



Title	生物の凍結過程の分析 : I. 植物組織の凍結曲線の型と凍結様式との関係
Author(s)	青木, 廉; AOKI, Kiyoshi
Citation	低温科学, 3, 219-227
Issue Date	1950-12-15
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17436
Type	departmental bulletin paper
File Information	3_p219-227.pdf



生物の凍結過程の分析

I. 植物組織の凍結曲線の型と凍結様式との関係*

青 木 廉

(低温科学研究所 生物學部門)

〔昭和 22 年 1 月受理〕

I

一般に細胞は一旦凍結すると殆んど死んで了ふ。然したとへ温度が細胞の氷點以下に下つても細胞が過冷却の状態に止まつてゐるならば、再び温度の上昇するにつれて一時停止してゐた生命活動が又活潑になると云ふ例はかなり多い。一見簡単にみえる此の事實は案外に複雑で、多數の困難な問題を藏してゐるものである。細胞が凍結すると如何にして死ぬものであるか、其の機作に就いても現在未だ確定的な解釋は下されてゐない。又植物の或種類では寒氣に曝され凍結して外觀半透明になつても融けると再び元の状態に復歸する事實もよく知られてゐる。此の問題に關しても不明の點が澤山残されてゐる。此等の問題の究明には多方面よりの研究の必要なことは云ふ迄もない。此等の内、最も直截的なものの一つは細胞及び組織の凍結過程の分析である。凍結過程が充分明かになれば、そこに此等の問題の解決に一つの有力な鍵が與へられることは云ふ迄もない。又他面生食品の冷凍の基礎的問題としてみても生組織の凍結過程の分析が非常に重要であることは疑ひの餘地のない處である。

既に凍結過程の分析は色々の面から試みられてゐる。例へば凍結曲線から、組織の氷點、組織の凍結完了迄に要する時間、組織内に生じた氷の相對量の判定等がなされてゐるし、又細胞凍結の顯微鏡下での觀察は Molisch の實驗以來、多くの植物細胞に就いて行はれ、凍結中又は融解後の細胞に就いて或程度知見が得られてはゐる。然し凍結條件及び其の時の細胞の條件と細胞の凍結様式との間、及び組織の凍結様式と凍結曲線の型との間に於ける具體的の關係に關しては我々は殆んど知る處がない現状である。

そもそも組織の凍結曲線と云ふものは各細胞の凍結に伴ふ温度變化の綜合的現はれであると云へよう。従つて組織の凍結曲線の型と組織の凍結様式との間には密接な關係が存在する筈である。凍結曲線を問題にする場合には先づ此の關係が具體的に明かにされねばならぬ。然し 1940 年迄の文獻中には此の關係に就いて論じた報告はないやうである。又植物の凍結曲線には

* 北海道大學低温科学研究所業績 第 47 號。本研究の費用は文部省科學研究費並びに服部報公會の援助によるものである。

氷点と見做される部が二重になつてよく現はれる (Maximow '17, Luyet '37, 青木 1946...). 此の内第二氷点と云ふ部分は生組織本態の凍結を示すものであり、第一氷点はむしろ人為的のものともみべきである (青木 1946a). 凍結曲線の型の意義に就いては第一氷点なるものの本態が明かにされぬ以上委しく論ずることは出来ない。故に本報告では凍結曲線の型と組織の凍結様式との間に平行関係が具体的に存することを述べるに止め、凍結曲線の型自身に關する委しいことは別報に於いて論ずることにしたい。尙此の實驗と平行的に凍結曲線をとつた同一個體よりの小切片に就いて其の凍結過程を顯微鏡下で觀察した。其の結果は第二報として朝比奈の報告に委しく述べてある (本誌 227 頁)。

II

實驗は普通の蔬菜^{*} 10 種類に就いて行はれた。シロウリ、キウリ、トマト、ナスの果實の中果皮、キャベツの葉の中肋、ニンジン、ビート、ダイコン、ムラサキカブ及びキクイモの根身の皮層部で大體柔組織を主とした部分である。此等の部分から角柱状の小片 (5×5×14mm) を作り、それに就いて溫度變化を測定した。使用した個體は大體若いものであるが、シロウリとムラサキカブでは老個體をも使用した。冷却装置及び溫度測定法は前報 (青木廉) と同様である。唯此の實驗に用ひた熱電對 (銅—コンスタンタン) は前報に使用したものよりもやゝ細^{**}い。冷却溫度は -10°C 、冷却速度 (0°C を中心にして算出) は $2.1\sim 2.8^{\circ}\text{C}$ である。^{***} かなりの振れであるが、冷却速度の此の程度の差は本實驗の凍結曲線の型の上にはさして影響を與へなかつた。

III

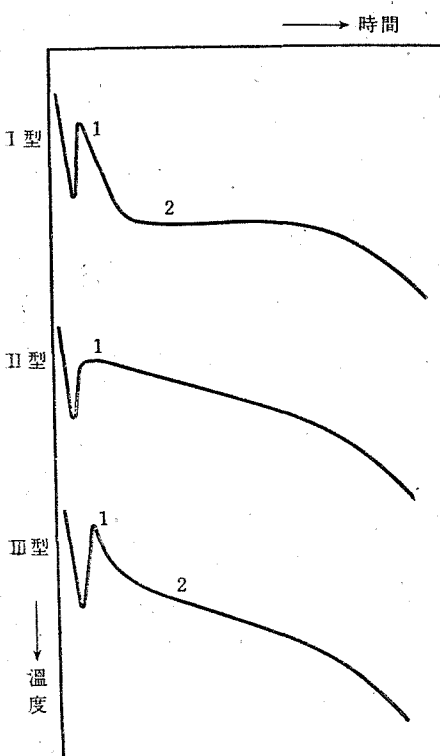
植物生組織の凍結曲線には氷点とみるべき部分が二つ現はれて來る場合がよくある (Maximow '17, Zacharowa '26, Walter & Weismann '35, Luyet '37, 青木 '46)。此の氷点の二重性は固定されてゐるものではなく、いつも明瞭に出る種類と不明瞭の種類、又同一種類でも個體により出たり出なかつたりする場合もある。然し今迄の報告には材料及び冷却條件の明瞭な記載のないものが多いため、此等報告中の曲線の型を比較して論ずることは出来ない。前述の様に凍結曲線は組織の凍結に伴ふ溫度變化の綜合的現はれの一つである。従つて曲線の型は測定時の組織自身の内部条件と、組織小片の型、大きさ、冷却溫度、及び冷却速度等によつて

* 材料は實驗當日の朝、畑より採取したものであるが、採取から實驗開始迄の時間は等しくはない。大體 2 時間から 6~7 時間迄の間である。

** 使用した銅線、コンスタンタン線は SW 35 番線である。

*** 使用組織片の大きさと冷却溫度を等しくしても、冷却速度の一定にならぬのは、種類の異なるにつれて含水量、組織の組成等が等しくないことによるものであらう。

て左右されることは云ふ迄もない。故に曲線の型を比較する場合には外部条件（凍結条件）を一定にすることが是非必要である。此等の點に出來得る限りの注意を拂つたが、用ひた蔬菜の種類により二つの氷點の現はれ方、即ち凍結曲線の型はかなり異なつたものであつた。凍結条件を一定にしても尙此の差異の存在すると云ふことは、組織の凍結様式が等しくないことを暗示するものである。然し得られた曲線を比較してみるとその間には幾分かづつ共通點が認められる。今 10 種類に就いて得られた曲線を第一、第二氷點の現はれ方を基準としてみると、大別して三つの型に分類される（第 1 圖参照）。



第 1 圖 凍結曲線の基本型

1……第一氷點；2……第二氷點

第二氷點に相當する部分は水平部とはならず、緩かな山型となつて一時かへつて上昇してゐる。第 II 型の凍結曲線を示すものはキュウリ及びシロウリで共に未熟のものである。實驗に使用した他の蔬菜、トマト、ナス、ニンジン、ビート、キャベツ、ダイコン及び若いムラサキカブの凍結曲線は第 III 型に入るものである。此等の第 III 型に屬するものの凍結曲線を比較してみると第一氷點からの傾斜度に種々の段階が認められ、キャベツ、ビートの様に第 I 型に近い型を示してゐるものから、第二氷點部に相當する處の非常に不明瞭なナスの如きものに至るまで色々の程度の間中型が存在する。

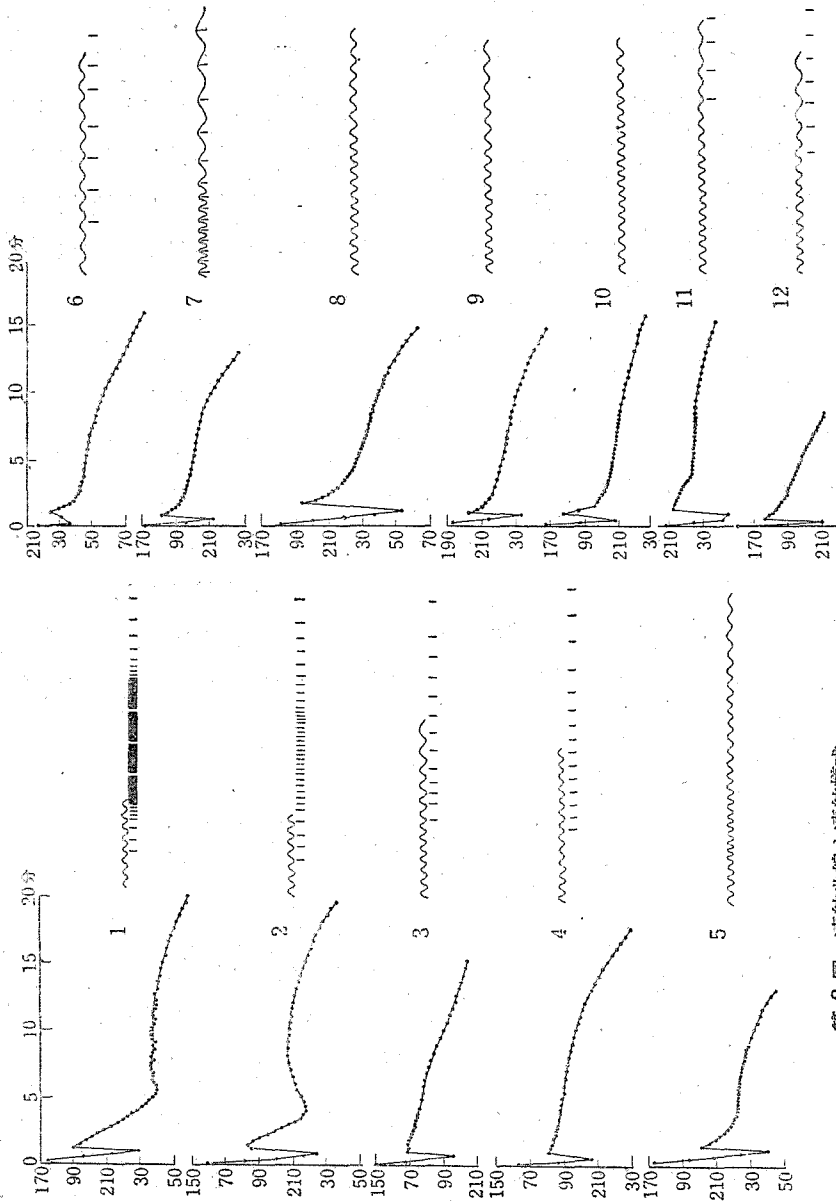
第 I 型： 第一、第二氷點共に明瞭で、第二氷點部の持續時間は長く、明瞭な水平部を呈してゐる。第一氷點出現後、曲線は略直線的に下降し、かなり急激に水平部に移行する。

第 II 型： 第二氷點部に相當する部分は全く現はれず、山一つの單一な曲線である。

第 III 型： 第一氷點が現はれた後、曲線はかなり急角度に下降し始めて間もなく傾斜は次第に緩かになつて大體そのまま下降して行く。従つて第二氷點部の判定は困難になつてゐる。

此の第 II 型は丁度第 I 型の對蹠をなすもので、丁度馬鈴薯塊莖の完全初凍結後の再凍結曲線（青木'49）、又はやゝ濃い鹽溶液等の凍結曲線に非常によく似た型である。尙第 III 型は丁度第 I、第 II 型の間中型と云ふべきものである。實驗した各種類の凍結曲線を一例づつ第 2 圖に纏めてある。

第 I 型に屬するものは過熟シロウリと老ムラサキカブのものである。此の内ムラサキカブでは第



第 2 圖 凍結曲線と凍結様式

縦軸は温度 (検流計の読み, 150 が 0°C に當る); 横軸は時間. 冷却速度は -10°C , 冷却速度は $2.1\sim 2.8^{\circ}\text{C}/\text{分}$. 各點は 15 秒又は 30 秒置きの觀測値. \sim は非フラッシュ型凍結を, --- はフラッシュ型凍結を示し, 各記號の組密は凍結細胞の相對的頻度を表はす. 第 I 型: 1...シロウリ(老), 2...ムラサキカブ(老). 第 II 型: 3...キウリ, 4...シロウリ(若). 第 III 型: 5...ダイコン, 6...ピート, 7...ナス, 8...ムラサキカブ(若), 9...ニンジン, 10...キキヤベツ, 11...キクイモ, 12...トマト.

* さて生細胞の凍結様式には急激なフラッシュ型と緩慢な非フラッシュ型凍結とある. 大部分の種類の種類では此等二つの型の凍結が色々の割合に混つて起るもので, 一つの凍結型のみと云ふ場合は少ない. 且組織内での凍結細胞の頻度は同じ冷却条件下でも種類によつて異なつてゐる (第 2 圖参照). 細胞のフラッシングは隣接細胞へと順を追うて擴がつて行くものではなく, 互に無關係に獨立して起るのが普通である. 此の様な型式でフラッシュ型凍結をするもの

* 委しくは朝比奈の報告 (本誌 229 頁) 参照.

は未熟シロウリ、キウリ、ビート、ニンジン、トマト、キクイモ及び老ムラサキカブである。唯一つ過熟シロウリだけは例外で特殊の型式をとる。シロウリでは先づ或細胞がフラッシュすると次々に數個の隣接細胞が連続的にフラッシングを起す。次いで、或は同時に他の場所で又一個の細胞を中心に一群の細胞が連続的にフラッシュする。即ち位置的には非連続的に小集團をなしてフラッシングが起り、此の集團内ではフラッシングは隣接細胞へと連続的に擴がつて行く。従つて全體としてみるとときにはフラッシング細胞の頻度は高く、しかも時間的に相當大きな變化を示すものと思はれる(青木 '46b)。事實シロウリの凍結曲線を見ると、丁度フラッシュ型凍結が活潑に起つてゐると推定される期間には 15 秒置きの觀測値は滑らかな曲線に乗らず不規則に上下に振れてゐる。處が老ムラサキカブも頻度の高いフラッシュ型凍結を示すものであるが、其の凍結曲線には不規則の振れは全く見られない。

非フラッシュ型の凍結は割合高温の時から始まり、いつも隣接細胞へと順々に傳播して行く。老シロウリ、過熟ムラサキカブでは明瞭ではないが、其の他の種類では非フラッシュ型凍結は相當活潑で、特にキャベツ、ダイコン及び若いムラサキカブでは専ら此の型の凍結のみである。

以上の結果を比較してみると、同じ型の凍結曲線を示す種類の凍結様式の間には一脈の共通性が認められる。即ち第 I 型に屬する過熟シロウリ及び老ムラサキカブでは始め非フラッシュ型凍結が僅か認められるが、次いで起るフラッシュ型凍結は活潑で、しかも或期間連続してゐる。つまり此の型の特徴は活潑なフラッシュ型凍結が主體をなしてゐることである。第二型の曲線を示すキウリ、未熟シロウリに於いては第一氷點に續いて活潑な非フラッシュ型凍結が起り、それに少し遅れてかなりの頻度を持つたフラッシュ型凍結が並行する。然し此の場合のフラッシングは連続してはゐない。即ち非フラッシュ型とフラッシュ型が相半ばして平行的に起つてゐる。中間型である第 III 型のものでは頻度の高い非フラッシュ型凍結が主體であり、フラッシュ型凍結は極めて低い頻度で散發的に起るか或は全く起らない。即ちフラッシュ型凍結の影響は恐らく無視出来る程度のものであらう。

尙、第 I 型を示す種類では他の種類に比較して細胞間隙の多い傾向が認められる。又實驗した範囲内では細胞の大きさと其の凍結様式との間には一貫した關係は認められなかつた。

IV

一體凍結曲線の型と云ふものは主として細胞の凍結に伴ひ遊離される潜熱の量と外圍に奪はれる熱量との差の時間的變化によつて決定されるものである。前述の實驗では、冷却條件即ち單位時間に外圍に奪はれる熱量は大體等しいと見做されるので、問題になるのは凍結により組織より遊離される潜熱の量の變化である。今同一組織内の細胞の凍結に就いて考へると、一個

の細胞の凍結に要する時間は非フラッシュ型に比べてフラッシュ型の方が非常に短い。従つて一個の細胞の凍結によつて単位時間に遊離される潜熱量はフラッシュ型の方が非フラッシュ型より大きい筈である。又一面組織小片全體として凍結により単位時間に放出される潜熱量は単位時間に凍結する細胞の數、即ち頻度に比例する。處が非フラッシュ型凍結はいつも隣接細胞へと連続的に擴がって行くが、其の頻度は連続的フラッシュ型には遙かに及ばない。従つて非フラッシュ型が連続的に起つてもフラッシュ型が連続して起る場合の方が単位時間に遊離される熱量は大分多いことになる。此の様に考へると連続フラッシュ型凍結の方が凍結曲線の型の上に強い影響を及ぼすことが豫期される。又其の時の冷却條件に従つて、凍結細胞の頻度が或値になれば遊離される潜熱量と外圍に奪はれる熱量とは等しくなつて、其の間、曲線は水平となる筈である。又頻度が更に高くなる時には遊離潜熱の方が大となり、曲線は一時かへつて上昇することになる。少くも此の實驗に用ひた冷却條件の下では外圍に奪はれる熱量に相當する熱量が放出されるのは連続フラッシュ型凍結の場合のみと考へられる。

非フラッシュ型凍結はフラッシュ型のものに比べて過冷却度の少ない時、云ひ代へればフラッシュ型のものより高い温度で起り始める。従つて非フラッシュ型凍結がいつもフラッシュ型凍結に先行するのは當然である。前述の様に細胞の凍結の型式には二通りあるが、一つの組織内で同一型の凍結様式のみが行はれることは稀で、多くの種類では兩型が色々の割合に組合はされて起つてゐる。それであるから組織の凍結に際し時々刻々に遊離される潜熱の量は此等二つの凍結型の組合せの程度及び凍結細胞の頻度によつて決定されることになる。

さて上述の様な考へから凍結曲線の型を考察してみよう。

第 I 型：非フラッシュ型凍結は其の初期に起るが不明瞭で且不活潑である。直ぐに續いて散發的のフラッシュ型凍結が始まる。然し其の頻度は低いために遊離される熱量も少ない。第一氷點出現後曲線の傾斜度が冷却曲線に比べて緩かになるのは此のためである。此の状態で温度はどんどん下降し、従つて未凍結の細胞の過冷却度も大となるので、此の様な細胞はフラッシュし易い不安定な状態になつてゐると云へよう。此の不安定な状態が或程度迄なるとフラッシングは急に活潑となり、それは連続的で且頻度も高い。従つて其の遊離熱量は多く、外圍に逃げる熱量と略、釣合ふ。其のため曲線の傾斜度は急に緩かになり、此の期間大體水平部となつてくる。其の後フラッシングの頻度が低下し再び散發的になつてくるので、外圍に奪はれる熱量が優位となり、其の結果曲線は再び下降してくる。老ムラサキカブに見られる第二氷點部の緩かな山はフラッシュ型凍結の頻度が漸次高くなつたためと考へられる。馬鈴薯塊莖の凍結曲線にも、冷却速度の小さい時には僅かではあるが、やはり第二氷點部の初めが山型になつてゐる(青木 '49)。此も同様に説明される。

第 II 型：第一氷點の出現に引續いて非フラッシュ型凍結が活潑に始まり、僅か遅れて非連

續的ではあるが、かなりの頻度を持つたフラッシュ型凍結が並行して進む。此のため兩種の型の凍結により遊離される潜熱の量は合して相當大きいため第 I 型にみられた様な第一氷點後の急激な溫度降下は起らず、第一氷點後直ぐに緩慢な傾斜となつて現はれてくる。然し此の際遊離される潜熱の量は頻度の高い連続フラッシングの場合に比較して少ないため水平とはならない。

第 III 型： 第一氷點が現はれた後非フラッシュ型凍結が始まり次第に頻度を増す。其のため第一氷點後の傾斜は一時急であるが間もなく緩かとなつてくる。フラッシュ型凍結は起つても單に散發的のもので、曲線の型を左右する迄には至らない。種類によつて此の非フラッシュ型凍結の開始溫度及び其の傳播速度を異にするため遊離潜熱の時間的割合も等しくない。其の結果傾斜度に色々の段階が現はれてくるのである。キャベツ、ビート、ダイコン、ムラサキカブ（若）等第一氷點後急な溫度降下のみられるものは、第一氷點の溫度と非フラッシュ型凍結の開始溫度との間に相當差の存する場合であり、エンジンの如きものでは差が少ないものであらう。又キクイモ、キャベツ、ビート等割合水平に近い部分の存するものでは凍結の傳播速度が大きいものである。以上の様に凍結曲線の型は組織の凍結様式で質的に説明が與へられる。

尙、凍結曲線の第 I 型を示すシロウリ、ムラサキカブは共に過熟のものであり、割合若い其の他の種類の曲線は皆第 II 或は第 III 型に屬する。又リンゴ（6 號、49 號）では、未熟のもの凍結曲線は第 III 型に屬するが、熟すにつれて次第に第 I 型に近づき、完熟すると典型的な第 I 型となる（未發表）。即ち凍結曲線の型は種類により異なるのみでなく、其の細胞の若さと云ふことによつて著しく左右されることは明かである。事實キウリ、リンゴ等で若い細胞は非フラッシュ型凍結をするが、古くなるにつれてフラッシュ型凍結が起り易くなる事も觀察されてゐる（未發表）。従つてたとへ一定の凍結條件の下でも、それぞれの種類に對して固定された固有の凍結曲線の型と云ふものは存在せず、組織が古くなるにつれて多かれ少かれ曲線の型は變化してくるものである。

材料に就いて種々御配慮下さつた農學部島善隣教授に御禮申し上げる。

摘 要

生組織の凍結曲線の型と組織の凍結様式との關係を普通の蔬菜 10 種類の柔組織に就いて調べた。此等のものの凍結曲線の型は大別して三つに分けられる。

第 I 型： 第一、第二氷點の明瞭に分離してゐるもの。

第 II 型： 第二氷點に相當する部分の全く現はれぬもの。

第 III 型： 兩者の中間型で二つの氷點は分離してはゐるものの、第二氷點の不明瞭なもの。

此等の凍結曲線の型と組織の凍結様式との間には一聯の關係が存在する。即ち第 I 型の凍結曲線を示すものではフラッシュ型凍結が連続して起り、且其の頻度は高く、第 III 型の場合には非フラッシュ型凍結が主體をなし、フラッシュ型凍結は現はれても僅か散發的に起るに過ぎない。又第 II 型の現はれる場合には相當活潑な兩凍結様式が並行して起つてゐる。そして此等三つの型の凍結曲線の現はれることは組織の凍結様式から質的には説明が與へられる。

文 獻

- 青 木 廉 1946 a. 植物組織の第一氷點. 科學, 16, 128.
 ——— 1946 b. 凍結曲線の不規則な振れ. 同誌, 16, 129.
 ——— 1949 馬鈴薯塊莖の凍結曲線に就いて. 低温科學, 2, 185.
 ——— 1950 馬鈴薯塊莖の再凍結曲線の型に就いて. 同誌, 3, 205.
 朝比奈英三 生物の凍結過程の分析. II. 植物組織の凍結過程の顯微鏡的觀察. 同誌, 3, 227.
 Luyet, B. J. & P. M. Gehenio 1937. The double freezing point of living tissues. *Biodynamica*, No. 30.
 Maximow, N. A. 1914. Experimentelle und kritische Untersuchungen über das Gefrieren und Erfrieren der Pflanzen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 53, 327.
 Walter, H. & O. Weismann. 1935 Ueber die Gefrierpunkt und osmotischen Werte lebender und toter pflanzlicher Gewebe. *Ibid.*, 82, 273.
 Zacharowa, T. M. 1926. Ueber den Einfluss niedriger Temperaturen auf die Pflanzen. *Ibid.*, 65, 61.

Kiyoshi AOKI: Analysis of the freezing Process of Living Organisms. I. The Relation between the Shape of the Freezing Curve and the Mode of Freezing in Plant Tissues.

Résumé

It is the object of this study whether there be evident relation between shape of the freezing curve (Temperature-Time curve) and mode of freezing process in plant tissues. The tissue piece (5×5×14 mm) of ten common vegetables were subjected to freezing under definite cooling rate (2.8~2.1°C per minute at 0°C). The temperature change was taken by thermojunction every 15 seconds.

The results obtained are as follows. The shapes of the freezing curves can be classified into three fundamental types designated Type I, II and III (Fig. 1) and there exists an intimate parallelism between the types of the freezing curves and the mode of tissue-freezing. In cell-freezing two fundamental types are recognized, i.e. flash and non-flash types, and the mode of tissue-freezing is determined principally by various combinations of these two types (Cf. Asahina p. 227). Main results are tabulated in the following.

Type	Characteristics of Freez. Curves	Mode of Freezing	Vegetables
Type I	The first and second freezing points are clearly defined, and moreover the second represents an horizontal plateau or a convex line.	The dominant type of cell freezing is the flash one and it occurs continuously during certain time.	Fruit of white melon(overripe) Root of turnip.
Type II	Only the first freezing point is recognized and the second does not appear at all.	The flash type of cell freezing takes place in parallel with the non-flash type in considerably high frequency, but is not continuous as in the case of Type I.	Fruit of white melon (unripe). and cucumber (unripe).
Type III	The first and second freezing points appear, but the second is not clearly defined.	The master mode of cell freezing is the non-flash type and if the flash type occurs, its frequency is extremely low and seems to be of little significance on the determination of the curve-shape.	Roots of radish, sugar beat, carrot, turnip (young) and Jerusalem artichoke. Fruits of egg plant and tomato. Midrib of cabbage.