

ノート

アサリの加熱(水煮, 塩水煮)肉についての 二三の組織化学的知見

水谷清美

著者は前報(1968)⁶⁾においてアサリおよびイカの足部について, 処理時間を 3 分間として水および塩水处理による組織化学的变化を無処理を対象にして報告した。この報告では, 処理方法は前報と同様であるが, 処理時間をいろいろ変えた場合にどのような変化が起るか, また同一処理方法, 処理時間のものにおいて, その受ける影響が体各部において差があるか等について実験を行なった。

1. 方 法

採集直後のアサリを沸とう蒸留水中に 1 分, 2 分, 4 分, 8 分, 16 分および 30 分処理(以下水处理とする), また沸とう食塩水(約 3 % NaCl)中に 1 分, 2 分, 4 分, 8 分, 16 分および 30 分処理(以下塩水处理とする)し, それらを足部, 閉殻筋(肉柱), えら, 外套膜および内蔵部に分けて Gilson 固定し, 常法によってパラフィン包埋し, 8 ~ 10 μ のパラフィン切片を作製し, 脱パラして染色した。⁵⁾ 染色方法は前報と同様で, Delofield's haematoxylin eosin 染色,^{1, 4, 5)} Ninhydrin - Schiff 反応,⁴⁾ PAS 反応^{1, 4)} および Feulgen 反応^{1, 4)} を行い, 更に以下の染色方法を追加した。

a 構造の粗密を調べるのにマロリー染色方法¹⁾ 酸性色素の分散度と組織の粗密度との関係を利用した染色方法で, 酸性フクレン, オレンジ G およびアニリン青を用いる。結果は細網線維が青色, 粘液が紫青色, 筋線維, 核が橙赤色から赤色, 細胞質が紫色になる。

b DNA および RNA の観察にはチオニン染色法⁴⁾ チオニンの異調染色を利用するもので, 異調染色が起っている部分は赤紫色になる。特に RNA がよく反応する。

またこれらの変化の対比の目的で, 正常組織を同じように Gilson 固定し, パラフィン切片を経て同一の染色方法を行った。

2. 観 察 結 果

おのおのの体各部を観察すると, 水处理および塩水处理による形態的, 組織化学的变化は, 筋肉組織的变化, 上皮組織的变化およびその他に分けることができる。すなわち, 足部の上皮, 外套膜の上皮およびえらは上皮組織的变化に, 足部の筋層, 閉殻筋および外套膜の筋層は筋肉組織的变化に, 内蔵部はその他にとまとめられる。

そこで, 観察結果は足部の上皮組織, 足部の筋肉組織および内蔵について報告する。

2・1 足部の上皮組織

正常の上皮組織は立方形の細胞が一層になって筋肉組織を覆っている。細胞内部には明瞭な円形の核が基部近くに位置している。多糖類は細胞質に存在し, 蛋白質は細胞質および核に存在する。核酸は DNA と少量の RNA が核内に混在する。(Fig.1 - 6.)

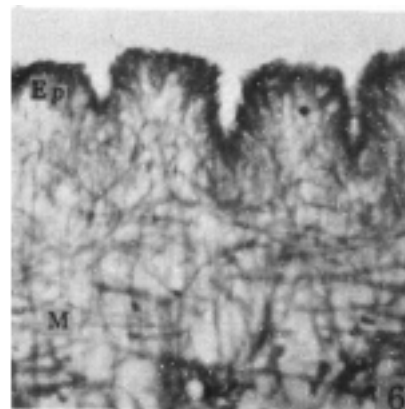
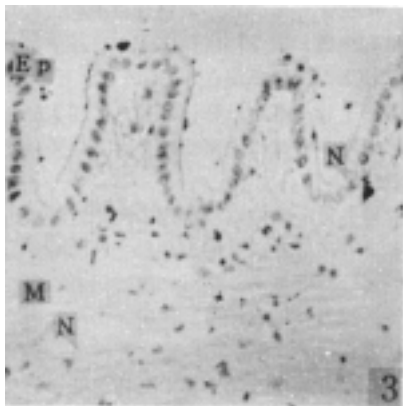
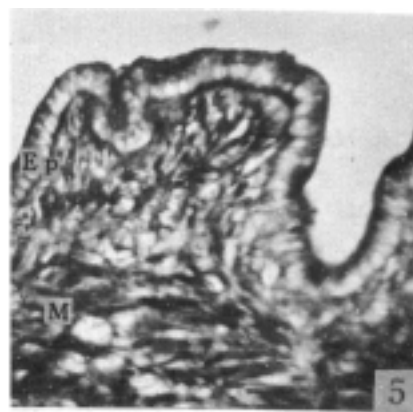
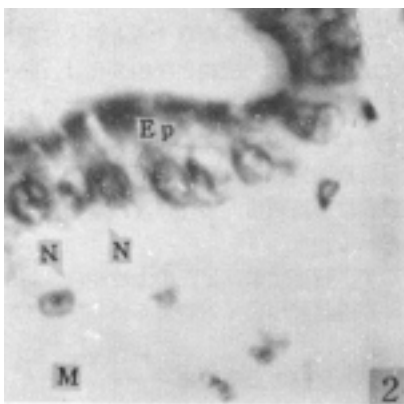
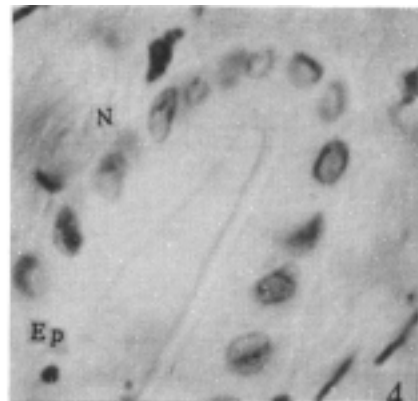
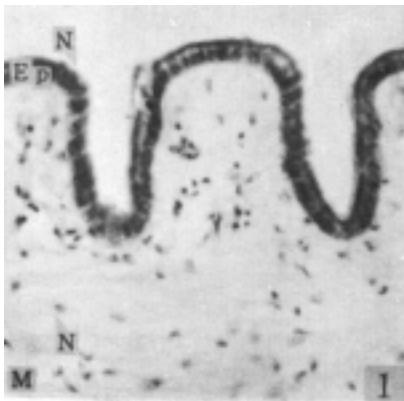
水处理 1 分: 細胞は膨化変形し, 核も膨化する。しかし組織化学的には正常組織と著しい差は見られない。(Fig.7 - 12.)

水处理 2 分: 細胞は内容物の流出, 破壊, 脱落がみられるようになり, この現象は処理時間が長くなるに従って著しくなるが, 細胞の消失はみられない。一方, 核は染色質の凝集が起り, 核膜との間に間隙がみられる。PAS 反応は細胞の一部に陰性部が認められるようになるが, 処理時間が長くなると観察しにくくなる。これはグリコゲンの核内侵入によるものと思われる。核酸では RNA が消失する。(Fig.13 - 15.)

水处理 4 分: 特に核の染色質の染色性が減退する(これは処理時間が長くなると段々と顕著になる)。

(Fig.16 - 19.)

水处理 8 分: 蛋白質の染色性に変化が見られ, また細胞質内は 4 分までは正常組織と差があまりなかった



Plate

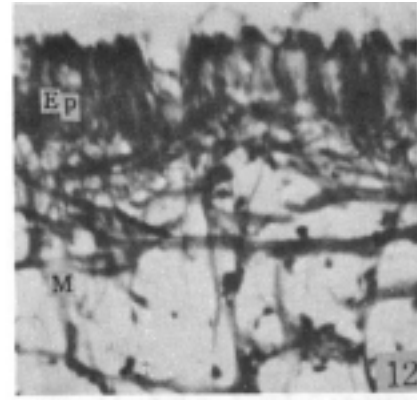
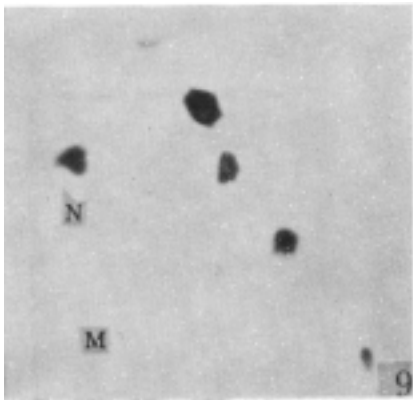
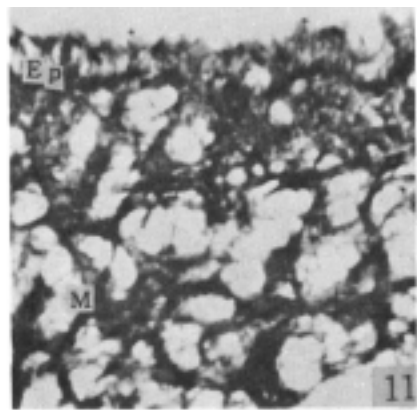
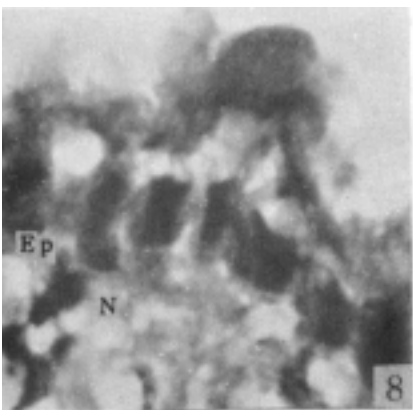
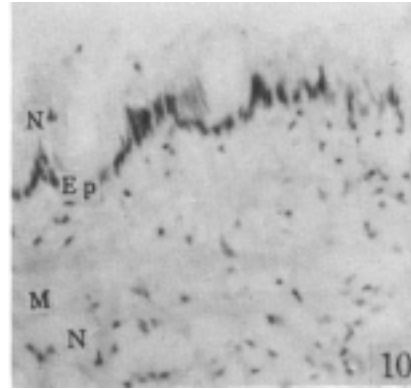
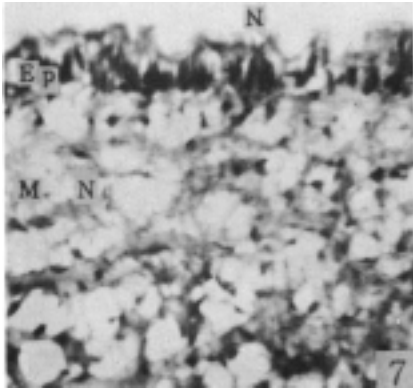
Fig.1-6.The foot of the fresh material. -Fig.1,2.Haematoxylin-eosin preparation. x200, x800.-Fig.3,4.Nuclear reaction preparation. x200, x800. -Fig.5.PAS preparation. x200. -Fig.6.Ninhydrin-Schiff reaction preparation. x200.

Explanation of plates

All figures are photomicrographs from the section of neck short clam fixed with Gilson solution.

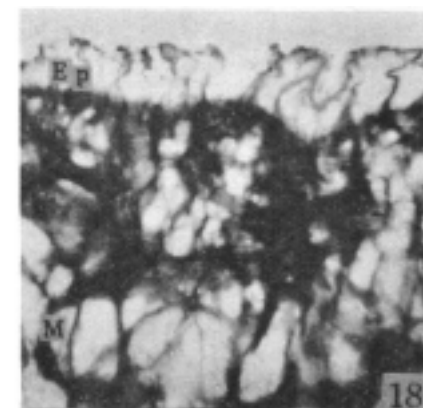
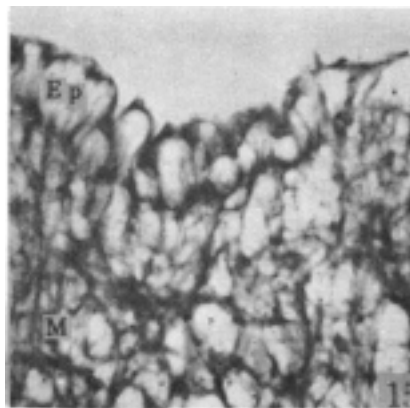
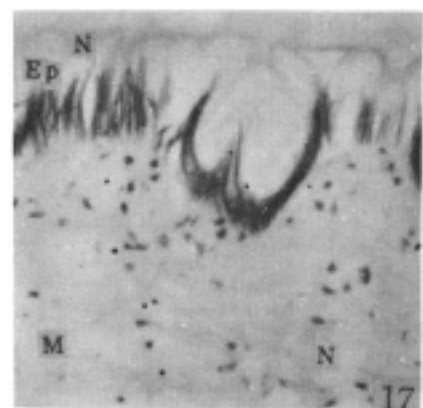
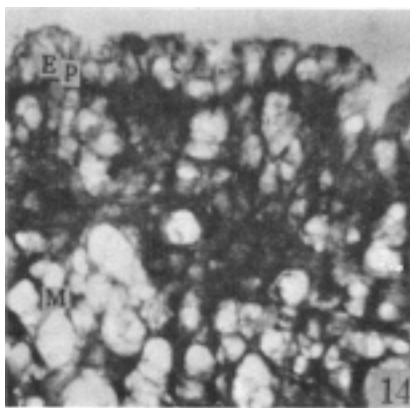
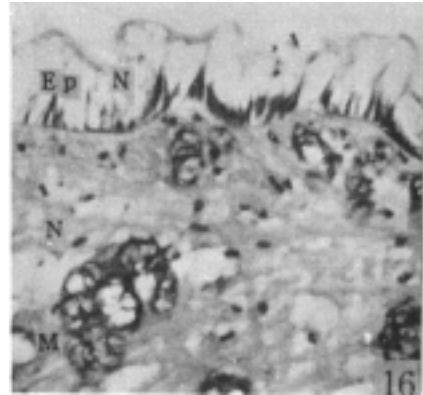
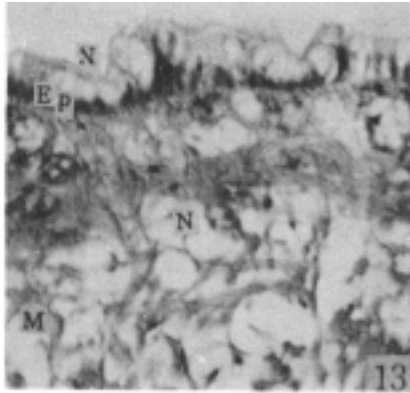
Ep ; epithelium M ; muscle tissue Mm ; mucous membrane N ; nucleus

ノート アサリの加熱(水煮, 塩水煮)肉についての二三の組織化学的知見



Plate

Fig.7-12.The foot of the material boiled in the water 4 minutes. Fig.7-9 Haem at oxylin-eosin preparation. x200, x800. -Fig.10. Nucleal reaction preparation. x200. -Fig.11.PAS preparation. x200. -Fig.12. Ninhydrin-Schiff reaction preparation. x200.



Plat

Fig.13-15.The foot the material boiled in the water for 2minutes. x200. -Fig.13.Haematoxylineosin preparation. Fig.14.PAS preparation. -Fig.15.Ninhydrin-Schiff reaction preparation.

Fig.16-18.The Foot of the material boiled in the water for 4minutes. x200. -Fig.16.Haematoxylineosin preparation. -Fig.17.Nuclear reaction preparation. -Fig.18.PAS preparation.

のに不定形の不染部が観察される(これは30分処理でもみられる)。これは塩水処理では認められないから、水処理による蛋白質の細胞外流出という現象が起ったと思われる。(Fig.20 - 22.)

水処理 16分: 核酸は Feulgen 反応陽性, チオニン染色で RNA 陽性および DNA 陽性を示す。このチオニン染色の RNA 陽性は,すでに水処理1分で陰性を示しているから, DNA が変形を起こして,その低重合したものによると考えられる。そして, Feulgen 反応陽性と合わせて考えると, DNA の一部が低重合したことを示している。この現象は水処理4分にみられた染色質の染色性減退と深い関係があるのではないかとと思われる。(Fig.23 - 26.)

水処理 30分: 細胞の形態は16分処理と著しい変形はみられないが,核膜は不明瞭となる。しかし染色質はまだ残っている。核酸はチオニン染色の RNA 陽性のみが観察されるから, DNA が全部低重合化したことを示している。(Fig.27 - 30.)

塩水処理の場合は,細胞質は水処理の場合よりも物理的・化学的变化を著しく受けるようである。これに反して核はいく分軽い。染色質の染色性の減退は16分処理からみられ,核膜は30分処理でも存在するが,染色質の著しい変形がみられる。多糖類は水処理と同じような変化を観察したが,16分処理から他の組織(筋肉など)に比較して濃染する傾向がある。蛋白質は30分処理の場合でも正常細胞と著しい差は認められない(水処理でみられた空胞は観察されなかった)。核酸の染色性は Feulgen 反応陽性, チオニン染色の RNA 陽性, DNA 陽性を示すが,30分処理でも著しい変形を伴っているが観察される。しかし1分処理には DNA の一部低重合化が起っているように思われる。そして30分処理においては,水処理のように途中において RNA の染色性の消失が明らかに観察されないから, RNA, 低重合 DNA および両者の混在の三つのいずれかが推定される。

2・2 筋組織

正常の筋組織は筋線維と核とで構成され,筋線維がこの組織の主たる基質で内輪縦走している。一方,核は明瞭な円形である。PAS 反応および Ninhydrin-Schiff 反応で強染されるから,グリコゲンおよび蛋白質が豊富に存在することを示している。また核酸は DNA のみが存在する。(Fig.1 - 6.)

水処理 1分: 核は凝縮し,核数も著減する。蛋白質は顆粒状に染色されるが,30分処理でも同じ状態が観察される。(Fig.7 - 12.)

水処理 2分: 特に1分処理と著しい差異は認められ

ない。(Fig.13 - 15.)

水処理 4分: 核は染色性の減退がみられるが,これは処理時間が長くなるに従って顕著となる。グリコゲンは蛋白質と同じように顆粒状に染色されるようになり,30分処理も同じ状態が観察される。(Fig.16 - 19.)

水処理 8分: これまで変化のみられなかった核酸は, RNA 陽性が認められる。筋線維には RNA は存在しないから, DNA の一部が変性して低重合したと思われる。そして4分に起った核の染色性の減退は,このような核酸の変性によるものと思われる。また染色質の変化は筋線維核は処理すると核濃縮を起こすので,明瞭に確認できないが,上皮細胞核と同じような現象が起っているものと思われる。(Fig.20 - 22.)

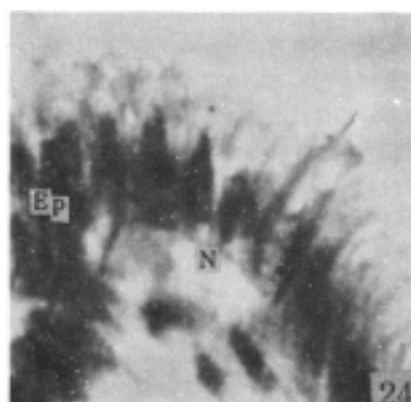
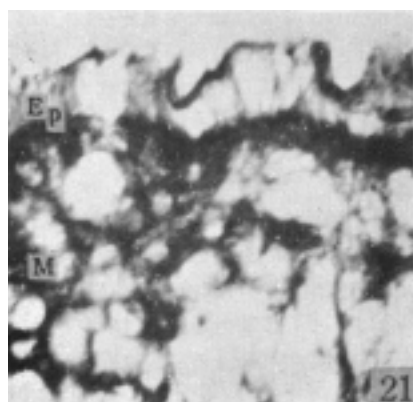
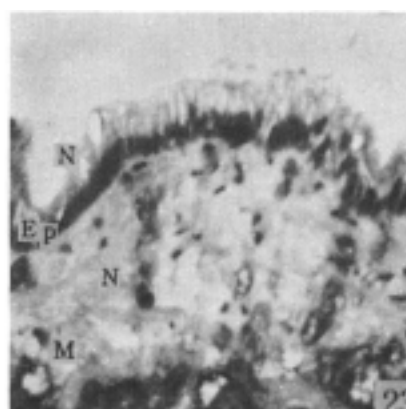
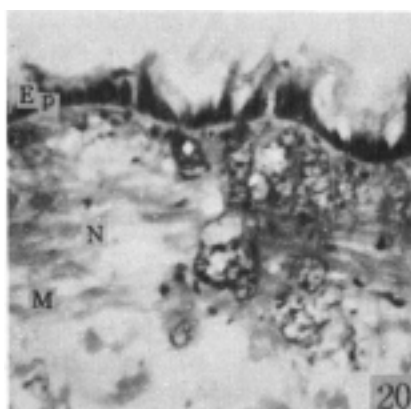
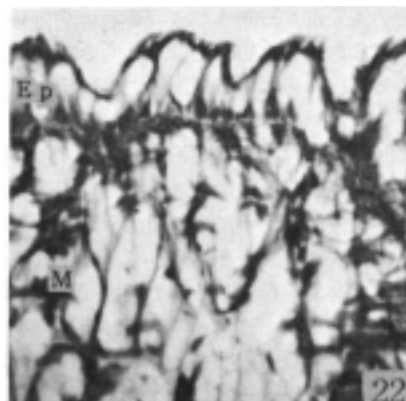
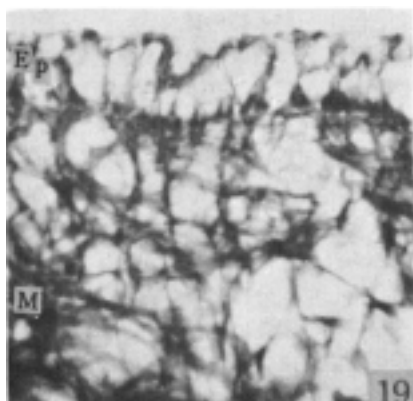
水処理 16分: 核酸は Feulgen 反応陰性, チオニン染色の DNA 陰性, RNA 陽性が認められるから, DNA の全部が変性して低重合化したと思われる。(Fig.23 - 26.)

水処理 30分: 水処理 16分と著しい差異が見られない。もちろん,低重合した DNA は存在する。(Fig.27 - 30.)

これに対して塩水処理の場合は核の形態的变化は水処理と類似している。グリコゲンは8分処理以後は今まで顆粒状になっていたのが,互いにゆ合して大形化する。また蛋白質は同じように8分処理以後は組織に不染部が認められる。これは水処理において観察されなかったから,塩水処理の化学的な影響によって蛋白質の凝固が強く起ったものと思われる。核酸は水処理よりも影響を受けやすいようで, DNA が2分処理で一部低重合化し,4分処理で全部変性してしまうが,30分処理においては低重合したものとして存在する。

上記,上皮および筋組織のマロリー染色は共通した染色性の変化がみられる。

正常組織では二種の組織はオレンジ G と酸性フクシンとが混入し合って強く染まり,アニリン青染色性はほとんど認められない。水処理の場合は,4分処理までは正常のものと類似の染色性を示すが,8分処理以後では特に組織の一部(特に筋線維)がアニリン青好染性を示す。そして30分処理では核のみオレンジ G 染色性を残し,他の組織はアニリン青に強く染まる。このようなマロリー染色の染色性の変化は,組織が密から粗に変化したことを示しており,この現象は物理的な原因による組織内の基質,間質および細胞質の変性(特に蛋白質の凝固),減少および消失によって起ったと思われる。これに対して塩水処理の場合は水処理と同様の变化を示すが,化学的な原因が加わるので,変化は早く起り,1分処理で組織の一部がアニリン青好染性となり,8分処理でオレンジ G 染色性は消失し,核



Plate

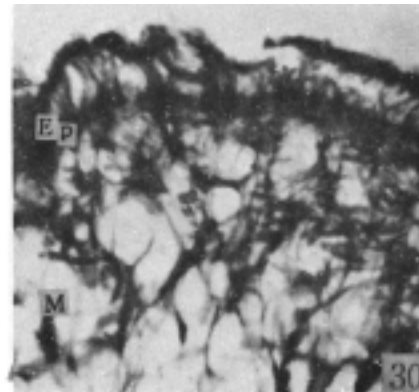
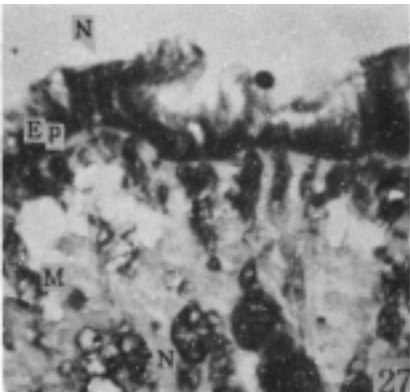
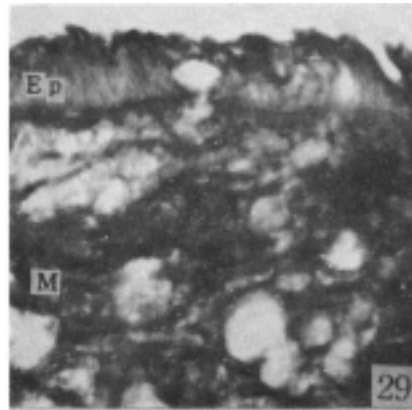
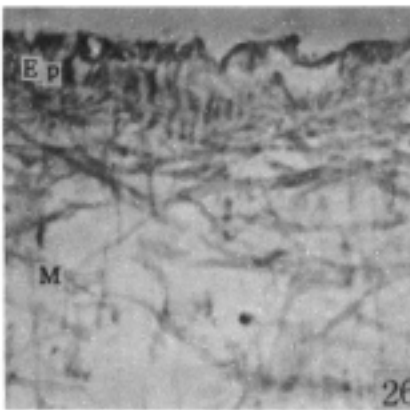
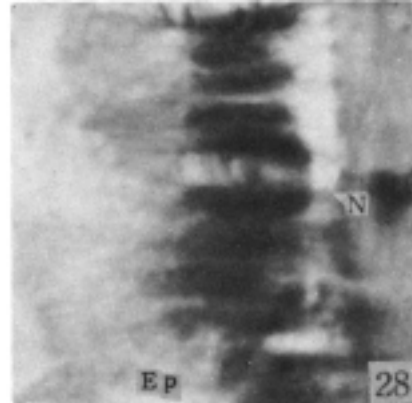
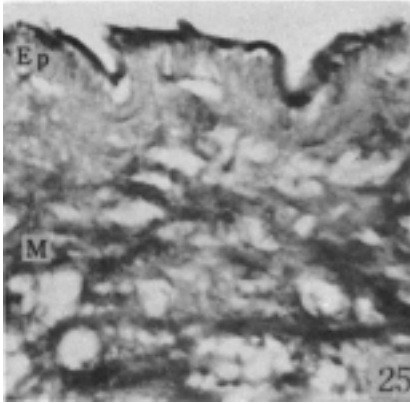
Fig.19. The foot of the material boiled in the water for 4 minutes. Ninhydrin-Schiff reaction preparation. x200.

Fig.20-22. The foot of the material boiled in the water for 8 minutes. x200. -Fig.20. Haematoxylin preparation.

-Fig.21. PAS preparation. -Fig.22. Ninhydrin-Schiff reaction preparation.

Fig.23,24. The foot of the material boiled in the water for 16 minutes. Haematoxylin-eosin preparation. x200, x800.

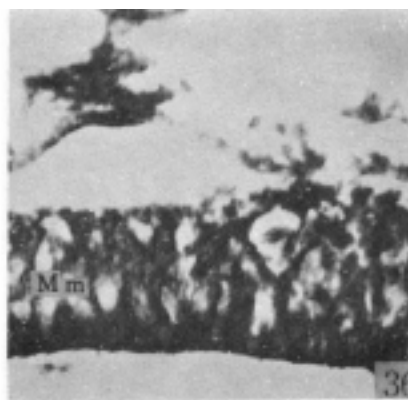
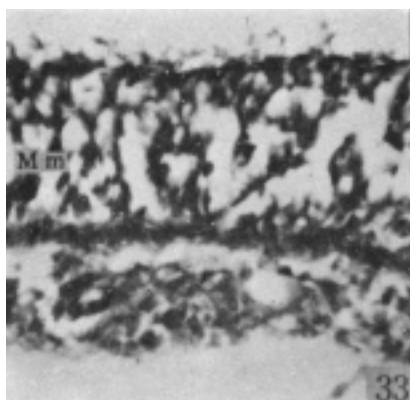
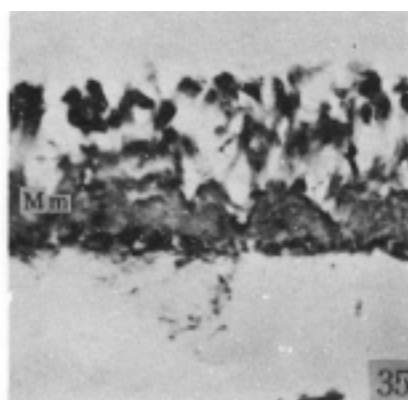
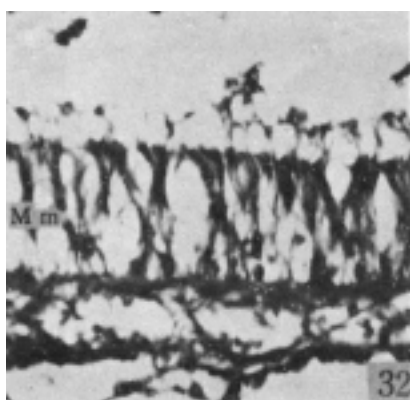
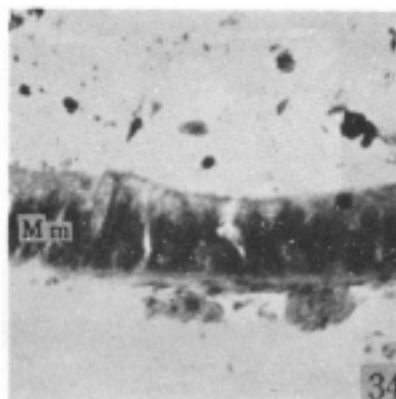
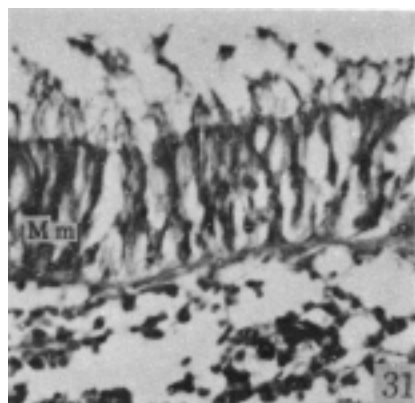
ノート アサリの加熱(水煮, 塩水煮)肉についての二三の組織化学的知見



Plate

Fig.25, 26. The foot of the material boiled in the water for 16 minutes. x200. -Fig.25. P A S preparation. -Fig.26. Ninhydrin-Schiff reaction preparation.

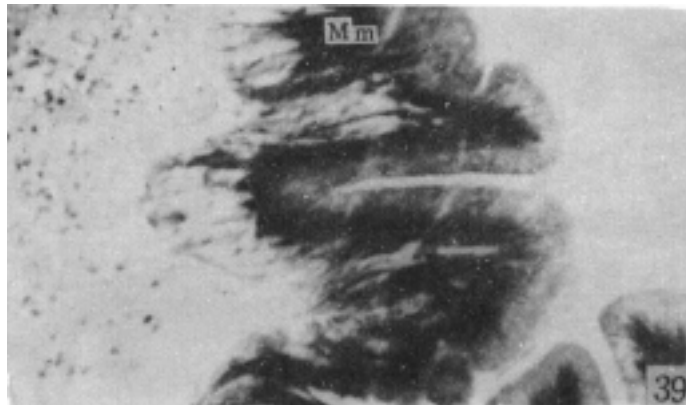
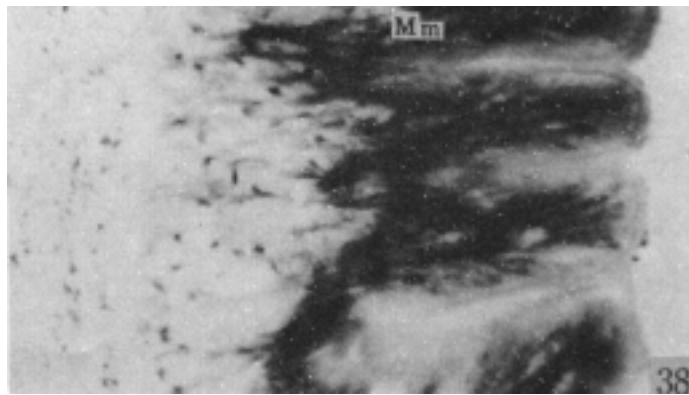
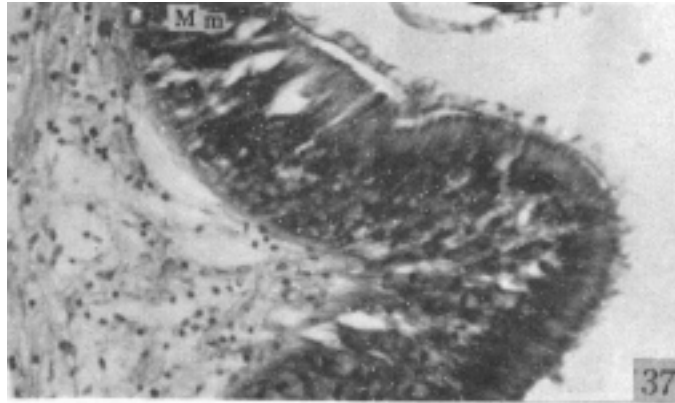
Fig.27-30. The foot of the material boiled in the water for 30 minutes. -Fig.27 , 28. Haematoxylineosin preparation. x200, x800. -Fig.29. PAS preparation. x200. -Fig.30. Ninhydrin-Schiff reaction preparation. x200.



Plate

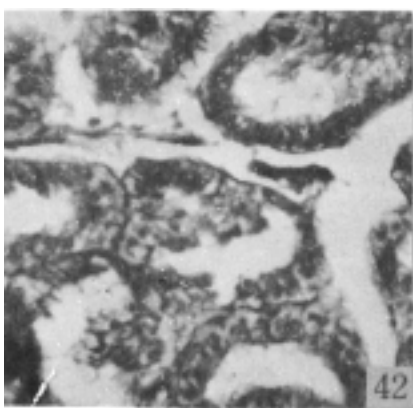
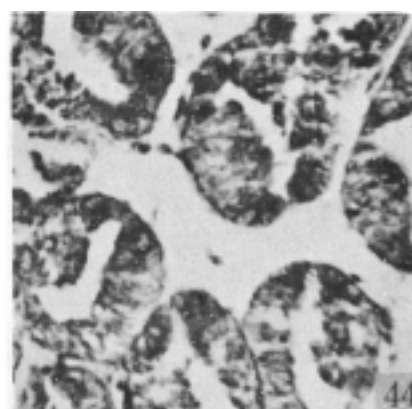
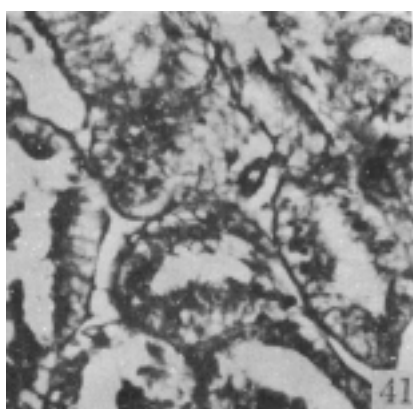
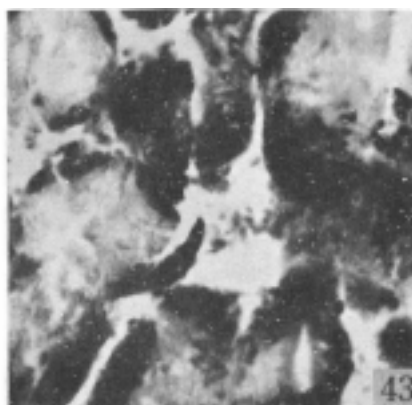
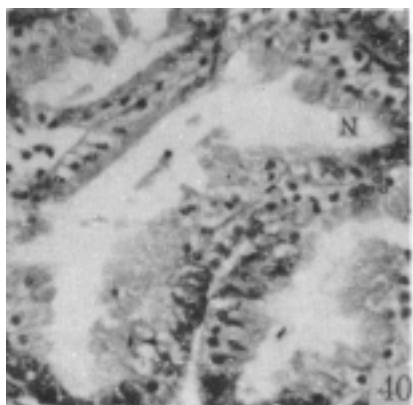
Fig.31-36. Stomach. x200. -Fig.31 Heamatoxylin-eosin preparation of the fresh material. -Fig.32. PAS preparation of fresh material. -Fig.33. Ninhydrin-Schiff reaction preparation of the fresh material. -Fig.34. Haematoxylin prepration of the material boiled in the salt water for 4 minutes. -Fig.35. PAS prepration of the material boiled in the water for 30 minutes. -Fig.36. Ninhydrin Schiff reaction prepration of the material boiled in the salt water for 8 minutes.

ノート アサリの加熱(水煮, 塩水煮)肉についての二三の組織化学的知見



Plate

Fig.37-39. Intestine. Haematoxylin-eosin preparation. x200. -Fig.37. The fresh material. - Fig.38. The material boiled in the water for 8 minutes. -Fig.39. The material boiled in the salt water for 16 minutes.



Plate

Fig.40-45. Mid-gut Gland. x200. - Fig.40. Haematoxylin-eosin of the fresh material. - Fig.41. PAS preparation of the fresh material. - Fig.42. Ninhydrin-Schiff reaction preparation of the fresh material. - Fig.43. Haematoxylin-eosin preparation of the material boiled in the salt water for 4 minutes. - Fig.44. PAS preparation of the material boiled in the water for 30 minutes. - Fig.45. Ninhydrin-Schiff reaction preparation of the material boiled in the water for 8 minutes.

も酸性フクシン好染となる。30 分処理では組織全部にアニリン青好染性となる。

2・3 内蔵部

内蔵部にはいろいろな内蔵組織が存在するが、特に胃、腸および中腸性についてのみ述べる。

(1) 胃

正常組織は立方形的上皮細胞(粘膜)が一層に配列して薄い筋肉層を覆っており、上皮細胞核は細胞基部に偏在している。蛋白、多糖類および核酸として DNA が存在する。(Fig.31 - 33.)

水および塩水処理によって、形態的には処理時間が長くなるに従って粘膜の凝固がみられる。また蛋白は処理時間に関係なく正常組織と類似し、多糖類は処理方法に関係なく 16 分処理で核内侵入が起るが、粘膜は 30 分処理でも存在する。また核は水処理の場合 1 分処理で膨化を起す。そして 30 分処理では核数の減少が目立つが、染色質の染色性の減退は観察されなかった。核酸は DNA の一部低重合化が 1 分処理で起るが、30 分処理でも高分子 DNA が残って低重合 DNA と混在する。塩水処理の場合は水処理と大体同様の变化をするが、核の染色性の減退が 8 分処理で起り、核数の減少が目立ってくるのは 16 分処理以後である。核酸の動向は水処理と同様である。(Fig.34 - 36.)

(2) 腸

正常組織は胃と同様の構造をしているが、腸の粘膜および固有層がよく発達している。核は特に固有層に豊富に存在する。また蛋白、多糖類および核酸が存在し、核酸は DNA と RNA とが混在する。RNA が特に固有層に豊富に存在する。(Fig.37.)

水および塩水処理で組織の形態および細胞質の蛋白と多糖類については著しい変化はみられなかった。核の形態は 1 分処理で膨化するが、処理時間が長くなってもそれ以上の変化をしなかった。また核数の減少は 2 分処理頃から観察されたが、これは処理方法による差異はないようである。核酸は水処理 8 分になると、固有層に豊富に存在した DNA の減少がみられる。そして他の部分においてはチオニン染色の RNA 好染がみられるから DNA の一部が低重合していると思われる。30 分処理でも Feulgen 反応陽性、チオニン染色の RNA 陽性および DNA 陽性がみられる。塩水処理においては 2 分処理以後から上記の現象がみられる。

(Fig.38, 39.)

(3) 中腸腺

正常組織は境界の不明瞭な腺細胞の集団によって構成されている。そしてグリコゲンおよび蛋白は顆粒状に存在し、核酸は DNA のみ存在する。

(Fig.40 - 42.)

水および塩水処理によって、グリコゲンおよび蛋白は顆粒が膨化する。核も膨化するが染色性の減退はみられなかった。核酸は DNA の一部低重合化が 1 分処理で起るが、30 分処理でも高分子 DNA が残り、低重合 DNA と混在する。なお、処理方法による差異は、はっきり観察できなかった。(Fig.43 - 45.)

内臓部のマロリー染色の染色性の変化は前述の組織と同様であった。

3 . 結 論

以上の実験結果から次のようなことが推論できる。

(1) 物理的、化学的变化は同一の処理時間であれば、アサリの体各部は、大体、同一の組織的、化学的变化がみられる。故に、体各部のどの部分を観察しても目的を達することができる。

(2) 組織の形態的变化は、特に、上皮組織の細胞が 1 分処理で膨化変形して正常組織と著しく異なる像が観察される。これは細胞内容物の流出と蛋白の変性によると思われる。しかし 1 分以後はかなり変化するが、動物組織がほとんど蛋白で構成されているので、熱によって凝固して消失が起りにくくなり、組織の消失および脱落を生じないために、その差異を観察しにくくなる。

(3) これに対して、核の変形は処理時間に並行してかなり顕著に変化していく。特に、上皮細胞において観察しやすい。また核数も処理時間が長くなると減少する。(Table)

(4) 多糖類および蛋白の変化は正常組織と著しい差異はみられない。これは蛋白の熱変性によるものと思われる。しかし多糖類の核内侵入や蛋白の細胞外流出を伴うことがある。これについては市川³⁾(1967)も報告している。これ等の量的変化は観察しにくいようである。

(5) 核酸、特に DNA の変性は処理時間によってかなり顕著に変化していく。RNA はすぐに消失してしまうが、DNA は一部低重合、完全な変性および消失という段階を観察することができる。(Table I)

この実験は食品加工の段階を知るために始めたのであるが、市川²⁾³⁾(1967)は食品加工段階を知るには DNA の動向がもっともよい指標になると述べているが、確かに、この実験の範囲でもそれがいえる。動物性食品の場合、組織構成物質がほとんど蛋白に富むか

Table 1 Histochemical changes of Nucleus (Neck Short Clam) by boiling

Table 1			Histochemical changes of Nucleus (Neck Short Clam) by boiling																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
treatment time (min)	tissue	histo-chemical change	destruction of nucleome membrane				decrease of nucleome number				atrophy				swelling				chromatosis condensation				D N A				D N A - depolymerisation				R N A																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
			Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial	Mid-gut grand Intestine Stomach Foot muscle Foot epithelial																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
fresh																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				</

ら、熱によって鋭敏に凝固および変性が生じるが、この変化が起った以後は光学顕微鏡的な差異の識別は困難である。一方、水産加工学上で貝類の食品加工は吸物、さしみ、塩辛、串乾、煮干および缶詰に利用されているが、この加工の場合にさしみ、塩辛を除いて100以上の熱処理がなされるが、形態、蛋白および多糖類の変化は、一応参考にはなるが決定的な要素にならないように思われる。

以上の事由により、関税率表の分類において問題にされる加工段階の判定はDNAの含有量を指標にしてはどうかと思われる。今後の実験でこの点を明瞭にしていこうと思っている。

最後に、この実験に際して終始御指導を賜わり、その上、水産大学校を利用する便宜をはかっていたいただいた水産大学校増殖学科西川昇平助教に深く感謝申し上げます。また西川教室の橘宣三氏、服部守氏および下関女子短期大学の石田さつき嬢の助力に対して感謝いたします。

文 献

- 市川収(1967);食品組織学 - 組織化学的構造論 - , 初版, 354P, 東京; 光生館
- (1967);食品組織学—とくに核酸の問題—, 生物と化学 5, 472~480
- (1967);組織化学からみた食品加工の諸問題, 食品工業学雑誌 14, 159~173
- 佐野豊(1965);組織学研究法 - 理論と術式 - , 初版, 877P, 東京; 南山堂
- 田中克己, 堤 清(1965);顕微鏡標本の作り方, 6版, 282P, 東京; 裳華房
- 広川裕, 水谷清美(1968);魚介類の加熱(水煮, 塩水煮)肉についての二三の組織学的知見, 関税中央分析所報 7, 63~68

A Few Histological View of Heated Neck Short Clam(Boiled In Water And In Salt Water)

Kiyomi MIZUTANI
Moji Customs Laboratory
Nishikaigan-dori Moji-ku
Kitakyushu city

— Received Sep. 30, 1969 —