

機関番号：17104

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20360100

研究課題名 (和文) マイクロ波を用いた常温予備乾燥が可能とする冷凍保存の高品位化と細胞損傷の機構解明

研究課題名 (英文) Improvement of Frozen Quality by Microwave Pre-Dehydration and Clarification of Cell Damage Mechanism

研究代表者

鶴田 隆治 (TSURUTA TAKAHARU)

九州工業大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号：30172068

研究成果の概要 (和文)：マイクロ波常温乾燥の過程では、内部に水分が少なく、外表面に多いという特異な水分分布を示す。この水分分布を脱水冷凍法に用いれば、冷凍の高品位化を図ることが可能であることを示した。具体的には、魚肉組織を対象とした凍結冷凍過程の氷晶観察と、解凍過程における細胞の復元過程の観察から、脱水によって氷晶成長が抑制され、組織への機械的ストレスが減少すること、ならびに緩慢解凍によって水分再吸収を促進できることがわかった。

研究成果の概要 (英文)：The microwave room-temperature drying induces lower water content inside the material than the outer surface region. This profile of the water content is used for the dehydro-freezing of fish and it is found that the pre-dehydration by microwave drying is one of the promising methods in the cryopreservation. The observations of ice crystal clearly indicate that the smaller ice is formed resulting the smaller mechanical stress to the cell. It is also found that the slower thawing enhances the re-absorption of water into the cell.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2009年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野：熱工学

科研費の分科・細目：機械工学・熱工学

キーワード：マイクロ波乾燥, 冷凍保存, 脱水冷凍, 水分分布, 細胞損傷, 解凍特性

## 1. 研究開始当初の背景

冷凍保存技術は、食品の長期保存に適した方法であり、鮮度や風味、栄養分などを保つことができ、広く利用されている。その一方で、解凍後のドリップが少なく、食感も損なわれない良質な冷凍技術が望まれている。食品の冷凍保存については、国内外において食品化学の面からの品質評価を中心に多くの研究が行われている。しかしながら、冷凍操作に関わる熱工学的観点からの研究は停滞

している観があり、大きな氷結晶が最も生じやすい温度帯域である“最大氷晶生成帯”を如何に速く通過するかに焦点が置かれている。すなわち、添加物を用いることなくドリップの少ない冷凍を実現するには、現時点では急速に冷凍するしかなく、強力な冷凍装置と多くのエネルギーを必要とする。

細胞や組織の損傷には、氷晶のサイズや形状、分布などが関連し、冷却速度との関連が強いことが分かっている。冷却速度が遅い場

合には、いわゆる最大氷晶生成帯と呼ばれる温度域を通過する時間が長くなり、大きな氷晶が形成され、細胞損傷につながる。

食品・生体の冷凍においては水が重要な役割を演じているのは自明であり、生体内の水を自在に管理できる水分輸送技術があれば、氷晶形成時の体積変化をもたらす機械的ストレスを軽減でき、また分子レベルでは核生成に関与する水分子を減じることにより微細な氷晶を安定した状態で形成させることが可能ではないかと考えていた。マイクロ波常温乾燥技術の開発によって冷凍に最適な水分分布が可能となり、“ちょっと乾燥冷凍法”を高品位かつ省エネルギーの冷凍技術として完成させるとともに、未解明の部分の多い生体組織の細胞損傷機構の解明に努めたいと考えるに至った。

## 2. 研究の目的

本研究では、マイクロ波による常温乾燥を冷凍操作の前に行い、食品冷凍保存の高品位化と省エネルギー化を図るための新しい技術を確立し、生体組織の冷凍保存への適用可能性を追求することを目的としたものである。マイクロ波による常温予備乾燥では、食品内部の水分を表面に移動させて蒸発乾燥させるため、冷却速度に制限を受ける内部では低含水率となり、氷晶による損傷を抑制することを可能とする。また、表面層の熱抵抗は小さく急冷が可能であるため、全体としての冷凍能力を軽減することができる。この新しい手法の有効性を学術的に示すとともに、食品・生体の種類や組織構造の違いに対する最適な乾燥量と冷却速度の関係を把握・評価すること、および細胞損傷機構を解明することが重要と考える。

## 3. 研究の方法

### (1) 予備乾燥としてのマイクロ波常温乾燥

試料には、鯖と鯛等の魚肉組織を用い、これらを大学にて独自に開発したマイクロ波常温乾燥装置を用いて、室温条件下において3~5%、魚種によっては20%程度までの水分を脱水乾燥した。乾燥圧力は、5kPa程度とした。

### (2) 冷凍方法および氷晶と組織の顕微鏡観察

冷凍実験では、デジタル温度制御可能な冷凍庫を用い、その雰囲気温度を-20℃および-80℃として試料を冷凍した。その冷凍過程の温度履歴をK型熱電対により測定し、冷却速度を評価した。氷晶の観察は、冷凍後の試料を庫内温度-30℃に設定したミクロームにて10μmの切片に切り出し、同じく-30℃に冷やした銅ブロック上に載せて冷却ステージを有する顕微鏡(Linkam 10008)に設置する方法をとった。これにより、組織間に形成された氷晶を溶かすことなく、氷晶と組織を観察することができた。

なお、この顕微鏡のステージは加熱機構をも有しており、その加熱速度を変えることによって解凍過程に及ぼす影響、特に水分再吸収過程における組織の形状回復の様子との関連を調べた。

### (3) 解凍後の評価と組織観察

試料の解凍法として、25℃の室温解凍および8℃の冷蔵庫内での緩慢解凍を基本とした。その際、温度履歴もK型熱電対により記録した。また、解凍時に発生するドリップ量を測定評価するため、解凍前後における試料の質量変化を計測し、その質量変化を解凍前の質量で除したドリップロス率を定義した。なお、凍結・解凍による組織損傷を観察するため、解凍後の試料についても顕微鏡観察を行った。試料の染色法には、ヘマトキシリン・エオジンを用いた。

### (4) 細胞内外の物質伝達を考慮した凍結過程の数値モデル解析

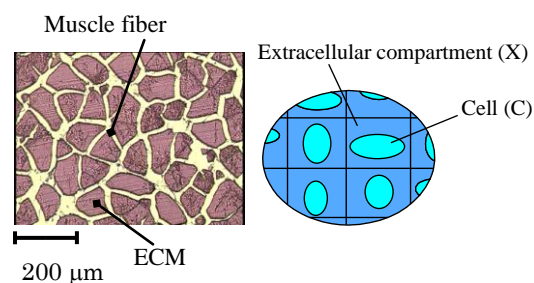


図1 魚肉組織と計算モデル

魚肉組織(サケ)の顕微鏡写真を図1に示すが、筋繊維組織の集合体とみなせる。そこで、この筋組織の一つを計算セル内に含むモデルを考え、計算セル内において筋組織とその周りの結合組織間において、膜を通しての水分移動を可能とする計算を行った。外部結合組織は、隣接する計算セルとの間で、水分と塩分の物質伝達が可能である。温度場については、計算セルに一つの温度とし、計算セル間での熱伝導計算を行った。液相の凝固に対する取り扱いとしては、潜熱放出による発熱項を組み込み、固相率の変化で表現し、その変化量を温度回復法にて求めている。

シミュレーションは2次元で行い、20 x 20 mm<sup>2</sup>の正方形領域を対象とし、100 x 100個の計算セルに分割した。初期温度は一律とし、試料表面と周囲空気との間での熱伝達を考慮して熱伝達率hを与えた。表1に計算条件を示す。また、脱水量に対応した初期水分分布を図2に示す。なお、脱水は細胞外水分に対して行われると考え、細胞内外で浸透圧差が生じている状態で計算を行った。

表1 計算条件

$T_f$ [°C]	$h$ [W/(m <sup>2</sup> K)]	$\Delta t$ [ms]	$\Delta x, \Delta y$ [mm]
-60.0	20.0	10.0	0.2

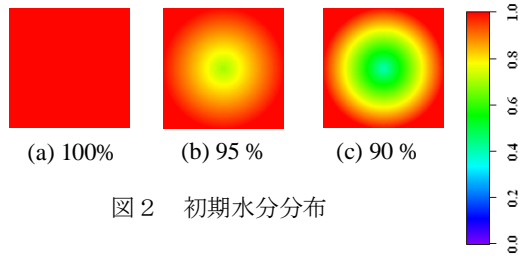


図2 初期水分分布

#### 4. 研究成果

##### (1) 凍結に及ぼすマイクロ波予備乾燥の影響

図3は、鯖の胴部を厚さ2cmにスライスしたものを $-80^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫で凍結した際の温度挙動を捉えたものである。予備乾燥を施さないものに比較し、3%、5%と予備乾燥を行うにつれて凍結時間が短くなることが確認できた。これより、予備乾燥によって最大氷晶生成帯を通過する時間が短くなり、冷却時の氷晶成長が抑制されることが予想された。実際に観察した氷晶の平均直径を図4に示すと、予備乾燥の実施によって氷晶サイズが小さくなり、 $-20^{\circ}\text{C}$ の雰囲気冷却した場合に、その効果が高く、 $-80^{\circ}\text{C}$ の低温で冷却する場合に匹敵するほどの氷晶成長抑制効果が期待できることが明らかとなった。

##### (2) 氷晶サイズと組織変形の観察結果

図4に示すように、氷晶は筋組織間に形成され、そのサイズが大きいと組織は圧迫されて大きく変形している。一方、予備乾燥によって氷晶成長が抑制されれば、細胞組織の変

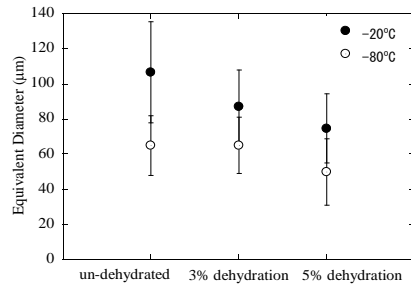


図4 氷晶の等価直径 ( $\mu\text{m}$ )

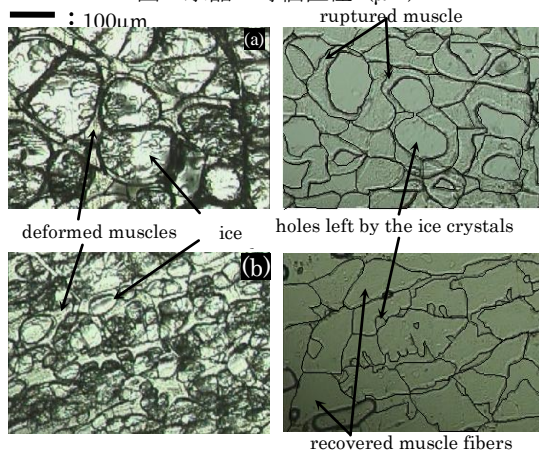


図5 氷晶と組織

(a) 予備乾燥なし  $-20^{\circ}\text{C}$  , (b) 5% 予備乾燥  $-80^{\circ}$

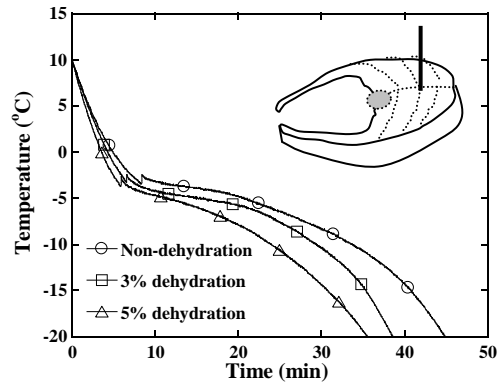


図3 鯖の凍結曲線 (冷却時温度変化)

形は小さくなり、機械的損傷が低減できると考えられる。そこで、氷晶成長の度合いと組織の変形量との関連を調べ、変形量によって解凍後の組織の復元の割合を調べた。その結果を図6と図7に示すが、初期体積と変形した体積との割合が小さいほど、組織の復元率は高いとの知見を得た。具体的には、変形体積が初期の8割程度までであれば、解凍後に60%以上に組織が復元することがわかった。

##### (3) 解凍速度の影響

解凍後の組織の復元は、水分の再吸収を必要とすることから、膜を介しての水分輸送に十分な時間が必要と予想された。そこで、図8に示す解凍速度を変えた実験を行ない、それぞれの解凍後の組織の様子を観察した。その結果を図9と図10に示すが、明らかに緩慢解凍の方が組織の復元が進んでおり、特に

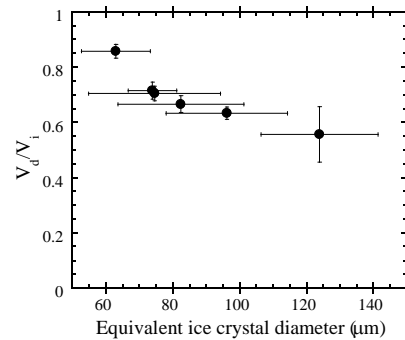


図6 氷晶等価直径と変形量との関係 ( $V_d$ : 筋組織の凍結時体積,  $V_i$ : 初期体積)

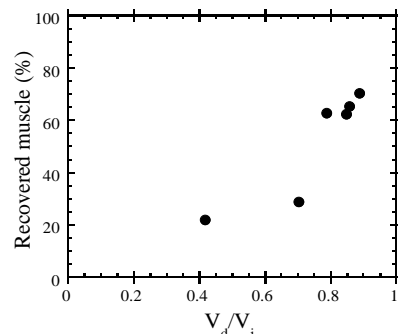


図7 解凍後の復元割合と変形量との関係

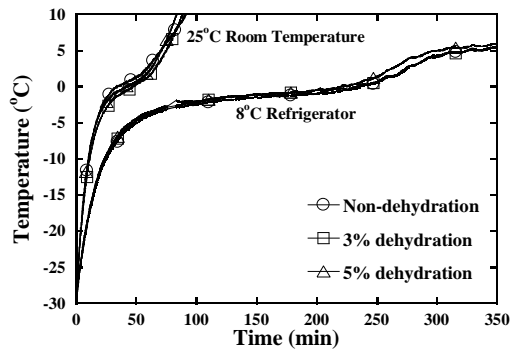
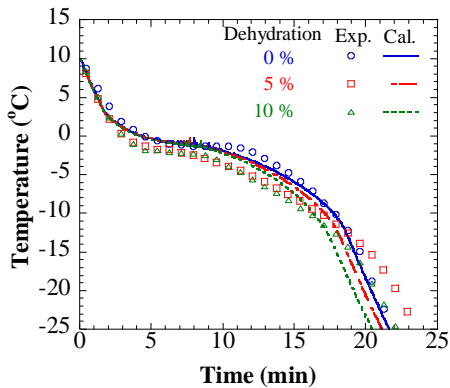


図8 急速解凍と緩慢解凍

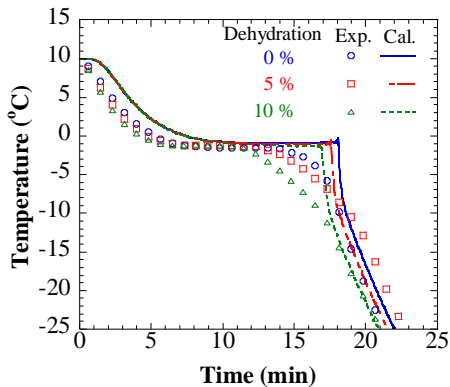
予備乾燥を行うと水分再吸収が促進されることがわかった。なお、解凍速度が遅くなると最大氷晶生成帯を通過する時間が長くなるため、魚種によってはこの間に筋組織内の再結晶化が生じ、組織内に損傷をもたらす場合のあることを確認した。この点はまだ検討が十分でなく、今後の課題となった。

(4) 数値モデル解析による予測結果

計算セル内に筋組織を設けた二重セルモデルによる解析を行い、実験結果との比較を行った。図9は、20 x 20 mm<sup>2</sup>の正方形領域を対象とし、100 x 100 個の計算セルに分割して得た試料表面層 (a) と中心部 (b) の温度の



(a) Surface layer



(b) Center

図11 数値計算と実験温度分布との比較

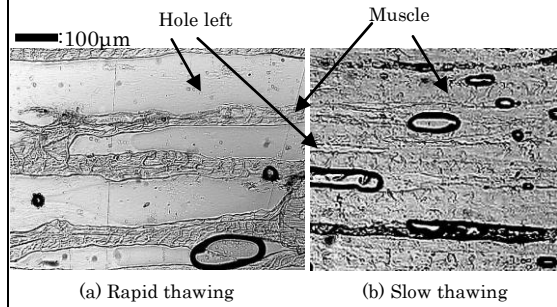


図9 解凍速度による組織復元の違い

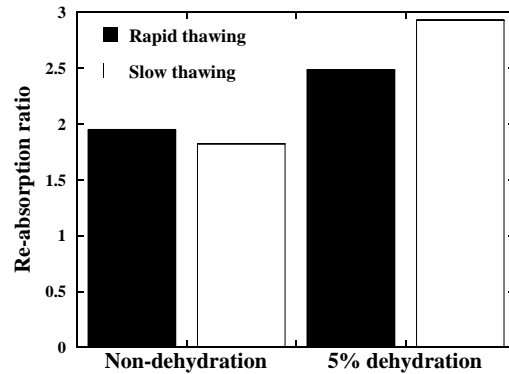


図10 水分再吸収量の比較

過渡変化を実験値と比較して示したものである。表面層においては、実験結果と非常によく一致しており、予備脱水量とともに冷却が早くなることを再現できることがわかった。中心部においては、やや実験値との差が生じる結果となっており、未凍結域では温度変化が遅めとなるとともに、凍結完了時の温度変化が急峻になってしまった。実験値は連続的な変化となっており、この差は有意な差と判断されるが、その理由は明確にはできなかった。おそらく、凍結の進行とともに組織内溶液の濃度が高くなり、中心部でそれが最大となることから、凍結判定が厳しくなるためと予想される。詳細は今後の課題とした。なお、溶液濃度の増大による組織の収縮の様子も解析可能となった。それによれば、凍結の内部への進行とともに濃縮が進むために組織の収縮が内部ほど大きくなることがわかった。定量的な比較を行って検証することが必要となる。

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5件)

- ① 鶴田隆治、マイクロ波を用いた高品位・高速乾燥と生体凍結保存技術の開発、BIOINDUSTRY、査読無、28巻、2011、14-21
- ② Yuichiro Oku, Hirofumi Tanigawa, Takaharu Tsuruta, Numercal Study on Microwave Dehydro-Freezing of Fish

Tissues, Proceedings of the 8th ASME-JSME Thermal Engineering Conference, 査読有, AJTEC 2011-44463, 2011, 1-6

- ③ 鶴田隆治、ヌルホリス ハミディ、冷凍過程の氷晶成長に及ぼすマイクロ波予備乾燥の影響、査読有、日本機械学会論文集 (B編)、75巻、2009、1497-1502
- ④ 鶴田隆治、ヌルホリス ハミディ、マイクロ波による常温予備乾燥を行う新規冷凍法、査読有、日本冷凍空調学会論文集、25巻、2008、291-298
- ⑤ Nurkholis Hamidi, Takaharu Tsuruta, Influence of Combined Process of Microwave Dehydration and Freezing on Ice Crystal Formation in Foods, Proceedings of the 7th JSME-KSME Thermal and Fluid Engineering Conference, 査読有, 08-201-331, 2008, 1-6

[学会発表] (計8件)

- ① 荒武章太郎、多孔質体を用いたマイクロ波デハイドロフリージングの研究、日本機械学会熱工学コンファレンス 2010、2010年10月30日、長岡市
- ② 奥祐一郎、マイクロ波デハイドロフリージングにおける解凍条件の影響、2010年度日本冷凍空調学会年次大会、2010年9月15日、金沢市
- ③ 奥祐一郎、魚肉組織の冷凍保存に関する数値シミュレーション、第47回日本伝熱シンポジウム、2010年5月15日、札幌市
- ④ 奥祐一郎、魚肉組織の冷凍保存における凝固シミュレーション、日本機械学会熱工学コンファレンス、2009年11月7日、宇部市
- ⑤ 上田和明、マイクロ波デハイドロフリージングによる冷凍品の解凍特性、2009年度日本冷凍空調学会年次大会、2009年10月20日、東京都
- ⑥ 鶴田隆治、マイクロ波デハイドロフリージングに対する解凍条件の影響、日本機械学会2009年度年次大会、2009年9月15日、盛岡市
- ⑦ 上田和明、マイクロ波予備乾燥を行う冷凍保存法の有効性、2008年度日本冷凍空調学会年次大会、2008年10月19日、大阪市
- ⑧ ヌルホリス ハミディ、サバの氷晶成長に及ぼすマイクロ波予備乾燥の影響、第45回日本伝熱シンポジウム、2008年5月22日、つくば市

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鶴田 隆治 (TSURUTA TAKAHARU)  
九州工業大学・大学院工学研究院・教授  
研究者番号：30172068

### (2) 研究協力者

谷川 洋文 (TANIGAWA HIROFUMI)  
九州工業大学・大学院工学研究院・助教  
研究者番号：80197524