



Synergistische Ansätze in der Zeta-Potential- und Stabilitätsanalyse für die Forschung

Fallstudie zu einer Formulierung auf Basis von Pflanzenproteinen

HINTERGRUND

Chemiker in Forschung und Entwicklung sehen sich täglich mit verschiedenen Herausforderungen konfrontiert, wie z. B. den Auswirkungen eines Lieferantenwechsels auf die Produktqualität, dem Risiko einer Destabilisierung der Rezeptur beim Ersatz einer Komponente oder der Notwendigkeit, einen neuen Inhaltsstoff hinzuzufügen. Um die Anforderungen der Kunden und die Erwartungen an das Endprodukt zu erfüllen, ist es entscheidend, modernste Technologien einzusetzen, die Systeme umfassend charakterisieren. MICROTRAC bietet eine breite Palette von Technologien und Werkzeugen für die Charakterisierung und unterstützt den Produktentwicklungsprozess für eine schnelle Entscheidungsfindung auf der Grundlage von Fakten. Dieser Anwendungsbericht stellt eine Fallstudie vor, die Zeta-Potenzial- und Stabilitätsanalysen kombiniert, um eine proteinstabilisierte Emulsion zu optimieren.

ZWEI PARAMETER, EINE SCHLUSSFOLGERUNG

MICROTRAC bietet Lösungen mit einzigartigen Eigenschaften:

- **STABINO ZETA**

Für Zeta-Potenzialmessungen mit **Online-Titration** und **ohne Verdünnung**.

- **TURBISCAN**

Für eine bis zu **1000-mal schnellere** Erkennung der Destabilisierung und Quantifizierung der Formulierung.

Durch die Kombination beider Technologien wird die Zeit für die Markteinführung von Produkten

verkürzt und die optimale Formulierung schnell und mit höchster Genauigkeit identifiziert.

WIE FUNKTIONIEREN DIE TECHNOLOGIEN?

▪ STABINO ZETA

STABINO ZETA bietet eine **zuverlässige** Zeta-Potenzialmessung auf Basis des Strömungspotenzials. Der intelligente **Misch- und Messbetrieb** verhindert Sedimentation und sorgt für **genaue Ergebnisse**. Darüber hinaus ermöglicht die **eingebaute Titrationsfunktion** eine schnelle Bestimmung des isoelektrischen Punktes (IEP) oder der Ladungsdichte (ZPC) für Proben mit einer Partikelgröße von **0,3 nm bis 300 µm** und einer Konzentration von **0,01 bis 40 Vol.-%**.

▪ TURBISCAN

TURBISCAN ist der weltweit führende Stabilitätsanalysator auf Basis von Statischer Mehrfachlichtstreuung (SMLS). Diese fortschrittliche Technologie ermöglicht die schnelle Erkennung jeder Art von Destabilisierung **ohne Verdünnung 1000x schneller** als das bloße Auge. Er ist genau **erkennt und quantifiziert** Sedimentation, Aufräumung und Flockung in den Konzentrationsbereichen von **0,0001 bis 95 Gew.-%**

MEHR ÜBER DIE INSTRUMENTE VON MICROTRAC



FALLSTUDIE

Das Verständnis dieser beiden Parameter vereinfacht die Entscheidungsfindung zur Überwindung von Formulierungsproblemen.

Für diesen Bericht werden beispielhaft proteinstabilisierte Emulsionen untersucht. Zeta-Potentialmessungen ermöglichen eine Verbesserung der Rohstoffextraktion (in diesem Fall: Proteine) und der Auswahl von Formulierungsadditiven.

Für die Entwickler ist es sehr wichtig, diese Faktoren zu kennen, um sie zu beheben und ein stabiles Produkt zu erhalten. Die Studie erfolgte in drei Schritten:

1. **Verbesserung der Rohstoffgewinnung** auf Basis von **Zeta-Potenzialmessungen**
2. **Einfluss der Salzzugabe auf verschiedene Proteine**, gemessen mit Online-Titration
3. **Stabilitätsanalyse und Optimierung der Emulsion**

1. Verbesserung bei der Rohstoffgewinnung

Für die Proteinextraktion gibt es mehrere Methoden, eine davon ist die „alkalische Methode“. Bei dieser Methode wird der pH-Wert angepasst, um die Löslichkeit des Proteins zu verändern.

Bei einem alkalischen pH-Wert sind Proteine im Medium vollständig löslich, während Proteine unter sauren Bedingungen unlöslich werden und ausfallen. Der isoelektrische Punkt (IEP) ist wichtig, um den genauen pH-Wert zu bestimmen, bei dem die Fällung beginnt und das Protein aufgeschlossen wird.

Die eingebaute Titrationsfunktion von STABINO ZETA ermöglicht eine saure Titration ohne Verdünnung der Probe. Abbildung 1 zeigt ein Beispiel für eine IEP-Messung mit dem STABINO zur Extraktion von Reiskleie-Protein. Die erste Extraktion wurde unter Verwendung eines in der Literatur gefundenen Protokolls durchgeführt.

Die zweite Extraktion wurde auf der Grundlage, der mit dem STABINO ZETA erzielten Ergebnisse verbessert, wobei der pH-Wert so angepasst wurde, dass er für das verwendete Protein optimiert ist.

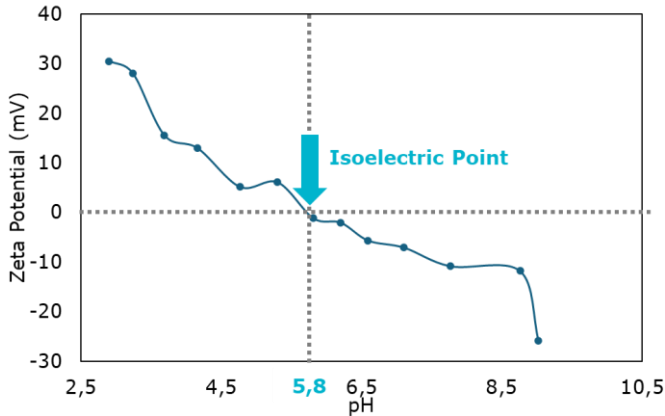


Abbildung 1: Messungen des isoelektrischen Punktes

	Protokoll	Verbessertes Protokoll
Extrahiertes Protein (g)	0,8	1,263
pH-Wert	4,5	5,8
	Ohne STABINO ZETA	Mit STABINO ZETA

Tabelle 1: Vergleich mit Protein, das beim IEP extrahiert wurde

Wie in Tabelle 1 zu sehen ist, führte die IEP-Methode (Isoelektrischer Punkt) zu einer effizienteren Proteinextraktion im Vergleich zu dem in der Literatur beschriebenen Protokoll (+57 % extrahiertes Gewicht). Für das in dieser Studie verwendete Protein liegt der optimale pH-Wert bei 5,8 und nicht bei 4,5.

2. Einfluss der Salzzugabe auf verschiedene Proteine

Das zuvor extrahierte Protein wird mit verschiedenen Proteinen vom Markt verglichen, um ihr Verhalten bei der Zugabe von Salz (NaCl) zu bewerten.

Dieser Vergleich ermöglicht es, das Protein zu identifizieren, dass am widerstandsfähigsten

gegen Salzvariationen ist, und zu ermitteln, ob Salz (NaCl) der beste Zusatzstoff für das ausgewählte Protein ist.

Die Proteine wurden in Wasser suspendiert und eine Salztitration wurde automatisch mit STABINO ZETA durchgeführt, wie in Abbildung 2 gezeigt. Die Messungen dauern **weniger als 5 Minuten**.

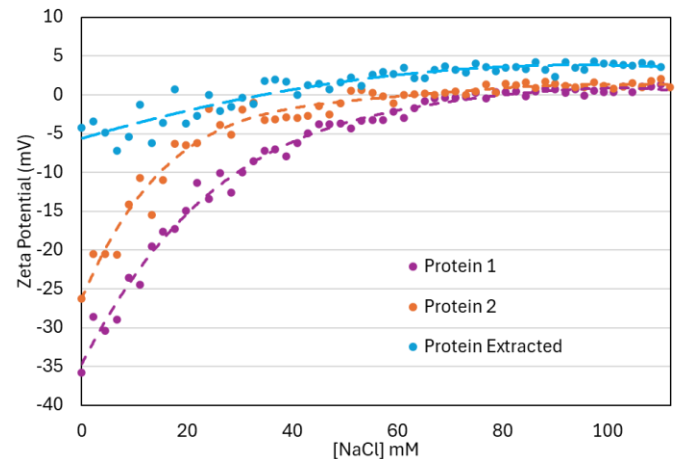


Abbildung 2: Salztitration mit verschiedenen Protein-Suspensionen

Abbildung 2 zeigt, dass das negative Zeta-Potenzial ansteigt, wenn mehr Salz (NaCl) hinzugefügt wird, bis es Null erreicht. Das extrahierte Protein hat das höchste Zeta-Potenzial im Vergleich zu seinen industriell erhältlichen Alternativen, und der Wert nähert sich bei einer geringeren Salzmenge dem Zeta-Potential von Null. Das extrahierte Protein hat eine geringe Resistenz gegen Salzschwankungen, die sich auf die Endstabilität auswirken können.

Auf der anderen Seite starten Protein 1 und Protein 2 mit einem stärkeren Zeta-Potenzialwert und benötigen mehr Salz, um den neutralen Wert des Zeta-Potenzials zu erreichen. Diese Proteine reagieren stärker auf die Zugabe von Salz (NaCl), wodurch sie sich besser für Formulierungen mit NaCl eignen.

Basierend auf diesen Ergebnissen wurde Protein 1 ausgewählt, um die Emulsionen zu formulieren.

3. Stabilitätsanalyse und Emulsionsoptimierung

Nach der Ermittlung des geeignetsten Proteins wurden in diesem Kapitel verschiedene Konzentrationen des Proteins (Protein 1) untersucht, um die Formulierung mit der optimalen Stabilität zu ermitteln.

Das Verhältnis der Ölfraction war für die verschiedenen Emulsionen gleich (60 % vol.), wobei die Konzentration von Protein 1 von 2, 4, 6, 8 bis zu 12 Gew.-% variierte.

▪ Stabilitätsanalyse

Die von TURBISCAN detektierte Destabilisierung wird als Funktion der Probenhöhe (in mm) über die Zeit dargestellt. Der untere Teil der Probe wird im linken Teil der Grafik dargestellt und der obere Teil der Probe befindet sich im rechten Teil. Der Farbverlauf auf der Zeitskala entspricht dem Zeitablauf der einzelnen Scans, wobei der erste Scan in blau und der letzte Scan in rot dargestellt ist.

Wie wir in der Abbildung 4 sehen können, ist eine Abnahme des Rückstreusignals (BS) im Laufe der Zeit sowohl am oberen als auch am unteren Rand der Probe zu beobachten. Die Destabilisierungen werden innerhalb der **ersten Minuten** der Messung identifiziert. Diese Phasentrennung ist bei Emulsionen mit hohen Proteinkonzentrationen von geringer Bedeutung.

▪ Optimale Formulierungsauswahl

Der TURBISCAN Stabilitäts Index (TSI) ist eine automatische Berechnung, die alle Destabilisierungen in einer Zahl zusammenfasst, um eine einfache Einstufung und einen Vergleich mit einem Klick zu ermöglichen. Je **HÖHER** der TSI-Wert, desto **NIEDRIGER** ist die Stabilität.

Wie in Abbildung 5 gezeigt, sind die Emulsionen mit 8 Gew.-% Protein und 12 Gew.-% Protein am stabilsten. Diese Einstufung ist schon innerhalb **der ersten 20 Minuten** erkennbar. Die Erhöhung der Proteinkonzentration auf bis zu 12 Gew.-% hat keinen Einfluss auf die Stabilität im Vergleich zu 8 Gew.-%. Die optimale Proteinkonzentration liegt in dieser Studie bei 8 Gew.-%.

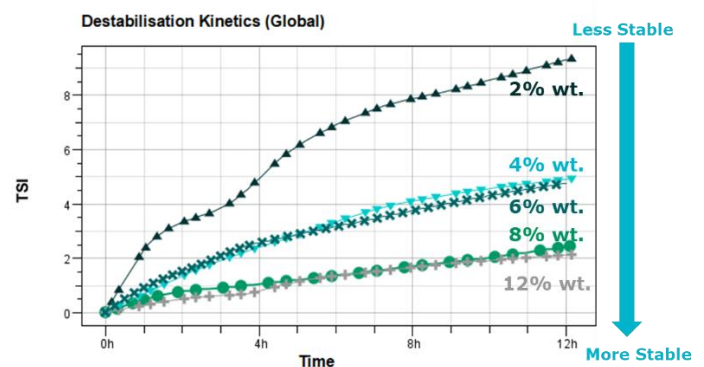


Abbildung 5: Destabilisierungen, die von TURBISCAN für die Emulsionen mit unterschiedlicher Proteinkonzentration nachgewiesen werden

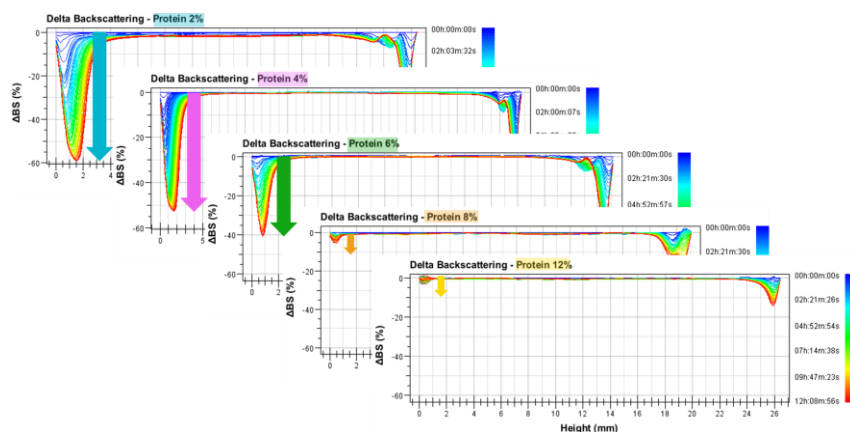


Abbildung 4: Destabilisierung durch TURBISCAN für Emulsionen mit unterschiedlichen Proteinkonzentrationen

SCHLUSSFOLGERUNG

Auf der Grundlage der bisherigen Ergebnisse waren die STABINO ZETA-Messungen wertvoll für die Optimierung der Rohstoffextraktion, wie in diesem Fall der Proteine. Darüber hinaus gab die Online-Salztitration Aufschluss darüber, wie sich Salz auf dieses Protein auswirkt. Die Stabilitätsmessungen mit dem TURBISCAN ermöglichten ein tieferes Verständnis der Auswirkungen der Proteinkonzentration auf die Emulsionsstabilität ohne jegliche Proben-verdünnung.

Mit dem STABINO ZETA und den TURBISCAN-Messungen konnte der gesamte Prozess von der Gewinnung des Rohmaterials bis zur Optimierung des Endprodukts **ohne Verdünnung, schneller und zuverlässiger** durchgeführt werden.

LITERATUR

- Abd Rahim, F. N., Wan Ibadullah, W. Z., Saari, N., Brishti, F. H., Mustapha, N. A., Ahmad, N., & Arulrajah, B. (2023). The effect of alkaline extraction and drying techniques on the physicochemical, structural properties and functionality of rice bran protein concentrates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124908>
- Tu, Y., Zhang, X., & Wang, L. (2023). Effect of salt treatment on the stabilization of Pickering emulsions prepared with rice bran protein. *Food Research International*, 166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112537>
- Li, D., Zhao, Y., Wang, X., Tang, H., Wu, N., Wu, F., Yu, D., & Elfalleh, W. (2020). Effects of (+)-catechin on a rice bran protein oil-in-water emulsion: Droplet size, zeta-potential, emulsifying properties, and rheological behavior. *Food Hydrocolloids*, 98. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105306>