

## アサリ（生鮮，水煮及び塩水煮）の冷凍肉に ついての二三の組織化学的知見

水 谷 清 美\*

### 1 緒 言

冷凍魚肉の組織学的研究に関しては奥野(1935,'37)が冷凍魚肉に生ずる氷結晶について、貯蔵期間および冷凍温度による変化を、妹尾(1933,'43,'49~'52)は冷凍ハマグリ、魚類および鯨肉について冷凍ならびに解凍の方法による組織学的変化を報告した外、多くの研究者によって詳細に報告されている。しかしこの方面の組織化学的研究は著者の知る範囲では見られないようである。

また今迄税関において輸入される冷凍魚肉については税番上問題を生じないので無視されているが、今日のように冷凍食品のはんらんする時代に基礎的な食品の処理方法のひとつである冷凍について一応考える必要があろう。

以上の事由から著者は前報においてアサリの各組織の加熱による変化を組織化学的に観察したが、今回は冷凍貯蔵において組織化学的にどのような変化を生ずるかをアサリ肉を材料として本実験を行った。

### 2 材料および方法

本実験に用いた材料は下関市吉見町水産大学校前の海岸で採集したアサリ *Venerupis japonica* を、活きたまま殻を除いたもの(以下生鮮肉とする)、活きたまま沸とう水中に入れ殻を開かせて水中から引き上げ放冷して殻を除いたもの(以下水煮肉とする)および活きたまま沸とう食塩水中に入れ、前者と同様な処理方法をしたもの(以下塩水煮肉とする)をそれぞれ用意し、これら 30 個を 1 グループとしてアルミ箔で包み、-25 の冷蔵庫中に、1 日、2 日、4 日、9 日、15 日および 30 日間冷蔵した。

実験には足部を切り出し、Gilson 氏液中で解凍および固定を行い、常法によって足部を輪切りにする 8 μ のパラフィン切片を切製し、これを脱パラして染色を行う。

染色方法は前報と同様に一般の組織学的観察のために Delofield's haenatoxylin-eosin 染色、多糖類のための PAS 反応、蛋白のために Ninhydrin-Schiff 反応、DNA のために Feulgen 反応、DNA と RNA のためにチオニン染色および組織の粗密を観察するためにマロリー染色を行った。

なお対比するために、これらの冷凍していないものを同様な操作を行い観察する。

### 3 観察結果

#### 3・1 上皮組織

##### 3・1・1 未冷凍肉の組織化学的観察

生鮮肉は前報で述べたように一層の立方形の上皮細胞が基底膜を介して筋組織に接する。細胞内部には明瞭な円形の核が基底膜近くに位置し、内部には仁が認められる。PAS 反応は細胞質が強陽性、N-Schiff 反応は細胞膜および核が強陽性で、細胞質は弱陽性である。核酸は DNA と少量の RNA とが核内に存在する。マロリー染色では核がオレンジ色、細胞質が紫色である。(Fig.1, 4, 10.)

一方、湯煮肉(水煮肉と塩水煮肉をまとめたもの、以下同じ)は生鮮肉と比較すると、細胞は軽く膨化変化し、さらに破壊、脱落が観察される。核は仁、染色質が凝集して不明瞭となった紡錘状核である。PAS 反応は水煮肉では細胞膜が強陽性で、細胞質が弱陽性であるが、塩水煮肉では細胞全体が強陽性である。N-Schiff 反応は生鮮肉と同様な染色性であるが陰性部が存在する。核酸は水煮肉では DNA のみであるが、塩水煮肉では少量の RNA と DNA とが混在する。マロリー染色は核が水煮肉では紫色で一部オレンジ色、塩水煮肉では青色である。そして細胞質はいずれも青色である (Fig.23, 26, 28, 38, 40,42)

##### 3・1・2 冷凍肉の組織化学的観察

形態：生鮮肉は 1 日目に膨化変形し、更に表皮と細胞、上皮組織と筋組織が一部分離しているのが観察され、このような状態は 9 日目以後に萎縮を伴う位で以後も同様に観察される。また先端部に空胞が 1 日目の

\* 門司税関分析室 北九州市門司区西海岸通り

みみられた。(Fig.2, 3, 5 - 9, 11, 12.)

一方、湯煮肉では前段階で熱凝固しているためにほとんど変化は観察されないが、やはり組織の破壊がみられる。また先端部に空胞が2日目にのみみられた。(Fig.24, 25, 27, 29, 30, 39, 41, 43, 44.)

多糖類・蛋白：PAS・N-Schiff反応性はTable 1のように変化するがこれは筋組織からのこれらの流出によるものと思われるが、凝固については観察できなかった。そして生鮮肉では4日目、水煮肉では30日目、塩水煮肉では15日目以後に核内の氷晶跡がPAS反応陽性となり多糖類の核内侵入が観察される。また生鮮肉では細胞内部に陰性部が2日目以後に存在するが、30日目とはみられなくなる。(Fig.5 - 9, 11, 12, 27, 29, 30, 41, 43, 44.)

マロリー染色：細胞質は生鮮肉では1日目に粗になるが後半は密になる。一方湯煮肉では1日目に密になり以後はほとんど変化がみられない。これは内容物(多糖類・蛋白など)の流出の差によるものと思われる。また核は1日目に生鮮肉では粗に、湯煮肉では密になるが以後はほとんど変化はない。これは生鮮肉では凝固、湯煮肉では膨化したためである。

核：形は先端部の細胞に生鮮肉では2日目、水煮肉では15日目、塩水煮肉では4日目以後に核内氷晶が起り、そのために核の膨化および染色質分離がみられる。しかし塩水煮肉は15日目以後に核膜が不明となるのでこれ以後はこの現象は観察できない。

核酸：核酸の動向はTable. 1に示す。すなわち、RNAは水煮肉では冷蔵の前段階で消失しているが、生鮮肉および塩水煮肉ではその動向は観察できないが、2日目に消失が考えられる。DNAの一部低重合化は生鮮肉では、9日目、水煮肉で1日目、塩水煮肉では4日目にみられるが、その減少は水煮肉だけみられる。そして30日目では、いずれも高分子DNAと低重合DNAとが混在する。

### 3・2 筋組織

#### 3・2・1 未冷凍肉の組織化学的観察

生鮮肉は前報で述べたように内外二層に区別されるが、いずれも縦横に走る筋線維によって構成され、この筋線維のPAS・N-Schiff反応は濃染を示す。筋線維内には明瞭な仁を有する円形の核が存在し、核酸はDNAのみ観察される。マロリー染色はオレンジ色で一部に赤色がみられる。(Fig.1, 4, 10, 13, 20.)

一方、湯煮肉を生鮮肉と比較すると、筋線維は熱によって凝固しているが、塩水煮肉では一部顆粒化がみられる。PAS・N-Schiff反応は陽性である。核は円形で軽い核濃縮を示す。核酸は高分子DNAと低重合

DNAとが混在する。マロリー染色は青色で塩水煮肉では赤紫色が一部混入している。

(Fig.23, 26, 28, 31, 34, 38, 40, 42, 45, 47.)

#### 3・2・2 冷凍肉の組織化学的観察

形態：いずれも筋線維間にゆがが生じTable.1に示されるように期間の経過とともに多様性をみせる。この線維の凝固性は4日目に最大となり、30日目ではほとんど冷凍していないものとよく似た状態がみられる。しかし凝固の形は生鮮肉、水煮肉および塩水煮肉では各々特異性を示す。また冷凍肉は中心部に大きな不染部があるが、生鮮肉と水煮肉で後半に小型化し、30日目では均一化、塩水煮肉で4日目以後に均一化した。(Fig.2, 3, 5 - 9, 11, 12, 14 - 19, 21, 22, 24, 25, 27, 29, 30, 32, 33, 35 - 37, 39, 41, 43, 44, 46, 48.)

多糖類・蛋白；PAS反応性はいずれも全期間ほとんど変化がみられなかったので量の増減については観察できない。一方N-Schiff反応性は後半弱陽性となり量の減少がみられる。また染色状態はFig.5 - 9, 11, 12, 14 - 19, 21, 22, 27, 29, 30, 32, 33, 35 - 37, 41, 43, 44, 46, 48.に示す。これはeosin染色と大体同一の状態であるが、期日によっては一面的な染色性をみせる。

マロリー染色：1日目に生鮮肉では粗、湯煮肉では密になるが、以後はほとんど変化はみられない。これは生鮮肉では凝固、湯煮肉では膨化が考えられる。

以上の形態、多糖類、蛋白およびマロリー染色の変化は筋組織中の自由水および結合水の氷晶形成過程において筋線維が再結合することに基因し冷凍学において言われている蛋白の変性の様子であろう。

すなわち生鮮肉においては、

- (イ) 氷晶は自由水そして結合水と氷結してゆく<sup>3)</sup>。
- (ロ) この氷晶が組織に与える損傷が軽微な時はドリップは生じないが、氷晶が成長し、さらに貯蔵期間が長期になると組織は破壊されてドリップを生じる。<sup>3)4)</sup>
- (ハ) 筋組織は筋原線維(ミオシン系蛋白)と筋漿(ミオゲン系蛋白)から構成されているが、冷凍によって前者は変性を受け凝固性が強くなって不溶解となるが、後者は変性を受けず溶解性は変化を受けない<sup>5-11)</sup>
- (ニ) 魚肉蛋白は本来凝集性が強いので氷晶の成長によって蛋白分子の再凝集が起る<sup>12-14)</sup>

以上の現象が1のみ、あるいは2、あるいは総合されたものであろうと思われる。

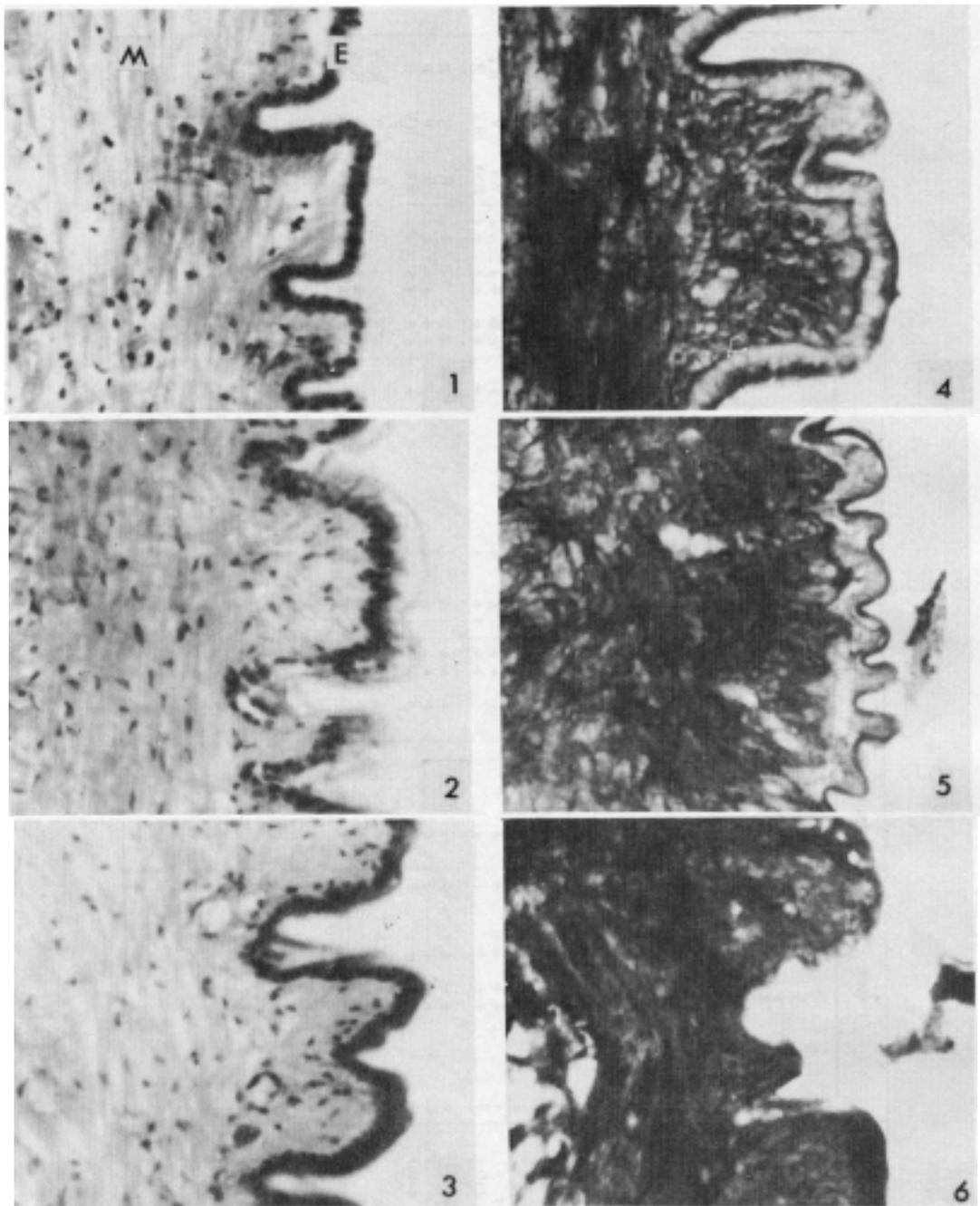
また湯煮肉においてはこれに関する報文はほとんどみあたらないが、おそらくは生鮮肉と似たような変化が起っているものと思われる。しかしこのものは加熱

ノート アサリ ( 生鮮, 水煮及び塩水煮 ) の冷凍肉についての二三の組織化学的知見

Mallory stain	muscle	OR B BRV
	epitheleal	V B V
nucleic acid	RNA	R RV R
	DNA-depolymerisation	R RV RRV
nucleus	string nucleus	R R R
	ice crystallization in the nucleus	RRV RVR RVR
protein	increase	RRV R RV
	solidification	R RV RV
polysaccharide	polysaccharide in the nucleus	R RV RV
	increase	R RV RV
tissue	solidification	R RV RV
	cell swelling	R RV RV
histochemical change	dissociation	R RV RV
	cavity	R RV RV
treatment	dest action	R RV RV
	fresh water	R RV RV
treatment time (day)	0	R RV RV
	1	R RV RV
treatment time (day)	2	R RV RV
	4	R RV RV
treatment time (day)	9	R RV RV
	15	R RV RV
treatment time (day)	30	R RV RV

O : oreng R : red V : vioret

Table 1 Histochemical change of Foot ( Neck Short Clam ) by frosting



All figures are photomicrographs from the section of neck short clam's foot fixed with Gilson solution.  $\times 200$ .

E ; epithelial      M : muscle

Fig.1 - 3. Haematoxylin-eosin preparation of the fresh material. - Fig. 1. no frozen. - Fig.2. 2 days frozen. - Fig.3. 3 days frozen.

Fig.4 - 6. PAS preparation of the fresh material. - Fig.4. no frozen. - Fig.5. 1 day frozen. - Fig.6. 2 days frozen.

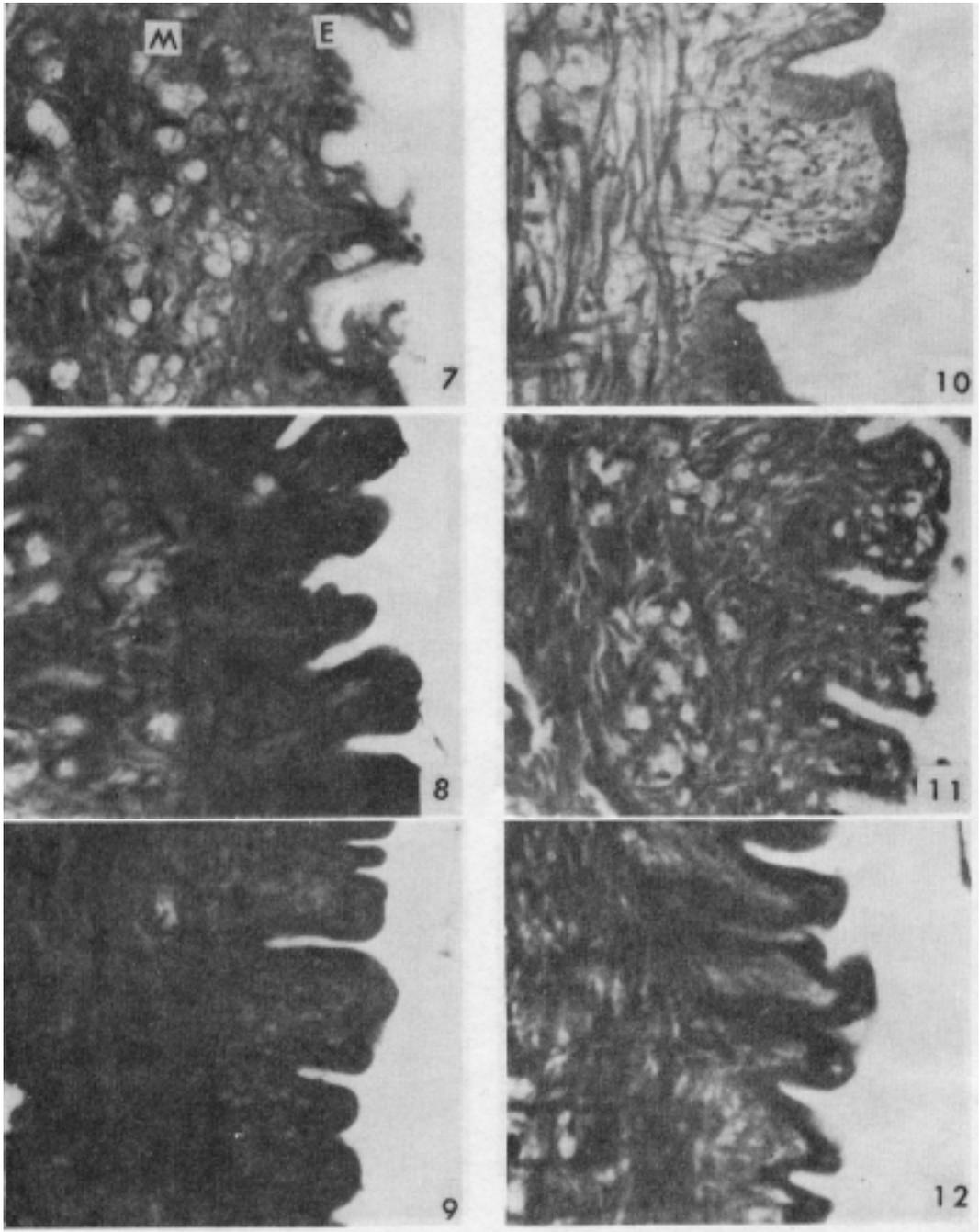


Fig.7 - 9. PAS preparation of the fresh material. - Fig.7. 9 days frozen. - Fig.8. 15 days frozen.  
- Fig.9 30 days frozen

Fig.10 - 12. Ninhydrin- Schiff reaction of the fresh material. - Fig.10. no frozen. - Fig.11. 9 days  
frozen - Fig.12. 30 days frozen

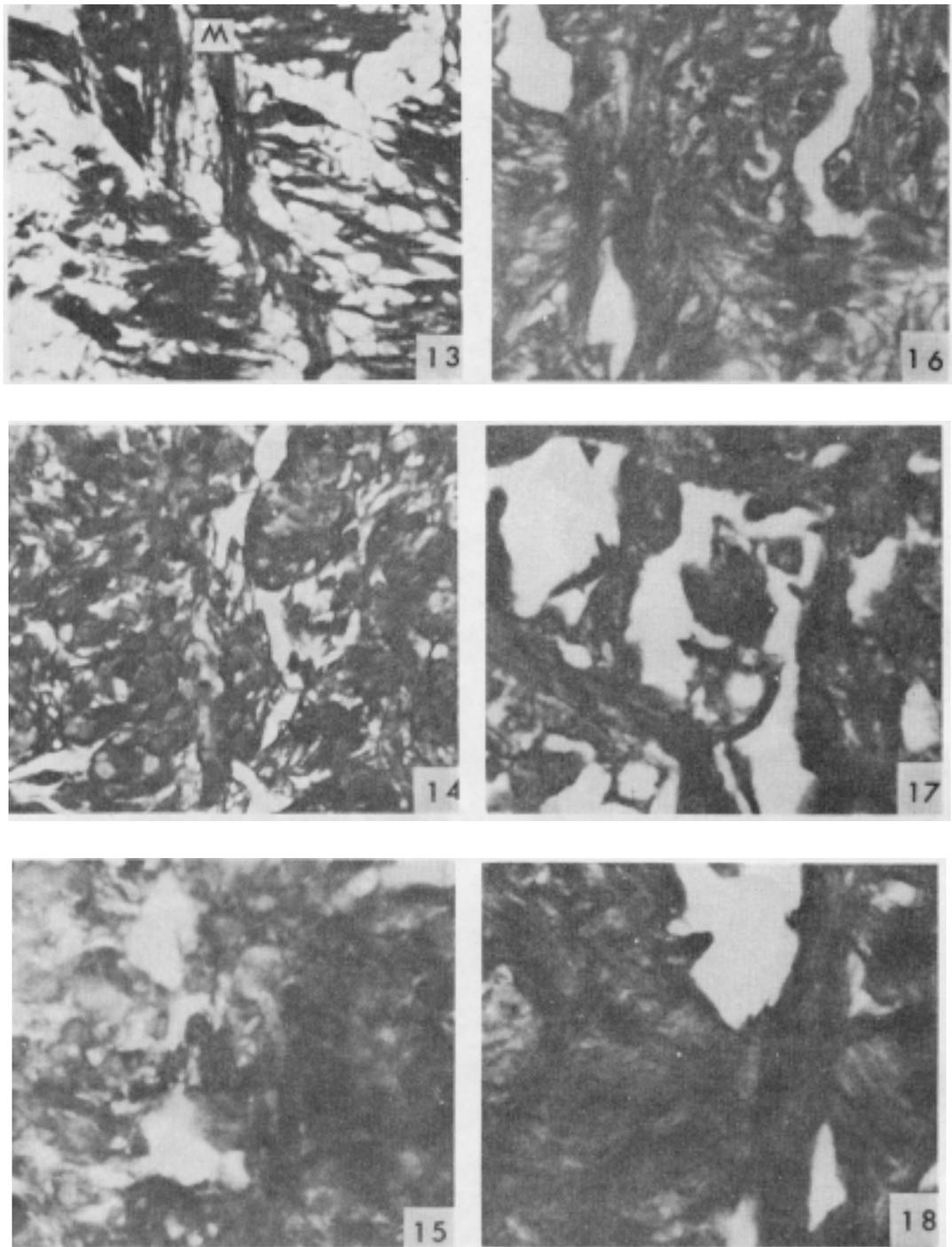


Fig.13 - 18. PAS preparation of the fresh material. - Fig.13 no frozen. - Fig.14. 1 day frozen.  
Fig.15. 2 days frozen. - Fig.16. 4 days frozen. - Fig.17. 9 days frozen. - Fig.18. 15  
days frozen.

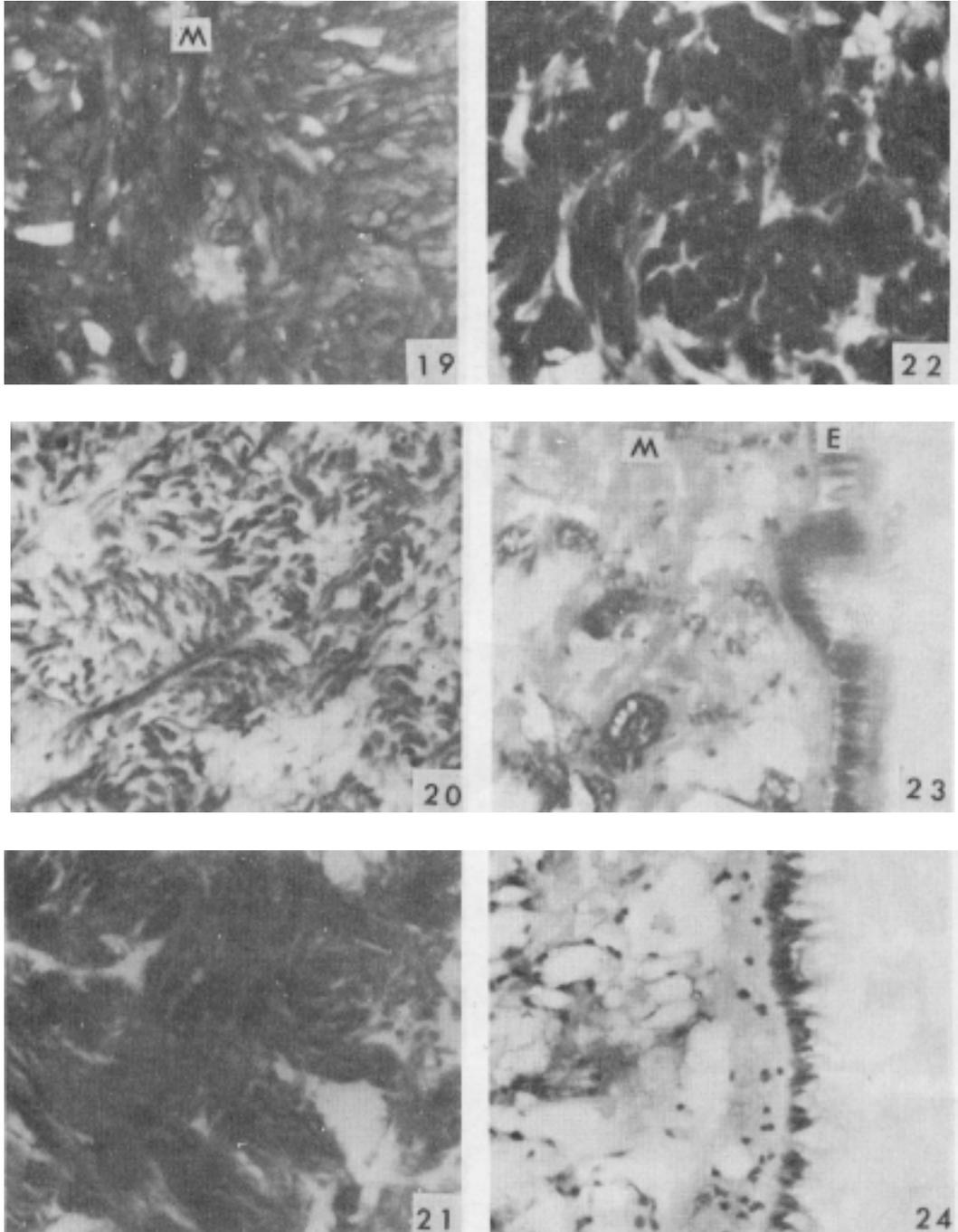


Fig.19. PAS preparation of the fresh material for 30 days frozen.

Fig.20 - 22. Ninhydrin-Schiff reaction preparation of the fresh material. - Fig.20. no frozen  
Fig.21. 15 days frozen. - Fig.22. 30 days frozen.

Fig.23,24. Haematoxylin-eosin preparation of the material boiled in water- - Fig.23. no frozen.  
Fig.24 30 days frozen.

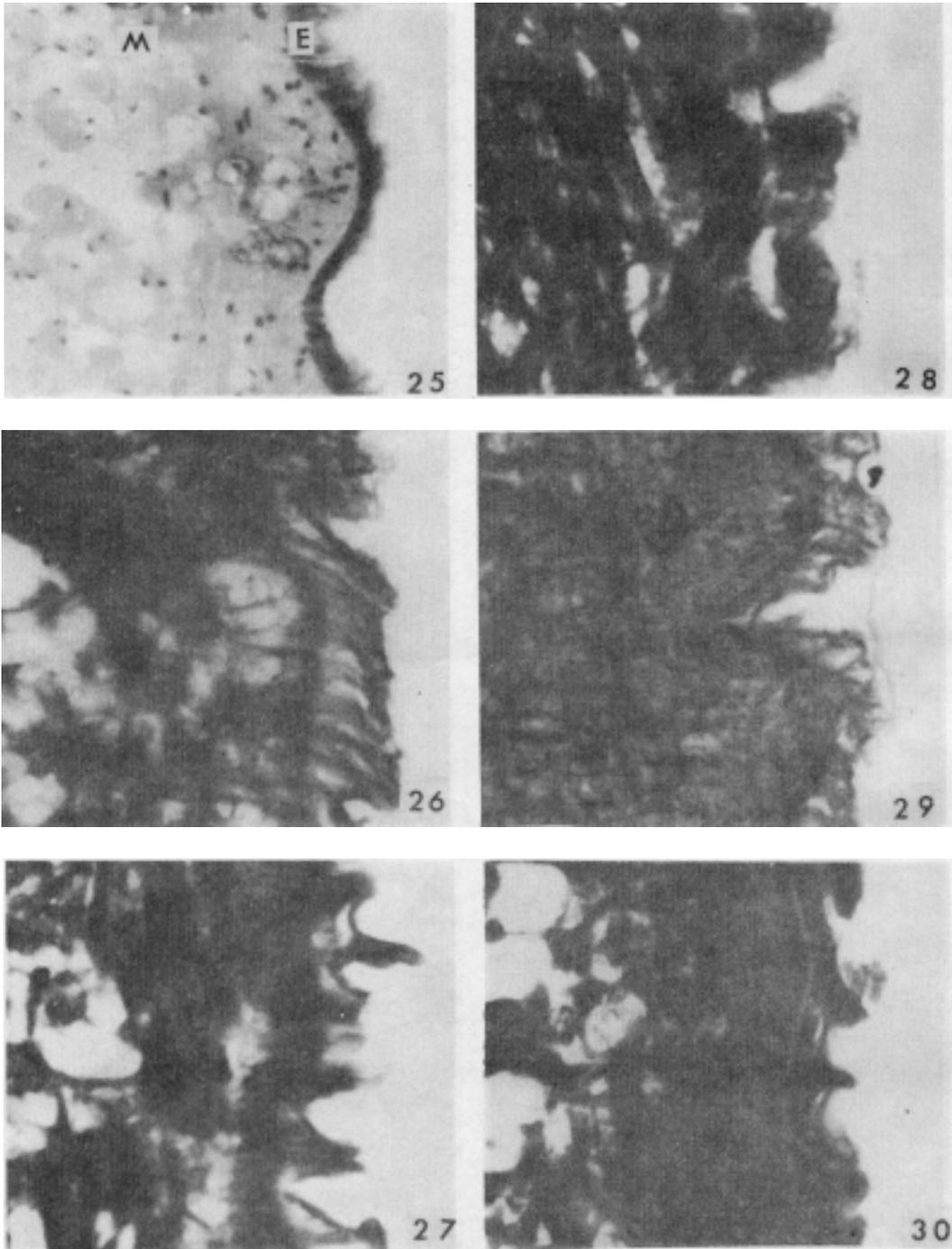


Fig.25. Haematoxylin-eosin preparation of the material boiled in water for 30 days frozen.

Fig.26,27 PAS preparation of the material boiled in water. - Fig.26. no frozen. - Fig.27 2 days Frozen.

Fig.28 - 30. Ninhydrin-Schiff reaction preparation of the material boiled in water. - Fig.28 no frozen. Fig.29. 15 days frozen. - Fig.30. 30 days frozen.

ノート アサリ（生鮮，水煮及び塩水煮）の冷凍肉についての二三の組織化学的知見

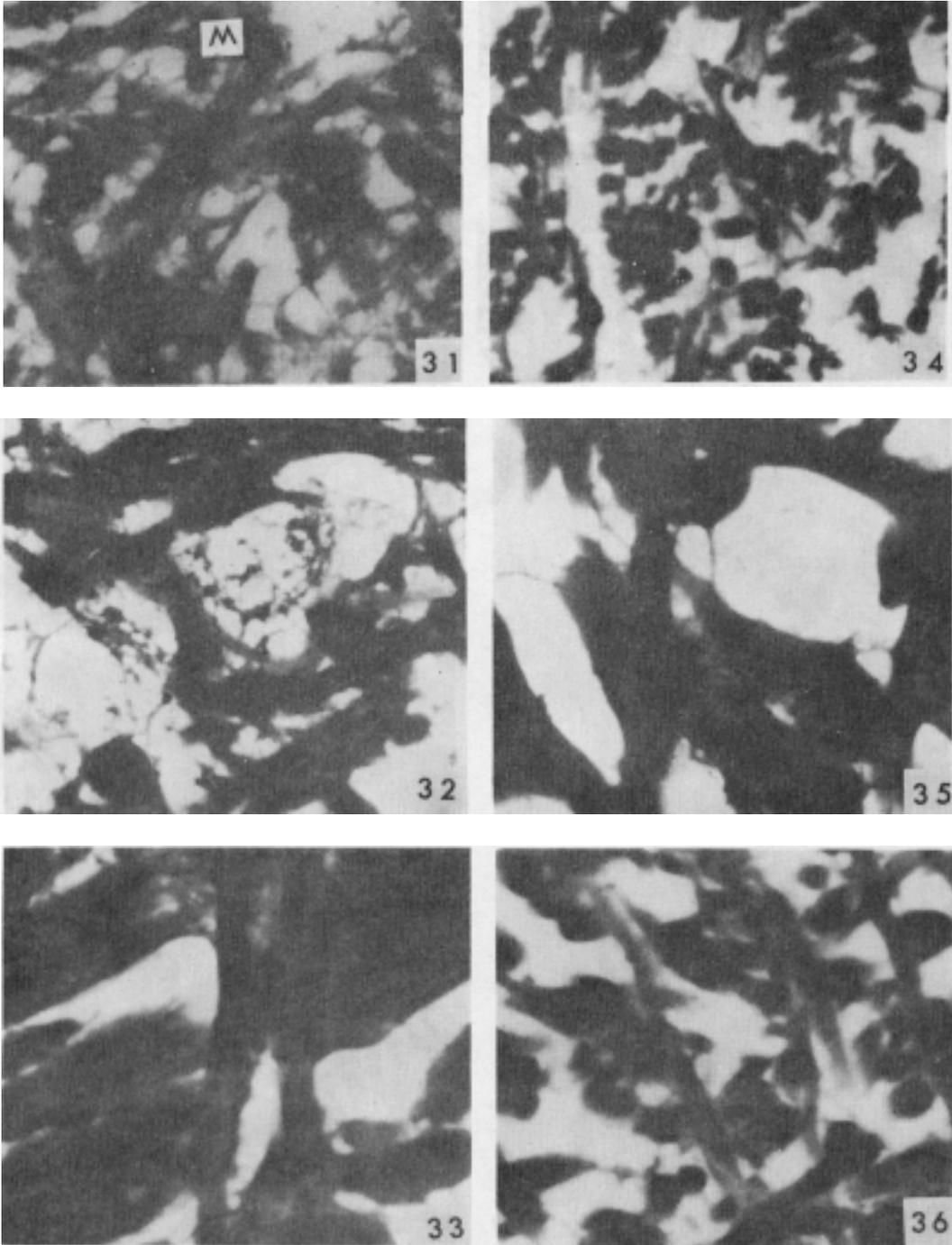


Fig.31 - 33. PAS preparation of the material boiled in water. - Fig.31. no frozen. - Fig.32. 1 day frozen. - Fig.33. 4 days frozen.

Fig.34 - 36. Ninhydrin-Schiff reaction preparation of the material boiled in water. - Fig.34. no frozen. - Fig.35. 1 day frozen. - Fig.36. 15 days frozen.

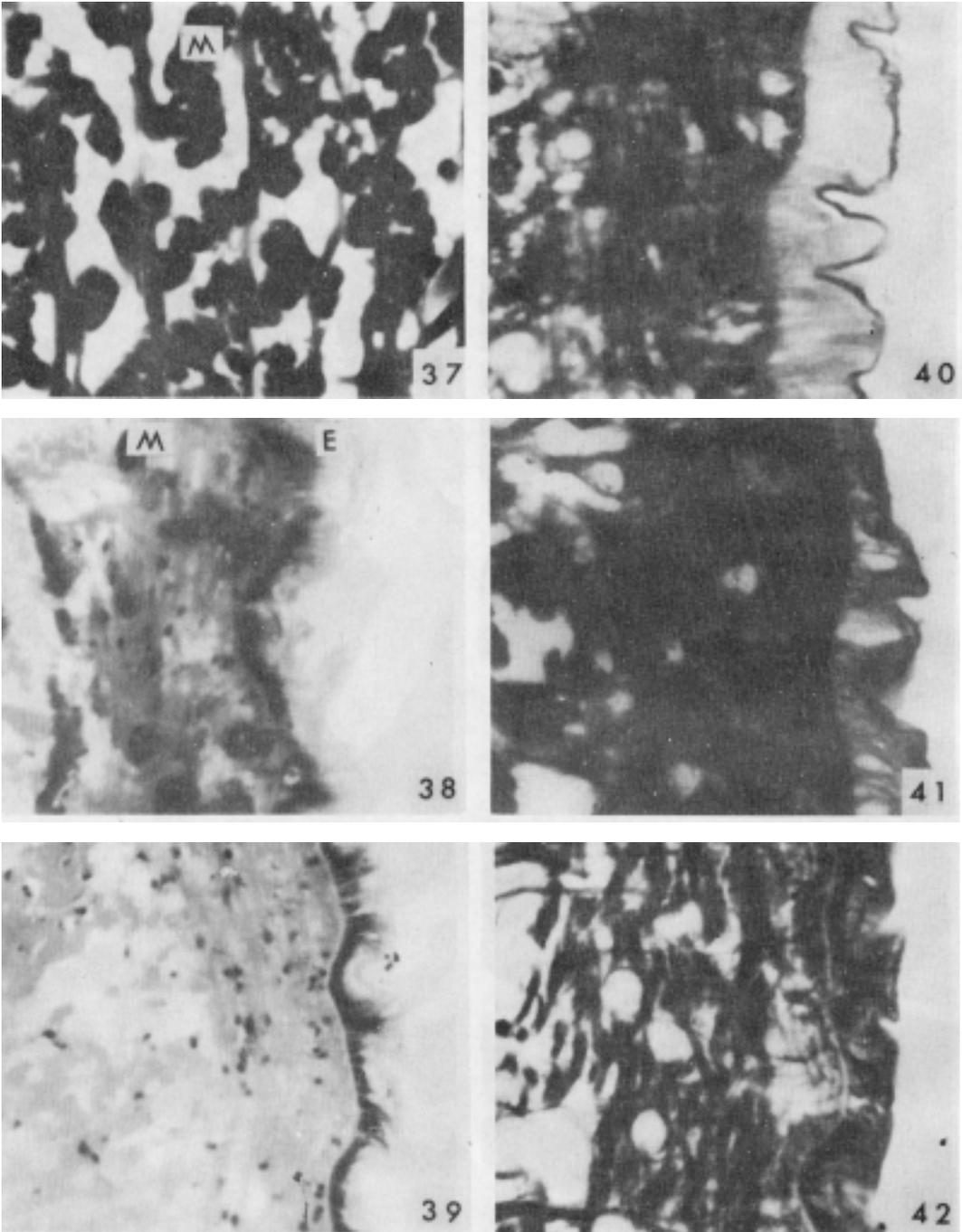


Fig.37 Ninhydrin-Schiff reaction preparation of the material boiled in water for 30 days frozen.

Fig.38,39 Haematoxylin-eosin preparation of the material boiled in salt water. - Fig.38. no frozen .  
- Fig.39. 15 days frozen.

Fig.40, 41. PAS preparation of the material boiled in salt water. - Fig.40. no frozen. - Fig.41. 4  
days frozen.

Fig.42. Ninhydrin-Schiff reaction preparation of the material boiled in the salt water for no frozen.

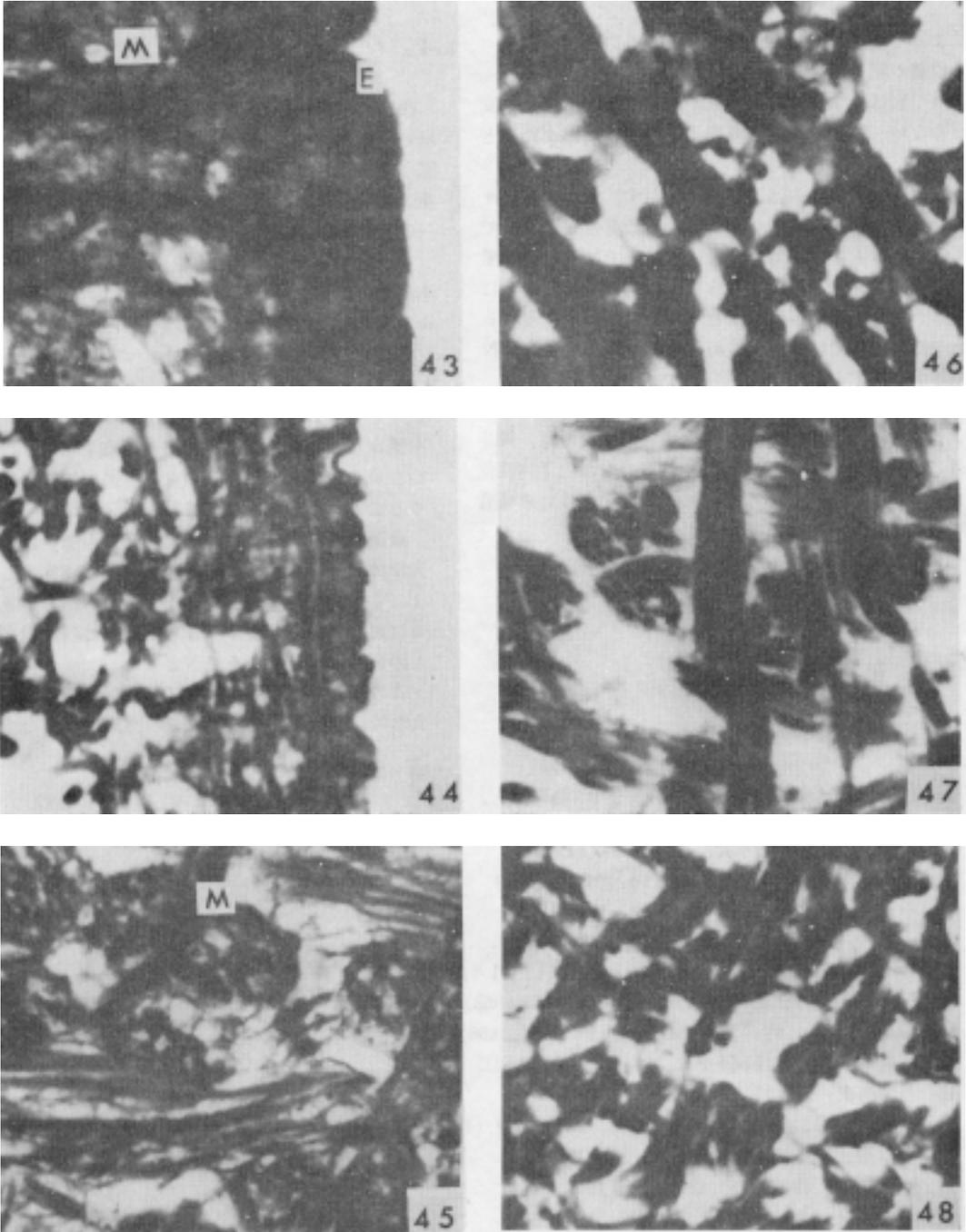


Fig.43. 45. Ninhydrin-Schiff reaction preparation of the material boiled in salt water . - Fig.43 1 day frozen. - Fig.44. 9 days frozen.

Fig.45. 46. PAS preparation of the material boiled in salt water. - Fig.45. no frozen. - Fig.46. 9 days frozen.

Fig.47. 48. Ninhydrin-Schiff reaction preparation of the material boiled in salt water . - Fig.47. no frozen. - Fig.48. 9 days frozen.

によってすでに蛋白変性を受けているので多少異なった現象が起るものと思われる。<sup>3, 15)</sup>

核：形はいずれも軽い萎縮がみられるがほとんど変わらない。しかし期間の経過とともに核濃縮が顕著となる。

核酸：核酸の動向は Table. 1 に示す。すなわちチオニン染色の RNA はすべて DNA の低重合したもので、高分子 DNA の一部低重合化は生鮮肉では 1 日目、湯煮肉では冷凍の前段階でみられ、期間の経過とともに高分子 DNA の分解と低重合 DNA の減少がみられる。そして 30 日目ではいずれも高分子 DNA と低重合 DNA とが混在する。

以上のように上及組織および筋組織いずれも冷凍による形態的・化学的变化は冷凍の前半に現われ、後半はこれらの持続である。また湯煮肉の方が化学的变化を受けやすく、特に塩水煮肉にその傾向が強いのは食塩の化学的作用によるものと思われる。

## 文 献

- 1) 広川 裕, 水谷清美; 本誌, 7, 63 (1968)
- 2) ; 同上, 9, 67 (1969)
- 3) 加藤舜郎; 食品冷凍の理論と応用 (改訂新版) 再版. P1001, 東京; 光琳書院 (1967)
- 4) 内山 均, 外; 日水誌, 32(3), 280 (1966)
- 5) Dyer, W. J. : Food Res., 16, 522 (1951)
- 6) , 外; J. Fish Res., 13, 129 (1956)
- 7) , 外; J. Fish Res., 13, 569 (1956)
- 8) Berg, L. V. D., 外; Food Techn., 17(1), 91 (1963)
- 9) , 外; J. Food Sci., 28(4), 425 (1963)
- 10) Love, R.M., 外; J. Food Sci., 9, 609 (1958)
- 11) , 外; J. Food Sci., 27(6), 544 (1962)
- 12) 花房尚史; 低温科学, 20, 81 (1962)
- 13) Tanford, C., 外; J. Biol. Chem., 236, 1711 (1961)
- 14) 浜口浩三, 外; 生物物理, 1, 40 (1961)
- 15) 西元諄一; 冷凍, 38 (424), 84 (1963)
- 16) 市川 収; 生物と化学, 5, 472 (1967)

## A Few Histological View Of Frozen Neck Short Clam (Fresh, Boiled In Water And In Salt water)

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

## 4 む す び

冷凍肉は原料魚の生物的要因, 死後活性の段階、凍結処理条件, 冷蔵条件および解凍処理などの条件が積算されるので, このすべてに渡って検討しなければ冷凍による変化は知ることにはならないと思われるが, 一応次のような結論を得た。

すなわち冷凍による形態的变化・組織化学的变化は氷晶が生じる点以外はほとんど起こらないといわれている<sup>16)</sup>が, この実験でもこの事を言うことができる。

また太田<sup>17)</sup>は組織の変化は同一試料では凍結状態のものよりも解凍後のものの方が少ないという結果を得ている。以上二つの事を考え合わせると加工処理後に冷凍がなされたとしても組織を観察すれば, 冷凍していないものとの類似性がみられるので加工段階を判定することは可能だと考えられる。

最後に, この実験に際して終始御指導を賜った水産大学校増殖学科西川昇平助教授に深く感謝申し上げます。また西川教室の服部守氏および石田さつき嬢の助力に対して感謝します。なお冷蔵庫は同校製造学科のものを使用させていただきました。

この実験は昭和 44 年度税関研修所門司支所から水産大学校に研究生として派遣された際に行ったものである。