

水産食品의 加工 및 貯藏中の 組織學的 變化에 關한 研究

2. 뱀장어 凍結貯藏中の 組織變化

宋 大 鎭 · 李 應 昊

濟州大學 釜山水産大學

Studies on Histological Changes in Marine Foods during Processing and Storage

2. Changes in muscular tissue of the eel, *Anguilla japonica*, by freezing storage

Dae-Jin SONG

Department of Food Science and Technology, Jeju National University, Aradong, Jeju, 590 Korea

Eung-Ho LEE

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Busan, Busan, 608 Korea

Histological changes occurred by freezing storage and subsequent thawing, and changes of muscle fiber after heating and drying of the eel (*Anguilla japonica*) were observed under microscope.

The results are as follows:

(1) After one month of freezing storage the muscular tissue produced considerable number of extracellular and intracellular ice crystals. The sample stored at the temperature of -40°C produced ice crystals inside the muscle cells while sample stored at -20°C , outside.

(2) No changes were observed in the hypodermic fat after thawing regardless of storage temperature, while insufficient recovering of muscle cells were detected in the muscular tissue. Muscular tissues which have been stored -20°C showed severe change in shape due to dehydration.

(3) Microscopic observation on muscle homogenate showed loss of transparency due to freezing, disfiguration and contraction by drying and water seperation, and elasticity by heating.

緒 言

凍結貯藏한 魚類는 貯藏期間이 길고 貯藏溫度가 높으면 解凍後에 어느 정도 品質이 떨어지게 된다. 즉 날것으로 먹는 경우는 肉質이 부서부서하여 食味

가 나빠지게 되고 加熱調理할 경우는 肉質이 질기게 된다.

本報에서는 뱀장어 凍結貯藏中の 組織의 變化를 밝히고자 前報¹⁾에 이어 뱀장어의 凍結貯藏 및 解凍後에 일어나는 組織의인 變化를 顯微鏡으로 觀察한 結果를 報告한다.

材料 및 方法

1. 材 料

魚市場에서 살아 있는 뱀장어(*Anguilla japonica*, 平均體長 52.5cm, 平均體重 385g)를 구입하여 필레를 만들어 實驗에 使用하였다.

2. 凍結 및 凍結貯藏

Semi-air-blast freezer(1m/sec)로써 試料의 中心溫度가 -30°C 될 때까지 凍結하였으며 凍結曲線은 Fig.1과 같다. 凍結된 試料은 0.05mm polyethylene 주머니에 넣어서 묶은 後 -20°C 와 -40°C 의 凍結庫에 넣어서 1個月間 凍結貯藏하였다.

3. 解 凍

5°C 의 冷藏庫 안에서 試料의 中心溫度가 $2\sim 3^{\circ}\text{C}$ 될 때까지 空氣解凍시켰다.

4. 組織標本製作

解凍後의 試料은 前報와 같은 方法¹⁾으로, 凍結試料은 凍結置換法²⁾으로 -20°C 와 -40°C 로 冷却한 10% formalin alcohol 液으로 위의 溫度의 凍結庫에서 2日間 固定하였으며 그 이후의 操作은 前報와 같은 方法¹⁾으로 하였다.

5. 破碎한 筋肉片의 顯微鏡觀察

背肉 $200\pm 5\text{mg}$ 을 取하여 20ml의 冷 1% formalin 溶液과 함께 homogenizer에서 1分間 homogenation 하여 homogenate 1滴(1cc용의 pipette 使用)을 hole slide glass에 取하고 그 위에 0.5% Eosin 溶液 1滴을 加한 後 顯微鏡으로 觀察하였다.

結果 및 考察

1. -40°C 1個月 凍結貯藏 및 解凍中의 筋肉組織의 變化

뱀장어를 -40°C 로 1個月 凍結貯藏한 後 凍結된 狀態와 解凍後의 筋肉組織의 變化를 觀察한 結果는 Plate I과 같다. Fig.1, 3, 4에서 보면 -40°C 로 1個月 凍結貯藏한 것의 氷結晶의 分布를 보면 筋細胞內에 약간 氷結晶이 생겨 있으나 주로 筋細胞의 外에 氷結晶이 생겨 있었다. 그리고 氷結晶의 크기는

北洋명태³⁾나 옥돔⁴⁾과 같은 白色肉魚類와는 달리 比較的 작은 것이었다. 筋肉內의 各部位別 凍結된 組織狀態를 보면 表皮層은 凍結된 狀態에서(Fig.1) 심한 變化를 나타내며, 氷結晶生成 때문에 생긴 많은 空間이 眞皮層에 남아 있었다. 이와 같은 現象은 전복을 凍結하였을 경우 전복다리 부분의 Collagen 纖維가 凍結된 狀態와 비슷한 형태였다.¹⁾ 血合肉의 凍

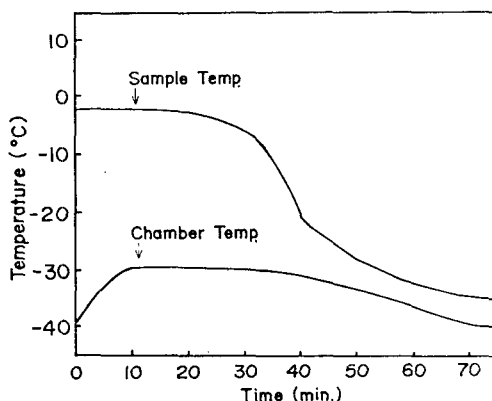


Fig. 1. Freezing curve of eel by semi-air-blast freezing(1m/sec).

結組織을 보면 細胞內의 凍結는 볼 수 없었고, 細胞外에 氷結晶이 생기므로 細胞外에 氷結晶에 의한 空間이 洞空으로 남아 있고 氷結晶의 압박에 의하여 筋細胞는 뭉쳐지고 脫水되어 보인다. Fig.4에 나타난 凍結狀態의 縱斷面을 筋細胞의 모양이나 配列이 變化된 것은 없으나 생것일 때와 比較하여 보면 筋細胞가 약간 거칠어 보이고 筋束과 筋束사이의 筋節이 약간 넓어졌다. 그리고 -40°C 로 1個月 凍結貯藏한 後 解凍한 組織(Fig.2, 5, 6)은 거의 원래의 형태에 가깝게 復元되었다. 解凍後에 表皮層은 약간 收縮되기는 하나, 皮下脂肪層은 凍結狀態와는 달리 元來의 狀態로 돌아오며 거의 變化가 없었다. Fig.5, 6에서 보면 血合肉과 普通肉도 解凍後에는 筋纖維의 形態나 配列이 거의 元來의 狀態로 돌아오나 縱斷面(Fig.6)에서 보면 생것일 때와는 달리 筋纖維가 약간 脫水된 狀態를 나타내었다. 이처럼 解凍後의 復元狀態를 본다면 뱀장어의 경우 -40°C 에서 1個月 程度 貯藏에서는 다른 魚類에 比較하여 거의 損傷이 없는 것이라고 볼 수 있었다.

2. -20°C 1個月 凍結貯藏 및 解凍中의 筋肉組織의 變化

-20°C 로 1個月 凍結貯藏한 後의 凍結狀態組織과

解凍後의 組織變化를 Plate II 에 나타내었다.

-40°C에서 1個月 凍結貯藏한 것과는 달리 -20°C에서 貯藏後 解凍한 것은 氷結晶의 生成狀態와 筋細胞의 變形등에 많은 差異가 있었다. 凍結狀態의 表皮(Fig. 1)는 -40°C 凍結貯藏한 것과 같이 内部狀態가 말린 수세미와 같은 狀態를 나타내고 있다. 凍結狀態의 皮下脂肪은 組織固定時 alcohol을 使用하기 때문에 대부분의 脂肪이 alcohol에 溶出되고, 약간의 脂肪이 남고 皮下脂肪層의 자리는 空間으로 남아 있었다. -20°C에의 凍結狀態의 筋細胞橫斷面을 보면 細胞内外에 많은 氷結晶이 생기지만 -40°C에 비하여 生成된 氷結晶이 큰 편이었다. 그리고 -40°C에 비하여 洞空이 차지하는 面積이 筋細胞가 차지하는 面積보다 많았다. Fig. 4에서 보면 縱斷面에서는 筋細胞가 脫水變形되어 있으며, 곳에 따라서는 細胞内に 氷結晶이 생겼던 자리가 空間으로 나타나 있었다. Love⁹⁾는 북양명태의 凍結貯藏에 의한 筋肉構造의 變化를 보는 하나의 指標로서 凍結에 의한 細胞内外의 氷結晶生成率을 筋細胞面積에 對한 百分率로 표시하고 높은 溫度로 貯藏한 것일수록 또한 貯藏期間이 길수록 氷結晶이 차지하는 面積이 크다고 報告하였다. 이런 점에서 보면 魷魚의 경우도 -40°C 凍結貯藏한 것보다 -20°C로 凍結貯藏한 것이 氷結晶生成에 의한 空間이 훨씬 컸다.

이와 같은 凍結貯藏魚類의 組織變化는 組織中에 生成하는 氷結晶에 의하여 筋原纖維蛋白質이 元來의 膠質學的特性을 消失하여 水和性이 떨어짐과 동시에 서로 會合하여 凝集하기 때문이라고 생각되며 이런 傾向은 貯藏溫度가 높을수록 현저하다고 하였다.^{5,6,7)} -20°C 1個月 凍結貯藏後 解凍한 것은 Fig. 2, 5, 6과 같다. 皮下脂肪層(Fig. 2)은 解凍後에도 거의 變化하지 않고 元來의 狀態로 復元되는 것 같으나, 表皮層은 생것에 비하여 얇어지고 粘液層은 떨어져 나갔다. 解凍後의 筋細胞의 變化는 Fig. 5, 6에서와 같이 筋細胞間의 全體的인 配列에는 그다지 큰 變化가 없는 것 같으나 筋細胞 하나하나를 볼 때는 -40°C 貯藏과 比較하면 變化가 크다. Fig. 5中的 작은 사진은 40배로 나타낸 것이고, 그 部分만을 擴大시켜 나타낸 것이 큰 사진(100배)이다. 筋細胞外에 生成되어 있던 氷結晶에 의한 空間은 解凍後에 많이 메꾸어지고 없어지지만, 細胞内に 생겼던 氷結晶의 흔적은 없어지지 않고 남거나 筋細胞가 破壞되었던 狀態를 나타내므로 元來의 形態와는 變化된 形態였다. Fig. 6 역시 같은 現象을 나타낸 縱斷面이며 筋細胞

가 脫水變形되어 復元不充分한 狀態를 나타내고 있다. 倍率在 높은 사진에서 보면 筋細胞의 橫紋(Cross striation)은 그대로 남고 橫紋의 狀態에도 變化가 없는 것 같으나 筋細胞全體의으로는 脫水된 狀態로 變形되었다.

이와같이 凍結貯藏溫度의 差異에 따라 組織構造上에 현저한 差異가 생기는 것은 Love⁹⁾도 명태를 -20°C로 凍結貯藏한 것이 liquid oxygen으로 凍結하여 貯藏한 것보다 細胞外凍結이 더 많이 일어났다고 報告하였다. 凍結貯藏溫度가 높고 貯藏期間이 긴 것일수록 筋細胞가 脫水되거나 變形된 狀態를 나타내는 것은 凍結에 의하여 筋肉内の 水分이 열게 되어, 蛋白質周邊의 水分이 凍結하게 되면 濃縮된 鹽液中에서 蛋白質은 鹽析현상이 일어나 水和性이 떨어지고 解凍後에도 復元不充分하게 되어 組織構造上에서 變化된 形態로 나타난다고 보고 있다.⁹⁾

3. Homogenation에 의한 筋纖維의 變化

魷魚를 凍結貯藏(-20°C와 -40°C, 각각 1個月), 加熱, 乾燥한 것들을 1% formalin液과 함께 homogenation 한 後의 狀態를 나타낸 것이 Plate III이다. 신선한 魷魚의 경우는 (Fig. 1, 2) homogenation에 의하여 筋肉이 잘 破碎되기도 하지만 경우에 따라서는 筋纖維가 破碎되었다기보다는 으개어져 잘 풀어진 모양을 나타내고 있었다. 宋¹²⁾은 赤色肉魚類와 白色肉魚類의 破碎肉片의 差異點에서 白色肉魚類중에서도 조기와 같은 魚種은 homogenation하였을 때 筋纖維가 잘 풀어지며, 赤色肉魚類는 잘 풀어지지 않는다고 報告하였다. 원래 筋肉 homogenate의 顯微鏡觀察에 의한 筋纖維變化의 調査는 cell fragility (筋纖維의 脆弱性)를 測定함으로써 冷凍에 의한 筋肉蛋白質의 變性程度를 알기 위한 方法으로 考案한 方法이다. 新鮮한 것이나 좋은 狀態로 凍結貯藏된 魚類에서는 筋肉이 잘 破碎되어지며 筋原纖維로까지 떨어져므로 混濁도가 높다고 하였다. 西元和 太田¹⁰⁾은 解凍魚肉 homogenate의 粘度和 分離破片量을 測定하여 凍結하면 Texture가 현저하게 變化한다고 報告하였으며, Kelly¹¹⁾는 cell fragility와 蛋白質의 變性 및 Texture의 變化가 관련이 있다고 報告하였다. 凍結貯藏 1個月 後의 것(Fig. 3, 4)은 新鮮狀態와는 달리 筋纖維가 풀어진 狀態가 아니며, 筋纖維의 切斷面도 新鮮狀態의 것은 筋纖維를 잡아 당겨 떨어진듯한 모양을 나타내었는데 凍結貯藏한 것은 굵게 잘려진 것 같은 모양을 나타내고 있었다. -40°C로

要 約

1個月貯藏한 것(Fig. 3)은 筋纖維가 거의 新鮮狀態의 것과 비슷하며 myofibril level까지 破碎되어 있으며 混濁도가 높았다.

-20°C로 1個月貯藏한 것(Fig. 4)은 筋纖維가 풀어지지 않고 약간 脫水收縮된 狀態를 나타내며, myofibril level(筋原纖維)까지 破碎되지 않아서 그런지 混濁도도 낮았다. 筋肉을 凍結함으로써 일어나는 이와 같은 현상은 조기나 병어의 凍結肉破碎片의 實驗¹²⁾과 비슷하게 나타나고 있다. Olley¹³⁾ 등은 凍結한 명태의 筋肉 homogenate를 顯微鏡觀察하여 貯藏期間이 길어진 것일수록 筋原纖維사이가 密着되어 있었다고 하며 Love⁴⁾는 -15°C로 凍結貯藏한 대구의 경우 기간이 길어지는 만큼 筋原纖維가 점점 더 멀어지기 어려워지며 서로 凝集되어 있는 것을 볼 수 있었다고 하였다.

뱀장어를 48時間 乾燥한 것(Fig. 5)과 電子렌지로 加熱한 것은 homogenation 後에 서로 대조적인 狀態를 나타내었다. 乾燥한 것은 筋纖維가 짧게 잘려지고 收縮되어 있으나 加熱한 것은 筋纖維가 myofibril level 혹은 myofillament level까지 破碎되어 풀어진 狀態를 나타내고 있다. 그러나 사진에 나타난 것과 같이 筋纖維가 彈力性이나 柔軟性이 거의 없이 끈게 뻗은 형태였다. 그리고 乾燥한 것은 homogenate가 별로 混濁되지 않는가 하면 加熱한 것은 훨씬 더 混濁된 狀態를 나타내었다.

魚肉을 乾燥했을 경우는 脫水收縮된 筋原纖維蛋白質위에 筋漿蛋白質이 같이 變性凝集되므로 乾燥된 魚肉은 全體의으로 단단하게 뭉쳐지며, 加熱했을 경우는 加熱에 의하여 筋漿蛋白質이 液汁으로 流出되고 筋原纖維蛋白質만 熱凝固收縮되므로 組織破碎片의 모양이 달라진다고 보고 있다. 神名¹⁵⁾ 등도 風乾을 한 것은 silica gel 乾燥한 것이나 凍結乾燥한 것에 비하여 훨씬 더 筋纖維가 變形收縮되며 다른 것들에 비하여 筋纖維가 角質化된다고 報告하였다. 以上の 結果로써 뱀장어肉을 凍結, 乾燥, 加熱하였을 때 모두 생것일 때와는 달리 凍結한 것은 筋纖維의 透明感이 상실되고 乾燥한 것은 變形收縮되며 加熱한 것은 水分이 遊離되고 또한 變形되는 것을 관찰할 수 있었다. 이처럼 micro level에서 感知되는 筋纖維의 脫水, 收縮, 變形 등의 差異 등이 합쳐져서 處理加工 操作에 따른 組織學的 특징이 나타나는 것이라고 생각된다.

뱀장어의 凍結貯藏 및 解凍後에 일어나는 纖維의 變化를 顯微鏡의으로 觀察한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 凍結 1個月後의 組織은 筋細胞內外에 氷結晶이 많이 생겼으며 -40°C 貯藏한 것은 細胞內에 氷結晶이 生成되고, -20°C로 貯藏한 것은 細胞外에 氷結晶이 생겼다.
2. 解凍後의 皮下脂肪層은 貯藏溫度에 關連없이 變화가 없었으나, 筋肉組織은 높은 溫度(-20°C)로 貯藏한 것이 筋細胞의 復元도 不充分하고 脫水變形이 심하였다.
3. 筋肉破碎片을 顯微鏡觀察한 結果, 凍結한 것은 透明感이 消失되고, 乾燥한 것은 變形收縮되며, 加熱한 것은 水分遊離 및 變形이 일어난다는 것을 알 수 있었다.

文 獻

- 1) 宋大鎭. 1978. 전복의 凍結에 관한 研究. 2. 凍結에 의한 전복組織의 變化. 韓水誌, 11, 91~95.
- 2) 佐野豊. 1979. 組織學研究法. 東京. 南山堂 1179.
- 3) 田中武夫. 1969. 北洋産冷凍 스킨우거의 鮮度と品質との關係. 東海區水研報, 60, 143~168.
- 4) 宋大鎭. 1979. 옥돔의 凍結에 관한 研究. 2. 凍結에 의한 옥돔組織의 變化. 韓水誌, 12, 131~136.
- 5) Love, R. M. and Ironside, J. I. M. 1958. Studies on protein denaturation in frozen fish. II. Preliminary freezing experiments. J. Sci. Food Agric. 9, 604~609.
- 6) Love, R. M. 1958. The Expressible fluid of fish fillet. IV. Other types of cell damage caused by freezing. J. Sci. Food Agric. 9, 597~603.
- 7) Ironside, J. I. M. and Love, R. M. 1958. Studies on protein denaturation in frozen fish. I. Biological factors influencing the amounts of soluble and insoluble protein present in the muscle of the north sea cod. J. Sci. Food Agric. 9, 597~603.
- 8) Love, R. M. 1955. The Expressible fluid of

- fish fillet I. J. Sci. Food Agric. 1, 30~37.
- 9) 田中武夫. 1973. 食品の水, 魚肉氷結に伴う水の挙動. 東京. 恒星社 63~71, 日本水産學會編.
- 10) 西元諄一・太田冬雄. 1965. 解凍魚肉組織のホモジネート中の破砕片の大きさとその粘度との關係について. 鹿大水産紀要 14, 99~107.
- 11) Kelly. K. 1966. Texture and pH in fish muscle related to cell fragility measurement. J. Fd. Technol. 1, 9~15.
- 12) 宋大鎭. 1981. 赤色筋魚類와 白色筋魚類의 組織化學的 研究. 濟大海資研報 5, 41~46.
- 13) Olley, J., E. S. Stepen, T. Farmer and I. Robertson. 1967. A Critical look at two objective test for cold storage deterioration. J. Fd. Fechnol. 2, 207~216.
- 14) Love, R. M. 1967. The Effect of in initial freezing temperature on the behaviour of cod muscle proteins during subsequent storage. A histological study of homogenate. B. Jap. S. S. Fisheries 33, 746~752.
- 15) 神名孝一・田中武夫. 1971. 魚肉蛋白の乾燥變性について. Ⅲ. 乾燥魚肉の蛋白變性と組織變化. 東海區水研報 68, 51~60.
- 16) 宋大鎭・河璉桓・李應吳. 1982. 水産食品의 加工 및 貯藏中の 組織學的 變化에 관한 研究. 1. 乾燥에 의한 뱀장어 筋肉組織의 變化와 脂肪의 移動. 韓水誌 15(2), 137~146.

PLATE I

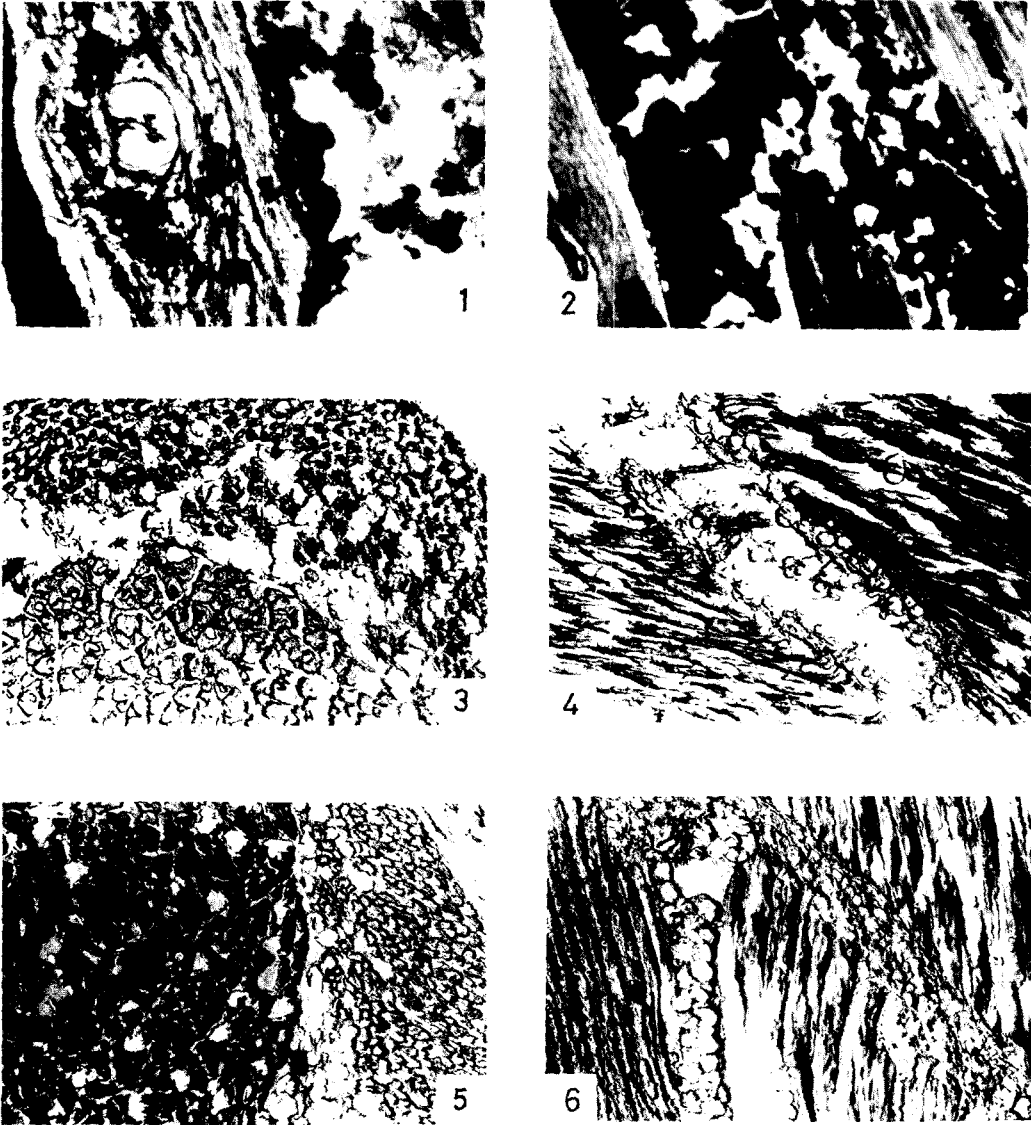


PLATE I. Eel muscle after one month freezing storage (-40°C) and subsequent thawing.
Fig. 1. Cross section (epidermis part) stained with eosin and Sudan black (X 40) (frozen).
Fig. 2. Cross section (epidermis part) stained with eosin and Sudan black (X 40) (thawed).
Fig. 3. Cross section (inner part) stained with eosin (X 40) (frozen).
Fig. 4. Longitudinal section (inner part) stained with eosin (X 40) (frozen).
Fig. 5. Cross section (inner part) stained with eosin (X 40) (thawed).
Fig. 6. Longitudinal section (inner part) stained with eosin (X 40) (thawed).

PLATE II

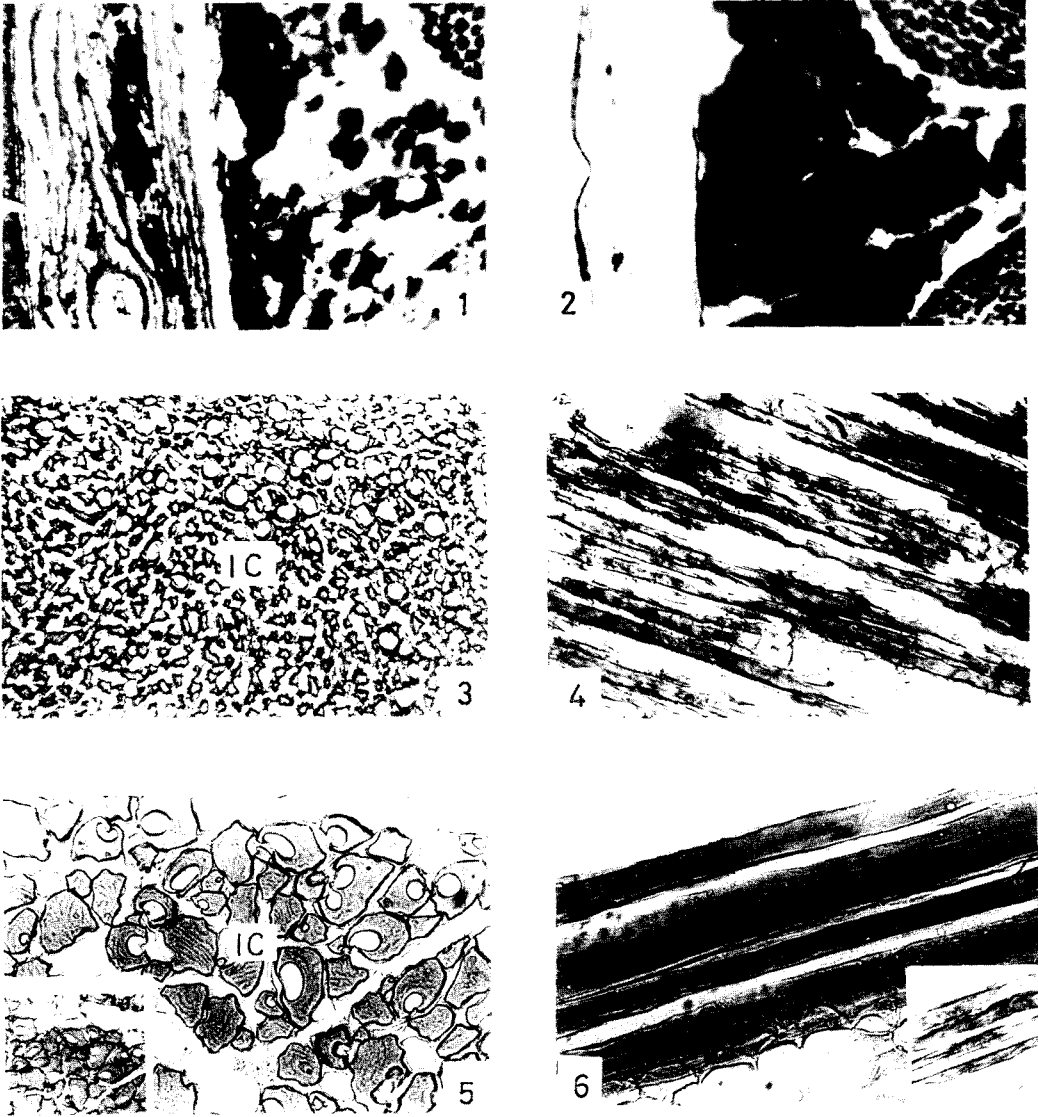


PLATE II. Eel muscle after one month freezing storage (-20°C) and subsequent thawing.
Fig. 1. Cross section (epidermis part), stained with eosin and Sudan black (X40) (frozen).
Fig. 2. Cross section (epidermis part), stained with eosin and Sudan black (X40) (thawed).
Fig. 3. Cross section (inner part), stained with eosin (X 40) (frozen).
Fig. 4. Longitudinal section (inner part), stained with eosin (X 40) (frozen).
Fig. 5. Cross section (inner part), stained with eosin (X 40) (thawed).
Fig. 6. Longitudinal section (inner part), stained with eosin (X 40) (thawed).
IC: Ice Crystal

PLATE III

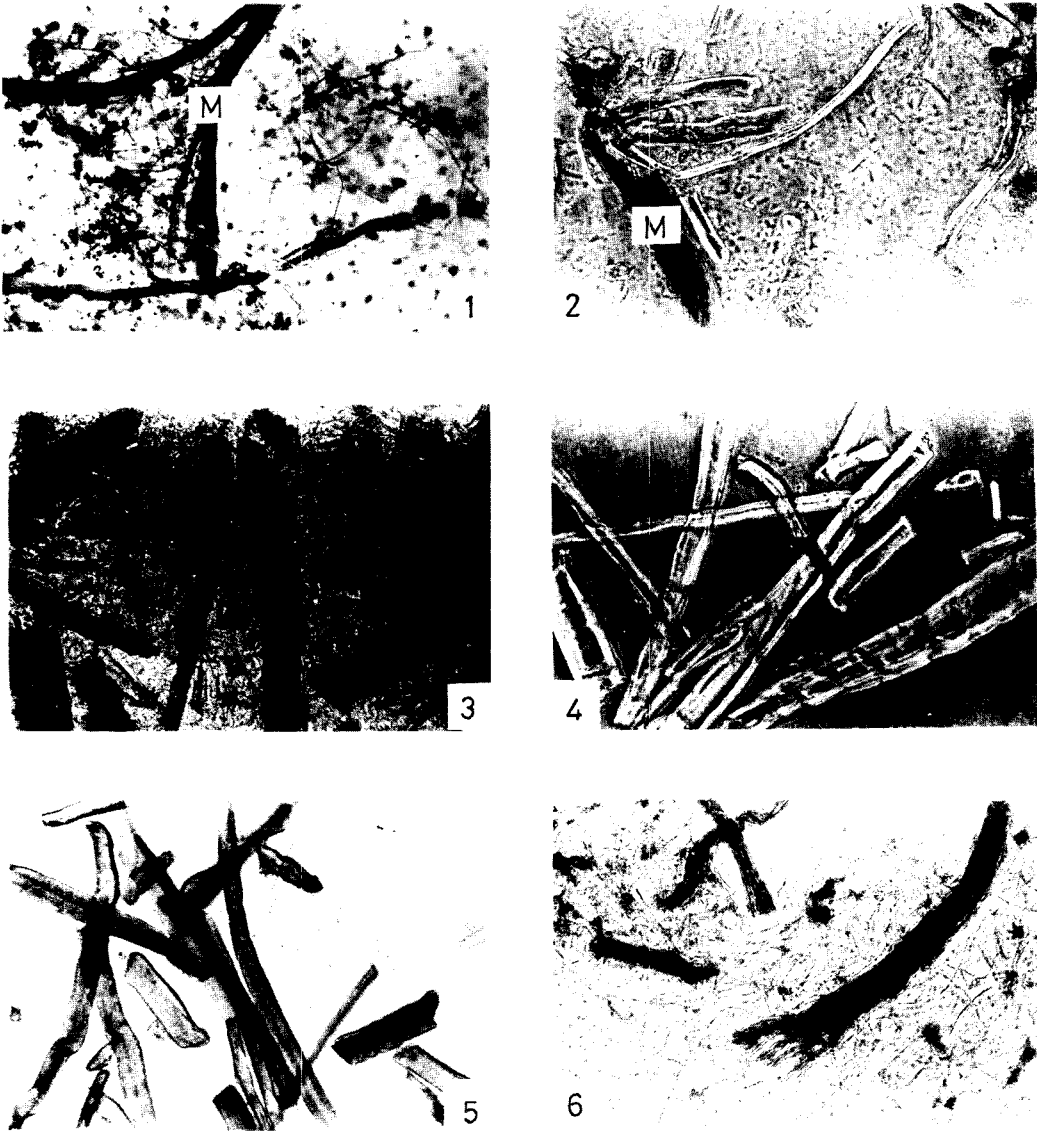


PLATE III. Changes in muscle fiber by homogenation (8700 rpm, 1 min).

Fig. 1. Fresh eel muscle.

Fig. 2. Fresh eel muscle.

Fig. 3. Muscle fiber after, one month freezing storage at -40°C .

Fig. 4. Muscle fiber after, one month freezing storage at -20°C .

Fig. 5. Sun dried eel muscle.

Fig. 6. Heated eel muscle.

M: Muscle fiber