

凍結融解が養殖コイの水蔵中における品質に及ぼす影響

俞 所銀^{*1}, 梁 佳^{*2}, 黄 耿琳^{*2}, 宮崎里帆^{*2}, 王 維婷^{*3},
趙 鮮鮮^{*2}, 平坂勝也^{*2}, 谷山茂人^{*2}, 橋 勝康^{*2}

Effect of freezing and thawing on the flesh quality of cultured carp (*Cyprinus carpio*) during storage in ice

Suo Yin YU^{*1}, Jia LIANG^{*2}, Geng Ling HUANG^{*2}, Riho MIYAZAKI^{*2}, Wei Ting WANG^{*3}
Xian Xian ZHAO^{*2}, Katsuya HIRASAKA^{*2}, Shigeto TANIYAMA^{*2} and Katsuyasu TACHIBANA^{*2}

To elucidate the effect of freezing and thawing on the flesh quality of the cultured carp (*Cyprinus carpio*) during storage in ice, we examined the changes in ATP related compounds (K values %), expressible water (%), breaking strength (N/cm²) and histological observation. During storage in ice, the increasing speed of K value in the freeze-thawing group was 1.6-fold higher than the unfrozen group. In addition, the rate of expressible water in the freeze-thawing group was higher than the unfrozen group through the storage period, implying that the ice crystals produced by frozen were melted and effluxed to extracellular space. The breaking strength after freezing and thawing was lower than that of the unfrozen. Although the breaking strength of the unfrozen group was decreased with storage in ice, the breaking strength of the freeze-thawing group remained at low level until the end of storage period. These results suggest that the freezing and thawing processes deteriorate the flesh quality through the increase in the increasing ratio of K value and expressible water, and a decrease in breaking strength.

Key Words : 養殖コイ Cultured carp, 破断強度 Breaking strength, 凍結融解 Freezing and thawing, K値 K value, 品質 Flesh quality, 圧出水分 Expressible water

魚介類を水産加工品の原料や製品,あるいは生食用として保存する方法の一つに冷凍がある。しかしながら,魚類では一般に凍結時に筋肉中に生じる氷結晶が筋組織を破損することで,解凍時にその肉質が低下するといわれている。冷凍中の魚筋肉のタンパク質変性¹⁻³⁾,脂質酸化⁴⁻⁶⁾,氷結晶の再形成⁷⁾などは,鮮度等の肉質低下に影響を及ぼす要因と報告されている。

以上のように,魚筋肉を凍結融解するとその肉質に影響を及ぼすものと考えられるが,化学的あるいは物性学的に詳細に検討した例はほとんどない。そこで本研究では,養殖コイ

を用いて凍結融解が魚筋肉の品質に及ぼす影響をK値,圧出水分,破断強度,氷結晶の形成に着目して検討した。

試料と方法

試料魚と保存方法

試料魚には,養殖コイ *Cyprinus carpio* (平均体重1.1±0.1 kg, n=3)を用いた。試料魚は延髄刺殺,脊椎破壊により即殺後,鰓から失血させ,内臓を除去後三枚に卸し,右側部と左側部の半身に分けた。各試料魚の右側部は直ちに氷蔵した

* 1 上海海洋大学食品学院

College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University

* 2 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

Graduate School of Fisheries Science & Environmental Studies, Nagasaki University

* 3 長崎大学水産学部

Faculty of Fisheries, Nagasaki University

(以下、未凍結群とする)。一方、各左側部は $-25\pm 2^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫で魚肉中心部の温度が -25°C 付近になるまで凍結後、 4°C 冷蔵庫に移して融解し、魚肉中心部の温度が 4°C 付近まで上昇後に氷蔵した(以下、凍結融解群とする)。各群の試料魚から経日的に背部普通筋を採肉し、ATP関連化合物量、圧出水分量、破断強度を測定した。また、各魚体の即殺直後、凍結中、融解後の筋肉組織を光学顕微鏡にて観察した。

ATP関連化合物量の測定

ATP関連化合物はEhiraら⁸⁾の方法に準じて各群の試料魚から約1gの背部普通筋を秤取して抽出し、槌本ら⁹⁾の方法に準拠してHPLC法で分析した。

圧出水分量の測定

圧出水分量は田端ら¹⁰⁾の方法に従って測定した。すなわち、各群の試料魚から約1gの背部普通筋を秤取し、直径90mmのろ紙(No. 3, ADVANTEC Toyo)で包み、遊離水分測定機(中央理研社製)を用いて荷重10kgで1分間加圧した。その後、魚肉の重量を秤量し、以下の式から圧出水分量を算出した。

$$\text{圧出水分量(\%)} = \frac{\text{圧出前の魚肉重量(g)} - \text{圧出後の魚肉重量(g)}}{\text{圧出前の魚肉重量(g)}} \times 100$$

破断強度の測定

破断強度はArroyoら¹¹⁾の方法に従って測定した。すなわち、各群の試料魚から背部筋を幅1cmで切り出し、レオナー(RE-3305, 山電)を用い、筋線維と平行方向に $\phi 3\text{ mm}$

の円柱型プランジャーを挿入し、押し込み速度1mm/秒、クリアランス1mmの条件で行った。

光学顕微鏡試料の作製と観察

凍結融解群の背部普通筋を採肉し、即殺直後、凍結中、凍結融解後の筋肉横断面について、光学顕微鏡試料の作製および観察を行った。光学顕微鏡試料の作製は常法¹²⁾に従って行った。すなわち、致死直後、凍結融解後の魚筋肉は10%中性緩衝ホルマリンで固定した。凍結中の筋肉は凍結置換法により上昇アルコール処理した。その後、常法に従ってパラフィン包埋を行い、筋肉横断面のパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、光学顕微鏡観察した。

結果

凍結融解における魚肉温度の変化

凍結融解群の凍結融解における魚肉温度の変化をFig. 1に示す。

魚肉温度は即殺直後に $23.7\pm 2.6^{\circ}\text{C}$ を示し、冷蔵庫内($-25\pm 2^{\circ}\text{C}$)で凍結開始から2時間で約 -1°C まで急激に低下、4時間目まで同程度の魚肉温度を保持した後、再び緩やかに低下し、凍結12時間目に $-22.5\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ となり、完全凍結した。完全凍結後直ちに(凍結12時間目を融解0時間目とする)、冷蔵庫内(4°C)で融解し始めたところ、魚肉温度は融解3時間目までに $-4.74\pm 0.9^{\circ}\text{C}$ と急激に、その後は緩やかに上昇した。さらに、融解7~18時間における魚肉温度は -1°C 前後を保持し、融解22時間目に $3.75\pm 1.2^{\circ}\text{C}$ となり、完全融解した。凍結融解群にあたっては魚肉が完全融解後、以下の氷蔵実験に供した。

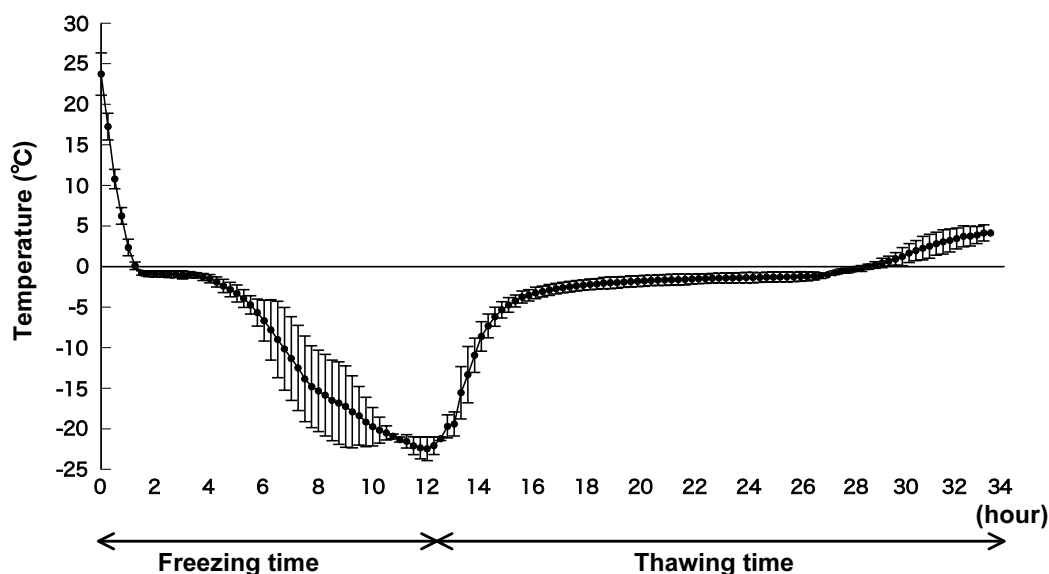


Fig.1 Changes in temperature of ordinary muscle in cultured carp during freezing and thawing processes. Error bars show mean \pm SD (n=3)

Table 1 Parameters of regression line of K value (0-40%) in freeze-thawing and unfrozen ordinary muscle in cultured carp during storage in ice

Specimen	No. of specimen	Parameters of regression line					
		Slope ($\Delta K/\text{day}$)	Mean ($\Delta K/\text{day}$)	SD	Intercept	r	p
Unfrozen muscle	1	1.53			1.34	0.9985	<0.001
	2	3.02	2.69	1.04	0.53	0.9891	<0.05
	3	3.53			2.64	0.9967	<0.001
	4	3.78			4.34	0.9742	<0.05
freeze-thawing muscle	5	4.92	4.39	0.57	5.60	0.9988	<0.05
	6	4.48			20.74	0.9784	-

K値の経日変化

未凍結群のK値は、氷蔵0日目（即殺直後）に1.3±0.3%、氷蔵1日目に4.7±1.8%、氷蔵4日目に11.7±4.8%、氷蔵7日目に20.0±8.6%、氷蔵10日目に28.8±10.5%と、保存期間の延長に伴い、ほぼ直線的に上昇した（Fig. 2）。凍結融解群のK値は、氷蔵0日目（完全融解直後）に10.7±7.3%、氷蔵1日目に14.9±10.9%、氷蔵4日目に26.1±11.2%、氷蔵7日目に43.7±12.7%と保存期間の延長に伴い、ほぼ直線的に上昇し、氷蔵10日目には68.5±9.4%となった（Fig. 2）。そこで、未凍結群の氷蔵10日目まで、凍結融解群の氷蔵7日目までのK値が直線的に上昇した保存期間中（K値40%レベル）におけるK値上昇率を比較すると、それぞれ2.69±1.04%/日、4.39±0.57%/日で、凍結融解群が高い傾向にあった（Table 1）。

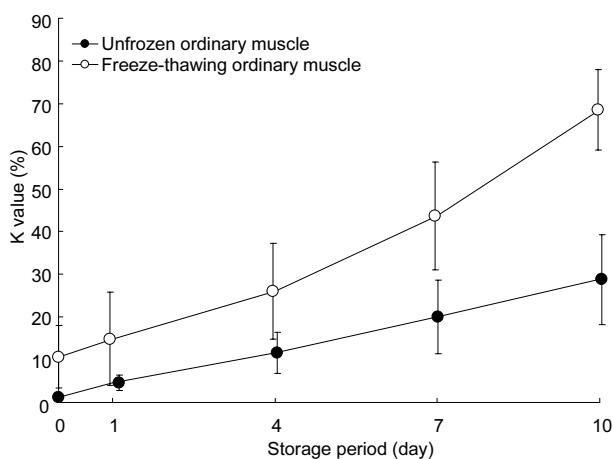


Fig. 2 Changes in K value of the freeze-thawing and unfrozen ordinary muscle in cultured carp group during storage in ice. Error bars show mean ± SD (n=3).

圧出水分量の経日変化

未凍結群の圧出水分量は、氷蔵0日目（即殺直後）に16.7±2.2%であり、氷蔵1日目に20.7±2.8%、氷蔵4日目に23.6±4.4%、氷蔵7日目に25.9±5.5%、氷蔵10日目に26.4±5.3%であった。凍結融解群では、氷蔵0日目（融解直後）

に30.4±2.6%、氷蔵1日目に29.3±2.0%、氷蔵4日目に29.9±3.1%、氷蔵7日目に30.2±1.6%、氷蔵10日目に29.7±1.8%であった。両群の圧出水分量の変化を比較すると、保存期間を通じて未凍結群が低値を呈し、保存期間の延長に伴って両群の差は小さくなった（Fig. 3）。

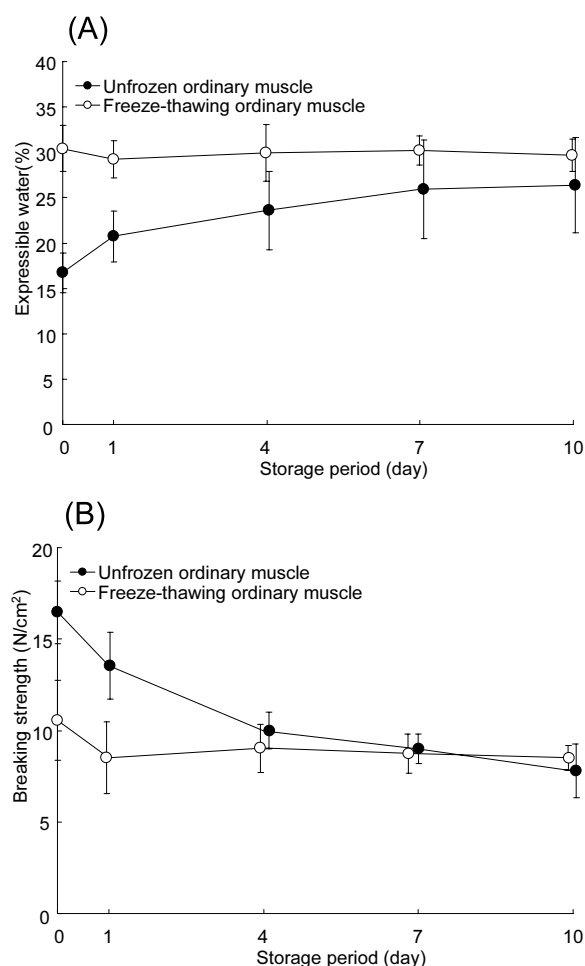


Fig. 3 Changes of expressible water (A) and breaking strength (B) of the freeze-thawing and unfrozen ordinary muscle in cultured carp group during storage in ice. Error bars show mean ± SD (n=3).

破断強度の経日変化

未凍結群の破断強度は、氷蔵0日目（即殺直後）に $16.5 \pm 1.7 \text{ N/cm}^2$ であり、氷蔵1日目に $13.5 \pm 1.8 \text{ N/cm}^2$ 、氷蔵4日目に $10.0 \pm 1.0 \text{ N/cm}^2$ 、氷蔵7日目に $9.0 \pm 0.8 \text{ N/cm}^2$ 、氷蔵10日目に $7.8 \pm 1.5 \text{ N/cm}^2$ で、氷蔵4日目まで急速に低下し、その後、緩やかな低下を示した。凍結融解群では、氷蔵0日目に $10.6 \pm 2.2 \text{ N/cm}^2$ 、氷蔵1日目に $8.5 \pm 2.0 \text{ N/cm}^2$ 、氷蔵4日目に $9.0 \pm 1.3 \text{ N/cm}^2$ 、氷蔵7日目に $8.7 \pm 1.1 \text{ N/cm}^2$ 、氷蔵10日目に $8.5 \pm 0.7 \text{ N/cm}^2$ で、氷蔵1日目までに若干低下したが、その後はあまり変化しなかった。両群の破断強度の変化を比較すると、氷蔵4日目までは未凍結群が高値を示したが、氷蔵7、10日目では両群に差を認めなかった (Fig. 3)。

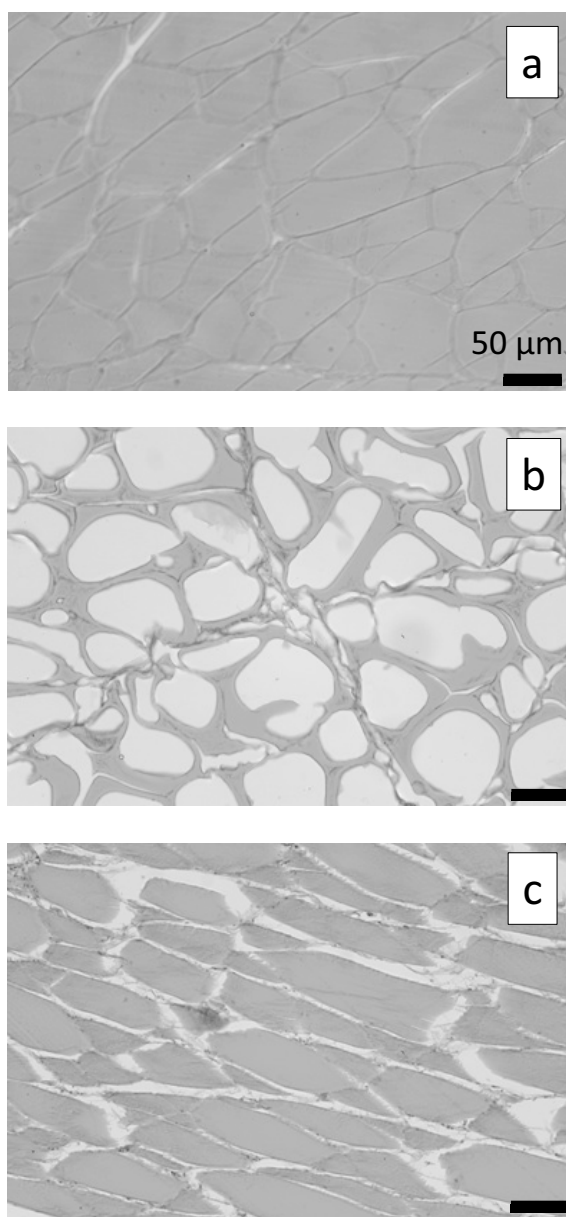


Fig. 4 Light micrographs of cross section cultured carp ordinary muscle. Each section was stained with H & E (a: just after killing, b: frozen at approximately -23°C , c: just after thawing). Bars represent $50 \mu\text{m}$.

光学顕微鏡観察

凍結融解群の即殺直後、凍結中および凍結融解後の各筋線維横断面の光学顕微鏡像をFig. 4に示す。

即殺直後では、直径 $50\sim 100\mu\text{m}$ 程度の筋細胞が整然と並ぶ様相が観察された。凍結中では、組織中に生成した氷結晶が観察された。凍結融解後では、凍結中に生成した氷結晶が消失し、筋細胞間が即殺直後よりも若干広がっているものの、致死直後と近い形態を呈した。

考 察

即殺した養殖コイの魚筋肉を未凍結のまま氷蔵、または凍結融解後に氷蔵し、凍結融解が肉質に及ぼす影響を検討した。

未凍結群では、K値は平均値レベルで保存期間の延長に伴って直線的に上昇したが、氷蔵10日目でも28.8%と低く、本群の鮮度は保存期間を通じて極めて良好であったと判断された。一方、凍結融解群では、K値は氷蔵0日目（完全融解直後）からやや高値を示し、氷蔵7日目には生食の限界とされる約40%、氷蔵10日目には約70%となった。そこで、両群のK値40%レベルまでのK値上昇率を求めたところ、凍結融解群は未凍結群よりも平均値レベルで1.6倍高かった。このことは、先に報告した即殺養殖コイの背部普通筋（白筋）における氷蔵7日目のK値20%程度^{13,14}とよく一致しており、本研究結果を支持していた。一方で、凍結融解後に氷蔵した魚筋肉の鮮度変化に関する知見はなく、本研究成果により、その新たな知見が得られた。

また圧出水分量をみると、未凍結群では平均値レベルで保存時間の延長に伴って上昇した。凍結融解群では保存期間を通じて大きな変化はなかったが、平均値レベルで常に未凍結群より高値を示し、特に保存初期（氷蔵0日目）では約2倍高かった。これは凍結により生じた氷結晶が融解し、細胞外に流出したためと考えられた。一方、破断強度については、未凍結群では、平均値レベルで保存時間の延長に伴って低下した。凍結融解群では、保存初期（氷蔵0日目）から平均値レベルで未凍結群の6割程度の低値しか示さず、その後も同程度の低値であった。これは凍結で生じた氷結晶により細胞が破壊された影響によるものと考えられた。魚肉組織では、氷結晶の生成が結合組織中の結合組織の立体構造崩壊を引き起こし、そのことが解凍後の物性値変化に影響を及ぼすと報告されている¹⁵。本研究においても、結合組織中のコラーゲンの立体構造崩壊により組織中の水分が流出し、また物性低下を引き起こしたのと考えられた。

以上の結果から、魚筋肉では凍結融解すると未凍結よりもK値上昇が速くなり、圧出水が増え、破断強度が低下することが明らかとなった。すなわち、凍結融解した魚筋肉は鮮度低下が速くなるうえ、肉質が軟らかくなるという肉質劣化が起こると考察された。

要 旨

本研究では、養殖コイを用いて未凍結群と凍結融解群を作製し、K値、圧出水分、破断強度、氷結晶の形成からみた凍結融解による魚筋肉の品質に及ぼす影響を検討した。未凍結群と凍結融解群のK値40%レベルまでのK値上昇率を求めたところ、凍結融解群は未凍結群よりも平均値レベルで1.6倍高かった。また圧出水分量は、凍結融解群では平均値レベルで常に未凍結群より高値を示し、特に保存初期（氷蔵0日目）では約2倍高かった。これは凍結により生じた氷結晶が融解し、細胞外に流出したためと考えられた。一方で破断強度は、凍結融解群では、保存初期（氷蔵0日目）から平均値レベルで未凍結群の6割程度の低値しか示さず、その後も同程度の低値であった。これは凍結で生じた氷結晶により細胞が破壊された影響によるものと考えられた。

以上、本研究から、魚筋肉では凍結融解すると未凍結よりもK値上昇が速くなり、圧出水分が増え、破断強度が低下することが明らかとなった。すなわち、凍結融解した魚筋肉は鮮度低下が速くなるうえ、肉質が軟らかくなるという肉質劣化が起こると考察された。

参考文献

- 1) I. Ashie, J. Smith and B. Simpson: Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 36, 87-121(1996).
- 2) G. Olafsdottir, E. Martinsdottir, J. Oehlenschlager, P. Dalgaard, B. Jensen, I. Undeland, I. M. Kackie, G. Henehan, J. Nieisen and H. Nilsen: Trends in Food Science and Technology, 8, 258-265 (1997).
- 3) K. Whittle, R. Hardy and G. Hobbs: In Chilled fish and fishery products, T. Gormley (Ed.), Elsevier Applied Science, New York, 87-116 (1990).
- 4) S. A. Kurade and J. D. Baranowski: Journal of Food Science, 52, 300-311 (1987).
- 5) M. P. Richards: Contributions of blood and blood components to lipid oxidation in fish muscle. PhD Thesis, University of Massachusetts, Amherst (2002).
- 6) J. Sarma, G. V. S. Reddy and L. N. Srikar: Food Research International, 33, 815-820 (2000).
- 7) Londahl, G: Infofish International, 3, 49-56 (1997).
- 8) S. Ehira, H. Uchiyama, F. Uda, H. Matsuyama: Nippon Suisan Gakkaishi, 36, 491-496 (1970).
- 9) 槌本六良, 三嶋敏雄, 宇津木照洋, 北島俊一, 矢田殖郎, 保田正人: 日水誌, 51, 1363-1369 (1985).
- 10) 田端義明, 金津良一: 日水誌, 41, 233-241 (1975).
- 11) M. D. Arroyo, Y. Hamada, A. Okamoto, A. Tateishi and K. Tachibana: Fish. Sci., 73, 651-659 (2007).
- 12) 景山圭三, 渡辺陽之輔監修: 第5版病理組織標本の作り方, 医学書院, 東京, 17-79, 98-99 (1981).
- 13) 梁 佳, 槌本六秀, 肖 寧, 川口夕貴, 小野 要, 濱田友貴, 谷山茂人, 橋 勝康: 日本食品化学学会誌, 18, 168-173 (2011).
- 14) 梁 佳, 宮崎里帆, 趙 鮮鮮, 吉田朝美, 平坂勝也, 谷山茂人, 橋 勝康: 日本食品化学学会誌 (印刷中).
- 15) 河野晋治, 山上信一, 篠崎聡: 2010年度日本冷凍空調学会年次大会講演論文集, pp245-246, 金沢, 2010.