[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi* Vol.59, No. 2, pp. 153~157, 1985]

市販大豆サポニンによるエマルションの

安定性に対する電気化学的考察

合谷 祥一, 山野 善正

(香川大学農学部食品学科)

昭和 59 年 10 月 4 日 受 理

Electrochemical Study of Emulsion Stabilization with Commercial Soyasaponin

Shoichi GOHTANI and Yoshimasa YAMANO

Department of Food Science, Kagawa University, Ikenobe, Miki-cho, Kagawa 761-07

The effects of sodium chloride (NaCl) and pH were investigated on the stability and physical properties of a water-kerosine emulsion prepared with commercial soyasaponin. Minimal of water and oil separation and an average droplet size were obtained with NaCl at below 0.01 M. At above 0.01 M, with increased NaCl content, these features increased, but interfacial tension decreased with increased NaCl content. Water and oil separation and emulsion droplet size were greater at pH below 3 and above 10 than at neutral pH. Immediately after interface formation, the interfacial tension was higher at pH below 4 and above 10 than at neutral pH, but at 6 hr after interface formation, tension was lower at pH below 4 than at neutral pH and higher at pH above 10 than at neutral pH. Water and oil separation and the droplet size of soyasaponin emulsion (A) were larger than those of *Gypsophila paniculata* L. saponin emulsion (B), and the behavior of A was more complex compared with B. (Received October 4, 1984)

緒 言

筆者らは、サポニンの界面活性について、一連の実験を行っている。これらによると、サポニン水溶液の起泡性は、*Gypsophila paniculata* L. (gypsoside) の場合、濃度 0.04% 付近で極大値を示した⁽¹⁾が、大豆サポニンではこのような極大値を示さず、濃度の増加とともに急激に増大し、0.1% 以上の濃度で一定となった⁽²⁾。また、水/ケロシン (1:1) によるエマルション系において、gypsoside では濃度 0.2% 以上でエマルション層の上に泡沫層を生じたが、大豆サポニンでは生じなかった⁽²⁾。エマルションの安定性は、大豆サポニンよりも gypsoside のほうが高く、界面活性能は、大豆サポニンのほうが強かった⁽²⁾。このように、大豆サポニンと gypsoside は、異なった挙動を示すが、両者とも、疎水部分としてトリテルペノイドを、親水部分として糖 (gypsoside は 9 残基⁽³⁾、大豆サポニンは 2~5 残基⁽⁴⁾) を持ち、各サポニン中に 1 残基存在するグルクロン酸残基のカルボキ

シル基が、イオン性を失ったとしても、サポニン分子としての両親媒性は失われないと考えられるが、溶媒中の電解質や pH によって、両親媒性に若干の影響を受けることが想像される。gypsoside に関しては、塩化ナトリウム (NaCl) は、動的安定性および界面張力に変化を与えないが静的安定性を低下させ、pH が変わると界面張力は変化するが、界面張力の変化した pH 領域では静的安定性に変化は生じなかった⁽⁵⁾。これらのことより、gypsoside によるサポニンエマルションの安定性は、界面張力よりもバルク中のイオンの強さなど、電気化学的な影響をより強く受ける、と結論された。そこで今回は gypsoside の場合と比較して、pH と NaCl が、大豆サポニンの界面活性とエマルションの安定性にどのような影響を与えるかを検討したので、その結果について述べる。

実 験 方 法

1. 試料 サポニンは、前報⁽²⁾と同様、稲畑工業製

「大豆サポニンピュア」を, HCl は, 和光純薬工業特級試薬を, NaOH, NaCl は, 半井化学薬品特級試薬を用いた。水は, 純水 (電導度 $1.57 \mu\text{S}/\text{cm}$) を, 油相はケロシン (半井化学薬品製) を用いた。

2. 方法 pH は, イオン強度が常に 0.01 になるように, HCl, NaOH, NaCl の水溶液を適量混合して調整した。乳化安定性は, 既報^(6,7)と同じく, 25°C の恒温水中で放置し, 分離した水層の体積分率を測定する方法 (静的法) と, 生成したエマルジョンを遠心分離 ($14,500 \text{ g}$, 25°C) し, 分離した油層の重量分率 (%) を測定する方法 (動的法) とによって調べた。粒度分布と平均粒径は, 前報⁽²⁾と同じく, 生成したエマルジョンを 200 倍に希釈し, イメージアナライザー (Luzex 500: 東洋インキ) を用いて測定した。界面張力は, 協和科学製表

Fig. 1. Effect of NaCl on Stability of 0.1% Saponin-Water-Kerosine (1:1) Emulsion Presented in Terms of Water Separating Ratio(%) Resulted from Creaming Aged for 3 (○), 6 (⊙) and 24 (●) hr at 25°C .

Fig. 2. Effect of NaCl on Stability of 0.1% Saponin Emulsion Presented in Terms of Oil Separating Ratio (%) by Centrifugation $14,500 \text{ g}$.

面張力計 A-3 型を用いて, ガラスプレートにより, 25°C で測定した。pH 滴定曲線は, あらかじめ 0.01 N HCl に分散させたサポニン溶液 (0.4%) を 0.01 N NaOH によって滴定することにより得た。

結 果

1. NaCl の影響

静的法によるエマルジョンの水層分離率は, NaCl 濃度 0.01 M 未満では NaCl 無添加の場合より低下し, 0.01 M 以上では, NaCl 濃度の増加とともに高くなり, 0.2 M 以上における値 (約 40%) は, gypsoside の場合 (23%)⁽⁵⁾ よりも高い値を示し (Fig. 1) たので, 大豆サポニンのほうが安定性は悪いといえる。

動的法によるエマルジョンの油層分離率は, 静的法における水層分離率と同様, NaCl 濃度 0.007 M まで低下し, それ以上の濃度で上昇し 0.03 M 以上において一定

Fig. 3. Effect of NaCl (Left : 0, Right : 0.2 M) on Droplet Size Distribution of Saponin Emulsion Determined with Image Analyzer Luzex 500(Toyo Inc Co., Ltd., Connection of Photomicrometer and Computer).

Fig. 4. Plot of Average Droplet Diameter of Saponin Emulsion against NaCl Content.

Fig. 5. Effect of NaCl on Interfacial Tension at Water-Kerosine Interface with Saponin (0.1 %) Aged for 0 (○) and 6 (●) hr. That tension was determined with Wilhelmy-type surface tensiometer at 25°C.

Fig. 6. Effect of pH on Stability of 0.1% Saponin Emulsion Presented in Terms of Water Separating Ratio (%) Resulted from Creaming Aged for 1 (○), 3 (●), 6 (●) and 24 (●) hr at 25°C.

(約25%)となり、gypsosideにおける値(約1%)⁽⁵⁾よりも相当に高い値であり(Fig. 2), やはり, 大豆サポニンのほうが安定性は悪かった。

粘度は, NaCl 無添加の場合と比較して, NaCl 0.2 Mを含むエマルジョンのほうが大きかった(Fig. 3). 平均粒径は, NaCl 濃度 0.01 M 未満で 2.35 μm まで低下するが, 0.01 M 以上で増加し, 0.2 M では 3.40 μm を示した(Fig. 4).

界面張力は, gypsoside と同様に界面生成直後より減少し, 生成 3~6 時間後にほぼ一定となった。界面生成直後(0 hr)の場合, NaCl 低濃度で少し急にそれ以上の濃度ではゆるやかに低下し, 0.2 M で 4.15 mN/m となった。界面生成 6 時間後(6 hr)の場合, NaCl 濃度の増

Fig. 7. Effect of pH on Stability of 0.1% Saponin Emulsion Presented in Terms of Oil Separating Ratio (%) by Centrifugation.

Fig. 8. Effect of pH (Left: 3, Right: 12) on Droplet Size Distribution of 0.1% Saponin Emulsion.

加とともに直線的に低下し, 0.2 M で 2.15 mN/m となった(Fig. 5).

2. pH の影響

静的法では, pH 3 以下で水層分離は pH 3 以上よりも速く, とくに, pH 2 では乳化直後から急速に水層と油層に分離し, 水層量は測定不能であった(Fig. 6). pH 5 以上では, エマルジョン生成後 6 時間(6 hr)までは, 水層分離率は pH が高くなるにつれ, わずかに上昇したが, どの pH においてもほぼ同じ値を示した。pH 8 以下での水層分離率は生成後 6 hr と 24 時間(24 hr)の間で 2~3% の差しか表れず, 水層分離が定常に達したと考えられる。pH 9 以上では, 6~24 hr の間にさらに水層が分離した。図には示さなかったが, この静的法では pH 4~9 で油層はほとんど分離せず, 水層分離率の高い pH 2.5 および 12 では油層もそれぞれ 50 および 10% 分離した。

動的法による油層分離率は, 中性付近で約 12% であったが, それよりも pH が低くても高くても, 分離率は増加した(Fig. 7).

粒度分布について見ると, pH 3 の場合 (Fig. 8, left) 2.0~2.5 μm の範囲の粒子が, また pH 12 の場合 (Fig. 8, right) 1.5~2.0 μm の範囲の粒子がそれぞれ最も多

Fig. 9. Effect of pH on Average Droplet Diameter of 0.1% Saponin Emulsion.

Fig. 10. Effect of pH on Interfacial Tension at Water-Kerosine Interface with 0.1% Saponin Aged for 0 (○) and 6 (●) hr at 25°C.

Fig. 11. Titration Curve of 0.4% Saponin in 0.01 N HCl Titrated with 0.01 N NaOH.

く, pH 7 の場合の最大頻度径(1.0~1.5 μm , Fig. 3, left)と比較して, 両 pH とも粒径は大きくなった.

平均粒径は, pH 5~8 の範囲で最も小さく, それよりも pH が低くても高くても, 大きくなり (pH 3: 3.3 μm , pH 12: 2.9 μm) ばらつきも大きくなった (Fig. 9). またこの値は, pH 7 における gypsoside のエマルジョンの平均粒径 (約 2 μm)⁽⁵⁾ より大きい値であった.

界面張力は, 界面生成直後では pH 3 から 9 の範囲で約 5.3 mN/m ではば一定であったが, それよりも pH が低くても高くても高くなった (pH 2: 7.0, pH 12: 7.5 mN/m, Fig. 10). 界面生成後 6 hr では, pH 4 以上の範囲で全体として界面張力は直後と比較して 1.4 mN/m 低下したが, 高い pH で界面張力が上昇する傾向は, 直後も 6 hr 後も変らなかった. しかし, pH 3 以下の 6 hr 後では, 直後の場合と異なり, 中性付近よりも界面張力はさらに低下した.

大豆サポニン溶液の pH 滴定曲線は, pH 5.3~7 の間に nadir かな肩を示し (Fig. 11), これより pK 値はおおよそ 6~6.5 と推察された.

考 察

大豆サポニン 1 分子当たり 1 つ存在するカルボキシル基の pK は, 6~6.5 (Fig. 11) と考えられる. したがって, 中性付近では, ほとんど解離してイオン化 ($-\text{COO}^-$) しているため, イオン間の反発によって, 界面における大豆サポニンの配列はあまり整然としたものでなく, カルボキシル基が解離していない場合よりも界面活性が低いと考えられる. また, $-\text{COO}^-$ は, $-\text{COOH}$ よりも親水性が強いため $-\text{COOH}$ の状態である酸性側よりも, $-\text{COO}^-$ の状態である中性, アルカリ性側でサポニンの両親媒性が高くなると考えられる.

NaCl の添加によって界面張力が低下した (Fig. 5) のは, 溶液中のイオンが増加したため, $-\text{COO}^-$ 間の反発が減少し, 大豆サポニンの界面での配列状態が良くなったためと推察される. 界面生成直後の界面張力が, 中性付近で pH 3 以下よりも低いのは (Fig. 10), カルボキシル基の両親媒性が酸性側よりも強いためであると考えられるが, pH 10 以上で界面張力が高いこと, および, 界面生成 6 hr 後の界面張力が中性付近よりもむしろ pH 3 以下で低いこと, を考え合わせると説明の困難な点があり, より深い検討が必要である.

エマルジョンの安定性に対する NaCl の影響は, 先に

述べた界面に存在するサポニンに直接作用する場合と、エマルジョン粒子の電気二重層の厚さに作用する場合との2つが考えられる。後者の場合、溶液中のイオン濃度が高くなると二重層の拡散部分の厚さが減少し、そのためエマルジョン粒子間の凝集が起りやすくなる^(6,9)。水層分離率、油層分離率、平均粒径 (Fig. 1, 2, 4) とともに、NaCl 濃度 0.003~0.007 M において極小値を示した。これは、まず1つには、0.01 M 以下では NaCl によるエマルジョン凝集の効果よりも界面張力低下 (Fig. 5) の効果のほうが安定性に対する影響が大きく現れ、0.01 M 以上では凝集の効果のほうがより大きく現れたためと考えられる。2つ目として、NaCl 0.003~0.007 M を境にしてエマルジョン粒子界面でのサポニンの存在状態の変化も考えられるが、これらのことについては今後さらに検討が必要である。NaCl 0.01 M 以上における影響は、水層分離率、油層分離率、平均粒径のどれもが大豆サポニンエマルジョンで、gypsoside⁽⁵⁾ のそれと比較して大きく現れた (Fig. 1, 2, 4)。前報⁽²⁾で述べたように、大豆サポニンエマルジョンは、gypsoside エマルジョンよりも界面膜強度が弱いと考えられる。したがって NaCl 添加によって容易に凝集したエマルジョン粒子は、大豆サポニンの場合、gypsoside よりも合一しやすく、水層分離率や油層分離率が大きくなったと考えられる。pH 3 以下では、水層分離率はエマルジョン生成直後から高く、pH 4 以上の場合より速く分離した。これは、pH 2.5 において平均粒径が $3.3 \mu\text{m}$ (pH 7: $2.6 \mu\text{m}$, pH 12: $2.9 \mu\text{m}$) と、他の pH と比較して大きく、また界面張力も高い (pH 2: 7.0 mN/m , Fig. 10) ことから、エマルジョンの安定性が悪いというよりも、pH 2 以下ではエマルジョン自身の生成能が低いためと考えられる。pH 9 以上では、水層分離率は6 hr 後まで中性付近と同じであったが、6 hr 以後、分離率は安定せずさらに増加した。平均粒径がそれほど大きくなかったこと、および、静的法の pH 11 以上において水層だけでなく油層もかなり分離したことから、pH 3 以下と異なり、エマルジョン生成能が低いのではなく、凝集から合一の過程が中性付近と比較してかなり速く進みやすい、つまり界面膜強度が弱いためと考えられる。

エマルジョンを生成する場合、今回は、水/ケロシン

の界面生成直後に、これをディスパーサーで分散させたが、時間によって界面の状態が大きく変化すると考えられるので (Fig. 10)、界面生成後乳化までの時間の影響について詳しい検討を行う必要がある。

要 約

市販大豆サポニンを 0.1% 含む水/ケロシン系のエマルジョンの、静的・動的安定性、粒度分布、平均粒径、および、界面張力に対する NaCl と pH の影響を検討した。

水/ケロシン系のエマルジョンにおいて NaCl は 0.01 M 以下の濃度で、静的および動的安定性を高くし、それに極大値を与え、また平均粒径を減少させ、それに極小値を与えた。界面張力は NaCl 濃度の増加に伴って減少した。

静的安定性は pH 3 以下では、エマルジョン生成直後から低い値を示し、pH 10 以上では、経時的に低くなった。動的安定性、平均粒径、界面生成直後の界面張力はいずれも中性付近で低く、酸性、アルカリ性領域で高くなった。界面生成後6時間の界面張力は pH 4 以下で生成直後と異なり低下した。

終りに、大豆サポニンを提供していただいた、稲畑工業株式会社に深謝いたします。

- (1) 山野善正, 合谷祥一, 中山幸子: 農化, **58**, 161 (1984).
- (2) 合谷祥一, 大須賀葉子, 山野善正: 農化, **59**, 25 (1985).
- (3) A. Ya. Khorlin, Yu. S. Ovodov and R. G. Ovodova: *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, 1522 (1963).
- (4) 北川 勲, 吉川雅之, 林 輝明, 谷山登志男: 薬学雑誌, **104**, 162 (1984).
- (5) 合谷祥一, 山野善正: 農化, **58**, 169 (1984).
- (6) 山野善正, 鶴 敏之, 杉原史朗, 三木英三: 日食工誌, **29**, 137 (1982).
- (7) 山野善正, 鶴 敏之, 杉原史朗, 三木英三: 日食工誌, **29**, 265 (1982).
- (8) B. Jirgensons, M. E. Straumanis 著, 玉虫文一, 蓮 精, 玉国夫共訳: 「コロイド科学」, 培風館, 1967, p. 118.
- (9) F. Booth: *Progr. Biophys. Chem.*, **3**, 131 (1953).