

TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

凍結前予冷が凍結時間と氷結晶生成に及ぼす影響

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-06-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 前川, 龍之介 メールアドレス: 所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2158

修士学位論文

凍結前予冷が凍結時間と氷結晶生成に及ぼす影響

2020 年度
(2021 年 3 月)

東京海洋大学大学院
海洋科学技術研究科
食機能保全科学専攻

前川 龍之介

修士学位論文

凍結前予冷が凍結時間と氷結晶生成に及ぼす影響

2020 年度
(2021 年 3 月)

東京海洋大学大学院
海洋科学技術研究科
食機能保全科学専攻

前川 龍之介

目次

第1章	序論	1
1.1.	食品冷凍の始まりと技術発展	1
1.2.	既往の研究例	2
1.3.	目的	3
第2章	凍結実験の再現性向上	5
2.1.	はじめに	5
2.2.	標準試料	6
2.2.1.	タイロースゲル	6
2.2.2.	卵アルブミンゲル	6
2.3.	高精度温度測定	8
2.3.1.	高精度温度測定の必要性	8
2.3.2.	温度測定の種類と熱電対	10
2.3.3.	温度測定系の構築	12
2.3.4.	校正試験及び結果	13
2.4.	伝熱条件の一定	15
2.4.1.	一次元凍結	15
2.4.2.	フリーザ	16
2.5.	再現性確認試験	18
2.5.1.	試験方法	18
2.5.2.	結果	18
2.6.	第2章まとめ	19
第3章	凍結曲線測定	20
3.1.	実験方法	20
3.1.1.	試料調製	20
3.1.2.	予冷方法	20
3.1.3.	凍結方法	20
3.2.	結果及び考察	20
3.3.	第3章まとめ	22
第4章	X線CTを用いた三次元氷結晶観察	23
4.1.	氷結晶観察について	23
4.1.1.	食品分野での氷結晶観察	23
4.1.2.	X線CTの基礎理論	23
4.1.3.	真空凍結乾燥を伴う氷結晶観察	25
4.2.	実験方法	26
4.2.1.	真空凍結乾燥	26

4.2.2.	X 線 CT による観察.....	26
4.3.	結果及び考察.....	29
4.4.	第 4 章まとめ.....	31
第 5 章	数値計算による凍結曲線シミュレーション.....	32
5.1.	一次元伝熱の基礎理論.....	32
5.1.1.	伝熱の形態.....	32
5.1.2.	一次元熱伝導方程式.....	32
5.1.3.	凍結モデル.....	33
5.2.	数値計算条件.....	34
5.3.	結果及び考察.....	35
5.3.1.	実測値との比較.....	35
5.3.2.	試料内温度分布及び凍結前予冷効果の仮説.....	36
5.4.	第 3 章まとめ.....	38
第 6 章	総括	39
参考文献		40

第1章 序論

1.1. 食品冷凍の始まりと技術発展

食品の長期保存方法としては乾燥，塩蔵，発酵，冷凍等が知られている．その中でも冷凍は比較的新しい技術であり，生の食品をそのままの状態でも長期間保存することができる唯一の方法である．天然氷を用いた食品保存は紀元前より行われたとされているが，1870年にLindeによってアンモニアを冷媒とする機械式冷凍法が開発されてから食品保存に広く利用されるようになった．既に1898年にはStevensonによって魚の凍結の研究が行われており，①凍結魚の変質(品質劣化)は原料魚の品質，冷凍方法(時間・温度等)，水分蒸発に影響される．②貯蔵室温度は-10℃付近に保つべきである．③魚の表面に10%ホルマリン液を吹き付け腐敗及び水分蒸発を防止しなければならない．といった，一部は現在にも通ずるような冷凍保存法の知見が得られている[1]．

しかし，この時代の食品凍結は殆どが緩慢凍結であり，凍結中に起こる氷結晶の形成と成長が組織にダメージを与え，冷凍食品のテクスチャや風味などの品質は著しく低下していた．これを解決する手段としてBirdseyeが急速に凍結を行った場合に凍結による組織ダメージを軽減できることを発見したとされている[2]．彼は1924年に急速凍結を実現するために二枚の冷却板にて食品を挟み込むコンタクト式フリーザを開発し，冷凍食品専門の会社を立ち上げ急速凍結の普及に努めている．また1932年には，Youngが凍結時間として0℃～-5℃の通過時間を使用していることから[3]，既にこの頃には最大氷結晶生成温度帯のような概念があったことが伺える．これ以降，食品凍結は急速化の一途を辿り，凍結中の温度を下げ，食品と冷却媒体との間の熱伝達を高めることに多大な努力が払われてきた．

我が国での急速凍結技術の変遷を例に挙げる．我が国最初期の食品凍結は魚類を対象としたもので，静止空気凍結によるものが殆どであり，凍結温度は-25℃，凍結に18～30時間という長時間を有するというまさに緩慢凍結であった．これらの製品は生食を好む国民性も相まって「まずい」とされ，殆どが飼料や二次加工に回されたのが現状であった[4]．これらの不評を取り除くために1930年代頃から急速凍結への関心が高まり技術の導入・改良が進められていった．記録が残っているものから紹介していくと，1940年にはブラインを噴霧させることで凍結を行う，Z式凍結機が神奈川に設置されている[4]．この装置は急速に凍結ができ魚体の乾燥防止にも効果があったが今日では姿を消してしまっている．1949年には二段式の圧縮機を伴うエアブラスト凍結機が長崎に，続けて1951年には東京及び釧路に設置されている．また浸漬式ブライン凍結，接触式凍結(岩本式)といったものは1940年代には既に導入されていた．上記の技術はいずれも熱伝達率を高めることにより急速凍結を図るものであったが，冷凍機や冷媒の技術発展による庫内温度の低温化も進んだ．一例として，1949年に大西熱学工業所がフロン冷媒R12の二段圧縮機による-50℃の低温槽が試作され，同社は1955年にR22使用の-85℃低温槽を試作している[4]．また圧縮機も従来はレシプロ型であったが，1968年には東芝がロータリ式を開発，同年には前川製作所がスクリュ

一式を量産開始, といった性能向上を遂げている. このような冷凍機の急激な技術発展を推し進めた背景にはマグロの凍結がある. マグロ肉は鮮やかな赤色をしているが冷凍保存を行うと次第に肉色が褐色になり商品価値が損なわれることが問題となっていた. 研究の結果, マグロ肉の褐変防止には超低温保存が有効であることが判り, マグロ漁船搭載の冷凍庫の低温化が Fig.1-1 に示すように急激に低下したことが確認できる. また凍結の低温を容易に可能にしたフロン冷媒であったが, 塩素を含むフロン冷媒がオゾン層を破壊することが判り, 1989 年のモントリオール議定書にて CFC 冷媒(R11, R12 等) と HCFC 冷媒(R22, R123 等) が規制されることになった. 代替冷媒として開発された HFC 冷媒(R125, R134a 等) も 1997 年に制定された京都議定書にて温室効果ガスと認定され, 最近ではモントリオール議定書のキガリ改正があって, いずれは使用禁止になる方向性が示された. HFO や自然冷媒の開発も進みつつあるが, -80°C 付近の超低温を作ることは今までより難しくなる. このように食品と冷却媒体との間の熱伝達をより高めたり, 凍結・保存温度をより下げたりすることは困難となっており, 従来の急速凍結のみでの凍結品の品質向上は限界を迎えている.

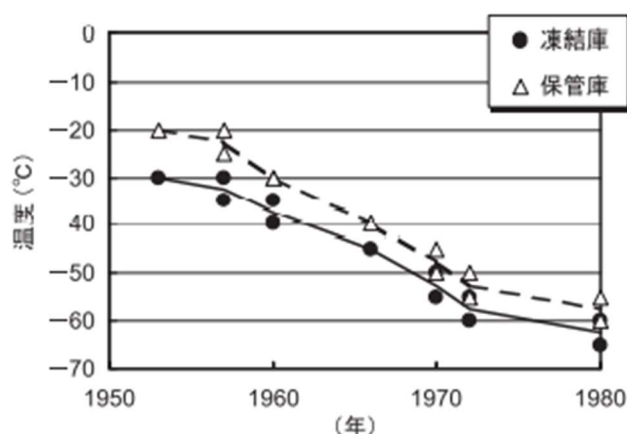


Fig.1-1 Freezing temperatures of tuna fishing vessels[5]

以上のような状況より, 近年では冷凍食品の品質をさらに向上させるために熱伝達を高めたり, 温度を下げたりするのではなく, 凍結及び保存中に特殊な工程を付加するものが台頭してきている. 例としては圧力移動凍結[6], 磁場印加を伴う凍結[7], 過冷却解消を用いた凍結[8][9]などが挙げられる. その一つとして凝固点温度に近い予備冷却を伴う凍結というものがある(以下,凍結前予冷という.)これは、凍結前に試料全体の温度を凍結開始温度に近づけるために予備冷却を行い, その後凍結を行うというものである. 特殊な装置を必要としないにも関わらず高品質な凍結ができるとして注目されているが真偽のほどは不明である.

1.2. 既往の研究例

凍結前予冷が良い影響を生むという報告は複数確認されており, Alvarez ら[10]はジャガ

イモを 3°Cになるまで-20°Cの冷気で 30min 予冷し液体窒素フリーザにて凍結させた後に、機械的強度や SEM による細胞観察を行っている。その結果によると、予冷によって機械的強度は増強され細胞壁の損傷が抑制されたとしている。しかしこの報告には凍結曲線の記載が無くどのような凍結状態だったかが不明瞭である。また SEM 画像の差異も有意であるとは言い難い。Reid は Mass-transfer-modulated freezing[11]というものを提案し、予冷を行った後に凍結させると表面から中心に凍結界面が進行するのではなく、至るところにて瞬時に核生成が起こり小さな氷結晶になると述べている。実際に Reid ら[12]は数種類のチーズを-1°Cに予冷した後-40°Cのエアブラスト凍結等に行供した実験を行い、SEM による観察によると氷結晶が微細になったと報告している。しかしこの報告でも予冷中の温度履歴や凍結曲線などの温度データの記載はない。SEM 画像も差異がごく僅かであり、断面画像が試料中のどこの断面なのか、冷却面からどれくらい離れているかなどの情報がない。そもそも Reid らの報告ではチーズの凍結開始温度を 0°Cとしながら-1°Cに予冷しているので、予冷し過冷却させその後凍結することにより、過冷却を解消させ氷結晶を微細化することを狙った可能性もある。しかし ASHRAE [13]によれば、チェダーチーズの凍結点は-12°Cとあるので、凍結点温度より 10 K 以上高い温度での予冷がそれほど大きな影響を及ぼすとも考えにくい。-1°Cに予冷しているので、予冷し過冷却させその後凍結することにより、過冷却を解消させ氷結晶を微細化することを狙っていることも示唆される。最近の報告では Zhao ら[14]が Golden Pomfret(マナガツオの一種)を 0°Cのスラリー氷で予冷したのち-40°C及び-100°Cの強制対流式窒素フリーザにて凍結させると、未予冷品よりも凍結時間(中心が凍結開始温度から-5°Cに達するまでの時間)が短くなるとし、実験結果よりスラリー氷中で予冷したのち-100°Cにて冷凍することが凍結 Golden Pomfret の品質を維持するために最も効率的な方法であると結論づけている。しかし予冷なしの場合との凍結時間の差は 10%程度、-5°Cの冷蔵庫保管ののち凍結したものの差は僅か 4%である。魚という再現性の保証が難しい試料を使用している点を考慮すると、この差異が有意であるか疑問が残る。その他の報告としては、冷凍設備メーカーの Web ページにて凍結前に予冷すると氷結晶が小さくなるということを顕微鏡写真とともに示している記事がある[15]が、凍結温度や氷結晶観察方法等の明確な実験条件が示されていない。

一方で凍結前予冷の効果が確認できなかった、却って悪影響があったという報告も数件ある。望月[16]はラウンド及びフィレのヒラメを氷水にて予冷した後-25°Cのブライン凍結を行ったが、予冷なしのものに比べて明確な所見を得ることが出来なかったとしている。山崎ら[17]は、ゼラチンゲルを予冷して凍結させた場合、解凍後ゲルが崩壊する場合があることを報告している。また Hada ら[18]は、サバを予冷したのち凍結後に解凍した場合、従来の凍結サバよりもドロップが多いサバがあったことを報告している。このように凍結前予冷の有効性については意見が割れており明らかになってはいない。

1.3. 目的

以上のように凍結前予冷の影響を調査した文献を数件あげたが、有効性の有無で意見が

割れており、また差異が僅かであること、現象の再現性が乏しいことからいずれも凍結前予冷が凍結食品の品質に及ぼす影響の検証にまで至ったとは言いがたい。そこで本研究では、凍結実験時の再現性・精度を向上させ、定量的な氷結晶の観察を行うことで、凍結前予冷が凍結時間及び氷結晶へ及ぼす影響の検証を行った。具体的には高精度温度測定、凍結標準試料の導入、一次元凍結を利用した凍結実験を行った。実験データの補強のためシミュレーションによる温度履歴取得も併せて行った。また X 線 CT を用いて氷結晶の三次元構造を観察し、定量的な解析を行った。最後に凍結時間と氷結晶サイズの観点から、凍結前予冷を伴う凍結が従来の凍結よりも効果的であるかどうかを判断した。

第2章 凍結実験の再現性向上

本研究では凍結実験の再現性向上に向けて標準試料の選定，温度測定の高精度化及び伝熱条件の統一を行った．本章ではそれらの検討方法及び凍結実験の再現性確認試験について報告する．

2.1. はじめに

第 1 章でも述べた通り，凍結前予冷の有効性の報告には再現性や実験精度に疑問が残るものが多い．そもそも食品の凍結において凍結曲線測定は，試料の個体差(大きさ・形状・物性値)，凍結条件(冷気の当たり方・温度)，温度測定の不確かさ(温度確度・センサ位置)等の数多くの因子に影響されるため，再現性を得ることが非常に難しい．

Fig. 2-1 は 9 尾のサバを -40°C のエアブラストフリーザ (KQF-8A-300BT, 古賀産業) にて一度に凍結させた際の凍結曲線である．温度センサの挿入位置はサバ背側筋肉の表面から 15mm の点である．この実験は同じ種類の食品且つ同じ凍結機での凍結であるが，凍結曲線がかなりバラついており，再現性が非常に低いことが判る．このように一般的な食品での凍結試験では，従来の緩慢凍結と急速凍結の差異程度の議論であれば再現性が低くても可能だったかもしれないが，本研究のような特殊な凍結法にて生じる凍結状態の細かい差異を察知することは困難であろう．

そこで本研究では凍結前予冷の影響を判断するために先ずは，食品凍結試験の再現性向上を試みた．具体的には標準試料の導入，温度測定精度の向上，伝熱条件の統一を行った．1.2.2 以降にそれらの手法などの詳細を記す．

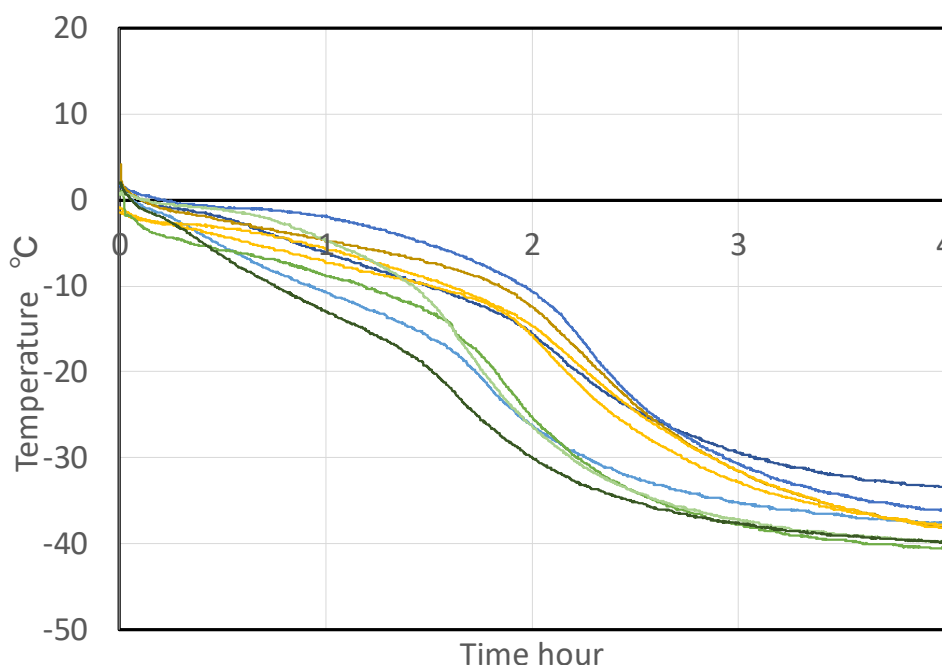


Fig.2-1 Freezing curves of mackerel

2.2. 標準試料

同じ食品を同じような条件で凍結させたとしても、形状、大きさ、含水率、構造、成分の違いにより凍結速度や氷結晶の形態が異なる。そのため凍結実験に通常の食品(肉、魚、野菜)を使用した場合再現性を確保することが困難である。そのため今回の実験では比較的構造が均一かつ個体差がない標準試料を使用した。

2.2.1. タイロースゲル

タイロースゲル(Tylose gel)はカールスルーエ(Karlsruhe)実験材やテストパッケージとも呼ばれ Riedel によって開発された[19]。脂肪のない牛赤身肉と似た熱的特性があり、食品凍結実験の標準試料として欧米を中心に使用されている[20][21]。メチルセルロースに稀食塩水や蒸留水を吸収させることで調製された。再現性や扱いやすさに関しては申し分なかったが、後に氷結晶観察に適していないことが確認されたため、凍結実験の再現性試験に使用した。

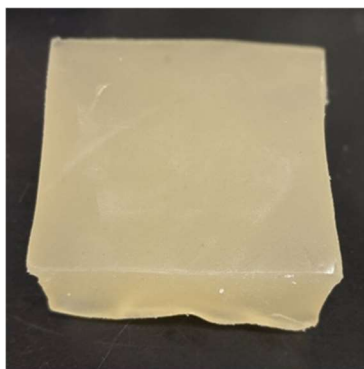


Fig. 2-2 Tylose gel (77% water content)

2.2.2. 卵アルブミンゲル

卵アルブミンゲルは鶏卵の主成分であるアルブミンを熱凝固させることで得られるゲルである。食品凍結実験においては、冷却面からの距離が氷結晶に及ぼす影響の研究[22]や、圧力移動凍結の研究[23]にて使用された例がある。凍結曲線の再現性もあり、氷結晶観察もしやすく本研究の標準試料に最適であるが、田山らの報告[24]のように気泡の混入が大きな問題となっている。気泡の存在は組織構造の不均一化を招くだけでなく、後述する氷結晶粒径の解析にて大きな誤差をもたらす。そのため本研究での卵アルブミンゲルの調製には遠心分離や脱泡攪拌等の手順を加えた。

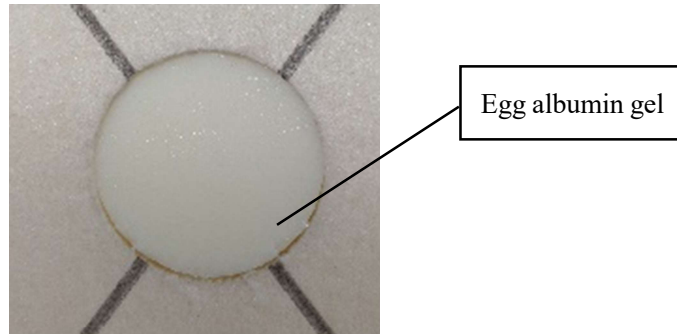


Fig.2-3 Egg albumin gel covered with insulation

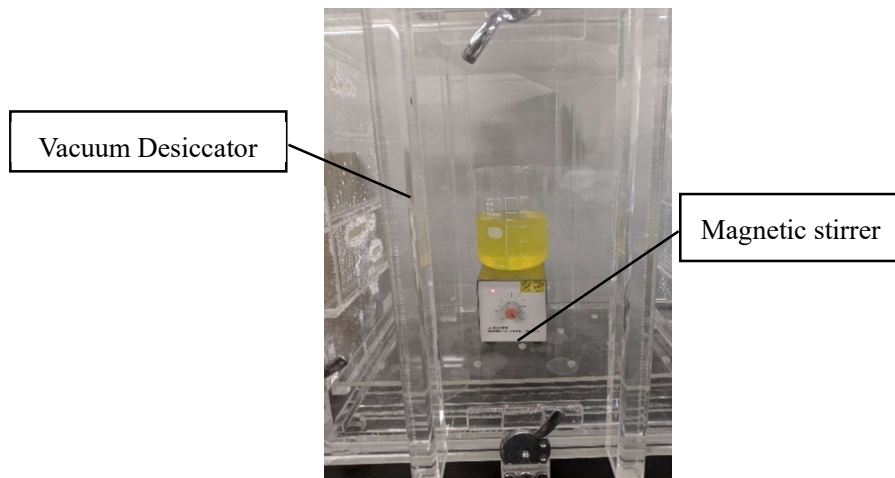


Fig.2-4 Vacuum stirrer and defoamer

2.3. 高精度温度測定

2.3.1. 高精度温度測定の必要性

食品実験での温度測定は、試料の個体差が大きいためそもそも現象として再現性が乏しいということもあり厳密に行われることは少なく、精度等を考慮した報告も食品オープン庫内の熱電対温度測定の精度評価[25]や食品凍結時の熱物性値の測定[26]等の数例が確認される程度である。

しかし既往の研究である梶原[27]の報告では凍結曲線の温度誤差が大きく凍結時間等の判断が困難になっていることが確認できる。以下にその実験データの一部を示す。Fig.2-5は0°Cに予冷した充填豆腐の凍結曲線(中心, 表面)である。Fig. 2-5(a)は凍結曲線の全体図であり, Fig. 2-5(b)には中心部凍結曲線の凍結開始部分(Fig. 2-5(a)①の部分), Fig. 2-5(c)には中心凍結曲線の凍結平坦部(Fig. 2-5(a)②の部分)の拡大図を示している。温度測定にはハンディタイプのデータロガー(LR8431, HIOKI)を使用した。この装置の温度分解能は0.1°C, 温度確度はカタログスペックにて $\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ となっている。また試料は鈴木らの方法[28]と同様に1次元凍結とし, -40°C の試験用ダクト式エアブラストフリーザ(前川製作所)にて凍結させた。1次元凍結については後ほど詳しく述べる。Fig. 2-5(a)より, 凍結曲線のノイズがかなり大きいことが確認できる。また Fig. 2-5(b)の凍結平坦部分は本来凍結して温度は0°C以下になるはずなのだが, いずれの凍結曲線も0°C以上となっており, この温度測定精度では凍結状態を正確に捉えられていないことが判る。このように一般的な食品実験での温度測定は凍結前予冷の影響の検証には精度不足である。そこで本研究では食品凍結実験向けの温度測定の高精度化を行った。

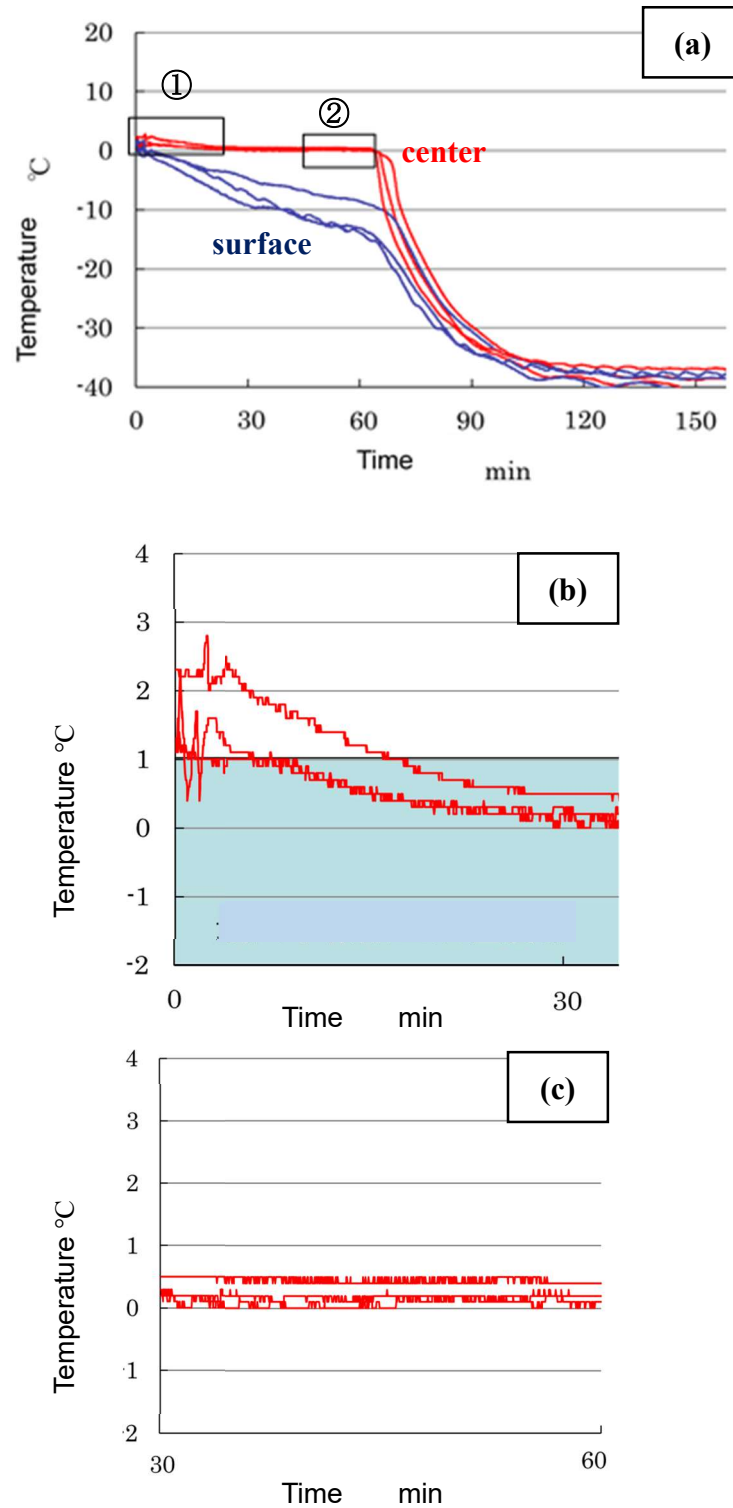


Fig. 2-5 Freezing curve of filled tofu, pre-cooled[27]

- (a) Overall view of freezing curve
- (b) Enlarged view of freezing start point (1)
- (c) Enlarged view of freezing plateau(2)

2.3.2. 温度測定の種類と熱電対

高精度温度測定法としてはじめに考えられるのは白金測温抵抗体であろう。これは白金の電気抵抗値が温度によって変化する特性を利用し、その電気抵抗を測定することで温度を測定する。JIS C 1604:2013 によると、測温抵抗体の許容差はクラス C でも約 $\pm 0.6^{\circ}\text{C}$ 、クラス AA となると $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ と高精度である。実際、前述した食品凍結時の熱物性値の測定の研究[26]で使用されているのは Pt100 白金測温抵抗体である。しかし白金測温抵抗体はセンサ直径が大きいものが多く、センサからの熱流入が懸念される。また正確に温度を測るためにはセンサ直径の 15~20 倍の挿入深さが必要といわれており[29]、太いセンサでは必然的に試料を大きくせざるを得ない。また本研究をはじめとする当研究室では試料凍結後にセンサを挿入したままバンドソーによる再成型や真空凍結乾燥等を行う事が多いため、高価な白金測温抵抗体を使うのは不向きである。

そこで本研究の温度測定には改良し高精度化した T 型熱電対を使用した。熱電対とはゼーベック効果を用いて温度を計測するセンサである。ゼーベック効果とは、Fig. 2-6 の様に異なる二種類の金属線を接続して 1 つの回路（熱電対）を構成し、2 つの接点に温度差($T_H - T_L$)を与えると回路に電圧(熱起電力: V)が発生する現象のことである。つまり一方の接点の温度がわかれば電位差からもう一方の温度を計測できるのである。この予め温度が既知である接点を基準接点と呼び、基準接点を 0°C に保持して温度 T_m を測定する方法を冷接点補償 (Fig.2-7)、基準接点の気温 T を測り、ゼーベック効果にて計測された温度差に加算して温度 T_m を測定する方法を基準接点補償 (Fig.2-8) と呼ぶ。

測定の簡便さや装置の小型化のため梶原が使用したハンディタイプロガーをはじめ、一般的な食品実験で使用されている熱電対温度計は基準接点補償であることが殆どである。しかし基準接点補償は基準接点温度を計測する温度計の誤差や、装置内部の温度分布による誤差が生じてしまい、基準接点補償での計測誤差が $0.3\sim 0.8^{\circ}\text{C}$ 、場合によっては数 $^{\circ}\text{C}$ にもなるという報告もある[30]。それに比べ冷接点補償では基準接点を 0°C に保持する、即ち氷点を作成することは簡単ではないが保持さえできてしまえば基準接点補償に比べ誤差は大幅に小さくなる。そのため本研究では冷接点補償を使用した。問題の氷点であるが、小平の調製方法[31]を用いることで $0.0 \pm 0.01^{\circ}\text{C}$ の氷点を調製することが出来た。

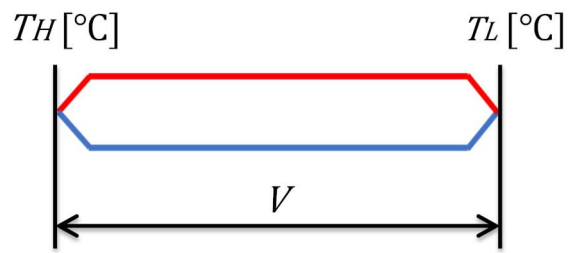


Fig.2-6 Schematic representation for Seebeck effect

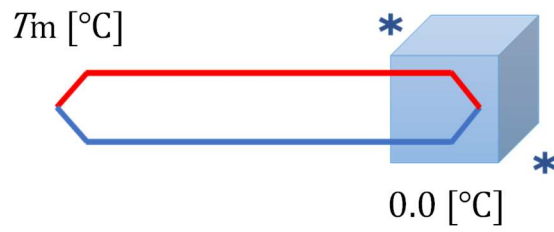


Fig.2-7 Schematic representation for cold junction compensation

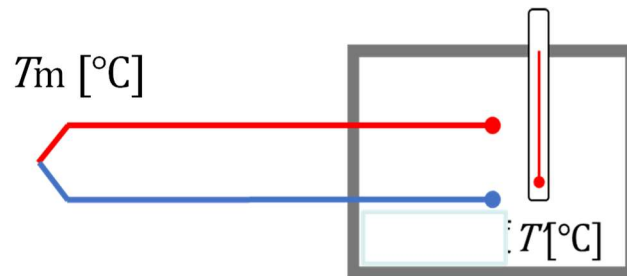


Fig.2-8 Schematic representation for reference junction compensation

2.3.3. 温度測定系の構築

実際に本研究にて使用した温度測定系を Fig.2-9 に示す．上記のように基準接点を 0°C に保つ冷接点補償を用いた．氷点は小平の方法で調製してある．凍結実験用のため低温での起電力特性の良い T 型熱電対を使用した，また熱電対から試料への熱流入を最小限にするため素線径は $\phi 0.254\text{mm}$ とした．また本測定では電圧計にて熱起電力を直接測定し，JISC1602:2015 の T 型熱電対規準熱起電力表より算出した補間式を用いることで温度を算出した．今回使用した多点電圧計(ThermodacE2 MODEL 5031A, 江藤電気)の電圧分解能は $10\mu\text{V}$ であり，温度分解能に換算すると約 0.025°C となる．一般的な熱電対温度計の温度分解能は 0.1°C のため，本測定系ではより細かな温度変動を捉えることが出来る．各測定前には必ず後述する校正試験を行った．

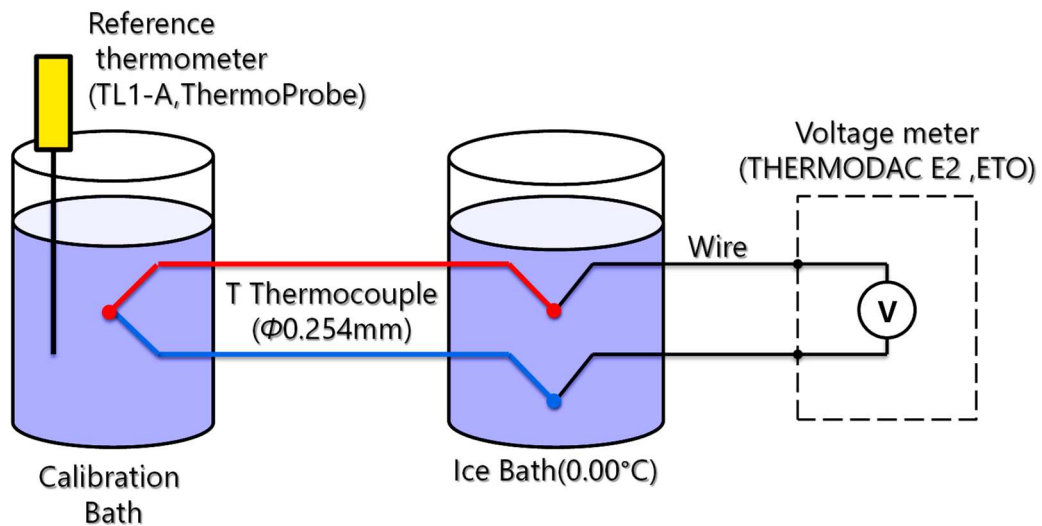


Fig.2-9 Schematics of the thermocouple measurement system

2.3.4. 校正試験及び結果

誤差把握のため校正試験を行った。校正方法は Fig.2-9 の左側のように被校正温度計(熱電対)と標準温度計の値を氷温槽中で比較する比較校正とした。氷温槽は小平の方法と同様に、6L のデュワー瓶中に削氷と蒸留水を混合したものを入れることによって作成した。標準温度計には温度確度 $\pm 0.05^{\circ}\text{C}$ 以下の白金測温抵抗体温度計を用いた(TL2-R, ThermoProbe)。この標準温度計は製品評価技術基盤機構(NITE)の JCSS(Japan Calibration Service System) によって Fig.2-11 のように日本の国家計量標準へのトレーサビリティが確保され、Fig. 2-10 のような校正結果付きの証明書が発行されている。またこれらの校正方法は日本電気検定所(JEMIC)の技術指導のもと構築した。そのため信頼性のある校正が行われていると言えよう。

校正試験の結果の一例を Fig.2-12 に示す。青線が本測定系(被校正温度計)、橙線が標準温度計の値を表している。本測定系の温度データに温度変動は認められるが、これは電圧計由来のランダム変動であり幅は分解能(約 0.025°C)に収まっている。標準温度計の値と比較すると値の差は $\pm 0.05^{\circ}\text{C}$ 程度に収まっており、非常に高い温度確度を有することが確認できる。

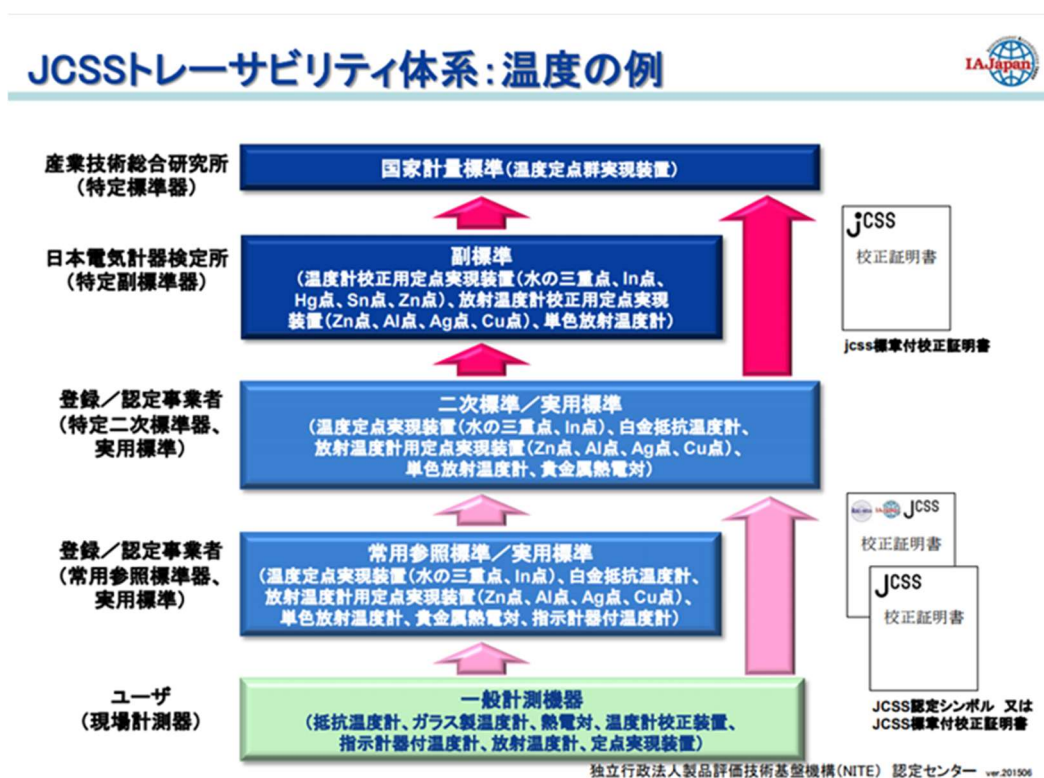


Fig. 2-10 JCSSL Traceability System Chart [32]



Fig.2-11 Calibration certificate

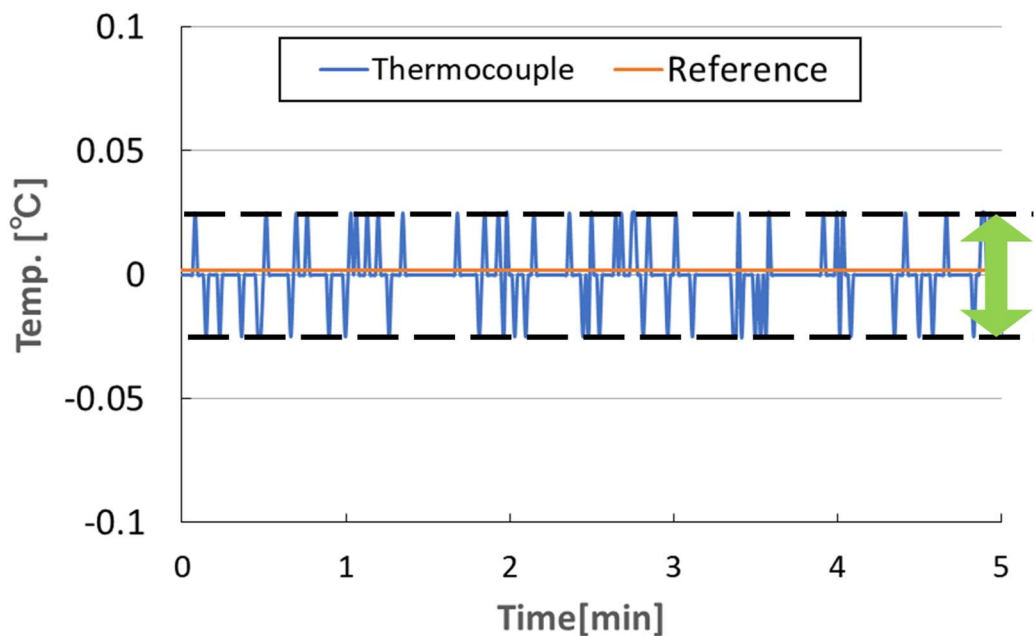


Fig.2-12 Results of temperature calibration

2.4. 伝熱条件の一定

一般的な食品凍結では試料の幾何学的形状やフリーザ内の気流等によって熱移動は複雑化しており、再現性の確保を妨げる一因となっている。そこで本研究では一次元凍結の導入等によって伝熱条件の一定化を行った。これらの試みはすでに鈴木らが磁場凍結の検証の際に行い[28]本研究室にて長らく使われてきたが、本研究では改良を行い更なる再現性の向上を試みた。

2.4.1. 一次元凍結

一次元凍結というのは Fig.2-13 のように円柱形状の試料の側面を断熱材で覆い、伝熱方向を制限した状態で凍結する方法である。円柱底面方向の伝熱が支配的に(実質一次元)になるため、伝熱形態が単純化し再現性の向上が期待できる。また後述する温度変化シミュレーションが容易になるという利点もある。鈴木らの研究のほかに、タンパク質ゲルの凍結実験[22]や寒天の凍結実験[33]にも使用されている。本研究ではより確実に断熱されるよう断熱材サイズを最適化し(厚さ 20mm, 150mm×200mm), 試料と断熱材の空隙からの熱流入を防ぐためにグリースを封入する改良を行った。

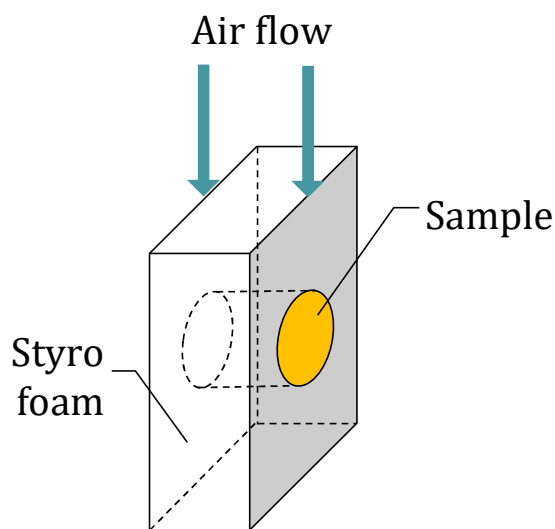


Fig. 2-13 Setting of samples

2.4.2. フリーザ

一般的な食品凍結に使用されるフリーザは内部の気流が複雑且つ温度変動が大きいため毎回同様の凍結を行うのが難しい。そこで本研究では鈴木らと同様に Fig.2-14 のようなフリーザを使用した。このフリーザの凍結チャンバは垂直のダクト状になっており、試料に一樣に冷気を吹き付けることが出来る。また冷気の温度を一定にコントロールするためにヒータが取り付けられている。

鈴木らの報告によると、このフリーザでは $\pm 2^{\circ}\text{C}$ の精度にて温度制御できるとされているが、実測した際には $\pm 4^{\circ}\text{C}$ 程度であった。これはこのフリーザにはヒータがついているため制御特性が通常と異なることが原因と考えられる。そのため本研究では当フリーザの制御特性の解明及びチューニングを行った。このフリーザは PI 制御であり、積分時間 T_i が小さすぎるためにハンチングを起こしていた。また制御の迅速性よりオーバーシュートを防止することを優先するため、比例ゲイン K_p は大きめにチューニングした。最終的に確定した制御パラメータを Table 2-1 に示す。チューニングの結果、温度変動幅を概ね $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 程度にすることが可能となった。(Fig.2-15)

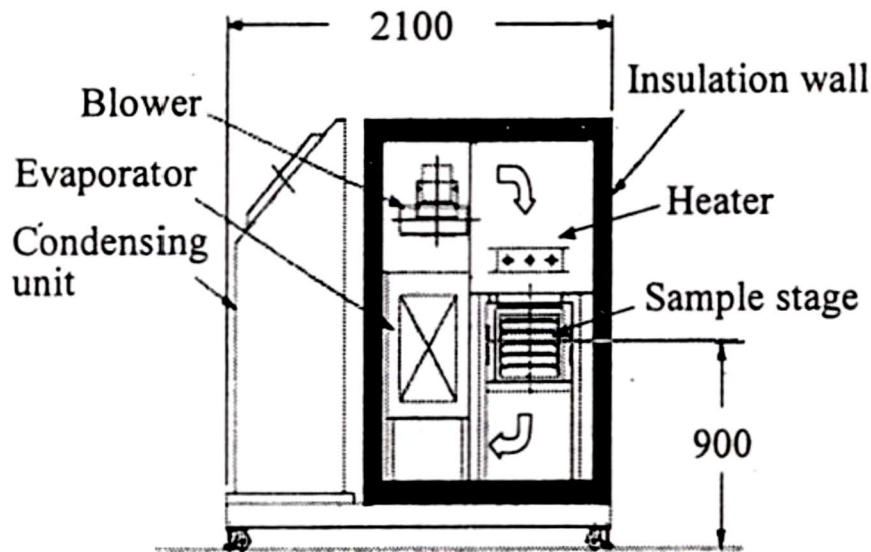


Fig.2-14 Schematics of the freezer [28]

Table 2-1 Control parameters of freezing machine

	Expansion valve	Heater
Proportional gain K_p [-]	120	100
Integration time T_i [s]	10	0.5

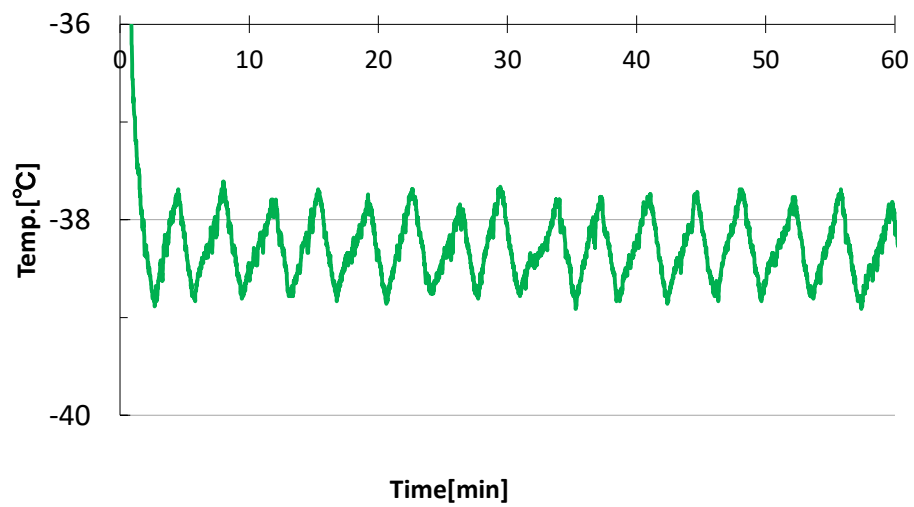


Fig.2-15. Temperature fluctuation of freezer

2.5. 再現性確認試験

実際に 2.2~2.4 の取り組みにより再現性が向上したか確認するため、タイロースを用いて凍結試験を行い、凍結曲線を測定した。

2.5.1. 試験方法

1.2 の方法で調製したタイロースゲルを $\phi 32\text{mm} \times 40\text{mm}$ の円柱状に成形した後、温度測定用として T 型熱電対を試料の伝熱方向の中心点に正確に取り付けた。その後予め穴を開けた厚さ 20mm, 150mm $\times$ 200mm の断熱材 (カネライトフォーム, カネカ) 2 枚で挟み込み円周面を覆うことで次元凍結とした。試料表面は極薄のテープで覆って乾燥を防止するとともに、テープと試料の間に表面温度測定用の T 型熱電対を挟み込んだ。測定開始時の温度を統一するため凍結前試料は 15°C のペルチェ式のインキュベータ (ICI-1000, ASONE) にて保持した。

凍結には -40°C 試験用ダクト型エアブラストフリーザ (前川製作所) を使用した (図 2)。チャンバ内の冷気の風速 (約 3.4 m/s) が均一になる位置を事前に調査し、毎回その位置に試料を設置した。凍結中の温度測定には 1.3.3 に記述した測定系を使用した。

2.5.2. 結果

Fig.2-16 に 5 回試験を行った際の凍結曲線を示す。図より中心、表面いずれの凍結曲線は殆ど一致しており、高い再現性を有していることが確認できる。

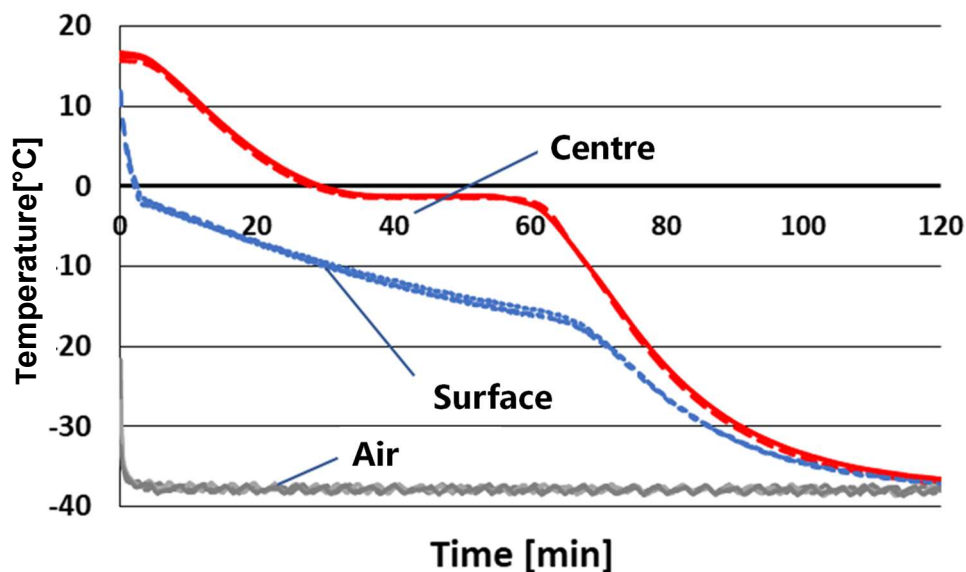


Fig.2-16 Freezing curve of tylose gel (n=5)

2.6. 第2章まとめ

凍結実験の再現性向上に向けて標準試料の選定，温度測定の確度向上及び伝熱条件の統一を行った．再現性確認試験の結果，高い再現性の凍結曲線を取得することができ，本手法が有効であることが確認された．

第3章 凍結曲線測定

本章では凍結前予冷した試料と通常試料の凍結曲線を取得した後凍結時間を算出し、比較を行った。

3.1. 実験方法

3.1.1. 試料調製

試料は卵アルブミンゲルを使用し、 $\phi 35\text{mm} \times 40\text{mm}$ の円柱状に成形した後、温度測定用として T 型熱電対を試料の伝熱方向の中心点に正確に取り付けた。その後予め穴を開けた厚さ 20mm, 150mm $\times$ 200mm の断熱材 (カネライトフォーム, カネカ) 2 枚で挟み込み円周面を覆うことで一次元凍結とした。試料表面は極薄のテープで覆って乾燥を防止するとともに、テープと試料の間に表面温度測定用の T 型熱電対を挟み込んだ。

3.1.2. 予冷方法

2.2.2 の方法で調製した卵アルブミンゲルの凍結開始温度は Chen[34]ら及び小関ら[35]の研究を参考にし、過冷却解消を利用した方法で測定した結果、 $0.55^{\circ}\text{C} \pm 0.15$ であることを確認した。そのため凍結前予冷試料はペルチェ式冷凍庫 (Z-max) を用いて約 0°C で冷却した。この温度変動は $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 以下であるため、確実に凍結を回避しながら凍結開始温度直上まで冷却することができる。予冷中の温度を測定したところ、最終的に試料中心温度が 0.2°C で安定化することを確認した比較用の通常試料は、ペルチェ式インキュベータ (ICI-1000, ASONE) を用いて 15°C に保持した。

3.1.3. 凍結方法

凍結方法は 1.5.1 と同様に、試験用ダクト型エアブラストフリーザ (前川製作所) を使用した。予冷工程で各試料の中心温度が一定になったら直ちに -40°C に設定したエアブラストフリーザ内に試料を入れ凍結、温度履歴を測定した。

3.2. 結果及び考察

Fig.3-1 に通常 (Fig.3-1(a)) および凍結前予冷 (Fig.3-1(b)) 卵アルブミンゲルの各凍結曲線を示す。各図には中心温度、表面温度、空気温度の 3 つの独立した測定結果を示している。1.5.2 と同様に凍結曲線がほぼ一致しており、今回の実験の再現性も確保されていることを確認した。測定した中心温度の分布は $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 以内であった。

凍結時間の定義は様々だがいくつか紹介すると、国際冷凍協会(IIR)は表面が 0°C になったから中心が凍結開始温度より 5°C 低くなるまでの経過時間を公称凍結時間と定義している[36]。Long は魚類の凍結速度を評価するため、最も冷却が遅い点が 0°C から -5°C まで低下するのに要する時間、熱的拘束時間を用いている[37]。また最大氷結晶生成帯通過時間も凍結時間としてよく用いられている。本研究では凍結時間として、(1)凍結開始から中心が -5°C になるまでの時間、(2)Long が用いた中心温度が 0°C から -5°C まで低下する時間、

(3)中心の温度が初期凍結温度（ -0.55°C ）から -5°C まで低下する時間の3つのモデルを用いた。Table 3-1 各モデルでの凍結時間を示す。各値は3回の測定値の平均値であり、標準偏差を付随させてある。モデル(1)では、凍結前予冷試料の凍結時間は通常試料より短くなっているが、これは予冷によって凍結前の顕熱が除去されているためであり当然の結果といえよう。モデル(2)では凍結前予冷試料の方が通常試料よりも凍結時間が長いことが確認できる。原因としてはFig.3-1に示すように、中心温度が 0°C になったときの表面温度は、通常試料では約 -8°C であるのに対し凍結前予冷試料では約 -2°C である。この試料の温度勾配の違いが凍結時間に影響を与えていると考えられる。モデル(3)では特に凍結前予冷試料において標準偏差が大きく再現性が悪いことが確認できる。これは過冷却や測定温度の微妙な変動により、試料温度が凍結開始温度に達したタイミングを検出できなかったことが原因と考えられる。これらの現象を実験で完全に排除することは不可能であるため、第4章でシミュレーションにて算出したモデル(3)の凍結時間を報告する。このように凍結時間の定義によって傾向が異なる点、凍結開始点の検出が困難な点を踏まえ、凍結前予冷の影響の検証において凍結時間という評価項目は適していないことが示唆される。

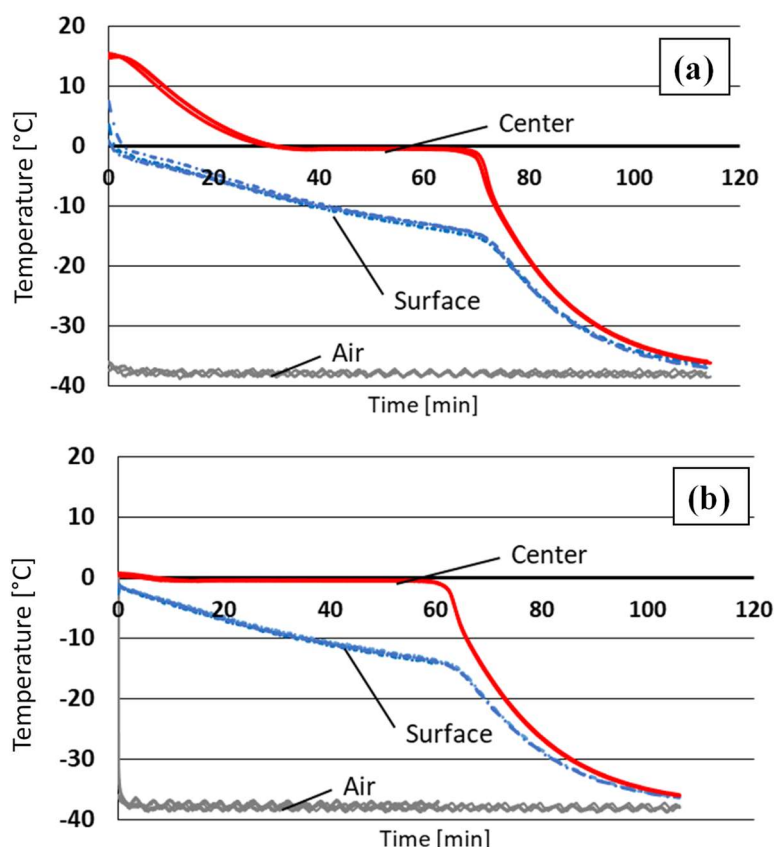


Fig. 3-1 Freezing curves of egg albumin gel obtained by experiments:

(a) conventional freezing, (b) pre-cooled freezing

Table 3-1 Various freezing times from freezing experiment

Condition	Freezing time [min]		
	Model (1) Start to -5 °C	Model (2) 0 °C to -5 °C	Model (3) Initial freezing point to -5 °C
Conventional	71.6±0.3	39.5±1.6	13.2±7.0
Pre-cooled	63.6±0.0	57.8±1.4	19.8±21.8

3.3. 第3章まとめ

通常試料及び凍結前予冷試料の凍結実験を行い、凍結曲線を測定した。また定義の異なる3つのモデルにて凍結時間を算出した。タイロースゲルと同様に卵アルブミンゲル凍結曲線は高い再現性を有した。しかし定義により傾向が異なり、モデル(3)では凍結開始点の検出が困難であった。以上より凍結時間を算出することは凍結前予冷の有効性検証において不適であることが示唆された。

第4章 X線CTを用いた三次元氷結晶観察

本章では第2章で凍結を行った通常試料及び凍結予冷試料の氷結晶観察を行い、凍結前予冷が氷結晶に及ぼす影響を調査した。

4.1. 氷結晶観察について

4.1.1. 食品分野での氷結晶観察

食品を凍結させた際に品質が低下する原因の一つとして、氷結晶の形成による機械的ストレスが挙げられる。そのため食品内部に生じる氷結晶の性状(大きさ, 形, 分布等)を把握, 観察することは非常に重要であり, 氷結晶および組織の観察法が長年検討されてきた。

よく用いられる方法としては顕微鏡での二次元的観察がある。基本的には凍結後の組織の固定を行い, 切片を作成し光学顕微鏡にて観察を行う。河野らは[38], テープにて薄切片を作成し組織観察を行う川本法[39]を応用した氷結晶観察法を開発, 迅速かつ容易な観察ができるようになった。また組織固定等を行わずに, コールドステージを用いてあるいは顕微鏡を低温空間に設置することで氷結晶を直接観察する方法もある。高解像度で観察したい場合では, 光学顕微鏡ではなく走査型電子顕微鏡 (SEM)や透過型電子顕微鏡 (TEM)が用いられる。三次元的な観察法としては極低温マイクロスライサ分光イメージングシステム[40]やMRIを用いたものがある。

本研究では氷結晶観察にはX線CTを用いた。理由として従来の顕微鏡を用いた二次元的な観察では氷結晶の形や分布を把握することが困難な点, 切片の作成においてはある程度慣れやスキルが要求される点が挙げられる。それに比べX線CTを用いると3次元的な観察が比較的簡易に可能である。そのため当研究室ではX線CTにて氷結晶観察を行った実績が多数ある[41][42]。

4.1.2. X線CTの基礎理論

X線(Computed Tomography)はGodfrey Hounsfieldによって発明され[43], 人体内部に対して三次元的な観察を行うことが可能となり, 臨床医学の進歩に大きく貢献した。一方高エネルギーのX線を利用したCT装置も開発され産業用材料や製品の非破壊検査などに使用されている。非破壊でモノの内部を調べることができるというX線CTの持つ利点は臨床医学や製品の検査だけでなく, 様々な分野で応用できる可能性をもつ。

X線CTの基礎原理としては, まずFig. 4-1のように被検体に強度 I_0 のX線を照射し, 被検体を透過してきたX線の強度 I の分布を透過像として取得する。透過前と透過後のX線の関係式は以下のようになる。

$$I = I_0 e^{-\mu t} \quad (3-1)$$

t は吸収体の厚さであり, μ は線減弱係数と呼ばれる, X線エネルギー, 吸収体物質, 密度で決まる比例定数である。CTでは単にX線吸収係数と呼ばれることが多い。(3-1)式より, 透過像を取得することで吸収係数を求めることが出来る。本研究でのX線CT装置は一回転でボリュームデータを取得するコーンビームCTである。試料をステージにて回転させなが

ら X 線を照射することにより多数の透過像を取得する．その後複数の透過像より 1voxel ごとの X 線吸収係数を算出し，数値に対応した濃淡表示をすることで CT 画像となる． voxel とは三次元画像の最小要素である立方体(正規格子)のことである(Fig. 4-2).

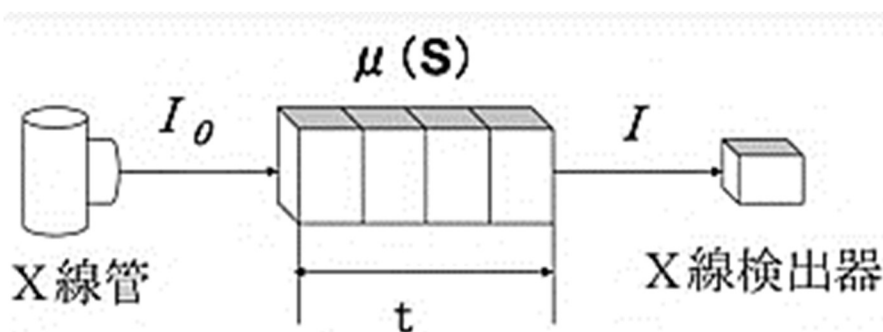


Fig. 4-1 Image of X-ray irradiation[44]

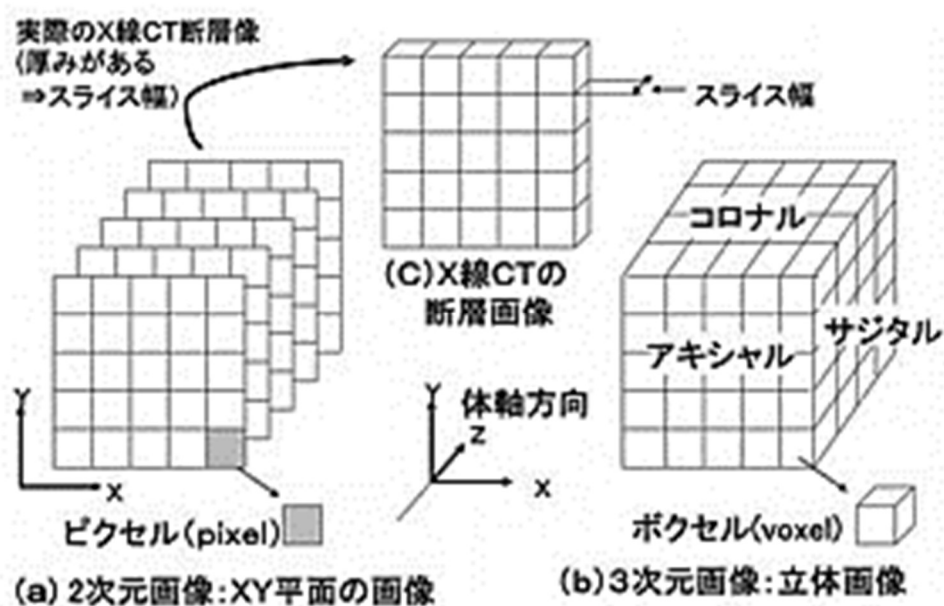


Fig. 4-2 Voxel Conceptual Diagram[44]

4.1.3. 真空凍結乾燥を伴う氷結晶観察

食品中の氷結晶を X 線 CT にて観察する際の問題点として、低コントラストであることが挙げられる。食品組織は 80%以上が水で構成されているため氷と液体の水の僅かな X 線吸収係数の差(4%程度)を捉えなければならず氷結晶の判別が難しい[45]。放射光を利用した X 線 CT を用いて、低温環境下にて凍結したままの試料の氷結晶を観察することに成功した例はある[46]が、これも粗大な結晶の観察に留まっており、そもそも放射光には Spring-8 のような広大な施設が必要なため簡易的な観察とは言い難い。その為本研究では凍結乾燥した試料を X 線 CT にて観察する方法[46]を用いた。これは試料の前処理として凍結乾燥を行い、周りの構造を維持しながら氷結晶を昇華させることで試料を多孔質状にし、空孔を氷結晶と見なし撮像することで氷結晶の評価を行う手法である。この方法であれば卓上 X 線 CT 装置でも明瞭なコントラストを得ることが可能である。

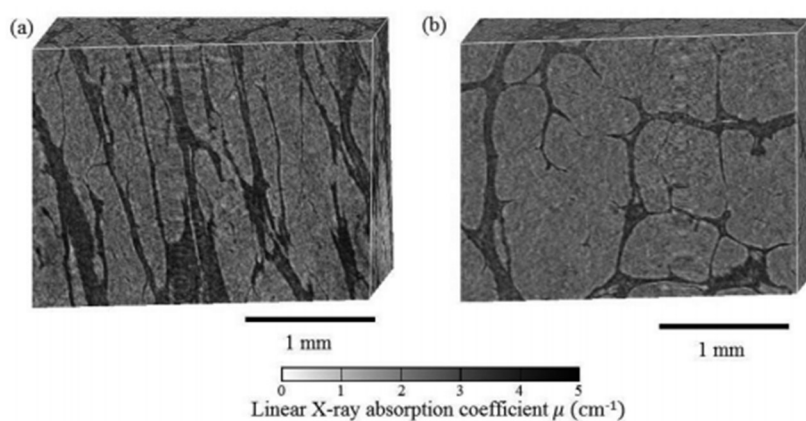


Fig .4-3 CT images of frozen tuna (a) and tofu (b) (direct observation)[46]

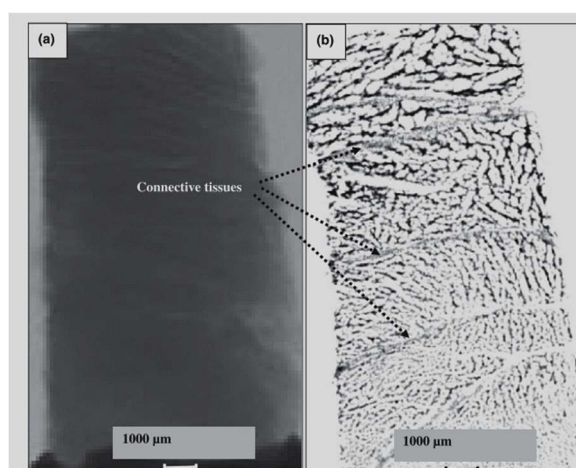


Fig .4-4 CT images of freeze-dried fish[47]

4.2. 実験方法

4.2.1. 真空凍結乾燥

凍結試料の観察前処理として真空凍結乾燥を行った。真空凍結乾燥機 RLE-52（共和真空技術）を使用し、初期棚温度-50℃、チャンバ圧 5Pa にて加熱などはせず、5 日間かけて緩やかに氷結晶を昇華させた。予備実験にて取得した乾燥時の温度履歴を Fig.4-5 に示す。破線は棚温度であり、実線は試料の中心温度である。途中温度が急上昇するのは凍結層が消滅したことを表すため[48]、本乾燥法では-40℃以下にて氷結晶が昇華していることが確認できる。

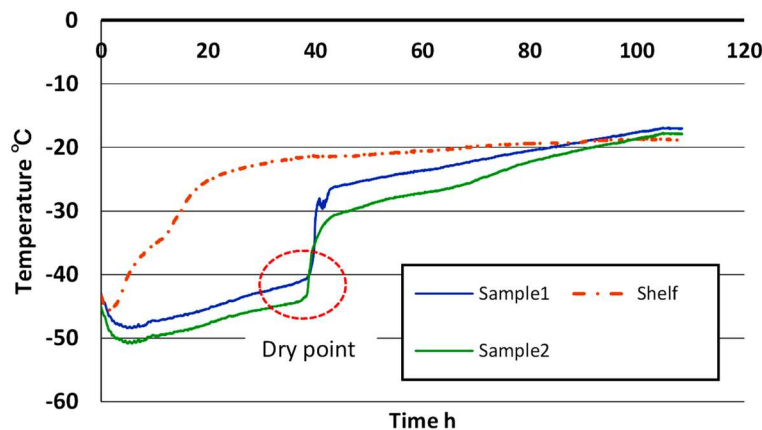


Fig.4-5 Temperature history during freeze-drying

4.2.2. X線CTによる観察

凍結乾燥後の試料を X 線マイクロ CT スキャナ SkyScan1173-MS (Bruker) を用いて空間分解能 6.7[μm/pixel], X線源 40[keV], 100 [μA], スキャンステップ 0.2[°]で試料を回転させながら透過画像の撮影を行った。CT 画像を撮影した後, NRecon (Bruker) を使用して CT 値 100HU～ 5000HU を抽出し再構成を行った。

ここで CT 値とは水をゼロとした, X 線の吸収を表す相対値である。CT 値は以下の様に表す。

$$\text{CT 値} = \frac{\mu_t - \mu_w}{\mu_w} \times K \quad (3-2)$$

μ_t は組織の吸収係数, μ_w は水の吸収係数である。特に $K=1000$ とした CT 値は Hounsfield Unit(HU)と呼ばれ, 空気が-1000,水が 0 となる。CT は再構成の際, 記録された CT 値のうちの範囲を濃淡表示するかを設定する必要がある。これがウィンド機能, CT 値の抽出である。Fig. 3-1 のようにウィンド幅を 0~1000HU とした場合, CT 値 0 から 1000 の範囲が濃淡表示される。この場合, CT 値 0 未満のものは黒く, CT 値 1000 を越えるものは白く表示され区別できない。階調数が 256 であるから, ウィンド幅を狭くすれば濃淡表示される CT 値の範囲は狭くなるが, 小さな CT 値差をくっきり表現できる。逆に, ウィンド幅を広くすれ

ば濃淡表示されるCT値の範囲は広がるが、小さなCT値差は区別できない。実際は目的の観察物によって経験的に決定しているのが現状であり、本実験では凍結乾燥後の試料を絶乾試料として試料中に水はないものとし画像ノイズが入らないように調製しながら上記のようなCT値を設定した。

画像の再構成はFeldkanp法にて行い、再構成した画像はCTAn (Bruker) を用いて2値化を行った。2値化後はデスペクトルによって50pixel以下の白い領域を取り除いた。氷結晶の三次元的な解析にはCT画像の空間厚みを示すStructure Separation値を用いた。Structure Separationは骨の海綿構造の形態を評価するために用いられているtrabecular separationを氷結晶評価に適応したものである。凍結乾燥した試料の構造は海綿構造に似ているため、同様の手法にて氷結晶性状を評価することが可能である。この値は空隙を構成する各voxelから同心円状の球を広げて、構造体に接触するまでの距離を測定したものである(Fig. 3-6) 食品分野ではパンの空隙評価に使用している報告例[49]がある。

Structure Separationの計算はCTAnを用い、熱流束方向に沿って、表面領域(冷却面から3mm~5.5mm)、中間領域(冷却面から9.25mm~11.75mm)、中心領域(冷却面から15.5mm~18mm)のそれぞれ3つの領域にて行った。各領域は伝熱方向に沿った、 $\phi 10\text{mm} \times 2.5\text{mm}$ の円柱状になっている。

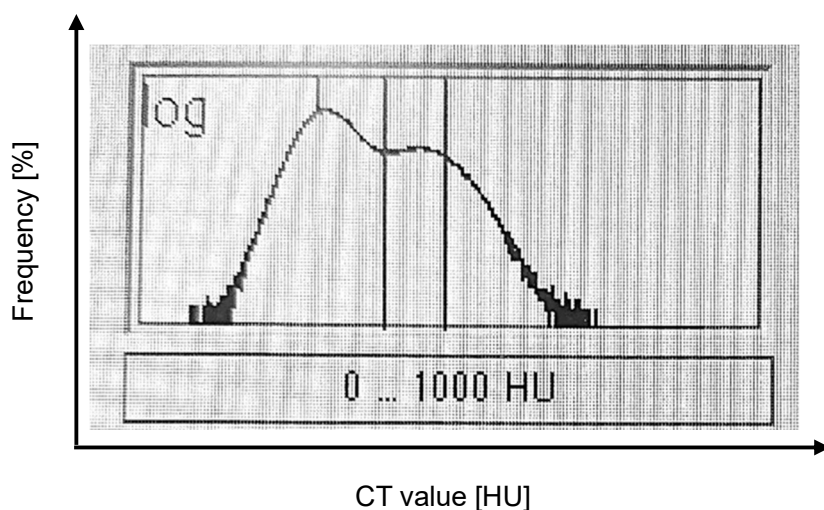


Fig. 4-6 Wind function

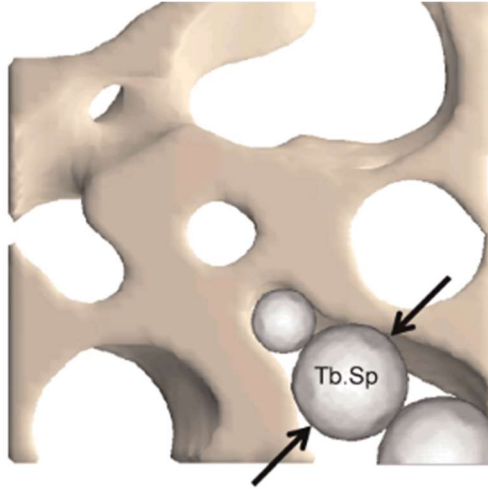


Fig. 4-7 Image of Trabecular Separation [50]

4.3. 結果及び考察

Fig. 4-8 に試料の中心付近の 3-D CT 画像を示す。図から 3 次元的な氷結晶の形態が観察できることが確認できる。この違いをより詳細に説明するために、Fig. 4-9 に通常試料 (Fig. 3-9 (a)) と凍結前予冷試料 (Fig. 4-9 (b)) の、熱流束方向と同方向の断面像を示す。これらの画像の範囲は冷却面から 3mm~18mm であり、白い部分が構造、黒い部分が氷結晶痕を表す。コーンビーム CT の原理的に試料の両端は CT 撮影において歪んでしまうことが知られているため[51], 撮影範囲の両端は除去してある。 Fig.4-9(a)より、通常試料では熱流束と同じ方向に柱状の結晶が形成されていることが確認できる。この現象は円柱状の 2%ゼラチンゲルを-30℃エアブラストで凍結させた際にも確認されたと報告されている[52]。凍結前予冷試料では氷結晶が従来のものよりもやや大きく、結晶の生成方向が揃っていないように見える。しかし、この図からは二次元的且つ定性的な評価しかできないため、Structure Separation 値を用いて氷結晶の特性を定量的に評価した。

Fig. 4-10 は通常試料と凍結前予冷試料における Structure Separation のヒストグラムを領域ごとに示したものである。いずれの試料においても領域ごとの Structure Separation 値の差はほとんど見られなかった。これは凍結条件が-40℃エアブラストと急速であったため、領域間の氷結晶性状の違いが顕著に現れなかったためと考えられる。通常試料と凍結前予冷試料のヒストグラムを比較すると、凍結前予冷試料のヒストグラムは通常試料よりも広い分布を示していることが判る。この結果は通常試料よりも凍結前予冷試料の方が大きく且つ不均一な氷結晶を有していることを示している。このような氷結晶が生じた理由は明らかではなく、これまでに同様の現象を報告した研究は見つけられなかった。そこで本研究では凍結曲線シミュレーションを行い、試料内温度分布に基づく仮説を立てた。その内容については第 5 章にて後述する。

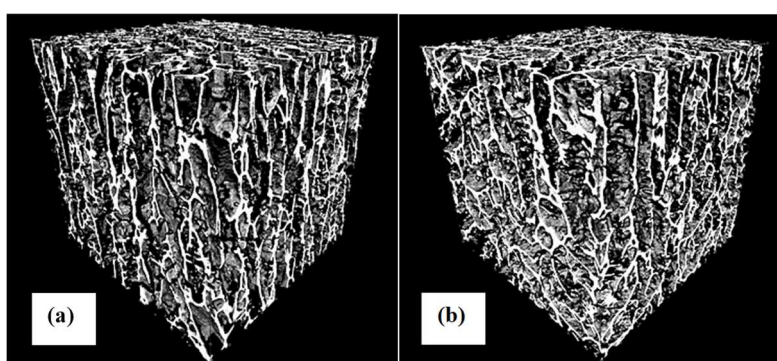


Fig. 4-8 Examples of 3-D CT images of frozen egg albumin gel:
(a) conventional freezing, (b) pre-cooled freezing
(5mm-cube, 13 mm~18 mm from the cooling surface)

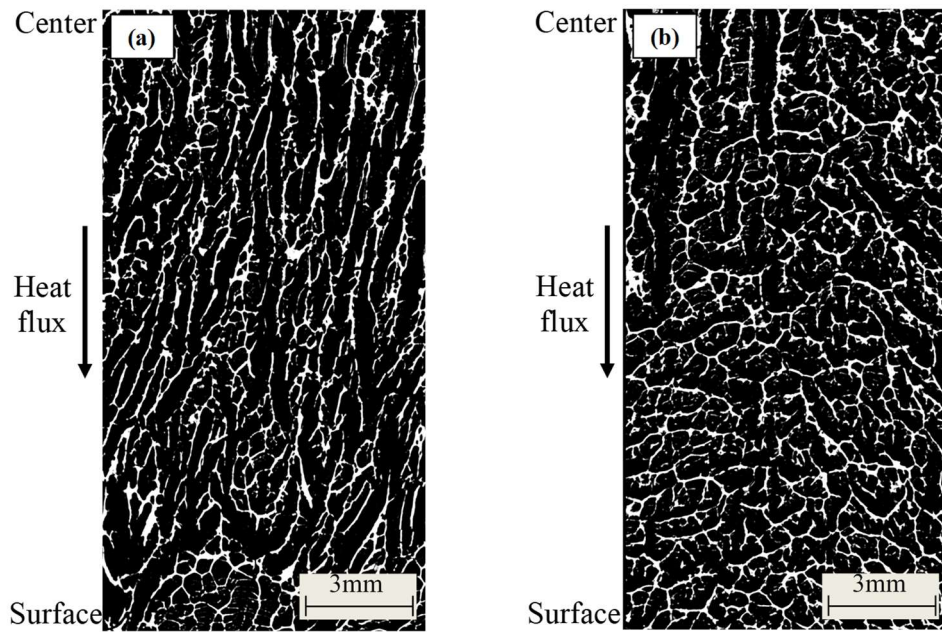


Fig. 4-9 Cross-sectional CT images of frozen egg albumin gel:
 (a) conventional freezing, (b) pre-cooled freezing
 (3 mm~18 mm from the cooling surface)

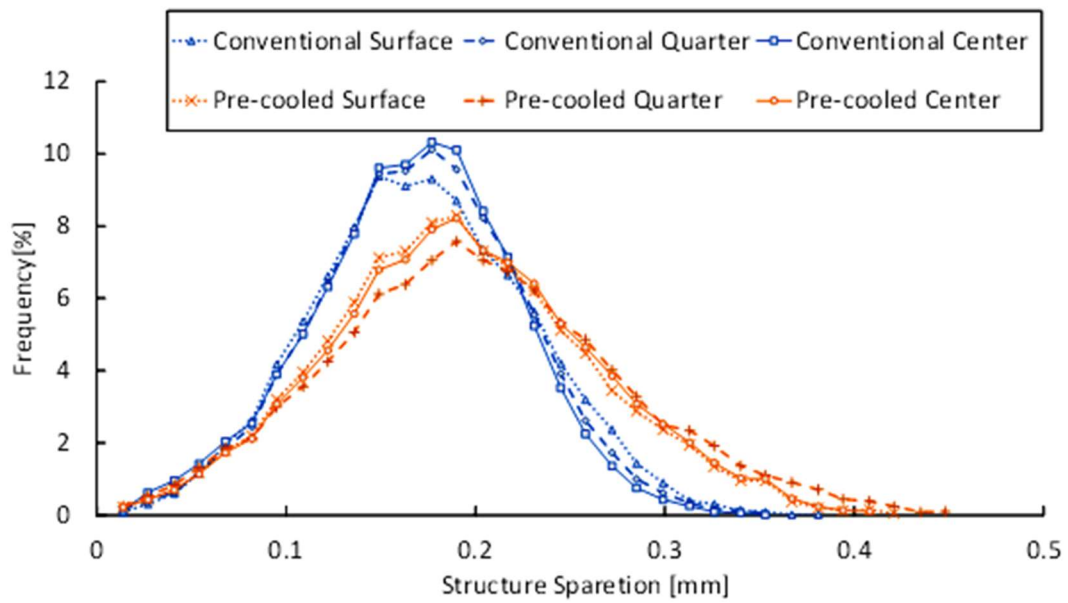


Fig. 4-10 Histogram of structure separation at difference regions

4.4. 第 4 章まとめ

第 3 章の方法で卵アルブミンゲルを凍結させたのちに真空凍結乾燥を行い, X 線 CT にて氷結晶性状を観察し, **Structure Separation** 値を算出した. その結果, 凍結前予冷を行った場合, 予冷なしの場合と比べて形成された氷結晶が大きく且つ不均一であることが明らかになった.

第5章 数値計算による凍結曲線シミュレーション

本章では卵アルブミンゲルの凍結曲線を推算し、試料内温度分布を得るために、試料内部の伝熱を一次元伝熱と仮定し、村上らの方法を改良して凍結シミュレーションを行った。その後得られた温度分布に基づき、凍結前予冷にて氷結晶が肥大・不均一化した原因の仮説を立てた。

5.1. 一次元伝熱の基礎理論

5.1.1. 伝熱の形態

伝熱は伝導、対流および放射の三形態に分類される。本研究では試料(卵アルブミンゲル)の凍結を流動空気中で行うことを想定しており、したがって扱うのは伝導伝熱と対流伝熱である。試料を流体内で凍結する場合、試料内部では伝導伝熱が生じ、試料表面では流体から試料への対流伝熱が生じる。

伝導伝熱は固体様の物体内で温度勾配が生じた際に、高温側から低温側へと熱が移動する現象で、伝導伝熱では、熱の流れを一次元と仮定した場合、熱の流れに垂直な面を通して、単位時間あたり単位面積あたりに流れる熱量、すなわち熱流束を $q \text{ W m}^{-2}$ 、

熱伝導率 $\lambda \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$ 、温度 $T \text{ K}$ 、位置 $x \text{ m}$ として、以下の式で表せる。

$$q = -\lambda \left(\frac{\partial T}{\partial x} \right) \quad (5-1)$$

すなわち、熱流束は熱伝導率を比例定数として温度勾配に比例する。これを Fourier の法則という。

また、境界面での伝熱現象である対流伝熱では、熱伝達率 $h \text{ [W m}^{-2} \text{ K)]}$ 、流体温度 $T_{\infty} \text{ [K]}$ 、固体表面温度 $T_s \text{ K}$ として、

$$q = h(T_{\infty} - T_s) \quad (5-2)$$

で表せる。すなわち熱流束は、熱伝達係数を比例定数として境界面の温度差に比例する。これを Newton の冷却法則という。

5.1.2. 一次元熱伝導方程式

一次元非定常熱伝導方程式は以下の式で表せる。

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \alpha \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} \quad (5-3)$$

但し, α は熱拡散率[m² s⁻¹]であり, 熱伝導率 λ [W m⁻¹ K⁻¹], 密度 ρ [kg m⁻³], 比熱 c kJ kg⁻¹・K⁻¹として, 以下を満たす.

$$\alpha = \frac{\lambda}{\rho c} \quad (5-4)$$

すなわち, 温度の時間変化は温度勾配の変化率に比例する.
本研究では, 式(5-3)を, Patanker らが考案したコントロールボリューム法[53]にて差分化し, 数値計算を行うことで温度履歴を得た.

5.1.3. 凍結モデル

食品凍結モデルは多くの研究者により提唱されており, 食品を全て均一な連続体として取り扱う均一モデルでは, Plank モデルや Fourier モデル等が挙げられる. もっとも有名なのは Plank モデルであるがこのモデルには未凍結層がどこも均一に凍結開始温度である, すなわち既に予冷された状態から凍結を行うという前提があるため今回の検証には不適である. Fourier モデルでは凍結界面の取り扱いの違いにより, 移動界面モデルと無凍結界面モデルに分けられる. 移動界面モデルでは, 凍結の進行に伴って移動する凍結界面を扱うこととなるが, 相変化を伴う熱伝導問題では凍結界面の取扱いが非常に煩雑である. この煩雑な問題を解消する方法として, 凍結界面を考慮しないものが無凍結界面モデルである. 無凍結界面モデルはさらに見かけ比熱モデルとエンタルピーモデルに分けられるが, 本研究では, 凍結とともに放出される潜熱を見かけ上の比熱変化とする見かけ比熱モデルを用いることとした. 無凍結界面モデルでは界面移動速度を考慮する必要はないという利点があるが, 比熱, 密度, 熱伝導率といった熱物性値の扱いに工夫が必要となるという[54]. 本研究では凍結プロセスにおける熱物性値の推算に, 御木の方法を用いた[54]. 食品を凍結していく際に, 凍結点温度 T_f K 以下に冷却すると食品中の水分は次第に氷結晶を生成する. その氷結晶生成の割合を食品全体の水分に対する割合を凍結率 r とすると, 凍結率は以下の式で表される.

$$T_f < T \text{ のとき } r = 0 \quad (5-5)$$

$$T_f \geq T \text{ のとき } r = 1 - \frac{T_f}{T} \quad (5-6)$$

相変化中の食品の密度 ρ kg m⁻³, 比熱 c kJ kg⁻¹ K⁻¹ および熱伝導率 λ W m⁻¹ K⁻¹ は温度 T K の関数として, 以下の式で表せる[54].

$$\rho = (1 - r)\rho_a + r\rho_b \quad (5-7)$$

$$c = c_b + (c_a - c_b)\frac{T_f}{T} - L_f \frac{T_f}{(T)^2} \quad (5-8)$$

$$\lambda = (1 - r)\lambda_a + r\lambda_b \quad (5-9)$$

但し、添え字の a は未凍結時の各物性値を、同 b は凍結後のそれを意味し、また、 L_f [kJ kg⁻¹] は凍結潜熱である。

5.2. 数値計算条件

卵アルブミンゲルの熱物性値は、Pongsawatmanit ら[55]および杉山ら[56]の値を用いた。凍結状態における密度および比熱の文献値は確認できなかったため卵の物性値[13]を参考にしてカーブフィッティングにより調整した。凍結潜熱は、水の凝固潜熱（334 kJ kg⁻¹）と卵アルブミンゲルの含水率（87.5%）を掛け合わせて算出した。シミュレーションで用いた熱物性値及び熱伝達率を Table 5-1 に示す。フリーザチャンバ内の熱伝達率は筆者らが氷スラリーの熱伝達率を測定した方法にて実測した。その結果 55.6 W m⁻² K⁻¹ であったためこの値を使用した。試料はφ 35mm×40mm の円柱とし、伝熱方向に 20 個のセルに分割した。実際の計算は Visual Basic にて構築したプログラムを用いて行い、結果は Microsoft 社の Excel 上に出力した。

Table 5-1 Thermophysical properties of egg albumin gel

Parameter	Value		Reference
	Unfrozen state	Frozen state	
Density [kg m ⁻³]	1033	959	Unfrozen state: Sugiyama and Shibukawa (1998) Frozen state: Curve fitting
Specific heat [kJ kg ⁻¹ K ⁻¹]	3.89	1.20	Unfrozen state: Sugiyama and Shibukawa (1998) Frozen state: Curve fitting
Thermal conductivity [W m ⁻¹ K ⁻¹]	0.60	1.80	Pongsawatmanit et al. (1993)
Latent heat of solidification [kJ kg ⁻¹]	293		Calculated
Initial freezing point temperature [°C]	-0.55		Measured

5.3. 結果及び考察

5.3.1. 実測値との比較

Fig.5-1 にシミュレーションと実測の中心部凍結曲線を併せて示す。図よりシミュレーションで得られた凍結曲線は実験データとよく一致しており、シミュレーションが妥当であることが確認できる。また第3章と同様に、3つのモデルにて算出した凍結時間を Table 4-2 に示す。モデル(1)では、凍結前予冷試料の凍結時間は通常試料より短くなり、モデル(2)では凍結前予冷試料の方が通常試料よりも凍結時間が長いという、実測値(第3章 Table 3-1 参照)とほぼ同様の傾向が見られた。一方でモデル(3)では、凍結と予冷凍結で凍結時間に差は見られなかった。

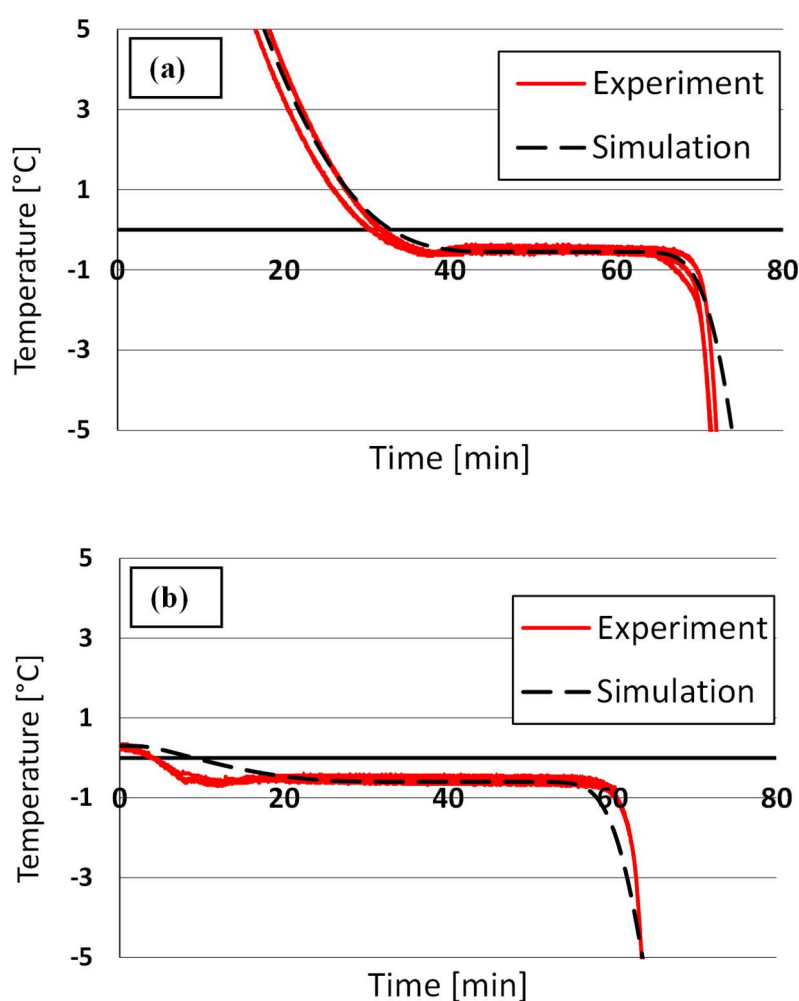


Fig. 5-1 Freezing curves obtained by simulation and experiment:
(a) conventional freezing, (b) pre-cooled freezing

Table 3 Various freezing times obtained from simulation

Condition	Freezing time [min]		
	Model (1) Start to -5 °C	Model (2) 0 °C to -5 °C	Model (3) Initial freezing point to -5 °C
Conventional	73.9	41.0	15.6
Pre-cooled	64.4	53.7	15.6

5.3.2. 試料内温度分布及び凍結前予冷効果の仮説

Fig-5-2 にシミュレーションより得られた通常及び凍結前予冷試料内の温度分布を示す。この図は、冷却面から 10mm の箇所の温度が凍結開始温度（-0.55℃）に達した瞬間の試料内温度分布である。凍結前予冷効果の仮説にあたって凍結開始温度以上の部分である未凝固層の温度部分(図中白色部分)に着目した。通常試料(Fig.5-2(a)) では、未凍結層内に明らかな温度分布が見られ、そのほとんどが確実に凍結開始温度より上である。一方、凍結前予冷試料の場合(Fig.5-2(b))は未凍結層の温度分布はほぼ均一であり、凍結開始温度近傍である。このことから、僅かな温度変動等がきっかけで未凍結層のどの位置でも氷核生成が発生する可能性があり、生成された氷結晶は再結晶化による氷結晶成長がしやすい凍結開始温度付近に、より長く滞留していたと考えられる。このことから凍結前予冷によって不均一で大きな氷結晶が発生していたことが示唆される。この仮説によると、試料に厚みがある場合や凍結が遅い場合には本実験よりも凍結開始温度付近での滞留時間が長くなり、凍結前予冷によって氷結晶の肥大化が顕著になることが考えられる。しかしこれらの仮説を完全に立証するためには様々な凍結条件での実験が複数回必要になるであろう。

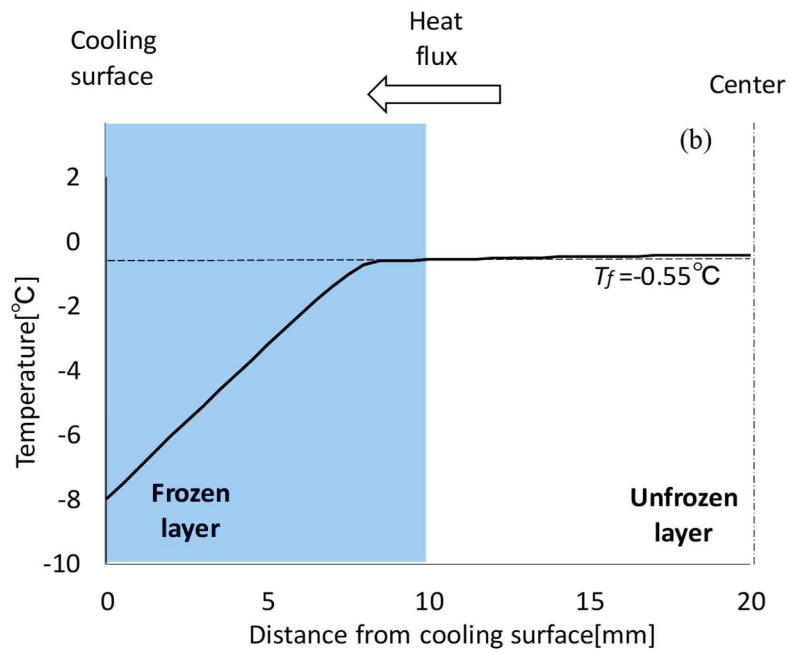
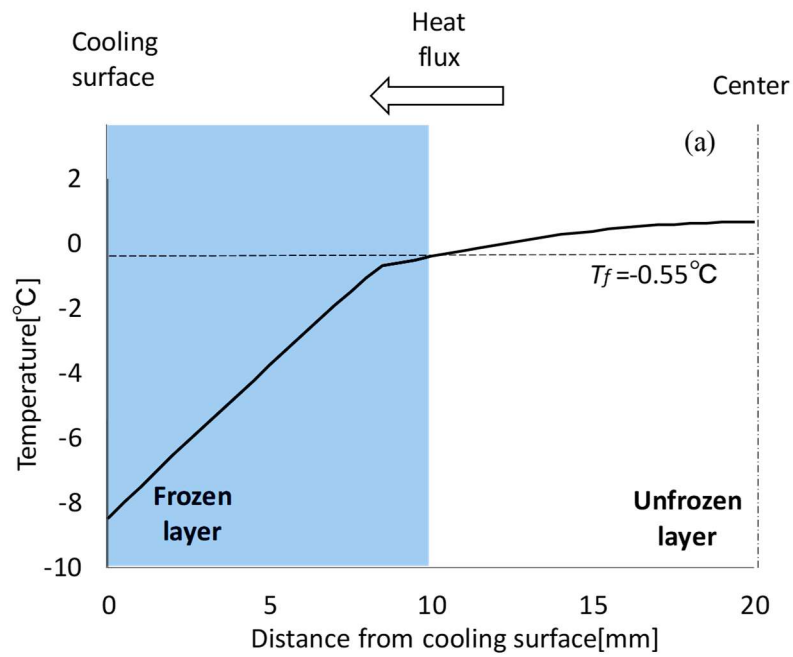


Fig. 5-2 Image of temperature distribution by simulation:
 (a) conventional freezing, (b) pre-cooled freezing
 (reached -0.55°C at 10mm from cooling surface)

5.4. 第5章まとめ

卵アルブミンゲル内部の伝熱を一次元伝熱と仮定し凍結シミュレーションを行った。シミュレーションによる温度履歴は実測値とよく一致した。また凍結時間を算出した結果、モデル(3)では通常凍結と予冷凍結で凍結時間に差は見られなかった。本シミュレーション結果より凍結前予冷により氷結晶が肥大化・不均一化した原因は、試料内部の未凍結層の温度分布が異なることが原因であると示唆された。

第6章 総括

凍結実験時の再現性・精度を向上させ、定量的な氷結晶の観察を行うことで、凍結前予冷が凍結時間及び氷結晶へ及ぼす影響の検証を行った。得られた結論は以下の通りである。

- A) 卵アルブミンゲルの凍結実験及びシミュレーションから凍結時間を評価したが、凍結時間の定義によって傾向が異なるため、凍結前予冷が有効かどうかの判断は困難であった。
- B) X線CTを用いて氷結晶性状を解析した結果、凍結前予冷を行った場合、予冷なしの場合と比べて形成された氷結晶が大きく且つ不均一であることが明らかになった。また、シミュレーションによって得られた温度分布より、試料内部の未凍結層の温度分布が異なることが原因であると示唆された。

これらの結果から、今回の実験条件のもとで凍結させた場合、凍結前予冷は凍結時間や氷結晶生成において優位な影響をもたらすことはない結論つけられる。本研究では試料サイズや凍結速度等の実験条件が限定されているため、他の条件でもこの結論を検討することが将来的に必須である。

参考文献

- [1] C. H. Stevenson and U. . Bulls, “Fish comission,” *Fish Com.*, vol. 18, p. 335, 1898.
- [2] V. E. Robert and R. W. Willis, “The Rise of Frozen Food,” in *Fundamentals of Food Freezing*, W. D. Norman, Ed. AVI, 1977, pp. 15–21.
- [3] S. Kato, *Theory and Application of food Freezing*, 9th ed. Tokyo, Japan: Korin, 1993.
- [4] JSRAE, *History of Japanese Cold Storage*. 1975.
- [5] M. Watanabe, “Japanese Refrigeration Technology developed along with Fisheries —The Beginning of Japanese Cold Chain—,” *Refrigeration*, vol. 86, no. 999, pp. 54–57, 2011.
- [6] L. Otero, M. Martino, N. Zaritzky, M. Solas, and P. D. Sanz, “Preservation of microstructure in peach and mango during high-pressure-shift freezing,” *J. Food Sci.*, vol. 65, no. 3, pp. 466–470, 2000.
- [7] J. Tang, S. Shao, and C. Tian, “Effects of the magnetic field on the freezing process of blueberry,” *Int. J. Refrig.*, vol. 113, pp. 288–295, 2020.
- [8] R. Kobayashi, N. Kimizuka, M. Watanabe, and T. Suzuki, “The effect of supercooling on ice structure in tuna meat observed by using X-ray computed tomography,” *Int. J. Refrig.*, vol. 60, pp. 270–277, 2015.
- [9] R. L. Poudyal, R. Kobayashi, T. Suzuki, and M. Watanabe, “Effect of different freezing and storage condition on the physical properties of protein coagulum (Firm Tofu),” *Int. J. Refrig.*, vol. 107, pp. 11–19, 2019.
- [10] M. D. Alvarez and W. Canet, “Effect of pre-cooling and freezing rate on mechanical strength of potato tissues (cv Monalisa) at freezing temperatures,” *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 205, no. 4, pp. 282–289, 1997.
- [11] D. S. Reid, “Factors which influence the freezing process an examination of new insights,” Sydney, 1999.
- [12] D. S. Reid and H. Yan, “Rheological, melting and microstructural properties of cheddar and mozzarella cheeses affected by different freezing methods,” *J. Food Qual.*, vol. 27, no. 6, pp. 436–458, 2004.
- [13] ASHRAE, *2010 ASHRAE Handbook Refrigeration*. 2010.
- [14] Y. Zhao, W. Ji, L. Chen, J. Guo, and J. Wang, “Effect of cryogenic freezing combined with precooling on freezing rates and the quality of golden pomfret (*Trachinotus ovatus*),” *J. Food Process Eng.*, vol. 42, no. 8, pp. 1–11, 2019.

- [15] MARS, "Sea snow," 2014. [Online]. Available: https://www.mars-company.jp/sea_snow.html. [Accessed: 04-Feb-2021].
- [16] T. Mochizuki, "Development of food quick freezing equipment," *Skills and Techniques*, vol. 6 , pp. 4–7, 2002.
- [17] I. Yamasaki and T. Suzuki, "Investigation of the possibility that precooling of food products delays freezing time and leads to coarsening of ice crystals," in *Proceedings of the Japanese society for food science and technology Kanto Branch Convention 2018*, 2018, p. 38.
- [18] M. Hada *et al.*, "Effect of sub-zero cooling temperature on the quality of frozen mackerel," in *The Japanese Society of Fisheries Science Autumn Meeting 2019 Program and Abstracts*, 2019, p. 54.
- [19] L. Riedel, "Eine prüfsubstanz fü r gefrierversuche," *Kältetechnik*, vol. 12, pp. 222–225, 1960.
- [20] S. Denys, A. M. Van Loey, M. E. Hendrickx, and P. P. Tobback, "Modeling heat transfer during high-pressure freezing and thawing," *Biotechnol. Prog.*, vol. 13, no. 4, pp. 416–423, 1997.
- [21] B. Tremeac, A. K. Datta, M. Hayert, and A. Le-Bail, "Thermal stresses during freezing of a two-layer food," *Int. J. Refrig.*, vol. 30, no. 6, pp. 958–969, 2007.
- [22] O. Miyawaki, T. Yano, and T. Abe, "Freezing and Ice Structure Formed in Protein Gels," *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 56, no. 6, pp. 953–957, 1992.
- [23] M. T. Kalichevsky-Dong, S. Ablett, P. J. Lillford, and D. Knorr, "Effects of pressure-shift freezing and conventional freezing on model food gels," *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 35, no. 2, pp. 163–172, 2000.
- [24] Y. Tayama, "Research on new high quality freezing method using ultra-low temperatures," Tokyo University of Marine Science and Technology, Bachelor Thesis, 2013.
- [25] T. Tsujioka, T. Mizoguchi, A. Nagaoka, K. Kodama, and H. Iyota, "Remote Measurement System of Heat Environment in Industrial Food Processing Ovens in Wireless Communications-Evaluation of Accuracy and Reliability of Thermocouple Measurement with Delta-Sigma A/D Converters-," 2016.
- [26] J. E. Brennvall, "New techniques for measuring thermal properties and surface heat transfer applied to food freezing," Norwegian University of Science and Technology, Doctor Thesis, 2007.

- [27] Y. Kajihara, "Verification of the effectiveness of pre-cooled freezing," Graduate School of Tokyo University of Marine Science and Technology, Master Thesis, 2018.
- [28] T. Suzuki *et al.*, "Experimental Investigation of Effectiveness of magnetic Field on Food Freezing Process," *Trans. Japan Soc. Refrig. Air Cond. Eng.*, vol. 26, no. 4, pp. 371–386, 2009.
- [29] T. Hamada, "Resistance temperature measurement," in *Temperature Measurement - From Fundamental to applications-*, 2018, p. 150.
- [30] M. Okada, "How to properly measure temperature (3) How to make and use thermocouples," *Climate in Biosphere*, vol. 10, pp. 1–5, 2010.
- [31] K. Kodaira, "Study on the measurement of the ice point," in *The Papers of Technical Meeting on "Instrumentation and Measurement"*, IEE Japan, 2017, no. ii, pp. 1–4.
- [32] NITE, "About JCSS," *International Accreditation Japan (IAJapan)*, 2018. [Online]. Available: <https://www.nite.go.jp/iajapan/jcss/outline/index.html>. [Accessed: 08-Feb-2021].
- [33] Y. Shimiya, H. Fujii, and O. Miyawaki, "Ice Crystal Structure Formed in Agar Gel by One-Dimensional Freezing," in *Proc. of Japan Society of Science and Technology Conference*, 2002, p. 25.
- [34] X. D. Chen and P. Chen, "Freezing of aqueous solution in a simple apparatus designed for measuring freezing point," *Food Res. Int.*, vol. 29, no. 8, pp. 723–729, 1996.
- [35] A. Ozeki, M. Watanabe, and T. Suzuki, "Influence of fish freshness on the freezing process and quality," in *Proceedings of 6th IIR Conference on Sustainability and the Cold Chain*, 2020, vol. 2020-Augus, pp. 610–617.
- [36] IIR, *Recommendations for the processing and handling of frozen food*, 2nd ed. Paris, France, 1971.
- [37] R. A. Long, "Some thermodynamic properties of fish and their effect on the rate of freezing," *J. Sci. Food Agric.*, vol. 6, pp. 621–633, 1955.
- [38] S. KONO, T. TAKAHASHI, and S. SHINOZAKI, "Observation Method for Ice Crystal Morphology in Frozen Fish Meat Using Cryo-adhesive Film," *Trans. Japan Soc. Refrig. Air Cond. Eng.*, vol. 29, no. 1, pp. 53–58, Mar. 2012.
- [39] T. Koumoto and M. Shimizu, "Method for preparing unfixed, undemineralized sections of mature latex hard tissue," *J. Hard Tissue Biol.*, vol. 7, no. 2, pp. 5–12, 1998.
- [40] Y. Sagara and T. Araki, "Development of Three-dimensional Measurement Methods for

- Ice Crystals by Utilizing Micro-slicer Image Processing System,” *Refrigeration*, pp. 137–142, 2008.
- [41] R. Kobayashi and T. Suzuki, “Effect of supercooling accompanying the freezing process on ice crystals and the quality of frozen strawberry tissue,” *Int. J. Refrig.*, vol. 99, pp. 94–100, 2019.
 - [42] Y. Ishikawa, M. Watanabe, and T. Suzuki, “The effect of supercooling-freezing on inhibition of ice recrystallization during storage,” *Proc. 25th IIR Int. Congr. Refrig.*, pp. 3078–3084, 2019.
 - [43] G. T. Hermann, *Image reconstruction from projections*. New York: Academic Press, 1980.
 - [44] Y. Hirano, “Historical Development of X-Ray Computed Tomography for Medical Use,” *Natl. Sci. Museum Technol. Syst. Surv. Rep.*, vol. 12, 2008.
 - [45] V. Vicent, F. T. Ndoeye, P. Verboven, B. Nicolaï, and G. Alvarez, “Effect of dynamic storage temperatures on microstructure of frozen carrot imaged by X-ray Computed Tomography,” in *Proceedings of 25th IIR International Congress of Refrigeration*, 2019, pp. 3125–3132.
 - [46] M. Sato, K. Kajiwara, and N. Sano, “Non-destructive three-dimensional observation of structure of ice grains in frozen food by X-ray computed tomography using synchrotron radiation,” *Japan J. Food Eng.*, vol. 17, no. 3, pp. 83–88, 2016.
 - [47] R. Mousavi, T. Miri, P. W. Cox, and P. J. Fryer, “A Novel Technique for Ice Crystal Visualization in Frozen Solids Using X-Ray Micro-Computed Tomography,” *J. Food Sci.*, vol. 70, no. 7, pp. E437–E442, 2005.
 - [48] Y. Sagara, T. Kameoka, and A. Hosokawa, “Freeze-Drying Characteristics of Beef Using Radiant Heating,” *J. JAPANESE Soc. Agric. Mach.*, vol. 40, no. 4, pp. 547–555, 1979.
 - [49] T. Van Dyck *et al.*, “Characterisation of structural patterns in bread as evaluated by X-ray computer tomography,” *J. Food Eng.*, vol. 123, pp. 67–77, 2014.
 - [50] M. L. Bouxsein, S. K. Boyd, B. A. Christiansen, R. E. Guldberg, K. J. Jepsen, and R. Müller, “Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 25, no. 7, pp. 1468–1486, 2010.
 - [51] K. Matsuzaki, “A survey on coordinate metrology using dimensional X-ray CT,” Tsukuba, Japan, 2016.

- [52] D. Chevalier, A. Le Bail, and M. Ghoul, “Freezing and ice crystals formed in a cylindrical food model: Part I. Freezing at atmospheric pressure,” *J. Food Eng.*, 2000.
- [53] S. V. Patanker, *Numerical Heat Transfer and Fluid Flow*. Morikita, 1980.
- [54] H. Miki, “Study on the optim thawing condition for frozen fish,” *Mem. Fac. Fish. Sci. Kagoshima Univ.*, vol. 33, no. 2, pp. 155–266, 1984.
- [55] R. Pongsawatmanit, O. Miyawaki, and T. Yano, “Measurement of the Thermal Conductivity of Unfrozen and Frozen Food Materials by a Steady State Method with Coaxial Dual-cylinder Apparatus,” *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 57, no. 7, pp. 1072–1076, 1993.
- [56] K. Sugiyama and S. Shibukawa, “Estimating method of heating condition for pan frying,” *Japan J. Thermophys. Prop.*, vol. 12, no. 4, pp. 191–197, 1998.

謝辞

本研究の進行や論文の作成にあたって、指導教員の渡邊学先生には筆舌に尽くしがたいほど終始多大なるご指導を賜りました。また国際学会や投稿論文等、活躍できる舞台を多数用意して頂きました。深く感謝いたしております。

また、冷凍学に関する様々な知識のみならず正確で的確な指摘、指導を頂いた鈴木徹先生にも、謹んでお礼申し上げます。

副査を務めて頂いた萩原知明先生には、氷結晶の再結晶化など多岐にわたる指導をしていただきました。深くお礼申し上げます。

日本大学 生物資源科学部食品生命学科 助手の小林りか先生には X 線 CT による氷結晶観察のご指導を賜りました。深くお礼申し上げます。

研究室生活を送るにあたり、日々、切磋琢磨し合えた同期の皆様には多くの助言や激励をいただきましたことを心より感謝いたします。また、後輩の皆様には研究室のムードメーカーとしてだけでなく、時に研究者として同じ土俵に立ち教えられる場面もあるなど、大変お世話になりました。これからも頑張ってください。

これまでお世話になりました食品冷凍学研究室の皆様には心より感謝いたします。