HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | 凍結乾燥法の發展と現況 |
| Author(s) | 根井, 外喜男 |
| Citation | 低温科學, 7, 149-167 |
| Issue Date | 1951-09-05 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/17507 |
| Type | departmental bulletin paper |
| File Information | 7_p149-167.pdf |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Tokio NEI 1951 Advances in Freeze-Drying. *Low Temperature Science* 7.

## 綜　合　抄　錄

# 凍結乾燥法の發展と現況

根　井　外　喜　男

（北海道大學低溫科學研究所　醫學部門）.

## I. 緒　　言

いろいろな生物學的材料，例えば微生物，血清及びその他の醫藥品，食品などは，液狀のままとか濕つたままでは性質が變りやすく永く保存することができない．そこでかなり以前からこれらのものの保存にはさまざまの工夫がこらされ，結局乾燥しておけばよいことがわかつた．しかしその乾燥も普通の方法，例えば高溫蒸發などによつたのでは良い結果がえられないので，ここでもいろいろの苦心がかさねられた末，ようやく凍結乾燥法の優秀なことが確認されて，ついに今日廣く用いられるところの方法が完成されるに至つたのである．

この凍結乾燥法の原理といえば，要するに被乾燥體を凍結することと，その凍結したものを途中で融解せずに乾燥することの２つの基本的操作につきる．しかしこの方法が現在の進歩した段階に達するまでには，さまざまの考案がくりかえされてきている．今その發達の過程をたどるとともに，今日各方面に廣く應用されている狀況について紹介を試みたい．

先ず理論的には既に前世紀の初期に凍結乾燥の基礎となるべき點が明らかにされた．即ち眞空蒸發による水の凍結，及び水蒸氣の昇華にともなう氷の減少つまり乾燥の現象について論ぜられた．(179) (86)

さて凍結乾燥法を始めて生物學的材料について實驗的に試みたのは Altmann (1890)(1) であろう．彼は組織學的檢索にこの方法を應用したのであるが，種々の技術的な難點もあつてその後久しく省みられなかつた．

今世紀に入つて Shackell (1909)(140) が一般の生物學的材料の保存の目的に本法を利用し，デシケーター，硫酸，眞空ポンプの簡單な裝置によつて行つた乾燥法がこの領域での先驅となつたので，今日多くの人は Shackell を凍結乾燥法の創始者とみなしている．

その後幾多の研究者によつて漸次裝置の改善が行われ，同時に種々の材料について應用が試みられた．1935年に至つて Elser 等(28)及び Flosdorf & Mudd(33) が相次いで理論並びに實際についての廣汎な論文を發表し，ひき續き Flosdorf 等(32) (33)の改良法，Greaves & Adair(19) の方法が報告されて，ここに飛躍的な發展をとげ，1940年頃までに凍結乾燥法も裝置並びに操作に關してはい

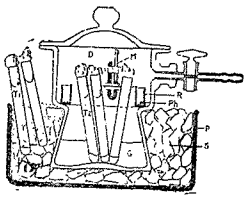
ちおう完成の域に達した形であつた.

更に最近の10年間には應用方面の進歩がめざましく，特に第2次大戰にともなつて必然的に需要の增した乾燥血漿，Penicillin などの大量生産がその發達に拍車をかけた結果となり，大規模な工業的生産方式が確立されるに至つた．一方その間に發表せられた凍結乾燥に關する報告は300を越すといわれる.(緒1)

それらの文獻のすべてを蒐集することは現在のわれわれにとつては不可能事であるが，その中の特に乾燥の技術的な面に關するものを多くとりあげて，主としてそれらの問題を中心として述べてみたいと思う.

## II. 細菌學血清學領域における凍結乾燥法

前にも述べたように Shackell (1909)(140)は細菌學血清學の領域に始めて凍結乾燥法を導入した．即ち豫め食鹽と氷の寒劑で凍結させた材料を硫酸の入れてあるデシケーターに納めて眞空ポンプで排氣乾燥する簡易な方法を創案し，補體，血清，Virus の乾燥を試みた．次いで Harris & Shackell (1911)(52) Hammer (1911)(51) なども同樣の方法で狂犬病 Virus 或は數種の細菌の乾燥保存を行つた．その後 Rogers (1914)(126)は冷凍機を利用することによつて凍結並びに低溫保持に改善を加え，また吸濕劑には $CaCl_2$, $H_2SO_4$, $P_2O_5$ を併用している．更に Swift (1921)(156)（第1圖參照），Sawyer, Lloyd & Kitchen (1929)(128), Craigie (1931)(20) などの報告では多少の裝置の改良はあつても，いずれも大同小異の方法を採用している.



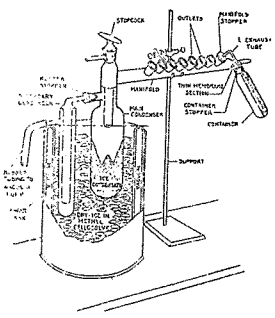
第1圖 Swift の裝置(156)

このように Shackell に始つた本法は，その後の25年間にあまり大きな進歩はみせなかつた．つまりその間に發表された報告では，殆どすべて豫め $CaCl_2$, $H_2SO_4$, $P_2O_5$ 等の吸濕劑を入れておいた蒸發槽（多くはデシケーターを使用）に材料を入れて眞空ポンプで排氣するという方法で，いずれも小型の裝置を用いて少量の材料を乾燥するにすぎない.

ところが1935年に至つて Cornell 大學の Elser, Thomas & Steffen(28) と Pennsylvania 大學の Flosdorf & Mudd(30) が凍結乾燥法の詳細な解說と實驗の結果を相次いで發表した．彼等の方法を從來のものに比較して特に相違する點をあげれば，蒸發器には Chamber 式の外に Manifold 式をも用いて，それに相應したアンプルを多數接續させたこと，脫水には吸濕劑を使用せずに低溫によると凝縮法を採用したことなどであろう．更に乾燥の效率を上げるために適宜の加熱方法を講じた點など，從來はむしろ低溫維持に腐心していたことを考えれば對照的な處置といえよう．その他 Shell-freezing の效果，豫備凍結の有無，アンプルの形狀，所要眞空度など，それまでにあまり考慮されていなかつた技術上の細部に亙つて仔細の吟味が行われ，同時に實驗室用の小規模な硝子製裝置から漸く脫却して Pilot plant の形式が確立され，工業的大量生産への方途が開かれた．特に Flosdorf & Mudd によつて行われた方法，即ち極低溫で急速な

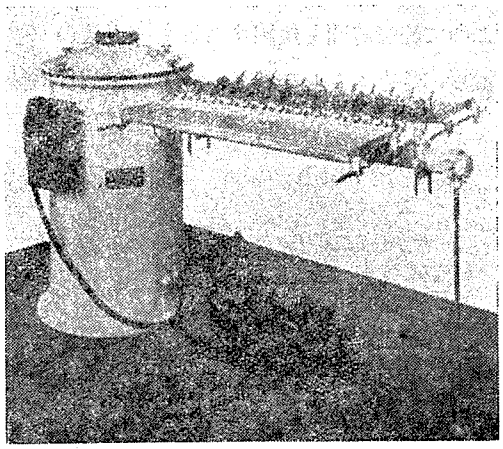
豫備凍結をした乾燥製品は溶解性が極めて良好で，これを Lyophile process*と稱したので，今日では Lyophilization とは Freeze-Drying と殆ど同義語の如くに用いられている．(第2圖參照)

その後 Flosdorf & Mudd (1938)[32] は再製可能で廉價な，しかも比較的蒸氣壓の小さな石膏 (商品名 Drierite) を吸濕劑として使用し，あまり低くない溫度で豫備凍結を行う方法を提唱し，これを Cryochem process と名づけたが，種々の點で甚だ便宜なので今日なお廣く利用せられている．(第3圖)



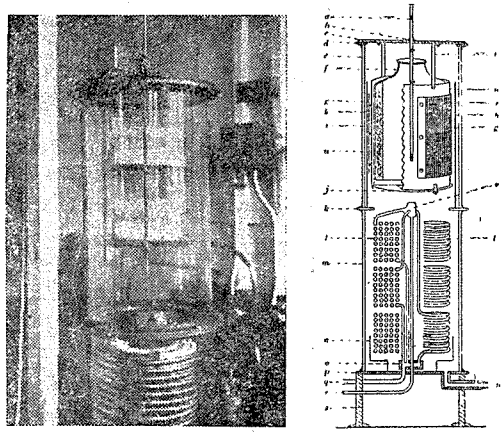
第 2 圖　Flosdorf & Mudd の小型硝子裝置[30]

更に 1940 年には Flosdorf, Stokes & Mudd[33] は Desivac process を發表した．これは凝結器や吸濕劑を用いずに眞空ポンプで直接脫水する方法で，そのためには Ejector pump か遠心分離によつて油から水を除く裝置のついた油廻轉ポンプを使用する．特に大量生産には數段の Steam ejector が用いられる．又 Hill & Pfeiffer (1940)[58] が Adtevac process と稱した Silica gel, Alumina その他の物理的吸着劑を使用する方法には，化學的吸濕劑とはまた別な特徴がある．



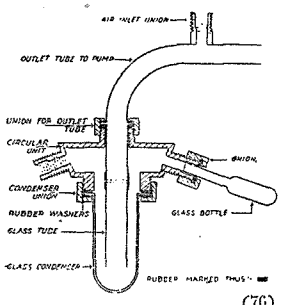
第 3 圖　Flosdorf & Mudd の Cryochem-type[32]

その他 1935 年から 1940 年までの間には，前述の Lyophile 法，Cryochem 法に做つた凍結乾燥の報告が多數發表されており，その中には裝置の改善を試みて簡易法と名づけているものも少くはない．又これらの報告の殆どすべては米國における研究によるものであるが，僅かに Greaves & Adair 及び Knox の業績が英國の所産としてあげられる．即ち Greaves & Adair は 1936 年[48]に寒劑を用いない簡易乾燥法を，又 1939 年[49]には從來見られなかつた特殊の裝置を發表した．それは第4圖及び第5圖に示すような硝子製のシリンダーで，排氣路の障碍をできるだけ少くするために上半部は蒸發槽，下半部は凝結槽 (ブラインを用いるコイル式) より成り，皿又はアンプルを

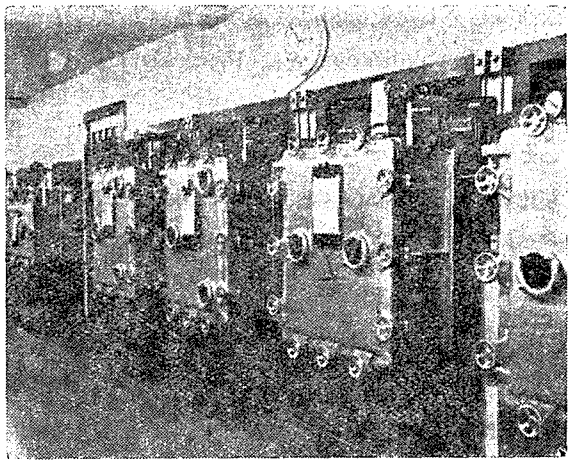


第 4, 5 圖　Greaves & Adair の裝置[49]

* Flosdorf 等は Reichel に做つて Lyophile という語を始めて用いた．

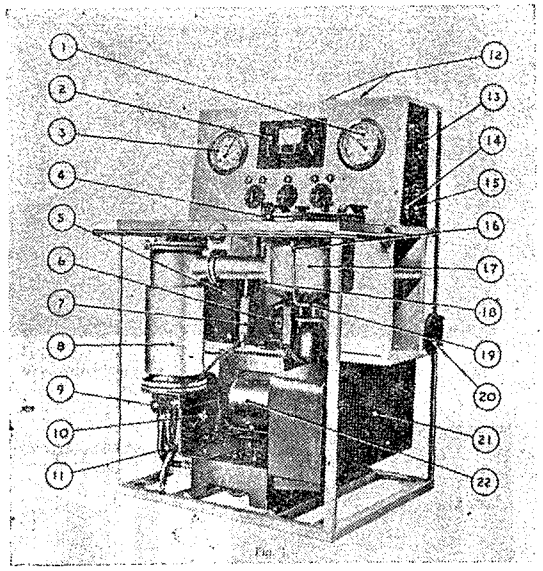



第 6 圖　Knox[76] の裝置



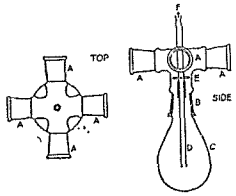
第 7 圖　Sharp & Dohme に於ける Drying chambers (Flosdorf[綠1] による)

使用して最高 20L までの材料を乾燥しうるという．特に注目すべきは自動的に調節しうるヒーターを用いた點で，これによつて乾燥時間を短縮すると共に血清の溫度，凝結コイルの溫度，血清の乾燥量，蒸氣壓，及び乾燥經過中血清を必要溫度に保つために消費された電力等を測定し，その結果消費電力量から乾燥の終末點が算定されるといい，更に乾燥後の殘水量をもはかつている．Knox[76] は又 Manifold と Condenser の部分の設計に特異の工夫をこらしている．



第 8 圖　Edwards Model 3 Centrifugal Freeze Dryer (W. Edwards & Co. (London) の Catalogue による)

さて Flosdorf[綠1] の述べるところによれば，最近の 10 年間に凍結乾燥法は工業的にもまた研究上でも 100 倍以上の進歩をとげたといわれる．特に第2次大戰の勃發とともに乾燥血漿の需要が必然的に激增し，ひき續いて起つた Penicillin の製造にも凍結乾燥法が利用せられ，それらの大量生産に伴なつて乾燥裝置の大規模な工業的機械化が急激に促進されるようになつた．つまり中間試驗的な Elser 等及び Flosdorf 等の裝置がここに至つてほぼ完成の域に達したものといえる．現在の最も完備した裝置の代表例として第




第 9 圖　Holzman[67] の簡易裝置

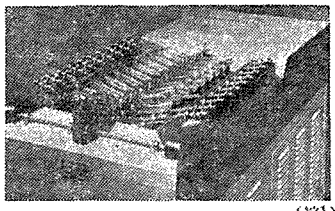
第 10 圖　Wyckoff & Lagsdin[181] の裝置 (Wyckoff より送附の原圖)

**第 1 表**　微生物，血清類の凍結乾燥

| 供試材料 | 報告者（年） | 供試材料 | 報告者（年） |
|---|---|---|---|
| Staphylococcus | Hammer (1911) | | Hoffstadt (1946) |
| Streptococcus | Swift (1921) | | 小酒井 (1949) |
| Pneumo 〃 | Elser (1935) | Encephalitis | 小笠原 (1942) |
| Meningo 〃 | Rake (1935) | | Smadel (1947) |
| | Heller (1940) | Influenza | Scherp (1938) |
| Haemophyl. pertus. | Flosdorf (1940) | | 小笠原 (1942) |
| 〃 influe. | 矢追 (1950) | Rabies | Shackell (1911) |
| Micobact. tuberc. | 香間 (1943) | Canine distemper | Siedentopf (1942) |
| BCG | 林 (1943) | Herpes simplex | |
| | 阿多 (1944) | Laryngotracheitis | |
| | 戸川 (1946) | Rous sarcoma | Hoffstadt (1946) |
| | 海老名 (1947) | Infect. myxomatosis | |
| | 小林 (1947) | Shope fibroma | |
| | 加藤 (1947) | Dengue fever | 緒方 (1943, 44) |
| | 櫻井 (1950) | | 戸川 (1944, 46, 50) |
| | Birkhaug (1950) | Yellow fever | Sawyer (1929) |
| Bac. coli | Hammer (1911) | | Scherp (1939) |
| | Heller (1940) | Lymphocytic chorio. | Wooley (1939) |
| | 根井 (1950) | Bacteriophage | Schade (1943) |
| Bac. pest. | 野口 (1942) | Serum | Shackell (1909) |
| Anaerobe bact. | Roe (1936) | | Elser (1935) |
| various bact. | Morton (1938) | | Flosdorf (1935–41) |
| | Cooper (1939) | | Greaves (1936–46) |
| Bac. pyocyaneus | | | Mudd (1936) |
| 〃 prodigiosus | Hammer (1911) | | Hughes (1938) |
| 〃 lactis | | | Bond (1938) |
| 〃 bulgaricus | | | 内藤 (1939–43) |
| Rhizobium legumin. | Rogers (1914) | | 堀川 (1942) |
| | Appleman (1946) | | 太田 (1943) |
| Serratia marcesc. | Naylor (1946) | | Mc Guinness (1943–44) |
| Aspergillus | Raper (1945) | | Wertman (1944) |
| Penicillium | 小南 (1949) | | Lahiri (1947) |
| Streptomyces | 鈴木 (1949) | | 根井 (1950) |
| Spirochaeta | Elser (1935) | Complement | Shackell (1909) |
| | Probey (1947) | | Craigie (1931) |
| Saccharomyces | Rogers (1914) | | Eagle (1935) |
| | Elser (1935) | | Flosdorf (1935–40) |
| | Wickerham (1942, 46) | | Boerner (1936) |
| | Atkin (1949) | | Ecker (1938) |
| Protozoa | Elser (1935) | | 石黒 (1941) |
| | | | 堀川 (1943) |
| Virus of Vaccinia | Wurtz (1919) | Plasma | Mahoney (1939) |
| | Otten (1927) | | Hill (1940–42) |
| | Rivers (1935) | | Edwards (1940) |
| | 長野 (1939, 41) | | Strumia (1941–42) |
| | 石黒 (1941) | | Krejci (1942) |
| | 安東 (1941) | | Cohn (1944–46) |
| | 辛 (1942) | | |

7圖と第8圖を示す.

かくして大規模な乾燥機が續々と製作されたが，一方には簡便な裝置が多數考案されて，簡易法と稱する報告だけでも10指に餘るほど發表されている．その多くは Manifold type で除濕槽との間の排氣路の設計に工夫をこらしている（第9圖）．そして殆どすべて實驗室向きの小規模な裝置であるが，中には Wyckoff[181] 等のような大型のものもある．（第10圖）



第 11 圖 Shell-freezer (Flosdorf[綜1] による)

又豫備凍結のための特別な裝置として Shell-freezer（第11圖）や Spin-freezer が作られている．

以上は細菌學血清學領域における凍結乾燥法の進歩の過程を主として裝置の點から述べたものであるが，これを供試材料の種類から考えてみると，今日までに殆どあらゆる微生物について凍結乾燥が試みられている．その目的は主として菌株保存のためであるが，Virus のように實際の實驗材料として，又 BCG や Brucella のようにワクチンとして用いられる場合もある．これらを眞空保存すればいずれも數箇月乃至數年間の保存に堪え，耐熱性も極めて大きい．ただ Spirochaeta などは凍結乾燥によつて完全に死滅するし，Yeast も大部分の活力を失う．

血清は抗體，補體の保存の外，血漿と同樣輸血材料として廣く應用されている．

Shackell 以來40年間に發表せられた報告は內外を通じて甚だ多數に上るので，その內容の詳細な紹介は略して，供試材料の種類と報告者だけを一括表示する（第1表）．

## III. 細菌學的製劑，醫藥品その他の凍結乾燥

この分野において採用された凍結乾燥の方法は，たいてい前項にあげたいくつかの方法に倣つたものである．ここでは主としてそれらの應用の點について述べる．

先ず Langner & Forrester (1939)[84] は菌體成分を抽出するために凍結乾燥菌體を Ball mill で機械的に破壞した．Seibert & DuFour (1940)[139] は Tuberculin の精製蛋白が Lyophilization によつて保存できるようになると述べ，Casals (1943)[16] は腦炎 Virus の補體結合反應抗原の作製に凍結乾燥法を應用した．

又 Vitamin, Hormon 劑その他の醫藥品の乾燥にも廣く Lyophilization が利用されているようであるが，具體的な成績はあまり報告されていないらしい．Penicillin についても同樣で，僅かに Welch 等 (1944)[173] 及び Carr & Raddick (1947)[15] が凍結乾燥後の Penicillin 製劑の性狀について論じ，又 Brown 等 (1946)[12] が高周波乾燥と凍結乾燥の併用を試みているのが目につくくらいのものである．その他の生物學的材料については，Johnston (1938)[74] が溶解性の良い乾燥膽汁を作つて臨牀的に應用し，Souter & Kark (1940)[148] が凍乾法によつて安定な Thromboplastin を得て Quick の Prothrombin test を簡單に實施できるようにした．Teague 等 (1942)[161] は屎尿又は乳の保存に凍乾法を利用し，Dounce 等 (1943,[21] 1950[22]) は豚の肝臟から得た

結晶性 Catalase を凍結乾燥すると，乾燥前に比してかなり活性度は減少するが可視部スペクトルの吸收帶はあまり變らないことをみとめている．Hetherington (1944)[57] は組織培養の培養成分として凍結乾燥をした安定な血清を使用し，Farr & Hiller (1946)[29] 及び Drabkin (1946)[25] はいずれも凍結乾燥 Hemoglobin について種々の檢索を行つている．Westfall 等 (1947)[176] は榮養食品としての蛋白性物質の凍結乾燥を行うに當り，その溶液を濃縮しデキストリンを適宜添加し低溫で Shell-freezing をした後乾燥した．Svihla & Osterman (1943)[155] は闊の實を Coconut 液中に浮游させて凍結乾燥を行つた．

（電子顯微鏡と凍結乾燥）

いろいろの蛋白性物質を試料として電子顯微鏡で觀察する場合に，通常の空氣乾燥法によると脫水に伴なう變形を免れないので，凍結乾燥法によつてその變形を最小限度に止めるよう工夫された．Wyckoff (1946,[182] 1947[183]) によれば，Tobacco mosaic virus protein の濃厚溶液では通常の乾燥法では起らないような粒子の特有の配列がみられるという．Pease (1947)[114] は，鹽類を相當濃厚に含んだ溶液でも急速凍結後低溫（−55°C 以下）で乾燥すると鹽は消失するので，電子顯微鏡で觀察するのに支障はないと述べている．

## IV. 組織の凍結乾燥

組織の凍結乾燥は液狀の他の生物學的材料とは多少樣子が異なる．例えば液狀のものに比し一般に乾燥が困難なので完了までに比較的長時間を要するし，また材料の性質上乾燥過程での低溫維持はかなり嚴格に守る必要があるといわれる．

(1) 顯微鏡切片標本*

Altmann (1890)[1] は最初 −15°C～−20°C で組織切片を凍結させて硫酸を入れた眞空乾燥器で脫水していたが，それでは不充分なので，Gersh (1932)[42] は改良法を發表し，液體空氣による凍結，液體アンモニアによる低溫維持，擴散ポンプ使用，5酸化燐による脫水などを行つた．從つて今日では Altmann-Gersh 法と名づけられている．ひきつづき Bensley & Gersh (1933)[8] 及び Bensley & Hoerr (1934)[9] の一連の研究があり，更に Hoerr (1936)[63] は凍結に液體空氣で冷した Isopentane (−131°C) を用い蒸發器を −33°C に保ち，3段の擴散ポンプを使用し，又 −130°C から −30°C への溫度上昇を緩徐にするなど種々の點で改良を圖つた．一方，植物細胞について Scott (1933)[135] は顯微灰像法に，又 Goodspeed & Uber (1934)[46] は Lilium long. の染色體構造の檢索に凍結乾燥法を應用した．更に Scott & Williams (1936)[137] は Simplified cryostat と稱して，試料溫度を自動的に調節できる金屬製の裝置を考案した．これは內套が蒸發槽，外套が凝結槽で，內から出た水蒸氣はすぐ外壁で凝結するようになつている．又 Wang & Grossman (1949)[166] は Dry ice と Dimethoxytetraglycol を用いて組織溫度を −31°C に數日間

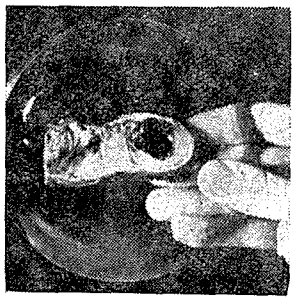
* 中島・辻井・直良(綜9)の綜說を參照されたい．

保ち，Drierite と Dry ice による Cold trap とを吸濕に用いた．Richins (1948)[122] は Vasomotor activity を知る目的で，藥物處置後の鼠の內臟血管像をそのままの狀態で觀察できるように凍結後剔出，更に乾燥して顯微鏡標本を作つた．Koonz 等 (1939)[77] は筋肉組織中にできる氷の結晶の狀態を凍結乾燥標本からしらべている．

以上は主として形態學に關するものであるが，近來組織化學的な應用の範圍もかなり廣くなつてきた．例えば Phosphatase[165] や Glykogen[90] の組織內分布狀態を知るために利用せられ，從來の通常の固定法による場合と比較してかなり異なつた所見がみとめられている．更に最近では放射性同位元素を用いた組織化學的研究[85][87][66]にも應用されて，その特色をよく發揮しつつある．

(2) 大きな組織固定標本

Strumia & Hershey (1948)[153] はもつと大きな組織（ただし厚さは 1 cm くらいまで）の固定標本の作製を試みた．卽ち 5～7 日間を要して凍結乾燥を行つた組織を Plastic を用いて包埋するのである．この標本の特徵は，組織が收縮せずに原形を保つていること，色彩の變らないこと，破損や變質のおそれの全然ないことなどにあると思われる．（第 12 圖）



**第 12 圖** Plastic 包埋組織標本 (Strumia & Hershey)[153]

(3) 移植用組織

移植用の組織も凍結乾燥することによつて長期保存が可能になるという．例えば Weiss (1943, 1944) や Taylor (1944) はウサギ，ネコ，サルの神經[107][170]，或は血管（動脈）[168]の凍結乾燥片を移植した結果を形態的機能的に檢索している．更にオタマジヤクシや山椒魚の幼蟲の各種組織[171]，鼠の角膜[172]についても同樣の實驗を試み，いずれの場合でも他の方法で保存したものより良い結果を得ている．Taylor (1944, 1945)[159] は特に神經を用いての凍結乾燥で凍結竝びに乾燥過程の種々の條件，例えば冷却溫度，冷却速度，切片の容積，表層の水分，復水の狀況等についての基礎的な檢討を行い，また組織切片の保存に適する簡單な凍結乾燥裝置を考案している．[158]

## V. 食品の凍結乾燥*

わが國ではまだ實用の域に達していないが，米國では旣に食料品の保存に廣く凍結乾燥法が利用せられている．その特色は，再溶解した場合新鮮なものと殆ど變らぬ風味や色を保持していること，及び Vitamin の損失が極めて僅かであることなどに存すると考えられる．利用の最も盛んなのはオレンジ，レモンその他の果汁である．[13][146] この場合，先にある程度濃縮しておくことが必要で，しかもなるべく低溫での操作が望ましい．また含濕度 1％以下まで乾燥してあれば室溫保存でも 1 年以上 Vitamin C の損失がみられないという．

---

* この項の記述は殆ど Flosdorf の書[綜1]によつた．

肉の乾燥は果汁などに比較していろいろの點で操作が困難となるため，製品は割合高價につく．また脂肪は變性しやすいので豫めなるべく除去しておくのがよい．乾燥卵の報告もある．

カキ，カニ，魚肉等の水産物はそのまま又はひき肉にして乾燥する．

コーヒー，紅茶のエキスは凍結乾燥することによつてその香氣を永く保持できるが，山羊乳ではかえつて凍結乾燥によつて臭味がなくなるといわれる．

また野菜ではエンドウ，ニンジン，ビートなどの乾燥が行われているという．

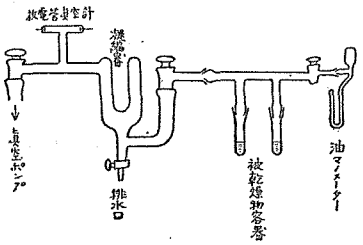
## VI. 本邦における凍結乾燥法の發展

凍結乾燥法に關するわが國での最初の報告は兒玉等（昭13，1938）によるもので，引續き長野，四宮（昭14，1939）は主として Sawyer 等の方法に倣つて乾燥痘苗を作り，實際に人體に接種して優秀な成績を得ている．石黒（1941）もまた同樣の操作で補體及び痘苗の乾燥を行い，特にその耐熱性について吟味した．小笠原（1942）は5酸化燐と低溫凝結器を併用して種々の Virus の乾燥保存を試みた．なお當時戰時中の理由もあつて一般には殆どその實情の知られていなかつた軍關係，特に陸軍軍醫學校防疫學教室においては，內藤中佐（當時）を主班として凍結乾燥に關する基礎理論並びに應用についての廣汎な研究が行われ，報告された論文（部外秘）は30數篇に上るといわれる．その研究の結果，乾燥血漿の工業的生產，細菌 Virus，免疫血淸等の乾燥保存が實用化され，一方，凍結乾燥法の基礎條件について明らかにされた點も少からずあつて，本法の進步に多大の貢獻をなした．ただ惜しむらくは，それらの文獻がいずれも公表されなかつたために具體的なデーターが一般に知られず，僅かに林（1943）の BCG に關する報告が雜誌に發表されたにすぎなかつた．その他吾間（1943）は低眞空側と高眞空側の2段切換式の裝置を用い各種の細菌について乾燥の諸條件を吟味した．また小山等（1942）の大量生產用の噴霧式凍結乾燥法は，その設計意圖の卓越した點において注目すべき研究であつた．更に戰時中には名大より Influenza virus 免疫血淸，補體，BCG，結核菌についての乾燥成績が報告されている．

さて，終戰後は急激に勃興した Penicillin 製造工業に逸早く凍結乾燥法がとり入れられ，從來發表されているいろいろの方法が一通り檢討せられた結果，その量產の成果と相俟つて今日大部分の Penicillin 工場ではヒーター附の乾燥器と低溫凝結器を備えた裝置が用いられるようになつた．これらの工業生產用大型乾燥機について新間，石渡の解說があり，一方，實驗室向きの小型裝置が硝子製は新間（1948）（第13圖），金屬製は松本等（1950）によつてそれぞれ考案され廣く用いられている．

又やや完備した金屬製の小型乾燥機が最近2，3の會社から發賣されるようになつた．

ひるがえつて戰後の國內における研究狀況を眺めるに，その方向は主として Penicillin と BCG にあつたといえよう．Penicillin では裝置についての吟味が多く．BCG では豫防會，抗研，九大等の研究者を中心として，溫度，眞空度，メヂウム，含濕度等に關する實驗がなされ



第13図 硝子製真空乾燥装置（新向[綜6]）

ている．

更に凍結乾燥法の大規模な工業的應用の現況をみるに，前述の如く血漿，Penicillin では既にその裝置操作などがいちおう完成の段階まで達しているが，乾燥 BCG ワクチンの大量生産については今日なお種々の問題が殘されているようである．

次に組織の凍結乾燥では中島等[綜9]の實驗の外に，最近各所で主として組織化學的研究の目的に利用されている模様である．

食品の乾燥については筆者は詳細な狀況を知らないが，前述のようにわが國ではまだ實用の域に達しているとは思われない．

## VII 綜　　括

Altmann[1] 乃至 Shackell[140] によつて凍結乾燥に關する最初の試みがなされて以來今日に至るまでの凡そ半世紀の間に，多くの研究者により裝置並びに操作の基礎的條件について種々の檢討が行われたが，今それらを主な段階に分けてまとめてみると，

1) 容器の形狀：Flosdorf[30][32], 内藤[綜5]

2) 豫備凍結のしかた（液量，表面積と厚さ，flat, slant, plug, shell, spin-freezing）：Elser[28], Flosdorf[30][32], Warren[167], Greaves[49]

3) 眞空蒸發によつて自動凍結を起させる法：Greaves[48], Flosdorf[32], Cooper[19], 根井[104][106]

4) 蒸發器（乾燥器），特に Chamber 式と Manifold 式との比較：Elser[28], Flosdorf[30], 根井[107]

5) 排氣路の構造

(1) 蒸發器と除濕槽を同一容器にしたもの

(i) 蒸發器に吸濕劑を入れたもの：Shackell[140], Hammer[51], Swift[156], Sawyer[128],

(ii) 蒸發器と凝結器を同じ容器に入れたもの：Greaves[49]

(2) Manifold と凝結器の接續に工夫したもの（主として簡易法の意圖する處）

6) 除 濕 法

(1) 低溫凝結：
Flosdorf[30], Greaves[49], Knox[76], Bauer[7], Wyckoff[181], 小山[82], 小林[77], 加藤[75], 櫻井[127], 根井[107]

(2) 吸 濕 劑：
化學的吸濕劑：Shackell[140], Hammer[51], Swift[156], Sawyer[128], Elser[28], Flosdorf[32], Greaves[48], Westfall[176], 内藤[綜5]
物理的吸著劑：Hill[58]

(3) 凝結器と吸濕劑と併用：吾聞[145], 小笠原[110]

(4) ポンプによる直接脱水：Flosdorf[32]

7) 所要眞空度：Flosdorf[30][32] 内藤[綜5], 前田[88], 根井[103], 新間[綜7]

8) 蒸氣壓の測定：Flosdorf[綜3][142][綜7] 新間

9) 溫度の測定，加熱方法：Flosdorf,[30] Greaves,[49] Elser[28] 根井[103][107]

10) 終末點の決定：Greaves[49] 新間[142]

11) 微生物乾燥の場合のメヂウムの種類：Heller,[56] Scherp,[130] 安東,[2] 石黒,[73] 舌間,[143] 小酒井,[81] 加藤,[75] 根井[166]

12) 保存時の眞空度，含濕度，充塡氣體：Naylor,[162] Siedentopf[141] 舌間,[143] 加藤,[75] 櫻井[127] Flosdorf,[31][32] Greaves,[49] Stamp,[150] 前田[88]

なお簡易法と稱して發表されたものは多數に上る．Swift,[157] Ecker,[26] Cooper,[19] Scherp,[131] Mahoney,[59] Bauer,[7] Hill,[58] Taylor,[160] Hall,[50] Strumia,[151] Folsom,[40] Hays,[54] Christensen,[17] Cook,[18] Dykstra,[24] Wells,[171] Polding,[115] Rayner,[121] Wyckoff,[181] Campbell,[14] Pomes,[116] Heckly,[55] Holzman,[67] 松本[91]

最後に蛇足ながら次のことを記しておきたい．卽ち，一般に生物學的材料を長く保存するためには乾燥狀態にしておけばよいことの理由は，

1) 變質しないこと．

2) 無菌的保存の容易なこと．

3) 揮發性成分の損失の少いこと．

などにあると考えられている．

更に凍結乾燥法が通常の乾燥法に優る點としては，

1) 乾燥開始時の泡立ちがない．

2) 多孔質となるので乾燥が完全に行われ乾燥時間も比較的短い．

3) 乾燥が充分に行われるので終末含濕度が小さく保存性が良い．

4) 外觀がきれいである（他の乾燥法によるものと全く異なる）．

5) 多孔性なので溶解性が極めて良好である．

6) 低溫で操作するので變質が少く，原材料の性狀を比較的よく具備する．

ことなどがあげられる．

## VIII. 結　　言

以上，凍結乾燥法が始めて生物學的材料の保存に利用されてから今日の盛況に至るまでの發展のあとをたどつた．特に乾燥方法そのものの紹介を中心とし，各方面への應用の狀況をもなるべくとりいれて述べてきた．ところが半世紀餘に亙る間で，凍結乾燥法に關して發表された文獻は數百にのぼるといわれるのに，そのうち凍結乾燥の機構について基礎的な吟味を行つた研究は比較的僅かしかないことに氣づく．效率の良い乾燥方法の確立や工業的な大型裝置への進步などにめざましい成果をあげて，今日では本方法もほぼ完成の域に達したかの觀はあるけれども，基本的な問題で未だ多くの點に究明の餘地があると考えられる．特に複雜な性狀をもつた生物を對象としてとり扱う場合に，それらをすべて一律な機械的操作をもつて處理しても

決して滿足すべき結果は得られぬのではなかろうか.

最後に,各研究室で容易に實施できるような小型簡易裝置による本法の普及化を期待してやまない.

## 文 獻


1) Altmann, R. 1890 Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zur den Zellen. Leipzig.
2) 安東清 1941 乾燥痘苗に關する研究,陸醫校防研報告. 2, 198.
3) 阿多實茂, 辛鈞 1944 凍結乾燥による結核菌に就て,生物學的製劑の凍結乾燥に關する研究 (3). 日本醫學, 3385, 777.
4) Appleman, M. D. & Sears, O. H. 1946 Studies on lyophiled cultures: Lyophile storage of cultures of Rhizobium leguminosarum. J. Bact., **52**, 209.
5) Atkin, L., Moses, W.& Gray, P. P. 1949 The preservation of yeast cultures by lyophilization. J. Bact., **57**, 575.
6) Barker, J., Gane, R. & Mapson, L. W. 1946 The quality of green peas dried in the frozen state. Food Manufacture, **21**, 345.
7) Bauer, J. H. & Pickels, E. G. 1940 Apparatus for freezing and drying virus in large quantities under uniform conditions. J. Exp. Med., **71**, 83.
8) Bensley, R. R. & Gersh, I. 1933 Studies on cell structure by the freezing drying method. Anat. Rec., **57**, 205, 217, 369, **58**, 1.
9) Bensley, R. R. & Hoerr, N. L. 1934 Studies on cell structure by the freezing drying method. Anat. Rec., **60**, 251, 449.
10) Boell, E. J. 1945 Cholinesterase activity of peripheral nerves. J. Cell. Comp. Physiol., **25**, 75.
11) Boerner, E. & Lukens, M. 1936 The advantages of vacuum dried complement for use in the routine Wassermann reaction. Am. J. Med. Sci., **192**, 272.
12) Brown, G. H., Bierworth, R. A. & Hoyler, C. N. 1946 Radio-frequency dehydration of penicillin solution. Waves and Electron, Feb.
13) Burton, L. V. 1947 High vacuum techniques utilized for drying orange juice. Food Res., **19**, 107.
14) Campbell, D. H. & Pressman, D. 1944 Scientific apparatus and laboratory methods- A simplified lyophile apparatus. Science, **99**, 285.
15) Carr, C. & Riddick, J. A. 1947 Hygroscopicity of penicillin salts. Ind. Eng. Chem., **39**, 1021.
16) Casals, J. 1943 Non-virulent frozen and dried antigens for complement fixation tests with central nervous system virus infections. Science, **97**, 337.
17) Christensen, L. R. 1942 A simplified "lyophile" desiccator for small laboratories. J. Lab. Clin. Med., **27**, 799.
18) Cook, D. H. 1942 A low temperature vacuum drying apparatus. J. Chem. Educ., **19**, No. 9.
19) Cooper, M. L. & Grabill, F. J. 1939 A simplified apparatus for the preservation of bacterial cultures in the dried state. J. Lab. Clin. Med., **25**, 184.
20) Craigie, J. 1931 A method of drying complement from the frozen state. Brit. J. Exp. Path., **12**, 75.
21) Dounce, A. & Howland, J. W. 1943 A study of crystalline beef liver catalase dried in the frozen state. Science, **97**, 21.
22) Dounce, A. & Schwalenberg, R. R. 1950 Further investigations of the reducibility of lyophilized catalase. Ibid., **111**, 654.

23) Drabkin, D. L. 1946 The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species. J. Biol. Chem., **164**, 703.

24) Dykstra, T. P. & Dubuy, H. B. 1942 Preserving plant viruses in vitro by means of a simplified lyophile apparatus. Science, **96**, 189.

25) 海老名敏明, 加藤慶五, 小林達郎, 1947 BCG ワクチンの凍結眞空乾燥に關する研究, 抗研誌, **1**, 1.

26) Ecker, E. E. & Pillemer, L. 1938 An inexpensive method for the dehydration and preservation of complement and other biological materials. Am. J. Publ. Health, **28**, 1231.

27) Edwards, F. R., Kay, J. & Davie, J. B. 1940 The preparation and use of dried plasma for transfusion. Brit. Med. J., **1**, 377.

28) Elser, W. J., Thomas, R. A. & Steffen, G. I. 1935 The desiccation of sera and other biological products (including micro-organisms) in the frozen state with the preservation of the original qualities of products. J. Immunol., **28**, 433.

29) Farr, L. E. & Hiller, A. 1946 Preparation of dried hemoglobin without loss of activity. Federation Proc., **5**, 133.

30) Flosdorf, E. W. & Mudd, S. 1935 Procedure and apparatus for preservation in "lyophile" form of serum and other biological substances. J. Immunol., **29**, 389.

31) Flosdorf, E. W. & Webster, G. W. 1937 The determination of residual moisture in dry biological substances. J. Biol. Chem,, **121**, 353.

32) Flosdorf, E. W. & Mudd, S. 1938 An improved procedure and apparatus for preservation of sera, micro-organisms and other substances: the Cryochem-process. J. Immunol., **34**, 469.

33) Flosdorf, E. W., Stokes, F. J. & Mudd, S, 1940 The desivac process for drying from the frozen state. J. A. M. A., **115**, 1095.

34) Flosdorf, E. W. & Kimball, A. C. 1940 Studies with H. pertussis. Ⅱ: J. Bact., **39**. 255.

35) Flosdorf, E. W., Boerner, F., Lukens, M. & Ambler, T. S. 1940 Cryochem-preserved complement of guinea pig serum. Am. J. Clin. Path., **10**. 339.

36) Flosdorf, E. W., McGuinness, A. C., Kimball, A. C. & Armstrong, J. G. 1941 Studies with H. pertussis. VII. J. Pediat., **19**, 638.

37) Flosdorf, E. W., Hull, L. W. & Mudd, S. 1945 Drying by sublimation. J. Immunol., **50**, 21.

38) Flosdorf, E. W. 1945 Advances in drying by sublimation. J. Chem. Educ., **22**, 470.

39) Flosdorf, E. W. 1947 Freeze-drying as applied to penicillin, blood plasma and orange juice. Chem. Eng. Progr. **43**, 343.

40) Folsom, T. R. 1942 A method for drying clinically useful quantities of plasma and serum: the unit desiccator. Blood substitutes and blood transfusion, p. 49.

41) Friedgood, H. B., Haagen-Smit, A. J., Garst, J. B. & Steinitz, L. 1947 The concentration and preservaiton of urinary substances by lyophilization. Science, **105**, 99.

42) Gersh, I. 1932 The Altmann technique for fixation by drying while freezing. Anat. Rec., **53**, 309.

43) Gersh, I. 1948 Application in pathology of the method of fixation by freezing and drying of tissues. Bull. Intern. Assoc. Med. Mus., **28**, 179.

44) Gersh, I. 1949 A protein component of the Golgi apparatus. Arch. Path., **47**, 99.

45) Gersh, I. & Catchpole, H. R. 1949 The organization of ground substance and basement membrane and its significance in tissue injury, disease and growth. Am. J. Anat. **85**, 457.

46) Goodspeed, T. H. & Uber, F. M. 1934 Application of the Altmann freezing-drying technique to plant cytology. Proc. Nat. Acad. Sci., **20**, 495.

47) Goresline, H, E. 1947 A desiccation of bacteriological standards for dehydrated foods. Am. J. Publ.

Health, **37**, 1277.

48) Greaves, R. I. N. & Adair, M. E. 1936 A simple method for the preservation of sera by desiccation in the frozen state without the use of refrigerants. J. Hyg., **36**, 507.

49) Greaves, R. I. N. & Adair, M. E. 1939 High vacuum condensation drying of proteins from the frozen state. J. Hyg., **39**, 413.

50) Hall, W. K., Fader, D. E. & Decherd, G. M. 1940 A simple method of preparing dried serum proteins for therapeutic use. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **44**, 390.

51) Hammer, B. W. 1911 A note on the vacuum desiccation of bacteria. J. Med. Res., **24**, 527.

52) Harris, D. L & Shackell, L. F. 1911 J. Am. Publ. Health Assoc., **7**, 52.

53) 林武夫, 1943, 1944 BCG 乾燥ツクチンに關する研究, 日醫雜誌, **3355**, 1802, **3370**, 367,

54) Hays, E. E. & Koch, F. C. 1942 An apparatus for vacuum drying in the frozen state. Science, **95**, 633.

55) Heckly, R. J. 1947 A simple lyophilizing apparatus for laboratory use. J. Immunol., **54**, 91.

56) Heller, G. 1941 A quantitative study of environmental factors involved in survival and death of bacteria in the desiccated state. J. Bact., **41**, 109.

57) Hetherington, D. C. 1944 Frozen-dried serum as a medium constituent for tissue cultures. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **57**, 196.

58) Hill, J. M. & Pfeiffer, D. C. 1940 A new and economical desiccating process particularly suitable for the preparation of concentrated plasma or serum for intravenous use: the Adtevac process. Ann. Int. Med, **14**, 201.

59) Hill, J. M., Muirhead, E. E., Ashwarth, C. T. & Tiggert, W. D. 1941 The use of desiccated plasma with particular reference to shock. J. A. M. A., **116**, 395.

60) Hill, J. M. & Muirhead, E. E., 1942 Desiccated plasma for national defense. J. Lab Clin. Med., **27**, 812.

61) Hirshmann, D. J. & Lightbody, H. D. 1947 Rosazurin reduction test and microbiology of egg powders prepared by lyophilization. Food Res., **12**, 372,

62) Hirshmann, D. J. & Lightbody, H. D. 1947 Effect of bacteria on quality of stored lyophilized egg powders. Food Res., **12**, 381.

63) Hoerr, N. L. 1936 Cytological studies by the Altmann-Gersh freezing-drying method. I. Anat. Rec., **65**, 293.

64) Hoerr, N. L. & Scott, G. H. 1948 Frozen-dehydration method for histologic fixation. Med. Phys., p. 466.

65) Hoffstadt, R. E. & Tripi, H. B. 1946 Study of the survival of certain strains of viruses after lyophilization and prolonged storage. J. Inf. Dis., **78**, 183.

66) Holt, M. W., Cowing, R. F. & Warren, S. 1949 Preparation of radioautographs of tissues without loss of water-soluble $P^{32}$ Science, **110**, 328.

67) Holzman, G. 1950 A laboratory lyophile apparatus. Ibid., **111**, 550.

68) 堀川高大 1942 生物學的製劑の凍結乾燥に關する研究 (I) 名古屋醫會誌, **56**, 459.

69) 〃 1943 〃 (II) 〃 **57**, 81.

70) Hughes, J., Mudd, S. & Strecker, E. A. 1938 Reduction of increased intra-cranial pressure by concentrated solution of human lyophile serum. Arch. Neuro. Psychiat., **39**, 1277.

71) Ishiguro, K. 1941 Preservation of complement by drying it from the frozen state. Jap. J. Med. Sci., VI., **2**, 9.

72) 石黑慶之助 1941 凍結乾燥による補體の保存に就て, 北海道醫誌, **19**, 203.

73) 石黒慶之助 1942 凍結乾燥痘苗の溫熱に對する抵抗に就て，北海道醫誌 **20**, 703.
74) Johnston, C. G. 1938 Surg., **3**, 875.
75) 加藤慶五 1947 凍結眞空乾燥 BCG ワクチンの研究．抗研誌，**2**, 20.
76) Knox, R. 1939 Desiccation of filtrable tumours and other biological materials. J. Path. Bact., **49**, 467.
77) 小林達郎 1947 凍結眞空乾燥法による乾燥 BCG ワクチン調製並びに保存上の諸條件に就て．抗研誌，**1**, 8.
78) 兒玉威 1938 低溫乾燥による菌株の保存に就て，關西醫事，**379**, 8.
79) 小南清 1949 ライオフイル法による菌の保存について，豫報，ペニシリン，**2**, 546.
80) Koonz, C. H. & Ramsbottom, J. M. 1939 A method for studying the histological structure of frozen products. I. Food. Res., **4**, 117.
81) 小酒井望 1949 乾燥痘苗に關する知見補遺，新潟醫誌，**63**, 409.
82) 小山榮二，茂貫利次，村上忠夫 1942 流動物質の極低溫乾燥法研究（豫報）日新醫學，**31**, 419.
83) Krejci, L. E. 1942 The effect of drying from the frozen state on the physicochemical propertics of citrated human blood plasma. J. Franklin Inst., **234**, 596.
84) Langner, P. H., Jr. & Forrester, J. S. 1939 The disintegration of bacteria by mechanical means. J. Immunol., **37**, 133.
85) Lebland, C. P. 1943 Stain Tech., **4**, 159.
86) Leslie, J. 1818 On a new mode of artificial congelation. Phil. Mag., **51**, 411.
87) Libby, R. L. 1947 The use of tagged antigens in immuno-chemical studies. Transa. New York Acad. Sci., May, 248.
88) 前田繁，三代勘三郎，松本嘉雄 1948 ペニシリン製造裝置の研究，I，ペニシリン，**2**, 137.
89) Mahoney, E. B. 1938 A study of experimental and clinical shock with special reference to its treatment by the intravenous injection of preserved plasma. Ann. Surg., **108**, 178.
90) Mancini, R. E. 1949 Medicina, **7**, 327.
91) 松本利貞，蜂須賀養悅 1950 研究室用の簡單な凍結乾燥裝置について，醫學と生物學，**17**, 166
92) McGuinness, A, C., Stokes, J., Jr. & Mudd, S. 1937 The clinical use of human serums preserved by the lyophile process. J. Clin. Invest., **16**, 185.
93) McGuinness, A. C., Stokes, J. Jr. & Armstrong, J. G. 1943 Vacuum-dried human serums in the prevention and treatment of certain of the common communicable diseases: an 8-year study. Am. J. Med. Sci., **205**, 826.
94) McGuinness, A. C., Armstrong, J. G. & Felton, H. 1944 Hyperimmune whooping-cough serum. J. Pediat., **24**, 249.
95) Morse, R. S. 1947 High vacuum technology. Ind. Eng. Chem., **39**, 1064.
96) Morton, H. E. & Pulaski, E. J. 1938 The preservation of bacterial cultures. J. Bact., **35**, 163.
97) Mudd, S., Flosdorf, E. W., Eagle, H., Stokes, J. Jr. & McGuinness, A. C. 1936 The preservation and concentration of human serums for clinical use. J. A. M. A., **107**, 956.
98) Munce, T. W. & Reichel, J. 1943 The preservation of hog-cholera virus by desiccation under high vacuum. Am. J. Veterin. Res., **4**, 270.
99) 長野泰一，四宮定吉 1939 耐熱痘苗の研究，東京醫誌，**3159**, 2750.
100) 長野泰一，四宮定吉，佐伯潔 1941 乾燥痘苗の人體接種成績，日醫雜誌，**3241**, 1806.
101) 長野泰一，佐伯潔 1944 乾燥痘苗に就て，日本臨牀，**2**, 465.
102) Naylor, H. B. & Smith, P. A. 1946 Factors affecting the viability of Serratia marcescens during dehydration and storage. J. Bact., **52**, 565.

103) 根井外喜男，田村浩一 1950 生物學的材料の凍結乾燥法 I，北海道醫誌，**25**, 200.
104) 根井外喜男，山崎貴，田村浩一 1950 〃 II, 〃 **25**, 249.
105) 根井外喜男，竹田政民，小田柿栄一郎 1948 ペニシリンの乾燥についての 2, 3 の試み，ペニシリン，**2**, 581.
106) 根井外喜男，佐藤徹 1950 生物學的材料の凍結乾燥法 IV，東京醫誌，**67**, No. 12, 9.
107) 根井外喜男，佐藤徹 1951 〃 V, 〃 **68**, No. 1, 20.
108) 野口 1942 弱毒ペスト菌の凍結眞空乾燥法による生存保存法の研究，I～VII，陸醫技防研報告，2部，208, 216, 262, 444, 445, 464.
109) Nymon, M. G., Gunsales, I. C. & Gortner, W. A. 1945 An application of the lyophile process to the maintenance of cultures for micro-biological assay. Science, **102**, 125.
110) 小笠原一夫 1942 微生物學的材料の凍結乾燥について，日醫雑保，**3313**, 2641.
111) 緒方規雄，吉井宗武 1943 デング熱病毒の分離，保存及び性狀に關する研究，日醫雑保，**3338**, 1124.
緒方規雄，橋本治雄 1944 デング熱病毒の體外に於ける生存期間竝びにその保存法，日本醫學，**3379**, 639.
112) 大蘭卓，宮本高明，山口修，太田雋一 1947 ペニシリンの凍結乾燥，I，ペニシリン，**1**, 73.
113) 太田 1943 瓦斯壞疽血清の精製濃縮及び凍結乾燥操作による抗毒素價の動搖について，陸醫技防研報告，**2**, 481.
113)′ Otten, .L, 1927 Trockenlymphe. Zschr. Hyg., **107**, 677, 1930 Die Trockenkonservierung von pathogenen Bakterien. Zbl. Bakt., **116**, 199.
114) Pease, D. C. 1947 The disappearance of salt from glass ice during low-temperature dehydration, and its implication in electron microscopy. Science, **106**, 543.
115) Polding, J. B. 1943 A simple method of preserving bacteria dried in vacuo. J. Path. Bact., **55**, 502.
116) Pomes, A. F. & Irving, G. W., Jr. 1945 Lyophilization apparatus. Science, **101**, 22.
117) Pratt, H. K. & Yamaguchi, M. 1950 Modified laboratory lyophile apparatus. Ibid., **112**, 560.
118) Probey, T. F. 1947 Loss of virulence of Treponema pallidum during processing of dried blood serum. Publ. Health Rep., **62**, 1199.
119) Railton, I. R., Cunningham, B. & Kirk, P. L. 1941 The preparation of steril proteins in the "lyophiled" state. Science, **94**, 469.
120) Rake, G. 1935 Viability and virulence of frozen and dried cultures of meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **32**, 975.
121) Rayner, A. G. 1943 A simple method of the preservation of cultures and sera by drying. J. Path. Bact., **55**, 373.
122) Richins, C. A. 1948 Use of the freezing-drying technique for study of vasomotor activity. Science, **107**, 25.
123) Rivers, T. M. & Ward, S. M. 1935 Jennerian prophylaxis by means of intradermal injections of culture vaccine virus. J. Exp. Med., **62**, 549.
124) Robertis, E. 1941 The intracellular colloid of the normal and activated thyroid gland of the rat studies by the freezing-drying method. Am. J. Anat., **68**, 317.
125) Roe, A. F. 1936 Preserving anaerobes by desiccation. J. Bact., **31**, 28.
126) Rogers, L. A. 1914 The preparation of dried cultures. J. Inf. Dis., **14**, 100.
127) 櫻井栄 1950 乾燥 BCG ワクチンの乾燥條件に關する研究，抗研誌，**6**, 1.
128) Sawyer, W. A,, Lloyd, W. D. M. & Kitchen, S. F. 1929 The preservation of yellow fever virus. J. Exp. Med., **50**, 1.
129 Schade, A. L. & Caroline, L. 1943, 1944 The preparation of a polyvalent dysentery bacteriophage

in a dry and stable form. J. Bact., **46**, 463, **48**, 179, 243.

130) Scherp, H. W., Flosdorf, E, W. & Shaw, D. R. 1938 Survival of the influenzal virus under various conditions. J. Immunol., **34**, 447.

131) Scherp, H. W., & Hughes, T. P. 1939 A simple and inexpensive apparatus for the desiccation of biological materials from the frozen state. Ibid., **36**, 29.

132) Schroeder, A. L. & Cotton. R. H. 1948 Dehydration of orange juice. Ind. Eng. Chem., **40**, 803.

133) Schroeder, A. L. & Schwarz, H. W. 1949 Low temperature vacuum dehydration. Chem. Eng. Progr., **45**, 370.

134) Schwarz, H. W. 1948 Dehydration of heat-sensitive materials. Ind. Eng. Chem., **40**, 2028.

135) Schwarz, H. W. & Penn, F. E. 1948 Production of orange juice concentrate and powder. Ibid., **40**, 938.

136) Scott, G. H. 1933 Protoplasma, **20**, 133.

137) Scott, G. H. & Williams, P. S. 1936 A simplified cryostat for the dehydration of frozen tissues. Anat. Rec., **66**, 475.

138) Seegers, W. H. 1945 Arrangement for drying proteins from the frozen state. Science, **101**, 284.

139) Seibert, F. B. & DuFour, E. H. 1940 Methods of preserving the tuberculin protein. Am. Rev. Tuberc., **41**, 471.

140) Shackell, L. F. 1909 An improved method of desiccation, with some applications to biological problems. Am. J. Physiol., **24**, 325.

141) 辛鈞 1942 インフルエンザ, ウイールスに感染せるマウス肺乳劑竝びにその凍結乾燥せる粉末の溫熱に對する抵抗性について, 名古屋醫誌. **56**, 347.

142) 新間啓三 1947 凍結乾燥に就て, ペニシリン, **1**, 52.

143) 舌間慶太郎 1943 冷凍乾燥法による菌株保存, 日微生物誌, **37**, 475.

144) Siedentopf, H. A. & Green, R. G. 1942 Factors in the preservation of the distemper virus. J. Inf. Dis., **71**, 253.

145) Siler, J. F. 1936 Typhoid vaccine studies. Am. J. Publ. Health, **26**, 219.

146) Sluder, J. C., Olsen, R. W. & Kenyon, E. M. 1947 A method for the production of dry powdered orange juice. Food Res., **1**, 85.

147) Smadel, J. E., Randall, R. & Warren, J. 1947 Preparation of Japanese encephalitis vaccine. Bull. U. S. Army Med. Dept., 963.

148) Souter, A. W. & Kark, R. 1940 Quick's prothrombin test simplified by the use of a stable thromboplastin. Am. J. Med. Sci., **200**, 603.

149) Speck, M. L. & Meyers, R. P. 1946 The viability of dried skim-milk cultures of Lactobacillus bulgaricus as affected by the temperature of reconstitution. J. Bact., **52**, 657.

150) Stamp, L. 1947 The preservation of bacteria by drying. J. Gen. Microbiol., **1**, 251.

151) Strumia, M. M, McGraw, J. J. & Reichel, J. 1941 The preparation and preservation of human Plasma. IV. Am. J. Clin. Path., **11**, 480.

152) Strumia, M. M, & McGraw, J. J. 1942 A method and apparatus for shell-freezing and rapid drying of plasma and other products from the frozen state by low temperature water vapor condensation in vacuo. J Lab. Clin. Med., **28**, 1140.

153) Strumia, M. M., & Hershey, J. I. 1948 Imbedding of pathologic specimens in transparent plastic. Ibid., **33**, 1311.

154) 鈴木幸朗 1949 Penicillin 及び Streptomycin 生産菌の培養に關する研究 I, ペニシリン, **2**, 660.

155) Svihla, R. D. & Osterman, E. 1943 Growth of orchid seeds after dehydration from the frozen

state. Science, **98**, 23.

156) Swift, H. F. 1921 Preservation of stock cultures of bacteria by freezing and drying. J. Exp. Med., **33**, 69.

157) Swift, H. F. 1937 A simple method for preserving bacterial cultures by freezing and drying. J. Bact., **33**, 411.

158) Taylor, A. C. 1944 Apparatus for the freezing-drying of tissues for storage. J. Lab. Clin. Med., **29**, 657.

159) Taylor, A. C. 1945 The rate of freezing, drying and rehydration of nerves. J. Cell. Comp. Physiol., **25**, 161.

160) Taylor, A. C. & Beard, J. W. 1940 An inexpensive apparatus for drying from the frozen state. Science, **92**, 611.

161) Teague, D. M., Galbraith, H., Hummel, F. C., Williams, H. H. & Macy, I. G. 1942 Effects of desiccation procedures on the chemical composition of feces, urine and milk. J. Lab. Clin. Med., **28**, 343.

162) 戸田忠雄, 香間慶太郎, 平野豊, 山田倫子 1946 BCG 乾燥ワクチンの研究, 日本醫學, **3400**, 10.

163) 戸田忠雄, 中川洋, 香間慶太郎, デング熱病原體に關する研究, 日本醫學, **3369**, 338 (1944) 臨牀と研究, **23**, 155, (1946) 東京醫誌, **67**, No. 6, 3, (1950)

164) Tucker, W. H. & Sherwood, T. K. 1948 Ind. Eng. Chem., **40**, 832.

165) Wang, K. J. & Grossman, M. I. 1949 Histochemical study of alkaline phosphatase in tissue prepared by the freezing drying method. Anat. Rec., **104**, 79.

166) Wang, K. J. & Grossman, M.I. 1949 A simplified vacuum dehydration technique for the preparation of sections by freezing-drying. J. Lab. Clin. Med., **34**, 292.

167) Warren, J. 1947 A machine for shell-freezing biological materials in small glass ampoules. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **66**, 381.

168) Weiss, P. 1943 Nerve reunion with sleeves of frozen-dried artery in rabbits, cats and monkeys. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **54**, 274.

169) Weiss, P. 1943 Functional nerve regeneration through frozen-dried nerve grafts in cats and monkeys. Ibid., **54**, 277.

170) Weiss, P. 1943 Repair of peripheral nerves by grafts of frozen-dried nerve. Ibid., **52**, 326.

171) Weiss, P. 1944 The morphogenetic properties of frozen-dried tissues. Anat. Rec., **88**, 48.

172) Weiss, P. & Taylor, A. C. 1944 Transplantation of frozen-dried cornea in the rat. Anat. Rec., **88**, 49.

173) Welch, H., Grove, D. C., Davis, R. P. & Hunter, A. C. 1944 The relative toxicity of six salts of penicillin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 246.

174) Weils, A. H. 1943 A simple, inexpensive apparatus for high vacuum desiccation with a review of its laboratory uses. Am. J. Clin. Path., **13**, No. 1.

175) Wertman, K. & Plotz, H. 1944 Presence of typhus antibodies in commercial frozen and dried complement. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **55**, 29.

176) Westfall, R. J., Miller, O. & Westfall, I. S. 1947 A method of drying partial protein hydrolysates and other hygroscopic materials for nutritional studies. Science, **105**, 530.

177) Wickerham, L. J. & Andreasen, A. A. 1942 The lyophile process: its use in the preservation of yeasts. Wallerstein Labs. Comm., **5**, 165.

178) Wickerham, L. J. & Flickinger, M. H. 1946 Viability of yeast preserved two years by the lyophile process. Brewers Digest, **21**, 48.

179) Woilaston, W. H. 1814 On a method of freezing at a distance. Phil. Trans. Royal Soc. London, **103**, 71,

180) Wooley, J. G. 1939 The preservation of lymphocytic choriomeningitis and St. Louis encephalitis viruses by freezing and drying in vacuo. Publ. Health Rep., **54**, 1077.

181) Wyckoff, R. W. G. & Lagsdin, J. B. 1944 A simple outfit for drying plasma from the frozen state. Am J. Clin. Path., 8, Tech. Sec., 10.

182) Wyckoff, R. W. G. 1946 Frozen-dried preparations for the electron microscope. Science, **104**, 36.

183) Wyckoff, R. W. G, 1947 Electron micrographs from concentrated solutions of the tobacco mosaic virus protein. Bioch. Biophys. Acta, **1**, 139.

184) 矢追秀武，多ケ谷勇，吉野龜三郎 1950 百日咳菌の保存に關する研究，日本細菌學雜誌，**5**, 39.

185) 學術振興會第8小委員會記錄.

以上の文獻中一部のものは原著に接することができず，Flosdorf の書[1]及び中島等の綜說[9]よりそのまま引用した.

**參考書** 凍結乾燥法の綜說としては次に揭げるようなものがある，

1) Flosdorf, E. W. 1949 Freeze-Drying (Drying by sublimation). Reinhold Publ. Corp., N. Y.

2) Flosdorf, E, W. 1950 Quick-freezing and the freezing-drying process. Biophysical Research Methods,

3) Flosdorf, E. W., Hull, L. W. & Mudd, S. 1945 Drying by sublimation J. Immunol. **50**, 21.

4) Greaves, R. I. N. 1946 The preservation of proteins by drying with special reference to the production of dried human serum and plasma for transfusion. Med. Res. Council, Spec. Rep. Serv., No. 258.

5) 內藤良一 1943 血清等の凍結眞空乾燥法，陸軍々醫學校防疫研究報告，2部 715 號.

6) 新間啓三 1948 ペニシリンその他の眞空乾燥，最近の眞空技術とその應用（コロナ社）177.

7) 新間啓三 1949 眞空乾燥，化學機械，**13**, 120.

8) 石渡憲治 1950 眞空冷凍乾燥器，冷凍，**25**. No. 275, 14.

9) 中島雅男，辻井禎，直良博人 1950 凍結乾燥による顯微鏡切片標本の製作法，科學，**20**, 204.

10) 緒方富雄 1944 低溫と乾燥と保存，科學，**14**, 272.

11) 秋元壽惠夫 1951 保存血液と乾燥血漿，自然，**6**, 60.

12) 加藤勝治 1951 血漿の凍結と乾燥，輸血學（南山堂）297.

1) は本法に關する唯一の單行本. 2)～5) はやや詳細な解說. 6)～8) は主として大型の裝置並びに操作の說明. 9) は組織標本の製法. 10) 11) は一般向きの平易な解說である.