

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23560221

研究課題名(和文)超音波振動を利用した氷晶形成の制御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 by active control of ice formation utilizing ultrasonic vibration

研究代表者

多田 幸生 (Tada, Yukio)

金沢大学・機械工学系・准教授

研究者番号：20179708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：超音波振動を利用した食品の高品質冷凍技術の開発を目的に、超音波振動が水の過冷却と氷晶形成に及ぼす影響を実験的・理論的に追究した。超音波振動を高出力で付与した場合には過冷却の解除効果が顕在化するが、低出力で照射した場合には弱い過冷却の促進効果が見出された。また、超音波振動の振幅に20～25kHzの周期的な変動を付与することで過冷却促進効果が若干向上する結果を得た。さらに変動磁場の併用による促進効果が示された。また、分子動力学計算を行い、水分子に交番電場による攪乱を付与することで、氷晶成長の遅れを誘起できる可能性が示された。以上により、外部力を利用した食品の高品質冷凍技術の開発の基礎が得られた。

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 on supercooling of water. Two types of ultrasonic vibration; (a)amplitude-regulated vibration at frequency of 1MHz and (b)amplitude-modulated vibration, were tested. Regarding the case of amplitude-regulated vibration, the supercooling degree decreased with increasing ultrasonic power. On the other hand, as for amplitude-modulated vibration, a weak enhancement of supercooling was found at amplitude-modulated frequency of 20-25kHz. Furthermore, it was indicated that there is optimum value of ultrasonic power for enhancing supercooling degree, since the action of ultrasonic vibration would have two aspects as to promote and reduce nucleation. Summarizing these results, the mechanism of sonocrystallization in biological tissue was discussed in relation to method of ultrasonic irradiation.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・熱工学

キーワード：凍結 超音波振動 過冷却 氷晶形成 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。

このような問題に対処するため、従来は急速凍結が用いられてきた。しかし、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各種の損傷が生ずる。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への展開が課題となる。

### 2. 研究の目的

本研究では、超音波振動を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。すなわち、超音波振動を利用して水分子のネットワーク構造に攪乱を与え、それにより過冷却の促進を図る。その結果、組織体全域を過冷却状態から急速凍結することで、細胞内外の氷結晶の微細化し、高品質な凍結の実現を目標とする。このような凍結技術の開発を行うため、本申請研究では食品の主構成要素である水を対象に、(1)超音波振動を付与した水の凍結実験、(2)超音波振動と変動磁場を併用した水の凍結実験、(3)微小攪乱が過冷却場における氷晶成長に及ぼす効果の分子動力学計算を行い、水の過冷却に及ぼす超音波振動および外部力の効果について操作条件の影響を含め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超音波振動の効果  
水の過冷却に及ぼす超音波振動の影響を調べるため、定在音場中で水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、超音波振動を付与するための圧電素子（共振周波数  $f_1=1\text{MHz}$ ）を底部に設置したアクリル製の円筒型冷却槽、磁場発生のためのソレノイドコイル、試料液を封入した試験容器、温度測定系、冷却液循環系で構成される。プログラム式低温恒温槽を用いて  $0.2\text{K/min}$  の速度で温度降下させたエチレングリコール水溶液（濃度  $50\text{wt}\%$ ）を循環させることで、試料液を一定速度で冷却する。

試料液は液体クロマトグラフ用高純度蒸留水とした。試料液を充填する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  $14\text{mm}$ ）の底面に OHP シートを貼り付けた構造とした。試料液の充填量は  $3\text{ml}$  とした。充填した試料液は外気の影響を避けるため、 $3\text{ml}$  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から  $10\text{mm}$  の位置に設置した T 型熱電対（素線径  $0.2\text{mm}$ ）で測定した。超音波振動は図2に示されるように、(1)一定振幅で付与する方式、(2)振幅を一定周期で変動させる振幅変調方式の2通りとした。磁場の印加方法は、磁束密度を  $2\text{kHz}$  で正弦波状に時間変化させる変動磁場とした。実験は超音波出力（超音波振動子の駆動電力で表示、 $0\sim 20\text{W}$ ）、振幅変調周波数 ( $f_2=10\sim 100\text{kHz}$ ) および磁束密度 ( $0\sim 1.2\text{mT}$ ) を変化させて行い、過冷却解消温度の測定と凍結状態の観察を行った。

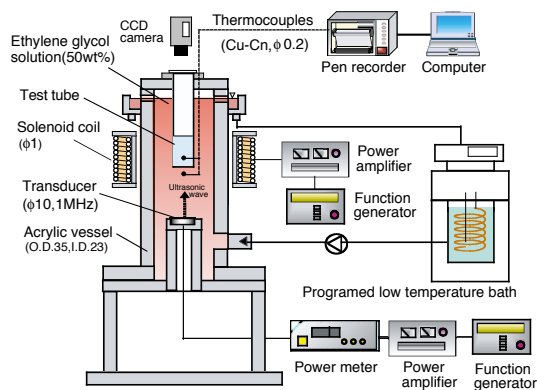


図1 実験装置概要

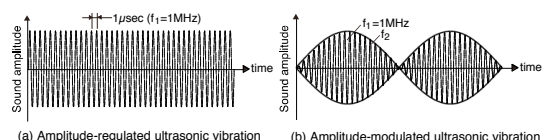


図2 超音波振動の付与方法

(2) 微小攪乱が過冷却場の氷晶成長に及ぼす効果の分子動学的検討

超音波振動が核生成に及ぼす影響を直接計算することは難しい。そこで、本研究では交番電場によるクーロン力を水分子に作用させて微小攪乱を模擬し、それが氷結晶成長に及ぼす影響について分子動力学法を用いて分子レベルの視点から検討した。計算モデルを図3に示す。基本セルは直方体とし、360個の水分子からなる氷  $I_h$  相と 720個の水分子からなる水の相の2つの領域で構成される。氷-水の界面は比較的成長速度の速いプリズム面とし、基本セルの周囲には周期境界条件を課した。電場強度  $E_z(\text{V/mm})$ 、周波数  $f(\text{Hz})$  の交番電場を  $n$  cycle 付与した後、電場を除去し、NVT アンサンブルを用いてさらに  $3\text{ns}$  の

計算を行った。

計算は分子動力学シミュレーションソフト GROMACS を用いて行った。水分子モデルには TIP6P モデルを用いた。シミュレーションに用いた相互ポテンシャルは原子間に作用する Lennard-Jones ポテンシャルと、電荷間に作用する Coulomb ポテンシャルとした。異種原子間のパラメータは Lorentz-Berthelot 則を用いて算出した。クーロン力は Particle Mesh Ewald (PME) 法によって計算した。アンサンブルは NPT 条件で、温度は Berendsen 法を用いて制御した。

計算手順は、(1)氷領域の分子を固定し、温度 450K の NVT アンサンブルで 30ps 間維持し、水の領域を完全に融解させる。その後系を緩和させるため、(2)氷領域の分子を固定したまま温度 268K で NVT 一定の 50ps のシミュレーションを行った。これらの処理により固液界面を作り、その後(3)氷領域の分子の運動も再開させ、温度 268K、圧力 1.013bar の NPT アンサンブルのシミュレーションを行った。

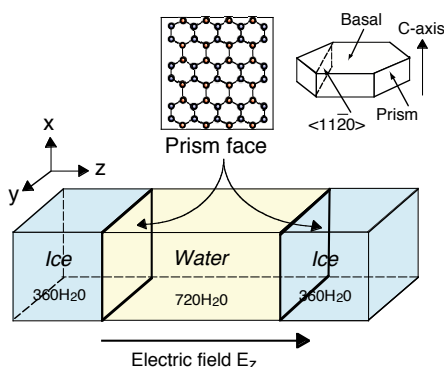


図3 分子動力学計算モデル

#### 4. 研究成果

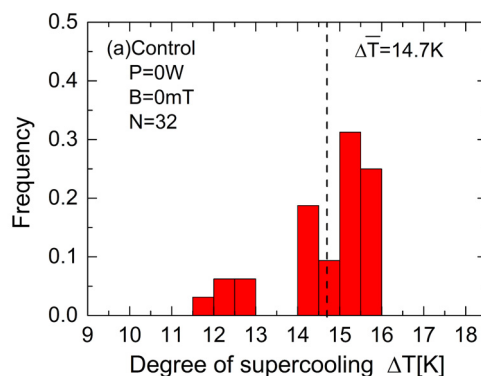
##### (1) 過冷却に及ぼす超音波振動の効果

試料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。試験容器内で核生成が起こると、凝固潜熱の放出に伴う温度上昇が現れ、過冷却の解除が確認される。本研究では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の差を過冷却度 $\Delta T$ と定義した。実験の結果、振幅一定の超音波振動を付与した場合、超音波出力の増加につれて過冷却度は一旦減少するが、より出力が大きくなると増加する傾向を示した。このような結果から、超音波振動が過冷却に対する促進と解除の両面の効果があることが示唆される。

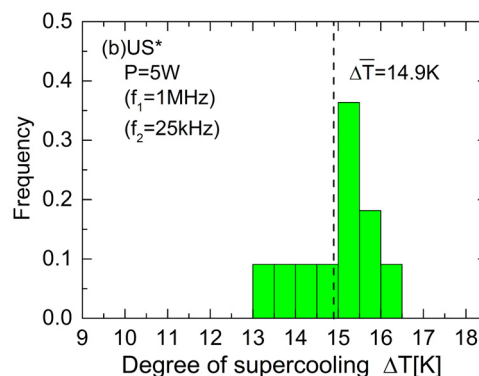
次に、25kHzの周期で振幅を変化させた場合、超音波出力が0~5Wの領域において過冷却度が向上し、振幅一定の場合を上回る結果が得られ、振幅変動が過冷却促進に効果的であることが見出された。

次に、超音波振動と変動磁場を併用した実験を行った。各実験において平均過冷却度 $\Delta T$ が95%の確かさで母平均の $\pm 0.5K$ の範囲内

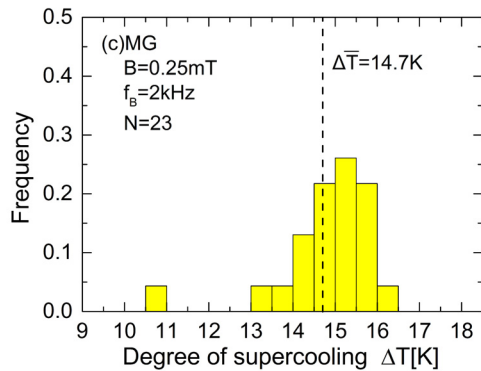
に収まるように実験回数Nを設定した。図4(a)に超音波振動・変動磁場ともに付与しない場合の過冷却度の頻度分布を示す。核生成が確率的な現象であるため、過冷却度の頻度分布は幅を持ち、正規分布に近い形となる。次に、振幅変調超音波振動を付与した場合の結果を図4(b)に示す。過冷却度の分布は若干右にシフトし、弱い過冷却の促進効果が認められる。図4(c)に0.2mTの変動磁場を付与した結果を示す。磁場強度が低いこともあり、変動磁場の付与による効果はほとんど見られない。次に、図4(d)に超音波振動と変動磁場を併用した結果を示す。これより、低過冷却度での核生成頻度が減少し、一方、15.5~16K付近の核生成頻度が増加することが分かる。この結果は、16Kを超える高い過冷却状態での核生成を阻止できるほどの効果ではないものの、低い過冷却状態に対しては過冷却促進効果が現れていると推測され、超音波振動と変動磁場の複合効果が現れていると考えられる。その機構の詳細は不明であるが、超音波振動(1MHz)と変動磁場(2kHz)のそれぞれで異なる周波数で水分子に作用を与えていることが核生成の阻止に寄与しているのではないかと推察される。本効果をより明確に検証するためには、超音波出力および磁束密度をより広範囲に変化させた凍結実験が必要である。また、生体・食品に近い状態である水溶液を供試した凍結実験が今後の課題である。



(a) 超音波振動を付与しない場合



(b) 振幅変調超音波振動を付与した場合



(c) 変動磁場を付与した場合

(d) 振幅変調超音波振動と変動磁場を併用した場合

図4 過冷却度の発生頻度ヒストグラム

(2) 微小攪乱が過冷却場の氷晶成長に及ぼす効果の分子動力学的検討

電場強度  $E_z$  (V/mm), 周波数  $f$  (Hz) の交番電場を  $n$  cycle 付与した後, 電場を除去し, その後の氷晶成長挙動を分子動力学シミュレーションにより検討した. 攪乱付与後の氷晶成長速度の目安として, 氷結晶界面の第1層目における ice-like 分子の割合が 50% に達するまでの時間を攪乱の繰返し数  $n$  との関係を検討した. 繰返し数つまり水分子の水素結合ネットワークに付与する攪乱の増加が氷晶成長の抑制に繋がる傾向が見られた. しかし, さらに  $n$  を増加させると氷晶成長の抑制効果はなくなる. 水分子のスナップショットを検討した結果, 電場による攪乱によって氷  $I_h$  構造の正しい位置に取り込まれていない水分子や水素結合ネットワークの乱れが発生し, そのため水分子を取り込みにくい氷結晶界面構造が形成され, 氷結晶の成長が一時的に停滞したと推測される.

## 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1件)

- ①吉田洋平, 多田幸生, 瀧本昭, 大西元, 電場中における氷の結晶成長の分子動力学シミュレーション, 第49回日本伝熱シンポジウム講演論文集, 査読無, vol. I (2012), 235-236,  
[http://www.htsj.or.jp/nhts49/nhts49\\_pdfs/index.html](http://www.htsj.or.jp/nhts49/nhts49_pdfs/index.html).

[学会発表] (計6件)

- ①野原康平, 多田幸生, 瀧本昭, 大西元, 水の過冷却に及ぼす超音波振動と変動磁場の併用効果, 日本機械学会熱工学コンファレンス 2013, 2013年10月19日, 弘前大学(青森県).

- ②多田幸生, 相原宏次, 瀧本昭, 大西元, 日本機械学会 2013年度年次大会, 2013年9月9日, 岡山大学(岡山県).

- ③野原康平, 多田幸生, 瀧本昭, 大西元, 水の過冷却に及ぼす変動磁場の影響, 日本機械学会 2012年度年次大会, 2012年9月12日, 金沢大学(石川県).

- ④Y.Tada, Y.Yoshida, A.Takimoto and H.Onishi, Effects of Amplitude-Modulated Ultrasonic Vibration on Supercooling of Water, Proceedings of The Third International Forum on Heat Transfer, 2012年11月13日, 長崎ブリックホール(長崎県).

- ⑤多田幸生, 吉田洋平, 瀧本昭, 大西元, 水の過冷却に及ぼす振幅変調超音波振動の影響, 日本機械学会 2011年度年次大会, 2011年9月12日, 東京工業大学(東京).

- ⑥吉田洋平, 多田幸生, 瀧本昭, 大西元, 電場中における氷の結晶成長の分子動力学シミュレーション, 第49回日本伝熱シンポジウム, 富山国際会議場・ANAクラウンプラザホテル富山(富山県), 2011年5月30日.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

多田 幸生 (TADA YUKIO)  
 金沢大学・機械工学系・准教授  
 研究者番号: 20179708

### (2) 研究分担者

瀧本 昭 (TAKIMOTO AKIRA)  
 金沢大学・機械工学系・教授  
 研究者番号: 20019780

大西 元 (ONISHI HAJIME)  
 金沢大学・機械工学系・助教  
 研究者番号: 80334762

### (3) 連携研究者

なし