総 説

硬さ制御技術(凍結含浸法)を用いた高齢者・介護用食品の開発

坂本宏司[§], 柴田賢哉, 石原理子, 中津沙弥香

広島県立総合技術研究所食品工業技術センター

Development of Foods for People with Ingestion and Swallowing Difficulties
Using Vacuum Enzyme Infusion into Food Materials Enhanced by Freeze-thawKoji Sakamoto[§], Kenya Shibata, Masako Ishihara and Sayaka NakatsuHiroshima Prefectural Technology Research Institute, Food Technology Research Center,
12-70 Hiji Yamahon-machi, Minami-ku, Hiroshima 732-0816

1. はじめに

食物を食べるという行為は、人生の終焉を迎えるまで最大の楽しみと言えるが、この楽しみを奪われた人々も少なく存在する。この「食べる」という行為に関与する機能に障害があると食べる楽しみが失われるばかりでなく、消化器官の機能低下やタンパク質・エネルギー栄養失調症などの低栄養化状態を誘発する。また、誤嚥性肺炎のリスクとも隣合わせであり、生命にも危害が及ぶ場合がある。摂食・嚥下障害は、脳神経障害や機能不全など様々な疾患で発症するが、加齢も大きな要因の一つであり、高齢者に摂食・嚥下障害の兆候を示す傾向は強い。そのため、摂食・嚥下障害者を対象とした高齢者・介護用食品という市場が形成されている。しかしながら、市販されている介護用食品を見ると、流動食や刻み食、ゼリー食など安全性や機能性を重視したものが多く、QOL (quality of life) の視点でみると未だ発展途上にある。本来、食品は栄養的に優れていることはもちろんのこと、色、味、香りに加え形状も重要な構成要素である。食欲の低下は、低栄養化の一因ともなっており、介護用食品には、生体機能の維持のみでなく、食事の楽しみや親睦・交流の場を与える機能が求められる。

著者らは、食材内部に植物組織崩壊酵素を急速導入する技術(特許出願済 11 件)を開発し、食材の形状を保持したまま任意の硬さに調節する技術(凍結減圧酵素含浸法、以下凍結含浸法と略す)を確立した。本法を用いれば、食品の形状や栄養成分を損なうことなく、咀嚼・嚥下困難者に適した硬さの食品を提供することが可能となる。凍結・減圧操作という食品工場で通常使用される製造装置を転用できることから比較的低コストで製造することができる。

また、本法を応用して、食物繊維などの栄養成分や機能性成分を付加・増強する技術、造影剤を含浸させて消化器官造影検査食を製造する技術なども開発した。さらに、製造現場への技術移転に際し、安全性の確認にも多くの労力を注ぎ、安心して食することのできる食品群の開発を行った。以下、凍結含浸法の概要と応用について紹介する。

2. 凍結含浸法および得られた食材の特徴

(1) 食品分野における含浸技術

含浸技術は、無機物から木材等の有機物に至るまで様々な製造分野で利用されている。主な目的は各種加工材料の表面改質で、加工材料を高機能化するために利用される。例えば、ポリエステル不織布や木材への樹脂含浸、樹脂含浸による紙の透明化など工業製品の加工技術として広く利用されている。一方、食品分野では、酵素や調味料などの含浸技術について報告がある。酵素含浸法¹⁾には、ペクチンエステラーゼやセルラーゼの含浸によるモノの強度改善²⁾や柑橘果実の内皮除去³⁾などの報告があるが、それらの多くは食材表面の改質を目的としている。また、国内では低塩梅干しの加工技術⁴⁾や圧力と真空の併用で食材内部に調味液やチョコレートなどを染み込ませる方法が開発されている。

著者らが開発した凍結含浸法は、高速含浸法という位置付けにあり、細胞間隙のみならず、細胞内への物質導入を可能としたことで、応用範囲は大幅に広がるものと考えている。また、専用の加工装置を必要とせず、低コスト・省エネルギー加工法として技術導入しやすい面を持つ。

(2) ペクチン分解酵素による単細胞化

植物細胞は、細胞壁に囲まれ、中葉を介して接着している。中葉には細胞壁間接着物質であるペクチン質が存在し、ペクチン分解酵素を作用させれば、植物組織は軟化し、

〒732-0816 広島市南区北治山本町 12 番 70 号

[§] 連絡先(Corresponding author), k-sakamoto83506@pref.hiroshima.lg.jp

図 1 カボチャ単細胞の水浸漬中の電気伝導率の経時変化

細胞を遊離させることができる。これまでに、栄養成分の損失の低減や風味、色調の保持などを目的に、ペクチナーゼやセルラーゼ製剤を用いて、ニンジン、カボチャ、インゲンマメ、ニンニクなど多くの植物素材について単細胞化が行われてきた⁵⁾⁶⁾。酵素反応処理は、食材を効率的に酵素と接触させることが重要で、組織を物理的に粉碎して酵素製剤を作用させればピューレー状の食材を製造することができる。単細胞状態の食品素材を作製する場合、食品素材を細切後、酵素反応を行えば良い。この場合、細胞内外では浸透圧差が生じるため、酵素反応中に細胞の破壊や内容成分の溶出が問題となる。成分の溶出防止には、糖質などの浸透圧保持物質を添加する必要がある⁷⁾が溶出を完全に防止することはできない。例として、0.6M ソルビット含有下で攪拌しながらペクチン分解酵素でカボチャを単細胞化し、得られた単細胞を水に懸濁したときの電気伝導率の経時変化を図 1 に示す。次第に電気伝導率が増加する現象は、浸透圧差の影響で細胞内の電解質が細胞外に溶出していることを示唆している。

(3) 凍結含浸法

細胞を遊離させる方法では成分の損失は防止できないと考え、逆に食材内部で酵素反応させる含浸法について検討した。その結果、氷結晶の生成による食材組織の緩みが酵素の減圧含浸効率を劇的に高めることを見出した。凍結(−20℃)および減圧処理の有無による硬さの違いを調べたところ、凍結・解凍後ペクチナーゼ含浸した試料は完全に崩壊し、中心部まで酵素は導入された。一方、凍結または減圧処理をしない場合、組織は軟化するが、中心部では組織は維持され、完全な組織崩壊までには至らなかった。減圧時間や回数を増やすと中心部の酵素濃度は増加するが、ひと口サイズの試料の組織を崩壊させるには、1 回 5 分間、40 mmHg 程度の減圧処理で十分であった。凍結含浸による組織内部への含浸効果を、ブルーデキストラン水溶液を用いて調べたところ、ブルーデキストランは均一に中心部まで導入されており、含浸度合は急速凍結よりも緩慢凍結した方が高く、減圧処理回数を増やすに従い増加した

図 2 ジャガイモへのブルーデキストランの凍結含浸

1: 色素導入前, 2: 含浸 1 回, 3: 含浸 2 回, 4: 含浸 3 回, 5: 含浸 5 回

(図 2)。

実際に、植物素材を凍結・解凍し、減圧下でペクチナーゼ製剤を含浸したところ、短時間で植物素材は単細胞化し、さらに酵素反応を制御すれば、軟化度合を自由に調節することも可能であった⁸⁾⁹⁾。そこで、本法を凍結減圧酵素含浸法と名付けた。凍結・解凍した後、加圧しても酵素含浸は可能であったが、コスト面及び品質面で減圧法が圧倒的に有利である。主に酵素液の拡散を利用している従来法では、浸漬だけで中心部まで酵素を含浸するには長時間処理は避けられない¹⁾。一方、凍結含浸法の場合、減圧操作過程において、植物組織内部から激しい気泡の生成が認められ、組織内部に存在する気体と酵素液との急速置換が生じていることが観察される。凍結・解凍処理は組織を膨張・収縮させ、さらに減圧処理工程で再膨張させることで、気体の出口通路を広げ、組織内部に酵素を急速に侵入させやすくしているものと考えられる。

凍結含浸操作の手順は次のとおりである。まず、食材を−20℃程度で凍結後、酵素製剤を溶解させた調味液に浸漬、解凍する。調味液に浸漬した状態で真空ポンプで減圧にし、所定真空度に達したら真空ポンプを止め、減圧下で 5 分程度放置する。直ちに調味液から取り出して、そのまま所定の温度条件下で、酵素反応を速やかに進行させる。目的の硬さに達したら蒸煮処理等で酵素を失活させる。この間、加熱履歴は極めて少なく、調味と軟化が同時に行えるため、煮込み工程が省略される。従来の加熱調理という工程は省略できるため、省エネルギー型食品加工技術としても有望である。

(4) 凍結含浸法で単細胞化したジャガイモのアミログラム
凍結処理は、氷結晶生成による組織の細胞間隙部の一部

図 3 凍結含浸処理で得られたジャガイモ単細胞のアミログラム

酵素：ペクトリナーゼ

—— 粉砕物

- - マッシュポテト

..... 凍結含浸処理単細胞

図 4 β -カロテン及びアントシアニン色素の残存率

■： β -カロテン（試料，ニンジン）

□：アントシアニン（試料，紅サツマイモ）

酵素：ペクトリナーゼ

損傷と軟化効果を期待したものである。細胞壁への影響をみるために、生ジャガイモから調製した凍結含浸単細胞、粉砕物およびマッシュポテトのアミログラム測定を行った（図 3）。粉砕物は、細胞壁の破壊、それに伴うデンプンの溶出により急激な粘度上昇が認められた。一方、凍結含浸法で調製した単細胞の場合、粘度上昇は全く認められず、マッシュポテトより良好な素材が得られた。すなわち、凍結含浸法で調製した単細胞は、細胞壁が維持されているため、加熱してもデンプンの溶出は起こりにくいことが確認された⁸⁾。

(5) 色素および香気成分

ニンジンおよび紅サツマイモを凍結含浸法と攪拌法で酵素処理し、 β -カロテンとアントシアニンの残存率を調べたところ、攪拌法ではアントシアニンの残存率はわずか 0.1% であったのに対し、凍結含浸法では 97.4% と高い残存率を示した（図 4）。 β -カロテンの場合、大きな差は生じなかった。疎水性の β -カロテンは、細胞中で局在しており、細胞

図 5 硬さに及ぼす酵素の影響

A, Macerating Enzyme Y (ヤクルト薬品工業), B, セルロシン ME (エイチビーアイ), C, Hemicellulase “AMANO” 90 (天野エンザイム), D, Pectinase G “AMANO” (天野エンザイム), E, Cellulosin HC100 (エイチビーアイ), F, Cellulosin AL (エイチビーアイ), G, Sukrase S (三共), H, Cellulase “ONOZUKA” 12S (ヤクルト薬品工業), I, Cellulase Y-NC (ヤクルト薬品工業), J, Macerozyme 2A (ヤクルト薬品工業), K, Pectinase XP-534 (ナガセケムテックス), L, Pectinex Ultra SP-L (ノボザイム), M, Macerozyme A (ヤクルト薬品工業), N, Pectinase HL (ヤクルト薬品工業), O, Cellulase A “AMANO” 3 (天野エンザイム), P, Cellulast 1.5L FG (ノボザイム), Q, Cellulase “ONOZUKA” 3S (ヤクルト薬品工業), R, Pectolyase (新日本化学工業), S, コントロール

酵素濃度：0.5%，凍結含浸後 15 分放置

が大きく破壊された場合に溶出すると考えられる。かく拌法では浸透圧作用によりアントシアニンが細胞から溶出し、 β -カロテンは破壊された細胞から溶出されたものと考えている。凍結含浸法は攪拌操作が無いこと、浸透圧作用の影響を受けにくいことから、水溶性、疎水性を問わず、栄養成分の損失が起こりにくいことが示唆された。

また、凍結含浸法で得られた単細胞では、本来のニンジン香気成分である β -Caryophyllene, Bisabolene などのテルペン系炭化水素類は残存し、 β -Ionone と Hexanal など劣化成分の生成は抑制される⁸⁾。細胞壁が残存していることと加熱履歴が極めて少ない工程を経ているためと推察される。

3. 凍結含浸法を用いた硬さ制御

(1) ゴボウ、タケノコの凍結含浸処理

比較的硬い食品素材であるゴボウ、タケノコを対象に、凍結含浸法による高齢者・介護用食品の開発を試みた¹⁰⁾。ペクチナーゼ活性のある食品用酵素剤 18 種類を用いて、軟化に適した酵素剤を検索した結果、ゴボウで 6 種類、タケノコで 3 種類の酵素剤が特に有効であった（図 5）。ゴボウの軟化には効果的であっても、タケノコにはほとんど作用しない酵素剤もあり、同じ酵素剤でも植物素材によって

図 6 硬さに及ぼす酵素濃度、反応時間の影響

酵素濃度：●, 0.05%, ■, 0.1%, ▲, 0.5%, ◆, 1.0%

ゴボウ：セルロシン ME, タケノコ：ヘミセルラーゼ「アマノ」90

反応温度：40℃

効果は異なることがわかる。細胞壁にはキシログルカンを始め複雑な構造をもつ多糖が数多く存在する。市販酵素剤は複数の酵素活性を有しており、ペクチナーゼ活性が軟化の主たる因子として作用し、これにプロトペクチナーゼ、ヘミセルラーゼ、セルラーゼが複合因子として作用しているものと推察される。

凍結含浸後の放置時間（酵素反応時間）と硬さの関係をみると、含浸された酵素の作用で時間の経過とともに各試料は軟化した（図6）。テンシプレッサーの波形図から、ゴボウ、タケノコいずれも中心部まで酵素が含浸されており、食材全体で組織崩壊が起こっていることが観察された。健康増進法における「そしゃく困難者用食品」の許可基準である $5.0 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下の硬さまでの放置時間をみると、酵素濃度 0.05% の場合、ゴボウで 30 分間、タケノコでは 15 分間を要した。すなわち、酵素濃度と放置時間を組み合わせることで、硬さ調節を行うことができる。酵素濃度が高くなると酵素失活や殺菌工程において、形状が崩れやすくなる傾向がある。実用的には、酵素濃度はできるだけ低くし、処理後の硬さの変化も考慮して製造する必要がある。

(2) 豆類、肉類への適用

豆類は、栄養価が高いものの比較的硬いものが多く、咀嚼困難者にとって食べにくい食材と言える。豆類を軟化する方法として、圧力釜を利用した加圧加熱処理が一般に知られているが、それでも「そしゃく困難者用食品」のレベルにまで軟らかくすることはできない。一方、豆類は表皮を有し、酵素含浸しにくい食材である。そこで、白花生を用いて、豆表皮の改質方法について検討した。

大豆などの双子葉植物では、細胞間隙や細胞壁にヘミセルロースが多く存在することが報告されている¹¹⁾。そこで、ペクチナーゼおよびセルラーゼ活性を主活性とする食品用酵素製剤を使用し、豆表皮の改質方法を検討した結果、2% 程度の乾燥処理、すなわち表面のみを乾燥することによって、効率的に酵素を豆内部にまで凍結含浸できることを見出した¹²⁾。白花生を凍結乾燥で表面乾燥した後、マセロ

図 7 凍結含浸処理における白花生の硬さに及ぼす乾燥の影響

酵素：マセロチーム 2A, 1%

乾燥方法：凍結乾燥

チーム 2A（ヤクルト薬品工業）を用いて含浸処理すると元の硬さの 40% 程度まで軟化させることができた（図7）。加圧加熱と凍結含浸処理を併用すると、「そしゃく困難者用食品」の硬さ基準（ 10^4 オーダー）をクリアすることが可能である。また、肉類においても、結合組織を選択的に分解し、酵素反応を制御することによって、苦味やドロップを抑制し、品質を保ったまま軟化する技術を開発した。

4. 凍結含浸食材の離水抑制

嚥下困難者は、食物をうまく飲み込むことができないため、誤嚥性肺炎などの重篤な状態になる場合がある。このため、嚥下食は良好な食塊形成を図り嚥下しやすくするため、トロミ剤で粘性を付加して製造されている。凍結含浸食材においてもトロミ液をかければ問題ないが、酵素と増粘剤を同時に食材内部に導入する場合、増粘剤は酵素含浸の妨害物質になる。そこで、未水和状態の増粘剤を用いる方法を考案した¹³⁾¹⁴⁾。実際に、生デンプンを植物組織崩壊酵素と同時含浸し、加熱処理してデンプンを糊化させれば、硬さ調節と同時に離水防止を行うことができた（図8）。また、硬さと離水抑制は互いに独立して行うことが可能である。本技術により付着性や凝集性の改善による食塊形成能の向上や嚥下速度の制御、歩留まり向上などが可能となり、嚥下性や製造コストの改善を図れることが期待される。

5. 機能性成分の付加・増強技術への応用

凍結含浸で使用する酵素をうまく利用すれば、形状を保持したまま食材内部に機能性成分を付加・増強させる技術として用いることができる。例えば、植物組織崩壊酵素を

図 8 凍結含浸における硬さ（上段）、離水率（下段）に及ぼす未糊化デンプンの影響

試料：タケノコ

酵素：ヘミセルラーゼ「アマノ」90（0.3%）

硬さ：平均値±標準偏差（n=10）

離水率：平均値±標準偏差（n=3）

*: $P < 0.05$

含浸すれば、硬さ制御のみならず、多糖類の低分子化により水溶性食物繊維を食材内部に生成させることができる。セルロシン ME（エイチビィアイ）処置したゴボウの食物繊維を調べると、総食物繊維量はほとんど変化しないが、凍結含浸処理によって水溶性食物繊維が増加することが確認された¹⁰⁾。水溶性食物繊維は、コレステロールなどの生体内吸収抑制作用や血糖値上昇抑制作用などを有することが報告されている。

また、ジャガイモにオリゴ糖生成酵素を凍結含浸すれば、食材内部にオリゴ糖を生成させることができる（図 9）¹⁵⁾。これは、凍結含浸処理により酵素が細胞内に導入されたことを示唆している。さらに、誘電加熱を利用して細胞内への酵素導入効率を上げる技術も開発している。このような機能性付加・増強技術に関する報告例はなく、今後さらに発展するものと思われる。

6. 真空調理への応用

高齢者・介護用食品は業務用食品としての利用以外に、病院や介護施設内での調理や被介護者を有する家庭においても利用される。近年、厨房に真空調理システムを導入する施設が増加しており、減圧操作を基本工程とする凍結含浸法によって都合が良い。タンク式減圧処理に比べ、酵素液量は制限されるが、調味も同時に行え、衛生的でもある。そこで、真空包装機を利用した少量生産かつ複合調理可能な凍結含浸技術の開発を試みた。

図 9 凍結含浸によるジャガイモ組織内オリゴ糖の生成

含浸酵素：ビオザイム A，トランスグルコシダーゼ L（0.5% McIlvaine Buffer）

反応温度：50℃

HPLC：Shodex SUGAR KS-802（ $\times 2$ ），80℃，1 ml/min，RI 検出

●，破砕物 ■，単細胞 ▲，凍結含浸 ▼，酵素含浸

凍結含浸食材
5 $\times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下

指で押さえた状態

図 10 凍結含浸法で作製した根菜類

食材：タケノコ，レンコン，ゴボウ，ニンジン

その結果、凍結食材に酵素液または酵素剤を含む調味液を噴霧または付着させた後、真空包装機を用いて減圧処理する方法を考案した（図 10）。軟化後の加熱温度は酵素失活温度に設定する必要があるが真空調理に準じた取扱が可能である。小型の装置を用いて、形状を保持したまま硬さ制御できるばかりでなく、包装後再凍結または乾燥することで長期保存可能な凍結食品や乾燥食品も製造することが

できる¹⁶⁾。また、使用酵素液が少なく、省エネルギーで温度管理もしやすいというメリットも生じる。病院や介護施設において、凍結含浸食品を直接製造することが可能となったことで、本技術の普及が加速し、改良が現場で行えるようになったメリットも大きい。

7. 安全性評価のための臨床試験と新規嚥下造影検査食の開発

凍結含浸食材の安全性を確認するため、県立広島病院において凍結含浸法で作製した介護用食品について嚥下造影検査 (Videofluorography : VF) を用いた臨床評価を実施した。現在のところ、140 例の臨床評価の結果、誤嚥等問題となる例は認められていない。さらに、その過程で、凍結含浸法が新たな VF 検査食を製造するための画期的手法となることを見出した¹⁷⁾。摂食・嚥下障害患者では、食物の種類や形態によって嚥下困難の程度は異なる。摂食・嚥下活動を外部から観察することは非常に困難で、誤嚥が疑われる場合、VF 検査が行われる。また、嚥下機能は食物の性状により影響を受けるため、VF 検査にどのような検査食を用いるかは特に重要である。通常、VF 検査には、液状、ゼリーやプリンなどに造影剤を混ぜ合わせた検査食が用いられている。しかし、これらの検査食は模擬的なものに過ぎず、本来の食物の摂食・嚥下状態を観察しているとは言えない。

一方、凍結含浸法では、酵素と造影剤を同時含浸させることが可能である (図 11)。本検査食で VF を実施したところ、咀嚼期から嚥下期に至る通常の摂食過程の VF 画像を取得することができた。また、食道、消化器官の通過状態も観察することができるため、外科領域にも応用展開を図っており、既に良い成果も得られている。

消化器官術後食及び術前食としての造影結果においても、凍結含浸食材が喉につかえることは無く、食道から残胃、さらに十二指腸への食材の移動の程度を観察できた。胃切除術後食として、貯留能や急速な小腸への食物の流入により生じるダンピング症候群の改善効果が期待される。

最後に、凍結含浸食材の有用性を評価するため、病院および介護施設に入所している摂食・嚥下障害者を含む高齢者に対する摂食試験も実施したところ¹⁸⁾、従来のミキサー食や刻み食喫食者に対する食欲増進効果が極めて高いことが認められた。

8. おわりに

喫食者の状態によって食品に求められる物性や形態は大きく異なる。そのため、「嚥下食」製造では安全性の確保が重要で、安易な製品開発は危険である。近年、「嚥下食」も在宅市場への拡大が進んでいる現状をみると、栄養士などの指導を受けない状態での喫食も有り得るかも知れない。現在、食欲の増進効果、カロリー強化、消化吸収性の向上

図 11 造影剤を含浸したレンコンの透過 X 線像

使用酵素：ヘミセルラーゼ「アマノ」90

造影剤：オイパロミン 300 (イオパミドール含有、富士製薬工業)

といった新たな機能の付加技術にも展開を図っており、実用化も進んでいる。さらに、外科領域の応用で述べたように、胃や腸などの消化器官の術前または術後患者に適した食品を開発しており、栄養状態の改善などに効果的であると考えている。このように凍結含浸技術の応用範囲は広く、従来の食品加工技術の概念を変える要素も有している。本技術は摂食・嚥下障害を持つ患者や高齢者に希望を与え、QOL の向上に大きく寄与するものと確信している。

本研究において嚥下・消化器官造影試験を実施していただいた県立広島病院の福田康彦副院長、第二一般外科漆原貴主任部長、リハビリテーション科麻生智洋部長、耳鼻いんこう科・頭頸部平位知久部長を始め、多くの医師、言語聴覚士、管理栄養士の方々に心から感謝の意を表します。

文 献

- 1) Mcardle, R.N. and Culver, C.A., Enzyme infusion : a developing technology. *Food Technology*, **48**, 85-89 (1994).
- 2) Javeri, H., Toledo, R. and Wicker, L., Vacuum infusion of citrus pectinmethylesterase and calcium effects on firmness of peaches. *J. Food Sci.*, **56**, 739-742 (1991).
- 3) Ben-shalom, N., Levi A. and Pint, R., Pectolytic enzyme studies for peeling of grapefruit segment membrane. *J. Food Sci.*, **51**, 421-423 (1986).
- 4) 尾崎嘉彦, 中内道世, 池本重明, 山西妃早子, 坂井拓夫, 吉栖 肇, 村上哲男, 特開 2002-238490 (2002).
- 5) Zetelaki-horváth, K. and Gáta, K., Disintegration of vegetable tissues by endo-polygalacturonase. *Acta Alimentaria*, **6**, 227-240 (1977).
- 6) Nakamura, T., Hours, R.A. and Sakai, T., Enzymatic maceration of vegetables with protopectinases. *J. Food Sci.*, **60**, 468-472 (1995).
- 7) Ramana, S.V. and Taylor, A.J., Development to a method to measure rheological properties of carrot cell and cell-wall materials. *J. Sci. Food Agric.*, **64**, 519-525 (1994).
- 8) 坂本宏司, 石原理子, 柴田賢哉, 井上敦彦, 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, *食科工*, **51**, 395-400 (2004).
- 9) 坂本宏司, 井上敦彦, 柴田賢哉, 石原理子, 植物組織への酵

- 素急速導入法, 特許第 3686912 号, 2005.6.17.
- 10) Sakamoto K., Shibata K. and Ishihara M., Decreased Hardness of Dietary Fiber-rich Foods by the Enzyme-infusion Method. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 1564-1570 (2006).
- 11) 石井茂孝, 植物細胞壁とその溶解酵素, 醸協, **80**, 154-161 (1985).
- 12) 柴田賢哉, 石原理子, 坂本宏司, 凍結含浸法を用いた白花豆の硬さ制御技術の開発, 食科工, **53**, 566-571 (2006).
- 13) 坂本宏司, 中津沙弥香, 石原理子, 柴田賢哉, 食品およびその製造方法, 特開第 2007-252323 号, 2007.10.4.
- 14) 中津沙弥香, 柴田賢哉, 石原理子, 坂本宏司, 凍結含浸法を用いた食材の硬さ制御及び離水防止技術の開発, 日摂食嚥下リハ学会誌, **11**, 24-32 (2007).
- 15) 柴田賢哉, 石原理子, 中津沙弥香, 梶原 良, 坂本宏司, 凍結含浸法によるジャガイモ組織内オリゴ糖の生成, 日本食品科学工学会第 52 回大会講演要旨集, p129 (2007).
- 16) 坂本宏司, 中津沙弥香, 石原理子, 柴田賢哉, 調理食品の製造方法, 特開第 2008-11794 号, 2008.1.24.
- 17) 坂本宏司, 柴田賢哉, 中津沙弥香, 石原理子, 医療用検査食およびその製造方法, 特開第 2007-204413 号, 2007.8.16.
- 18) 中津沙弥香, 柴田賢哉, 石原理子, 坂本宏司, 凍結含浸法により作製した咀嚼・嚥下困難者用食品の摂食試験, 第 13 回日摂食嚥下リハ学会学術大会要旨集, 229 (2007).
- (平成 20 年 6 月 30 日受理)