

## 液体窒素凍結による脂肪分の多いブリ切り身の脱油現象

竹内友里\* 李潤珠\*\*† 渡辺学\*\*\* 鈴木徹\*\*

- \* 東洋製罐グループホールディングス株式会社イノベーション推進室(141-8627 東京都品川区東五反田 2-18-1)
- \*\* 東京海洋大学産学・地域連携推進機構サラダサイエンス寄附講座(108-8477 東京都港区港南 4-5-7)
- \*\*\* 東京海洋大学食品生産科学部門(108-8477 東京都港区港南 4-5-7)

## 要約

本研究は液体窒素凍結によるブリの脱油現象調査を目的とした。脱油現象を観察するため、 $-30^{\circ}\text{C}$ で静置凍結および液体窒素で浸漬凍結したブリ切り身試料を作製し、流水解凍後に紙皿に置いた状態で $25^{\circ}\text{C}$ で10時間放置した結果、液体窒素凍結の方が多く脱油された。また、解凍後の時間経過によるドリップ流出において、 $-30^{\circ}\text{C}$ 凍結や液体窒素での浸漬凍結を行い、流水解凍直後と解凍後に $10^{\circ}\text{C}$ または $25^{\circ}\text{C}$ で18時間保存後に脱水率・脱油率の測定を行った。解凍直後のドリップ流出率は液体窒素凍結の方が0.4%で低かったが、 $10^{\circ}\text{C}$ や $25^{\circ}\text{C}$ の保存後はともに2倍以上の増加傾向であった。 $25^{\circ}\text{C}$ 保存後では、液体窒素凍結試料の脱水率が7.6%、脱油率は5.5%であり、顕著に高い結果であった。以上の結果から、解凍後の貯蔵過程におけるドリップ量、特に脂質分の流出が多くなることが分かった。

キーワード: 冷凍, 解凍, 脱油, 液体窒素, ブリ

## 1. 緒言

水産物の物流・保管には多くの場面で冷凍技術が利用されてきた<sup>1,3)</sup>。魚の切り身やフィレは通常、 $-20^{\circ}\text{C}\sim 40^{\circ}\text{C}$ 程度の空気媒体を試料に吹き付けて凍結するエアブラスト、あるいはブラインと呼ばれる低温の液体媒体に浸漬させて凍結される。凍結の手法は様々であるが、凍結速度が早ければ早いほど魚肉内の氷結晶の成長が抑制され微細な氷結晶が生成される。商業的には凍結過程でいわゆる最大氷結晶生成帯( $-1^{\circ}\text{C}\sim -5^{\circ}\text{C}$ )を30分以内で通過させる手法を急速凍結と呼び、多くの魚肉がそういった手法で凍結が行われている。急速凍結では魚肉内の氷結晶が微細化され凍結時の魚肉内組織のダメージが小さくなる<sup>4)</sup>。その後、同様な雰囲気での冷凍保管庫で物流・貯蔵される。

常圧で $-196^{\circ}\text{C}$ に沸点をもつ液体窒素を用いた凍結法は凍結速度が極めて速いため氷結晶による組織ダメージの少ない凍結品が得られることが知られている<sup>5)</sup>。一方、魚肉等を $-196^{\circ}\text{C}$ に近い温度まで凍結すると組織の脆弱化が起こり、

それを利用した凍結粉碎、成分の分離への応用なども提案されている<sup>6,7)</sup>。

しかしながら、偶然ではあるが脂肪分の多いブリ切り身を液体窒素温度まで一旦凍結し解凍した際、通常では見られない量のドリップ流出があることが見出された。この現象は液体窒素での凍結が他の凍結手段よりも高品質で凍結されると考えられていることに反するものである。本研究は、上記現象の再現性を含めた試験を行い上記現象がありうることを示すと同時に、その条件と流出成分の内容について検討した。

## 2. 実験方法

## 2.1 試料

試料は冬場の宮崎県養殖場にて試験前日に水揚げされた養殖ブリフィレ(約1.5 kg)を使用した。

## 2.2 液体窒素による凍結時の脱油現象の再確認

上記ブリフィレを厚さ2 cmで切り出し、約30 gの試料を作製した。時間をおかず多量の液

†Fax:+81 3-5463-0522 E-mail:ylec000@kaiyodai.ac.jp

体室素に試料を10分間浸漬し沸騰が止み試料が液体窒素温度と平衡になるまで凍結した。またコントロールとして、 $-30^{\circ}\text{C}$ の冷凍保管庫内でトレイに静置し3時間凍結した。

これらを $18^{\circ}\text{C}$ の流水で30分間解凍し、紙皿に載せて10時間 $25^{\circ}\text{C}$ で放置し、外観を撮影し脱油現象を観察した。

この試験時には試料の大きさが不定であるため凍結曲線の記録は行わなかったが、次に述べる2.3の試験では試料形状をそろえ凍結温度履歴を記録した。

### 2.3 脱水率および脱油率の測定

2.2 で用いた同様の未凍結ブリフィレを体軸方向に厚さ2 cm にスライスし、その背側部分から直径3 cm のコルクボーラーを用いて円筒状の試料( $12\pm 2$  g)を切り出し、重量を測定記録した。その後試料を多量の液体窒素に浸漬して10分間の浸漬凍結(LF)を行った。一方コントロールとして $-30^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫で3時間の静置凍結(SF)を行った。凍結履歴を Fig. 1 に示す。いずれも上記設定時間では雰囲気温度とほぼ平衡になっていることが確認できた。

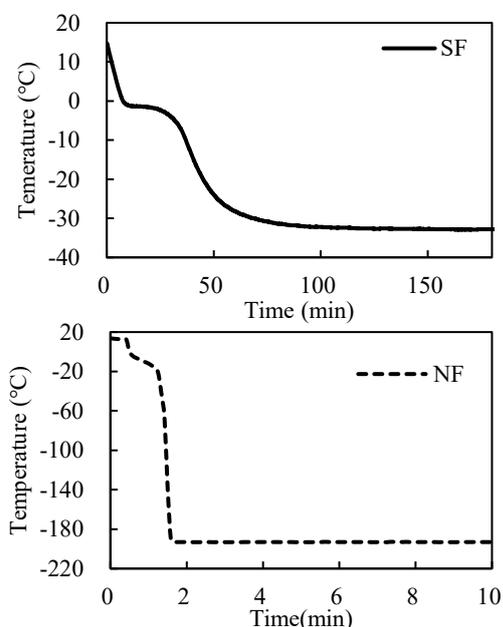


Fig. 1 Temperature profiles of yellowtail during freezing: SF: stationary freezing at  $-30^{\circ}\text{C}$ ; LF: immersion freezing in liquid nitrogen.

前述の方法で凍結された試料を重量測定済の

ペーパータオルとともにポリエチレン袋に入れ、約 $18^{\circ}\text{C}$ の流水で約30分間解凍を行った。解凍中に流出したドリップをペーパータオルに吸収させ、解凍後のペーパータオルの重量増加量を全ドリップ量とした。

その後、ペーパータオルを $105^{\circ}\text{C}$ の乾燥機に24時間静置し水分を除去した。この重量減少量を水分量とした。この際油分の多くは依然ペーパータオルに残存していると仮定し、乾燥後のペーパータオルの重量から始めのペーパータオルの重量を引いたものを油量とした。その結果から脱水率および脱油率は下の式より算出した。初期重量は解凍前試料重量である。

$$\text{脱水率 (\%)} = \frac{\text{流出した水の重量}}{\text{初期重量}} \times 100$$

$$\text{脱油率 (\%)} = \frac{\text{流出した油の重量}}{\text{初期重量}} \times 100$$

さらに、解凍した試料を $10^{\circ}\text{C}$ および $25^{\circ}\text{C}$ の恒温器で18時間保存した試料についても同様に脱水率と脱油率をそれぞれ3回の測定を行った。

### 2.4 テクスチャー測定

液体窒素を用いて10分間の浸漬凍結(LF)を行った試料、および $-30^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫を用いて3時間の静置凍結(SF)を行った試料を、ポリエチレン袋に入れ約 $18^{\circ}\text{C}$ の流水で約30分間解凍した直後、また、解凍した試料を $25^{\circ}\text{C}$ の恒温器で18時間保存した試料、それぞれテクスチャー測定を行った。各試料につき6回の測定を行った。レオメータ(RE-3305, YAMADEN Co., LTD, Tokyo, Japan)を用いて押し込み試験によるテクスチャー測定を行った。試料に対して80%押し込み時の最大荷重を求めた。プランジャーは長さ20 mmの楔型を用いた。プランジャーが筋繊維の垂直になるように試料を置いて、押し込み速度は1 mm/s、室温で測定を行った。時間的変化を記録計(DR1100, YAMADEN Co., LTD, Tokyo, Japan)のチャート紙に記録させ、得られたピークより最大荷重を算出した。

### 2.5 色彩測定

$18^{\circ}\text{C}$ で30分間の流水解凍直後および同様の解凍後に $25^{\circ}\text{C}$ で18時間保存した試料中心部(血合いを除いた)の表面の色合いを色彩色差計

(CM-600d, MINOLTA, Japan)を用いて6回の測定を行った。測定結果は生試料を初期値とし、明度( $\Delta L^*$ ), 赤色度( $\Delta a^*$ ), 黄色度( $\Delta b^*$ )の差を示した。

## 2.6 統計分析

測定データはMicrosoft社のExcelを用いて1元配置分散分析による有意差検定を行った。

# 3. 実験結果

## 3.1 液体窒素凍結による解凍後のドリップ流出の観察

-30℃で静置凍結(SF)および液体窒素で浸漬凍結(LF)した試料を解凍し、10時間放置後の状態をFig. 2に示す。LF試料は、切り身から大量に流出されたドリップで紙皿全体が濡れていることが観察された。先行研究において一般的に魚肉の凍結では、液体窒素を用いた凍結方法は超急速凍結となることから、大きな試料では身割れなどが起こること以外、解凍後もドリップ流出は極めて少なく、高品質のものが得られると報告されている<sup>7-10</sup>。しかし、本研究の結果は全く逆の傾向であり、これまでに報告例のない現象であった。

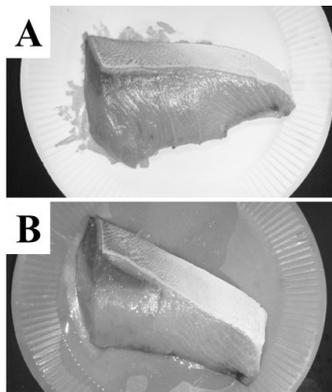


Fig. 2. The pictures of thawed yellowtail after storage for 10 h at 25°C: (A) frozen at -30°C, (B) frozen in liquid nitrogen.

## 3.2 解凍後の時間経過がドリップ流出挙動に及ぼす影響

2条件で凍結処理したブリ試料の解凍直後と、解凍したのち保存した後の脱水率と脱油率をFig. 3に示す。

解凍直後、脱水率と脱油率を合計した全ドリ

ップ流出率は、LF試料は0.5% ( $\pm 0.1$ ), SF試料は1.5% ( $\pm 0.2$ )で、ドリップ流出からみて従来から言われている液体窒素凍結法の優位性が示された。これは、液体窒素凍結による氷結晶成長の抑制によるものと考えられる。

しかし、10℃で18時間放置した場合、ドリップ流出率は両試料とも増加したものの、LF試料の方がより著しく脱水・脱油率が増加する傾向にあった。しかし、凍結方法による脱水率の優位な差は認められなかった。一方、25℃で18時間保存後のドリップ流出率は、いずれの凍結条件においても、10℃での保存時に比べ2倍以上の増加傾向であり、LF試料が約12%、-30℃凍結試料が約8%であった。

ドリップのうち、算出した脱水率は、凍結直後ではLF試料が0.4% ( $\pm 0.1$ ), SF試料が1.2% ( $\pm 0.2$ )%であり、10℃保持ではLF試料が2.0% ( $\pm 0.4$ )%, SF試料が1.6% ( $\pm 0.0$ )%であったが、25℃保持後、LF試料が7.6% ( $\pm 0.3$ )%, SF試料が5.5% ( $\pm 0.2$ )%となり、その差は2.1%であった。脱油率は凍結直後ではLF試料が0.1% ( $\pm 0.1$ )%, SF試料が0.4% ( $\pm 0.1$ )%であり、10℃保持ではLF試料が1.7% ( $\pm 0.4$ )%, SF試料が0.4% ( $\pm 0.0$ )%であったが、25℃保持後、LF試料が4.6% ( $\pm 0.4$ )%, SF試料が1.4% ( $\pm 0.3$ )%となり、3.2%の差が見られた。よって、解凍後の保存温度が高い方が、液体窒素凍結による脱油現象が顕著になることが明らかになった。

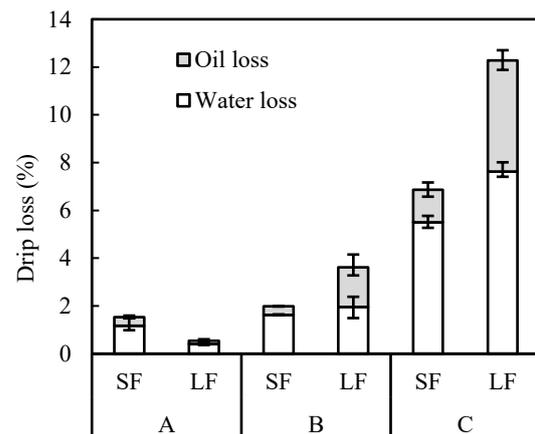


Fig. 3 Drip loss of yellowtail meat after thawing: SF: stationary freezing at -30°C; LF: immersion freezing in liquid nitrogen. A: just after thawing at 18°C, B: after thawing and storage at 10°C for 18 h, C: after thawing and storage at 25°C for 18 h

さらに脱油現象発生時における品質変動を表すテクスチャー測定結果、および色彩測定を行った結果を Fig. 4 および Fig. 5 に示す。

テクスチャー測定結果では、保存条件によらず LF 試料の最大荷重が若干低い程度であり、25 °C で保存した場合には検定の結果、凍結方法による有意差が確認された (Fig. 4)。組織の最大荷重は凍結・解凍条件の差によって顕著な変化を示さなかった。十分な検証を行っていないが、本研究で扱った凍結条件は SF においても Fig. 1 に見られるようにいわゆる急速凍結（最大氷結晶生成帯を 30 分以内で通過）の範疇に入るため、いずれも破断強度に影響を与える細胞間の結合組織の破壊までには至っていないと考えられた<sup>11-12)</sup>。

色調の変化に関して明度は Fig. 5 に示すように解凍直後に比べ 18 時間保持後では、−30 °C 凍結試料、液体窒素凍結試料ともに値が増加していた。液体窒素凍結試料は大量の脱油が起きていたが、脱油が起きない−30 °C 凍結試料と比べて明度の差は認められなかった。以上の結果より、凍結脱油現象を起こしても外観(色彩)や組織の強度には大きな影響を及ぼさないことが示された。

解凍後にはすぐに脱油せず、解凍後の一定時間時間の後、ドリップが流出増加すること、またその保持温度が高いほどドリップ量が増加することについては、以下のような仮説が考えられる。すなわち本研究の凍結・急速解凍のような条件では筋肉細胞膜構造、及び筋肉タンパク質の変性は極わずかであるが、解凍後の保持の間に酵素的な細胞膜の崩壊が起きるためドリップ流出量全体(細胞内成分の流出)が増大する。それに対してテクスチャーが保持されるのは細胞間結合組織が依然しっかり保持されているためであると考えられる。またドリップ流出成分のうち脂質成分が、−30 °C 静置凍結に比較して液体窒素凍結試料で明らかに増加している理由は、次のように推察される。すなわち、脂肪分の多いブリの様な魚肉内では脂質はエマルジョン状態で細胞に蓄積されている。昨今、水中油型エマルジョン状態の脂質の結晶化温度を調べた研究によると、バルク(連続相)としての脂質の結晶化温度よりもエマルジョン状態の脂質の結晶化温度は著しく低くなることが報告されている<sup>13-14)</sup>。ブリ切り

身細胞内のエマルジョン状油脂は−30 °C 雰囲気下では結晶化しないが、液体窒素温度まで冷却されるとエマルジョン内で結晶析出が起これ、エマルジョン崩壊が生じる。その結果、連続した油相と水相に分離するため流動性が増しドリップとして流出増大を招くと考えられる。ただし、ブリ切り身細胞内のエマルジョン状脂質の結晶化に関する情報は不明であり、今後上記仮説を裏付けるための細胞内脂質の状態観察等が必要と考えられる。

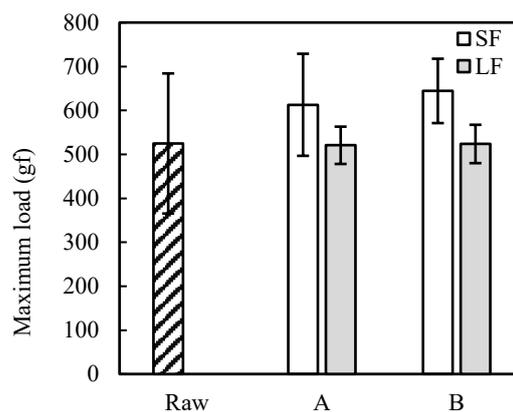


Fig. 4 Maximum load after thawing of frozen yellowtail meat with different methods: SF: stationary freezing at −30 °C; LF: immersion freezing in liquid nitrogen.

A: just after thawing at 18 °C, B: after thawing and 18h storage at 25 °C, Raw: yellowtail meat before freezing

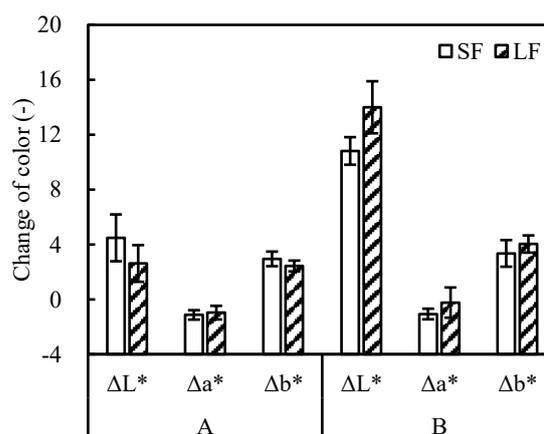


Fig. 5 Color changes of yellowtail meat after thawing: SF: stationary freezing at −30 °C; LF: immersion freezing in liquid nitrogen.

A: just after thawing at 18 °C, B: after thawing and storage at 25 °C for 18h

#### 4. 結 論

これまで食品冷凍技術において液体窒素のような極低温を使った凍結法、及び液体窒素温度での保管は最もすぐれた条件と考えられてきたが、必ずしも脂質を多く含む動物性素材であるブリ切り身では正しくないことが分かった。

今後、この現象のメカニズムの解明において細胞内の脂質成分の極低温における結晶化といった物理化学的状態変化の関与の証明が必要である。また解凍後の脂肪細胞膜の損傷進行の関与についても顕微観察など他の手段によって現象の理解が進むものと考えられる。

#### References

- 1) Suzuki, T., Frozen food and home freezing. *Journal for the Integrated Study of Dietary Habits*. 2020, **30**(4), pp. 178-182. (in Japanese)
- 2) Okazaki, E., I-2. Effect of freezing and storage conditions on the seafood quality. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 2016, **82**(6), p. 953. (in Japanese)
- 3) Archer, D. L. Freezing: an underutilized food safety technology?. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, **90**(2), pp. 127-138.
- 4) Miyawaki, O. Control of ice crystal state in frozen food and its application. *Cryobiology and Cryotechnology*, 1998, **44**(1), pp. 43-50.
- 5) Chen, Y.L., Pan, B.S., Morphological changes in tilapia muscle following freezing by air blast and liquid nitrogen methods. *International Journal of Food Science & Technology*, 1997, **32**(2), pp. 159-168.
- 6) Hagura, Y. and Watanabe H., Factors affecting separation of low fat flesh from fatty fish by Cryohattering, *Journal of Food Science*, 1991, **56**(6), pp. 1567-1571.
- 7) Hagura, Y., Horita, R. and Suzuki, K., Freeze-grinding separation of flesh and bone in processed marine food waste, *Food Science and Technology Research*, 2002, **8**(3), pp. 221-226.
- 8) Mørkøre, T. and Lilleholt, R. Impact of freezing temperature on quality of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Journal of Texture Studies*, 2007, **38**(4), pp. 457-472.
- 9) Chakrabarti, R. and Chaudhury, D.R. Advantages of liquid nitrogen freezing of *penaeus mondon* over conventional plate freezing. *Fishery Technology*, 1987, **24**(1), pp. 44-47.
- 10) Li, D., Zhao, H., Muhammad, A.I., Song, L., Guo, M. and Liu, D. The comparison of ultrasound-assisted thawing, air thawing and water immersion thawing on the quality of slow/fast freezing bighead carp (*Aristichthys nobilis*) filets. *Food Chemistry*, 2020, **320**, p. 126614.
- 11) Shi, L., Yang, T., Xiong, G., Li, X., Wang, X., Ding, A., Qiao, Y., Wu W., Liao, L. and Wang, L. Influence of frozen storage temperature on the microstructures and physicochemical properties of pre-frozen perch (*Micropterus salmoides*). *Lwt-Food Science and Technology*, 2018, **92**, pp. 471-476.
- 12) Ueno, S., Takahashi, R., Liu, H., Shimada, R. and Do, G. Effect of freezing condition and lipid content on the quality parameters of mackerel. *Trans. JSRAE*, 2018, **35**(3), pp. 225-230. (in Japanese)
- 13) Tamaki, R., Kawai, K., Viriyarattanasak, C., Kimizuka, N. and Suzuki, T. Crystallization and equilibrium melting temperatures from binary lipid mixture. *Japan Journal of Food Engineering*, 2005, **6**(4), pp. 253-258. (in Japanese)
- 14) Tamaki, R., Lee, Y. and Suzuki, T. Effect of lipid components interaction on supercooling and depression of equilibrium freezing point. *Trans.JSRAE*, 2020, **37**(4), pp. 411-416. (in Japanese)

## **The Phenomenon of Frozen Yellowtail Muscle by Liquid Nitrogen Freezing**

Yuri TAKEUCHI\*    Younju LEE\*\*†    Manabu WATANABE\*\*\*    Toru SUZUKI\*\*

\* Toyo Seikan Group Holdings, Ltd., Innovation Promotion Division (2-18-1, Higashigotanda, Shinagawa-ku, Tokyo 141-8627)

\*\* Salad Science (Endowed Laboratory), Office of Liaison and Cooperative Research, Tokyo University of Marine Science and Technology (4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo, 108-8477)

\*\*\* Department of Food Science and Technology, Graduate School of Tokyo University of Marine Science and Technology (4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo, 108-8477)

### **Summary**

We aimed to investigate the de-oiling phenomenon of yellowtail on freezing using liquid nitrogen (LN<sub>2</sub>). The yellowtail samples were frozen at -30 °C (stationary freezing, SF) or soaked in LN<sub>2</sub> to observe the de-oiling phenomenon. The thawed samples were left on a paper plate at 25 °C for 10 h. As a result, it was observed that the LN<sub>2</sub> frozen sample was de-oiled more than the sample of SF. The raw yellowtail was frozen in a stocker at -30 °C and soaked in LN<sub>2</sub>. The water and oil loss were obtained on thawing under running water the frozen yellowtail and stored at 10 °C or 25 °C for 18 h. The drip loss immediately after thawing was 0.4% lower in the sample with LN<sub>2</sub> freezing. On the other hand, the drip loss of the LN<sub>2</sub> frozen sample was higher than the frozen sample in SF after storage at 10 °C and 25 °C. After storage at 25 °C, the water loss was 7.6%, the oil loss was 5.5% in the LN<sub>2</sub> frozen samples, which was significantly higher. From the results, we found that the amount of drip loss, especially the outflow of lipids, increases during storage after thawing.

**Keywords:** Freezing, Thawing, De-oiling, Liquid nitrogen, Yellowtail