

総説

野菜冷凍時の細胞傷害とドリップ生成

福田 満

Key Words : 野菜, 冷凍, 氷結晶, 細胞傷害, ドリップ

武庫川女子大学栄養科学研究所
〒663-8558 兵庫県西宮市池開町 6-46
TEL: 0798-45-9879
E-mail: senjuoka@mukogawa-u.ac.jp

総説

野菜冷凍時の細胞傷害とドリップ生成

福田 満

要旨

最近の食生活では冷凍食品は不可欠な存在になっている。国内で生産される冷凍食品の大部分は調理食品であるが、農産物や水産物も冷凍食品として役立っている。最近では野菜冷凍食品の生産量が増え、輸入される野菜冷凍食品の量も増えている。しかしながら、大部分の野菜では90%以上が水分であるため、冷凍処理過程で生成した氷結晶が細胞を傷害し、解凍後に大量のドリップを生成して野菜の品質を低下させるというデメリットを生じる。そのため、野菜の種類によって冷凍に不適なものも多く認められる。野菜冷凍時の細胞内氷結晶の成長を抑制すれば、ドリップ量の増加を防ぎ食品テクスチャの低下を抑制することが可能である。本総説では、野菜の冷凍条件が細胞内の氷結晶と解凍時のドリップ量に及ぼす影響について紹介する。野菜の種類によって細胞内氷結晶の形状が異なり、細胞質氷核成分が氷結晶成長に影響する可能性も示した。細胞内凍結状態およびドリップ量の差異は、野菜の細胞質成分と冷却速度が関係することを述べ、ドリップ量と細胞内氷結晶の間に密接な関係が存在することを解説した。

Key Words : 野菜, 冷凍, 氷結晶, 細胞傷害, ドリップ

1. はじめに

最近では食生活において市販の冷凍食品は必需品となっている。日本冷凍食品協会の調査によると、平成25年の冷凍食品の国内生産量が1,550万トン（対前年比105%）であり、平成22年から4年間連続増加した。肉食志向の強まりや企業の製品開発努力などもあり、家庭用冷凍食品の消費が大幅に増え、業務用冷凍食品の需要も増加したことが要因となっている。平成25年度では業務用冷凍食品は、生産量が919万トン（対前年比103%）で3年連続増加した。一方、家庭用冷凍食品は、生産量が630万トン（対前年比108%）で、4年連続して増加し、業務用

も家庭用も過去最高となった。業務用と家庭用の生産量の比率は、それぞれが59%と41%（前年度61%、39%）と家庭用が4割を上回り、家庭用の比率が高まった。このように冷凍食品市場の拡大が認められる。冷凍食品の品目別生産量では、平成25年に調理食品が最も多く約100万トンとなり国内生産量の86%を占めていた。次に農産物が約25万トンで、さらに水産物、菓子類、畜産物が続いた。財務省貿易統計による25年のわが国の冷凍野菜輸入量は92万トンであり、国内生産量をはるかに上回っていた。輸入が増加した主な品目としては、ほうれん草、さといもなどであった。このように冷凍野菜の需要

は増加している。しかしながら、冷凍野菜には問題点が残っている。大部分の野菜は90%以上が水分であるため、冷凍処理によって生成した氷結晶が細胞の組織構造を損傷して冷凍傷害を与え、解凍後に大量のドロップを生成して食品を軟化させ品質を低下させる。冷凍傷害を防止すれば、解凍後の組織軟化を抑制し野菜の冷凍による長期保存が可能になる。本総説では、冷凍野菜の品質向上を目的として野菜冷凍時の細胞内氷結晶による冷凍傷害と解凍後のドロップ量との関係を中心に解説する。

2. 細胞の凍結

氷点下の低温に生物を移すと生体内の水分は凍結する。生体内の水分凍結では、多様な物質を溶解した水溶液から水の分子だけを結晶化する。そのため、氷結晶生成時に生物は物理的ストレスを受けると共に、氷結晶の形成・成長過程で水の濃縮による化学的ストレスも受け、細胞は多大なダメージを受ける。また、氷結晶の生成速度は冷凍庫の冷却速度の影響を受け、緩慢な凍結は細胞の原形質膜を傷害する¹⁻⁴⁾。特に水分の多い植物組織では大きなダメージを受ける⁵⁻⁷⁾。このような凍結による原形質膜傷害が植物性食品の解凍後のドロップ生成として細胞内液が漏出する原因になると考えられる。

3. 植物性食品の凍結速度と氷結晶のサイズ・形状

食品の凍結は基本的には水の液相から固相への相変化現象である。そのため、凍結により食品内部に形成される氷結晶性状の動態は凍結食品の品質を判断する上で重要な因子になる。上野らは⁸⁾氷結晶サ

イズが冷却速度に比例すると述べている。

図1にクライオSEM（冷凍装置付属走査型電子顕微鏡）によって観察したリンゴとタマネギの凍結細胞を示した。このSEM観察像では白い部分が細胞質の有機質であり黒く見える空間が水の昇華した部分である。したがって黒い部分が氷結晶の形状を示す。図1のクライオSEM観察結果はSanchezらの植物細胞観察像^{9,10)}と同様の凍結細胞の氷結晶形状を示した。細胞内の氷結晶は2次的には長方形に観察されるので、3次的には一辺5-15 μ m程度の微小な直方体を形成していると考えられる。上野らは⁸⁾寒天を凍結した場合、氷結晶の長径は100 μ mと報告しているが、図1に示すように、著者が行った凍結リンゴの観察では約5 μ m、凍結タマネギでは約15 μ mとなり寒天よりさらに微小な部分であった。この差異は細胞質中の溶質の種類や濃度によるものと推定される。成熟した植物細胞は糖質に富むため、単糖やオリゴ糖が結晶生成に関与している可能性が高い。宮崎は^{11,12)}食品の凍結では氷核生成物質が不均一であり、氷結晶構造に影響すると推定しているため、リンゴとタマネギの氷結晶構造の違いは氷核生成物質の種類や量に起因すると考えられる。

4. 氷結晶と細胞傷害

急速冷凍時の庫内温度と試料温度の変化は図2に示すように、冷凍庫内温度低下に比べて試料の内部温度の低下はかなり遅れた。

食品を冷却すると、食品組織内部の水の分子運動は緩慢になる。水が凍結する時の温度帯は重要な要素であり、-1 $^{\circ}$ Cから-5 $^{\circ}$ Cが最大氷結晶生成帯と言

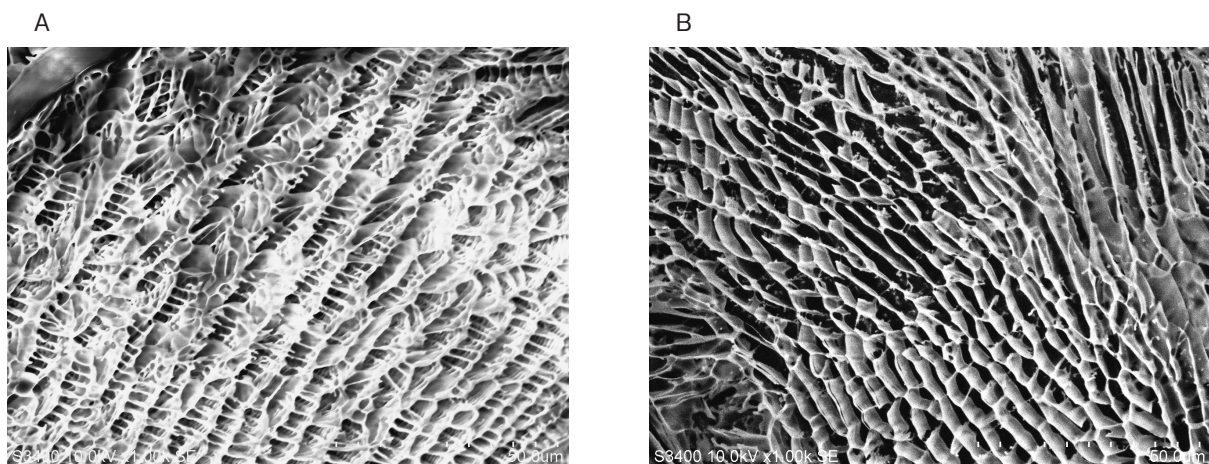


図1. 細胞質の氷結晶状態
クライオSEM観察 500倍
A: リンゴ, B: タマネギ

われ、氷の結晶が最も成長する温度帯である。この温度帯をいかに短時間で通過して氷結晶の成長を抑制するかが課題であり¹²⁾、最大氷結晶を生成させないための急速凍結では約30分以内で最大氷結晶生成帯を通過することが要求される。

図3に示すように、 -1°C から -5°C までの最大氷結晶帯を短時間で通過すると、後述するように氷結晶の成長が避けられる。

図4では急速凍結と通常凍結により凍結した場合の試料内部の温度変化の差異を示した。最大氷結晶生成帯 ($-1 \sim -5^{\circ}\text{C}$) を通過する時間が通常凍結で

は約35分に対して、急速凍結では約15分であった。

細胞内凍結状態についてクライオSEMによって観察した像を図5と図6に示した。どちらも液体窒素瞬間凍結であるため、細胞内に生成した氷結晶は微細であることが認められる。

瞬間凍結と通常凍結では最大氷結晶生成帯を通過する時間がまったく異なったので、そのような冷凍条件の違いが凍結組織に与える影響を図7に示した。図から明らかなように液体窒素瞬間凍結では細胞内の氷結晶成長は抑制され、一辺 $5 \sim 10 \mu\text{m}$ 程度

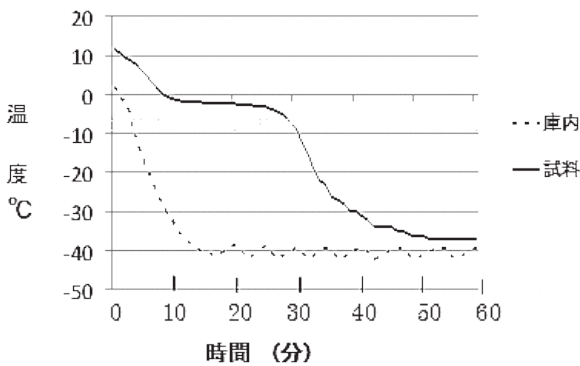


図2. 急速凍結時の庫内温度と試料温度の変化

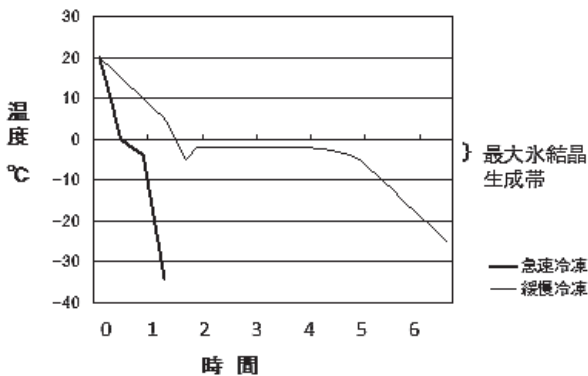


図3. 最大氷結晶生成帯 ($-1^{\circ}\text{C} \sim -5^{\circ}\text{C}$)

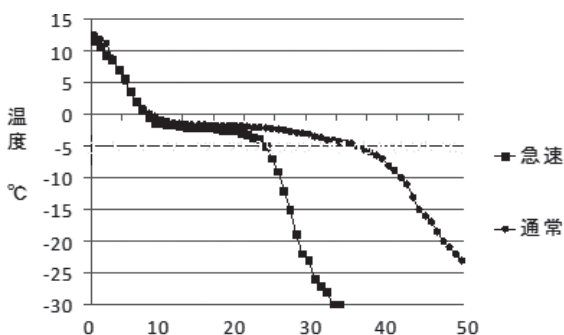


図4. 冷凍条件の違いによる植物性食品試料内部の温度変化

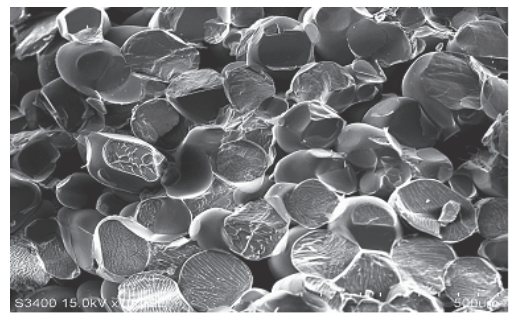


図5. クライオSEMによる植物試料断面の観察 100倍

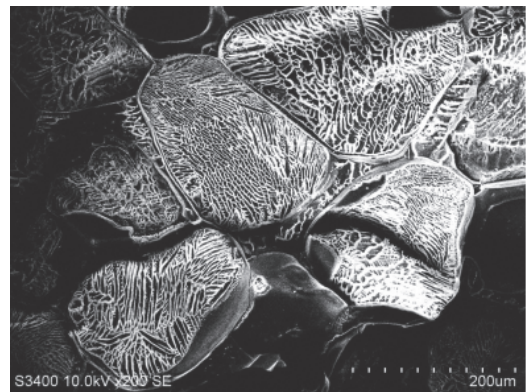


図6. クライオSEMによる植物試料断面の観察 200倍

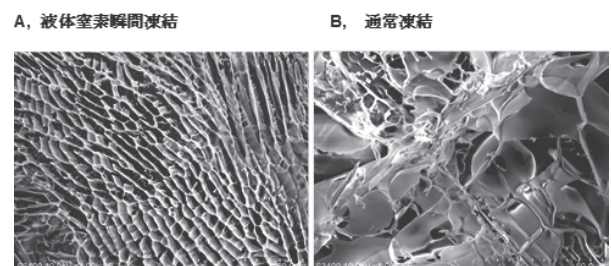


図7. 瞬間凍結と通常凍結によるタマネギ細胞内凍結状態の比較 (1,000倍)

A, Bいずれも細胞質ゾルの状態である。

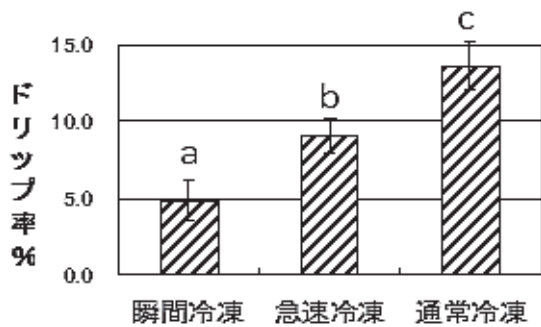


図8. 冷凍条件がダイコンの凍結-解凍時のドリップ量に与える影響
 値は平均値±SD (n=10) a,b,cは多重比較検定で有意差を示す (p<0.05)

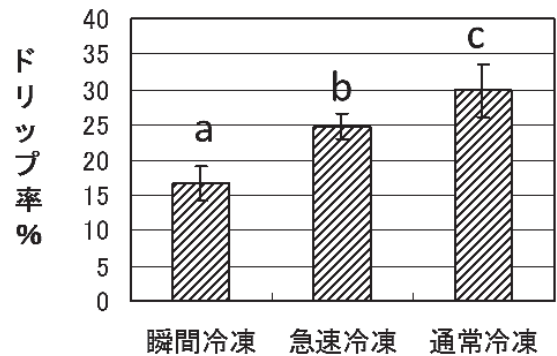


図9. 冷凍条件がハクサイの凍結-解凍時のドリップ量に与える影響
 値は平均値±SD (n=10) a,b,cは多重比較検定で有意差を示す (p<0.05)

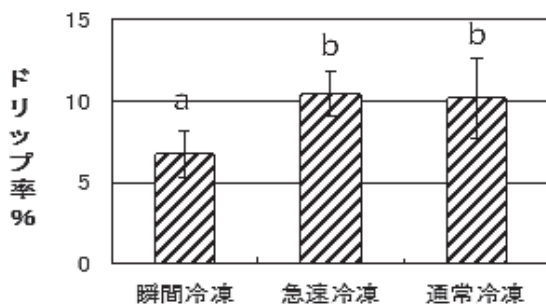


図10. 冷凍条件がキュウリの凍結-解凍時のドリップ量に与える影響
 値は平均値±SD (n=10) a,bは多重比較検定で有意差を示す (p<0.05)

キュウリについて、瞬間冷凍、急速冷凍、通常冷凍解凍後のドリップ量を比較した。ダイコンとハクサイのドリップ量は、液体窒素瞬間冷凍<急速冷凍<通常冷凍(図8, 9)となり、瞬間冷凍、急速冷凍、通常冷凍の間に有意差を示した。しかし、キュウリのドリップ量は、瞬間冷凍<急速冷凍=通常冷凍(図10)となり、瞬間冷凍ではドリップ量は有意に低下したが、急速冷凍と通常冷凍の間には有意差は認められなかった。このような差異は細胞質に含まれる糖などの影響と考えられる¹⁴⁾。

の微小な氷結晶であったが、通常冷凍では大きな氷結晶が生成したため細胞質が破壊されていることが分かる。

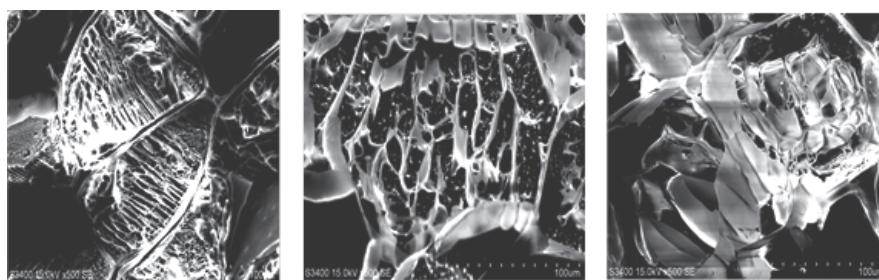
液体窒素による瞬間冷凍条件下では最大氷結晶生成帯通過時間の短縮が細胞内氷結晶を微小化して細胞内傷害を抑制したので、いかに短時間に最大氷結晶生成帯を通過するかが重要な冷凍条件であることが明らかである¹²⁾。

5. 解凍後のドリップ量の比較

根菜類のダイコン・葉菜類のハクサイ・果菜類の

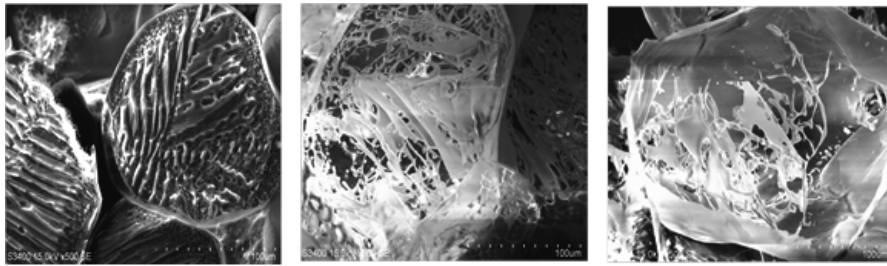
6. 冷凍方法の違いによる細胞内氷結晶サイズ比較

根菜類のダイコン・葉菜類のハクサイ・果菜類のキュウリについて凍結時の細胞内氷結晶生成状態をクライオSEM観察で図11, 12, 13に示した。冷凍時の細胞内氷結晶の形状や大きさは細胞質成分の種類や濃度によって影響を受けるため、野菜の種類によって冷凍適性が異なると示唆される。いずれの野菜でも瞬間冷凍は他の冷凍条件に比べて微細な氷結晶を示したが、急速冷凍では氷結晶がかなり成長し、通常冷凍では氷結晶が細胞質をかなり損傷することが明らかになった。



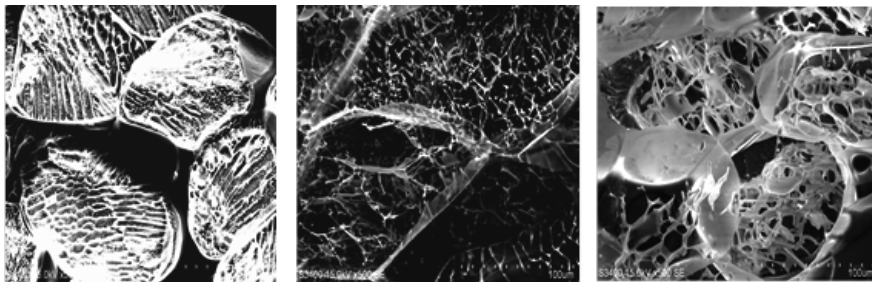
ダイコン 瞬間冷凍 500倍 ダイコン 急速冷凍 500倍 ダイコン 通常冷凍 500倍

図11. 冷凍条件がダイコンの細胞内氷結晶生成に与える影響



ハクサイ瞬間冷凍500倍 ハクサイ急速冷凍500倍 ハクサイ通常冷凍500倍

図12. 冷凍条件がハクサイの細胞内氷結晶生成に与える影響



キュウリ 瞬間冷凍 500倍 キュウリ 急速冷凍 500倍 キュウリ 通常冷凍 500倍

図13. 冷凍条件がキュウリの細胞内氷結晶生成に与える影響

したがって、冷却速度が遅いほど、野菜の細胞内氷結晶が成長し、生成した氷結晶による損傷が解凍後のドリップ量を増加させたと考えられる(図8, 9, 10)。また、通常冷凍で観察された氷結晶の成長は再結晶化による氷結晶の成長が原因と推定される¹⁵⁾。

7. 終わりに

冷却速度が細胞内の氷結晶生成状態に影響を与え、最大氷結晶生成帯を通過する時間が短いほど氷結晶の成長を抑制するという結果が得られた。氷結晶が微細であるほど、細胞質に与える傷害が軽減し解凍時のドリップ量を抑制した。冷凍時の細胞内氷結晶の形状や大きさは細胞質に含まれる成分の種類や濃度によって影響を受けたと推定され、野菜の種類によって冷凍適性が異なると考えられた。野菜冷凍時の氷結晶の形状に与える成分は多成分であり、今後の解析が必要である。本総説では細胞内の凍結状態を扱ったが、冷凍時には細胞外液が先に凍結するので、細胞外液凍結と細胞内凍結との関係についても検討すべき課題である。

参考文献

- 1) 藤川清三：生物の凍結に関する基礎研究，低温生物工学会誌，65，1-7，2012.
- 2) 上村松生，南杏鶴，河村幸男：凍結ストレスと植物，低温生物工学会誌，55，29-36，2009.
- 3) 山田明美，黒田克史，実山豊ほか：低温感受性植物細胞の凍結挙動，低温生物工学会誌，145，7-13，1999.
- 4) Yamada, T, Kuroda, K, Jitsuyama, Y *et al.* : Roles of the plasma membrane and the cell wall in the responses of plant cells to freezing. *Planta*, 215, 770-778, 2002.
- 5) 上村松生，Sreponkus, PL.：植物の耐凍性と細胞膜の凍結脱水下における安定性：細胞膜以外の要因の影響，低温生物工学会誌，45，36-38，1999.
- 6) 上村松生，鎌田崇：植物の凍結耐性増大過程における細胞内適合溶質の役割，低温生物工学会誌，47，49-50，2001.
- 7) 僧都博：生細胞の凍結による障害と保護の機構，化学と生物，18，78-87，1980.
- 8) 上野茂昭，都甲沫，相良泰行ほか：食品の凍結により形成される氷結晶性状の定量的解析，低温生物工学会誌，48，115-118，2002.
- 9) Lopez-Sanchez P, Schumm S, Pudney PDA *et al.* : Carotene location in processed food samples mea-

- sured by Cryo In-SEM Raman. *Analyst*, 136, 3691-3657, 2011
- 10) Van Dongen, JT, Ammerlaan, AMH, Woutwerlood, M et al. : Structure of the Developing Pea Seed Coat and the Post-phloem Transport Pathway of Nutrients, *Annals of Botany*, 91, 729-737, 2003.
 - 11) 宮崎長人：生物・食品と凍結, 低温生物工学会誌, 55, 23-27, 2009.
 - 12) 宮崎長人：凍結食品における氷結晶状態制御とその応用, 低温生物工学会誌, 44, 43-50, 1998.
 - 13) 中川良二, 北川直揮, 八十川大輔ほか：野菜の冷凍保存技術の開発, 北海道立食品加工研究センター報告, 3, 59-63, 1998.
 - 14) 宮脇長人：食品凍結における氷結晶構造の解析・制御とその食品加工への応用, 日本食品科学工学会誌, 42, 210-210, 1995.
 - 15) 石黒博：急速凍結された生体組織内の時系列再結晶化特性, 低温生物工学会誌, 52, 145-149, 2006.