



| | |
|------------------|---|
| Title | 凍結乾燥に於ける乾燥の機構 VI : 乾燥過程の試料中の昇華面を常に平面にするための工夫 |
| Author(s) | 根井, 外喜男; NEI, Tokio; 僧都, 博 他 |
| Citation | 低温科学. 生物篇, 19, 37-41 |
| Issue Date | 1961-12-20 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/17649 |
| Type | departmental bulletin paper |
| File Information | 19_p37-41.pdf |



凍結乾燥に於ける乾燥の機構 VI*

乾燥過程の試料中の昇華面を常に平面にするための工夫

根井外喜男 僧 都 博
花房尚史 荒木 忠

(低温科学研究所 医学部門)

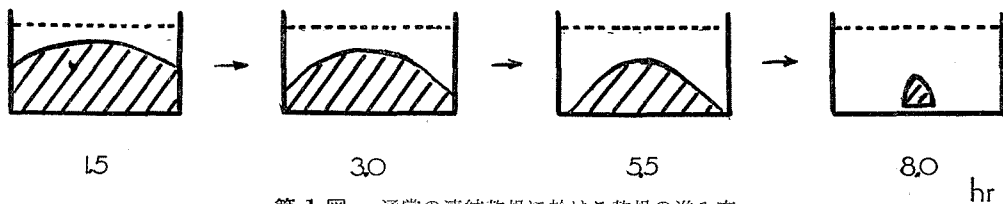
(昭和36年7月受理)

I. 緒 言

凍結乾燥は、試料が凍結した時の立体的構造を保ったまま、表面から次第に深部に向って乾燥が進行することに特徴がある。従ってその乾燥過程を追究するためには、時間の経過に伴なう試料内部の部位による乾燥の程度、特に表面からの距離と残水度の関係を知る必要がある¹⁾。この目的のために、我々は、上面からだけ乾燥が起るように円筒形の容器に試料を入れて凍結乾燥し、その乾燥面と平行に試料を三段階に分けて、各部位の含水量を調べるといった方法をとった。このような実験を行う場合に、試料の乾燥部分を層に分けてとるために切り出す面は、その試料の等乾燥面に添ったものでなければならない。いいかえると乾燥が出来る限り平坦な面を保って進んでくれることが望ましい。

ところが普通の条件、即ち試料の入った容器を低温室に放置したり、或いはガラス管に入れて寒剤中に浸したりして凍らせたものでは、乾燥の進行が平らではない。円筒の外部からは平らのように見えるが、実際に試料を取り外して乾いた部分を除いてみると、円筒の中心部が最も高く、外側に行く程低くなった半球状の氷の残っていることがわかる。しかもこの傾斜は乾燥が進むに従って益々急になり、遂に外側が先に底まで達してから今度は底面に添って進み、中心部をつまみこむように乾いて行く(第1図)。

このような状態では、試料を等乾燥面に従って分けることは困難なので、これを是正する



第1図 通常の凍結乾燥に於ける乾燥の進み方

* 北海道大学低温科学研究所業績 第586号

ために次に述べるような2, 3の試みをした。

II. 実験材料並びに方法

麦汁寒天培地 28°C 2日間培養した *Saccharomyces cerevisiae* を脱イオン水で三回洗滌し、濃度 500 mg/ml の菌浮遊液にし、これを半紙で型を作ってロウ付けした径 2 cm 高さ約 1 cm の円筒形容器に約 2 ml 宛入れて用いた。この容器は、結果の項で述べるように、後には外側にもう一重径 2.8 cm の外壁を設けて二重円筒にして用いた。

予備凍結はすべてドライアイス・アルコールで行った。乾燥は液体窒素をトラップとする放射状多岐管式真空乾燥機²⁾を用い、試料の容器を入れたガラスの乾燥容器は、特別の場合以外は +30°C の恒温槽に浸した。試料の容器は乾燥容器の壁面及び底面には直接ふれることのないように、コルクをおいてその上に載せた。

III. 結 果

1. 乾燥の際の問題

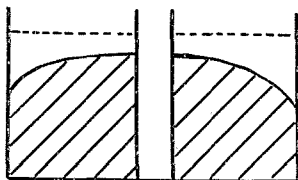
1) 器壁の透過性

容器は、半紙を糊づけして熔融パラフィンをしみこませたものなので、昇華が器壁を通して起るために外側が早く乾燥するのではないかと考え、ガラスの容器に試料を取って同じ方法で乾燥してみた。結果は紙の容器の時と何等変るところがなかったので、器壁を透過するためではないことが確かめられた。

2) 熱の伝導

通常の乾燥の際、昇華の盛んな時期には外温が +30°C ならば試料温度はほぼ -20°C 前後である³⁾。試料の昇華に要する熱は、主として乾燥容器の外から輻射によって与えられるものである。そのために、直接熱を供給される外側から中心部に向けて温度の傾きが出来ることになり、このことが昇華の速さに関係があるのではないかと考えた。この点を確認するために、試料容器の外側をアルミ箔で覆ったり、乾燥容器全体を 0°C の水槽に浸したりしたが、あまり効果は見られなかった。

3) 試料の収縮に伴う隙間の問題



第2図 容器の中心に柱を立てた時の乾燥の進み方

試料が乾燥するにつれて幾分その容積が小さくなるために、器壁との間に狭い隙間が出来ると。水蒸気はこの隙間を通って出易いために、外側の部分から乾いてゆくのではないかと考えたが、これは次のような実験から否定された。即ち中心部に同じ材料で径 3 mm の中空の柱を立てた容器を作って、同様の実験をしてみたところ、中心の柱の廻りにも隙間は生じているにかかわらず、試料中の氷は外側だけ低くなって内側の柱に接する部分では低くなってはいなかった(第2図)。

2. 予備凍結の際の問題

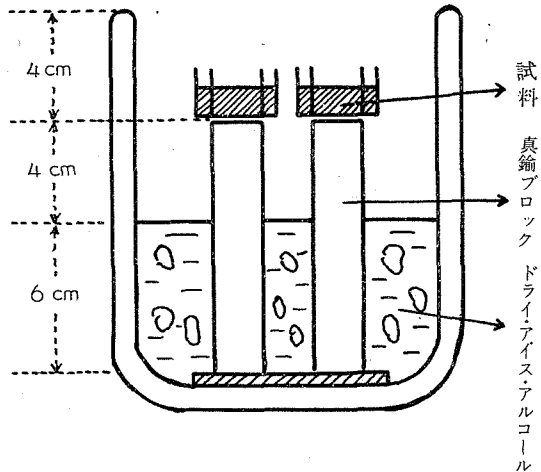
試料を予備凍結する場合に、氷の成長がゆっくり進む時は、浮遊している菌体は徐々に未凍結の部分に押しやられる。凍結後の試料内部をもっとこまかく考えてみると、部位によって菌体分布に差を生じていることになる。

通常の方法で予備凍結をすると（寒剤に浸したガラス管の中及び低温室内放置を含めて）、かなりゆっくりした凍結になり、しかも氷の成長は周囲全体から始まる。従って菌体の分布は、周囲でうすく中心部で濃いものとなることが想像される。これが乾燥の速さに影響するのではなからうか。このような影響を少なくするためには、比較的速い凍結をすることと、外側から中心部に向かって水平に進む氷の成長を防ぐことが必要である。そこで、径 1.5 cm、長さ約 10 cm の、上面の平らな真鍮ブロックを、上部 4 cm を残して

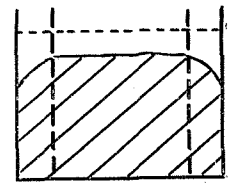
デュワー瓶中の寒剤（ドライアイス・アルコール）中に立てて冷やしておき、その上面に試料の入った容器をのせ、凍結が底から上部へ向ってかなりの速度で進むように工夫した（第 3 図）。

こうして凍結した試料では、乾燥の進み方は前のものとはかなり異なり、外側約 3 mm を除いた内側では殆んど平面となっていた（第 4 図）。従って、この部分だけを用いれば、一応我々の目的とするものが得られることになる。

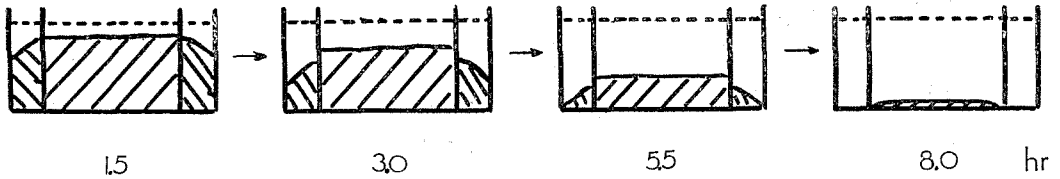
この考えを更に進めて、外から影響されるのは約 3 mm の厚さの外側の部分だけで、他の大部分は均一な条件下にあるのであるから、外側 3 mm を除くかわりに、必要とする試料の外側に約 3 mm の保護帯ともいべきものを始めから設けておけば良いのではないかと考えた。そこで最初の容器の外側に、約 3 mm の間隔をおいてもう一重の壁を作り、その間にも比較的試料に似た物質を入れて、外界からの影響に対する保護帯とした。この容器を先の金属柱上で凍らせたものでは、氷の成長は底面から上面に向かって殆んど平面をもって進むことが、容器の外からの外見や、表層から棒をさし込んでみての凡その計測や、表層での凍結の状態から判定された。この時の試料の冷却速度は、別に行なった実験から $-20^{\circ}\text{C} \sim -50^{\circ}\text{C}$ の間で約 $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ であることを知った³⁾。こうした試料を乾燥した時の乾燥の進み方を図示すると次のようになる（第 5 図）。



第 3 図 改良した予備凍結のし方（試料容器は始め一重のものを使用したか、後に図のような二重容器を使用した）



第 4 図 真鍮ブロックの上で一重容器を使って予備凍結した試料の乾燥の進み方

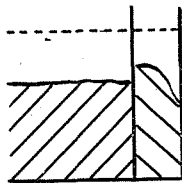


第5図 真鍮ブロック上で二重容器を使って予備凍結した試料の乾燥の進み方

即ち外側部分の試料の乾燥は、一般に内側のものより早く、しかも肩がくづれて行くが、二重壁の内側では常に平面的に進み、乾燥の終期には底面全体に氷の薄片を残すのみとなったので最初の目的をほぼ達することが出来た。

IV. 考 察

我々は乾燥が平均に進まない理由として、1) 乾燥の際の熱の伝導、2) 予備凍結の際の氷の成長の仕方、の二つを考えた。今回の検討では、前者は殆んど問題にならない程度のものであったが、多かれ少なかれ必ず附随する現象であると思われる。即ち、一重の容器に入れて金属柱上で凍らせた時には外側の数 mm が早く乾燥すること、或いは二重壁容器では外側の部分が一般に早く乾燥すること、しかも二重壁の外側の氷がなくなると内側の氷の肩が落ち始めることなど、いくつかの事実が乾燥の際の熱の伝導の影響によることを示唆しているように思われる。この影響を除くためには、外からの熱の供給を少なくし、乾燥の進行を無限に遅くして試料各部の温度の平衡を保つようにすればよいのであるが、乾燥の効率などの面から考えれば、このような事は実際には出来ない。次に第2の凍結の問題であるが、これは凍結の条件によつ



第6図 二重壁の内
部で乾燥が進んで
いる例

てきまる試料内部の氷晶形態、菌体の濃縮などの構造的な影響が主となるのではなからうか。例えば、根井、浅田による凍結試料薄片の顕微鏡観察によれば⁹⁾、二重容器の内側試料では、氷の結晶は上下にのびた規則正しい霜柱状をしている場合が多いのに対して、外側試料では殆んどが、ななめ、或いは水平の結晶であり、その氷の間にはさまれた菌体の濃度が、外側試料のうちでも外側で薄く内側になる程濃くなっていることなども、その根拠になるように思われる。

通常の凍結乾燥の時の一重容器では円錐状の氷が残ること、或いは二重壁の間の部分で外側が早く乾くことは、熱の供給の問題もあろうが、この凍結による試料の形態的な条件が要因になるものと考えられる。特に濃縮された菌体が多いところほど、その下層よりの昇華が妨げられるものと想像される。

時には第6図のように、内壁の外側より内側の氷の方が低いことがあるが、これなどもそのひとつの証拠なのかも知れない。

とにかくこれらの凍結の仕方や、乾燥の経過などから考えて、平坦な乾燥面を示す部分だけをとり出せるような形にしたのが、種々工夫した結果の最終案なのである。

V. 結 論

凍結乾燥の乾燥過程で、試料の表面から底面に至るまで乾燥が常に平面をなして進行するように、予備凍結の条件や乾燥の方法をいろいろ工夫した結果、二重壁の容器を用いて底面から凍結させたものが、比較的その目的に近いことをみとめた。

文 献

- 1) 根井外喜男・僧都博・花房尙史・荒木忠 1961 凍結乾燥に於ける乾燥の機構. VIII. 乾燥過程での試料中の部位による含水率と生残率との関係 (第2報). 低温科学, 生物篇, **19**, 59-72.
- 2) 桜田弘一 1958 微生物についての凍結乾燥と液状乾燥の比較. 低温科学, 生物篇, **16**, 91-105.
- 3) 荒木 忠・根井外喜男 1961 凍結乾燥に於ける乾燥の機構. VII. 凍結及び乾燥過程の試料の温度. 低温科学, 生物篇, **19**, 43-47.
- 4) 根井外喜男・浅田 実 1961 凍結乾燥に於ける乾燥の機構. IX. 薄片標本による形態的観察 (第2報). 低温科学, 生物篇, **19**, 73-78.

Résumé

During drying from the frozen state, a specimen is apt to dry more rapidly at the peripheral part near the wall of the container than at the center.

In order to follow changes in water content and cell survival in different parts of a specimen during the whole course of the drying process, the specimen must be divided into several layers parallel to the surface and examined at each stage of drying.

For this purpose, several means concerning freezing and drying procedure and the container were examined to make the process of sublimation of ice equal and uniform at the periphery and the center in the specimen, keeping always a flat plane at the subliming surface.

A special container composed of double walls and a freezing procedure to cool the specimen through the bottom were recognized to be more useful than any other for an investigation on freeze-drying.