



Title	溶液の凍結 II : Glucose 溶液中の氷晶と再結晶
Author(s)	根井, 外喜男; NEI, Tokio
Citation	低温科学. 生物篇, 23, 157-162
Issue Date	1965-12-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17705
Type	departmental bulletin paper
File Information	23_p157-162.pdf



溶 液 の 凍 結 II*

glucose 溶液中の氷晶と再結晶

根 井 外 喜 男

(低温科学研究所 医学部門)

(昭和38年7月受理)

I. 緒 言

本実験は前報¹⁾(本シリーズの第1報)と同様、次の第3報²⁾に述べる glucose 加血漿の凍結に関する実験の対照として行なったものである。

これまでに、いろいろな種類の溶液の再結晶については、opacity の最大に達する点から、それぞれの再結晶温度 (Luyet は最初 recrystallization temperature といわず devitrification temperature と名づけていた) がきめられ、しかもそれは溶質の濃度よりもむしろ分子量の大小に左右されるものと報告³⁾されている。その1例として glucose についても再結晶温度が測定され、2 M 溶液では -40°C であるといわれている。

一方、glucose 溶液の凍結の pattern については、Luyet and Rapatz の論文⁴⁾に、10% glucose の -40°C 凍結のもの写真が1葉(同論文の p.25, Fig. 14, photo 2)掲載されているだけで、他に殆んど報告をみない。

本実験では、glucose 溶液を試料としてその濃度をかえ、また凍結条件をかえた場合の凍結の pattern をしらべ、更に加温したときにおこる再結晶の状況を顕微鏡的に観察したものである。

II. 方 法

具体的な実験方法は、第1報の血漿の場合と全く同様である。

試料としては、5%、10%、20% の glucose 溶液を用いた。

凍結の条件は、 -50°C のアルコール、 -150°C の isopentane への直接挿入で、加温方法は、凡そ $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ の速度での継時加温と、一定温度の冷却槽に10分間づつおく加温方法の2つを用いた。

2枚の cover glass に挟んだ薄層試料を冷却槽に挿入して、その凍結状態を顕微鏡で観察することは、前報と全く変りはない。

試料はなるべく厚さを均一にして、同一条件で凍結するようにつとめてはいるが、周辺と中心部とでは必ずしも同一ではないとみえて、後述するように、例えば10%液で、ごく周辺

* 北海道大学低温科学研究所業績 第650号

部に evanescent spherulite, そのやや内側に coarse spherulite, 更に内部に irregular dendrite と, 場所によってかなり pattern の異なることがみとめられた。また四隅にだけ spacer をおくと, 中心部は薄くなるので, 偏光の効果が出にくかった。

III. 結 果

1. 5% glucose 溶液

A. -50°C での凍結

1) 凍結の pattern

羽毛状或いは花卉状の模様を呈する。血漿の -50°C 或いは -150°C 凍結の pattern に似ているが, 多少その形が異なる。特に血漿には見られないやや堅い感じの羊歯状の構造の混在するのが目につく。偏光では明暗のコントラストが顕著であるが, 普通光でも上記模様の輪郭は大体みとめられる。crystallization unit の center には粒子様のもののみとめられることが多い。

2) 加温による再結晶

-40°C までは全然変化はみられない。 -30°C になると, center にある粒子様のものが大きくなる。また羊歯状構造の辺縁に接して, 長方形に近い感じの微粒子が現われ, 次第に数を増してきて集塊となり, 視野の全般に散在するようになる。これらの変化は, 始めは普通光でしかみられないが, 大きな集団になると偏光でもみとめられる。 -20°C まで温度が上ると, 血漿の時とは多少異なって, この粒子様のものは, 一部消失するようにはみえるが, 大部分のものは融合して幾つかの氷晶に変って行く。同時に, 背景にみえる本来の pattern の花卉様式は羽毛様の 1 片 1 片が更に幾つかの小区劃に区切られる。この生成起源の異なる両者の氷晶は混在して, 相互間の区別はできにくくなるが, 偏光での明暗は最後まで残っている。この過程で, 羊歯状の各片にみられる葉脈様微細構造は, 縮緬様の細かな皺となり, 次第に透明化して波様となる。

B. -150°C での凍結

1) 凍結の pattern

-50°C の凍結の場合と同様な曲りくねった柔かい感じの羽毛状構造の上に, やや堅い感じの羊歯様で放射状に走る構造が重なっているようにみえる。しかもこの羊歯様のものの各片の間には, 細かな粒子が散在している。

2) 加温による再結晶

-35°C になると, 羊歯様構造は普通光でも鮮明になり, 粒子も数を増す。 -30°C になると, この羊歯様構造はすべて無数の粒子に変ってしまうが, その僅かの間隙からみえる羽毛様構造のものは依然として全然変化をみせない。更に -20°C まで温度が上昇すると, 視野のほぼ全面に拡がった粒子は数個ずつ融合してかなり大きな氷晶になる。同時に羽毛様構造も幾つかの区劃に分れ, それぞれ皆氷晶に移行する。偏光では, いずれも勝手な軸方向を示していることがわかる。

2. 10% glucose 溶液

A. -50°C での凍結

1) 凍結の pattern

すべて irregular dendrite で、個々の花卉の小さな菊花状模様を呈している。5% 溶液でみられたような粒子状のものはない。

2) 加温による再結晶

-40°C まで上ると、偏光では殆んど変化はみとめられないのに、普通光では菊花状模様はつきりみえてくる。視野全体としてもかすかに opacity を増す。 -35°C では小さな粒子状のものが現われてきて、次第に数を増し、やがて全面を覆うようになる。 -30°C ではその経過がもっと早く、10分で短冊状の小さな氷晶が視野全体を満すのがみとめられる。この頃には菊花状の原形は全く失われてしまい、視野全体が微氷晶で覆われ、更に温度が上昇するに従って個々の size は多少大きくなるが、最後に -10°C を過ぎるあたりから融解が始まる。

B. -150°C での凍結

1) 凍結の pattern

-50°C 凍結のものより更に小さな菊花状模様で、irregular dendrite と coarse spherulite との中間形ともいうべき pattern を呈する。

2) 加温による再結晶

-45°C では極めてかすかな、 -40°C ではかなりはつきりした変化、つまり普通光で菊花状の各 crystallization unit の輪郭及び内部構造がみえてくる。 -35°C 、 -30°C と温度が高くなるほどそれらの変化は急激に進み、同時に全体として opacity が増す。視野全体として暗くなるが、その中の微細像をよく観察すると、 -50°C 凍結のものに似ているが更にそれより微細な粒子の一面に現われているのがわかる。 -20°C では、それらの粒子は成長してはつきり氷晶としてみとめられるようになり、視野全体も再び明るくなる。更に温度が上ると融解過程に移る。

3. 20% glucose 溶液

A. -50°C での凍結

1) 凍結の pattern

普通光では、かすかに輪郭がうかがわれる程度で、crystallization unit の pattern はみとめ難い。偏光では、Maltese cross が現われているが、放射状の線条がはつきりとみとめられるので、coarse spherulite と名づけるべきものと思われる。

2) 加温による再結晶

-40°C では、1分で早くも普通光で内部放射状線条がはつきり現われてくる。3乃至5分でかなり opacity が増し、Maltese cross が不鮮明となる。また視野全体がやや rough な感じになる。 -30°C あたりで opacity が最大に達した後は、視野一面に極めて微細な粒子が見え始め、それが成長するに従って全体は再び明るくなっていく。

B. -150°C での凍結

1) 凍結の pattern

本実験の全シリーズを通じて、最も不完全結晶に近い pattern がみられた。すなわち普通光では、輪郭が極めてかすかにみえる外は全然何もみえないが、偏光で定型的な Maltese cross のみえる円形の evanescent spherulite から成っている。しかも多くの場合、直径が $10\sim 50\ \mu$ と $100\sim 200\ \mu$ の大小2つの group に分れ、互に混在している。

2) 加温による再結晶

-45°C で輪郭がやや見えて来、 -40°C では輪郭と同時に center から次第に暗くなるのが普通光でよくみられる。更に仔細に観察すると、center から周辺に向って放射状に非常に細い条線の走っているのがわかる。同時に偏光では Maltese cross が不鮮明となり、全体として opacity が増し rough な感じが強くなる。 -30°C あたりで opacity は最大に達する。それより温度が高くなると、微細粒子が現われ、個々の粒子が成長し大きくなるに従って視野は再び明るくなり、 -10°C を越えると融解が始まる。

IV. 考 察

先ず凍結によって試料中にできた氷晶の pattern をみると、試料の濃度により、また凍結の温度により、いろいろな種類の氷晶がみとめられた。即ち試料の濃度が低いほど、また凍結の温度の高いほど、完全な氷晶に近い irregular dendrite がみられ、濃度が高くなるほど、そして凍結温度が低くなるほど、逆に不完全氷晶に近づいて coarse spherulite 或いは evanescent spherulite がみられた。

加温によっておこる再結晶は、initial pattern が異なると多少その経過も異なるが、本質的には先ず irruptive recrystallization がおき、引続いて migratory recrystallization (これらの字句については第1報で説明した) に移行すると考えてよいのかもしれない。不完全結晶に近い evanescent spherulite では、それが比較的是つきりとみとめられ、opacity が最大に達するまでの過程と、微粒子が現われそれが成長して個々の氷晶になる過程との2つに分けることは、必ずしも難しくはない。しかし完全結晶に近い irregular dendrite では、前半の irruptive recrystallization に相当する過程がはつきりせず、opacity もそれほど増さない。initial pattern から直接小区割への分割が行なわれる過程を migratory recrystallization といつてよいかどうかはわからないが、とにかくこの過程が主体となっているようである。ただ5% glucose 液でみられる粒子状のものが、加温の早期(比較的低い温度)にはかなり増加するが、やがてまた消失してしまうこと、また10% glucose 液では、同じように粒子状のものが増加するが、この場合は消失せずにいずれも最後には個々の氷晶に移行することなどは、どのように説明してよいのか、その本態は何であるのかわからない。しかし、視野の中での位置的な関係などから想像すれば、羽毛状或いは花卉状の基本的な pattern とは別個な性質のもののように思われる。

glucose 溶液の再結晶温度については、2 M 溶液で測定されて -40.6°C と報告されている。本実験でも20% 溶液(1.1 M)のものは、 -45°C でかすかに変化が始まり、 -40°C でかな

り opacity の増加するのがみとめられた。ただ Luyet⁹⁾ は溶質の濃度には余り影響されないと述べているが、本実験によると、濃度が増すほど加温過程の変化はより低温でおきるように思われる。しかし、この場合の再結晶現象というのは、第1報でも述べたように、質的にいろいろと異なっている上に、かなりの範囲に亘つての連続変化であるから、定量的にはつきりとした比較をすることは困難である。

摘 要

1. 5%, 10%, 20% glucose 溶液を2枚の cover glass 間に挟んだ薄層試料として、 -50°C 又は -150°C で凍結させると、irregular dendrite, coarse spherulite, evanescent spherulite 等の pattern を示した。即ち試料の濃度が高くなるほど、また凍結温度が低くなるほど不完全氷晶に近づいた。

2. 以上の凍結試料を加温すると、試料の条件によってかなりの差はあるが、概括して微粒子の出現増加、視野の暗黒化、微細氷晶の生成発達等の過程がみとめられた。これらの現象は -40°C 付近から始まり、 -10°C を越して融解の始まるまで連続的に経過した。試料の濃度が高く、凍結温度の低いものほど、低温度から変化が始まり、全過程が明瞭に現われた。

文 献

- 1) 根井外喜男 1965 溶液の凍結. I. 血漿中の氷晶と再結晶. 低温科学, 生物篇, **23**, 149-156.
- 2) 根井外喜男 1965 溶液の凍結. III. glucose 血漿中の氷晶と再結晶. 低温科学, 生物篇, **23**, 163-172.
- 3) Luyet, B. 1939 The devitrification temperatures of solutions of a carbohydrate series. J. Phys. Chem., **43**, 881-885.
- 4) Luyet, B. and Rapatz, G. 1958 Patterns of ice formation in some aqueous solutions. Biodynamica, **8**, 1-68.
- 5) Luyet, B. 1960 On various phase transitions occurring in aqueous solutions at low temperatures. Ann. N.Y. Acad. Sci., **85**, 549-569.

Summary

Five %, 10 % and 20% glucose solutions were examined on crystallization and recrystallization in freezing under the same experimental condition as described in the first report of this series.

Results obtained from the photomicrographic study showed a wide variety of patterns of ice formation in the initial freezing, such as irregular dendrites, coarse or evanescent spherulites, depending on the concentration of glucose and on the cooling temperature; the lower the glucose concentration and the higher the temperature, the greater the likelihood of the formation of irregular dendrites, and, conversely, the higher the concentration and the lower the temperature, the greater the possibility of obtaining evanescent spherulites.

Recrystallization upon rewarming was a gradual continuous process ranging approximately from -40° to -10°C . The main changes as follows occurred successively or sometimes overlapped during the recrystallization process; appearance of grains, increase in coarseness and in opacity, visualization of ice particles and their growth.

図版説明

記載についての一般的な事項は第1報と同じである

図版 I

- 試料 I-1 5% glucose, -50°C 凍結, 対照 -50°C
 I-2 同上 -40°C , 殆ど変化はない
 I-3 同上 -30°C , 偏光ではわからないが, 普通光で羊歯状構造の部分に粒子の現われるのがみえる

図版 II

- 試料 I-4 同上 -25°C , 偏光でもわかるようになる
 I-5 同上 -20°C , かなり広範囲に拡がると同時に, 基本構造も各区劃に仕切られる
 I-6 同上 -10°C , 基本構造も粒子集団も明瞭な区劃に変わる

図版 III

- 試料 II-1 5% glucose, -150°C 凍結, 対照 -50°C , 羊歯状構造がよくみえる
 II-2 同上 -35°C , 羊歯状構造に相応して, 普通光で粒子状のもの出現
 II-3 同上 -30°C , それらはかなり増加し, 偏光でもみえるようになる。個々の粒子は長方形を呈する

図版 IV

- 試料 II-4 同上 -20°C , 個々の粒子はやや大きくなる
 II-5 同上 -10°C , 更に増大し1区劃が明瞭になる。基本構造の区劃は大きい(右上部)
 II-6 同上 -5°C , 既に融解が始まっている

図版 V

- 試料 III-1 10% glucose, -50°C 凍結, 対照 -50°C
 III-2 同上 -40°C , 2分, 普通光でややコントラスト増す
 III-3 同上 -40°C , 10分, 更に増す

図版 VI

- 試料 III-4 同上 -30°C , 2分, 粒子様のもの現われる
 III-5 同上 -30°C , 10分, 更に増加する

図版 VII

- 試料 IV-1 10% glucose, -150°C 凍結, 対照 -50°C
 IV-2 同上 -35°C , 普通光でもはっきり微細構造がみえるようになる
 IV-3 同上 -30°C , 全体として微粒子様になり, opacity 増す

図版 VIII

- 試料 IV-4 同上 -20°C , 個々の微粒子はやや増大
 IV-5 同上 -10°C , 更に大きくなり, 融解が始まる

図版 IX

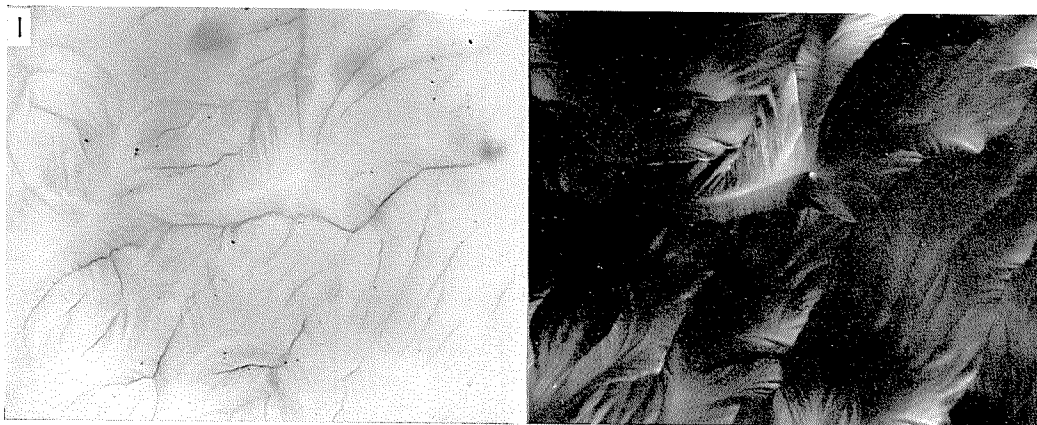
- 試料 V-1 20% glucose, -50°C 凍結, 対照 -50°C , Maltese cross みとめられる
 V-2 同上 -40°C , 3分, やや opacity 増す
 V-3 同上 -40°C , 10分, 一層 opacity 増し粗造になる

図版 X

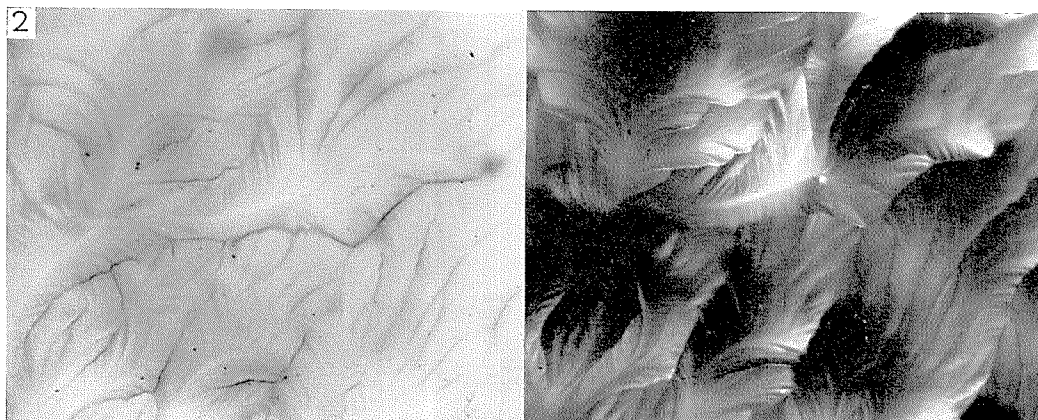
- 試料 VI-1 20% glucose, -150°C 凍結, 対照 -50°C , 大小の crystallization unit がみられる
 VI-2 同上 -40°C , 2分, 偏光でのコントラストがおちる
 IV-3 同上 -40°C , 5分, やや opacity 増す。普通光で center 及び border line の暗黒化するのが顕著

試料 I. 5% glucose, -50°C 凍結

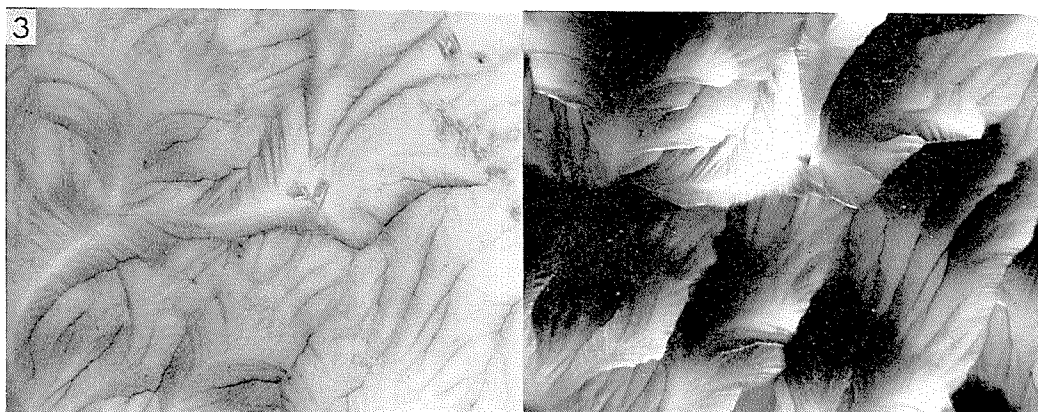
-50°C



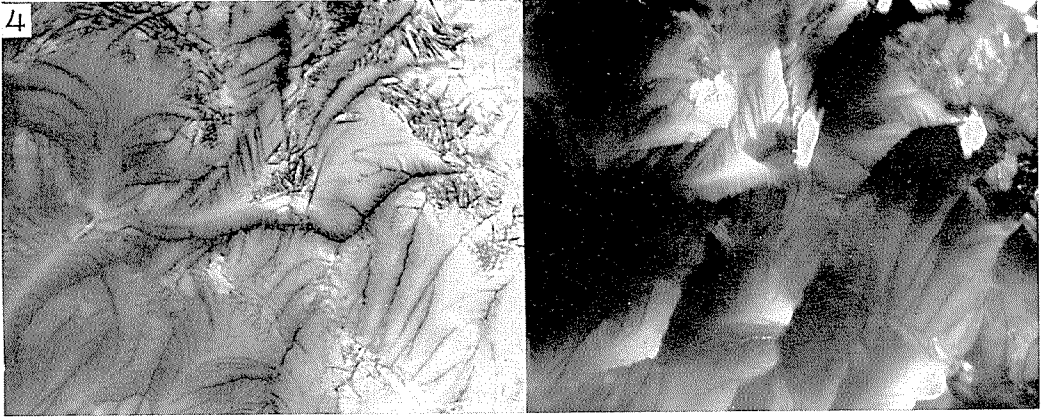
-40°C



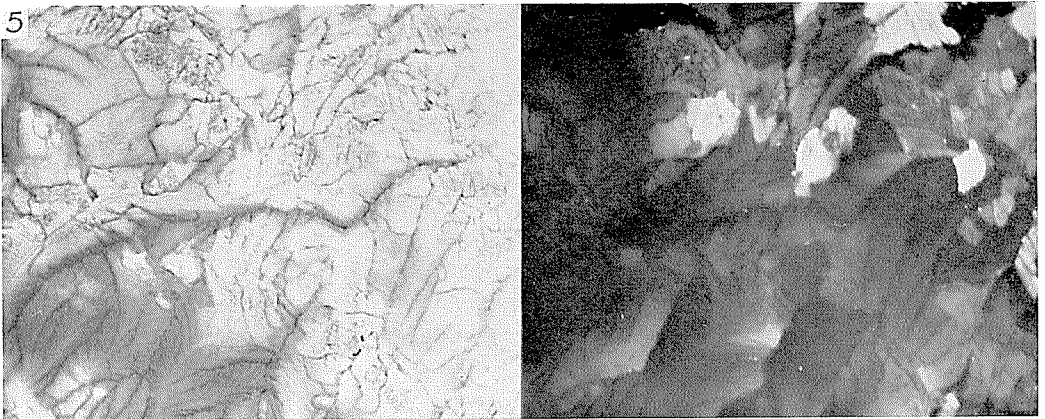
-30°C



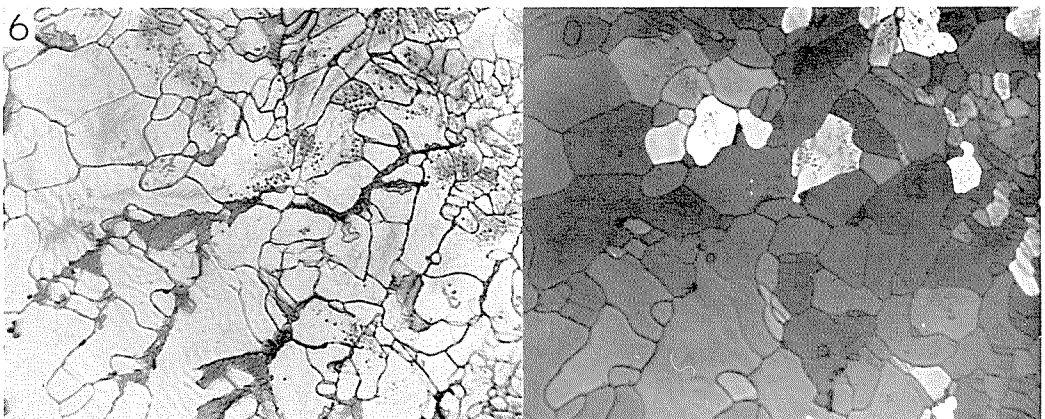
-25°C



-20°C

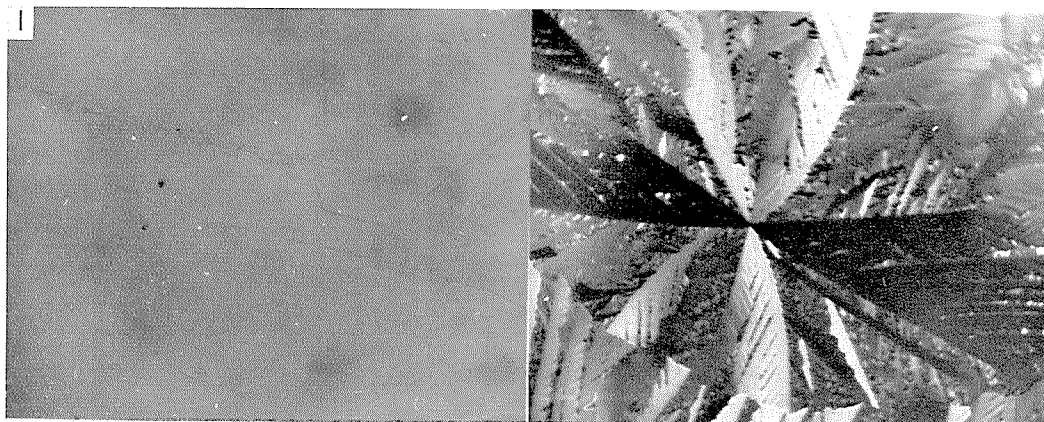


-10°C

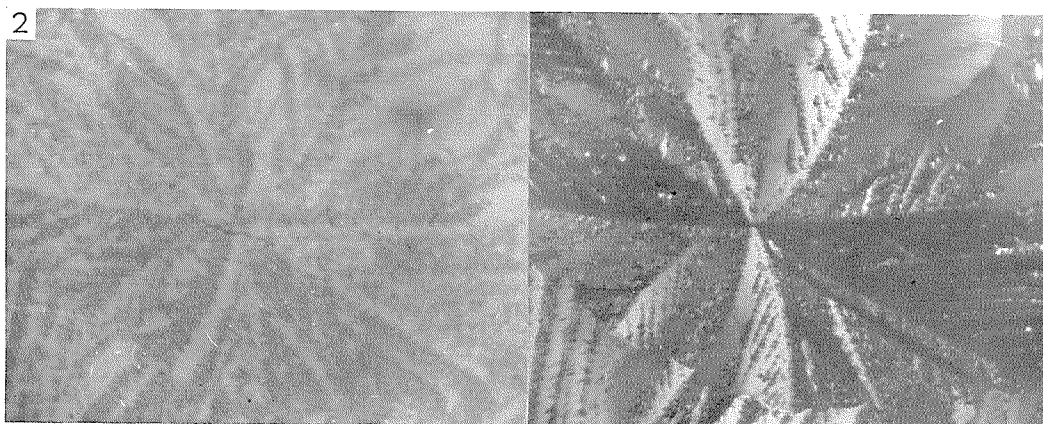


試料 II. 5% glucose, -150°C 凍結

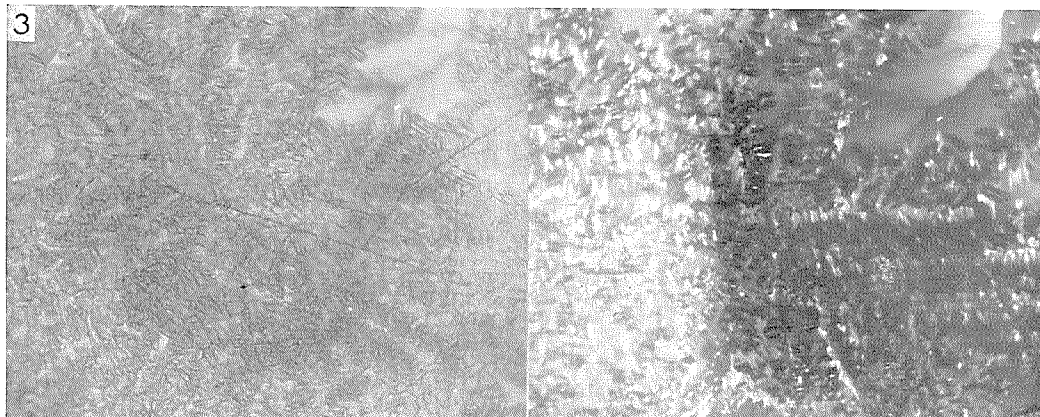
-50°C



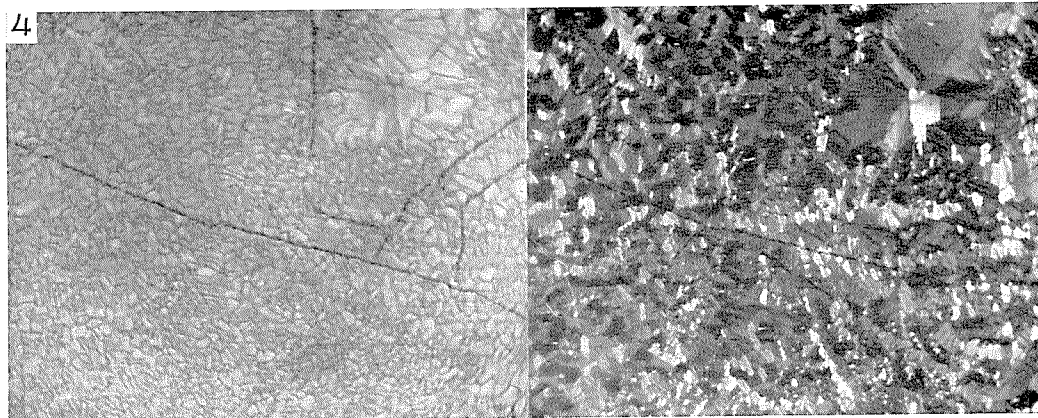
-35°C



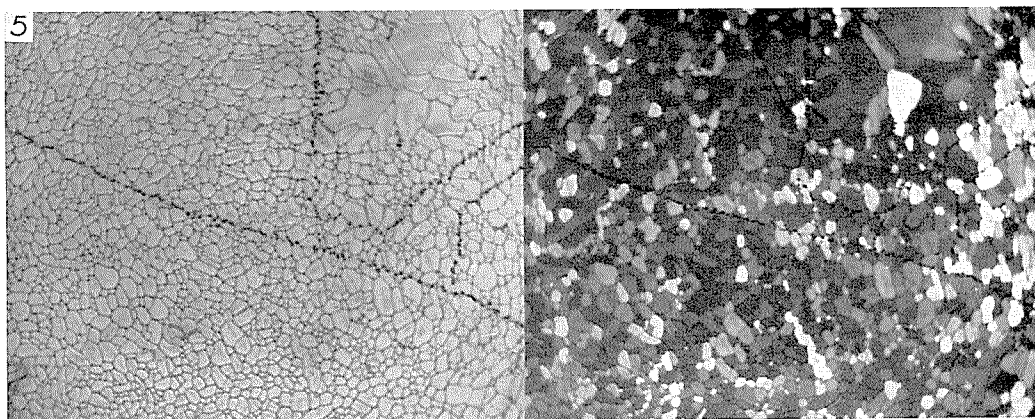
-30°C



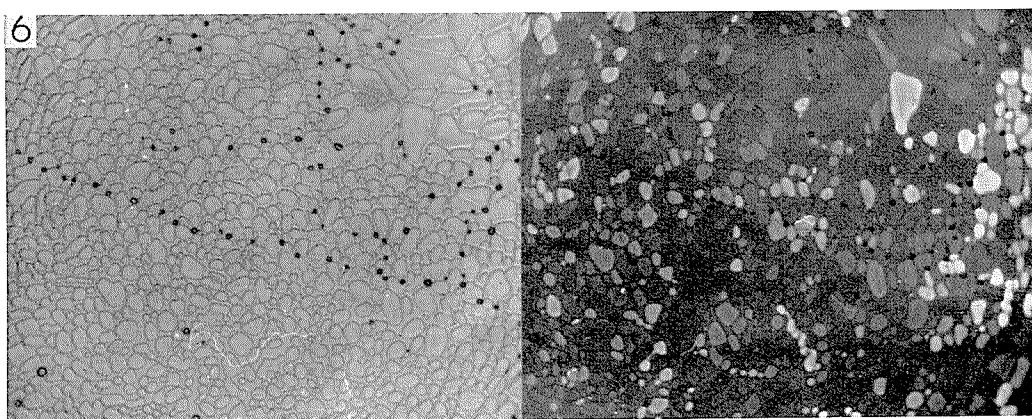
-20°C



-10°C

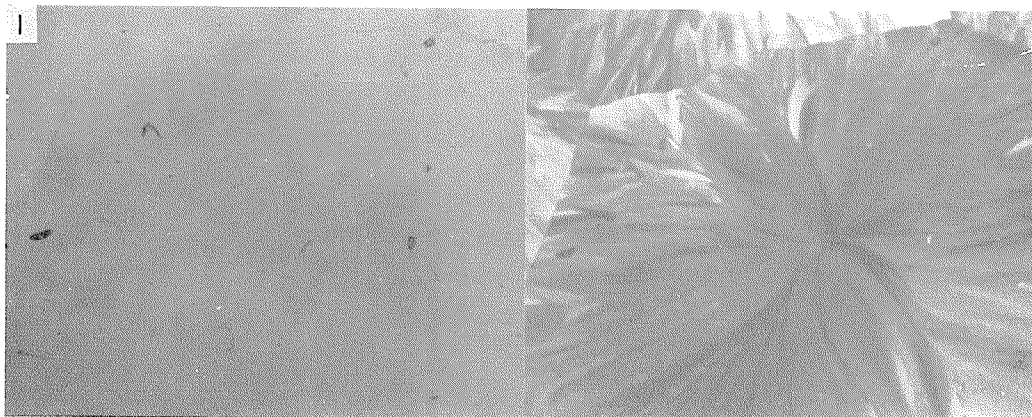


-5°C

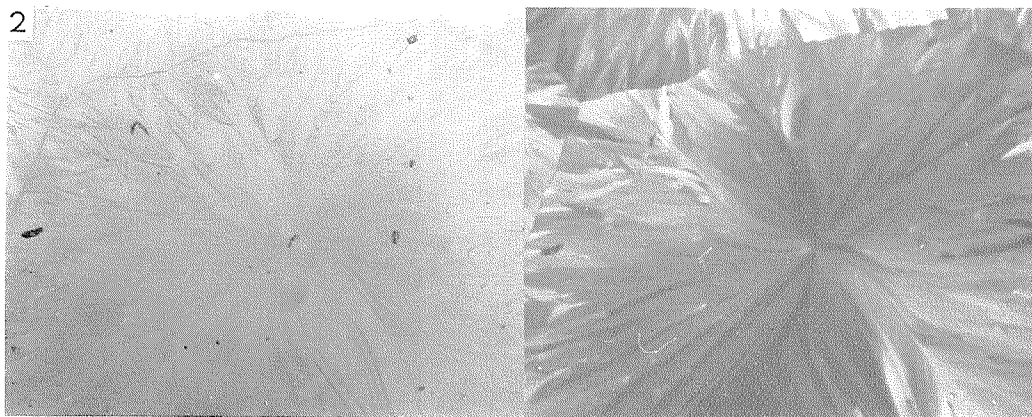


試料 III. 10% glucose, -50°C 凍結

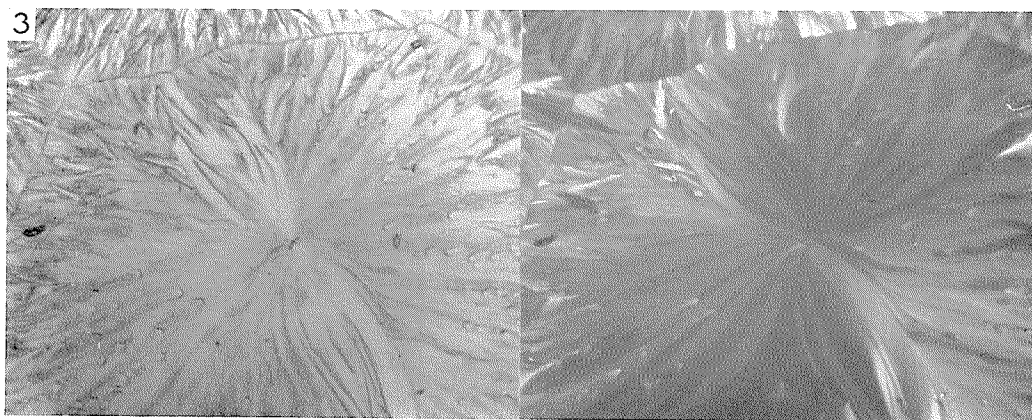
-50°C



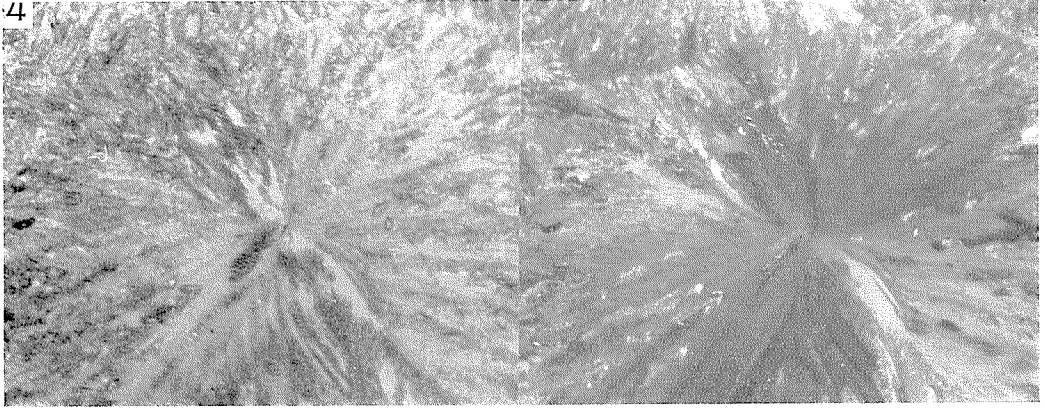
-40°C , 2 min



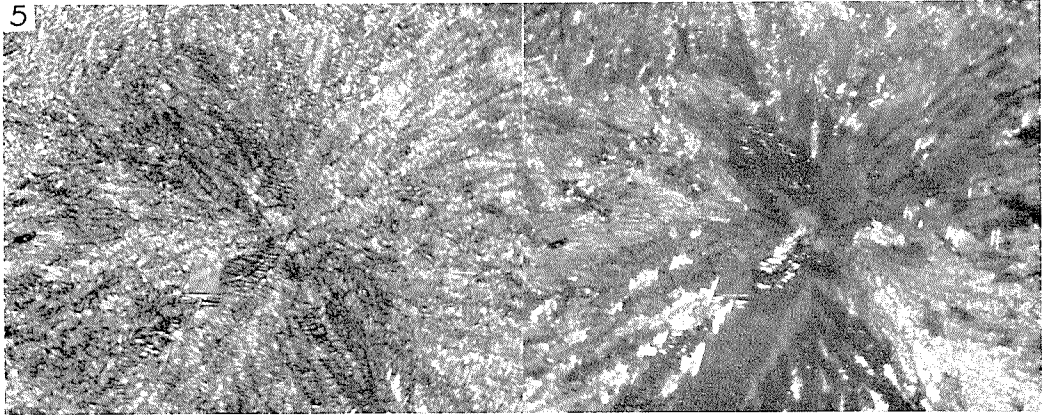
-40°C , 10 min



-30°C, 2 min

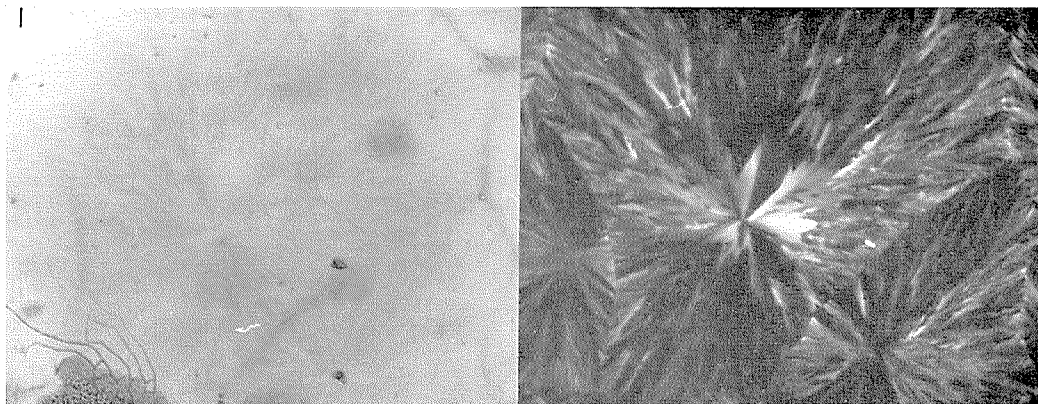


-30°C, 10 min

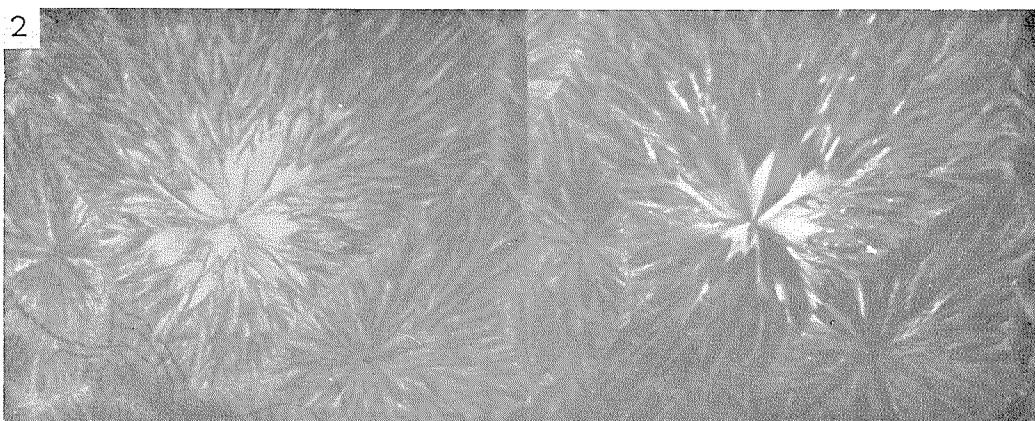


試料 IV. 10% glucose, -150°C 凍結

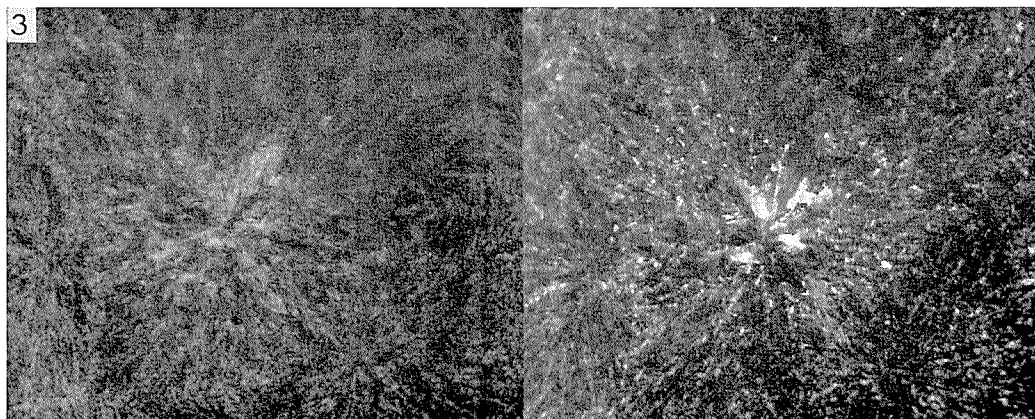
-50°C



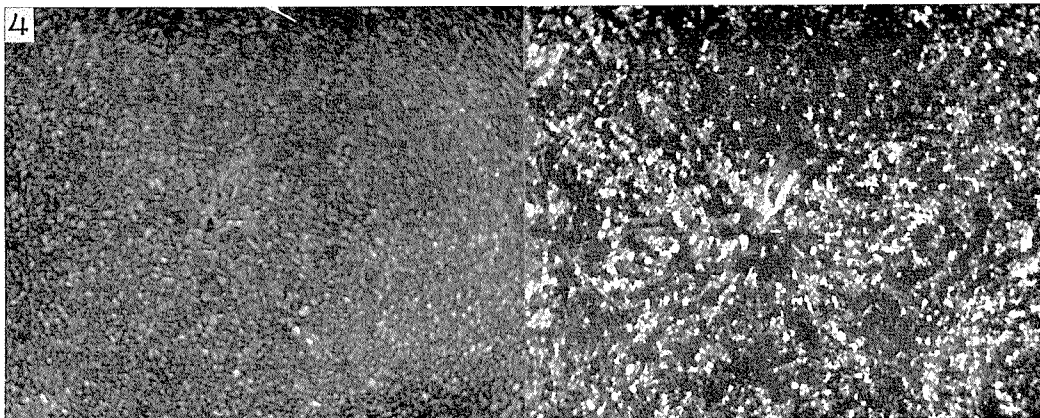
-35°C



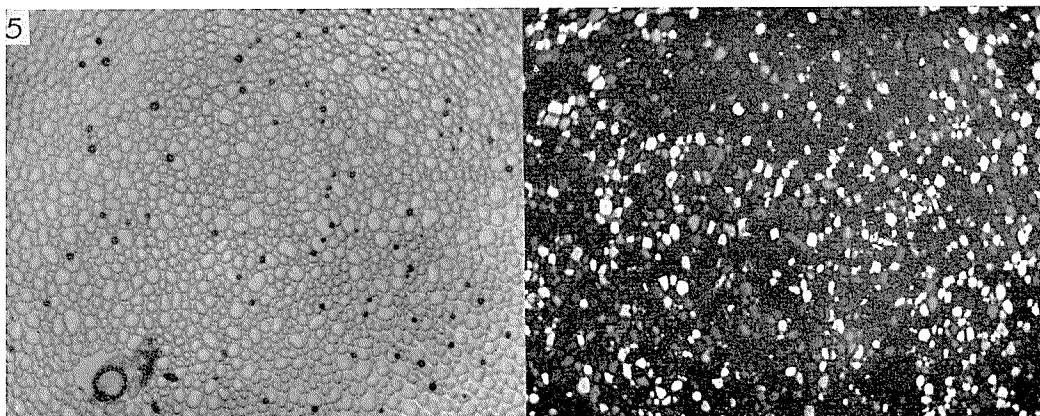
-30°C



-20°C

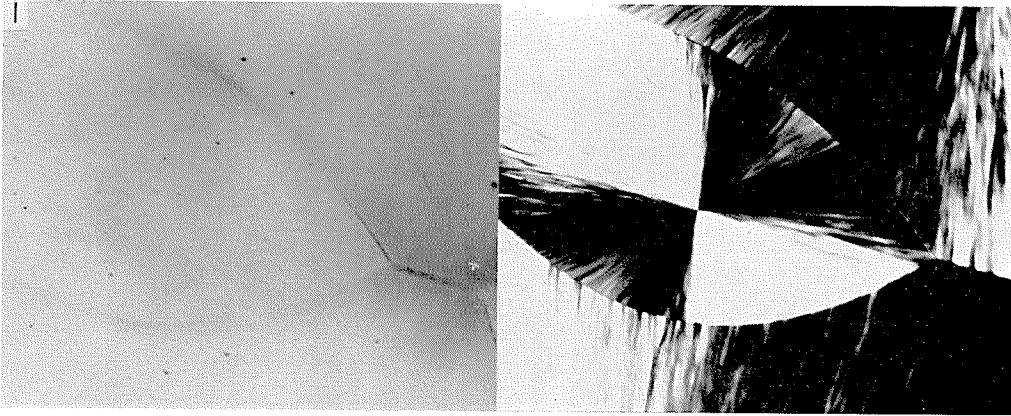


-10°C

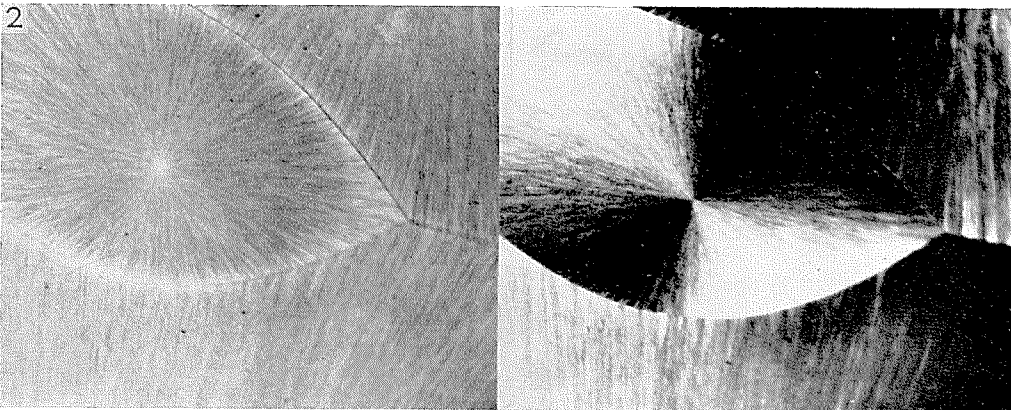


試料 V. 20% glucose, -50°C 凍結

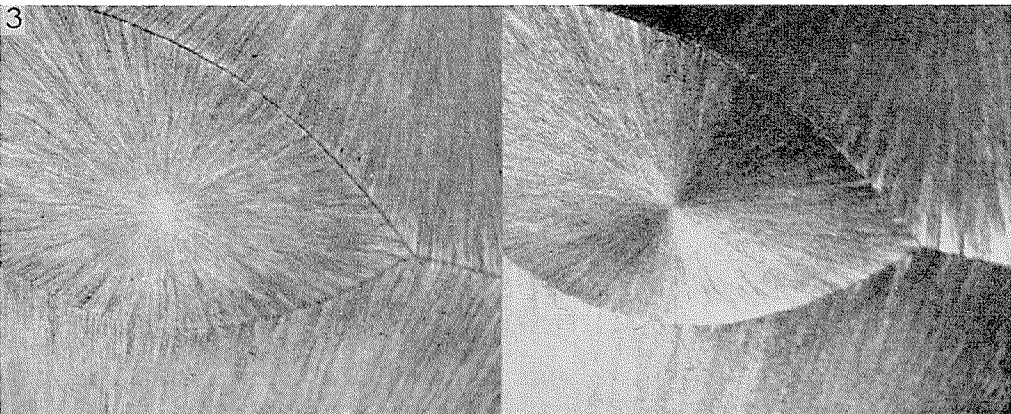
-50°C



-40°C , 3 min

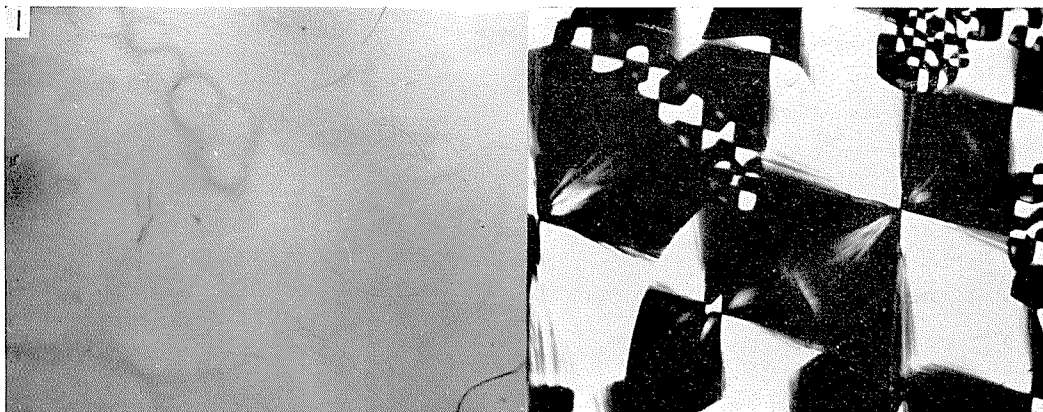


-40°C , 10 min



試料 VI. 20% glucose, -150°C 凍結

-50°C



-40°C , 2 min



-40°C , 5 min

