魚肉の組織學的及組織化學的研究—I.

ビンナガ鮪肉腐敗時の組織學的变化

(鮪肉に関する研究—II)

河 端 俊 治

(国立予防衛生研究所)

Histological and Histochemical Studies on Fish Muscle—I

Histological Changes in the Muscle Fibers of Albacore

(Studies on Tunny Meat—II)

Toshiharu KAWABATA

1. In the present paper, histological and biochemical studies have been undertaken to know the characteristics of albacore muscle (*Germo alalunga* (G.)) and to find out various changes in the muscle while being putrefied.

2. While being putrefied, disintegration (degenerative change) of the muscle fibers, namely, the disappearance of cross striations and the formation of granular-like and amorphous waxy substances, has been observed. Highly negative correlation was observed between the increase of volatile basic nitrogen and the decrease in the number of unchanged muscle fibers. This seemed to be related to the dull or opaque appearance of the meat.

3. Marked changes were observed in the muscular nuclei while being putrefied. On the surface layer of the muscle examined, accute break down of nuclei—so-called pycnosis, karyorrhexis and karyolysis—has appeared after a short period of 10 hours, on the other hand in the inner layer of the muscle, the change was somewhat varied, namely, the karyorrhexis and karyolysis were not detectable before the onset of spoilage.

4. With the progress of putrefaction, the disintegration of cross striae was increased, the sarcolemma was broken and some granular material oozed out from the break. At this stage of putrefaction, the nuclei were no more detectable.

ま え が き

ビンナガ鮪の肉はカツヲやキハダに比し甚だ脆弱で取扱が悪かつたり、鮮度が低下すると蒸煮後に所謂ハニカムやハニカム状のものが出来易いと謂われる。従来より、魚肉については、化学的、細菌学的、物理学的等各方面より研究が行われて来たが、筋肉の死後変化は決して、試験管内で行われる様な単純なものであるとは思はれない。特に筋肉を構成している細胞に立脚した生体組織の変化を無視しては理解出来ないことが多い。筆者はかゝる観点より、鮪肉の変質変敗について組織學的、組織化學的研究を行つてゐるが、今回はビンナガ鮪肉の特質、就中、死後変化について研究中組織學的及生化學的变化との關係について得た知見を報告する。

実験方法

1. 試料 清水港に水揚げされた比較的鮮度良好なビンナガ鮪（所謂夏マダロ）を用い、背部の筋肉（雄節）の体表に近い部分）こゝより採取した肉を A 群とした）及び体の中心部に近い部分（B 群と称する）より、約 3 cm²、長さ 20 cm の肉塊をとり、更に各々を約 4 cm 位に切断し、その二群を別々の大型シャーレの中に入れ、室温に放置（27～30°C）、一定時間毎にその中より各々一片ずつ採取し、その表面及び中心部より約 1 cm²、厚さ 5 mm の肉片を切り取り、組織標本用の固定を行つた。残余の肉を乳鉢で磨砕した肉 5 g 宛正副 1 対を採取、蒸留水で浸出 3 塩素醋酸にて除蛋白濾液を作成し分析に供した。

2. 測定

1) 放置条件は室温（盛夏快晴で 27～30°C）で、時間は 0, 6, 10, 24, 31 時間とした。
 2) pH は現地で試料の 5 倍水浸出液を作成し、キンヒドロソ電極（島津 3P 型）を用いて測定。
 3) 揮発性塩基は、上記の TCA 濾液について、食品衛生検査指針公定法¹⁾に従つて測定した。
 4) 組織標本の固定は生肉に核染色用には純アルコール固定を行い、蒸煮肉ではホルマリン固定を行つた。尚切片は脱水後常法の如く、Paraffin 包埋法により作成した。一般組織の染色は Haematoxylin-Eosin で、核染色は Unna-Pappenheim の Pyronin-methylgreen 染色及 Feulgen 反応（Feulgen-亜硫酸反応）を用いた。その他細菌の染色には Gram 染色等出来る丈多くの染色法を併用した。又筋セニイ中に見られた各種の変化を定量化する試みとして、細菌数測定法における直接鏡検法に準じ一定倍率（×200）の視野中に見られる筋セニイについて、正常なもの及び各段階の変化を示したものとに分けて、夫々のセニイ数を測定し、之を数十視野について反復して、大体 300～500 本に当るセニイについて、以下示す程度に分けて割合を算出した。その変化の段階は次の 4 種類即ち、

- I 軽度変化（筋原セニイ残存、Plate 3 参照）
- II 横紋消失
- III 顆粒形成（Plate 4 参照）
- IV 蠟様変化（Plate 5 参照）に分つている。

実験結果及考察

以上の結果は第 1 表中に示す通りである。但し変化の数値は内部肉についての結果のみについてである。腐敗に伴う形態学的変化は次の如くなる。

1. 新鮮時（0 時間）では Plate 1 に示した様に筋セニイを構成する筋原セニイ（Myofibril）は互に平行に走り、横紋も明暗二層が明瞭に認められ筋鞘（Sarcolemma）は筋原セニイを包んで変化はない。核はビンナガ鮪では陸上動物に比し数も少く且小型である様に思はれたが、大体紡錘型又は卵型で、その長軸は筋セニイの長軸と平行し、筋鞘の直ぐ下に見える。但し、横断面ではコーンハイム氏野（Cohnheim's Field）は他の動物肉程はつきり見えない。

2. 一般に鮮度が低下すると肉の透明感なり光沢が悪くなる、之を組織標本では更に明かに見られる。即ち死直後の筋セニイの変化は、先づ横紋の不明瞭化より始る。（Plate 2 参照）之は肉質の悪変によるのではなく、死後強直（Rigor mortis）時の収縮によるものである。横紋の単屈折部（Isotrope）は伸縮性に富み、之が死後 ATP の分解により持続的な収縮を起し、全体が暗く見えるためである。更に筋肉中で自家消化等の死後変化が進むと再び明るく見えて来る。（硬直融解 Resolution of Rigor）今回の試料では入手時既に硬直融解期に入っていた。之より自家消化又は腐敗が進めば筋セニイを構成する原形質蛋白の変化が起る。之は病理学で用いる蛋白様変性に当るが、こゝで云う変性（Degeneration）は元来生体内で起る病変についての言葉で、所謂蛋白質の変性（Denaturation）とは全く意味が異なる。自家消化や腐敗等の組織像を眺める

Table 1. Histological and biochemical changes observed in the albacore muscle while being putrefied.

Period of storage			0 hr.	2 hrs.	10 hrs.	24 hrs.	31 hrs.	
Storage temperature			26°C	28.5°C	27.5°C	27.5°C	30°C	
A	Sensory & chemical changes	Odour	Normal	Normal	Slightly stale	Stale	Putrid	
		Appearance & texture	Normal	Normal	Slightly sticky	Sticky & softened	Sticky softened & dull colour	
		pH	6.01	5.89	6.10	6.17	6.31	
		Volatile basic N	27.0	27.5	31.2	35.1	48.6	
	Histological changes	Change in nuclei	None	None		Karyorrhexis & karyolysis	Karyolysis	
		Disintegration of muscle fibers	Unchanged fibers	96% (436)	86% (370)		80% (370)	43% (142)
			I	1% (6)	8% (33)		—	2% (6)
			II	2% (9)	5% (20)		10% (45)	7% (23)
			III	1% (3)	2% (8)		1% (3)	10% (46)
			IV	—	—		10% (46)	43% (140)
			Total fibers counted	(454)	(431)		(464)	(328)
	Sensory & chemical changes	Odour	Normal	Normal	Slightly stale	Stale	Putrid	
		Appearance & texture	Normal	Normal	Slightly sticky	Sticky & softened	Sticky, softened & dull colour	
		pH	6.03	5.84	6.09	6.17	6.31	
		Volatile basic N	26.8	26.7	30.5	35.9	48.3	
B	Histological changes	Change in nuclei	None	None	Pycnosis & karyorrhexis	Karyorrhexis & karyolysis	Karyolysis	
		Disintegration of muscle fibers	Unchanged fibers	94% (408)	92% (383)	88% (282)	80% (356)	47% (213)
			I	—	2% (9)	6% (20)	2% (8)	—
			II	2% (9)	5% (20)	3% (11)	7% (31)	1% (5)
			III	4% (17)	1% (2)	3% (8)	8% (34)	2% (8)
			IV	—	(1)	—	3% (15)	50% (226)
			Total fibers counted	(434)	(415)	(321)	(444)	(452)

Note: I ; slight change II ; disappearance of cross striae III ; granular change (granular or hyaline degeneration-like) IV ; waxy change (waxy degeneration-like)

と、生体内の病変中壊死 (Necrosis) — 局所的な死滅現象 — と極めて良く似た現象が見受けられ、その原因も全く無関係とも思われないので、こゝでは便宜上筋センイや核等の死後変化についても、病理学上の用語を用いることにした。更に分解が進めば横紋は再び不鮮明になり、筋原センイの染り方も次第に悪くなる (横紋消失, Disappearance of cross striae) そして筋センイ全体は暗色の無構造に近い組織像を示すようになる。以上が大体 10 時間目位の変化で、表面近くでは筋センイは顆粒形成 (Granular or Hyalin Degeneration, Plate 5 参照) 及 蠟質化 (Waxy degeneration, Plate 5 参照) が著しくなり、細菌数の増加が認められ一部の筋鞘の破壊も見られる。然し円部では未だ細菌の侵入は始まらず殆ど顕著な変化は起つていない。

3. 24 時間目になると漸く腐臭が感ぜれるようになり、所謂初期腐敗の段階に達する。こゝで pH 揮発性塩基の飛躍的増加の始まることは周知のことであるが、この時期では表層の細胞核の崩壊が著しくなり、核崩壊 (Karyorrhexis), 核消失 (Karyolysis) が盛に行われ、細胞質の顆粒化及蠟質化の変化が著しくなり次第に筋鞘が溶解されて行く。内部もこの頃漸く蠟質化が始まり、核濃縮 (Pycnosis) 核崩壊が見られるようになるが、横紋は未だ残存している。

4. 30 時間を過ぎると、揮発性塩基の増加、pH の上昇も顕著で本格的な腐敗の様相を示す様になる。こゝでは表層のセンイや核の崩壊が著しく染色されにくくなり、形態も亦不明瞭になる。好塩基性及好酸性色素に染まりにくくなることは、塩基性及酸性蛋白の分解が次第に進みつつあることが考えられる。之に対し、内部ではそれ程分解が進んでないが、正常細胞の減少は漸く目立ち、筋センイの蠟質化等も著しくなると共に一部の筋鞘の崩壊も始まる。この頃になると内部にも細菌が侵入する様子も判る様になる。核の変化では核崩壊及消滅が始まる。

5. 更に腐敗が進めば上記変化の程度は進行し、核は全く消滅し、筋センイの融解が盛になり肉質は軟化して、全く無構造化されるに至るものと考えられる。(Plate 6 参照)

6. 第 1 表の結果を図示すると第 1 図の如くなる。即ち供試肉の鮮度低下に伴う揮発性塩基の増加と、

Fig. 1 Relation between the histological and biochemical changes observed in the albacore muscle while being putrefied.

Plate 1

Plate 2

Plate 3

Plate 4

Plate 5

Plate 6

KAWABATA: Histological and Histochemical Studies on Fish Muscle (I)

- Plate 1 Normal (unchanged) muscle fibers
- Plate 2 Contracted muscle fibers (in rigor mortis)
- Plate 3 Slight change (onset of the disappearance of cross striae)
- Plate 4 Granular change (granular or hyaline degeneration-like)
- Plate 5 Waxy change (waxy degeneration-like)
- Plate 6 Progressed stage of disintegration (the sarcolemma was broken and some granular material oozed out from the break)

円部内の変化中正常な筋センイの減少率の関係を求めると、A 群では $r = -0.98$ B 群では $r = -1.0$ であり、A でも 2%以内の危険率と云う高度の負の相関が成立することが判つた。又細胞質の蠟様変化は今回の実験では主として腐敗初期以降に急激に増加するらしく思はれた。従つて腐敗の際の揮発性塩基の増加は筋肉の構成細胞たる筋センイの崩壊の割合と密接な関係があることを示すもので、この様な事実は腐敗の研究における組織学的方法の興味あり且重要であることを示唆するものと云えよう。

む す び

1. ビンナガ鮪肉の特性と、腐敗に伴う変化を知るために組織学的研究を行い、同時に生化学的变化との関係をも調べた。
2. 腐敗に伴う筋センイの崩壊の速度は（今回のデータでは表面下 1 cm の内部肉の正常センイの減少の割合にて示した）は揮発性塩基の増加に一致した。又之を対応して筋センイの変化中蠟様変化（Waxy Degeneration に当る）は初期腐敗の段階以降急激な増加を見せた。他の横紋消失、筋原センイ消失は余り定量的な変化を示さなかつたが、正常筋センイの減少割合が魚肉鮮度低下速度に一致することは興味がある。尙之は肉質の光沢及透明感が失はれることに密接な関係がある様に思われた。
3. 腐敗に伴う核の変化は極めて著明に行われる。之等の詳細殊に核酸の変化については別に報告する予定であるが、肉の外層部は直接細菌の作用を受けて一層速かな分解、即ち核濃縮、核崩壊、核消失が認められる。（10 時間後）然るに内部では 24 時間以降所謂初期腐敗に達する頃漸く、核崩壊、核消失が起る。
4. 更に腐敗が進行するにつれ、筋センイの崩壊が進み筋鞘の溶解が甚しくなり、内部は融解流出するに至る。かゝる段階に至れば、最早や核の存在は全く認められなくなる。
5. 既に発表された市川氏²⁾³⁾等の馬肉での研究成績に較べると、ビンナガ鮪肉は肉組織が脆弱で且腐敗し易いことは否定出来ない。即ち氏等は腐敗に当り先づ核が消失し、可成り分解が進んでから Cohnheim 氏野が不鮮明となり、更に筋原センイ消失、横紋不明となると述べられている。他の魚種との比較は引続き行つてゐるが、こゝに記載したビンナガ鮪は之等の中最も弱い肉質の 1 例とも考えられるが、少く共、魚肉が獣肉に較べ、腐敗し易いと云われる一面を裏付ける事実として興味がある。

尙本研究に御指導を賜つた遠山祐三博士並に組織標本作成並に御援助を頂き、各種の御教示を得た、当研究所病理部江頭部長、顕微鏡写真撮影に当られた伝染病研究所野田技師に謝意を表わすと共に、材料採取に絶大な便宜を与えられた清水食品株式会社並に同研究室員各位に厚く感謝する次第である。

文 献

- 1) “食品衛生検査指針”（改訂増補版）1952 年版
- 2) 市川 収：第 6 回厚生科学研究会講演（1949）；食品衛生 1, 105（1949）。
- 3) 市川 収外：第 12 回衛生獣医集談会講演