

平成 21 年 5 月 10 日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19500672
 研究課題名（和文） 品質モニタリングのための冷凍食品解凍過程の分子運動変化の
 小型MRIによる解析
 研究課題名（英文） Analysis of molecular mobility during thawing for monitoring
 frozen foods quality by small dedicated MRI apparatuses
 研究代表者
 小泉 美香 (KOIZUMI MIKA)
 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所食品分析研究領域・契約
 研究員
 研究者番号：90391200

研究成果の概要：冷凍食品、肉類および魚介類の解凍過程を、1テスラ小型MRIを用いてMRイメージとNMRスペクトル変化によって解析した。末端店頭保存温度（-18℃）で、冷凍豚肉では油脂の一部が、冷凍牛肉では筋肉の水の一部が未凍結で、変質を起こす可能性を残していた。筋肉の水が先に、油脂は遅れて融解し、解凍における問題であるドリップは筋肉の完全解凍後に発生した。冷凍魚類では解凍中に微細組織構造の壊変が起これと考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：非破壊計測

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：食品、冷凍、解凍、magnetic resonance imaging (MRI)、nuclear magnetic resonance (NMR)

1. 研究開始当初の背景

(1) 業務用から家庭用食材へ拡がりつつある冷凍食品は、長期保存性と利便性の故に生活の時間的余裕と、料理の選択肢の広がりを生み、食文化のグローバル化をもたらした。反面、品質変化に気付きにくい、組織の変化が大きい、風味を損ない易いという問題がある。さらに、解凍方法と調理法は冷凍食品の価値を左右するとされているにも関わらず、組織、形状、性質などが異なる個々の冷凍食品について、昇温中に起こる食品内部の物性

変化を経時的、系統的に捉えようとする科学的な解析はあまりなされてこなかった。最近、冷凍食品の解凍は、凍結の単なる逆反応という単純な扱いをできないことが示されている (Delgado and Sun, 2003, *J. Food Eng.*, **57**: 383-389; Taher and Farid, 2001, *Chem. Eng. Pro.*, **40**: 379-389)。

(2) MRI(magnetic resonance imaging)は、氷結状態の運動性を持たない化合物からは信号を得られないが、解凍され運動性を獲得

した化合物の信号は検出できるので、ヘテロな構造を持つ食品内部の部位別凍結状態を可視化できる (Kerr *et al.*, 1998, *Lebensm. -Wiss. u. -Technol.*, **31**: 215-220)。また、解凍後について組織の形態的および物性的変化を解析できる (Nott *et al.*, 1999, *Magn. Reson. Imaging*, **17**: 445-455; Hall *et al.*, 1998, *Magn. Reson. Imaging*, **16**: 485-492)。特に、解凍の途中経過における水と油脂の分子運動の変化を測定できること、ドリップの影響を受けずに内部組織と水、脂質などの状態を観察できることなど、食品の組織構造を保ったままで非破壊的に凍結・解凍が素材の性質に及ぼす影響を把握できる。

(3) 著者らは、食品研究用に新しく開発した小型 MRI を用いて、冷凍野菜の解凍に伴う MR イメージと NMR スペクトルの変化をリアルタイム計測し、潜熱伝達過程を可視化できること (小泉ら, 2005, *食品工業* 48: 56-72)、試料の形状と熱伝導様式の関係の解析ができることを示した (Koizumi *et al.*, 2006, *Magn. Reson. Imaging*, **24**: 1111-1119)。これらの結果は、これまで DSC (示差走査熱量計) や熱電対による温度測定などに限られていた解凍過程の計測手法に新たな局面を拓いた。

2. 研究の目的

(1) 冷凍食品は、米国の規定に従い一律に小売りの店頭保存温度 (-18°C) が決められている。しかし、脂肪組織と筋肉組織が入り組んだ構造を持つ畜肉のように、食品は不均質であり、個別の冷凍食品に対する冷凍庫の保存温度が品質に及ぼす影響、適性保存温度の選択、適正な解凍操作などは不明である。

著者らは、水が多く組織が硬く脆いために冷凍に向かないとされる野菜類について解凍過程の解析を行った (Koizumi *et al.*, 2006, *Magn. Reson. Imaging*, **24**: 1111-1119)。MRI により冷凍食品内部の凍結部位と融解部位の分布、水および油脂の成分による凍結状態の差異などを可視化できる特徴を活かし、本研究では、油脂含量が多く冷凍に適するが解凍時にドリップの発生などが問題となる肉類と、一部のものを除いて脂肪が少なく冷凍に注意が必要な魚介類を対象にして解凍中の水および油脂の MR イメージと NMR スペクトル変化により冷凍食品の多様性を明らかにする。

(2) 測定結果の総合的考察より、冷凍食品の末端 (店頭) 保存温度を評価するとともに食材の形状と熱伝導様式の関係を解明し、凍

結・解凍による構成化合物 (油脂、可溶性固形物) の変質を解析する。これにより、解凍過程を捉える物性パラメーターを把握して品質のモニタリングを行うとともに、組織構造中に存在する油脂の性質とその役割を明らかにする。さらに、解凍後の試料についてリラクソメトリー (励起緩和計測) により分子運動性を解析して、リガンド組織の表面に結合・束縛された水分子と自由水分子との交換に関する性質、すなわち、高分子化合物相互の間のオングストロームからナノメートルのポロシティ (孔隙配置) および孔隙表面構造の変化に関する情報を得る。

(3) 測定セルの径が小さな (30 mm) 食品研究用 1 テスラ小型 MRI による冷凍野菜の解凍過程の解析で、MRI パラメーターが冷凍食品の性質に関して有用な情報をもたらすことを明らかにしたが、測定できるのは小さな試料であり、また、装置の測定セル温度 (28°C) における自然解凍に限られていることが本研究の進行の制限の一つであった。そこで、測定セル (試料挿入部) に温度コントロール装置を作製し、低温緩慢解凍のように通常行われている解凍条件を再現し、より実情に即した条件における測定、解析を試みる。また、開発中の測定室の大きな (110 mm) 小型 MRI の解凍過程解析への応用を試みる。

3. 研究の方法

(1) 材料: 市販 (-18°C で保存) の冷凍豚肉、冷凍牛肉および冷凍魚 (カレイなど) を -20°C の冷凍庫に保存し、供試した。これらは実際に消費者が入手できる冷凍食材である。また、モデル試料として -40°C で凍結した豚肉、牛肉および魚介類を使用した。

(2) MRI による測定: 1 テスラ (T; 磁場強度の単位) 永久磁石を備えた小型 MRI (図 1) および 0.2T 小型 MRI (図 13) を使用した。これらは、食品研究用に開発された設置面積 2 m^2 以下、卓上電源仕様、メンテナンスフリーで Windows をオペレーションシステムとする操作が簡単な装置である (Koizumi *et al.*, 2006, *Magn. Reson. Imaging*, **24**: 1111-1119; 小泉ら, 2009, 日本農芸化学会大会)。

試料の形態的特徴は 3D スピンエコー法および 3D グラディエントエコー法によって解析した。解凍過程は、2D スピンエコー法、3D グラディエントエコー法および NMR スペクトルによって追跡した。スペクトル測定において、ラジオ波前照射なしの条件では試料中の水および油脂の全量が検出される設定である。TR=0.1 s、16 回前照射の条件では運動性

が低い水および油脂の成分が検出される。

組織構造との相互作用による水および油脂の運動性は、緩和時間 (T_1 および T_2) 強調イメージによって解析した。組織の水および油脂の分布は Dixon 法により測定した。



図1 食品研究用1T小型MRIの外観

(3) 温度調節検出器および温度調節試料管: 測定セル径 30 mm の 1T 小型 MRI について液冷 (ガルゲン使用) 式温度調節検出器を用い、冷凍ソーセージの解凍を追跡した。測定セル径 110 mm の 0.2T 小型 MRI については空冷式試料ホルダーを設計作製し、ミカンおよび牛肉の冷凍過程の測定により、性能のテストを行った。

4. 研究成果

(1) 冷凍牛肉と冷凍豚肉の解凍過程

市販の冷凍豚肉と冷凍牛肉を -20°C で保存し、解凍過程の 2D イメージおよび水と油脂のスペクトルを経時的に追跡した (Koizumi *et al.*, 2008, *Food Sci. Technol. Res.* 14: 74-82)。豚肉では解凍開始後直ぐに (5 分) 弱い油脂 (f) のシグナルが認められ、その後は筋肉の水 (m) が先行して解凍した。油脂は遅れて融解したが、45 分頃に均一にシグナルが全体に広がり、その後さらに、脂肪

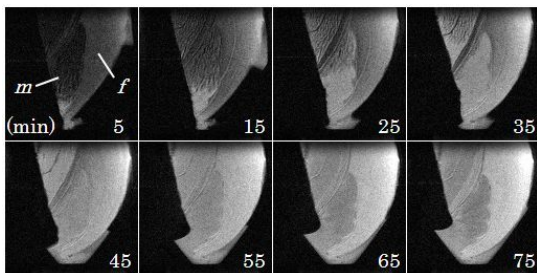


図2 冷凍豚肉の解凍過程のイメージ変化

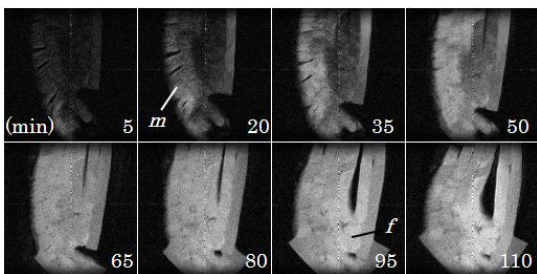


図3 冷凍牛肉の解凍過程のイメージ変化

組織のシグナルが強くなった (図 2)。牛肉でも傾向は同じであり、筋肉の水のシグナルは 65 分頃まで先に強くなり、その後、脂肪組織のシグナルが強くなった (図 3)。スペクトル変化によると、豚肉 (図 4A) では冷凍庫から出した直後にかなり大きな油脂 (1 ppm 付近) のシグナルが認められたのに対し、牛肉 (図 4B) では、解凍開始時 (0 分) に水 (5 ppm 付近) のシグナルが認められたこと、解凍過程において水のスペクトルが複数のピークとなったことから牛肉の筋肉の組織構造が豚肉より複雑であること、さらに、脂肪の融解に長時間を要したことから、牛脂は豚の脂肪より融点が高いという差異があることを明らかにした。

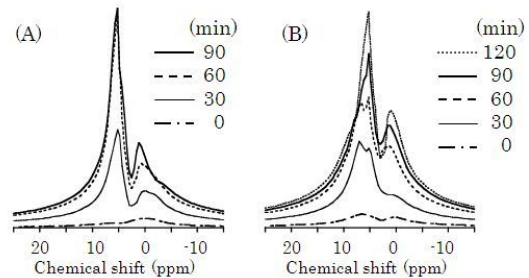


図4 冷凍牛肉の解凍過程のイメージ変化

(2) 脂肪交雑の異なる牛肉の脂肪構造と解凍の解析

異なる脂肪交雑等級のサーロインステーキについて T_1 強調イメージを示す (図 5)。 T_1 強調イメージでは測定パラメーターを縮める ($TR=0.1\text{ s}$) ことによって、脂肪の存在部位のシグナルを強調することができる。また、数枚の T_1 強調イメージをもとに分子運動性の指標である T_1 値 (図 5, 右端) を求めることができる。

脂肪組織の構造を T_1 強調条件の 3D イメージによって調査した。肉質等級が低い肉では、筋肉組織への脂肪組織の侵入は極めて少ない (図 6A)。等級が高くなると、脂肪組織は筋肉内に筋線維に沿って平行に発達し、直角方向のイメージでは、筋肉は糸を結んだレースのような模様となった (図 6B)。これは、マーブリングといわれる。等級が高い肉では平行

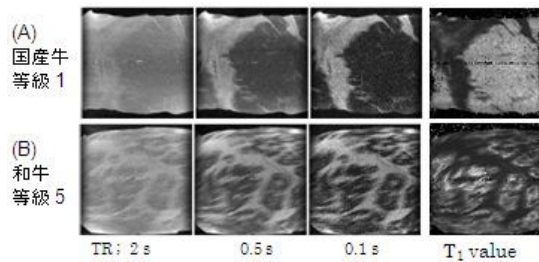


図5 牛肉の T_1 強調イメージと T_1 値イメージ

に発達した脂肪は互いに交叉、結合している様子が分かる。脂肪組織が発達した牛肉の脂肪組織と筋肉とのインターフェースは口当たりを決める要素である。

-40℃で凍結した肉の解凍過程をスペクトルで追跡すると、等級の低い肉(図7A)において、筋肉の水は時間と共に直線的に解け、完全解凍後にシグナル強度が低下する傾向を示した。ドリップの発生により水が重力で測定範囲外に落下したためであると考えられる。等級の高い(4)肉でも、運動性が高い水はほぼ直線的に増加し、解凍後シグナルは低下した(図7B)。全水の20%を占める運動性が低い水は凸カーブで増加し(図7C)、完全解凍後シグナル強度が低下した。運動性が高い油脂のシグナルは時間と共に増加し(図7B)、運動性が低い油脂は解凍開始直後と水の完全解凍後の二段階に分かれて融解した(図7C)。脂肪組織に含まれる油脂には、運動性が高く水の解凍とともにシグナルが増加する成分(I)、運動性が低く融点が高い成分(II)および運動性が低く融点が高い成分(III)が存在した。これらの油脂成分は、異なる数の一価不飽和脂肪酸を含むトリグリセリド(中性脂肪)、SSM(一分子が不飽和脂肪酸)、SMM(二分子が不飽和脂肪酸)、MMM(三分子が不飽和脂肪酸)であると考えられる。トリグリセリドの運動性があるドメインは類似した構造を持つと仮定すれば、それぞれの油脂成分の量比は、成分IがSMM、成分IIがMMM、成分IIIはSSMに対応する(Yang *et al.*, 1999, *Meat Sci.*, 51: 1-9)。さらに、それら油脂成分のキネティクスから推定される

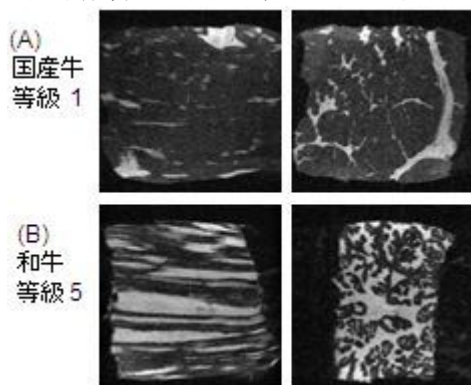


図6 3Dデータから抽出したスライスイメージ

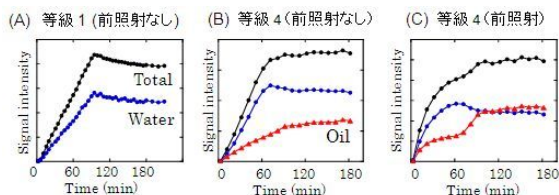


図7 牛肉解凍過程のシグナル強度変化

融点は、小林・庄司(2006, 日畜会報, 77: 521-527)の報告、SSM (27.0~27.7℃)、SMM (8.2~12.7℃) および MMM (-12.2~-10.0℃) に近い値となる。

(3) 豚肉の脂肪分布と解凍の解析

豚のロース肉(図8A)では筋肉と脂身は明確に分離していた。肩ロース肉のスライスイメージ(図8B)では、脂肪組織の量は多くないと思われたが、立体表示(図8E)では細い脂肪組織が平行に発達していることが明らかとなった。バラ肉のスライスイメージ(図8C)では、筋肉と脂身が層をなしているように見えたが、立体描写(図8F)は筋肉の内側に脂肪組織が筋になって侵入している複雑な接合面を示し、旨さと口当たりを決める要素である筋肉と脂肪組織のインターフェースの構造を可視化した。

Dixon法により水と油脂の分布を調べた。図9Aは同位相イメージ、図9Bは逆位相イメージである。よって、(A+B)イメージは水の分布、(A-B)イメージは油脂の分布である。水は筋肉に多量に存在し、脂身にもかなりの量の水が一様に分布した。一方、油脂は脂身に均一に分布し、筋肉では脂肪の筋として侵入した。

-40℃で凍結したバラ肉の解凍において、水は二段に分かれて増加し、一段階目の水の増加は筋肉の解凍に対応し、二段階目の増加は融点が高い油脂の融解とともに進行した。豚肉でも、脂肪は-40℃では凍結しているが、解凍開始直後に、脂肪の一部の成分が非常に低い温度で融解すること、および、複数の成分が存在することが明らかとなった。融点の高い脂肪の融解が一部の水分子の束縛を解放したことは、脂肪組織の細胞構造の部分的

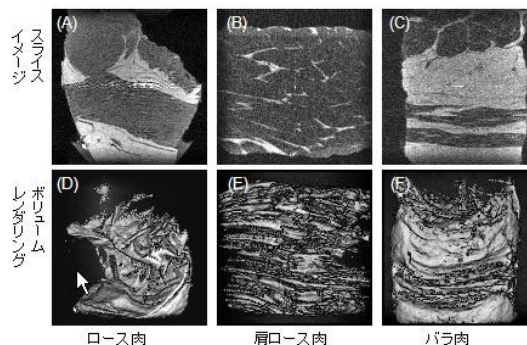


図8 豚肉の脂肪組織構造を示す3Dデータ

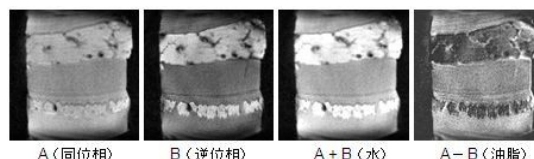


図9 Dixon法による水と脂肪の分布イメージ

崩壊を示すと推定される(小泉ら, 2008, 食品工業, 51(24): 62-74)。

(4) 冷凍魚介類の解凍過程

本課題では、磁極間隙 160 mm、測定セル径 110 mm を有する開発中の 0.2T 小型 MRI を使用した。魚など観測範囲が広い食材を扱い、温度調節セルを設置するための空間的余裕を得るためである。

-40°C で保存したキチジ(脂肪含量約 22%) の解凍を、3D 高速グラディエントエコー法による MIP (最大信号強度投影) イメージで追跡した(小泉ら, 2009, 日本農芸化学会大会)。眼球の周辺、頭部、鰓の下の内臓に繋がる組織等が先に解け(図 10A)、断層イメージでは頭部および背骨の周辺に速く解ける組織が認められた(図 10B)。しかし、解凍が進むに従って全体にシグナルが強くなり体内の構造は不明瞭となった。凍結前の試料と比較すると、未凍結試料(図 10, 左端)で強いシグナルが得られた組織が、解凍後(図 10, 右端)識別できなくなった。特殊な構造を持ち、その中に保持した水に高い運動性を与えていた組織構造が、凍結・融解によって崩壊したものと考えられる。

未凍結と凍結・解凍した試料の T_1 および T_2 を比較した場合(図 11A-D)では、明らかな変化が認められたが、磁化率の差異を基にした上記の MIP イメージの変化とは直接対応できなかった。これは、MIP イメージが全体の变化を捉えているのに対して、スライスイメ

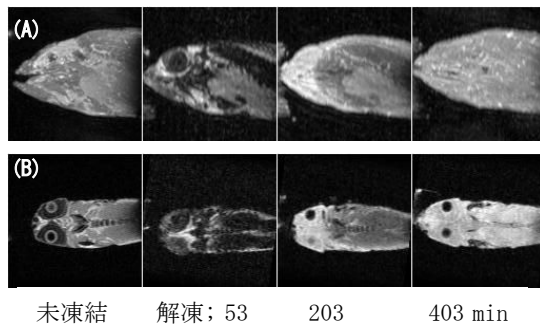


図 10 キチジの解凍過程のイメージ変化
(A) MIP イメージ, (B) スライスイメージ

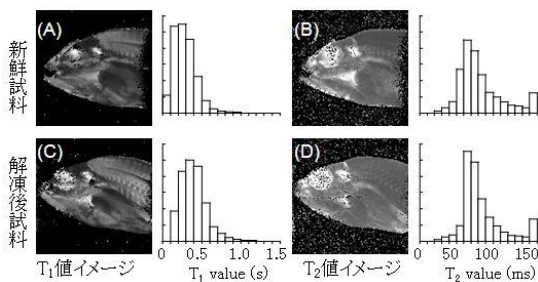


図 11 キチジの緩和時間イメージ

ージは一平面のみを捉えているので、解凍による変化を起こした組織が測定平面に入っていないと検出できないためであると推定される。凍結・解凍による組織の変化が緩和時間および拡散係数などに反映されることは報告されている(Knott *et al.*, 1998; Hall *et al.*, 1999) ので、立体的に起こる変化を、測定マトリックスと TR, TE など測定条件を調節して許容できる時間で 3D 緩和時間計測する方法を確立して、どのようにしてイメージとして表現するかという問題を解決しなければならない。

(5) 温度調節検出器によるソーセージの解凍

1T 小型 MRI 装置については、液冷式温度調節検出器を用いて解凍を追跡した。本装置はガルドンという MRI シグナルを与えないフッ素系不活性液体冷媒を使用し、0°C~35°C の間で測定セルの温度調節をすることが可能であった。図 12 では、-40°C で凍結したソーセージを試料として、測定セル温度を 25°C, 15°C, 5°C として解凍を追跡した。25°C および 15°C (図 12A) では、解凍開始後直ぐに筋肉の水のシグナルが認められ、64 分から 94 分でコントラストが逆転して油脂のシグナルが強くなった。この変化は脂肪交雑が高い牛肉で認められた変化と類似していた。5°C (図 12B) では、初期に筋肉の水のシグナルが増加し、その後、コントラストが弱くなったが、逆転は起こらなかった。チルドと呼ばれる温度範囲(0~5°C)で解凍した場合、肉類では高い融点を持つ油脂成分の融解が起こらないことを示している。

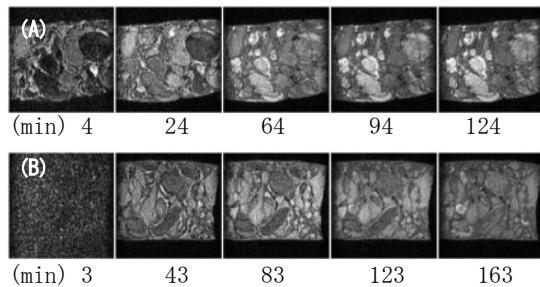


図 12 ソーセージの解凍過程のイメージ変化
(A) 15°C, (B) 5°C

(6) 温度調節試料ホルダーによるミカンと牛肉の凍結

冷凍食品の性質を調べるために広い範囲で温度調節ができる空冷式温度調節試料ホルダーの試作を行った(図 13C)。本装置は、ドライアイスと窒素ガスの冷剤として用い、本体において-50°C、出口および測定セルの

導入口で -30°C 以下を達成することが可能であった。ミカン(図 14A)を測定セルの冷気導入口から約 5 cm 離して果実中央に気流が当たるようにセットし、一方、牛肉(図 14B)に対しては冷気が肉片を掠めるようにセットしてイメージを測定した。両試料共に時間の経過にともなって冷気に曝された位置から凍結し、MRI シグナルが消失した。

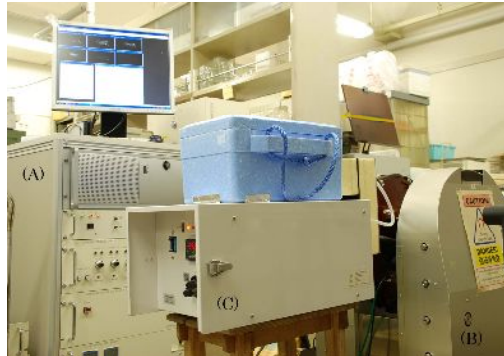


図 13 0.2T 小型 MRI の分光器(A)と永久磁石(B)に設置した空冷式温度調節器(C)

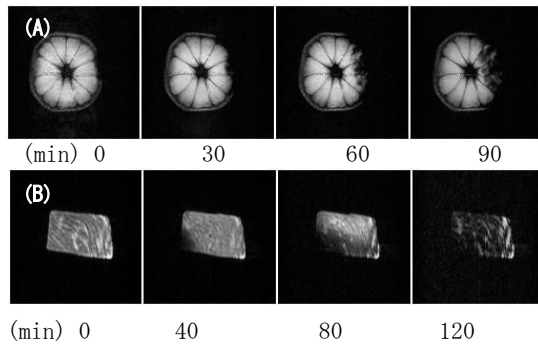


図 14 ミカン(A)と牛肉(B)の凍結過程

(7) 結論と残された問題

1T 永久磁石を備えた小型 MRI による冷凍食品の品質評価に関する指標を探索した(小泉ら, 2009, コンパクト MRI の新展開—国際学術シンポジウム発表)。MRI によって、①解凍(潜熱伝達)のフロントを可視化できることに加え、②水と油脂のスペクトルは適正な保存温度、水の解凍、油脂成分の種類および融解に関する情報を与えた。冷凍食品の解凍において問題とされるドリップは水の完全融解後に発生する。また、 5°C より高温で起きる油脂の融解と脂肪組織の崩壊も旨味および口当たりなど品質に影響を与えるものと推定される。氷結晶生成による組織構造の変化は、③緩和時間(T_1 および T_2)イメージに変化を与えたが、磁化率の差異に基づきコントラストを得るグラディエントエコー法の MIP イメージにより良く捉えることができた。以上のように、MRI パラメーターが冷凍食品の品質保持と解凍法改善についての情報を

与えることは明らかである。

本研究で残された問題は、④温度をコントロールした測定セルの作製に長時間を要し、測定結果の蓄積が少なかったこと、⑤三次元的に発生する組織の変化を効果的に表現する方法が確立できなかったこと、⑥MRI では測定中に金属製温度センサーを用いることができないので、試料温度を適切にモニターするために多点赤外線放射温度計の設置の工夫が必要であることである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① 小泉美香、五十部誠一郎、狩野広美、拝師智之、コンパクト MRI による冷凍食品の解凍過程—冷凍豚肉と冷凍牛肉—、食品工業 51(24), 62-74, 2008、査読無
- ② M. Koizumi, S. Naito, N. Ishida, T. Haishi, H. Kano, A dedicated MRI for food science and agriculture, Food Science and Technology Research, 14(1), 74-82, 2008、査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① 小泉美香、拝師智之、狩野広美、1T 小型 MRI で冷凍食品の解凍を観る、コンパクト MRI の新展開—国際学術シンポジウム、2009 年 4 月 11 日、つくば国際会議場
- ② 小泉美香、五十部誠一郎、拝師智之、狩野広美、0.2 テスラ小型 MRI による魚類の解凍過程の追跡、日本農芸化学会、2008 年 3 月 28 日、マリンメッセ福岡
- ③ 小泉美香、内藤成弘、狩野広美、拝師智之、1 テスラ小型 MRI による冷凍豚肉の解凍過程と脂肪構造の解析、日本食品科学工学会、2008 年 9 月 6 日、京都大学
- ④ 小泉美香、内藤成弘、石田信昭、狩野広美、拝師智之、1 テスラ小型 MRI による牛肉の脂肪構造の観察、日本農芸化学会、2008 年 3 月 27 日、名城大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小泉 美香 (KOIZUMI MIKA)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所食品分析研究領域・契約研究員

研究者番号：90391200

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者