

冷凍食品内氷結晶性状の3次元計測

相 良 泰 行 ， 都 甲 洸

Sagara Yasuyuki, Gab-Soo Do

東京大学大学院農学生命科学研究科

1. はじめに

一般に食品は多様な物質を含む多成分不均質系として存在しているが、「水」は大部分の食品に共通して含まれる主要成分の一つである。食品の凍結はその中に含まれる水の相変化現象であり、凍結に伴って氷結晶が形成される。凍結により形成される氷結晶のサイズ、形状および分布などは冷凍食品の品質、特に、解凍または調理後のテクスチャーに大きな影響を及ぼすことが知られている。したがって、凍結条件の変化に伴う氷結晶形成の動態を定量的に把握し、これを制御する凍結操作法を確立することは冷凍食品の品質を設計する上で重要となる。このために、材料内の氷結晶を定量的に計測することが望まれている。

本稿では、「マイクロスライサ画像処理システム」により、冷凍食品内に生成される氷結晶を3次元的に観察・計測する方法について紹介する。

2. マイクロスライサ画像処理システム

2.1 システム構成と機能

本研究用に試作したマイクロスライサ画像処理システムのブロック図を図1に示す。後で述べるように、本システムの特徴は包埋固定した試料を回転刃で連続的に切削、すなわちマルチスライシングして、試料断面を露出させる断面像作成装置①にある。露出した2次元断面像は断面画像取込装置②により、各種の顕微鏡を介してCCDカラーカメラで撮像され、画像記録装置③（レーザーディスク）に収録される。これらの原画像はワークステーションとしての機能を有する3次元画像構築装置④により、3次元画像に再構築される。ま

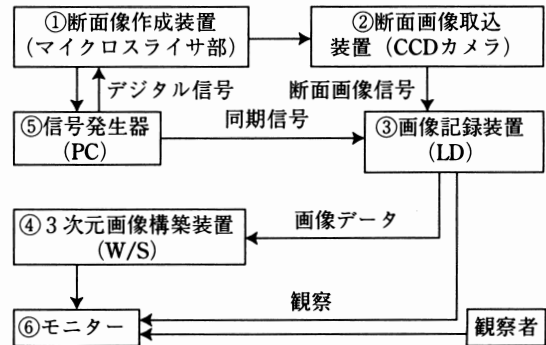


図1 マイクロスライサ画像処理システムのブロック図

た、実際には切断していない任意の試料断面画像を表示するなどの画像処理が可能である。

上記装置①のスライスと③の記録タイミングを同期させるための信号発生器⑤として、マイクロコンピュータを使用している。この他に、②で撮像中の画像や③に収録された原画像、さらに④で得られた再構築画像を観察者に表示するためのモニター⑥が付属している。

2.2 スライサ部の機能

本システムの特徴はマイクロスライサ部における切削・撮像方式にある。すなわち、通常の顕微鏡観察などで行われるように、試料から切り取った切片を観察する方法を採らず、マルチスライシングして得られる試料自体の露出断面像を順次撮像する方式を採用した点にある。この方式の採用により試料の変形を少なくし、また、固定試料の作成にも熟練を要しない等の利点が見られる。さらに、切削するサンプルの大きさによって小型 ($\phi 4 \times 20\text{mm}$) と大型 ($59 \times 46 \times 100\text{mm}$) の2種類のシステムを試作したが、本稿では氷結晶の計測に用いている小型のスライサ部について解説す

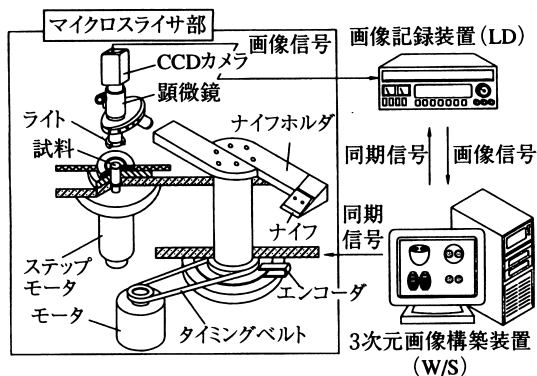


図2 マイクロスライサ画像処理システム

る。

図2のマイクロスライサ部に示すように、試料はステップモータで駆動する一軸ステージで間欠的に押し上げ、その上端を連続的に切削する。切削用ナイフは試料硬度によりマイクローム、ダイヤモンドバイト、ガラスナイフなどが選択可能であるが、生体や食品の切削にはマイクロームを使用する。切削用ナイフは60rpmで回転するスピンドル先端部に装備したナイフホルダの先端部分に取り付ける。また、スピンドルはモータとタイミングベルトにより駆動する機構となっている。この機構による試料の最小切削厚さは押し上げストローク22mmに対し1 μ mである。

試料の押し上げと断面画像の記録のタイミングは回転刃の主軸に取り付けたエンコーダからのトリガ信号により制御する。試料断面像は光学あるいは蛍光顕微鏡とCCDカメラおよび超長焦点距離の対物レンズを用い、倍率100倍までの観察が可能である。また、切削中の試料の融解を防止するため、マイクロスライス部の外周部に設けたジャケットにブラインを循環させることにより試料の温度を-40℃に維持可能である。

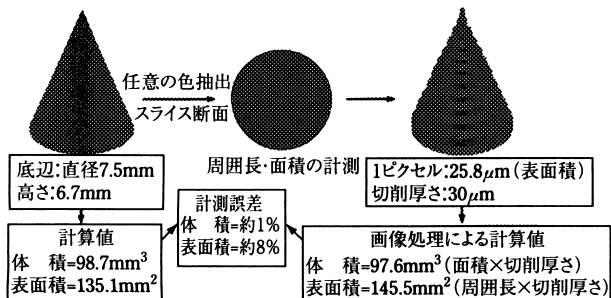


図3 計測法の手順と体積・表面積の測定誤差

2.3 画像処理法とシステムの測定精度

記録したアナログ画像データはビデオ入力ボードを介してワークステーションに送り、デジタルデータに変換後、光磁気ディスクに記録し、これを画像処理に供する。図3に画像処理により円錐試料の表面積と体積を求める手順を概念図として示した。本システム自体の表面積と体積の大まかな測定誤差はそれぞれ8%および1%である。

3. 供試試料および方法

3.1 試料の準備

本稿では供試試料として生牛肉と寒天希薄溶液を用いた計測例を紹介する。生牛肉の試料は牛肉ブロックから筋繊維の方向に沿って切り出し、これを濃度10 μ mの蛍光試薬 (CellTracker™Blue CMF₂ HC, Molecular Probes) 溶液に浸漬して染色した。この試料を凍結した後、厚さ20 μ molで切削し、蛍光顕微鏡により観察した。生牛肉細胞内に取り込まれた蛍光性のクロロメチル誘導体はたん白質と結合し蛍光標識体を形成する。これにより牛肉組織と凍結によって生成される氷結晶の識別が可能となった。

他方、純水の中に形成される氷結晶の性状を計測することを目的とし、蒸留水に蛍光試薬であるRhodamineB (和光純薬工業, C₂₈H₃₁ClN₂O₃, 励起波長510nm~550nm, 蛍光波長590nm) を0.1wt%添加して氷結晶観察の可能性を検討した。

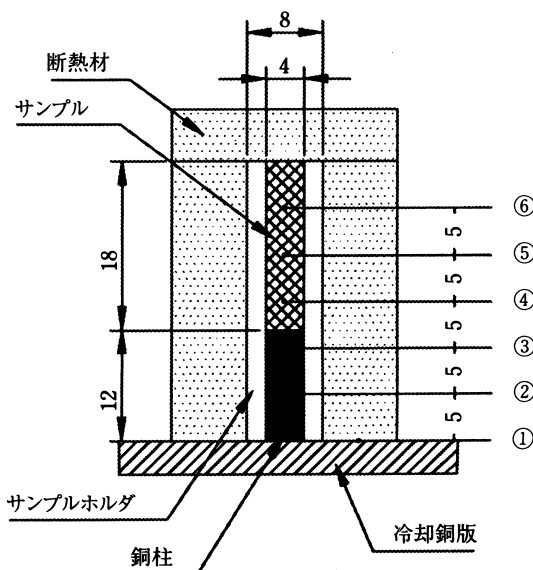


図4 サンプルホルダおよび温度測定箇所

その結果、氷結晶の観察は可能となったが、それらのサイズ・形状を画像処理により計測可能な程度の識別は困難であることが分かった。そこで粉末寒天を添加して濃度1%に調整し、これを供試材料として採用した。

3.2 計測法

図4にパラフィン製の円筒形サンプルホルダ(φ4×15mm)に収納した試料の固定状態と温度分布測定箇所を示す。また、凍結中の試料底面における熱流速を計測するために、試料底部に銅柱を挿入し、さらにサンプルホルダの外周囲を発泡スチロールで断熱した。また、サンプルホルダ下部から5mm間隔で熱電対を挿入し、凍結プロセスにおける温度分布の経時変化を測定した。

試料の凍結は、液体窒素ガスを冷媒とするプログラムフリーザ槽の上面部に設けた冷却銅板上にサンプルホルダ底面を接触させて行った。冷却銅板の表面温度は、室温から-190℃の範囲で一定値に制御可能である。凍結食品中に生成する氷結晶の性状は凍結速度に依存して変化することが知られている。そこで、凍結曲線が最大氷結晶生成滞を通過する時間に基づき凍結速度を算出し、凍結温度・速度と氷結晶性状との関係を定量的に検討することを可能とした。

4. 結果および考察

4.1 凍結生牛肉中の氷結晶観察

図5に生牛肉試料を底面温度-120℃で凍結した試料の冷却特性と温度測定箇所④の断面画像を示す。また、図6に同じ温度測定箇所を中心に厚さ1mm(上下0.5mm)の範囲における断面画像から再構築した3次元画像を示す。この図の断面画像は再構築した3次元像における上部、中心部、下部に相当する。試料下部では細胞内に単体として球形の氷結晶が形成され、その直径は10~20μmである。中心部では細胞の形状が消失し、氷結晶のサイズは直径30μm程度であり、上部では直径50μm程度の氷結晶が筋繊維を取り囲むように生成し、全体として網状構造となっていることが観察された。

これらの図に示すように、凍結により生成される氷結晶のサイズ、分布、構造は冷却速度に影響されることを確認した。すなわち、従来指摘されてきた「緩慢凍結において氷結晶は細胞外に生成

し、その大きさは細胞内の水分を吸収して大きくなり、急速凍結では氷結晶が細胞内に生成し、その大きさは小さくなる」という定説が定量的に裏付けられた。

試料の3次元構築画像より、いずれの設定温度条件でも氷結晶は筋繊維の方向に沿って生成し、氷柱を形成していることが分かった。また、筋繊維にゆがみや屈折が存在すると、氷柱は筋繊維の方向に沿いながらも、組織を押し分けながら上方へ成長する傾向が観られた。しかし、凍結温度が低くなるに伴って細胞内に球状の氷結晶が形成され、氷柱サイズおよび氷柱高さが小さくなる傾向が観察された。これは凍結速度の向上によって氷結晶のサイズが小さくなるため、氷柱形成能力が組織に対し相対的に弱くなり、氷結晶が垂直方向へ連なって氷柱を形成してゆく能力、すなわち、

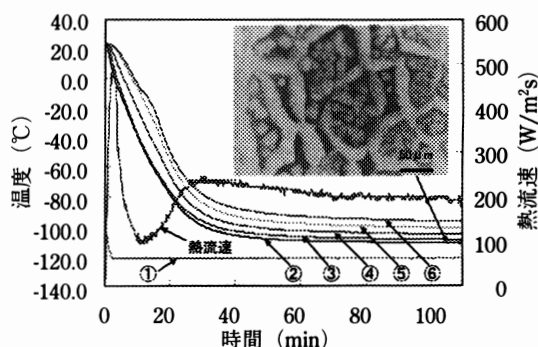


図5 生牛肉の冷却特性と試料断面氷結晶画像(凍結温度:-120℃)

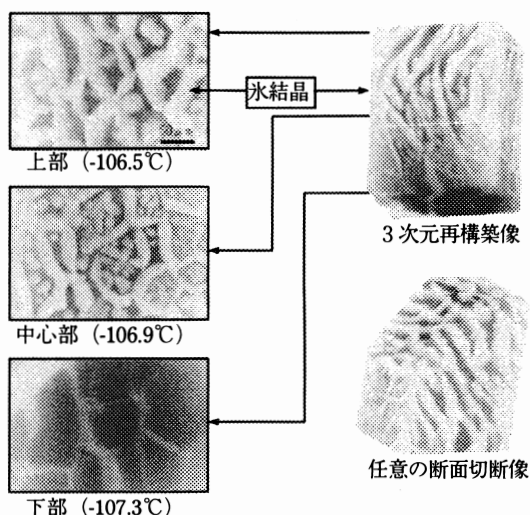


図6 生牛肉試料の氷結晶断面および3次元再構築画像(凍結温度:-120℃)

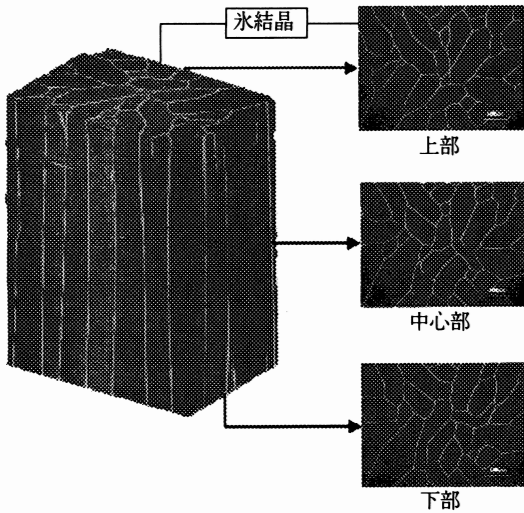


図7 寒天希薄溶液の水結晶3次元再構築像(凍結温度: -120°C , 冷却面より8mm)

氷柱形成能力が低下し、その連続柱が失われるためであると考えられた。

4.2 寒天希薄溶液中の水結晶観察

図7に -120°C で凍結した試料の底面から8mmの部位の水結晶断面および3次元構築画像を示す。これらの画像では、水結晶の形成により凍結濃縮されたRhodamineBの蛍光部位が白く、また水結晶が黒く表示されている。試料中心部と上部の温度測定箇所においてもこれと同様の画像が得られており、牛肉に比べて氷柱が連続的に形成され、その断面サイズは凍結速度の増大に伴って小さくなることが確認された。

また、画像処理により水結晶断面の面積に等しい相当円直径および長短径が容易に計測可能である。その結果、水結晶サイズは凍結速度に依存して指数関数的に減少し、相当円直径は凍結温度 -20°C ～ -80°C の範囲において凍結速度依存性が大きく、凍結速度が $150^{\circ}\text{C}/\text{h}$ 以上になるとサイズの変動が小さくなることが分かった。さらに、水結晶の断面形状の凍結速度依存性は低いことが定量的に明らかになった。

5. おわりに

食品の凍結プロセスにおいて材料内に形成される水結晶を立体的に観察し、さらに水結晶の構造、サイズおよびその材料内分布などについて定量的

に計測する方法を開発した。この方法の特色は供試材料を蛍光染色し、連続的にスライスした試料の露出断面を蛍光顕微鏡を介して撮像することによって、水結晶の性状を3次元的に計測する方法を考案した点にある。

今後、この計測システムは凍結および凍結濃縮プロセスにおける水結晶生成メカニズムの解明、冷凍食品の品質や解凍後の品質評価、さらには生体組織や血液の活性維持などのための最適凍結法の研究開発ツールとしての有効利用が期待される。

謝辞

本研究は日本学術振興会外国人特別研究院のGab-Soo, DOの課題(課題番号P00199)の一部であり、文部省科学研究費の補助を受けた成果である。ここに感謝の意を示す。



さがら・やすゆき

東京大学大学院農学生命科学研究科農学国際専攻(助教授)

1972年 東京大学大学院農学系研究科博士課程中退、東京大学農学部助手に採用

1985年 同上講師昇任

1997年 現職に昇任一現在に至る

○論文:食品の冷凍・凍結乾燥・食品感性工学分野

○著書:食の先端科学,食品感性工学(朝倉書店)



と・かぶ・すー

東京大学大学院農学生命科学研究科日本学術振興会外国人特別研究員

1991年 韓国,順天大学農業機械学科卒業

1999年 日本大学大学院農学研究科農業工学専攻博士課程修了

2000年 日本学術振興会外国人特別研究員,現在に至る

○マイクロスライサ画像処理システムによるブロッコリーの表面積および体積の計測,農業施設,28(1),p21-29,1997

○Application of 3D-Microslicing Image Processing System in Rice Quality Evaluation.Transactions of the CSAE,17(3),pp.92-95,2001