を選択した。反応は当初 4 で 96 時間行っていたが、時間を短縮するために、40 での反応を試みたところ、良い品質が得られなかったため、反応温度は 4 とすることが適当であると考えられた。

### (2) プロテアーゼ処理豆腐の性質

プロテアーゼとしてモルシン F (キッコーマン株式会社) を使用し、モルシン濃度を 5% として豆腐を浸漬し、4 で 96 時間保存したものをプロテアーゼ処理豆腐とした。プロテアーゼ処理豆腐の性質を詳細に検討した。

プロテアーゼ処理豆腐の外観は対照とほとんど差違が見られなかった。

プロテアーゼ処理豆腐について、破断強度解析・クリープ解析を行った。まず破断強度解析を行い、クリープ解析の条件を設定した。クリープ解析を行い、得られたクリープ曲線は 6 要素力学的モデル (図 1) として解析され、粘弾性定数を得た。

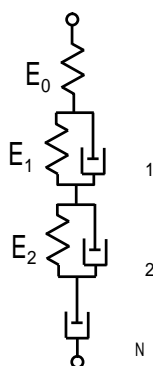
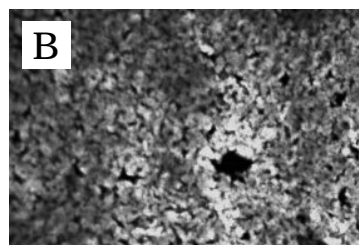
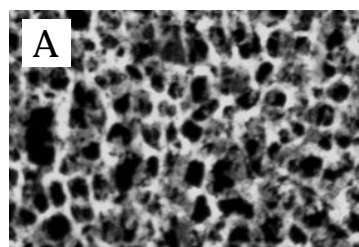


図 1 6 要素力学的モデル

$E_0$ , 瞬間弾性率;  $E_1, E_2$ , 遅延弾性率;  $N$ , 定常粘性率;  $\eta_1, \eta_2$ , 遅延粘性率

プロテアーゼ処理豆腐は対照と比べて瞬間弾性率 ( $E_0$ ), 定常粘性率 ( $N$ ), 遅延弾性率 ( $E_1, E_2$ ), 遅延粘性率 ( $\eta_1, \eta_2$ ) が小さかった。破断強度解析の結果 (プロテアーゼ処理豆腐の方が、応力が小さく延性流動した) もあわせて考えると、プロテアーゼ処理豆腐はやわらかく伸びがあるゲルであると考えられた。

共焦点レーザー顕微鏡によりプロテアーゼ処理豆腐の観察を行った (図 2)。



50  $\mu\text{m}$

図 2 共焦点レーザー顕微鏡によるプロテアーゼ処理豆腐の組織観察

A, 対照; B, プロテアーゼ処理豆腐

対照では比較的均一な網の目状の構造が見られたが、プロテアーゼ処理豆腐ではへこみや小さな隙間が観察された。走査電子顕微鏡による観察でも、同様のへこみがある可能性があるとして示唆され、対照とプロテアーゼ処理豆腐の組織構造に違いがあると考えられた。

また、プロテアーゼ処理豆腐では SDS-PAGE において、タンパク質の分解が観察された。

対照とプロテアーゼ処理豆腐の違いは、プロテアーゼによる豆腐タンパク質のネットワーク構造の切断によるものと考えられた。

### (3) 応用

豆腐のプロテアーゼ処理によるテクスチャーの変化を他の食品へ応用した。

まず、豆腐以外大豆加工食品への応用を試みた。凍り豆腐は、高齢者にとって食べにくい食品とされているが、プロテアーゼ処理によりやわらかく改変することができた。また油揚げについても軟化させることができた。

さらに、大豆加工食品以外への食品へ応用するため、プロテアーゼ処理方法等の検討を行った。プロテアーゼ溶液に浸漬する方法以外に、注射器等で注入する方法なども有効であることが認められた。この方法を使用することにより、適用できる食品の範囲を広げることができた。

以上の結果から、タンパク質を多く含む食品をプロテアーゼ処理したものは、やわらかくなめらかなテクスチャーとなり、高齢者などの咀嚼・嚥下困難者用食品への応用が可能であると考えられた。本研究で行った酵素を用いた調理 (プロテアーゼ処理) の方法は容易であることから、今後の幅広い利用が期待

される。

#### 引用文献

- 1) A. S. Szczeniak & D. H. Kleyn, *Food Technol.*, **17**, 74 (1963)
- 2) 長野隆男ほか, 日本食品科学工学会誌, **50**, 344 (2003)

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

舟木淳子, テクスチャーを改変しておいしく, *BIO INDUSTRY*, 査読無, **32**, 25-30 (2015)

舟木淳子, 西原百合枝, 沖邊敦代, 高井美希, 芹田千穂, 江頭和佳子, プロテアーゼ処理豆腐の微細構造, 福岡女子大学国際文学部・人間環境学部・人間環境学研究科紀要, 査読無, **46**, 35-37 (2015)

舟木淳子, 大木理美, 小西亜也加, 西原百合枝, 阿部祥恵, 江頭和佳子, プロテアーゼによる凍り豆腐の物性の改変, 福岡女子大学国際文学部・人間環境学部・人間環境学研究科紀要, 査読無, **45**, 47-49 (2014)

舟木淳子, 阿部祥恵, 大塚弘子, 黒岩理彩, 西原百合枝, 江頭和佳子, プロテアーゼ処理豆腐の物性, 福岡女子大学国際文学部・人間環境学部・人間環境学研究科紀要, 査読無, **44**, 19-22 (2013)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

舟木 淳子 (FUNAKI, Junko)

福岡女子大学・人間環境学研究科・准教授  
研究者番号: 6 0 2 1 9 0 7 9

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: