カルシウムとペクチン質の結合におよぼす陰イオンの影響

金子 憲太郎*, 太田 匡子*
角 野 猛**, 前田 安彦***

* 郡山女子大学短期大学部食品学研究室

** 郡山女子大学家政学部

*** 宇都宮大学農学部農芸化学科

Effect of Anions on Binding between Calcium and Pectic Substance

Kentaro KANEKO,* Kiyoko OTA,* Takeshi SUMINO**
and Yasuhiko MAEDA***

*Laboratory of Food Science, Koriyama Women's Junior College,
Koriyama 963

** Faculty of Home Economics, Koriyama Women's College,
Koriyama 963

*** Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture,
Utsunomiya University, Utsunomiya 320

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 42, 391~395 (1989)

Differences in binding properties between pectic substance and calcium (Ca) in salts or calcium hydroxide were investigated by comparison with the Ca content of pectic substance after treatment with solutions of the above compounds. The pectic substance used for the analysis was prepared in several ways as follows. Pectic substance solution containing 0.1 M calcium chloride or 0.1 M calcium gluconate or 0.1 M calcium lactate or 0.01 M calcium hydroxide solution at 0~2-fold equivalent weight of pectic substance, was allowed to stand for 30 min at room temperature, and then dialyzed for 20 days to eliminate the excess Ca compounds. The Ca content in each of the pectic substances solutions was then determined by atomic absorption spectrometry. It was found that addition of the Ca compounds to the pectic substance solution led to ion exchange involving the hydrogen ion of the carboxyl group of the pectic substance with Ca, producing an increase in the Ca content of the pectic substance in the order of calcium hydroxide > calcium lactate > calcium gluconate > calcium chloride.

Key Words pectic substance, calcium salts, calcium hydroxide, binding properties.

(Received April 7, 1989)

筆者らは漬物の“歯切れ”とペクチン質の関係に関する一連の研究¹⁾のなかで、大根のペクチン質を塩化ナトリウム (NaCl) 溶液に浸漬すると、ペクチン質に結合していたカリウム (K), カルシウム (Ca), マグネシウム (Mg) が NaCl のナトリウム (Na) とイオン交換することを報告した²⁾。この現象はペクチン質の化学反応性に関する基礎的知見としても重要であると考えたので、さらに検討を加えた。その結果、次のことを明らかにした。1) ペクチン質に結合している K, Ca, Mg は

NaCl の Na と $K > Mg > Ca$ の順でイオン交換する³⁾。

2) ペクチン質と金属元素の結合力は高メトキシルペクチンが $Mg > Ca > Na > K$, 低メトキシルペクチンが $Ca > Mg > Na > K$ であった⁴⁾。

本報では以上の研究の継続として、Ca 塩または水酸化カルシウムの Ca とペクチン質の結合力の差異を検討した。すなわち、ペクチン質の水溶液に塩化カルシウム、グルコン酸カルシウム、乳酸カルシウム、水酸化カルシウムの各水溶液を別個に混合してから脱塩または脱水酸化後、それぞれのペクチン質の Ca を測定した。Ca 含量の差を、Ca 塩または水酸化カルシウムの Ca とペクチン質の結合力の差異と考えた。また、本研究はウメ

* 〒963 郡山市開成 3-25-2

** 〒963 郡山市開成 3-25-2

*** 〒320 宇都宮市峰町 350

漬けの硬度保持剤として最も効力のある⁵⁾ 水酸化カルシウムの作用機構の解明も目的にした。

実験方法

1. 供試ペクチン質

レモンペクチン (関東化学(株)製) を 1% HCl 含有のメチルアルコールで洗浄⁶⁾ 後にエチルアルコールとエチルエーテルで順次洗浄してから風乾・凍結乾燥したものを供試ペクチン質とした。

2. 供試 Ca 塩および水酸化カルシウム

特級試薬の塩化カルシウム (CaCl_2 , 以下同様), グルコン酸カルシウム ($(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7)_2\text{Ca} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 以下 $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7)_2\text{Ca}$ と略す), 乳酸カルシウム ($(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2)_2\text{Ca} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 以下 $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2)_2\text{Ca}$ と略す), 水酸化カルシウム ($\text{Ca}(\text{OH})_2$, 以下同様) を用いた。

3. Ca とペクチン質の結合力の比較

0.25% のペクチン質水溶液 (w/v, 以下同様) 40 ml をポリエチレンビーカーに採取する。ペクチン質水溶液をマグネチックスターラーで攪拌しながら, 0.1 M CaCl_2 を, Ca がペクチン質の当量の 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 倍になるように混合し, Ca 濃度の異なる CaCl_2 -ペクチン質水溶液を調製した。

同様な方法で, $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7)_2\text{Ca}$ -, $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2)_2\text{Ca}$ -, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -ペクチン質水溶液を調製した。その際, ペクチン質水溶液に混合した CaCl_2 , $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7)_2\text{Ca}$, $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2)_2\text{Ca}$ は濃度を 0.1 M としたが, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ は, 0.1 M では溶解しない部分があるので, 0.01 M とした。

なお, 供試したペクチン質は当量重量が 598 (Table 1) であるので, 0.25% ペクチン質水溶液 40 ml 中のペクチン質 (Ash- and Moisture-free basis で 96.4 mg) は 161 mmol 当量になる。したがって, Ca がペクチン質の当量の 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 倍に相当する 0.1 M- CaCl_2 -, $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7)_2\text{Ca}$ -, $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2)_2\text{Ca}$ 水溶液の混合量は, それぞれ 0.40, 0.80, 1.20, 1.60 ml であった。また, 0.01 M- $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 水溶液の混合量は同様に 4.0, 8.0, 12.0, 16.0 ml であった。Ca 塩または $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 水溶液を混合したペクチン質水溶液は, それぞれ 30 分放置後にセルロースチューブ (Union Carbide Corporation 製, 平面幅 43 mm, 直径 27 mm, 膜厚 0.0203 mm) に充填密封した。その後, 過剰の Ca 塩または $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を除去するために透析を行った。透析は, 500 ml のポリエチレンビーカー中で, 1 日に 2~3 回, 外液をイオン交換蒸留水で交換しながら, 外液に Ca の反応 (原子吸光法) が陰性になるまで繰り返した (20 日間)。透析終了後, 透析内液の Ca を原子吸光法で測定した。

4. Ca の測定

一定量の透析内液に濃度が 1% になるように 3% 塩酸

Table 1. Analysis of purified pectic substance.

Analytical items	High-methoxyl pectin
Moisture (%)	9.2
Ash (%)*	1.2
Total nitrogen (%)*	0.1
Anhydrogalacturonic acid (%)*	96.4
Neutral sugar (%)*	±
Free-COOH (%)**	7.5
Ester-COOH (%)**	13.4
Esterification (%)**	64.1
Methoxyl group (%)**	10.1
Equivalent weight*	598
Intrinsic viscosity $[\eta]$	[1]
Average molecular weight	23,000
K (mmol/100 g)	0.05
Na (mmol/100 g)	0.1
Ca (mmol/100 g)	0.05
Mg (mmol/100 g)	0.04

* Values expressed on an ash- and a moisture-free basis. ** Values expressed on anhydrogalacturonic acid values.

(HCl) 水溶液を加えてからろ過した。ろ液の Ca を原子吸光法⁷⁾ で測定し, 無水ガラクトロン酸に占める含量としてあらわした。

5. pH の測定

pH は pH メーター (日立堀場製, F-11) で測定した。測定は, Ca 塩または $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 水溶液を混合してから 30 分放置後および透析終了後のペクチン質水溶液について行った。

6. その他の分析

水分は 105°C 常圧加熱乾燥法, 灰分は 550°C 乾式灰化法, 全窒素はケルダール法, 遊離型およびエステル型カルボキシシル基⁶⁾, メトキシシル含量⁶⁾, 当量重量⁸⁾は滴定法で求めた。分子量は既報⁴⁾と同様に, 粘度法により $[\eta] = 1.4 \times 10^{-6} \text{ M}^{1.34-9)10)}$ の式から平均分子量として算出した。中性糖は測上の方法¹¹⁾で算出した。

実験結果および考察

1. ペクチン質の性状

Table 1 に供試したペクチン質の分析結果を示した。平均分子量は 23,000 であった。大根ペクチン質の平均分子量⁹⁾ (74,900) に比べるとかなりの小さかったが, リンゴ, 洋ナシ, プラム, オレンジから抽出したペクチン質の粘度法による平均分子量¹²⁾ ($1.6 \sim 5.0 \times 10^4$) の範囲内であった。ペクチン質については, 一般的にメトキ

Table 2. The effect of added various calcium (Ca) compounds on pH of purified pectic substance solution.

Amount of added Ca compound	CaCl ₂		(C ₆ H ₁₁ O ₇) ₂ Ca		(C ₃ H ₅ O ₂) ₂ Ca		Ca(OH) ₂	
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
0.0	3.01	3.01	3.01	3.01	3.01	3.01	3.01	3.01
0.5	2.90	3.50	3.37	3.61	3.41	3.63	3.62	3.82
1.0	2.88	3.66	3.59	3.81	3.70	3.82	5.00	4.31
1.5	2.86	3.75	3.75	3.94	3.85	3.97	11.10	4.42
2.0	2.84	3.79	3.86	4.00	4.00	4.05	11.47	4.50

The purified pectic substance used for analysis were prepared as follows: 40 ml of 0.25% (w/v) purified pectic substance solutions containing 0.1 M CaCl₂, or 0.1 M (C₆H₁₁O₇)₂Ca, or 0.1 M (C₃H₅O₂)₂Ca, or 0.01 M Ca(OH)₂ of 0~2.0 fold to equivalent weight of purified pectic substance, was allowed to stand for 30 min at room temperature, and then dialyzed for 20 days to eliminate the excess Ca compounds. (1): Before dialysis. (2): After dialysis.

シル含量が7%以上のものを高メトキシルペクチン、以下のものを低メトキシルペクチンとしているので、供試ペクチン質は高メトキシルペクチンに該当する。またK, Na, Ca, Mg はごく微量であった。

2. ペクチン質水溶液の pH におよぼす Ca 塩および水酸化カルシウムの影響

0.25% ペクチン質水溶液に 0.1 M-CaCl₂, -(C₆H₁₁O₇)₂Ca, -(C₃H₅O₂)₂Ca および 0.01 M-Ca(OH)₂ 水溶液を混合した際と透析後（透析内液、以下同様）の pH を Table 2 に示した。

CaCl₂ を混合したペクチン質水溶液の pH は、混合量の増加に伴ってしだいに低下した。透析後の pH は、それとは逆に上昇した。

透析前の pH 低下については次のように考える。1) ペクチン質のカルボキシル基の H⁺ が Ca²⁺ と置換し、カルボキシル基の Ca 塩、H⁺ および Cl⁻ が生成する。2) カルボキシル基に結合した Ca²⁺ は、多量に存在する Ca²⁺ のために、非解離状態で存在する。3) H⁺ と Cl⁻ が結合し、HCl が生成する。4) HCl は強電解質なので、ほとんどの H⁺ が解離し、その結果 pH が低下する。

透析後の pH 上昇は、共存している Ca²⁺, Cl⁻ および H⁺ が除去された結果、生成したカルボキシル基の Ca 塩から Ca²⁺ が解離し、それと当量だけの H⁺ 濃度が減少するために起こると考えられる。

(C₆H₁₁O₇)₂Ca または (C₃H₅O₂)₂Ca を混合したペクチン質水溶液の pH は、CaCl₂ を混合した場合とは逆に、各 Ca 塩の混合量増加に伴い、しだいに上昇した。しかし、透析後の pH は、CaCl₂ の場合と同様、しだいに上昇した。

透析前の pH 上昇については次のように考える。1) ペクチン質のカルボキシル基の H⁺ が各 Ca 塩の Ca²⁺

と置換し、カルボキシル基の Ca 塩と H⁺ および C₆H₁₁O₇⁻ または C₃H₅O₂⁻ が生成する。2) カルボキシル基に結合した Ca²⁺ は多量に存在する Ca²⁺ のために非解離状態で存在する。3) H⁺ は C₆H₁₁O₇⁻ または C₃H₅O₂⁻ と結合し、各有機酸が生成する。これらの有機酸は弱電解質なので非解離のものが多量に存在する。4) 一方、溶液中に多量に存在する (C₆H₁₁O₇)₂Ca, (C₃H₅O₂)₂Ca は弱電解質の塩なので、生成した弱酸のイオンは、非解離状態の弱酸に変化する。その結果 OH⁻ が遊離する。したがって、OH⁻ の生成に起因する pH の上昇が起こる。

なお、(C₃H₅O₂)₂Ca を混合した場合の pH が (C₆H₁₁O₇)₂Ca を混合した場合の pH よりもわずかに高いことは次のように考える。これら塩の構成有機酸の電離度が乳酸 (1.38×10⁻⁴) > グルコン酸 (2.50×10⁻⁴) であるので (C₃H₅O₂)₂Ca のほうが Ca を解離しやすい。したがって、上述(4)した理由から、OH⁻ が (C₆H₁₁O₇)₂Ca を混合した場合よりも多くなり、その分 pH も上昇する。

透析後の pH 上昇は CaCl₂ を混合した場合とほぼ同様な理由から起こると考えられる。

Ca(OH)₂ を混合したペクチン質水溶液の pH は、Ca(OH)₂ の混合量増加に伴って、しだいに上昇した。また、透析後の pH も同様に上昇した。これらの傾向は (C₆H₁₁O₇)₂Ca, (C₃H₅O₂)₂Ca を混合した場合とほぼ同様であった。

透析前の pH 上昇は、1) ペクチン質のカルボキシル基の H⁺ が Ca(OH)₂ の Ca²⁺ と置換し、カルボキシル基の Ca 塩と H⁺ および OH⁻ が生成する。2) カルボキシル基に結合した Ca²⁺ は多量に存在する Ca²⁺ のために非解離状態で存在する。3) H⁺ は OH⁻ と結合する。4) したがって、H⁺ の減少が起こり、pH が上昇する。また、Ca(OH)₂ をペクチン質の当量の 1.5 倍以上混合した際の急激な pH 上昇は、Ca(OH)₂ がペク

Table 3. Calcium (Ca) contents of purified pectic substances after treating with various Ca compound solutions.
(mmol/100 g Anhydrogalacturonic acid)

Amount of added Ca compound	CaCl ₂	(C ₆ H ₁₁ O ₇) ₂ Ca	(C ₃ H ₅ O ₂) ₂ Ca	Ca(OH) ₂
0.0	0.05	0.05	0.05	0.05
0.5	27.87	31.74	35.26	36.07
1.0	38.83	50.90	55.58	66.70
1.5	40.69	59.31	60.33	110.40
2.0	55.40	79.97	84.04	141.60

The pectic substance used for analysis were prepared in a similar manner as mentioned in the note of Table 2.

チン質の当量以上存在することに起因する Ca(OH)₂ の強塩基性に由来する現象である。

透析後の pH 上昇は CaCl₂ を混合した場合とほぼ同様な理由から起こると考えられる。

以上のことから次のことが考えられる。ペクチン質の水溶液に Ca 塩または Ca(OH)₂ を混合した際の pH の変化はそれら化合物の解離に起因する。一方、透析後の pH 上昇は生成したカルボキシル基（ペクチン質）の Ca 塩からの Ca の解離に由来する。したがって、透析後の pH が高いペクチン質水溶液ほど、結合した Ca が多いことになる。

3. ペクチン質と Ca の結合力について

Table 3 に 0.1 M-CaCl₂, -(C₆H₁₁O₇)₂Ca, -(C₃H₅O₂)₂-Ca および 0.01M-Ca(OH)₂ 水溶液を混合・透析後に測定したペクチン質の Ca 含量を示した。

ペクチン質の Ca は Ca 塩または Ca(OH)₂ の混合量が多くなるのに伴って増加した。このことは、Ca がペクチン質のカルボキシル基と架橋または配位結合¹³⁾したことを示唆している。

なぜならば、Ca または Mg 塩を混合・脱塩した大根ペクチン質の赤外線吸収スペクトルは、未処理のペクチン質に比べて、遊離型またはエステル型カルボン酸の C=O に由来する吸収 (1740 cm⁻¹) が減少し、塩型カルボキシル基に由来する 1620 cm⁻¹ 近辺の吸収が顕著になる⁹⁾ からである。

したがって、Ca 塩または Ca(OH)₂ を混合・透析した後に増加した Ca は、ペクチン質のカルボキシル基の H⁺ と置換した Ca, すなわちペクチン質に結合した Ca と考えることができる。

Ca の結合量は、混合量の多寡にかかわらず、Ca(OH)₂ 水溶液を混合したペクチン質が最も多かった。以下 (C₃H₅O₂)₂Ca, (C₆H₁₁O₇)₂Ca 水溶液と続き、CaCl₂ 水溶液を混合したペクチン質は Ca の結合量が最も少なかった。

また、Ca(OH)₂ を混合したペクチン質の Ca 結合量

Table 4. The Methoxyl group (-OCH₃) content of purified pectic substance after treating with various calcium (Ca) compound solutions.
(% on Anhydrogalacturonic acid)

Amount of added Ca compound	-OCH ₃ content
CaCl ₂	0
	1.0
	1.5
	2.0
(C ₆ H ₁₁ O ₇) ₂ Ca	0
	1.0
	1.5
	2.0
(C ₃ H ₅ O ₂) ₂ Ca	0
	1.0
	1.5
	2.0
Ca(OH) ₂	0
	1.0
	1.5
	2.0

The pectic substance for analysis were prepared in a similar manner as mentioned in the note of Table 2.

は、混合量がペクチン質の当量の 1.0 倍までは、漸増したが、それ以上では急増した。

このことは、透析後のペクチン質のメトキシル含量 (Table 4) と透析前の pH の測定結果 (Table 2) から次のように考える。Ca(OH)₂ をペクチン質の当量の 1.5 倍以上混合した場合、強塩基性 pH になり、ペクチン質

が脱メトキシル化され、遊離型カルボキシル基が増加する。その結果Caが結合しやすくなり、Caの結合量が急増する。

以上の結果から、ペクチン質のカルボキシル基の H^+ とCa塩または $Ca(OH)_2$ のCaとの置換の難易は、 $Ca(OH)_2 > (C_3H_5O_2)_2Ca > (C_6H_{11}O_7)_2Ca > CaCl_2$ の順であることがわかった。また、 $Ca(OH)_2$ はペクチン質の当量以上混合すると、ペクチン質に脱メトキシル化が起こり、その結果、遊離のカルボキシル基が増加し、Caの結合量が急増することも明らかになった。

以上の結果とpHの測定結果をあわせ考えると、Caとペクチン質の結合力には次のような関係があると考えられる。つまり、強電解質の塩($CaCl_2$)のCaは、結合力が最も弱く、水酸化物($Ca(OH)_2$)のCaは結合力が最も強い。弱電解質の塩($(C_3H_5O_2)_2Ca$, $(C_6H_{11}O_7)_2Ca$)のCaは、それらの中間の結合力である。また、弱電解質の塩のCaは、結合力が電離度に左右され、電離度の大きい塩ほど結合力が強い。

なお、本結果から、ウメ漬けの硬度保持剤の中で $Ca(OH)_2$ に最も効力のある⁵⁾ことは、 $Ca(OH)_2$ の Ca^{2+} がペクチン質のカルボキシル基の H^+ と最も置換しやすく、結果的にペクチン分子のひろがりや網状構造に緻密化を起こしやすいためであると考えられる。さらに、ペクチン質の部分的脱メトキシル化に起因するCaの結合量増加も要因になるかもしれない。

要 約

Ca塩および水酸化カルシウムのCaとペクチン質の結合力の差異を検討した。その際、ペクチン質の水溶液に $CaCl_2$, $(C_6H_{11}O_7)_2Ca$, $(C_3H_5O_2)_2Ca$, $Ca(OH)_2$ の水溶液を、別個に混合・透析した後に各ペクチン質のCa含量を比較した。各ペクチン質のCa含量の差異を結合力の差とした。供試したペクチン質は平均分子量が23,000、当量重量が598、メトキシル含量が10.1%であった。

1) ペクチン質水溶液のpHは、 $CaCl_2$ の混合量増加に伴いしだいに低下した。しかし、 $(C_6H_{11}O_7)_2Ca$, $(C_3H_5O_2)_2Ca$ を混合した場合は、混合量の増加に伴い逆に上昇した。 $Ca(OH)_2$ を混合した場合は、混合量がペクチ

ン質の当量の1.5倍以上になると急激に上昇した。

2) 透析後のペクチン質水溶液のpHは、各化合物の混合量増加に伴い、しだいに上昇した。

3) 透析後のペクチン質のCa含量は、 $Ca(OH)_2$ を混合したペクチン質が最も多く、次が $(C_3H_5O_2)_2Ca$ 、そして $(C_6H_{11}O_7)_2Ca$ を混合したペクチン質であった。 $CaCl_2$ を混合したペクチン質のCaは最も少なかった。

4) $Ca(OH)_2$ はペクチン質の当量以上混合すると、ペクチン質に脱メトキシル化が起こり、Caの結合量が急増する。

以上の結果から次のことが考えられた。強電解質の塩のCaは、結合力が最も弱く、水酸化物のCaは結合力が最も強い。弱電解質の塩のCaは、結合力が上記した化合物の中間である。また、弱電解質の塩は、電離度の大きいほどCaの結合力が強い。

本研究は財団法人ソルトサイエンス研究財団の助成(助成番号88-13)で行った。

文 献

- 金子憲太郎, 前田安彦: 日食工誌, **31**, 677(1984)
- 金子憲太郎, 岩田光江, 渡辺光代, 前田安彦: 日食工誌, **30**, 579 (1983)
- 金子憲太郎, 渡辺光代, 佐藤千寿子, 前田安彦: 日食工誌, **32**, 32 (1983)
- 金子憲太郎, 渡辺光代, 佐藤千寿子, 前田安彦: 日食工誌, **33**, 585 (1985)
- 滝口 強, 仲居ツヤ, 川野郁夫: 群馬工業試験場年報, **135** (1980)
- 広田 致: 工業化学雑誌, **63**, 2194 (1963)
- 安井明美, 小泉英雄, 堤 忠一: 日食工誌, **32**, 226 (1985)
- Smitt, C.J.B. and Bryant, E.F.: *J. Food. Sci.*, **32**, 197 (1967)
- 金子憲太郎, 渡辺光代, 佐藤千寿子, 前田安彦: 日食工誌, **32**, 94 (1986)
- Hsiao, C.T. and Mcfeeters, R.F.: *J. Food Sci.*, **48**, 66 (1983)
- 淵上倫子: 栄養と食糧, **36**, 294 (1963)
- Svedberg, T. and Gralen, N.: *Nature*, **142**, 261 (1938)
- Rees, D.A.: *Chem. Ind.*, **19**, 630 (1972)

(1989年4月7日受理)