

酵素により軟化处理を施した ごぼうの力学的特性と筋活動

高橋 智子¹⁾ 大越 ひろ²⁾

要 約

蒸留水に酵素を溶解したセルラーゼ溶液、ペクチナーゼ溶液、およびセルラーゼ・ペクチナーゼ混合酵素溶液に含浸することで軟化处理したごぼう試料の力学的特性と咀嚼しやすさを示す咬筋活動について検討した。酵素反応時間 30 分、0.5% 酵素濃度溶液含浸試料の破断力が小さくなった。破断力が小さいセルラーゼ・ペクチナーゼ混合酵素溶液含浸試料はコントロール試料に比べ、嚥下開始までの咀嚼回数は少なく、咀嚼時間は長く、また、最大振幅、筋活動量も小さいことが示された。このことより、混合酵素溶液含浸試料はコントロール試料よりも咀嚼しやすいことが示された。

キーワード：ごぼう、酵素、力学的特性、咀嚼、筋活動

緒言

ごぼうは、高齢者が好む代表的な食材である。前報¹⁾では、ごぼうを調理する際、加圧・加熱時の表面積、および咀嚼時における臼歯の貫入方向を考慮した成形方法をとることで、食べやすいごぼう調理が可能になることを報告した。本研究では、前報¹⁾より得られたごぼうの成形方法と食べやすさの結果に基づき、酵素溶液含浸法によりごぼうの軟化处理を行った。近年、ペクチナーゼやセルラーゼを用いた酵素溶液含浸による軟化处理方法の検討、および軟化处理による野菜の力学的特性の変化に関する研究が報告されている²⁾³⁾⁴⁾。しかし、軟化された野菜の力学的特性を明確に把握する測定方法の検討、また、軟化された野菜の咀嚼しやすさについての検討はなされていない。そこで、本研究では、酵素溶液含浸法によりごぼう試料の力学的特性を明確に捉える測定方法の検討として、圧縮面積を変えて行った。また、これまで、食べやすさ、咀嚼しやすさは官能評価の手法を用いて検討してきたが、本研究では、咀嚼しやすさを咀嚼時の咬筋の筋電位を測定することにより、検討した。本研究では、ごぼう試料の咀嚼

中の咬筋活動を数値化することで咀嚼しやすさを把握し、力学的特性の関係について検討を行うことにより、高齢者でも食べやすいごぼうの軟化处理に関する基礎的研究を行った。

実験方法

1. 試料調製方法

前報¹⁾同様、青森産柳川理想の新ごぼうを入荷当日、青果店より購入し、ごぼうの上下 40 mm 程度切り落とし、直径 21.3 ± 2.2 mm の太さのものに限定して用いた。ごぼうの表皮を包丁の背で削ぎ落とし、90 mm の長さに切断した。試料調製時に複数のごぼうを用いるので、部位による差を少なくするために、調製条件ごとに、切断したごぼうを振り分けて用いた。前報¹⁾では、加圧・加熱時間が同じ場合、表面積が大きい斜め切り試料の方が、円柱切り試料よりも軟らかく、咀嚼速度も速いことが示された。そこで、本研究では、試料の切断方法を斜め切りとした。すなわち、90 mm のごぼうを 3 等分し、30 mm の長さの円柱にした後、2 等分に斜め切断した。本研究では、酵素溶液を含浸しやすいように前処理として、オー

(所 属)

1) 山梨県立大学 人間福祉学部 人間形成学科

2) 日本女子大学 家政学部 食物学科

トクレーブによる加圧・加熱を行った。レトルトパウチ袋に斜め切りのごぼう6個、およびごぼうと同容量の蒸留水を共に封入、加熱シール後、オートクレーブ (121°C、2026 hPa) により加圧・加熱を行った。釜内が 121°C、2026 hPa に到達後、15 分間加圧・加熱した。レトルトパウチ袋開封後、水分を除去し、200 ml ビーカーにごぼう試料を入れ、ラップで覆い 50°C 恒温器で 15 分間保存、中心温度 50°C に到達後、酵素溶液含浸処理を行った。

用いた酵素は、近年、白花豆や根菜類の軟化処理の研究²⁾³⁾⁴⁾に使われている、セルラーゼ T「アマノ」4 (以後、セルラーゼ T と称す)、ペクチナーゼ G「アマノ」(以後、ペクチナーゼ G と称す) (いずれも天野エンザイム(株)製) である。細胞単離酵素であるペクチナーゼは細胞をばらばらにし、細胞壁分解酵素であるセルラーゼは細胞壁を除去するのに有効である。また、近年、植物組織の単細胞化や柑橘果実の内皮除去において、ペクチナーゼとセルラーゼの混合液による処理が有効であることが報告されている⁵⁾。そこで本研究では、セルラーゼ T 単体、ペクチナーゼ G 単体に加え、セルラーゼ T とペクチナーゼ G を重量比 1 : 1 で予め混合した混合酵素も用いた。いずれの酵素も最終酵素濃度が、それぞれ 0.1, 0.5, 1.0%(w/v) になるように、蒸留水に溶解して用いた。セルラーゼ T の至適 pH は 4.5、ペクチナーゼ G の至適 pH も 4.5 である。至適 pH に調整した酵素溶液に含浸した野菜を入手し試食した結果、酸味が強いとの印象を受けた。そこで、本研究では試料の風味を考慮し、あえて pH 6.2 の蒸留水に溶解し、ごぼうの酵素溶液含浸法による軟化処理の基礎的研究を行った。また、セルラーゼ T の至適温度は 45°C、ペクチナーゼ G の至適温度は 50°C である。従って、3 種の酵素溶液はすべての濃度において、

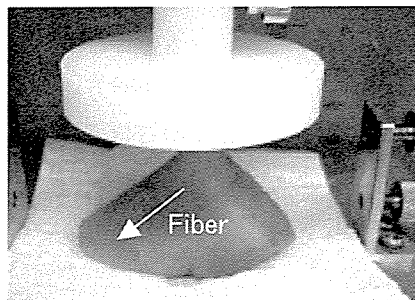
50°C の湯浴中で 30 分間および 60 分間と反応時間を変えて調製した。

酵素溶液を 50°C 湯浴中で含浸させた後、ごぼう試料を溶液より取りだし、目間 2 mm の網の上で 10 分間程度放置し、溶液を除去した。再度、レトルトパウチ袋に 6 個ずつのごぼう試料と同容量の蒸留水と共に封入し、加熱シール後、オートクレーブ (121°C、2026 hPa) により加圧・加熱を行った。釜内が 121°C、2026 hPa に到達後、15 分間加圧・加熱を行い、酵素活性を失活させた。加圧・加熱後、レトルトパウチ袋ごと、15 分間氷冷水で冷却し、開封後、1 個ずつ試料容器に入れ 20°C 恒温器中で 60 分間放置した。なお、酵素溶液に替えて蒸留水に含浸させ、以後の調製を同様に行ったごぼう試料をコントロール試料として用いた。

2. 力学的特性

本研究における力学的特性の検討は、ごぼう試料全体を圧縮するための直径 40 mm 円柱プランジャー、および厚生省 (現厚労働生) が示した高齢者用食品の試験方法⁶⁾に従った直径 3 mm 円柱プランジャーの 2 種類を用い、レオナー (高分解能型レオナー Model RE 33005 : 山電(株)) により測定を行った。いずれのプランジャーによる測定も、圧縮速度 10 mm/sec、ひずみ 90%迄で行った。測定時のごぼう試料の繊維とプランジャーの貫入方向の関係を、Fig. 1 に示した。直径 40 mm 円柱プランジャーによる試料全体の圧縮測定では、圧縮面積が測定中に変化するため、得られた荷重

Orientation of the 40mm ϕ plunger to a diagonal cut burdock



Orientation of the 3mm ϕ plunger to a diagonal cut burdock

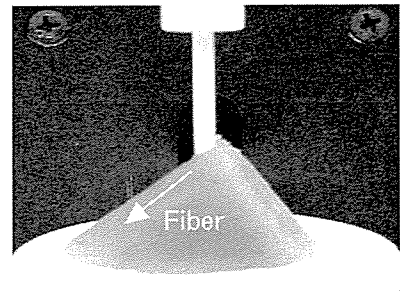


Fig.1 Orientation of the plunger to diagonal cut burdock samples

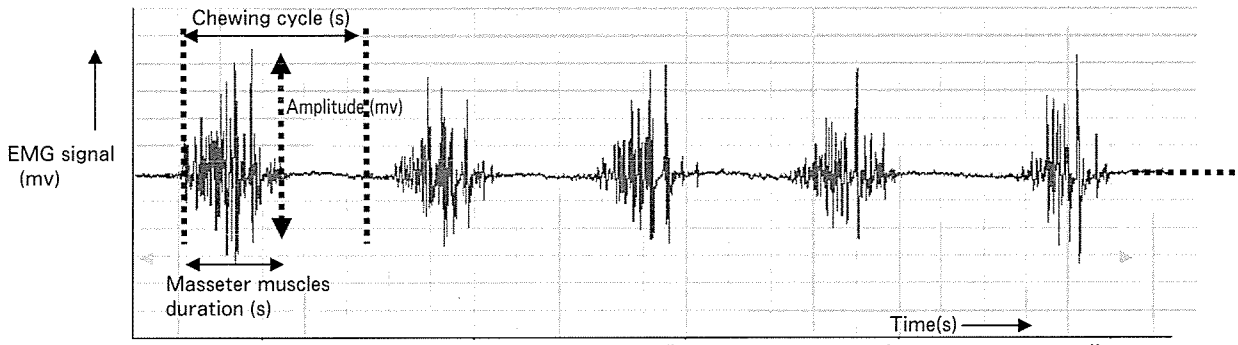


Fig. 2 Schematic drawing of EMG activity from masseter muscles

を力に変換して示した。一方、直径 3 mm 円柱プランジャーによる測定は、用いたプランジャーの圧縮面積が試料面積よりも小さいため、直径 3 mm 円柱プランジャーの試料への接触面積を圧縮面積とし、得られた応力をみかけの応力として示した。測定温度は $20 \pm 2^\circ\text{C}$ である。

3. 咀嚼中の咬筋活動の測定

筋電位の測定はパワーラブシステム 4/25 T (ADInstruments.com) を用いた。左右の咬筋の筋活動を触診にて、筋の走行と平行になるように 10 mm 直径の双局表面銀電極を電極間距離 20 mm で粘付し、粘付した左右咬筋の電極より嚥下開始までの咀嚼中の筋電位を得た。なお、接地電極は全員、額に貼り付けた。前報¹⁾で測定した咀嚼運動と同様に、筋電位の測定においても、斜め切り試料 1 個を一口量とした。被験者は自分でごぼう試料を口腔内に入れ、舌背上に置き、続いて、舌背上の試料を被験者の任意の側の第一大臼歯部に移動させ、ごぼう繊維と臼歯の位置関係を確認した後、測定開始の合図とともに咀嚼を開始した。被験者は、顎口腔系の形態および機能に異常の認められない正常咬合を有する 22~25 歳までの健全な女性のべ 9 名とした。

得られた生体信号は、ADInstruments 社製のパワーラブシステムチャートソフト・チャート 5 により解析した。咀嚼開始から嚥下開始までの咀嚼回数、咀嚼時間を咬筋の筋電図より読み取った。また、咀嚼動作 1 回毎の咀嚼周期、筋活動時間、振幅、筋活動量（筋電位の時間と振幅の積分値）を読み取り (Fig. 2)、左右の咬筋について全咀嚼

回数にわたって平均値を算出した。測定結果は一元配置分散分析を行い、Fisher の最小有意差法により群間の検定を行った。被験者には、この研究の目的や意義を十分に説明し、インフォームドコンセントを得ると共に、データの取り扱いについては、個人のプライバシーの保護に充分留意した。

結果と考察

1. 直径の異なるプランジャーによる圧縮測定
 - 1) 直径 40 mm 円柱プランジャーによる圧縮測定
- コントロール試料と酵素溶液含浸試料において、最大荷重は異なるが、同様のひずみ-力曲線が得られたので、Fig. 3 にはコントロール試料のひずみ-力曲線を示した。ひずみの増加に

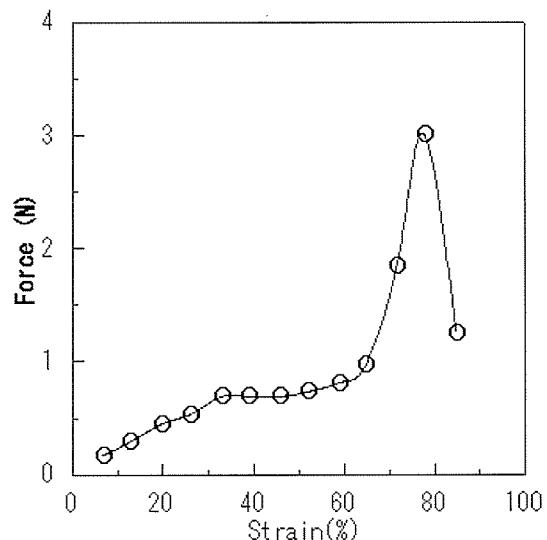


Fig. 3 Relationship between strain and force of control sample (Soaked in distilled water 30 minutes)

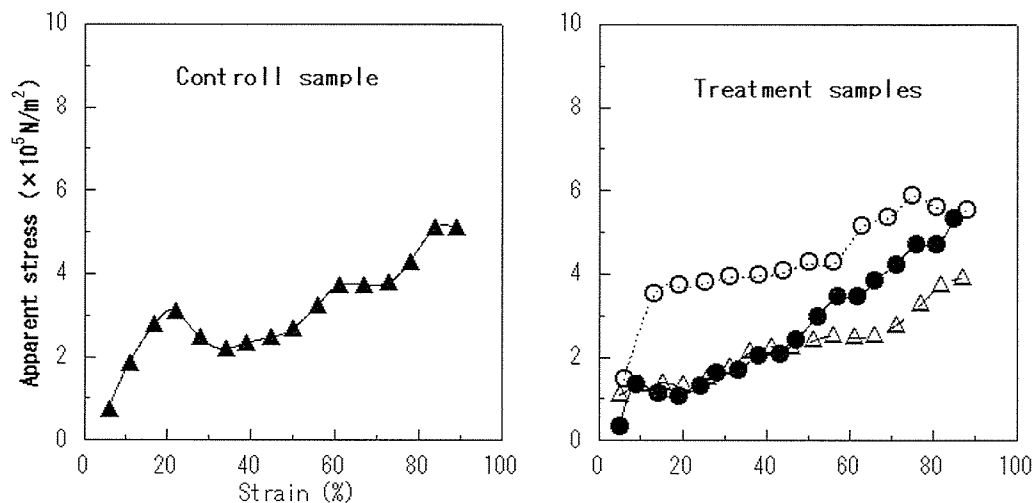


Fig. 4 Relationship between strain and apparent stress of burdock samples
Soaking and reaction time : 30 minutes
▲ : Control, ○ : Pectinase G, ● : Cellease T,
△ : Mixture of cellease T and pectinase G
(Concentration 0.5%, respectively)

従い力は増加し、ひずみ 80%程度で明確な破断点を示した。そこで、この破断点における力を、破断力とした。

2) 直径 3 mm 円柱プランジャーによる圧縮測定

Fig. 4 に代表的なコントロール試料と 0.5% 酵素溶液含浸試料のひずみ-みかけの応力曲線を示した。前報¹⁾と同様、コントロール試料は、ひずみの増加に伴いひずみ-みかけの応力曲線は変曲点を示しながら増加し、90%迄の圧縮率では、明確な破断点が認められなかった。コントロール試料のひずみ-みかけの応力曲線に出現する変曲点は、直径 3 mm 円柱プランジャーがごぼう繊維を切断する際に現れたものと推測される。

一方、0.5% 酵素溶液含浸試料のひずみ-みかけの応力曲線もコントロール試料と同様に、ひずみの増加に伴いひずみ-みかけの応力曲線は変曲点を示しながら増加し、明確な破断点は認められなかった。しかし、酵素溶液含浸試料、ことにセルラーゼ T 溶液含浸試料および混合酵素溶液含浸試料のひずみ-みかけの応力曲線の変曲点は、コントロール試料に比べ、少なく、小さい傾向を示した。このことより、酵素溶液に含浸することでごぼう繊維は軟化され、ごぼ

う繊維を切断する際に現れる変曲点も少なくなったものと推測される。前報¹⁾においても、試料に対して部分圧縮となる 3 mm 直径円柱プランジャーによる測定により、繊維質の多いごぼうのような根菜類、すなわち、ひずみ-みかけの応力曲線に変曲点は示されるが、明確な破断点が認められない食品の力学的特性を正確に把握することは、困難であることを報告した。

前報¹⁾の報告も含め、本研究ではひずみ-みかけの曲線に明確な破断点が得られた直径 40 mm 円柱プランジャーを用いた試料全体の圧縮測定より得られた破断力を、試料の力学的特性の指標として用いた。

2. 酵素反応時間および酵素濃度と破断力の関係

他の酵素溶液に含浸させたごぼう試料においても同様の傾向がみられたので、Fig. 5 には、混合酵素溶液の酵素反応時間と破断力の関係を示した。3 段階の酵素濃度いずれにおいても、反応時間 30 分と 60 分の破断力に差は認められなかった。そこで、本研究では酵素反応時間を 30 分とした。Table 1 には、酵素反応時間 30 分における濃度 0.1, 0.5, 1.0%(w/v)の酵素溶液含浸試料、およびコントロール試料の破断力を示した。いずれの

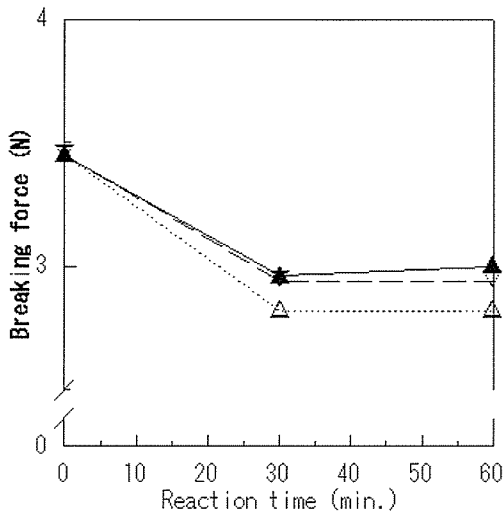


Fig. 5 Relationship between reaction time and breaking force (Mixture of cellulase T and pectinase G)
 ▲ : Concentration 0.1%,
 △ : Concentration 0.5%,
 ▽ : Concentration 1.0%

濃度においても、有意に混合酵素溶液含浸試料の破断力が小さいことが認められた。また、有意差は認められていないが、いずれの酵素溶液含浸試料においても 0.5%濃度溶液含浸試料の破断力が小さい傾向を示した。そこで、本研究ではごぼうを浸す酵素濃度を 0.5%とした。酵素反応時間 30 分間、0.5%混合酵素溶液含浸試料のかたさは、親指と人差し指で挟むと、簡単につぶれる程度のかたさである。

坂本等は、至適 pH 5.5 の 0.1 M クエン酸緩衝液で調製したペクチン分解酵素溶液の凍結減圧含浸法により、にんじん、じゃが芋、さつまいの軟化処理を行った。力学的特性の測定方法は異なる

が、その結果、120 分までの酵素反応時間は長時間であるほど、また、1.0%までの酵素濃度では高濃度であるほど、軟らかくなることが報告されている⁴⁾。本研究では、ごぼうの風味への影響を考慮し、あえて蒸留水に溶解した酵素溶液にごぼうを含浸させ、軟化処理を行った。その結果、酵素反応時間 30 分から 60 分間では、反応時間延長の軟化への影響は少なく、また、酵素濃度 0.1, 0.5, 1.0%では 0.5%酵素濃度溶液含浸試料の破断力が小さい傾向にあることが示され、坂本等とは異なる結果が得られた。これは、本研究において、至適 pH の緩衝液を用いた酵素溶液により、ごぼうの軟化処理を行わなかったためと考えられる。蒸留水に溶解した酵素溶液含浸試料を試食したところ、酸味は少ないと感じられた。今後の研究では、酵素溶液の pH の風味への影響と力学的特性、咀嚼しやすさについて、官能評価を加えて検討する必要があると考える。また、ごぼう組織（ことにごぼう中心部）への酵素溶液の含浸度合いにより、直径 40 mm 円柱プランジャーの圧縮測定より得られたひずみ-力曲線、また直径 3 mm 円柱プランジャーの圧縮測定より得られたひずみ-みかけの応力曲線の傾向が異なるかもしれない。しかし、本研究において、ごぼうのような繊維の多い食品は、試料全体を圧縮する測定方法で、より明確にごぼうの力学的特性を把握可能であることが示された。ここでは、ブルーデキストラン法等による組織内部へ酵素溶液の含浸効果の判定を行っていないが、酵素溶液のごぼう組織への含浸度合いと力学的特性、咀嚼しやすさの関係も今後の検討課題となる。

Table 1 Rupture force of burdock samples

| Concentration(%) | Rupture force (N) | | | | | | | | |
|--|-------------------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|-----------|--------------|----|
| | 0.1 | | | 0.5 | | | 1.0 | | |
| Sample | C.V.(%) | Significance | C.V.(%) | Significance | C.V.(%) | Significance | C.V.(%) | Significance | |
| Controll | 3.31±0.38 | 11.4 | ** | 3.31±0.38 | 11.1 | ** | 3.31±0.38 | 11.1 | ** |
| Cellulase T | 3.42±0.16 | 4.7 | ** | 3.21±0.20 | 6.3 | ** | 3.24±0.13 | 0.4 | ** |
| Pectinase G | 3.31±0.38 | 11.4 | ** | 3.07±0.28 | 9.1 | ** | 3.18±0.46 | 14.5 | * |
| Mixture of cellulase T and pectinase G | 2.96±0.23 | 7.8 | ** | 2.82±0.31 | 11.0 | ** | 2.94±0.22 | 7.5 | ** |

Soaking and reaction time : 30 minutes. Contoroll sample: soaked in distilled water (n=30).

3. ごぼう試料の咀嚼中の咬筋活動

咬筋活動の測定結果よりごぼう試料の咀嚼しやすさを検討した。Table 2 に 9 名の被験者の平均値と標準偏差を試料間の有意差検定とともに示した。咀嚼回数が少ない傾向にある混合酵素溶液含浸試料の咀嚼時間は、他の試料に比べ有意に短いことが認められた。一方、セルラーゼ T 溶液含浸試料の咀嚼回数は多い傾向を示し、咀嚼時間は有意に長いことが示された。被験者から、セルラーゼ T 溶液含浸試料は軟らかいが、咀嚼中に繊維感が口に残るといった感想が得られた。このことがセルラーゼ T 溶液含浸試料の嚥下開始迄の咀嚼時間を長くしているものと推測する。また、咀嚼周期は食品の種類に関係なく一定であることが高橋⁷⁾、堀尾ら⁸⁾により報告されている。本研究においても試料による咀嚼周期に有意差は認められなかった。

コントロール試料に比べ破断力が有意に小さい混合酵素溶液含浸試料の最大振幅および筋活動量は、共にコントロール試料よりも有意に小さいことが認められた。食品咀嚼時における咬筋の筋電図より得られた振幅や筋活動量は、食品の“かたさ”に顕著な影響を受け、かたい食品の咀嚼時には有意に大きな値を示す。また、筋活動量は食品の咀嚼しやすさを示していると報告されている⁹⁾。本研究の結果からも、混合酵素溶液含浸試料の最大振幅および筋活動量が小さいのは、混合酵素溶液含浸試料の破断力が小さいことが影響していると推測される。また、セルラーゼ T 溶液含浸試料とペクチナーゼ G 溶液含浸試料の筋活動量は、有意に破断力が大きいコントロール試料と破断力の小さい混合酵素溶液含浸試料の中間的な値を示した。以上の結果より、直径 40 mm 円柱プラン

ジャーによるごぼう試料の全体圧縮により得られた破断力は、咀嚼しやすさの程度を示す咬筋活動の力学的指標になることが示された。

本研究で用いたごぼうの酵素溶液含浸による軟化処理方法には、まだ多くの課題が残されることとなった。今後、これらの検討課題に加え、食べやすさ、咀嚼しやすさの官能評価も行い、おいしく、軟らかく、食べやすいごぼうの調製に関する研究を引き続き行いたいと考えている。

まとめ

高齢者が好む食材であるごぼうを、セルラーゼ溶液、ペクチナーゼ溶液、およびセルラーゼ・ペクチナーゼ混合溶液含浸法による軟化処理を行い、ごぼう試料の力学的特性と咬筋活動の関係について検討した。

1. 直径の異なるプランジャーを用いたごぼう試料の圧縮測定では、直径 40 mm 円柱プランジャーによる試料全体の圧縮測定より得られたひずみ-力曲線に、明確な破断点が認められた。直径 3 mm 円柱プランジャーによる試料の部分的な圧縮測定より得られたひずみ-みかけの応力曲線には、変曲点が認められ、明確な破断点は認められなかった。
2. 蒸留水により調製した酵素溶液含浸試料では、反応時間 30 分間における 0.5% 酵素濃度溶液含浸試料の破断力が小さいことが示された。
3. 酵素反応時間 30 分、0.5% 酵素濃度溶液含浸試料において、混合酵素溶液含浸試料の破断力はコントロール試料に比べ、有意に小さいことが示された。
4. 咀嚼回数が少ない傾向にある混合酵素溶液含浸試料の咀嚼時間は、コントロール試料に比べ

Table 2 Results of mastication measurements of burdock samples

| EMG parameters Sample | Number of chewing strokes | Significance | Chewing cycle (s) | Significance | Mastication time (s) | Significance | Masseter muscles duration (s) | Significance | Amplitude (mv) | Significance | Mustle activity ($\times 10^{-3}$ mv*s) | Significance |
|--------------------------|---------------------------|--------------|-------------------|--------------|----------------------|--------------|-------------------------------|--------------|----------------|--------------|--|--------------|
| Controll | 21.9±7.9 | n.s. | 0.560±0.044 | n.s. | 11.8±2.4 | ** | 0.268±0.033 | n.s. | 1.22±0.42 | ** | 18.7±8.6 | ** |
| Cellulase T | 24.0±6.9 | | 0.544±0.062 | | 13.5±1.4 | | 0.258±0.023 | | 1.07±0.41 | | 15.2±8.6 | |
| Pectinase G | 21.6±6.5 | | 0.565±0.060 | | 11.8±2.1 | | 0.263±0.055 | | 0.997±0.445 | | 15.4±5.2 | |
| Mixture | 18.7±6.3 | | 0.504±0.060 | | 9.28±2.0 | | 0.252±0.017 | | 0.900±0.337 | | 12.9±5.4 | |

Mixture: mixture of cellulaseT and pectinase G. Mean and standard error value of 9 subjects.n.s., not significant, *:p<0.05, **:p<0.01.

有意に長いことが認められた。

5. コントロール試料に比べ破断力が有意に小さい混合酵素溶液含浸試料の最大振幅、筋活動量は共に、コントロール試料に比べ有意に小さいことが認められた。このことより、混合酵素溶液含浸試料はコントロール試料よりも、軟らかく咀嚼しやすいことが示された。

以上の結果より、直径 40 mm 円柱プランジャーによるごぼう試料全体の圧縮測定より得られた破断力は、咀嚼にやすさを示す咬筋活動の指標になることが示された。

参考文献

- 1) 高橋智子, 川野亜紀, 中川令恵, 大越ひろ, 食べやすいごぼうの力学的特性と咀嚼運動, 日本調理科学会誌, 40 (5), 314-322
- 2) 柴田賢哉, 石原理子, 坂本宏司 (2006), 凍結含浸法を用いた白花豆の硬さ制御技術の開発, 日食工誌, 53 (11), 566-571
- 3) Koji Sakamoto, Kenya Shibata, and Masako Ishihara (2006), Decreased Hardness of Dietary Fiber-Rich Foods by the Enzyme-Infusion Method, Biosci. Biotechnol. Biochem., 70 (7), 1564-1570
- 4) 坂本宏司, 石原理子, 柴田賢哉, 井上敦彦 (2004), 凍結減圧酵素含浸による植物組織の軟化および単細胞化, 日食工誌, 51 (8), 395-400
- 5) Ben-shalom, N., Levi A. and pint, R. (1986), Pectolytic enzyme studies for peeling of grapefruit segment membrane., J. Food Sci., 51, 421-423
- 6) 厚生省高齢者用食品の標準許可の取り扱いについて 平成 6 年 2 月 23 日衛新第 14 号厚生省生活衛生局長通知 (1994)
- 7) 高橋淳子 (1991), 咀嚼動作の解析—口内の咀嚼圧、口蓋圧の測定, New Food Industry, 33 (5), 65-83
- 8) 堀尾強, 河村洋二郎 (1988), 咀嚼運動に及ぼす食品のテクスチャーの影響, 歯基礎誌, 30, 481-488
- 9) 塩澤光一 (2005) 筋電図, 食感創造ハンドブック, サイエンスフォーラム, 東京, 251-258.

Physical Properties and Masticability (as Indicated by Muscle Activity) of Burdock Softened with Enzyme

TAKAHASHI Tomoko, OGOSHI Hiro

Abstract

The present study focused on the physical properties and masticability of burdock samples that had been softened through impregnation in enzyme-dissolved distilled water (i.e. cellulase solution, pectinase solution, and cellulase/pectinase mixed solution, respectively.) The rupture force was small for the sample that had been impregnated in 0.5% concentration enzyme solution (with enzyme reaction time of 30 minutes). Compared with the control samples, this samples impregnated in the cellulase/pectinase mixed solution not only demonstrated smaller rupture force but was also found to require less number of times of mastication before start of swallowing; longer time for mastication; the largest magnitude of fluctuation; and smaller muscle activity. These findings suggest that, compared with the control samples, the sample that had been impregnated in the mixed enzyme solution was easier to masticate.

Key words : burdock, enzyme, physical properties, mastication, muscle activity