

SPring-8利用推進協議会 第16回ヘルスケア研究会

冷凍果実・野菜内部氷結晶像の直接 観察の試み

○小林りか¹，佐藤眞直²，鈴木 徹¹

¹ 東京海洋大学大学院 海洋科学技術研究科

² (公財) 高輝度光科学研究センター

はじめに

食品冷凍技術？冷凍食品？



冷凍えだまめ

Ready to eat
食品



冷凍マグロ

家庭または業務用
調理食材



冷凍すり身

加工食品製造用素材



FDコーヒー

フリーズドライ
製品

食品冷凍に関する研究？

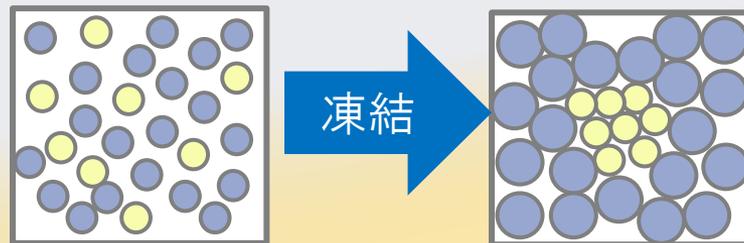
☆品質劣化メカニズムの解明・劣化進行挙動の把握
→高品質保持技術の開発・理論的裏付け

食品冷凍の品質劣化

テクスチャー（食感）変化・保水力低下・色調変化・呈味成分・脂質酸化
＝物理的損傷＋化学的損傷

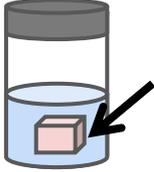
氷結晶生成によるストレス
浸透圧脱水によるストレス

凍結濃縮による
各種反応速度の上昇

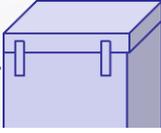


古典的かつ汎用的な手法・・・氷結晶標本の作製＋顕微鏡観察

● 化学固定による観察標本作成



固定液（ホルマリン・酢酸・エタノールなど）
＋脱水液（エタノール）



-20° C下
一ヶ月低温固定

光学顕微鏡観察
電子顕微鏡観察

△ 野菜組織では透過性が低く固定困難？細胞の中身すべてが流れ出てしまう？

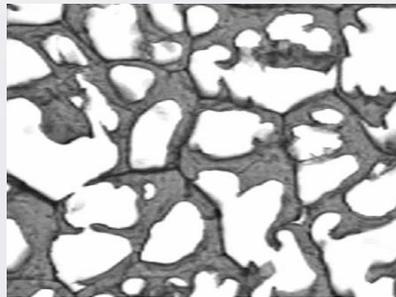
● フリーズドライによる観察標本作成

マイナス温度でのガラス転移温度以下 (T_g' 以下) で真空凍結乾燥

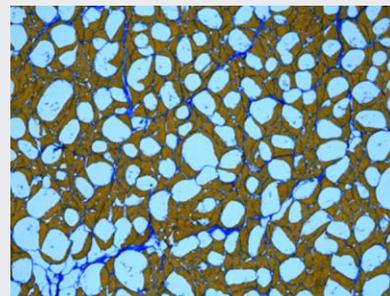


光学顕微鏡観察
電子顕微鏡観察

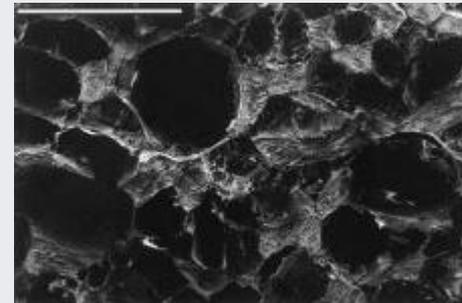
△ 一部の野菜については報告有



スズキ中の氷結晶
光学顕微鏡写真²⁾



サーモン中の氷結晶
光学顕微鏡写真³⁾



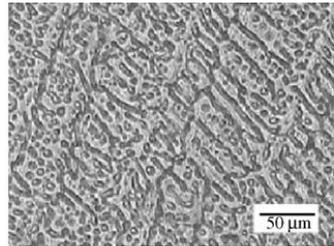
SEM写真 豚肉中の氷結晶⁴⁾

・ コールドステージ上での観察

薄切片での観察→実際の系を再現できているか疑問？

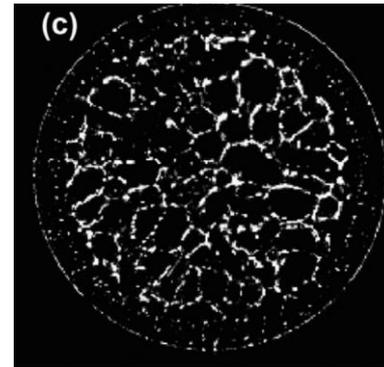


グリーンピース内
氷結晶



Haiying, W. et al (2007). LWT - Food Science and Technology, 40(6), pp.1112-1116.

・ MRI 非破壊で測定可能



- ・ 塩溶液中の氷結晶像を捉える
- ・ AFPによる再結晶化阻害のその場観察に成功

撮像温度：-13.5℃, 空間分解能：55μm
スライス厚み500μm,
撮像時間間隔 500h～1000h

○その場観察可能

△解像度が低い・サンプルを選ぶ

Jennifer R. Brown, et al (2012), Journal of Magnetic Resonance 225 pp.17-24

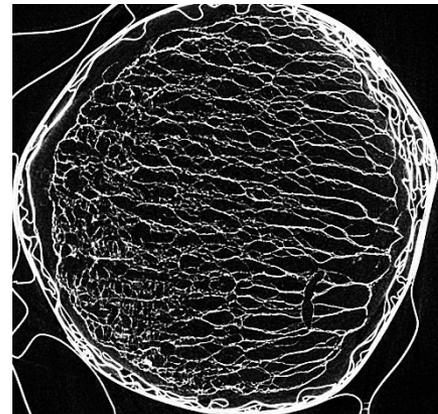
Jennifer R. Brown et al., (2014), Biotechnology Reports 3 pp.60-64

・ ラボ機X線CT

にんじん内氷結晶FD固定後 実験機 CT画像
本研究室DATA



○広い視野範囲での形態確認可能, 喫食するサイズで測定可能
×置換が必要な場合がほとんど→経時的観察不可能、サンプルを選ぶ



・ 真空凍結乾燥による物理的固定

△ 細かい氷結晶構造が分らない
もともと存在する空隙構造との区別？

氷結晶のその場成長観察

➡ マグロおよび豆腐内の氷結晶の直接観察に成功
(佐藤氏ら (JASRI) SPring-8課題番号2013B1847)

放射光X線CT 高輝度単色X線の利用

X線吸収コントラストが向上する

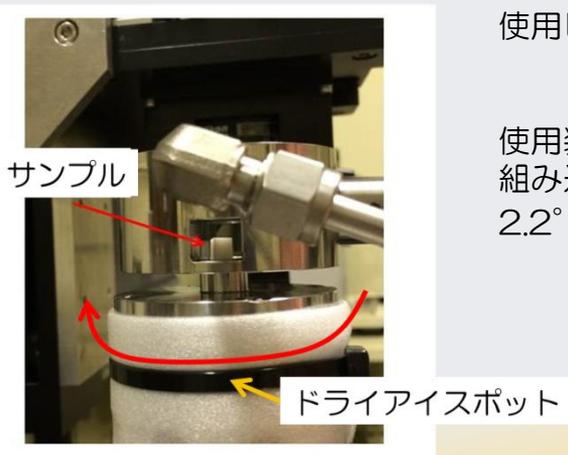
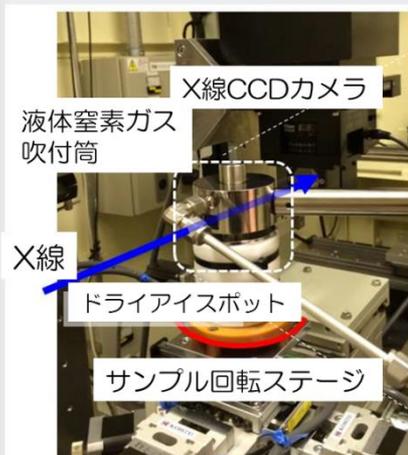


水を主に含む組織部分と
氷の密度差を捉えられる

目的

放射光X線Compute Tomography を利用して氷結晶観察の難しい野菜・果実内の氷結晶その場観察を試みる

ビームライン内装置



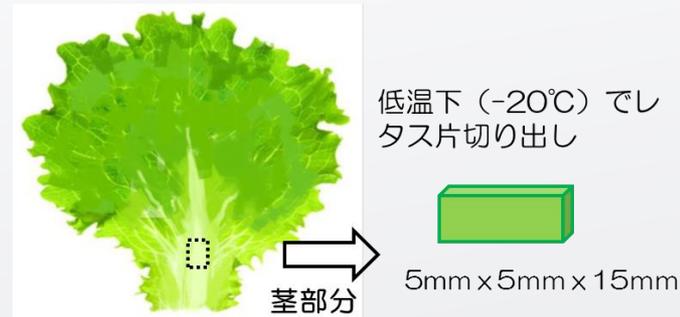
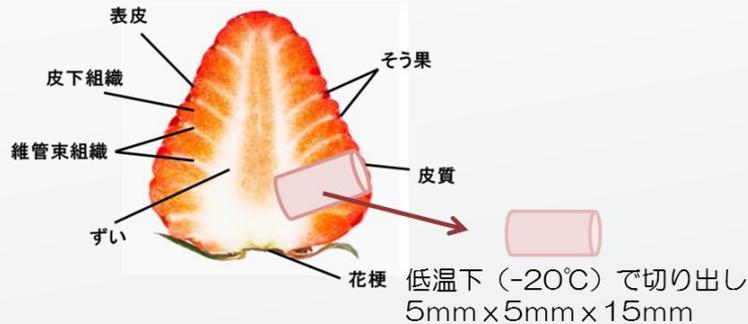
使用ビームライン：BL19B2 (SPring-8)
X線エネルギー12.4KeV

使用装置：X線CT装置 (凍結試料用液体窒素吹付装置を組み込み済), X線ミラー角 4mrad, サンプル回転速度 2.2° /s カメラ長 500mm (屈折コントラスト)



X線CT法を用いた氷結晶直接観察

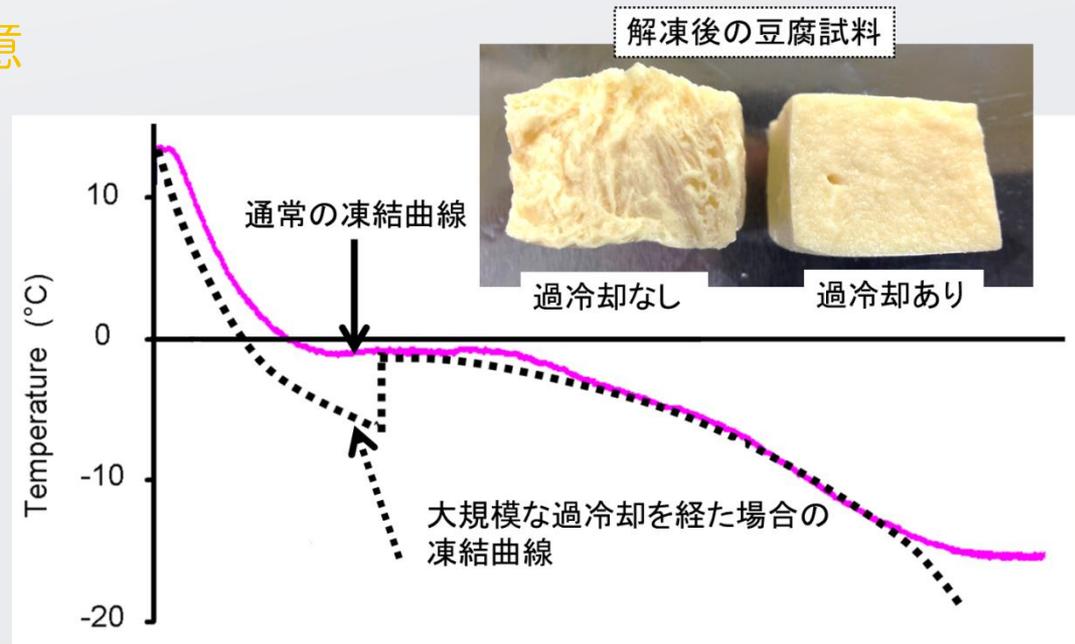
試料 ・凍結イチゴ試料片 ・凍結リーフレタス試料片



凍結手法が異なる試料を用意

☆通常緩慢凍結試料
→氷結晶が 比較的大きい

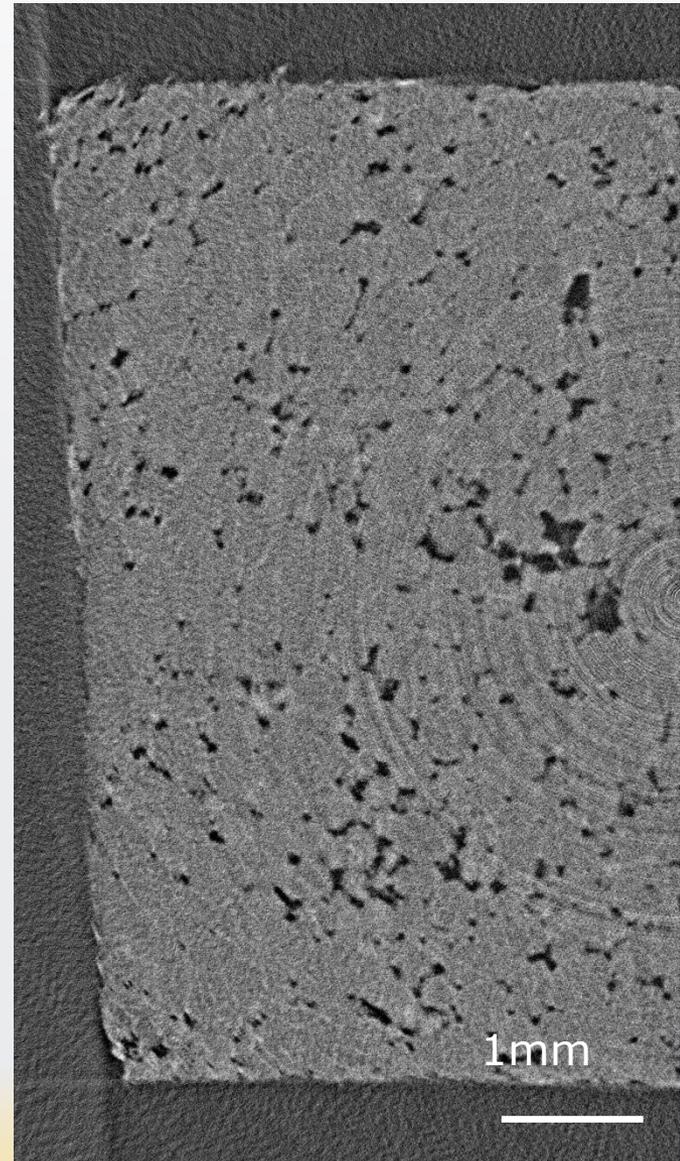
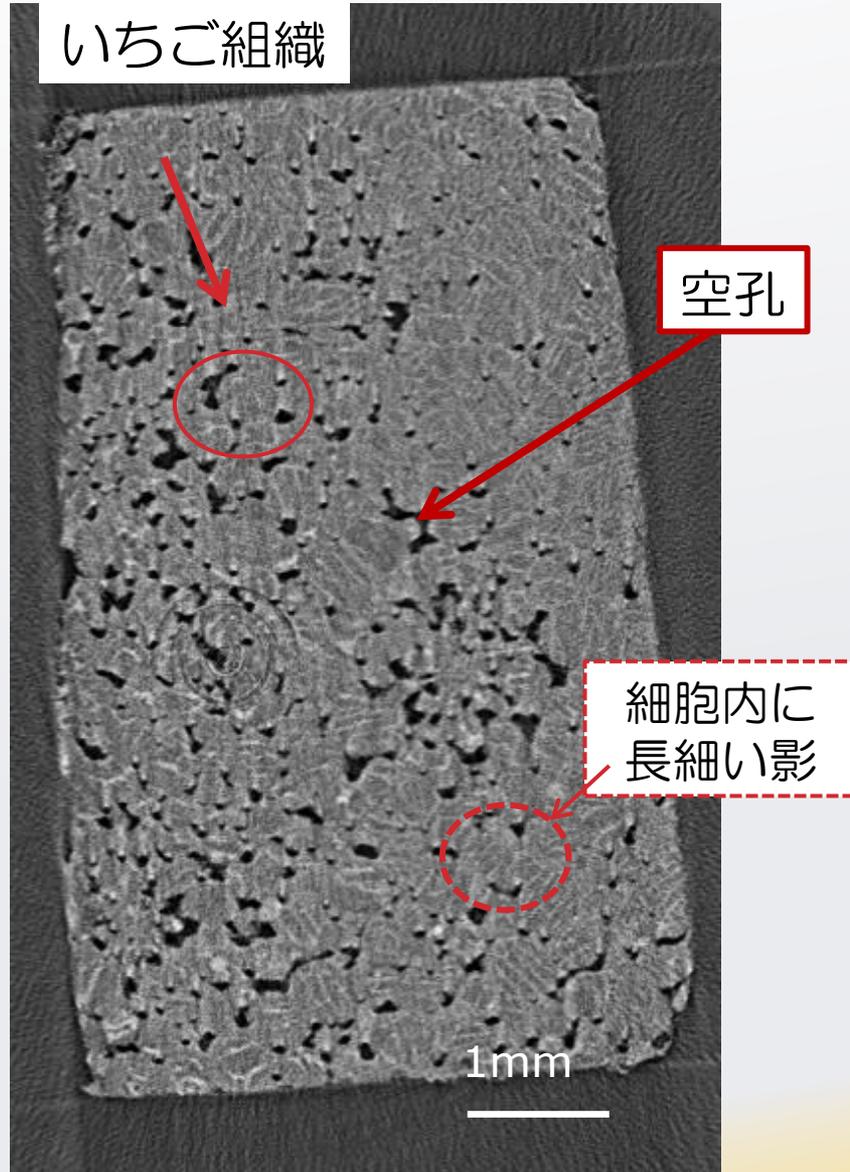
☆過冷却凍結試料
→氷結晶が 比較的小さい



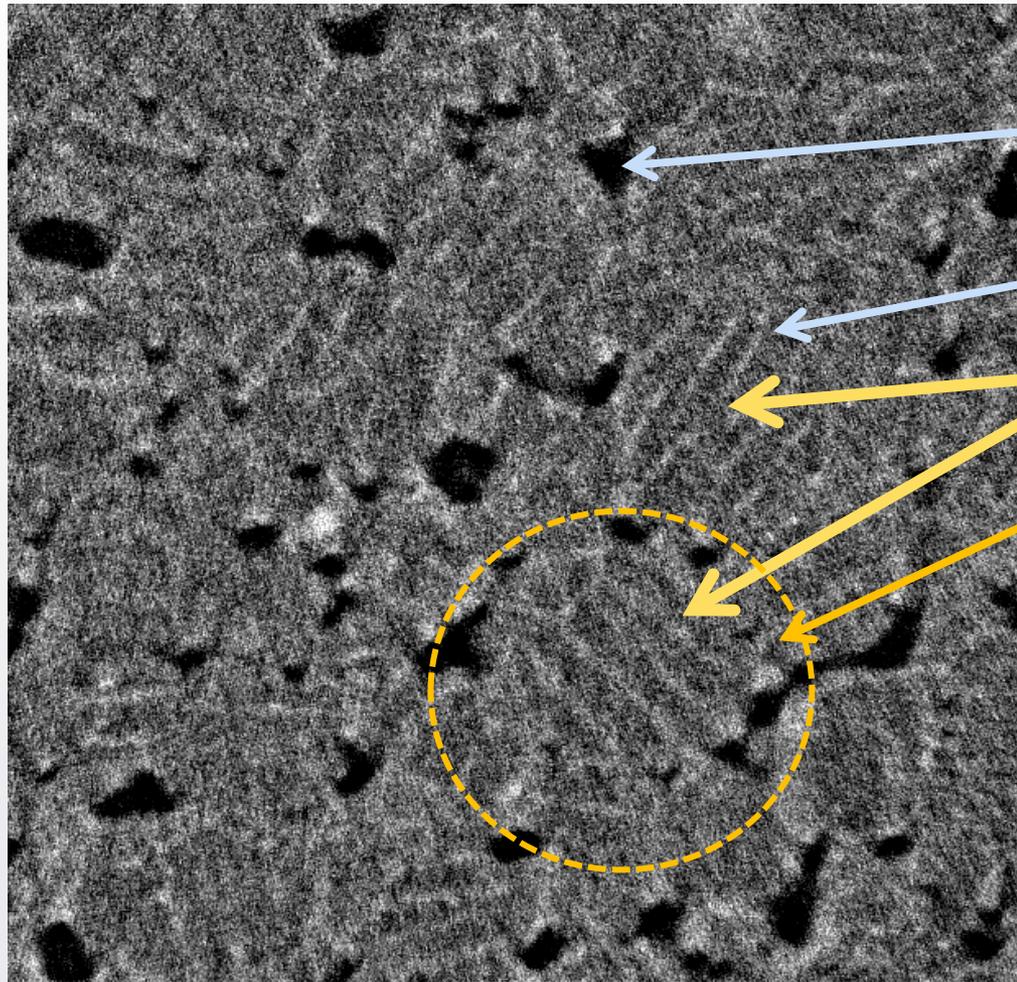
結果 イチゴ

緩慢凍結

過冷却凍結



結果 イチゴ（緩慢凍結）拡大画像



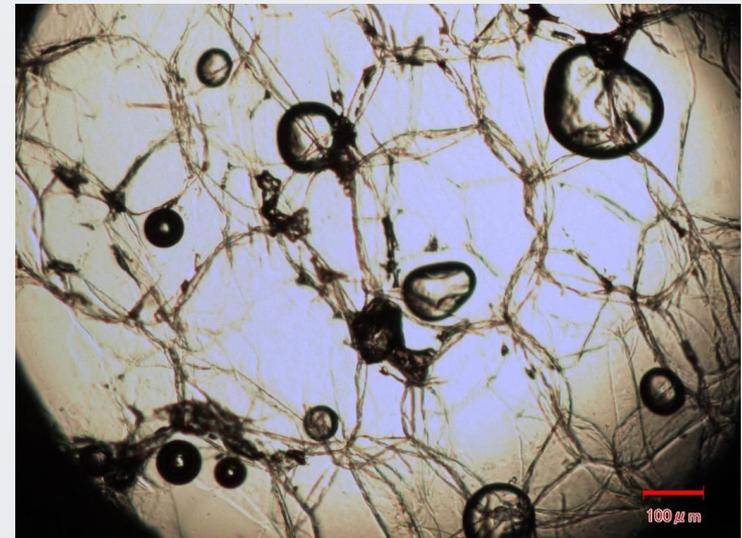
空隙

濃縮部分

氷結晶

いちご細胞

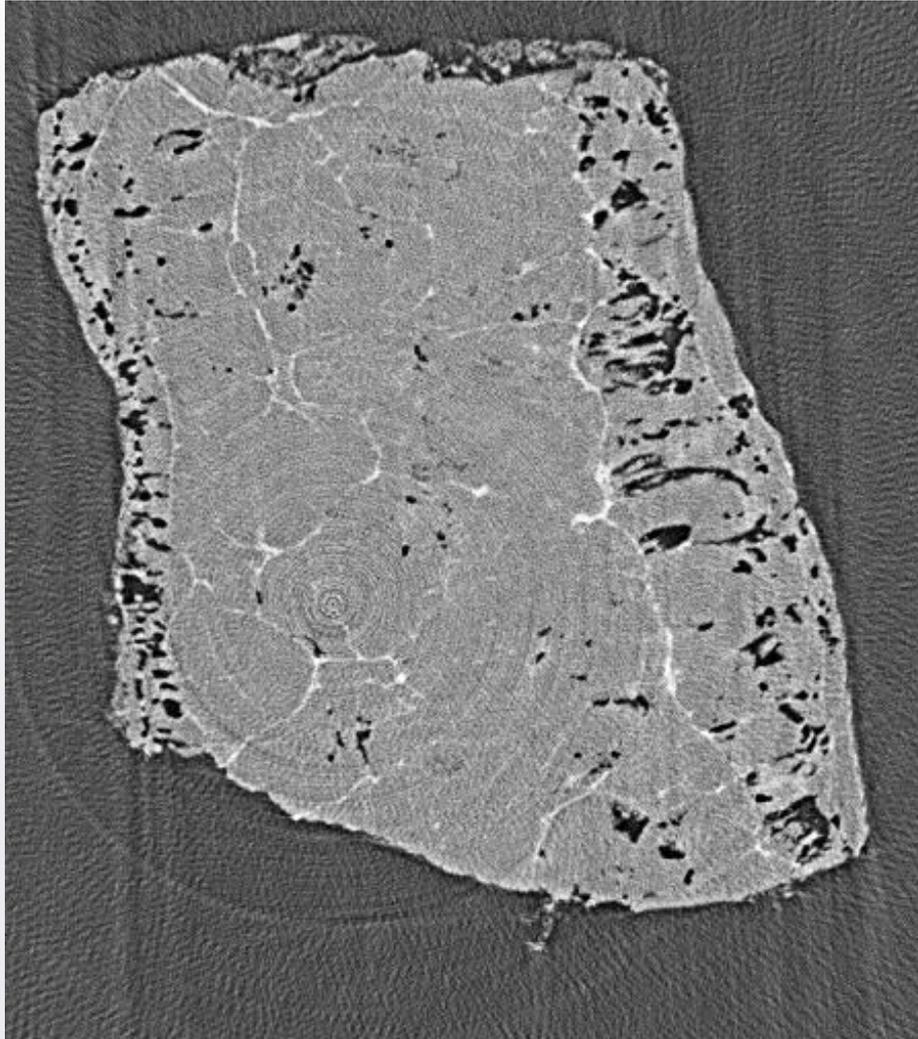
細胞内に氷結晶が生成している様子を確認できた



参考 未凍結いちご皮質の細胞写真

結果 リーフレタス（緩慢凍結）

緩慢凍結レタス



緩慢凍結レタス拡大図



緩慢凍結試料でさえはっきりとした氷結晶像は確認できなかった

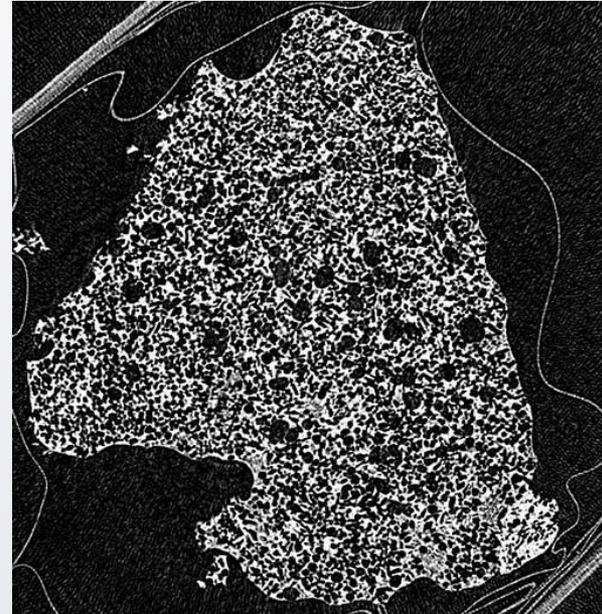
気泡・氷・油脂・糖溶液の混合物

アイスクリーム組織
FD固定後実験機 CT画像

→特に気泡と氷結晶の区別困難



放射光X線CTで観察を試みる



試料

カップアイスクリーム



ストローに充填

-20℃, 1週間保存
(コントロール)

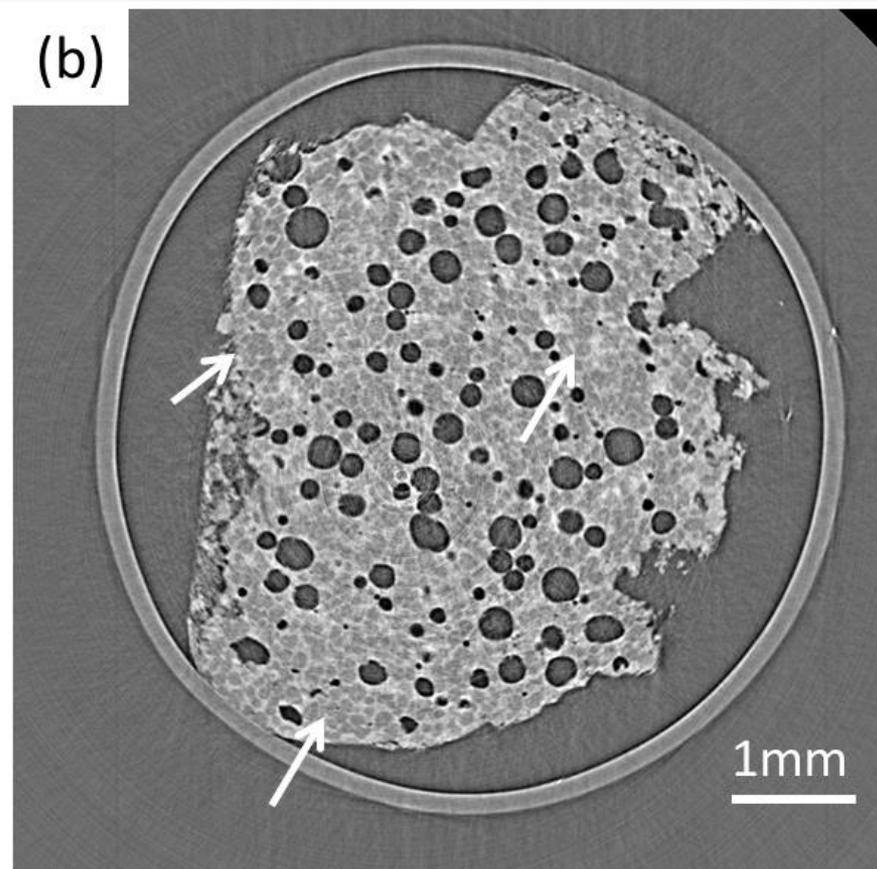
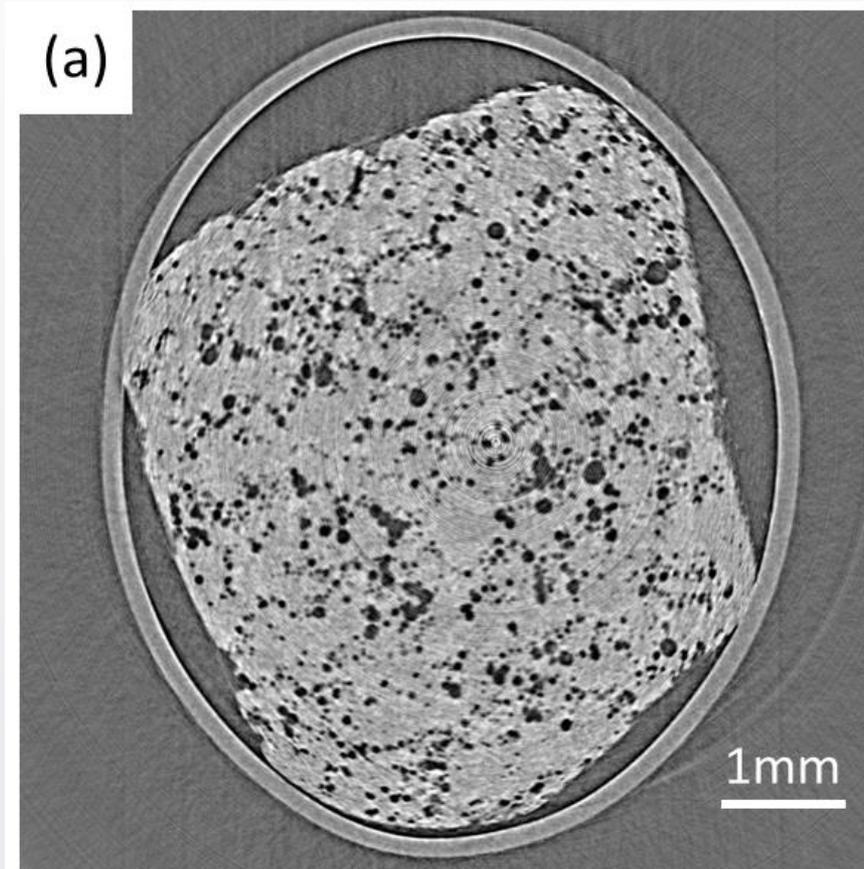
-8℃, 1週間保存
(加速劣化試験あり)

結果 アイスクリーム中の氷結晶観察

10/12

加速劣化試験なし

加速劣化試験あり

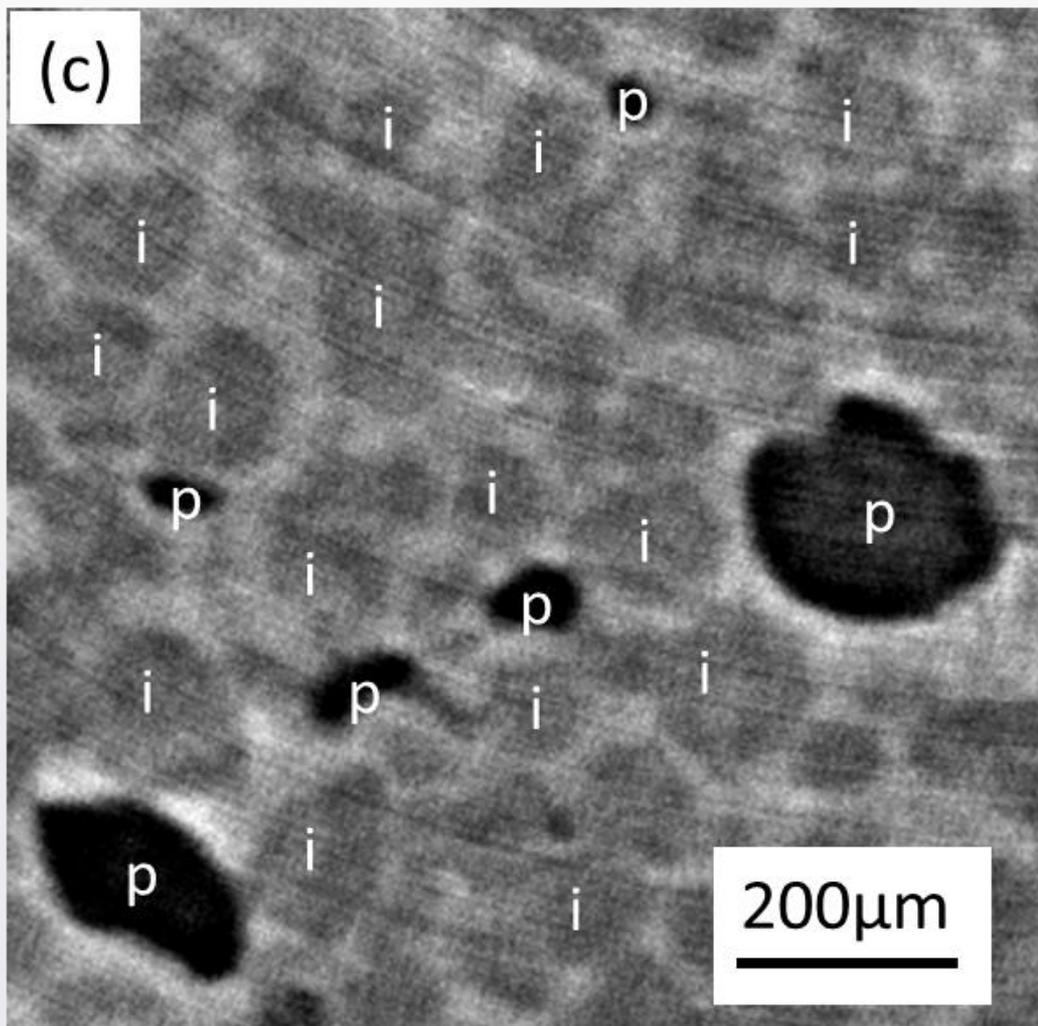


気泡のみ確認

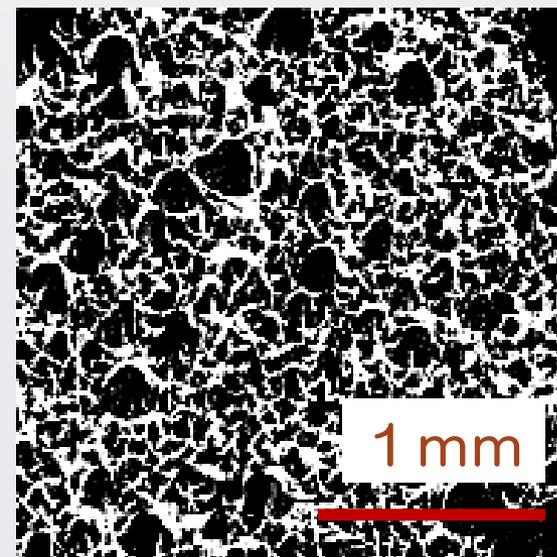
気泡部分以外に
コントラスト確認→氷か？

結果 アイスクリーム画像（加速劣化試験後） 拡大図

11/12



低輝度 B:気泡
↑
↓
高輝度 I:氷結晶
C:凍結濃縮層



参考写真 卓上X線CTで撮像した
アイスクリーム組織
(凍結乾燥後)

- ◆ シンクロトロンX線CTを利用し、イチゴ果皮およびアイスクリーム中の氷結晶その場観察に成功した
- ◆ 気泡・氷結晶・凍結濃縮層・細胞構造など多くの構造情報が同時に得られた
- ◆ 今回の画像ではイチゴ果皮中の氷結晶は細胞内のみに生成していた

今後の展望

- ◆ その場観察の利点を利用し、食品内での氷結晶の核生成およびそこに続く氷核成長挙動の経時観察に応用する
- ◆ 単色光を利用することで得られる、アーキファクトの少ないX線吸収係数情報を利用し、凍結濃縮層における脂質層・分布や密度分布を定量する