

# ジメチルスルホキシドによる寒天の アガロースとアガロペクチンの分離\*

田 川 昭 治

Separation of Agar-agar by Dimethylsulfoxide  
into Agarose and Agaropectin

By

Shōji TAGAWA

In this paper dimethylsulfoxide was used as the solvent for the separation of agarose in agar-agar. The influences of temperature and time in the treatment upon the rate of dissolution of agarose were studied by the method shown in figure 1. In addition, some experiments were carried out on the properties of agarose and agaropectin obtained.

The results based on the experiments were summarized as follows:

1. The dissolution of agarose in dimethylsulfoxide was very rapid, and little depended on temperature at above 30°C. By stirring agar-agar in the solvent at above 30°C for 30 minutes to 2 hours, agarose was separated from agaropectin almost perfectly (tables 1 and 2).
2. Agarose was distinguished from agaropectin in each color, contents of ash and SO<sub>4</sub> group, and jelly forming power (table 3).

Agarose was white, while agaropectin was yellowish grey or yellowish brown. Ash and SO<sub>4</sub> group were rich in agaropectin than in agarose, and agarose markedly exceeded agaropectin in their jelly forming power. The jelly strength of agarose was considerably larger than that of agaropectin, and it was thought that the jelly strength of agar-agar depended on agaropectin contained.

From these facts, it might be effective for increasing the jelly strength of agar-agar to remove agaropectin from it.

寒天が均一な多糖質組成のものでないことは、古く SAMEC ら<sup>1)</sup>により指摘され、高橋ら<sup>2)</sup>は、加圧加

---

\* 水産大学校研究業績 第466号, 1966年1月24日 受理  
Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No. 466  
Received Jan. 24, 1966

\* 昭和40年10月, 日本水産学会秋季大会(清水市)において発表した

熱法により、寒天を硫酸根、灰分の含量の多い部分と、それらの少ない部分との2成分に分別した。その後荒木<sup>3)</sup>はテングサ寒天をピリジンと無水酢酸により、70°Cで10時間アセチル化し、次にこれをクロロホルムで1~数日間処理して可溶部と不溶部に分離し、これらを水酸化カリウムで48時間ケン化することにより寒天質を再生して2種の多糖質を得、それぞれをアガロース (Agarose) およびアガロペクチン (Agaropectin) とよび、アガロースの構造を解明している<sup>5)~6)</sup>。そして元来寒天中に含まれていた硫酸、ウロン酸および灰分の大部分は黄灰色のアガロペクチンに集まってしまっており、白色のアガロース中にはほとんど含まれないと報告している<sup>3)4)</sup>。また平瀬<sup>7)</sup>は寒天中に約1%のピルビン酸が含まれることを明らかにしており、これもアガロペクチン中に含まれる<sup>6)</sup>ことが知られている。しかしながら荒木のこの分離法は操作が相当複雑で長時間を要し、アセチル化やケン化の段階において電解基の離脱や、主鎖の解重合のおそれも考えられる。

近年、ジメチルスルホキシドが高分子物質の溶媒として注目されているが、平瀬・荒木<sup>8)</sup>は寒天をこの溶剤と70°Cに加熱して、可溶性多糖質と不溶性多糖質に分別した。そして可溶部は、その性質がさきに荒木の得たアガロースのそれと一致することより、アガロースであり、不溶部はアガロペクチンであると報告した。また勝浦<sup>9)</sup>は平瀬らの方法によりアガロース、およびアガロペクチンを得、その電解基密度および2,3の物性を比較している。

ところがジメチルスルホキシドによるアガロースの分離について、その温度、時間などの検討は、まだ報告されていない。

そこで著者は粉末寒天を試料としてこれらの分離条件の検討を行なうとともに、アガロースおよびアガロペクチンの灰分、硫酸根含量ならびにゼリー形成能などを比較したので、ここに報告する。

## 1 試 料

### 1-1 テングサ寒天

韓国産テングサ (1963年産) をよく水洗、日乾して色素を分解した後、再び水洗して色素分解物を除き日乾した。これを蒸溜水とともに120°Cで3時間加圧煮沸し、抽出液を綿布でろ過した後、セライト・ベッドを通して吸引ろ過し、放冷凝固させた。これを細断し凍結脱水を行ない、更に水に加熱溶解して上記の脱水操作をくり返した後、得られた寒天を蒸溜水で数回洗浄し、日乾、赤外線乾燥後、粉碎して32~48メッシュのものならびに100メッシュのものを実験に供した。

### 1-2 オゴノリ寒天

日本産オゴノリをアルカリ処理した後、常法により製造された市販の粉末寒天で、粒度が100メッシュのものを供試した。

### 1-3 ジメチルスルホキシド

市販品を水酸化カリウムで脱水した後、5~10 mm Hg で減圧蒸溜して使用した。

## 2 実験方法

### 2-1 アガロースおよびアガロペクチンの分離

第1図に示すように、試料10gを50倍量のジメチルスルホキシド (以下DMSOと略記) とともに60~80°Cの一定温度に1時間カキマゼると水アメ状の粘稠な溶液となる。これを遠心分離 (13,000 G, 30~40 min.) して溶液<sub>0-1</sub>と不溶部に分ける。不溶部に少量のDMSOを加え、しばらくカキマゼ洗浄し、再び遠心分離して、上澄液を溶液<sub>0-1</sub>に合わせる。この不溶部にはじめの半量のDMSOを加え、一定温度で1時間カキマゼ、溶液<sub>0-1</sub>の場合と同様に操作して溶液<sub>1-2</sub>をうる。以下不溶部に対して上と同じ操作を

くり返して、順次溶液 2-4, 溶液 4-6, 溶液 6-8, および溶液 8-10 をうる。ただし溶液 2-4 以下は 2 時間カキマゼを行なって得たものである。これらの各溶液は減圧下 70°C 以下で濃縮し、溶液 0-1 は濃縮前の液量の 3% 程度、溶液 1-2 以下は含まれている溶質が非常に少ないので 4% 程度とし、次いで溶液をはげしくカキマゼながら 3 倍量のアセトンを加える。得られる白色沈殿をデカンテーションにより分離し、液がなお濁っている場合は遠心分離して、沈殿はさきの沈殿に合わせる。この沈殿にアセトンを加え、付着している DMSO を除き、ガラスフィルター (No. 3) で吸引ろ過してできるだけ母液を除き、更にこの操作を 3 回

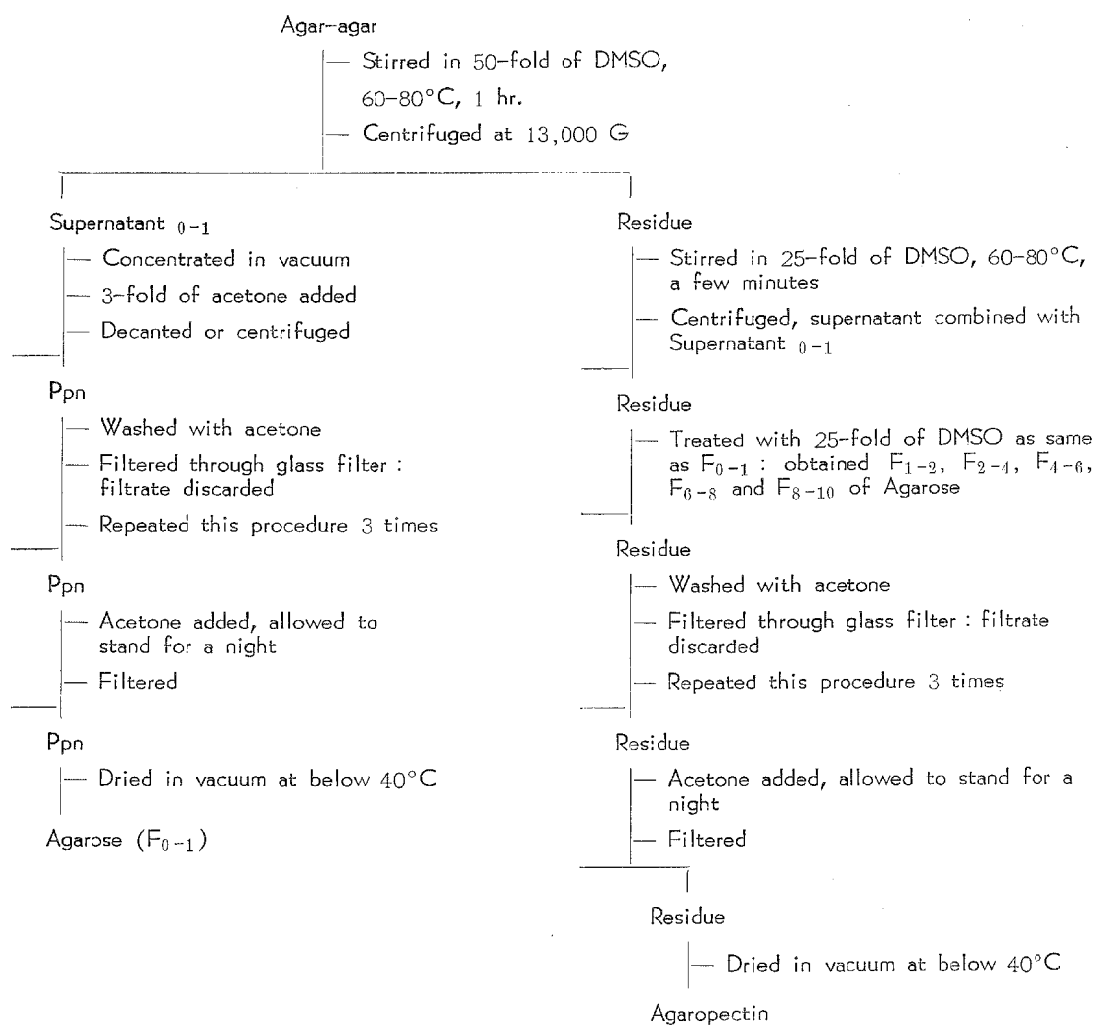


Fig. 1. A scheme for the separation of agar-agar by dimethylsulfoxide into agarose and agarpectin. DMSO is used as the abbreviation for dimethylsulfoxide in this figure and following tables.

くり返す。次にアセトンに浸して一夜放置し、ろ過後、減圧下 40°C 以下で乾燥し、白色粉末のアガロースをうる。

一方、最後に残った不溶部はアセトンを加え、以下溶液の場合と同様に操作して黄褐色粉末のアガロペクチンをうる。

オゴノリ寒天については更に低温で短時間の分離を検討した。すなわちオゴノリ寒天 2 g を 50 倍量の

DMSO と 20~70°C の一定温度で短時間カキマゼ、以下前に述べた方法にしたがって操作して、可溶部から白色粉末のアガロース、不溶部から黄褐色のアガロペクチンをうる。

### 2-2 アガロースおよびアガロペクチンの灰分、硫酸根およびゼリー形成能

a) 灰分：常法にしたがって行なった。

b) 硫酸根：試料を 3%塩酸で 5時間加水分解した後、硫酸バリウムとして定量し  $SO_4$  として表わした。

c) ゲル化能：試料を蒸留水に数時間浸漬した後、還流冷却器を付して湯浴次いで直火で加熱溶解し、その 10 ml を直径 15 mm の試験管に分注して垂直に立て、20°C に一夜放置する。その後静かに水平に倒し、ゲルの表面が傾斜せずに固定するときの、溶液の最低濃度をパーセントで表わし、ゲル化能とした。

d) ゼリー強度：アガロースの 1.5%ゲルは強度が高すぎて、日寒水式ゼリー強度測定器では測定できなかったため、すべてカードメーター M 301-A (飯尾電機株式会社製) を使用した。予備実験により、このカードメーターでは、同一ゲルでも測定時の感圧面積の違いにより、1 cm<sup>2</sup> 当りの換算値が著しく異なり、感圧面積が小さいほど換算値が大きくなることがわかった。そこで一連の試料は、なるべく同一面積の感圧軸で測定できるように試料濃度を調節し、直接、感圧面積当りの荷重で表わした。なお試料濃度はテングサ寒天では 1.0%、オゴノリ寒天では 1.5% とし、ゲル化能測定の試料と同様にして 50 ml ビーカーに 30 ml のゼリー (直径 4.3 cm、高さ 2.0 cm) をつくり、20°C に 22 時間放置した後、25 mm<sup>2</sup> の感圧面積で 5 点を測定し平均値で表わした。

## 3 結果および考察

### 3-1 アガロースおよびアガロペクチンの分離

第 1 表に見られるように、同じ寒天を一定温度で分離する場合、粒度の違いによりアガロースおよびアガ

Table 1. Result of separation of agar-agar by DMSO into agarose (AG) and agarpectin (AP).

The method shown in figure 1 was adopted, and the values of AG/agar or AP/agar were shown in parentheses.

Kind	Size (mesh)	Temp. (°C)	Total AG(S) (%)	Each fraction of AG/S (%)						AP (%)
				F <sub>0-1</sub>	F <sub>1-2</sub>	F <sub>2-4</sub>	F <sub>4-6</sub>	F <sub>6-8</sub>	F <sub>8-10</sub>	
<i>Gelidium</i>	32-48	60	71.6 (63.0)	90.5	3.2	3.2	3.2	trace	trace	28.4 (25.0)
		70	72.0 (59.0)	96.6	1.7	1.7	trace	trace	trace	28.0 (23.0)
		80	70.5 (55.0)	89.0	5.5	1.8	1.8	trace	trace	29.5 (23.0)
	100	70	74.3 (58.0)	96.4	3.4	trace	trace	trace	trace	25.7 (20.0)
<i>Gracilaria</i>	100	60	96.9 (93.8)	97.0	2.1	0.3	0.3	0.2	trace	3.1 (3.0)
		70	97.0 (94.2)	97.1	2.1	trace	0.6	0.2	trace	3.0 (2.9)
		80	96.4 (91.5)	99.1	0.9	trace	trace	trace	trace	3.6 (3.4)

ロペクチンの含量に幾分差が認められ、粒子の小さい方がアガロース含量が大きくでる傾向が見られた。また溶解の速さに対する粒度の違いの影響は、ごくわずかであった。

またテングサ寒天とオゴノリ寒天における溶解の速さにも、特に顕著な差は見られなかった。なお溶解量

およびその速さに対する温度の影響はきわめて小さく、平瀬ら<sup>8)</sup>や勝浦ら<sup>9)</sup>が使用した70°C、10時間という分離条件の必要性は認められず、またF<sub>4-6</sub>以降のアガロースは灰色を帯び、親水性が強くて、アガロペクチンが混入あるいは一部溶解した疑いがあり、分離にそのような長時間をかけることは、かえって不適当であると思われる。なおこの実験において、寒天に対するアガロースおよびアガロペクチンの平均収量は、テングサ寒天ではそれぞれ59%、23%、オゴノリ寒天では93%、および3%であった。アガロースの含量(アガロースとアガロペクチンの全収量に対するアガロースの収量の比率)はテングサ寒天が約70~74%、オゴノリ寒天では約97%で、原藻の違いにより差が見られた。しかしながら、アルカリ処理を行なわずにつくったオゴノリ寒天では約70~80%という結果<sup>10)</sup>を得ている。このように、同一の原藻から得られる寒天でも、その製造方法の違いにより、アガロースとアガロペクチンの割合に差が生ずるのであれば、後述のゼリー形成能と考え合わせて、非常に興味深いことであり、この点については現在更に研究を続けている。

第1表の結果から、DMSOに対するアガロースの溶解はかなり速く、全アガロースの約90~97%が1時間以内に溶解し、また60~80°Cの間では、温度の影響はほとんどないことがわかった。そこで、オゴノリ寒天について更に低温、短時間の条件で実験を行ない、その影響を調べた。

結果は第2表に示すように処理時間が10分以内ではアガロースの溶解が不完全で、アガロペクチンの量

Table 2. Result of separation of agar-agar (*Gracilaria*) by DMSO into agarose and agaropectin.

Agar-agar (2g) was stirred in DMSO (100g) for 1 to 60 minutes at a temperature between 20 and 70°C. After centrifuged, the residue was washed twice with a small portion of DMSO, and the washings were combined with supernatant. Agarose and agaropectin were obtained from supernatant and residue by the same procedure as shown in figure 1.

The values of AG/agar or AP/agar were shown in parentheses.

Temp. (°C)	Time (minute)									
	1		5		10		30		60	
	AG (%)	AP (%)	AG (%)	AP (%)	AG (%)	AP (%)	AG (%)	AP (%)	AG (%)	AP (%)
20	68.8 (55.0)	31.2 (25.0)	79.8 (65.0)	20.2 (16.5)	93.3 (85.0)	6.7 (6.0)	95.0 (85.0)	5.0 (4.5)	94.7 (87.5)	5.3 (5.0)
30	90.0 (80.0)	10.0 (9.0)	94.5 (85.0)	5.5 (5.0)	94.7 (87.5)	5.3 (5.0)	95.0 (85.0)	5.0 (4.5)	95.0 (85.0)	5.0 (4.5)
40	92.5 (77.5)	7.5 (6.5)	94.0 (85.0)	6.0 (5.5)	94.2 (80.0)	5.8 (5.0)	95.0 (85.0)	5.0 (4.5)	95.0 (85.0)	5.0 (4.5)
50	94.2 (85.0)	5.8 (5.0)	94.5 (85.0)	5.5 (5.0)	94.7 (87.5)	5.3 (5.0)	95.0 (85.0)	5.0 (4.5)	95.0 (85.0)	5.0 (4.5)
60	94.5 (85.0)	5.5 (5.0)	94.3 (82.5)	5.7 (5.0)	94.5 (85.0)	5.5 (5.0)	95.5 (85.0)	4.5 (4.0)	95.0 (85.0)	5.0 (4.5)
70	—	—	—	—	95.8 (85.0)	4.2 (3.8)	95.8 (85.0)	4.2 (3.8)	96.0 (86.0)	4.0 (3.6)

がやや多くなっている。しかし30分以上ではアガロース、アガロペクチンの収量は、ともにほとんど一定となった。しかし、これらの実験では、すべて30分の遠心分離によりアガロースとアガロペクチンを分離しているため、その間にもアガロースの溶解が進んでいる訳である。また30°C以上ではアガロースの溶解に対する温度の影響はほとんどないようである。しかしながら、20°Cにおいてはアガロースの溶解が不完全であり、特に処理時間が短いほどこの傾向が著しいが、これは処理温度がDMSOの融点(18.45°C)<sup>11)</sup>に近いためであろう。なお第2表の30分以上においては、寒天に対するアガロースおよびアガロペクチンの収量はほとんど一定で、それぞれ85.0および4.5%であり、第1表の場合の収量より少なかった。これは寒天の供試量が $\frac{1}{4}$ であったため分離途中の損失が大きく影響したものと思われる。

以上のことから、寒天をアガロースおよびアガロペクチンに分離する方法として、DMSO法は荒木の方法<sup>3)</sup>に比べ、複雑な操作を伴わず、30°C以上で、寒天をDMSOと30分ないし2時間カキマゼることにより、直接2成分に分けることができる点で、すぐれていると思われる。

### 3-2 灰分、硫酸根およびゲル化能

第1表のアガロースのF<sub>0-1</sub>、アガロペクチンおよび原寒天について、灰分、硫酸根、ゲル化能およびゼリー強度を測定した結果は第3表のとおりである。

テングサ、オゴノリのいずれにおいても、アガロースは、灰分、硫酸根が少ないのに対し、アガロペクチンはそれらの含量が多く、原寒天は両者の中間の値であった。ゲル化能についてはアガロースが最も強く、

Table 3. Some properties of agarose (AG) and agarpectin (AP).

F<sub>0-1</sub> of agarose in table 1 was used for the sample of AG in this experiment.

Sample		Ash (%)	SO <sub>4</sub> (%)	Minimum concn. for gelling (%)	Jelly strength* (g/25mm <sup>2</sup> )	
<i>Gelidium</i>	Original agar	3.17	2.46	0.22	245	
	AG	60°C	1.11	1.32	0.14	778
		70	0.88	1.10	0.14	797
		80	1.00	1.19	0.14	870
	AP	60	7.24	4.25	0.6	—
		70	6.53	4.10	0.6	50
80		10.47	4.88	0.6	39	
<i>Gracilaria</i>	Original agar	1.75	1.26	0.21	346	
	AG	60°C	0.87	1.04	0.16	767
		70	0.90	0.98	0.16	757
		80	0.87	0.97	0.16	714
	AP	60	32.90	6.63	—	117
		70	24.46	5.85	—	—
80		23.66	5.47	—	—	

\*: Jelly concentration of *Gelidium* was 1.0%, and that of *Gracilaria* was 1.5%. Jelly strength was measured on Curd meter M 301-A (IIO Electric Company).

次いで原寒天、アガロペクチンの順となり、このような傾向は既報<sup>3)~6)</sup>の結果と一致する。またゼリー強度については、勝浦ら<sup>9)</sup>の結果と大差が見られた。その報告によると、テングサ寒天、そのアガロースおよびアガロペクチンの1.5%ゲルのゼリー強度はいずれも約110 g/cm<sup>2</sup>であり、これら3者の間に差が認められないが、本実験では1.0%ゲルにおいて、それぞれ245, 778~870, 39~50 g/25 mm<sup>2</sup>であり、著しい差が見られた。これは本実験の試料がカルシウム塩とマグネシウム塩の混合物と考えられるのに対し、勝浦らの試料がすべてナトリウム塩であることに1つの原因があると思われる。

なお原寒天のゼリー強度はアガロペクチンにより大きい影響をうけるようで、アガロースの値より相当小さかった。このことから寒天のゼリー強度の主役をなすのはアガロースであり、寒天中のアガロペクチンを除去すれば、ゼリー強度の向上が可能であると考えられる。

## 4 要 約

ジメチルスルホキシドにより、寒天をアガロースおよびアガロペクチンに分離することを検討して、次のような結果を得た。

- 1 DMSO に対するアガロースの溶解はすみやかであり、温度依存性もきわめて小さく、30°C 以上で30分ないし2時間カキマゼれば、ほぼ完全に2成分に分画できた。
- 2 寒天の粒度の違いにより、アガロースの溶解の速さおよび量に、ごくわずかの差が認められた。
- 3 アガロースは灰分、硫酸根の含量が少なく、ゼリー形成能が大であり、一方アガロペクチンはそれらの含量が多く、ゼリー形成能は小であった。

また原寒天は、いずれについても両者の中間の値であった。

- 4 ゼリー強度はアガロペクチンよりアガロースが相当大きく、原寒天のゼリー強度は、アガロペクチンにより大きく影響されるようである。このことから寒天中のアガロペクチンを除去すれば、ゼリー強度の向上も可能であると考えられた。

最後に、本実験を終始御指導いただき、また御校閲をお願いした本校教授小島良夫博士、有益な御助言をいただいた武田道夫教授、ならびに実験の一部に協力された堀田和夫氏に厚くお礼申し上げる。

## 文 献

- 1) SAMEC, M., and V. ISAJEVIC, 1922 : *Kolloidchem. Beih.*, **16**, 285.
- 2) 高橋栄治・白浜 潔, 1932 : 農化, **8**, 659.
- 3) 荒木長次, 1937 : 日化, **58**, 1338.
- 4) ———, ——— : ———, ———, 1351.
- 5) ———, 1958 : 実験化学講座 (丸善), **22**, 469.
- 6) ———, 1958 : 蛋核酵, **3**, 447.
- 7) 平瀬 進, 1957 : *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **30**, 68.
- 8) ———・荒木長次, 1962 : 日化15年会講演集, p. 176.
- 9) 勝浦嘉久次・布施恒明・狩野和夫, 1965 : 工化, **68**, 205.
- 10) 田川昭治, 未発表.
- 11) MERCK & CO., INC., 1960 : "THE MERCK INDEX," 7th Edition.