

平成 29 年 5 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26420141

研究課題名(和文)超音波振動と変動磁場を併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 technique of food by 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) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：超音波振動と変動磁場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細胞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5W以上の出力で付与すると、過冷却度の分散が小さくなり、また低過冷却度における核生成が抑制される傾向が見出された。また、交番電場の効果について検討し、微小電流印加により玉ねぎの表皮組織細胞の過冷却度が最大2K程度促進されたが、さらなる電流印加による過冷却促進は得られなかった。さらに、魚肉を対象に凍結・解凍による損傷度を数値計算により予測する手法が構築された。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 and alternating electric field on supercooling of water and biological tissue. By applying ultrasonic vibration at frequency of 1MHz to a water, a weak enhancement of supercooling was found at ultrasonic power larger than 5W. On the other hand, as for alternating electric field, it was found that the load effects of low electric current on onion cell enhanced supercooling degree, but also those of high electric current reduced supercooling degree. Furthermore, a muscle tissue of tuna fish was cooled by air-blast method. By linking the numerical model and experimentally determined correlation equations, the drip loss of tuna fish after freezing and thawing was quantitatively estimated. Summarizing these results, basic of knowledge for development of high-quality cryopreservation was obtained.

研究分野：熱工学

キーワード：凍結 超音波振動 交番電場 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ミクロ現象が生じ、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、ドロップ（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、超音波振動と変動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変動磁場による静電的作用により、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の効果、(2)組織細胞凍結に及ぼす交番電場の効果、(3)マグロ魚肉の凍結・解凍実験および凍結・解凍過程における損傷度の定量的推算モデルの構築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。設備備品として購入したプログラム式低温恒温槽を用いて、一定速度 (0.2K/min) で温度低下させた 50wt% エチレングリコール水溶液を循環させることで、試験

容器に装着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に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。試料液の充填量は 3 ml とした。充填した試料液は外気の影響および capillary wave の発生を避けるため、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。

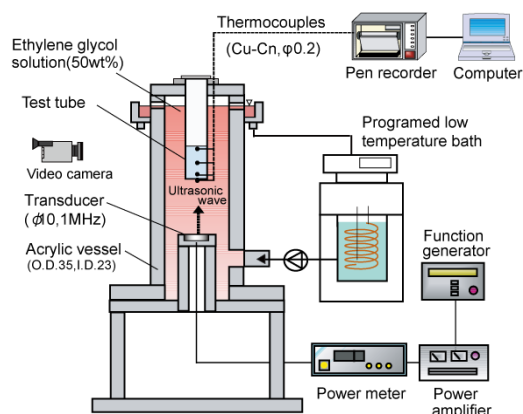


図1 実験装置（超音波振動実験）

#### (2)組織細胞の凍結に及ぼす交番電場の効果

組織細胞の過冷却凍結に及ぼす交番電場の効果について検討するため、玉ねぎの表皮組織を供試した凍結実験を行った。実験装置の概要を図2に示す。ペルチェ素子を内蔵した2つの銅ブロックが間隔  $d (=3.5\text{mm})$  で顕微鏡ステージ上に設置されている。ペルチェ素子により各銅ブロックは一定温度 ( $T_H, T_L$ ) に維持される。試料とカバーガラスを乗せたスライドガラスを銅ブロック上に設置し、直線勾配  $G=(T_H-T_L)/d$  を形成する。2つの銅ブロックを一定速度  $V$  で移動させることにより、一定の冷却速度  $R(=V \cdot G)$  で試料を一方向に凍結させる。スライドガラス上には2枚の銅箔（厚さ  $80\mu\text{m}$ ）を貼り付け、平板電極とした。

供試試料には細胞列での挙動を観察するため、タマネギ球根部の表皮組織を  $10 \times 10\text{mm}$  に切り出したものを使用した。細胞は短辺方向を冷却方向とし、その上に外部液として蒸留水を配置した。電場は周波数 1kHz の矩形波として交番付与した。実験は温度勾配  $G$  を一定とし、冷却速度 ( $1.6 \sim 10.6^\circ\text{C}/\text{min}$ ) と印加電圧 ( $0 \sim 80\text{V}$ ) を変更して行い、凍結の様相を顕微鏡に取り付けられた CCD カメラにより撮影し、パソコンに録画した。

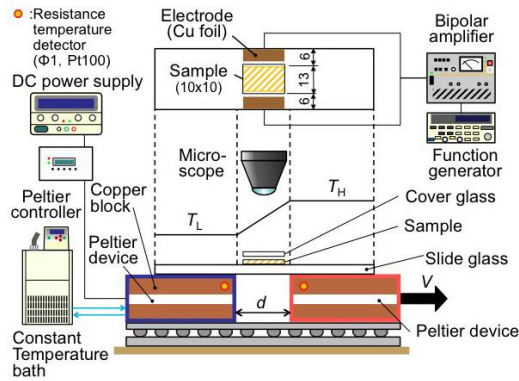


図2 実験装置 (交番電場実験)

### (3) 魚肉の凍結・解凍実験

魚肉の凍結・解凍実験はエアブラスト法で実施した。実験装置は一定温度に維持される低温チャンバー、液体窒素を用いた冷却系、温度測定系で構成される。低温チャンバーは、気化した低温の窒素ガスの供給量を電磁バルブで制御することにより、室内の温度を一定に維持できる。供試試料の冷却は、室内ガスをファンで流動させ、試料の両端面に一定速度で吹き付ける方法とした。試料として25×25×5mmの直方体に切り出したキハダマグロ魚肉を用いた。ドリップ測定用のろ紙ではさみ、さらに乾燥防止のためラップで覆った試料を発砲スチロール製の断熱ブロックに装てんし、両端面から冷却した。試料は筋繊維が熱流と直交する方向に設置した。試料中心部には素線径0.2mmのT型熱電対を挿入した。試料は所定の冷却雰囲気温度 ( $T_{cool} = -10^{\circ}\text{C} \sim -50^{\circ}\text{C}$ ) のもとで冷却・凍結させた後、解凍雰囲気温度 ( $T_{heat} = 5^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ ) のもとで昇温・解凍した。解凍後、試料から流出する液汁 (ドリップ) の量を圧出法を用いて測定した。

### 3. 魚肉組織の凍結・解凍モデル

#### (1) 凍結・解凍モデル

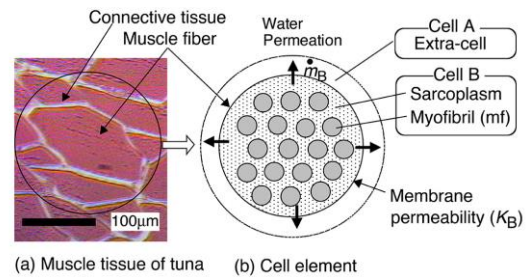
魚肉組織は図3(a)に示されるように体軸方向に走る筋繊維が、結合組織によって固定化された組織体である。そこで、図3(b)に示されるように、筋原繊維の集合体が膠質溶液とともに半透性の膜で閉じこめられたものを筋繊維 (セル B) とし、それを取り囲む筋繊維外領域 (セル A) からなるセル要素を基本ユニットとする。

セル要素の凍結・解凍過程を図3(c)の状態図上に示す。冷却により、まずセル A の凍結が優先的に開始する。他方、セル B (筋繊維) は平衡温度に達しても凍結せず、過冷却状態を維持しながら温度が低下する (b)。この間、浸透圧差によるセル A への水分流出によりセル B は濃縮・収縮する。臨界値に達すると過冷却が解消し (c)、瞬時にセル B 内に氷晶が出現し始め、これ以降は凍結曲線に沿った平衡凝固が進行する。共晶点温度でセル A が完全固相となり、水分移動は停止する。

セル B が共晶点温度に達すると凍結は完了する (e)。

次に、解凍過程では、セル B 内の氷結晶の融解が開始する (f)。ついでセル A の融解が開始し (g)、自由水の出現により水分移動が可能となり、セル B は脱水する。内部氷晶が完全に融解した後もセル B は脱水し (h)、セル A B 間の浸透圧差が逆転すると (i)、セル B は吸水し、体積が回復していく。セル A が完全に融解した後も浸透圧差は解消せず (j)、水分流入が継続し、最終的にセル B は等張状態へ戻る (k)。

組織体の解析は、 $2N$  個のセル要素からなる組織体 (長さ  $2L$ ) が雰囲気温度  $T_{cool}$  のもとで両端冷却した後、雰囲気温度  $T_{heat}$  で解凍する場合について行った。シミュレーションモデルはセル要素の直径  $d = 100 \mu\text{m}$ 、体積率  $f_A = 0.14$ ,  $f_B = 0.56$ ,  $f_{mf} = 0.3$  からなるセル A, B に 1.1wt% の NaCl 水溶液を含むものとした



(a) Muscle tissue of tuna (b) Cell element

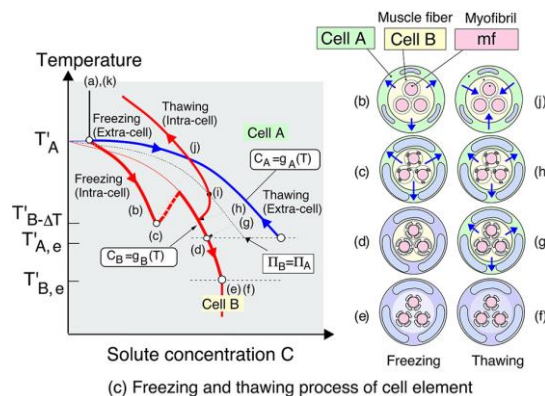


図3 セル要素の凍結・解凍モデル

### 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4に超音波出力と水の過冷却度の関係を示す。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、グレーの帯で示す 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、5W 以上の超音波出力では、低過冷却度における核生成が抑制され、また過冷却



度の分散が小さくなることを見出された。

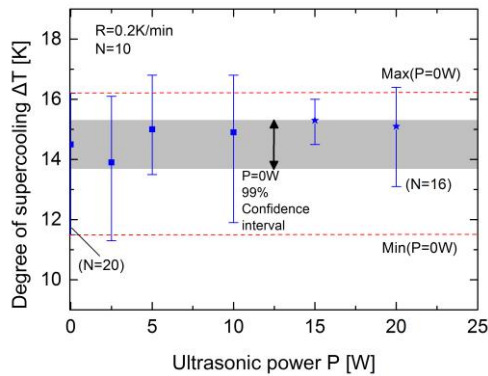


図4 水の過冷却に及ぼす高周波超音波振動の効果

(2) 細胞凍結に及ぼす交番電場の効果

玉ねぎの表皮組織細胞の凍結実験を行い、各細胞の凍結開始時の温度 (=過冷却解消温度) を計測し、各温度における細胞の凍結確率を求めた結果、細胞の凍結温度は一定ではなく、ある幅を有することが確認された。これは細胞の過冷却の解消が確率的な現象であること、および細胞のサイズ・形状にばらつきがあることに起因する。1kHz の交番電場の付与に伴う細胞の凍結温度の変化量を印加電流との関係で図5に示す。ここで、細胞の凍結確率が50%となる温度を  $T^*$  とし、電場を付与しない場合の凍結温度  $T_0^*$  との差  $\Delta T (=T^* - T_0^*)$  を細胞の凍結温度の変化量とした。この値が負になると細胞の過冷却が促進されていることを表す。図中の記号は供試材料の違いを表している。図から、微小電流印加 (1.2~30 $\mu$ A 程度) により、過冷却度が最大 2K 程度促進される結果が得られた。すな

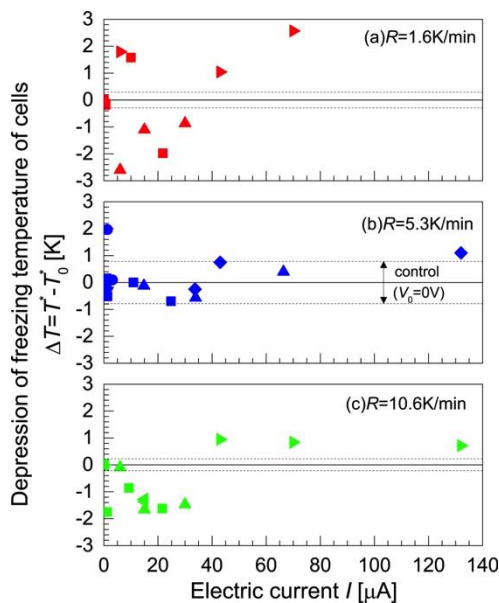


図5 玉ねぎの表皮細胞の過冷却度に及ぼす交番電場の効果 ( $f=1\text{kHz}$ )

わち、電流印加による過冷却促進の可能が示唆される。しかし、印加電流がさらに増えると、細胞の凍結温度は逆に control よりも高くなり、過冷却の解除作用が現れている。これらの結果から、現状では本手法による大過冷却の実現は難しいと考えられる。なお、電流印加の効果は冷却速度によって異なる傾向を示し、この点は今後検討が必要である。

(3) 魚肉の凍結・解凍実験および凍結・解凍過程の損傷度の定量的推算

マグロ魚肉の凍結・解凍過程を数値計算し、得られた筋繊維レベルでの凍結状態の経時変化を図6に示す。緩速に冷却した図6(a)の場合には、セルB(筋繊維)の水分の大部分はセルA(筋繊維繊維外領域)へ流出し、そこで凍結する。すなわち、筋繊維外の優先凍結型となる。これは、水分移動の時間が十分長く、セルBが脱水に伴う凝固点降下により核生成に必要な過冷却度に達せず、氷晶形成を回避するためである。これに対して急速冷却した図6(b)の場合、表層部では水分移動の時間が短いためセルAの優先凍結が継続せず、筋繊維内外の並列凍結型となる。解凍過程では、緩速凍結した図6(a)の場合には筋繊維内の優先融解型に、急速冷却した図6(b)の場合には筋繊維内外の並列融解型となる。

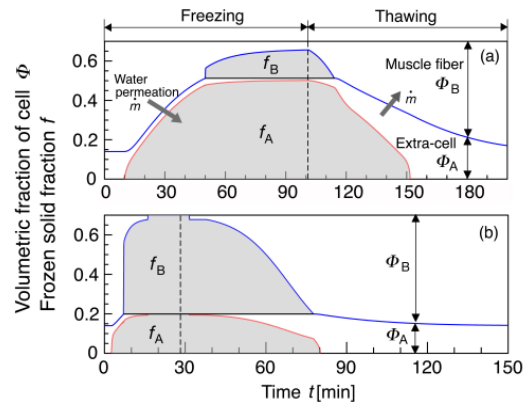


図6 マグロ魚肉の凍結・解凍における筋繊維内外の体積率と凍結固相率の経時変化 [(a)  $T_{\text{cool}} = -10^\circ\text{C}$ , (b)  $T_{\text{cool}} = -50^\circ\text{C}$ , (a)(b)  $T_{\text{heat}} = 10^\circ\text{C}$ ]

解凍後のドリップの測定結果を図7に示す。冷却気流温度 ( $T_{\text{cool}}$ ) が低くなるにつれてドリップ量が減少し、凍結損傷が軽減されることが分かる。これは冷却速度の増加に伴って筋繊維の脱水量が減少し、また筋繊維内外で形成される氷晶径が小さくなることで機械的・膠質的損傷が軽減されるためと考えられる。一方、解凍条件の影響については、解凍気流温度 ( $T_{\text{heat}}$ ) が高くなるとドリップ量の増大を招くことが分かる。したがって、急速凍結・低温解凍が望ましいと言える。また、冷却条件の影響は解凍条件によらずほぼ同一の傾向を示していることから、凍結過程の損傷と解凍過程の損傷がほぼ独立したものとして取り扱えることを見出された。

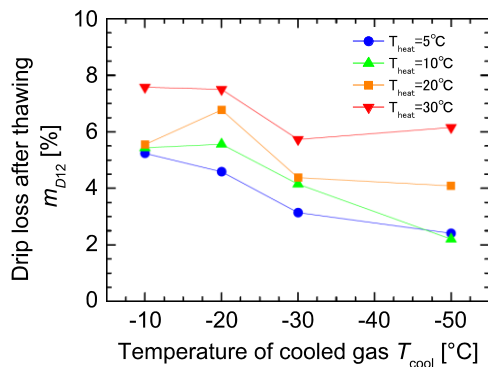


図7 解凍後のマグロ魚肉のドリップ量

未凍結の試料を5~30°Cの気流に一定時間曝した後、ドリップ量を計測し、高温気流による損傷度を推定した。その結果、暴露時間が長いほど、また気流温度が高いほどドリップ量が増加することが確認された。そこで、高温気流による損傷度がアレニウスの温度依存性のある一次反応に従うものとして、高温気流によるドリップ発生量を定式化した。次に、解凍条件( $T_{heat}$ )によらず凍結損傷に起因するドリップ量 $m_{D1}$ は主に筋繊維の脱水量の関数で表されることが明らかとなった。これは、筋繊維の脱水量は膜の変形量や筋繊維外の氷結晶の大きさを表し、筋繊維膜の機械的損傷の程度を間接的に表すためと理解される。そこで、凍結過程で生じるドリップ量を筋繊維の平均脱水率( $\Delta V/V_0$ )の関数として定式化した。

以上の結果を用いて、冷却条件( $T_{cool}$ )に対する凍結状態(筋繊維の脱水率( $\Delta V/V_0$ ))を数値計算した後、(1)凍結損傷に起因するドリップ量 $m_{D1}$ を求めた。次に、(2)解凍過程における0°C~終温までの区間での高温気流に起因するドリップ量 $m_{D2}$ を算出し、解凍過程の損傷度とした。両者の合計により損傷度を推算した結果を図8に実線で示す。冷却気温度が高くなるにつれて筋繊維の脱水量が増加し、 $m_{D1}$ の損傷度が増大する。実線の数値計算結果は実験値を概ね推定できており、本手法の妥当性が裏付けられる。また、計算結果から損傷度の内訳を知ることが可能となり、凍結・解凍操作の最適化の指標として有用である。

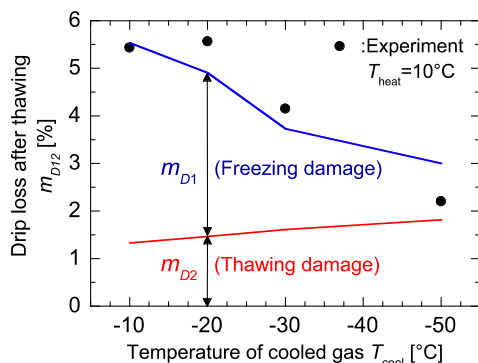


図8 凍結・解凍後のドリップ量の推算

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

- ① 多田 幸生、食品の凍結・解凍における伝熱と損傷機序、伝熱、査読無、Vol. 56、No. 234、2017、pp. 25-30、[http://www.htsj.or.jp/wp/media/2017\\_1.pdf](http://www.htsj.or.jp/wp/media/2017_1.pdf)
- ② Y.Tada, H.Naka and H.Onishi, Quantitative prediction of freeze-thaw damage in food by using microscale heat and mass transfer model, Proceedings of the 27th International Symposium on Transport Phenomena、査読有、2016、ISTP27-137 <http://istp27.jp/>

〔学会発表〕(計5件)

- ① 西川 晃平、多田 幸生、大西 元、春木将司、高周波超音波振動を利用した組織体凍結の制御、日本伝熱学会北陸信越支部秋季セミナー、2016年11月19日、三國観光ホテル(福井県・坂井市)
- ② Y.Tada, H.Naka and H.Onishi, Quantitative prediction of freeze-thaw damage in food by using microscale heat and mass transfer model, the 27th International Symposium on Transport Phenomena, 2016年9月22日、ホノルル(米国)
- ③ 田中 優光、多田 幸生、大西 元、義岡 秀晃、組織細胞の凍結に及ぼす交番電場の効果、日本機械学会熱工学コンファレンス2015、2015年10月24日、大阪大学(大阪府・吹田市)
- ④ 多田 幸生、中 信幸、大西 元、食品の凍結・解凍における損傷度の定量的予測に関する研究、2015年度日本冷凍空調学会年次大会、2015年10月23日、早稲田大学(東京都・新宿区)
- ⑤ 新蔵 慶太、多田 幸生、大西 元、固体壁面上の核生成に及ぼす超音波振動の効果、日本機械学会熱工学コンファレンス2014、2014年11月8日、芝浦工業大学(東京都・江東区)

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

多田 幸生 (TADA, Yukio)

金沢大学・理工研究域機械工学系・教授

研究者番号：20179708

(2)研究分担者

大西 元 (ONISHI, Hajime)

金沢大学・理工研究域機械工学系・助教

研究者番号：80334762