

# アイスクリームの保存温度の変動による 氷結晶形態の変化

## Observation of Ice Crystal Shapes in Ice Cream by Changes of Preservation Temperature

則竹(安藤) 寛子\*<sup>†</sup> 加藤 豊望\* 梶原 一人\*

鈴木 徹\*\*

Hiroko NORITAKE-ANDO Toyomi KATO Kazuhito KAJIWARA

Toru SUZUKI

\* 東京工科大学応用生物学部 (192-0982 東京都八王子市片倉町 1404-1)

School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo University of Technology  
 (1404-1 Katakura-machi, Hachioji-ci, Tokyo 192-0982)

\*\* 東京海洋大学海洋科学科食品生産科学部 (108-8477 東京都港区港南 4-5-7)

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and  
 Technology (4-5-7 Kounan, Minato-ku, Tokyo, 108-8477)

### Summary

The quality of ice cream surface degrades significantly from alteration of the surface properties due to the repetition of thaw-recrystallizing accompanied with temperature vibration at subzero temperature, a little above the melting temperature. For understanding the phenomena in detail, ice crystals in ice cream after once thawed and recrystallized was observed morphologically, and evaluated quantitatively by fractal analysis. It was shown that the shape of ice crystal recrystallized from once thawed ice cream was modified from round shape to complex shape, of which the degree depended on thawing temperature at subzero temperature. However, the ice crystal returned gradually into round shape with increasing the holding time at the thawing temperature. These phenomena would be caused by spatial micro distribution of high concentration part which was organized in thawed ice cream by freezing concentration. That is, the complex ice crystal formed in thawed ice cream at subzero temperature would be induced by losing the micro uniformity of concentration.

**Key words:** Ice, Thawing, Ice cream, Refreezing, Fractal

<sup>†</sup>Fax:+81 3-3456-7890 E-mail: hiando@bs.teu.ac.jp

Paper presented at 2011 JSRAE Annual Conference, September 14 - 17, 2011, Tokyo, Japan.

## 1. 緒言

アイスクリームは数多くの食品の中で、“凍ったまま”食する特異な食品である。そのおいしさを決定するファクターの1つに、氷結晶の量・サイズ・形状がある。保存中、氷結晶は成長・凝集を繰り返し、アイスクリームの品質を低下させる<sup>1-3)</sup>。多くの場合、氷結晶の成長は、オストワルドライプニングと言われる熱的な変化によって説明されている<sup>4)</sup>。これによれば、氷結晶サイズに依存した融点の差により、2 $\mu$ m以下の小さな氷結晶はより大きな結晶へ取り込まれ成長する。また近年、保存中の氷結晶形態の変化は、2次元画像のフラクタル解析より検討された。その結果、アイスクリーム中には、フラクタル次元1で示される粒径が小さい氷結晶とフラクタル次元2の大きな氷結晶が存在することが示された。そして、保存時間に伴い大きな氷結晶のフラクタル次元は小さくなることが示された<sup>5)</sup>。

一方、製品としてのアイスクリームは、輸送中に起こる温度変動によって熱的なショックを絶えず受けている。アイスクリームの融点は、その組成によって異なるものの、いずれも0 $^{\circ}$ Cよりも低い。従って、温度変動がマイナス温度域に限定されていても、温度が融点付近になると、その状態はダイナミックに変化していることが予想される。特に、表面付近は温度変動に敏感であり、氷結晶の完全な融解が起きる可能性がある。凍結食品の表面における氷結晶の完全な融解は、既往の研究においても予想されており、再凍結時に核形成をコントロールできないため、著しい品質低下を引き起こすと言われている<sup>6)</sup>。しかし、アイスクリームにおいて、このような一時的な解凍、そして再凍結のプロセスに注目して研究が行われることはなかった。

そこで本研究では、マイナス温度域における解凍の影響を理解することを目的に、解凍・再凍結後にアイスクリーム中に形成される氷結晶を観察することとした。光学顕微鏡観察によって得られた氷結晶の形態を、フラクタル解析することで、解凍した温度が再凍結後の氷結晶形態に及ぼす影響を確認した。

## 2. 試料と実験方法

## 2.1. DSC 測定

Table 1 に示す成分で構成されたアイスクリームミックスを40 $\mu$ L アルミニウムセル(Mettler Toledo, USA) に約6mg 入れた。水分量の変動を防ぐため、蓋をしてセルクリンパを用いてシールした。基準として空のアルミニウムセルを用い、キャリブレーションには純水(融点0.0 $^{\circ}$ C)を用いた。

DSC (DSC821 $^{\circ}$ , Mettler Toledo, USA) 本体に液体窒素タンクを装着し、走査範囲-30~25 $^{\circ}$ C、走査速度10 $^{\circ}$ C/minにて測定を行った。測定終了後、ソフトウエア STAR $^{\circ}$  (Mettler Toledo, USA) を用いて、DSC 曲線より融点( $T_m$ )を求めた。

Table 1 Composition of the ice cream mix.

Content	%
Water	63
Sugar	15
Solid no fat	9.0
Vegetable oils and fats	5.3
Milk fat	3.0
Others	4.7

## 2.2 光学顕微鏡観察

アイスクリームミックス 3.0 $\mu$ L をスライドガラス上に滴下し、気泡が混入しないように注意しながらカバーガラスを被せた。これをコールドステージ (LK-600MS, ジャパンハイテック) にセットし、-30 $^{\circ}$ Cまで温度を降下、凍結させた。走査速度は10 $^{\circ}$ C/minとし、詳しい測定条件を Fig.1 に示す。次いで、アイスクリームを解凍させるため、所定の解凍温度(-0.6, -0.1, 0.2, 0.4 $^{\circ}$ C)まで温度を上昇させた。その後、各解凍温度にて0, 10, 20, 30分間解凍状態を保持した後、再び、-30 $^{\circ}$ Cまで温度を降下、再凍結させた。明瞭に氷結晶形態を観察するため、-5 $^{\circ}$ Cまで温度を上昇、20分間温度を保持し氷

結晶を成長させ、光学顕微鏡(BX52, Olympus, Japan)にて氷結晶の観察を行った。ただし、コールドステージへの霜付きを防止するため、ステージ内に窒素ガスをパージした。また、コールドステージ冷却部の温度は、熱電対を用いて測定し、中心・外部で温度に差がないことを確認した。

### 2.3 フラクタル解析

氷結晶輪郭形態の面積と周囲長の関係を利用して、周囲長のフラクタル次元(D)を(1)式により定義した。得られた画像をパーソナルコンピュータに取り込み、画像処理を行った。画像処理には、ソフトウェア EasyAccess ((株)アド・サイエンス)を用いた。すなわち、画像を二値化し個々の氷結晶の面積Sとその周囲長Xを求めた。得られたSとXは式(1)の関係を持つことが知られている。

$$S^{1/2} \propto X^{1/D} \quad (1)$$

SとXの対数プロットによって得られる直線の傾きよりフラクタル次元Dの算出を行った<sup>5,7)</sup>。ただし、試料ごとに約100個の氷結晶粒について二値化を行って評価した。

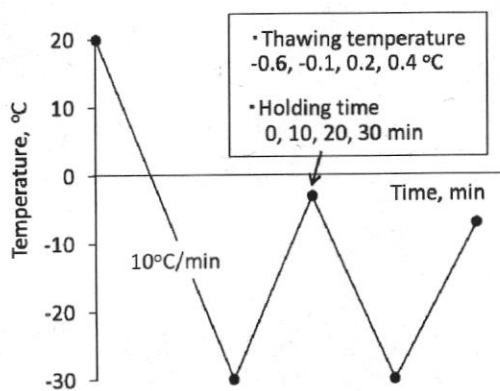


Fig.1 History of temperature change for observation of ice crystal in ice cream.

## 3. 結果と考察

### 3.1. DSC 測定

DSC 測定の結果を Fig.2 に示す。水や油脂など複数の成分からなる混合水溶液であるアイス

クリームミックスは、DSC 曲線がブロードなピークとなった。既往の研究において、アイスクリーム中の氷結晶量の測定より、融解開始温度は  $-15^{\circ}\text{C}$ 、融点は  $-2^{\circ}\text{C}$  であることが示されている<sup>8)</sup>。融点はアイスクリームを構成する成分に依存するため、既往の研究の結果と本研究で使用したアイスクリームミックスの融点は一致しなかった。しかし、その融解過程は同様であり、アイスクリームミックスは融解開始温度からピークに達するまでに広い温度域を経ることがわかった。

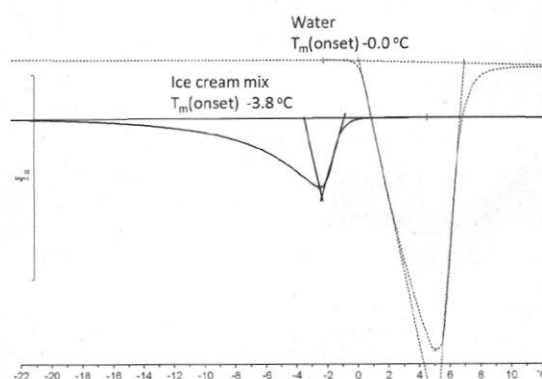


Fig.2 DSC heating curve of the ice cream mix.

一般的に、混合水溶液において DSC 曲線がブロードとなる場合、その融点は純水より求めた DSC 曲線を参考に計算される<sup>9)</sup>。そのため、本研究でも純水の DSC 曲線を測定し、これを参考にアイスクリームミックスの融点を計算した。その結果、本研究で使用したアイスクリームミックスの融点は、 $-3.8^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 0.1$ ) であることが示された。従って、解凍温度  $-0.6^{\circ}\text{C}$  以上の温度域において、アイスクリームミックスは十分解凍していることが確認された。また、アイスクリームミックスは、解凍・再凍結のプロセスを経ても結晶化温度・融点は変わらず、一時的な解凍によって熱的な変化はなかった。

以上の結果、本研究で使用したアイスクリームミックスの融点がマイナス温度にあり、以降の実験条件、 $-0.6$ 、 $-0.1^{\circ}\text{C}$  においてアイスクリームは完全に融解していることが確認された。

### 3.2 解凍・再凍結に伴う氷結晶形態の変化

Fig.3 に凍結・解凍・再凍結に伴うアイスクリームミックスの変化を示す。Fig.3-A に示す凍結前のミックス中には、分散した油滴が無数に存在した。アイスクリームミックスは、Table.1 に示すように糖などが溶解した水溶液に油脂が分散したエマルジョン構造を成している。本研究で使用したアイスクリームミックスも、微細な油脂が均一に分散したエマルジョン構造をとっていることが確認された。このミックスが凍結すると Fig.3-B に示す様に、ミックス中の構造が観察されなくなった。これは凍結に伴い微細な氷結晶が形成し、顕微鏡の視野を暗黒化させたためと考える。温度を上昇させ、氷結晶を融解させることで、再度、ミックス中の構造が明瞭に観察された (Fig.3-C)。ただし、Fig.3-C は解凍温度 $-0.6^{\circ}\text{C}$ の結果である。凍結前のミックス (Fig.3-A) と同様に、微細な油滴が分散していることがわかった。しかし、凍結前の状態と

比較すると、ミックスの構造にムラが生じていた。そして、一旦 $-0.6^{\circ}\text{C}$ で解凍したミックスを再凍結すると、Fig.3-D に示す様に、氷結晶はある一定の方向に細長く伸びたデンドライト様の形状を成していることが確認された。

解凍処理を経た試料は、氷結晶形態の変化と共にその過冷却解消温度も変化した。光学顕微鏡観察の結果、解凍過程を経していない試料の過冷却解消温度（一度目に凍結した温度）は、 $-19.1^{\circ}\text{C}(\pm 1.1^{\circ}\text{C})$ であった。これは、 $0.4^{\circ}\text{C}$ 、 $0.2^{\circ}\text{C}$ で解凍した場合、ほとんど変化しなかった。しかし、解凍した温度がマイナスの場合、 $-0.1^{\circ}\text{C}$ で解凍した場合 $-7.4^{\circ}\text{C}(\pm 2.8^{\circ}\text{C})$ 、 $-0.6^{\circ}\text{C}$ で解凍した場合 $-6.2^{\circ}\text{C}(\pm 1.7^{\circ}\text{C})$ となり、解凍温度が低いほど過冷却解消温度が高くなることがわかった。既往の研究より、過冷却解消温度が低いほど、微細な氷結晶が形成することが知られている<sup>10)</sup>。

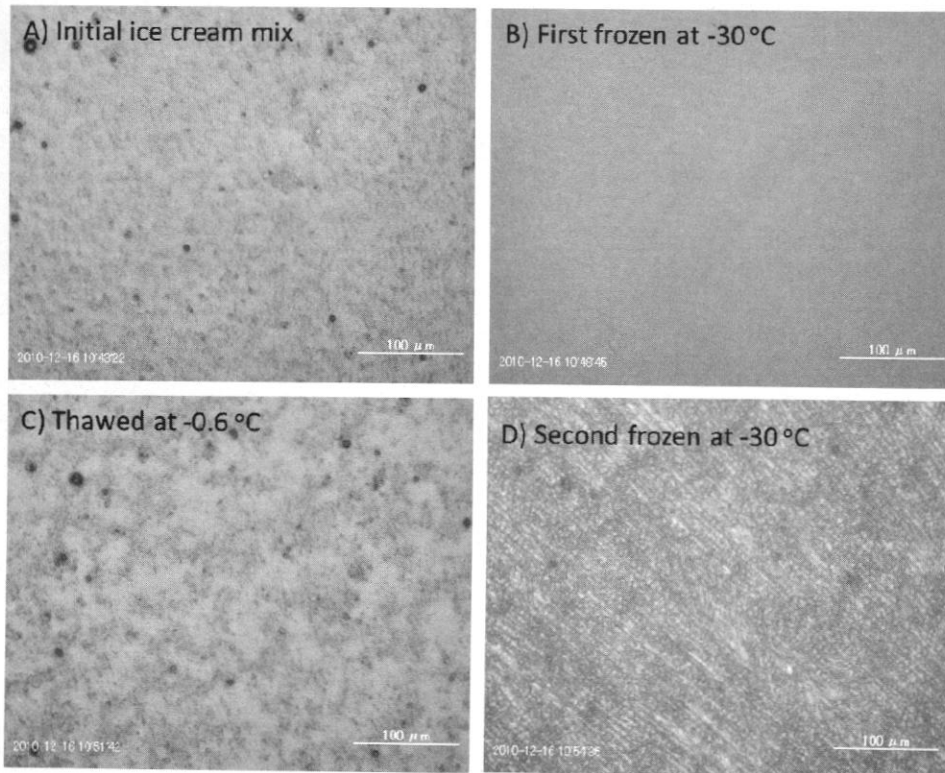


Fig.3 Ice cream mix before and after freeze-thawing at  $-30^{\circ}\text{C}$ . Scale bar =  $100\ \mu\text{m}$

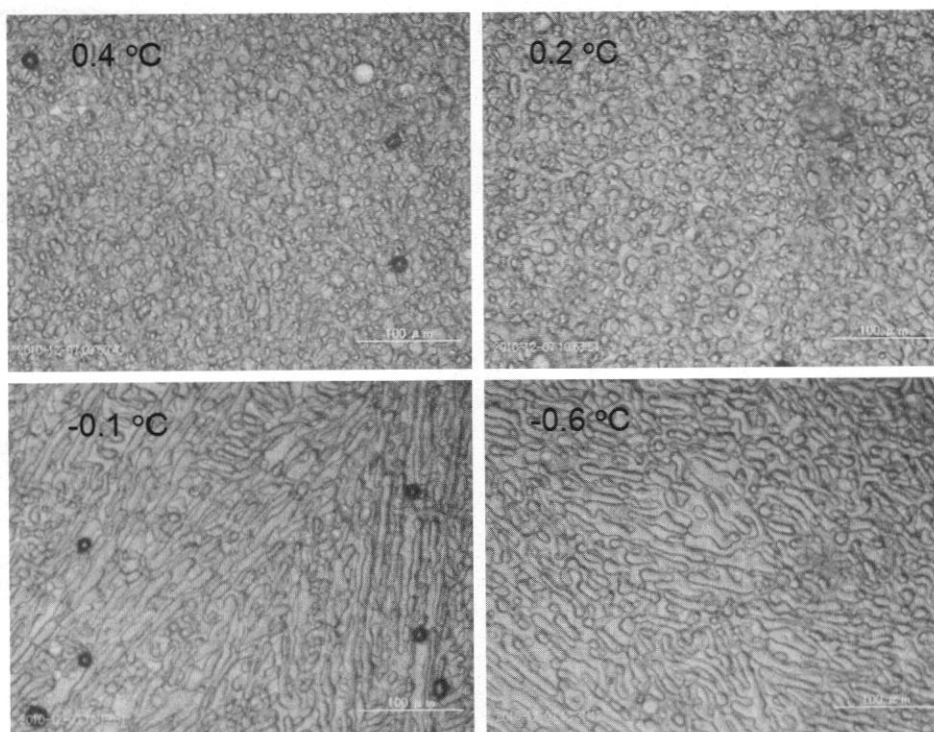


Fig.4 Ice crystals in ice cream mix after re-crystallization. These samples were once thawed at 0.4, 0.2, -0.1, -0.6 °C before re-crystallization. Scale bar = 100 μm

従って、過冷却解消温度が高いほど、氷結晶サイズも大きくなると考えられる。しかし、解凍温度に関わらず、試料は再凍結の際に過冷却を起こしており、デンドライト様の氷結晶が形成する様な過度の場ゆらぎが生じたとは考えにくい。従って、デンドライト様の氷結晶が形成した原因として、過冷却以外の原因を考察する必要があると考えられた。

再凍結に伴うミックス中の氷結晶の形態変化を数値的に示すため、 $-5^{\circ}\text{C}$ にて氷結晶を成長させた。その結果を Fig.4 に示す。ただし、各解凍温度での保持時間は0分である。解凍温度  $0.4^{\circ}\text{C}$  では、円形の氷結晶が形成した。形成した氷結晶の形態を、数値的に評価するため、フラクタル解析をおこなった。画像を二値化し、氷結晶の面積  $S$  とその周囲長  $X$  を計測した。その対数値の関係を Fig.5 に示す。式 (1) より、 $0.4$  および  $0.2^{\circ}\text{C}$  で解凍されたアイスクリームミックス中には、再凍結後、 $D=1$  と  $D=2$  のフラクタル次元で示される氷結晶が存在することが確認された。

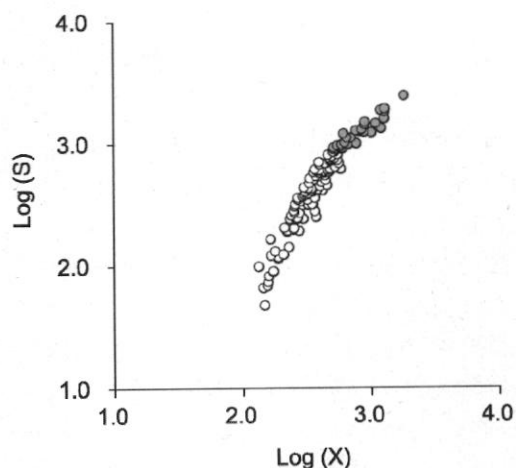


Fig.5 Plots of  $\log(S)$  vs.  $\log(X)$  of ice crystals in ice cream mix. Example for re-crystallization after thawing at  $0.4^{\circ}\text{C}$ .

既往の研究より、アイスクリーム中の氷結晶が円形に近い場合  $D=1$ 、氷結晶が成長・凝集することで  $D=2$  に近い次元をもつことが示されている<sup>5)</sup>。本研究では、氷結晶の形態を解析しやすくするため、 $-30^{\circ}\text{C}$ で再凍結の後、 $-5^{\circ}\text{C}$

まで温度を上昇させて 20 分間保持し、結晶を成長させている。そのため、既往の研究で示されている様な凝集・成長が起こったと考えられる。従って、0.2 および 0.4 °C にて一旦解凍された試料中に多く観測された円形の氷結晶は  $D = 1$ 、凝集によって形成された氷結晶は  $D = 2$  に近いフラクタル次元となったと考えられる。

一方、-0.6、-0.1 °C にて解凍したアイスクリームミックス中には、円形の氷結晶の他に複雑な表面構造を持つデンドライト様の氷結晶が形成していた。これらのデンドライト様の結晶は、プラス温度にて解凍された試料内にみられる凝集によって形成された氷結晶の形態とは、明らかに異なっていた。従って、一時的な解凍が再凍結後の氷結晶形態を変化させる因子の一つであると考えられた。この様な複雑な表面を持つ結晶の二値化は困難であるため、試料中に存在する円形の氷結晶のみフラクタル解析を行った。その結果、-0.6、-0.1 °C にて解凍した試料中に観測される円形の氷結晶も  $D = 1$  で示されることが確認された。マイナス温度にて一旦解凍された試料内に形成したデンドライト様結晶のフラクタル次元の算出は困難であったものの、以上の結果より、円形の氷結晶はすべての解凍温度において  $D = 1$  で示され、 $\log(X) < 2.7$  以下の氷結晶で直線が構成されていた。すなわち、 $S \leq 200 \mu\text{m}^2$  の時、 $D = 1$  で支持される円形の氷結晶であることがわかった。

各試料内に存在する  $D = 1$  で示される氷結晶の数を計測し、解凍温度との関係を検討した。その結果を Fig.6 に示す。ただし、解凍温度での保持時間は 0 分である。図中の Ice crystal number は、各試料において観測した総氷結晶数に対して、 $D=1$  で示される氷結晶の数を意味する。その結果、解凍温度の低下に伴い円形の結晶の数は減少することが確認された。先に示した様に、 $D=1$  の数は過冷却解消温度と関係は示唆されるものの、フラクタル次元は、複雑さを示す指標であり、単純に円形の氷結晶が大きくなった場合も  $D=1$  で示される。従って、本研究で観測された細長い形状の氷結晶は、単純にそのサイズが増加したわけではないと考えられた。

既往の研究において、“半解け”状態のアイス

クリームを電子顕微鏡で観察すると、本研究で観測された様な複雑な形態の氷結晶ができることが知られている<sup>8)</sup>。“半解け”状態がどのような状態であるかは不明であるが、この場合、その形態を変化させる原因は、氷結晶の溶け残りを核として凝集・成長が起きていると考えられる。一方、本研究では DSC 測定においてアイスクリームミックス内の氷結晶は -0.6 °C において完全に融解していることが確認されている。そのため、デンドライト様の氷結晶が形成する原因は、氷結晶の溶け残り以外であると考えられる<sup>11)</sup>。デンドライト様の氷結晶の形成は、試料に温度勾配を付加するなど熱的な揺らぎを必要とする。これらのことを考慮すると、デンドライト様の氷結晶の形成には、残存する構造よりも溶液の物性値に影響する濃縮の影響が大きいと考えられる。従って、一時的な解凍によって生じた濃度分布空間的な揺らぎが解消されることで、氷結晶はマイナス温度における一時的な解凍を経ても、安定成長を経て円形になると予想される。

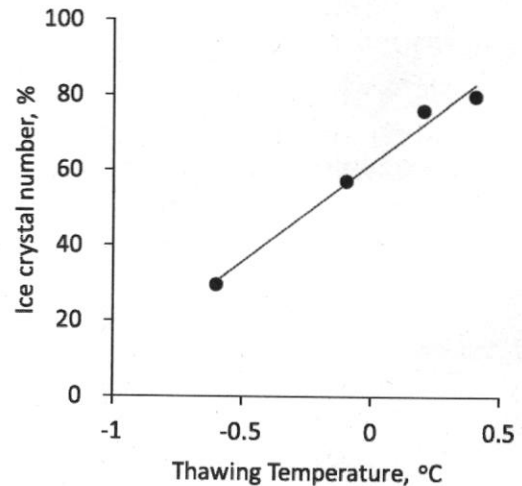


Fig.6 Relationship with thawing temperature and ice crystal number of circle after re-crystallization.

### 3.3 解凍状態の保持と氷結晶形態

凍結・解凍時に水溶液中に生じる濃度のムラが氷結晶形態を変化させる原因であれば、マイナス温度においても解凍した温度で一定時間保持し、水溶液が拡散・混ざり合うことで氷結晶

の形態は円形へと戻ると考えられる。そこで再凍結後、デンドライト様の氷結晶が多く観察された解凍温度  $-0.6^{\circ}\text{C}$  において、解凍状態を保持する時間を増加させ再凍結後の氷結晶形態がどのように変化するかを検討した。得られた光学顕微鏡写真を用いて、先と同様、フラクタル次元  $D=1$  で表される円形の氷結晶の数を計測した。その結果、Fig.7 に示すように、保持時間の増加に伴って円形を持つ氷結晶の数が増加することが確認された。従って、マイナス温度において解凍されたアイスクリームでも、解凍した温度で長時間放置すると、再凍結後、円形に近い氷結晶が得られることが確認された。

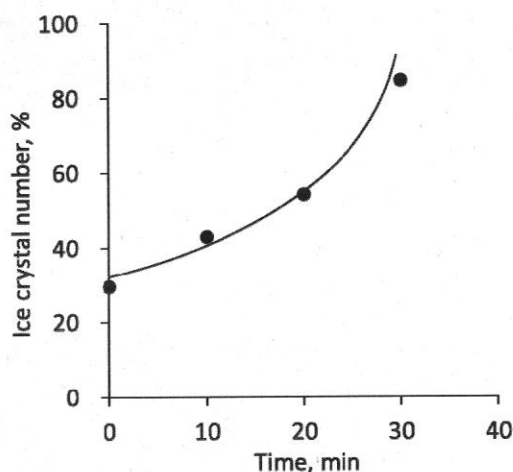


Fig.7 Relationship with holding time at  $-0.6^{\circ}\text{C}$  and ice crystal number of circle after re-crystallization.

アイスクリームの原料であるミックスは、凍結濃縮によって氷結晶以外の部分で水溶液の濃度が著しく上昇する<sup>12)</sup>。アイスクリームにおける凝固点曲線は示されていないものの、その主成分であるスクロース水溶液において、凍結濃縮相のスクロース水溶液濃度は  $-30^{\circ}\text{C}$  で  $75\text{w}\%$ 、 $-5^{\circ}\text{C}$  においても  $40\text{w}\%$  となることが知られている。従って、アイスクリームミックスを解凍した場合、一時的には氷結晶の存在した部分とそれ以外の部分では、著しい濃度差が生じていることがわかる。特に、マイナス温度では、凍結濃縮による局所的な濃度の上昇だけでなく、

温度低下に依存した水溶液中の水分子の自己拡散係数の低下が起き、濃度ムラの解消に一定の時間が必要であったと考えられる。

既往の研究において、氷結晶のサイズ・形態とのかたさの関係が検討されている。そして、本研究において観察された様な複雑な形態の氷結晶が形成したアイスクリームは、円形の小さな氷結晶を含むアイスクリームよりかたいことが示されている<sup>8)</sup>。従って、本研究の結果より、アイスクリームのマイナス温度下における一時的な解凍が、その品質を低下させる原因の一つであることが示された。従って、その品質保持を目指すためには、保存中のみならず解凍や融解による影響についてさらに検討を行う必要があると考えられた。また本研究では、アイスクリームミックスを用い、実際のアイスクリームの重要な構成成分である気泡を排除して検討を行った。従って、今後、再凍結というダイナミックな相変化による気泡の状態についても検討することで、アイスクリームの品質低下の原因をより詳細に示すことができると考える。

以上、本研究において融点以上の低温かつ短時間の解凍を経た場合、再凍結することで必ずデンドライト様の氷結晶がアイスクリーム中に形成されることが明らかとなった。フラクタル解析を行うことで、 $D=1$  のフラクタル次元をもつ  $200\ \mu\text{m}^2$  以下の円形の氷結晶の数が、一時的な解凍温度の低下に伴い減少し、複雑な結晶界面を持つデンドライト様の結晶へと変化してしまうことが示された。しかし、デンドライト様の結晶は、マイナス温度である程度の時間、融解状態を保持することで、再凍結後に観察されなくなった。従って、これらの氷結晶形態の変化には、凍結によって生じた局所的な濃度差に依存している可能性が示された。今後、氷結晶形態が変化してしまう原因を詳しく検討していくことで、凍結食品の品質低下の要因を理解する助けになるのみならず、氷結晶形態を人為的に制御する手法として利用できると考えられる。

#### 4. 結論

低温域におけるアイスクリームの融解による

再凍結後の氷結晶形態に与える影響を検討した。その結果、解凍温度が低温かつ短時間の解凍を経た場合、再凍結後の氷結晶形態が複雑化することを示した。この様な複雑な氷結晶ができやすくなる原因として、凍結濃縮によって形成された濃度のムラが、一時的な解凍後においてもなお残存し、再凍結後の氷結晶形態へ影響を及ぼしていることが考えられた。複雑な形の氷結晶は、アイスクリームのかたさを増す要因とされていることから、その品質低下の一因であることが示された。

### 文 献

- 1) D. P. Donhowe, R. W. Hartel: *Int Dairy J.*, **6** (11-12), 1191 (1996).
- 2) D. P. Donhowe, R. W. Hartel: *Int Dairy J.*, **6** (11-12), 1209 (1996).
- 3) T. Hagiwara, R. W. Hartel and S. Matsukawa: *Food Biophysics*, **1** (2), 74 (2006).
- 4) D. B. Dadyburjor, E. Ruckenstein: *J. Crystal Growth.*, **38**, 28 (1977).
- 5) 王昕, 鈴木徹, 渡辺学: 日本冷凍空調学会論文集, **25** (1), 29 (2008).
- 6) R. W. Hartel: "Crystallization in foods", pp.284-308, Aspen Publishers, Maryland (2001).
- 7) 高安秀樹: 「フラクタル」, 朝倉書店, 東京 (1986).
- 8) C. Clarke: "The science of ice cream", Royal society of chemistry, Cambridge (2004)
- 9) 神戸博太郎: 「熱分析」, 講談社サイエンティフィック, 東京 (1988).
- 10) O. Miyawaki, T. Fujii and Y. Shimiya: *Food Sci. Technol. Res.*, **10** (4), 437 (2004).
- 11) 上羽牧夫: 「結晶成長の仕組みを探る その物理的基礎」, p112-122, 東京 (2002).
- 12) Y. H. Roos: "Phase transitions in foods", Academic press, New York (1995).



# アイスクリームの保存温度の変動による 氷結晶形態の変化

## Observation of Ice Crystal Shapes in Ice Cream by Changes of Preservation Temperature

則竹(安藤) 寛子\*† 加藤 豊望\* 梶原 一人\*

鈴木 徹\*\*

Hiroko NORITAKE-ANDO Toyomi KATO Kazuhito KAJIWARA

Toru SUZUKI

\* 東京工科大学応用生物学部 (192-0982 東京都八王子市片倉町 1404-1)  
 School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo University of Technology  
 (1404-1 Katakura-machi, Hachioji-ci, Tokyo 192-0982)

\*\* 東京海洋大学海洋科学科食品生産科学部 (108-8477 東京都港区港南 4-5-7)  
 Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and  
 Technology (4-5-7 Kounan, Minato-ku, Tokyo, 108-8477)

### Summary

The quality of ice cream surface degrades significantly from alteration of the surface properties due to the repetition of thaw-recrystallizing accompanied with temperature vibration at subzero temperature, a little above the melting temperature. For understanding the phenomena in detail, ice crystals in ice cream after once thawed and recrystallized was observed morphologically, and evaluated quantitatively by fractal analysis. It was shown that the shape of ice crystal recrystallized from once thawed ice cream was modified from round shape to complex shape, of which the degree depended on thawing temperature at subzero temperature. However, the ice crystal returned gradually into round shape with increasing the holding time at the thawing temperature. These phenomena would be caused by spatial micro distribution of high concentration part which was organized in thawed ice cream by freezing concentration. That is, the complex ice crystal formed in thawed ice cream at subzero temperature would be induced by losing the micro uniformity of concentration.

**Key words:** Ice, Thawing, Ice cream, Refreezing, Fractal

†Fax:+81 3-3456-7890 E-mail: hiando@bs.teu.ac.jp

Paper presented at 2011 JSRAE Annual Conference, September 14 - 17, 2011, Tokyo, Japan.

## 1. 緒言

アイスクリームは数多くの食品の中で、“凍ったまま”食する特異な食品である。そのおいしさを決定するファクターの1つに、氷結晶の量・サイズ・形状がある。保存中、氷結晶は成長・凝集を繰り返し、アイスクリームの品質を低下させる<sup>1-3)</sup>。多くの場合、氷結晶の成長は、オストワルドライプニングと言われる熱的な変化によって説明されている<sup>4)</sup>。これによれば、氷結晶サイズに依存した融点の差により、2 $\mu\text{m}$ 以下の小さな氷結晶はより大きな結晶へ取り込まれ成長する。また近年、保存中の氷結晶形態の変化は、2次元画像のフラクタル解析より検討された。その結果、アイスクリーム中には、フラクタル次元1で示される粒径が小さい氷結晶とフラクタル次元2の大きな氷結晶が存在することが示された。そして、保存時間に伴い大きな氷結晶のフラクタル次元は小さくなることが示された<sup>5)</sup>。

一方、製品としてのアイスクリームは、輸送中に起こる温度変動によって熱的なショックを絶えず受けている。アイスクリームの融点は、その組成によって異なるものの、いずれも0 $^{\circ}\text{C}$ よりも低い。従って、温度変動がマイナス温度域に限定されていても、温度が融点付近になると、その状態はダイナミックに変化していることが予想される。特に、表面付近は温度変動に敏感であり、氷結晶の完全な融解が起きる可能性がある。凍結食品の表面における氷結晶の完全な融解は、既往の研究においても予想されており、再凍結時に核形成をコントロールできないため、著しい品質低下を引き起こすと言われている<sup>6)</sup>。しかし、アイスクリームにおいて、この様な一時的な解凍、そして再凍結のプロセスに注目して研究が行われることはなかった。

そこで本研究では、マイナス温度域における解凍の影響を理解することを目的に、解凍・再凍結後にアイスクリーム中に形成される氷結晶を観察することとした。光学顕微鏡観察によって得られた氷結晶の形態を、フラクタル解析することで、解凍した温度が再凍結後の氷結晶形態に及ぼす影響を確認した。

## 2. 試料と実験方法

## 2.1. DSC 測定

Table 1 に示す成分で構成されたアイスクリームミックスを40 $\mu\text{L}$  アルミニウムセル(Mettler Toledo, USA) に約6mg 入れた。水分量の変動を防ぐため、蓋をしてセルクリンパを用いてシールした。基準として空のアルミニウムセルを用い、キャリブレーションには純水(融点0.0 $^{\circ}\text{C}$ )を用いた。

DSC (DSC821 $^{\circ}$ , Mettler Toledo, USA) 本体に液体窒素タンクを装着し、走査範囲-30~25 $^{\circ}\text{C}$ 、走査速度10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ にて測定を行った。測定終了後、ソフトウエア STAR $^{\circ}$  (Mettler Toledo, USA) を用いて、DSC 曲線より融点( $T_m$ )を求めた。

Table 1 Composition of the ice cream mix.

Content	%
Water	63
Sugar	15
Solid no fat	9.0
Vegetable oils and fats	5.3
Milk fat	3.0
Others	4.7

## 2.2 光学顕微鏡観察

アイスクリームミックス 3.0 $\mu\text{L}$  をスライドガラス上に滴下し、気泡が混入しないように注意しながらカバーガラスを被せた。これをコールドステージ (LK-600MS, ジャパンハイテック) にセットし、-30 $^{\circ}\text{C}$ まで温度を降下、凍結させた。走査速度は10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ とし、詳しい測定条件を Fig.1 に示す。次いで、アイスクリームを解凍させるため、所定の解凍温度(-0.6, -0.1, 0.2, 0.4 $^{\circ}\text{C}$ )まで温度を上昇させた。その後、各解凍温度にて0, 10, 20, 30分間解凍状態を保持した後、再び、-30 $^{\circ}\text{C}$ まで温度を降下、再凍結させた。明瞭に氷結晶形態を観察するため、-5 $^{\circ}\text{C}$ まで温度を上昇、20分間温度を保持し氷

結晶を成長させ、光学顕微鏡(BX52, Olympus, Japan)にて氷結晶の観察を行った。ただし、コールドステージへの霜付きを防止するため、ステージ内に窒素ガスをパージした。また、コールドステージ冷却部の温度は、熱電対を用いて測定し、中心・外部で温度に差がないことを確認した。

### 2.3 フラクタル解析

氷結晶輪郭形態の面積と周囲長の関係を利用して、周囲長のフラクタル次元(D)を(1)式により定義した。得られた画像をパーソナルコンピュータに取り込み、画像処理を行った。画像処理には、ソフトウェア EasyAccess ((株)アド・サイエンス)を用いた。すなわち、画像を二値化し個々の氷結晶の面積Sとその周囲長Xを求めた。得られたSとXは式(1)の関係を持つことが知られている。

$$S^{1/2} \propto X^{1/D} \quad (1)$$

SとXの対数プロットによって得られる直線の傾きよりフラクタル次元Dの算出を行った<sup>5,7)</sup>。ただし、試料ごとに約100個の氷結晶粒について二値化を行って評価した。

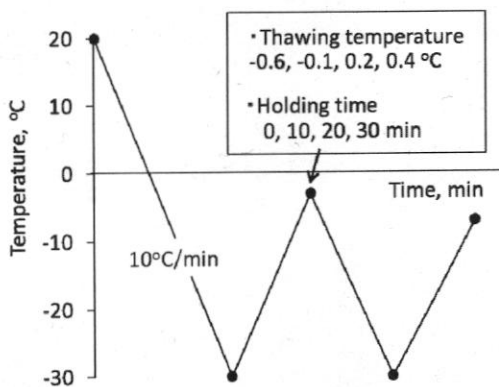


Fig.1 History of temperature change for observation of ice crystal in ice cream.

## 3. 結果と考察

### 3.1. DSC 測定

DSC 測定の結果を Fig.2 に示す。水や油脂など複数の成分からなる混合水溶液であるアイス

クリームミックスは、DSC 曲線がブロードなピークとなった。既往の研究において、アイスクリーム中の氷結晶量の測定より、融解開始温度は $-15^{\circ}\text{C}$ 、融点は $-2^{\circ}\text{C}$ であることが示されている<sup>8)</sup>。融点はアイスクリームを構成する成分に依存するため、既往の研究の結果と本研究で使用したアイスクリームミックスの融点は一致しなかった。しかし、その融解過程は同様であり、アイスクリームミックスは融解開始温度からピークに達するまでに広い温度域を経ることがわかった。

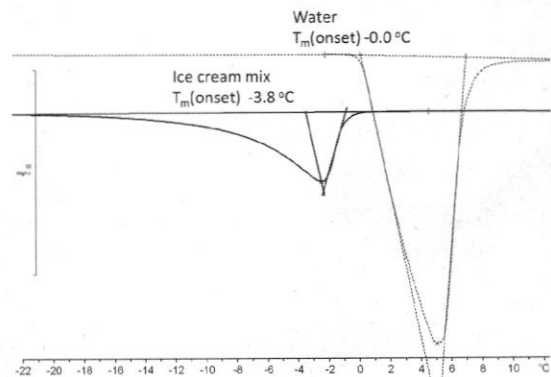


Fig.2 DSC heating curve of the ice cream mix.

一般的に、混合水溶液においてDSC 曲線がブロードとなる場合、その融点は純水より求めたDSC 曲線を参考に計算される<sup>9)</sup>。そのため、本研究でも純水のDSC 曲線を測定し、これを参考にアイスクリームミックスの融点を計算した。その結果、本研究で使用したアイスクリームミックスの融点は、 $-3.8^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 0.1$ ) であることが示された。従って、解凍温度 $-0.6^{\circ}\text{C}$ 以上の温度域において、アイスクリームミックスは十分解凍していることが確認された。また、アイスクリームミックスは、解凍・再凍結のプロセスを経ても結晶化温度・融点は変わらず、一時的な解凍によって熱的な変化はなかった。

以上の結果、本研究で使用したアイスクリームミックスの融点がマイナス温度にあり、以降の実験条件、 $-0.6$ 、 $-0.1^{\circ}\text{C}$ においてアイスクリームは完全に融解していることが確認された。

### 3.2 解凍・再凍結に伴う氷結晶形態の変化

Fig.3 に凍結・解凍・再凍結に伴うアイスクリームミックスの変化を示す。Fig.3-A に示す凍結前のミックス中には、分散した油滴が無数に存在した。アイスクリームミックスは、Table.1 に示すように糖などが溶解した水溶液に油脂が分散したエマルジョン構造を成している。本研究で使用したアイスクリームミックスも、微細な油脂が均一に分散したエマルジョン構造をとっていることが確認された。このミックスが凍結すると Fig.3-B に示す様に、ミックス中の構造が観察されなくなった。これは凍結に伴い微細な氷結晶が形成し、顕微鏡の視野を暗黒化させたためと考える。温度を上昇させ、氷結晶を融解させることで、再度、ミックス中の構造が明瞭に観察された (Fig.3-C)。ただし、Fig.3-C は解凍温度 $-0.6^{\circ}\text{C}$ の結果である。凍結前のミックス (Fig.3-A) と同様に、微細な油滴が分散していることがわかった。しかし、凍結前の状態と

比較すると、ミックスの構造にムラが生じていた。そして、一旦 $-0.6^{\circ}\text{C}$ で解凍したミックスを再凍結すると、Fig.3-D に示す様に、氷結晶はある一定の方向に細長く伸びたデンドライト様の形状を成していることが確認された。

解凍処理を経た試料は、氷結晶形態の変化と共にその過冷却解消温度も変化した。光学顕微鏡観察の結果、解凍過程を経していない試料の過冷却解消温度 (一度目に凍結した温度) は、 $-19.1^{\circ}\text{C}(\pm 1.1^{\circ}\text{C})$ であった。これは、 $0.4^{\circ}\text{C}$ 、 $0.2^{\circ}\text{C}$ で解凍した場合、ほとんど変化しなかった。しかし、解凍した温度がマイナスの場合、 $-0.1^{\circ}\text{C}$ で解凍した場合 $-7.4^{\circ}\text{C}(\pm 2.8^{\circ}\text{C})$ 、 $-0.6^{\circ}\text{C}$ で解凍した場合 $-6.2^{\circ}\text{C}(\pm 1.7^{\circ}\text{C})$ となり、解凍温度が低いほど過冷却解消温度が高くなることがわかった。既往の研究より、過冷却解消温度が低いほど、微細な氷結晶が形成することが知られている<sup>10)</sup>。

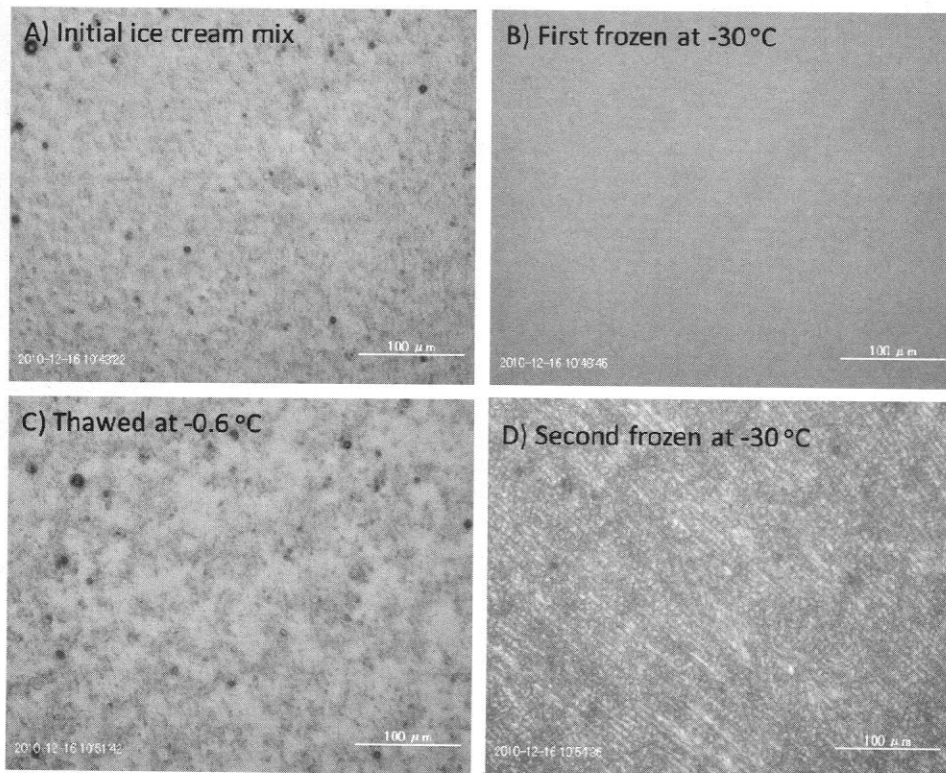


Fig.3 Ice cream mix before and after freeze-thawing at  $-30^{\circ}\text{C}$ . Scale bar =  $100\ \mu\text{m}$

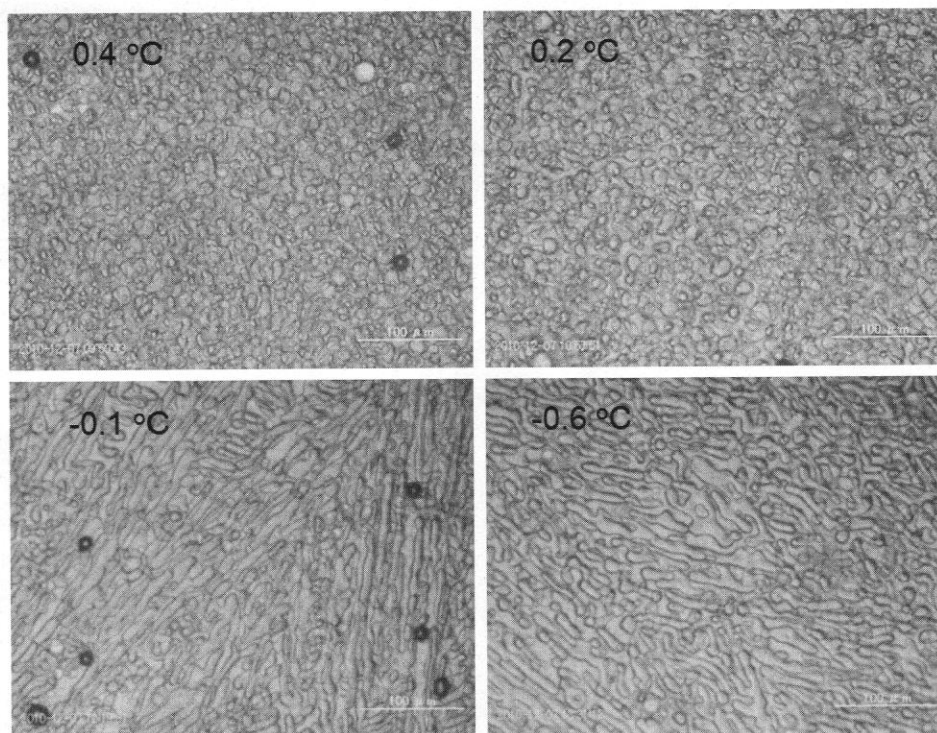


Fig.4 Ice crystals in ice cream mix after re-crystallization. These samples were once thawed at 0.4, 0.2, -0.1, -0.6 °C before re-crystallization. Scale bar = 100  $\mu$ m

従って、過冷却解消温度が高いほど、氷結晶サイズも大きくなると考えられる。しかし、解凍温度に関わらず、試料は再凍結の際に過冷却を起こしており、デンドライト様の氷結晶が形成する様な過度の場ゆらぎが生じたとは考えにくい。従って、デンドライト様の氷結晶が形成した原因として、過冷却以外の原因を考察する必要があると考えられた。

再凍結に伴うミックス中の氷結晶の形態変化を数値的に示すため、 $-5^{\circ}\text{C}$ にて氷結晶を成長させた。その結果を Fig.4 に示す。ただし、各解凍温度での保持時間は0分である。解凍温度  $0.4^{\circ}\text{C}$  では、円形の氷結晶が形成した。形成した氷結晶の形態を、数値的に評価するため、フラクタル解析をおこなった。画像を二値化し、氷結晶の面積  $S$  とその周囲長  $X$  を計測した。その対数値の関係を Fig.5 に示す。式 (1) より、 $0.4$  および  $0.2^{\circ}\text{C}$  で解凍されたアイスクリームミックス中には、再凍結後、 $D=1$  と  $D=2$  のフラクタル次元で示される氷結晶が存在することが確認された。

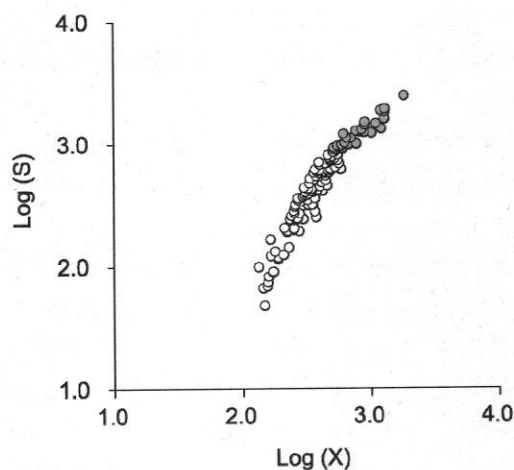


Fig.5 Plots of  $\log(S)$  vs.  $\log(X)$  of ice crystals in ice cream mix. Example for re-crystallization after thawing at  $0.4^{\circ}\text{C}$ .

既往の研究より、アイスクリーム中の氷結晶が円形に近い場合  $D=1$ 、氷結晶が成長・凝集することで  $D=2$  に近い次元をもつことが示されている<sup>5)</sup>。本研究では、氷結晶の形態を解析しやすくするため、 $-30^{\circ}\text{C}$ で再凍結の後、 $-5^{\circ}\text{C}$

まで温度を上昇させて 20 分間保持し、結晶を成長させている。そのため、既往の研究で示されている様な凝集・成長が起こったと考えられる。従って、0.2 および 0.4 °C にて一旦解凍された試料中に多く観測された円形の氷結晶は  $D = 1$ 、凝集によって形成された氷結晶は  $D = 2$  に近いフラクタル次元となったと考えられる。

一方、-0.6、-0.1 °C にて解凍したアイスクリームミックス中には、円形の氷結晶の他に複雑な表面構造を持つデンドライト様の氷結晶が形成していた。これらのデンドライト様の結晶は、プラス温度にて解凍された試料内にみられる凝集によって形成された氷結晶の形態とは、明らかに異なっていた。従って、一時的な解凍が再凍結後の氷結晶形態を変化させる因子の一つであると考えられた。この様な複雑な表面を持つ結晶の二値化は困難であるため、試料中に存在する円形の氷結晶のみフラクタル解析を行った。その結果、-0.6、-0.1 °C にて解凍した試料中に観察される円形の氷結晶も  $D = 1$  で示されることが確認された。マイナス温度にて一旦解凍された試料内に形成したデンドライト様結晶のフラクタル次元の算出は困難であったものの、以上の結果より、円形の氷結晶はすべての解凍温度において  $D = 1$  で示され、 $\log(X) < 2.7$  以下の氷結晶で直線が構成されていた。すなわち、 $S \leq 200 \mu\text{m}^2$  の時、 $D = 1$  で支持される円形の氷結晶であることがわかった。

各試料内に存在する  $D = 1$  で示される氷結晶の数を計測し、解凍温度との関係を検討した。その結果を Fig.6 に示す。ただし、解凍温度での保持時間は 0 分である。図中の Ice crystal number は、各試料において観察した総氷結晶数に対して、 $D = 1$  で示される氷結晶の数を意味する。その結果、解凍温度の低下に伴い円形の結晶の数は減少することが確認された。先に示した様に、 $D = 1$  の数は過冷却解消温度と関係は示唆されるものの、フラクタル次元は、複雑さを示す指標であり、単純に円形の氷結晶が大きくなった場合も  $D = 1$  で示される。従って、本研究で観察された細長い形状の氷結晶は、単純にそのサイズが増加したわけではないと考えられた。

既往の研究において、“半解け”状態のアイス

クリームを電子顕微鏡で観察すると、本研究で観察された様な複雑な形態の氷結晶ができることが知られている<sup>8)</sup>。“半解け”状態がどのような状態であるかは不明であるが、この場合、その形態を変化させる原因は、氷結晶の溶け残りを核として凝集・成長が起きていると考えられる。一方、本研究では DSC 測定においてアイスクリームミックス内の氷結晶は -0.6 °C において完全に融解していることが確認されている。そのため、デンドライト様の氷結晶が形成する原因は、氷結晶の溶け残り以外であると考えられる<sup>11)</sup>。デンドライト様の氷結晶の形成は、試料に温度勾配を付加するなど熱的な揺らぎを必要とする。これらのことを考慮すると、デンドライト様の氷結晶の形成には、残存する構造よりも溶液の物性値に影響する濃縮の影響が大きいと考えられる。従って、一時的な解凍によって生じた濃度分布空間的な揺らぎが解消されることで、氷結晶はマイナス温度における一時的な解凍を経ても、安定成長を経て円形になると予想される。

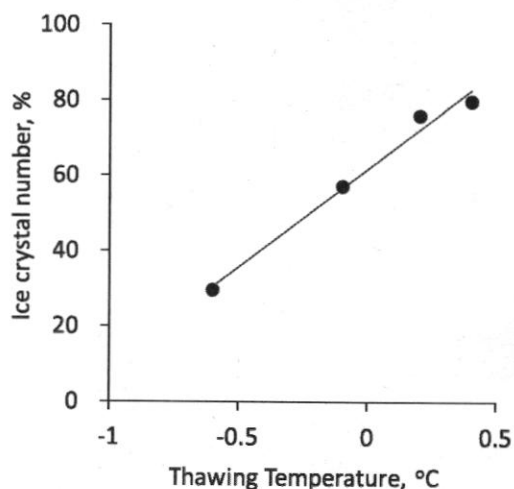


Fig.6 Relationship with thawing temperature and ice crystal number of circle after re-crystallization.

### 3.3 解凍状態の保持と氷結晶形態

凍結・解凍時に水溶液中に生じる濃度のムラが氷結晶形態を変化させる原因であれば、マイナス温度においても解凍した温度で一定時間保持し、水溶液が拡散・混ざり合うことで氷結晶

の形態は円形へと戻ると考えられる。そこで再凍結後、デンドライト様の氷結晶が多く観察された解凍温度  $-0.6^{\circ}\text{C}$  において、解凍状態を保持する時間を増加させ再凍結後の氷結晶形態がどのように変化するかを検討した。得られた光学顕微鏡写真を用いて、先と同様、フラクタル次元  $D=1$  で表される円形の氷結晶の数を計測した。その結果、Fig.7に示すように、保持時間の増加に伴って円形を持つ氷結晶の数が増加することが確認された。従って、マイナス温度において解凍されたアイスクリームでも、解凍した温度で長時間放置すると、再凍結後、円形に近い氷結晶が得られることが確認された。

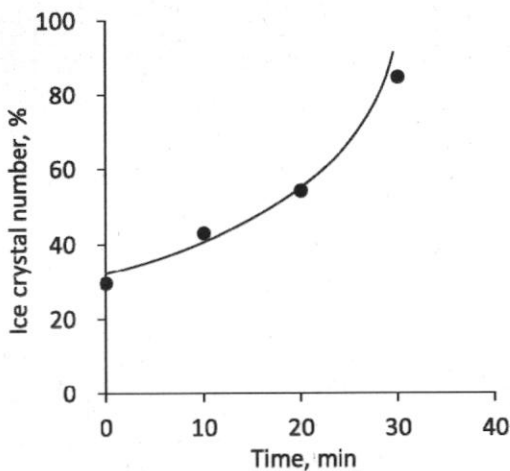


Fig.7 Relationship with holding time at  $-0.6^{\circ}\text{C}$  and ice crystal number of circle after re-crystallization.

アイスクリームの原料であるミックスは、凍結濃縮によって氷結晶以外の部分で水溶液の濃度が著しく上昇する<sup>12)</sup>。アイスクリームにおける凝固点曲線は示されていないものの、その主成分であるスクロース水溶液において、凍結濃縮相のスクロース水溶液濃度は $-30^{\circ}\text{C}$ で75w%、 $-5^{\circ}\text{C}$ においても40 w%となることが知られている。従って、アイスクリームミックスを解凍した場合、一時的には氷結晶の存在した部分とそれ以外の部分では、著しい濃度差が生じていることがわかる。特に、マイナス温度では、凍結濃縮による局所的な濃度の上昇だけでなく、

温度低下に依存した水溶液中の水分子の自己拡散係数の低下が起き、濃度ムラの解消に一定の時間が必要であったと考えられる。

既往の研究において、氷結晶のサイズ・形態とそのかたさの関係が検討されている。そして、本研究において観察された様な複雑な形態の氷結晶が形成したアイスクリームは、円形の小さな氷結晶を含むアイスクリームよりかたいことが示されている<sup>8)</sup>。従って、本研究の結果より、アイスクリームのマイナス温度下における一時的な解凍が、その品質を低下させる原因の1つであることが示された。従って、その品質保持を目指すためには、保存中のみならず解凍や融解による影響についてさらに検討を行う必要があると考えられた。また本研究では、アイスクリームミックスを用い、実際のアイスクリームの重要な構成成分である気泡を排除して検討を行った。従って、今後、再凍結というダイナミックな相変化による気泡の状態についても検討することで、アイスクリームの品質低下の原因をより詳細に示すことができると考える。

以上、本研究において融点以上の低温かつ短時間の解凍を経た場合、再凍結することで必ずデンドライト様の氷結晶がアイスクリーム中に形成されることが明らかとなった。フラクタル解析を行うことで、 $D=1$ のフラクタル次元をもつ $200\ \mu\text{m}^2$ 以下の円形の氷結晶の数が、一時的な解凍温度の低下に伴い減少し、複雑な結晶界面を持つデンドライト様の結晶へと変化してしまうことが示された。しかし、デンドライト様の結晶は、マイナス温度である程度の時間、融解状態を保持することで、再凍結後に観察されなくなった。従って、これらの氷結晶形態の変化には、凍結によって生じた局所的な濃度差に依存している可能性が示された。今後、氷結晶形態が変化してしまう原因を詳しく検討していくことで、凍結食品の品質低下の要因を理解する助けになるのみならず、氷結晶形態を人為的に制御する手法として利用できると考えられる。

#### 4. 結論

低温域におけるアイスクリームの融解による

再凍結後の氷結晶形態に与える影響を検討した。その結果、解凍温度が低温かつ短時間の解凍を経た場合、再凍結後の氷結晶形態が複雑化することを示した。このような複雑な氷結晶ができやすくなる原因として、凍結濃縮によって形成された濃度のムラが、一時的な解凍後においてもなお残存し、再凍結後の氷結晶形態へ影響を及ぼしていることが考えられた。複雑な形の氷結晶は、アイスクリームのかたさを増す要因とされていることから、その品質低下の一因であることが示された。

### 文 献

- 1) D. P. Donhowe, R. W. Hartel: *Int Dairy J.*, **6** (11-12), 1191 (1996).
- 2) D. P. Donhowe, R. W. Hartel: *Int Dairy J.*, **6** (11-12), 1209 (1996).
- 3) T. Hagiwara, R. W. Hartel and S. Matsukawa: *Food Biophysics*, **1** (2), 74 (2006).
- 4) D. B. Dadyburjor, E. Ruckenstein: *J. Crystal Growth.*, **38**, 28 (1977).
- 5) 王昕, 鈴木徹, 渡辺学: 日本冷凍空調学会論文集, **25** (1), 29 (2008).
- 6) R. W. Hartel: "Crystallization in foods", pp.284-308, Aspen Publishers, Maryland (2001).
- 7) 高安秀樹: 「フラクタル」, 朝倉書店, 東京 (1986).
- 8) C. Clarke: "The science of ice cream", Royal society of chemistry, Cambridge (2004)
- 9) 神戸博太郎: 「熱分析」, 講談社サイエンティフィック, 東京 (1988).
- 10) O. Miyawaki, T. Fujii and Y. Shimiya: *Food Sci. Technol. Res.*, **10** (4), 437 (2004).
- 11) 上羽牧夫: 「結晶成長の仕組みを探る その物理的基礎」, p112-122, 東京 (2002).
- 12) Y. H. Roos: "Phase transitions in foods", Academic press, New York (1995).