

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K06192

研究課題名（和文）高周波超音波振動と交番磁場を併用した過冷却の促進による食品の高品質冷凍技術の開発

研究課題名（英文）Development of high-quality cryopreservation technique of food by enhancement of supercooling utilizing ultrasonic vibration and alternating magnetic field

研究代表者

多田 幸生 (Tada, Yukio)

金沢大学・機械工学系・教授

研究者番号：20179708

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000 円

研究成果の概要（和文）：超音波振動と交番磁場を利用した過冷却の促進とそれを利用した食品の高品質冷凍技術の開発を目的に、超音波振動と交番電場が水および組織体の過冷却に及ぼす影響を実験的に追究した。1MHzの高周波超音波振動を水に付与すると、低過冷却度での核生成の抑制および過冷却度の分散を小さくする傾向が見られたが、平均的には有意な過冷却促進効果は得られなかった。一方、模擬食品としての寒天ゲルに対しては超音波の吸収に伴う発熱作用が顕著に現れ、この効果を利用した温度制御により組織全域を過冷却状態へ移行させ、それを解除することで組織体全域を急速凍結できることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食品を安全かつ美味しく凍結保存する技術の確立が求められている。しかし、凍結の過程では細胞レベルのミクロ現象が生じ、これが各種の損傷を発生させ、解凍後、ドロップ（液汁）や食感の低下などの品質劣化を招く。この問題に対処する有効な技術として、本研究課題では、高周波超音波振動を利用して組織体内部の温度を制御する方法を提案し、組織全域を過冷却状態から急速凍結できることを操作条件と関連づけて明らかにした。本研究成果は食品の品質を劣化させない効果的な凍結技術の開発につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：A method to actively controlling crystallization is one of promising technique for cryopreservation of food. The object of this project is to study the effects of ultrasonic vibration and alternating electric field on supercooling of water and biological tissue. Firstly, water in a test tube was cooled at constant cooling rate with ultrasonic vibration at frequency of 1 MHz. As the results, release of supercooling at higher temperature was suppressed by applying ultrasonic vibration, although the average supercooling degree was not enhanced. Next, we focus on the thermal effect of ultrasound as changing temperature distribution in tissue, directional freezing experiments of cylindrical agar gel immersed in low temperature solution were carried out. It was found that ultrasound at high frequency is effective to enlarge supercooled region in the tissue. The lengths of supercooled region were clarified in relation to ultrasonic power and cooling condition.

研究分野：熱工学，伝熱工学

キーワード：凍結 過冷却 超音波振動 核生成 食品

### 1. 研究開始当初の背景

コールドチェーンの発達に伴って食品を安全かつ美味しく凍結保存する技術の確立が求められている。凍結保存は原理的には、低温化と活性水分の低減により生化学反応の抑制を図るものであるが、凍結の過程で細胞レベルのマイクロ現象が生じ、これが各種の機械的損傷や膠質的損傷に繋がる。特に細胞内外の氷晶の成長は組織の形態変化や破壊をもたらし、また、細胞の脱水は含有成分の濃縮に伴うタンパク質の変性に繋がる。その結果、解凍後、ドリップ（液汁）の発生や食感の低下などの品質劣化を招く問題がある。

この問題に対処するため、従来は急速凍結が用いられてきた。たとえば、代表的な凍結法であるエアブラスト法では、冷風を食品に吹き付けて凍結させるため、食品内部では冷却速度が低下し、氷晶の肥大化により食品の細胞が破壊されやすくなる。このため、適用寸法に制限がある。

したがって、従来の方法とは原理の異なる新しい凍結技術の開発が必要であり、食品の品質（風味、テクスチャー）を劣化させない効果的な凍結技術の開発が課題となる。

### 2. 研究の目的

本研究では、超音波振動と交番磁場を同時に付与することにより凍結過程における氷晶形成の能動的制御を追究する。超音波振動による機械的作用および交番磁場による誘導電流的作用により、水分子の水素結合ネットワークを攪乱し、それを利用して、細胞内外の水の過冷却を促進し、高品質な凍結を実現する。すなわち、大きな過冷却度の状態に持ち込んでから凍結させることで、細胞の脱水による膠質的損傷を防ぎ、さらに細胞内外の氷結晶を微細化することにより機械的損傷の軽減を図ろうとするものである。このような凍結技術の開発を行うため、本申請研究では、(1)水の過冷却に及ぼす超音波振動および交番磁場の効果、(2)組織体凍結に及ぼす超音波振動の効果、(3)凍結組織体の解凍過程に及ぼす超音波振動の効果について検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 水の過冷却に及ぼす高周波超音波振動の効果

水の過冷却に及ぼす高周波超音波振動の影響を調べるため、定在音場中で試料液を一定の冷却速度で冷却し、凍結させる装置を製作した。装置の概要を図1に示す。装置は、試料を凍結する試験部、冷却液循環系、熱電対を用いた温度測定系で構成される。試験部はアクリル製の円筒容器内に超音波照射のための圧電素子（共振周波数 1MHz）を設置したものである。プログラム式低温恒温槽を用いて、一定速度(0.2K/min)で温度降下させた 50wt%エチレングリコール水溶液を循環させることで、試験容器に装てんした試料液を一定速度で冷却した。試料液は液体クロマトグラフ用高純度蒸留水とした。試験容器は音波振動の伝播を妨げないようにするため、水と音響インピーダンスが近いポリプロピレン製の半透明円筒（内径 14mm）の底面に OHP シートを貼り付けた構造とした。充填した試料液は外気の影響を避けるため、1 ml のシリコンオイル（比重 0.97）で密封した。試料液の温度は容器底面および側面に設置した T 型熱電対（素線径 0.2mm）で測定した。実験は圧電素子の駆動電力（超音波出力）を 0~20W の範囲で変化させて行い、過冷却解消温度の測定と核生成の様相の観察を行った。

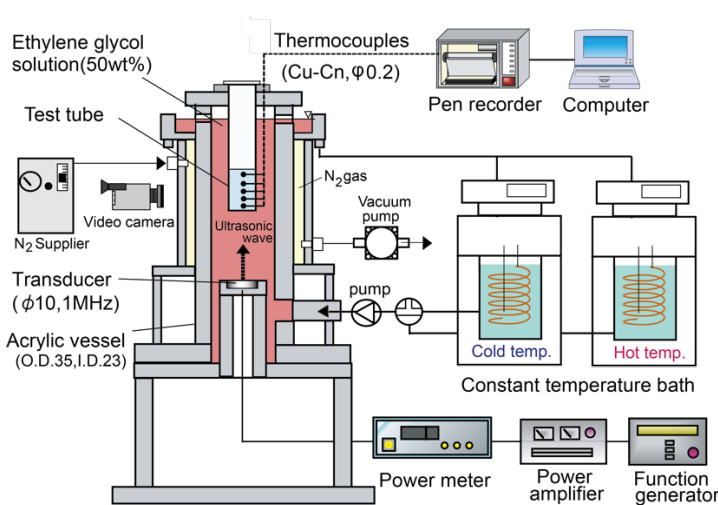


図1 実験装置

#### (2) 組織細胞の凍結に及ぼす高周波超音波振動の効果

組織体の凍結実験では、寒天ゲル（2wt%アガロース，8wt%スクロース）をアクリル製の円筒容器に鑄込み、供試試料（直径 6.5mm，長さ 16mm）とした。試料内の温度分布は側面から装て

んした 5 本の T 型熱電対により測定した。実験は照射する超音波出力を 20W で一定とし、循環させるエチレングリコール水溶液の温度を $-13.5^{\circ}\text{C}\sim-20^{\circ}\text{C}$ の範囲で変化させて行い、試料内温度の経時変化の測定と凍結様相のビデオ観察を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) 水の過冷却に及ぼす超音波振動の効果

試料液を冷却すると凝固点温度を下回っても未凍結な状態、すなわち過冷却状態となる。さらに冷却を続けると試験容器内で核生成が起こり、凝固潜熱の放出に伴う温度上昇が現れる。試料液の凝固点温度と過冷却状態を維持したまま到達できた最低温度との差を過冷却度  $\Delta T$  と定義した。図 2 に水の過冷却度と超音波出力の関係を示す。出力 5W 以上の超音波振動を付与した場合、過冷却度の平均値は通常冷却 ( $P=0\text{W}$ ) よりも大きくなったが、99%の信頼区間を上回るには至らず、有意差は見られなかった。しかし、低過冷却度における核生成については抑制される傾向が見られ、過冷却度の最小値が向上している。また、過冷却度の分散は通常冷却と比較して小さくなる傾向が見られた。これらの結果から、超音波振動による微弱な過冷却解除の抑制効果が示唆される。以上の結果を総合すると、低過冷却度での核生成が抑制される傾向がみられたが、より大きな過冷却度の条件では超音波振動による過冷却促進効果は見られず、本研究の目標である大幅な過冷却促進が難しいと判断した。なお、交番磁場については過冷却に及ぼす明確な効果は得られなかった。

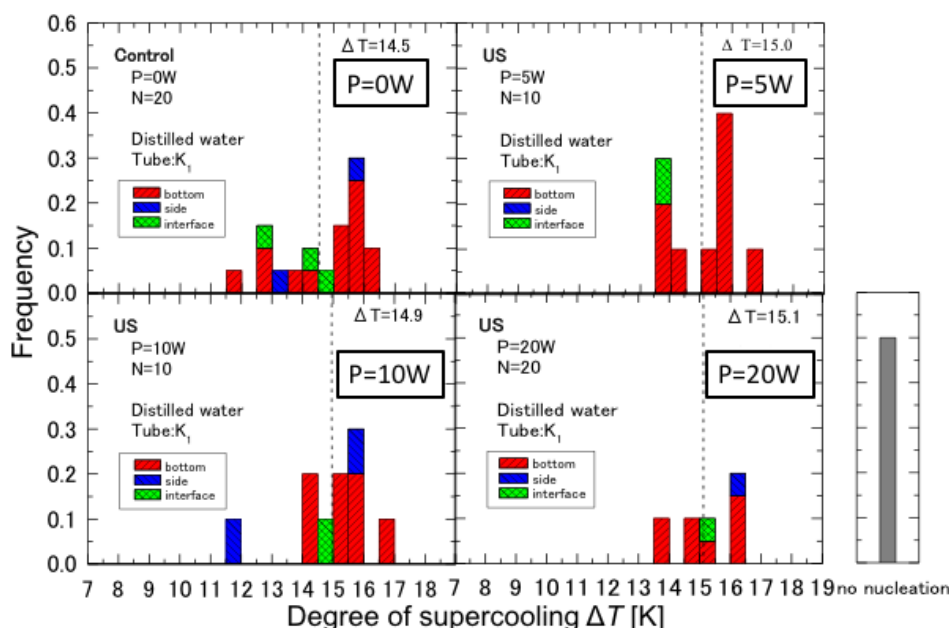


図 2 水の過冷却に及ぼす高周波超音波振動の効果

##### (2) 超音波振動を利用した組織体の凍結制御

模擬食品としての寒天ゲルを対象に超音波照射下での一方向凍結実験を行った。その結果、高周波超音波の吸収に伴う発熱作用が顕著に現れることを見出した。そこで、この効果を利用した組織体凍結の制御について検討を進めた。一般に、組織体を冷却すると表層部に過冷却域が形成される。過冷却域では、過冷却を原資とした急速凍結となるため、微細な氷結晶が生成され、各種の凍結損傷が軽減されると考えられる。しかし、通常の冷却方法では、過冷却域は組織体表層部に限定される。そこで超音波を照射しながら冷却することで、試料内に局所的に内部発熱の領域を形成する。これにより温度勾配を緩やかにした状態で試料全体の温度を降下させることが可能となり、その結果、過冷却域を拡大できると予想される。予備実験として、 $5^{\circ}\text{C}$ の循環冷却液中に置かれた試料に 20W の超音波を連続照射した場合、試料全域で温度上昇が見られ、試料全域への音波伝播と音波吸収による発熱作用が確認された。

超音波照射下で試料を冷却した場合の試料温度の経時変化を図 3 に示す。寒天ゲルの音波吸収に伴う発熱と試料端面からの冷却のバランスにより、試料は一定温度に維持され、かつ試料内の温度勾配は緩やかとなる。この状態で試料全域は過冷却状態になっていると考えられ、超音波照射を停止し、再び温度降下させると試料表面で核生成が起こり、試料全域が 6 秒程度の時間で凍結した。以上の結果から、本手法で、組織体全域を過冷却状態になるように冷却することが可能となり、それを解除することが組織体全域を急速凍結できることが実証された。

次に、本研究課題で製作した蛍光観察法とスライサーを組み合わせた観察装置を用いて、過冷却状態から凍結した試料内に形成される氷晶径を測定した。その結果、本手法により凍結過程で

生成される氷結晶を微細化できることが実験的に確認された。

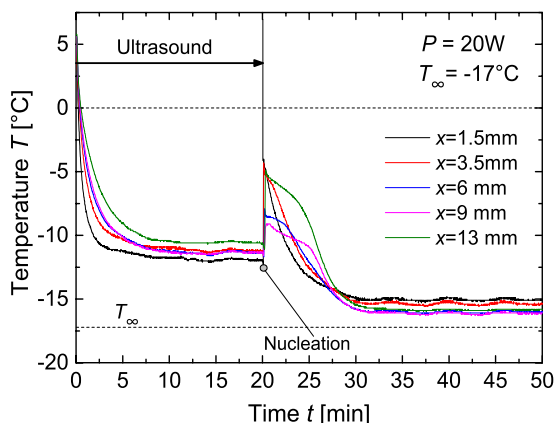


図3 冷却曲線（冷却液温度 $-20^{\circ}\text{C}$ ，超音波出力 $20\text{W}$ ）

(3)過冷却域の長さ

核生成開始時の試料表面の過冷却度と冷却液温度の関係を図4(a)に示す。これより核生成温度に及ぼす超音波照射の顕著な影響は見られなかった。長さ $16\text{mm}$ の寒天ゲルに対して過冷却凍結した領域の長さを図4(b)に示す。超音波を照射しない通常冷却では、熱的寸法効果により冷却速度が速いほど過冷却凍結する領域は短くなる。一方、超音波照射した場合、音波吸収に伴う発熱作用により組織内の温度勾配を小さくし、組織全域をほぼ一様な過冷却度に行うため、組織全域を過冷却凍結することが可能となった。ただし、冷却液温度が $-20^{\circ}\text{C}$ 以下の条件では、音波吸収に伴う発熱量よりも冷却熱流束が大きくなるため、全域を過冷却凍結することは困難となることに注意が必要である。

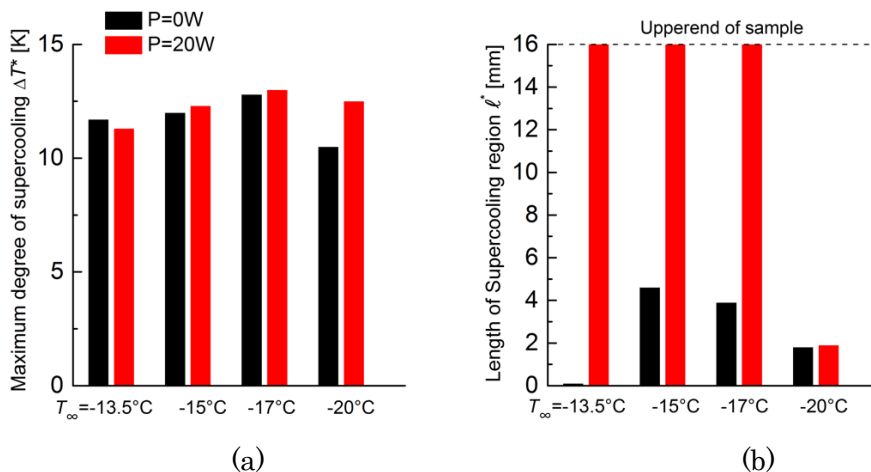


図4 過冷却度および過冷却凍結長さに及ぼす高周波超音波振動の効果  
((a)過冷却度, (b)過冷却凍結長さ)

(4)高周波超音波を利用した組織体の解凍の促進

高周波超音波を照射しながら解凍することで、試料内部の解凍速度の向上を図り、それにより解凍過程で生ずる氷結晶の粗大化による損傷を軽減する方法について実験的に検討した。その結果、従来の気流解凍および流水解凍と比較して、試料内温度が $5^{\circ}\text{C}$ を超えないように維持しながら、試料全域を急速解凍できることが見出された。高品質な食品凍結技術を確立する上で、凍結損傷と解凍損傷の両方を抑制する必要があり、高周波超音波を利用することで急速凍結と急速解凍が実現できた点は本研究の成果である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 青木和也, 多田幸生, 大西元, 春木将司	4. 巻 -
2. 論文標題 高周波超音波を利用した凍結組織体の高品質解凍（水に対する超音波の選択的加熱効果）	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 2019年度日本冷凍空調学会年次大会講演論文集	6. 最初と最後の頁 D313
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y.Tada, K.Nishikawa, H.Onishi and M.Haruki	4. 巻 -
2. 論文標題 Active Control of Freezing of Biological Tissue by Utilizing High-frequency Ultrasonic Vibration	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of The 29th International Symposium on Transport Phenomena	6. 最初と最後の頁 ISTP29-191
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 青木和也, 多田幸生, 大西元, 春木将司	4. 巻 -
2. 論文標題 高周波超音波振動を利用した凍結組織体の解凍	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本機械学会熱工学コンファレンス2018講演論文集	6. 最初と最後の頁 E112
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1299/jsmeted.2018.0152">https://doi.org/10.1299/jsmeted.2018.0152</a>	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 西川晃平, 多田幸生, 大西元, 春木将司	4. 巻 -
2. 論文標題 高周波超音波振動を利用した組織体凍結の制御	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 2017年度日本冷凍空調学会年次大会講演論文集	6. 最初と最後の頁 C211
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 青木和也, 多田幸生, 大西元, 春木将司
2. 発表標題 高周波超音波を利用した凍結組織体の高品質解凍（氷に対する超音波の選択的加熱効果）
3. 学会等名 2019年度日本冷凍空調学会年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Y.Tada, K.Nishikawa, H.Onishi and M.Haruki
2. 発表標題 Active Control of Freezing of Biological Tissue by Utilizing High-frequency Ultrasonic Vibration
3. 学会等名 The 29th International Symposium on Transport Phenomena (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 青木和也, 多田幸生, 大西元, 春木将司
2. 発表標題 高周波超音波振動を利用した凍結組織体の解凍
3. 学会等名 日本機械学会熱工学コンファレンス2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高周波超音波を利用した食品の高品質解凍技術の開発
2. 発表標題 青木和也, 多田幸生, 大西元, 春木将司
3. 学会等名 日本伝熱学会北陸信越支部春季セミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西川晃平, 多田幸生, 大西元, 春木将司
2. 発表標題 高周波超音波振動を利用した組織体凍結の制御
3. 学会等名 2017年度日本冷凍空調学会年次大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大西 元  (Onishi Hajime)  (80334762)	金沢大学・機械工学系・助教   (13301)	
研究分担者	春木 将司  (Haruki Masashi)  (90432682)	金沢大学・機械工学系・准教授   (13301)	