

発表番号 22

界面前進凍結濃縮法における塩類の固液間極限分配係数 および成分間相互作用の解析

助成研究者 宮脇長人 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

界面前進凍結濃縮法は冷却面から氷結晶を一次元的に氷結晶を成長させること
によって凍結濃縮を行う方法であり、系に唯一個の氷結晶しか存在しないため、
固液分離が非常に容易であり、このことは、従来法である多数の微細な氷結晶を
成長させる懸濁結晶法と比較して、凍結濃縮法の大幅なコストダウンを可能とし、
凍結濃縮法の応用範囲を大きく拡大することが期待されている。

界面前進凍結濃縮法においては、溶質の固液間有効分配係数 K が重要であり、こ
の値は、操作条件である凍結界面進行速度および、固液界面における物質移動速
度に影響され、これらの影響は濃度分極理論により以下のように記述される。

$$K = K_0 / [K_0 + (1 - K_0) \exp(-u/N^{0.2})] \quad (1)$$

ここに u は凍結界面進行速度 (cm/s)、 N は固液界面における攪拌速度 (rpm)、 K_0
は極限分配係数で、界面前進凍結濃縮法における重要なプロセスパラメーターで
ある。上式は以下のように変形することができる。

$$\ln(1/K-1) = \ln(1/K_0-1) - (1/a)u/N^{0.2} \quad (2)$$

この式を用い、種々の操作条件における固液間有効分配係数 K の測定値を、 $u/N^{0.2}$
対 $\ln(1/K-1)$ の関係としてプロットすれば直線関係が得られ、その $u/N^{0.2} \rightarrow 0$ への外
挿値から極限分配係数 K_0 が得られることが期待される。

種々の濃度の、ブルーデキストラン、グルコース、NaCl、KCl、LiCl、CsCl、
およびDextran2000の単独、または混合溶液を試料とし、凍結界面速度および攪拌
速度を変化させて溶質の固液間分配係数を測定した結果、いずれの場合におい
ても、(2)式により期待される $u/N^{0.2}$ 対 $\ln(1/K-1)$ の直線関係が得られ、そのゼロ外挿
値から極限分配係数 K_0 を得ることができた。 K_0 の値は溶質濃度により変化し、濃度
増加により K_0 も増大した。このことは界面前進凍結濃縮における固液界面におけ
る溶質分配機構に対し、固液平衡分配現象のみならず、何らかの非平衡的要因も
関与することを示唆する。 K_0 は溶質の種類によっても変化し、塩類の場合、 $Li^+ > Na^+ > K^+ > Cs^+$ とHofmeister系列に従って変化した。 K_0 の値は共存物質の存在によっても
変化し、成分間相互作用にも影響されることがわかった。

24

助成番号 0255

界面前進凍結濃縮法における塩類の固液間極限分配係数
および成分間相互作用の解析

助成研究者 宮脇長人 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

1. 研究目的

食品における濃縮脱水操作は輸送・保存の効率化や乾燥操作における熱エネルギー負荷軽減のための予備操作として行われ、大別して、蒸発法、膜濃縮法、凍結濃縮法の三つの方法がある。蒸発法は気液平衡を脱水原理とし、コストは最も安い品質面では最も劣っており、一方、凍結濃縮法は固液平衡を利用するもので、品質面では最も優れているが、従来法による凍結濃縮の場合、コストは最も高いとされてきた。これに対して膜濃縮法は膜による分子ふるい効果を利用するもので、品質、コストにおいては蒸発法と凍結濃縮法の間位置するが、相変化を伴わない濃縮法であるためエネルギー消費の面では有利であり、現実には食品分野では既に広く利用されてきている¹⁾。さらに膜は分子分画機能を有しており、これを有効に利用して低分子と高分子の分離や除菌などが可能であり、これは他の方法に比較して、この方法の大きな特長である。しかしながら膜法においては膜コストの比率が大きいこと、膜寿命がプロセスコストを大きく左右することに留意する必要がある。さらに、単位量の水の除去に必要な消費エネルギーは、一般には消費エネルギーは蒸発法>凍結濃縮法>膜法の順であるものの、アロマ成分回収を伴い、かつ蒸発法において多重効用を用いる場合には三者間において大きな差はなくなる²⁾。

低温操作である凍結濃縮法は品質面では最も優れており³⁾、すでに、果汁、牛乳、ビール、ワインの濃縮などにおいて多くの研究例が報告され、さらに食品分野以外でも、海水淡水化、廃水処理などの研究例もある。しかしながら、コスト面においては凍結濃縮法は最も高価格な操作であるため、凍結濃縮法の実用化は現在のところ大きく限定されている。

従来実用化されている凍結濃縮法は、懸濁結晶法⁴⁾に基づいており、母液中に分散した多数の氷結晶の結晶成長により凍結濃縮が進行する⁴⁾。この方法による果汁の高品質濃縮法が実用化されており⁵⁾、またコーヒー抽出液の濃縮にも利用されている。懸濁結晶法は、掻き取り伝熱による微細氷結晶生成のための熱交換器と、微細氷結晶を大きく結晶成長させるための再結晶槽、および氷結晶を母液

と分離するための洗浄装置よりなっている。この方式においては、再結晶槽における結晶成長は、結晶の大小の差による表面エネルギーの差を利用して、小さな氷結晶を消滅させ大きな氷結晶を成長させるオストワルドライピング効果によっており、これは長い滞留時間と精密な温度制御を必要とし、さらに、氷結晶と母液とを分離する洗浄装置は複雑な制御を必要とし、これらのことが高いプロセスコストの大きな原因となっている。この方法の効率化には、固液分離を容易にするために、大きな氷結晶をいかに生成するかが最大の課題であり、このためには再結晶槽での微細な氷結晶生成の原因となる二次核生成抑制のため、再結晶槽での過冷却度を小さく保ち、氷結晶をゆっくりと成長させる必要がある⁴⁾。

これに対し、われわれは新しい凍結濃縮法である界面前進凍結濃縮法を提案している⁶⁻⁷⁾。界面前進凍結法とは容器冷却面に生成した氷相層を一次元的に伝熱方向と逆方向に成長させることで、氷結晶成長方向が冷却面と直角方向であるためノーマルフリージング、また層状凍結法ともいわれる⁸⁻⁹⁾。このような凍結においては、固液相界面において、溶質は固相側から液相側に排除されるため、この現象を利用する濃縮法が界面前進凍結濃縮法である。懸濁結晶法と界面前進凍結濃縮法の概念的比較をFig. 1に示す。

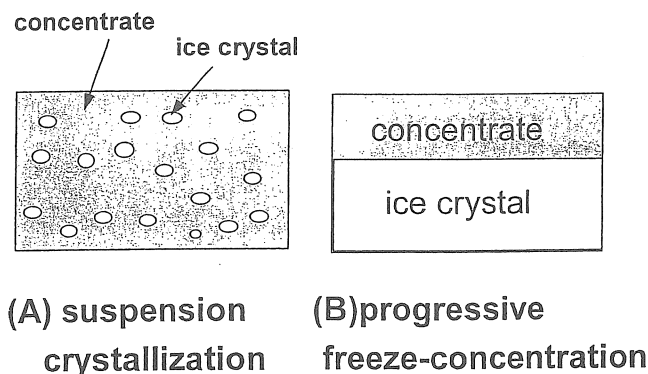


Fig.1 Two methods for freeze concentration.

界面前進凍結濃縮法は単純な原理に基づいており、その最大の特長は系にただ一つの氷結晶しか存在しないことで、従って懸濁結晶法と比較して、母液と氷結晶との固液分離が極めて容易でありシステムが単純化されるため、凍結濃縮法のコストを大きく低下できる可能性がある。また、懸濁結晶法では凍結濃縮可能な液の粘度は200cp程度とされている⁸⁾が、界面前進凍結濃縮法では、さらに高粘度系や固形分を含む粒子系に対しても容易に適用が可能である。

本研究では、以上述べたような理由により、実用性が高いことが期待される界面前進凍結濃縮法における、操作条件の影響を表す重要なパラメーターである、溶質の固液間極限分配係数を求める方法を提案し、これを各種塩類水溶液に適用して、極限分配係数に対する塩類の種類、濃度、さらには共存物質の影響について検討を加える。

2. 研究方法

2. 1. 界面前進凍結濃縮法における溶質極限分配係数の求め方

界面前進凍結濃縮法において、氷結晶の成長に伴う溶液の濃縮度の変化は、溶液相に完全混合、氷相に完全非混合条件を仮定することにより、次式を用いて、濃縮体積比 (V_i/V_0) および濃縮濃度比 (C_0/C_i) の関係として理論的に整理することができる⁶⁾。

$$(1-K) \ln (V_0/V_i) = \ln (C_0/C_i) \quad (1)$$

ここに、 V_i は液相体積、 V_0 は凍結濃縮前の試料体積、 C_0 は凍結濃縮前の溶質濃度、 C_i は液相での溶質濃度である。また、 K は次式によって定義される溶質の固液間有効分配係数で、凍結濃縮効果の指標となる。

$$K = C_s/C_i \quad (2)$$

ここに、 C_s は固相（氷相）における溶質濃度である。有効分配係数 K の値が0のときは固相側濃度はゼロ、すなわち完全な凍結濃縮が起こることを、また K の値が1のときは固液間に濃度差が無い、すなわち凍結濃縮が全く起こらないことを意味しており、一般に、 $0 \leq K \leq 1$ である。

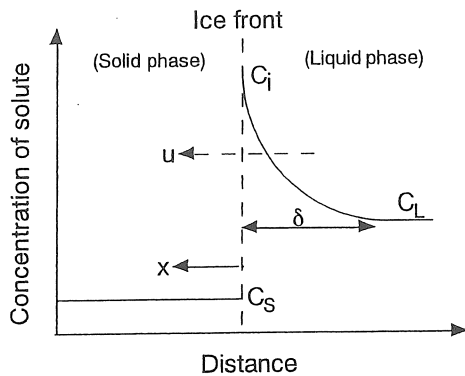


Fig.2 Concentration polarization at the ice front in progressive freeze-concentration.

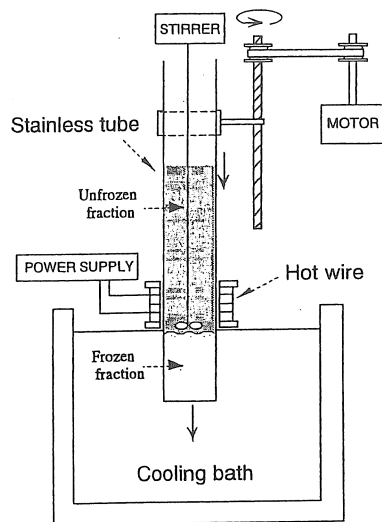


Fig.3 Apparatus for progressive freeze-concentration.

凍結界面前進法における溶質の固液間有効分配係数は、凍結界面付近での攪拌（物質移動）条件および凍結界面進行速度により強く影響される。そこで、これらの操作条件の影響を定量的に解析するために界面分極理論を適用して解析が加えられている¹⁰⁾。Fig. 2に凍結界面近傍における溶質の濃度分布を示す。界面進行速度 u で溶質を溶液側に排除しながら成長する凍結界面近傍では、この排除効果のために厚さ δ の濃度分極層が形成されその内部では大きな濃度勾配が形成される。この現象を全体として溶液相から氷相への物質の移動現象としてとらえ、濃度分極層内での物質収支を考えると次の方程式が得られる。

$$-D(dC/dx) + uC = uC_s \quad (3)$$

ここに C は濃度分極層内任意の点における溶質濃度 (mol/L) で、 C_s は固相側 $x=0$ における溶質濃度、 D は溶質の拡散係数 (cm^2/s) である。

微分方程式 (3) に対しては次の境界条件が適用される。

$$C = C_i \quad \text{at } x = 0 \quad (\text{溶液相側}) \quad (4)$$

$$C = C_l \quad \text{at } x = -\delta \quad (5)$$

ここに C_i は固液界面における液相側での溶質濃度、 C_l は濃度分極層外側の、すなわちバルク相での溶質濃度である。式 (3)~(5) を組み合わせて解くと次の解を得ることができる。

$$\ln [(C_o - C_s) / (C_l - C_s)] = u\delta / D \quad (6)$$

凍結界面における溶質の固液間極限分配係数 K_o は次式によって定義される。

$$K_o = C_s / C_i \quad (7)$$

式 (6), (7) より、界面前進凍結濃縮法における溶質の有効分配係数 K として次式を得ることができる。

$$K = K_o / [K_o + (1 - K_o) \exp(-u/k)] \quad (8)$$

ここに k は濃度分極層内での物質移動係数 (cm/s) であり、次式によって定義される。

$$k = D / \delta \quad (9)$$

式 (8) の定性的意味は、凍結界面進行速度 u が無限に小さいか、物質移動係数 k が無限に大きいとき $K = K_o$ すなわち有効分配係数は極限分配係数と等しくなり、また、 u が無限に大きいか、 k が無限に小さいとき、 $K=1$ すなわち凍結濃縮は全く起こらないことを意味する。一般に、物質移動係数は攪拌速度 N に対して次のような関係にある。

$$k = aN^b \quad (10)$$

以上の界面濃度分極理論をグルコース (5wt%) 溶液に対する界面前進凍結濃縮

法の実験結果に適用して、グルコースの固液間有効分配係数 (K) に対する攪拌速度 (N)、および凍結界面進行速度 (u) の影響を整理した結果、式(8)によって表現される理論モデルは実験結果を良好に説明することができ、濃度分極理論の有用性が示された。また、式(10)における物質移動係数に対する攪拌速度の依存性の指数は $b=0.2$ とすると、実験結果を最もよく説明できる¹⁰⁾。

以上の結果を利用し、式(10)を式(8)に代入して変形すれば以下の式を得ることができる。

$$\ln(1/K-1) = \ln(1/K_0-1) - (1/a)u/N^{0.2} \quad (11)$$

種々の操作条件 (uおよびN) において実験を行い、固液間有効分配係数Kを測定し、その結果を、式(11)に従って、 $u/N^{0.2}$ 対 $\ln(1/K-1)$ の関係としてプロットすれば直線関係が得られ、その $u/N^{0.2} \rightarrow 0$ への外挿値から極限分配係数 K_0 が得られることが期待される。極限分配係数 K_0 は凍結界面速度 $u \rightarrow 0$ 、または攪拌速度 $N \rightarrow \infty$ の時の溶質の固液間分配係数としての意味を有している。

2. 2. 実験方法

実験装置はFig. 3に示すような小型界面前進凍結濃縮装置で、内径48mm、深さ198mmのステンレスまたはアクリル製長円筒状試料容器 (底面はステンレス製) を一定速度で低温恒温槽に落とし込んでゆくことによって氷結晶成長速度を、また凍結界面付近の物質移動を攪拌により制御する構造となっている。この装置を用いて、種々の濃度の、ブルーデキストラン、グルコース、NaCl、KCl、LiCl、CsCl、およびDextran2000 (Amersham Biosciences) の単独、または混合溶液を試料として、最初に少量の純水で試料容器冷却面に植氷して初期過冷却の影響を除去¹²⁾した後、氷点付近まで予冷した試料を注ぎ込んで界面前進凍結濃縮を行い、一定時間の後、液相および氷相における溶質濃度、各相体積を測定し、式(1)に従って溶質の固液間有効分配係数を求めた。分析方法は、ブルーデキストランは620nmにおける吸光度 (Hitach U-1100) により、塩類は電導度 (Toa CM-30S) により、また、グルコースは屈折率 (Atago N-1E) によった。また、粘度測定は回転二重円筒粘度計 (Tokimek Type-B) によった。

3. 研究結果と考察

最初に3%グルコースを試料として、凍結界面進行速度を0.3~1cm/hの範囲で、また、攪拌速度を100~1000rpmの範囲で変化させて、溶質の固液間有効分配係数を測定し、これを式(11)に従って整理した結果をFig. 4に示す。この図における良

好な直線関係は本方法の有効性を示している。このプロットにおける $u/N^{0.2} \rightarrow 0$ への外挿値より得られた、3%グルコースの極限分配係数は $K_0=0.0422$ であり、これはかなり良好な値で、十分最適化された操作条件においては、高い氷結晶純度と効率的な凍結濃縮が行われることを意味している。また、 K_0 を知ることで、式(8)によって有効分配係数に対する操作条件の影響が予測可能であることもFig. 4における結果は示しており、このことは界面前進凍結濃縮法におけるプロセスパラメーターとしての K_0 の重要性を示している。

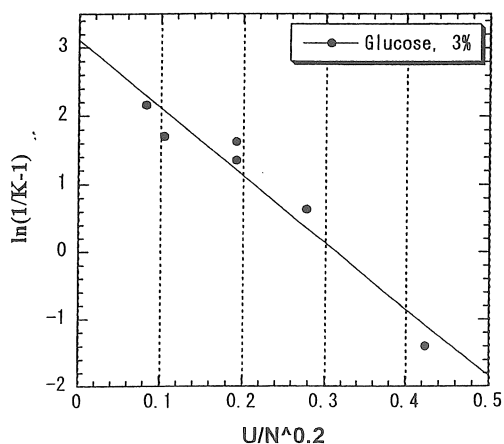


Fig.4 Determination of limiting partition coefficient for glucose in progressive freeze-concentration of 3% glucose solution.

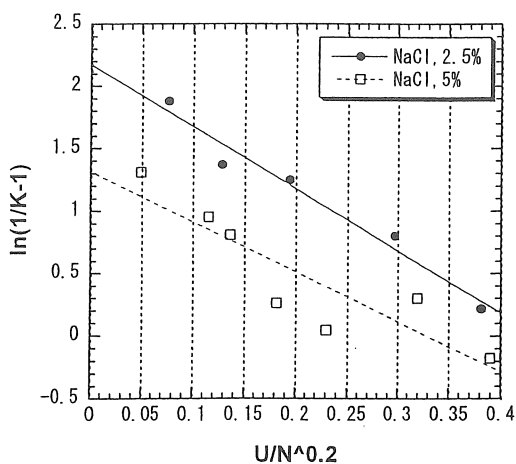


Fig.5 Effect of concentration on limiting partition coefficient of NaCl in progressive freeze-concentration.

そこで、この方法を濃度2.5および5%に変化させたNaCl水溶液に適用した結果をFig. 5に示す。この場合も式(11)によるプロットにより良好な直線関係が得られた。しかしながら、得られた相関式は濃度依存性があり、また、 $u/N^{0.2} \rightarrow 0$ における外挿値も異なることから、極限分配係数は濃度依存性があることがわかる。このことは、極限分配係数 K_0 が、単に溶液相-氷相間の溶質の分配平衡のみによって決定されるのではなく、 $u/N^{0.2} \rightarrow 0$ の極限から求めた値にもかかわらず、何らかの非平衡論的要因によっても支配されていることを示唆している。

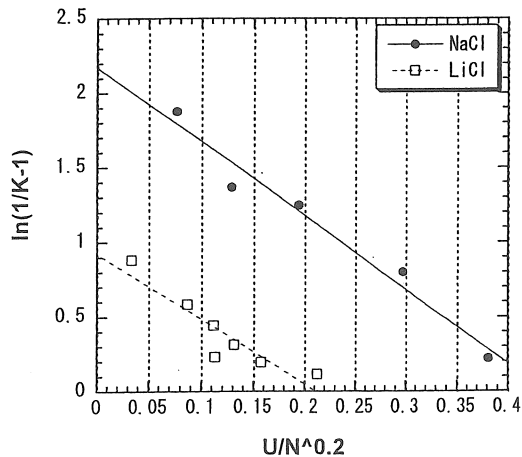


Fig.6 Effect of difference in solute type on limiting partition coefficient in progressive freeze-concentration.

次に、塩類に関して、濃度を一定(2.5%)とし、NaCl、LiClと種類を変えた結果をFig. 6に示す。この場合も、両者のいずれにおいても良好な直線関係が得られているが、濃度が等しいにもかかわらず、両者は全く異なるプロットを形成しており、極限分配係数も全く異なったものとなっている。このことはNa⁺とLi⁺との間の氷に対する親和性の違いを反映したものである。

種々の溶液系に対する観測された極限分配係数をまとめてTable 1に示す。K₀の値は溶質の種類によって変化していること、また、濃度の増加とともに増大していることがわかる。これは、濃度が増大すれば、浸透圧効果により $u/N^{0.2} \rightarrow 0$ においても非平衡論的に溶質が氷相に取り込まれる確率が高まることを意味している。また、同一濃度の塩溶液については、極限分配係数がCs⁺<K⁺<Na⁺<Li⁺の順に増大しており、この順序がHofmeister系列¹³⁾と一致することは興味深い。

次に、極限分配係数に対する共存物質の影響について検討を加えた。これは、濃度一定(2.5%)のNaCl溶液に対して、種々の濃度のDextran2000(分子量200

万)を加えて、界面前進凍結濃縮を行い、NaClの極限分配係数を求めることにより行った。結果をTable 2に示す。

Table 1 Limiting partition coefficient of various solutes in progressive freeze-concentration.

Solute	Concentration (wt%)	K_0
Glucose	3.0	0.0422
NaCl	0.5	0.0311
NaCl	2.5	0.102
NaCl	5.0	0.203
LiCl	2.5	0.238
KCl	2.5	0.088
CsCl	2.5	0.069

Table 2 Effect of cosolute (Dextran2000) on limiting partition coefficient of 2.5% NaCl

Conc. of Dextran (wt%)	Viscosity (mPa·s)	K_0
0	1.88	0.102
2	6.33	0.238
4	15.19	0.383
6	28.75	0.289
8	52.0	0.449

これによれば、NaCl濃度は一定であるものの、NaClの極限分配係数は、共存するDextran2000とその濃度により強く影響され、多成分系における特定の溶質の極限分配係数は、共存成分によっても影響されることがわかる。Table 2には、溶液全体の粘度の値(測定温度0℃)も示しており、 K_0 は溶液粘度の増加に伴い、ほぼ単調に増加しており、このことは、粘度は流動特性の変化を通じて極限分配係数に影響を与えているものであろう。

4. 結論と今後の課題

以上により、界面前進凍結濃縮法において、 $u/N^{0.2} \rightarrow 0$ の場合に相当する極限分配係数を求める方法を提案し、これを種々の塩類その他の水溶液に対して適用した結果、極限分配係数は、溶質濃度、種類、共存物質によりそれぞれ影響され、塩類について極限分配係数の値は濃度の増加とともに増大し、また、塩の種類についてはHofmeister系列に一致する変化を示すことがわかった。このように極限

分配係数は種々の要因によって変化するものの、この値は、界面前進凍結濃縮法におけるプロセスパラメーターとして重要な意味を有しており、この値を種々の系について求め、また、その溶質成分等に関する依存性を系統的に把握することは、今後、界面前進凍結濃縮法をスケール・アップ¹⁴⁾し、実用化してゆく上において、極めて重要な意義を有しているものと考えられ、今後、より広い範囲で極限分配係数の値を測定し、データベース化してゆきたいと考える。

5. 引用文献

- 1) 宮脇長人、中嶋光敏、膜, 19, 81 (1994).
- 2) R. S. Ramateke, N. I. Singh, M. N. Rekha, and W. E. Eipeson: *J. Food Sci. Technol.*, 30, 391 (1993).
- 3) S. S. Deshpande, H. R. Bolin, and D. K. Salunkhe: *Food Technology*, May, 68 (1982).
- 4) N. J. J. Huige, and H. A. C. Thijssen: *J. Crystal Growth*, 13/14, 483 (1972).
- 5) 小川浩史、只信秀明、”食品とガラス化・結晶化技術”(村瀬則郎、佐藤清隆編)、p.232-237、サイエンスフォーラム(2000).
- 6) S. K. Bae, 宮脇長人, 荒井綜一: 低温生物工誌, 40, 29 (1994).
- 7) L. Liu, O. Miyawaki, and K. Nakamura: *Food Sci. Tech. Int. Tokyo*, 3, 111 (1997).
- 8) J. S. Matthews and N. D. Coggeshall: *Anal. Chem.*, 31, 1124 (1959).
- 9) J. Shapiro: *Science*, 133, 2063 (1961).
- 10) O. Miyawaki, L. Liu, and K. Nakamura: *J. Food Sci.*, 63, 756 (1998).
- 11) J. A. Burton, R. C. Prim, and W. P. Slichter: *J. Chem. Phys.*, 21, 1987 (1953).
- 12) L. Liu, T. Fujii, K. Hayakawa, and O. Miyawaki: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 62, 2467 (1998).
- 13) P. H. von Hippel and T. Schleich: *Acc. Chem. Res.*, 2, 257 (1969).
- 14) Y. Shirai, M. Wakisaka, S. Sakashita, and O. Miyawaki: *Water Res.*, 33, 1325 (1999).

Limiting partition coefficient of salts and its dependence on solute-solute interactions in progressive freeze-concentration

Osato Miyawaki

Department of Applied Biological Chemistry, The University of Tokyo

Progressive freeze-concentration forms only a single ice crystal in the system and is expected to reduce the process cost of freeze concentration substantially as compared with the conventional method of suspension crystallization, in which many small ice crystals are formed in the system. In progressive freeze-concentration, the effective partition constant of a solute between ice and liquid phase, K , is dependent both on the advance rate of ice front, u , and the stirring rate at the ice-liquid interface and has been explained by the concentration polarization model as follows:

$$K = K_o / [K_o + (1-K_o)\exp(-u/N^{0.2})] \quad (1)$$

where K_o is the limiting partition constant and is an important process parameter in progressive freeze-concentration. Equation (1) can be rewritten as:

$$\ln(1/K-1) = \ln(1/K_o-1) - (1/a)u/N^{0.2} \quad (2)$$

By using this equation, the limiting partition coefficient, K_o , could be obtained from the effective partition coefficient observed under various operating conditions and the linear relationship between $u/N^{0.2}$ and $\ln(1/K-1)$.

For various aqueous solutions containing Blue dextran, glucose, NaCl, KCl, LiCl, CsCl, and Dextran 2000, the limiting partition coefficient, K_o , was obtained. K_o was dependent on the concentration of solute and increased with an increase in the solute concentration suggesting that K_o reflects not only the equilibrium partition at the ice-liquid interface but also some nonequilibrium factors. K_o was dependent also on the type of solute when compared at the same concentration. Among salts, K_o increased in the order of $Cs^+ < K^+ < Na^+ < Li^+$, corresponding to the Hofmeister series. K_o was affected also by the existence of cosolutes, reflecting the solute-solute interactions in the solution.