

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月17日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K16191

研究課題名(和文)凍結濃縮相に着目した氷結晶粗大化抑制技術の開発

研究課題名(英文)Development of Recrystallization control technology focusing on Freeze-Concentrated Phase

研究代表者

君塚 道史(KIMIZUKA, NORIHITO)

弘前大学・農学生命科学部・准教授

研究者番号：90553446

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)：本研究では主に懸濁物質を添加した際の再結晶化制御に関する検討を行い、新たに以下の成果を得る事ができた。特定のシリカ粒子やセルロース繊維が水溶液中に存在すると氷の再結晶化速度は低下する。氷の再結晶化が確認できる上限温度は懸濁物の有無に関わらずスクロース溶液であれば -4°C 、グルコース溶液では -3°C 付近となる。再結晶化速度定数のアレニウスプロットは何れの溶液も $-10\sim-30^{\circ}\text{C}$ の範囲で単一の直線となるが、特定の温度から単一でなくなる。氷の再結晶化が確認される上限温度(-4°C)で保持した際の融解潜熱量は懸濁物を添加すると保持時間と共に減少する傾向が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

氷の再結晶化抑制に及ぼす懸濁物の影響については不明な点が多いが、微細なシリカやナノファイバーの添加により再結晶化を抑制する事、更にはそのメカニズムの一端を明らかにする事ができた。これらの知見は氷結晶の制御が必要とされる、食品や生体の凍結保存分野の発展に寄与するものと思われる。

研究成果の概要(英文)：We examined the impact of micron sized suspension on recrystallization and found that recrystallization is suppressed when specific silica particles or nanocellulose fibers are dispersed. The authors also confirmed that the Arrhenius plot of the thus obtained recrystallization rate shows a single straight line in the range of -10 to -30°C , but the activation energy of recrystallization varied depending on the type of suspension. In addition, the upper limit temperature at which recrystallization was confirmed was -4°C in the case of sucrose solution and -3°C in the case of glucose solution, regardless of the presence of suspension.

研究分野：食品工学

キーワード：氷結晶

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

氷結晶の再結晶化に関する既往の研究をみると、マグロや牛肉であれば種々の経験式から保存中における粒径変化の見積りが可能である事^[1]。糖水溶液の場合であれば、再結晶化の進行速度は凍結濃縮相の状態、即ちガラス状態となる温度を境にして変化する事^[2]。などが示されている。しかしながら再結晶化の制御は未だ困難であり、学術的に見ても明らかになっていない点が多い。

2. 研究の目的

食品の冷凍保存時における氷の再結晶化制御は、品質（食感など）を維持する上で重要な課題である。したがって、増粘多糖類や不凍タンパク質の添加など、これまでも種々の側面から研究が行われてきた。しかしながら再結晶化の制御は未だ困難であり、学術的にも不明な点が多い。そこで本研究では水溶液中に存在する溶質や懸濁物に着目し、これらが再結晶化におよぼす影響について、横断的な解釈を与える事を目的として研究をおこなった。

3. 研究の方法

(1) 分散溶液の調製

1.0mol/kg グルコース水溶液と 1.0mol/kg スクロース水溶液を用いた。尚、スクロース水溶液についてはナノセルース繊維を 0.5wt%またはシリカ粒子を 2.0wt%それぞれ添加し、超音波ミキサーで分散した。懸濁物については合成シリカ（富士シリシア化学：サイリシア 310P, 370, 710）、ナノセルロースファイバー（株式会社スギノマシン:BMa-10002）またはキチンナノファイバー（表面をキトサン化、平均繊維径 6nm）を用いた。

(2) 氷結晶観察

厚さ 0.012~0.017mm、φ16mm のカバーガラス 2 枚の間に溶液 1μL とスぺーサーとして SUS 製シムリング（岩田製作所：RS012016001）を挟み、顕微鏡用冷却ステージ（Linkam Scientific Instruments：HF95）に設置した。ステージの温度履歴については、-60℃まで -90℃/min で冷却後、保持時間を置かず -10℃まで +5℃/min で昇温し、5 分間保持した。その後、再び -90℃/min にて -15~-35℃まで降温または +5℃/min にて -3~-10℃まで昇温し、各温度で 10 時間保持した際の再結晶化を観察した。尚、観察についてはデジタル顕微鏡（KEYENCE 社製：VHX-900）を用い、30 分間隔で撮影した。

(3) 熱分析による氷結晶量の測定

示差走査熱量計（Shimadzu：DSC 60）を用いた。試料量は 25.0±0.1mg とし、DSC の試料容器内で再結晶を促進した後、融解エンタルピーを測定した。温度履歴については、-10℃/min で -55℃まで冷却し 10 分間保持した後、+5℃/min にて -4℃まで昇温して 60~480 分間保持した。その後、再び +5℃/min で室温まで昇温して融解熱量を測定した。

4. 研究成果

(1) 懸濁物の添加が再結晶化速度に及ぼす影響

ー合成シリカー

1.0mol/kg スクロース水溶液に対し、微細な合成シリカを 3wt% 懸濁させた場合の再結晶化過程（-10℃にて 7 時間経過時）を Fig.1 に示す。画像から 310P を添加するとスクロース水溶液単体と比べ氷結晶は小さいが、370 を添加した場合には殆ど違いはない事がわかる。これらの氷結晶画像を画像解析し、得られた等価円半径 r の 3 乗と保持時間の関係を Fig.2 に示す。合成シリカを懸濁した場合であっても水溶液単独の場合と同様に直線関係が成立

するが、勾配（速度定数）に着目すると 310P<スクロース水溶液<370 の順となり、同じ組成のシリカでは粒径が微細な方が速度定数は小さくなる事がわかった。一方、710 については 310P と同等の半径でありながら 370 の勾配に近く、スクロース水溶液と大差は無いが、この理由としてはシリカ表面の性状に因るものと思われる。

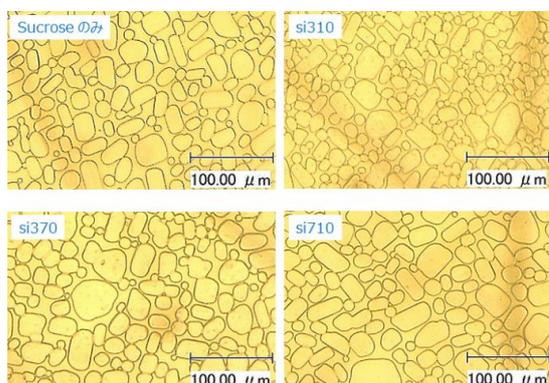


Fig. 1 -10°Cにて7時間経過後の水結晶（微細シリカ）

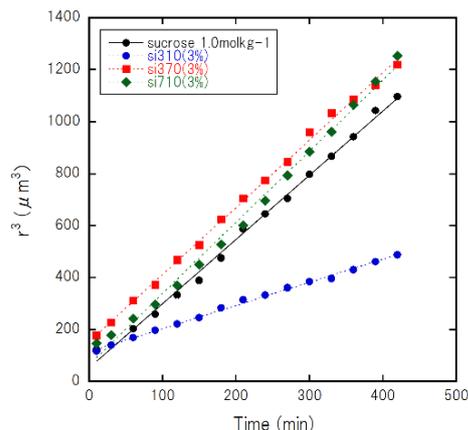


Fig. 2 r^3 の経時変化（微細シリカ）

ーナノファイバー

1.0mol/kg スクロース水溶液に対し、キチンナノファイバーを 0.2~1.0wt%懸濁させた場合の再結晶化過程（-10°Cにて7時間経過時）を Fig.3 に、 r^3 の経時変化を Fig.4 に示す。0.1 wt %ではスクロース水溶液のみと同等であるが、0.2 wt %では抑制され、0.5 wt%より高濃度では再結晶化が殆ど進行しなかった。よって、キチンファイバーは合成シリカと比べて再結晶化を抑制する能力は高いことがわかる。また、 r^3 の変化を詳細に見ると 0.2 wt %では 120min 付近、0.5 wt %と 1.0 wt %では 60min 付近まで増加するが、それ以降は殆ど変化していない。これは再結晶化により凍結濃縮相内におけるファイバーの分布が変化している事が要因と考えられる。即ち、再結晶化により氷結晶の表面積が低下し、結晶近傍のファイバー濃度は増加するが、初期濃度が高ければ短時間で濃度上昇し、再結晶化の障壁として働いたと考えられる。

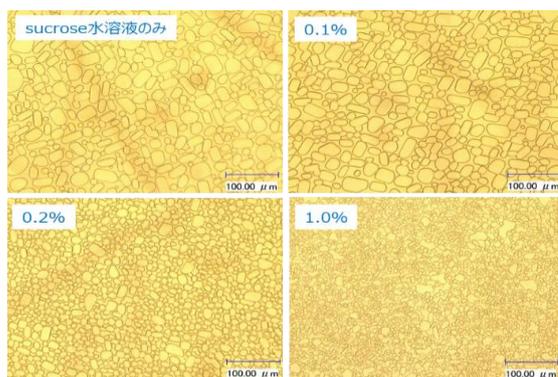


Fig. 3 -10°Cにて7時間経過後の水結晶（ナノファイバー）

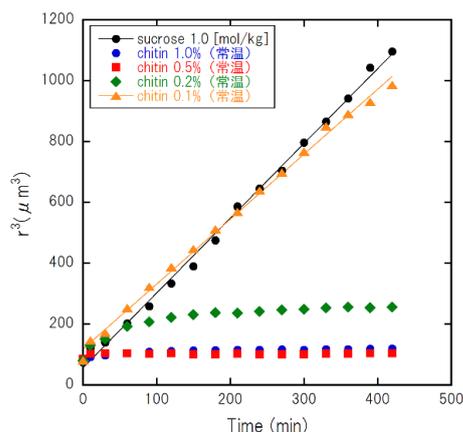


Fig. 4 r^3 の経時変化（ナノファイバー）

(2) 再結晶化速度の温度依存性

Fig. 5 に 1.0mol/kg グルコース水溶液、1.0mol/kg スクロース水溶液および 1.0mol/kg スクロース水溶液にナノセルロースファイバーを 0.5wt%、または合成シリカ（310 P）を 2.0wt%添加した懸濁液の再結晶化速度定数のアレニウスプロットを示す。図は-4°Cから

-35°Cで保持した場合のプロットであるが、何れの溶液も特定の温度を境に単一の直線にならなかった。即ち、スクロース水溶液とスクロース水溶液の懸濁液では-8°Cを境に高温側で活性化エネルギーは大きくなり、グルコース水溶液については-4°Cを境に大きくなる事がわかった。この様にアレニウスプロットの勾配が変化したことは、-8°Cと-4°Cを境に再結晶化のメカニズムが変化した事を示唆している。

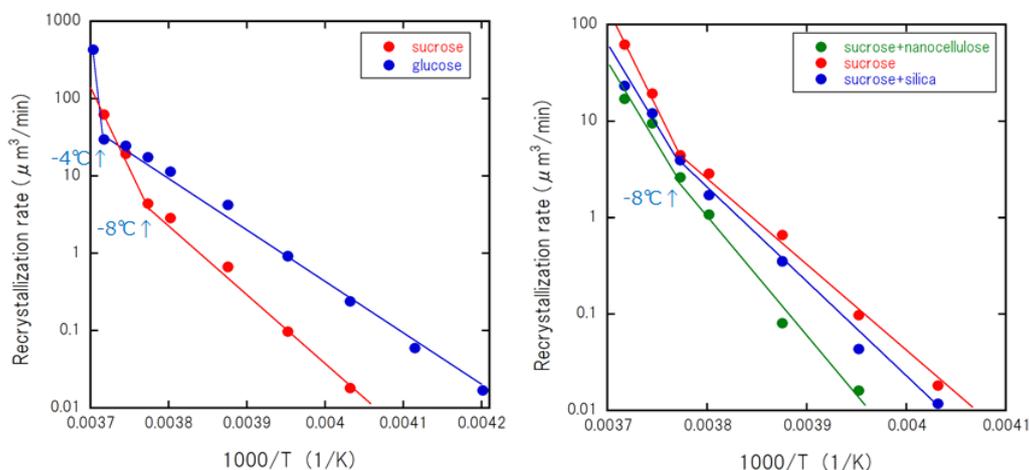


Fig. 5 速度定数のアレニウスプロット (-4°C~-35°C)

(3) 懸濁物の添加が再結晶化後の氷結晶量に及ぼす影響

(2) で得られた再結晶化速度定数の温度依存性を考察する為、再結晶化が確認できる上限温度 (-4°C) で先の懸濁液を 60~480 分保持した際の氷結晶の量 (融解エンタルピー) を DSC にて測定した。その結果、保持時間を置かず昇温した場合であれば、溶液間で融解熱量に差は無いが、懸濁物を添加すると熱量の減少が確認された。即ち、480 分間保持後の熱量はナノセルロース繊維<シリカ粒子<スクロース水溶液 (懸濁なし) の順となり、各懸濁液を-4°Cで保持した際の再結晶速度定数の大小関係と一致した。懸濁物の添加により氷結晶量が減少した理由については不明であるが、濃縮相における懸濁物の表面が氷の曲率に影響し、局所的に融点降下した可能性が考えられる。 Fig. 6 に各溶液を-4°Cで 10 時間保持した際の氷結晶画像を示す。何れも保持時間と共に氷結晶は再結晶化しているが、見た目の氷結晶量を比較すると水溶液と比べ懸濁物を添加した方が明らかに少なく、さらにはシリカ添加よりもナノセルロース繊維添加の方が少ない傾向にある事が分かった。一方、再結晶化時の結晶形状についてはスクロース水溶液の場合は何れも円形となるが、グルコース水溶液は楕円となった。スクロース水溶液の形状は懸濁物の有無や種類によらない為、再結晶化時の氷結晶形状は溶質の種類に関係することがわかった。

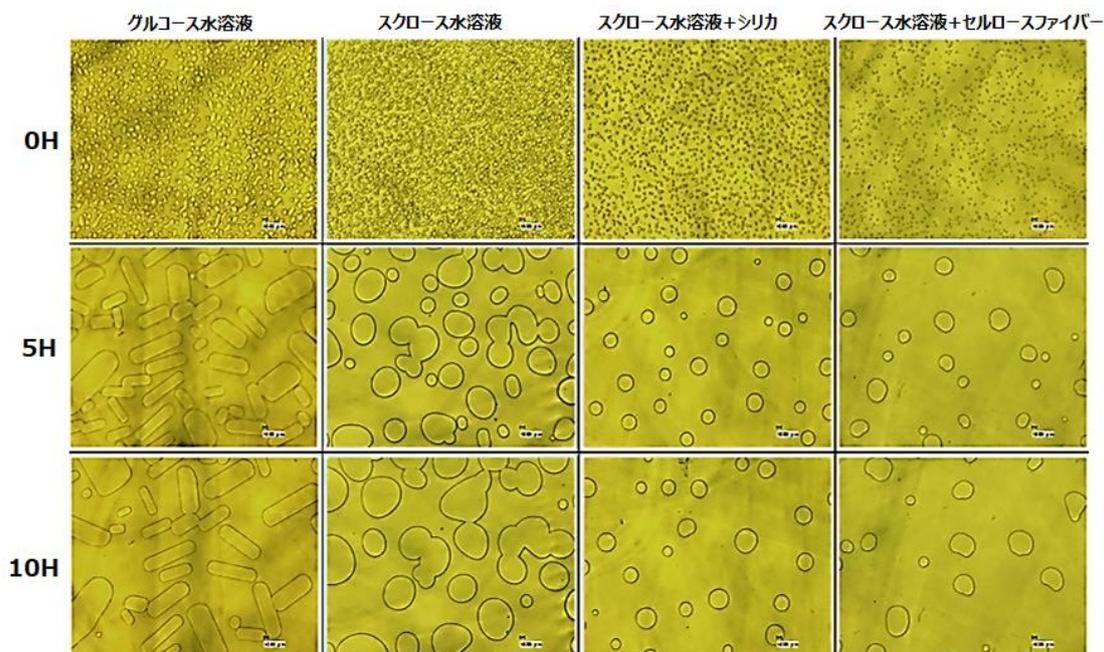


Fig. 6 -4°Cで10時間保持した際の氷結晶画像

〈引用文献〉

- [1] A. E. Beviacqua and N. E. Zaritzky : J.Food Sci., 47,1410-1414 (1982)
 [2] T. Hagiwara, J. Mao, T. Suzuki, R. Takai : Food Sci. Technol. Res., 11, 407-411 (2005)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

- ① Rika KOBAYASHI, Norihiko KIMIZUKA, Manabu WATANABE, Fumio TAKENGA, Toru SUZUKI, Transactions of the Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers, 査読あり, vol.35, No.3, 2018, 269-276
 ② Rika KOBAYASHI, Norihito KIMIZUKA, Toru SUZUKI, Manabu WATANABE, Int. J. Refrigeration, 査読あり, 2015, 277-270

〔学会発表〕(計7件),

- ① 君塚道史、懸濁水溶液における氷の再結晶化の温度依存性、日本冷凍空調学会、2018
 ② 君塚道史、凍結履歴がグルコマンナンゲルの力学物性に及ぼす影響、日本食品工学会、2018
 ③ 君塚道史、懸濁水溶液における氷の再結晶化の温度依存性、日本冷凍空調学会、2018
 ④ 君塚道史、懸濁水溶液における氷の再結晶化の温度依存性、日本冷凍空調学会、2017
 ⑤ 君塚道史 他、ナノファイバーが水の結晶化過程に及ぼす影響、日本食品工学会、2017
 ⑥ 君塚道史 他、ナノファイバー水溶液における氷の再結晶化、日本冷凍空調学会、2016
 ⑦ 君塚道史、懸濁水溶液の氷結晶粗大化日本冷凍空調学会、2015

〔図書〕(計2件)

- ① 君塚道史 他、恒星社厚生閣、水産学シリーズ(186)、2017、98
 ② 君塚道史 他、付加価値化・生産性向上のための最先端食品加工技術、S&T出版、2017、93

〔産業財産権〕

- 出願状況(計0件)
 ○取得状況(計0件)

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。