

咀嚼・嚥下困難高齢者用のタンパク質食品
の品質向上に関する基礎的研究

松隈美紀

2014

目 次

第 1 章	緒 論	1
第 2 章	高齢者の味覚感受性から推察される高齢者 食の嗜好性	
第 1 節	緒 言	12
第 2 節	実験材料と方法	14
第 1 項	被験者の選定	14
第 2 項	実験方法	14
2-1	試験溶液	14
2-2	味覚識別試験	15
2-3	被験者の属性調査	16
2-4	統計解析方法	16
第 3 節	結果と考察	16
第 1 項	高齢者における味覚識別能	16
第 2 項	高齢者の属性と味覚識別能の関係	26
第 4 節	小 括	36
第 3 章	酵素処理による鶏肉のテクスチャーと 嗜好性の改善	
第 1 節	緒 言	38
第 2 節	実験材料と方法	40

第 1 項	試料調製法	40
1-1	官能評価試料	40
1-2	組織観察試料	41
第 2 項	実験方法	42
2-1	官能評価	42
2-2	硬度の測定	43
2-3	統計学的処理	43
2-4	組織学的観察	44
第 3 節	結果と考察	45
第 1 項	酵素処理濃度が鶏肉の官能評価に及ぼす影響	45
第 2 項	0.2%酵素処理鶏肉の硬さと官能評価	49
第 3 項	酵素処理鶏肉の組織学的観察	52
第 4 節	小括	58
第 4 章	酵素処理した高齢者用魚肉ミンチの食味性, 理化学的および組織学的特性の評価	
第 1 節	緒言	61
第 2 節	実験材料と方法	63
第 1 項	試料調製法	63
1-1	試薬	63

1-2	タイ肉の酵素処理	64
1-3	凍結乾燥試料の調製	64
第2項	実験方法	65
2-1	総遊離アミノ酸量の測定	65
2-2	硬さの測定	66
2-3	官能評価	66
2-4	核酸関連化合物の定量	67
2-5	組織学的観察	67
2-6	統計学的処理	68
第3節	結果と考察	69
第1項	酵素処理タイ肉のアミノ酸含量	69
第2項	酵素処理タイ肉の硬さの測定	69
第3項	酵素処理タイ肉の官能評価	72
第4項	酵素処理がタイ肉中の核酸関連化合物 量に与える影響	75
第5項	酵素処理タイ肉の組織学的観察	77
第4節	小括	81
第5章	総括	83
謝辞		89
Summary		91

文献 94

第 1 章 緒 論

現在，世界有数の長寿国となった我が国において，高齢者の急速な人口増加と共にライフスタイルの変化による疾病構造の変化が問題となっている。すなわち，高齢者の生活では，体力や気力の低下といった身体的変化に加えて，情報化や技術発達，価値観，社会との関係性，世帯構造などの社会的および生活的な目まぐるしい変化についていけない現状が浮かび上がってくる。従って，健康維持・増進および疾病予防に加えて，高度な生活の質（QOL：Quality of Life）を維持することも国民の保健医療上の重要な課題となっている。

一方，様々な社会変化によるストレスなどが食生活においても大きな影響をおよぼしていることは否めない事実である。高齢者の健康の維持・増進，疾病予防は，健康行動の基本に位置する食生活が重要な役割を担っており，その中で「食」は健康な身体をつくり維持するために必要な基本的欲求であり，「食行動」はヒトが自己決定できる主体的な営みである。従って，食物のおいしさや食べることの楽しさを感じながら，毎日をいきいきと過ごせる心

豊かな食生活は，その人の QOL の向上に直結すると考えられる^{1,2)}。しかし，高齢者では老化に伴う様々な食機能の低下が見られる。例えば，歯の減少や義歯装着による咀嚼率の低下，舌の運動能力の低下や唾液分泌量の減少などによる嚥下機能の低下は，タンパク質やエネルギーの摂取不足を引き起こしており，高齢者の重要な健康問題となっている³⁾。表 1-1 に示すように世界各国の人口推移を見ても，日本は現在 65 歳以上の人が 20% を超えており，超高齢化は深刻な社会問題となりつつある⁴⁾。さらに，高齢者の食生活を見てみると，個人差はあるものの①咀嚼・嚥下障害，②食欲の低下，③味覚，嗅覚，温・冷感覚および消化・吸収能力の低下などによる食事摂取量の低下が見られ，それに伴う有病率の上昇，気力の減退，社交性・適応性の減退などの特徴が挙げられる。このように高齢者は，身体的，社会的，心的要因により食欲に影響を受けやすいと言える⁵⁾。そこで，高齢者の食欲の改善には，現状の食生活の特徴を踏まえた上で，どのような食物形態を考えるべきかが早急に解決すべき課題として浮かび上がってくる。この課題を解決するためには，まず個人の嗜好性を配慮し，軟らかく食塊の形成が容易で

表 1-1 世界各国における65歳以上の人口推移

	日本	アメリカ	中国	インド	ロシア	ブラジル	オーストラリア	イギリス
2000年	17.3	12.3	14.3	23.4	12.3	5.4	12.1	15.9
2010年	22.5	12.8	15.9	25.6	12.6	6.8	13.7	16.5
2020年	27.8	15.8	19.0	28.7	15.2	9.1	17.2	18.8
2030年	29.6	19.2	22.5	32.2	19.3	12.5	20.6	21.4
2040年	33.2	20.2	24.7	35.6	20.2	15.6	22.6	23.1
2050年	35.7	20.6	25.9	38.7	23.0	19.2	23.8	23.2

総務省統計局資料より引用

スムーズに嚥下できる食物，そして個々人の経口摂取能力に対応した食物形態をつくり上げることが必要と考えられる。また，高齢者の健康への活力源は口から食べ物を食べて，「食事をおいしい」と感じることである。すなわち，おいしさとは「食べる行為に伴って引き起こされる，やわらいだ，楽しく，喜ばしい感情」，さらには「身体が要求するものや好きなものを，口腔を介して摂取したときに沸き上がる快感，満足感，至福感」である。おいしく味わうことは脳を活性化して活力を与え，生きる喜びにもつながる。一方，おいしさは，生理的・感覚的な要因によってのみ成立するものではなく，知的・文化的な要因も影響する。さらに，食べる人の要求を満たすための心配りも大切であり，心のこもったもてなしの精神（ホスピタリティ）や快適で魅力的な環境によるもてなしの形（アメニティ）など，心の安らぎを感じる食卓や食空間といった環境も欠かせない要因の一つである⁶⁻⁸⁾。このように食物を経口摂取することにより，「食事をおいしく摂る」という食生活を考えることは，高齢者にとって健康で自立した生きがいのある豊かなQOLにつながっていくと考えられる。しかし，このような観点に立った

食事や食べ物の形態については，これまでほとんど研究がなされてこなかった。

そこで本研究では，ヒトが口から食べるという経口摂取の意義を考えるために，高齢者が感じる食物のおいしさを官能評価により明らかにするとともに，嚥下困難者等がおいしく食べられる食物形態について，酵素処理に伴うテクスチャーや食品成分等の変化を分析し，検討することとした。ヒトが食物を体の中に取り込む際に必要な行動として，図 1-1 に示すように，① 食物の認識，② 咀嚼と食塊の形成，③ 咽頭への送り込み，④ 咽頭通過，食道への送り込み（嚥下反射），⑤ 食道通過があり，この一連の流れを摂食といい，③～⑤を嚥下という。また，食物を認識し，どんな食べ物をどのくらいの量だけ食べるのかを判断する認知期，食べ物を口の中に入れて嚥下ができるように咀嚼し，食塊を形成する咀嚼期，口腔内で食塊にされた食物を咽頭に移送する口腔期，食塊とされた食物が咽頭から食道へと運ばれる咽頭期，食塊を食道から胃へと送り込む食道期としても定義されている⁹⁾。一般的に咀嚼・嚥下障害には，① 認知障害や咀嚼障害による口腔内での食塊が形成不能状態である食塊形成不全，② 神経・

- ① 認知期
◆ 食物を認識し、どんな食物をどのくらいの量、食べるのかを判断する時期
- ② 咀嚼期
◆ 食物を口の中に入れ、嚥下が出来るように咀嚼し、食塊を形成する時期
- ③ 口腔期
◆ 口腔内で食塊にされた食物を咽頭に移送する時期
- ④ 咽頭期
◆ 食塊とされた食物が咽頭から食道へと運ばれる時期
- ⑤ 食道期
◆ 食塊を食道から胃へと送り込む時期

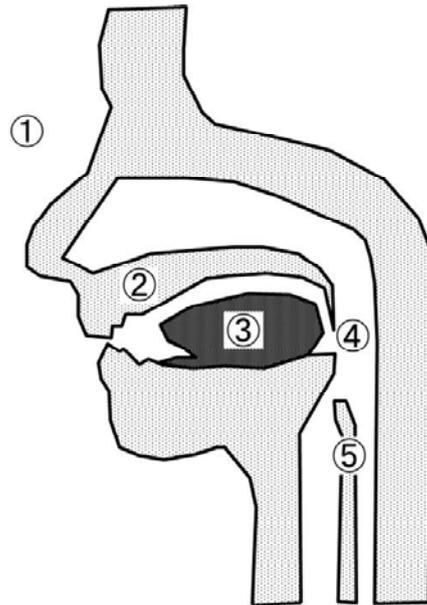


図 1-1. 摂食と嚥下の流れ

筋障害，口腔・咽頭の巨大腫瘍などによる飲み込み運動が不能状態である嚥下運動不全，③食道，胃（噴門部）の腫瘍や狭窄，食道筋の運動障害による食道不能状態である食道通過障害，④嚥下の際に飲食物が咽頭から気管（下気道）に入る誤嚥，⑤口蓋欠損や軟口蓋運動障害により食物が鼻腔内に入る鼻腔内流入，⑥咽頭炎症，腫瘍，異物，外傷による咽頭痛の状態である嚥下痛などがある。これらの障害は，口腔障害者，消化器疾患者，意識障害者，脳血管障害者，認知症患者，神経筋疾患者，高齢者，ガン末期患者，日常生活動作の低下した長期臥床者，鎮痛薬や睡眠薬使用者，経鼻胃管や気管切開者の合併症として考えられる¹⁰⁾。これらの障害者のうち，経口摂取が可能な咀嚼・嚥下困難者の食事を見てみると，図1-2に示すような嚥下食ピラミッドの段階的食物形態となっている。具体的には，施設や病院では，咀嚼量の低下に対応した普通食より小さいサイズの食事，誤嚥を防ぐための市販のトロミ調整食品およびデンプンによるまとまりと滑らかさを加えた食事（刻み食，ミキサー食，トロミ食）を提供している。しかし，これらの食品を見てみると，調理効率性は高いという利点があるものの，咀嚼・嚥

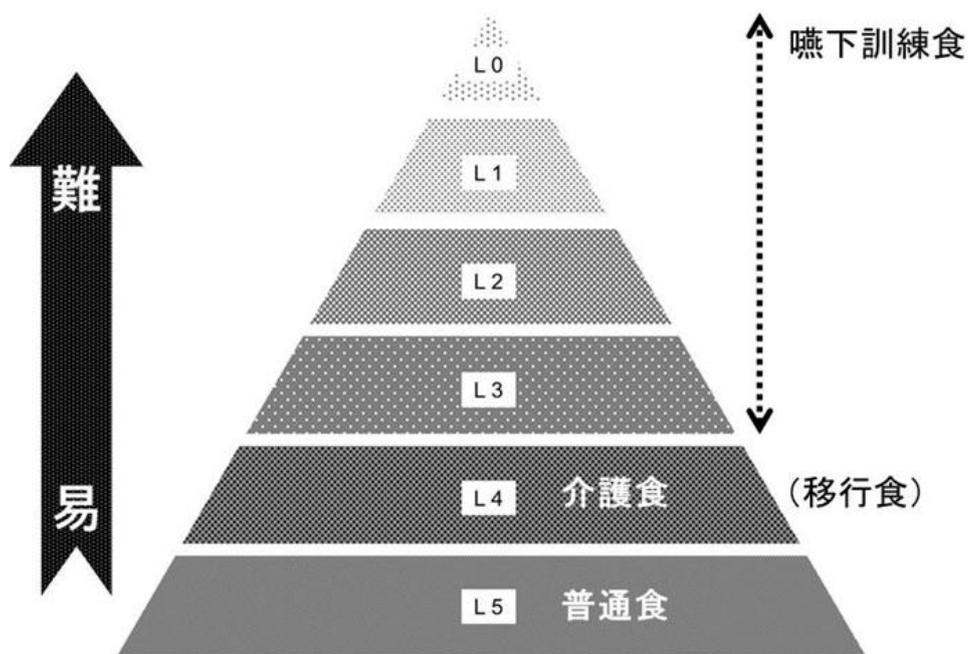


図 1-2. 嚥下食ピラミッド(段階的食事形態)
 嚥下食ピラミッド, 金谷(2004)を一部改変して引用

下障害の区別がなく，さらに普通食とはかけ離れているという点は問題がある。そのため食欲の低下が生じやすく，ひいては低栄養を招く危険性が挙げられる¹¹⁾。従って，高齢者には生理的機能の低下に充分留意した上で，可能な限り普通食に近く，食べやすく，良質な食物を供給することで栄養素の補給を行い，より食生活の充実を図ることが必要である¹²⁾。特に動物性食品である食肉や魚肉は，良質なタンパク質供給源とされているが，普通食では加熱によって組織が硬くなり咀嚼しにくくなるため，高齢者にとっては食べにくい食品となっている¹³⁾。すなわち，嚥下困難者や高齢者が食肉や魚肉をおいしく経口摂取できるように，酵素処理などにより肉質の改良を図るとともに，そのおいしさについても官能的に評価し解析することが重要な課題と考えられる。

以上のような超高齢化社会の食生活の現状を鑑み，本論文では次のような研究の構成とした。

第1章では，研究の背景および研究の目的について記述した。

第2章では，高齢者の味覚と摂食機能との関連性を明らかにすることを目的に，まずヒトの食欲の基本の一つである味を形成する5つの因子（甘味，塩

味，酸味，苦味，うま味）について，生産年齢期と前期高齢期の成人を対象に味覚識別試験を行った。さらに，味覚感受性に影響を与えられると考えられる被験者の属性（4項目）についてアンケート調査を行い，前期高齢期の高齢者について味嗜好性との関係について解析した。

第3章では，口腔機能が低下した高齢者への食肉として最適な鶏肉質の改良を目的とし，濃度の異なるタンパク質分解酵素（パパイン）を用いてミンチ処理した鶏肉の軟化を試み，高齢者に必要な食品物性とおいしさとの関連性について官能評価を行った。さらに，酵素処理前後における鶏肉組織の構造変化から形態学的検討を行い，同様の関連性について記述した。

第4章では，白身魚の中でも特に硬い肉質とされるタイ肉を対象とし，その肉質改良を目的に，濃度の異なるパパインを用いてミンチ処理したタイ肉の軟化を試みた。また，高齢者に必要な食品物性とおいしさの関連性について官能評価を行うとともに，うま味関連物質についても分析した。さらに，鶏肉と同様に酵素処理前後における組織構造の変化を観察した。

第 5 章では，第 2 章から第 4 章までの内容を総括し，総合的な考察を行った。

第 2 章 高齢者の味覚感受性から推察される 高齢者食の嗜好性

第 1 節 緒言

近年，我が国の高齢者において，生活習慣病などの疾病予防に加え，健全な食生活など健康面における高度な生活の質（QOL）を維持することが国民の保健医療上の重大な課題となっている。健康の維持・増進および疾病予防には，健康行動の基本である食生活が重要な役割を担っているが，特に高齢者において，毎日の食生活の中で食事の「おいしさ」や「食べる楽しさ」を感じることは，その人の QOL の向上につながると考えられている^{14, 15)}。このように，食生活，特に「摂食行動」は健康な身体を維持するための主体的営みであると考えられているが，多くの高齢者では，老化に伴う食習慣や嗜好の変化とともに，唾液分泌機能や咀嚼・嚥下機能のような摂食機能の低下から摂食行動が抑制されている。その結果，タンパク質不足などの栄養障害を引き起こし，しばしば重要な健康問題となっている¹⁶⁾。

高齢者の場合，味の感受受容器である味蕾の減少，味蕾中の味細胞の機能減退，脳における味覚機序の

機能変化などにより，味覚の閾値が上昇し，味に対する感覚が鈍化する^{17~19)}といわれ，加齢と共に味覚は低下し，高濃度の味付けを好むようになる²⁰⁾。また，唾液分泌機能の低下や義歯使用などの口腔環境の変化，健康状態の影響など，幾つかの重要な要因もまた，高齢者の味覚障害の発現に関与していると考えられている^{21~23)}。従って，高齢者に対して食品を提供する場合，高齢者の味覚感受性の変化に対応した味嗜好に設計することが，高齢者の食欲を亢進させ，その結果，摂食量の増加による栄養状態の改善に伴った健康面におけるQOLの維持・増進につながると考えられる。そこで本研究では，高齢者の味覚感受性から推察される高齢者食の嗜好性を検証することを目的とし，生産年齢期（15歳～64歳）および前期高齢期（65歳～74歳）の成人を対象として，甘味，塩味，酸味，苦味およびうま味の5基本味について味覚識別試験を行い，高齢者食における味質の至適性について検討した。また，味覚感受性に影響を与えられとされる被験者の属性，すなわち，被験者の性別，健康状態，義歯の有無および好みの味付けの4項目についてアンケートを用いた調査を行い，これらの項目と味嗜好性の関係に

についても検討した。

第 2 節 実験材料と方法

第 1 項 被験者の選定

被験者は，福岡県糟屋郡志免町に在住の前期高齢期の高齢者 19 名（年齢 65～74 歳；平均年齢 68.2 ± 3.0 歳；男性 10 名，女性 9 名；以下，高齢群とする）および対照群として生産年齢期の中高年者 17 名（年齢 43～64 歳；平均年齢 58.2 ± 5.8 歳；男性 8 名，女性 9 名；以下，生産年齢群とする）を任意に選んだ。本試験は世界医師会総会において承認されたヘルシンキ宣言の精神（「ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則」）に基づき行われ，中村学園大学倫理委員会の承諾を受けた。被験者には実験の主旨を説明し，実験参加の同意を得た後，インフォームド・コンセントを受理して本研究を実施した。

第 2 項 実験方法

2-1 試験溶液

味質の種類は甘味，塩味，酸味，苦味およびうま味の 5 基本味を用いた。試験溶液は甘味物質としてショ糖（和光純薬工業），塩味物質として塩化ナト

リウム（財団法人 塩事業センター），酸味物質としてクエン酸（健栄製薬），苦味物質として無水カフェイン（白鳥製薬），うま味物質として L-グルタミン酸ナトリウム（味の素株式会社）の溶液を用いた。希釈溶液には精製水を用い，試験溶液の濃度は古川ら²⁴⁾の方法を参考に，ショ糖は 0.4% (w/v)，塩化ナトリウムは 0.13% (w/v)，クエン酸は 0.005% (w/v)，無水カフェインは 0.02% (w/v)，グルタミン酸ナトリウムは 0.05% (w/v) に調製した。また，試験溶液の温度は $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ とした。

2-2 味覚識別試験

味覚識別試験は古川ら²⁴⁾の方法を参考に，5 味識別テスト法を用いた。味覚における閾値には，「検知閾値」と「認知閾値」があり，前者において塩味を呈する食塩では，非常に濃度が低い場合甘味として感知される場合がある。本研究では，味覚の識別という観点から，味を認知する「認知閾値」を参照した。すなわち，本章第 2 節，第 2 項，2-1 で調製した 5 基本味の試験溶液について，被験者にそれぞれ 1 回あたり約 15 ml を口に含ませ，感じた味質を指摘させた。ただし，わからない場合はわからない

と答えてもらった。なお，他の試験溶液に移る際は蒸留水で口腔を十分にすすがせ，前の味質が残っていないことを確認してから他の味質に移った。被験者の味覚識別の正誤および各味質に対して感じた味質の割合を百分率で算出し，味覚識別の評価とした。

2-3 被験者の属性調査

被験者の属性の調査は，自記式アンケートにより行った。調査する属性は，1) 性別，2) 健康状態，3) 義歯の有無および4) 好みの味付けとし，Table 2-1 に記載した各属性項目の選択肢について該当するものを選択させた。

2-4 統計解析方法

統計解析は，各味質に対して感じた味質（5基本味）の回答について，生産年齢群および高齢群との比較を χ^2 検定で行い，有意水準が5%未満（両側検定）で有意差ありと判定した。

第 3 節 結果と考察

第 1 項 高齢者における味覚識別能

生産年齢群および高齢群の 5 基本味（甘味，塩味，酸味，苦味およびうま味）の味覚識別検査における識別率および提示した味質に対して認識した各味質の割合を Table2-2～Table 2-6 に示した。高齢群の 5 基本味の正しい識別率において，甘味および苦味で生産年齢群と比べて高い値を示した（Table2-2 および Table2-5）。しかし，識別率の絶対評価では，甘味に関しては生産年齢群および高齢群ともに高い値（82.4% および 89.5%）を示したが，苦味に関しては低い値（5.9% および 26.3%）を示した。一方，高齢群の塩味，酸味およびうま味の正しい識別率では，生産年齢群と比べて低い値を示した

（Table2-3, Table2-4 および Table2-6）。特に，酸味およびうま味の識別率の低下は顕著であり，生産年齢群と比べて 50% 以上の低下を示した。また，提示した味質に対して高齢群が認識した各味質の割合は，酸味のみが生産年齢群と比べて，有意に異なる割合を示した（Table2-4）。

加齢に伴い感じる 5 基本味の味質の変化については，これまでも多数の報告がされている。60 歳以

Table 2-1 Questionnaire items for baseline characters of young-old participants.

Questionnaire item	Option
1. Sex	i) Male ii) Female
2. Health condition	i) Very good ii) Good iii) Better iv) Not good
3. Dentition	i) Natural teeth ii) False teeth (partial) iii) False teeth (full)
4. Favorite flavor	i) Strong ii) A little strong iii) Medium iv) A little weak v) Weak

Table 2-2 Identification test for sweet taste in working-age and young-old participants.

Category	Taste recognition (%)		Taste response (%)					
	True	False	Sweet	Salt	Sour	Bitter	Umami	Unknown
Working-age	82.4	17.6	82.4	0.0	5.9	0.0	11.8	0.0
Young-old	89.5	10.5	89.5	0.0	0.0	0.0	5.3	5.3

Values expressed as n (%) unless otherwise stated.

A statistical analysis was performed by using chi-square distribution test. chi-square value significant at $P < 0.05$ (*).

Table 2-3 Identification test for salty taste of salt in working-age and young-old participants.

Category	Taste recognition (%)		Taste response (%)					
	True	False	Sweet	Salt	Sour	Bitter	Umami	Unknown
Working-age	70.6	29.4	0.0	70.6	0.0	17.6	11.8	0.0
Young-old	63.2	36.8	0.0	63.2	10.5	15.8	5.3	5.3

Values expressed as n (%) unless otherwise stated.

A statistical analysis was performed by using chi-square distribution test. chi-square value significant at $P < 0.05$ (*).

Table 2-4 Identification test for sour taste of citric acid in working-age and young-old participants.

Category	Taste recognition (%)		Taste response (%) [*]					
	True	False	Sweet	Salt	Sour	Bitter	Umami	Unknown
Working-age	76.5	23.5	11.8	0.0	76.5	11.8	0.0	0.0
Young-old	36.8	63.2	0.0	15.8	36.8	5.3	36.8	5.3

Values expressed as n (%) unless otherwise stated.

A statistical analysis was performed by using chi-square distribution test. chi-square value significant at $P < 0.05$ (*).

Table 2-5 Identification test for bitter taste of anhydrous caffeine acid in working-age and young-old participants.

Category	Taste recognition (%)		Taste response (%)					
	True	False	Sweet	Salt	Sour	Bitter	Umami	Unknown
Working-age	5.9	94.1	5.9	11.8	5.9	5.9	64.7	5.9
Young-old	26.3	73.7	5.3	5.3	26.3	26.3	36.8	0.0

Values expressed as n (%) unless otherwise stated.

A statistical analysis was performed by using chi-square distribution test. chi-square value significant at $P < 0.05$ (*).

Table 2-6 Identification test for umami taste of monosodium glutamate in working-age and young-old participants.

Category	Taste recognition (%)		Taste response (%)					
	True	False	Sweet	Salt	Sour	Bitter	Umami	Unknown
Working-age	11.8	88.2	0.0	17.6	5.9	64.7	11.8	0.0
Young-old	5.3	94.7	0.0	21.1	21.1	47.4	5.3	5.3

Values expressed as n (%) unless otherwise stated.

A statistical analysis was performed by using chi-square distribution test. chi-square value significant at $P < 0.05$ (*).

上の老年者の味覚は，20～40歳までの成人に比べて，程度の差はあるが低下するという報告²⁵⁾や，加齢による味覚低下は味質により異なり，個々の結果は必ずしも一致しないという報告^{26,27)}がある。その中では，特に甘味に関して，加齢に伴った味覚閾値の上昇は見られないとの報告²⁸⁾もある。本研究においても，高齢群の味覚の変化は味質によって異なっており，特に甘味では生産年齢群と比べて高い識別能を維持していた。Pelchatら²⁹⁾は高齢者の食品に対する強い欲求を調べ，老若に関係なくヒトは甘いものへの依存性を示すと報告している。食品において，甘味は主に糖類の摂取によって得られる味質であるが，高齢者においても甘味への依存に伴った糖質の過剰摂取による糖尿病，高脂血症などの生活習慣病が懸念されている。従って，本研究の結果を勘案すると，高齢者食への甘味の強調についての必要性は極めて低いと考えられた。苦味についての高齢群の識別能は，生産年齢群と比べて高い値を示したが，生産年齢群および高齢群の苦味の識別率はいずれも30%以下を示しているために，両群ともに苦味の絶対的な識別能が低下傾向にあると考えられた。しかし，ヒトの食品に対する嗜好性として，苦

味は比較的好まれないという報告³⁰⁾があり，高齢者の食欲を妨げる可能性があることから，苦味においても高齢者食では強調する必要性は低いと考えられた。一方で，高齢群における塩味，酸味およびうま味の識別能では，生産年齢群と比べて低下を示した。塩味の場合，高齢群の認識した各味質の割合は，生産年齢群と比べて有意な変化を認めておらず，高齢群は加齢に伴った塩味の認識パターンの変化を起し難いと考えられた。また，高齢群の塩味の絶対的な識別率は比較的高く，識別率の低下は生産年齢群と比較して10%程度にとどまっているため，高齢者の塩味識別能の低下は著しいものではないと考えられた。さらに，塩味に対する識別能が高い者は，塩辛い食品の嗜好性が低く，識別能が低い者は，塩辛い食品の嗜好性が高いことが知られているが³¹⁾，塩分の過剰摂取は高血圧，腎臓疾患，心疾患および脳卒中などの疾病を引き起こす要因であるため³²⁾，塩味に対する識別能が低下した高齢者では特に減塩が必要であると考えられる。従って，高齢者食への塩味の強調についても必要性は低いと考えられた。酸味およびうま味の場合，50歳代後半から識別の低下が顕著な味質という報告³³⁾があり，

本研究においても高齢群の酸味およびうま味の識別率は、生産年齢群と比べて50%以上の低下を示した。近年、摂食・嚥下障害に関連する領域では、食物の物性を適度に変えることによる誤嚥リスクの回避のみならず、咽頭領域への刺激による嚥下誘導の視点から、様々な刺激効果が検証されている³⁴⁾。これらの刺激の中に、実際の食事を想定した味覚刺激の嚥下誘発が検討されており、ラット咽頭・喉頭領域への味溶液試験では、5基本味の味質でも特に、酢酸などによる酸味およびグルタミン酸、イノシン酸によるうま味が、嚥下誘発効果を示し、嚥下回数が増加することが示されている³⁵⁾。また、適度な酸味およびうま味は重篤な疾病を誘発することなく食欲を促進する³⁶⁾。従って、高齢者食の加工において、酸味およびうま味の強調は、高齢者の低下した味覚を補い、嗜好性の向上のみならず、嚥下誘発の観点からも非常に有効であると考えられた。

第2項 高齢者の属性と味覚識別能の関係

高齢者における味覚機能の低下は、加齢による味蕾数の減少ということだけではなく、性別、健康状態、口腔状態、食事の習慣および心理的要因など、

いくつかの原因が重なっておこると考えられている^{22), 37, 38)}。本章第3節, 第1項では, 前期高齢者の5基本味の味質に対する識別能の観点から, 高齢者の味覚において特に酸味とうま味の識別能が低下しており, これらの味質の強調が高齢者食の嗜好において重要であることを見出した。そこで本項では前期高齢期の高齢者を対象として, 特に識別能が低下した酸味について着目し, 酸味の識別能と被験者の属性(性別, 健康状態, 義歯の有無および好みの味付け)との関係を検討した。なお, 同様に識別能の低下を示したうま味については, 正しい識別を示した高齢群の被験者が少数であり, 被験者の属性との関連について明確に結果を提示できないと考えられたため, 本研究では検討を行っていない。

Fig. 2-1 に本試験の被験者(生産年齢群および高齢群)の属性およびその割合を示した。性別では生産年齢群と高齢群ではいずれも同程度の男女比であった。健康状態は, 「非常に健康」と回答した高齢群の割合が生産年齢群と比べて若干低下したものの, 「まあまあ健康」と回答した割合を含めると, 生産年齢群と高齢群では同程度(94.1%および94.7%)を示した。義歯の有無では, 高齢群におけ

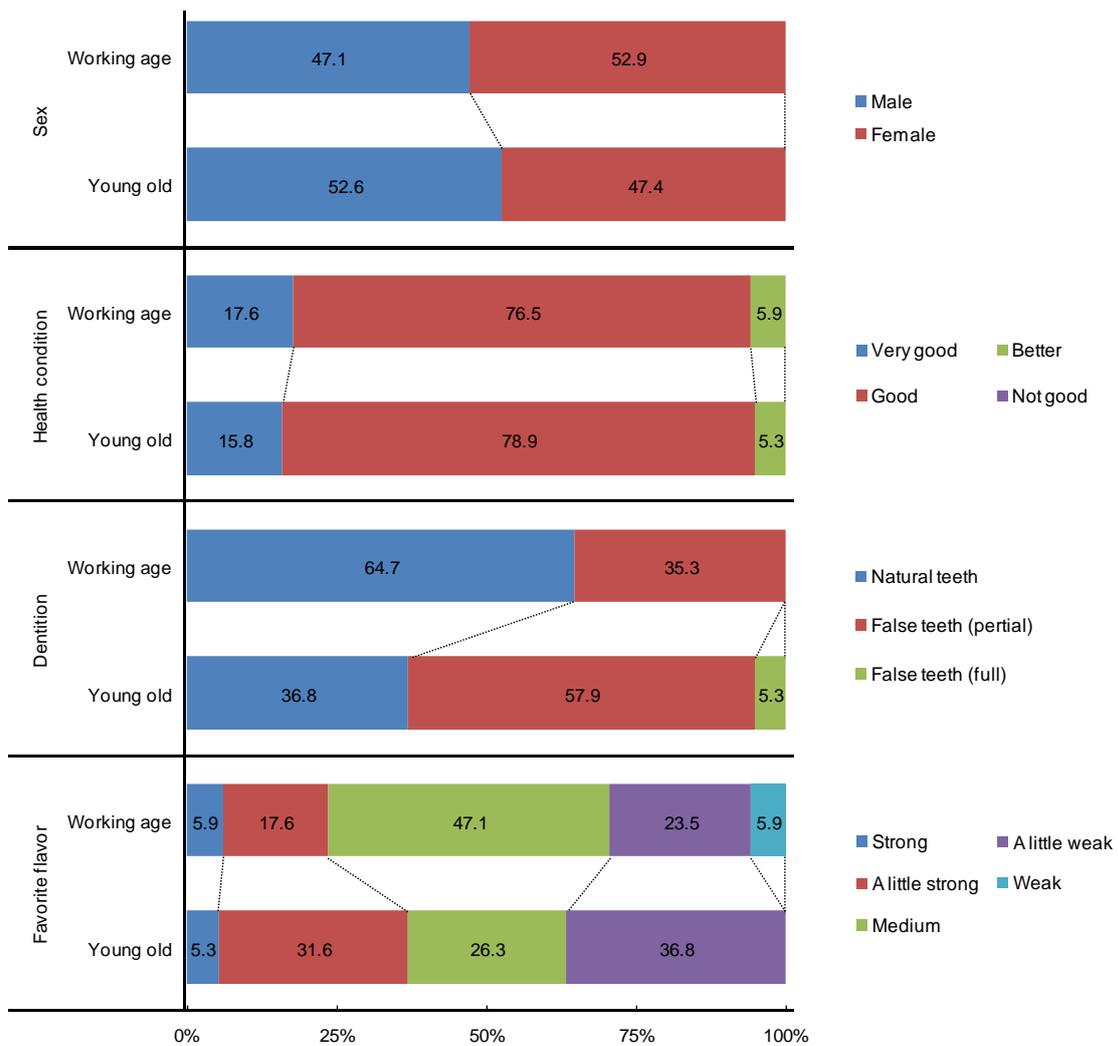


Figure 2-1 The answers of the questionnaire survey for baseline characters of the subjects .

る「全部自分の歯」の割合が，生産年齢群と比べて43.1%の低下を示し，それに伴って義歯の着用率，すなわち「部分義歯」および「すべて義歯」の割合の合計が79.0%の増加を示した。従って，本試験における高齢群では，加齢に伴って自らの歯を失い，義歯の着用が増加していることが確認された。また，好みの味付けでは，高齢群における「濃い味」および「少し濃い味」の割合の合計は生産年齢群と比べて59.0%の増加を示す一方，「少し薄味」および「薄味」の割合の合計も25.2%の増加を示した。従って，加齢とともに高齢者は「濃い味」を嗜好する傾向にあるが，一部の高齢者は健康意識や好みの変化などにより「薄味」を嗜好することが示唆された。そこで，このような高齢群の属性および酸味の識別能との関連性について検討を行った。

性別と酸味識別能の関連について，高齢群の正しい識別率は，男性（識別率30.0%）と比べて女性（識別率44.4%）が高いことが示された（Fig.2-2）。女性は味覚と関連深い「料理」にたずさわり，長年，味の弁別の機会が多かったこと，男性では舌乳頭の肥厚，角化が女性より顕著なことが原因として考えられた¹⁸⁾。

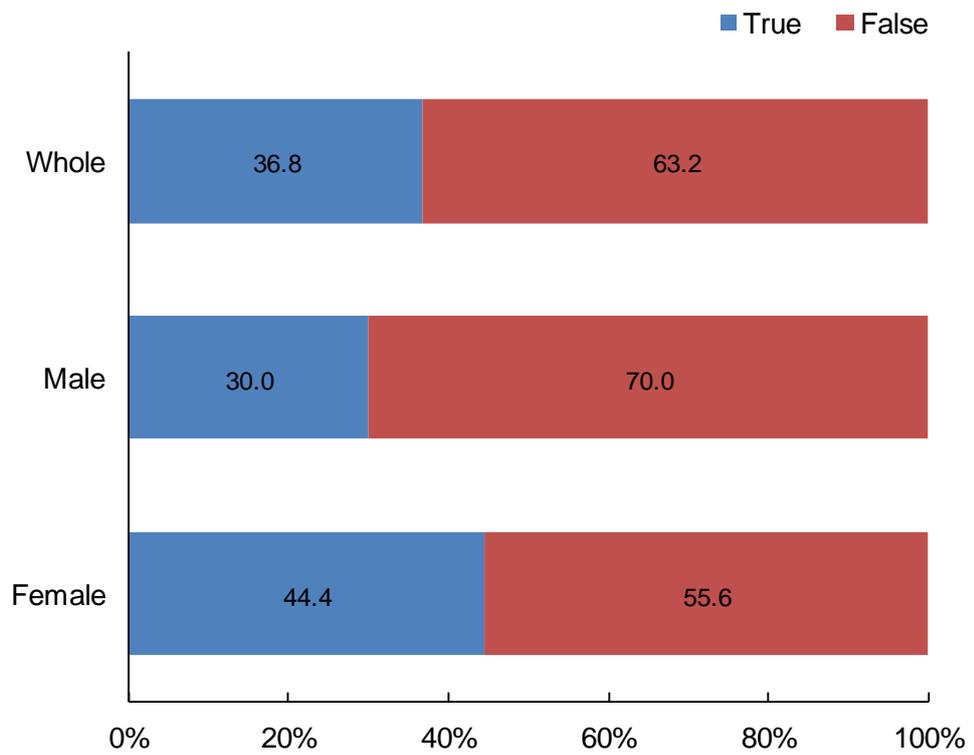


Figure 2-2 Identification test for sour taste in categorized young-old participants according to sex.

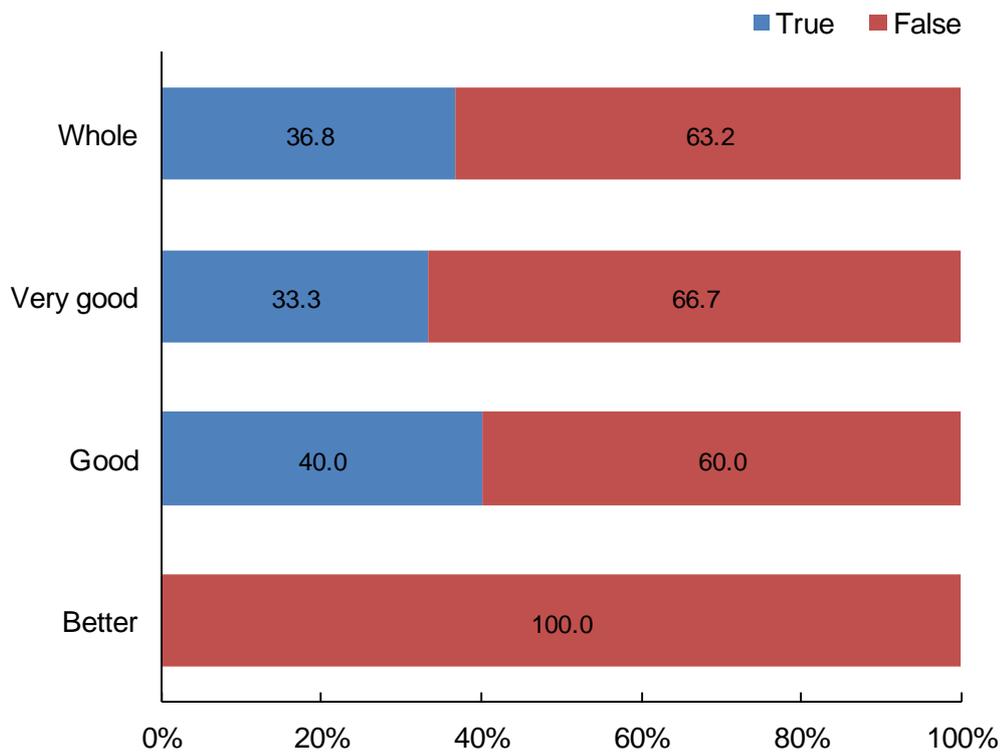


Figure 2-3 Identification test for sour taste in categorized young-old participants according to health condition.

健康状態と酸味識別能の関連について、高齢群の正しい識別率は「非常に健康」で33.3%、「まあまあ健康」で40.0%である一方、「あまり健康でない」と回答した高齢群では、識別できる被験者はいなかった（Fig. 2-3）。自らの健康状態を判断する場合、慢性疾患や代謝疾患、喫煙や飲酒などの生活習慣、心理的状态など様々な要因が影響すると考えられる。本研究で実施したアンケート調査では、被験者の主観的な健康状態を調査しており、例えば、喫煙量や飲酒量、薬の服用量など定量化した検討は行っていない。しかし、これら健康状態に影響を与える要因は、味覚の識別能に対して様々な関連が指摘されているために^{39~41)}、本研究の結果では、主観的な健康状態において健康と感じる高齢者は、酸味の識別能が高いと考えられた。

義歯の有無と酸味識別能の関連について、高齢群の正しい識別率は、予想に反して「部分義歯」で最も高い値（54.5%）を示した（Fig. 2-4）。「全部自分の歯」は14.3%であり、「すべて義歯」では識別できる被験者はいなかった。義歯の影響について、加齢により自らの歯を失うことは、咀嚼回数や唾液量の低下の原因につながり、味質の閾値が高くなる

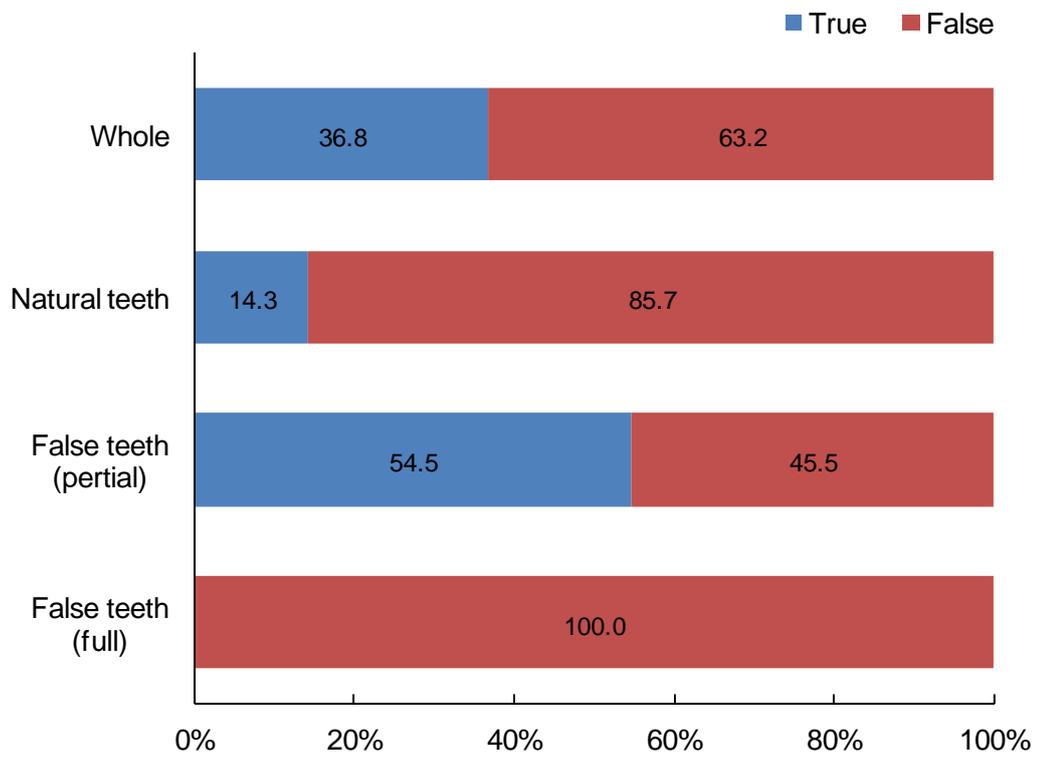


Figure 2-4 Identification test for sour taste in categorized young-old participants according to dentition.

という報告³⁸⁾がある。しかし、Bartoshukら²³⁾は、高齢者で義歯を上下に入れた被験者のほうが、自らの歯をもつ高齢者より閾値が低くなると報告している。本研究において、義歯を装着していない高齢群でも、歯が抜けたままの状態の被験者がいる可能性があり、自らの歯がどれだけ残っているかというよりも、口腔内の義歯状態や衛生状態などが味覚識別能に関係するのではないかと考えられた。

好みの味付けと酸味識別能の関連について、高齢群の正しい識別率は「普通」で最も高く(60.0%)、次いで「少し薄い味」(42.9%)、「少し濃い味」(16.7%)と続いた(Fig.2-5)。「濃い味」では識別できる被験者はいなかった。加齢に伴って味覚の閾値が上昇すると、味質に対する感覚が鈍化する^{42,43)}ために、加齢とともに味覚は低下し、高濃度の食物を好むことが知られており、本試験における「濃い味を嗜好するものほど、酸味の識別能が鈍化している」という結果と一致していた。また、努めて薄味を嗜好した場合でも味覚に対して敏感になる⁴⁴⁾ことも、本研究結果の一因であると考えられた。従って、高齢者において味付けの嗜好性は、酸味の識別能に関連していることが示唆された。

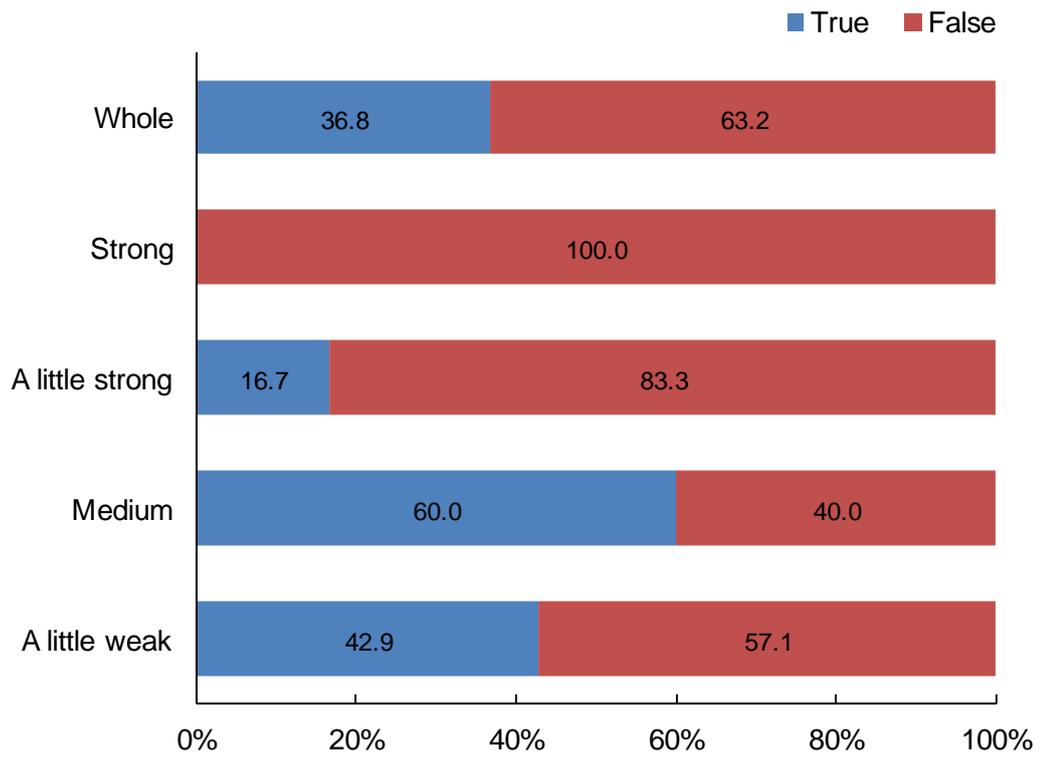


Figure 2-5 Identification test for sour taste in categorized young-old participants according to favorite flavor.

以上の結果より，加齢とともに識別能の低下が著しい酸味では，高齢者の属性の違いに伴って識別能の程度が異なっているため，高齢者食の加工において酸味を強調する場合，個々の性別および主観的な健康状態を考慮して，酸味の程度を調整する必要性が示唆された。

第 4 節 小括

高齢者の味覚感受性から推察される高齢者食の嗜好性を検証することを目的とし，5基本味の味質について，前期高齢期の高齢者および対照群として生産年齢期の中高年者の味覚識別試験ならびに高齢者の属性と味覚識別能との関係について検討を行った。その結果，高齢者の各味質に対する味覚識別能には違いがあり，特に酸味およびうま味識別能は，生産年齢群と比べて低下していることが示された。また，高齢者の属性の違いに伴って酸味の識別能の程度は異なっており，女性は男性に比べて酸味の識別能が比較的高く，また健康状態が良好であるほど高い識別能を示した。

以上，高齢者食の加工において，酸味およびうま味の強調は，高齢者の低下した味覚を補い，嗜好性

の向上のみならず，嚥下誘発の観点からも非常に有効であるが，酸味に関しては高齢者の性別および健康状態に伴った調整が必要であることが示唆された。

第 3 章 酵素処理による鶏肉のテクスチャーと嗜好性の改善

第 1 節 緒言

第 2 章において，高齢者の 5 つの基本味（甘味，酸味，塩味，苦味および旨味）の味覚識別能の中で，酸味およびうま味の識別能は加齢により低下するため，食事におけるそれらの味の強調は，高齢者の低下した味覚を補い，嗜好性を向上させることを明らかにした。一方，我々の摂食行動には，咀嚼機能，舌機能，嚥下機能などの口腔機能も大きく影響しているといわれており，特に，高齢者は個人差があるものの，加齢に伴う歯の損失，舌の動きの鈍化，唾液分泌量の減少により，口腔機能が著しく低下すると考えられる。従って，加齢による口腔機能の低下は，食の受容性を狭めるだけでなく，食事の量や質を低下させ，さらにタンパク質の欠乏とエネルギーの欠乏が複合して低栄養状態になることが報告されている⁴⁵⁾。口腔機能が低下した高齢者が食べにくいとされる食品物性には，「硬くて破断に強い力を要する」，「柔らかいが噛み切りにくく，噛みしめるのに力を要する」および「嚥下するための食塊形成

が難しい」などの特徴があることから，高齢者に適した食事には「食品の柔らかさ」のみならず，「食品の潰れやすさ」や「飲み込みやすさ」が重要であると考えられる。一般に，食肉や魚肉は硬くて破断に力を要し、あるいは食塊を形成しにくい食品であるといわれており，特に，嚥下機能が低下した高齢者に対して用いられる場合には，このような物性を改良する必要がある。

一方，高齢者にとって毎日の食事は大きな楽しみであり，何よりもおいしく食べられることが肝心である。従って，高齢者が本人なりに充実した食生活を得るためには，食べ易く，良質な栄養資源をおいしく供給することが必要である⁴⁶⁾。鶏肉は我々にとって良質なタンパク質の供給源である⁴⁷⁾とともに，特有の好ましさとおいしさがあるために，高齢者に適したタンパク質源の一つとして考えられるが，加熱によって硬くなり，咀嚼しにくくなる⁴⁸⁾。特に，口腔機能が低下した高齢者のためには細かく粉碎するなど食べやすく調理してから食卓に供する必要がある。このような背景から，タンパク質分解酵素で鶏肉を処理した軟化性についての報告⁴⁹⁻⁵¹⁾は散見されるが，酵素処理による鶏肉の軟化性とおい

しさととの関連性についてはほとんど報告されていない。

そこで本章では，口腔機能が低下した高齢者への食肉資源として最適と考えられる鶏肉の肉質の改良とおいしさの維持を目的とし，タンパク質分解酵素（パパイン）を用いて鶏肉の軟化を試み，高齢者食として必要な食品物性とおいしさとの関連性について官能検査により検証した。さらに，酵素処理前後における鶏肉組織の構造変化の形態学的な検討を行い，組織構造変化と食品物性およびおいしさとの関連性について追究した。

第 2 節 実験材料と方法

第 1 項 試料調製法

鶏ムネ肉（コーニッシュ種，90日成育鶏）を購入後，皮と余分な脂を取り除き，水洗したものを実験材料とした。タンパク質分解酵素は，パパイン（食品用精製パパイン，ナガセ生化学工業株式会社）を用いた。

1-1 官能評価試料

鶏ムネ肉を電動式ミートチョッパー（MS-12，南

常鉄工) で 1 回挽きし, ミンチにした。このミンチ肉 150g に酵素を 0.1%, 0.2%, 0.3% および 0.5% (対肉重量) の割合で添加し, 手で 20 回混ぜ合わせた後, 30g ずつケーシングに入れ, 真空包装機 (VP-105F, 日本電熱株式会社) を用いて真空包装し, 0℃で 24 時間保蔵処理した。処理後, 95℃の熱湯で試料の中心温度が 75℃に達するまで加熱処理したものを官能評価試料とした。また, 酵素処理をしないミンチ肉についても同様の処理を行い, 対照区とした。

1-2 組織観察試料

鶏ムネ肉を電動式ミートチョッパーで 1 回挽きしたミンチ肉 150g に, 酵素を 0% (酵素未処理, 対照区), 0.2% および 0.5% (対肉重量) の割合で添加し, フードプロセッサー (Bamix, 株式会社チェリーテラス) で 5 秒間混合後, 30g ずつケーシングに入れ, 真空包装機 (VP-105F, 日本電熱株式会社) を用いて真空包装し, 0℃で 24 時間保蔵処理したものを組織観察試料とした。

第 2 項 実験方法

2-1 官能評価

2-1-1 酵素処理鶏肉の官能評価

パネルは中村学園大学短期大学部の学生 7 名（平均年齢 23.5 歳）で構成し，官能評価の手順，評価の方法を十分説明した後、官能評価を行った。官能評価は，本章第 2 節，第 1 項 1-1 で調製した 4 種類の官能評価試料（0%，0.1%，0.3%および 0.5%酵素，0℃，24 時間処理）を一度に呈示し，対照区（酵素未処理）を 0 として -2 から 2 までの 5 段階評点尺度法⁵²⁾を用いた。評価項目は①かたさ（硬い - 柔らかい），②舌での潰れやすさ（困難 - 容易），③飲み込みやすさ（困難 - 容易），④おいしさ（嫌い - 好き）の 4 項目とした。得られた評価値は一元配置の分散分析を行い，Tukey の多重比較（ $P < 0.01$ ）を行った。

2-1-2 0.2%酵素処理鶏肉の官能評価

パネルは中村学園大学短期大学部の学生 12 名（平均年齢 23.5 歳）で構成した。官能評価は 0.2%酵素処理鶏肉（試験区）および酵素未処理鶏肉（対照区）の 2 種類を一度に呈示し，前項 2-1 と同様の 4 項目について 1 から 5 までの 5 段階評点尺度法で行った。

得られた評価値から Student の t 検定を用いて，対照区および試験区との比較 ($P < 0.01$) を行った。

2-2 硬度の測定

試料には酵素未処理鶏肉（対照区）および 0.2% 酵素処理鶏肉（試験区）を用いた。測定はテンシプレッサー（TTP-50BX，タケモト電機）を用い，厚生労働省で定めた高齢者用食品のかたさ測定法⁵³⁾に準拠して行った。すなわち，直径 40 mm，厚さ 15 mm の測定用セルで形成したものを直径 20 mm のプランジャーを用い，圧縮速度 10 mm/s，クリアランス 5 mm，測定温度 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ の条件で試料を圧縮し，得られた応力より硬さを算出した。1 つの試料につき測定を 3 回繰り返し行い，硬さの平均値と標準偏差値を算出した。統計解析は Student の t 検定を用いて，対照区および試験区との比較 ($P < 0.01$) を行った。

2-3 統計学的処理

試験結果は平均値 ± 標準偏差で表した。結果の統計処理は Tukey の方法に基づいた多重比較により行い，危険率 1%未満 ($P < 0.01$) または 5%未満 ($P < 0.05$) の場合を有意と判定した。

2-4 組織学的観察

2-4-1 標本の作製

標本は、0%、0.2%および0.5%の酵素濃度で、0℃、24時間処理した鶏肉を用いて組織観察用標本を作製した。すなわち、酵素処理後の各試料を5mm角に切り出し、0.1Mリン酸緩衝液でpH7.4に調整した4%ホルムアルデヒド（和光株式会社）で24時間浸漬して固定した。固定した試料を水洗し、エタノール系列で脱水およびキシレンで透徹後、パラフィンに包埋した。包埋後の試料からミクロトームで6 μ mの縦断切片を作成し標本とした。

2-4-2 ヘマトキシリン・エオシン（HE）染色

鶏肉の組織構造を観察する目的でHE染色を行った。各標本を脱パラフィンおよび水洗後、マイヤー・ヘマトキシリン（武藤化学株式会社）で20分間染色した後に水洗した。次に、1%エオシンY液（武藤化学株式会社）で5分間染色した後に軽く水洗し、エタノール系列で脱水、キシレンで透徹および封入後、光学顕微鏡（BH-2、オリンパス光学工業株式会社）を用いて観察を行った。

2-4-3 Azan 染色

鶏肉の膠原繊維を観察する目的で Azan 染色を行った。各標本を脱パラフィンおよび水洗後，媒染剤（武藤化学株式会社）に 10 分間浸漬した後に水洗した。次にマロリー・アゾカルミン G 染色液（武藤化学株式会社）で 30 分間染色後，アニリン・アルコール（武藤化学株式会社）で分別および酢酸アルコールで分別を停止し，水洗後，5%リンタングステン酸液に 1 時間浸漬した。さらに，マロリー・アニリン青オレンジ G 染色液（武藤化学株式会社）で 1 時間染色し，100%エタノールで脱水後，キシレンで透徹し，封入後，光学顕微鏡（BH-2，オリンパス光学工業株式会社）を用いて観察を行った。

第 3 節 結果と考察

第 1 項 酵素処理濃度が鶏肉の官能評価に及ぼす影響

Fig. 3-1 に 0%，0.1%，0.3%および 0.5%の酵素濃度で，0℃，24 時間処理した鶏肉の硬さについて，酵素未処理鶏肉を対照として官能評価を行った結果を示した。0.1～0.5%のいずれの酵素濃度においても対照区と比較して，柔らかいと評価された。また，酵

素の濃度の増加に伴って柔らかさを強く感じる傾向を示し 0.1%酵素処理鶏肉と 0.3%および 0.5%酵素処理鶏肉の間にそれぞれ有意差が認められた ($P < 0.01$)。従って、酵素処理温度が極めて低い温度 (0°C) であっても、長時間 (24 時間) の処理によって酵素による鶏肉のタンパク質分解が進行し、特に酵素処理濃度が 0.1%以上で十分な柔らかさが得られるものと考えられた。また、舌での潰れやすさの項目についても、処理した酵素濃度が増加するにつれて潰れやすさも増加することが認められ、0.1%酵素処理鶏肉と 0.3%および 0.5%酵素処理鶏肉の間にそれぞれ有意差が認められた ($P < 0.01$)。これらの結果より、鶏肉の硬さと舌での潰れやすさには大きな相関があることが示唆された。同様に、飲み込みやすさの項目についても処理酵素濃度が高いほど飲み込みやすさが増加し、0.1%酵素処理鶏肉と 0.3%および 0.5%酵素処理鶏肉の間にそれぞれ有意差が認められた ($P < 0.01$)。

一般に、食物は咀嚼によって表面が十分に滑りやすい一塊の団子状態が形成 (食塊の形成) された後に嚥下を行うが、形成された食塊が柔らかすぎることで、または食塊の粘性が高すぎることで飲み込みに

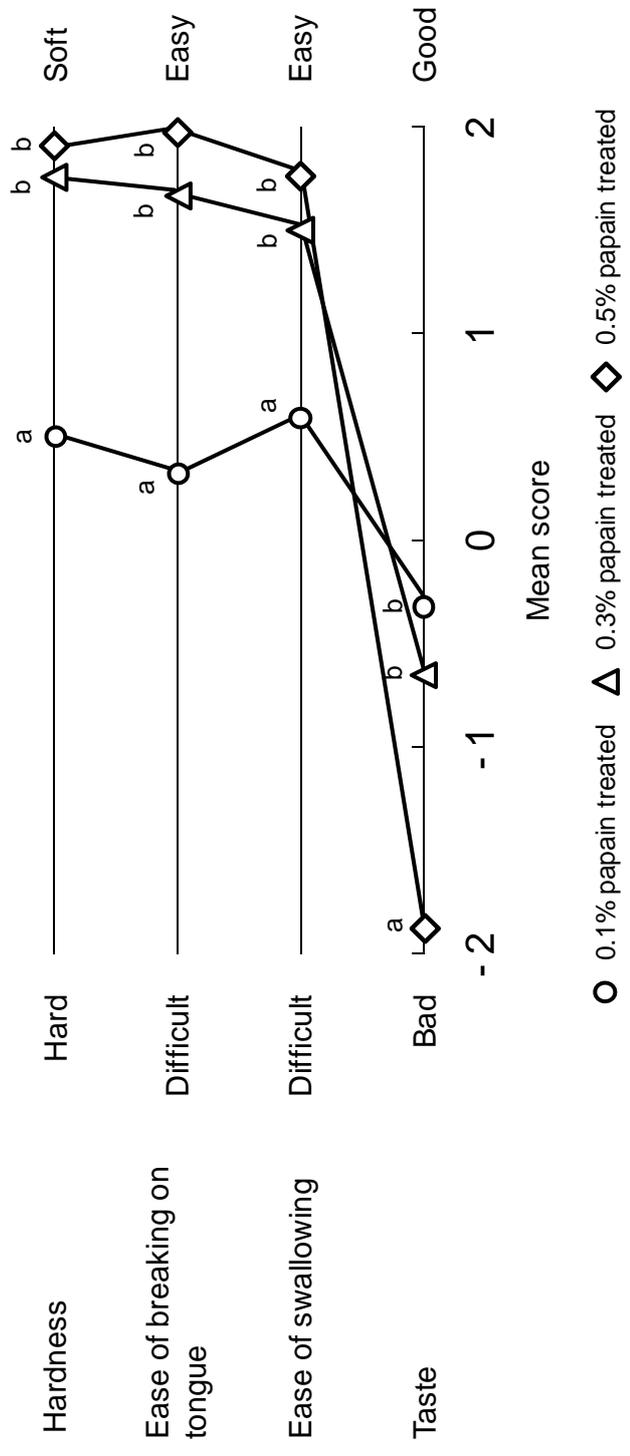


Figure 3-1 Effect of papain concentration on texture and palatability of chicken meat. Seven panel members rated fore parameters of chicken meat with papain treated (0.1, 0.3, and 0.5%) on a 5-point scale (from -2 to 2) compared to that of the chicken meat without papain treated as control (score 0). Different letters are significantly different ($P < 0.01$).

くさの原因になることが知られている⁵⁴⁾。しかし、今回使用した酵素濃度の範囲では鶏肉の酵素処理による軟化は認められたものの、鶏肉が柔らかすぎるために飲み込みにくくなるという傾向は認められなかった。このことから本研究の酵素濃度範囲では、嚥下するのに適した硬さまでタンパク質が分解されたものと考えられる。一方で、おいしさの項目では、酵素濃度に比例して好ましくないという傾向を示し、0.1%酵素処理鶏肉と0.3%および0.5%酵素処理鶏肉の間にそれぞれ有意差が認められた ($P < 0.01$)。通常、加工食肉のテクスチャーにおいては嗜好性が高いものほど弾力性と結着性が高く、歯ごたえがあると評価されている⁵⁵⁾。本研究の結果においても、酵素処理時間を一定にした場合、酵素濃度の増加に伴って、嗜好性も著しく低下したことから、高濃度処理区における鶏肉の軟化が嗜好に大きく影響するものと考えられる。従って、酵素処理鶏肉を高齢者食に活用する場合、適度な柔らかさが嗜好性の向上のために必要であり、目的とする軟らかさを得るための酵素濃度の選択が重要であると考えられる。

以上の結果より、硬さ、舌での潰れやすさおよび

飲み込みやすさの項目において高い評価を示し、かつ、おいしさの低下が小さい酵素濃度は、0.1～0.3%にあると考えられた。そこで、0.1～0.3%の中間の酵素濃度（0.2%）で処理した鶏肉について官能評価を行い、酵素処理した鶏肉の高齢者食としての有効性について検討した。

第 2 項 0.2%酵素処理鶏肉の硬さと官能評価

Fig. 3-2 に酵素未処理鶏肉（対照区）および 0.2%酵素処理鶏肉の官能評価結果を示した。酵素処理鶏肉は、官能評価における硬さ、舌での潰れやすさおよび飲み込みやすさの項目において、対照区と比べて有意差が認められた（ $P < 0.05$ ）。さらに、酵素処理鶏肉のテクスチャーは、すべてのパネラーから対照区と比べてやわらかく、食べやすいという評価を得たことから、酵素処理により鶏肉は適度に軟化していると考えられた。そこで、酵素未処理および酵素処理鶏肉についてテンシプレッサーによるかたさ測定を行った。Fig. 3-3 に示したように、それぞれのゲル強度は $28.90 \pm 1.33 \times 10^4 \text{N/m}^2$ および $4.29 \pm 0.12 \times 10^4 \text{N/m}^2$ の値を示し、酵素処理鶏肉の硬さが有意に低いことが認められ（ $P < 0.01$ ）、官能

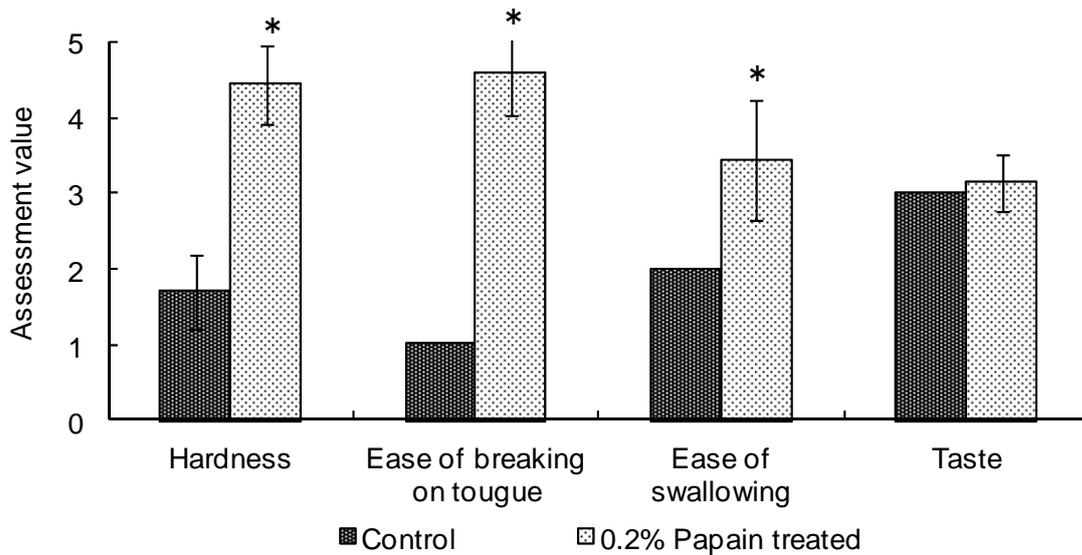


Figure 3-2 Effect of 0.2% papain treatment on texture and palatability of chicken meat.

Twelve panel members rated fore parameters of chicken meat with and without 0.2% papain on a 5-point scale (from 1 to 5).

Values containing asterisks were significantly different from the control at $P < 0.05$ (*).

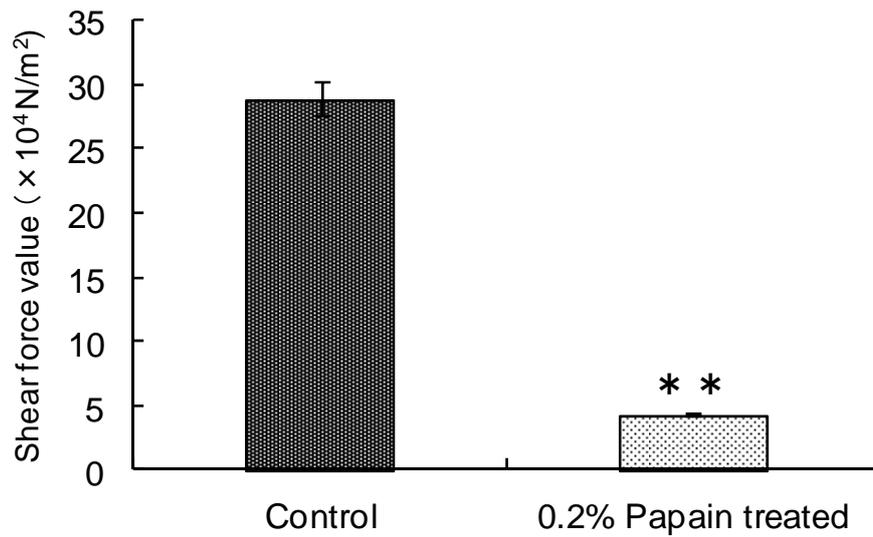


Figure 3-3 Shear force value of chicken meat with 0.2% papain treated.

Values containing asterisks were significantly different from the control at $P < 0.01$ (**).

評価結果と一致した (Fig. 3-1)。この値は厚生労働省が定めた高齢者用食品の規格基準において、咀嚼困難者用食品ゲルのかたさ (ゲル強度, $5 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下) の基準内にあることから、0.2%酵素処理により本研究の目的とする硬さが得られることが示唆された。一方、おいしさの項目については、酵素処理鶏肉は酵素未処理鶏肉と比べて若干低い値を示したが、有意差は認められなかった。以上の結果は、酵素処理した鶏肉がおいしさを維持し、さらに口腔機能が低下した高齢者にとって十分に食べやすいことを示唆しており、口腔機能が低下した高齢者への鶏肉処理として本実験の 0.2%酵素処理が有効であると考えられた。しかし、酵素処理による鶏肉の軟化効果は酵素の処理濃度だけでなく、処理温度および時間によっても変化すると考えられる。今後は酵素濃度に加えて、処理温度および時間と鶏肉のテクスチャーおよび嗜好性との関係性を検討する必要がある。

第 3 項 酵素処理鶏肉の組織学的観察

食肉の食感は、食肉を構成するタンパク質のうち、主に筋線維および筋肉内結合組織のタンパク質に

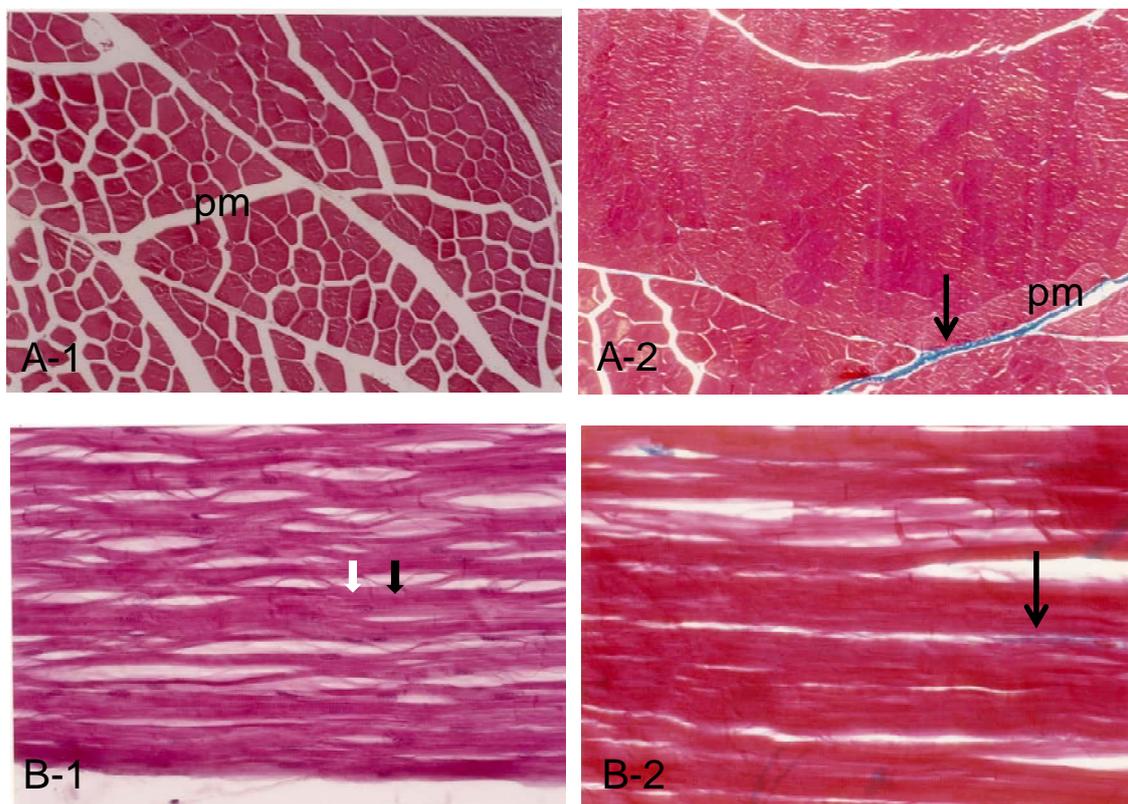


Figure 3-4 Optical micrographs of chicken muscular tissue cross section and vertical section.

(A-1) pm;perimysium

(A-2) arrow;collagain fiber

(B-1) blask arrow;anisotropic band,
white arrow;isotropic arrow

(B-2) arrow;collagain fiber(left;HE dyeing, rigte;Azan dyeing;Scale: top, x75, down, x350)

よってもたらされると考えられている^{56, 57)}。そこで、酵素処理の前後における鶏肉の組織学的観察を行い、組織化学的变化と肉質の官能評価結果との相関について解析した。Fig. 3-4 にミンチ処理前の鶏肉試料における筋組織写真（横断面，縦断面）を示した。横断面において，組織周囲は比較的厚い疎性結合組織として知られる筋上膜（筋膜）に包まれ，筋上膜に続く薄い結合組織の筋周膜が多数の筋細胞束を取り囲んで，それらを境界としていた。筋細胞束はいくつもの丸みを帯びた多角形区画であるコーンハイム野に分かれ，少量の結合組織である筋内膜に囲まれているのが観察され，結合組織である筋上膜，筋周膜および筋内膜がアニリン青によって染色されていた（Fig. 3-4 (A-1, A-2)）。

縦断面においては，紡錘形を呈する大型の筋細胞が観察され，細胞内には平行に縦断する多数の筋原線維が見られた。それらの線維にはエオジンに濃染して暗く見えるA帯と，淡染して明るく見えるI帯が規則正しく交互した明瞭な横紋が認められた。筋細胞には扁平な卵円形または長楕円形を呈する多数の核が見られ，それらは細胞の辺縁に並んで観察された。また，結合組織がアニリン青で青く染色さ

れているのが観察された (Fig. 3-4 (B-1, B-2))。

Fig. 3-5 に対照区および処理区の鶏肉試料における筋組織写真 (筋組織, 赤色; 空隙, 白色) を示した。一般的に酵素処理前の鶏肉の筋組織は厚い疎性結合組織である筋上膜に包まれ, 筋上膜に続く薄い結合組織の筋周膜が多数の筋細胞束を取り囲んで, それらを境界としていると考えられている⁴⁸⁾が, 本研究では, 対照区の筋組織において, 一部の筋細胞が筋束から分離している様子が観察された (Fig. 3-5 (A-1))。また, 本研究においてはミンチ処理して鶏肉を用いていることから, 鶏肉のミンチ処理による筋細胞や結合組織の物理的な破断によりこのような結果が得られたものと考えられた。そこで, 破断の程度を確認するために同じ試料を拡大して観察したところ, ミンチ処理した鶏肉の筋細胞には明確な横紋が認められるとともに, 大部分の筋細胞が筋内膜に包まれており, ミンチ処理による鶏肉の組織化学的なダメージは比較的小さいと考えられた (Fig. 3-5 (A-2))。一方, 酵素処理区の鶏肉では, 対照区と比べて多くの筋細胞が筋束から分離し, また結合組織についても, 対照区では確認されなかった部分的な切断および消失が観察された

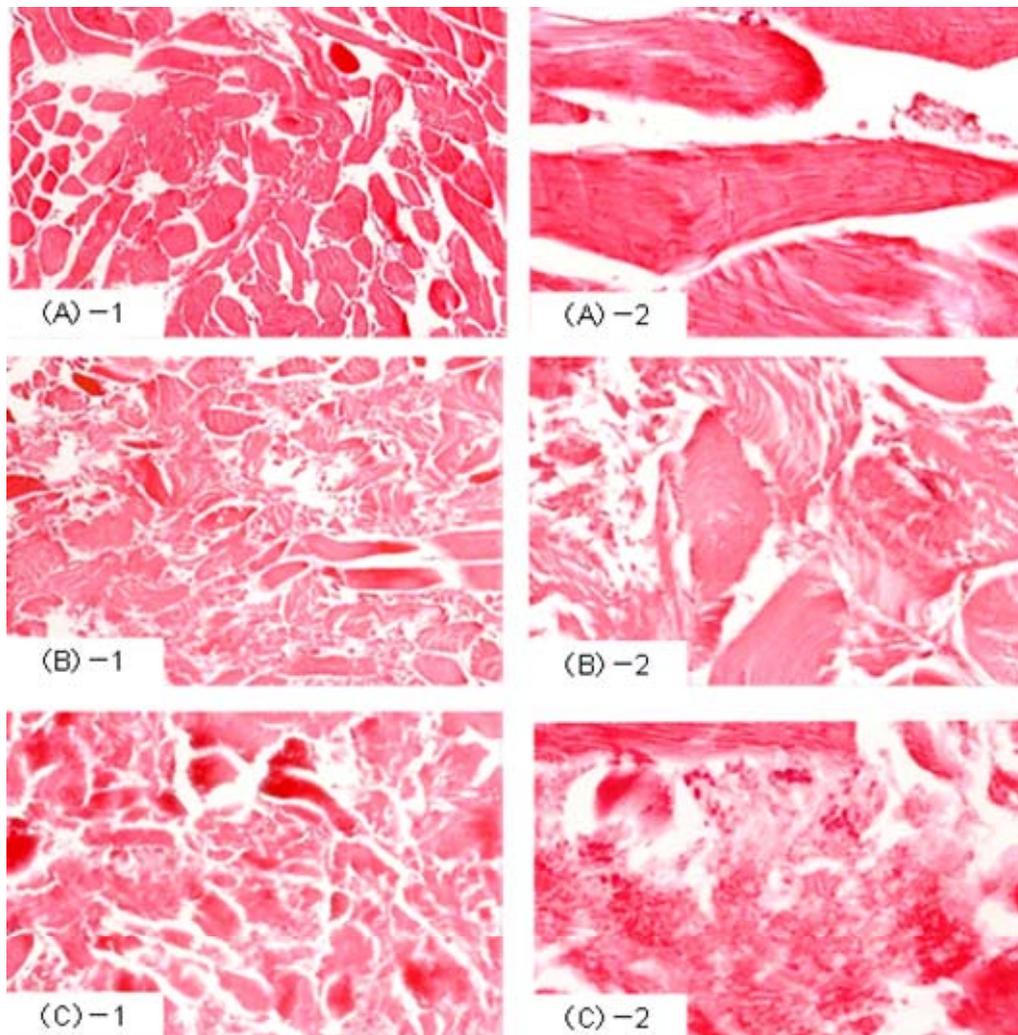


Figure 3-5 Optical micrographs of chicken meat before and after papain treated.

(A) before papain treated

(B) after 0.2% papain treated

(C) after 0.5% papain treated

(Scale: left, x75; right, x300)

(Fig. 3-5 (B-1))。さらに，筋内膜に包まれている筋細胞が部分的に観察されるものの，筋細胞の横紋の大部分は崩壊していることが認められた (Fig. 3-5 (B-2))。これまで食肉にパパインを作用させた場合，筋細胞内の筋原線維を構成するタンパク質であるミオシンフィラメントの H-メロミオシンが，3つのサブフラグメントに分解されることが報告されている⁵⁸⁾。さらに，食肉が柔らかくなる要因として，酵素処理により筋細胞が結合組織から分離することや筋原線維脆弱化することが報告されている^{56, 57)}。従って，本研究における酵素処理鶏肉の組織化学的な解析結果から，0.2%パパイン処理によって筋原線維，特にタンパク質の大半を占めるミオシン分子が分解されることが肉の軟化に大きく寄与することが示唆された。すなわち，0.2%酵素処理により鶏肉の組織が破壊され軟化したことが，官能評価でのテクスチャーにおいて，酵素未処理鶏肉と比べて有意に柔らかく，舌で潰れやすく，また飲み込みやすいという評価に結び付いたと推察された。

一方，0.5%酵素処理鶏肉では，に示したように，筋細胞から分離した筋原線維や筋形質などが小片

化し，コロイド状に混在していることが観察された (Fig. 3-5(C-1))。また，0.2%酵素処理鶏肉に比べて結合組織は切断および消失部分が大きく，ほとんどの筋内膜および筋細胞の横紋は観察されなかった (Fig. 3-5(C-2))。食肉のパイン処理では筋細胞のタンパク質が味に関連する遊離アミノ酸やペプチドに分解されることが知られている⁵⁹⁾。特に遊離アミノ酸は苦味を有すること等が知られており⁶⁰⁾，むしろ旨味の低下に大きく関与していると考えられる。従って，鶏肉への酵素処理濃度の増加に伴う嗜好性（おいしさ）の低下の要因の一つは，本組織学的観察で示されたような筋内膜の切断または消失の程度が異なり，それぞれの処理区の食肉から加熱処理後に肉汁とともに放出される遊離アミノ酸やペプチドなどの呈味物質の量の差によるものであると推定された。従って，今後処理鶏肉の嗜好性を解析するにあたっては，おいしさと関連する遊離アミノ酸やペプチド等の呈味成分を詳細に分析する必要があると考えられる。

第 4 節 小括

口腔機能が低下した高齢者への食肉として最適

な鶏肉質の改良を目的とし，濃度の異なる酵素（パ
パイン）を用いてミンチ処理した鶏肉の軟化を試み，
高齢者食に必要な食品物性とおいしさとの関連性
について官能評価および鶏肉の組織学的観察を行
った。その結果，以下の知見を得た。

鶏肉試料における官能評価では，鶏肉への酵素処
理濃度（0.1%，0.3%および0.5%）の増加に伴い，鶏
肉の「硬さ」は柔らかくなり，「舌での潰れやすさ」
および「飲み込みやすさ」は容易になる傾向を示し
た。一方，嗜好性（おいしさ）については酵素処理
濃度の増加に伴い，低下する傾向を示した。

また，0.2%酵素処理鶏肉では，酵素未処理鶏肉（対
照区）と比べてテクスチャー（「硬さ」，「舌での潰
れやすさ」および「飲み込みやすさ」）の評価が有
意に高くなった。一方，0.2%酵素処理鶏肉ではおい
しさの低下は認められなかった。

組織学的観察では，鶏肉の酵素処理によって筋細
胞の筋束から分離，結合組織の切断および消失が観
察され，これらのことが肉質を柔らかくする主要
因であると考えられた。また，この結果は官能評価
におけるテクスチャーの評価結果と一致した。一方，
鶏肉への酵素処理濃度の増加に伴い，筋内膜の切断

または消失が観察され，高濃度処理による過度の筋内膜の切断または破壊による軟化が官能評価におけるおいしさの低下の要因と考えられた。

以上の結果より，酵素処理による鶏肉の軟化と嗜好性には密接な関連があり，酵素処理時間を一定にした場合，酵素濃度が高すぎると過度の筋内膜消失が発生し，これにより，食肉のテクスチャーが低下することが著しく嗜好性が低下する原因となることが明らかとなった。

第 4 章 酵素処理した高齢者用魚肉ミンチの食味性，理化学的および組織学的特性の評価

第 1 節 緒言

健常な人にとって，食べ物の補足，咀嚼および嚥下という一連の動作は日常的であり，ほとんど意識せずに行っている。一方で，高齢になると，義歯の装着や舌の機能低下などにより，咀嚼機能のみならず，嚥下機能の低下が見られるようになる^{61, 62)}。そのため摂食機能が低下した高齢者にとっては，食べ物の補足から嚥下するまでの一連の過程において，食べ物のテクスチャーを意識せざるを得なくなる。また，このような高齢者では日常の食事内容が咀嚼・嚥下の容易なものに制限されるために，食肉や魚肉などの硬い食品の摂取が困難となり，それによるタンパク質の摂取の低下が栄養学的な問題となっている^{3) 63)}。食肉および食肉加工品は良質なタンパク質供給源であるが，特に加熱により硬くなり，咀嚼しにくくなる¹³⁾ため，現実には高齢者にとって食べにくい食品群となっている。本研究では第 3 章において，高齢者の生活の質（QOL）向上の観点から，摂食機能が低下した高齢者用の食肉の加工方法

として、タンパク質分解酵素（パパイン）による食肉の軟化に着目し、鶏肉ミンチを用いてテクスチャー、嗜好性および筋肉組織に及ぼす酵素処理の影響について検討した⁶⁴⁾。その結果、鶏肉ミンチの軟化、嗜好性および鶏肉組織の形態変化の間には密接な関連があり、酵素の処理濃度に比例して、筋内膜の崩壊が大きくなるために、処理鶏肉の嗜好性が著しく低下することを明らかにした。一方、食肉や魚肉などは、種類によって可食部の筋肉組織の形態やタンパク質の組成は大きく異なっている⁴⁸⁾。

そこで本章では、良質なタンパク質を供給し得る食肉として魚肉に着目した。魚肉は畜肉に比べて種類も多く季節性に富み、特有のおいしさがあることが知られている。特に魚肉の中でも白身魚は赤身魚に比べて筋肉中のヒスチジン含量が極めて少なく、モルガン菌などのヒスタミン生成菌が原因とされるヒスタミン生成⁶⁵⁾による中毒を起こしにくいため、高齢者食として望ましいと考えられている⁶⁶⁾。しかし、白身魚の肉は結合組織タンパク質として知られるコラーゲンが極めて多く、その肉質が赤身の魚と比べて非常に硬いことから、粉碎・軟化などの加工処理なしに高齢者に対して供給することは困

難であると考えられる。そこで，酵素（パパイン）を用いた白身魚の肉質と嗜好性の改良を目的として，白身魚の中でも特に硬い肉質とされるタイ肉を材料とし，ミンチ処理したタイ肉の酵素による軟化を試みるとともに，高齢者食に必要な食品物性および嗜好性を検討した。さらに，酵素処理の有無によるタイ肉中の旨味成分の変化およびタイ肉組織の構造変化についても検討を行い，それらの結果と嗜好性等との相関について追究した。

第 2 節 実験材料と方法

第 1 項 試料調製法

1-1 試薬

タンパク質分解酵素として，パパイン（食品用精製パパイン，ナガセ生化学工業株式会社）を使用した。グルタミン酸は和光純薬工業株式会社製を，ニンヒドリンは関東化学株式会社製を使用した。ヒポキサンチン（Hx），イノシン（HxR），イノシン 5' -1リン酸 2 ナトリウム（IMP）およびアデノシン 5' -1リン酸 1 水和物（AMP）は和光純薬工業株式会社から購入し，核酸関連化合物の標準物質として使用した。その他の試薬および溶媒は和光純薬から購入し

た特級品または HPLC 用を使用した。

1-2 タイ肉の酵素処理

供試タイ肉は福岡県産養殖マダイ (*Pagrus major* 約 1kg) の体側筋を電動式ミートチョッパー (MS-12, 南常鉄工, プレート目直径 3.2mm) で 1 回挽きしたミンチ肉を使用した。このタイミンチ肉 150g に対し, パインを 0.1%, 0.2% および 0.3% 添加し, 手で 20 回混ぜ合わせた後, 30g ずつケーシング (200mm×300mm, フィルム厚さ 90 μ m, クリロン化成株式会社) に入れ, 真空包装機 (VP-105F, 日本電熱) を用いて真空包装し, 0℃ で 24 時間酵素処理した。処理後, 95℃ の熱湯で試料中心温度 85℃ に達するまで加熱処理したものを酵素処理タイ肉試料とした。また, 酵素処理をしていないミンチ肉についても前記と同様の 0℃、24 時間の温度処理および加熱処理を行い, 対照区とした。

1-3 凍結乾燥試料の調製

タイ肉試料中の総遊離アミノ酸量および核酸関連化合物量を測定するために本項 1-2 で調製したタイ肉試料を凍結乾燥した。すなわち, 試料をアルミ

トレーに重ならないように並べ、NR-308FC型凍結装置（松下電器産業株式会社）で庫内温度 -30°C の条件で24時間予備凍結させた。凍結したタイ肉試料は、FREEZVAC-1S2M型真空乾燥機（東西通商株式会社、庫内寸法 $\phi 280\text{mm}\times 300\text{mm}$ 、除湿容量300 l）にアルミトレーごと入れ、真空度10 Pa、トラップ冷却温度 -50°C 、棚温度 -40°C の条件で24時間乾燥させた。乾燥後のタイ肉試料はファイバーミキサー（MX-X103、松下電器産業株式会社）を用いて粉末にした後に、測定まで -18°C で冷凍保存した。

第2項 実験方法

2-1 総遊離アミノ酸量の測定

総遊離アミノ酸量の定量は鈴木らの方法⁶⁸⁾に準拠して行った。すなわち、凍結乾燥試料1gについて75%エタノール30mlを用いて3回還流抽出(80°C 、30分間)し、抽出液を採取した。採取した抽出液の3回分を集め、75%エタノールを用いて全量100mlにした後、その1mlに0.1M酢酸緩衝液(pH5.0)500 μl 、2%ニンヒドリン水溶液500 μl を順に添加し、 100°C 、15分間反応させた。反応液を室温にもどした後、50%イソプロピルアルコール5mlを加えてよく攪拌し、

570 nm における吸光度を測定した。総遊離アミノ酸量は凍結乾燥前の試料 100g あたりのグルタミン酸相当量 (mg/100g 新鮮重) で表した。

2-2 硬さの測定

硬さの測定は、テンシプレッサー (TTP-50BX, タケモト電機) を用い、厚生労働省で定めた高齢者用食品の硬さの測定法²⁵⁾に準拠して行った。すなわち、直径 40 mm, 厚さ 15 mm の測定用セルで形成したものを直径 20 mm のプランジャーを用い、圧縮速度 10mm/sec, クリアランス 5mm, 測定温度 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の条件でタイ肉試料を圧縮し、得られた応力より硬さを算出した。1つの試料につき3回の繰り返し測定を行い、硬さの平均値と標準偏差値を算出した。

2-3 官能評価

パネルは、中村学園大学栄養科学部および大学院の学生 9 名 (平均年齢 22.6 歳) で構成した。官能評価は、酵素未処理 (対照区) および酵素処理 (0.1%, 0.2% および 0.3%) タイ肉試料の 4 種類を一度に提示し、対照区を 0 として、-2 から 2 までの 5 段階評点尺度法⁶⁷⁾を用いて、次に示す 4 項目について行

った。すなわち評価項目は①硬さ（硬い－柔らかい）、②舌での潰れやすさ（困難－容易）、③飲み込みやすさ（困難－容易）、④おいしさ（嫌い－好き）とした。

2-4 核酸関連化合物の定量

Hx, HxR, IMP および AMP の定量は, HPLC を用いた川崎らの方法⁶⁹⁾によって行った。すなわち, 本章第1節1-3で調製した凍結乾燥タイ肉 200mg に 100mM クエン酸緩衝液 (pH8.0) を加えて全容量 2ml とした後, セルロースアセテートフィルター (0.45 μ m) でろ過後, HPLC 分析に供した。分析に用いたカラムは Wakosil-II 5C18 (4.5mm I.D. \times 150mm, 和光純薬工業株式会社), 移動相は 100mM リン酸-トリエチルアンモニウム緩衝液 (pH6.8) : アセトニトリル = 100 : 1 (v/v), 流量は 1.0ml/min, カラム温度は 30 $^{\circ}$ C とした。核酸関連化合物量は凍結乾燥前の試料 100g あたりの量 (mg/100g 新鮮重) で表した。

2-5 組織学的観察

標本の作製には, 本章第1節1-3で記述した試料調製において, 0 $^{\circ}$ C, 24時間酵素処理後のタイ肉

ミンチについて加熱処理を行わずに使用した。この試料を 5 mm 角に切り出し，0.1M リン酸緩衝液で pH7.4 に調整した 4%ホルムアルデヒド（和光純薬株式会社）で 24 時間浸漬して固定した。次に，固定した試料を水洗し，エタノール系列で脱水およびキシレンで透徹後，パラフィンに包埋した。包埋後の試料からミクロトームで 6 μ m の切片を作成し，標本とした。作成した標本は脱パラフィンおよび水洗し，マイヤー・ヘマトキシリン（武藤化学株式会社）で 20 分間染色した後に水洗した。次に，1%エオシン Y 液（武藤化学株式会社）で 5 分間染色した後に軽く水洗し，エタノール系列において脱水，キシレンで透徹および封入後，光学顕微鏡（BH-2，オリンパス光学工業株式会社）を用いて観察を行った。

2-6 統計学的処理

試験結果は平均値±標準偏差で表した。結果の統計処理は Tukey の方法に基づいた多重比較により行い，危険率 1%未満（ $P < 0.01$ ）または 5%未満（ $P < 0.05$ ）の場合を有意と判定した。

第 3 節 結果と考察

第 1 項 酵素処理タイ肉のアミノ酸含量

パパイン（0.1%、0.2%および0.3%）を用いた酵素処理がタイ肉のタンパク質分解に与える影響を調べる目的で、タイ肉試料中のアミノ酸量を測定した。Fig. 4-1 に酵素処理前（対照区）および処理後のタイ肉試料中の総アミノ酸量を示した。酵素添加後、0℃で24時間保蔵したタイ肉の総アミノ酸量は対照区と比較して、いずれの酵素処理タイ肉についても有意な増加を示した（ $P < 0.01$ ）。また、酵素処理タイ肉中の総アミノ酸量は酵素濃度に伴って増加し、各酵素処理タイ肉間について有意差を示した（ $P < 0.01$ ）。従って、酵素処理温度が0℃であっても24時間保蔵によって酵素によるタイ肉のタンパク質分解が進行し、酵素濃度が0.1%以上でタイ肉の柔らかさに影響を与えることが明らかとなった。

第 2 項 酵素処理タイ肉の硬さの測定

Fig. 4-2 に酵素未処理タイ肉試料（対照区）および酵素処理（パパイン濃度：0.1%、0.2%および0.3%）タイ肉試料について、それらの硬さをテンシプレッサーで測定した結果を示した。すべての酵素処理タ

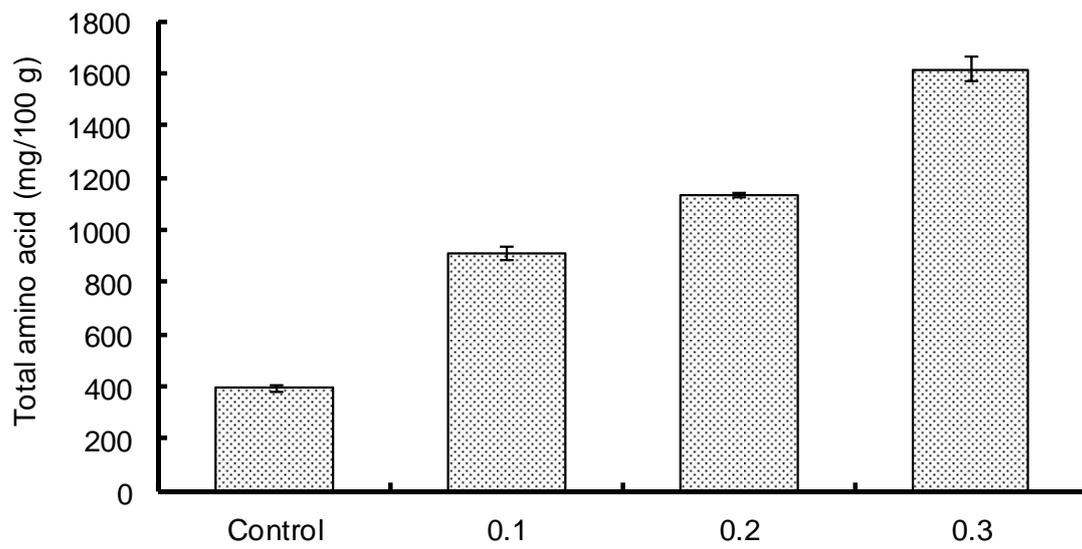


Figure 4-1 Effect of papain concentration on total amino acid contents of fish meat.

Different letters are significantly different ($P < 0.01$).

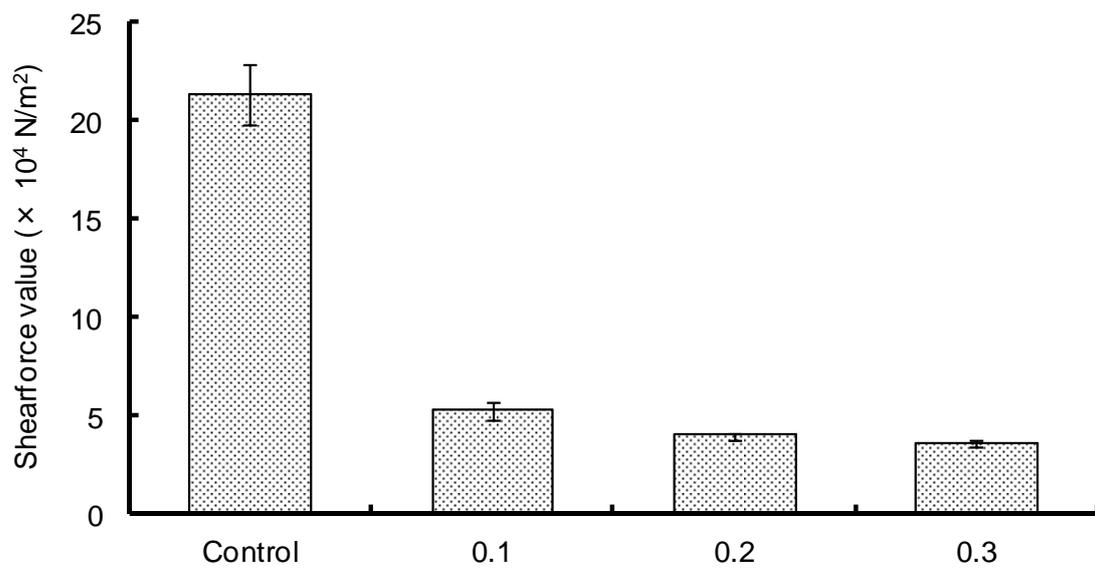


Figure 4-2 Shear force value of fish meat with papain treated.

Different letters are significantly different ($P < 0.05$).

イ肉の硬さは酵素濃度に伴って減少し，特に 0.2% および 0.3% 酵素処理タイ肉は，0.1% 酵素処理タイ肉と比べても有意な減少を示した ($P < 0.05$)。以上のことから，本法におけるタイ肉の酵素処理では，酵素濃度が 0.1% 以上でタイ肉の硬さの著しい減少が示された。

第 3 項 酵素処理タイ肉の官能評価

パイイン (0.1%，0.2% および 0.3%) を用いた酵素処理タイ肉試料における官能評価結果を Fig. 4-3 に示した。硬さの項目について，いずれの酵素濃度においても酵素処理前タイ肉試料 (対照区，評点 0) と比較して，柔らかいと評価された。また，0.2% および 0.3% 酵素処理タイ肉は，0.1% 酵素処理タイ肉と比べてそれぞれ有意に柔らかいと判断された ($P < 0.05$)。これらの結果はテンシプレッサーによる硬さ評価の結果とほぼ同様であり，官能的にも酵素濃度が 0.2% および 0.3% で十分な柔らかさが得られることが示された。舌での潰れやすさの項目について，酵素処理タイ肉は酵素濃度に伴って舌で潰れやすいと評価され，0.3% 酵素処理タイ肉では 0.1% および 0.2% 酵素処理タイ肉と比べて有意差が認められた

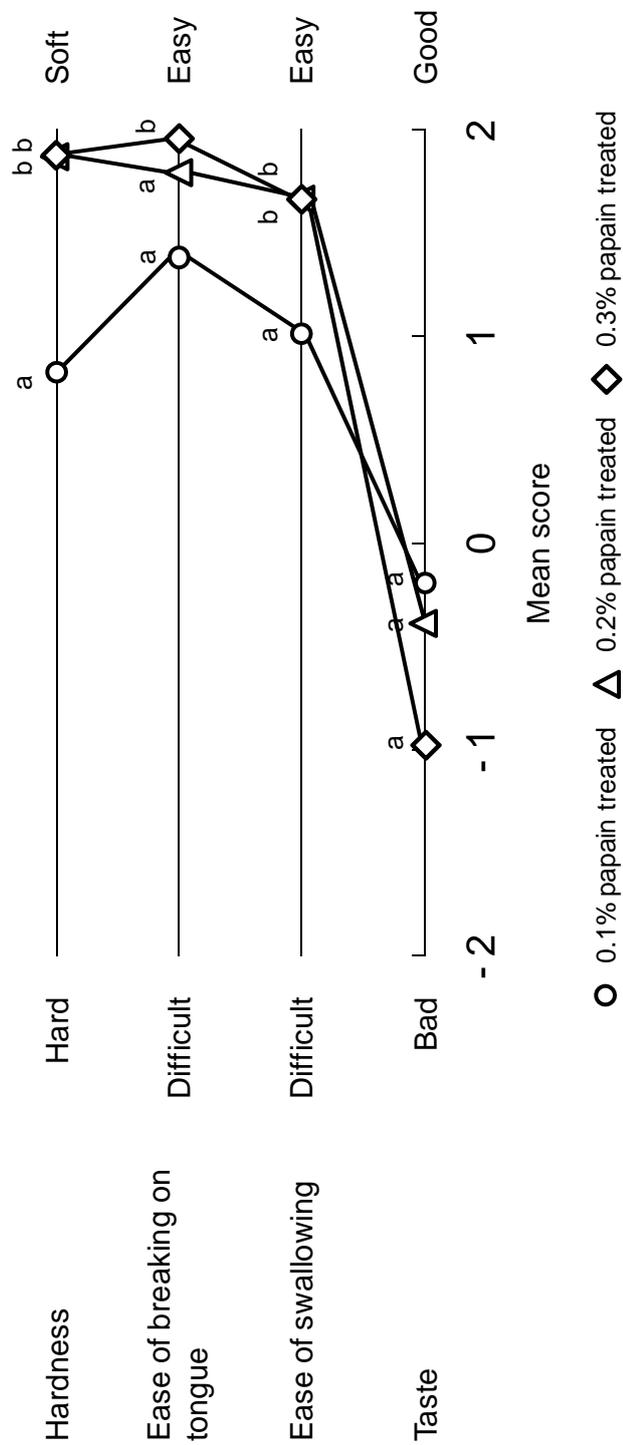


Figure 4-3 Effect of papain concentration on texture and palatability of fish meat.

Seven panel members rated for parameters of fish meat with papain treated (0.1, 0.2, and 0.3%) on a 5-point scale (from -2 to 2) compared to that of the fish meat without papain treated as control (score 0). Different letters are significantly different ($P < 0.05$).

($P < 0.05$)。同様に飲み込みやすさの項目についても、酵素処理タイ肉は酵素濃度に伴って飲み込みやすいと評価され、0.2%および0.3%酵素処理タイ肉は0.1%酵素処理タイ肉と比べてそれぞれ有意差が認められた($P < 0.05$)。これらの結果より、酵素処理タイ肉の硬さ、舌での潰れやすさおよび飲み込みやすさには大きな関連性があり、特に酵素濃度が0.2%および0.3%において好ましいことが示唆された。一方で、おいしさの項目では、酵素の濃度に伴って好まれない傾向を示し、有意差は認めなかったものの0.3%酵素処理タイ肉は、0.1%および0.2%酵素処理タイ肉と比べて好まれない結果となった。通常、加工食品の嗜好性は、弾力性および結着性の高さと関連があると考えられる⁷⁰⁾が、本試験の結果においても、酵素処理によるタイ肉の軟化が進むほど嗜好性が低下する傾向が示された。しかし、0.2%および0.3%酵素処理タイ肉では柔らかさが同程度にも係わらず、おいしさの項目では一定の官能評価点差を示したことから、酵素処理タイ肉のおいしさの要因は、硬さのみならず呈味に関する成分量の差であると推測された。

第 4 項 酵素処理がタイ肉中の核酸関連化合物量に与える影響

酵素未処理前タイ肉試料（対照区）および酵素処理（パイン濃度：0.1%，0.2%および0.3%）タイ肉試料中の核酸関連化合物（Hx，HxR，IMPおよびAMP）量を Table. 4-1 に示した。Hx は酵素濃度に伴って増加し，特に0.3%酵素処理タイ肉では，対照区と比べて有意な増加を認めた（ $P < 0.01$ ）。また，HxR 量を対照区と比べた場合，0.1%および0.2%酵素処理タイ肉では有意な変化を示さなかったが，0.3%酵素処理タイ肉のみに有意な増加が認められた（ $P < 0.01$ ）。一方で IMP 量は，いずれの試料も 8.2～8.8mg/100g でほぼ同じであったが，AMP 量は酵素濃度に伴って減少し，いずれの酵素処理タイ肉試料も対照区と比べて有意に少なく（ $P < 0.01$ ），さらに0.3%酵素処理タイ肉は，0.1%および0.2%酵素処理タイ肉と比べても有意に少ない値を示した（ $P < 0.01$ ）。一般に，動物の筋肉には多量の ATP が含まれているが，死後にその量が減少し，やがて消失することが知られている。この場合，食肉中の ATP の分解に伴って旨味（AMP および IMP）および苦味（HxR および Hx）に

Table 4-1 Purine nucleotides of fish meat with and without papain treated.

Test compound	Purine nucleotides (mg/100 g)			
	Hx	HxR	IMP	AMP
Control	28.3 ± 0.7 ^a	485.2 ± 9.8 ^a	8.7 ± 0.3 ^a	21.7 ± 0.7 ^a
0.1% Papain treated	31.3 ± 2.2 ^{ab}	501.6 ± 23.4 ^{ab}	8.5 ± 0.5 ^a	12.8 ± 0.9 ^b
0.2% Papain treated	31.7 ± 1.2 ^{ab}	488.4 ± 14.3 ^{ac}	8.2 ± 0.3 ^a	12.2 ± 0.4 ^b
0.3% Papain treated	33.3 ± 0.4 ^b	542.1 ± 3.4 ^b	8.8 ± 0.2 ^a	8.1 ± 0.1 ^c

Hx : hypoxanthine, HxR : inosine, IMP : inosine 5'-monophosphate, AMP : adenosine 5'-monophosphate.
 Different letters are significantly different ($P < 0.01$).

関与する核酸関連化合物が生成し，各化合物の生成量は食肉の加工状態や貯蔵状態などの諸条件によって影響を受ける⁷¹⁾が，特に魚肉の場合では，畜肉と比べても筋肉中の内因性プロテアーゼの作用を受けやすいことも諸条件として挙げられる⁷²⁾。本研究においても，パパインによるタイ肉の処理がタイ肉中の核酸関連化合物量に影響を及ぼし，また酵素濃度に伴って核酸関連化合物の分解が進行することを確認した。上記の結果より，官能評価におけるおいしさの項目について 0.3%酵素処理タイ肉が，0.1%および 0.2%酵素処理タイ肉と比べて好まれなかった理由は，うま味成分の AMP 量および苦み成分の Hx および HxR 量に由来すると考えられた。

以上のことから，タイ肉加工法において，酵素処理タイ肉のテクスチャーおよびおいしさを勘案すると，タイ肉に対して 0.2%パパイン添加後，0℃で 24 時間の保蔵処理が，口腔機能が低下した高齢者への食肉としてのタイ肉質および嗜好性を改良する可能性があることが示唆された。

第 5 項 酵素処理タイ肉の組織学的観察

Fig. 4-4 に酵素未処理タイ肉試料（対照区）およ

び酵素処理（パパイン濃度：0.1%，0.2%および0.3%）タイ肉試料の筋組織写真（筋組織，赤色；結合組織，白色）を示した。通常，食用とされる魚肉は骨格筋であり，筋組織は筋原線維が集まってできた筋線維の束（筋束）で構成されている。体側筋ではこの束が集まって直線的に走行していることが知られている⁷³⁾が，対照区（A）の筋原線維では屈曲している部分が多く観察された。これはミンチ処理による筋束の物理的な破断が原因と考えられた。しかし，タイ肉のテクスチャーを決定している結合組織については筋組織をしっかりと他の組織と境界している様子が観察された。従って，タイ肉においてミンチ処理のみでは組織の崩壊に起因するテクスチャーの低下は十分に起こっていないものと考えられた。

一方，0.1%酵素処理タイ肉試料（B）においては，対照区の筋束と比べて屈曲している部分の程度が大きくなり，また筋組織と結合組織の境界についても部分的な消失が観察された。この現象には酵素による一部のコラーゲン線維の分解が寄与していると考えられ，この分解によりテンシプレッサー測定および官能評価結果に示されたタイ肉の硬さの低

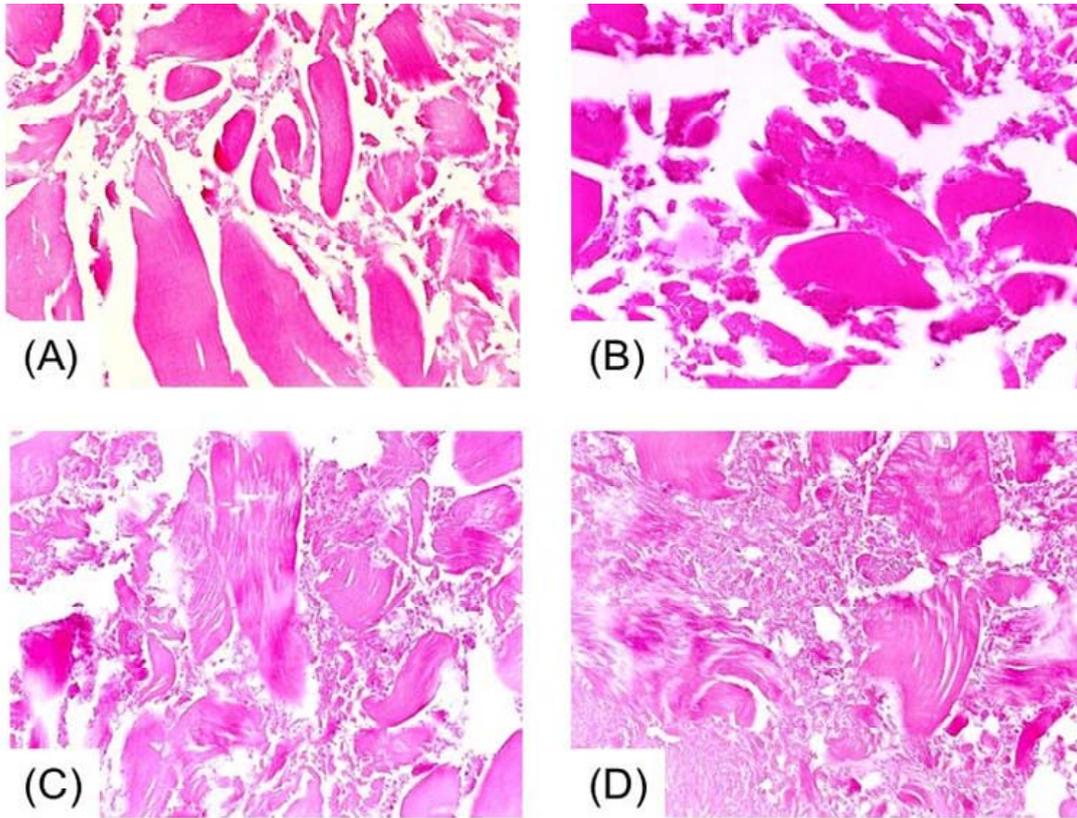


Figure 4-4 Optical micrographs of fish meat before and after papain treated.

- (A) before papain treated
- (B) after 0.1% papain treated
- (C) after 0.2% papain treated
- (D) after 0.3% papain treated

下が生じたものと推測された。また，0.2%酵素処理タイ肉試料（C）においては酵素によるコラーゲン線維の分解がさらに進行し，多くの結合組織が分解され，また筋組織を構成する筋束には部分的ではあるが消失していることが認められた。さらに，0.3%酵素処理タイ肉試料（D）では完全に結合組織が消失しており，筋組織中の筋原線維や筋形質などは完全に消失または小片化し，コロイド状に混在している様子が観察された。すなわち，酵素処理濃度の増加に伴う筋肉組織の顕著な崩壊により，Fig. 4-1にみられる酵素処理試料中の遊離アミノ酸量の顕著な増加につながったことが示唆された。また，食肉の筋細胞やそれを囲む結合組織の分解が進行するにつれて，処理中に呈味性に関与する成分が放出され，それら食肉のおいしさに大きく寄与することが報告されている⁷⁴⁾。従って，0.3%酵素処理タイ肉試料ではFig. 4-4（D）にみられるように筋細胞および結合組織がほとんど消失し，苦味を伴う核酸関連物が多量に放出されることにより，官能評価において最もおいしさを低下させたと考えられた。

以上，本章の実験結果を総合的に考察すると，タイ肉ミンチに0.2%パパインをを用いて，0℃で24時間

処理することにより，タイ肉中の結合組織をある程度保持した状態のまま苦味を伴う核酸関連物質の生成を最小限に抑えることができ，咀嚼・嚥下困難な高齢者に適した軟らかく，おいしいタイ肉を提供することが可能であると考えられた。

第 4 節 小括

日本人にとってなじみ深く，高齢者にも食肉として好適であるといわれているタイ肉について，特に口腔機能が低下した高齢者向けの食材に改良することを目的とし，タンパク質分解酵素であるパインを用いた軟化を試み，酵素処理タイ肉の有する高齢者食として必要な食品物性とおいしさの関連性について追究した。

0.1%，0.2%および0.3%の酵素濃度では，0℃であっても，24時間酵素処理することによってタイ肉のタンパク質分解が進行し，タイ肉が軟化することが認められた。また，タイ肉の硬さは酵素濃度に伴って減少し，0.2%および0.3%酵素処理タイ肉は0.1%酵素処理タイ肉と比べても有意な減少を示した。さらに，酵素処理によるタイ肉の軟化が進むほどおいしさに関する嗜好性が低下する傾向にあった。0.2%

および 0.3%酵素処理タイ肉の間では柔らかさが同程度にもかかわらず，おいしさの項目では官能評価の結果に違いが認められた。また，酵素処理により，タイ肉中の呈味性に関与する核酸関連化合物の分解がみられた。さらに，酵素濃度の増加に伴って核酸関連化合物の分解が進み，0.3%酵素処理タイ肉において最も苦味成分（ H_X および H_XR ）が増加することが認められた。組織学的観察から，酵素処理により筋組織および結合組織の分解の程度が大きくなり，このことが魚肉の軟化およびおいしさに大きく寄与することが推察された。

以上の結果より，タンパク質分解酵素を用いた高齢者用のタイ肉加工法において，酵素処理タイ肉のテクスチャーおよびおいしさを勘案すると，タイ肉に対して0.2%パイン添加後，0℃で24時間保蔵することにより，口腔機能が低下した高齢者へ肉質および嗜好性を改良したタイ肉食材を提供できることが示唆された。

第 5 章 総括

日本では高齢者人口の急速な増加と共に高齢者の健康を維持・管理する高齢者医療も急速に進展している。しかしながら、高齢者医療の発達に伴って咀嚼・嚥下困難者も増加して、経口による食物摂取量の不足から、新たに栄養上の問題がクローズアップされてきている。現在、栄養不足を補うための高齢者用の食品として、種々の流動食が開発・供給されている。しかし、食肉や魚肉等のタンパク質食品の流動食では、本来の経口摂取での咀嚼という動作がなく、高齢者にとっては食品本来のおいしさを味わえなくなっている。

本研究の最終的な目的は咀嚼・嚥下困難な高齢者において、タンパク質食品である食肉や魚肉をおいしく経口摂取できるように、酵素処理により肉質の改良を図るとともに、そのおいしさについても官能的に評価し、高齢者用の新しいタンパク質食材を開発・供給することにある。一方、高齢者においては咀嚼・嚥下機能の低下だけでなく、ヒトの食欲をもたらす味覚の識別機能も低下することも考えられる。しかし、加齢による味覚の識別機能に関しては

ほとんど報告されていない。そこで第2章では、まず高齢者の味覚感受性から推察される高齢者食の嗜好性を検証することを目的とし、5基本味（甘味、塩味、酸味、苦味、うま味）の味質について、前期高齢期の高齢者（高齢群）と生産年齢期の中高年者（生産年齢群）における味覚識別試験および高齢群の属性との関係について検討を行った。5基本味の識別試験において、高齢群の塩味、酸味およびうま味の識別率は、生産年齢群に比べて低い値を示した。特に、酸味およびうま味の識別率の低下は顕著であり、生産年齢群と比べて50%以上の低下を示した。また、提示した味質に対して高齢群が認識した各味質の割合は、酸味のみが生産年齢群と比べて、有意に異なる割合を示した。さらに、識別能が低下した酸味に着目し、高齢群を対象として酸味の識別能と被験者の属性（性別、健康状態、義歯の有無および好みの味付け）との関係を検討した。性別と酸味識別能の関連について正しい識別率は、男性に比べて女性が高かった。健康状態と酸味識別能の関連について正しい識別率は、「非常に健康」で33.3%、「まあまあ健康」で40.0%であったが、「あまり健康でない」と回答した高齢群では、識別できる被験者は

いなかった。義歯の有無と酸味識別能の関連について正しい識別率は、「部分義歯」で最も高い値（54.5%）を示し、「全部自分の歯」は14.3%であり、「すべて義歯」では識別できる被験者はいなかった。好みの味付けと酸味識別能の関連について正しい識別率は、「普通」で最も高く、次いで「少し薄い味」、「少し濃い味」と続いた。

以上の結果から、高齢者食の加工において、酸味およびうま味の強調は、高齢者の低下した味覚を補い、嗜好性の向上のみならず、嚥下誘発の観点からも非常に有効であることが示唆された。

第3章では、口腔機能が低下した高齢者への食肉として最適な鶏肉の肉質の改良を目的とし、濃度の異なるパイインを用いてミンチ処理鶏肉の軟化を試み、高齢者食に必要な食品物性とおいしさの関連性について、官能評価および鶏肉の組織化学的観察から検討を行った。すなわち、鶏肉に酵素を0.1、0.2および0.3%の濃度で、0℃、24時間作用させたところ、酵素処理濃度の増加に伴い、処理鶏肉の柔らかさ、舌での潰れやすさ、飲み込みやすさ等のテクスチャーの官能評価値は増加したが、おいしさについての評価値は減少する傾向を示した。さらに、

組織学的変化においては酵素処理によって、タンパク線維の筋束からの分離，結合組織からの切断および消失が観察され，特に，0.3%酵素処理区では筋内膜の切断または消失が認められた。このように，パイン処理による鶏肉の軟化と嗜好性には密接な関連があり，酵素処理時間を一定にした場合，酵素濃度が高すぎると過度の筋内膜消失が発生し，おいしさに関する嗜好性が著しく低下することが組織学的観察および官能検査の結果から明らかとなった。したがって，高齢者に活用する鶏肉の軟化にパインを使用する場合，適切な酵素濃度と処理時間を設定し，適度な軟らかさを得ることが処理鶏肉の嗜好性の維持のために必要であることが示唆された。すなわち，本研究の濃度範囲では，鶏肉を0.2%酵素処理することによって酵素未処理区と比べ，有意なテクスチャーの好ましい変化を示したこと，さらに，この酵素濃度の処理区においておいしさに関する評価値の低下は明らかに小さかったことから，0.2%酵素処理が咀嚼・嚥下困難高齢者用食品として適していることが示唆された。

第4章では，口腔機能が低下した高齢者への魚肉として最適なタイの肉質の改良を目的とし，第3章

に示した鶏肉と同様に，濃度の異なるパパインを用いてミンチ処理タイ肉の軟化を試み，咀嚼・嚥下機能が低下した高齢者食として必要な食品物性とおいしさの関連性について検討を行った。

その結果，硬さは供試したすべての酵素濃度において減少し，0.2%および0.3%酵素処理区では0.1%酵素処理区と比べて1%レベルで有意な減少を示した。しかし，組織学的観察から0.3%酵素処理区では組織の崩壊が著しく，硬さにおいて柔らかすぎるとの評価を受けたものと考えられた。また，0.3%酵素処理区においては0.2%酵素処理区と比べて，おいしさに関する官能評価値は低い結果を示した。これは前述した0.3%酵素処理区における著しい組織の崩壊とHPLC分析の結果から明らかのように，苦味に関与する核酸関連物質が同時に多量に生成したため，おいしさに関する評価点が最も低くなったものと考えられた。従って，酵素処理によるタイ肉の筋組織および結合組織の分解の程度が，魚肉の軟化および嗜好性に大きく寄与することが示唆された。

以上，本研究の結果から明らかのように，鶏肉およびタイ肉を0.2%の酵素（パパイン）濃度で0℃，

24時間処理することにより，咀嚼・嚥下機能が低下した高齢者食として，これまでの流動食とは異なり，適度な硬さ，飲み込みやすさを有し，しかもおいしさを向上させた新しいタイプのタンパク質食品が供給可能であると考えられた。

謝 辞

本研究の遂行および論文の作成にあたり、終始懇篤なるご指導、ご鞭撻を賜りました琉球大学農学部
の和田浩二教授、中村学園大学短期大学部の藤田修
二教授（佐賀大学名誉教授）、琉球大学農学部の高
橋誠博士に深甚の謝意を表します。

本論文のご校閲の労をお取り下さいました鹿児
島大学農学部の杉元康志教授、佐賀大学農学部の林
信行教授、琉球大学農学部の玉城一准教授、琉球大
学農学部の高良健作准教授に深く感謝いたします。

本研究の遂行にあたり共同研究者として多大な
ご協力を頂きました中村学園大学短期大学部の松
隈紀生教授、中村学園大学栄養科学部の藤田守教授、
太田英明教授に深く感謝いたします。

本研究のアンケート調査の実施にあたり多大な
ご協力を頂きました福岡県糟屋郡志免町役場健康
福祉課の小林はつみ氏、社会教育課の川津政文課長、
食生活改善推進協議会の矢野智佳子会長に謝意を
表します。

本研究の官能評価試験にご協力頂きました中村
学園大学栄養科学部および短期大学部食物栄養学

科の学生に，心よりお礼申し上げます。

Summary

In recent years, maintaining high quality lifestyle through healthy dietary habits as well as preventing ailments has become a major concern among the elderly in Japan. As one of the dietary habits, “eating behavior” is considered essential for maintaining a healthy body. However, the elderly has poor eating behaviors due to their weakened sense of taste, and poor chewing and swallowing abilities, which can cause serious health issues such as protein deficiency. In this study, the taste sensation functions in elderly were surveyed, and optimal tastes for consumption were then verified. Furthermore, the quality improvement of chicken and fish (sea bream) meats by a proteolytic enzyme (papain) for the elderly with chewing and swallowing difficulties were examined.

First, an identification test for the 5 basic tastes (sweet, sour, salty, bitter tastes and umami) was conducted in working-age and young-old participants. It was observed that young-old people have considerably lower sense of sour taste than

working-age people. Thus, sour taste was considered as an important factor in determining the taste perception in young-old people.

A sensory evaluation was then performed using minced chicken meat (MCM) treated with a proteolytic enzyme (0°C for 24 h). The results revealed that the meat texture (toughness, ease of crushing by tongue, and ease of swallowing) was improved with increasing enzyme concentration up to 0.5%, but it might lower the meat palatability. Furthermore, significantly improved meat texture ($P < 0.05$) with little changes on palatability was observed at the 0.2% enzyme-treated MCM, comparing to that of non-treated MCM. As for the minced fish meat (MFM), the texture was improved with increasing enzyme concentration, while the palatability was decreased, similar to that in MFM. The content of contributing umami and bitter tasting substances such as nucleic acids in MFM with different enzyme concentration treatments was evaluated. The content of umami taste-related substances was found to significantly decrease in MFM with 0.3% enzyme treatment

compared with those on 0.1% and 0.2% enzyme treatments ($P < 0.01$). On the other hand, the content of bitter taste-related substances significantly increased ($P < 0.01$) than in non-treated MFM. Thus, the changes in nucleic acid-related substances by enzyme treatments were considered to be an important factor responsible for the palatability of MFM.

Structural changes in the muscular tissues of MCM and MFM were examined under an optical microscope histologically. The proteolytic enzyme induced the progression of collagen fiber and connective tissue degradations. In addition, complete disappearance of connective tissues was observed in the meat with 0.3% enzyme treatment. These findings indicated that the extent of degradation of the muscle and connective tissues greatly contributes to the toughness and palatability of MCM and MFM.

The results revealed that MCM and MFM treated with 0.2% enzyme have appropriate texture and palatability, and can be consumed as a protein-based food by elderly with chewing and swallowing difficulties.

文献

- 1) 大山健 . 高齢者における栄養管理のポイント , 日本外科学会誌 , **111**, 353-357(2010).
- 2) 齋藤真由 . 咀嚼・嚥下障害に関する研究 , 日本調理科学会誌 , **43**, 281-285(2010).
- 3) 金子芳洋 , 向井美恵 . 摂食・嚥下障害の評価と食指導 , 医師約出版株式会社 , 東京 , pp.3-4(2008).
- 4) 総務省 . 世界人口・年齢構成の推移(1950～2050年) 東京 . <http://www.stat.go.jp/data/sekai/02.htm> (2011).
- 5) 藤島一郎 , 清水一男 . 口から食べる嚥下障害(Q&A). 中央法規出版 , 東京 , pp.20-25(2005).
- 6) 増成隆士 , 川端晶子 . 美味学 , 建帛社 , 東京 , pp.1-3 (1997).
- 7) 日本フードスペシャリスト協会編 . 三訂フードスペシャリスト論 . 建帛社 , 東京 , pp.29-30(2010).
- 8) 山本隆 . 美味の構造 . 講談社 , p.197(2001).
- 9) 渡邊早苗 , 寺本房子 , 田中明 , 工藤秀機 , 柳沢幸江 , 松田康子 , 高橋啓子 . 高齢期の疾患と栄養食事療法 . 建帛社 , 東京 , pp.12-15(2009).

- 10) 「電化厨房フォーラム 21」 医療・福祉部会,嚥下メニューレシピ集作成成分科会.真空調理法と電化厨房で作る嚥下食メニューレシピ集.生活デザイン研究所,東京,p.9(2007).
- 11) 葛谷雅文.高齢者の栄養評価と低栄養の対策.日本老年学会誌,40,199-203(2003).
- 12) 葛谷雅文,大西武丈二,井口昭久.高齢者医療の現状における低栄養ならびに栄養管理の認知度の調査,日本臨床栄養学会雑誌,26,235-238(2005).
- 13) 高橋智子,川野亜紀,飯田文子,鈴木美紀,和田佳子,大越ひろ.食べ易い食肉の力学特性咀嚼運動.日本家政学会誌.54,357-364(2003).
- 14) 大山健.高齢者における栄養管理のポイント.日本外科学会誌,111,353-357(2010).
- 15) 齋藤真由.咀嚼・嚥下障害に関する研究,日本調理科学会誌,43,281-285(2010).
- 16) 金子芳洋,向井美恵.摂食・嚥下障害の評価と食指導,医師約出版株式会社,東京,pp.3-4(2008).
- 17) 大和田国夫,田中平三,伊東正明,政田喜代子.日本衛生学雑誌,27,245-247(1972).
- 18) 川村洋二郎.味覚の生理学.I 味覚生理学概論,調理科学,18,237-243(1985).

- 19) 田口田鶴子, 岡本洋子. 老年期の人々の甘・酸・塩味に対する嗜好傾向と味覚閾値. 日本家政学会誌, **41**, 509-516(1990).
- 20) 木村修一, 足立己幸. 「食塩」減塩から適塩へ, 女子栄養大出版部, 東京, p.194(1981).
- 21) 畑江敬子. 高齢者の口腔内状態とテクスチャーの嗜好. 日本栄養・食糧学会誌, **58**, 157-160(2005).
- 22) Weiffenbach, J.M., Baum, B.J. and Burghauer, R. Quality specific variation with human aging, *The Journals of Gerontology*, **37**, 372-377 (1982).
- 23) Bartoshuk, L.M., Rifkin, B., Marks, L.E. and Bars, P. Taste and aging, *The Journals of Gerontology*, **41**, 51-57 (1986).
- 24) 古川秀子, 上田玲子. 続おいしさを測る－食品開発と官能評価－幸書房, 東京, pp.177-178(2012).
- 25) 和田国夫. 加齢にともなう感受性変動に関する研究, 日本衛生学雑誌, **27**, 243-247(1972).
- 26) 松田十四, 植田恭弘, 伊藤昌彦, 児玉将隆, 板谷雅恵. 老年者の味覚, 口腔違和感に関する調査, 耳鼻咽喉科臨床, **52**, 124-134(1991).
- 27) 蓑原美奈恵. 看護学における味覚の研究, 看護研究, **26**, 13-24(1993).

- 28)吉川洋子,吾郷美奈恵.高齢者の味覚識別能と日常生活習慣,島根県立看護短期大学紀要,**5**,95-100 (2000).
- 29)Pelchat, M. and LaChaussee, J.K. Food cravings and taste aversions in the elderly, *Appetite*, **23**. 193 (1994).
- 30)桂木能久.苦味阻害剤,表面化学,**21**,376-381 (2000).
- 31)三橋富子,戸田貞子,畑江敬子.高齢者の味覚感受性と食品嗜好,日本調理化学会誌,**41**,241-247 (2008).
- 32)河野雄平.高血圧管理における食塩制限の必要性和減塩目標,日本循環器病予防学会誌,**42**,103-107 (2007).
- 33)Cooper, R.M., Bialash, I. and Zubek, J.P. The effect of age on taste sensitivity, *The Journals of Gerontology*, **14**, 56-58 (1959).
- 34)山田好秋,高辻華子,北川純一,山村健介.嚥下誘発と味覚・うま味の関連,日本味と匂学会誌,**17**, 127-132(2010).
- 35)Kitagawa, J., Nakagawa, K., Hasegawa. M., Iwakami, T., Shingai, T., Yamada, Y. and Iwata, K.

- Facilitation of reflex swallows from the pharynx and larynx, *Journal of Oral Science*, **51**, 167-171 (2009).
- 36)河村洋二郎.食欲と味覚,日本咀嚼学会雑誌,**6**, 17-26(1996).
- 37)檜崎有季子,堀尾強.高齢者の味覚に関する研究,栄養学雑誌,**64**,339-343(2006).
- 38)船越正也.老年者の口腔の生理的变化,歯科ジャーナル,**10**,427-434(1979).
- 39)Duffy, V.B., Peterson, J.M. and Bartoshuk, L.M. Oral sensation and alcohol intake, *Physiology & Behavior*, **82**, 435-445 (2004).
- 40)Sato, K., Endo, S. and Tomita, H. Sensitivity of three loci on the tongue and soft palate to four basic tastes in smokers and non-smokers, *Acta Oto-Laryngologica Supplementum*, **546**, 74-82 (2002).
- 41)根来篤,阪上雅史.長期薬物治療に伴う味覚異常,総合臨床,**53**,2708-2712(2004).
- 42)Mojet, J., Christ-Hazelhof, E. and Heidema, J. Generic or specific losses in supra-threshold intensities of five taste qualities?, *Chemical Senses*, **26**, 845-860 (2003).

- 43) Cowart, B.J., Yokomukai, Y. and Beauchamp, G.K.
Bitter taste in aging: compound-specific decline in
sensitivity, *Physiology & Behavior*, **56**, 1237-1241
(1994).
- 44) 鈴木正成 .健康づくり－その食べ方と生き方－,
健康医学,**8**,26-3 (1994).
- 45) 葛谷雅文 .高齢者の栄養 ,老年歯科医学 ,*Japanese
Journal of gerodontology*, **20**,119-123(2005).
- 46) 韓順子 ,柳沢幸江 ,村田安代 ,寺元芳子 .鶏肉の加熱
方法に関する研究 ,日本家政学会誌 ,**40**,
1057-1064(1989).
- 47) 高橋郁子 ,柳沢幸江 ,村田安代 ,寺元芳子 .加熱方法
の違いによる鶏肉の物性・成分・食味に及ぼす影
響 ,日本家政学会誌 ,**44**,307-314(1989).
- 48) 藤田尚男 ,藤田恒夫 .標準組織学総論 (医学書院 ,
東京) ,pp.212-225(1988).
- 49) 中西洋子 ,成瀬明子 ,梶田武俊 .高度に精製したキ
ウイフルーツプロテアーゼ (アクチニジン) の自
己消化に及ぼす温度の影響 ,日本家政学会誌 ,
45,609～614(1994).
- 50) 鮫島邦彦 ,崔一信 ,石下真人 ,早川忠昭 .アクチニジ
ン (キウイフルーツタンパク質分解酵素) による

- 筋肉構成タンパク質の分解,日本食品工業学会誌,**38**,817~821(1991).
- 51)堤ちはる,三好恵子,谷武子,仙北谷至乃,殿塚婦美子,永弘悦子,河野聡子,吉中哲子.キウイフルーツの豚肉軟化効果について,日本家政学会誌,**45**,603-607(1994).
- 52)大越ひろ,神宮英夫.食の官能評価入門,光生館,(2009).
- 53)厚生省保健医療局地域保健・健康増進栄養課,生活習慣病対策室監修:栄養調理六法 11年版,高齢者用食品の試験法,p.286(1998).
- 54)神山かおる.テクスチャー解析によるおいしさの評価,化学と生物,**47**,133~137(2009).
- 55)宅見央子,中村弘康,白石浩荘,米谷俊:高齢者用菓子類の食感に求められる要素,栄養学雑誌,**68**,131-140(2010).
- 56)Locker, R. H. Degree of muscular contraction as a factor in tenderness of beef, *Journal of Food Science*, **25**, 304-307 (1960).
- 57)Marsh, B. B. and Leet, N.G. Studies in meat tenderness. III. The effects of cold shortening on tenderness, *Journal of Food Science*, **31**, 450-459

- (1966).
- 58) Kominz, D.R., Mitchell, E.R., Nihei, T. and Kay, C. M. The Papain Digestion of Skeletal Myosin A, *Biochemistry*, 4, 2373-2382 (1965).
- 59) 沖谷明紘.肉の食味,日本食生活学会誌,17,94-99 (2006).
- 60) 西川一朗.精製アクチニンによる筋原線維タンパク質分解酵素のpH依存性,日本家政学会誌,52,1083-1089(2001).
- 61) Mioche, L., Bourdiol, P., Monier, S., Martin, J.F. and Cormier, D. Changes in jaw muscles activity with age effects on food bolus properties, *Physiology & Behavior*, 82, 621-627 (2004).
- 62) Van der, Bilt. A., Engelen, L. Pereira, L.J.; van der, Glas, H.W.; Abbink, J.H. Oral physiology and mastication, *Physiology & Behavior*, 89, 22-27 (2006).
- 63) 杉山みち子,清水瑠美子,若木陽子,中本典子,小山和作,三橋扶佐子,小山秀夫.高齢者の栄養状態の実態.栄養-評価と治療,17,553-562(2000).
- 64) 松隈美紀,高橋誠,藤田守,松隈紀生,藤田修二,和田浩二.鶏肉のテクスチャーおよび嗜好性に及ぼす

- パイン処理の影響.日本食品保蔵学会誌, **39**,
3-8(2013).
- 65)外山健三,奥積昌世,横井孝成,青江弘.フィッシュ
ミールのヒスタミン含量について.日本水産学会
誌, **47**,415-419(1981).
- 66)畑江敬子.魚介類のテクスチャーに関する研究.
日本水産学会誌, **60**,317-321(1994).
- 67)菅原龍幸,福澤美喜男.食品の官能評価・鑑別演習,
日本フードスペシャリスト協会編東京, 日本フー
ドスペシャリスト協会, p.29-30(2001)
- 68)鈴木忠直,アミノ酸定量法「新・食品分析」,日本
食品工業学会食品分析編集委員会,東京,光琳,
p.501-504(1996).
- 69)川崎賢一,船津保浩,伊藤祐佳子,本江薫,鍋島弘明.
スケトウダラ調味乾製品の呈味成分含量に及ぼす
調味液中のソルビトールとスクロースの影響.日本
食品化学工学会誌, **44**,192-198(1997).
- 70)大越ひろ.“食分野における官能評価の特徴”食の
官能評価入門.大越ひろ,神宮英夫編.東京,光生館,
p.5-7(2009).
- 71)小関聡美,北上誠一,加藤登,新井健一.魚介類の死
後硬直と鮮度(K値)の変化,東海大学海洋部紀

- 要, **4**, pp. 31-46(2006).
- 72) 山中英明. 魚介類の死後変化と品質. 日本水産学会誌, **68**, 5-14(2002).
- 73) 伊佐隆. “動物性食品”食品学. 久保田紀久枝, 森光康次郎編. 東京, 東京化学同人, p. 203-229(2003).
- 74) 下村道子. 魚の調理に関する研究. 日本家政学会誌, **48**, 753-762(1997).