

## 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\*

Nurkholis HAMIDI\*<sup>1</sup>, 鶴田 隆 治\*<sup>2</sup>Effect of Microwave Pre-Dehydration on Ice Crystal  
Formation in Freezing ProcessNurkholis HAMIDI and Takaharu TSURUTA\*<sup>3</sup><sup>\*3</sup> Department of Mechanical Engineering, Kyushu Institute of Technology,  
1-1 Sensui-cho, Tobata-ku, Kitakyushu-shi, Fukuoka, 804-8550 Japan

Partial dehydration by microwave-vacuum drying has been applied to mackerels in order to reduce cell-damages caused by the formation of large ice-crystals during freezing. The samples were subjected to microwave vacuum drying at pressure of 5 kPa and temperature less than 27°C to remove small amount of the water prior to freezing. The mackerels were cooled by using the freezing chamber at temperature of -20°C and -80°C, respectively. The observations of ice crystal clearly indicated that large ice crystals were mainly formed in the intercellular spaces when the mackerel was frozen at the both cooling conditions. It is also can be understood that the formation of large ice crystals has a close relation to the cell damages. In this experiment we successfully confirmed that rapid cooling and pre-dehydration are effective in minimizing the size of ice crystal. After thawing, the pre-dehydrated samples showed a less drip loss than the un-dehydrated one. It is considered that the pre-dehydration by microwave-vacuum drying is one of promising method for the cryo-preservation of foods.

**Key Words:** Pre-Dehydration, Microwave-Vacuum Drying, Frozen Storage, Ice Crystal, Cells Damage

## 1. 緒 言

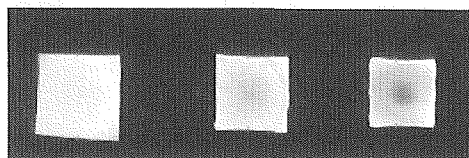
冷凍保存は、食品の長期保存に適した方法であり、鮮度や風味、栄養分などを保つことができる技術として広く利用されている。その一方で、解凍後のドリップが少なく、食感も損なわれない良質な冷凍技術が望まれている。

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わかっている。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、細胞損傷に繋がることは広く知られている<sup>(1,2)</sup>。そこで、急速冷却を行う方法が採られているが、大きな冷凍能力が必要になること、加えて、ある程度の大きさを有するものでは、内部まで速い冷却速度で一様に冷却することができないため、ヒビや割れの生じることもある<sup>(3)</sup>。

冷却速度による改善策以外の方法として、高圧条件

下において凍結させることにより、形成される氷晶サイズを小さくする方法<sup>(4-6)</sup>や、冷凍操作の前に予備脱水あるいは乾燥を行なって凍結に關与する水分を予め除去し、氷晶の生成と成長を抑える方法<sup>(7-10)</sup>がある。著者らは、後者の予備乾燥に着目した研究を進めている。

冷凍の前に水分を減ずる方法の多くは、食材を糖類などの溶液に浸漬し、浸透圧差を用いて脱水する方法である。しかしながら、溶液に浸漬することによって味や風味が変化することになり、食材そのものを保存する観点からすると好ましくない。そこで、常温にて水分のみを取り除く方法としてマイクロ波減圧乾燥法<sup>(11,12)</sup>を用いることにした。図1は3cm角のダイコンを



(a) 17.5 g/g-dry (100%) (b) 12.0 g/g-dry (68.6%) (c) 8.65 g/g-dry (49.4%)

Fig.1 MRI images of water distribution in radish<sup>(13)</sup> during microwave-vacuum drying

\* 原稿受付 2008年11月21日。

<sup>\*1</sup> 正員, 九州工業大学大学院工学研究科(☎804-8550 北九州市戸畑区仙水町1-1)。<sup>\*2</sup> 正員, フェロー, 九州工業大学大学院工学研究科。  
E-mail: tsuruta@mech.kyutech.ac.jp

マイクロ波減圧乾燥によって乾燥させた際の内部水分分布を捉えたMRI画像<sup>(13)</sup>である。初期状態(a)の含水率は、乾量基準で17.5g/g-dryであり、その水分質量を100%とした時の水分割合も示しているが、乾燥とともに水分分布が変化の様子を知ることができる。白く写っている部分が水分を表すが、マイクロ波減圧乾燥では水分が外表面に多く、内部より減少しているのがわかる。この水分分布は、外部から冷却する冷凍においては非常に好ましい。なぜなら、表面層は急冷可能であり、冷却速度が制限される内部においては低含水率となっているため、冷凍時の氷晶による損傷を低減することが出来るからである。実際に、魚や牡蠣、そしてイチゴを用いた実験を行い、解凍後の食感や細胞組織が改善され、ドリップロスが減少することを報告している<sup>(14,15)</sup>。

本報では、これまでよりスケールアップした試料を対象とし、凍結時の氷晶サイズや分布に焦点をあて、氷晶の生成・成長の詳細と解凍後の組織復元の様子を観察し、マイクロ波予備乾燥の効果について検討した。

## 2. 実験装置および実験方法

### 2.1 マイクロ波常温乾燥

マイクロ波常温乾燥を行う装置の概略を図2に示す。これは、電子レンジの中に内径160mm、奥行き260mmの石英ガラス製真空容器を設置した簡易型で、真空排気系とともに微量の外気を導入することを特徴としている。この真空容器内に外気が①方向に流入し、蒸気と共に真空ポンプによって②方向に排出される。この外気の導入によって乾燥の高速化が可能となる<sup>(11)</sup>。外気の導入量は毎分0.5L程度である。減圧乾燥の条件は、真空容器内の圧力を5kPaとし、試料温度が27°Cを超えないように100Wの照射モードにおいてon-off操作を行なった。

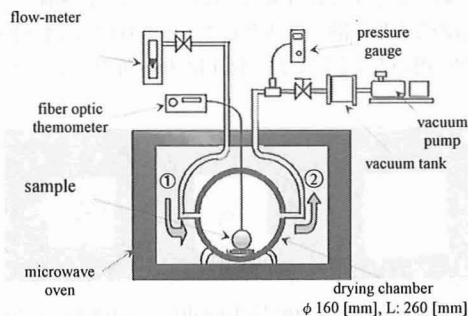


Fig.2 Microwave vacuum drying

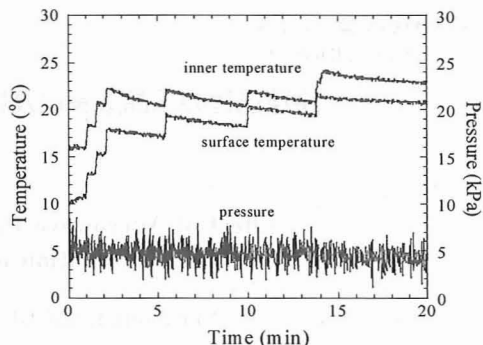


Fig.3 Drying temperature and pressure

温度測定には、マイクロ波の影響を受けない光ファイバー温度計を用い、試料の表面近くと中心部に装填して計測する。図3に、サバの乾燥実験における圧力と試料温度を示す。マイクロ波減圧乾燥法は内部加熱により、試料の内部温度が表面温度よりも数°C高くなる。この温度差による飽和蒸気圧差が水分を物体内部から表面へ移動させるポンプ作用として働き、内部から表面への水分拡散を促進していると考えられる。

試料となるサバは、頭と尾ひれを落とし、内臓を取り出した258-267gのものを使用した。初期の水分割合は、乾量基準の含水率で2.29g/g-dryであり、これを相対水分量で3%および5%だけ予備乾燥させた。それぞれの乾量基準含水率は2.19g/g-dry, 2.12g/g-dryとなる。

### 2.2 冷凍方法および氷晶と組織の観察

実験にはデジタル温度制御が可能な冷凍庫を用いた。雰囲気温度-20°Cおよび-80°Cの実験条件下で、予備乾燥を行わないサバと前節で準備した予備乾燥後のサバを試料とし、冷凍を行った。温度測定にはK型熱電対を使用し、試料表面から10mmの深さに挿入した。各々の雰囲気温度条件に対する冷却速度は0.26°C/min, 0.88°C/minであった。

形成される氷晶のようすは、薄く切り出したサバ(クライオセクションと呼ぶ)から直接観察した。氷晶の観測方法を図4に示す。凍結したサバの中心部から1cm×1cm×1.5cmの大きさに切り出したものを凍結マイクローム(LEICA CM1510S)に装着し、10-20μmの薄片にした。切削作業を行うマイクロームの庫内温度は-30°Cに設定されており、マイクローム内で同じく-30°Cに冷却された銅板(直径39mm, 厚み4mm)、スライドガラス、クライオセクション、そしてカバーガラスの順に配置してテストセクションを構成している。銅板の熱容量により、顕微鏡下に設置されたステージに移動する際の融解を防ぐことが可能と

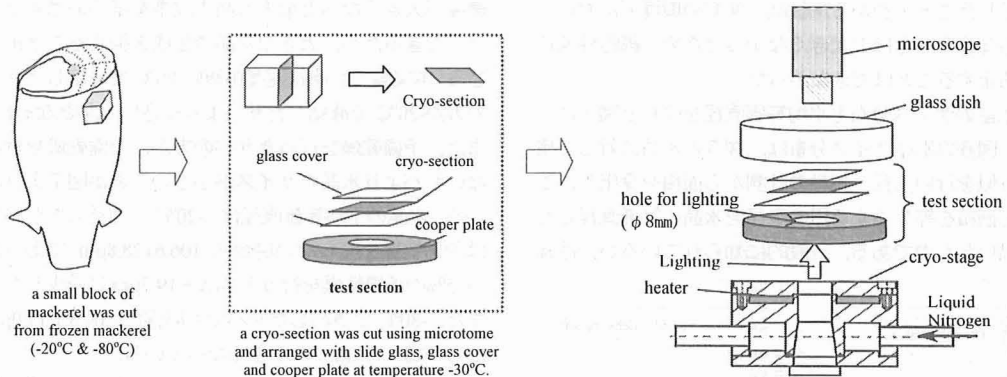


Fig.4 Experimental technique for ice crystal observation

なる。氷晶の観察には、液体窒素により-30°Cに制御された冷却ステージを持つデジタル顕微鏡を使用し、サバ内部に形成された氷晶を観察した。なお、テストセクション上での凝縮及び凍結を防ぐために、テストセクションをガラス皿で覆っている。

**2・3 ドリップ率測定方法** ドリップロス割合は、凍結-解凍過程の前後における試料の質量変化で定義される。初期質量は解凍前の質量とし、解凍後の質量を最終質量とした。解凍時に発生する水分は試料を網に入れて 30 分程度吊るしておくことでほぼ完全に分離した。ドリップロス割合は以下の式を用いて

計算した。

$$\text{ドリップ率} = \frac{(\text{解凍前の質量} - \text{解凍後の質量})}{\text{解凍前の質量}} \times 100[\%] \quad (1)$$

### 3. 結果と考察

**3.1 サバの氷晶観察** -20°C および-80°C で冷凍した際に生成された氷晶の写真を、それぞれ図5 (a) および図5 (b)に示した。明るい部分が氷晶である。いずれの冷却条件でも大きな氷晶が筋繊維の周りに生成しているのが観察できる。筋繊維は、それら細胞外に生成した氷晶によって変形しており、水分が細胞外に

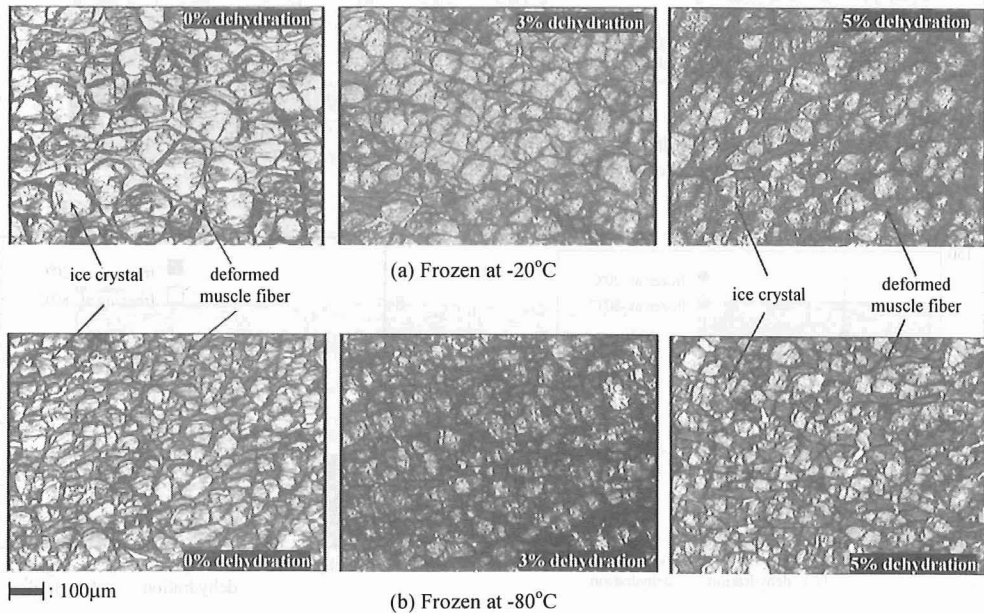


Fig.5 Photomicrographs of the morphologies of ice crystal in mackerels frozen at (a) -20°C and (b) -80°C

移動したことがわかる。なお、 $-80^{\circ}\text{C}$ の環境下においても冷却速度はそれほど大きくなかったため、細胞外凍結を防止することはできなかった。

氷晶のサイズ分布と平均等価直径を図6と図7に示す。図6の氷晶サイズ分布は、図5の氷晶に対して楕円近似を行い、長・短軸の計測から面積を算出し、これと面積を等しくする円の直径を氷晶の等価直径として描いたものである。一般的に知られているが、冷却

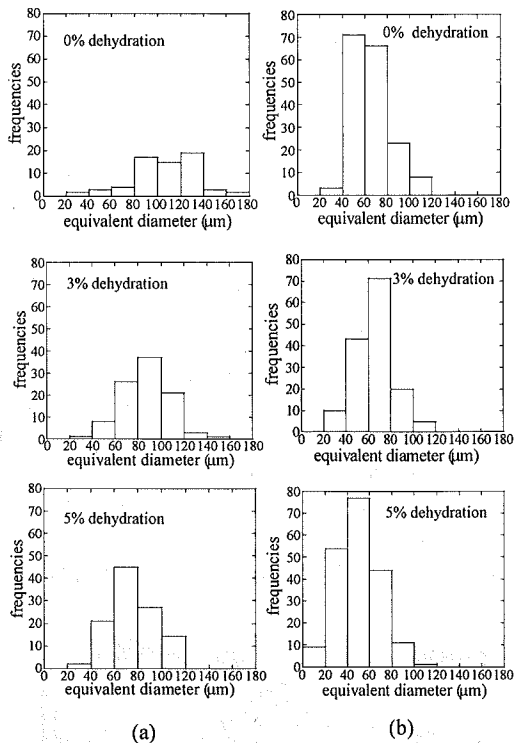


Fig.6 Histograms of ice crystal size in mackerel for freezing ambient temperatures of (a)  $-20^{\circ}\text{C}$  and (b)  $-80^{\circ}\text{C}$

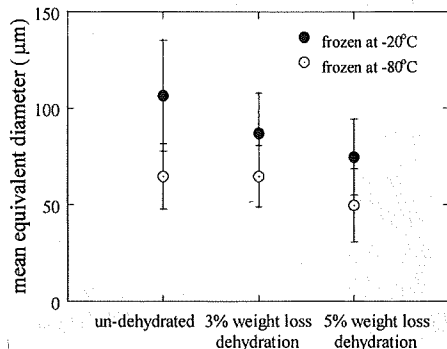


Fig.7 Mean equivalent diameter of ice crystal

速度が大きくなると最大氷晶生成帯を早く通過することができるため、大きな氷晶の生成を抑えることができる。本実験でも凍結速度が速い $-80^{\circ}\text{C}$ で凍結したサバの方が $-20^{\circ}\text{C}$ で凍結したサバより小さい氷晶となった。また、予備乾燥を行ったサバの方が、予備乾燥を行わないサバより氷晶のサイズが小さいことが図7よりわかる。氷晶の平均等価直径は、 $-20^{\circ}\text{C}$ で凍結したサバでは予備乾燥を行わない場合に  $106.6 \pm 28.8 \mu\text{m}$  であったが、5%の予備乾燥を行うと  $74.6 \pm 19.7 \mu\text{m}$  に減少した。また、 $-80^{\circ}\text{C}$ で凍結したサバでも同様に、 $64.8 \pm 17.0 \mu\text{m}$  から  $49.8 \pm 19.0 \mu\text{m}$  に小さくなっている。

冷凍前に乾燥によって水分を減じることは、凍結に関与する自由水を減らすことになり、トレハロースの水和作用によって自由水が減り、その結果として氷晶成長が抑制されること<sup>(16)</sup>に類似している。すなわち、氷晶界面への水分子供給が制限されるとともに、凝固点降下にもなう核生成の促進が、多くの分散した氷晶核を形成し、大きな氷晶の成長を抑制するものと考えられる。検証が今後の課題である。

### 3.2 ドリップと組織の機械的損傷の観察

ドリップロスとは、細胞の損傷の程度を知る指標となる。冷凍によって損傷を受けた細胞は、解凍した後に高濃度の細胞液を放出する。しかし、損傷の少ない細胞は解凍の過程で水分を吸収し、冷凍前の状態に復元することが可能である<sup>(17)</sup>。

サバのドリップロスについて、冷却速度と乾燥条件に対してそれぞれの5匹のサンプルから得た結果を図8に示した。これによると、0.98-3.1%のドリップロスが解凍後に発生しているが、予備乾燥によって、解凍後のドリップロスが減少することがわかる。これは凍結前にいくらかの水分を試料から取り除くことで、

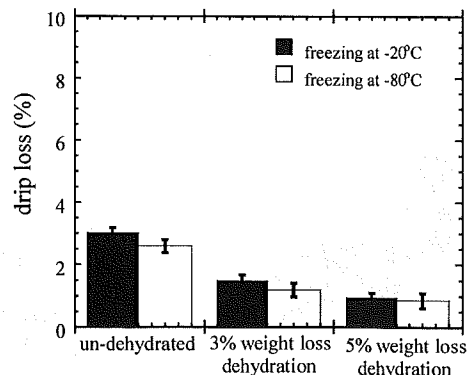


Fig. 8 The gravity drip loss of mackerel.

凍結時に氷晶のサイズが小さくなり、それにより細胞の損傷を減らせるためだと考えられる。予備乾燥を行わない試料の場合には、凍結すると大きな氷晶が生成され細胞膜が破壊される。これにより細胞内の細胞液が細胞より流出し、解凍時の水分再吸収も不可能となる。一方、氷晶による細胞損傷が少なければ、その形を復元するとともにドリップロスも減らすと考えられる。本実験では、 $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結した試料のほうが、 $-20^{\circ}\text{C}$  で凍結した試料よりドリップロスが減少することもわかった。これは急速冷凍により図 10 や図 11 で示したように氷晶のサイズが小さくなったためである。

図 9～11 は、デジタル顕微鏡システムで観察した氷晶と、その解凍時のようすである。図 9 と 10 は予備乾燥を行わず、それぞれ  $-20^{\circ}\text{C}$  と  $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結した場合であり、図 11 は 5% の予備乾燥を行い  $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結を行なったものである。前にも述べたとおり、細胞外の氷晶生成が支配的となっている。また、細胞組織は、氷結晶の成長によって機械的ストレスを受けているといえる。すなわち、図 9 (a)、10 (a) および 図 11 (a) では筋繊維が氷晶によって圧縮され、変形していることが観察できる。この氷晶による圧縮が、細胞構造の損傷に重大な影響を与えるものとする。その理由は、氷晶

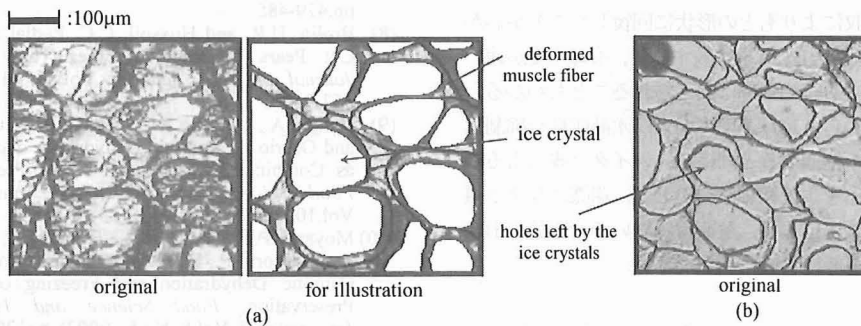


Fig.9 Cryosection of un-dehydrated mackerels frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$ ; (a) frozen cryosection and (b) thawed cryosection

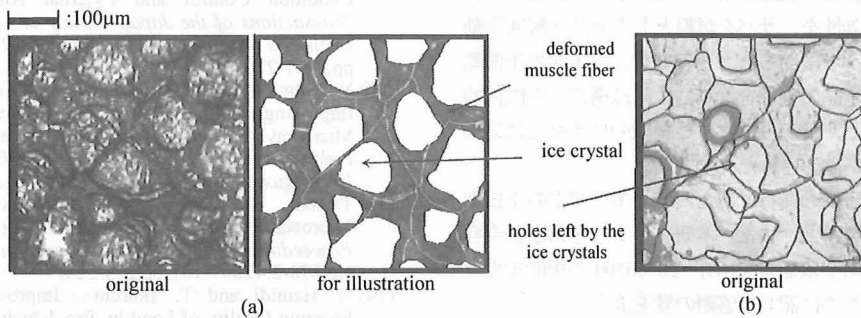


Fig.10 Cryosection of un-dehydrated mackerels frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$ ; (a) frozen cryosection and (b) thawed cryosection

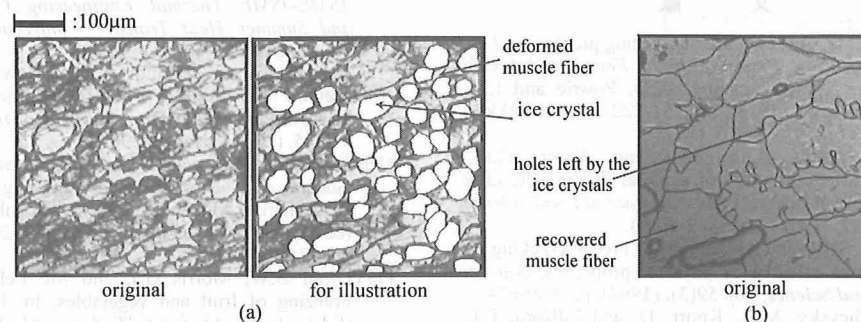


Fig.11 Cryosection of dehydrated 5% mackerels frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$ ; (a) frozen cryosection and (b) thawed cryosection.

が融解した直後の写真である図9(b), 10(b)および図11(b)に見ることができる。つまり、解凍後の写真では、氷晶によって細胞組織に複数の穴が開いており、この細胞損傷によってドリップロスが発生するものと思われる。また、大きな氷晶の生成と細胞損傷とは密接な関係にあることもわかる。図10(b)を見ると、予備乾燥をしていないサバは大きく成長した氷晶によって筋組織が壊され、回復することができていない。これに対して図11(b)に示した5%の予備乾燥を行ったサバでは、細胞の損傷は見られるものの、生成した氷晶が小さいために損傷の程度は抑制されている。この写真により、解凍後の組織の空隙が少なくなり、筋組織が水分の再吸収によりもとの形状に回復したことがわかる。なお、図9と図10を比較すると、冷却速度が速いほど氷晶による細胞損傷は抑えられることもわかる。以上の観察から、冷却速度の増大が氷晶成長を抑制して組織損傷を軽減すると同時に、マイクロ波による予備乾燥は氷晶をより微細なものとし、組織に与える損傷を抑えることにより、解凍時において冷凍前の形状への復元を可能にしているといえる。

#### 4. 結 言

マイクロ波常温乾燥を用いて冷凍前に予備乾燥を行うことの有効性を、サバを試料とした氷晶と解凍挙動の観察によって検討した。その結果、冷凍前の予備乾燥は大きな氷晶の生成を抑制し、組織構造への機械的損傷を軽減し、解凍時における組織の形状復元に効果のあることが確認された。

なお、本研究の遂行にあたって、本学学生の上田和明君の協力を得た。また、本研究は日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(B) 20360100の援助を受けて行った。ここに記して感謝の意を表す。

#### 文 献

- (1) Fennema, O.R., Nature of freezing process. In *Low Temperature Preservation of Foods and Living Matter*, (O.R. Fennema, W.D. Powrie and E.H. Marth, eds.), (1973), pp. 151-222, Marcel Dekker, New York.
- (2) Bello, R.A., Luft, J.H. and Pigott, G.M., Ultrastructural study of skeletal fish muscle after freezing at different rates. *Journal of Food Science*, Vol. 47, (1982), pp. 1389-1394.
- (3) Kim, N.K. and Hung, Y.C., Freeze-cracking in foods as effected by physical properties, *Journal of Food Science*, Vol. 59(3), (1994), pp. 669-674.
- (4) Kalichevsky, M.T., Knorr, D. and Lillford, P.J., Potential applications of high-pressure effects on ice-water transitions, *Trends Food Sci. Tech.*, Vol.6, (1995), pp. 253-259.
- (5) Martino, M.N., Otero, L., Sanz, P.D. and Zaritzky, N.E., Size and location of ice crystals in pork frozen by high-pressure-assisted freezing as compared to classical methods. *Meat Science*, Vol.50(3), (1998), pp. 303-313.
- (6) Zhu SongMing, Bail, A. le, Ramaswamy, H. S, Ice crystal formation in pressure shift freezing of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as compared to classical freezing methods., *Journal of Food Processing and Preservation*, Vol. 27, No.6, (2003), pp. 427-444.
- (7) Sormani, A, Maffi, D, Bertolo, G, and Torreggiani, D, Textural and Structural Changes of Dehydrofreeze-thawed strawberry slice: Effect of Different Dehydration Pretreatment, *Food Science and Technology International*, Vol.5, (1999), pp.479-485.
- (8) Brolin, H.R, and Huxsoll, C.C, Partial Drying of Cut Pears to Improve Freeze/Thaw Texture, *Journal of Food Science*, Vol.58, (1993), pp. 357-360.
- (9) Bungler A., Moyano P.C., Vega R.E., Guerrero P., and Osorio F., Osmotic Dehydration and Freezing as Combined Processes on Apple Preservation, *Food Science and Technology International*, Vol.10, No.3, (2004), pp. 163-170
- (10) Moyano P.C., Vega R.E., Bungler A., Garretton J., and Osorio F., Effect of Combined Processes of Osmotic Dehydration and Freezing on Papaya Preservation, *Food Science and Technology International*, Vol.8, No.5, (2002), pp. 295-301
- (11) Tsuruta, T. and Hayashi, T., Enhancement of Microwave Drying Under Reduced Pressure Condition Control and External Air Supply, *Transactions of the Japan Society of Mechanical Engineers, Series B*, Vol. 72, No.723 (2006), pp.2761-2766.
- (12) V. Böhm, S. Kühnert, H. Rohm, and G. Scholze, Improving the Nutritional Quality of Microwave-vacuum Dried Strawberries: A Preliminary Study, *Food Science and Technology International*, Vol. 12, No. 1, (2006), pp. 67-75.
- (13) Tanaka, K., Kawano, K. and Tsuruta, T, Microwave Room-Temperature Drying of Food, *Proceedings of the JSME Conference in Okinawa*, No.078-2, (2007-10), pp.223-224.
- (14) N. Hamidi and T. Tsuruta, Improvement of Freezing Quality of Food by Pre-dehydration with Microwave-Vacuum Drying, *Journal of Thermal Science and Technology, Special Issue on the 2007 ASME-JSME Thermal Engineering Conference and Summer Heat Transfer Conference*, Vol.3, No.1., (2008)
- (15) Tsuruta T. and Hamidi N., A New Freezing Method Using Pre-Dehydration by Microwave-Vacuum Drying, *Trans of the JSRAE*, Vol.25, (2008), pp. 291-298.
- (16) Uchida T, Nagayama M., Shibayama T., and Gohara K., Morphological Investigations of Disaccharide Molecules for Growth Inhibition of Ice Crystal, *J. of Crystal Growth*, Vol. 299 (2007), pp. 125-135.
- (17) Grout B.W, Morris G.J. and Mc Lellau M.R., Freezing of fruit and vegetables. In: Bald W.B. (Ed.), *Food Freezing Today and Tomorrow*. London: Springer-Verlag., (1991), pp. 113-121.