L- 2

TENTH EUROPEAN MEETING OF MEAT RESEARCH WORKERS

Roskilde: August 1o-15, 1964.

256

EINFLUSS DER TEMPERATUR DES GEFRIERENS UND DER DEFROSTATIONSART AUF DIE STRUKTURVERÄNDERUNGEN DER LEBER UND DER NIEREN DER SCHWEINE

V. Oluški, S. Čortanovački, Ana Oluški, N. Petrović

INSTITUTE OF MEAT TECHNOLOGY

Belgrade - Yugoslavia

V.Oluški, S.Čortanovački,
Ana Oluški, N. Petrović

Einfluss der Temperatur des Gefrierens und der Defrostationsart auf die Strukturveränderungen der Leber und der Nieren der Schweine

Im Komplexe der Veränderungen, die den Gefrierprozess des Fleisches bzw. der Organe begleiten, wurden die Veränderungen der Mikrostruktur von verschiedenen Standpunkten untersucht: der Förderung der glykolythischen bzw. autolythischen Prozesse im Gefriermoment, der Gefriergeschwindigkeit, der Lagerungsdauer und der Defrostationsart. Wir geben nur einige wichtigere Meinungen an:
Reuter (9) hat das Aussehen und die Lokation der Eiskristalle im Fleisch, abhängig von der Gefriergeschwindigkeit, eingehend beschrieben. Je die Gefriergeschwindigkeit höher sei, desto kleinere Eiskristalle werden gebildet, und umgekehrt. Dieselbe Meinung wird auch von vielen anderen Autoren vertreten (4, 1, 3).

Ramsbottom und Kunz (8) behaupten, dass die Zeit zwischen dem Schlacht-und Gefriermoment die Grösse der Eiskristalle beeinflusst. Die auf -4°C, 4 Stunden, 1 und 3 Tage nach dem Schlachten gefrorene Beefsteakstücke zeigten desto grössere Eiskristalle, je länger die Zeit zwischen Schlacht- und Gefriermoment war. Aduckovič (1) behauptet, dass bei der einphasigen Gefrierung des Fleisches (Gefrierung ohne vorherige Abkühlung) eine grosse Zahl von zwischenmuskulären und fibrilären Kristallen gebildet wird, die Muskelfasern nehmen an Umfang zu, behalten aber ihre Form. Sarkolema bleibt unbeschädigt. Bei der zweiphasigen Gefrierung werden die Eiskristalle in den interzellulären Räumen gross gebildet und drücken die Muskelfasern, die oft, wie Sarkolema selbst, beschädigt sind.

Kaess (4) hat festgestellt, dass bei der sehr schnellen Gefrierung der Leber die Bildung der Kristalle den Blutgefässen entlang stattfand. Die Kristalle selbst waren 3 bis 4 mal grösser. Die meisten Kristalle kamen in den extrazellulären Räumen der Kapsel und zwischen den Leberzellen vor, es fanden sich aber einige kleine Kristalle auch in den Zellen der Leber selbst. Während der Lagerung auf -10°C und 78% -iger relativer Feuchtigkeit verschwanden kleine Kristalle, wahrscheinlich wegen der Bildung der grossen Kristalle.

Kallert (6) hat noch im Jahre 1924. die an einigen inneren Organen durch Gefrierung verursachte mikroskopische Veranderungen beschrieben. Auf den histologischen Präparaten des aufgetauten Lebergewebes befinden sich zahlreiche längliche oder eiförmige Risse, die zum grössten Teil längs den Reihen der Leberzellen verlaufen und nur zum kleineren Teil dieselben trennen. In diesen Rissen liegen, oft, die Komplexe der Leberzellen oder einzelne Zellen. Stellenweise werden die Risse durch die Masse in der Form des Netzes erfüllt. Es kommen auch die völlig isolierte Kerne oder die Kerne mit den Protoplasmaresten vor. Völlige Zerstörung des Kernes wurde nicht gefunden.

In den Schnitten der gefrorenen Nieren werden um die Kanälchen hellere Felder beobachtet. Die Zellen der Kanälchen scheinen untereinander verklebt zu sein. Ähnliches kann auch bei den Nierenkörperchen beobachtet werden. Das Bindegewebe, das die Kanälchen unmittelbar anliegt, wird in der Form der einzelnen Fäden oder Bündel getrennt und mehr oder weniger in den hellen Feldern zerstreut. In den Nierenschnitten befinden sich, parallel mit den Nierenkanälchen, längliche, schmale Risse.

Da, sofern es uns bekannt ist, die Strukturveränderungen der einphasig gefrorenen Leber und Nieren der Schweine bisher nicht unter-

Kaess (4) hat festgestellt, dass bei der sehr schnellen Gefrierung der Leber die Bildung der Kristalle den Blutgefässen entlang stattfand. Die Kristalle selbst waren 3 bis 4 mal grösser. Die meisten Kristalle kamen in den extrazellulären Räumen der Kapsel und zwischen den Leberzellen vor, es fanden sich aber einige kleine Kristalle auch in den Zellen der Leber selbst. Während der Lagerung auf -10°C und 78% -iger relativer Feuchtigkeit verschwanden kleine Kristalle, wahrscheinlich wegen der Bildung der grossen Kristalle.

Kallert (6) hat noch im Jahre 1924. die an einigen inneren Organen durch Gefrierung verursachte mikroskopische Veranderungen beschrieben. Auf den histologischen Präparaten des aufgetauten Lebergewebes befinden sich zahlreiche längliche oder eiförmige Risse, die zum grössten Teil längs den Reihen der Leberzellen verlaufen und nur zum kleineren Teil dieselben trennen. In diesen Rissen liegen, oft, die Komplexe der Leberzellen oder einzelne Zellen. Stellenweise werden die Risse durch die Masse in der Form des Netzes erfüllt. Es kommen auch die völlig isolierte Kerne oder die Kerne mit den Protoplasmaresten vor. Völlige Zerstörung des Kernes wurde nicht gefunden.

In den Schnitten der gefrorenen Nieren werden um die Kanälchen hellere Felder beobachtet. Die Zellen der Kanälchen scheinen untereinander verklebt zu sein. Ähnliches kann auch bei den Nierenkörperchen beobachtet werden. Das Bindegewebe, das die Kanälchen unmittelbar anliegt, wird in der Form der einzelnen Fäden oder Bündel getrennt und mehr oder weniger in den hellen Feldern zerstreut. In den Nierenschnitten befinden sich, parallel mit den Nierenkanälchen, längliche, schmale Risse.

Da, sofern es uns bekannt ist, die Strukturveränderungen der einphasig gefrorenen Leber und Nieren der Schweine bisher nicht unter-

sucht werden, stellten wir uns die Aufgabe, diese Veränderungen in den verschiedenen Bedingungen der Gefrierung, der Lagerung und der Defrostation zu untersuchen.

Technik der Arbeit

1. Auswahl des Versuchsmaterials und seine Bearbeitung.- Ein Teil der Leber, in die Folie eingepackt, wurde "warm" gefroren (einphasige Gefrierung) und der andere Teil erst nach vorheriger Abkühlung in der Dauer von 24 Stunden bis zur Erreichung der Temperatur von +5°C im geometrischen Zentrum des Stückes (zweiphasige Gefrierung).

Es wurden ganze, unbeschädigte, in Folien eingepackte Nieren gefroren, uzw. die linke mit der einphasigen, die rechte mit der zweiphasigen Methode.

2. Technik der Gefrierung.- Die Organe wurden in der Kammer bei -3o°C bis zur Erreichung (im geometrischen Zentrum) -3o°C, -2o°C, -15°C und -1o°C gefroren und bei denselben Temperaturen in der Dauer von 24 Stunden gelagert. In anderem Falle nutzten wir die Temperatur der Gefrierung bei -2o° und 1o°C bis zur Erreichung im geometrischen Zentrum -2o°C und -1o°C und lagerten die Organe noch 24 Stunden bei denselben Temperaturen. Die bei der Temperatur von -15°C bzw. -1o°C gefrorene Lebern und Nieren wurden auch vor der Defrostation 24 Stunden bei denselben Temperaturen gelagert.

In der zweiten Versuchsserie haben wir die in der Kammer bei -3o°C gefrorene Organe bei -2o°C bzw. -15°C in der Dauer von 3o Tagen gelagert, und diejenigen, die an -2o°C bzw. -15°C in der Kammer gefroren wurden, auch bei denselben Temperaturen einen Monat gelagert.

3. Defrostation.- Das Auftauen wurde bei +25°C bis zur Erreichung der Temperatur von +1°C im geometrischen Zentrum des

Stückes (schnelle Defrostation) bzw. bei +5°C (langsame Defrostation).

4. Untersuchung der Mikrostruktur der Organe.- Die entstandenen histologische Veränderungen begleiteten wir ausschliesslich auf den aufgetauten Organen u.zw. gleich nach dem Auftauen und, soweit die Organe 3o Tage gelagert waren, noch 24 Stunden später.

Die Proben für histologische Untersuchungen wurden aus der Mitte der Organe genommen, in zwei Teile geteilt, eine Hälfte davon wurde in Bouins Flüssigkeit (24 Stunden) und die andere in neutralem Formol (48 Stunden) fixiert. Die Technik der Fixierung und der Färbung war derjenigen gleich, die im Histologischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät in Beograd gebraucht wird. Die Aufnahme machten wir mit dem "Foto- Zeiss"- Mikroskop.

Resultate der Untersuchung

1. Geschwindigkeit der Gefrierung und die Dauer der Lagerung - gleich.

Auf Grund der Mikrofotografien und der mikroskopischen Befunde beschreiben wir die Veränderungen an der Leber und an den Nieren, die bei -3o°C gefroren und bei -15°C in der Dauer von 3o Tagen gelagert wurden.

Bindegewebige Komponente der einphasig gefrorener und nach schnellem Verfahren aufgetauten Leber ist locker. Die Faserbündel sind an einzelnen Stellen getrennt. Im Bindegewebe entstandene Lücken erreichen bis 4o Mikronen. Fibroblasten sind in verschiedenem grade verändert, so dass das Zytoplasma kaum beobachtet wird. Umher befinden sich geschwollene kollagene Fasern. Die Grenzen der Kapillarenwände werden

261

nicht ganz klar beobachtet.

Die Aussicht der Remaks Pfade wird im Grunde erhalten. Entstandene Verbreitungen den Leberzellen entlang haben kleineren Durchmesser (bis 5 Mikronen) und breiten sich radial von der Vena centralis aus. Die Wände der Venae centralis sind verschwunden. Lumen hat eine unregelmässige Form.

Zytoplasma der Hepatozyten wird granuliert. Affinität ihrer einzelnen Teile gegen basische und saure Farben ist ungleich. Es kommen auch Vakuolen vor. In einer Zahl der Zellen befinden sich die Risse von unregelmässiger Form. Chromatin wird in der Form der Körnchen geordnet. Nukleolen werden selten beobachtet (Abb. 1).

Die Veränderungen an der Leber, die langsam aufgetaut wurde, unterscheiden sich von den schon beschriebenen nur dadurch, dass interlobuläres Bindegewebe von den piknotischen Kernen und sehr geschwollenen Fasern gebildet wird (Abb. 1).

Im Vergleich mit dem einphasigen Verfahren werden die Veränderungen an der zweiphasig gefrorener Leber mehr ausgedrückt (Abb. 1). Die Lücken zwischen einzelnen Faserbündeln der bindegewebigen Komponente erreichen den Durchmesser auch bis 8o Mikronen. Grössere Blutgefässe werden manchmal zerstört und einzelne Hepatozyten oder Hepatozytengruppen können in denselben gefunden werden. Die Grenzen zwischen einzelnen Hepatozyten sind nicht sichtbar. Die Veränderungen des Zytoplasmas sind denjenigen bei der einphasigen Gefrierung gleich, nur sind sie etwas potenziert. Die Kerne werden ungleich gefärbt. In einzelnen Zellen werden sie kaum bemerkt. Remaks Pfade werden, sozusagen, erhalten, obwohl einzelne Zellen in ihrer Zusammensetzung bedeutender beschädigt werden. Es kommt eine bedeutend grössere Zahl von Hepatozyten oder Hepatozytengruppen vor, die ihre Kontinuität storen. Kapil-

larsystem wird breiter (bis 8 Mikronen).

Bei der zweiphasig gefrorener Leber, die langsam aufgetaut wird, kommen neben den schon beschriebenen auch folgende Veränderungen vor: Remaks Pfade werden bedeutend durch Querrisse, in denen sich einzelne Zellen oder Zellgruppen befinden, beschädigt. Der Grad der Hepatozytenzerstörung ist verschieden. Die Kerne werden, in der Regel nach der Peripherie disloziert. In den Kapillaren, deren Durchmesser auch bis 2o Mikronen erreicht, befinden sich einzelne Kerne oder die Teile des Zytoplasmas.

Die Zerstörung des Gewebes der noch 24 Stunden bei +5°C gelagerten Leber wird stärker ausgedrückt als bei den nichtgelagerten Proben (Abb. 3.) Charakter der Veränderungen blieb im Grunde gleich. Bei der einphasigen Gefrierung blieben Remaks Pfade nur teilweise erhalten, während sie bei der zweiphasigen ganz verschwanden. Das Gewebe der Leber wurde in diesem Falle durch unregelmässige Längs- und Querrisse durchzogen, so dass die Hepatozyten einzeln oder in den Gruppen als Inselchen aussehen.

Die Veränderungen der Struktur der einphasig gefrorenen und schnell aufgetauter Niere (Abb. 2.) sind folgende:

Die Bündel der bindegewebigen Fasern sind, ohne Rücksicht in welchem Grade in einzelnen Nierenteilen diese Komponente vertreten wird, untereinander getrennt, so dass die Lücken auch bis zu 4o Mikronen Durchmesser entstehen. Da befinden sich, in verschiedenem Grade verändert, die Fibroblasten. Die Blutgefässe bleiben erhalten.

Die Formen des Nephron sind sichtbar, die Grenzen der Zellen in denselben werden aber nicht erkannt. Die Zellen sind beschädigt, das Zytoplasma granuliert. Affinität gegen basische und saure

Farben ungleich. Die Kerne zeigen ungleiche Grösse und runde Form. Chromatin wird in der Form von Körnchen geordnet. Es wird ungleiche Färbung der Kerne beobachtet. Ein Teil der Kerne befindet sich auf dem Rande der Tubulle und ein Teil in der Höhle der Tubulle zerstreut, die überwiegend von den Teilen der zerstörten Zellen erfüllt wird. Die Höhle der Bowmans Kapsel wird verbreitet und die Verbreitungen erreichen bis zu 5o Mikronen. Ähnliche Veränderungen kommen bei dem langsamen Auftauen vor.

Bei der zweiphasig gefrorener Niere (Abb. 2) werden die Veränderungen, obwohl denjenigen bei der einphasigen analog, weit mehr ausgedrückt. Die Lücken in dem Bindegewebe sind zahlreich und ihr Durchmesser erreicht auch bis 6o Mikronen. Es kommen die Tubullen vor, bei denen die Kanäle nicht bemerkt werden. Die zellen in solchem Falle sind geplattet. Die zahl der Tubullen, besonders bei dem langsamen Auftauen, mit ganz zerstörter Zellenstruktur, ist sehr gross.

Die Zerstörung des Gewebes der noch 24 Stunden nach dem Auftauen bei +5°C gelagerten Niere wird fortgesetzt. Die Reihenfolge des Stärkegrades der entstandenen Veränderungen blieb im Grunde dieselbe. Doch die Veränderungen werden stark potenziert. Am meisten werden auch bei dieser Gelegenheit die Strukturveränderungen der zweiphasig gefrorener und langsam aufgetauten Nierem ausgedrückt (Abb. 3.). Die Tubullen untereinander durch Bindegewebe getrennt, machen den Eindruck einer homogenen, granulierten Masse, in welcher sich hier und da zerstreute, nach der Grösse und Farbe ungleiche, Kerne befinden.

Die Veränderungen der in der Bouins Flüssigkeit fixierten Organe waren Schwächer ausgedrückt, als an den Präparaten, für deren Fixierung wir Formol gebraucht haben.

264

2. Gefriergeschwindigkeit und Lagerungsdauer verschieden.- Bei den nidriegeren Temperaturen der Gefrierung und Lagerung werden die Veränderungen schwächer ausgedrückt und umgekehrt. Die bei -3o°C gefrorene und bei derselben Temperatur gelagerte Leber und Niere zeigen weniger Veränderungen der Struktur als die bei -3o°C gefrorene und bei -1o°C gelagerte bzw. auf -1o°C gefrorene und bei derselben Temperatur gelagerte Organe. Stufenweise Gefrierung (Gefrierung auf nidriegeren Minus- Temperaturen und Lagerung auf höheren Minus- Temperaturen) führt zu grösseren Strukturveränderungen als die Gefrierung bei der Lagerungstemperatur, besonders, wenn die Lagerung einen Monat dauern soll. So werden z.B. die Veränderungen stärker ausgedrückt, wenn die Organe auf -3o°C gefroren und auf -15°C gelagert, als wenn sie auf -15°C gefroren und bei derselben Temperatur gelagert werden-, oder wenn sie bei -3o°C gefroren und auf -2o°C gelagert, als wenn sie auf -2o°C gefroren und gelagert werden.

Unter denselben Bedingungen der Gefrierung, Lagerung und des Auftauens werden die Veränderungen bei den 3o Tage gelagerten Organen stärker ausgedrückt im Vergleich zu denjenigen, die nur 24 Stunden gelagert wurden.

Diskussion

Bei der Gefrierung des Fleisches und Organe wird ein Teil des an Eiweiss gebundenen Wassers ausgeschieden und die Eiskristalle werden gebildet.

Unsere Befunde zeigen, dass neben der Geschwindigkeit und Art des Gefrierens, der Lagerungsdauer und der Auftauensart auch der Gerfiermoment (Grad der glykolithischen und autolythischen Prozesse im

265

Gefriermoment) eine wesentliche Rolle in der Bildung der Eiskristalle spielt, und demzufolge auch den Grad der Strukturveränderungen der aufgetauten Organe beeinflusst. In allen untersuchten Serien haben wir auf Grund der Mikrofotografien und mikroskopischen Befunde festgestellt, dass die Veränderungen bei zweiphasig gefrorenen Lebern und Nieren, - soweit sonst andere Bedingungen der Gefrierung, Lagerung und des Auftauens gleich sind,- grösser als bei den einphasig gefrorenen sind.

Der Ausfluss des Wassers aus den Zellen und das Gefrieren desselben im interlobulären Bindegewebe, als auch im Kapilarsystem den Remacks Pfaden entlang war bei den einphasig gefrorenen Lebern geringer als bei den zweiphasig gefrorenen. Diese Behauptung begründen wir auf dem Aussehen, vor allem, des Kapillarnetzes der Remacks Pfade und dem Aussehen des interlobulären Bindegewebes. Dass bei der einphasig gefrorenen Leber die Eiskristalle auch in den Zellen selbst gebildet werden, sieht man an den kleinen Rissen, die auf den Präparaten in den Hepatozyten selbst zu finden sind, was uns als Erklärung dienen kann, warum die Grösse und Zahl der Kristalle im Kapillarsystem und Bindegewebe kleiner bei der einphasigen als bei der zweiphasigen Gefrierung sind. Die Eiskristalle bei der zweiphasigen Gefrierung sind grösser und werden überwiegend im interlobulären Bindegewebe und Kapillarsystem zwischen Remacks Pfaden gebildet.

Neben der Gefriergeschwindigkeit, den biochemischen Veränderungen der Organe im Gefriermoment, spielt auch die Auftauensart eine bestimmte Rolle in dem Entstehen der Strukturveränderungen. Bei den einphasig gefrorenen Organen können diese Unterschiede zwar vernachlässigt werden, bei der zweiphasigen Gefrierung werden aber diese Veränderungen, in der Regel, mehr ausgedrückt, soweit die langsame Auftauensart verwendet wird.

Interessant ist auch der Befund, dass die Strukturveränderungen der Organe bei der stufenweisen Gefrierung (Gefrierung bei- 3o°C und Lagerung auf -2o°C z.B.) grösser sind, als im Falle, wenn für die Gefrierung und Lagerung dieselbe Temperatur z.B. verwendet wird. Diese Erscheinung ist durch die Rekristallisation zu erklären.

Obwohl die Leber und die Nieren in ihrem Bau verschieden sind, zeigen ihre Strukturveränderungen eine Reihe von gemeinsamen Eigenschaften. Der Gefriermoment ist neben der Gefriertemperatur, der Lagerungsdauer und der Auftauensart der entscheidende Faktor für die Entstehung dieser Veränderungen. In beiden Fällen kommt es zu kleinerer Zerstörung des Baues bei der einphasigen Gefrierung und zur grössten bei dem langsamen Auftauen der zweiphasig gefrorenen Organe. Die Veränderungen des Bindegewebes sind in beiden Fällen gleich. Bei einem sowie bei anderem Organn kommt zur Zerstörung der Zellen, nie aber zur Zerstörung der Kerne selbst. Die beobachteten Veränderungen auf den Kernen beziehen sich nur auf die Intansität ihrer Färbung.

Schluss

1. Der Grad der Strukturveränderungen an Leber und Nieren der Schweine ist kleiner, wenn diese noch "warm", unmittelbar nach dem Schlachten der Tiere gefroren werden, als wenn man diese vorher- wie man es in der Praxis gewöhnlich tut- 24 Stunden bei +4°C abkühlen lässt.

2. Die Gefriergeschwindigkeit beeinflusst die Grösse und Lokation der gebildeten Kristalle, als Faktor aber kann sie nicht für sich selbst isoliert betrachtet werden. Bei denselben Gefriergeschwindigkeiten werden die Lebern und Nieren der Schweine desto weniger struktu-

roll verändert werden, je die glykolythische bzw. autolythische Prozesse weniger fortgeschritten sind.

3. Die Strukturveränderungen der Leber und Nieren sind grösser, wenn die Organe auf den niedrigeren Minus- Temperaturen gefroren und auf den höheren gelagert werden, als wenn dieselben auf den Lagerungstemperaturen gefroren werden.

4. Bei den untersuchten, einphasig gefrorenen Organen sind die Strukturveränderungen bei der schnellen und langsamen Auftauensart fast gleich; während sie bei der zweiphasigen Gefrierung, falls langsame Auftauensart verwendet wird, mehr ausgedrückt werden.

Literatur

1. ADUCKEVIČ V.: Mikroskopičeskije izmenjenjija v mjase v procese ego zamoraženija
Mjasnaja Ind. SSSR, No 6, str. 46, 1960.

2. BATTE-SMITH E.C.: The Quick-Freezing of Meat. A Review of some Scientific Aspekts
Modern Refrigeration, November 16 th 1944, 47, 267.-

3. GILLESPIE E.L.: The science of Meat and Meat Products
San Francisco, 1960.

4. KALSS G.: Freezer burn as a limiting factor in the storage of animal tissue. II. Histological study of freezer burn of liver
Food Technol., No 3, str. 129, 1961.

5. KALLERT E.: Z.ges. Kälteind. Bd. 30, str. 17, 1923. (zitiert in "Handbuch der Kältetechnik Bd. X" Plank, 1960).

6. KALLERT E.: Die durch den Gefrierprozess in inneren Organen (Herz, Leber, Niere, Milz) entstehenden Gewebsveränderungen
Zeitschrift für Fleisch und Milchhygiene, sveska 22, str. 265, 1924.

268

7. OLUŠKI V.: Uticaj autolitičkih procesa, uslova skladištenja i načina defrostacije na kvalitet i održivost smrznutih jetara i bubrega svinja, Dissertation Beograd, 1962.

8. RAMSBOTTOM J.M., KOANZ C.H.: Food Res.Bd. 5, str. 423, 1940 (zitiert in "Handbuch de Kältetechnik Bd. X Plank, 1960).

9. REUTER K.: Z.angew. Anat.u.konstituonsl Bd. 2. str. 297, 1918. (zitiert in "Handbuch der Kältetechnik, Bd. X" Plank, 1960).

INFLUENCE OF FREEZING TEMPERATURES AND THAWING METHOD ON STRUCTURAL CHANGES OF HOG LIVER AND KIDNEYS

Summary

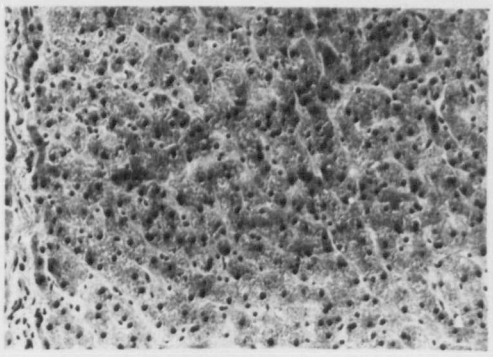
1. The rate of structural changes of hog liver and kidneys is lower if they are frozen "warm" immediately after animal slaughter, than if they are previously cooled for 24 hours at +4°C - as it is done in practice.

2. Freezing rate influences the size and location of formed crystals, but - as a factor - it can't be considered apart. Having the same freezing rates, structural changes of hog liver and kidneys will be as less as glycolitic processes or autolitic ones are less advanced.

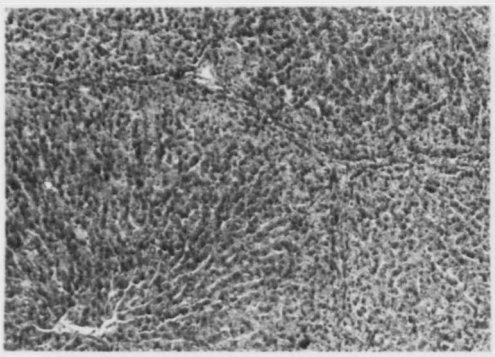
3. The rate of structural changes of hog liver and kidneys is higher if the organs are frozen at lower minus temperatures and stored at higher ones, than if they are frozen at storage temperatures.

4. Structural changes of examined organs, frozen by one-phase treatment, are nearly the same both in rapid and slow thawing methods, while in the case of organs freezing by two-phase treatment - applying the slow thawing method - they are more visible.

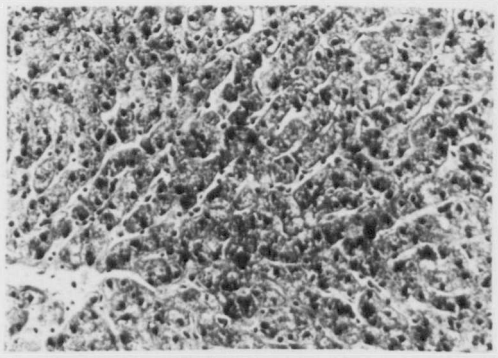
EINPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION



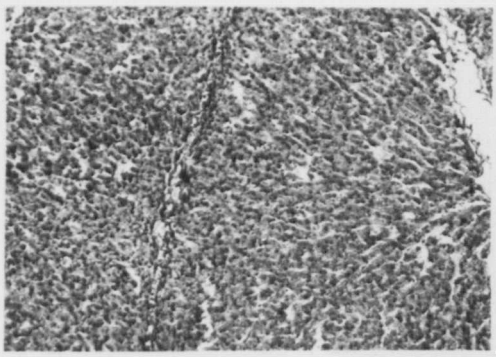
EINPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION



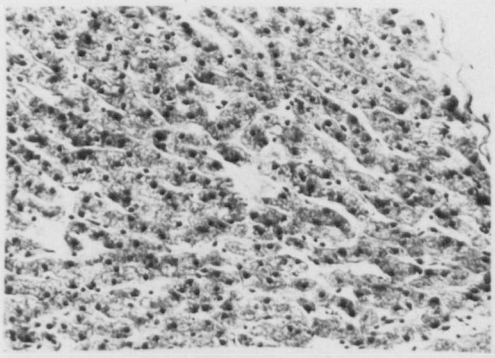
EINPHASIGE GEFRIERUNG
LANGSAME DEFROSTATION



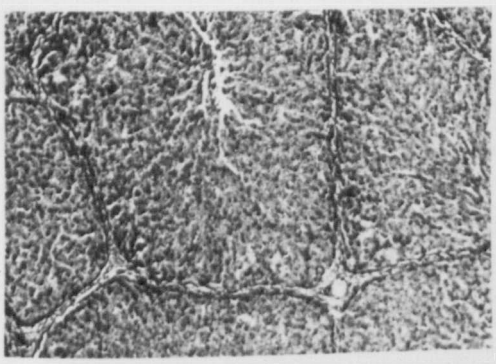
EINPHASIGE GEFRIERUNG
LANGSAME DEFROSTATION



ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION

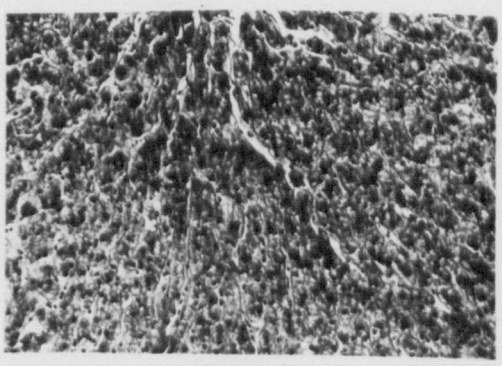


ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION



ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
LANGSAME DEFROSTATION

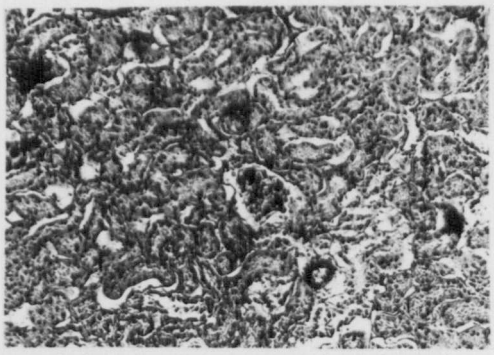
OBJ.	OPT.	PROJ.
6,3 x	1,25 x	3,2 x



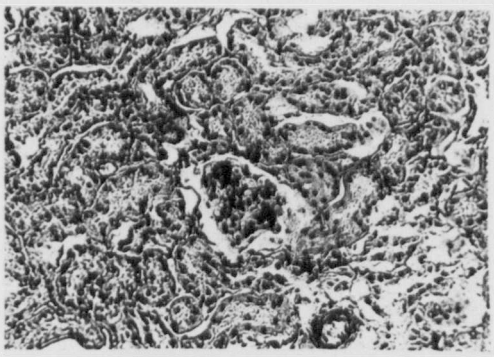
ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
LANGSAME DEFROSTATION

OBJ.	OPT.	PROJ.
16 x	1,25 x	3,2 x

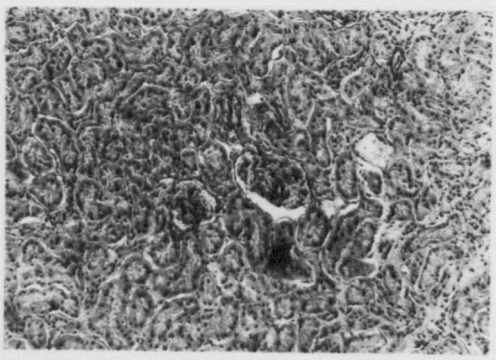
BILD 1.



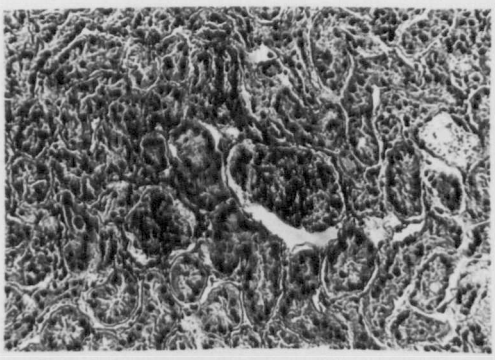
EINPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION



EINPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION

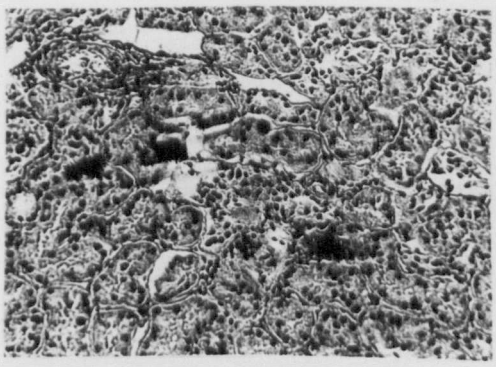


EINPHASIGE GEFRIERUNG
LANGSAME DEFROSTATION

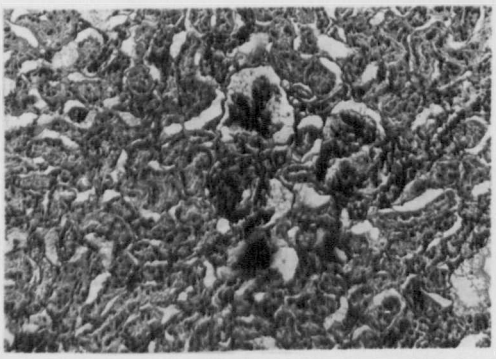


EINPHASIGE GEFRIERUNG
LANGSAME DEFROSTATION

ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION

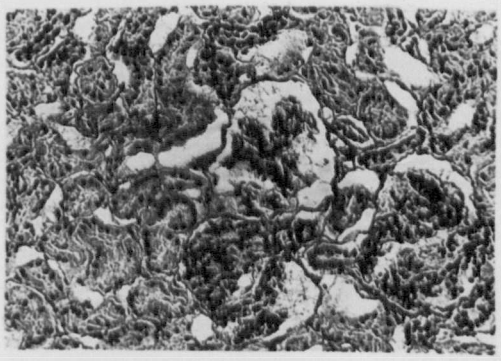


ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION



ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
LANGSAME DEFROSTATION

OBJ.	OPT.	PROJ.
6,3 x	1,25 x	3,2 x



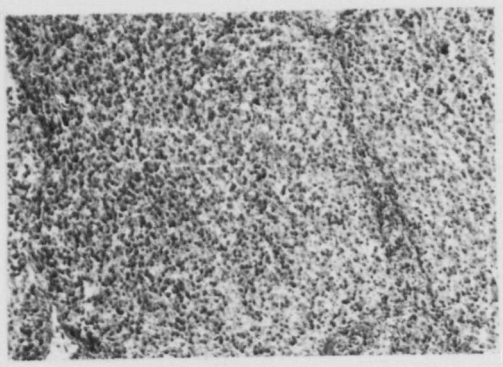
ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
LANGSAME DEFROSTATION

OBJ.	OPT.	PROJ.
1o x	1,25 x	3,2 x

BILD 2.

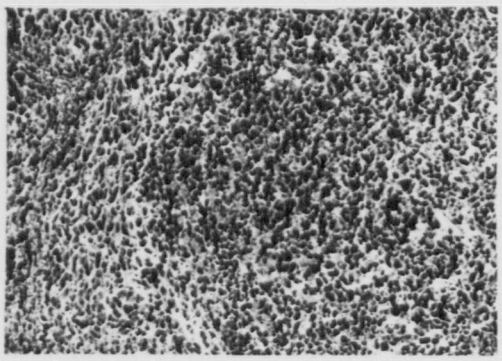
HISTOLOGISCHE VERANDERUNGEN 24 STUNDEN NACH DEM AUFTAUEN

LEBER

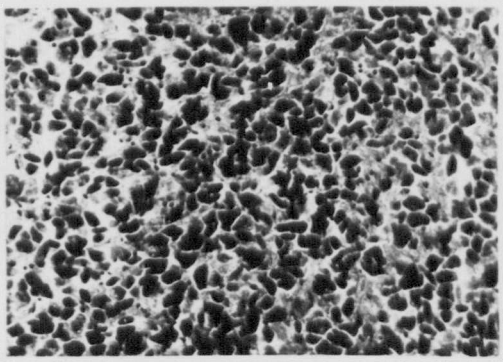


EINPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION

EINPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION

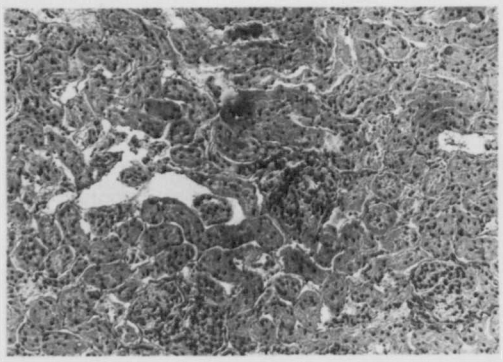


ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION

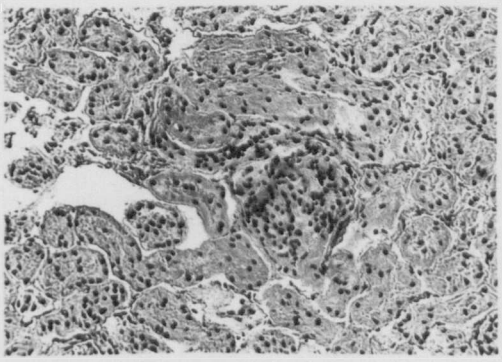


ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION

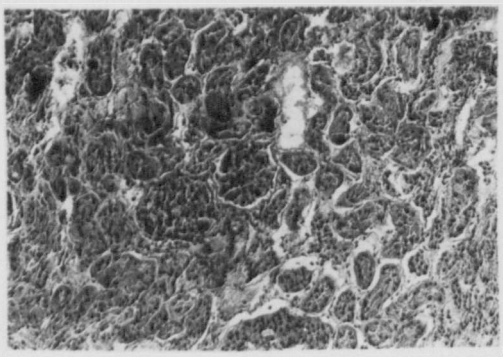
NIERE



EINPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION

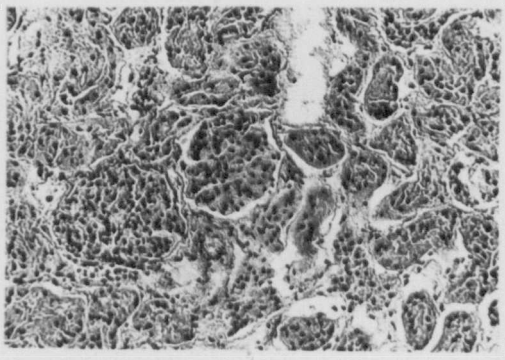


EINPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION



ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION

OBJ.	OPT.	PROJ.
6,3 x	1,25 x	3,2 x



ZWEIPHASIGE GEFRIERUNG
SCHNELLE DEFROSTATION

OBJ.	OPT.	PROJ.
16 x	1,25 x	3,2 x

BILD 3.