

第8回冷凍技士研修会

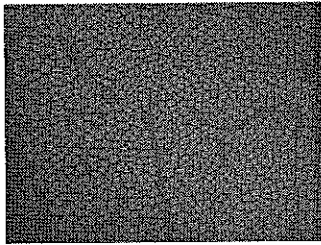
「凍結標本作製法」実技研修会

主催：(社)日本冷凍空調学会 冷凍技士運営委員会

日時：平成17年3月2日(水) 14:00~16:30

場所：東京海洋大学 海洋食品科学科 食品冷凍学研究室 港区港南4-5-7

食品内で凍結中に氷がどのように生成し、そして成長しているのかを観察する方法はいろいろありますが、その1つに凍結置換(Freeze substitution)法があります。凍結小片を同温度のエタノールに浸漬し、氷をあるがままの状態のエタノールと置換し、置換後は常法通り標本作製して顕微鏡観察するのです。この方法は国際的に認められ比較的簡便安価なためによく普及しています。参考までに凍結置換法による写真を下に示します。



超急速凍結(マサバ)



緩慢凍結(スケトウダラ)

(超急速凍結では細胞内微結晶凍結、緩慢凍結では細胞外大結晶凍結することが分かります)

海洋大学鈴木徹教授のご厚意により研修会実現の運びとなりました。関心ある方のふるってのご参加をお待ちしております。

募集人数： 20名(冷凍空調技士、食品冷凍技士の有資格者)定員になり次第締め切ります。

参加費： 無料(代理出席不可)

CPDポイント 2.5

集合時間： 13:30(時間厳守) 変更の際は追ってご連絡致します。

集合場所： 東京海洋大学正門前(JR品川駅徒歩10分)

申込方法： 下記申込書に必要事項ご記入の上、学会へFAXまたは郵送でお申し込み下さい。
参加券・集合場所の地図をお送りします。

申込先： 〒160-0008 東京都新宿区三栄町8番地 三栄ビル

(社)日本冷凍空調学会 冷凍技士研修会係

TEL 03-3359-5231 FAX 03-3359-5233

切取線

NO. _____

「凍結標本作製法」実技研修会 申込書

氏名			
	技士登録NO.()	★継続教育(CPD)登録者は番号をご記入願います	NO.()
会社名			
住所			
TEL	()	FAX	()

第8回
冷凍技士研修会

「凍結標本作製法」実技研修会

白石 真人* Masato SHIRAISHI

1. はじめに

冷凍技士研修会は日本冷凍空調学会の「空調・食品と生物・環境とエネルギー」にわたる広い活動を反映して、空調関連分野と食品関連分野が交互に相互の交流を図りながら冷凍技士資格の1つの特典として優れた実績を上げてきた。今回の「凍結標本作製法」実技研修会も食品製造、冷凍機器開発、品質管理などいろいろな分野から13人の参加者があり、標本作製実習、食品冷凍科学・技術の現状と今後の展開について、鈴木徹東京海洋大学教授のご指導のもと平成17年3月20日（水）14：00～16：30、同海洋食品科学科食品冷凍研究室で行われた。研修会は司会の田中武夫委員が研修の趣旨とスケジュールをまず話され、次に鈴木教授のパワーポイントによる凍結標本作製法講義（図1）と凍結標本作製法の実技指導が行われた（図2）。さらに熱心な参加者と鈴木教授とのディスカッションが予定時間いっぱいまで続いた。

2. 食品冷凍科学と凍結標本作製法（講義）

まず食品冷凍科学の長い歴史と実績のある食品冷凍学研究室の凍結標本作製法の成果を鈴木教授がわかりやすく映像機器を使って講義された。研修に取り上げた凍結置換法は凍結過程で食品中にできた氷結晶を間接的に観察する方法として開発された古典的な方法であるが、現在でも有用な手法である。高品質の凍結食品を製造する実用技術が学術的、経験、実用先行的に開発されてきたが、その中でも食品を凍結するため冷却していったときに氷結晶がどのように生成し、成長していくのかを観察する方法は重要な課題であったため多くの報告と実用化技術が生まれた。その中で凍結置換法は凍結した食品から小片試料を凍ったままサンプリングし、凍結温度に冷却したエタノールに浸漬し、エタノールと置換した食品中の氷結晶の跡を固定して顕微鏡で観察する。この方法は国際的にも認められ、比較的簡便なため論文などでも見ることが多く、実用的にも普及している。

3. 凍結標本作製法（実技研修）

実技研修は研究室の中山さんが、マイクロトームで切片

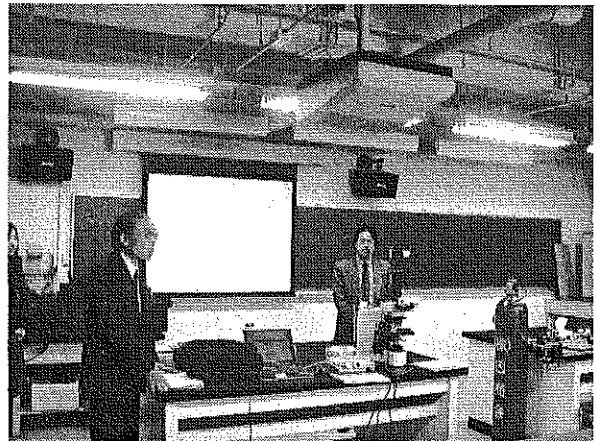


図1 右：鈴木徹教授 左：田中武夫委員



図2 実技指導

を作製する細かいコツを含め、希望者全員に丁寧に実技指導された。表1に参加者に配布された手法イラストから抜き書きで手順と今回用意された主な機器類を示した。凍結されたコチコチの食品からサンプルを切り出し、エタノール中に入れ冷凍庫内でゆっくりと置換・固定した後、マイクロトームでプレパラートを作製する作業になる。小豆を含んだ羊羹のように柔らかいものを均一に5 μ mの厚さに薄切りするのはかなり難易度が高い。一般にこの種の作業はテキストを読んで簡単そうに見えてもやって

*冷凍技士運営委員会
原稿受理 2005年3月25日

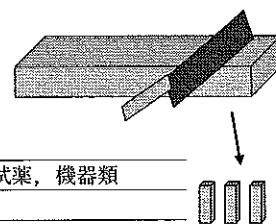
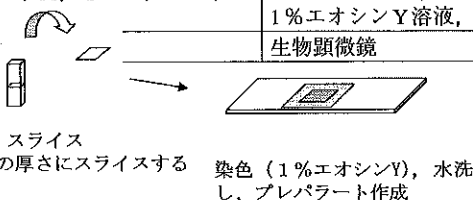


表1 凍結標本作製手順

	処理温度	作業	作業内容	主な試薬, 機器類
1	冷凍庫内	サンプルの準備	観察する凍結食品 (サンプル) を用意する	
2	冷凍庫内		ブロックから5mm×5mm×20mmに数本切出す	切削用ノコギリ, メス, まな板
3	冷凍庫内	固定・置換	凍結食品と同じ温度の固定液に浸漬する	エタノール, フォルマリン
4	冷凍庫内	固定・置換	指定温度で2週間~1ヶ月固定する	浸漬用容器
5	冷蔵庫内		固定期間終了後冷蔵庫に1日放置する	
6	室温		流水で半日水洗する (専用容器)	水洗用容器
7	37℃	ゼラチン包埋	15%ゼラチン水溶液に移し, 37℃恒温槽で1日浸漬する	ゼラチン, 浸漬用容器
8	37℃	ゼラチン包埋	30%ゼラチン水溶液に移し, 37℃恒温槽で1日浸漬する	ゼラチン, 浸漬用容器
9	室温		シャーレに移し, 冷やし固める	シャーレ
10	室温		余分なゼラチンを切り落とす	
11	室温	保存	10%ホルマリン水溶液に入れ冷蔵庫に保存する	保存容器
12	液体炭酸ガス	切片作製	マイクロームで約5μmの厚さにスライスする	液体炭酸ガス噴射による凍結マイクローム
13	室温	染色・プレパラート	スライドガラスに取り, 染色, 水洗, 包埋し, プレパラートとする	スライドガラス, カバークラス, 1%エオシンY溶液, 包埋剤
14	室温	観察	顕微鏡で観察する	生物顕微鏡



みると意外とコツが掴めず, 人知れず苦勞することが多い。その意味で現在手がけている研修者もこれから始めようとしている人にも目からうろこの手技を見せていただけた。

4. おわりに

急速凍結法は凍結食品が消費者に受け入れられる高品質の製品を生産するために必須と考えられているが, 食品メーカー側にもあるいは凍結装置メーカー側にも製品レベルで急速凍結されていることを日常的に説明することが困難なことがある。今回の凍結置換法は急速凍結の結果を示しうる1つの標準的な方法であり, 基準として今日的な意味でさらに普及・一般化されることが必要なのかもしれない。今回の研修も参加者はCPD (継続教

育) 2.5ポイントが取得できるが, 参加者の技量の向上, 異業種交流など研修会の有用性が広く認識されてきていることもあり, 今後の参加者の活躍が期待できる。研修会にご協力いただきました食品冷凍学研究室の皆様には感謝いたします。

さらに専門的な急速凍結と氷結晶生成に関する参考文献
田中武夫: 「食品凍結と解凍に対する最近の考え方, 一主として魚介肉の細胞レベルにおける研究から」, 食品工業, 1993-2.28, 33 (1993).
高井陸雄: 「食品分野における低温の利用」, 食品と開発, 32 (1), 8 (1997).
高井陸雄: 「夢の低温貯蔵—氷結晶のない食品の凍結は可能か—」, 冷凍, 71 (828), 1094 (1996).

急速凍結: 食品の温度中心点の温度を-1℃から-5℃まで低下させるためにかかる時間が30分以内である場合をいう。魚の場合には凍結面の移動速度が6~40mm/hくらいであれば急速凍結であるといわれている。
(日本冷凍空調学会: 「食品冷凍技術」, 1.7 食品冷凍における言葉の定義, p.14から)

凍結速度: 国際冷凍協会の勧告書では (中略), 「食品の凍結速度は温度中心点と食品表面の最短距離を次に述べるような経過時間で割ったものとし, cm/hr で表す。その経過時間は食品の表面が0℃になったときから測り始めて, 温度中心点において氷ができた温度よりさらに10℃下がるまでに要する時間とする」。

エアープラストで大量凍結する場合0.1 cm/hr (緩慢凍結), エアープラストあるいはプレート式凍結法で小包装のものを凍結する場合3 cm/hr (Quick Freezing), その他5~10 cm/hr (Rapid Freezing), 10~100 cm/hr (超急速凍結)
(山田耕二監修: 「要説冷凍食品」, p.31, 建帛社, (1979))