



Title	凍結乾燥に於ける乾燥の機構 : 含水量測定による乾燥過程の分析 III
Author(s)	千葉, 重雄; CHIBA, Shigeo; 坂上, 康雄 他
Citation	低温科学. 生物篇, 16, 129-138
Issue Date	1958-12-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17614
Type	departmental bulletin paper
File Information	16_p129-138.pdf



凍結乾燥に於ける乾燥の機構

含水量測定による乾燥過程の分析 III*

千葉重雄 坂上康雄 桜田弘一

(低温科学研究所 医学部門)

(昭和 33 年 7 月受理)

I. 緒 言

凍結乾燥に於ける乾燥の機構を知るために、最も正確で直接的な方法として、試料の経時的重量変化を測定する方法が採り上げられ、内藤 (1943)¹⁾、根井 (1945²⁾、1955³⁾、1957^{4),5)}、佐原 (1953~1955)⁶⁾、千葉 (1957)⁷⁾ 等によつて種々の検討が行われた結果、多くの新しい事実が見出された。そして、凍結乾燥過程にはいくつかの段階があり、しかもそれらの各段階は内外諸条件が変るに従つて、いろいろに変わるものであることが分つてきた。特に千葉は前報に於いて比較的定量的な吟味実験を行い、各段階の出現する意義について論じたが、その結果によれば、これらの段階は殆んど生物学的意味を持たず、単に物理学的要因に従つて現われるものであり、従つて蒸溜水 (氷) の乾燥に於いても認められるものであること等が明らかとなつた。即ち前報に於いて述べられた結論を要約すれば、血清の凍結乾燥過程には、準備段階、増率乾燥過程、減率乾燥過程第 1 段階及び第 2 段階が出現し、これらの諸段階は、種々の条件によつていろいろに組合されて或いは単独に出現する。準備段階は乾燥開始時の試料温度によつてきまり、増率過程は試料容器周辺に沿つて周囲からの輻射熱のために生ずる“掘れ”により生じ、恒率過程は乾燥終了層が未だ水蒸気分子移動の抵抗とならない間の過程で、減率 1 段は乾燥終了層が或る深さに達して水蒸気分子移動に対する抵抗となつて生じ、減率 2 段は容器底面の乾燥であると考えた。又蒸溜水の凍結乾燥の場合も、血清と同じような乾燥過程を示したが、この場合の各段階の生成機構は“掘れ”のみによるものであると結論したのである。

たゞ上にのべた減率 2 段は単純な物理的現象だけではなく、例えば血清や蒸溜水の場合と大腸菌浮游液の場合とは異なつて居り、何か生物学的意味がありそうに思われた。今回は種々な濃度の腸菌浮游液や家兎血清の凍結乾燥過程、特に減率 2 段部分を比較検討し、更に大腸菌とは形態や抵抗性の点で異なる酵母⁸⁾ 浮游液とも比較することによつて、減率 2 段の生物学的意義特に菌体内水分の脱水及び菌生残との関係を知りたいと考えて本実験を行つた。

* 北海道大学低温科学研究所業績 第 446 号

II. 実験装置, 材料及び方法

1) 実験装置 これはすでにしばしば述べて来たように^{4),5),7)}, 吾々が特に考案作製したものであつて, 試料の乾燥による重量変化を光学系を用いて印画紙上に自記させるのであるがその詳細は既に報告⁵⁾したのでここでは省略する。真空ポンプは油回転真空ポンプ 250 l/min を単独に使用し, その時の到達真空度は 3×10^{-3} mmHg であつた。コールドトラップには液体窒素を使用し, 試料容器は円形平底で, 写真フィルムを用いて自製した点等は前と同じである。

2) 実験材料

a) 大腸菌浮游液は, 25 mg/cc, 50 mg/cc, 100 mg/cc, 200 mg/cc, 400 mg/cc と夫々段階的に倍になるような濃度のもを用いた。これらの菌液を調製する時には, 個々に調製する時の菌濃度の誤差をなるべく少なくするために, 先ず 400 mg/cc の蒸溜水浮游液を作り, それを蒸溜水で 2 倍に稀釈して 200 mg/cc の浮游液を作り, 以下同様の稀釈法によつて夫々の濃度の菌浮游液を調製した。

b) 家兎血清も種々の濃度のもを作るために, 正常家兎血清を凍結乾燥した後蒸溜水を加えて先ず 4 倍濃度の血清を作り, これを大腸菌浮游液の場合と同じように蒸溜水を以つて順次に倍に稀釈して行き, 4 倍, 2 倍, 1 倍, 1/2 倍の各濃度の血清を作つた。従つて 1 倍濃度の血清といつてもこれは正常血清そのままではなく, 1 度凍結乾燥されたものであるから, 無処置正常血清の凍結乾燥の場合とは或いは多少異なつた経過を示すかも知れないが, 本実験では濃度差の比較ということに目的をおいたので, あえてこのような条件の試料を用いた。

c) 酵母浮游液は 400 mg/cc のもの 1 種のみを用いた。これに含まれる水分量と, 大腸菌浮游液 400 mg/cc に含まれる水分量とは厳密に言えば異なるものであろうが, その差は極めて微量で, 今回の実験の誤差範囲内であるから, 両者の含む水分量は等しいものとして議論を進めて行くことにする。

3) 実験方法 予備凍結は液体窒素により行い, 凍結後直ちに装置に取付けて減圧を開始した。これらの詳細の手技については, すでに前回の論文にのべてあるのでここでは省略する。

このようにして自記させて得た脱水量時間曲線から, 製図と計算によつて乾燥速度時間曲線並びに乾燥速度残水率曲線 (乾燥速度特性曲線) を求め, これらについて種々比較検討した。

III. 実験結果

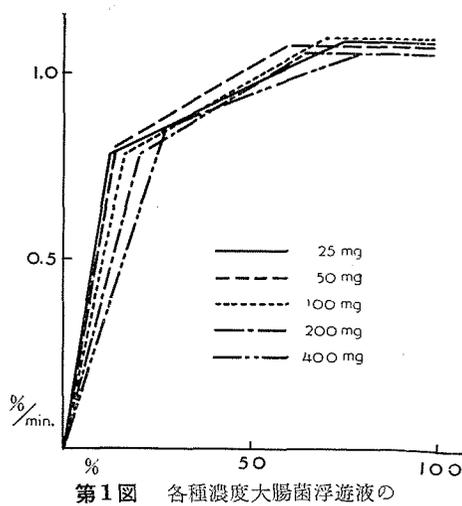
1) 大腸菌浮游液の上記各種濃度のももの 0.3 cc を直径 7.75 mm の試料容器に入れ, 試料外套管を $+20^{\circ}\text{C}$ の恒温槽につけて乾燥を行つた場合の乾燥速度残水率曲線が第 1 図に示されている。

全過程からいつでも, 又恒率過程だけについても, 乾燥速度は菌濃度によつてあまり変らないし, 又恒率過程の長さとも菌濃度の間にも一定の関係はないようであるが, 菌濃度の最

も高い 400 mg/cc のものと最も低い 25 mg/cc のものに於いて恒率過程が短いようである。減率 1 段の傾き即ち減速度と菌濃度との間にも一定の関係はみられないようである。ただ注目すべきは減率 2 段の長さ(横軸即ち残水率上の長さ)であつて菌濃度が高くなるに従つて長くなりしかもその関係が第 1 表の如く、菌濃度の増加量にほぼ比例し

第 1 表

菌濃度 (mg/cc)	25	50	100	200	400
菌濃度の増加	25	50	100	200	
その割合	1	2	4	8	
減率 2 段の長さの増加 (残水率で表わす)	2	2	4	7	



第 1 図 各種濃度大腸菌浮遊液の乾燥速度残水率曲線

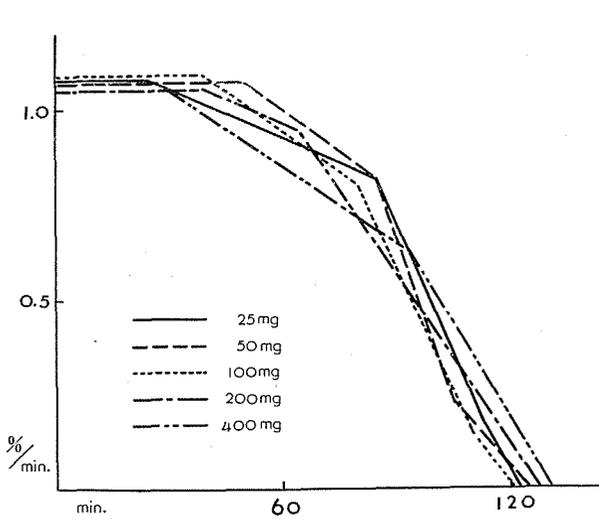
て延長していることが分る。勿論各個の実験や製図に於ける誤差や、菌濃度の相異による全蒸発水分量の相異(実験には極めて小さくて、この実験に於いては明らかな数値の差として現われてこない)も考慮に入れなければならないから、この数値をそのまま定量的に正確なものとしてあてはめることには若干の無理もあろうが、一応考慮すべきことと思われるので後で又論ずることとする。

すでに前回の論文でも述べたように、乾燥速度残水率曲線では減率 2 段の終り頃に、プロットした点が密集して僅かの屈曲を示し、減率 3 段とも考えられる部分があつた。しかしその長短を論じようとしても実験誤差に比較してかなり小さいので、仮に減率 2 段に含めておいたが、もし第 2 図の如く乾燥速度時間曲線にして描いてみれば、その折点が比較的明瞭に現われてくる。ところが前回の論文でなされた推測に反して、この折点の出現の仕方と菌濃度との間には一定の関係がみられなかつた。例えば恒率過程の長さについてともそうであつたように、濃度最大の 400 mg/cc のものと最小の 25 mg/cc のものとが同じような経過を示して共に折点が極めて不明瞭であつた。

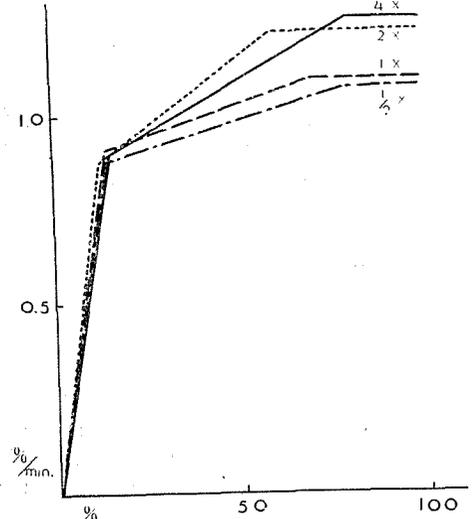
2) 家兎血清の 4, 2, 1, 1/2 倍濃度のものを、大腸菌浮遊液の場合と全く同じ条件で凍結乾燥して得られた乾燥速度残水率曲線は第 3 図に示されている。

この場合の恒率過程は、最大濃度(4 倍)と最小濃度(1/2 倍)の両者が短くて、血清濃度との間には一定の関係は認められなかつたが(この点は大腸菌浮遊液の場合とほぼ同様)、恒率過程に於ける乾燥速度は、濃度が高くなる程大きくなつた。減率 1 段の傾斜即ち減速度と濃度との間にはやはり一定の関係が見られないようであつた。血清の場合にも注目すべきは減率 2 段の長さであるが、この場合は大腸菌浮遊液の場合とはちがつて濃度との特異的比例関係は認められず 4 種とも殆んど同じ長さであつた。

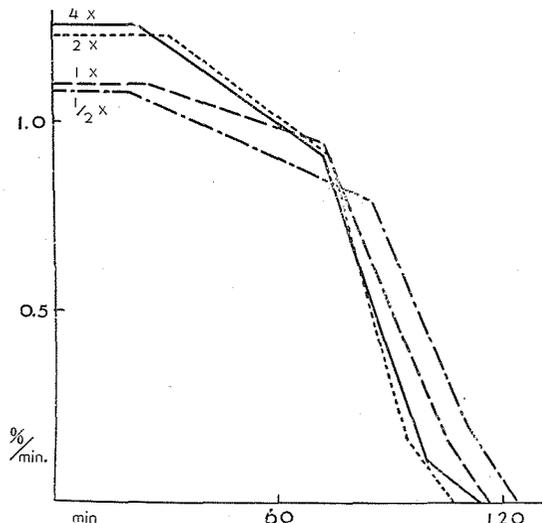
次に乾燥速度時間曲線にして描いてみると(第 4 図)、最も濃度の高い 4 倍濃度血清を除い



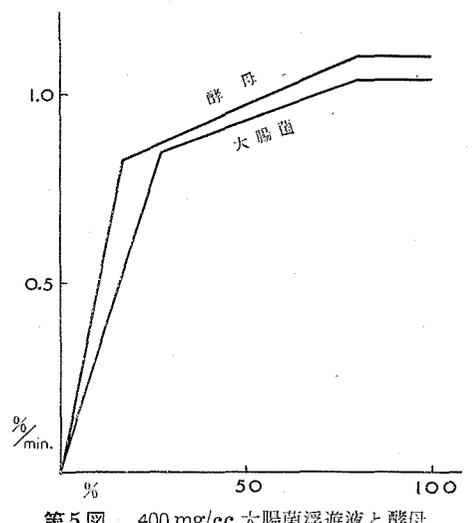
第2図 各種濃度大腸菌浮遊液の乾燥速度時間曲線



第3図 各種濃度兔血清の乾燥速度残水率曲線



第4図 各種濃度兔血清の乾燥速度時間曲線

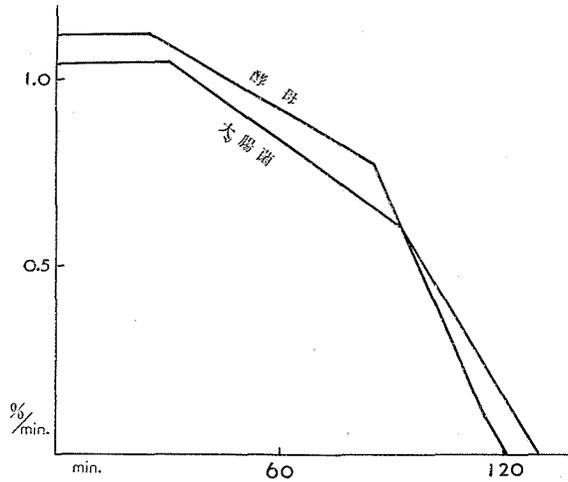


第5図 400 mg/cc 大腸菌浮遊液と酵母浮遊液の乾燥速度残水率曲線の比較

て、乾燥終了までの時間は濃度が高まるにつれて短縮した。又大腸菌浮遊液に見られたような減率3段の折点は、濃度の低い血清では殆んど認められず、濃度が高まると共に現われて来た。

3) 酵母の 400 mg/cc 蒸溜水浮遊液を、前二者の実験と全く同じ条件で凍結乾燥を行い、大腸菌浮遊液 400 mg/cc のものと比較してみた。

第5図は乾燥速度残水率曲線の比較で、一般的にいつて酵母の方が乾燥速度に於いて上回っていた。恒率過程の長さ及び減率1段の減速度には殆んど相違がみられなかつたが、減率2段の長さは明かに大腸菌浮遊液の方が長かつた。



第6図 400 mg/cc 大腸菌浮遊液と酵母浮遊液の乾燥速度時間曲線の比較

第6図は乾燥速度時間曲線の比較で、酵母浮遊液の方が乾燥終了までの時間が短いことを示しているが、減率3段の折点は共に明らかでないようであつた。

IV. 考 察

凍結乾燥に於ける乾燥過程は、いくつかの段階に分けられるが、それらの過程は殆んど皆主として物理学的な要因によつて左右されるものであることが明らかになつた⁷⁾。それにも拘らず、容器底面の乾燥と考えられるところの減率2段の過程が、細菌浮遊液に限つて延長し、しかも菌濃度の増加と何かしら一定の関係があるように思われ、又一方乾燥速度時間曲線についてみても、減率2段が更に二つの過程に分けられるために、比較的明瞭な折点が求められることになるので、結局減率2段とは、容器底面の乾燥の他に何か他の乾燥過程、特に昇華しにくい微量の水分の存在が加わつてきているように思われた⁷⁾。しかしこの最後の過程を直ちに菌体内水分の脱水過程であると即断することは勿論極めて危険なことであつて、すでに前回の論文でも触れたように、単に菌体の周囲に附着して乾燥過程の最終段階で漸く昇華される水分かも知れないし、その量と菌濃度との間に一定の関係があつても良い訳である。従つて減率2段の延びが、菌体内水分の脱水ともいふべき独特のものであるか、又は単に菌体とか蛋白質分子等に吸着している水分であるかを検討するための一つの手掛りとして、先ず大腸菌浮遊液と、一種の蛋白溶液ともみなすべき家兎血清を、その各種の濃度で比較してみた訳である。

第1表に於いて明らかなように、菌濃度の増加量にほぼ比例して減率2段の長さの増加が見られた。ここで問題なのは、実験や製図の誤差の問題である。しかし、ここに現われた数値がたとえ誤差に比較して十分に大きい値でないにしても、実験の例数を増して求められた平均が菌濃度の増加に伴つて一方的な比例関係を示しているということは、数値そのものをそのまま定量的にとり上げるのは危険としても、大体の傾向として理解して良いものと思われる。

更にもう一つの問題は、各種濃度の E. coli 浮游液量 (0.3 cc) から蒸発する総水分量の問題である。第1図に於いて減率2段の長さといつてもこれは残水率で表わしているのであるから、決して真の水分量ではない。理論的には菌濃度の高いもの程水分以外の所謂乾量が多い訳だから、全蒸発水分量は少なくなる筈である。しかし実際にこの実験で得られた脱水量時間曲線から製図して求めた全蒸発水分量を、各種濃度の E. coli 浮游液について比較してみると、その値は殆んど等しくて実験誤差範囲をばらつき、菌濃度との一定関係は見られなかつた。即ち E. coli 菌濃度をこの程度変えても、その中に含まれる乾量の相違云いかえれば全水分量の相違は極めて小さくて、実験誤差範囲内にあることになる。従つて第1図の横軸は水分の絶対量即ち残水量と理解してさしつかえない。

恒率過程とは、千葉は前報の成績から得られた推論として、乾燥終了層のために水蒸気分子の通過が妨げられるようになるまでの過程と考えたが⁷⁾、その恒率過程の長さは最も菌濃度の高い400 mg/ccのものが最も短いのはよいとしても、最も菌濃度の低い25 mg/ccのものがその次に短い恒率過程を示しているのは一見矛盾するようであるが、極端に菌濃度が低くなるとそれは蒸溜水の凍結乾燥に近い状態と考えられるので、乾燥終了層の蒸発阻害よりはむしろ試料の容量に接する面に沿つて生ずる著明な“掘れ”の形成による蒸発表面積の縮小によるものと思われ⁷⁾、その結果として恒率過程が短くなつたのであろう。結局、乾燥終了層の抵抗性と“掘れ”による蒸発表面積の縮小度という二つの全く相異つた因子がいろいろの割合で組合つて恒率過程の長さを決定することになるので、この長さとは必ずしも比例関係を示さないのであろう。

減率1段の過程に於いても減速度と菌濃度との間に一定の関係が見られないのは、やはり上述の二つの因子が適宜に組合される結果であらうと思われる。

乾燥速度残水率曲線に於ける減率2段の過程が、更に二つの段階に分けられるようにみえたので、これを一層はつきりさせるために、乾燥速度時間曲線を表わしてみた結果は、千葉の前報でなされた菌濃度が高くなればなる程この二つの段階の折点のはつきりするのであらうという予想を裏切つて、菌濃度と一定の関係は見られなかつた。しかも、最も菌濃度の高い400 mg/ccのものに於いて25 mg/ccのものと同様に折点が不明瞭であつた。これは菌数が極めて少ない場合には容器底面の乾燥水分量に比較して、遅れて起る菌体内水分脱水量 (果して菌体内水分であるか、菌体表面に密着している比較的離れ難い水分であるかは今の処不明であり、この点を検討するのがこの論文の目的でもある訳だが、説明の便宜上今仮にこう表現しておく) が極めて小さいためであらうし、逆に菌数が極めて多い場合には、容器底面の乾燥水分量の多くは即ち菌体内水分であり、又この場合には菌体周囲の水も数多くの菌体と菌体との間に閉ぢ込められて、菌体内水分と殆んど同じ程度に脱水が困難になるためと考えられる。従つて、容器底面の乾燥は即ち菌体内水分の脱水ということになつて、二つの段階には分れないのであらう。結局、ある適当な濃度の浮游液の場合に折点が明瞭に現われ、極端に濃度の低い或いは高い浮游液では、この折点は不明瞭になつて了うことになる。

乾燥終了までの時間を眺めてみても、長短まちまちで、濃度と一定の関係は見られなかつた。菌濃度が高くなつて乾燥しにくくなつても、それだけ理論的には全蒸発水分量が少なくなるし(しかしこの値はすでにのべたようにこの実験では明かな数値として現われてこないが)、又一方菌濃度が極端に低くなつて全蒸発水分量が多くなつても、乾燥終了層が水蒸気分子の阻害になる程度の少ないことや、“掘れ”の形成による蒸発表面積の拡大などの因子が複雑に重り合つて、結局濃度による差は明らかには現われなかつたのであろう。

次に血清について見れば、第3図に示すように、大腸菌浮游液の場合と異なり、高濃度になる程恒率過程に於ける乾燥速度が高いのは、血清の乾量(水分以外の部分)は菌浮游液の場合より遙かに多く、また血清濃度の相違によつて同じ容量からの全蒸発水分量が明らかに異なるためと思われる。しかもこの蒸発量の差が、乾燥終了層の水蒸気分子移動に対する抵抗等という因子を遙かに上回つて乾燥速度を決定して了つたためと考えられる。又恒率過程の長さについては、血清濃度と一定の関係は見られず、ただ最高の4倍濃度のものと最低の1/2倍濃度のものとがともに短いこと、及び減率1段の減速度が血清濃度と一定の関係を示さないことは大腸菌浮游液についてのべたと同じような機構によるものであろう。

血清と大腸菌浮游液とで明かな差のあるのは減率2段の長さであつて、菌浮游液の場合には菌濃度の増加と共にほぼ比例して延長したのに反し、血清の場合は、その濃度と一定関係を示さず、何れも殆んど同じ長さを示した。もし菌浮游液の場合の減率2段の延長が、単に菌体外表面とか蛋白質分子等に吸着した水分によるものであるとすれば、血清の場合にもその濃度の増加と共に同様な延長が見られてよい筈であるし、又大腸菌浮游液の乾量がすでに述べたように実験誤差範囲内程度の微量であるのに較べて、血清の乾量は明らかに大量であり、その蛋白質等の分子に吸着する水分量もはるかに大量である筈だから、その乾燥速度残水率曲線に於いて菌浮游液に於けるよりもその濃度によつて明らかな相違を示さなければならない筈である。しかも今仮りに両者の乾量が等しいとしても、菌体と蛋白質分子の大きさではそのへだたりも大きく、従つて水の分子を吸着する表面積の総和は著しい相違がある筈で、このような点から眺めて、菌濃度の相違による減率2段の伸びよりも血清濃度の相違による伸びの方が大きくなければならない。この矛盾を説明するためには、どうしても菌浮游液に於ける減率2段の伸びは単に菌体外表面に吸着している水分のためではなくて、菌体内水分の脱水過程であると理解しなければならなくなる。大腸菌の内部に含まれる水分は、比較的鞏固な細胞膜のために、菌体周囲の水分の蒸発より幾らか遅れて進行すると理解すれば、今までのべてきた実験結果をすべて極めて合理的に説明できる。

ところが第4図に於いて、血清濃度が高くなれば減率2段中に折点が現われてきたのは、前にのべたような菌浮游液に比して極めて大量の乾量増加のために、それに吸着している水分の最終的脱水過程を示すものであろう。しかし血清の場合に於いては、減率2段の全長は勿論変化なく、この折点と菌浮游液の場合の折点とはすでに述べたように本質的に全く異なるものであつて、ただ大腸菌浮游液と血清との乾量の極端な相違から、血清の場合にも見かけ上同じ

ような折点が現われてきたにすぎない。又乾燥終了までの時間を見ると、血清濃度が低いものほど全蒸発水分量が多いために長くかかっているが、極端に血清濃度が高くなると、減率2段中の折点がはつきりしてくると共に、僅か乍ら乾燥時間が延長してきた。これは、乾燥終了層の極端な抵抗増加と、多量の乾量に附着する水分の最終的蒸発が遅れる結果とみられる。

以上述べて来たように、細菌浮游液の凍結乾燥に於いては、所謂“みかけの乾燥”⁹⁾(氷が消失してスポンジ状或いは粉末状の試料が残り、肉眼的に乾燥が終了したと思われる時期)の進行よりも一足遅れに菌体内水分の脱水が起っているものと想像され、試料全体の菌体外水分の蒸発が全く終了してから初めて菌体内水分の脱水が起るとは乾燥時間と菌の生残率についての佐原の研究⁹⁾からいつても考えられないことである。しかし理論的には、もし細胞膜が極めて強靱で予備凍結によつても全く菌体の破壊が起らず、又水蒸気分子の通過も極めて困難なような細菌があるとすれば、試料の菌体外水分の蒸発(見かけの乾燥)が全く終了してから初めて菌体内水分の脱水が起ることも考えられるし(細胞膜が極端に強固であれば、遂に菌体内水分の脱水は起らずに終つて了うかも知れぬ)、或いは又細胞膜が極めて薄弱で、予備凍結によつて菌体は殆んど破壊され、又破壊されなくとも殆んど水蒸気分子通過の障害となり得ないようなものでは、菌体内水分の脱水は殆んど見かけの乾燥と一致して進行するものであらうと想像される。それで大腸菌よりも明らかに細胞膜が薄弱である凍結に対しても抵抗の弱い酵母⁹⁾について、大腸菌と比較してみたのが第5図である。

先ず全般的にいつて乾燥速度に於いて酵母浮游液の方が上回っているのは、今のべたような細胞膜が大腸菌に比して薄弱であるために、予備凍結によつて破壊されるものも多く、又水蒸気分子の通過も容易なためであらうし、又一方その大きさからいつても、酵母ははるかに大腸菌より大きいために乾燥終了層の抵抗も小さくて(同濃度浮游液の場合で両者湿菌の比重を等しいと仮定する)、結局大腸菌浮游液よりも乾燥し易いということになる。実際吾々は日常実験室に於いて、大腸菌浮游液よりも酵母浮游液の方が遙かに乾き易いことをしばしば経験している。

恒率過程の長さや減率1段の減速度等は両者の間に大差はないが、問題の減率2段の長さは、予想通り明らかに大腸菌の方が長い。即ち大腸菌の方が酵母よりも菌体内水分の脱水が起り難いことを示している。従つて大腸菌の場合は、所謂みかけの乾燥より大分遅れて菌体内水分脱水が進行しているし、酵母の場合には見かけの乾燥と菌体内水分脱水が僅かのずれしか示していないことになる。実際このことは、菌生残率との関係に於いて別に報告する実験によつて確かめられている⁹⁾。即ち乾燥進行中で未だアンプルの底に氷が残っている中に、その氷の上部のすでに見かけの乾燥が終了したと思われる部分について、氷に近い部分と遠い部分を定量的にとり出してその生残率を調べてみると、大腸菌の場合にはその遠近による生残率の相違が大きいが、酵母の場合にはその相違が小さく、しかもどの部分の生残率も低いという事実を見出した。

結局大腸菌の場合には、見かけの乾燥よりも菌体内水分の脱水はかなり遅れて進行するの

で、見かけの乾燥部分でも氷に近い部分ではまだ殆んど菌体内水分の脱水が起つていないために高い生残率を示すが、氷から遠い部分では菌体内水分の脱水も可成り進行するために生残率が低下するものらしい。しかし一方酵母の場合には、見かけの乾燥と殆んど同時に菌体内水分の脱水が起るために、見かけの乾燥終了部分は、氷に近くとも遠くとも共に生残率は低くてその差がなくなるのであろうと考えられる。

このようにして、細菌浮游液の凍結乾燥に於いては、所謂みかけの乾燥よりも菌体内水分の脱水は一足遅れに或る巾を以つて進行するものと思われる。しかもその巾は細菌のもついろいろな生物学的な性状によつて左右されるのであろうし、又その遅れは減率2段の延びとか或いは減率3段となつて現われるのであろう。従つて前に述べたように、乾燥過程の各段階は、純粹に物理学的な要因によつて出現するといつても、矢張りその中には菌体内水分の脱水という細菌の生命を左右するような生物学的因子も織り込まれているのであるが、ただその量が極めて小さいために、各乾燥段階の複雑な諸因子のかげにかくれていて捉え難いが、蒸発量がかなり減少ししかも関与する因子が余程少なくなつたところの“容器底面の乾燥”という段階に至つて、始めて僅かにその存在が見出された訳である。

さて前報⁷⁾及び今回の論文に於いて取扱つた乾燥速度残水率曲線(乾燥速度特性曲線)及び乾燥速度時間曲線はすべて直線の組合せとして表現し、それぞれの直線部をもつて各乾燥段階を表わすこととしたので、この様な線をもつて全乾燥経過を表わす限り、これらの直線の交点であるところの折点が一つの乾燥過程から次の乾燥過程への移行点を示すことになる。しかしこれらはいくまでも作図の表現であつて、実際の乾燥試料に於いて起るべき乾燥過程を想像してみる時、このような乾燥速度の急激な変化を示す明確な点があるわけではない。

しかし、蒸溜水の凍結乾燥の場合の“掘れ”が容器底面に達し、全蒸発表面積の急激な縮小が起るような場合、又は減率1段から減率2段へ移行する場合には理論的にも折点の存在はありうる訳で、実際製図上も、この折点の存在は恒率から減率段に入る場合よりも明瞭であることはすでに前報⁷⁾でも述べている。ただこの場合でも、乾燥終了層の存在や、そこに最終的に吸着している水分の緩衝作用によつて厳密な意味での折点は存在しないかも知れぬ。

何れにせよ、吾々のいう折点とは、現実に水蒸気分子の移動する速度がそれほど突然に変化するという意味ではなくて、実験誤差を含めた各乾燥段階を表現する直線の交点として、その長短を論ずるために便宜上設けた表現方法にすぎないのである。

要するに本実験は凍結乾燥過程の減率2段の段階を細菌と血清との比較、或いは大腸菌と酵母との比較という点からのみ考察したもので、その機構をより正しく知るためには、菌体内水分の問題に関連して更に多くのことを明らかにしなければならない。

V. 結 言

細菌浮游液の凍結乾燥に於いて認められる減率2段の延びの本態を追求するために、大腸菌浮游液の種々の濃度のものと、家兎血清の種々の濃度のもの更に酵母浮游液等に於ける乾燥

速度時間曲線及び乾燥速度残水率曲線(乾燥速度特性曲線)を比較検討して次の結論を得た。

1) 大腸菌浮游液の凍結乾燥過程に於ける減率2段は、容器底面の乾燥に見かけの乾燥より一足遅れに起る菌体内水分の脱水過程が加わつたものであり、従つて菌濃度の増加に比例して延長する。

2) 家兎血清の濃度を種々に変えて凍結乾燥を行つても、減率2段の長さの変化は見られない。従つて大腸菌浮游液に於ける減率2段の伸びは菌体外表面や蛋白質分子等に単に吸着している水分の脱水によるものとは考えられない。

3) 酵母浮游液の凍結乾燥に於いて、減率2段の伸びは大腸菌浮游液に比較して短い。即ち菌体内水分の脱水は見かけの乾燥と近接して起る。この結果は、凍結に対する酵母の抵抗性や、残水量と菌生残率の関係を調べた結果に極めてよく一致する。

文 献

- 1) 内藤良一 1953 血清等の凍結真空乾燥法. 陸軍軍医学校防疫研究報告, 2部, 715号.
- 2) 根井外喜男・田村浩一 1950 生物学的材料の凍結真空乾燥法 I. 乾燥過程中の真空度と乾燥度及び温度の消長について. 北海道医学雑誌, **25**, 200.
- 3) 根井外喜男・中川 勇・森 玄治 1955 凍結乾燥に於ける乾燥の機構. 含水量測定による乾燥過程の分析(予報). 低温科学, 生物篇, **13**, 59.
- 4) 根井外喜男・吉本千禎・千葉重雄 1957 凍結乾燥に於ける乾燥過程の測定. 真空工業, **4**, 154.
- 5) 吉本千禎・千葉重雄・根井外喜男 1957 記録真空重量計の試作. 低温科学, 生物篇, **15**, 71.
- 6) 佐原幸雄 凍結乾燥に関する基礎的研究, 第1報~第7報. 日本細菌学雑誌, **8**, 611 (1953); **9**, 125, 749, 963 (1954); **10**, 151, 205, 907 (1955).
- 7) 千葉重雄 1957 凍結乾燥に於ける乾燥の機構. 試料の含水量測定による乾燥過程の分析 II. 低温科学, 生物篇, **15**, 75.
- 8) 桜田弘一 1958 微生物に於ける凍結乾燥と液状乾燥の比較に関する研究. 低温科学, 生物篇, **16**, 91.
- 9) 桜田弘一・坂上康雄・千葉重雄 未発表.

Résumé

In order to make clear the cause of prolongation of the "second stage of decreasing rate" during the process of freeze-drying, which was reported in the previous paper, further experiments employing rabbit serum and bacterial suspensions such as *Escherichia coli* and yeast cells were undertaken by varying the concentration of these specimens.

The "rate of drying-time curves" and the "rate of drying-residual moisture content curves" obtained from the photographically recorded curves yielded the following results.

The second stage of decreasing rate was prolonged in proportion to the increase of concentration in *E. coli* suspensions, while in the case of yeast cell suspensions the prolongation was observed only slightly and in the case of serum not in the least.

It is consequently assumed that the second stage in bacterial suspensions consists of two processes; one is the dehydration occurring in the thin frozen layer of the specimen adjacent to the bottom of container and the other is the removal of intracellular water out of bacterial cells. The latter becomes manifest after macroscopic completion of drying of the whole sample and is responsible for the prolongation of this stage.