A151

超音波照射下における氷晶形成に関する研究

Ice Formation under Ultrasonic Irradiation

正 多田 幸生 (金沢大)

正 瀧本 昭 (金沢大)

○学 紺谷 翼 (金沢大院)

正 林 勇二郎 (金沢大)

Yukio TADA, Akira TAKIMOTO, Tubasa KONYA and Yujiro HAYASHI

Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa, 920-192

A method to actively controlling crystallization is one of promising technique for cryopreservation. The object of this paper is to study the effects of ultrasonic irradiation on ice formation during freezing of biological materials. In the experiments, potato tissue was frozen under irradiation of ultrasound at frequency of 28kHz. Firstly, it was found that ultrasound enhanced the freezing rate. Secondly, the microscopic observation using Cryo-SEM suggested that mechanical damage of the tissue due to extracellular ice formation was reduced by ultrasonic irradiation. However, through impedance analysis, the Cole-Cole arc disappeared regardless of ultrasonic irradiation. Therefore, the effects of ultrasonic irradiation on freezing damage did not made clear quantitatively.

Key Words: Freezing, Ultrasound, Sonocrystallization, Ice Crystal, Food

1. 緒言

コールドチェーンの整備が進んだ今日、農畜水産物を凍結（冷凍）保存する技術は広く普及し、利用されている。食品の凍結保存は、低温化と活性水分の低減により、生化学反応の抑制と微生物による汚染・腐敗の阻止を図ることを目的とする。しかし、低温化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・膠質的損傷に繋がる。特に細胞外氷晶の成長は組織の形態変化や破壊をもたらす。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、食味や食感の低下などの品質劣化を招く問題がある。従来、凍結損傷を抑制するために急速冷却が用いられるが、Bi 数の制限のため適用物体の寸法に制約が生じる。そこで、低冷却速度で氷晶を微細化させる技術の開発が重要な課題となる。

以上の観点から本研究は、超音波照射による氷晶形成の制御を追究する。すなわち、細胞内外の領域で超音波キャビテーションを発生させ、それにより (1) 細胞の過冷却の能動的解除、(2) 細胞内外の水結晶の破碎・微細化、(3) 氷核生成数の増加を図る。これにより、早い段階で細胞内過冷却を能動的に解除して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晶を破碎・微細化することにより機械的損傷を軽減するものである。前報では超音波音響場における模擬試料（寒天）の凍結実験を行い、冷却速度が大きい条件において超音波照射による氷結晶の微細化の可能性が示された⁽¹⁾。本報では細胞集合体である食品に対する効果を検証すべく、馬鈴薯を供試した凍結実験を行い、氷晶形成に伴う組織の形態学的変化と損傷度を超音波出力と関連づけて実験的に検討したものである。

2. 実験装置および方法

実験装置は概ね前報⁽¹⁾と同様であり、その概要を Fig.1 に示す。装置は超音波照射下で試料を浸漬冷却する試験部、超音波振動発生装置、冷却液循環系、ギヤーポンプ、熱電対を用いた温度測定系などで構成される。アクリル製の矩形容器内に試料を設置し、低温恒温槽で所定の温度 (T_{∞}) に調温された冷却液を循環させることにより試料を冷却した。同時に、ファンクションジェネレーターで発生させた正弦波をパワーアンプで増幅し、容器底部に取り付けられたランジュバン型ボルト締め振動子を駆動することにより 28kHz の超音波を照射した。

供試試料として細胞間隙領域が少なく、氷結晶による機

械的損傷が観察しやすい生物試料として馬鈴薯を用いた。5x5x25mm の直方体に切り出した試料をポリ塩化ビニリデン製のフィルムで包んだ後、発泡スチロール製の断熱材に埋め込み、試料片面から一方向冷却した。

実験は冷却液温度 (-10 ~ -30°C)、および超音波出力（振動子の駆動電力、0 ~ 8W）を種々変化させて行い、凍結過程における試料温度の経時変化の測定を行った。また、凍結させた試料を 6°C の水に浸漬して解凍し、熱流と垂直な断面について組織の状態を Cryo-SEM で観察した。さらに、電気インピーダンス法⁽²⁾を用いて氷晶形成に伴う損傷度の計測を試みた。

3. 実験結果と考察

3.1 冷却曲線

試料の温度の経時変化を冷却液温度が -30°C の場合について Fig.2 に示す。冷却曲線は、室温から凝固点温度まで試料が冷却される stage(I)、食品に含まれる水分の凍結が開始し、凝固潜熱の放散による熱的平坦部が現れる stage(II)、大部分の水分の凍結が終わり、再び顕熱の除去により温度低下する stage(III)、の 3 つの特徴的な期間からなる。4W および 8W の超音波を照射すると、stage(II) の通過時間が短縮されることが判る。これは、超音波の効果により細胞の過冷却度が減少し、凍結開始温度が高くなること、また、音

Fig.1 Experimental apparatus

Fig.2 Timewise variation of temperature

Fig.3 Time passed through maximum ice formation zone

Fig.4 Cryo-SEM micrograph for potato tissue

Fig.5 Electrical properties of potato tissue after freezing-thawing

波の持つ波動エネルギーの一部が媒質を動かす力学的エネルギーに変換される現象（音響流）の作用が増加し、試料表面での熱伝達率が増加することなどによるものと考えられる。

次に、大部分の水結晶が生成される最大水結晶生成帯として $0^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ の区間を考え、その通過時間と超音波出力の関係を Fig.3 に示す。冷却液温度が -10°C の場合には、超音波を付与すると、通過時間が長くなる。これは音響エネルギーの一部が熱エネルギーに変換される影響と考えられる。冷却液温度が低い -30°C の場合には、つまり冷却熱流束が大きい場合には、超音波による発熱の影響が小さくなり、通過時間がやや短縮されることが判る。

3.2 凍結・解凍後の組織の Cryo-SEM 観察

熱流と垂直な断面について凍結・解凍後の試料の状態を観察した結果を Fig.4 に示す。超音波を照射しないで凍結させた試料の細胞 (Fig.4(b)) は、凍結前の新鮮試料 (Fig.4(a)) と比較して、丸みを帯び、変形していることが判る。すなわち、細胞膨圧が低下している。また、細胞間に不可逆な亀裂が確認でき、水結晶による機械的損傷が生じている。これに対して、超音波照射下で凍結させた場合 (Fig.4(c))、細胞は全体的に多角形状を維持し、また、亀裂も少ない様子が見受けられる。これより、定性的ではあるが超音波による凍結損傷の軽減の可能性が示唆される。

3.3 電気インピーダンス法による凍結損傷度の計測

一般に植物組織は絶縁性の膜によってコンパートメント化された物体の集合体であり、電気的には細胞膜の膜容量、細胞内液の抵抗、および細胞外液の抵抗からなる並列回路と見なすことができる。そこで、各周波数に対するインピー

ダンスとリアクタンスの測定を行い、Cole-Cole プロットを描くとその誘電特性を知ることができる。凍結に伴う組織構造の変化は Cole-Cole プロットの変化として検出され、これにより損傷度を計測した。

計測結果を Fig.5 に示す。点線で示す新鮮試料の場合には、インピーダンスは周波数依存性を示し、また Cole-Cole プロットにおいて明確な円弧が現れており、明確な細胞構造が存在していることが判る。これに対して、凍結した場合には、超音波照射の有無にかかわらずインピーダンスの周波数依存性がなくなり、また Cole-Cole 円弧は消失している。すなわち、超音波の付与にかかわらず細胞膜構造が大きなダメージを受けていることを示している。この結果は Cryo-SEM 観察の結果と一致しておらず、測定方法を含め、今後検討が必要と考えられる。

4. 結言

- (1) 超音波照射により、最大水結晶生成帯通過時間を短縮される。ただし、冷却熱流束に対して超音波出力が大きすぎると通過時間は逆に長くなる。
- (2) 組織観察の結果、超音波照射により、細胞外氷晶の成長に伴う機械的損傷が軽減できる可能性が認められた。
- (3) 電気インピーダンス法による損傷度の計測では、超音波による損傷の軽減効果は確認されなかった。

参考文献

- (1) 多田・他 3 名, 第 42 日本伝熱シンポジウム講演文集, I (2005), 137.
- (2) 大西・宮脇, 低温生物工学会誌, 46-2(2000), 99.