

Applikationsbericht 30

Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC) eines saponinreichen Extrakts aus *Quillaja saponaria* Molina

Janine Toppel, Sandra Böttcher, Stephan Drusch

Fachgebiet Lebensmitteltechnologie und -materialwissenschaften

Technische Universität Berlin, Königin-Luise-Straße 22, 14195 Berlin, Deutschland

Die kritische Mizellbildungskonzentration (CMC) eines saponinreichen Quillaja-Extrakts wurde an der Luft/ Wasser sowie an der Öl/Wasser-Grenzfläche mittels Pendant-Drop-Messung mit dem Tropfenkonturanalysesystem OCA von DataPhysics Instruments bestimmt.

Problemstellung

Der Verbraucher wird zunehmend kritischer gegenüber Lebensmittelzusatzstoffen und somit erlangen „natürliche“ Emulgatoren bei der Entwicklung neuer Produkte immer mehr an Bedeutung.

Der Extrakt aus dem Seifenrindenbaum *Quillaja saponaria* Molina ist derzeit zugelassen als Zusatzstoff für alkoholfreie Getränke in der Europäischen Union und besitzt den GRAS-Status (generally regarded as safe) in den USA. Der Hauptbestandteil des Extraktes sind grenzflächenaktive **Saponine**. Deren Grenzflächenaktivität bedingt sich durch ihren molekularen Aufbau aus einem hydrophoben Aglykengerüst (Triterpen) sowie einem oder mehreren hydrophilen Zuckerresten.

Im Hinblick auf die Applikation als Schaum- und Emulsionsstabilisator ist

es besonders wichtig die **kritische Mizellbildungskonzentration (CMC)** des Quillaja Saponins (QS) zu kennen. QS kann für die Verkapselung lipophiler Substanzen, wie z.B. Nahrungsfette, fettlösliche Vitamine und Farbstoffe, in Mizellen eingesetzt werden.

An der Luft/Wasser und der Öl/Wasser-Grenzfläche richten sich die hydrophilen Zuckerketten der Saponinmoleküle in Richtung der wässrigen Phase aus. Das hydrophobe Aglykengerüst zeigt hingegen in Richtung der apolaren Phase (Luft oder Öl). Durch diese Anordnung wird die Grenz- oder auch Oberflächenspannung des Wassers herabgesetzt.

In Abhängigkeit der Konzentration einer grenzflächenaktiven Substanz wird die Grenzflächenspannung einer Lösung bis zum Erreichen der CMC stetig weiter verringert. Die CMC ist die Konzentration an grenzflächenaktiver Substanz, bei der die Grenzfläche vollständig mit dieser belegt ist. Wenn die Konzentration größer ist als die CMC, sinkt die Grenzflächenspannung nicht weiter ab, da sich die grenzflächenaktiven Moleküle in der wässrigen Phase zu Mizellen zusammenlagern. Die Aggregation zu Mizellen ist hier der energetisch optimale

Zustand, da die Freie Energie im System auf ein Minimum reduziert wird.

Um die CMC des QS-Extrakts zu bestimmen, wird die Grenzflächenspannung von wässrigen Lösungen mit unterschiedlichen QS-Konzentrationen gemessen. Diese Messungen können schnell und einfach mit der Pendant-Drop-Methode am OCA Tropfenkonturanalysesystem durchgeführt werden.

Die Grenzflächenspannungsmessung liefert erwiesenermaßen vergleichbare Ergebnisse wie deutlich aufwendigere CMC-Bestimmungsmethoden, z.B. die Solubilisierung von Farbstoffen und Streulichtmethoden (Wan & Lee, 1974).

Methode

Es werden jeweils eine gepufferte und eine ungepufferte QS-Stammlösung hergestellt und diese anschließend auf geeignete Konzentrationen verdünnt. Die Bestimmung der Grenzflächenspannung der verdünnten QS-Lösungen

erfolgt an der Luft/Wasser und an der Öl/Wasser-Grenzfläche. Als Ölphase wird in diesem Fall aufgereinigtes MCT-Öl verwendet, welches mittels aktivierten Magnesiumsilicats von grenzflächenaktiven Substanzen befreit wurde. Zur Messung der Grenzflächenspannung wird das optische Tropfenkonturanalysesystem OCA 20 verwendet. Für die Messung wird eine Spritze mit verdünnter QS-Lösung gefüllt und in die automatische Dosiereinheit SD-DM eingespannt.

In der SCA Software werden die benötigten Messparameter für die Messung eingegeben, nämlich der Durchmesser der verwendeten Nadel und die Dichte der beteiligten Phasen. Die Dichte wird entweder zuvor mit einem passenden Dichtemessgerät ermittelt oder aus der internen Datenbank ausgewählt.

An der mit QS-Lösung gefüllten Spritze befindet sich eine Nadel, an deren Spitze ein kleiner Tropfen der QS-Lösung

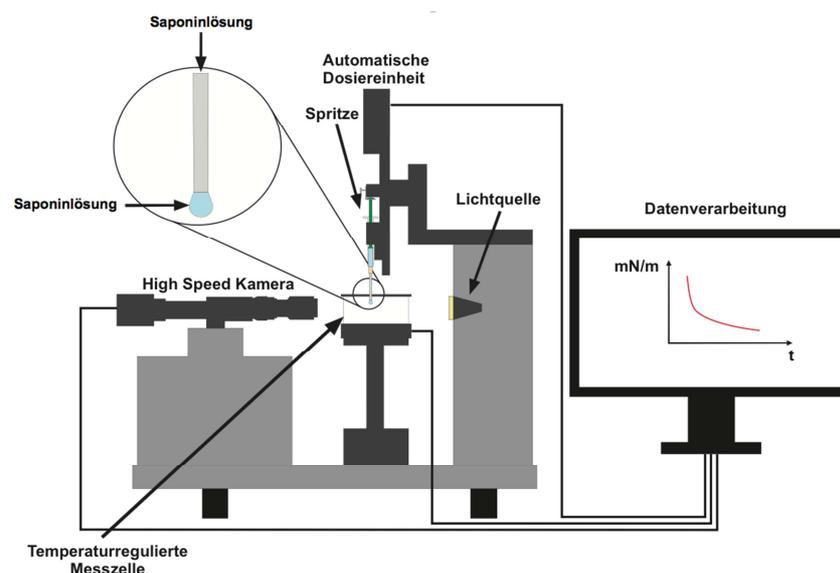


Abbildung 1: Optisches Tropfenkonturanalysesystem OCA mit automatischer Dosiereinheit (Tamm, Sauer, Scampicchio, & Drusch, 2012).

erzeugt wird. Für Messungen an der Öl/Wasser-Grenzfläche wird der Tropfen innerhalb der MCT-Ölphase erzeugt, die sich in einer Quarzglasküvette befindet. Bei Messungen an der Luft/Wasser-Grenzfläche tritt häufig Verdunstung auf, daher wird der Tropfen der QS-Lösung im Kopfraum einer zu einem Drittel mit destilliertem Wasser gefüllten und mit Parafilm verschlossenen Plastikküvette erzeugt. Alle Küvetten befinden sich während der Messung in einer temperierten Messzelle (siehe Abbildung 1).

Die Änderung der Tropfenform wird bis zum Erreichen des Gleichgewichtszustandes beobachtet (etwa 30 min). Anhand der Tropfenform kann mit der Young-Laplace Gleichung die Grenzflächenspannung γ der QS-Lösung berechnet werden

$$\Delta P = \gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right).$$

Hier sind R_1 und R_2 die beiden Hauptkrümmungsradien der Tropfenoberfläche und ΔP der Druckunterschied der beiden angrenzenden Phasen an der Oberfläche (Runke, Song, & Springer, 1994). Es sollte darauf geachtet werden, dass der Tropfen keine kugelförmige Gestalt annimmt, sondern die charakteristische Form eines hängenden Tropfens aufweist.

Vor der Probenmessung kann die Abwesenheit von grenzflächenaktiven Substanzen im System geprüft werden, indem ein Tropfen destilliertes Wasser für die Dauer von 60 Minuten gemessen wird. Die Grenzflächenspannung sollte während der Messzeit nicht sinken (Wüstneck, Moser, & Muschiolik, 1999).

Ergebnisse

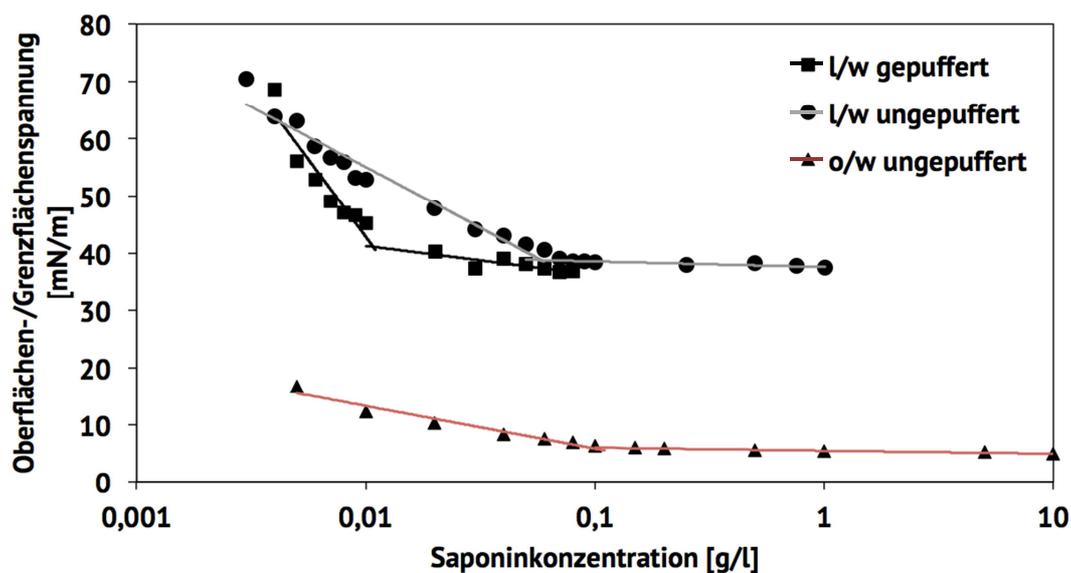


Abbildung 2: Grenzflächenspannung der gepufferten und ungepufferten QS-Lösungen an der Luft/Wasser (l/w) und Öl/Wasser-Grenzfläche (o/w). Die Linien sind Regressionsgeraden und deren jeweilige Schnittpunkte sind die CMC-Werte der einzelnen Lösungen. (Tippel et al., Manuskript eingereicht)

Bereits bei geringen Konzentrationen senkt QS die Grenzflächenspannung deutlich (siehe Abbildung 2).

Der Knick in der Kurve Gleichgewichts-Grenzflächenspannung in Abhängigkeit der Saponinkonzentration entspricht der CMC. Für die exakte Bestimmung werden zwei Regressionsgeraden z.B. in Microsoft Excel ermittelt. Eine der Kurven erfasst die Messpunkte bei hohen Saponinkonzentrationen. In diesem Bereich ist die Gleichgewichts-Grenzflächenspannung konstant. Die zweite Regressionsgerade umfasst die Messpunkte, bei denen die Gleichgewichts-Grenzflächenspannung mit steigender Saponinkonzentration abnimmt. Die Berechnung des Schnittpunktes beider Geraden ergibt die CMC.

Es ist zu sehen, dass die CMC der QS-Lösung stark vom Medium abhängig ist (siehe Abbildung 2). An der Luft/Wasser-Grenzfläche ist die CMC der gepufferten QS-Lösung (0,01 g/l) niedriger als die der ungepufferten QS-Lösung (0,05 g/l). Die vorhandenen Ionen schirmen die geladenen Carboxyl-Gruppen der Glukuronsäure in den hydrophilen Ketten der Saponinmoleküle ab und erleichtern die Aggregation dieser zu Mizellen.

An der Öl/Wasser-Grenzfläche wurde eine höhere CMC (0,09 g/l) und eine vergleichsweise niedrigere Gleichgewichts-Grenzflächenspannung im Vergleich zur Luft/Wasser-Grenzfläche ermittelt. Diese Ergebnisse zeigen, dass mehr QS an die Öl/Wasser-Grenzfläche adsorbiert.

Zusammenfassung

Die Pendant-Drop-Methode des Tropfenkonturanalysesystems OCA 20 von DataPhysics Instruments ist eine einfache, schnelle und sichere Methode um die kritische Mizellbildungskonzentration (CMC) eines saponinreichen Extrakts zu bestimmen. Es sind Messungen mit verschiedenen Puffersystemen sowie Messungen an der Luft/Wasser und an der Öl/Wasser-Grenzfläche möglich.

Literaturverzeichnis

- Runke, T., Song, B., & Springer, J. (1994). Surface- and interfacial tensions of liquid crystalline polymers.pdf. *Berichte Der Bunsengesellschaft Für Physikalische Chemie*, 98(3), 508–511.
- Tamm, F., Sauer, G., Scampicchio, M., & Drusch, S. (2012). Pendant drop tensiometry for the evaluation of the foaming properties of milk-derived proteins. *Food Hydrocolloids*, 27(2), 371–377.
- Wan, L. S. C., & Lee, P. F. S. (1974). CMC of polysorbates. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 63(1), 136–137.
- Wüstneck, R., Moser, B., & Muschiolik, G. (1999). Interfacial dilational behaviour of adsorbed β -lactoglobulin layers at the different fluid interfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 15(3-4), 263–273.