

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380143

研究課題名(和文) 農産物の冷凍保存時の氷結晶粒変成計測に基づく組織軟化予測

研究課題名(英文) Softening prediction based on recrystallization of ice crystal during frozen storage of agricultural products

研究代表者

鈴木 徹 (Suzuki, Toru)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・教授

研究者番号：50206504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,300,000円

研究成果の概要(和文)：イチゴ、レタス、ニンジンなどの農産物の冷凍時解凍時に起こる著しい軟化の原因追究と予測を目指し、新たな試みとして農産物組織内氷結晶を冷凍状態のままX線回折測定法で調べる手法を開発した。その結果、氷結晶粒の量、大きさの把握が可能であることを示した。

また、冷凍農産物の解凍時の軟化は、冷凍時氷結晶生成に影響を及ぼす冷却速度が異なる内部と表面部において異なることが明らかとなった。さらなるデータの集積により、農産物全体として冷凍による軟化、さらにその抑制法開発への基礎が確立された。

研究成果の概要(英文)：In order to control the softening phenomena of freezing-thaw vegetable or fruit, it is necessary to get the mechanical information for both of ice crystal development and softening.

For the purpose, the use of a low temperature X-ray diffractometric method was attempted for carrot sample frozen with different freezing rates. At same time, for a local parts of frozen material, a texture analysis was conducted. The result revealed that texture softening of a bulk frozen carrot is composited of integral characteristics for surface to center. More accumulation of data as for mechanical properties and ice crystal development would make it possible to predict.

研究分野：食品冷凍学

キーワード：農産物 冷凍 氷結晶 組織軟化 テクスチャー

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 農産物の凍結・解凍処理後の組織軟化

これまでの研究により、凍結・解凍処理後の生鮮野菜の組織軟化メカニズムの検討を行い、その著しい軟化には細胞膜水透過性の増大が関係していることを示してきた<sup>1</sup>。しかし、軟化を抑制できる革新的な技術の確立にはいたらず、その原因として農産物組織内における氷結晶形成と軟化の関係が明瞭でないことが考えられた。

凍結・解凍処理後の組織軟化は、氷結晶形成による細胞構造の破壊が原因といわれてきた。既往の研究により、マグロ筋肉組織に形成された氷結晶粒は、凍結置換法によって間接的に観察でき、すでに、小さい氷結晶粒を形成させることで解凍後の軟化を抑制できることが示されているが、一方で、農産物においては、この手法における氷結晶粒の観察が困難なばかりでなく、氷結晶粒のサイズが小さくともその軟化が著しいといえた。

### (2) 冷凍保存時の氷結晶粒変成

これまでの研究により、水溶液中の氷結晶粒の成長過程を観察し、水溶液系において氷結晶粒は、水の拡散によって成長と凝集・平滑化の2つの過程に分かれて成長していく“変成”をすることを確認した<sup>2</sup>。このような氷結晶粒の変成は、組織内においても当然、起きることが予測できる。特に、マグロ筋肉組織と比較して細胞膜の水透過性の低い農産物にとって、細胞内外における水の拡散は、その軟化を引き起こす原因の1つと考えられる。しかし、組織・細胞内に形成した氷結晶粒は、光の乱反射によるフラッシングによって、水溶液系の様に光学顕微鏡による観察ができない<sup>3</sup>。

以上より、凍結・解凍処理後の農産物の組織軟化を抑制する凍結技術、ひいては組織軟化と氷結晶の関係の統一的理解のため、氷結晶粒、特にその変成と解凍後の軟化を関連付

けて考察する必要があった。

### (参考文献)

1. 安藤ら. 日本食品保蔵科学会誌, 34(5), 261, 2008, 2. 王昕ら. 日本冷凍空調学会論文集, 25, 29, 2008, 3. Hawthorn and Rolfe (Edits). “*Low temperature Biology of Food stuffs*”, Pergamon Press, Oxford, 1968.

## 2. 研究の目的

凍結は、食品の品質を飛躍的に長期間維持できる技術として使用されているが、農産物においては、未だ組織内における氷結晶と組織軟化に関する知見の不足が考えられる。そこで、農産物の凍結処理による組織軟化と氷結晶生成の関係を理解することを目的に、凍結プロセスの局所的相違(固体内部における凍結速度の相違)を考慮したテクスチャーの測定と氷結晶粒の直接観察法として、低温粉末X線回折測定を併せて行った。また、得られたテクスチャー変化及び氷結晶粒の変成の結果を用いて、凍結・解凍処理後の組織軟化予測プログラム作成を試みた。

本報告では、イチゴ、レタスに対する予備試験をベースに、ニンジンを用いた総合的結果について報告する。

## 3. 研究の方法

(1) 厚みのある農作物を想定した、一次元凍結による温度分布を考慮した試料作成、凍結速度とテクスチャー測定による軟化程度の相関

ニンジンの一定部位を試料に、細胞構造をもつ均一な組織として使用し、凍結速度がテクスチャーに及ぼす影響を確認した。具体的には、ニンジン(千葉県産)において、Fig.1に示した部分を10mmのコルクポラーで切り出し、長さ24mmに調整を行った。これを筒状の発泡スチロールにつめ、一次

元凍結を行い、両端の2mmを除いて5mm間隔で熱電対を挿し込み、各部位の中心温度履歴を得た(1)。また、凍結時の乾燥を防ぐためラップを均一に巻きつけた。凍結には-40のエアーブラストを使用し、-80冷凍ストッカーで一晩保存した後、10の低温インキュベーター内で解凍を行った。試料の外側部分が5に達する平均時間は、 $84 \pm 3$ 分(n=6)であったため、解凍時間は84分とし、その後、速やかにテクスチャーアナライザー(英弘精機(株), TA.XT plus)を用いて5に温調したキャビネット内で、テクスチャーの測定を行った。

1: 氷結晶観察にX線DSCを使用する場合のプログラム作成のため。

また、一次元凍結を行わない試料(以下、二次元凍結)も同様に作成を行い、テクスチャー測定に供した。

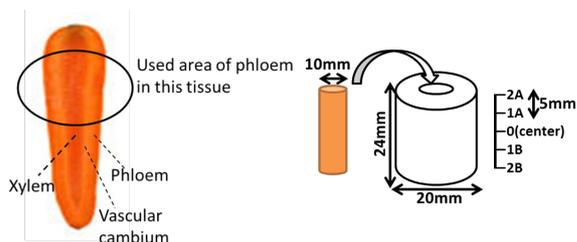


Fig. 1 試料使用部位と温度履歴の測定箇所

(2) 凍結速度が厳密に異なる試料の軟化程度の比較

凍結過程の組織中の冷却速度が厳密に確認された試料を用いてテクスチャー測定を行い、凍結速度の差と軟化の関連性について調べた。具体的には、試料サイズを10mm長さ28mmとして、両端4mmを除き、熱電対を予備実験同様に5か所に挿し込んだ。温度履歴用の試料は、n=3とした。凍結は、-20と-80の雰囲気温度内で行い、凍結後、-80の冷凍ストッカーで一晩保存し、10の低温インキュベーター内で解凍を行った。試料の外側部分が5に達する平均時間は、 $50 \pm 5$ 分(n=11)であったため、解凍時間は50

分とし、その後、予備実験同様にテクスチャー測定を行った。データ解析には、5%初期弾性値、破断荷重、及び、破断歪、破断回数項目を用いた。

(3) 厚みのある試料の組織内における凍結速度差に伴うテクスチャーの比較

ニンジン的一定部位を試料に、一次元凍結のための試料作成およびテクスチャーの比較を行った。

具体的には、試料は10mm長さ50mmに切り出し、パラフィルムを巻きつけた後、発泡スチロールに詰め、一次元凍結を行った。凍結には、-20冷凍ストッカーを使用し、一晩保存した後、10の低温インキュベーター内で解凍を行った。その後、速やかに、10mm間隔で切り出し、(1)同様の条件でそれぞれテクスチャー測定を行った。

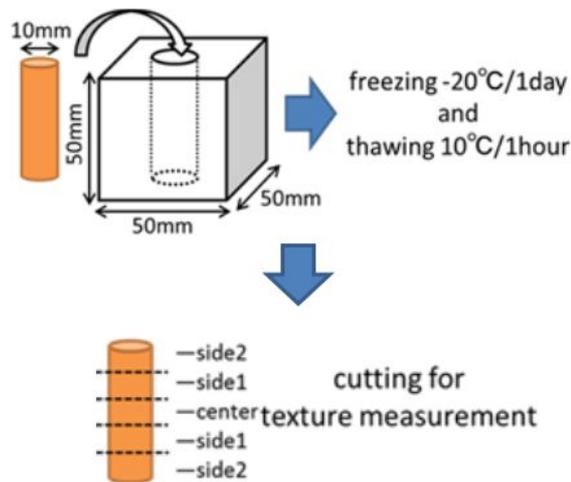


Fig. 2 試料作成の模式図

(4) X線回折によるニンジンの組織内氷結晶生成挙動の把握

氷結晶生成(変成)を低温域まで測定可能なX線DSC(X線回折-示差走査熱量同時測定装置)を用いて、ニンジン組織内の氷結晶生成挙動の観察を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 厚みのある農作物を想定した、一次元凍結による温度分布を考慮した試料作成、凍結速度とテクスチャー測定による軟化程度の相関

一次元凍結においては、部位により確かに最大氷結晶生成帯の通過速度が異なっていた。また、二次元凍結においては、さらに急速凍結で凍結が行われていたが、テクスチャー測定の結果（データは、省略する）では、一次元凍結の部位による差が見られず、また、二次元凍結よりも一次元凍結の方が破断歪及び荷重において良い傾向にあり、凍結速度の結果と一致しなかった。その原因として、上記範囲内の凍結条件の差異では、軟化の程度に影響を及ぼさないことが考えられた。

(2) 凍結速度が厳密に異なる試料の軟化程度の比較

温度履歴を Fig.3 に示すが、冷却速度のばらつきは抑えられた。また、Fig. 4 に、テクスチャー解析の結果を示す。その結果、本試料に対するテクスチャー解析では、生鮮に比べ、凍結・解凍後は、初期弾性値と破断回数の低下が起こり、破断歪みと破断荷重が増加していた。さらに、-20℃凍結が、-80℃凍結に比べ軟化の程度が大きい傾向にあり、凍結速度と結果が一致した。しかしながら、いずれも凍結速度に関わらず、著しい軟化が起きていた。

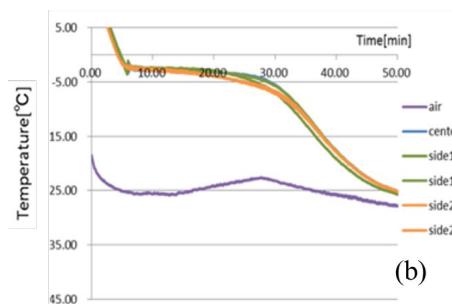
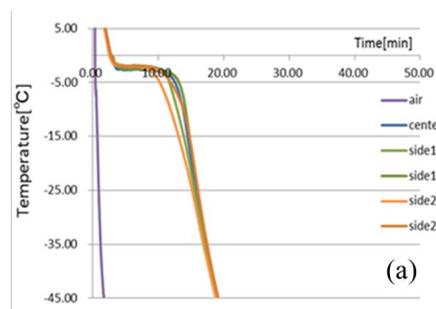


Fig.3 試料の凍結曲線  
(a); -80℃, (b); -20℃

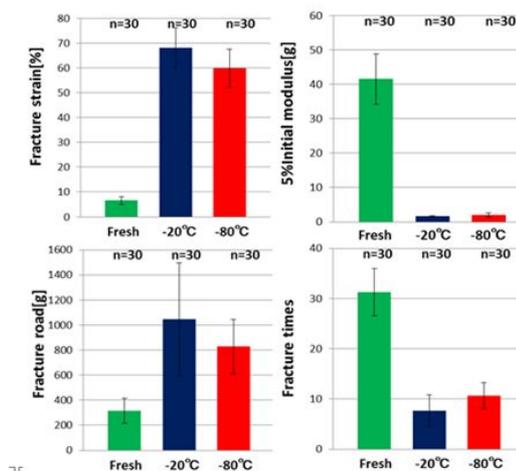


Fig.4 5%初期弾性値・破断強度・破断歪  
破断回数の解析結果

(3) 厚みのある試料の組織内における凍結速度差に伴うテクスチャーの比較

テクスチャーの解析結果を Fig.5 に示す。中心 (center) と両端 (side2) を比較したところ、破断荷重と破断エネルギーの項目において、差が得られた ( $p < 0.05$ )。また、中間部分 (side2) においては、どちらの部位とも優位な差が得られなかったが、凍結方法

で一次元凍結における凍結速度が異なり、軟化程度に差のあるサンプル作成ができたと考えた。しかし、テクスチャーの解析項目を詳細に観察すると、凍結速度による氷結晶サイズの違いだけでなく、氷結晶組織状態の違いが、凍結・解凍後の野菜組織のテクスチャーに影響する可能性があることが推察された。

以上の結果より、テクスチャーの固体内部位による凍結速度の差が、テクスチャーに影響を及ぼすことが明らかになった。

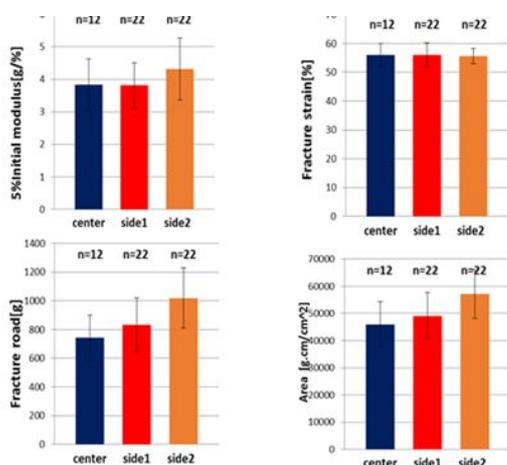


Fig.5 テクスチャー解析結果

#### (4) X線回折によるニンジンの組織内氷結晶生成挙動の把握

X線 DSC 測定における一部の結果を Fig. 6 に示す。試料温度を確認しながら、X線回折測定を行ったところ、ニンジン組織内の氷結晶粒からのX線回折パターンが確認された。また、温度によりその強度が異なることが明らかになり、農産物の内部における氷結晶の量的な把握が可能であることが示唆された。

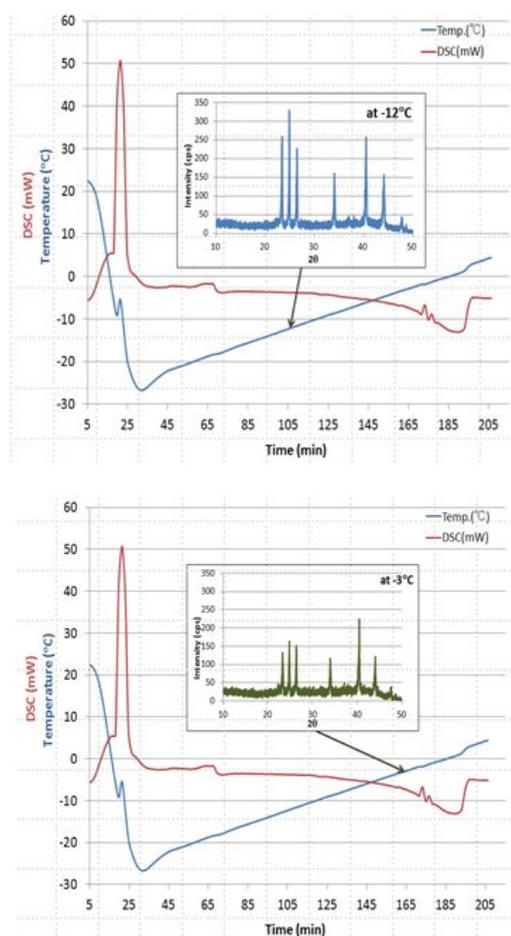


Fig 6 ニンジンの凍結解凍過程におけるX線回折図とDSC曲線(上部:-12℃, 下部:-3℃)

#### (5) 総括

凍結処理による農産物の組織軟化と氷結晶の関係を理解することを目的に、テクスチャー特性の異なるニンジン、イチゴ、レタスを素材として取り上げる計画であったが、予備試験を経て実験的に可能なニンジンに焦点を絞り、実際の凍結過程変化させた場合における解凍後のテクスチャーに関するデータの蓄積、解析を行った。

その結果、農産物の内部における部位、中心部および、表面部における凍結速度の差がテクスチャーに影響を及ぼすことが、明確に明らかとなった。すなわち、これまで凍結解凍時に農産物のテクスチャーは、全体として測定されていたが、農産物の持つ組織局所構造のみならず、局所的凍結速度の差を統合した結果として理解しなけれ

ばならないことが本研究により示された。また、同一凍結条件に近い試料に対して、併せて氷結晶粒の生成変成過程の低温粉末 X 線回折測定を試みた結果、農産物の内部における氷結晶粒のサイズ、凍結量なども評価できた。

さらに、これらの結果を組み合わせ、凍結・解凍処理後の組織軟化予測プログラム作成を行う計画であった。プログラムの基本骨子、すなわち、凍結解凍時の温度変化履歴を元にした氷結晶成長消滅、およびそれに対応したテクスチャー変化予測のプログラム構造自体は確立に至った（未公表）。しかし、実用上、組織内氷結晶の凍結融解の速度に関する数学的記述、また同様にテクスチャーの変化に関する数学的記述において必要となる活性化エネルギー他、必要なパラメータが不足しているため具体的な数値計算結果を算出するに至らなかった。

将来的に、本研究で得られた成果を元に氷結晶粒変成以外の因子、水分の膜移動速度、細胞壁構造体の変化等に関連付けて軟化予測法を開発して行く必要があると考える。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Hiroko Ando , Kazuhito Kajiwara , Seiichi Oshita , Toru Suzuki , The effect of osmotic dehydrofreezing on the role of the cell membrane in carrot texture softening after freeze-thawing, Journal of Food Engineering, 査読有, 108, 2012, 473-479.  
DOI:10.1016/j.jfoodeng.2011.08.013

〔学会発表〕(計 2 件)

奥山真希, 中納真奈, 渡辺学, 鈴木徹, 冷凍前処理としての生鮮レタスに対する凍結保護物質の含浸効果, 日本食品科学工学

会平成 27 年度関東支部大会, 2015 年 3 月 14 日, 東京海洋大学品川キャンパス (東京都).

中納真奈, 渡辺学, 鈴木徹, 冷凍イチゴの復元性に解凍操作が及ぼす影響, 日本食品保蔵科学会第 63 回大会, 2014 年 6 月 29 日, JA 長野県ビル (長野県).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鈴木 徹 (SUZUKI, Toru)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・教授  
研究者番号: 50206504

### (2) 研究分担者

萩原 知明 (HAGIWARA, Tomoaki)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・准教授  
研究者番号: 20293095