



Title	Studies on the structural changes of muscle cell related with the ice crystal formation in the frozen fish meat and its flesh quality after thawing
Author(s)	王, 曜
Citation	(2019-03-20)
Issue Date	2019-03-20
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10069/38975">http://hdl.handle.net/10069/38975</a>
Right	

This document is downloaded at: 2019-09-19T06:50:39Z

Studies on the structural changes of muscle cell  
related with the ice crystal formation in the frozen fish meat and its flesh quality after thawing  
魚筋肉の凍結に伴う氷結晶形成と筋細胞の構造変化および解凍後の肉質に関する研究

長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

王 曜

第1章では、本研究の背景と目的を説明した。近年、食生活の多様化に伴って多彩な水産加工食品が生産され、そのなかでも魚肉加工品の多くに冷凍原料が用いられているのが現状である。また、市場での冷凍原料の価格は未凍結原料よりも安く、その流通コストも低く抑えられているという。しかし、凍結は魚筋肉の肉質劣化を引き起こす可能性があり、消費者らの冷凍原料に対する評価は低いのが一般的である。一方、未凍結の魚筋肉では保存中に肉質劣化のひとつである軟化が生じ、筋細胞の劣化や筋肉構造の崩壊なども起こるといった知見がある。ところが、凍結されている魚筋肉については、凍結中における筋細胞や筋肉構造の変化に関する不明な点が多い。さらに、その魚筋肉を解凍して保存した場合、凍結が保存中における肉質変化に及ぼす影響を詳細に検討した例は少ない。そこで本研究では、魚筋肉の凍結が解凍後の肉質変化に及ぼす影響を総合的に解明するため、魚筋肉を凍結および解凍し、化学的および物性学的に肉質を調べるとともに、筋細胞に着目して形態学的検討も行った。

第2章では、魚類の凍結に伴う氷結晶の形成が解凍後の背部普通筋の肉質に及ぼす影響を検討した。試料には活きた天然マアジを用いて即殺後、未凍結、凍結、解凍の3群に分けた。凍結群と解凍群は $-24^{\circ}\text{C}$ で24時間保存し、解凍群は凍結保存後、流水で急速解凍した。未凍結群と解凍群は氷蔵し、経時的に背部普通筋のATP関連化合物量を分析してK値を算出するとともに、圧出水分量と破断応力を測定した。また、各群の背部普通筋の筋細胞横断面を光学顕微鏡(LM)で、細胞外マトリックス(ECM)を走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した。K値は未凍結群と解凍群ともに氷蔵期間の延長に伴って直線的に上昇し、K値上昇速度は解凍群(0.149%/hr)が未凍結群(0.099%/hr)より1.5倍有意に速かった。圧出水分量は氷蔵24時間目までは解凍群が未凍結群より有意に高く、破断応力は氷蔵24時間目までは解凍群が未凍結群より有意に低かった。LM観察において、即殺直後(凍結前)では筋細胞が整然と並ぶ様相がであったが、凍結群では筋細胞の内外に形成された氷結晶とそれにより損傷を受けた筋細胞の崩壊が多数認められた。一方、解凍群では氷結晶は消失していたが、筋細胞からの筋内膜の乖離と筋細胞の損傷が観察された。SEM観察において、即殺直後のECMは整然としたハニカム構造を呈し、それを構成する膜構造も密であった。凍結群では氷結晶によりECM膜面の一部に崩壊が認められ、解凍群ではそのハニカム構造は大きく崩壊し、膜面の膠原線維ネットワーク構造が粗となっていた。以上より、マアジでは凍結に伴う氷結晶の形成が解凍直後における肉質低下を招き、ひいては保存中における品質劣化が未凍結より早くなると考えられた。

第3章では、凍結が魚筋肉の背部普通筋と血合筋の筋原線維(Mf)  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase活性とMf  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase活性および筋細胞の超微細構造に及ぼす影響を検討した。試料には活きた天然マアジを用いて即殺後、 $-24^{\circ}\text{C}$ で24時間保存後に流水で解凍した(緩慢凍結群)。一方、即殺した試料魚からブロック(5×5×5 mm)を切り出し、液体窒素とイソペンタンで急速凍結後、同様に保存して解凍した(急速凍結群)。各群の凍結前と解凍後における背部普通筋と血合筋のMf ATPase活性を測定するとともに、緩慢凍結群の氷結晶の形成状態をLMで、筋細胞の超微細構造を透過型電子顕微鏡(TEM)で

観察した。両 MfATPase 活性は、急速凍結群では背部普通筋と血合筋のいずれも凍結前と解凍後で活性の違いが認められなかったが、緩慢凍結群では背部普通筋は解凍後に低下し、血合筋はほとんど低下しなかった。LM 観察において、緩慢凍結群の凍結中の背部普通筋では細胞内と細胞間に大小不同の氷結晶形成が認められた。しかし、凍結中の血合筋では細胞内と細胞間に背部普通筋よりも小型の氷結晶の形成が、筋細胞内には極めて微小な氷結晶が多数観察された。TEM 観察において、緩慢凍結群凍結中の背部普通筋では Mf 間にグリコーゲン様顆粒が多数局在していた。また、筋小胞体は不明瞭で高電子密度の顆粒状となっており、Mf 間の筋小胞体で形成される空間は極めて狭く、ミトコンドリアの外膜とクリステの構造は崩壊していた。一方、緩慢凍結中の血合筋では LM で観察された極めて微細な氷結晶は主にミトコンドリアの周辺に認められ、グリコーゲン様顆粒はその氷結晶の周辺、Mf 間および Mf 上に背部普通筋より多く観察された。また、筋小胞体は極めて不明瞭で一部高電子密度の痕跡状に観察され、ミトコンドリアの外膜とクリステの構造は確認されなかった。このことは氷結晶形成に伴う濃縮の影響であろうと考えられた。以上より、マアジの背部普通筋と血合筋では凍結中に形成される氷結晶の大きさはグリコーゲンの多寡により異なり、解凍後の Mf タンパク質の変性に影響を及ぼすと考えられた。

第 4 章では、魚類とイカ類の筋細胞を比較するとともに、両筋肉の凍結解凍後の肉質について検討した。試料には活きた天然マアジとアオリイカを用いて即殺後、マアジから背部普通筋を、アオリイカから外套筋を切り出し（未凍結群）、 $-18^{\circ}\text{C}$  で 24 時間凍結保存（凍結群）後、流水で解凍した（解凍群）。一方、マアジ背部普通筋アオリイカ外套筋を未凍結のまま 24 時間氷蔵した（氷蔵群）。氷蔵群と解凍群について圧出水分量と破断応力を測定するとともに、未凍結群、凍結群、解凍群の各筋肉横断面を LM で、未凍結群と解凍群の ECM を SEM で観察した。マアジの背部普通筋の圧出水分量は解凍群が氷蔵群より平均値レベルで高く、破断応力は解凍群が氷蔵群より平均値レベルで低かった。アオリイカの外套筋の圧出水分量と破断応力は解凍群と未凍結群で顕著な差はなかった。LM 観察において、未凍結群ではマアジの筋細胞はアオリイカよりも大きく、両者の膠原線維の分布形態は異なっていた。凍結群ではマアジの氷結晶はアオリイカよりも大きく、アオリイカの氷結晶は極めて微小であった。解凍群ではマアジの筋細胞間は広く、膠原線維が筋細胞から乖離していたが、アオリイカは即殺群と大きな違いを認めなかった。SEM 観察において、未凍結群ではマアジ ECM はきれいなハニカム状の立体構造を、アオリイカは複雑な海綿状の立体構造を呈していた。解凍群ではマアジ ECM のハニカム構造の崩壊が認められたが、アオリイカ ECM の構造に目立った崩壊は認められなかった。以上より、マアジ ECM の立体構造はアオリイカと異なり、その凍結中に形成される氷結晶は大きく、マアジはアオリイカよりも凍結による肉質への影響を受けやすいと考えられた。

第 5 章では、本研究の結果を総合的に取りまとめるとともに総合考察を行った。そのなかで、魚筋肉の凍結が解凍後の肉質変化に及ぼす影響として、細胞内外における氷結晶の形成に加え、それに伴う ECM の崩壊、特に ECM を構成する膠原線維の主成分であるコラーゲン線維の崩壊に強く関与していることが示唆された。同時に、凍結解凍後において魚筋肉の化学的生鮮度や物理的性質の低下、すなわち肉質劣化にも影響を及ぼすものと考えられた。また、凍結中の背部普通筋と血合筋で形成される氷結晶の大きさや解凍後の Mf タンパク質の変性にはグリコーゲンの多寡等が影響すると考えられた。

従って、凍結解凍した魚筋肉は未凍結のものと比較して保存中の肉質劣化、特に生鮮度低下が速く進み、これは凍結により形成される氷結晶による解凍直後の物理的性質の低下に起因するものと考えられた。