冷蔵鶏胸筋の微細構造学的変化

北 村 禎 三

大阪府立公衆衛生専門学校栄養科

Ultrastructural Changes in Fowl Breast Muscles during Refrigeration

Teizo KITAMURA

Department of Nutrition Science, Osaka College of Public Health, Osaka 558

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 45, 239~247 (1992)

An investigation was undertaken to determine the ultrastructural changes occurring in refrigerated breast muscle of fowl. Breast muscle (*M. pectoralis*) of Rockhorn fowl was excised and stored for 1, 3, 5 or 7 days at 5°C. The length of the sarcomeres measured during refrigeration was used as an indicator of post-mortem muscle contraction and relaxation. Cross-striations as a result of contraction were observed in freshly prepared muscle by electron microscopy. After 1 day of storage, the muscle fibers showed maximum rigor mortis. After 3 days of storage, the rigor was gradually resolved. Disappearance of part of the Z-line, destruction of mitochondria and cracks in the I-band were seen in the muscle fibers. Autolysis proceeded rapidly in the muscle fibers after 5 days of storage. Myofilaments were disintegrated and sarcomeres were broken after 7 days of storage. These results suggest that breakdown of the Z-line, mitochondria and I-band is followed by autolysis of myofibrils.

Key Words ultrastructural change, breast muscle of fowl, rigor mortis, autolysis, sarcomere.

(Received October 14, 1991)

鶏の筋肉では、死後硬直から解硬にいたる期間、すなわち熟成期間は家畜の筋肉の場合より短く、鶏の筋肉は早く熟成する¹⁾²⁾。したがって鶏の筋肉を食用にする場合は、その鮮度が重要視されているが、解硬後の柔軟な鶏の筋肉を食用にすることが多い。

以前、ロックホーン種成鶏の胸筋 (*M. pectoralis*) を 5°C、7 日間冷蔵し、その胸筋に現れる食品化学的变化³⁾と食品組織学的变化⁴⁾について報告した。それによると鶏の胸筋は冷蔵 0.5 日目で、最高の硬直状態にあり、冷蔵 3 日目で解硬し、冷蔵 5 日目以降、筋タンパク変性を示唆する Walkiewicz 反応液の混濁度が上昇した。

また、冷蔵中の鶏の胸筋は組織学的変化を伴うことを明らかにした。屠殺直後の新鮮な鶏の筋肉の横断切片では、筋繊維は不正多角形で、相互に密着して配列していたが、硬直期では、筋繊維の収縮と筋内膜の遊離、解硬期では筋繊維の膨化と円形化、さらに自己消化が進むと筋繊維の崩壊および消失が観察された。

保蔵中の鶏筋肉の組織学的変化についての報告は比較

的多いが⁵⁾⁶⁾、その微細構造学的変化についての報告は少ない⁷⁾⁸⁾。それで、食品組織学の立場より、冷蔵した鶏の胸筋が示す熟成の過程を明確にするため、冷蔵した鶏の胸筋が硬直期および解硬期に示す微細構造を電子顕微鏡で観察した。同時に、前報³⁾⁴⁾の結果との整合性についても検討した。

実験試料および実験方法

1. 実験試料

ロックホーン種成鶏 (♀, 2.8 kg) の頸部を切断して、放血屠殺し、ただちに胸部を切開して、胸筋を分離し、それをポリエチレン製袋に封入した。この間、約 2 分を要した。さらに、0°C の冷蔵庫中で 30 分間放置し、急冷した後、5°C の冷蔵庫中で 7 日間冷蔵保蔵した。この間、自己消化過程にある鶏胸筋を検鏡用試料とした。新鮮鶏胸筋とは、屠殺解体直後の鶏胸筋のことで、各冷蔵期の鶏胸筋を試料とする場合は、細菌汚染のおそれのある試料の表面部を避けた。

2. 電子顕微鏡用試料の作成法

鶏の胸筋の小組織片を 2.5% グルタルアルデヒド・

0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.4, 5°C) で 60 分間、前固定した後、5% ショ糖・0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.4, 5°C) で 60 分間洗浄した後、2% オスミウム酸・0.05 M 磷酸緩衝液 (pH 7.4, 5°C) で 2 時間後固定した。続いて常法に従いエタノール系列で脱水、プロピレンオキシド置換剤に浸漬、エポキシ樹脂に包埋した⁹⁾。

次にその包埋試料をポーターブラム MT-II 型超ミクロトームで超薄切片とし、その切片に対して、酢酸ウランとクエン酸鉛¹⁰⁾による二重電子染色法を実施し、HS-9 型電子顕微鏡で観察した。

3. 筋節の長さの測定

筋肉の死後変化の過程で、筋肉軟化に関連する筋肉構造上の要素として、筋繊維の直径と筋節の長さ (Z 線間の長さ) が示されている。なかでも筋節の長さが筋肉軟化と相関するとの報告¹¹⁾が多い。そこで冷蔵鶏胸筋肉の硬直および解硬の状態を知る指標値とするため、筋細繊維縦断像の電子顕微鏡写真 (陽画) より筋節の長さを測定した。数値は 10 本の筋細繊維の筋節の長さを測定し、その平均値 ± 標準誤差で示された。

結 果

1. 新鮮鶏胸筋

新鮮な鶏の胸筋の筋繊維縦断像を弱拡大で観察した (Fig. 1)。筋繊維を構成する筋細繊維は相互に直線状に走行し、筋繊維核も筋細繊維に平行して分布していた。また筋細繊維の単位区間とみなせる筋節の縞が横紋として観察された。筋細繊維の縦断像を強拡大すると (Fig. 2)、筋細繊維を構成する太い筋細糸 (ミオシン細糸) と細い筋細糸 (アクチン細糸) が整然と配列して、明暗の縞構造を形成していた。筋節の長さは $1.66 \pm 0.01 \mu\text{m}$ であった。各筋節に A 帯、I 帯、M 帯および Z 帯を認めた。筋節の大部分は A 帯によって占められていた。

筋細繊維の強拡大横断像 (Fig. 3) を観察すると、筋細糸の横断像が六角形に配列していた。Fig. 3 の右側の筋細繊維像は、太い筋細糸のみが存在する H 帯の横断像で、中央の筋細繊維像は太い筋細糸と細い筋細糸を含む A 帯の横断像を示す。なお、Fig. 1 および Fig. 3 において、筋形質はほとんど認められなかった。

2. 冷蔵 1 日目鶏胸筋

冷蔵 1 日目の鶏胸筋の弱拡大縦断像 (Fig. 4) を観察すると、筋細繊維は相互に隣接して配列しているが、一部の筋細繊維の走行に乱れが生じ、筋細繊維が波状を示した。

筋細繊維の強拡大縦断像 (Fig. 5) において、筋節の中央に A 収縮帯が認められた。また筋節の長さは $1.45 \pm 0.01 \mu\text{m}$ で、新鮮鶏胸筋の筋節より短く、冷蔵 1 日目鶏胸筋は硬直状態にあることを示した。

筋繊維の横断像を弱拡大で観察した (Fig. 6)。筋繊維は筋内膜で囲まれ、多数の不正多角形の筋細繊維を包含していた。

3. 冷蔵 3 日目鶏胸筋

冷蔵 3 日目の鶏胸筋の縦断像を観察した (Fig. 7)。筋節の長さは $1.48 \pm 0.01 \mu\text{m}$ で、各筋節の中央に見られる A 収縮帯は少し不明確となり、鶏胸筋は解硬状態を示した。筋細繊維は蛇行し、さらに I 帯に亀裂が認められたが、その保存性は相対的に良好であった。しかし、筋細繊維上の Z 線は粒状化するとともに、不連続性を示した。このように筋細繊維の初期の変性は、Z 線を中心とする I 帯で認められた。

筋細繊維間のミトコンドリアの変性は、とくに速く、ミトコンドリアの膨化とともに、その外膜の崩壊は顕著であった。なお、ミトコンドリア内部に、高電子密度の変性物やクリステの断片が散在していた。

これらの変性物は、自己消化の進行を示すと同時に、鶏の胸筋が解硬状態にあることを暗示した。

4. 冷蔵 5 日目鶏胸筋

冷蔵 5 日目の鶏胸筋の縦断像を観察した (Fig. 8)。筋細繊維を構成する筋細糸が筋細繊維の側面から毛状となって遊離するのが認められた。また筋細繊維の M 帯が消失し、筋細繊維の変性が進展しているのが認められた。Z 線については、冷蔵 3 日目以降の著しい変化は見られなかった。

5. 冷蔵 7 日目鶏胸筋

冷蔵 7 日目の胸筋の縦断像を観察した (Fig. 9)。筋細繊維の変性は顕著で、筋節の長さは $1.51 \pm 0.03 \mu\text{m}$ となり、解硬が進展していた。筋細繊維内に、I 帯から A 帯におよぶ大きい亀裂、筋細糸の自己消化、それに伴う空洞化が認められた。また、Z 線は筋細繊維上で粒状となり、さらにその一部が消失した。このように冷蔵 7 日目の筋細繊維の自己消化は、冷蔵期を通じ最も著しい。

次に、冷蔵 7 日目の胸筋の横断像を観察した (Fig. 10)。筋繊維の内部も激しい自己消化作用を受けていた。筋細繊維を構成する筋細糸は雲状物質に変化し、筋細繊維の内部に筋細糸の欠損が認められた。また糸状の遊離した筋小胞体は変性し、粒状化するのが認められた。さらに、筋内膜の周辺像を観察した (Fig. 11)。筋内膜は無構造であるが、自己消化作用によって粗雑な外観を示した。また筋細繊維の強拡大横断像を検鏡した (Fig. 12)。Fig. 12 の像は多少、斜断された像であるが、太い筋細糸と細い筋細糸が存在する A 帯の横断像であると推察される。この横断像の各部分で、筋細糸の欠損が認められた。とくに横断像の中央部には、多数の筋細糸の欠損による大きい空洞が生じ、そのなかに自己消化による筋細糸の分解産物が認められた。

Fig. 1-3.

Fig. 4-6.

Fig. 7-9.

Fig. 10-12.

考 察

骨格筋の超微形態学¹²⁾は電子顕微鏡の導入によって飛躍的に発展した。横紋筋の収縮や弛緩の機構については、筋細糸滑り仮説¹³⁾が広く受け入れられている。すなわち筋節を構成する太い筋細糸と細い筋細糸は一定の長さを維持しているが、筋肉が収縮するときは筋節のA帯で、2種類の筋細糸が相互に深く滑り込み、全体として筋節が短くなる。また筋肉が弛緩するときは、筋細糸の滑り込みが浅くなり、筋節が長くなる。しかし強く筋収縮すると、細い筋細糸は左右のZ線側からA帯内に滑り込み、重なり合って、A収縮帯が形成される。一方の太い筋細糸はその両端をZ線内に侵入させ、dense zoneが形成される⁹⁾。したがって冷蔵した鶏の胸筋の硬直・解硬状態を知る指標値とするため筋節の長さを測定した。

鶏胸筋を1日冷蔵すると、筋節の中央部にあるA帯に電子密度の高いA収縮帯が生じ、強い死後硬直が見られた (Fig. 5)。さらに冷蔵すると3日目よりA収縮帯が不明確となり、解硬が始まった。冷蔵5日目では解硬が進展するとともに自己消化像が見られた (Fig. 8)。鶏胸筋の硬直・解硬状態は各冷蔵期の筋細繊維の超微形態の変化からのみならず筋節の長さから推定することができた。

前報⁴⁾では、筋繊維の横断面の面積指標値から冷蔵中の鶏胸筋の死後硬直および解硬状態を推定した。各冷蔵期ごとに、筋節の長さから推定した筋肉の状態と筋繊維の横断面積の指標値から推定した筋肉の状態を比較すると、その結果は一致した。

Hagopian⁹⁾によると、最も短縮した状態のグリセロール鶏胸筋の筋節の長さは1.3 μm で、また McGinnisら¹⁴⁾

Legends

Fig. 1. Longitudinal section of muscle fibers immediately after death.

The cross striation of myofibril (mf) is distinct. n : nucleus ($\times 3,600$).

Fig. 2. A myofibril showing the banding pattern of contracted muscle of the same storage as in Fig. 1.

ac : actin filament, my : myosin filament. A : A-band, I : I-band, M : M-band, Z : Z-line, S : sarcomere. ($\times 31,500$).

Fig. 3. High magnification of cross-sectioned myofibrils of the same storage as in Fig. 1.

Two kinds of myofilaments, or actin and myosin filaments are observed in A-band at the center region. ($\times 70,000$).

Fig. 4. Each myofibril showed irregular arrangement after 1 day of storage.

The arrangement of Z-lines of myofibrils is not parallel one another. ($\times 3,600$).

Fig. 5. Myofibrils stored for 1 day.

This myofibril is contracted and A-contraction bands (CB) are formed at the middle of sarcomeres. Z-lines are discontinuous (arrow). ($\times 24,000$).

Fig. 6. Cross-section of muscle fibers after 1 day of storage.

Four muscle fibers composed of many myofibrils are surrounded by endomysium (em). ($\times 3,600$).

Fig. 7. Myofibrils and intermyofibrillar mitochondria (m) after 3 days of storage.

Disappearances of a part of Z-lines, destructions of the mitochondria and cracks of I-bands are seen. A cluster of the cristae forms dust (arrow). om : outer membrane of mitochondria. ($\times 24,000$).

Fig. 8. Myofibrils degenerated after 5 days of storage.

Some of myofilaments (arrows) separate from myofibrils. ($\times 24,000$).

Fig. 9. Myofibrils after 7 days of storage.

Granulated Z-lines (arrows) and diffused myofilaments are seen. ($\times 24,000$), bar : 1 μm .

Fig. 10. Cross-sectioned myofibrils after 7 days of storage.

Autolysed myofibrils and granular sarcoplasms (arrow) are seen. ($\times 24,000$).

Fig. 11. Myofibrils of the same storage as in Fig. 10.

Dispersed endomysium (em) and degenerated myofibrils are observed. ($\times 24,000$).

Fig. 12. High magnification of cross-sectioned myofibril after 7 days of storage.

Inner part of myofibril and a part of myofilaments (small arrows) are absent. A large arrow shows cloudy materials. ($\times 70,000$), bar : 1 μm .

によると、グルタルアルデヒド固定した鶏の胸筋の場合、筋節の最大の長さの平均は $2.20\ \mu\text{m}$ であると報告されている。試料作成法および超薄切片作成法の相違に起因する筋節の計測誤差は避けられないと考えられるが、本研究で用いた鶏胸筋の筋節の長さは $1.66\ \mu\text{m}$ 以下であるため、胸筋は収縮状態を示していたものと推察する。

鶏の胸筋を冷蔵すると、筋細繊維は自己消化して、崩壊するが、筋細繊維はミトコンドリアや筋形質小胞体と異なり、比較的安定であった。冷蔵3日目より筋細繊維の内部に亀裂が生じるが (Fig. 7)、その微細構造は良好に保たれていた。冷蔵5日目の鶏胸筋では、筋細繊維から筋細糸が遊離し (Fig. 8)、冷蔵7日目の鶏胸筋は顕著な自己消化により崩壊した (Fig. 9)。

Fig. 9 において、筋細糸の分散および溶解、それに伴う筋細繊維内の欠損と空洞が観察された。すでに報告⁹⁾したように、鶏胸筋に対する冷蔵7日目は初期腐敗直前の時期にあたるため、冷蔵7日目の鶏胸筋が示す形態変化は初期腐敗直前の形態変化であると推察した。

また、冷蔵7日目の胸筋では、筋内膜の変性崩壊を示唆する筋内膜の粗雑化が認められた (Fig. 11)。しかし鶏筋肉の熟成軟化の過程では、結合組織は安定で、その減少は認められていない¹⁹⁾。筋肉の熟成軟化には、筋肉中のコラーゲンの量的変化よりも、その分子構造および分子間の架橋数が関与すると報告されている¹⁰⁾。

鶏の胸筋では白色筋繊維の占める割合が圧倒的に多い¹⁷⁾。豚の筋肉の場合、白色筋繊維は赤色筋繊維より自己消化されやすく¹⁸⁾、白色筋繊維は亀裂を起こしやすく、またそのZ線が消失しやすい。

鶏胸筋を 5°C で、1日冷蔵すると、筋細繊維のZ線が少し拡散し (Fig. 5)、冷蔵3日目には、Z線の一部が切断され (Fig. 7)、冷蔵7日目には、Z線の一部が消失した (Fig. 9)。このように鶏胸筋の死後変化過程のなかで、Z線の形態的变化は冷蔵早期より認められた。

Z線の変性の状態は、保蔵温度だけでなく動物種によって異なり、牛の筋肉の場合、Z線の抵抗性は大きく 5°C 、1日冷蔵後においてもZ線は完全に保持されている¹⁹⁾。また、冷蔵した鶏の胸筋におけるZ線の変性および崩壊の過程は牛の筋肉の場合とほぼ同じであった²⁰⁾。

豚の筋肉を24時間、保蔵すると、Z線の退化変性は豚の白色筋繊維に限定されて認められ、白色筋繊維が赤色筋繊維より容易に死後変化すると報告されている²¹⁾。

用いた鶏の胸筋の組織では、ミトコンドリアの分布が少なく、ミトコンドリアは筋細繊維間に少数、認められる程度で、筋内膜直下では、観察することができなかった。

冷蔵3日目の鶏の胸筋では、ミトコンドリアの崩壊は顕著で、外膜の破壊、クリステの分解等を認めた。また

ミトコンドリアの崩壊は、筋細繊維の崩壊より早期に認められた。

走査電子顕微鏡による観察の結果、筋繊維におけるミトコンドリアの分布状態から、赤色筋繊維および白色筋繊維の区別をすることが可能であると報告²²⁾されている。この報告の判定基準より、用いた鶏の胸筋は白色筋繊維を主とする組織であることが明らかになった。

このように冷蔵した鶏胸筋の微細構造上の変化より、鶏の胸筋の熟成期間が短いことを明らかにした。また、本実験の条件のもとで、冷蔵した鶏の胸筋の可食期間は、屠殺後5日間であることを認めた。

要 約

ロックホーン種成鶏の胸筋を 5°C で7日間冷蔵し、この冷蔵した鶏の胸筋が硬直期および解硬期に示す食品組織学的変化を観察し、冷蔵した鶏の胸筋の熟成過程を微細構造学の立場より明らかにした。

1) 冷蔵した鶏胸筋の硬直・解硬の状態を知る指標値として、筋節の長さを測定した。その測定結果から冷蔵1日目は硬直期にあたり、冷蔵3日目より解硬期に入った。冷蔵7日目は解硬が進行し、自己消化が顕著であった。

2) 冷蔵中の鶏胸筋の筋細繊維は比較的安定で、冷蔵3日目では、筋細繊維のI帯部に亀裂が生じたが、全体として微細構造の保持が良好であった。冷蔵5日目より、筋細糸の遊離が始まり、7日目では、筋細繊維の著しい崩壊および筋細糸の欠損が認められた。

3) 冷蔵した鶏の胸筋のZ線およびミトコンドリアは不安定で、冷蔵中におけるこれらの崩壊は筋細繊維の崩壊より早期に認められた。冷蔵1日目では、Z線に粒状化の傾向が起り、冷蔵3日目ではZ線の各所が切断された。また冷蔵3日目では、ミトコンドリアは膨化し、その外膜およびクリステが崩壊した。

4) 成鶏の胸筋の熟成期間は短く、 5°C で冷蔵した鶏胸筋の可食期間は、屠殺後、最大限5日間であった。

文 献

- 1) 佐々木林治郎、藤巻正生：農化，32，628 (1957)
- 2) Pool, M.F., DeFremery, D., Campbell, A.A. and Klose, A.A.: *Food Technol.*, 13, 25 (1959)
- 3) 北村禎三：栄養と食糧，20，61 (1967)
- 4) 北村禎三：大阪府立公衆衛生専門学校紀要，7，55 (1985)
- 5) Lowe, B.: *Adv. Food Res.*, 1, 232 (1948)
- 6) DeFremery, D.: *J. Agric. Food Chem.*, 14, 214 (1966)
- 7) Fukazawa, T., Briskey, E.J., Takahashi, F. and Yasui, T.: *J. Food. Sci.*, 34, 606 (1969)
- 8) Hagopian, M.: *J. Cell Biol.*, 47, 790 (1970)
- 9) Luft, J.H.: *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9, 409 (1961)

- 10) Reynolds, E.S. : *J. Cell Biol.*, 17, 208 (1963)
- 11) Asghar, A. and Pearson, A.M. : *Adv. Food Res.*, 26, 82 (1980)
- 12) 石川春律 : 電子顕微鏡, 14, 18 (1979)
- 13) 山田英智, 市川 厚, 黒住一昌 (監訳) : ブルーム・フォーセット組織学 I, 328 (1979), 広川書店 (東京)
- 14) McGinnis, J.P., Fletcher, D.L., Papa, C.M. and Buhr, R.J. : *Poult. Sci.*, 68, 386 (1989)
- 15) DeFremery, D. and Streeter, I.V. : *J. Food Sci.*, 34, 176 (1969)
- 16) Asghar, A. and Pearson, A.M. : *Adv. Food Res.*, 26, 84 (1980)
- 17) George, J.C. and Berger, A.J. : *Avian Myology*, 25 (1966), Academic Press (New York and London)
- 18) Abbott, M.T., Pearson, A.M., Price, J.F. and Hooper, G.R. : *J. Food Sci.*, 42, 1185 (1977)
- 19) Henderson, D.W., Darrel, E.G. and Stromer, M.H. : *Am. J. Anat.*, 128, 117 (1970)
- 20) Rowe, R.W.D. : *Meat Sci.*, 6, 199 (1982)
- 21) Dutson, T.R., Pearson, A.M. and Merkel, R.A. : *J. Food Sci.*, 39, 32 (1974)
- 22) Ogata, T. and Yamasaki, Y. : *Cell Tissue Res.*, 241, 251 (1985)

(1991年10月24日受理)