

## 厚生科学研究費補助金研究報告書

# 分子運動性スケールの利用による効率的省資源型 安定性試験法の確立 (H10-医薬-043)

主任研究者 吉岡澄江 (国立医薬品食品衛生研究所)

分担研究者 阿曾幸男 (国立医薬品食品衛生研究所)

村勢則郎 (東京電機大学)

## 分子運動性スケールの利用による効率的省資源型安定性試験法の確立に関する研究

主任研究者 吉岡澄江 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部第二室室長

デキストランを含有した牛血清γグロブリン凍結乾燥製剤について、固体高分解能<sup>13</sup>C-NMR を用いて、タンパク質カルボニル炭素の $\tau_c$ およびデキストランメチン炭素の $\tau_c$ の温度依存性を解析した結果、 $T_{mc}$ を境にしてデキストランの運動のモードが変化し、 $T_{mc}$ 以下の温度領域ではローカルなセグメントの動きが支配的であるのに対して、 $T_{mc}$ 以上の温度領域ではグローバルなセグメントの動きが支配的になり、タンパク質の運動性もデキストランの動きに連動して急激に高まることが明らかになった。さらに、凍結した架橋デキストラン水溶液の凍結及び融解挙動を ODSC およびX線回折-DSC 同時測定によって解析した結果、DSC 昇温曲線は、昇温結晶化による発熱ピークに先行して吸熱方向へ移行するが、その原因は融点降下したサイズの小さな氷晶の融解によるものである可能性が ODSC の解析によって明らかになった。X線回折-DSC 同時測定では、水の凍結を示す DSC の発熱ピークに対応して水の結晶のピークが観察され、水分子の存在状態と運動性に関する有用な情報が得られることが分かった。

## 分担研究者

阿曾幸男 国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官  
村勢則郎 東京電機大学 理工学部教授

## A. 研究目的

現在、医薬品製剤の有効期間の推定は、製剤を一定条件に長期にわたって保存し、その品質の経時的変化を実際に観察する保存安定性試験のデータを基に行われている。試験を長期にわたって行なわなければならないことから、かなりの労力が必要であり、また大量の検体も必要とされる。地球の環境問題から資源の節約が叫ばれている現在において、医薬品を保存するという保存安定性試験の概念から全く離れ、保存することなく有効期間を推定できる方法が確立されれば、効率的省資源型安定性試験として、新世紀への画期的なステップとなると考えられる。本研究は、この目標に向かって、医薬品製剤中の分子の運動性を解析することによって保存試験を行わずに有効期間を推定する方法を確立するための基礎研究を行うことを目的とする。

前年度は、タンパク質凍結乾燥製剤の分子運動性について、パルス NMR を用いて製剤マトリックスの平均的な運動性を中心に解析し、プロトンのスピン-スピン緩和に基づいて測定した分子運動性の限界温度( $T_{mc}$ )が製剤マトリックスの分子運動性の有用なパラメータになることを明らかにした。本年度は、固体高分解能<sup>13</sup>C-NMR を用いて製剤中のタンパク質および高分子添加剤のそれぞれの分子運動性を分離して解析し、タンパク質の運動性と高分子添加剤の運動性の関係を明ら

かにするとともに、 $T_{mc}$ がそれぞれの分子の運動性に及ぼす影響を検討した。

さらに、前年度に高分子添加剤の水溶液の凍結挙動を示差走査熱量測定(DSC)を用いて解析した結果、高分子水溶液といえどもマイクロには不均一で、水はおかれた環境によって異なる凍結挙動をとること、すなわち、高分子内の絡まり内に閉じこめられた水はバルクの水と異なり、サイズの小さな氷晶を形成して0℃より低温で凍結したり、ガラス化する可能性が示唆された。本年度は、昇温結晶化による発熱ピークに先行して観察されたDSC昇温曲線の吸熱方向への移行の原因を明らかにする目的で、振動温度モード DSC (ODSC)およびX線回折-DSC を用いて架橋デキストラン水溶液の凍結挙動を解析した。

## B. 研究方法

## タンパク質凍結乾燥製剤の分子運動性の測定

牛血清γグロブリン(BGG)をモデルタンパク質とする凍結乾燥製剤は、デキストラン(分子量40k)およびBGGの混合溶液(1:1)を、液体窒素で凍結し、凍結乾燥装置(Freezovac C-1)で23.5時間、約5Paで凍結乾燥して調製した。製剤をNaBr・H<sub>2</sub>Oの飽和水溶液存在下に15℃で24時間放置した後、製剤中のデキストランのメチン炭素およびBGGのカルボニル炭素のそれぞれについて、固体高分解能<sup>13</sup>C-NMR (Varian)を用いてスピン-格子緩和時間( $T_1$ )を測定した。測定にはTorchiaのパルス系列を用いた。



架橋デキストラン水溶液の凍結挙動の測定

架橋デキストラン（セファデックス G25ゲル、Amersham Pharmacia Biotech. 社）を用いて含水率50wt%の試料を調製し、ODSCおよびX線回折-DSCの測定を行った。ODSCの測定はDSC-061（セイコー・インスツルメント社）を用いて、試料を5°C/minで20°Cから-50°C付近まで冷却し、その後1°C/minで20°Cまで昇温して行った（温度振動の周波数は0.01~0.05Hz、振幅は2°C）。

X線回折-DSCの同時測定はXRD-DSC（理学電機株式会社）を用いて、試料を5°C/minで-50°C付近まで冷却し、その後1°C/minで昇温して行った（Cu管球、50kV、40mA、グラファイトモノクロメータ使用、測定範囲は20° < 2θ < 30°）。

C. 研究結果

デキストランのメチン炭素の運動性

Fig.1にデキストランを添加剤として用いたBGG凍

結乾燥製剤およびBGGを含有しないデキストラン単独の凍結乾燥製剤のNMRスペクトルを示す。70ppm付近に観察されるデキストランのメチン炭素および175ppm付近のBGGのカルボニル炭素は、それぞれFig.2のようにスピン-格子緩和を示した。

BGG凍結乾燥製剤中のデキストラン炭素およびBGGを含有しないデキストラン単独の凍結乾燥製剤中のデキストラン炭素について観察されたT<sub>1</sub>をFig.3に示す。相関関数が一つの相関時間τ<sub>c</sub>で減衰していると仮定し、またその緩和機構において炭素と水素の双極子-双極子相互作用が支配的であると仮定して(1)式によって計算したτ<sub>c</sub>も合わせてFig.3に示す。

$$1/T_1 = (1/10) \gamma_C^2 \gamma_H^2 h^2 (2\pi)^{-2} r_{C-H}^{-6} [1 / (\omega_C - \omega_H)^2 + 3 / \omega_C^2 + 6 / (\omega_C + \omega_H)^2] / \tau_c \quad (1)$$

デキストラン単独の凍結乾燥製剤およびBGGとデキストランを含有した凍結乾燥製剤のいずれの場合も、デキストラン炭素のτ<sub>c</sub>は非線形の温度依存性を示し、

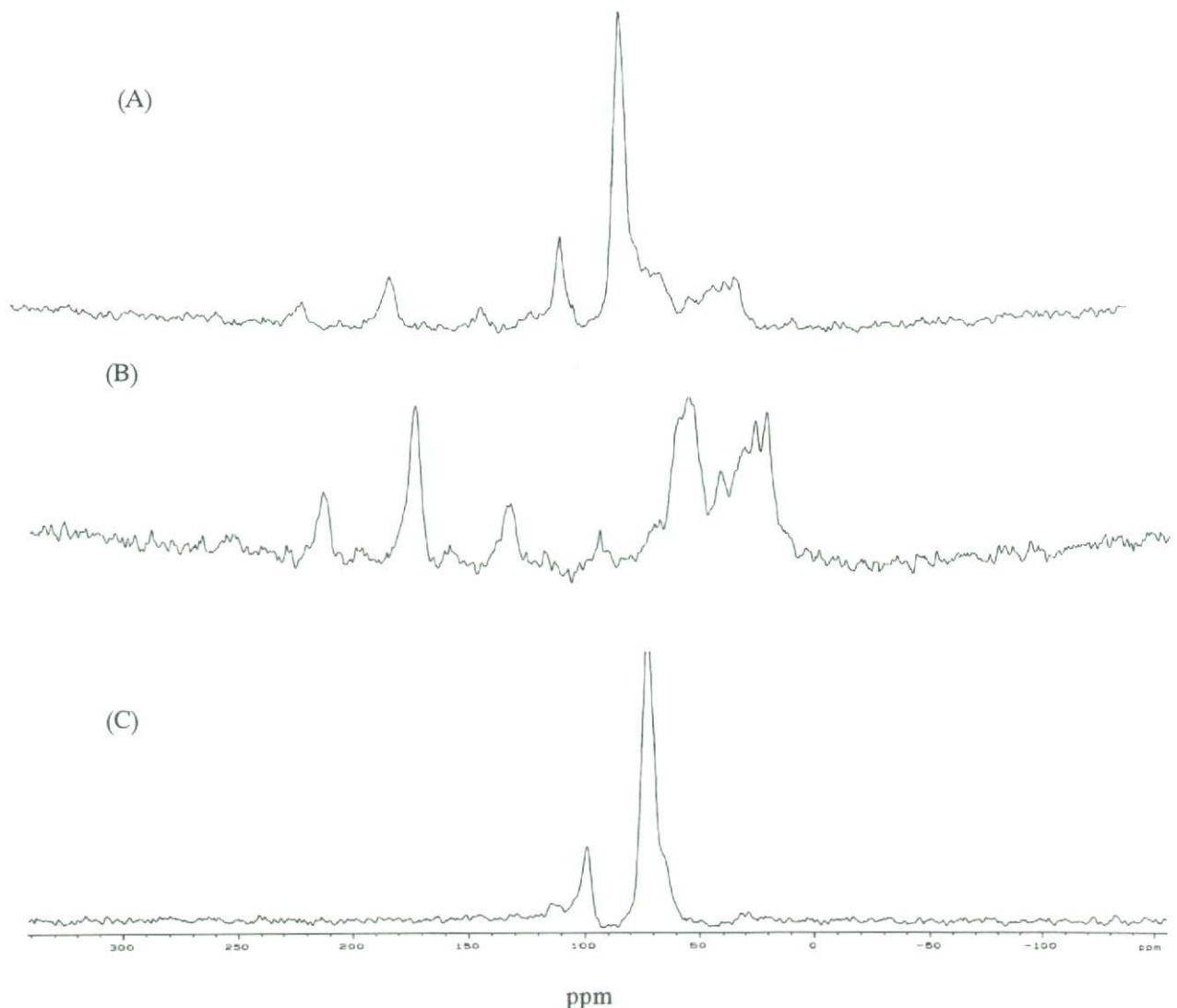


Fig.1. NMR spectra of BGG-dextran formulation (A), BGG formulation (B), and dextran formulation (C) at 25°C.

40°C付近で温度依存性が変化した。また、いずれの製剤も20°C付近では 200~300 ns の $\tau_c$ が得られた。ここで温度依存性が不連続となる温度はプロトンのスピン-スピン緩和から観察した分子運動性の限界温度である  $T_{mc}$  と一致した。

### BGG のカルボニル炭素の運動性

BGG 凍結乾燥製剤中の BGG のカルボニル炭素(B) およびデキストランを含有しない BGG 単独の凍結乾燥製剤中の BGG のカルボニル炭素(A) について観察された  $T_1$  を Fig.4 に示す。BGG のカルボニル炭素の $\tau_c$  は、相関関数が一つの相関時間 $\tau_c$ で減衰していると仮定し、また化学シフトの異方性による緩和機構が支配的であると仮定して(2)式によって計算した $\tau_c$ も合わせて Fig.4 に示す。ここで、 $\delta_z^2(1+\eta^2/3)$  はアミノ酸について報告されている値( $3.21 \times 10^{-4}$ )を用いた。

$$1/T_1 = (6/40) \gamma^2 H_0^2 \delta_z^2 (1 + \eta^2/3) (2/\omega_0^2 \tau_c) \quad (2)$$

デキストランを含有しない BGG 単独の凍結乾燥製

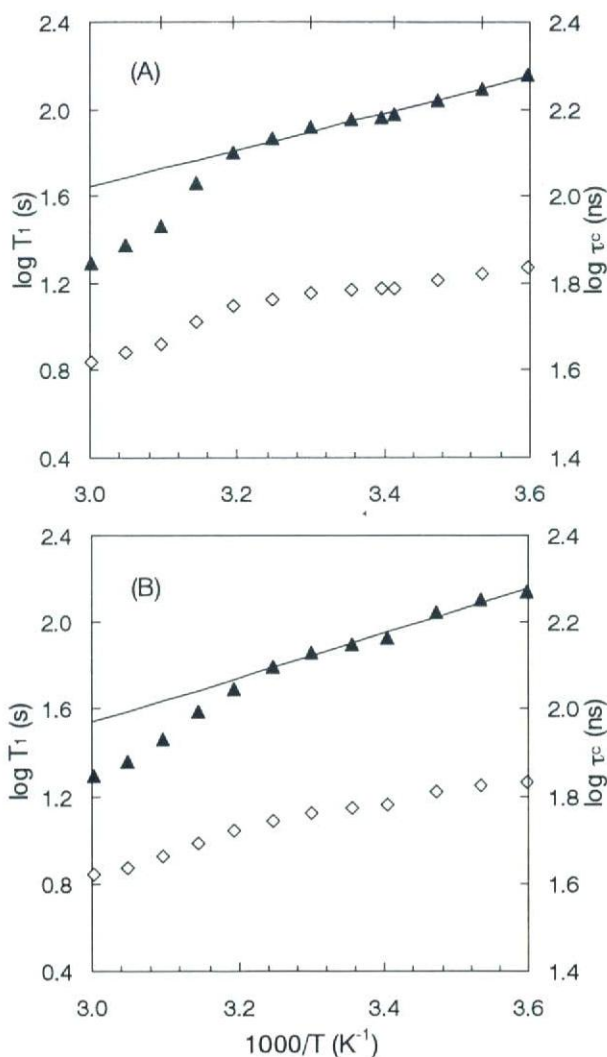


Fig.3. Temperature dependence of  $T_1$  ( $\diamond$ ) and  $\tau_c$  ( $\blacktriangle$ ) of dextran methin carbon in dextran formulation (A) and BGG-dextran formulation (B).

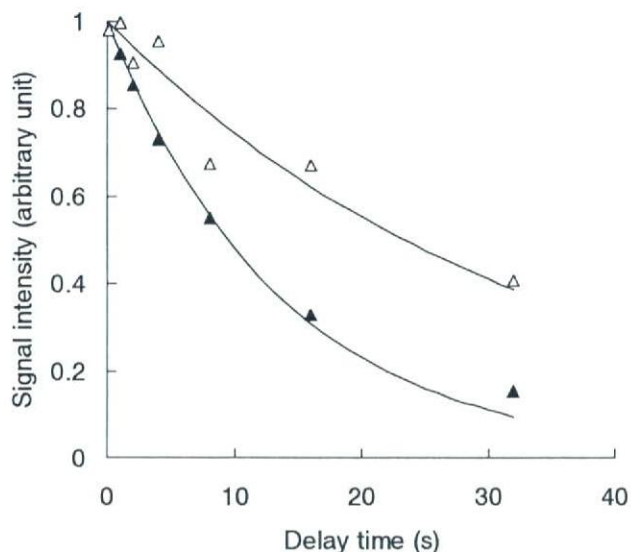


Fig.2. Spin-lattice relaxation of BGG carbonyl carbon ( $\triangle$ ) and dextran methin carbon ( $\blacktriangle$ ) in BGG-dextran formulation at 25°C.

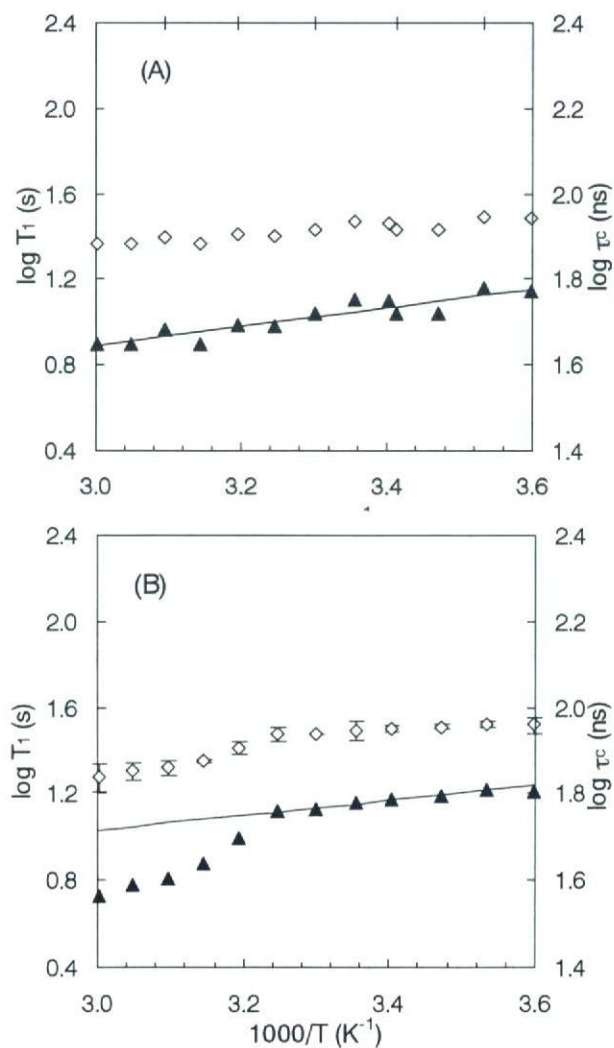


Fig.4. Temperature dependence of  $T_1$  ( $\diamond$ ) and  $\tau_c$  ( $\blacktriangle$ ) of BGG carbonyl carbon in BGG formulation (A) and BGG-dextran formulation (B).



剤においては、BGG のカルボニル炭素の $\tau_c$ は温度依存性が小さく、ほとんど直線的であるのに対して、デキストランを含有した BGG 凍結乾燥製剤においては、 $T_{mc}$  付近で温度依存性が不連続になり、高温領域では温度依存性が大きくなった。デキストランを含有した BGG 凍結乾燥製剤では、BGG カルボニル炭素の $\tau_c$ はデキストランメチン炭素の $\tau_c$ と同様のパターンの温度依存性を示すことが分かった。以上の結果から、デキストランが存在する BGG 凍結乾燥製剤中では、BGG はデキストランの動きに連動し、 $T_{mc}$ を境に高温領域で運動性が急激に高まることが明らかになった。

#### 凍結挙動からみた水分子の運動性

セファデックス G25ゲルの凍結後の DSC 曲線を Fig.5に示す。一定速度で昇温した場合、 $-18^\circ\text{C}$ 付近から吸熱方向に移行し、 $-11^\circ\text{C}$ 付近で発熱ピークを示してから、氷の融解による吸熱ピークが観測された。振動モード測定において、振動に追従できるのは比熱変化など、平衡論にしたがった状態変化であり、条件さえ適切に選べば、速度論にしたがった緩和過程は昇温曲線から除去することができる。しかし、条件を変えても吸熱方向への移行の度合いはほとんど変化せず、この移行はエンタルピー緩和によるものではなく、氷の融解によるものである可能性の強いことが明らかになっ

た。

X線回折-DSC 同時測定の測定結果を Fig.6に示す。氷の結晶によるメインの回折ピークは $22^\circ < 2\theta < 26^\circ$  に三本観測された。DSC 曲線でみられる発熱ピークに対応して、特に $22^\circ$  付近の回折ピーク強度が顕著に増大したことから、このピークは氷の結晶化によるものであることが確認された。一方、昇温結晶化に先行する吸熱方向への移行の際には、いずれの回折ピークにおいても、強度変化はほとんど観測されず、この移行が氷の融解によると断定できなかった。

#### D. 考察

凍結乾燥製剤中のデキストランのような高分子は分子鎖の一部が動くローカルなセグメントの動きのほか、大きなセグメントが動くグローバルな動きがあり、複雑な分子運動性を示すと考えられる。凍結乾燥製剤で観察されたデキストランメチン炭素の $\tau_c$ は、 $T_{mc}$ 以下の温度領域では Adam-Gibbs-Vogel 式で表される直線的な温度依存性を示すのに対して、 $T_{mc}$ 以上の温度領域では Vogel-Tammann-Fulcher 式で表されるように非線形の温度依存性を示すと考えられる。すなわち、 $T_{mc}$ を境にしてデキストランの運動のモードが変化し、 $T_{mc}$ 以下の温度領域ではローカルなセグメントの動きが支

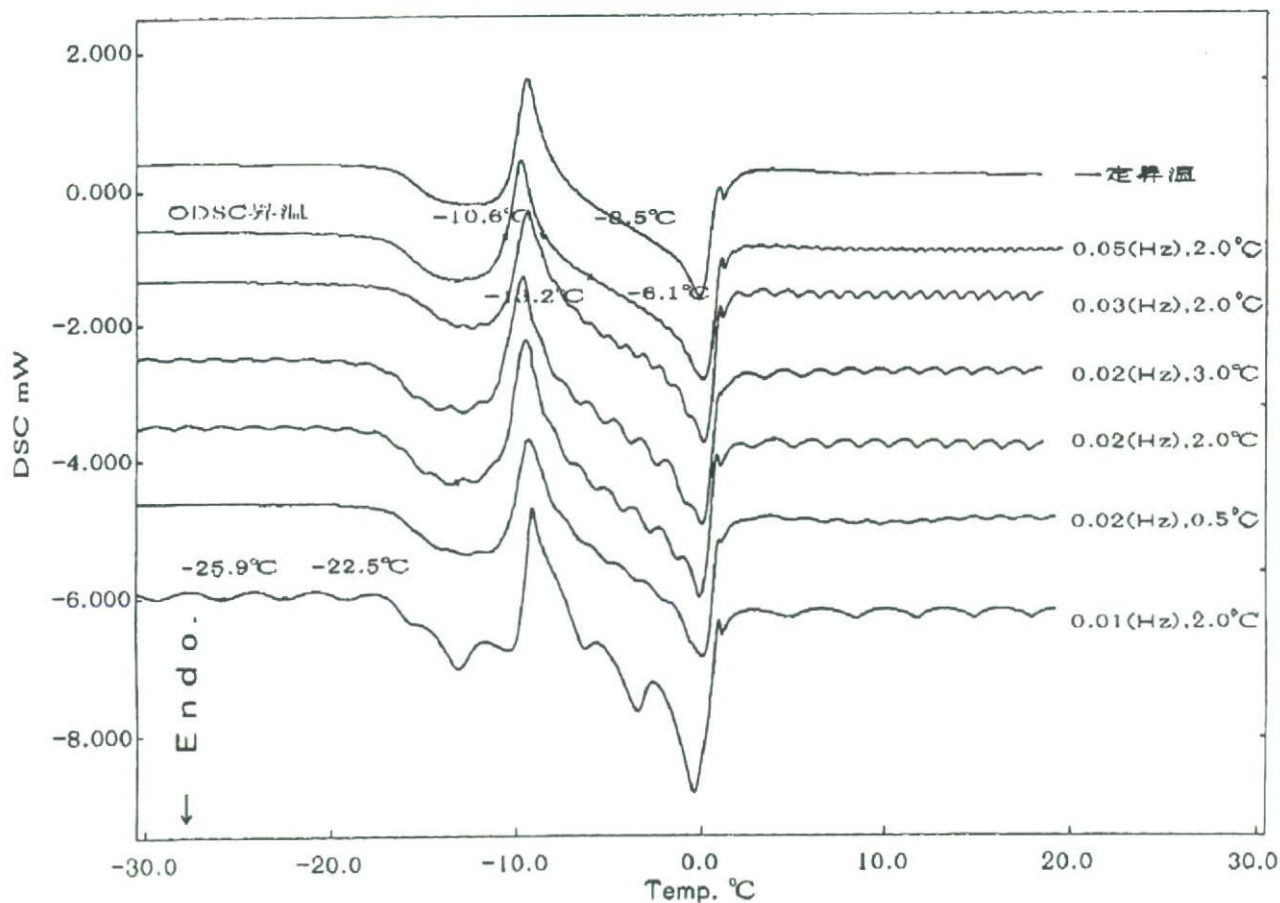


Fig.5. ODSC scan of cephadex G-25 gel (water content 50 wt%).



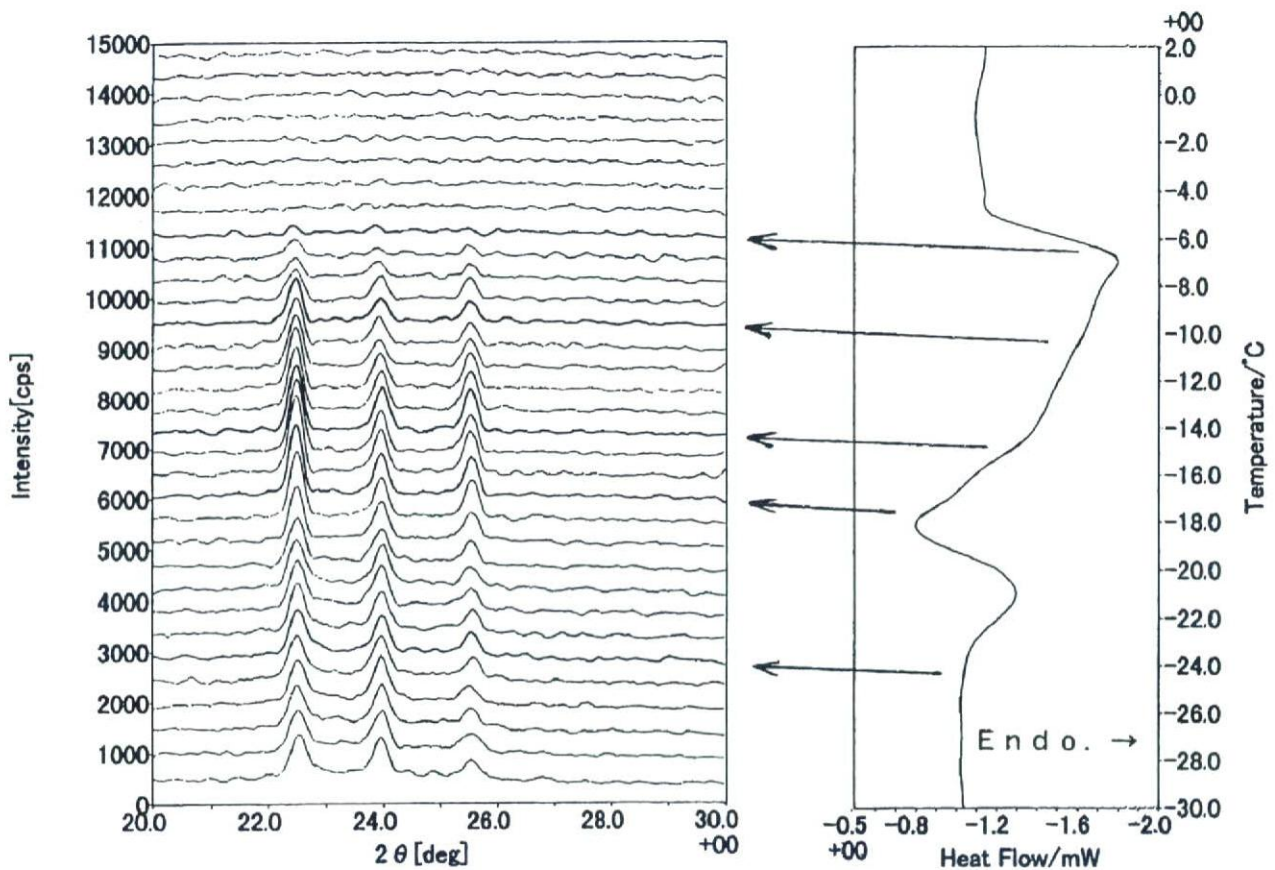


Fig.6. X-ray diffraction - DSC scan of cephadex G-25 gel (water content: 50wt%).

配的であるのに対して、 $T_{mc}$ 以上の温度領域ではグローバルなセグメントの動きが支配的になると考えられる。

今回、架橋デキストラン水溶液の凍結挙動を ODSC で解析した結果、吸熱方向への移行は氷の融解によることが示唆されたが、X線回折-DSCの同時測定では、氷晶融解を示唆する結果は得られなかった。これは ODSC 測定が必ずしも最適な温度振動条件ではなかったか、あるいはX線回折-DSC 同時測定において、X線回折の測定角度範囲に対しスキャン速度が十分に速くないので、データは温度変化を忠実に反映していなかったためと考えられる。しかし、X線回折-DSC 同時測定は熱の出入りとミクロな構造変化を同時に測定できるために、現象の本質を理解するのに有力な研究手段であると考えられる。氷晶の形成、融解を鋭敏に対応する $22^\circ$ 付近の回折ピーク強度に着目して更に詳しい測定を行えば、より精度良く熱挙動が追跡可能となり、吸熱方向への移行の原因を突きとめることができると期待される。

## E. 結論

デキストランを含有した BGG 凍結乾燥製剤について、固体高分解能 $^{13}\text{C}$ -NMR を用いて、BGG カルボニル炭素の $\tau_c$ およびデキストランメチン炭素の $\tau_c$ の温

度依存性を解析した結果、 $T_{mc}$ を境にしてデキストランの運動のモードが変化し、 $T_{mc}$ 以下の温度領域ではローカルなセグメントの動きが支配的であるのに対して、 $T_{mc}$ 以上の温度領域ではグローバルなセグメントの動きが支配的になり、タンパク質の運動性もデキストランの動きに連動して急激に高まることが明らかになった。

凍結した架橋デキストラン水溶液の凍結及び融解挙動を ODSC およびX線回折-DSC 同時測定によって解析した結果、DSC 昇温曲線は、昇温結晶化による発熱ピークに先行して吸熱方向へ移行するが、その原因は融点降下したサイズの小さな氷晶の融解によるものである可能性が ODSC の解析によって明らかになった。X線回折-DSC 同時測定では氷晶の融解を示唆するデータは得られなかったが、水の凍結を示す DSC の発熱ピークに対応して水の結晶のピークが観察され、水分子の存在状態と運動性に関する有用な情報が得られることが分かった。

NMR、ODSC およびX線回折-DSC が、医薬品製剤中の分子運動性に関して重要な知見を提供することが分かり、製剤の安定性評価を行う上で有用な手段となることが明らかになった。



## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Yoshioka, S., Aso, Y., Kojima, S., Tanimoto, T. Effect of polymer excipients on the enzyme activity of lyophilized bilirubin oxidase and  $\beta$ -galactosidase formulations *Chem.Pharm.Bull.*, 48, 283-285 (2000).

Yoshioka, S., Aso, Y., Kojima, S., Sakurai, S., Fujiwara, T., Akutsu, H. Molecular Mobility of Protein in Lyophilized Formulations Linked to the Molecular Mobility of Polymer Excipients, as Determined by High Resolution  $^{13}\text{C}$  Solid-State NMR, *Pharm.Res.*, 16, 1621-1625 (1999).

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: The Effect of Excipients on the Molecular Mobility of Lyophilized Formulations, as Measured by Glass Transition Temperature and NMR Relaxation-Based Critical Mobility Temperature, *Pharm.Res.*, 16, 135-140 (1999)

Aso, Y., Yoshioka, S., Nakai, Y. and Kojima, S. Thermally Controlled Protein Release from Gelatin-Dextran Hydrogels. *Radiat. Phys. Chem.* 55, 179-183 (1999)

Murase, N., Inoue, T., Ruike, M. and Watanabe, T. Freezing behaviour of polymer gels studied by DSC and environmental SEM, *Proceedings of IIR*, in press.

村勢則郎、堀江勝廣、類家正稔、梶原一人、吉岡澄江：デキストラン水溶液の凍結融解挙動、低温生物工学会誌、Vol. 45, 153-15 (1999).

### 2. 学会発表

阿曾幸男、吉岡澄江、小嶋茂雄：NMR緩和時間によって測定される非晶質医薬品の運動性と結晶化速度の関係。第38回NMR討論会(1999.10)

吉岡澄江、阿曾幸男、小嶋茂雄：タンパク質凍結乾燥製剤の安定性に及ぼす高分子添加剤の可塑性特性の影響。日本薬学会第119年会(1999.3)

阿曾幸男、吉岡澄江、小嶋茂雄：生分解性高分子を架橋したハイドロゲルからの薬物放出速度とNMR緩和時間により測定されるゲル高分子の運動性の関係。日本薬学会第119年会(1999.3)

吉岡澄江、阿曾幸男、小嶋茂雄：固体高分解能 $^{13}\text{C}$ -NMRによって測定した凍結乾燥剤中のタンパク質および医薬品添加剤の分子運動性と製剤の安定性の関係。日本薬剤学会第14年会(1999.3)

阿曾幸男、吉岡澄江、小嶋茂雄：重合法によって異なる両親媒性ハイドロゲルの薬物放出速度。日本薬剤学会第14年会(1999.3)

村勢則郎、堀江勝廣：高分子ゲルの平衡・非平衡凍結の熱測定、第20回日本熱物性シンポジウム、講演論文集、pp. 22-25, (1999).

堀江勝廣、高橋信也、類家正稔、松永直樹、村勢則郎：架橋高分子ゲルビーズの乾燥と吸・脱着挙動、日本農芸化学会1999年度大会、講演要旨集、p. 160, 1999.

N.Murase, T.Inoue, M.Ruike, and T.Watanabe: Freezing behaviour of polymer gels studied by DSC and environmental SEM, 20th International Congress of Refrigeration, IIR, Preprint, 1999.

村勢則郎、堀江勝廣、類家正稔、梶原一人、吉岡澄江：デキストラン水溶液の凍結融解挙動、第45回低温生物工学会年会、講演要旨集(1999)。

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他



## 製剤中の水分子の運動性の解析に関する研究

（分担） 研究者 村勢 則郎 東京電機大学理工学部教授

架橋デキストラングル中の水の凍結・融解挙動を振動温度モードDSC及びX線回折-DSC同時測定により解析した。適度な架橋密度のゲルの場合、DSC昇温曲線は、冷却過程でガラス化した水の結晶化による発熱ピークを示すと同時に、発熱ピークに先行して吸熱方向へ移行した。移行の原因としては、ガラス転移及びそれに付随するエンタルピー緩和の可能性と、融点降下した小さなサイズの氷の融解の可能性が考えられるが、振動温度モードDSCの結果が氷の融解の可能性を示唆しているのに対し、X線回折-DSC同時測定からは氷の融解を示唆するデータは得られなかった。

## A. 研究目的

高分子-水系における水分子の運動性を、DSC（示差走査熱量測定）を用いた凍結挙動の解析から、研究している。その結果、高分子水溶液といえどもマイクロには不均一で、水はおかれた環境によって異なる凍結挙動をとることが示唆されてきた。（昨年度報告）すなわち、高分子内の絡まり内に閉じこめられた水はバルクの水と異なり、サイズの小さな氷晶を形成して0℃より低温で凍結したり、ガラス化する可能性がある。実際、水溶液より不均一性の顕著な高分子ゲル中の水は、架橋密度に依存して凍結時にガラス化し、昇温過程で結晶化する場合がある。昇温結晶化が、高分子網目構造内に閉じこめられた水に起因するものであることはわかってきた。ところで、昇温結晶化による発熱ピークに先行してDSC昇温曲線は吸熱方向へ移行するが、その原因は明らかになっていない。融点降下したサイズの小さな氷晶の融解によるものか、ガラス転移におけるエンタルピー緩和によるものか、議論が分かれている。本研究では、この吸熱方向への移行の原因を明らかにする目的で、振動温度モードDSC（ODSC）測定、及びX線回折-DSC同時測定を行った。

## B. 研究方法

試料：昇温結晶化の観測されているセファデックスG25ゲル（架橋デキストラン；Amersham Pharmacia Biotech. 社）を使用した。乾燥したセファデックスG25に蒸留水を添加して含水率50wt%に調整し、試料とした。

ODSC（振動温度モードDSC）測定：上記試料を5℃/分で20℃から-50℃付近まで冷却し、そ

の後1℃/分で20℃まで昇温を行った。温度振動の周波数は0.01、0.05Hz、振幅は2℃で測定を行った。使用したDSCはDSC-061（セイコー・インスツルメント社）である。

X線回折-DSC同時測定：X線回折測定条件は、Cu管球、50kV、40mA、グラフアイトモノクロメータ使用、である。約5℃/分で-50℃付近まで冷却し、その後1℃/分で昇温した。測定範囲は $20^{\circ} < 2\theta < 30^{\circ}$ で、スキャン速度は20°/分である。使用した装置はXRD-DSCII（理学電機株式会社）である。

## C. 研究結果

一定速度で昇温した場合、セファデックスG25ゲルの凍結後のDSC曲線は、-18℃付近から吸熱方向に移行し、-11℃付近で発熱ピークを示してから、氷の融解による吸熱ピークが観測された。（図1の一番上の曲線参照）

振動モード測定において、振動に追従できるのは比熱変化など、平衡論にしたがった状態変化であり、条件さえ適切に選べば、速度論にしたがった緩和過程は昇温曲線から除去することができる。しかしながら、条件を変えても吸熱方向への移行の度合いはほとんど変化せず、この移行はエンタルピー緩和によるものではなく、氷の融解によるものである可能性の強いことが明らかになった。（図1参照）

図2に、X線回折-DSC同時測定の測定結果を示す。氷の結晶によるメインの回折ピークは $22^{\circ} < 2\theta < 26^{\circ}$ に三本観測された。そして、DSC曲線で見られる発熱ピークに対応して、特に22°付近の回折ピーク強度が顕著に増大した。したがって、このピ



ークは氷の結晶化によるものであることが確認された。一方、昇温結晶化に先行する吸熱方向への移行の際には、いずれの回折ピークにおいても、強度変化はほとんど観測されなかった。移行が氷の融解によるものと考え、氷の結晶による回折ピーク強度は減少してよいはずで、そうならなかったことは、この移行が氷の融解によると断定できないことを意味する。

#### D. 考察

ODSC測定結果からは、吸熱方向への移行は氷の融解によるものと解釈されるが、X線回折-DSC同時測定の測定では、氷晶融解を示唆する結果は得られなかった。両者の測定結果は一致しなかったが、どちらにも測定上の問題点はある。ODSC測定では、必ずしも最適な温度振動条件ではなかった可能性がある。X線回折-DSC同時測定では、X線回折の測定角度範囲に対しスキャン速度が十分に速くないので、データは温度変化を忠実に反映していない可能性が強い。しかし、X線回折-DSC同時測定は熱の出入りとミクロな構造変化を同時に測定できるわけで、現象の本質を理解するのに有力な研究手段であると考えられる。氷晶の形成、融解を鋭敏に対応する $2^{\circ}$ 付近の回折ピーク強度に着目して更に詳しい測定を行えば、より精度良く熱挙動が追跡可能となり、吸熱方向への移行の原因を突きとめることができると期待される。

#### E. 結論

凍結した架橋高分子-水系のDSC昇温曲線は、ガラス化した水の昇温結晶化による発熱ピークを示すことがある。発熱ピークに先行してDSC昇温曲線は吸熱方向へ移行するが、その原因を解明する目的で、振動温度モードDSCとX線回折-DSC同時測定を試みた。移行の原因は融点降下したサイズの小さな氷晶の融解によるものである可能性が考えられるが、X線回折-DSC同時測定からは氷晶の融解を示唆するデータは得られなかった。しかしながら、凍結及び融解挙動は水分子の存在状態と運動性を反映しており、その解析は製剤の安定性評価において大切な知見を提供するものである。X線回折-DSC同時測定はこのような解析において非常に強力な研究手段であり、さらに詳しい測定により吸熱方向への移行の原因が明らかになると期待される。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

.Murase, T.Inoue, M.Ruike, and T.Watanabe: Freezing

behaviour of polymer gels studied by DSC and environmental SEM, Proceedings of IIR, in press.

・ 村勢則郎、堀江勝廣、類家正稔、梶原一人、吉岡澄江：デキストラン水溶液の凍結融解挙動、低温生物工学会誌、Vol. 45, 153-156(1999).

##### 2. 学会発表

・ 村勢則郎、堀江勝廣：高分子ゲルの平衡・非平衡凍結の熱測定、第20回日本熱物性シンポジウム、講演論文集、pp. 22-25 (1999).

・ 堀江勝廣、高橋信也、類家正稔、松永直樹、村勢則郎：架橋高分子ゲルビーズの乾燥と吸・脱着挙動、日本農芸化学会1999年度大会、講演要旨集、p. 160, 1999.

・ N.Murase, T.Inoue, M.Ruike, and T.Watanabe: Freezing behaviour of polymer gels studied by DSC and environmental SEM、20th International Congress of Refrigeration, IIR, Preprint, 1999.

・ 村勢則郎、堀江勝廣、類家正稔、梶原一人、吉岡澄江：デキストラン水溶液の凍結融解挙動、第45回低温生物工学会年会、講演要旨集 (1999) .

#### G. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

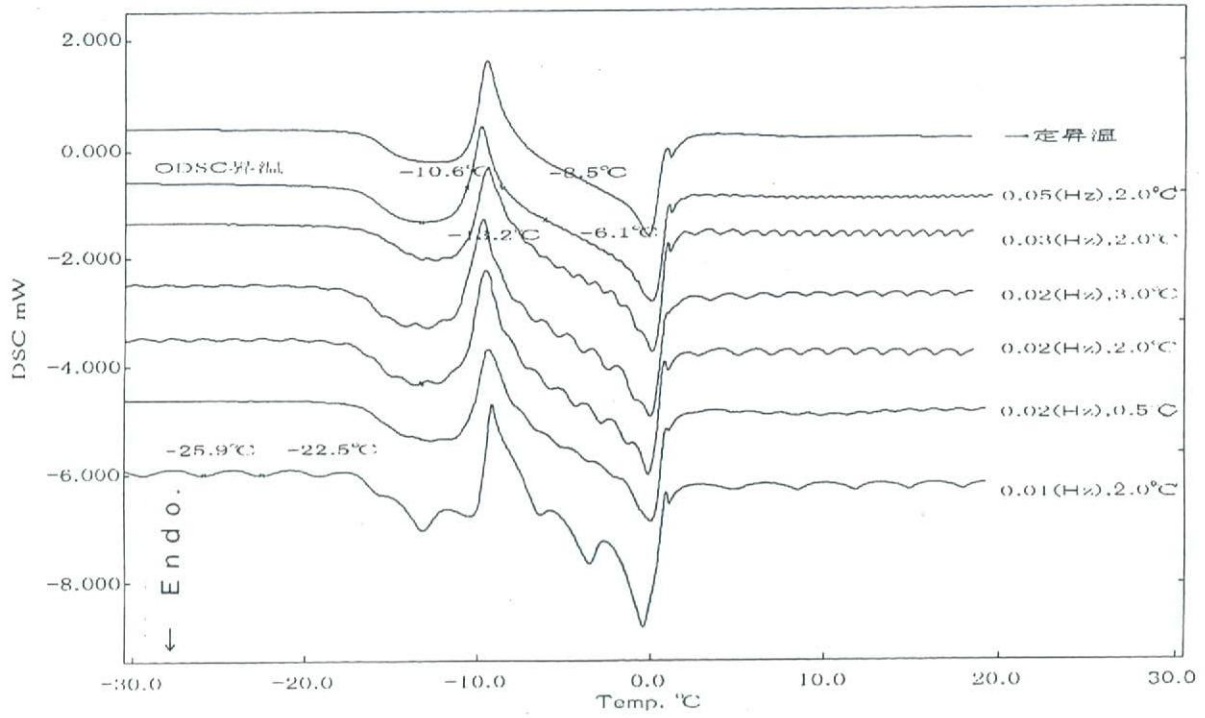


図1 セファデックスG-25 ゲルの温度振動モードDSC融解曲線  
(含水率：50wt%)

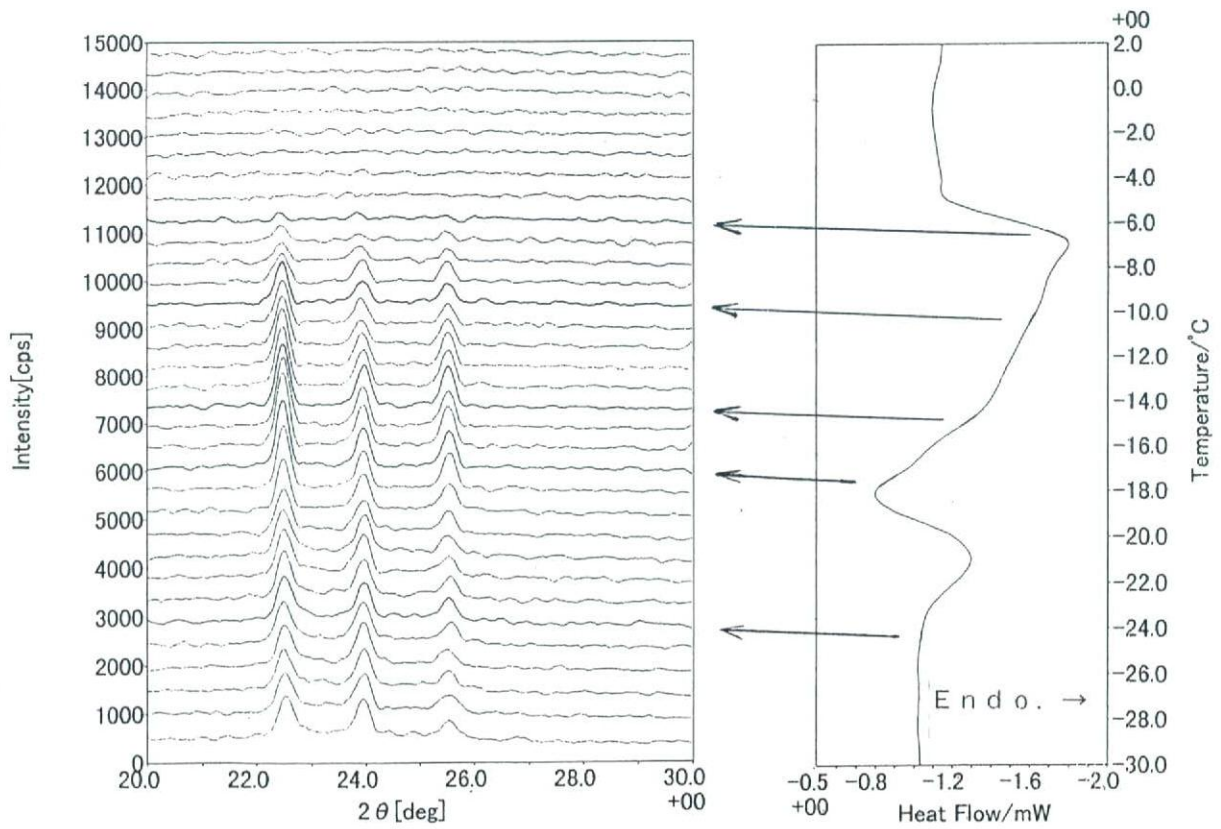


図2 セファデックスG-25 ゲルのX線回折-DSC同時測定曲線  
(含水率：50wt%) 左：X線回折； 右：DSC融解曲線