

各種冷凍法に依る冷凍黄鯛 筋肉の組織的差異*

小林 博・西川 昇平

Preliminary Note on the Muscular Tissue of the Fish,
Taius tumifrons, Frozen by Various Methods.

By

Hiroshi KOBAYASHI and Syohei NISHIKAWA

The difference of histological features of lateral muscle of the fish frozen by various methods were studied. The size of ice crystal grown in muscular tissue varies with freezing method. To put in descending order of size of ice crystal grown in the tissue we have : (a) air-freezing, (b) sharp-freezing, and (c) Ottesen's freezing method. But from view-point of number of ice crystals per unit space the above order is just reversed. Sections cut by microtome and mounted on slide glass in the refrigerated chamber showed a number of gaps in the tissue left by thawing of ice crystals. On the basis of these relics of outlines of ice crystals, relationship between size and number of ice crystals was obtained as plotted in Fig. 1. Ice crystals were mostly found in interspaces of muscle fibers or between muscle fiber and perimysium, but sometimes within muscle fiber as was the case with productions by Ottesen's method. Transverse section clearly revealed deformation of muscular elements due to ice crystals ; otherwise rather clear-cut polygonal outline of muscle fiber showed much shrinkage or distortion. Disintegration of connective tissue was so evident as to cause crevices in the object. Paraffin sectioning augmented damage inflicted by refrigeration, viz., air-frozen fish muscle when examined by paraffin sectioning was found made up by very loosely set muscle fibers. Undoubtedly the muscle yielded to very strong mechanical impulse when frozen in air freezing method. Phase-contrast microscope brought about delicate changes imposed by freezing within muscle fiber. Thus myofibrils and transverse striations faded into obscurity and bundles of myofibrils were disordered in their arrangement when subjected to air-freezing and sharp-freezing method. But such was not the case with the material treated with Ottesen's method. Moreover, this method kept flown-out sarcoplasm through rupture of sarcolemma at the least, so that still remaining "drip" in muscular tissue was stained most brightly pinkish of all frozen sample. All this revealed that Ottesen's method keeps histological features of muscle nearest to those to be found in alive fish. No comment is needed of supremacy of this treatment over the other techniques of refrigeration.

* 水産講習所研究業績 第138号.

緒 言

魚肉に種々の保存処理を施した場合、その魚肉の組織的变化を調べることは、施された処理の方法及び効果に対して重要な基礎的事実を与へるものとして意義があると思われる。従つて、冷凍方法が異つた魚肉の組織的变化を考究する事は、冷凍方法の相違が魚肉に及ぼす影響の程度を知るのみならず最も適当した冷凍方法の推定に役立つと考えられる。従来、冷凍魚肉の組織学的研究は PLANKE, EHRENBAUM und REUTER (1916), ZAROTSCHEZEFF (1930), MONVOISIN (1951) 其他多くの人によつて詳細に報告されているが、我国における此種の研究は少い。即ち、奥野 (1935, '37) は冷凍魚肉内に生じる氷結晶について、貯蔵期間及び冷凍温度による変化を報告し、妹尾 (1933, '43, '49~'52) は冷凍蝦肉、魚肉、鯨肉等各種の水産動物肉について冷凍並びに解凍の方法による組織的变化の状態を詳細に研究報告している。著者等は魚肉について冷凍方法の相違によつて生ずる肉組織の差異に関して、未だ報告を見ないので、魚肉における此等差異を観察し、更に此等の組織学的所見から最も鮮魚に近い状態に魚肉が保持されると思われる冷凍方法を推定する為に、本実験を行い、若干の考察を試みたので茲に報告する。

本文に入るに先だち、本稿の御校閲を賜つた九州大学農学部三宅貞祥博士に深謝すると共に、文献の御教示、助言を頂いた東京水産大学田中和男助教授に謝意を表す。又実験に際して種々御便宜を与えられた、大洋研究所川上猛雄氏を始め、大洋漁業株式会社第一冷凍工場の諸氏に厚く御礼申し上げる。

材料及び方法

供試材料はすべて東支那海産きだい *Taius tumifrons* (T. et S.) の体長 150~180mm のものである。冷凍処理は 1951 年 2 月、下関市大洋漁業株式会社第一冷凍工場において、オツターゼン氏冷凍法、急速冷凍法、空気冷凍法 (以後本文では夫々オ冷、急冷、空冷と略記する) の 3 法により冷凍され、約 40 日間 -12°C に冷蔵されたものである。冷凍温度はオ冷では $-9\sim-11^{\circ}\text{C}$ 、急冷では Brine の温度は $-24\sim-25^{\circ}\text{C}$ 、空冷では $-22\sim-25^{\circ}\text{C}$ であつた。魚肉の切片作製には第一背鰭下方、表皮直下の体側筋の一部を採り、体軸に垂直方向に $10\sim 20\mu$ の切片とした。尙実験方法の詳細については次の観察結果の処で述べる。

観 察 結 果

1) 魚肉組織中に生成した氷結晶

ミクロトーム、顕微鏡及び使用器具類は予め、 -20°C に冷却して置き、同室温の冷蔵室内で実験を行つた。此場合の切片の厚さは 15μ で切断後、染色せず其儘検鏡した。この観察結果は Plate I, Fig. 1, 2, 3 の写真に示す様に、組織中の氷結晶の存在が明らかに認められ冷凍法によつて著しい差異がある。即ちオ冷では氷の結晶が小さく而も多数存在するが、急冷から空冷へと順次氷の結晶が大きくなるのに反し、結晶の数は減少している。肉組織の所見は切片が厚い為か、或は染色しない為か、この方法では全く観察出来なかつた。又氷の結晶の直径を測ることは検鏡開始後数分以内に氷結晶が解凍するので不可能であつた。従つて之等の観察を行う為に次の実験を行つた。

2) 解凍組織切片中に生じた氷結晶の抜け跡

凍結魚肉組織中の氷の結晶の大きさを推定することは必要であるが、前述の様に凍結切片の氷の大きさを冷蔵室内で測定することは非常な困難を伴う為、奥野(1935)⁴⁾と同様に解凍後組織切片中に生ずる氷の抜け跡が凍結時の氷の結晶の大きさに等しいと考え、この孔を接眼ミクロメーターで測定した。方法は、前記実験で作製した切片をスライドガラスに貼付した儘、冷蔵室外で空気解凍し、直ちに実験室において70% Alc. で24時間固定後、Haematoxylin-eosin 染色を施して観察した。新しく得た組織標本(Plate I, Fig. 4, 5, 6)によれば氷の存在した跡が明瞭であり、オ冷による孔の大きさが最小であり、順次急冷、空冷によるものが大きくなることは前記観察と一致する。次いで孔径の大きさの分布状態を結晶の大きさ(孔の大きさ)と数との度数分布を求めて比較すると、曲線のモードがオ冷、急冷、空冷の順に直径の大きい方に移動していることが解る。即ちオ冷では氷の結晶が非常に小さく最大径は約75 μ で、急冷、空冷と順次最大径は150 μ , 200 μ 程度に増加している(Fig. 1)。尚 Plate I の写真で分る様に氷の結晶は筋繊維と筋繊維との間(但しオ冷の場合は後述する様に筋繊維の中に出てくる場合もある)、又は筋繊維と筋膜との間に生じ、其為に筋繊維の横断面は鮮魚に見られる魚類特有の多角形(平井, 1943)が崩れ、収縮或は歪形になつて居る。更に、筋繊維間の結合組織は多く破壊、収縮して間隙を生じて居る。

3) 普通切片作製法による解凍後の組織所見

凍結魚体から切出した組織片を直ちに固定液中に投入し、固定液中で解凍しながら固定した。使用した固定液は Bouin 氏液, 10% Formalin 液, Gilson 氏液である。固定後7 μ の Paraffin 切片として、Haematoxylin-eosin 二重染色を施した。又縦断面切片の一部には無染色の儘、5% 隣モリブデン酸で処理したものを位相差顕微鏡(BM)で検鏡した。之等の組織標本によれば Plate II, Fig. 7 ~ 12 に示す様に空冷の魚肉組織が他の二者に比較して非常に筋繊維の配列状態が不整になつて居る事が分かる。そして筋繊維は鮮魚の肉組織の様な整然とした密な配列をしないで、可なり欠損を蒙つて居るのが見られた。筋繊維間の結合組織も多く破壊され微細になつて居る。オ冷のものは急冷のものより筋繊維が密に配列して居り、又筋繊維は可なり完全な形を保つて居る。尚オ冷のものは筋肉自体非常に収縮した状態を呈して居た。更に位相差顕微鏡によれば、空冷、急冷のものは筋原繊維が非常に不明瞭にしか観察されず、然も筋原繊維束の配列が不規則になつて居る。然るにオ冷のものは、鮮魚の場合と比較して少々不明瞭であり、筋原繊維束の配列も乱れてはいるが前記二者よりは筋原繊維が明瞭に観察される(Plate II, Fig. 7 ~ 8)。又染色標本では組織中に残存する "drip" が eosin によく染ることが判明し、その染色程度から推察して "drip" の量はオ冷、急冷、空冷の順に多くなり、オ冷では氷の抜け跡には殆ど "drip" が保たれて居るが、空冷では組織中に残存する "drip" は少く、染色標

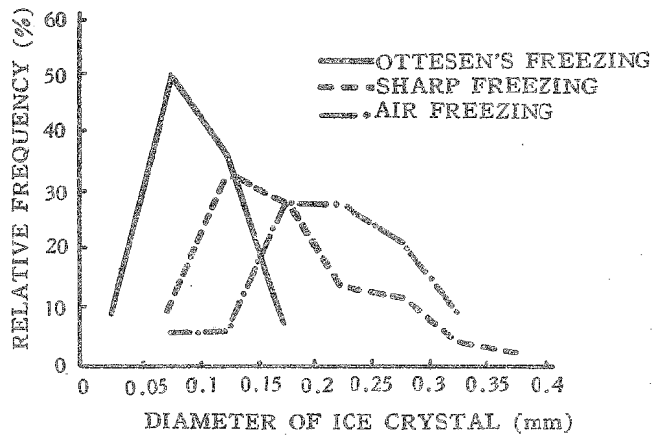


Fig. 1. Relation between size and number of ice crystals. Ordinate shows relative frequency of ice crystals produced in definite area.

本でも極めて薄く eosin に染る程度である。尙上記の組織所見はすべて筋繊維の横断面についての観察であるが、筋繊維の縦断面の観察では、オ冷では他二者と比較して横紋は明瞭に認められ、空冷のものはオ冷、急冷のものと比較して筋繊維の破壊が著しい、即ち筋衣が破れて筋形質の細胞外への流出の甚しいのが見られる (Plate II, Fig.10~12)。

考 察

冷凍の最適方法を単に冷凍魚肉の組織像のみから決定することは勿論不可能で、冷凍魚肉の化学的成分特に呈味成分の変化、外觀による商品的価値、冷凍の物理工学的関係及び経済的事項等を考慮することが必要である。然し組織像は最も確実に表われる所見で、最近欧米では之を冷凍の最適温度、期間等の判定上の実務に応用、普及を計つている¹³⁾ ので、著者等は冷凍方法の相違による魚肉の差異を組織的に明らかにして見た。外国で研究された冷凍組織は鳥獣肉に関するものが魚肉に関するものより大多数であるが、オ冷で冷凍した魚肉組織に関する報告は未だ見当たらない様である。妹尾 (1952) は凍結鯨肉について急冷及び緩慢凍結肉を比較し横紋の存否より推察して、鮮度は前者が優位であるが、呈味成分の損失を来す "dripping" は後者が少いことを確認している。尙同氏は組織標本の検討に、筋繊維の整、不整、横紋の存否細胞核及び筋衣の正常又は崩壊を観察しているが、著者等は之等に凍結組織中の氷結晶の変化をも考察に加えた。

先に述べた様に、オ冷の魚肉では氷の結晶が小さく、数が多いが、之は同法では直接魚体を Brine に浸漬すること、及び Brine の濃度が各温度に対して常に食塩水の状態図における凍結曲線上にあることからして、魚体内水分の凍結するに要する時間が非常に短く、従つて魚体の冷却曲線が所謂最大結氷生成帯を短時間に通過する為によるものであらうと思う。そして氷結晶の大きさが 75μ と云う極めて小さいことから、それだけ他より組織を破壊することは少いと思われる。氷の結晶の大きさ測定に著者等は解凍組織中に生じた空孔を用いたが、切片をスライド・ガラスに貼付してから解凍した為、組織の膨潤は少いと思う。従つて氷の抜け跡である孔をもつて氷結晶の大きさを推定したが、此等の測定結果は実験 1 の観察結果を一層明瞭にしている。氷結晶の大きさが ZAROTSCHENZEFF の報告の値と異つているが、之は魚種の相違、或は貯蔵日数等の相違に基因しているものと思う。尙魚体内水分量が一定の為、氷の結晶が大きくなればそれだけ数が減少するのは当然である。又貯蔵日数の増加と共に小さい結晶は互いに融合して次第に大きい結晶に移行し (奥野・1934)、約一ヶ月で結晶形は最大となる (ZAROTSCHENZEFF, 1930) ことから考へて、本実験材料はすべて貯蔵日数が約 40 日に略々一定しているので、結晶形の大小は貯蔵日数の長短によるものではなくして、冷凍方法の差異に基くものであり、更にそれらの大きさは夫々の冷凍方法における結晶の最大形と考へる。

実験 3 は Paraffin 法によつた為、切片作製上当然組織の収縮が起るが鮮魚の組織標本も作り、それと比較し乍ら相対的差異によつて検討した。空冷によつた肉組織では、筋繊維の配列が非常に粗雑になり、筋鞘が押しつぶされているが、此事は比較的大きな氷の結晶によつて機械的衝撃を受けた為組織が非常な損傷を蒙つたものと思われる。又筋原繊維束の配列が鮮魚に比較して非常に不明瞭になつているが、之は筋繊維の縦断面の観察でも明らかな様に筋繊維間に生成した氷結晶によつて筋鞘が破れ、筋形質の流動出が起つたのであると推察される。尙オ冷は他の二者より筋繊維の横断面では筋原繊維束が、縦断面では横紋が非常に明瞭に観察され、又筋鞘が破壊され筋漿の流動出して横紋の消失した繊維が少いと云う事實は、此冷凍方

法のもの鮮度がより優位にある事を示すと考えられる。

"drip" に関する染色結果はオ冷では、大部分の氷が筋繊維中に出来る為と、筋肉の非常な収縮の為に dripping として魚体外に出る呈味成分が組織中によく保たれることを示すと思われる。この呈味成分の消失の少量であることは、筋肉の非常な収縮が寧ろ舌の触感をよくすること* と相俟つて食感を一層増大するであろうと思われる。

以上の様に肉の組織的観察からではオ冷のものが最も鮮度が優位にあつて、急冷及び空冷では妹尾の鯨肉に関する報告と稍々異り、氷結晶の大小以外は組織学的には余り相違は見られなかつた。然もオ冷では魚体表面や鰓が薄黒くなつて、恰も鮮度が低下した様に見える商品の価値を落とすと云われているから、此の点については将来改良されねばならないと思う。尙本実験ではオ冷の温度が他二者のそれより高いから比較検討に十分な材料とは云えないが、オ冷のものが温度が高いにも拘らず良好な組織所見を示しているの、以上述べた組織的差異は明らかに理解される。

最近河端 (1953) はまぐろ筋肉の腐敗時に於ける組織学的研究で、筋繊維中の正常繊維の減少率を算出して、それが揮発性塩基の増加と平行しているのを見出している。従つて冷凍組織においても此の様に化学的变化を伴う組織的变化を定量化する試みがなされる事を将来の研究に期待するものである。

結 論

冷凍魚肉の組織的所見だけから判定すればオ冷のものが最も鮮度が優位にある。急冷及び空冷のものは略々同様の所見を示すが、前者が稍々鮮度が優つている様である。

摘 要

1. オ冷、急冷、空冷で夫々冷凍された黄鯛の筋肉組織の比較検討を行つた。
2. 凍結組織中に生成する氷結晶の大きさは上記冷凍法の順に大きくなり、其数は逆に少くなる。此事は氷結晶の大きさに関する度数分布図でよく理解される。
3. 氷結晶は一般に筋繊維間及び筋繊維と筋膜との間に生じ、オ冷にあつては筋繊維中にも生成される。
4. 筋繊維の横断面において、オ冷肉にあつては他二者の冷凍肉より筋原繊維束の配列が乱れて居らず、且つ明瞭に観察される。
5. 筋繊維の縦断面組織において、オ冷肉は他二者の冷凍肉より横紋が明瞭に観察され、又氷結晶による筋衣の破壊、筋漿の流動出が少く、空冷と急冷の肉組織は近似している。
6. 之等の実験結果からオ冷は他より鮮度が優位に保たれると思われる。

参 考 文 献

- 1) 平井達二：1943. 魚類の背側軀幹筋の比較組織学的研究，解剖誌，21 (2)，100～104.
- 2) 加藤舜郎：1943. 冷凍食品，上巻，生活社，東京.
- 3) 河端俊治：1953. 魚肉の組織学及び組織化学的研究，I，びんなが鯨肉腐敗時の組織学的変化，日水誌，19 (7)，813～818.
- 4) 奥野 博：1935. 冷凍魚肉内に生ずる氷の結晶に就いて（予報I），日水誌，4 (4)，295～260.

* 清水 亘，水産製造化学講述による。

- 5) 奥野 博：1937. 冷凍魚肉内に生ずる氷の結晶に就いて（予報 II），日水誌，**5**（6），382～384.
- 6) PLANK, R., E. EHRENBAUM und R. REUTER：1916. Die Konservierung von Fischen durch das Gefrierfahren.
- 7) 妹尾秀実・長峰わか：1933. 冷凍魚肉の組織学的研究，日本冷凍協会誌，**8**（96），802～810.
- 8) ————：1943. 冷凍鯨肉の組織学的研究，冷凍，**18**（216），447～454.
- 9) ————：1949. 南氷洋産冷凍鯨肉の組織学的研究（其の一），南氷洋産冷凍鯨肉に関する研究報告（1948～1949），57～60，冷凍魚介類価格査定委員会発行.
- 10) ————：1950. 南氷洋産冷凍鯨肉の組織学的研究（其の二），急速凍結及び緩慢凍結筋肉の比較. 同上報告，（1949～1950），86～90.
- 11) ————：1951. 南氷洋産冷凍鯨肉の組織学的研究（其の四），種々の解冻方法による凍結筋肉の比較，同上報告（1951～1952年度），257～264.
- 12) ————：1952. 南氷洋産冷凍鯨肉の組織学的研究（其の五），同上報告，（1950～1951年度），60～65，水産庁発行.
- 13) ————・小口真知子・平切礼子：1952. 冷凍びんながまぐろの筋肉の組織学的研究，輸出冷凍水産物検査協会発行.
- 14) ZAROTSCHENZEFF, M .T. : 1930. Between Two Oceans, Rapid Chilling and Freezing Systems for Fish and Meat. London.

Plate I.

Fig. 1.

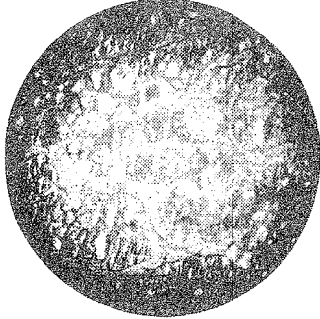


Fig. 4.

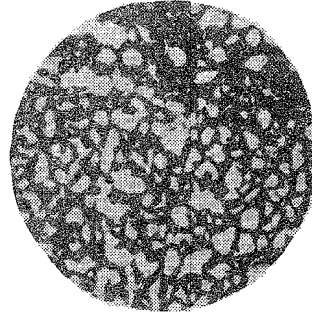


Fig. 2.



Fig. 5.



Fig. 3.

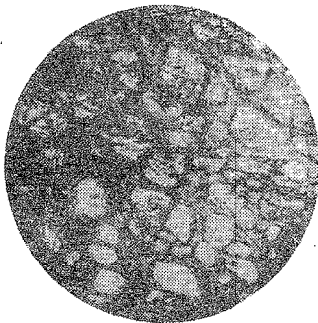


Fig. 6.



Explanation of plate

- Fig. 1. Showing ice crystals produced in frozen muscle tissue of the snapper, refrigerated by Ottesen's freezing method. $\times 150$.
- Fig. 2. Ibid., refrigerated by sharp freezing method. $\times 150$.
- Fig. 3. Ibid., refrigerated by air freezing method. $\times 150$.
- Fig. 4. Showing empty cavities produced by thawing of the ice crystals of frozen tissue, refrigerated by Ottesen's method. $\times 200$.
- Fig. 5. Ibid., refrigerated by sharp freezing method. $\times 200$.
- Fig. 6. Ibid., refrigerated by air freezing method. $\times 200$.

Plate II.

Fig. 7.

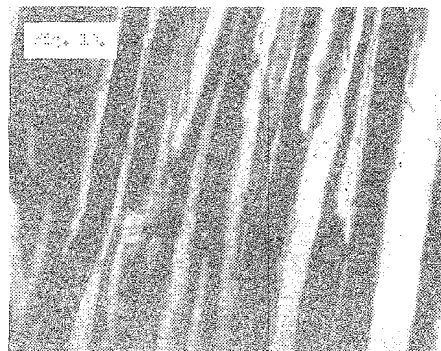


Fig. 10.

Fig. 8.



Fig. 11.

Fig. 9.

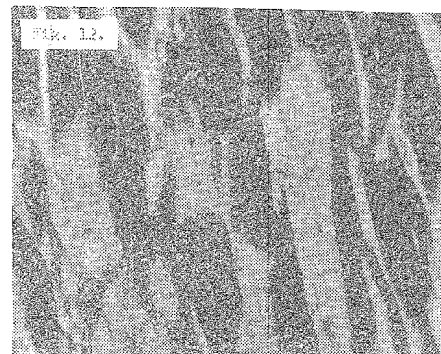


Fig. 12.

Explanation of plate

- Fig. 7. Showing transverse section of muscle fiber of fresh fish. $\times 600$.
 Fig. 8. Showing transverse section of muscle fiber of the fish, refrigerated by Ottesen's freezing method. $\times 600$.
 Fig. 9. Ibid., refrigerated by air freezing method. $\times 600$.
 Fig. 10. Showing longitudinal section of muscle fiber of the fish, refrigerated by Ottesen's freezing method. $\times 300$.
 Fig. 11. Ibid., refrigerated by sharp freezing method. $\times 300$.
 Fig. 12. Ibid., refrigerated by air freezing method. $\times 300$.