



侵华日军第七三一部队罪行实录

金成民 主编

日本细菌战史料集：

细菌实验类

(三)

杨彦君 主编



侵华日军第七三一部队罪行实录

金成民 主编

日本细菌战史料集：
细菌实验类
(三)

杨彦君 主编

目 录

- 1 基于冻结真空干燥法的弱毒性鼠疫菌活菌保存方法研究
第 2 篇 各种冻结温度及干燥温度的影响 / 野口圭一
- 21 关于鼻疽抗原的实验性研究
第 1 报告 关于马鼻疽素的抗原性 / 井上隆朝等
- 35 关于鼻疽抗原的实验性研究
第 2 报告 吾等关于所谓 N.K.M 及 N.A.M 的研究 / 井上隆朝等
- 41 鼻疽的血清学研究
第 3 报告 关于健康动物血清的小实验 / 井上隆朝等
- 45 鼻疽菌的生物学性状
其一 关于培养中的 pH 值、温度及丙三醇添加量 / 佐藤大雄
- 67 关于鼻疽菌与惠特莫尔杆菌的鉴别 第 1 报告 / 佐藤大雄
- 73 鼻疽菌与其他病原菌的共生试验 / 井上隆朝 小泽清
- 77 关于分别使用糖蛋白胨水与 3% 的甘油肉汤 (PH6.6) 培养鼻疽菌过程中的
PH 值变化 / 佐藤大雄 小泽清
- 80 关于鼻疽化学疗法的实验补遗
脾丸纳明剂对鼻疽菌的发育抑制实验 / 井上隆朝 小泽清
- 87 关于鼻疽菌抵抗力的实验
尤其是针对温热及消毒性药物的实验 / 菅原敏

- 108 关于鼻疽菌的噬菌现象 / 石井要 小泽清
- 112 关于鼻疽菌在各种瓜果根菜类上的生存情况 / 佐藤大雄
- 125 对鼻疽菌及其他细菌进行紫外线照射的试验 / 佐藤大雄 小泽清
- 138 关于灵杆菌的研究
 针对除菌过滤器检定用菌的选定
 第 1 篇 普遍性生物学形状 / 尾能吉一
- 179 “豚”的细菌学研究
 第 4 报告 31 种市售“豚”的白喉杆菌毒素产生能力及其与各种豚氮素
 分离情况的关系 / 内藤良一等
- 195 关于鸟山氏低压蒸气中辉光放电杀菌的追加实验及考察 / 津山义文 岛冈良一
- 229 关于我设计的一种新型“杜氏利什曼原虫”检测用干燥培养基 / 谷山直记
- 238 基于冻结真空干燥法大量保存伤寒菌活菌过程中干燥度对细菌生存的影响 / 久保田功 小泉新吉
- 247 基于冻结真空干燥法的弱毒性鼠疫菌活菌保存方法研究
 第 3 篇 关于干燥菌的溶解实验 / 野口圭一
- 256 关于炭疽的研究补遗
 第 4 报告 关于炭疽芽胞抵抗力的研究
 第 1 篇 基础性研究
 其二 关于后期培养用的“肉汤” / 大田黑猪一郎
- 267 关于细菌战 / 北条圆了

270 关于炭疽的研究补遗

第1报告 关于一例炭疽菌粘液性变异株 / 大田黑猪一郎

298 关于炭疽的研究补遗

第2报告 关于利用菌体抽出物进行炭疽菌感染防御的
实验 / 大田黑猪一郎

323 关于结核菌液体培养的研究

第1报告 关于加血清液体培养基中痰结核菌的发育情况及其
临床应用价值 / 增田知贞 物江敏夫

344 关于A型及B型副伤寒菌的毒力增强实验 / 渡边陆奥男 小泽清

351 关于昭和七年(1932)袭击满洲全境的霍乱调查以及对该霍乱菌的
研究 / 陆军军医学校防疫研究室

陸軍軍醫學校防疫研究報告
第2部 第216號

弱毒「ヘスト菌」ノ凍結真空乾燥法ニヨル生
存保存方法ノ研究

第2篇 各種凍結溫度竝ニ乾燥溫度ノ影響

陸軍軍醫學校軍陣防疫學教室(主任 石井少將)

陸軍軍醫大尉 野 口 圭 一

第 2 部
原 著
分類 441—4 342—004 395—001
受附 17. 1. 17

216-2

目 次

緒 言

第1章 實驗裝置及共通實驗方法

第1節 乾燥器、真空ポンプ、容器

第2節 菌株、培地、培養法

第3節 菌浮游液

第4節 乾燥法及生菌數計算法

第2章 凍結溫度ニヨル影響

第1節 實驗方法

第1項 凍結方法

第2項 菌數計算

第2節 實驗成績

第1項 乾燥生成物ノ外觀

第2項 凍結溫度ト生菌數トノ關係

第3項 凍結操作ノミノ生菌數ニ及ボス影響

第3節 本章ノ小括

第3章 乾燥溫度ノ影響

第1節 實驗方法

第1項 乾燥方法

第2項 乾燥度(脫水經過)ノ測定方法

第2節 實驗成績

第1項 乾燥溫度ノ乾燥速度ニ及ボス影響

第2項 乾燥溫度ノ菌生存率ニ及ボス影響

第4章 總括並ニ考按

結 論

引用文獻

緒 言

茲ニ余ハ細菌「ベスト菌」ノ凍結真空乾燥法ヲ以テスル同菌生存保存ニ於ケル好適「メヂウム」ノ選定ヲ行ヒ、5%乃至10%ノ蔗糖溶液ノ最好適ナルコトヲ見ケリ、而シテ同實驗ニ於ケル凍結ハ -30°C 、5分間トナシ真空乾燥ハ室温ニ於テ實施セリ。

茲ニ余ハ引續キ本研究ノ目的ニ從ヒ、凍結溫度並ニ乾燥溫度ト凍結真空乾燥法ニ際スル菌ノ生存トノ關係ヲ探究シ以テ同菌ノ生存保存上好適ナル條件ヲ求メントセリ。

抑ニ細菌ノ寒冷ニ對スル抵抗ニ關シテハ知見渺シトセズ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾⁽²³⁾⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾⁽³⁰⁾⁽³¹⁾⁽³²⁾⁽³³⁾⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁶⁾⁽⁴⁷⁾⁽⁴⁸⁾⁽⁴⁹⁾⁽⁵⁰⁾⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾⁽⁵³⁾⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁵⁾⁽⁵⁶⁾⁽⁵⁷⁾⁽⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾⁽⁶²⁾⁽⁶³⁾⁽⁶⁴⁾⁽⁶⁵⁾⁽⁶⁶⁾⁽⁶⁷⁾⁽⁶⁸⁾⁽⁶⁹⁾⁽⁷⁰⁾⁽⁷¹⁾⁽⁷²⁾⁽⁷³⁾⁽⁷⁴⁾⁽⁷⁵⁾⁽⁷⁶⁾⁽⁷⁷⁾⁽⁷⁸⁾⁽⁷⁹⁾⁽⁸⁰⁾⁽⁸¹⁾⁽⁸²⁾⁽⁸³⁾⁽⁸⁴⁾⁽⁸⁵⁾⁽⁸⁶⁾⁽⁸⁷⁾⁽⁸⁸⁾⁽⁸⁹⁾⁽⁹⁰⁾⁽⁹¹⁾⁽⁹²⁾⁽⁹³⁾⁽⁹⁴⁾⁽⁹⁵⁾⁽⁹⁶⁾⁽⁹⁷⁾⁽⁹⁸⁾⁽⁹⁹⁾⁽¹⁰⁰⁾ Macfadyen⁽¹⁾⁽²⁾(1900)ハ液體空氣(-182°C ~ -190°C)ニ各種ノ細菌ヲ20時間曝シ、又 Macfadyen, Rowland⁽³⁾⁽⁴⁾(1900)ハ液體酸素(-252°C)中ニ「ガラス管ニ封ジタル菌ヲ10時間浸シ尙生存セルヲ見ケリト云フ、Paul 及 Prall⁽⁵⁾⁽⁶⁾(1907)モ葡萄狀球菌ヲ液體空氣ニテ冷却シ數ヶ月間生存セルヲ見ケル等一般ニ寒冷ニ對スル抵抗強シ、然レ共流行性腦脊髄膜炎菌及麻疹菌ハ氷室ニテ速ニ死滅シ其他ニモ寒冷ニ對シ抵抗弱キモノナシトセズ⁽⁷⁾⁽⁸⁾

「ベスト菌」ハ殊ニ低温ニ對スル抵抗比較的強ク Gladin⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾(1898)ハ氷結及融解ヲ毎日1回反覆シ40回ニ及ブモ尙本菌ノ生存セルヲ證明シ、Kawasaki⁽¹¹⁾⁽¹²⁾(1898)ハ寒天培養ヲ -81°C ニテ5ヶ月半保存シ得、又村田⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾(1912)ハ -5°C 乃至 -8°C ニテ發育シ得ルト報ゼリ、Schurupow(1912)ハ「ベスト患者ノ凍結セル屍體中ニ1ケ年ニシテ尙生存セルヲ報告セリ。

抑ニ凍結真空乾燥法ニ於テハ其凍結工程ニ於テ一般ニ極メテ低温ニテ速ニ凍結セシムルヲ採リアルモノ多ク、Floedorf 及 Mudd⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾(1935-38)ハ -75° 乃至 -78°C ニテ、Reicher⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾(1931-32)ハ -78°C 、Swift⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾(1937)ハ -76°C ニテ夫々「グリセリン」、「メチルセルツルズ」又ハ「アセトン」ニ固形炭酸ヲ投ジ、Rivers⁽²¹⁾⁽²²⁾(1935)モ固形炭酸ト「アルコール」ヲ用ヒ高度ノ低温トセリ、其ノ他ニ食鹽及水ノ混合物ヲ使用シ比較的高温ニテ凍結セシムルモノニ、Shakell⁽²³⁾⁽²⁴⁾(1909) Harris 及 Shakell⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾(1911)、Swift⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾(1921)等アリ、又 Elser⁽²⁹⁾⁽³⁰⁾(1935)モ酵母及細菌ノ凍結ニ -4°C ヲ以テ Floedorf⁽³¹⁾⁽³²⁾(1938)モ亦一般ニ -50° 或ハ其以下 -75° ~ -78°C ヲ以テ「標準」セルモ、抵抗弱キモノニ對シテハ -10°C 程度ヲ以テ凍結スルガ如キ除外例ヲ設ケケリ、平野⁽³³⁾⁽³⁴⁾(1915)ハ「チフス菌」ノ凍結真空乾燥ニ際シテ、 -10°C ~ -60°C 間ニテハ大差ヲ認メザリシモ -20°C 以下ヲ可トセリ。然リト雖叙上諸家ノ採リケル凍結溫度ニハ未ダ確ケル根據ヲ有モズシテ高度ノ低温ニ於テ迅速ニ凍結セシムル場合ニハ凍結速カナラザル場合ニ比シ生成スル氷ノ結晶微小ニシテ細胞ニ對スル障礙少ナカラントナシ或ハ乾燥間ノ融解ニ際シ鹽類又ハ其他ノ遺留セラレケルモノノ發揮スル有害性ヲ避クルクメ觀念的想像ニ基キアルモノ多キガ如シ。

次ニ凍結真空乾燥間ニ於ケル溫度ニ關シテハ乾燥間凍結狀態ノ融解スルヲ防グベク特ニ零度以下ニ於テ實施セルモノ多ク、Shakell⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾(1909-11)、Swift⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾(1921-37)及 Elser⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾(1935)等然リ、Floedorf-派⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾(1935-38)ハ乾燥時ニ於ケル表面ヨリノ水蒸氣ノ昇華ニヨル冷却力ニヨリ自家調節ヲ以テ低温ヲ保クシムルヲ必要トセズ凍結後ハ室温ニ於テ真空乾燥ニ附シアリ、然シテ其自家調節ヲ適當ナラシムベク被乾燥體ノ表面積、液量、容器ニ接スル面積ヲ調節セリ。

216-4

内藤(34) (昭15) ハ凍結真空乾燥ニ使用スル「アンブラ」ヲ以テ室温ニ於テ内部ヘ傳導スル熱量ニツキ報告シ、村上(35) (昭18) 及 Pauli (1962) ハ高度真空乾燥ニ於テ凍結ノ必要ヲ認ズ又村上ハ補體血清ノ同乾燥ニ際シ+10°C乃至+40°Cニテ乾燥シ補體價ニ大ナル變化ヲ認メズ、+50°Cニ於テ始メテ著明ニ乾燥補體ノ補體價ノ減少スルヲ認メ乾燥速度ハ温度高キ程極メテ大ナルヲ報ゼリ。

之ヲ要スルニ一般ニ乾燥劑ノ温度ハ高キ程乾燥速度ハ大ナルモ又低温ナル程被乾燥物質ニ對スル障壁ハ少キモノトナスヲ現在ニ於ケル常識トス。余ハ Flosdorf 及 Mudd ノ凍結真空乾燥装置ヲ改良セルモノヲ以テ腸菌「ベスト菌」ノ凍結真空乾燥ヲ實施シ、凍結温度並ニ乾燥温度ノ主トシテ乾燥後ノ菌ノ生存率ニ及ボス影響ニツキ實驗シ、道般ノ關係ヲ定量的ニ闡明セリ、茲ニ報告シテ諸賢ノ叱正ヲ仰ガントス。

第1章 實驗装置及共通實驗方法

第1節 乾燥器、真空ポンプ、容器

第1篇第1章ニ於テ述ベクルモノト同様ノ装置、吸濕劑、真空ポンプ及容器ヲ使用セリ。

第2節 菌株、培地、培養法

第1篇第1章ト同ジ。

第3節 菌浮游液

第1篇作業ニ於テ余ハ5%乃至10%蔗糖溶液ノ「メヂウム」トシテ好適ナルヲ認メタルヲ以テ本實驗ニ於テハ5%蔗糖溶液4ニ對シ菌苔1ノ割ニ浮游セシメタリ。

第4節 乾燥法及生菌數計算法

所定温度ニ於テ所定時間凍結セルモノヲ度ニ0.2~0.5mmHgノ真空ニ置キ概ネ7時間ニテ乾燥ヲ完了ス。

乾燥直後第1篇第1章第7節記述ノ如ク生菌數ヲ計算ス、而シテ一目的ノ實驗毎ニ一括シテ實驗ヲ行ヒ以テ比較條件ヲ同一ナラシムルニ努メタリ。

第2章 凍結温度ニヨル影響

第1節 實驗方法

第1項 凍結方法

平皿ニ「アセトン」ヲ盛リ之ニ固形炭酸ヲ投ジテ下記ノ如キ温度ニ保クシメ、其ニ菌液5.0cc宛分注セル「アンブラ」ヲ浸シ凍結セシム凍結温度及ビ其ノ時間次ノ如シ。

凍結温度	凍結時間
-5(°C)	60(分)
-10	80
-20	7

216—5

-30	4
-40(°C)	3(分)
-50	3
-60	2.5
-70	2

別ニ凍結溫度及凍結時間ノ影響ノ檢スルクノ各凍結溫度ニ對シ各種ノ時間凍結セシメタリ。

第2項 菌數計算

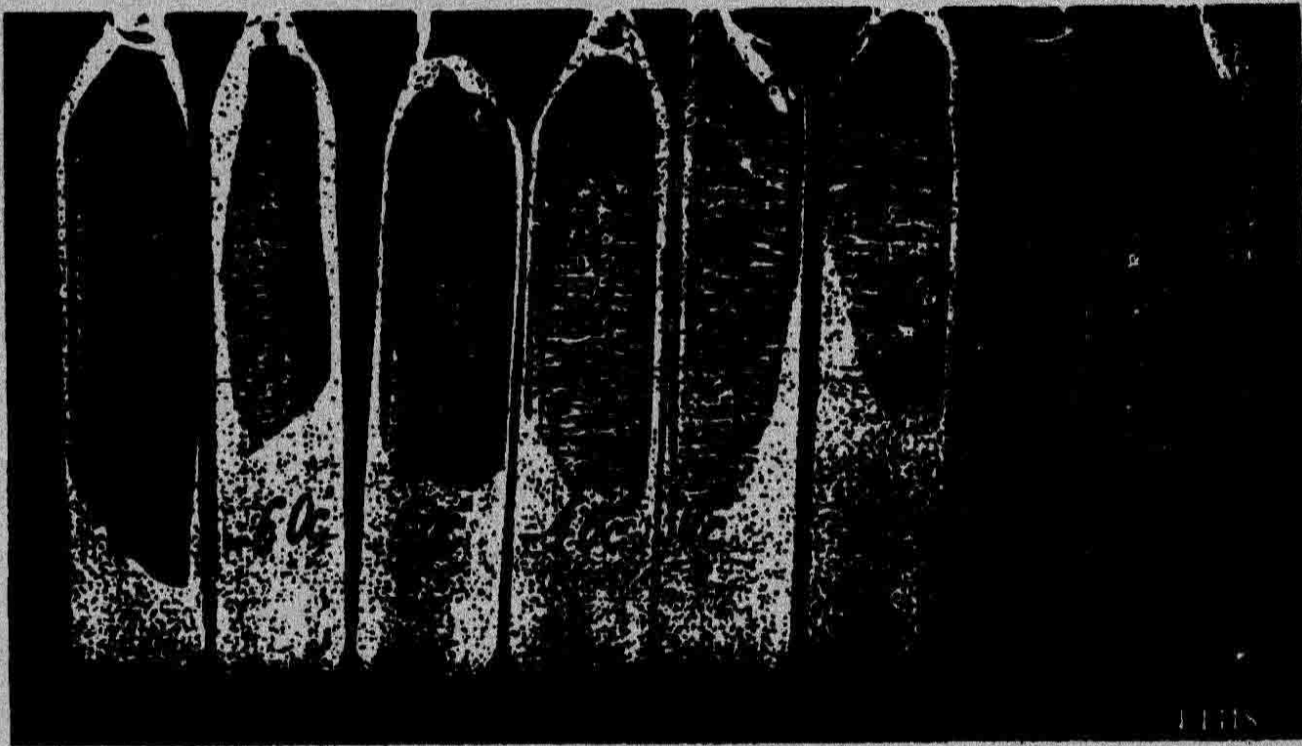
所定ノ凍結ニ附シタル後直ニ乾燥器ニ裝着シ乾燥後菌數計算ヲ行フト共ニ別ニ對照トシテ凍結ノミニテ室溫ニテ融解セシメタルモノ及凍結ニ附セザル菌液調製直後ノモノニツキ菌數計算ヲ行ヒ比較セリ。

第2節 實驗成績

第1項 乾燥生成物ノ外觀

各種凍結溫度ニ於ケル乾燥後ノ外觀ハ尖々趣ノ異ニシ下圖ニ認メラルル如ク低溫ナル程生成物ノ外觀致密體ハ粗ニシテ振動ニヨリ破壊シ易ク、溫度高キ程密ニシテ縮又ハ空ノ如キ觀ヲ呈ス。

乾燥生成物ノ外觀



第2項 凍結溫度ト生菌數トノ關係

各種凍結溫度ニツキ一括シテ實驗ヲ行ヒ凍結前ノ生菌數、凍結後室溫ニテ融解セシメタルモノノ生菌數及乾燥直後ノ生菌數ヲ比較スルニ第1、2、3表ノ如ク共百分率ヲ一括表示セハ第4表ノ如シ。

216-6

第 1 表

凍 結 溫 度 (°C)	凍 結 前 生 菌 數 (A)	凍 結 後 室 溫 融 解 後 ノ 生 菌 數 (B)	乾 燥 直 接 生 菌 數 (C)	凍 結 後 生 存 率 $\left(\frac{B}{A} \times 100\right)$	乾 燥 後 ノ 凍 結 前 = 對 ス ノ 生 存 率 $\left(\frac{C}{A} \times 100\right)$	乾 燥 後 ノ 凍 結 後 = 對 ス ノ 生 存 率 $\left(\frac{C}{B} \times 100\right)$
-5	405.0	385.0	71.4	95.0	17.6	18.5
-10	405.0	320.0	54.4	79.1	13.4	17.0
-20	405.0	298.5	98.8	73.6	24.4	33.2
-30	405.0	381.0	91.8	94.1	22.7	24.1
-40	405.0	375.5	74.8	92.6	18.5	20.0
-50	405.0	319.5	59.5	76.4	14.7	19.2
-60	405.0	323.0	70.1	82.2	17.3	21.1
-70	405.0	299.0	63.9	73.7	15.8	21.4

備考 菌數單位 10⁶

室 溫 21.22°C

濕 度 0.3-0.5mmHg

乾燥時間 7.5時間

第 2 表

凍 結 溫 度 (°C)	凍 結 前 生 菌 數 (A)	凍 結 後 室 溫 融 解 後 ノ 生 菌 數 (B)	乾 燥 直 接 生 菌 數 (C)	凍 結 後 生 存 率 $\left(\frac{B}{A} \times 100\right)$	乾 燥 後 ノ 凍 結 前 = 對 ス ノ 生 存 率 $\left(\frac{C}{A} \times 100\right)$	乾 燥 後 ノ 凍 結 後 = 對 ス ノ 生 存 率 $\left(\frac{C}{B} \times 100\right)$
-5	382.5	320.5	57.7	83.7	15.1	18.0
-10	382.5	303.0	39.7	79.1	10.4	13.1
-20	382.5	310.5	85.6	81.1	22.4	27.6
-30	382.5	327.5	67.9	88.2	17.8	20.1
-40	382.5	270.6	89.4	70.2	23.4	33.2
-50	382.5	282.0	57.9	73.8	15.1	20.5
-60	382.5	288.5	28.5	75.5	7.4	9.9
-70	382.5	280.5	57.9	73.3	15.1	20.6

備考 菌數單位 10⁶

室 溫 18-20°C

濕 度 0.3-0.5mmHg

乾燥時間 7.5時間

第 3 表

凍 結 温 度 (°C)	凍 結 前 生 菌 数 (A)	凍 結 後 直 温 解 後 ノ 生 菌 数 (B)	乾 燥 後 直 生 菌 数 (C)	凍 結 後 ノ 生 存 率 ($\frac{B}{A} \times 100$)	乾 燥 後 ノ 凍 結 前 = 對 ス ル 生 存 率 ($\frac{C}{A} \times 100$)	乾 燥 後 ノ 凍 結 後 = 對 ス ル 生 存 率 ($\frac{C}{B} \times 100$)
-5	283.0	255.4	88.3	90.3	31.3	34.6
-10	263.0	169.4	82.8	59.2	20.2	48.9
-20	243.0	249.0	93.0	88.0	32.3	37.3
-30	263.0	212.4	51.8	75.1	18.3	24.4
-40	263.0	244.0	46.9	86.3	16.5	18.2
-50	267.0	201.4	85.2	70.7	30.1	42.3
-60	283.0	161.0	43.0	56.8	15.2	26.7
-70	283.0	194.4	48.0	68.5	16.9	24.7

備考 菌数単位 10⁶

室温 17--19°C

真空度 0.4-0.5mmHg

乾燥時間 7.5時間

第 4 表

凍 結 温 度 (°C)	凍 結 時 間 (分)	凍 結 後 直 温 解 後 ノ 生 菌 数 (分)	凍 結 前 生 菌 数 = 對 ス ル 生 存 率 (%)			
			第 1 回	第 2 回	第 3 回	平 均
-5	60	凍 結 後 直 温 解 後 ノ 生 菌 数	95.0 17.6	83.7 15.1	90.3 31.2	89.7 21.2
-10	30	凍 結 後 直 温 解 後 ノ 生 菌 数	79.1 13.4	79.1 10.4	59.2 20.2	72.5 17.7
-20	7	凍 結 後 直 温 解 後 ノ 生 菌 数	73.6 24.4	81.1 22.4	88.0 32.3	80.9 26.3
-30	4	凍 結 後 直 温 解 後 ノ 生 菌 数	94.1 22.7	88.2 17.8	75.1 18.3	85.8 19.6
-40	3	凍 結 後 直 温 解 後 ノ 生 菌 数	92.6 18.5	70.2 23.4	86.3 16.5	83.0 19.5
-50	3	凍 結 後 直 温 解 後 ノ 生 菌 数	76.4 14.7	73.8 15.1	70.7 27.1	73.6 20.9
-60	2.5	凍 結 後 直 温 解 後 ノ 生 菌 数	82.2 17.3	75.5 7.4	56.8 15.2	71.3 18.3
-70	2	凍 結 後 直 温 解 後 ノ 生 菌 数	73.7 15.8	73.3 15.1	68.5 16.9	71.8 15.9

凍結ノミニヨリ生菌ノ生存状況ヲ見ルニ〔-5°C=60分〕ノ凍結ハ90%内外ノ生存ヲ認メ最生存率高ク、〔-10°C=30分〕、〔-20°C=7分〕、〔-30°C=4分〕、〔-40°C=3分〕ノ凍結ニ於テハ80%

216-8

内外ニシテ之ニ次ギ、〔-50°C=3分〕、〔-60°C=2.5分〕、〔-70°C=2分〕凍結ニ於テハ概ネ70%前後ノ生存率ヲ示ス。但シ凍結状態ノ融解ニヨル影響ヲ含ムモノトス。

之ヲ真空乾燥ニ附シ乾燥完了直後ノ生菌数ヲ檢スルニ、-20°C、-30°C、-40°C凍結ノモノニ於テハ夫々凍結前ノ生菌数 20%或ハ其以上ヲ生存セシメ、且 -20°C及-30°C凍結ノモノ成績安定ナリ。

而シテ之ヲ凍結ノミニテ室温ニテ融解セルモノノ生菌数ニ比較スレハ、-20°C凍結ノモノ最良好ニシテ90%内外ナリ、-30°C及-40°C凍結ノモノ之ニ次グ、然レ共以上ノ優劣ニハ著明ナル差異ノ存スベキモノニハアラス又成績ニ若干ノ動搖ナキニアラズ、殊ニ-5°C、-10°C、-50°C、-60°C凍結ノモノニ認メラル。

第3項 凍結操作ノミノ生菌数ニ及ボス影響

各種凍結温度及凍結時間ノ凍結ノミニヨル生菌数ニ及ボス影響ヲ檢セントシテ凍結真空乾燥法ニ於ケルト同様ニ特殊「アンブラ」ニ菌液5.0ccヲ分注セルモノヲ夫々ノ凍結温度ニ於テ一定時間渡シ凍結セシメタル後、室温ニ於テ融解セシメ以テ其生菌数ヲ比較ス、其成績第5表ノ如シ。

第 5 表

凍結温度 (°C)	凍結前 生菌数	凍結後室温融解直後生菌数及生存率				
		凍結時間 (分)	凍結時間 (分)	10分	30分	60分
-5	382.5 100%	6.0	320.5 83.7%			320.5 83.7%
-10	382.5 100%	3.0	303.0 79.1%		303.0 79.1%	272.0 70.7%
-20	382.5 100%	7.0	310.5 81.1%			
-30	382.5 100%	4.0	337.5 88.2%	346.5 90.6%	273.0 71.3%	248.1 64.8%
-40	382.5 100%	3.0	270.6 70.2%			
-50	382.5 100%	3.0	299.1 78.1%	282.0 73.8%	292.5 76.3%	252.0 65.8%
-60	382.5 100%	2.5	288.5 75.5%			
-70	382.5 100%	2.0	280.5 73.3%	264.6 69.1%	298.5 78.3%	254.1 66.3%

備考 室温 19°C 菌数単位 10⁶
空欄ハ該當實驗ヲ行ハザラレモノトス。

216-9

凍結時間10分間ニ於テハ、 -80°C 凍結ハ90.6%ノ生存率ヲ示シ最良、 -70°C ハ69.1%、 -50°C ハ78.2%ノ生存率ヲ示シ、温度低キ程生存率低シ、 -5°C 及 -10°C ニテハ尙凍結完了シアラズ。

凍結時間30分時ニ於テハ -10°C 、 -30°C 、 -50°C 、 -70°C 凍結夫々生存率70%乃至80%ニテ其ノ差僅少ナリ。

凍結時間60分時ニ於テハ、 -5°C 凍結ノ83.7%ノ外ハ概ネ65%乃至70%ニシテ大差ヲ認メ難シ、即チ低温浴ニ浸スコト10分時ニ於テハ寒冷ノ生存率ニ及ボス影響ニ若干ノ差異ヲ認メ得ルモ30分時及60分時ニ於テハ -10°C 乃至 -70°C ノ間ニ於テハ大差ヲ認メ難シ、而シテ茲ニ求メタル生存率ニハ凍結状態ノ融解ニコル影響ヲ含ムモノナリ。何レニセモ凍結操作自體ハ本菌ノ凍結乾燥後ノ生菌ノ若シキ減少ニハ大ナル役割ヲ演ジアラザルモノト推論スルコトヲ得。

第3節 本章ノ小括

本章ノ實驗ニ於テ凍結真空乾燥法ニ於ケル凍結ノクメ、 -50°C 乃至 -70°C ノ各種温度ニ於テ菌ノ生存率ヲ比較セル結果著明ナル優劣ハ認メ難カリシモ、 -20°C 乃至 -40°C ヲ以テ凍結セシムルヲ至適トナスモノトシテ大過ナキノ知ル。

第3章 乾燥温度ノ影響

第1節 實驗方法

第1項 乾燥方法

菌液5.0cc宛分注セル特殊「アンブラ」ヲ -80°C ノ低温浴ニ浸スコト5分間ニシテ凍結セシメタルモノヲ直ニ真空乾燥ニ付ス、而シテ真空乾燥ニ際シテハ、 -10°C 、 0°C 、 5°C 、 10°C 、 20°C 、 30°C 等温度ヲ具ニセル恒温浴ニ「アンブラ」ヲ浸シツツ乾燥セシム、但シ温水ヲ絶ヘズ攪拌シ「アンブラ」内ノ低温ニヨル「アンブラ」周邊ノ温度ノ温度傾斜ヲ防止セリ。

茲ニ 20°C 及 30°C ニ於テハ直ニ當該温度中ニ浸ス時ハ融解ヲ來スヲ以テ先ヅ 10°C ノ温度ニ浸シ乾燥經過ト共ニ温度ヲ上昇セシメ概ネ30分時ニシテ夫々ノ温度ニ至ラシム。

第2項 乾燥度（脫水經過）ノ測定方法

「アンブラ」ノミツ化學天秤ニテ秤量シ置キタルモノニ菌液概ネ5ccヲ分注シ秤量シテ乾燥前ノ菌液ノ全重量（ W_0 ）ヲ求メ乾燥經過所定ノ時間（ t ）毎ニ乾燥ヲ中止シテ秤量ニ付シ以テ t 時間乾燥後ノ全重量（ W_t ）ヲ求メ、其ノ各 t ニヨリ菌液中ノ固形分重量（ n ）ヲ減ジタル乾燥前全水量（ $W_0 - n$ ）ト t 時間乾燥後ノ残水量（ $W_t - n$ ）トヨリ殘水率 $\left[\frac{W_t - n}{W_0 - n} = y \right]$ ヲ測定シ以テ乾燥度ヲ比較セリ、乾燥經過中ノモノノ秤量ハ速ニ實施シ被乾燥物ノ吸濕ニヨル誤差ヲ可及的渺カラシムルニ努メタリ。

第2節 實驗成績

第1項 乾燥温度ノ乾燥速度ニ及ボス影響

茲ニ内藤⁽²⁴⁾（昭、15）ハ血清ノ凍結真空乾燥ニ於テ脫水經過ニ關シテ $y = e^{-kt}$ ナル式ヲ與ヘ、又内藤及三谷其他⁽²⁵⁾（昭、16）ハ「チフス菌ノ粉乳混合液」ニ於テモ本式ノ適應スルコトヲ報ゼリ。

216-10

茲 = y …… x 時間經過後ノ残水率但シ最初ノ水量ヲ1トス。
 x ……乾燥經過時間
 e ……自然對數ノ根
 a ……内藤係數、(被乾燥體ノ狀態、乾燥條件ニヨル常數)

トス。

然シテ $|a|$ 大ナル程脫水速度ハ大ナリトス、余ハ乾燥溫度ニヨリ脫水經過ノ狀況ヲ知ラントシテ該式ヲ適用セリ、即チ各種乾燥經過時間ニ於ケル残水率 (y) ヲ求ムルニ第6表ノ(1)及第7表ノ(1)ノ如シ。

茲ニ被乾燥體、即チ菌液ニ於ケル固形分量 (n) ヲ被乾燥體全重量ノ7%ト假定ス、即チ菌液100.0gハ「メヂウム」80.0gト菌液20.0gニシテ前者中ノ固形分量ハ4.0gナリ而シテ菌液20.0g中ノ固形分量ハ其15%即チ3.0gト假定セルニヨルモノナリ、本假定ハ脫水程度大ナル場合ニハ影響スル誤差大ナルベキモ程度大ナラザルガ如キ脫水經過ニ於テハ其影響スルトコロハ大ナラザルモノナリ。

然シテ $y = e^{-ax}$ ニヨリ

$$2.3026 \log y = -ax$$

$$a = \frac{2.3026 \log y}{x} \quad \text{ナレバ}$$

$$\frac{n}{2.3026} = -\frac{\log y}{x} \quad \text{ヲ求ムレバ第6表ノ(2)及第7表ノ(2)ノ如シ。}$$

第 6 表 (1)

乾燥時間	乾燥溫度	+30°C	+20°C	+10°C	0°C	-10°C
		30m	Wo Wt n Wo-n Wt-n $\frac{Wt-n}{Wo-n} \times 100$	5.1600 3.6500 0.3612 4.7988 3.2888 68.5	5.0725 3.6501 0.3550 4.7175 3.2951 70.0	5.1625 3.9415 0.3628 4.8197 3.5887 74.7
1h	Wo Wt n Wo-n Wt-n $\frac{Wt-n}{Wo-n} \times 100$	4.7240 2.2321 0.3307 4.3933 1.9014 43.6	5.1075 3.0010 0.3575 4.7500 2.6435 55.6	4.8875 3.0110 0.3421 4.5454 2.6688 58.7	5.0260 1.8770 0.3517 4.6733 1.5453 33.1	5.1840 3.0452 0.3592 4.7747 2.6856 56.3
2h	Wo Wt n Wo-n Wt-n $\frac{Wt-n}{Wo-n} \times 100$	5.2065 1.9475 0.3646 4.8439 1.5829 32.7	4.8450 1.9895 0.3392 4.5058 1.6503 34.1	5.1515 2.0949 0.3606 4.7909 1.7342 36.2	5.2140 1.0960 0.3650 4.8490 0.7310 15.08	5.2720 2.0660 0.3670 4.9060 1.6990 34.6
4h	Wo Wt n Wo-n Wt-n $\frac{Wt-n}{Wo-n} \times 100$	4.6027 0.5902 0.3222 4.2805 0.2082 4.84	4.7770 0.6945 0.3344 4.4426 0.3601 8.11	5.1640 0.8820 0.3615 4.8025 0.5200 10.8	5.1920 0.4370 0.3634 4.8286 0.0736 1.545	4.7025 0.7690 0.3292 4.3833 0.4408 10.0
8h	Wo Wt n Wo-n Wt-n $\frac{Wt-n}{Wo-n} \times 100$	5.3210 0.3860 0.3725 4.9485 0.0155 0.314	5.1000 0.3785 0.3570 4.7430 0.0215 0.453	5.0692 0.3828 0.3562 4.7330 0.0266 0.562	5.0155 0.3755 0.3511 4.6644 0.0244 0.523	5.2760 0.3915 0.3625 4.9075 0.0320 0.470

備考 Wo 乾燥前全重量 (g)
Wt 乾燥後全重量 (g)
n 固形分重量 (g)

Wo-n 乾燥前全水量 (g)
Wt-n 乾燥後全水量 (g)
 $\frac{Wt-n}{Wo-n} (=y)$ 残水率

216-12

第 6 表 (2)

观测温度 θ	x (时)	y	$\log y$		$\frac{\log y}{x}$	$\frac{\log y}{x}$ / 平均值
+30	0.5	0.685	1.836	-0.164	-0.328	-0.314
	1	0.438	1.639	-0.316	-0.361	
	2	0.327	1.515	-0.485	-0.243	
	4	0.0484	2.684	-1.316	-0.326	
	8	0.00314	3.496	-2.506	-0.313	
+20	0.5	0.700	1.845	-0.155	-0.310	-0.273
	1	0.556	1.745	-0.255	-0.255	
	2	0.341	1.533	-0.467	-0.233	
	4	0.0811	2.909	-1.091	-0.273	
	8	0.00453	8.657	-2.343	-0.293	
+10	0.5	0.747	1.869	-0.130	-0.260	-0.247
	1	0.587	1.768	-0.232	-0.232	
	2	0.362	1.558	-0.442	-0.221	
	4	0.108	1.034	-0.966	-0.241	
	8	0.00562	3.748	-2.252	-0.281	
0	0.5	0.532	1.726	-0.274	-0.548	-0.441
	1	0.331	1.520	-0.480	-0.480	
	2	0.1508	1.178	-0.822	-0.411	
	4	0.01545	2.189	-1.811	-0.453	
	8	0.00323	3.718	-2.262	-0.285	
-10	0.5	0.701	1.846	-0.154	-0.308	-0.266
	1	0.563	1.751	-0.248	-0.248	
	2	0.346	1.539	-0.461	-0.231	
	4	0.100	1.004	-0.996	-0.249	
	8	0.00470	3.572	-2.428	-0.303	

備考 第6表ノ(1) = 同ジ。