

## 凍結速度が速いほど鶏ささ身の品質は保持されるか —真空調理法による評価—

西村 公雄, 小林 愛子, 安信 淑子\*

(同志社女子大学生活科学部, \*松下電器産業(株) 松下ホームアプライアンス社技術本部  
電化住設研究所)

原稿受付平成 18 年 2 月 24 日; 原稿受理平成 18 年 8 月 5 日

### Can a Rapider Freezing Rate Maintain Chicken Breast Quality? —Evaluation Using Vacuum Cooking—

Kimio NISHIMURA, Aiko KOBAYASHI and Toshiko YASUNOBU\*

*Department of Food Science and Nutrition, Doshisha Women's College of Liberal Arts, Kyoto 602-0893*

*\*Home Appliance & Housing Electronics Research Laboratory, Engineering Division, Matsushita  
Home Appliance Company Corporate, Matsushita Electric Industrial Co., Ltd., Osaka 561-0823*

Chicken breasts were frozen using 3 methods: the super slow freezing method (approximately  $-0.30^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ), the slow freezing method (approximately  $-1.4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ), and the liquid nitrogen-freezing method (approximately  $-250^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ). They were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 3 weeks. After thawing, each chicken breast was heated at  $75^{\circ}\text{C}$  for 15 min by vacuum cooking. The chicken breast frozen using the slow freezing method became tenderer than those frozen using the other methods. Cryo-scanning electron microscopy observations ( $\times 200$ ) indicated that the liquid nitrogen-freezing method did not cause extensive damage to the muscle fiber structure. However, scanning electron microscopy observations ( $\times 20,000$ ) revealed that the myofibril structure of the chicken breast frozen using the slow freezing method was the most similar to that before freezing. These results suggest that the hardness of the frozen chicken breast after vacuum cooking mainly depends on the state of the myofibril structure.

(Received February 24, 2006; Accepted in revised form August 5, 2006)

**Keywords:** chicken breast 鶏ささ身, freezing rate 凍結速度, quality 品質, muscle 筋, micro-structure 微細構造, softness 柔らかさ.

#### 1. 緒 言

凍結速度が肉組織に与える損傷に関する研究は、主に魚肉において盛んに行われ、すでにいくつかの成書となっている<sup>1)~3)</sup>。そのポイントは、凍結時に肉中の約 80% の水が氷結する最大氷結晶生成帯 ( $-1 \sim -5^{\circ}\text{C}$ ) を早く通過するように品温を下げると、氷結晶は、筋細胞内で小さく形成されるが、ゆっくりと通過するように品温を下げると細胞外で氷結晶が大きく育つというところにある。すなわち、ゆっくり凍結すると大きな氷結晶生成により筋細胞組織は変形、または、破損して肉の品質は劣化し、解凍時に多くのドリップが生じるが、急速凍結を行うと小さな氷結晶が多数筋細

胞内に生成するため、肉に与える損傷が少なく品質が保持される。この傾向は、魚肉だけでなく畜肉である牛肉においても認められており<sup>4) 5)</sup>、急速凍結した牛肉は、未凍結のものと質的に差がないと言われてきた<sup>6)</sup>。これらのことから、肉の品質を保持するためには、急速凍結が必須であるとされてきた。しかしながら、Grujić ら<sup>7)</sup> は牛肉を  $-14 \sim -78^{\circ}\text{C}$  下において凍結したところ、低温下におくほど(凍結速度が速まるほど)氷の結晶形成による筋組織への損傷は小さくなるが、 $-78^{\circ}\text{C}$  下に牛肉をおいた場合(急速凍結した時)、筋原線維への損傷が大きくなることを見いだした。また、Petrović ら<sup>8)</sup> は、解凍牛肉をステーキとして焼

き上げたところ、 $-50$  や  $-60^{\circ}\text{C}$  下におき中程度の速度で凍結した牛肉が、 $-14^{\circ}\text{C}$  下でゆっくりと凍結したものや  $-78^{\circ}\text{C}$  下で急速に凍結した牛肉よりドリップ量も少なく柔らかく焼き上がることを示した。これらの結果は、凍結時最大氷結晶生成帯を短時間で通過するほど品質が保たれるとする従来の説<sup>1)~6)</sup>と矛盾するものである。

鶏ささ身は、家庭で頻繁に使用される家禽肉であり、家庭内で家庭用冷凍冷蔵庫を用いてよく凍結保存される食材である。鶏ささ身に関しても、急速凍結により最大氷結晶生成帯を素早く通過するように品温を下げると、筋肉組織への損傷は少なくなると報告<sup>9)</sup>されているが、凍結速度が解凍調理後の柔らかさに与える影響に関して検討した報告はみあたらない。そこで、著者らは、鶏ささ身を超緩慢凍結法、緩慢凍結法、液体窒素凍結法の3種類の凍結法により凍結し、家庭用冷凍冷蔵庫の冷凍室( $-20^{\circ}\text{C}$ )に3週間保存した後、 $75^{\circ}\text{C}$ で15分間真空調理を行い、どの凍結法で凍結した鶏ささ身が、真空調理した凍結前の鶏ささ身の柔らかさに、最も近く仕上がるかを検討した。また、その結果を説明するために生化学的な検討および組織学的観察を行った。

## 2. 実験材料および方法

### (1) 材料および試薬

鶏ささ身は鹿児島県産若鶏を屠殺し、一晩冷蔵したものを市場(京都)にて購入した。また、実験に用いた試薬はいずれもナカライテスク株式会社(京都)製の特級試薬を使用した。

### (2) 鶏ささ身の整形および凍結、貯蔵方法

市場(京都)にて購入した鶏ささ身を  $60 \times 30 \times 10$  mm の大きさに切断し、ポリエチレンの袋に入れ、以下に示す3種類の条件下で凍結した。①家庭用冷凍冷蔵庫(松下電器製 NR-EL 46V1)の冷凍室内にて凍結する(以下、超緩慢凍結法と呼ぶ)。②ピーカーにエタノールを入れてそこへ細かく砕いたドライアイスを加えて  $-20^{\circ}\text{C}$  に温度調節し凍結する(以下、緩慢凍結法と呼ぶ)。③液体窒素の中に試料を浸して凍結する(以下、液体窒素凍結法と呼ぶ)。その後、①~③の方法で凍結した鶏ささ身を  $-20^{\circ}\text{C}$  の家庭用冷凍冷蔵庫の冷凍室内で3週間保存した。

### (3) 温度履歴測定法

上記3種類の凍結法を用いて凍結中の鶏ささ身の温度履歴は、PCカード型温度レコーダー(キーエンス

社製 NR-250, WAVE THERMO Ver.1.08 使用)のセンサーを整形した鶏ささ身の真ん中に来るようにセットすることで測定した。

### (4) 真空調理法

真空調理法は、前報に従って行った<sup>10)</sup>。すなわち、各種凍結法で凍結し  $-20^{\circ}\text{C}$  下で3週間保存した鶏ささ身を、家庭用冷凍冷蔵庫の冷凍室内で4時間解凍し、ナイロンとポリエステル製の袋(旭化成製)に入れ、卓上型自動真空包装機(東静電気株式会社製 V-304G)を用いて減圧密封した。その後  $75^{\circ}\text{C}$  に設定した恒温水槽中で15分間保持した。対照試料は、購入直後に整形した凍結前の鶏ささ身を上記条件により真空調理したものをを用いた。

### (5) 硬さおよび水分含量の測定法

真空調理後の鶏ささ身を室温に戻してから袋よりとりだした。レオメーター(山電製、レオナー RE 3305)を用いて、直径8mmのプランジャーを  $1\text{ mm/s}$  の速度で鶏ささ身に降下させ、歪率20%となった際の応力を測定することで硬さとした。また、開封後の各鶏ささ身の水分含量は、AOAC Official Method 95.0.46<sup>11)</sup>に従って測定し、肉100g当たりのg数で表した。

### (6) 電気泳動法

各種凍結法で凍結し、 $-20^{\circ}\text{C}$  で3週間保存した鶏ささ身を家庭用冷凍冷蔵庫の冷凍室中で4時間解凍し、その後みじん切りとし、0.5gを均一にはかりとった。8M尿素、2% SDS、9mM *N*-エチルマレイミドを含む50mMリン酸緩衝液(pH 7.2)を20ml加え、室温にて一晩放置した。これらをハンドホモジナイザーを用いてホモジナイズし電気泳動用の試料とした。各試料の一部に、最終濃度10%となるように2-メルカプトエタノールを添加し、得られた両種の各試料を沸騰水浴中で3分間保った。LaemmliによるSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)法<sup>12)</sup>に従い、スラブゲルプレート1枚当たり20mAで約90分間泳動を行った。凍結前の鶏ささ身から同様の方法で調製した電気泳動用試料を対照試料とし、泳動を行った。

### (7) $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 比活性の測定法

凍結前および各種凍結法にて凍結後、保存した鶏ささ身を0.16M NaClを含む15mM トリス-マレイン酸緩衝液(pH 7.0)で、ホモジナイザー(日本精器株式会社製 Nissei AM-8 Homogenizer)を用いて氷上にてホモジナイズ(10,000 rpm, 5分間)し、300倍に希釈した試料懸濁液を調製した。この試料懸濁液を用

## 凍結速度が速いほど鶏ささ身の品質は保持されるか

いて、50 mM NaCl, 10 mM  $\text{CaCl}_2$ , 10 mM ATP, タンパク質量 0.2~0.5 mg/ml および 15 mM トリス-マレイン酸緩衝液 (pH 7.0) となるように  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 測定用混液を調製した。酵素反応は、25℃で 15 分間行い、最終濃度約 5% となるようにトリクロロ酢酸を添加することで停止させた。遠心分離器 (TOMY 製 RL-100) により遠心分離 (870×g, 10 分) を行い、得られた上清について遊離したリン酸量を 740 nm で比色定量した<sup>13)</sup>。また、タンパク質量は、Lowry らの方法<sup>14)</sup> に準じて行い、求めたリン酸量を反応時間およびタンパク質量で割ることで  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 比活性を算出した。

## (8) クライオ走査型電子顕微鏡観察

各種凍結法にて凍結させた鶏のささ身を直ちに液体窒素に浸漬させ、氷の結晶状態を固定した。走査型電子顕微鏡 (株式会社日立製作所製 電界放射形走査型電子顕微鏡 S4500) に装着したクライオ (冷却) ステージに挿入し、約 -80℃で 5 分間ほど保持し、氷を昇華させて観察面を露出させ 200 倍にて観察を行った。

## (9) 走査型電子顕微鏡観察

各種凍結法にて凍結後、-20℃で 3 週間保存した鶏ささ身を家庭用冷凍冷蔵庫の冷蔵室中で 4 時間解凍した。解凍後および凍結前の鶏ささ身を両刃のカミソリを用いて約 3 mm 角、長さ約 1 cm の大きさに切断し、2% グルタルアルデヒド固定液に一晩浸漬した。試料を蒸留水にて十分に洗浄し、続けて 2% オスミウム酸固定液に 3 時間浸漬した。蒸留水で洗浄後、50, 60, 70, 80, 90, 99.5% 濃度の各エタノール溶液を濃度順に用いて浸漬脱水操作を行った。その後、試料を液体窒素中で凍結させ、のみや金槌などを用いて切断 (窒素切断) し、酢酸アミル溶液を用いて浸漬置換操作を行った。その後、臨界点乾燥器 (株式会社日立製作所 SCP-2) を用いて臨界点乾燥を行い完全に脱水した。試料を試料台に接着後、イオンスパッタ装置 (株式会社日立製作所 E-1030) で白金パラジウム合金を 1 nm/s の速度で 120 秒間コーティングし、走査型電子顕微鏡 (株式会社日立製作所製 電界放射形走査型電子顕微鏡 S4500) を用いて 20,000 倍で観察した。

## (10) 筋原線維隙間率算出法

走査型電子顕微鏡を用いて、20,000 倍にて各試料を観察したときの複数の画像から筋原線維隙間率を算出した。画面の濃淡から暗部の面積を計算するソフト (Area Measure, 本宮明典氏開発のフリーソフト) を用い、画像上黒くなっているところの面積を求め画像

全体に占める割合を算出した。

個々の実験は少なくとも 3 回独立して行った。また、平均値±標準偏差値を計算し Student's *t*-test を用いて有意差検定を行った。

## 3. 実験結果および考察

## (1) 各凍結法における凍結速度

鶏ささ身を超緩慢凍結、緩慢凍結および液体窒素凍結したときの温度履歴を調べ (データは示さない)、凍結速度の指標として 0℃から -20℃に達する時間を測定し、1 分間に低下する温度を算出すると超緩慢凍結は約 -0.30℃/min, 緩慢凍結は約 -1.4℃/min, 液体窒素凍結は約 -250℃/min となった。

## (2) 真空調理後の鶏ささ身の硬さ

前報<sup>10)</sup> において 75℃で 15 分間鶏ささ身を丸ごと ((16.6±0.8)×(4.2±0.2)×(1.8±0.1)cm) 真空調理すると、100℃で 15 分間真空調理したものより柔らかく仕上がることを見いだした。同時に、75℃真空調理時、加熱 10 分後には鶏ささ身の中心温度が、75℃に達することも認めている。このように、鶏ささ身の中心部が、少なくとも 5 分間以上 75℃下にあることは、75℃ 15 分間という条件下での真空調理が、鶏ささ身の加熱法として衛生上問題がないことを示していた。また、一般の調理法 (煮る、蒸す、焼く、揚げるなど) より、真空調理は条件を制御しやすく再現性を得やすいことから、本研究では加熱条件として真空調理法 (75℃で 15 分間) を選択した。

凍結前および凍結保存した各種鶏ささ身を、真空調理した時の硬さの測定値を Fig. 1 に示す。凍結前のものは (7.02±0.22)×10<sup>4</sup>Pa を示し、以下超緩慢凍結法、緩慢凍結法、液体窒素凍結法においてそれぞれ (11.25±0.75)×10<sup>4</sup>Pa, (8.13±0.66)×10<sup>4</sup>Pa, (9.76±0.33)×10<sup>4</sup>Pa (*n*=4) を示した。各数値間には 1 および 5% の危険率で有意差が認められた。特に、緩慢凍結したものは、凍結前のものより硬く仕上がったものの、超緩慢凍結および液体窒素凍結したものよりは、柔らかく仕上がった。この結果は、凍結時最大氷結晶生成帯を短時間で通過するほど肉の品質が保たれるという従来の説<sup>1)~3)</sup> に反しており、中程度の速度で凍結し筋細胞の内外に氷結晶が認められる牛肉は、ゆるやかに凍結し筋細胞外に氷結晶が生成した牛肉やまたは、急速に凍結し筋細胞内に氷結晶が分散した牛肉より、ステーキに焼き上げた時柔らかく仕上がるという現象<sup>8)</sup> に類似していた。そこで、その原因を調べ

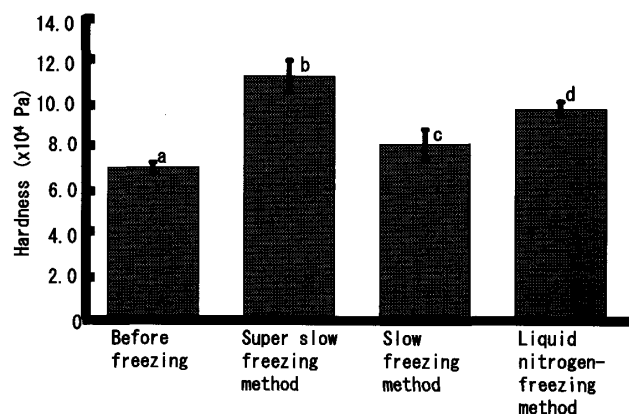


Fig. 1. Hardness of each chicken breast heated at 75°C for 15 min by vacuum cooking

The blocks and bars indicate the mean and SD ( $n=4$ ), respectively. The blocks without common superscripts are significantly different at  $p<0.05$  or  $p<0.01$ .

るために、まず、各種凍結法および凍結保存により鶏ささ身の筋肉タンパク質が、影響を受けているかどうかにつき SDS-PAGE 分析および  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 比活性測定を行うことで検討した。

### (3) 各種凍結法および保存が筋肉タンパク質に与える影響

凍結前の鶏ささ身と各種凍結法で凍結し、 $-20^{\circ}\text{C}$ で3週間保存後解凍した試料に関して SDS-PAGE 分析を行った (Fig. 2)。まず、凍結前の鶏ささ身の泳動パターン (Fig. 2, lane A) には、筋原線維タンパク質の主要タンパクであるミオシン重鎖およびアクチンがはっきりと現れ、一般的に認められる筋肉タンパク質の泳動パターンであった。各種凍結法にて凍結後保存した試料に関して (Fig. 2, lanes B-D) も、凍結および保存により凍結前のものと比べて泳動パターンに顕著な差はみられなかった。また、2-メルカプトエタノールを添加し SS 結合を開裂させても (Fig. 2, lanes E-H)、既存のバンドの減少や消失あるいは低分子域に新たなバンドの形成は認められなかった。次に、ミオシン重鎖とアクチンのバンドの濃さをデンストメーターで測定し、凍結前のものと凍結後貯蔵したものとは比較検討した (データは示さない) が、各試料間で有意な差は認められなかった。これらのことは、各種凍結法および保存により筋肉タンパク質の重合化や分解などの変化が生じなかったことを示している。

### (4) 各種凍結法および保存が $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 比活性に与える影響

凍結前の鶏ささ身と各種凍結法で凍結し、 $-20^{\circ}\text{C}$ で

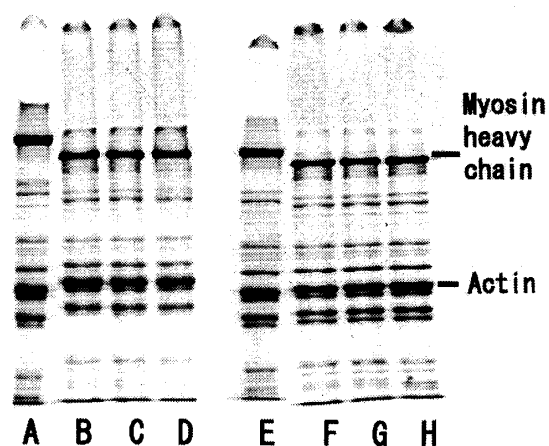


Fig. 2. Influences of each freezing method on muscle protein

After the chicken breasts were frozen using the super slow (lane B), slow (lane C), and liquid nitrogen- (lane D) freezing methods, they were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 3 weeks and the sample solutions for SDS-PAGE were prepared according to the method described in the text. A sample solution from the chicken breast before freezing was also prepared (lane A). Lanes E, F, G, and H were obtained by the addition of 2-mercaptoethanol to lanes A, B, C, and D, respectively.

3週間保存後解凍した試料の  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 比活性を凍結前のもの (平均比活性  $0.29\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$ ) を  $100(\pm 18.1)\%$  として Fig. 3 に示した。超緩慢凍結では  $107.6\pm 14.2\%$  を、緩慢凍結では  $94.8\pm 14.3\%$  を、液体窒素凍結では  $92.1\pm 14.6\%$  (at least,  $n=5$ ) をそれぞれ示した。お互い各試料間に有意差は見いだせなかった。 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase は、ミオシン頭部にあり<sup>15)</sup> ミオシンの変性度合いの指標としてよく測定される<sup>16)</sup>。 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 比活性の結果は、各凍結法および貯蔵によりミオシンが顕著な変性を起こしておらず、ほぼネイティブな状態を保っていることを示していた。また、このことは、他の筋肉タンパク質も著しい変化を起こしていないことを推察させるものである。

以上、SDS-PAGE 分析および  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 比活性の結果は、緩慢凍結した鶏ささ身が他の凍結法により凍結した鶏ささ身に比べて、真空調理すると柔らかく仕上がるという現象が、タンパク質自身の変性や重合・小片化によらないことを示唆している。

### (5) クライオ走査型電子顕微鏡観察

各種凍結法にて凍結した鶏ささ身の筋肉の横断面の筋細胞の状態を、クライオステージを装着した走査型電子顕微鏡を用いて 200 倍の倍率で観察した (Fig. 4)。

## 凍結速度が速いほど鶏ささ身の品質は保持されるか

この観察に供する試料は、氷結晶を昇華させているので、組織間の空洞や隙間には、氷が形成されていたものと考えられる。まず、超緩慢凍結した試料 (Fig. 4 A) では、大きく組織構造が乱れ空隙が広がっていた。肉中に含まれる水分がゆっくりと凍結し、大きな氷結晶が細胞外で形成されたことによるものと考えられる。

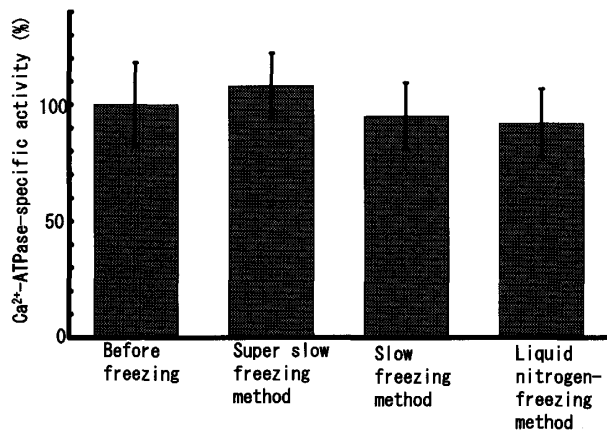


Fig. 3. Influences of each freezing method on  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase-specific activity

According to the method described in the text,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase-specific activity was measured. The  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase-specific activity in the chicken breast before freezing was regarded as 100%, and the relative values are shown. The blocks and bars indicate the mean and SD, respectively (at least,  $n=5$ ).

緩慢凍結したもの (Fig. 4 B) では、超緩慢凍結したもの (Fig. 4 A) に比べるとかなり各氷の結晶が小さくなったが、筋細胞の形状は乱れていた。液体窒素凍結した試料 (Fig. 4 C) では、筋細胞間に若干の隙間が観察されるものの筋細胞の形状に大きな乱れはなかった。これは、氷の結晶が細胞内で微細に形成されたためと考えられる。以上の観察は、鶏ささ身においても凍結時、最大氷結晶生成帯を短時間で通過するほど氷の結晶が小さくなり、筋細胞に損傷を与えにくいと言う従来の説<sup>1)~6)</sup>が成り立つことを示している。しかしながら、これらの結果は、緩慢凍結した鶏ささ身が他の凍結法により凍結した鶏ささ身に比べて真空調理すると柔らかく仕上がる現象が、主として筋細胞の状態によらないことも示唆している。

## (6) 走査型電子顕微鏡観察

各種凍結法にて凍結後保存し、解凍した鶏ささ身の筋肉の横断面の筋原線維の状態を走査型電子顕微鏡を用いて 20,000 倍の倍率で観察した (Fig. 5)。凍結前の鶏ささ身 (Fig. 5 A) では、筋原線維が隙間なく整然と並んでいる様子が観察された。超緩慢凍結した試料 (Fig. 5 B) では、構造は乱れ筋原線維間に多くの空隙が観察された。一方、緩慢凍結したのもの (Fig. 5 C) では、筋原線維間に凍結前のものと比べて多少の空隙は出来ていたが、筋原線維の大きな乱れは観察されず、凍結前のものに準じて整然とした構造が

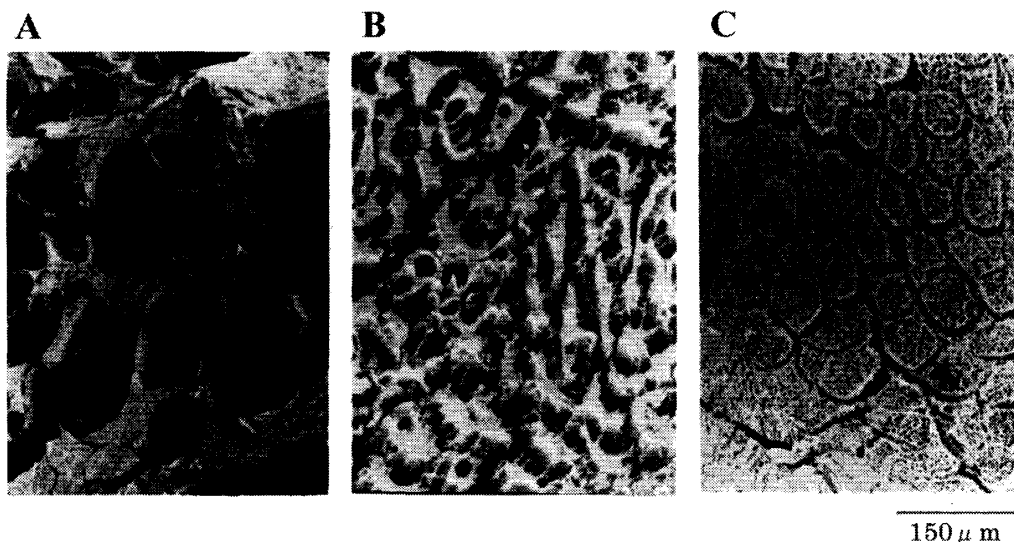


Fig. 4. Cryo-scanning electron microscopy observations of chicken breasts frozen using different freezing methods

Chicken breasts frozen using the super slow (A), slow (B), and liquid nitrogen- (C) freezing methods. Crosssections of the muscle fibers were observed immediately after freezing ( $\times 200$ ).

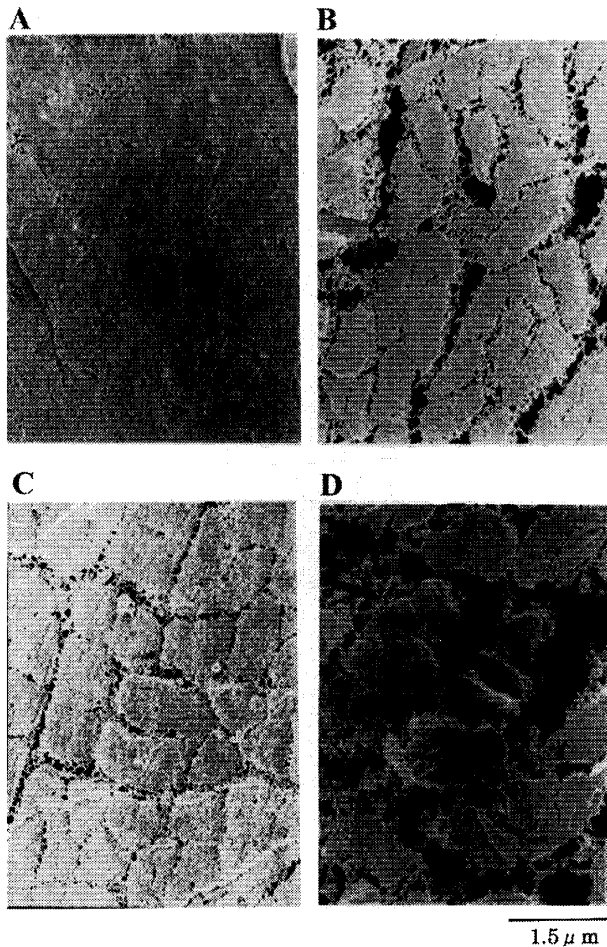


Fig. 5. Scanning electron microscopy observations of chicken breasts stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 3 weeks after freezing using different freezing methods

Chicken breasts (A) were frozen using the super slow (B), slow (C), and liquid nitrogen- (D) freezing methods and then stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 3 weeks. Crosssections of the myofibrils were observed after thawing ( $\times 20,000$ ).

みられた。筋細胞の状態では、最も構造の乱れが少なかった液体窒素凍結した試料 (Fig. 5 D) では、その筋原線維の状態において、超緩慢凍結したものよりも構造は大きく乱れ筋原線維間の空隙が広がっていた。これらの結果は、緩慢凍結した鶏ささ身が、他の凍結法により凍結した鶏ささ身に比べて、真空調理すると柔らかく仕上がる現象に、筋原線維の状態が影響を与えている可能性を強く示唆するものである。

#### (7) 筋原線維隙間率と硬さ

各観察画像より筋原線維隙間率を計算した。各筋原線維隙間率は、凍結前、超緩慢凍結、緩慢凍結および液体窒素凍結したものでそれぞれ  $0.3 \pm 0.1\%$ 、 $15.9 \pm$

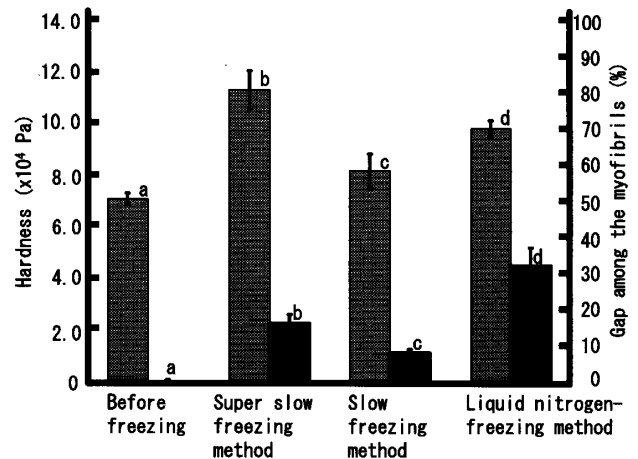


Fig. 6. Relationship between hardness and the gap among myofibrils

The values in Fig. 1 were used here as the hardness values of the chicken breasts heated at  $75^{\circ}\text{C}$  for 15 min by vacuum cooking (■). The gap ratios of chicken breasts frozen using the super slow, slow, and liquid nitrogen-freezing methods and then stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 3 weeks (□) were calculated using the photographs shown in Fig. 5, according to the method described in the text. The blocks and bars indicate the mean and SD ( $n=4$ ), respectively. The blocks without common superscripts in the hardness or gap are significantly different at  $p < 0.05$  or  $p < 0.01$ .

2.1%,  $7.7 \pm 0.8\%$  および  $32.2 \pm 4.8\%$  ( $n=4$ ) となった。この値と真空調理後の鶏のささ身の硬さとの関係を見ると (Fig. 6), 最も柔らかく仕上がった緩慢凍結した鶏ささ身の筋原線維隙間率が、硬く仕上がった超緩慢凍結したものおよび急速凍結したものに比べて有意に低いことが読みとれる。このことは、凍結法が筋原線維に与える状態が、真空調理された鶏ささ身の柔らかさに影響を与えていることを強く示唆するものである。

Grujić ら<sup>7)</sup> および Petrović ら<sup>8)</sup> は、牛肉を緩慢凍結するよりも急速凍結した方が、筋原線維構造がより損傷を受けることを報告している。その理由として  $-70^{\circ}\text{C}$  くらいまでの温度領域であると、肉中に存在する水分のうち自由水のみが凍結する。従って、この温度帯であれば出来るだけ速く最大氷結晶生成帯を通過させ氷結晶を細かくすることが、肉組織への損傷を最小限とし、品質を保持することとなる。これは、従来の説<sup>1)~6)</sup> を支持している。しかしながら、液体窒素などを使用してあまりにも急激に品温を低下させ、肉の温度が  $-70^{\circ}\text{C}$  以下の温度領域となると筋細胞中の結合水までが部分的に凍結してしまい、筋原線維などの

## 凍結速度が速いほど鶏ささ身の品質は保持されるか

微細構造を乱すこととなる。また、このような凍結をした結合水は、解凍時にドリップとして失われるので、保水性を失った肉は加熱すると硬くなるという主張である。本研究においても液体窒素凍結した鶏ささ身では、急速な温度低下により品温が一時 $-70^{\circ}\text{C}$ 以下にまで下がったことが考えられることから、結合水の凍結により真空調理後ドリップ量が増加したことで、鶏ささ身が硬くなった可能性が推察された。そこで、次に凍結前および各種凍結保存した鶏ささ身を真空調理した時の水分含量を測定することで、失われた水分量を算出しようとした。

## (8) 真空調理後の各鶏のささ身における水分含量

真空調理後の各鶏ささ身における水分含量を Fig. 7 に示す。水分含量は、凍結前、超緩慢凍結、緩慢凍結および液体窒素凍結したものでそれぞれ  $71.1 \pm 0.4 \text{ g}/100 \text{ g}$ ,  $71.0 \pm 0.7 \text{ g}/100 \text{ g}$ ,  $70.9 \pm 2.2 \text{ g}/100 \text{ g}$ ,  $71.1 \pm 1.1 \text{ g}/100 \text{ g}$  ( $n=3$ ) を示し、各数値間に有意差はみられなかった。すなわち、鶏ささ身の場合、凍結速度とドリップ量に相関関係がなく、鶏ささ身の凍結速度によって変化する真空調理後の硬さは、失われた水分量によるものではないことが示唆された。

それでは、何故ドリップ量に有意差がないのに真空調理後の硬さに差が出るのであろうか。Ngapo ら<sup>17)~19)</sup> は、豚肉を使った一連の凍結実験で、凍結速度が遅いと本研究でもみられたように (Fig. 4 A) 筋

細胞間に大きな氷が形成されることを観察している。しかしながら、解凍すると筋細胞の構造がおおかた元に戻ることもクライオ走査型電子顕微鏡観察により認めている。本研究において解凍後の筋細胞の状態観察は行っていないが、鶏のささ身においても同様の現象が生じ、筋細胞の状態は、解凍によりおおかた復元したことが考えられる。これがドリップの増加を抑えたものと推察される。一方、筋原線維の状態は、復元しない (Fig. 5) のでこのような微細な構造変化が硬さに影響を与えたものと考えられる。しかし、超緩慢凍結した鶏ささ身は、筋原線維隙間率が液体窒素凍結したものより小さかったにもかかわらず、凍結試料中で最も硬く仕上がった (Fig. 6)。これは、超緩慢凍結したものは、筋細胞構造も大きな損傷を受けており、解凍後復元が充分になされなかったことが硬さにも影響を及ぼし、筋原線維構造の破壊と相まって、凍結試料のうちで最も硬くなったものと推察された。

しかしながら、ドリップ量、筋細胞構造、筋原線維構造と硬さとの関係は、未だ、不明な点が多く、鶏ささ身だけでなく、肉全体として包括的に今後検討して行く必要があると考えられる。

## 4. 要 約

鶏ささ身 ( $60 \times 30 \times 10 \text{ mm}$ ) を超緩慢凍結法 (約  $-0.30^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )、緩慢凍結法 (約  $-1.4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )、液体窒素凍結法 (約  $-250^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) により凍結し、 $-20^{\circ}\text{C}$  で3週間保存した。解凍後真空調理 ( $75^{\circ}\text{C}$  で15分間) を行い、鶏ささ身の硬さをレオメータを用いて測定したところ、緩慢凍結した鶏ささ身が最も柔らかく仕上がった。これは、凍結時最大氷結晶生成帯を短時間で通過するほど品質が保たれるとする従来の説<sup>1)~6)</sup> と異なっていた。そこで、その原因を検討した。

(1) 凍結前および各種凍結保存後の鶏ささ身に対して SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、凍結速度および凍結保存の影響を検討したところ、各泳動パターン間に顕著な差は認められなかった。また、各  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 比活性間にも有意な差は認められなかった。

(2) 各種凍結後の鶏ささ身に対してクライオ走査型電子顕微鏡観察 ( $\times 200$ ) (筋細胞の状態観察) を、また保存後解凍した鶏ささ身に対しては、走査型電子顕微鏡観察 ( $\times 20,000$ ) (筋原線維の状態観察) を行った。筋細胞の状態は、液体窒素凍結法、緩慢凍結法、超緩慢凍結法の順に氷結晶による損傷が大きくなった。

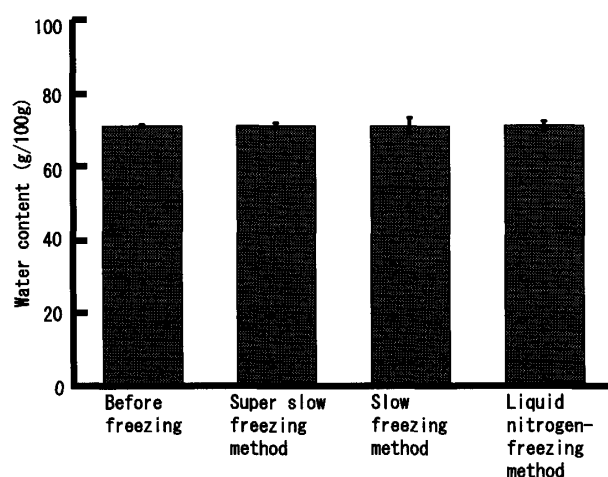


Fig. 7. Water contents of chicken breasts

Chicken breasts were frozen using the super slow, slow, and liquid nitrogen-freezing methods and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 3 weeks. After vacuum cooking at  $75^{\circ}\text{C}$  for 15 min, the water content (g/100 g of meat) was measured according to the AOAC Official Method 950.46.<sup>11)</sup> The blocks and bars indicate the mean and SD ( $n=3$ ), respectively.

一方、筋原線維の状態は、緩慢凍結法による損傷が最も小さく、急速凍結および超緩慢凍結した試料とも筋原線維間に空隙ができていた。

(3) 凍結前および各種凍結法にて凍結後保存した鶏ささ身を真空調理し、水分含量を調べたところ各試料間で有意な差はなかった。

以上のことより解凍後の鶏ささ身の筋原線維の状態が、主として真空調理後の鶏ささ身の硬さに影響を与えるものと考えた。

本研究の遂行にあたり、実験にご協力下さいました阿部美苗、市川奈々、本郷良子および植原みずきさんに感謝致します。また、クライオ走査型電子顕微鏡観察および走査型電子顕微鏡観察において、ご指導賜りました元京都大学農学研究科の樋笠隆彦先生にお礼申し上げます。最後に本研究の一部は、2004年度同志社女子大学研究助成金により行われたものです。ここに感謝の意を表します。

#### 引用文献

- 1) 田中武夫：『食品の水』（日本水産学会編），恒星社厚生閣，東京，63-82（1973）
- 2) 須山三千三：『水産加工』（須山三千三，三輪勝利編），建帛社，東京，50-52（1992）
- 3) 御木英昌：『水産食品の加工と貯蔵』，小泉千秋，大島敏明編），恒星社厚生閣，東京，67-71（2005）
- 4) Rahelić, S., and Puač, S.: Structure of Beef *Longissimus dorsi* Muscle Frozen at Various Temperature: Part 1—Histological Changes in Muscle Frozen at -10, -22, -33, -78, -115 and -196°C, *Meat Sci.*, **14**, 63-72 (1985)
- 5) Rahelić, S., Gawwad, A., and Puač, S.: Structure of Beef *Longissimus dorsi* Muscle Frozen at Various Temperature: Part 2—Ultrastructure of Muscles Frozen at -10, -22, -33, -78 and -115°C, *Meat Sci.*, **14**, 73-81 (1985)
- 6) Cassens, R. G.: *The Science of Meat and Meat Products*, W. H. Freeman, San Francisco, 11-77 (1971)
- 7) Grujić, R., Petrović, L., Pikula, B., and Amidžić, L.: Definition of the Optimum Freezing Rate — 1. Investigation of Structure and Ultrastructure of Beef *M. longissimus dorsi* Frozen at Different Freezing Rates, *Meat Sci.*, **33**, 301-318 (1993)
- 8) Petrović, L., Grujić, R., and Petrović, M.: Definition of the Optimal Freezing Rate—2. Investigation of the Physico-chemical Properties of Beef *M. longissimus dorsi* Frozen at Different Freezing Rates, *Meat Sci.*, **33**, 319-331 (1993)
- 9) 千田惣浩，山崎 司，畠山義祝：鶏肉の冷凍保存試験，東北農業研究，**44**，165-166（1991）
- 10) Nishimura, K., Miyamoto, Y., and Higasa, T.: Tenderer Chicken Breasts Vacuum-Cooked at 75°C, *J. Home Econ. Jpn.*, **55**, 605-615 (2004)
- 11) Soderberg, D. L.: 39. Meat and Meat Products, in *Official Method of Analysis of AOAC International*, 16th ed. (ed. by Soderberg, D. L.), AOAC International, Arlington, 1 (1995)
- 12) Laemmli, U. K.: Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4, *Nature*, **227**, 680-685 (1970)
- 13) 中村道徳，山崎鏡次，丸尾文治：植物に於ける Phosphorylase, Phosphatase 及び  $\beta$ -Amylase の分布，農化，**24**，197-201（1950）
- 14) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J.: Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951)
- 15) 丸山工作：『筋収縮の制御』，岩波書店，東京，18-28（1976）
- 16) 西村公雄，河村幸雄，米澤大造：スジエビ (*Palaemon paucidens*) 筋肉の冷凍貯蔵中の変化について，栄食誌，**90**，123-128（1987）
- 17) Ngapo, T. M., Babare, I. H., Reynolds, J., and Mawson, R. F.: Freezing and Thawing Rate Effects on Drip Loss from Samples of Pork, *Meat Sci.*, **53**, 149-158 (1999)
- 18) Ngapo, T. M., Babare, I. H., Reynolds, J., and Mawson, R. F.: Freezing Rate and Frozen Storage Effects on the Ultrastructure Samples of Pork, *Meat Sci.*, **53**, 159-168 (1999)
- 19) Ngapo, T. M., Babare, I. H., Reynolds, J., and Mawson, R. F.: A Preliminary Investigation of the Effects of Frozen Storage on Samples of Pork, *Meat Sci.*, **53**, 169-177 (1999)