

# 食品凍結の利用と品質評価

## 1. はじめに

青果物の収穫後の消費期間は、温度、湿度、ガス環境等の環境制御により延長することができる。しかしながら、有害微生物による汚染や酸化等の各種の化学反応、自己消化等の現象を抑制し、より長期の貯蔵を可能にするためには加工を行うことが必要となる。食品の加工には、加熱、乾燥、塩蔵、糖蔵、酢漬、冷凍等様々あるが、この中でも冷凍は、加工時におけるタンパク質変性や食味・食感、フレーバーの変化等の品質変化が少なく、元の食材に近い形質を保ったまま長期に渡り保存できるという特徴を持つ。冷凍は古くから用いられてきた保存方法であり、栄養成分の損失を最小限に留めながら、保存中の有害微生物の増殖を防ぎ、食品の保存期間を大幅に延長することができる。しかし一方で、凍結、凍結貯蔵および解凍の過程では、氷結晶の生成・成長や再結晶化あるいは各種の化学反応によって、物理的・化学的構造の変化が生じ、解凍後の品質低下をもたらす場合がある。凍結・解凍後に起きる食品の品質低下の原因、種類および程度は品目によって様々であるが、現在までに、各種の分析評価技術や氷結晶・組織観察技術によって、品質低下の発生挙動が明らかにされ、効果的な凍結・解凍技術の開発に貢献してきた。本報告では、食品、特に青果物の冷凍時に係る品質評価技術の中から、X線CTを用いた氷結晶観察技術および電気インピーダンス解析による生体組織の細胞膜評価技術について述べる。また、青果物の加工前処理として凍結・解凍操作を利用した際に得られる効果について解説する。

## 2. 冷凍食品の品質評価

### 2-1 氷結晶の観察技術

凍結時において食品内部に生じる氷結晶は、細胞組織等の構造を変化させ、品質に影響を与える重要な因子である。そのため、これまでに様々な技術を応用した食品中の氷結晶および組織観察法が検討されてきた。表1に、代表的な氷結晶・組織観察法について纏めた。通常の光学顕微鏡を用いた観察の際には、凍結前および凍結・解凍後の試料の固定切片を観察・比較することで組織の損傷の程度を観察する。また、凍結試料の観察には、冷却ステージを付属した低温顕微鏡や氷結晶部分を置換あるいは昇華させて観察する凍結置換法や凍結乾燥法等の間接観察法が利用される。凍結乾燥法ではX線CTを用いることで3次元構造の観察も可能である<sup>1) 2)</sup>が、水を昇華させる段階で試料変形が生じているとする報告もある<sup>3)</sup>。また、免疫組織染色法の応用である、Kawamotoらの粘着テープを用いた組織観察法<sup>4)</sup>を、氷結晶観察に応用した河野らの方法<sup>5)</sup>は、前処理時間を大幅に短縮することが可能である。さらに、共焦点顕微鏡を用いた内部組織の

表 1 氷結晶・組織観察法の概要

観察装置	試料調整・付属装置	観察対象
光学顕微鏡	切片化	凍結前後の組織
	凍結置換・切片化	氷結晶
	切片化・低温ステージ付属	凍結組織
蛍光顕微鏡	蛍光染色・切片化	凍結前後の組織・膜・油脂等
共焦点顕微鏡	蛍光染色・切片化	凍結前後の組織の立体構造
透過型電子顕微鏡 (TEM)	超薄切片化	凍結前後の組織
走査型電子顕微鏡 (SEM)	凍結乾燥	凍結前後の組織の表面・断面
	Cryoシステム付属・割断	凍結組織の表面・断面
マイクロスライサイメージングシステム	凍結試料の連続切削	氷結晶の3次元構造
X線CT	凍結乾燥	氷結晶の3次元構造 (間接観察)
	放射光利用型X線CT	凍結組織・氷結晶の3次元構造 (直接観察)
核磁気共鳴画像法 (MRI)	—	凍結前後の組織内水分・成分分布
	温度制御装置付属	凍結・解凍部位の可視化

立体観察も行われている<sup>6) 7)</sup>。観察分解能の向上には、透過型電子顕微鏡 (TEM) あるいは走査型電子顕微鏡 (SEM) が用いられ、TEM 観察には超薄切片化、SEM 観察には凍結乾燥等の前処理が必要となる。また、凍結試料の観察には低温装置を付属した SEM (Cryo-SEM) が利用される。氷結晶の3次元構造を観察する手法として、極低温マイクロスライサ分光イメージングシステムが開発<sup>8)</sup>されており、食品内部の氷結晶の立体的な空間分布の評価も可能となった。さらに、非破壊での観察法として、放射光を利用した手法<sup>9)</sup>や MRI を用いた手法<sup>10) 11)</sup>が検討されている。

本章では、X線CTによる氷結晶の間接観察技術について述べる。X線CTは物体内部の密度の異なる部位を可視化する技術である。凍結した食品内部の氷と組織の密度差は小さいため、氷結晶部分のみを直接観察することは困難である。そのため、前処理として凍結乾燥することで氷結晶部位を昇華させ、生じた空隙を氷結晶痕として観察する。この際、水部分を急激に昇華させると試料変形を起こす恐れがあるため、徐々に温度を上昇させ試料変形を抑制する必要がある。図1に、X線CTで撮影された、異なる方法で凍結されたアスパラガス茎部の間接観察画像を示す。画像下のヒストグラムは画像処理によって得られた氷結晶痕の径の分布を示したものである。緩慢に凍結された試料では組織内部に比較的大きな空隙が生じており、粗大な氷結晶が生じていることが分かる。また、ヒストグラムより、氷結晶のサイズにばらつきがあることが分かる。一方、急速凍結法であるエアブラストおよび液体窒素噴霧式の凍結では、氷結晶痕が微細化されており、ヒストグラムは比較的鋭いピークのある形状であることから、均質な氷結晶が生じていることが推察できる。また、スクロースを添加した寒天ゲルの観察例を図2に示した。図1と同様、緩慢凍結と比較し、急速凍結では氷結晶痕が微細

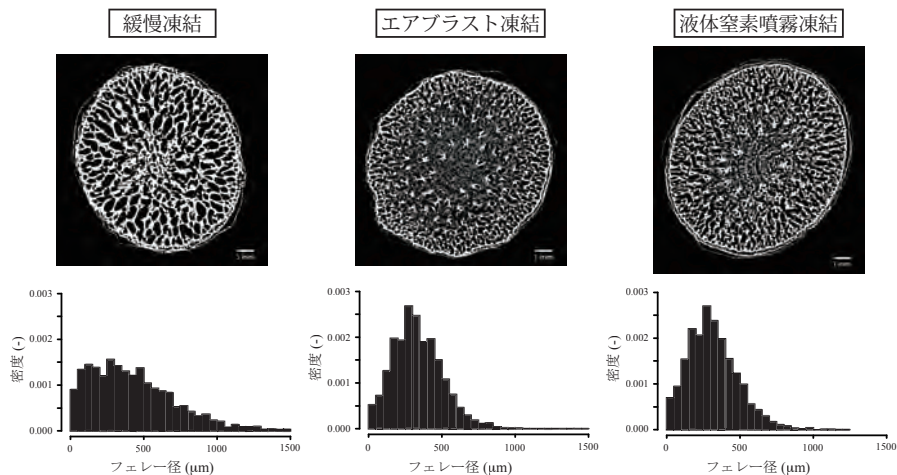


図1 異なる方法で凍結したアスパラガス茎部における氷結晶観察画像. フェレー径：外周上の2点間距離の最大値.

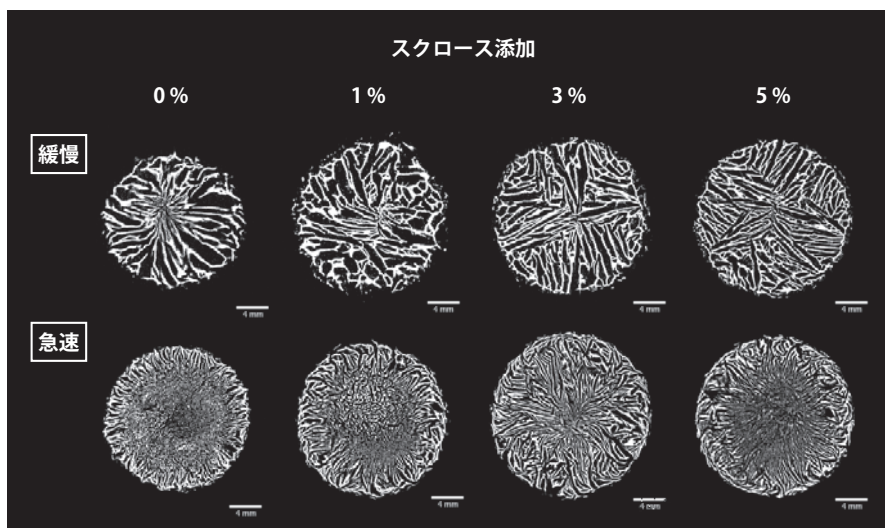


図2 緩慢および急速凍結したスクロース添加寒天ゲル内部の氷結晶観察画像.

化しており、また、スクロースを添加することにより氷結晶の構造が針状の細かな氷結晶が生じていることが確認された。

このように、X線CTを用いることで食品中の氷結晶の分布を可視化することが可能であり、食品中でどのような形態を取っているか推定することが可能であ

る。氷結晶の形態と解凍後の品質が必ずしも直接的に結びつくわけではないことは留意するべきであるが、冷凍食品の品質評価軸の一つとして、氷結晶の可視化技術は重要であり、品質設計や凍結条件の改善に有用であると考えられる。

### 2-2 電気インピーダンス解析による細胞膜の構造評価

青果物の力学物性に影響する要因は様々であるが、その一つとして細胞膜の性状が挙げられる。例えば、冷凍のような加工工程において、細胞膜の損傷から生じる膨圧の低下により、青果物組織の弾性的な性質が大きく変化することが報告されている<sup>12-14)</sup>。本章で述べる電気インピーダンス法は、計測対象に電極を介して交流電圧を印加し、得られたインピーダンスの周波数特性から対象の状態を推定する手法である。この手法の利点として、瞬時的な計測が可能であり、対象の持つ特性を簡易的に定量評価できる点にあり、現在までに燃料電池の評価、体組成計、エマルジョン溶液の評価などに応用されている<sup>15-17)</sup>。計測対象が細胞構造を持つ生体組織である場合、その細胞膜の状態を推定することができる。

複素インピーダンス  $Z$  は実数部  $R(\Omega)$  および虚数部  $X(\Omega)$  から成り、これらは測定したインピーダンスの絶対値  $|Z|(\Omega)$  および位相差  $\theta$  (rad) より求めることができる。

$$R = |Z| \cos \theta \tag{1}$$

$$X = |Z| \sin \theta \tag{2}$$

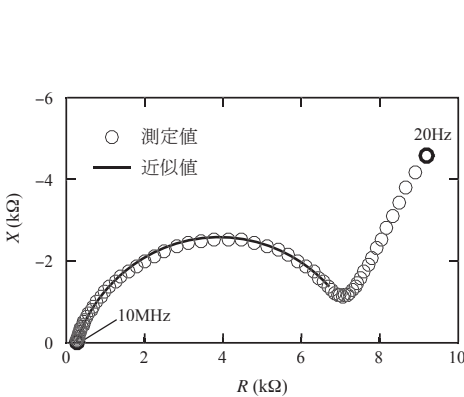


図3 ダイコン組織における電気インピーダンスの周波数特性 (20 Hz-10 MHz).

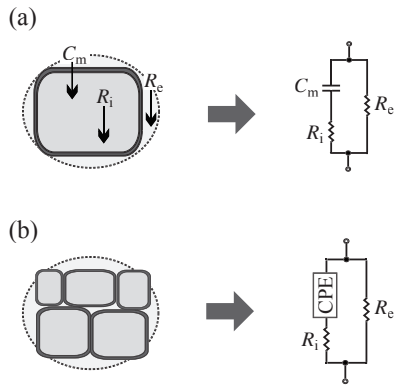


図4 生体組織における電気的等価回路。  $C_m$  : 細胞膜容量,  $R_e$  : 細胞外液抵抗,  $R_i$  : 細胞内液抵抗, CPE : 定位相要素.

複素平面上にインピーダンスの周波数軌跡を示した図は一般に Cole-Cole プロットと呼ばれる。図3に例としてダイコン組織におけるインピーダンスの測定値を示した<sup>18)</sup>。図に示されるように、細胞組織からなる生体組織のインピーダンス特性は、複素平面上で円弧を描く。このようなインピーダンス特性は電氣的等価回路を用いた解析により評価される。ここで、電氣的等価回路とは対象の電氣的な特性に応じて構築した電気回路モデルのことであり、近似的な手法を用いて測定値から等価回路モデルのパラメータを独立した値として算出することで、対象の部位別の情報を定量評価することができる。図4に細胞の等価回路を示す。図4 (a) は、細胞膜容量  $C_m$ 、細胞外液抵抗  $R_e$  および細胞内液抵抗  $R_i$  から構成され、1つの時定数を持つ、すなわち、単一の細胞の等価回路である<sup>19)</sup>。このモデルは、Cole-Cole プロット上において、インピーダンス特性が正確な半円を描く際に適用することができる。しかしながら、実際の生体組織のインピーダンス特性は、実数軸方向に歪んだ円弧を描くことが知られている<sup>20)</sup>。これは、対象が複数の細胞からなる生体組織である場合、時定数に分布が生じるためであると考えられている。著者らは、この歪んだ円弧に適合するモデルを構築するため、定相要素 (Constant phase element: CPE) と呼ばれる仮想的な回路素子<sup>21)</sup> を  $C_m$  の代替として挿入したモデルを提案した<sup>22)</sup> (図4 (b))。CPE のインピーダンス  $Z_{CPE}$  は以下の式で表される。

$$Z_{CPE} = \frac{1}{(j\omega)^p T} \quad (3)$$

ここで、 $p$  は CPE 指数 ( $0 \leq p \leq 1$ )、 $T$  は CPE 定数 ( $F \cdot s^{(p-1)}$ ) である。モデル (b) における合成インピーダンスは下記の式で表される。

$$Z_b = \frac{R_e(Z_{CPE} + R_i)}{R_e + Z_{CPE} + R_i} \quad (4)$$

式 (4) よって与えられた近似曲線と実験により得られたダイコン組織のインピーダンス特性の測定値の比較を図3に示す。測定値と近似値はよく一致していることから、等価回路モデル (b) は青果物組織のインピーダンス特性を示すモデルとして妥当であることが分かる。算出されたパラメータである  $p$  および  $T$  は歪んだ円弧形状を表現するために便宜的に用いられるパラメータであり、その値は物理的な意味を持たない。しかしながら、中心緩和周波数 (円弧の頂点における周波数) が変化しないという仮定の下で、 $p$  および  $T$  の値から以下の式により、 $T$  の単位を静電容量  $C$  (F) に変換することができる<sup>22) 23)</sup>。

$$C = T^{\frac{1}{1-p}}(R_e + R_i)^{\frac{1-p}{p}} \quad (5)$$

式 (5) に各値を代入し、得られる数値を細胞膜容量  $C_m$  と定義する。

図5に解析例として、ブランチングおよび凍結・解凍処理を施したニンジン組織のインピーダンス特性を示す。円弧状の Cole-Cole プロットは加熱により収縮するとともに、凍結・解凍後の試料では円弧が著しく縮小していることが分かる。これらのインピーダンス特性に対し、モデル (b) を用いた等価回路解析を行った結果を表2に示す。細胞膜容量  $C_m$  は、加熱温度が高いほど低下しており、また凍結・解凍後においても著しく低下している。細胞膜の電気容量はその二重膜構造に起因していると考えられており、その値の低下から細胞膜の構造破壊が生

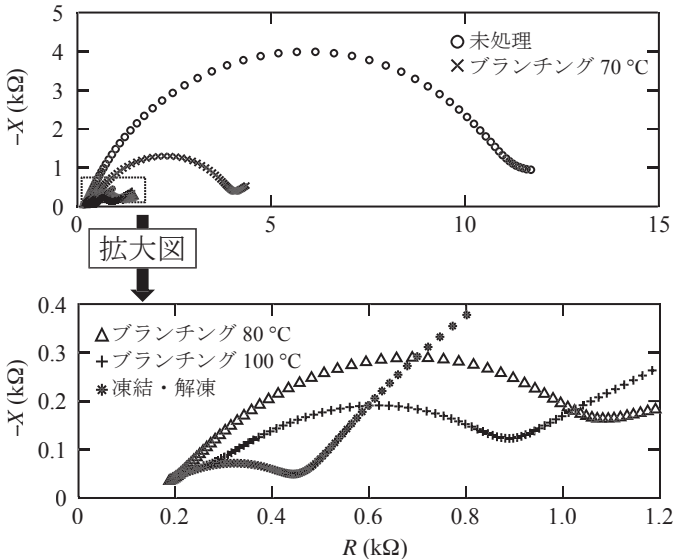


図5 加工後のニンジン組織における電気インピーダンスの周波数特性 (Cole-Cole プロット)。

表2 ニンジン組織における等価回路パラメータ

	$C_m$ (nF)	$R_e$ ( $\Omega$ )	$R_1$ ( $\Omega$ )
未処理	3.24 <sup>a</sup>	10541 <sup>a</sup>	183 <sup>b</sup>
ブランチング 70 °C (5 min)	2.74 <sup>a</sup>	3922 <sup>b</sup>	323 <sup>a</sup>
80 °C (5 min)	2.97 <sup>a</sup>	1108 <sup>c</sup>	164 <sup>b</sup>
100 °C (5 min)	1.31 <sup>b</sup>	787 <sup>c</sup>	203 <sup>b</sup>
-20 °C 凍結・解凍	1.71 <sup>b</sup>	462 <sup>c</sup>	190 <sup>b</sup>

異なる英小文字は Tukey の多重範囲検定において試験区間に有意差があることを示す ( $p < 0.05$ )。

表3 アスパラガスの凍結・解凍後における等価回路パラメータ

処理条件	$C_m$ (pF)	$R_e$ ( $\Omega$ )	$R_i$ ( $\Omega$ )
未処理 (生試料)	1550 <sup>a</sup>	5460 <sup>a</sup>	540 <sup>a</sup>
ブランチング後	355 <sup>b</sup>	970 <sup>b</sup>	880 <sup>b</sup>
ブランチング+凍結・解凍後			
緩慢凍結	18.6 <sup>c</sup>	587 <sup>c</sup>	2190 <sup>c</sup>
エアブラスト凍結	16.2 <sup>c</sup>	585 <sup>c</sup>	2140 <sup>c</sup>
液体窒素噴霧凍結	18.4 <sup>c</sup>	581 <sup>c</sup>	2250 <sup>c</sup>

$C_m$ : 細胞膜容量,  $R_e$ : 細胞外液抵抗,  $R_i$ : 細胞内液抵抗. 各値は11-12回の反復における平均値を示す. 異なる英小文字は Tukey の多重範囲検定において試験区間に有意差があることを示す ( $p < 0.05$ ).

じていると推定することができる。すなわち、表2における  $C_m$  の低下は、加熱および凍結操作によるニンジン組織内の細胞膜損傷を示していると考えられる。また、細胞外液抵抗  $R_e$  および細胞内液抵抗  $R_i$  の値の変動は細胞膜構造の破壊に伴う、細胞内外の電解質濃度の変動と考えられている。表3に異なる方法で凍結したアスパラガス茎部の解凍後における等価回路パラメータの値を示す。細胞膜容量  $C_m$  は未処理試料において最も高く、ブランチングおよび凍結・解凍の各過程において低下する傾向が見られる。これは、ブランチング過程における熱変性および凍結・解凍過程における氷結晶の生成による細胞膜の構造破壊に起因すると考えられる。また、ブランチングおよび凍結・解凍過程における細胞外液抵抗  $R_e$  の低下および細胞内液抵抗  $R_i$  の増加は、電解質濃度の異なる細胞内外液を隔てている細胞膜の損傷に伴う、膜のイオンあるいは水の透過性の変化によるものと推察できる。さらに、いずれの凍結方法でも各値の変化量に差は見られず、凍結時における細胞膜の構造破壊は凍結速度に関わらず生じるものと見ることができる。電気インピーダンス解析では、細胞膜の状態評価を迅速かつ簡易的に評価できるため、凍結後の評価のみならず、青果物の加工過程あるいは貯蔵過程における品質評価法としての活用が期待できる。

### 3. 前処理としての凍結・解凍操作の利用

本章では、凍結・解凍操作を青果物の乾燥前処理に利用した際に得られる効果について述べる<sup>24)</sup>。乾燥は保存性の向上や嗜好性の付与などを目的とした加工法の一つであり、古くから青果物の長期保存の手段として行われてきた。現在までに、様々な青果物の乾燥特性に関する研究が多く報告されており、一般に青果物は乾燥の進行に伴い、乾燥速度が低下することが知られている。そのため、エネルギーコストの削減や生産性向上のために、いかに乾燥速度を向上させ、効率

的に乾燥を終了させるかが大きな課題となっている。

前述のように、青果物組織は凍結に伴う氷結晶生成によって損傷を受ける。一般に、凍結による組織損傷は品質低下を招く要因と考えられているが、乾燥の効率化という観点から見た場合、水分移動を促進させ、乾燥を早く終了させる手段として捉えることができる。

図6に、前処理としてブランチングまたは凍結・解凍処理を施したニンジン切片の熱風乾燥過程における含水率の経時変化を示した。未処理の試料と比較し、各前処理試料では、乾燥が早く進行する傾向が見られるが、特に凍結・解凍試料において含水率の低下が迅速に進行していることが分かる。これらの含水率変化における乾燥速度を数値的に比較するためにモデル近似による乾燥速度定数の算出を行った。青果物の乾燥における水分移動は主に減率乾燥期間に支配される。この期間における含水率の変化を表現する方程式として、様々な要因による水分移動現象を一つの乾燥速度定数として表した一次反応式が最も一般的である。

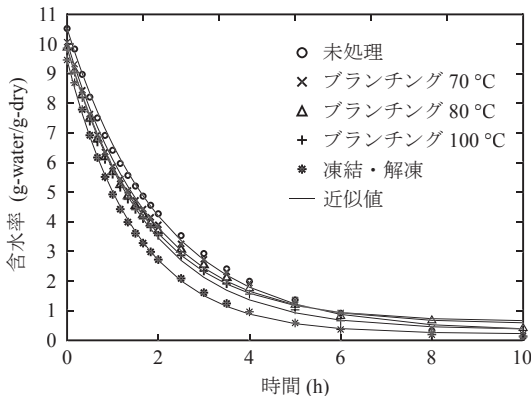


図6 未処理および各種前処理を施したニンジン組織の乾燥時における含水率経時変化.

表4 ニンジン切片の熱風乾燥における含水率変化の速度定数および各定数値

	$k$	$M_e$	$M_0$	$R^2$
未処理	0.482	0.31	10.5	0.997
ブランチング 70 °C (5 min)	0.538	0.55	10.1	0.995
80 °C (5 min)	0.568	0.35	9.9	0.997
100 °C (5 min)	0.587	0.63	9.9	0.998
-20 °C 凍結・解凍	0.656	0.21	9.5	0.999

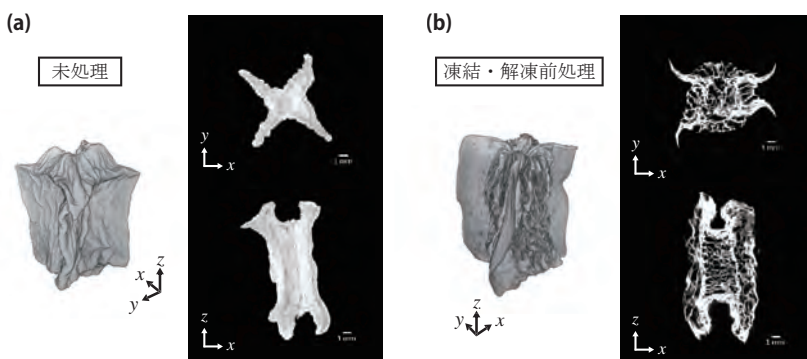
( $R^2$ : モデル近似における決定係数)



$$\frac{M - M_e}{M_0 - M_e} = \exp(-kt) \quad (6)$$

ここで、 $M_e$  は平衡含水率、 $M_0$  は初期含水率、 $k$  は乾燥速度定数 ( $\text{h}^{-1}$ ) である。 $k$  および  $M_e$  は式 (6) を実測値に近似することで求めた。図 6 中の実線は式 (6) による近似曲線を表している。表 4 に式 (6) 中の各定数値およびモデル近似における決定係数の値を示す。決定係数は 0.99 以上であり、一次反応式は実験値のモデルとして妥当であることが示されている。乾燥速度定数  $k$  の値に着目すると、未処理と比較しブランチングおよび凍結・解凍処理試料において値が高くなり、これらの前処理が乾燥速度を向上させる上で効果的であることが分かる。特に、凍結・解凍試料において  $k$  は最も高い値となり、未処理試料の約 1.4 倍と

#### 【熱風乾燥】



#### 【マイクロ波減圧乾燥】

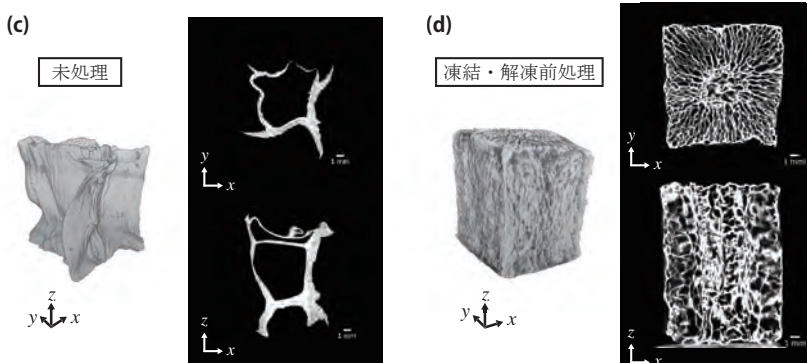


図 7 乾燥後におけるニンジン組織の X 線 CT 画像.

なった。これは凍結・解凍処理が乾燥速度を向上させるために最も効果的であることを示している。

また、凍結前処理は乾燥時に起きる試料変形の抑制にも有効である。図7 (a) および (b) に、X線CTによって得られた未処理および凍結・解凍前処理を施したニンジン切片の熱風乾燥後における構造をそれぞれ示した。未処理試料では、乾燥試料内部に空隙が少なく、密に収縮している一方で、凍結・解凍前処理した乾燥試料では空隙が多く、未処理試料と比較して試料収縮が抑制されていることが分かる。図7 (c) および (d) は、未処理および凍結・解凍前処理を施したニンジン切片のマイクロ波減圧乾燥後の内部構造を示したものである。通常、マイクロ波を青果物試料に照射した場合、試料中心部から加熱が進行するため、青果物乾燥に利用することで、試料中の内部水分の表面への移動を促進させ、乾燥速度を向上させることができる。しかしながら、ニンジンのような密な構造を持つ試料では、試料中心部で急激に生じた蒸発水分の試料表面への移動が追いつかずに、内部圧力が高まり、試料変形を生じる場合がある (図7 (c))。試料前処理として凍結・解凍処理を施すことで、氷結晶の生成によって、前章で述べたような細胞膜の損傷あるいは細胞壁構造の破壊が生じる。これらの構造変化は組織内部における蒸発水分の移動を円滑にするため、試料内外の圧力差による試料変形を抑制することができる。結果として、凍結・解凍前処理試料では、多孔質で元の試料形状に近い、良好な乾燥試料を得ることができる (図7 (d))。

#### 4. おわりに

生鮮農産物は収穫後も呼吸等の生理活動を継続しているため、貯蔵・輸送過程における品質低下リスクやロスの発生という問題は常について回る。特に、海外への輸出など長距離の輸送を見据えた場合、長期保存が可能な食品冷凍技術は、消費者へ高品質な農産物を提供するための一つの有効な手段となり得る。冷凍食品の品質は、氷結晶の生成や各種の化学反応など、複合的な要因によって決まるため、その品質評価は農産物ごとに多面的に行われる必要がある。さらに、冷凍農産物の品質を担保するためには、前処理、凍結、貯蔵、解凍のすべての工程において適切な管理がなされている必要がある。そのためには、本報告で述べた手法を含む品質評価技術を駆使し、食品内部で生じる物理・化学的な現象の解明と各工程を組み合わせたシステムの最適化を図ることが重要となるであろう。また、本報告で述べた青果物乾燥における凍結前処理は、食品加工への凍結操作の利用の一例であるが、食品凍結時における氷結晶生成等の特異な現象は、新たな食品加工技術につながる可能性を秘めている。今後、凍結操作の利用が食品加工における高品質化・効率化や食品ロスの低減等に貢献することを期待したい。

## 引用文献

- 1) Mousavi, R., Miri, T., Cox, P. W. and Fryer, P. J. (2005). A novel technique for ice crystal visualization in frozen solids using X-ray micro-computed tomography. *J. Food Sci.*, **70** (7) E437-E442.
- 2) Kobayashi, R., Kimizuka, N., Watanabe, M. and Suzuki, T. (2015). The effect of supercooling on ice structure in tuna meat observed by using X-ray computed tomography. *Int. J. Refrig.*, **60**, 270-277.
- 3) Faydi, E., Andrieu, J. and Laurent, P. (2001). Experimental study and modelling of the ice crystal morphology of model standard ice cream. Part I: Direct characterization method and experimental data. *J. Food Eng.*, **48**, 283-291.
- 4) Kawamoto, T. and Shimizu, M. (2000). A method for preparing 2- to 50- $\mu$ m-thick fresh-frozen sections of large samples and undecalcified hard tissues. *Histochem. Cell Biol.*, **113**, 331-339.
- 5) Kono, S., Takahashi, T. and Shinozaki, S. (2012). Observation method for ice crystal morphology in frozen fish meat using cryo-adhesive film. *Transactions of the Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers (Nihon Reitou Kuchou Gakkai Ronbunshu)*, **29** (1), 53-58 (河野晋治, 高橋朋子, 篠崎聰. 低温粘着フィルムを利用した凍結魚肉内氷結晶観察法, 日本冷凍空調学会論文集).
- 6) Evans, J., Adler, J., Mitchell, J., Blanshard, J. and Rodger, G. (1996). Use of confocal laser scanning microscope in conjunction with a conduction heat transfer stage in order to observe dynamically the freeze-thaw cycle in an autofluorescent substance and to measure ice crystal size *in situ*. *Cryobiology*, **33**, 27-33.
- 7) Ishiguro, H. and Koike, K. (1998). Three-dimensional behavior of ice crystals and biological cells during freezing of cell suspensions. Biotransport: Heat and mass transfer in living system. *Annals New York Academy of Sciences*, 235-244.
- 8) Sagara, Y. and Araki, T. (2008). Development of three-dimensional measurement methods for ice crystals by utilizing micro-slicer image processing system. *Refrigeration (Reitou)*, **83**(965), 137-142 (相良泰行, 荒木徹也. マイクロスライサ画像処理システムによる氷結晶3次元計測法の開発, 冷凍).
- 9) Sato, M., Kajiwarra, K. and Sano, N. (2016). Non-destructive three-dimensional observation of structure of ice grains in frozen food by X-ray

- computed tomography using synchrotron radiation. *Japan Journal of Food Engineering (Nihon Shokuhin Kougakkaishi)*, **17**(3), 83-88 (佐藤眞直, 梶原堅太郎, 佐野則道. 放射光を用いた X 線 CT による冷凍食品中の氷結晶組織 3 次元非破壊観察, 日本食品工学会誌).
- 10) Kerr, W. L., Kauten, R. J., McCarthy, M. J. and Reid, D. S. (1998). Monitoring the formation of ice during food freezing by magnetic resonance imaging. *Lebensm. Wiss. Technol.*, **31**, 215-220.
  - 11) Mahdjoub, R., Chouvinc, P., Seurin, M. J., Andrieu, J. and Briguet, A. (2006). Sucrose solution freezing studied by magnetic resonance imaging. *Carbohydrate Research*, **341**, 492-498.
  - 12) Ando, Y., Maeda, Y., Mizutani, K., Wakatsuki, N., Hagiwara, S. and Nabetani, H. (2016). Effect of air-dehydration pretreatment before freezing on the electrical impedance characteristics and texture of carrots. *J. Food Eng.*, **169**, 114-121.
  - 13) Ando, H., Watanabe, M., Ohsita, S. and Suzuki, T. (2008). Effect on osmotic dehydrofreezing on fresh vegetable tissue. *Food Preservation Science (Nihon Shokuhin Hozou Kagaku Kaishi)*, **34** (5), 261-266 (安藤寛子, 渡辺学, 大下誠一, 鈴木徹. 生鮮野菜における浸透圧脱水法の効果の検討, 日本食品保蔵科学会誌).
  - 14) Ando, H., Kajiwara, K., Oshita, S. and Suzuki, T. (2012). The effect of osmotic dehydrofreezing on the role of the cell membrane in carrot texture softening after freeze-thawing. *J. Food Eng.*, **108**, 473-479.
  - 15) Nakayama, M. (2012). Understanding elemental reactions at electrode | electrolyte interface in rechargeable Li ion battery by using electrochemical AC impedance spectroscopy. *Journal of The Surface Science Society of Japan (Hyomen kagaku)*, **33** (2), 87-92 (中山将伸. AC インピーダンス法によるリチウムイオン電池電極反応の素過程解析, 表面科学).
  - 16) Kishimoto, M. (2011). Electrochemical impedance spectroscopy used in performance evaluation of fuel cells. *Energy and Resources*, **32**, 182-187 (岸本将史. 燃料電池性能試験における電気化学インピーダンス法の利用, エネルギー・資源).
  - 17) Sato, M., Abe, K., Kawabata, N., Yoshihara, S., Sato, E. and Shirakashi, T. (1994). A.C. impedance Measurement for stability of W/O emulsion ink. *Journal of Printing Science and Technology (Nihon Insatsu gakkaiishi)*, **31**, 124-128 (佐藤正寿, 阿部一浩, 川端宣幸, 吉原佐知雄, 佐藤栄一. W/O エマルションインキの交流インピーダンス法による安定性評価, 日本印刷学会誌).
  - 18) Ando, Y., Hagiwara, S. and Nabetani, H. (2017). Thermal inactivation

- kinetics of pectin methylesterase and the impact of thermal treatment on the texture, electrical impedance characteristics and cell wall structure of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.). *J. Food Eng.*, 199, 9-18.
- 19) Hayden, R. I., Moyse, C. A., Crawford, D. P. and Fensom, D. S. (1969). Electrical impedance studies on potato and alfalfa tissue. *J. Exp. Bot.*, **20**, 177-200.
  - 20) Cole, K. S. (1932). Electric phase angle of cell membranes. *J. Gen. Physiol.*, **15**, 641-649.
  - 21) Zoltowski, P. (1998). On the electrical capacitance of interfaces exhibiting constant phase element behavior. *J. Electroanal. Chem.*, **443**, 149-154.
  - 22) Ando, Y., Mizutani, K. and Wakatsuki, N. (2014). Electrical impedance analysis of potato tissues during drying. *J. Food Eng.*, **121**, 24-31.
  - 23) Hsu, C. H. and Mansfeld, F. (2001). Concerning the conversion of the constant phase element parameter  $Y_0$  into a capacitance. *Corrosion*, **57**, 747-748.
  - 24) Ando, Y., Maeda, Y., Mizutani, K., Wakatsuki, N., Hagiwara, S. and Nabetani, H. (2016). Impact of blanching and freeze-thaw pretreatment on drying rate of carrot roots in relation to changes in cell membrane function and cell wall structure. *LWT-Food Sci. Technol.*, **71**, 40-46.