

アプリケーションデータシート #029

恒温解凍振とう機 **HYBRID DEFROST INUBATOR HB-60N** No.1

常温解凍の事例と室温反応の再現性向上の提案



試薬や試料の常温(室温)解凍で本製品をお役立て頂くための基礎データ

概要

ライフサイエンスにおける実験シーンでは、凍結した試薬や試料の解凍作業が日常的に行われている。+37℃のウォーターバスに浸して速やかに解凍したり、試薬によっては氷上で自然解凍、といった具合である。また、加温や水に濡れるのを嫌う場合には卓上(=室温)で自然解凍する場合もある。いずれにしても解凍に要する時間を厳密に決めている事例は少ないと思われる。それは、そもそも必要性がなかったり、『室温』で解凍する場合には『室温』の変動もあって解凍に要する時間が一定ではないためであろう。しかしながら遺伝子解析の受託サービス等、プロセスの効率化が求められる仕事では、解凍作業に要する時間を決めたいといったニーズが見られる。このような場合、水の補充や濡れた試薬/試料容器の拭き取りといった作業が増えるウォーターバスは好まれない。加えてウォーターバスではその装置特性から、加温を嫌う試薬/試料の解凍にはやや不向きである。また、上述のように室温は空調していても昼夜や季節で変動するため、『室温』で解凍すると所要時間の再現性が得られない可能性がある。本紙でご紹介する〈恒温解凍振とう機 ハイブリッド解凍インキュベーター HB-60N〉は、このような課題の解決に役立つと考えられる。そこで、本製品を用いて試薬/試料を『室温』と同じ温度で解凍する場合に参考となる基礎データを収集することにした。なお、『室温』とは具体的に何℃を示すのかについては、以下で述べている。

『室温』の定義と具体的な解凍温度の決定について

上記では『室温』という用語を使っているが、食品や医薬品の保存温度では『常温』という用語がよく見られる。そもそも『室温』や『常温』とはどのような温度を指すのであろうか。以下に、定義や慣例をまとめた。

出典/分野	日本薬局方 <sup>1)</sup> (試験や貯蔵に用いる温度)	日本工業規格(JIS) <sup>2)</sup> (試験場所の標準状態)	微生物学 (慣例)	ライフサイエンス全般 <sup>3)</sup> (慣例)
室温	+1℃～+30℃	—	+25℃	+20℃
常温	+15℃～+25℃	20℃±15℃ (+5℃～+35℃)	+25℃	+20℃
“標準状態” における温度	+20℃	試験目的に応じて +20℃、+23℃、+25℃	—	—

日本薬局方によると『室温』はかなり幅のある温度帯で、『常温』はそれよりも狭い温度帯として規定されている。一方、JISによる試験場所の規定では『室温』が定義されておらず『常温』が日本薬局方における『室温』に近い温度帯となっており、加えて別途「標準状態における温度」として3つの具体的な温度が示されている。微生物学やその他ライフサイエンス全般における慣例に目を向けると、『室温』『常温』ともに+25℃や+20℃と認識されているようだ。これらを総合すると『室温』から連想する温度帯は、実際には日本薬局方における『常温』の温度帯が近いと考えられる。「室温で反応」というプロトコルも、+1℃は想定していないであろう。よってここでは、いわゆる『室温』を表す際には『常温』を用いることにし、また『常温』における解凍の温度を+25℃として、解凍試験を行った。

試験方法

■水の『常温解凍』に要する時間の調査と再現性の確認

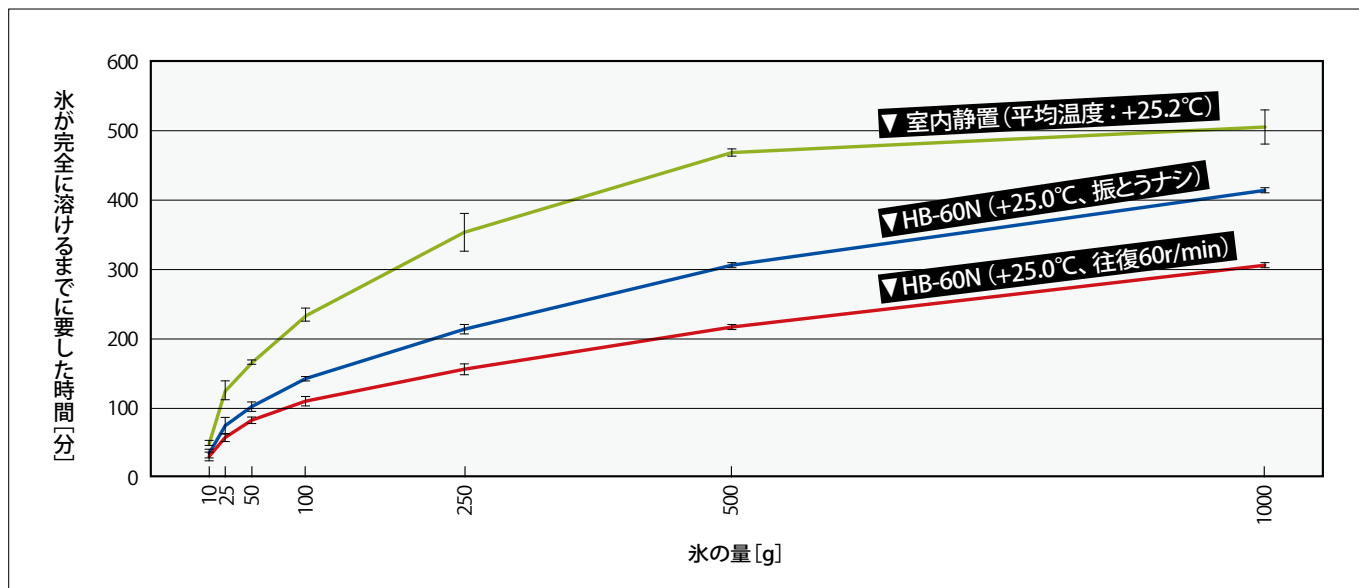
右表の通り容器に水道水を入れて凍結したもの(以下、氷)を用意し、+25℃に設定した〈HB-60N〉に入れて振とうした場合としない場合、および空調された室内\*の一角に静置した場合、の3者について、氷が完全に溶けるまでの時間を5分単位で目視確認した。氷が溶けきる時間については理論値を求めることも可能で、実測値との比較が考察に有用と考えたが、計算に必要なパラメータを得ることがやや困難なため、今回は実測値のみとした。今後、機会があれば理論値を本紙に加筆する。

(\*) 実験期間中の室内温度は最低が+24.3℃、最高が+26.2℃、平均が+25.2℃であった。

10g	10mLディスポ遠沈管に水道水10g	-20℃で 一晩以上凍結
25g	50mLディスポ遠沈管に水道水25g	
50g	100mLポリ瓶に水道水50g	
100g	250mLポリ瓶に水道水100g	
250g	250mLポリ瓶に水道水250g	
500g	1000mLポリ瓶に水道水500g	
1000g	1000mLポリ瓶に水道水1000g	

● 水は凍ると体積が11分の1増加するため、水および氷の量は質量[g]で表した。

結果と考察



常温解凍を+25℃における解凍と定義し、各量の氷を解凍した。溶ける速度は、〈HB-60N〉で振とうした場合がもっとも速く、次いでHB-60Nで振とうしない場合、そして室内静置、の順となった。〈HB-60N〉の庫内空気は、温度分布が良くなるように強制的に循環されている。これにより氷が入った容器周辺の熱交換が促進され、振とうしない場合でも室内静置より溶ける速度が速まったと考えられる。振とうの効果も同様に熱交換の促進にあると考えられる。次に解凍時間の再現性であるが、室内静置は誤差が比較的大きく、また氷の量と解凍時間の関係における直線性が、〈HB-60N〉に入れた場合と比較して低めであった。これは、室内温度の変動の影響や、容器周辺の熱交換を促進する要素がほとんど存在しないためと考えられる(実験期間中の室内温度は最低が+24.3℃、最高が+26.2℃、平均が+25.2℃であった)。一方、三者とも氷が10～50gの時、解凍時間との間に特に直線性がない。これは、容器の材質と厚みに関係しているかもしれない。以下に、用いた容器の仕様を示す。氷の理論的な解凍時間を求める数式(ここでは割愛)を見ると、熱伝導率や容器の厚さが関係している。ポリスチレンとポリプロピレンの熱伝導率に大差はないが、高密度ポリエチレンは数倍良い。容器が大きくなると厚みが増え伝熱抵抗が増すが、100mL以上は高密度ポリエチレン製容器を使用、また大きくなれば伝熱面積は増える。これらのパラメータの相互作用により、上図のようなグラフが得られたと考えられる。

〈HB-60N〉は空気槽であるため水よりも解凍時間はかかるが、先に述べたように空気槽ならではの利点とニーズがある。本試験により室内静置よりも再現性と熱交換においてアドバンテージがあることが確認できた。常温解凍やいわゆる「室温で反応」といったプロトコールに活用できるものとする。

(\*)文献によっては、0.17～0.19とされていることもある。

氷の量	使用した容器	使用した容器の仕様
10g	10mLディスボ遠沈管	ポリスチレン(熱伝導率0.10～0.14 [W/(m·K)] )、厚さ約1.0mm
25g	50mLディスボ遠沈管	ポリプロピレン(熱伝導率0.12* [W/(m·K)] )、厚さ約1.0mm
50g	100mLポリ瓶	高密度ポリエチレン(熱伝導率0.46～0.52 [W/(m·K)] )、厚さ約1.5mm
100g	250mLポリ瓶	高密度ポリエチレン(熱伝導率0.46～0.52 [W/(m·K)] )、厚さ約1.5mm
250g	250mLポリ瓶	高密度ポリエチレン(熱伝導率0.46～0.52 [W/(m·K)] )、厚さ約1.5mm
500g	1000mLポリ瓶	高密度ポリエチレン(熱伝導率0.46～0.52 [W/(m·K)] )、厚さ約2.0mm
1000g	1000mLポリ瓶	高密度ポリエチレン(熱伝導率0.46～0.52 [W/(m·K)] )、厚さ約2.0mm

好評発売中

恒温解凍振とう機  
ハイブリ&解凍インキュベーター HB-60N  
本体価格：¥420,000 (振とうキットは別売)

+25℃等の室温付近の温度も高精度に温調。フロンフリーの電子加熱冷却式。解凍や室温反応、+60℃までのハイブリ等に便利な振とうキットをご用意しました。



転倒攪拌キット使用例 (容器は付属しません)

レシプロキット使用例 (容器は付属しません)

ボトルキット使用例 (ボトルは別売です)

著者・編集

タイテック株式会社  
企画開発部 宣伝企画グループ  
〒343-0822 埼玉県越谷市西方2693-1  
TEL: 048-988-8341 FAX: 048-988-8346 E-mail: senden@taitec.org  
Web: http://taitec.net/

参考文献

- 1) 第十七改正日本薬局方(平成28年3月7日) 通則16
- 2) JIS Z 8703
- 3) 中山広樹, 西方敬人: バイオ実験イラストレイテッド, 1, 90

2017年6月発行  
各製品や本紙の内容に関するお問い合わせは、左記までお願い致します。