

界面前進凍結濃縮法における氷相への溶質取り込み機構について

渡邊 淳史¹, 宮脇 長人², 渡辺 学¹, 鈴木 徹^{1,†}

¹ 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科, ² 石川県立大学生物資源環境学部

Mechanism of Solute Incorporation into Ice Phase in Progressive Freeze-concentration

Atsushi WATANABE¹, Osato MIYAWAKI², Manabu WATANABE¹, and Toru SUZUKI^{1,†}

¹Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology,
4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan

²Department of Food Science, Ishikawa Prefectural University, 1-308, Suematsu, Nonouchi, Ishikawa 921-8836, Japan

Progressive freeze-concentration of dilute sodium chloride solution was carried out to analyze the effects of the operating conditions of the ice crystal growth rate $- (u) -$ and the stirring rate $- (N) -$ at the ice-liquid interface on the apparent partition coefficient of solute between ice and liquid phase $- (K) -$. K increased with an increase in the combined operation parameter $u/N^{0.2}$. Under the similar operating conditions, the ice crystal structure was analyzed with pure water as a sample in progressive freezing. By using polarized light analysis, dendrite ice-crystal structure, which grew in the reversed direction of heat flow, was clearly observed. This ice-crystal structure was not observed under the ordinary light. The mean diameter of the dendrite ice-crystal structure showed a clear negative correlation with the combined operation parameter $u/N^{0.2}$. These results suggest that the mechanism of the solute incorporation into ice phase in progressive freeze-concentration is its incorporation in the space between the dendrite ice-crystal structure.

Keywords: progressive freeze-concentration, dendrite ice-crystal structure, partition coefficient, polarized light analysis

1. 緒 言

多量の水分を含む液状食品において、食品の包装、輸送、保存のコスト削減や加工操作などの効率化、水分活性の低下による微生物学的保存安定性を高めるために、液状食品からの水分分離すなわち濃縮操作は必要不可欠な技術である。現在実用化されている液状食品の濃縮操作は、蒸発法、膜濃縮法、凍結濃縮法の3つに分類される。蒸発法は気液平衡を脱水原理とし、加熱により水を水蒸気に変化させて除去する方法である。この方法はコストが最も安い、品質面では最も劣る。膜濃縮法は分子ふるいを原理とし、相変化を伴わないため消費エネルギーは低い、膜コストをランニングコストに追加しなければならない問題がある[1]。一方、固液平衡を原理としている凍結濃縮法は、

蒸発濃縮法や膜濃縮法に比べ最も品質が優れているとされており、低温操作であるため耐熱性に劣る栄養成分や芳香性成分の損失が少ないものの[2]、従来法の懸濁結晶法 (Suspension crystallization) は最もコストの高い濃縮方法であり、そのために凍結濃縮法の適用はかなり限定されたものとなっている[3]。

懸濁結晶法[4]においては、母液中に分散した多数の水結晶の結晶成長により凍結濃縮が進行する。このシステムは、掻き取り伝熱による微細水結晶生成のための熱交換器、微細水結晶を大きく結晶成長させるための再結晶槽、および水結晶を母液と分離するための洗浄装置の3つの部分から構成される。この方法における結晶成長の原理はオストワルドライプニング効果によっており、掻き取り伝熱による微細水結晶を再結晶槽において小さな温度差で長い時間をかけることによって結晶成長させるため、水結晶径を制御することが重要となり、凍結速度や溶質濃度、懸濁液の過冷却度、懸濁液の攪拌速度などの精密な制御、また再結晶槽での二次核生成の抑制も重要となり、さらに生成した氷

(受付 2013 年 8 月 2 日, 受理 2013 年 10 月 7 日)

1 〒108-8477 東京都港区港南 4-5-7

2 〒921-8836 石川県野々市市末松 1-308

Fax: 03-5463-0585, E-mail: toru@kaiyodai.ac.jp

結晶に付着する溶質を除去するための洗浄装置での氷結晶の洗浄工程が不可欠となる [5,6]. このように懸濁結晶法はシステム構成が複雑で, 複雑な制御を必要とするためにコストが高く, このことが懸濁結晶法に基づく凍結濃縮法の実用化の範囲を大きく限定している.

これに対して新しい凍結濃縮法である界面前進凍結濃縮法は, 系にただ1つの氷結晶を生成することで凍結濃縮を行うことに大きな特長があり, システムが単純となり, 懸濁結晶法に比べて大幅なコスト低下が期待できる. 界面前進凍結濃縮法は, 歴史的には実験室規模での微量成分の濃縮法として提案されていたもの [7,8] であるが, Miyawaki らによって食品への応用を目的として, 小型界面前進凍結濃縮実験装置が提案された [9,10]. これは円筒状試料容器, 低温恒温槽, 試料容器送り装置から構成され, 円筒状試料容器を底面から一定速度で冷媒中に降下してゆくことで底面から氷結晶を成長させ, また, 凍結界面近傍に固定されたプロペラによって攪拌を行うことで, 固液界面における物質移動の制御を行う方法である. この方法においては, 容器冷却面に生成した氷相層の成長とともに溶質成分が固液界面から排除されることにより凍結濃縮法が進行する. 氷結晶成長方向が冷却面と直角方向であるため, ノーマルフリージング (normal freezing) または層状凍結法 (layer crystallization) とよばれる.

これまでに Miyawaki らは小型円筒状底面冷却型実験装置を用いて, 凍結濃縮効率に及ぼす諸条件を検討し, 溶質の固液間分配係数が小さく, 純度の高い氷結晶が得られる条件として, 固液界面における攪拌速度を大きくすること, および氷結晶成長速度を小さくすることが有効であることを明らかにしてきた [11,12]. しかし, 凍結界面進行とともに溶質成分が氷結晶側に取り込まれるメカニズムは依然不明である.

そこで, 本研究では同様の界面前進凍結濃縮装置を用い, 塩化ナトリウム水溶液および純水を試料に, 界面前進凍結濃縮により生成する氷結晶の結晶粒界の解析を行い, 溶質の氷相への取り込み機構について検討した.

2. 実験方法

2.1 小型縦型界面前進凍結濃縮装置

界面前進凍結濃縮装置は Fig. 1 に示すような, 底面が金属板の亚克力円筒 (49.4 mm ϕ) の試料容器を低温恒温槽 (NCB-3200, Eyela) 中の冷媒中に一定速度で落とし込んでゆくことにより, 容器底面より氷結晶を成長させて凍結濃縮を行う方式で, この場合, 氷相界面を攪拌することが重要である. 界面前進凍結濃縮においては初期過冷却が凍結濃縮効率を低下させるため, この対策として, あらかじめ円筒容器冷却面に薄い氷

の層を形成させた後, 冷却面からのみ選択的に氷結晶を成長させるアイスライニング法 [13,14], および, 円筒容器冷却面に多数の小孔を穿ち, 小孔の奥がバルク溶液より先に冷却されることを利用して, 氷結晶核生成を誘起する方法である多孔板冷却法 [15] が提案されており, 本実験においては, この両者を併用し過冷却の防止法とした.

多孔板構造構造を有する試料容器底面に, 過冷却防止のため, 1 mL の純水を滴下・凍結させ, そこに試料として 0°C に予冷した塩化ナトリウム水溶液 (溶液濃度 0.1 M) あるいは純水 100 ml を加え, 冷媒温度 (-10 または -15°C), 攪拌速度 (プロペラ型攪拌翼; 500 または 1000 rpm), および試料容器降下速度 (0.5 または 2.0 cm/h) を変化させて凍結濃縮を行った.

2.2 溶質の固液間分配係数の測定

氷結晶の成長に伴う溶液の濃縮度の変化は, 溶液相に完全混合, 氷層に完全非混合条件を仮定することにより, 次式を用いて体積濃縮比 (V_0/V_L) および濃縮濃度比 (C_L/C_0) の関係として理論的に整理することができる [13].

$$(1-K) \ln(V_0/V_L) = \ln(C_0/C_L) \quad (1)$$

ここで, V_0 は溶液体積, V_L は凍結濃縮前の試料全体積, C_0 は凍結濃縮前の溶質濃度, C_L は液相での溶質濃度である. また, K は次式によって定義される溶質の固液間見かけ分配係数で, 凍結濃縮効率の指標となる.

$$K = C_s/C_L \quad (2)$$

ここで, C_s は溶質の氷相側濃度である.

これらの式を用いて 0.1 M 塩化ナトリウム水溶液の

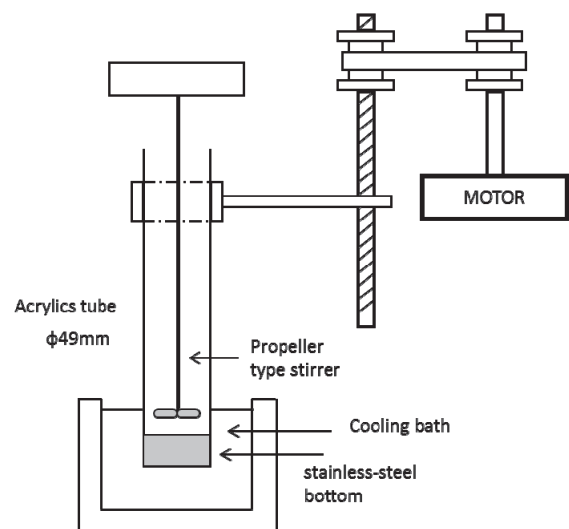


Fig. 1 A small test apparatus for progressive freeze-concentration.

界面前進凍結濃縮を種々の操作条件において行い、溶質の固液間分配係数を求めた。溶質濃度の測定には電導度計 (CM-30S, DKK-Toa) を用いた。

2.3 純水を用いた界面前進凍結における偏光観察法による氷結晶の構造解析

塩化ナトリウムを用いた界面前進凍結濃縮の場合と同様に、試料として純水を用いて界面前進凍結を行い、氷相部と濃縮液相部を分離後、氷相内に生成した氷結晶構造を測定した。この場合、試料は純水であるために、氷結晶成長による凍結濃縮は起こらないが、氷結晶の基本構造は同様であると考えられる。氷相は雰囲気温度 $-25\sim-30^{\circ}\text{C}$ に保たれたアイスショーケース内でハンドソーを用いて、Fig. 2に示すように、観察方向に対して厚さ約1 cmで切り出し、耐水ペーパー (#100~#1500)を用いて約1 mmの厚さに成形し、氷結晶切片を偏光フィルムの上に挟み、光の方向を一方にするためライトボックスの上で氷結晶を観察し、デジタルカメラを用いて撮影を行った。撮影した画像は画像編集ソフトウェア (Microsoft Photoshop) により解析した。

3. 結果および考察

試料として0.1 M NaCl 溶液を用いて界面前進凍結濃縮を種々の操作条件において行い、溶質の固液間分配係数 K を測定した結果を Table 1 に示す。氷結晶成長速度が小さいほど、また固液界面における攪拌速度が大きいほど、 K の値は小さいこと、すなわち氷結晶への溶質の取り込み割合が小さくなっていることがわかる。

界面濃度分極理論によれば、 K の値は氷結晶成長速

度 u および攪拌速度 N に対して次式のような関係があるとされている [11].

$$K = K_0 / [K_0 + (1 - K_0) \exp(-u/k)] \quad (3)$$

ここで、 K_0 は氷結晶成長速度無限小または攪拌速度無限大の場合に相当する分配係数すなわち極限分配係数、また、 k は氷結晶界面における物質移動係数で、これは攪拌速度とは以下の関係にある。

$$k = aN^{0.2} \quad (4)$$

ここで、 a は実験定数である。

これらの理論によれば、分配係数 K は界面前進凍結濃縮法における操作条件の結合パラメーターである $u/N^{0.2}$ と相関を示すことが予想される。そこで、これらの比較を行った結果、Fig. 3に示すように、両者は正の相関を示している。このことは、界面前進凍結濃縮法においては、氷結晶成長速度が小さいほど、また固液界面での攪拌速度が大きいほど、溶質の氷結晶への取り込みが減少し、結果として分配係数 K が低下することを意味しており、このことは従来からの知見と一致している [11,12].

Table 1 Partition coefficient of solute in progressive freeze-concentration of 0.1 M NaCl solution at various conditions.

Descending speed of vessel [cm/h]	Stirring rate N [rpm]	Ice growth rate u [mm/min]	Partition coefficient K [-]
2.0	500	0.283	0.407
2.0	1000	0.250	0.367
0.5	500	0.187	0.325
0.5	1000	0.163	0.165

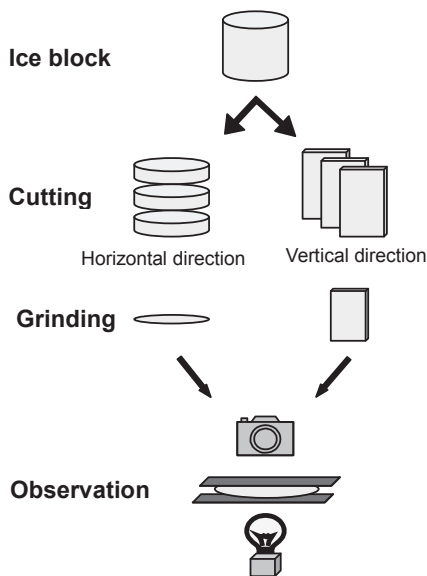


Fig. 2 Method for observation of ice crystal structure formed in progressive freezing.

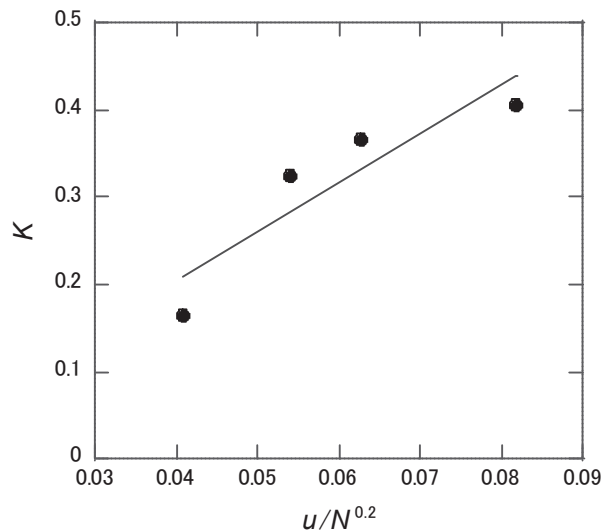


Fig. 3 Effect of ice crystal growth rate (u [cm/h]) and stirring rate (N [rpm]) on solute partition coefficient (K [-]) in progressive freeze-concentration of 0.1 M NaCl solution.

そこで、このような氷結晶への溶質取り込み現象と操作因子との関連を明らかにするため、界面前進凍結濃縮装置において、種々の操作条件で純水を用いた凍結実験を行い、氷結晶構造の観察を行うこととした。Fig. 4 に凍結を試料容器降下速度 0.5 cm/h、攪拌速度 1000 rpm で行った場合の、試料容器内に生成した氷結晶の垂直方向の構造を示す。これより明らかなように、氷結晶は冷却板底面より結晶成長し、デンドライト構造が伝熱方向とは逆方向である上方に向かって成長していることがわかる。このような純水を用いた氷結晶では、通常の可視光観察においてはこのような氷結晶構造は見られず、見かけ上一様な氷結晶が観測される。しかしながら、ここで用いた偏光観察法によれば、一見均一な氷結晶の中に、異なった氷結晶粒界の存在を明瞭に見ることができる。このことは界面前進凍結において生成した氷結晶は単一氷結晶ではなく、伝熱と逆方向に生成した多数のデンドライト結晶粒の集合体であることを示している。

そこで、今度は、この結晶粒構造を明らかにするため、生成氷結晶の水平方向での偏光観察を行うこととした。結果は Fig. 5 に示すように、比較的形状の揃った明瞭な結晶粒構造を見ることができ、試料容器降下速度が小さいほど、また、攪拌速度が大きいくほど結晶構造が大きくなっていることを定性的に見ることができる。そこでこのことをより定量的に明らかにするため、種々の界面前進凍結条件で実験を行い、平均氷結晶粒径を測定した結果を Table 2 に示す。これより、氷結晶成長速度が小さいほど、また、攪拌速度が大きいくほど、平均氷結晶構造が大きくなっていることがわかる。そこで、このことをより明瞭にするために、先の界面濃度分極理論において用いた界面前進凍結濃縮法における操作条件の結合パラメータである $u/N^{0.2}$ と平均氷結晶粒径 d_p との比較を行った結果、Fig. 6 に示すように、両者の間に明瞭な負の相関を見いだすことができた。

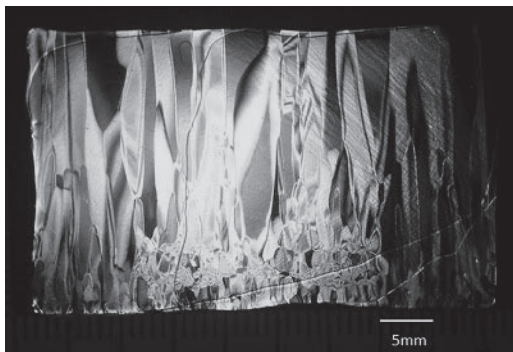


Fig. 4 Vertical view of ice crystal structure formed in pure water frozen at descending speed of the sample vessel at 0.5 cm/h and stirring rate at 1000 rpm in progressive freezing frozen at -15°C .

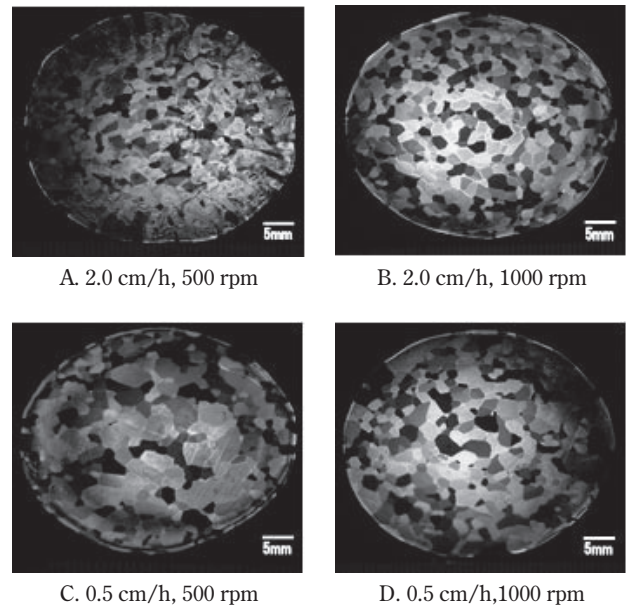


Fig. 5 Horizontal view of ice crystal structure formed in pure water frozen at various operating conditions of descending speed of the sample vessel and stirring rate in progressive freezing frozen at -15°C .

Table 2 Ice crystal structure size formed in pure water frozen at various conditions in progressive freezing.

Coolant temperature [°C]	Descending speed of vessel [cm/h]	Stirring rate N [rpm]	Ice growth rate u [mm/min]	Average ice crystal size, d_p [mm]
-10	0.5	500	0.146	1.65
-10	0.5	1000	0.138	2.14
-10	2.0	500	0.225	1.51
-10	2.0	1000	0.217	1.55
-15	0.5	500	0.237	1.53
-15	0.5	1000	0.188	1.61
-15	2.0	500	0.326	1.12
-15	2.0	1000	0.316	1.22

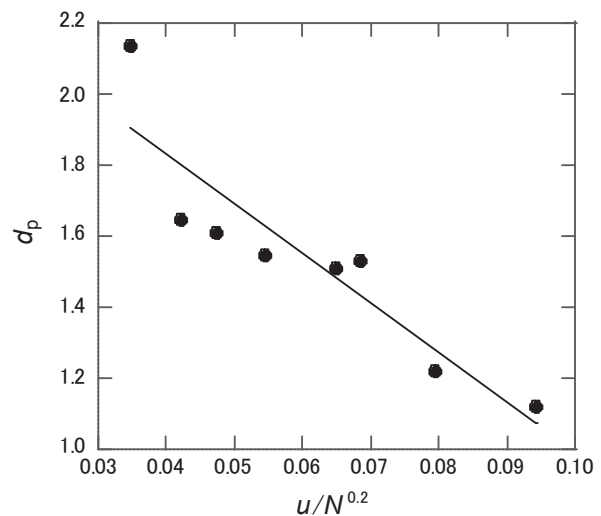


Fig. 6 Effect of ice crystal growth rate (u [cm/h]) and stirring rate (N [rpm]) on ice structure size (d_p [mm]) formed in progressive freezing of pure water.

以上の結果を総合すると、界面前進凍結濃縮法における溶質の固液間分配係数 K は操作条件の結合パラメータ $u/N^{0.2}$ と正の相関を示し、一方、生成した氷結晶平均径は同じパラメータと負の相関を示している。界面前進凍結濃縮における分配係数 K は溶質の氷結晶への取り込み現象に支配されるが、この氷結晶への溶質の取り込みは、実際には氷結晶構造内に取り込まれることは考えにくく、異なった氷結晶粒の間隙に取り込まれるものと考えられる。したがって、結合パラメータ $u/N^{0.2}$ が大きい条件では小さな氷結晶が生成し、そのために結晶粒界部分の存在比率が高まり、溶質がこの結晶粒界に取り込まれやすくなるために、 $u/N^{0.2}$ が大きい条件においては分配係数 K の値が大きくなったものと考えられる。

4. 結 言

希薄塩化ナトリウム溶液の界面前進凍結濃縮における操作条件として、氷結晶生成速度および氷相界面での攪拌速度が、溶質の氷相への取込み指標である固液間分配係数に及ぼす影響を解析した。さらに、純水を用いた界面前進凍結において、同様の操作条件変化の生成氷結晶構造への影響について検討した。氷結晶構造については通常の可視光では見えない冷却面より成長するデンドライト構造が偏光観察法により明瞭に観測され、その構造に及ぼす操作条件の影響を塩溶液の界面前進凍結濃縮における溶質固液間分配係数への影響と比較することにより、界面前進凍結濃縮における氷相への溶質取り込み機構は、デンドライト構造の間隙に溶質が取り込まれることによるものであることが推察された。

界面前進凍結濃縮法における氷相への溶質取り込み現象による収率低下は本方法の重大な欠点であるとされているが、最近、これに対する対策として氷結晶部分融解法による収率改善が提案されており [16]、本研究において得られた知見は、この氷結晶部分融解法の機構の説明にも有効であるものと考えられる。

引 用 文 献

- 1) O. Miyawaki, M. Nakajima; Application of membrane technology in food processing (in Japanese). *Membrane*, **19**, 81-98 (1994).
- 2) S. Yamazawa, S. Yoshizaki, T. Maekawa, S. Tan, J. Samata; Growth of ice crystals in the process of freeze concentrating satsuma mandarin juice (in Japanese). *J. Food Sci. Technol.*, **22**, 331-336 (1975).
- 3) O. Miyawaki; Recent progress in freeze concentration (in Japanese). *Refrigeration*, **77**, 31-37 (2002).

- 4) N. J. J. Huige, H. A. C. Thijssen; Production of large crystals by continuous ripening in a stirrer tank. *J. Crystal Growth*, **13/14**, 483-487, (1972).
- 5) T. Kobayashi; The present states of cryo-milling and cryo-concentration and their application for foods (in Japanese). *Shokuhin-to-Kaihatsu*, **22**, 34-37 (1987).
- 6) H. Ogawa, H. Tdanobu; Kaju-no-toketsu-noshuku-gijutsu (in Japanese), "Shokuhinn-to-garasu-ka-kesshou-ka-gijutu" (ed. N. Murase, K. Sato), Saiensu-Foramu, Tokyo, Japan, 2000, pp.232-237.
- 7) J. S. Matthews, N. D. Coggeshall; Concentration of impurities from organic compounds by progressive freezing. *Anal. Chem.*, **31**, 1124-1125 (1959).
- 8) J. Shapiro; Freezing-out, a safe technique for concentration of dilute solutions. *Science*, **133**, 2063-2064 (1961).
- 9) O. Miyawaki, S. Arai, S. K. Bae; Control of freezing front structure and its effect on the concentration-efficiency in the progressive freeze-concentration. *Cryobiol. Cryotechnol.* **40**, 29-32 (1994).
- 10) L. Liu, O. Miyawaki, K. Nakamura; Progressive freeze-concentration of model liquid food. *Food Sci. Technol. Int. Tokyo*, **3**, 348-352 (1997).
- 11) O. Miyawaki, L. Liu, K. Nakamura; Effective partition constant of solute between ice and liquid phases in progressive freeze-concentration. *J. Food Sci.*, **63**, 756-758, (1998).
- 12) X. Gu, T. Suzuki, O. Miyawaki; Limiting partition coefficient in progressive freeze-concentration. *J. Food Sci.*, **70**, E546-E551 (2005).
- 13) Y. Yamazaki, H. Yazawa, Y. Hirata; Experimental study on freeze concentration with ice-lining (in Japanese)., *Kagaku-Kogaku-Ronbunshu*, **24**, 1, 30-36 (1998).
- 14) Y. Yamazaki, H. Yazawa, Y. Hirata; A study of solute incorporation into ice-layer on freeze concentration with ice-lining (in Japanese)., *Kagaku-Kogaku-Ronbunshu*. **24**, 4, 704-707 (1998)
- 15) L. Liu, T. Fujii, K. Hayakawa, O. Miyawaki; Prevention of initial supercooling in progressive freeze-concentration. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 2467-2469 (1998).
- 16) O. Miyawaki, S. Kato, K. Watabe; Yield improvement in progressive freeze-concentration by partial melting of ice. *J. Food Eng.*, **108**, 377-382 (2012).

要 旨

希薄塩化ナトリウム溶液を用いて界面前進凍結濃縮を攪拌条件として氷結晶生成速度 u および氷相界面での攪拌速度 N を変化させて行い、溶質の氷相への取込み指標としての固液間分配係数 (K) への影響を測定し、操作条件の結合パラメータ $u/N^{0.2}$ が大きいほど K の値

は大きくなることがわかった。一方、純水を用いて、同様に操作条件を変化させて界面前進凍結を行い、生成氷結晶構造を測定した。偏光を用いた観察法により、通常の可視光では均一に見える氷結晶が、伝熱方向と逆方向に成長した多数のデンドライト構造の集合体で

あることが明らかとなり、その氷結晶平均径は結合パラメータ $u/N^{0.2}$ と明瞭な負の相関を示すことがわかった。これらを総合して、界面前進凍結濃縮における氷相への溶質の取込み機構は氷結晶粒の間隙への取込みであることが推察された。