薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
101 (8) 688-694 (1981)

広幅パルス NMR による水和状態の新しい測定法と医薬品の凍結乾燥への応用

鈴木栄一郎

味の素株式会社中央研究所

A New Method for Measuring the State of Water by Broad-Line Pulsed NMR and Its Application to Freeze-Drying of Drugs

EI-ICHIRO SUZUKI

Central Research Laboratories, Ajinomoto Co., Inc.,
Suzuki-cho, Kawasaki-ku, Kawasaki

(Received January 23, 1981)

An automatic recording system was developed for the dynamic measurement of the unfrozen water content and the spin-spin relaxation time as a continuous function of temperature. The system consists of a broad-line pulsed NMR spectrometer, a wave form memory apparatus, and a minicomputer, by using the special thermocouple shielded from electric noise by aluminum metal and coated with thermal insulator.

The freezing and thawing processes were measured for aqueous solutions of saccharides and sugar alcohols, and the mobilities of solute and hydrated water molecules in frozen solutions were investigated. It was shown that sugar alcohol and mono- and oligosaccharide molecules are clustered by freezing of free and loosely-bound water and solidified in low temperature regions together with tightly-bound water.

Mannitol is unusual amongst carbohydrates because that it crystallizes out in the thawing process, at about -22°C , and the freeze-drying of its aqueous solution is very easy. Hence mannitol is the most suitable diluent of drugs for freeze-drying use. But at the cooling rate of one degree per minute or more slowly, it crystallizes out in the freezing process, and by freeze-drying powder which is unpractical in appearance and solubility with many spherulite crystals of about $1\text{ mm}\phi$ was given.

The advantages of the above method, namely the freezing curve method in pharmaceutical sciences were emphasized.

Keywords—unfrozen water; pulsed NMR; broad-line; carbohydrate; mannitol; freeze-drying; diluent; spherulite; cluster

水は、自然界に存在する大部分の動植物の主要構成成分である。そして、その凍結による生体組織の損傷、蛋白質を初めとした生体物質の凍結変性など、凍結の関与した問題は少なくない。薬学領域では、凍結乾燥条件による医薬品の外観および溶解性の相違や、凍結保存における添加物質および凍結速度、温度の影響などが、重要な問題と思われる。

これらの問題は、物質の水和状態と密接に関係している。そこで、凍結下での水和状態を正確かつ簡便に測定解析できる自動記録システムの開発を行なった。¹⁾ それは、広幅パルス核磁気共鳴装置 (NMR) にミニコンピュターを装備したシステムであり、試料の温度を連続的に変化させながら、凍結過程または解凍過程における、溶質および不凍水の分子運動性の変化を、動的に追跡することができる。すなわち、不凍水量およびその緩和時間を、温度の連続関数として、正確に自動記録することにより、物質の凍結下での水和状態を描き出し特色づけることを目的としたシステムである。本研究では、この不凍水量を縦軸とした温度関数を凍結または解凍曲線と呼び、これらを使った物性等の検討手法を凍結曲線と呼ぶ。

Kuntz らの、蛋白質などの -35°C における不凍水量データ²⁾ は、主に溶質に強く単分子層状に結合した結合水量の知見だけを提供するものであるが、凍結曲線法によれば、約 0°C で凍結するような自由水ではないが、 -35°C に至るまでには凍結してしまうので結合水でもなく、その外側から溶質に比較的ゆるく多重層状に結合

した水, すなわち, 準結合水の量と運動性についても知ることができ, その凍結保存・乾燥技術上の意義は大きいと言える. このような NMR による凍結曲線は, オシロスコープ観測や手計算を含む不連続的なものならば, すでに, Belton, Fung らにより, 細胞生物学や筋肉の研究の分野等で広く測定されている.³⁾ しかし, このような方法では, 昇温や降温の速度を変えるなどの, 動的な凍結現象の解析は不可能に近い. また, 縦軸に単に不凍水量との定性的な相関のみを求めた凍結-解凍曲線ならば, 広幅パルス NMR 装置に, X-Y 記録計を装備するだけで, 連続的なものが得られるが, 縦軸に十分定量性を持たせた正確かつ連続的な凍結曲線を測定するためには, 数秒間隔のデータサンプリングごとに, オンラインで, NMR の感度補正を初めとした, 必要不可欠な大量のデータ処理を高速に行ない得るようなコンピューターを装備することが必須である. また, オンライン化により, 不凍水量のみならず, その緩和時間や, 凍結で生成した氷の量なども, 温度の関数として得られる.

本研究では, 水和現象の基本ともいえる水酸基の水和を検討する目的で, 糖類および糖アルコール類を主対象とした. そして, 主に, その水和状態と凍結乾燥性との関係を検討した. これらの物質には, 日本薬局方に, 医薬または製剤原料として収載されているものが多く, とくに, 常温でよく水に溶解し, かつ, 凍結乾燥性のよい注射用賦形剤は何かという問題は, 實際上, 重要である. その結果, 糖類および糖アルコール類の水和状態, とくに, 凍結下での分子運動性が系統的に解明されると共に, 注射用の凍結乾燥製剤の賦形剤としては, 凍結曲線法に基づいて, 幾つかの点に留意しさえすれば, マンニトールが, 最も優れた性質を有することなどが, 明らかになったので, 報告する.

実験の部

試料および溶媒 試薬は, 原則として, すべて市販特級品を用いた. 溶媒としての水は, イオン交換精製水を, 活性炭を通した後, 蒸留したものを用いた.

凍結-解凍曲線の測定法 凍結-解凍曲線の自動記録システムのブロック図を, Fig.1 に示す. 各々約 250 mg の試料を, 外径 7 mm の試料管に採取し, 冷却降温は, ジュアービン中の液体窒素に窒素ガスを吹込み発生するガスで行ない, 加熱昇温は, 窒素ガス流量を減らして行なった. 正確な温度制御を行なう際には, 温度可変装置の加熱器を断続的に駆動させて行なった. 通常, 温度変化の速度を, 約 3°C/min として, 温度を連続的に変えながら, 凍結-解凍過程を, プロトンの共鳴周波数が 20 MHz の, 広幅パルス NMR (日本ブルカー, minispec p 20) により, 印加した 90°C パルスの応答信号である自由磁気誘導の減衰 (Free Induction Decay, FID と略

Fig. 1. Block Diagram of the System (left) and Design of the Thermocouple (right)

1: sample, 2: magnet, 3: nitrogen gas for cooling and warming, 4: transmitter, 5: receiver, 6: thermocouple and cold junction of ice, 7: sampling trigger, 8: HP-IB interface bus, a, b: chromel-constantan, c: aluminum, d: thermal insulator, and all tubes are made of teflon.

Fig. 2. Example of the FID Curve (●) after a 90°C Pulse with the Dead Time of about 10 μs

L: liquid component, which obeys the formula of $\exp\left[-\frac{t}{T_{2L}}\right]$.

S: solid component after subtracting the liquid component from the total FID curve, which obeys the formula of $\exp\left[-\left(\frac{t}{T_{2S}}\right)^2\right]$.

す) 曲線⁴⁾を測定して追跡した。FID 曲線と温度のデータ・サンプリングは、NMR の発生するトリガー・パルスで同期させ、波形記憶装置 (Wave Form Memory, WFM; 菊水電子工業, 8702 S 改造型) を用いて、 $2\mu\text{S}$ の間隔のアナログ・データを、10 ビットのデジタル・データに変換格納し、インターフェース・バス (HP-IB) で、ミニコン (YHP, HP 1000) へ転送する。熱電対には、ノイズ遮蔽と断熱の工夫を施した。すなわち、Fig. 1 に示したように、アルミニウムで熱電対線をノイズ遮蔽すると共に、アルミニウムを通じた、室温の試料への伝導を回避する目的で、熱電対先端部を断熱材で囲繞した。これは、NMR と WFM が発生する水晶発振器ノイズに対する対策である。¹⁾

以下に述べるデータ処理は、FORTRAN 言語で行なった。まず、NMR 感度の補正により、生の FID 曲線を修正して、正しい形にする。この補正は、試料中のプロトン数と NMR 信号強度とは、本来、比例する筈であるが、装置の増幅特性により、極端な S 字型の関係をもつために、凍結現象のように、通常 2 桁以上のプロトン量変化がある場合には、特に必要である。補正には、体積一定で、種々のプロトン濃度の水-重水混合硫酸銅溶液を用いた。結果は、数表形式で、温度と熱電対起電力の対応関係と共に、メモリに格納して繰り返し使用する。次に、Fig. 2 にみられるように、FID 曲線は、通常、異なった状態のプロトンに由来する 2 つのスピン-スピン緩和時間 (T_2) の存在を示す。すなわち、固体状態のプロトンはガウス型、液体状態のそれは指数型で減衰するが、FID 曲線は、その両者の重ね合わせであることが多く、前者はマイクロ秒 (μs)、後者はミリ秒 (ms) の単位の大さきの時定数で、それぞれ、 T_{2s} , T_{2l} と呼ばれる。通常、固体プロトンの減衰が完了する $40\mu\text{s}$ 以降の液体部を、零時 ($0\mu\text{s}$) に最小自乗法で外挿して、不凍水量を求める。^{3a)} すなわち、Boltzmann 効果を考慮し、別に乾物重量 (dry matter, D.M.) または溶質量を求め、乾量基準の数値 ($\text{gH}_2\text{O/gD.M.}$) に直す。以上のような一連の計算を、最短 0.5 秒間隔の入力パルスごとに計算プログラムを実行する方式で繰り返す。凍結-解凍操作終了後、この不凍水量の温度変化を、片対数グラフにプロットする。同時に液体部の傾斜から T_{2l} を、固体部の解析から、その量と T_{2l} とを、温度の関数として求め、 T_{2l} 曲線などと呼ぶ。なお、凍結-解凍曲線は、通常 3 点平滑化を行なった。

凍結乾燥の方法 ソルビトール、キシリトール、マンニトール、ブドウ糖、果糖、乳糖、ショ糖の水溶液; マンニトールと他との混合水溶液 (9.1%) を、約 3 ml 採取し、100 ml ビーカーに入れ、自然昇温型の凍結乾燥器 (Refrigeration for Science, INC., Model 2281) と、ロータリーポンプ (日立, 160 VP) を用いて行なった。凍結方法は、直接液体窒素にビーカーごと浸漬するのと、 -20°C のフリーザーに、約 1 時間放置後、液体窒素に浸漬するのとで、急速凍結と緩慢凍結を差別した。写真は、オリンパス光学の実体顕微鏡で倍率 $16\times$ で撮影した。

熱分析 装置は、走査型示差熱分析計 (第二精工舎, SSC 560-U) を用いた。

粉末 X 線回折 装置は、理学電機の Geigerflex D-3F を用いた。

結 果 と 考 察

I. 凍結水溶液中での糖類および糖アルコール類とその水和水の分子運動性について

Fig. 3 に、グリセロールの 17% 水溶液の凍結-解凍曲線を示す。グリセロールに限らず、一般に、凍結過程は、過冷却現象と不連続的な凍結開始現象とを含む。しかし、図を見て分るように、グリセロールを初めとして、糖類および糖アルコール類の多くは、一般に、凍結曲線と解凍曲線とは、ほぼよく一致しており、いわゆる凍結履歴現象を示さない。また、メタノール (CH_3OH) と重メタノール (CD_3OH) の水溶液の見かけの不凍水量、すなわち不凍プロトン量を比較すると、凍結後の広い温度範囲にわたって溶質 1 分子当たり、プロトン約 3 個分 (メチル基 CH_3 の分) だけ前者の方が大きいことから、溶質は凍結せず濃縮された状態にあると考えられる。そして、例えば、グリセロールは、Fig. 3 にみられるように、 -60 — -70°C で凍結濃縮水和物が全体として非晶質な固体となると考えられる。すなわち、熱分析測定ではこの温度領域にピークは認められないので、氷結晶等が生成するのではなく、運動性が固体状態と同程度の領域へ入るだけの変化が起こると考えられる。メタノール、キシリトール、ソルビトールでは、その温度は、それぞれ、 -140 、 -50 、 -40°C である。さらに、エチレングリコールが -85 — -90°C であるのに、エタノールが -145°C であることを考えると、この非晶固体化温度は、分子量というよりは分子内水酸基数の増加と共に上昇する傾向があるといえる。この傾向は、溶質の水酸基が、他の溶質および氷晶の水酸基との、水素結合による相互作用を起こし、分子の回転的ブラウン運動が束縛を受ける原因となっていると考えれば理解できる。ここで、各水溶液の濃度は、水:溶質のモル比が、25:1

Fig. 3. The Freezing and Thawing Curves of 17% Glycerol Aq. Solution

—: freezing curve,: thawing curve,
and the symbol * denotes the supercooling.

Fig. 4. Comparison of the Thawing Curves of 40% Sorbitol and Glucose Aq. Solutions

—: sorbitol,: glucose.

TABLE I. The Unfrozen Water Content and the Number of Hydroxyl Groups of Several Alcohols

Solutes	Conc. (%) ^{a)}	Temp. (°C)	UFW Content ^{b)}		OH Number ^{c)}	H ₂ O/OH ^{d)}
			Obs. (gH ₂ O/gD.M.), A	H ₂ O/Solute, B		
Methanol	6.5	Below -80	1.4	0.5	1	0.50
Ethanol	9.0	Below -80	1.4	0.6	1	0.60
Glycerol	17.0	-50—-60	1.2	2.	3	0.67
Sorbitol	27.0	About -20	1.1	4.	6	0.67
Glucose	27.0	About -20	1.1	5.	5	1.00

a) All of the molecular ratios of solute to water are about 1 : 25.

b) Effective value of the number of unfrozen water molecules per one solute molecule is B, which is calculated from the observed value, A.

B = A × (molecular weight of solute)/18 — (the number of solute protons)/2.

c) The number of hydroxyl groups per one solute molecule.

d) The number of unfrozen water molecules per one solute hydroxyl group.

となるよう設定し、その結果、凝固点降下は、約 -5°C で一定となっている。また、この傾向は、同一重量濃度で測定しても変わらない。さらに、Table I にまとめたように、非晶固体化直前での、これらのアルコール類の、1 水酸基当たりの不凍水分子数は、0.5—0.7 個であり、ブドウ糖の場合の約 1 個よりも、かなり少ない。加えて、単糖類である果糖とブドウ糖は、互いによく似た曲線を示すが、Fig. 4 にもみるように、ブドウ糖は、ソルビトールよりも、固化の際の曲線の傾斜が緩やかである。また、Fig. 5 にみるように、少糖類では傾斜が緩やかであることからさらに進んで、溶質と不凍水の非晶固体化温度（マルトペンタオースでは、それぞれ図の Y 点と X 点）の明瞭な分離となっておりと共に、グリセロール (Fig. 3) やメタノールなども、曲線の傾斜は急であり、糖類と糖アルコール類とは違うといえる。これらの事実は、このような低分子の直鎖状の糖アルコール類は、糖類に比べて、溶質同志が互いに、その大部分の水酸基の間で、直接または不凍水を共有した形で間接的に、水素結合し合うための立体障害は小さいので、高分子的な鎖状のクラスターを形成し易く、従って 1 水酸基当たりの不凍水量は少なく、さらに溶質と不凍水は、一体となって非晶固体化するため、曲線の傾斜が急であるとすれば、合理的に説明される。これに対し、糖類では、水酸基が放射状についた立体構造のためか、溶質と共に固体状態になるような溶質分子共有の不凍水だけでなく、もっと低温に至るまで自由に回転運動し得るような、独立して糖の水酸基に水和した不凍水も多い、球状のクラスターを形成していると思われる。

糖類水溶液の溶質と不凍水の固体状態化温度の分離は、Fig. 5 にみるように、多糖に至るほど顕著である。す

Fig. 5. The Thawing Curves of 40% Saccharide Aq. Solutions

—: glucose, — —: maltose,: maltotriose,
— · —: maltopentaose, — — —: glycogen, — · — · —: waxy corn
starch (gelatinized at 90 °C for three minutes). X, Y: see
the text.

Fig. 6. Retrogradation of 37% Waxy Corn Starch Gel

—: freezing curves,: thawing curves,
G: gelatinized at 90 °C for three minutes,
R: retrograded at 3 °C for one day.
The symbol * denotes the supercooling.

Fig. 7. The Freezing and Thawing Curves of 9% D-Mannitol Aq. Solutions

(upper) cooling and warming rate is six degrees
per minute.
(lower) the rate is 0.5 degree per minute.
Arrows indicate the process of change, and the
symbol * denotes the supercooling.

なわち、濃度を 40% に統一して、ブドウ糖から、モチトウモロコシデンプン⁵⁾に至るまでの分子量の異なる糖類の水溶液、重水溶液 (溶質プロトンのみ観測される) の解凍曲線と T_{21} 曲線 (Y 点が正確に求まる) を調べると、単糖類、少糖類では、糖アルコールの場合と同様に、凍結濃縮によるクラスター形成が顕著であり、溶質の固体状態化に幾分かの不凍水が追従すると考えられる。すなわち、凍結過程で溶質の固体化後も可動性のある不凍水の量は、解凍曲線の平らな部分に相当しており、その値は、デンプンでは、1 水酸基に 1 個の水和水が不凍水となった場合に期待される、 $0.33 \text{ gH}_2\text{O/g D.M.}$ となっているが、グルコースの場合、期待値 $0.50 \text{ gH}_2\text{O/g D.M.}$ よりも、ずっと小さく、 $0.2\text{--}0.3 \text{ gH}_2\text{O/g D.M.}$ 付近に肩をもつ。¹⁾

また、デンプンは、Fig. 6 にみるように、老化と共に、不凍水の固体化温度の低下を起こす。老化とは、デンプン類等にみられる現象で、高分子糖類が結晶化会合し、そのゲルの不透明化、硬化、離水などを起こすものであり、凍結曲線法では、不凍水の固化温度の低下と共に、やがて、不凍水の量も増加するのが認められる。⁶⁾ このことは、凍結下で、より高分子の糖類に水和した水ほど、低温まで固化しない、という傾向と一致している。これは、水分子が自由に運動し得るスペース (分子空間) の大きさを考えれば、理解できる。つまり、高分子に至るほど立体障害による制約で、互いに不凍

水を共同保有するのが困難になり、分子空間が広がると、1 水酸基当たりの、氷晶との接触面積が小さくなるのとで、説明される。

以上、糖類、糖アルコール類の凍結下での状態について、系統的に解明することができた。

Fig. 8. Comparison of Conditions in Freeze-Drying of D-Mannitol

(Left) after freezing slowly at the rate of $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, and a large spherulite crystal can be seen.
(Right) after freezing rapidly by immersing the sample in a glass vessel directly into liquid nitrogen.

II. マンニトールの凍結-解凍曲線の特異性と、その凍結乾燥条件について

以上のような、普通の糖類および糖アルコール類と比べると、マンニトールの凍結-解凍曲線は特異的である。すなわち、Fig. 7 (上) にみられるように、約 $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$ の速度で冷却凍結後、加熱解凍すると、途中、 -22°C 付近で、不凍水の溶質からの分離析出再凍結に由来するピークが認められる。不凍水の再凍結であることは、溶質プロトンのみを観測するために重水溶液を測定すると、解凍曲線上に、このようなピークが認められないことで確認した。また、凍結過程では、約 -32°C で固化しているのに、解凍過程での曲線の立ち上がりは、約 -25°C であるのは、凍結過程の凍結濃縮により、溶質は不凍水を保有したまま、結晶構造の前段階のような会合体を形成しているためと考えられる。解凍中の再凍結ピークの高さは、液体窒素浸漬の急速凍結と、 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 以下の緩慢凍結 (Fig. 7 (下)) のいずれによっても、小さくなったり、消失したりする。前者は、マトリックス分離に近い、クラスター径の小さい、凍結濃縮体が生成するため、解凍中に水和水を放出して結晶化する際の単位重量当たりの放出量が少ないため、後者は、冷却過程ですでに十分大きなクラスター径となって析出し終っているため、と考えられる。ソルビトールが、マンニトールと違うことは、これらの結晶の密度が、それぞれ、1.654, 1.485 であり、マンニトールが凍結濃縮された場合、おそらく、比較的遠い距離でも互いに水素結合し得る分子構造のため、ついには、比較的軽い結晶を析出するに至る、と考えれば説明できる。マンニトールは、他の炭水化物と違い、多くの結晶多形を示すが、粉末 X 線回析の結果、緩慢凍結後の粉末は、B 型が支配的であり、それについては X 線構造解析結果が与えられている。⁷⁾

このような知見は、以下のように凍結乾燥技術上、有用である。すなわち、凍結乾燥を実際に行なってみると、マンニトールの場合、緩慢凍結では、Fig. 8 にみられるような、針状晶からなる薄片状の大きな球晶 (径 1 mm 以上) を生成して、外観や溶解性の好ましくないものが得られる。また、再凍結の起こる -22°C 以下で、なるべく多くの氷を昇華させ、間隙をつくらないと、凍結乾燥中容器が割れることがわかった。このような事実は、マンニトールをそのまま注射用の医薬として、または医薬品の賦形剤として用いる際には、重要な知見といえよう。逆に、これらの点に留意しさえすれば、他の糖類や糖アルコール類、例えばソルビトールがその解凍曲線 (Fig. 4) から示唆されるように、約 -43°C での溶質の運動開始による溶け戻りのため、⁸⁾ 初期の体積が減少しビーカーの底に半固着した形で乾燥され、甚だ溶解性が悪いのに比べ、マンニトールは、凍結下では容易に水和水が離れて氷となり 0°C 付近に至るまで再溶解しないため、溶質の移動はなく昇華面だけが一樣かつ速やかに

後退して凍結乾燥が進む, よい賦形剤であるといえる. ガラクチトールも, 加熱溶解すれば, 凍結後, マンニトールの場合とよく似た, 解凍中の再凍結現象を示すが, 常温における溶解度が低く, 注射用の賦形剤には不適である (日本薬局方収載物質でもない). また, マンニトールと, ソルビトール等の凍結乾燥性の悪い他の糖類との混合物の凍結乾燥性は良好であった. このような, マンニトールの凍結乾燥補助剤としての働きは, 他の物質に対しても有効であると思われる.

総 括

以上, 糖類および糖アルコール類の水溶液の, 凍結下での溶質とその水和水の性質を系統的に解明すると共に, マンニトールの特異性, すなわち, 常温で比較的よく水に溶けるが, 凍結下では容易に水和水を離し, 凍結乾燥性がよいこと, また, それを賦形剤として用いるには, 凍結乾燥の際, 凍結の速度と乾燥中の温度制御に留意する必要があること, などが明らかになった.

なお, 凍結保存技術に対するこのような凍結曲線法の利用については, 例えば, 凍結-解凍曲線の測定に基づいて, 保護物質としての働きを期待して糖類等を添加して, なるべく多くの不凍水を保有させるようにした上で, 保存温度を, 曲線上多くの氷が生成または消滅する温度領域 (最大氷晶生成帯) 以下に, できればさらに低く, 全体として非晶質固体に変化する温度以下に設定するのがよい, などが考えられる. その他, 薬物間相互作用等広く薬学領域の諸問題に対しても, 応用が可能であると期待される.

引用文献および注

- 1) E. Suzuki, N. Nagashima, *Chem. Lett.*, **1981**, 181.
- 2) I.D. Kuntz, T.S. Brassfield, G.D. Law, G.V. Purcell, *Science*, **163**, 1329 (1969); I.D. Kuntz, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 514 (1971).
- 3) a) P.S. Belton, K.J. Packer, T.C. Sellwood, *Biochim. Biophys. Acta*, **304**, 56 (1973); b) B.M. Fung, T. W. McGaughy, *Biochim. Biophys. Acta*, **343**, 663 (1974); c) K. Yoshikawa, H. Terada, Y. Kyogoku, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **84**, 1025 (1978).
- 4) 時間領域 (time domain) の NMR スペクトル. そのフーリエ変換が, 通常の周波数領域 (frequency domain) のスペクトルである.
- 5) アミロペクチンを主成分としており, 老化しにくいゲルに加熱変化する. Waxy corn starch.
- 6) E. Suzuki N. Nagashima, *Carbohydr. Res.*, 執筆中.
- 7) H.M. Berman, G.A. Jeffrey, R.D. Rosenstein, *Acta Cryst.*, **B 24**, 442 (1968); H.S. Kim, G.A. Jeffrey, R.D. Rosenstein, *ibid.*, **B 24**, 1449 (1968).
- 8) このような糖類の解凍曲線が示す溶質の運動開始温度 (Fig. 5 の Y 点) は, 食品の凍結乾燥ではコラプス (collapse) 現象として知られている粘度低下温度に対応する. 例えば, M. Karel, "Advances in Preconcentration and Dehydration of Foods," ed. by A. Spicer, Applied Science Publishers, London 1974, p. 45. 参照.