

助成番号 0653

冷凍食品中の氷結晶の再結晶化挙動におよぼす添加塩の影響

萩原 知明

東京海洋大学

概要 1. 目的 冷凍食品の貯蔵・流通過程における主要な品質劣化の原因として、氷結晶が貯蔵中に成長する氷結晶の再結晶化が問題となって種々の食品において研究が進められている。一方、多くの冷凍食品では食品の味覚面での向上や、食品の保存性の向上を目的として塩が添加されており、塩は冷凍食品においてきわめて普遍的に含まれている物質であるといえる。にもかかわらず、塩が存在している状態での氷結晶の再結晶化挙動を調べた研究は皆無であり、塩添加が再結晶挙動におよぼす影響は全く明らかになっていない。本研究では、これまで全くといっていいほど知見のない氷結晶の再結晶化挙動に及ぼす塩添加の影響を、氷結晶の画像解析の手法を用いて、実験的に明らかにするとともに、プロトン・パルス磁場勾配核磁気共鳴(^1H PFG-NMR)を用いて、試料中の未凍結相中の水の拡散係数を測定し、水の運動状態に及ぼす塩添加の影響の把握をおこない、そして、再結晶化挙動に及ぼす塩添加の影響を、水の運動性変化の観点から究明することを試みた。

2. 結果および考察 コントロール試料として28.6 wt% スクローズ溶液、NaCl 添加試料として溶液重量の3 wt%のNaClをコントロール試料に添加したものを用いて -8.0°C 条件下で再結晶化実験を行った結果、NaCl 添加により、再結晶化速度が 17.0 ± 0.8 [$\mu\text{m}^3/\text{min}$]から 26.1 ± 2.5 [$\mu\text{m}^3/\text{min}$]へと増加した。また、 ^1H PFG-NMRの結果、NaCl 添加により、未凍結相中の水分子の拡散係数は 1.64 ± 0.06 [m^2/s]から 3.50 ± 0.05 [m^2/s]へと増加した。DSC 熱分析の結果、NaCl 添加試料では、試料中に含まれる氷の重量分率の減少が観測されたが、これは①試料中に存在する氷結晶間の距離が大きくなり、氷結晶間を移動する水分子の移動距離が長くなること、②氷結晶同士の融合が起こる頻度が減少することにより、再結晶化速度を減少させる効果があると考えられる。それにもかかわらず、実際には再結晶化速度が増加したのは、NaCl 添加で未凍結相中の水分子の拡散係数が増加し、氷粒子間の水分子の移動速度が大きくなったことによる効果が、氷の重量分率の影響を上回った結果によるものと考えられた。また再結晶化速度を決定付ける要因として、未凍結相中の水の拡散係数は重要な物性の一つであることが示唆された。

1. 研究目的

冷凍食品は、生鮮食品のみならず、レストラン等の業務用食材としても欠かせない存在となっている。これら冷凍食品の貯蔵・流通過程における主要な品質劣化の原因として、氷結晶の再結晶化が現在問題となっている。再結晶化とは、時間の経過と共に、比較的多数の小さな氷結晶が消失し、少数の大きな大粒径の氷結晶へと成長していく現象である。小さな氷結晶の方が比表面自由エネルギーが大きく、エネルギー的に不安定であるため、小さな氷結晶の表面から未凍結相を通じて大きな氷結晶表面へと水分子が移動することが再結晶化の主要なメカニズムとされている¹⁾。

そして、再結晶化による氷結晶の成長がおきると、大きく成長した氷結晶により、食品の組織破壊が生じ、テクス

チャーの劣化やドリップ流出による栄養価の損失などの種々の品質劣化反応が引き起こされる。

この再結晶化は、温度を下げれば、進行は遅くなるものの、停止することはない。また、無闇に温度を下げることは、冷凍装置の運転コスト上昇のみならず、エネルギー多消費の結果、地球環境への悪影響を招くことにもなり、決して望ましいとはいえない。従って、再結晶化の問題に対する最も現実的な対処法は、再結晶化による氷結晶の成長を把握した上で、冷凍食品の品質保持期限を適切に定めることであるといえる。このような観点から、これまでに、内外の研究者によってマグロ²⁾、牛肉³⁾の生鮮素材、アイスクリームなどの氷菓⁴⁾について関して、貯蔵・流通条件と再結晶化挙動との相関データの蓄積が行われている。

現在、多くの冷凍食品では食品の味覚面での向上や、

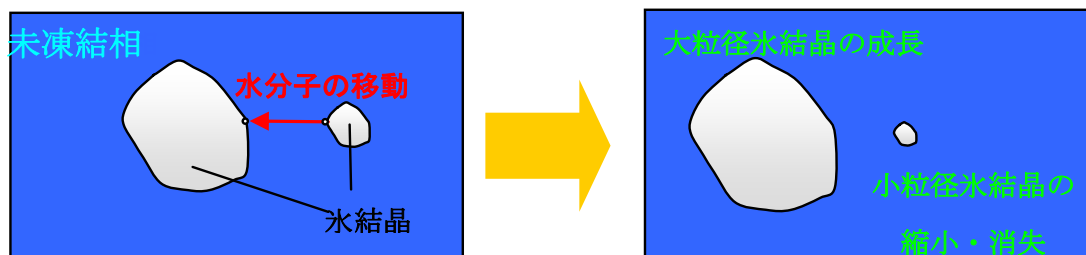


Fig. 1 再結晶化のメカニズムの模式図

食品の保存性の向上を目的として塩が添加されており、塩は冷凍食品においてきわめて普遍的に含まれている物質であるといえる。にもかかわらず、塩が存在している状態での氷結晶の再結晶化挙動を調べた研究は皆無であり、塩添加が再結晶挙動におよぼす影響は全く明らかになっていない。

以上の点を踏まえ、本研究では、これまで全くといっていいほど知見のない氷結晶の再結晶化挙動に及ぼす塩添加の影響を、氷結晶の画像解析の手法を用いて、実験的に明らかにするとともに、併せて、プロトン・パルス磁場勾配核磁気共鳴(¹H PFG-NMR)を用いて、試料中の水の拡散係数を測定し、水の運動状態に及ぼす塩添加の影響の把握をおこない、そして、再結晶化挙動に及ぼす塩添加の影響を、水の運動性変化の観点から究明することを試みた。

2. 方法

2.1 氷結晶の再結晶化挙動解析

コントロール試料として、28.6 wt%のスクロース溶液を、塩化ナトリウム添加試料として、コントロール試料に試料重量の3 wt%に相当する塩化ナトリウムを添加したものを、それぞれ用いた。

これらの溶液を2枚の顕微鏡観察用カバーガラス(直径16 mm)の間に封じ込め、温度制御可能な顕微鏡観察ステージ HFS91 (Linkam Scientific Instruments Ltd., UK) にセットした。はじめに試料を30°Cに保持した後、90°C/minで-30°Cまで試料温度を下げそのまま10分間温度を保持し、氷結晶を生成させた。次に、10°C/minで観察温度の-8.0°Cまで昇温させた後、一定時間ごとに氷結晶の顕微鏡観察を最大13時間行い、顕微鏡デジタルカメラ DS-5M-L1 (株ニコン) で顕微鏡観察画像を撮影した。

得られた顕微鏡観察画像から、氷結晶の数平均等価円面積半径 r を算出し、 r の時間依存性から、Ostwald ripening⁵⁾ に基づく次の(1)式を用いて、再結晶化速度定

数 k を求めた。

$$r^3 = r_0^3 + kt \quad (1)$$

ここで r_0 は時間 $t = 0$ における r である。

なお、顕微鏡観察画像から氷結晶の数平均投下円面積半径 r の算出には画像解析ソフトウェア PopImaging 3.6 ((有)デジタル・ビーイング・キッズ)を用いた。

2.2 観察温度における未凍結相の溶質濃度測定

プロトン・パルス磁場勾配核磁気共鳴(¹H PFG-NMR)による未凍結相内の水の拡散係数を測定するためには、予め、未凍結相の溶質濃度を測定しておく必要がある。これは、示差走査熱量分析装置 DSC7 (Perkin Elmer Inc., USA)を用いて、De Cindioらの Enthalpy method に基づく方法⁶⁾で算出した。

2.3 ¹H PFG-NMR 測定による未凍結相の水の拡散係数測定

先の DSC で求めた未凍結相の溶質濃度に等しい溶液を調製し、未凍結相における水分子の自己拡散係数を¹H PFG-NMR 測定⁷⁾により求めた。測定装置には AVANCE400WB (ブルカー・バイオスピン(株))を用いた。

3. 結果

3.1 氷結晶の再結晶化挙動解析

Fig. 2は氷結晶の顕微鏡観察画像の経時変化例を示したものである。(a)~(c)が NaCl 添加試料、(d)~(f)がコントロール試料である。

同程度の経過時間の画像を比較すると、NaCl 添加試料のほうが氷結晶が大きい傾向がうかがえる。

両者の氷結晶の数平均投下円面積半径 r の経時変化を Fig. 3 に示す。

同一時間において、NaCl 添加試料のほうが大きな r の値をとることが分かる。Fig. 4は r^3 を経過時間 t に対して

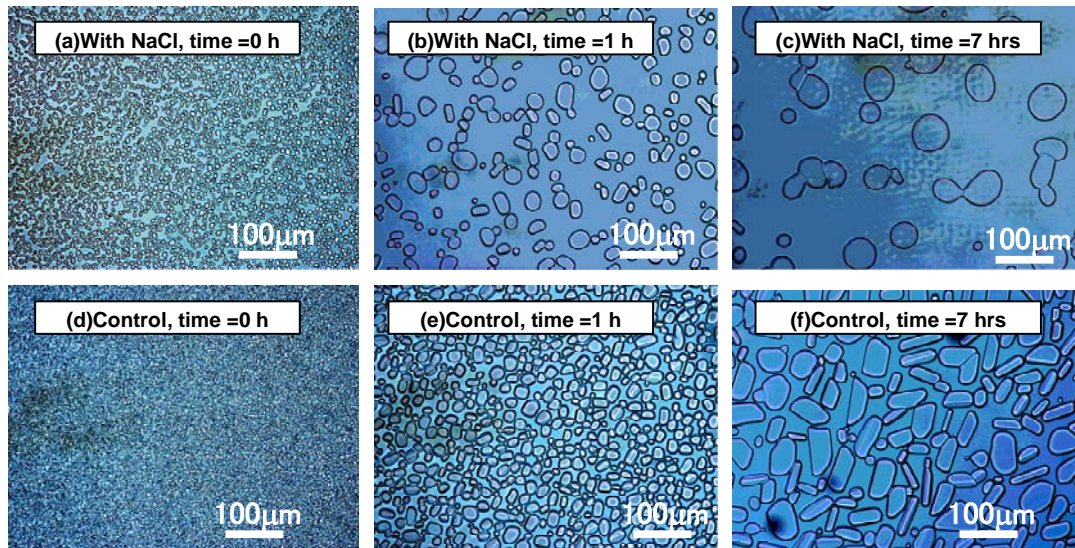


Fig. 2 Examples of microscopic images of samples.

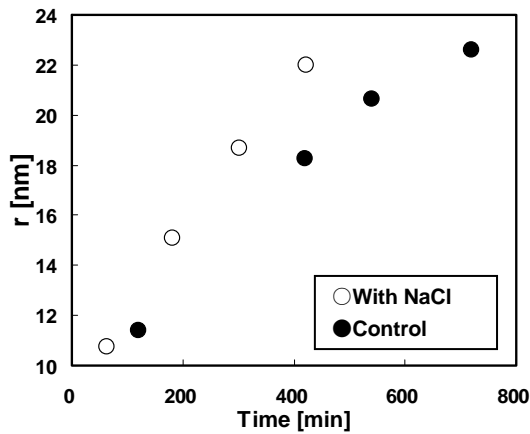


Fig. 3 Time courses of the mean equivalent radius of ice crystals r .

ロットした図である。プロットは良好な直線性を示し、(1)式に基づき、このプロットの傾きから、再結晶化速度 k を求めたところ、NaCl 添加試料では 26.1 ± 2.5 [$\mu\text{m}^3/\text{min}$]、コントロール試料では 17.0 ± 0.8 [$\mu\text{m}^3/\text{min}$] となった。この結果から 28.6 wt% スクロース溶液においては、3 wt% の NaCl 添加により、再結晶化速度が増加したことが明らかとなった。

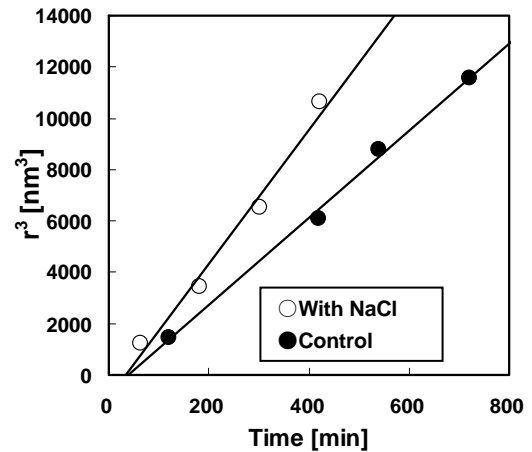


Fig. 4 Plots of the cube of the mean radius as a function of time. The solid lines represent results of fitting by Eq.(1).

3. 2 観察温度における未凍結相の溶質濃度測定

-8.0°Cにおける、試料の未凍結相のスクロース、NaCl 濃度を Tab. 1 に示す。Table には凍結前の溶質濃度と未凍結相の溶質濃度から計算される試料中に含まれる氷の重量分率の値も示してある。

Table 1 Measured solutes concentration in unfrozen matrix.

Sample	NaCl (w/w)	Sucrose (w/w)	Ice phase volume ratio (w/w)
With NaCl	3.8 ± 0.1	36.3 ± 0.3	23.6 ± 0.6
Control	-	49.8 ± 0.7	42.6 ± 0.8

3. 2 ^1H PFG-NMR 測定による未凍結相の水の拡散係数測定

Tab. 2に -8.0°C 下における ^1H PFG-NMR 測定から得られた、水の自己拡散係数の値を示す。NaCl 添加試料の凍結濃縮相の水の自己拡散係数は、コントロール試料と比較して、大きな値をとった。

Table 2 Measured diffusion coefficient of water molecules in freeze-concentrated matrix.

Sample	Diffusion coefficient ($\times 10^{-10}\text{m}^2/\text{s}$)
With NaCl	3.50 ± 0.05
Control	1.64 ± 0.06

4. 考 察

本研究の結果、28.6 wt% スクロース溶液において、3 wt% NaCl 添加は再結晶化速度の増加をもたらすことが明らかとなった。多くの冷凍食品では食品の味覚面での向上や、食品の保存性の向上を目的として塩が添加されており、塩は冷凍食品においてきわめて普遍的に含まれている物質であるといえる。にもかかわらず、塩が存在している状態での氷結晶の再結晶化挙動を調べた研究はこれまでに皆無であった。本研究において、NaCl が再結晶化に及ぼす影響の一端が実証可能な形態で明らかにすることができた。

Tab. 1より、DSC 測定から、NaCl 添加にともない、試料中に含まれる氷の重量分率が 42.6 wt% から 23.6 wt% へと低下することが判明した。これは、溶質濃度が増加し、試料溶液の凝固点が低下したため、同一温度下で生成した氷の量が減少したことによると考えられる。氷結晶の重量分率が氷結晶の再結晶化速度に及ぼす影響については、Sutton らのグループ⁸⁾ がフラクトースを実験試料に用いて詳細に検討している。彼らの結果によれば、同一の溶質、同一温度においては、氷結晶の重量分率が減少すれば、再結晶化速度は小さくなる傾向にある。これは、氷結晶の重量分率が減少することにより、①試料中に存在する氷結晶間の距離が大きくなり、氷結晶間を移動する水分子の移動距離が長くなること、②氷結晶同士の融合が起こる頻度が減少する、という二つのメカニズムで説明できる。ところが、本研究においては、NaCl 添加試料においては、氷結晶の重量分率が減少しているにもかかわらず、再結晶化速度は大きくなっている。このことは、NaCl 添加により、①および②の効果を上回る再結晶化速度を

促進するメカニズムが働いたことを示している。

NMR 測定により、NaCl 添加系の未凍結相の水の拡散係数は、コントロール試料と比較して大きい値をとることが確認された。このことは、NaCl 添加試料の未凍結相に存在している水分子は、コントロール試料と比較して、移動速度が大きい事を意味している。前述したように、再結晶化のメカニズムは小さな氷結晶の表面から未凍結相を通じて大きな氷結晶表面へと水分子が移動することが主要なメカニズムとされている。これを考慮すると、本研究において、NaCl 添加により再結晶化速度が大きくなった原因の一つとして、未凍結相の水の自己拡散係数が大きくなったことを考えることができる。NaCl 添加により未凍結相の水分子の運動性が高まるメカニズムについては、現時点では詳細は不明であるが、おそらくはスクロース分子と NaCl 分子が水分子の運動性に及ぼす影響の強さ・挙動の差が関係しているのではないかとと思われる。スクロース分子など OH 基を有する物質は、水素結合を通じて、水分子と結合することができることが知られている⁹⁾。一方、 Na^+ 、 Cl^- などのイオンは、イオンの有している電荷が静電的な相互作用を通じて、水分子と結合を生じる⁹⁾。水分子の運動性の変化は、こうした溶質による相互作用が総合された結果であり、今回は NaCl 添加試料の未凍結相に存在する溶質 (36.3 wt% スクロース, 3.8 wt% NaCl) による水分子の運動抑制効果がコントロール試料の未凍結相の溶質 (49.8 wt% スクロース) よりも小さかったと考えられる。

本研究で用いた手法は原理的にはスクロースに限らず、あらゆる食品成分において適用可能であり、また実験手法の細かいノウハウは概ね確立できたといえる。NaCl 添加が氷結晶の再結晶化に及ぼす影響をより広範囲に明らかにするためには、今後は他の糖 (小糖、多糖) やタンパク質などの他の食品成分を試料に用いた実験を行うことが必要であろう。

5. 結 論

28.6 wt% スクロース溶液を試料に用いて、NaCl 添加が氷の再結晶化速度に及ぼす影響を調べたところ、3 wt% NaCl 添加により再結晶化速度が大きくなった。また、3 wt% NaCl 添加により、試料中に存在する氷の重量分率は減少した。一方、未凍結相の水分子の拡散係数は NaCl 添加により増加した。氷の重量分率の減少、水分子の拡散係数の増加を考慮すると、NaCl 添加による再結晶化速度の増加は、未凍結相の水分子の運動性が高まっ

たことによるものと考えられた。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、ご援助を賜りました財団法人ソルト・サイエンス研究財団に厚く御礼を申し上げます。

引用文献

- 1) Fennema, O.R. 1973. Nature of the freezing process, In *Low-temperature Preservation of Foods and Living Matter*, O. R. Fennema, W. D. Powrie and E. H. Marth (Ed.), pp. 150-239. Marcel Dekker, Inc.
- 2) Hagiwara, T., Hayashi, R., Suzuki, T. and Takai, R. 2003. Fractal analysis of ice crystals in frozen fish meat. *Jpn. J. Food Eng.* 4: 11-16.
- 3) Martino, M. N. and Zaritzky, N. E. 1988. Ice crystal size modifications during frozen beef Storage. *J. Food Sci.* 53: 1631-1637, 1649.
- 4) Miller-Livney, T. and Hartel, R. W. 1997. Ice recrystallization in ice cream: Interactions between sweeteners and stabilizers. *J. Dairy Sci.* 80: 447-456.
- 5) Lifshitz, I. M. and Slyozov, V. V. 1961. The kinetics of precipitation from supersaturated solid solutions. *J. Phys. Chem. Solids* 19: 35-50.
- 6) De Cindio, B., Corraera, S. and Hoff, V. 1995. Low temperature sugar-water equilibrium curve by a rapid calorimetric method. *J. Food Eng.* 24: 405-415.
- 7) Tanner, J. E. 1970. Use of the stimulated echo in NMR diffusion studies. *J. Chem. Phys.* 52: 2523-2526.
- 8) Sutton, R. L., Lips, A., Piccirillo, G., and Szthello, A. 1996. Kinetics of ice crystallization in aqueous fructose solutions. *J. Food Sci.* 61: 741-745.
- 9) 野口駿. 1992. 食品と水の科学, pp227-263. 幸書房.

No. 0652

Effect of Salt Addition on Recrystallization Behavior of Ice Crystals in Frozen Foods

Tomoaki Hagiwara

Tokyo University of Marine Science and Technology

Summary

In order to understand the effect of salt (NaCl) addition on recrystallization behavior of ice crystals in frozen food during storage, isothermal ice recrystallization rates in sucrose solutions (28.6 wt%) with and without NaCl were measured and discussed in terms of ice phase volume ratio and water mobility in unfrozen phase matrix. Addition of 3 wt% NaCl resulted in increase of recrystallization rate and decrease in ice phase volume ratio measured by DSC. ¹H-PFG PFG-NMR revealed that diffusion coefficient of water molecules in unfrozen phase increased by addition of NaCl. Considering the results of ice volume phase ratio and diffusion coefficients of water molecules, it was strongly suggested that the higher recrystallization rate by NaCl addition was caused by increasing water mobility in unfrozen phase matrix.