



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	生物学的材料の凍結乾燥法. 第6報. : 種々なメヂウムを用いた細菌浮游液の乾燥
Author(s)	根井, 外喜男; NEI, Tokio; 佐藤, 徹 他
Citation	低温科學, 8, 179-182
Issue Date	1951-12-30
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/17517">https://hdl.handle.net/2115/17517</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	8_p179-182.pdf



## 生物學的材料の凍結乾燥法

### 第6報 種々なメヂウムを用いた細菌浮游液の乾燥

根井外喜男 佐藤 徹

(低温科学研究所 医学部門)

有馬 純

(結核研究所)

(昭和26年8月受理)

血清などと異つて、微生物を乾燥する場合には、その生活力をなるべく障害せずにかかも永く保存できるような状態にすることが肝要である。かかる条件を満足するためには凍結乾燥法の利用が最適と言われるが、此の際特に材料たる菌液のメヂウムの吟味が必要となる。ところでこのメヂウムの種類によつて乾燥の経過並に乾燥後の性状に如何なる影響を及ぼすかについては従来も多少の関心をもたれ、幾つかの報告<sup>(1)~(8)</sup>があるが、吾々も亦かかる点に關して追試検討を行つて、次のような成績を得た。

**實驗方法** Bact. coli communior を普通寒天に37°C24時間培養して得た新鮮菌を蒸溜水にて3回洗滌し、先ず1mg/ccの蒸溜水浮游液を作つて之を原液とし、更に次のような各種メヂウムに等量に加えて菌液を作つた。即ち

- 1) 蒸溜水
- 2) 無機塩類：1.7%食塩水
- 3) 炭水化物：2%キシロース，2%ガラクトース，2%ブドウ糖，2%麦芽糖，2%乳糖，20，10，2%蔗糖，2，1%澱粉，2%糊精，2，1%アラビヤゴム
- 4) 蛋白質：2，1，0.2%ゼラチン，原液，50，20，2%血清(ウサギ，56°C30分非働化)，原液，20，2%脱脂乳(乳糖を含む)

などを平底試験管(内径1.6cm，高さ6.8cm)に0.5c.c宛分注してデシケーターに納め、-30°Cの低温室にて空気冷却によつて凍結した後、凍結乾燥装置に装着して乾燥を行つた。乾燥器は低温凝縮器(液体空気により冷却されたトラップ)と廻転型油眞空ポンプ(この装置での眞空度0.01~0.001 mmHg. 排氣量200 l/min)とより成る。

成績の判定に當つては乾燥製品の外觀，性状に規準をおくとともに乾燥前後の生菌数を比較することによつて菌のうける障害の程度を検討した。なお対照として凍結乾燥のものと同条件で凍結させ室温で融解した凍結融解菌についても生菌数をしらべた。

**実験成績** 各種メヂウムについて3回ずつ実験した結果を、無処置対照液に於ける生菌数に対して凍結融解並に凍結乾燥後の生菌数をそれぞれ百分率で表わし3例の平均値で示すと表の通りである。

凍結融解又は凍結乾燥後の大腸菌の生残率  
(無処置対照を100として%で示す)

媒 液		方 法	凍 結 融 解	凍 結 乾 燥
	蒸 溜 水 (対照)		84.1%	52.3%
塩類	生 理 食 塩 水 (0.85%)		33.3%	23.8%
炭 水 化 物	キシロース (1%)		86.8%	69.7%
	ガラクトース (1%)		93.0%	64.9%
	葡 萄 糖 (1%)		92.6%	86.3%
	麦 芽 糖 (1%)		84.9%	68.4%
	乳 糖 (1%)		92.3%	76.0%
	蔗 糖 (10%)		93.4%	78.0%
	〃 (5%)		93.2%	84.3%
	〃 (1%)		96.1%	91.9%
	澱 粉 (1%)		85.6%	63.7%
	〃 (0.5%)		84.8%	74.5%
蛋 白 質	糊 清 (1%)		83.0%	60.0%
	アラビアゴム (1%)		88.5%	71.4%
	〃 (0.5%)		86.3%	68.6%
	ゼ ラ チ ン (1%)		73.9%	41.3%
	〃 (0.5%)		85.6%	50.0%
	〃 (0.1%)		80.2%	30.9%
	兔 血 清 (50%)		87.0%	55.3%
	〃 (25%)		75.2%	50.4%
質	〃 (10%)		74.2%	41.1%
	〃 (1%)		86.5%	30.5%
	脱 脂 乳 (50%)		92.4%	89.9%
	〃 (10%)		90.0%	84.3%
〃 (1%)		83.3%	46.0%	

その成績を通覧するに、どのメヂウムに於ても凍結融解によつて菌が障害されて生菌数の減少することがみとめられる。その生残率は概ね80~90%であるが、ひとり生理食塩水だけは33%に減じている。次に凍結乾燥を行つたものでは凍結融解によるものより更に一層死滅して、生残率は多くても70~80%、少いものでは30~40%まで減少し、生理食塩水の如きは僅かに20%台にすぎない。又炭水化物中では蔗糖、蛋白質では脱脂乳が最も生残率が多く、蔗糖の1%、5%、10%では1%が最もすぐれ、血清、脱脂乳等では濃厚な(原液に近い)ほ

ど成績が良い。生理食塩水はいずれの場合でも他のメヂウムに比較して劣つていた。

次に乾燥後の製品の外観は、蒸留水、食塩水、糖類のものでは白い粉末状、蛋白質では多孔性の海綿状を呈する。但しブドウ糖、乳糖、糊清ではやゝ塊状になり、血清と脱脂乳では少しく構造に粗密の差がある。元の量まで水を加えた場合の溶解性はいずれも良好であつたが血清（50%）がやゝ劣つていた。

**考 察** いろいろな生物学的材料の凍結乾燥を行うに当つてその成績を云々するには、乾燥操作そのものによる影響と、乾燥後の保存による影響の2つをよく吟味しなければならない。今回はその中の前者についてのみ検討したものである。又凍結乾燥の操作そのものによる影響についても之を更に予備凍結だけですでに起る障害とそれに引続いての乾燥の過程で起る障害との2段に分けて考えねばならぬ。そこで凍結融解だけの対照をおいてかゝる意味の比較を行つた。その結果によれば、従来も云われているように蛋白質、糖類が優秀であつて蒸留水は之に劣り、無機塩類は更に一層悪い成績を示して居る。このように凍結融解だけでも菌は障害を受けるが、凍結乾燥ではなお一そう強く障害を受けることから、凍結乾燥の過程では凍結と乾燥の両段階のいずれに於ても影響を受けることが想像される。

蛋白質や糖類の中でも特に脱脂乳や蔗糖のように保護作用の強いものがあるが、その作用機序についてはまだよく明かにされていない。僅かに Heller<sup>(2)</sup>の試みた検討によれば、結晶性のもの例えば糖類、トリプトファン、食塩水等では水溶性であるほど、又菌によつて分解され易いものほど菌に対する障害は少く、膠質性のもの例えばペプトン、血清、ムチン、アラビヤゴム、澱粉その他で、水に対する溶解性が大きく Goldnumber の小さい即ち膠質保護作用の大きいものほど菌に対する障害の少いことを述べている。

とにかく従来の実験でも示されるように、菌体をとりにかこむメヂウム中の物質が、脱水に伴つて起るべき菌体の障害に対して何らかの保護作用を営むであろうことは想像されるが、その物質の種類によつて物理的乃至化学的な性状の差があるために、乾燥に伴う菌の死滅度にもおのずから差ができるのであろう。

更に推論を許されるならば、乾燥時の脱水に対する保護作用と、乾燥後の保存時の外界の種々の条件又は菌体自身の種々の機能に対する保護作用とは区別してもよいのではなからうか。いずれにせよかゝる保護作用の本態に関しては更に多くの角度から検討を加えねばならない。

**結 論** 種々のメヂウムを用いて大腸菌の浮游液を作り、凍結乾燥を行うと、メヂウムの種類によつて乾燥に伴う菌の障害（死滅度）に差がある。例えば糖類では蔗糖、蛋白質では脱脂乳が乾燥の成績が最も良くて菌の死滅度が少く、無機塩類は甚だ成績が悪く、何も加

えない蒸溜水がその中間の値を示す。

#### 文 献

- 1) Scherp, H. W., Flosdorf, E. W. & Shaw, D. R. 1938 J. Immunol., **34**, 447.
- 2) Heller, G. 1941 J. Bact., **41**, 109.
- 3) 安東 清 昭16 陸醫防研. **2**, 198.
- 4) 石黒慶之助 昭17 北海道醫誌, **20**, 703.
- 5) 舌間慶太郎 昭18 日微生物誌, **37**, 475.
- 6) 加藤慶五 昭22 抗研誌, **2**, 20.
- 7) 小酒井 望 昭24 新潟醫誌, **63**, 409.
- 8) 根井外喜男, 佐藤 徹 昭25 東京醫事新誌, **67**, No. 12, 9.