

9359 食品機能性サポニン含有乳化物の構築における食塩の役割

助成研究者:渡邊 乾二(岐阜大学 農学部)

共同研究者:下山田 真(岐阜大学)

研究目的 大豆、大麦、茶をはじめとして広く植物体中には不快な味を呈するサポニンが含まれている。植物によって含有するサポニンはそれぞれが特異的であるが、一般的にはサポニンは抗菌性、脂質酸化抑制作用、抗コレステロール作用などの生理機能、および乳化性と気泡性といった物性発現機能を合わせもつとされている。このような性質のサポニンを乳化剤として用いると、食塩の介在もあってサポニン特有の不快味が緩和された保存性の良く、しかも種々のサポニンに基づく食品機能性を発揮する乳化物が構築できると期待される。一方、一般的にみて乳化物への食塩の添加は乳化破壊につながるとされ、食塩味を有する安定な乳化物の構築が望まれている。サポニンにおいても、その種類によって異なるが食塩を添加すれば乳化性が低下するとされている。

本研究では、大豆サポニンより精製したサポニンを乳化剤として内相に挿入するようなW/O型エマルジョンおよびW/O/W型エマルジョンを調製することを目的とした。

研究方法 1. 試料 1.1 大豆サポニン:大豆胚軸(品種9111)より粗サポニンを抽出し、これよりA-とB-グループサポニンを分画した。1.2. 卵白および水様型オボムチン複合体溶液:鶏卵より全卵白、濃厚卵白と水様性卵白を分画し、さらに水様性卵白より水様型オボムチンを調製した。2. エマルジョンの調製 2.1. W/O型エマルジョン:食塩の添加とpHを調整したサポニン溶液に大豆油を添加し、ヒスコトロンにて乳化した。2.2. W/O/Wエマルジョン:食塩の添加とpHを調整した卵白溶液あるいはタンパク質溶液に、あらかじめ調製したW/O型エマルジョンを添加し、ヒスコトロンにて乳化した。3. 乳化力の測定法:W/O型エマルジョンにおいては乳化過程における電気抵抗を測定し、O/W型からW/O型に転相する点を求め、その添加した油脂量(ml)をもって、さらにW/O/W型エマルジョンにおいてはPearaceとKinnsellaの濁度法によって測定し乳化力とした。4. 乳化安定性: : 乳化24時間後のW/O型エマルジョン残存率と、同様にそのO/W型への転相率をもって安定性とした。

研究結果と考察 3%までの食塩の添加のもとに、大豆サポニンより精製したA-サポニンを内相の乳化剤としてW/O型あるいはW/O/W型エマルジョンを形成すると、良好な乳化物が得られた。乳化力と乳化安定性を総合して評価すれば、W/O型エマルジョンの形成では、A-サポニンを食塩1~3%, pH7の0.5%溶液として内相に添加して乳化する条件が良好であると認められた。あらかじめ作製しておいたW/O型エマルジョンを用いてW/O/W型エマルジョンを形成するに際し、外相に卵白あるいはタンパク質溶液を用いて検討した結果、水様性卵白由来の水様型オボムチン複合体が有効であると分かった。乳化性を向上させるためには比較的溶解性の良いオボムチン複合体が必要であるとした。

9359 食品機能性サポニン含有乳化物の構築における食塩の役割

助成研究者：渡邊 乾二(岐阜大学 農学部)

共同研究者：下山田 真(岐阜大学)

研究目的

大豆、大麦、茶をはじめとして広く植物体中には苦味、渋味、収斂味等の不快な味を呈するサポニンと呼ばれる一群の配糖体成分が含まれている。植物によって含有するサポニンの種類も異なりそれぞれが特異的であるが、一般的にはサポニンは抗菌性、肝障害発生抑制作用、脂質酸化抑制作用、抗コレステロール作用、血清脂質改善作用などの生理機能、および乳化性と気泡性といった物性発現機能とを合わせもつと報告されている。このような性質のサポニンを乳化剤として用いると、食塩の介在もあってサポニン特有の不快味が緩和された保存性の良く、しかも使用するサポニンの種類を変えることにより種々のいわゆる食品機能性を発揮する乳化物が構築できるものと予想されよう。

一方、一般的にみて乳化物への食塩の添加は乳化破壊につながるとされ、食塩味を有する安定な乳化物の構築が望まれている。すなわち、食塩の共存のもとで安定な乳化系を構築する乳化剤の開発が必要とされている。前年度における油脂代替性“蛋白質-サポニン-線維”の食品特性発現に対する食品の役割に関する研究においても、大豆サポニンに食塩を添加すると乳化性が低下し、これはサポニンのミセル構造の破壊によるものとした。

このような背景のもとに、本年度においては精製したサポニンを乳化剤として使用して検討することにし、大豆サポニンの味と生理機能を考慮してサポニンを乳化剤として内相に挿入するようなW/O型エマルジョンおよびW/O/W型エマルジョンを調製することを研究目的とした。内水相には代表的な大豆サポニンより精製したグループ別のサポニン、油相には大豆油、さらには外水相には均質化した卵白溶液あるいは卵白タンパク質溶液を用いた。脂溶性乳化剤としてスパン80 (Sorbitan Monooleate) を用いたものを対照エマルジョンとした。

研究方法

1. 試料

1.1. 大豆サポニンの調製

大豆サポニンより、特異的にサポニンを含有する大豆胚軸（品種9111）を分離した。これを6倍量の70%エタノールで抽出・乾固し、ブタノールと水との転溶により粗サポニン区分を得た。このブタノール液を濃縮・乾固し、得られた固形物を少量の蒸留水に分散させ、凍結乾燥して得られたものを粗サポニンとして使用した。

1.2. 精製A グループとB グループサポニン(A- サポニンとB-サポニン) の調製

メタノールに溶解させた粗サポニンを、あらかじめ平衡化しておいたSephadex LH-20 (80 X 5 cm, 展開溶媒: メタノール) にて展開し、A-サポニン(soyasapogenol Aをアグリコンとするグループ) とB-サポニン(soyasapogenol B をアグリコンとするグループ) とに分画した。これらのそれぞれを濃縮乾固し、得られた固形物を少量の蒸留水に分散させ、凍結乾燥してA-とB-サポニンを得た。

1.3. 卵白溶液の調製

鶏卵より卵白、あるいはそれより分離した濃厚と水様卵白をとり、ワーリングブレンダーにて均質化後、食塩の添加とpHを調整して使用した。

1.4. 水様型オボムチン複合体溶液の調製

新鮮水様性卵白層より、カラムクロマトグラフィー法により粗オボムチンを分画し、食塩とpHを調整したものを水様型オボムチン複合体溶液として使用した。

2. エマルションの調製

2.1. W/O 型エマルションの調製 (転相法)

円筒形のガラス製容器 (100 X 25 mm) に食塩の添加とpHを調整した各種濃度のサポニン溶液3 mlをあらかじめ入れておき、これに油脂を1 滴/秒の速さで加えながらヒスコトロン (テラオカ、ヒスコトロン超高速ホモジナイザー; NS-50) で攪拌 (目盛り60) して乳化した。この操作により、はじめO/W 型エマルションの生成となるが、油脂の添加割合が多くなってくるとエマルションが転相してW/O 型エマルションとなることを利用した。

2.2. W/O/W 型エマルションの調製 (二段階乳化法)

2.1 にて使用した容器に、食塩の添加とpHを調整した各種卵白溶液あるいはタンパク質溶液を入れ、それらの溶液の1/2 量となるようにあらかじめ調製しておいた各種W/O 型エマルションを1 滴/秒の速さで加えながら、ヒスコトロン (目盛り47) で攪拌して乳化した。

3. 乳化力の測定法

3.1. W/O 型エマルション形成におけるサポニンの乳化力測定法

一定のサポニン溶液に油脂を添加する乳化過程における溶液の電気抵抗を測定することにより、O/W 型からW/O 型に転相する点を求め、その添加した油脂の量をもってW/O 型エマルション形成における乳化力とした。電気抵抗は容器内に針金を2 本差し込み固定し、市販のテスターを用いて測定した。

3.2. W/O/W 型エマルション形成における卵白あるいは卵白タンパク溶液の乳化力 (乳化活性) の測定法

Pearce とKinsellaのSDS に可溶化後の濁度法によって乳化活性を測定した。

4. 乳化安定性の測定法

乳化物の安定性の評価法として乳化24時間後のW/O 型エマルション残存量と、同様に24

時間後のO/W型エマルジョン生成量（時間の経過によるW/O型からO/W型への転相量）を測定し、それぞれ下式に従って計算し、安定性の指標とした。

$$\text{残存率(\%)} = \frac{\text{W/O 量}}{\text{全体量}} \times 100 \qquad \text{O/W 生成率(\%)} = \frac{\text{O/W 量}}{\text{全体量}} \times 100$$

研究結果

1. A- とB-サポニン溶液—大豆油系W/O型エマルジョンの乳化力と安定性

分離精製したA-とB-サポニンのそれぞれを別個に0.5%溶液として乳化させ、乳化力およびW/O型エマルジョンの残存率を比較した。Table 1に示したように、乳化性はA-サポニンの方がB-サポニンよりも良好であると判明した。したがって、以後の実験では主にA-サポニンを使用することにした。

2. W/O型エマルジョン形成におよぼすA-サポニン濃度の影響

大豆油とのW/O型エマルジョン形成における各種濃度のA-サポニン溶液の乳化力と残存率とを測定し、その結果をTable 2に示した。溶液中におけるA-サポニンの含有濃度に依存して高い乳化力を示した。A-サポニン濃度を1.0%にまで上昇させると、O/W型エマルジョンが生成し、W/O型のものの残存率が低下した。最も安定なW/Oを生成するには、0.5%とすると良いと判明した。

3. A-サポニン溶液—大豆油系W/O型エマルジョンの乳化力と安定性におよぼす食塩の影響

0.5%A-サポニン溶液に対して0, 1, 2と3%の食塩を加え、そのサポニン溶液と大豆油にて調製したW/O型エマルジョンの乳化力、24時間後のW/O型エマルジョンの残存率およびO/W型エマルジョンの生成率を測定した。その結果をTable 3に示した。食塩の添加により乳化力は減少傾向にあったが、食塩濃度が高くなるにつれて安定性は良好となった。食塩の存在の有無によるエマルジョン粒子の違いを観察すると、食塩の添加によりエマルジョン粒子が小さくなり、均一的であることが判明した。食塩の濃度を2あるいは3%とすると、24時間後のO/W生成率が肉眼的には0%という良好な成果が得られた。

4. A-サポニン溶液—大豆油系W/O型エマルジョンの乳化力と安定性におよぼすpHの影響

pHを3, 5, 7と9に調整した0.5%A-サポニン溶液を用いて大豆油とのW/O型エマルジョンを調製し、乳化力と24時間後のW/O残存率を測定した。Table 4に示したように、W/O型エマルジョンの乳化力はアルカリ側で大きかったが、その残存率はpH5と7で比較的高かった。pH5と7以外ではW/OとO/W型エマルジョンの混合体となり、W/O型のものの残存率が明確に判定できなかった。

5. A-サポニン溶液—大豆油系W/O型エマルジョンの乳化力と安定性におよぼすスパン80

の影響

3%の食塩を添加した0.5%A-サポニン溶液に対して、30%のспан80を加えた大豆油を用いてW/O型エマルジョンを調製したところ、均一の分散系は得られずW/O型エマルジョンではないと判断した。W/O型エマルジョンの調製においてспан80をサポニンと併用する場合、エマルジョンにおける食塩の存在はその不安定化に導いたが、A-サポニンの系ではむしろ安定化しており特異的であると判断した。

6. W/O/W型エマルジョンの形成におよぼす食塩の影響

6.1. 食塩を内水相(0.5%A-サポニン溶液)に添加した場合

3%食塩添加0.5%A-サポニン溶液-спан80添加大豆油-卵白(全卵白、濃厚卵白と水様卵白)系、および3%食塩添加0.5%A-サポニン溶液-大豆油-卵白(全卵白、濃厚卵白と水様卵白)系のW/O/W型エマルジョンを調製し、それらの乳化力を測定することによりエマルジョンにおよぼす内水相の食塩の影響を乳化剤との関係から検討した。乳化力は両者共に同様であり、特にспан80の添加効果が現れることはなかった。すなわち、W/O型の場合と同様に、食塩の共存によりспан80の乳化剤としての機能が低下しており、食塩の添加のもとにспан80を併用しないサポニン系の乳化系が良好であった。

6.2. 食塩を外水相(卵白)に添加した場合

0.5%サポニン溶液-大豆油系W/O型エマルジョンを、0~4%の濃度となるように食塩を添加し、さらにそれぞれのpHを3, 5, 7と9とした卵白(全卵白、濃厚卵白と水様卵白)中に分散して得られたW/O/W型エマルジョンの乳化力を測定し、エマルジョンにおよぼす外水相の食塩の影響を検討した。いずれの卵白溶液においても、酸性系よりもアルカリ性系において、さらに食塩が4%添加した系において乳化力が良好であった。これらの内、乳化性の良かった水様性卵白の一例をFig. 1に示した。

6.3 食塩を外水相(水様型オボムチン複合体溶液)に添加した場合

6.2において卵白の種類による乳化性の差異が認められ、これの要因として卵白中に存在しているタンパク質の差異によると予想した。最も乳化性の良好なのは水様性卵白であったことから、その中に存在している水様型オボムチンの寄与が大きいと判断された。水様性卵白より水様型オボムチン複合体を調製し、6.2と同様にして乳化させた。Fig. 2に示したように、特に溶解性の良かったアルカリ性側において4%食塩の添加の影響が認められた。

考察

3%以下の食塩の添加のもとに、大豆サポニンより精製したA-サポニンを内相の乳化剤としてW/O型あるいはW/O/W型エマルジョンを形成すると、良好な乳化物が得られた。

Table 2にみられるように、A-サポニンの溶液濃度に依存して乳化力が高くなった。それをサポニンの単位当たりのものに計算すれば、サポニン濃度が高くなれば乳化力は低下

する傾向となった。しかし、W/O型としての乳化安定性を考慮すればA-サポニンでは0.5%程度の濃度が適切と言えよう。A-サポニンはアセチル化されたものなど8種類程度の混合体である。これらの種々様々な構造をもつものが食塩とpHとの関係のもとに可溶化し、グループとしての複合体の相互作用により乳化剤として作用しているものと考えられよう。結局、大豆サポニンの場合、W/O型エマルジョンの作製において、A-サポニンを食塩1~3%、pH7の0.5%溶液として内相に添加して乳化する条件が良好であると判断した。スパン80のような代表的な乳化剤の場合の乳化性は食塩の添加で低下するのに対して、A-サポニンでは食塩の添加により乳化性は向上した。

昨年度に引き続き、本研究でも外相溶液に卵白溶液を用いたが、乳化性を安定化するためには粘性の高い巨大繊維状の分子であるオボムチンが重要であると認められた。食塩濃度が4%、pHがアルカリ性の水様性卵白において乳化性が良かったことは、水様性卵白由来の水様型オボムチンのように比較的溶解性の良いオボムチン複合体が乳化に必要であることを示している。すなわち、濃厚卵白由来の水不溶型オボムチンよりも水様型オボムチンが乳化性に重要な卵白タンパク質であると結論されよう。

サポニンを内相に入れたW/O型とW/O/W型エマルジョンにつき、サポニンの不快感を試験すると、前者よりも後者の方が不快感を感じさせなかった。このように、不快感を感じさせることなくサポニンを摂取し、ヒトの腸などの消化器官で有効に作用させるにはW/O/W型エマルジョンが有効と言えよう。

今後の課題

サポニンを含む植物としては朝鮮人参、甘草およびアスパラガスなどが漢方薬の素材として特に注目されている。今後このようなサポニンの乳化物を、特にW/O/W型エマルジョンの形で構築していく必要がある。また、このような乳化物を食品として利用していくためには耐熱性で、さらに耐凍性であることも重要であり、このような性質をもつ乳化物をどの様に構築していくかが課題となろう。

今回の研究では、このような乳化物の生理機能を十分に検討できなかった。今後の研究課題として残されていると考えている。

Table 1 Emulsifying Activity of A- and B-Saponin and Remaining Ratio of W/O type Emulsion

Saponin	Emulsifying Activity*	Remaining Ratios (%) of W/O Type Emulsion**
A-Saponin	12.1	72.0
B-Saponin	10.0	69.0

* Soybean Oil (ml) Emulsified by 0.5% A- and B-Saponin solutions (3ml)

**Estimation after 24 hr at 25°C

Table 2 Effect of Concentration of A-Saponin on Emulsifying Activity and Remaining Ratio of W/O type Emulsion

Concentration of A-Saponin	Emulsifying Activity*	Remaining Ratios of W/O Type Emulsion **
0.05	7.1	79
0.1	11.1	80
0.5	11.8	85
1.0	12.0	77

* Soybean Oil (ml) Emulsified by A-Saponin Solution (3ml)

** Estimation after 24 hr at 25°C

Table 3 Effect of Sodium Chloride on Emulsifying Activity,
Remaining Ratio of W/O Type Emulsion and Formation
Ratio of O/W Type Emulsion of A-Saponin

Sodium Chloride (%)	Emulsifying Activity *	Remaining Ratio (%) of W/O Type Emulsion **	Formation Ratio (%) of O/W Type Emulsion**
0	11.0	70	10
1	10.8	75	4
2	9.0	87	0
3	8.6	84	0

* Soybean Oil (ml) Emulsified by 0.5%A-Saponin Solution (3ml)

** Estimation after 24 hr at 25°C

Table 4 Effect of pH on Emulsifying Activity and Remaining Ratio
of W/O Type Emulsion of A-Saponin

pH of Saponin Solution	Emulsion Activity *	Remaining Ratio of W/O Type Emulsion**
3	11.1	—
5	12.0	77
7	14.0	68
9	17.0	—

* Soybean Oil (ml) Emulsified by 0.5%A-Saponin Solution

** Estimation after 24 hr at 25°C

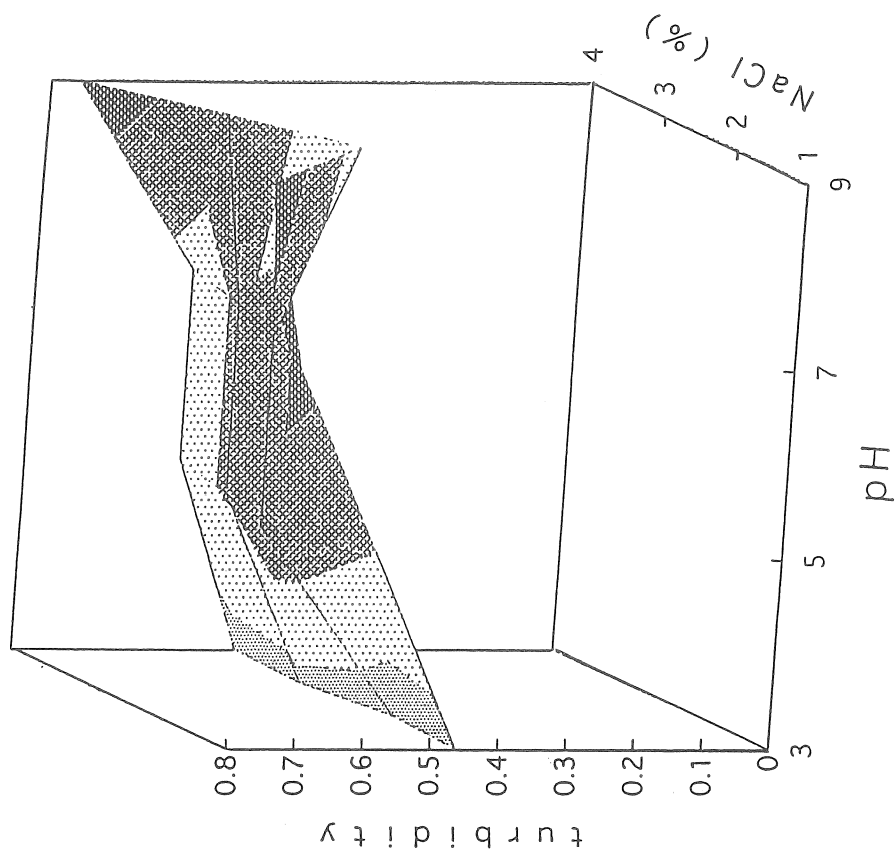


Fig. 1 Effect of Sodium Chloride and pH on Emulsifying Activity of W/O/W Type Emulsion with Thin White

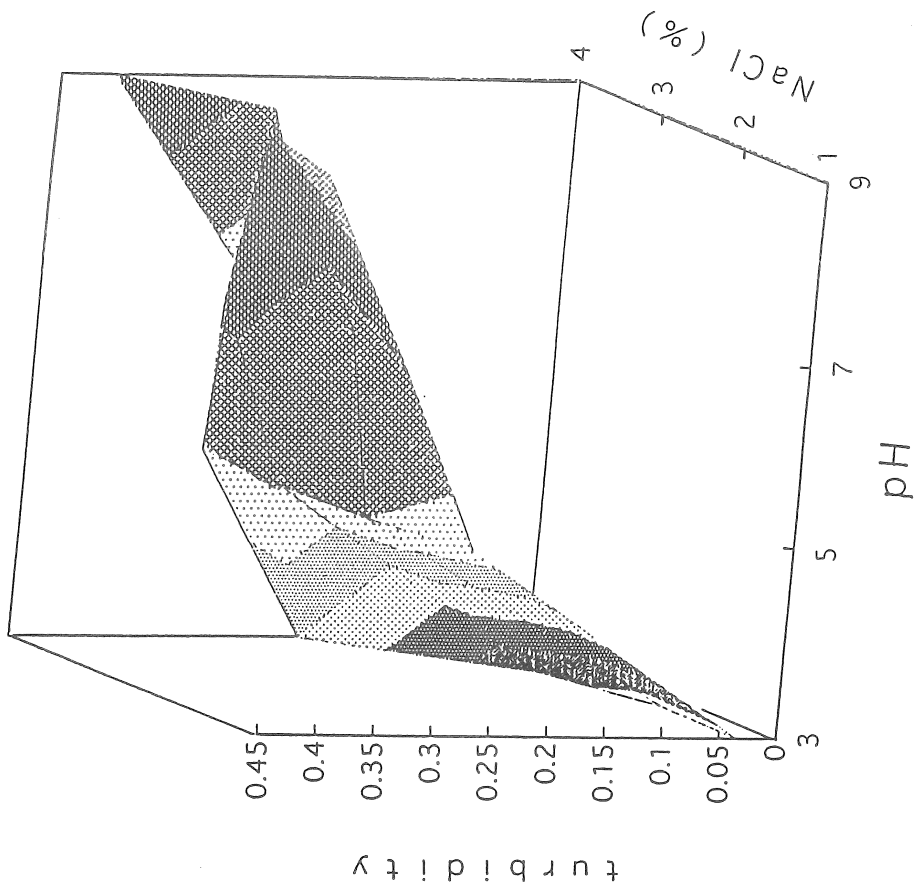


Fig. 2 Effect of Sodium Chloride and pH on Emulsifying Activity of W/O/W Type Emulsion with soluble-type Ovomucin Solution

Effect of sodium chloride on preparation of emulsion containing food-functional saponin.

Kenji WATANABE and Makoto SHIMOYAMADA

(Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Gifu University)

Summary

The aim of this study is to investigate the effect of sodium chloride on preparation of W/O type and W/O/W type emulsions with A- and B-saponin extracted and fractionated from soybean and soybean oil. In the preparation of W/O type emulsion, emulsions having the good quality on the emulsifying activity and emulsion stability could be obtained by using the aqueous solutions of 0.5% A-saponin at pH 7 containing about 3% sodium chloride. For providing the W/O/W type emulsions, the obtained W/O type emulsions were homogenized with various egg white and ovomucin solutions with or without sodium chloride. The W/O/W type emulsions could be prepared successfully with the thin white and/or water-soluble ovomucin solutions separated from thin white in the presence of 4% sodium chloride and at pH 7 ~9.