

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Systemverfahrenstechnik

Druckinduzierte Phasenübergänge in Nahrungsfetten

Peter Ferstl

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktor-Ingenieurs

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. R. F. Vogel

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. W. Ruß
2. Univ.-Prof. Dr. A. Wierschem
(Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg)
3. Univ.-Prof. Dr. H.-Chr. Langowski

Die Dissertation wurde am 29.10.2009 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 24.03.2010 angenommen.

Danksagung

Lieber Leser, mein Dank gilt zuerst Ihnen. Dadurch, dass Sie sich Zeit nehmen meine Arbeit zu lesen, machen Sie mich glücklich. Während der Anfertigung ist die Hoffnung immer da, andere Menschen für die eigene Forschung interessieren zu können. Durch die Wahl Ihrer Lektüre hoffe ich jetzt damit nicht ganz falsch gelegen zu sein.

Alleine wäre mir diese Arbeit nicht möglich gewesen und ich bin dankbar für die Unterstützung die ich in den letzten Jahren erfahren habe:

- PD Dr.-Ing. Winfried Ruß gilt als meinem Doktorvater mein besonderer Dank. Seine Unterstützung hat mir die Promotion erst ermöglicht.
- Univ.-Prof. Dr. rer. nat. habil Andreas Wierschem war weit mehr als nur Zweitprüfer. Seine Impulse haben diese Arbeit entscheidend gestaltet.
- Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Horst-Christian Langowski für seine Bereitschaft zum Prüfen.
- Univ.-Prof. Dr. rer. nat. habil. Rudi F. Vogel für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.
- Dr. rer. nat. Cornelia Eder hatte die ursprüngliche Idee für dieses Forschungsfeld und ich bin dankbar für zahlreichen Anregungen und ein stets offenes Ohr für alle Anliegen.
- Den Studierenden Andreas Balle, Christoph Dürr, Sebastian Gillig, Andreas Hillenbrand und Christoph Kaufmann, die mich im Labor tatkräftig unterstützt haben.
- Den Mitarbeitern der Lehrstuhlwerkstatt Thilo Niessen, Josef Rohrer, Richard Siegmund und Walter Seidl für unzählige Stunden Einsatz zur Instandhaltung der Hochdruckanlage.
- Hermine Kienberger und Dipl.-Ing. Jürgen Danier von der Abteilung Bioanalytik in Weihenstephan für die Durchführung zahlreicher GC-Messungen.
- Meiner Frau und meinen Eltern für den notwendigen Rückhalt in den letzten Jahren.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	5
2 Grundlagen.....	9
2.1 Aufbau von Nahrungsfetten.....	9
2.2 Polymorphismus von Fetten.....	13
2.3 Thermodynamische Zusammenhänge beim Phasenübergang.....	18
2.4 Kinetiken der Fettkristallisation.....	28
2.5 Etablierte Techniken zur Untersuchung des Phasenüberganges.....	37
3 Material & Methoden.....	45
3.1 Probenmaterial.....	45
3.2 Versuchsaufbau.....	47
4 Entwicklung von optischen Messmethoden zur Untersuchung von Fettkristallen unter Hochdruck.....	50
4.1 Hochdruckpolarisationsmikroskop.....	50
4.2 Hochdruckturbidimetrie und -nephelometrie.....	54
5 Messungen mit Hochdruckturbidimetrie, -nephelometrie und - polarisationsmikroskopie.....	58
5.1 Schmelzpunkt.....	58
5.2 Kristallwachstum.....	65
5.3 Induktionszeit.....	70
6 Diskussion.....	77
6.1 Schmelzpunkt.....	77
6.2 Kristallwachstum.....	80
6.3 Induktionszeit.....	81
7 Zusammenfassung.....	86

8 Summary	89
9 Literaturverzeichnis.....	92
10 Abbildungsverzeichnis	99
11 Tabellenverzeichnis	102
12 Anhang	103

1 Einleitung

Temperaturinduzierte Phasenübergänge in Nahrungsfetten, wie das Schmelzen von Butter sind für uns alltägliche Erscheinungen. Die Änderung des Aggregatzustandes von fest nach flüssig und umgekehrt sind auf makroskopischer Ebene oft leicht zu beobachten und mitzuverfolgen. Natürlich vorkommende Fette sind Mischungen von Triacylglyceriden (TAGs). Diese TAGs bestehen jeweils aus einem Glycerinmolekül, das mit drei Fettsäuren verestert ist. Die genaue Fettsäurekomposition ist dabei typisch für das jeweilige Ausgangsmaterial. Bei dem Multikomponentensystem Butter resultiert dies in einem Schmelzbereich anstelle eines präzisen Schmelzpunktes. Da die Fettkristallisation für die Lebensmittelindustrie eine wichtige Rolle spielt, ist sie seit langem Gegenstand zahlreicher Forschungen [Afoakwa *et al.* 2009, Mazzanti *et al.* 2009, Sato 2001, Marangoni 2005]. Viele komplexe Einflussfaktoren wurden dabei herausgearbeitet, erschwert durch die polymorphe Eigenart des Stoffes.

Polymorphismus, zu Deutsch Vielgestaltigkeit, bezeichnet bei Fetten die Möglichkeit in verschiedenen kristallinen Strukturen zu erstarren. Bei Lebensmitteln hat der polymorphe Zustand Auswirkungen auf das Geschmackserlebnis des Konsumenten. Ein Schokoriegel, der im Sommer im Auto vergessen wird, ist im Vergleich zu einem unbehandelten organoleptisch benachteiligt, da er ein oft als sandig empfundenenes Mundgefühl hervorruft. Für den Schokoladengeschmack ist der enthaltene Zucker ausschlaggebend, der gewichtsmäßig auch den größten prozentualen Anteil hat. Für das Schmelzverhalten ist jedoch der volumenmäßig größere Fettanteil entscheidend. Angestrebt ist ein Schmelzen der Schokolade bei der Körpertemperatur im Mund. Der vergessene Schokoriegel erfährt im Auto aber eine ungewollte Temperaturbehandlung, die Auswirkungen auf die Fettkristallstruktur hat. Durch

Schmelzen und Rekristallisation in einer polymorphen Form mit höherem Schmelzpunkt ruft die Schokolade dieses sandige Empfinden beim Verzehr hervor.

Da bei natürlichen Fetten kein Reinstoff in einem Lösungsmittel vorliegt, erübrigen sich konventionelle Kristallisationsbehandlungen, die auf eine Übersättigung abzielen. Der am häufigsten verwendete Ansatz, den Antrieb einer Kristallisation zu untersuchen, stellt das Konzept des Supercoolings dar. Dabei wird ein flüssiges Fett verschieden stark unter den Gefrierpunkt abgekühlt und das zeitliche Verhalten des Phasenüberganges untersucht. Entsprechende Forschungen beschränken sich fast ausschließlich auf atmosphärische Druckbereiche. Als Antrieb der Verfestigung ist anstelle der Temperaturabsenkung aber auch eine Druckerhöhung möglich.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung von „Superpressuring“, eines druckinduzierten Phasenüberganges und dessen Analogien und Abgrenzungen zum temperaturinduzierten Phasenübergang. Da die Haltbarmachung von Lebensmitteln durch die Applikation hoher hydrostatischer Drücke ein immer größeres Anwendungsfeld findet, ist auch das Phasenverhalten der einzelnen Lebensmittelinhaltsstoffe während der Druckbeaufschlagung wichtig. Bei Lipiden korreliert eine Druckerhöhung immer mit einer Temperaturerhöhung des Schmelzpunktes. Verschiedene Fette wurden dahingehend untersucht, z.B. Kakaobutter bis 200 MPa [Yasuda & Mochizuki 1992], Sojaöl [Cheffel 1992], Triarachidin bis 200 MPa [Masberg 1999] und Triolein bis 260 MPa [Pehl 2004]. Eine kinetische Beschreibung des Phasenüberganges von Fetten unter Druck erfolgte für Trilaurin bis 200 MPa [Yokoyama *et al.* 1998], Milchprodukte mit verschiedenen Fettgehalten [Catherine *et al.* 2009, Buchheim & Abou El-Nour 1992] und Ölsäuren [Siegoczyński *et al.* 2007].

In der vorliegenden Arbeit wird zuerst auf die Grundlagen von TAGs eingegangen. Dabei wird auf deren Aufbau fokussiert und auf die verschiedenen polymorphen

Erstarrungsformen von TAGs bei atmosphärischem Druck. Bisherige Erkenntnisse und thermodynamische Überlegungen auf dem Gebiet Hochdruck und TAGs werden vorgestellt. Etablierte Messverfahren zur Untersuchung von Phasenübergängen bei TAGs unter atmosphärischem Druck und deren Anwendbarkeit im Hochdruckbereich werden diskutiert. Das Ziel dieser Arbeit, Detektion von Kristallkeimbildung und Untersuchung des Kristallwachstums unter hohen hydrostatischen Drücken bis zu 450 MPa scheint generell mit einem optischen Versuchsaufbau am besten realisieren zu sein. Auftretende Veränderungen können dabei in-situ detektiert werden, da Fettkristalle direkt observiert werden. Im Gegensatz dazu bergen andere Messmethoden die Gefahr einer inherenten Verzögerung. Da geeignete Apparate für die beabsichtigten Druckbereiche nicht kommerziell erwerblich sind, stellt die entsprechende Methodenentwicklung einen essentiellen Teil dieser Arbeit dar.

Für die Bestimmung von Schmelzpunkten wird ein Hochdruckpolarisationsmikroskop entwickelt, mit dem auch Kristallkeimbildung und -wachstum verfolgt werden können. Ein weiterer Versuchsaufbau realisiert die Hochdruckturbidimetrie und -nephelometrie zur Untersuchung von Kristallkeimbildung. Beide Versuchsaufbauten werden speziell für diese Arbeit entwickelt und kamen zur Untersuchung von TAGs in so hohen Druckbereichen bisher noch nicht zum Einsatz. Für die Untersuchungen werden Reinstoffe (Triolein und Trilaurin) und fünf Speiseöle verwendet.

Da eigens für diese Messungen neue Methoden erstellt wurden, werden im Ergebnisteil zunächst diese neuen Entwicklungen vorgestellt. Die In-situ-Beobachtungen des Phasenüberganges zeigen zuerst die Ergebnisse der Schmelzpunktbestimmung von Triolein. Dabei wird im Gegensatz zu bisherigen Untersuchungen ein nicht-linearer Zusammenhang deutlich. Die Kristallkeimbildung wird mit der Induktionszeit beschrieben, der Verzögerung zwischen dem Erreichen der Phasengrenzlinie und dem Eintreten einer messbaren Kristallisation. Bei allen

untersuchten Stoffen verkürzt steigender Druck die Induktionszeit überproportional stark. Auch unter Druck verzögert eine erhöhte Temperatur den Beginn der Nukleation.

In der Diskussion werden Gemeinsamkeiten zwischen Supercooling und Superpressuring herausgearbeitet. Die Messdaten zeigen starke Analogien zwischen den Antriebskräften Druckerhöhung und Temperaturerniedrigung. Dies legt die Entstehung verschiedener polymorpher Strukturen in einem TAG durch Variation der Druckapplikation nahe. Durch geeignete Parameterwahl in Hochdruckbehandlungen könnten dadurch gezielt polymorphe Strukturen im Lebensmittel generiert werden.

2 Grundlagen

2.1 Aufbau von Nahrungsfetten

Nahrungsfette gehören zur Stoffgruppe der Lipide. Zu diesen zählen sowohl einfache als auch aus mehreren Bausteinen bestehende Substanzen, die bis auf eine sehr ausgeprägte Hydrophobität und das daraus resultierende Lösungsverhalten keine strukturellen Ähnlichkeiten besitzen. Die einzige Gemeinsamkeit aller Lipide besteht darin, dass sie nur in organischen Lösungsmitteln, nicht aber in Wasser löslich sind. Bestimmte Lipide sind am Aufbau von Membranen beteiligt, die der Begrenzung von Zellen und von subzellulären Elementen dienen. Lipide kommen deshalb in sämtlichen Lebensmittelrohstoffen vor, doch beträgt ihr Anteil oft weniger als 2 %. Die Lipide verdienen aber auch als Nebenbestandteile von Lebensmitteln besondere Beachtung, da sich ihre hohe Reaktivität auf die Qualität eines Lebensmittels auswirkt.

Grob können die Lipide in zwei Gruppen unterteilt werden. Zum einen in die Klasse der Polyprenylverbindungen, die vom Grundbaustein Isopren abstammen. Diese Klasse wird wiederum aufgespaltet in Steroide, fettlösliche Vitamine und andere Terpene. Zur anderen, größeren Gruppe der Lipide, gehören die Fettsäuren, die ebenso wieder unterteilt werden in Wachse, Eicosanoide und Triacylglyceride (TAGs). Diese TAGs, umgangssprachlich in Abhängigkeit des Aggregatzustandes bei Raumtemperatur als Fette oder Öle bezeichnet, haben quantitativ die größte Bedeutung innerhalb der Gruppe der Lipide. In Organen einiger Pflanzen und in bestimmten tierischen Geweben werden insbesondere die TAGs gespeichert, die im tierischen Organismus den Energiespeicher darstellen und deshalb auch als Speicherlipide bezeichnet werden. Der mit 37 kJ/g bzw. 9 kcal/g hohe Brennwert der

TAGs hat ebenso wie das Vorkommen von essentiellen Fettsäuren und Vitaminen eine große ernährungsphysiologische Bedeutung innerhalb der Gruppe der Lipide. Auch sind die TAGs durch bestimmte Eigenschaften wie das Schmelzverhalten, den angenehm sahnigen oder ölfettigen Geschmack und das Lösungsvermögen für bestimmte Geruchs- und Geschmacksstoffe unentbehrlich für die Zubereitung und Herstellung von Lebensmitteln. Für das Erlangen einer gewünschten Konsistenz, eines spezifischen Mundgefühls und eines bestimmten Aromas sind diese Eigenschaften ausschlaggebend. Die richtige Konsistenz kann durch optimale Ausnutzung der gewünschten Kristallstruktur erzielt werden. Da TAGs Gegenstand dieser Arbeit sind, wird im Folgenden nur auf diese Lipide eingegangen.

Chemisch gesehen handelt es sich bei einem TAG um ein Glycerinmolekül, das mit drei Fettsäuren verestert ist. Der Aufbau ist in Abbildung 1 dargestellt. TAGs mit veresterten Fettsäuren sind nach diesen benannt.

Die Fettsäuren können gesättigt wie auch ungesättigt sein und haben 4 bis 36 Kohlenstoffatome. Die ungesättigten Fettsäuren haben im Vergleich zu den gesättigten eine oder mehrere Doppelbindungen innerhalb der Kohlenwasserstoffkette. In Tabelle 1 sind einige wichtige Fettsäuren, ihre Trivialnamen und ihre systematischen Namen aufgeführt.

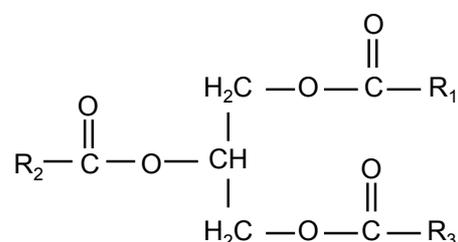


Abbildung 1: Allgemeiner Aufbau eines Triacylglycerids (R = Fettsäurerest)

Tabelle 1: Charakteristische Fettsäuren in Lebensmitteln nach [Belitz et al. 2001]

Trivialname	Systematischer Name	Kurz	Struktur
Gesättigte Fettsäuren			
Laurinsäure	Dodecansäure	12:00	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -COOH
Myristinsäure	Tetradecansäure	14:00	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -COOH
Palmitinsäure	Hexadecansäure	16:00	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -COOH
Stearinsäure	Octadecansäure	18:00	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH
Arachinsäure	Eicosansäure	20:00	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -COOH

Ungesättigte Fettsäuren (mit cis-Konfiguration)

Palmitoleinsäure	9-Hexadecensäure	16:01	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
Ölsäure	9-Octadecensäure	18:01	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
Linolsäure	9,12,- Octadecadiensäure	18:02	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₂ (CH ₂) ₆ COOH
α-Linolensäure	9,12,15- Octadecatriensäure	18:03	CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₃ (CH ₂) ₆ COOH

Für natürliche TAGs ist es eher ungewöhnlich, dreimal mit der gleichen Fettsäure verestert zu sein. Ausnahmen hierfür sind Triolein in Olivenöl, das drei Ölsäuren als Seitenketten besitzt, oder Trilaurin in Milch, das mit drei Laurinsäuren verestert ist. In der Regel stellen zwei oder drei verschiedene Säurereste die Seitenketten. Die Anzahl an möglichen TAGs steigt dabei sehr rasch mit den zur Verfügung stehenden Fettsäuren. Durch die Chiralität sind bei zwei Säuren acht verschiedene TAGs möglich, bei drei Säuren 27. Die Zunahme an möglichen TAGs ist in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: Beziehung zwischen Anzahl Fettsäuren und Anzahl daraus möglichen synthetisierten TAGs, adaptiert von [Gunstone 1997]

	Anzahl von Fettsäuren			
	5	10	20	n
Mögliche Anzahl verschiedener TAGs bei				
Unterscheidung aller Isomere	125	1000	8000	n^3
Ohne Unterscheidung von Enantiomeren	75	400	4200	$(n^3+n^2)/2$
Ohne Unterscheidung von Isomeren	35	220	1540	$(n^3+3n^2+2n)/6$

Die physikalischen Eigenschaften eines Fettes werden durch die Kettenlängen und besonders durch die Häufigkeit von C=C-Doppelbindungen in den Fettsäureresten beeinflusst. Bei Fetten aus unbehandelten, natürlichen Rohstoffen treten dabei Doppelbindungen fast ausschließlich in der cis-Konfiguration auf. Enthält eine Fettsäure mehrere Doppelbindungen, so sind sie in der Regel durch eine Methylengruppe (-CH₂-) voneinander getrennt. Das bei gesättigten Fettsäuren gestreckte Molekül kann um jede C-C-Bindung frei rotieren und ist dadurch sehr flexibel. Im Falle einer cis-Doppelbindung erhält die Fettsäure in diesem Bereich einen starren Knick in der Kohlenwasserstoffkette. Diese entstandenen Knicke führen in 3-dimensionaler Betrachtung zu einer Verringerung der Oberfläche. Dadurch ist die resultierende Van-der-Waals-Kraft geringer, was zu einer Erniedrigung des Schmelzpunktes führt. Natürliche Fette enthalten meist unterschiedliche Fettsäuren und stellen immer ein Gemisch verschiedener, klar definierter Fette mit einheitlicher molekularer Struktur dar. Daher besitzen sie keinen scharfen Schmelzpunkt, sondern einen Schmelzbereich. Mit steigender Kettenlänge und abnehmender Anzahl an Doppelbindungen zwischen den Kohlenstoffatomen der Kette steigt die Schmelztemperatur. Die festen Produkte enthalten hohe Anteile langer und

gesättigter Fettsäuren, wohingegen die Fettsäuren in den flüssigen Ölen überwiegend einfach oder mehrfach ungesättigt sind. Beim Erhitzen zersetzen sich Fette zum Teil bereits unterhalb ihres Siedepunktes.

Neben der cis-Doppelbindung gibt es auch noch die trans-Konfiguration, die durch Umlagerungen von Doppelbindungen verursacht werden kann. Gründe dafür können die Hydrierung und die intensive thermische Behandlung von Produkten sein. Trans-Fettsäuren sind in Lebensmitteln unerwünscht, da sie gesundheitlich bedenklich sind [Belitz *et al.* 2001, Biesalski & Grimm 2004, Nelson *et al.* 2001, Königshoff 2007].

2.2 Polymorphismus von Fetten

Die Existenz einer Vielzahl unterschiedlicher kristalliner Strukturen ist eine charakteristische Eigenschaft aller Lipide [Gunstone 1994]. Dies resultiert daraus, dass es eine Fülle von Möglichkeiten gibt, die langen Hydrocarbonstränge in ein Kristallgitter zu packen. Dieses Phänomen wird als Polymorphismus bezeichnet, wobei jeder einzelne unterschiedliche Kristall einer Substanz als polymorphe Form bezeichnet wird. TAGs weisen dabei monotropisches Verhalten auf, das heißt es existiert in einem Temperatur- und Druckbereich immer nur eine thermodynamisch stabile Form. Polymorphismus bei TAGs wurde erstmals 1853 beobachtet [Duffy 1853], konnte allerdings erst in den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts erklärt werden [Chapman 1962, Larsson 1964]. Es existieren drei polymorphe Hauptformen, welche durch ihre Stabilität und Dichtigkeit des Kristallgitters charakterisiert werden. Diese sind die α -, die β' - und die β -Form. Neben diesen existieren bei manchen TAGs noch sehr instabile γ -Konfigurationen und Unterklassen der polymorphen Hauptformen [Simpson & Hagemann 1982, Simpson *et al.* 1984].

Wenn TAGs kristallisieren, schmiegen sich die Ketten aneinander, um die Van-der-Waals-Kräfte zu maximieren. Abbildung 2 zeigt die beiden bekannten Modifikationen, die dadurch entstehen können.

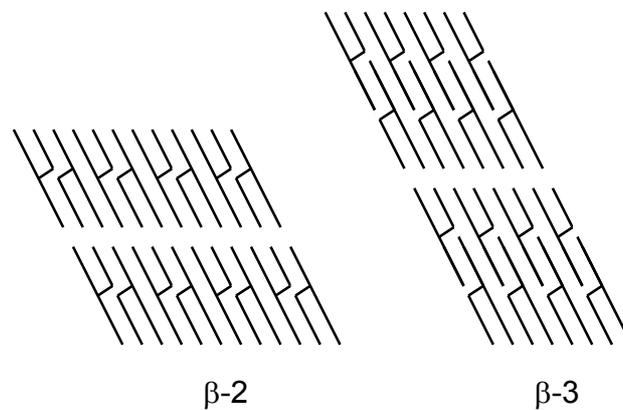


Abbildung 2: Schematische β -2 und β -3 Anordnung von TAGs, adaptiert von [De Jong 1980]

Die β -2-Modifikation stellt dabei die wesentlich stabilere Form dar. Die β -3-Modifikation wurde nur in TAGs nachgewiesen, in denen die eigentlich stabilere β -2-Modifikation die energetisch ungünstigere darstellt. Dies sind vor allem TAGs, die Fettsäuren mit cis-Doppelbindung enthalten, und TAGs, bei denen sich die Kettenlänge der Fettsäuren um mehr als sechs Methylgruppen unterscheidet.

Werden nur zwei der TAGs nebeneinander betrachtet, so kann diese Darstellung als Baueinheit definiert werden. Des Weiteren wird je eine Ethyleneinheit benachbarter Ketten als Subzelle definiert, wie in Abbildung 3 illustriert.

Im Folgenden sind die zweidimensionalen Darstellungen der α -, β' -, β -Subzellen aufgezeigt, wobei auch auf deren Charakteristika eingegangen wird [Gunstone 1994, Wesdorp 1990, Blaurock 1999, Himawan *et al.* 2006, Hernqvist 1988]:

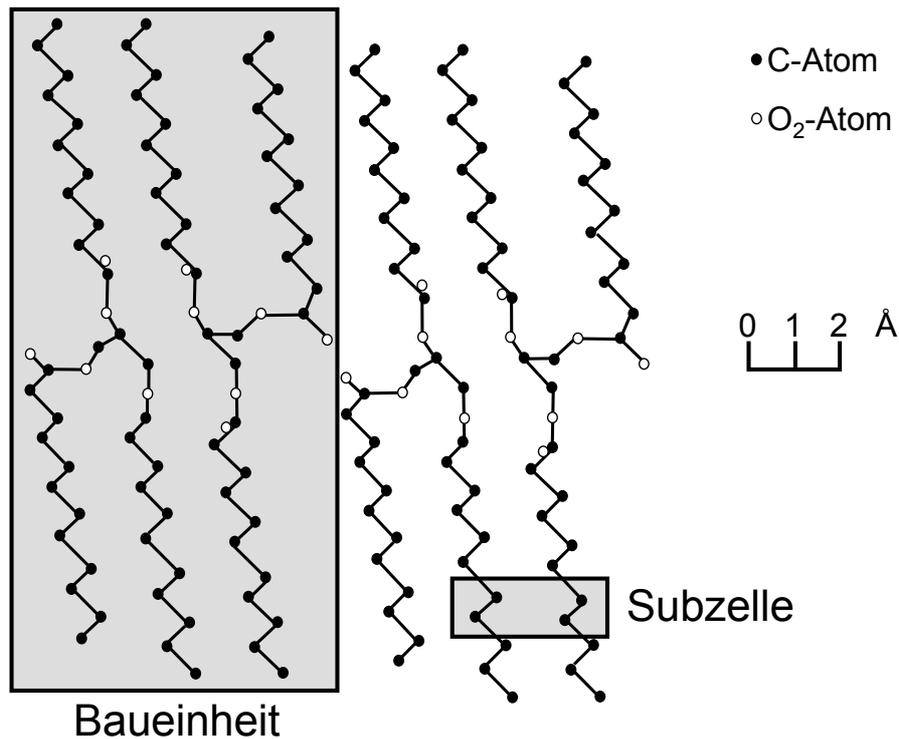


Abbildung 3: Schematische Darstellung einer TAG Baueinheit und einer Subzelle adaptiert von [Marangoni 2005]

Die gebildete Struktur eines α -Kristalls stellt einen hexagonalen Komplex dar (Abbildung 5). Kristallisiert ein Lipid in der α -Form, entstehen sehr kleine und runde Kristalle, welche relativ hohe Grenzflächenaktivität aufweisen. Die Fettsäureketten sind nur wenig geordnet, ähnlich wie im flüssigen Zustand, und besitzen Rotationsfreiheit. Dies bedingt den niedrigsten Schmelzpunkt dieses Polymorphs. Die α -Form ist sehr instabil und entsteht meist nur während eines Prozesses bzw. während der Kristallbildung. Durch die geringe Lebenszeit dieser Modifikation von weniger als einer Minute ist es auszuschließen, diese in Lebensmitteln vorzufinden. Die möglichen Umwandlungsprozesse sind in Abbildung 4 dargestellt [Hernqvist 1988].

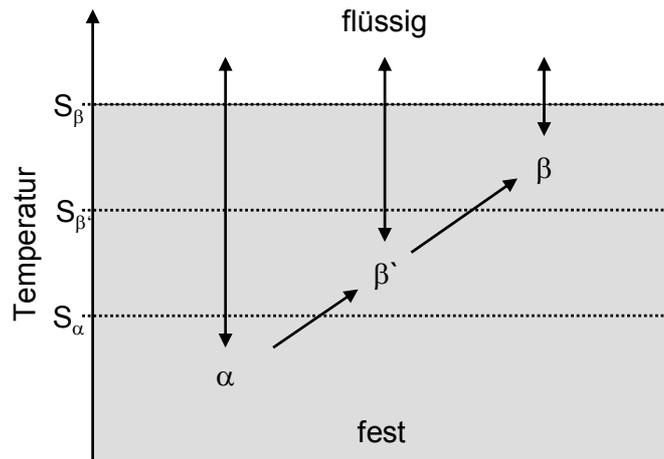


Abbildung 4: Polymorphe Kristallisationswege in TAGs mit Darstellung des jeweiligen Schmelzpunktes S

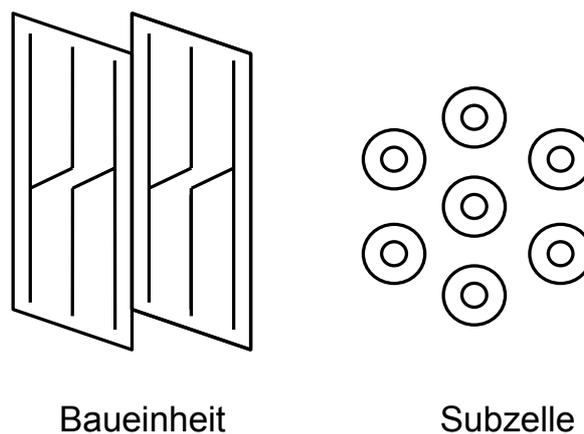


Abbildung 5: Schematische Darstellung eines α -Kristalls, adaptiert von [Wesdorp 1990]

Abbildung 6 zeigt die schematische Darstellung der β' -Form. Diese stellt den nächst stabileren Polymorphen dar. β' -Kristalle bilden ein wesentlich feineres Netzwerk als α -Kristalle aus, welches eine glatte und weiche Struktur besitzt. Die Ethyleneinheiten der Fettsäureketten sind zentralorthorhombisch ausgerichtet. Dabei sind jeweils vier Kettenebenen parallel zueinander angeordnet. In ihrer Mitte befindet sich eine weitere Kohlenwasserstoffkette, die senkrecht zu den anderen steht. Dies bewirkt, dass diese Packweise sehr viel Zwischenraum zulässt. Die Lebensdauer dieser

Modifikation kann, abhängig von den Lagerungsbedingungen, bis zu mehreren Jahren betragen. In fetthaltigen Lebensmitteln stellt sie die gewünschte Lagerkonfiguration dar [Blaurock 1999, Marangoni 2005].

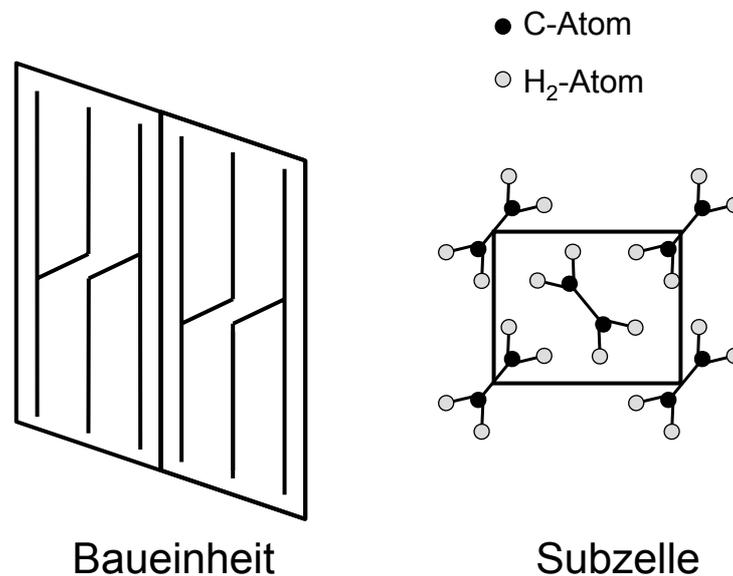


Abbildung 6: Schematische Darstellung eines β' -Kristalls, adaptiert von [Wesdorp 1990]

Die stabilste Form ist die β -Form (Abbildung 7). Diese ist charakterisiert durch größere, plattenähnlich geschichtete Kristalle, die oft eine komplexe Morphologie zeigen und Cluster bilden. Hier sind die Subzellen triklin angeordnet. Das bedeutet, dass alle Kettenebenen parallel zueinander stehen, was die dichteste Packung ermöglicht. Damit kann jede Kette mit ihrer Nachbarkette eine Bindung eingehen. Das bedingt die festeste Struktur und den höchsten Schmelzpunkt. Dieser Zustand wird in Lebensmitteln nicht gewünscht, da er meist ein sandiges Mundgefühl hervorruft. Wegen der größeren Kristalle dieses Polymorphs wird dieser Zustand jedoch gezielt gebildet, um eine Fraktionierung zu erleichtern. Die möglichen Umwandlungsprozesse sind in Abbildung 4 dargestellt [Hernqvist 1988, Himawan *et al.* 2006].

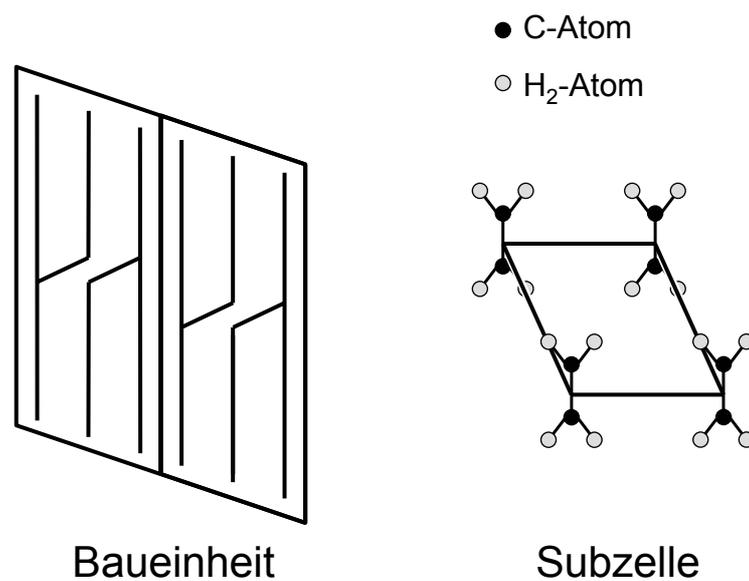


Abbildung 7: Schematische Darstellung eines β -Kristalls, adaptiert von [Wesdorp 1990]

Jede der Strukturen hat einen spezifischen Schmelzpunkt und durch geeignete Temperaturbehandlungen können polymorphe Zustände gezielt generiert werden [Blaurock 1999]. Anstelle von Temperaturänderungen sollten sich diese Strukturen aber auch durch Druckbehandlungen erzeugen lassen, da der Antrieb „Supercooling“ auch durch „Superpressuring“ erreicht werden sollte.

2.3 Thermodynamische Zusammenhänge beim Phasenübergang

Über thermodynamische Beziehungen beeinflussen die Zustandsgrößen Druck und Temperatur ein System. Ausführlichere Darstellungen sowie Übersichtsarbeiten zu den thermodynamischen Grundlagen geben z.B. [Atkins & Paula 2006] oder [Hamann 1957]. Den Einfluss hoher hydrostatischer Drücke auf das chemische Gleichgewicht und die Geschwindigkeitskonstante einer Reaktion beschreiben unter anderem [Fischer 2005] und [Först 2001].

Die Zustandsgrößen Druck p , Temperatur T und Volumen V legen den Zustand einer Flüssigkeit genau fest. Das bedeutet, dass ein System bei einer bestimmten Temperatur und einem bestimmten Volumen nur einen bestimmten Druck haben kann ($p = f(V, T)$). Während sich der Zustand idealer Gase über das ideale Gasgesetz und der realer Gase über das Van-der-Waals-Gesetz beschreiben lässt, existiert für Flüssigkeiten keine allgemeine Zustandsgleichung. Die Ursache hierfür liegt in der Komplexität der intermolekularen Wechselwirkungen und Molekülgestalten.

Repräsentativ für alle TAGs zeigt Abbildung 8 die Abhängigkeit der Dichte ρ von Triolein vom Druck bei verschiedenen Temperaturen. Die Beziehung zwischen Druck und Dichte kann für schwer kompressible Medien gut durch eine Tait'sche Gleichung beschrieben werden. Dabei kann die Druckabhängigkeit von ρ von Triolein bei konstanter Temperatur mit einer Genauigkeit von 1,3 % angefitet werden:

$$\rho(p) = \rho_0 \frac{1}{1 - B \ln \frac{A + p}{A + p_0}} \quad (1)$$

Dabei steht ρ_0 für die Dichte beim Umgebungsdruck p_0 . B und A sind Modellparameter, wobei A im Gegensatz zu B temperaturabhängig ist.

Die hier abgebildete Extrapolation der Messdaten über den Messbereich von 144 MPa hinaus ist durchaus kritisch zu sehen, aber auf Grund fehlender Messdaten für Öle unter Druck durchaus verbreitete Praxis [Werner 2008].

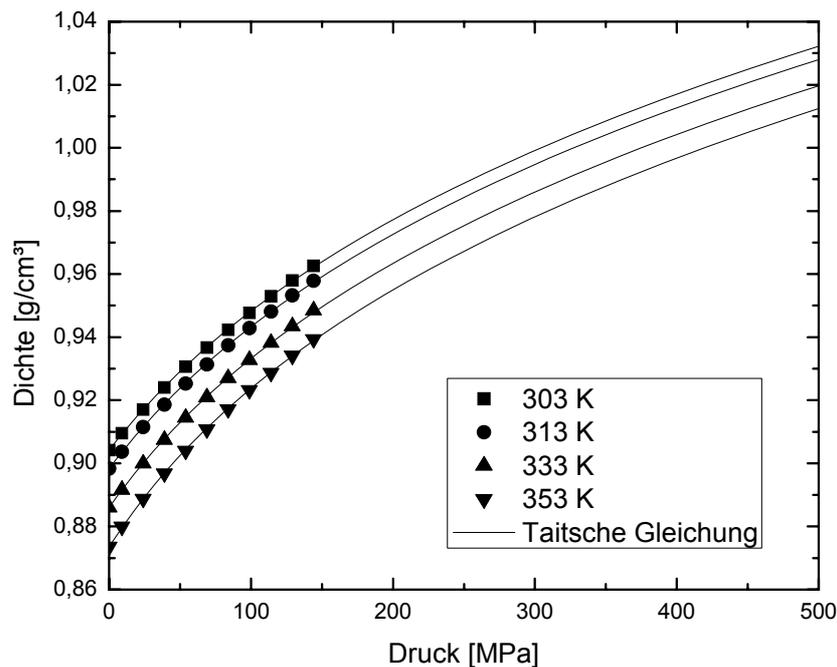


Abbildung 8: Druckabhängigkeit der Dichte von Triolein nach Daten von [Acosta *et al.* 1996]

Die isotherme Kompressibilität κ_T beschreibt die druckabhängige Volumenänderung ($\partial V/\partial p$) (bzw. Dichteänderung ($\partial \rho/\partial p$)), bezogen auf ein Ausgangsvolumen V (bzw. Ausgangsdichte ρ) bei konstanter Temperatur, über die Beziehung

$$\kappa_T = -\frac{1}{V} \left(\frac{\partial V}{\partial p} \right)_T = \frac{1}{\rho} \left(\frac{\partial \rho}{\partial p} \right)_T \quad (2)$$

Für Triolein ist dieser isotherme Kompressionskoeffizient in Abbildung 9 über Druck aufgetragen. Grundlage für dessen Berechnung sind die taitischen Gleichungen, die aus den Dichtemessungen extrahiert werden.

Der isobare thermische Ausdehnungskoeffizient α_p bezeichnet die temperaturabhängige Volumenänderung ($\partial V/\partial T$) (bzw. Dichteänderung ($\partial \rho/\partial T$)), bezogen auf ein Ausgangsvolumen (bzw. Ausgangsdichte ρ) bei konstantem Druck, anhand der Beziehung

$$\alpha_p = \frac{1}{V} \left(\frac{\partial V}{\partial T} \right)_p = -\frac{1}{\rho} \left(\frac{\partial \rho}{\partial T} \right)_p \quad (3)$$

Der isobare thermische Ausdehnungskoeffizient von Triolein, berechnet aus den tatsachen Gleichungen ist in Abbildung 10 dargestellt. Eine qualitativ ähnliche Abhängigkeit dieser Koeffizienten ist allen TAGs zu eigen [Acosta *et al.* 1996, Bridgman 1949].

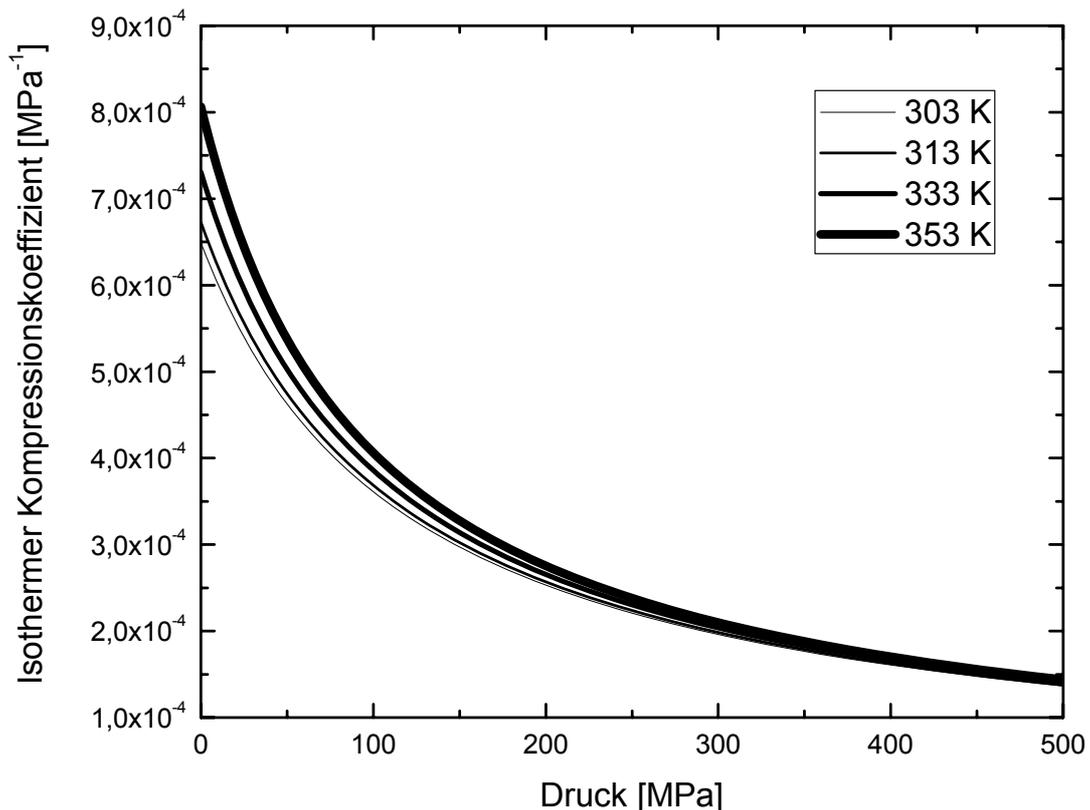


Abbildung 9: Isothermer Kompressionskoeffizient von Triolein

Die Erhöhung bzw. Verringerung des hydrostatischen Drucks eines Fluids verursacht eine Änderung der inneren Energie U eines Systems und somit auch eine Temperaturänderung. Hinsichtlich der Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln bewegen sich die Druckänderungen im Bereich einiger hundert MPa und ist mit einer Umwandlung von mechanischer Energie (Volumenänderungsarbeit) in thermische Energie verbunden. Wird ein abgeschlossenes System betrachtet, so verläuft diese Zustandsänderung adiabatisch, also ohne Wärmeaustausch über die

Systemgrenzen. Eine adiabate Druckerhöhung führt zu einer bestimmten Erhöhung der Temperatur. Diese idealisierte Betrachtung trifft aber für reale Hochdruckautoklavensysteme nicht zu, da ein Teil der Kompressionswärme über die Systemgrenzen (in Form von metallischen Zylinderoberflächen) mittels Wärmeleitung nach außen dissipiert. Es liegt daher eine polytrope Zustandsänderung vor. Wie stark sich die polytrope und adiabate Temperaturerhöhung im Betrag unterscheiden, hängt unter anderem von der Druckrampe (dp/dt) ab. Die Betrachtung der adiabaten Kompression erweist sich trotzdem als sinnvoll, weil sich hierüber die maximal zu erwartende Temperaturerhöhung abschätzen lässt.

$$\left(\frac{\partial T}{\partial p}\right)_{ad} = \frac{\alpha_p \cdot T}{\rho \cdot c_p} \quad (4)$$

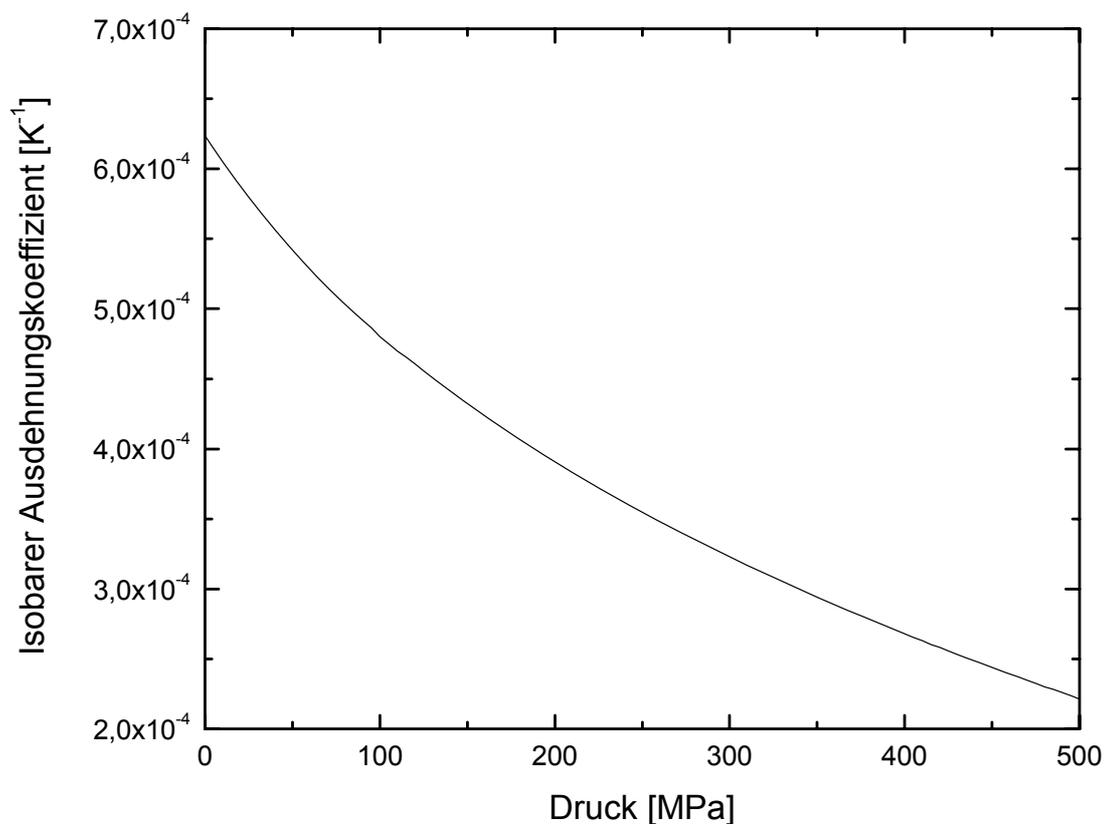


Abbildung 10: Isobarer Ausdehnungskoeffizient von Triolein

Wenn der Wert von $\alpha/(\rho c_p)$ als unabhängig von Druck und Temperatur angenommen wird, kann die Differentialgleichung integriert werden und es ergibt sich:

$$\frac{T_2}{T_1} = \exp\left[\frac{\alpha}{\rho \cdot c_p}(p_2 - p_1)\right] \quad (5)$$

Bei höherem Druck wird die Temperaturzunahme größer. Die meisten Lebensmittelinhaltsstoffe wie beispielsweise Fette führen zu hohen Temperaturanstiegen bei adiabatischer Kompression [Buchheim *et al.* 1999].

Die Existenzbereiche reversibler Phasenzustände werden in Phasendiagrammen dargestellt, wobei Druck und Temperatur als Parameter auftreten. Die Steigung der Grenzlinie einer fest / flüssig Phasenumwandlung erster Ordnung lässt sich nach der Clausius-Clapeyron-Gleichung

$$\frac{dp}{dT} = \frac{\Delta H_{schm,m}}{T_f \Delta V_{schm,m}} \quad (6)$$

bestimmen. Hierin bezeichnet $\Delta H_{schm,m}$ die molare Schmelzenthalpie, T_f die Schmelztemperatur bei Normaldruck sowie $\Delta V_{schm,m}$ die Änderung des Molvolumens beim Schmelzen. Die Schmelzenthalpie $\Delta H_{schm,m}$ ist immer positiv, so dass das Vorzeichen der druckabhängigen Schmelzpunktverschiebung durch den Dichteunterschied zwischen Fluid und Feststoff bestimmt wird. Für die meisten Substanzen ist der Feststoff dichter als die Flüssigkeit.

Bei der Kristallisation von Flüssigkeiten nehmen ΔV und ΔH negative Werte an. Die einzige bekannte Ausnahme bildet Wasser beim Übergang der flüssigen Phase in die Eis I – Modifikation. Die Steigung der Phasengrenzlinie hat hierbei bei Drücken bis zu etwa 220 MPa einen negativen Wert. Vorteilhaft genutzt wird dieses anomale Verhalten bei der Lagerung von wasserhaltigen Lebensmitteln unterhalb 273,15 K im flüssigen Zustand. Darüber hinaus ermöglicht die Anwendung von Drücken bis zu etwa 220 MPa ein sofortiges, gleichmäßiges und damit schonendes Einfrieren und Auftauen wasserhaltiger Lebensmittel. Wasser kristallisiert bis zu einem Druck von

207,2 MPa unter 273,15 K. Oberhalb von 207,2 MPa [Eisenberg & Kauzann 1969] verhält sich Wasser wieder normal mit einer positiven Steigung der Phasengrenzlinie, d.h. ohne Anomalie, da durch den hohen Druck andere Eismodifikationen entstehen, die eine höhere Dichte als die Flüssigkeit besitzen.

Wird $\Delta H_{schm,m}$ und $\Delta V_{schm,m}$ als unabhängig von Druck und Temperatur angenommen, so kann die Gleichung 6 aufgelöst werden zu:

$$\Delta T = T - T_0 = T_0 \left\{ \exp \left[(p - p_0) \frac{\Delta V_{schm,m}}{\Delta H_{schm,m}} \right] - 1 \right\} \quad (7)$$

T_0 ist die Schmelztemperatur beim Druck p_0 und ΔT die Erhöhung des Schmelzpunktes beim Druck p gegenüber dem Druck p_0 .

Speiseölen wird bisher eine lineare Abhängigkeit des Schmelzpunktes vom Druck unterstellt [Pehl 2004, Yasuda & Mochizuki 1992, Cheffel 1992, Heremans 1995]. Diesbezüglich durchgeführte Experimente werden am Ende dieses Kapitels vorgestellt. Eine theoretische Erklärung für einen linearen Zusammenhang liefert ein von [Delgado *et al.* 2008] erstelltes Modell für Substanzen mit hohem molarem Volumen. Dieses Modell reduziert die Druckabhängigkeit der Phasengrenzlinie für Öle zu:

$$\frac{dp}{dT} = \frac{V_M^S \alpha^S - V_M^l \alpha^l}{V_M^S \kappa^S - V_M^l \kappa^l} = \frac{\Delta A}{\Delta B} \quad (8)$$

V_M steht hierbei für das molare Volumen und ergibt sich aus dem Quotienten von molarer Masse und Dichte eines Stoffes. Die Abkürzungen S repräsentiert fest und l flüssig. Da ΔA und ΔB als schwache Funktionen des Druckes angesehen werden, folgt daraus eine lineare Phasengrenzlinie. Aus den Abschätzungen von [Delgado *et al.* 2008] steigt diese bei biologischen Substanzen mit hohem molarem Volumen mit 0,01 – 1 K / MPa an. Für Triolein ergibt sich dabei eine Steigung von 0,121 K / MPa.

Die für diese Berechnung notwendigen Daten wurden [Acosta 1996] entnommen und die Dichte von festen Triolein mit $\rho = 0,991 \text{ g / cm}^3$ nach [Mennicke 1972] bestimmt. Nahrungsmittelöle besitzen aufgrund der heterogenen TAG-Komposition unter Normaldruck einen Schmelzbereich anstelle einer Schmelztemperatur. Auch unter Druck sind unterschiedliche Temperaturen für Schmelzen und Erstarren zu messen.

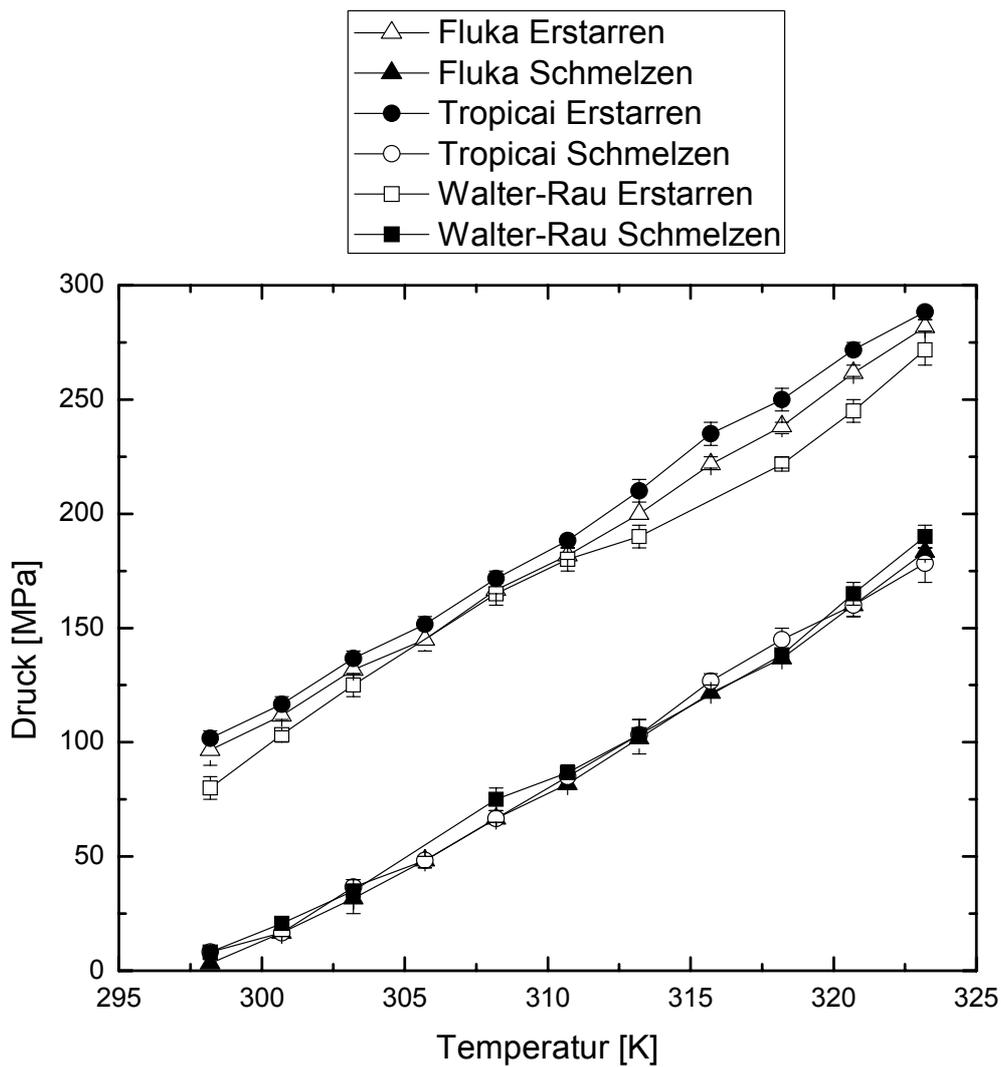


Abbildung 11: Kristallisations- und Schmelztemperaturen verschiedener Kokosöle unter Druck adaptiert von [Hartmann 2006]

Die Abbildung 11 zeigt Kristallisations- und Schmelztemperaturen für drei verschiedene Kokosöle unter Druck. Dabei sind leichte Abweichungen zwischen den

Ölen zu erkennen, die in einer leicht unterschiedlichen Fettsäurezusammensetzung begründet sind. Allen Phasengrenzl原因en wird Linearität unterstellt [Hartmann 2006].

Über alle drei Öle gemittelt ergibt sich für die Schmelztemperatur T in K folgende Druckabhängigkeit p in MPa:

$$T = 298 K + 0,14 \frac{K}{MPa} p \quad (9)$$

Für das Erstarren ist dabei ein ca. 90 MPa höherer Druck bei gleicher Temperatur nötig. Die Durchschnittswerte der drei Öle zeigen folgenden Zusammenhang:

$$T = 286 K + 0,13 \frac{K}{MPa} p \quad (10)$$

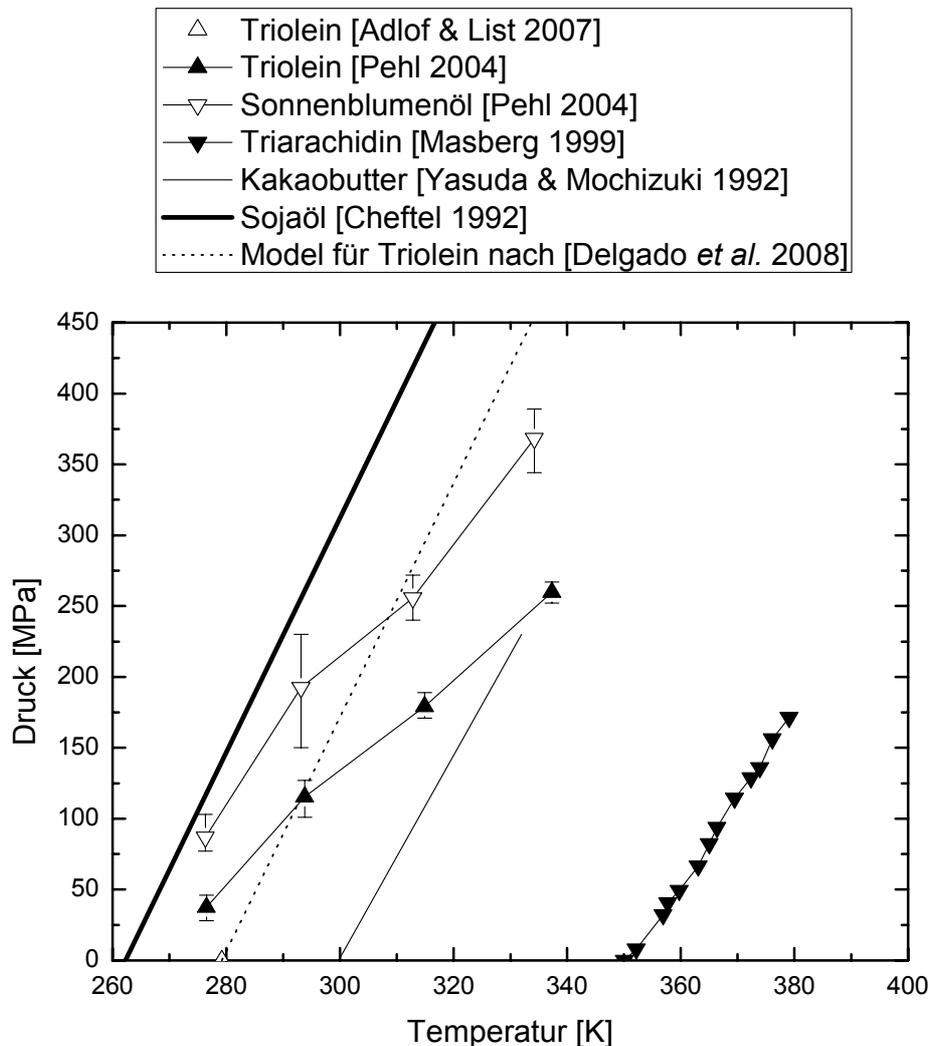


Abbildung 12: Phasengrenzen verschiedener Öle unter Druck

Weitere experimentelle Untersuchungen sind in der Abbildung 12 dargestellt. Die durchgezogenen Phasengrenzen beziehen sich auf Gleichungen von [Cheftel 1992] für Sojaöl

$$T = 299,75 K + 0,14 \frac{K}{MPa} p \quad (11)$$

und von [Yasuda & Mochizuki 1992] für Kakaobutter

$$T = 262,25 K + 0,121 \frac{K}{MPa} p \quad (12)$$

Dabei steht T für die Schmelztemperatur in K und p für den Druck in MPa. Diese Autoren ermittelten lineare Phasengrenzen bei Drücken bis zu 450 MPa (Sojaöl) bzw. 230 MPa (Kakaobutter). [Masberg 1999] untersucht bis 170 MPa den Druck-Temperatur-Verlauf der Phasengrenze des TAG Triarachidin. Im Gegensatz zu den anderen Autoren beschreibt er diesen Verlauf nicht linear, sondern mit einem Polynom zweiter Ordnung:

$$T = 350,6 K + 0,1862 \frac{K}{MPa} p - 0,0001303 \frac{K}{MPa^2} p^2 \quad (13)$$

Masberg gibt die Messgenauigkeit mit $\pm 0,5$ K und $\pm 0,5$ MPa an. Bei einem Druckbereich bis 170 MPa ist die daraus mögliche Implikation auf die Gleichung für die Phasengrenzlinie wesentlich stärker als die des quadratischen Terms aus Gleichung 13. Mit einer leichten Verschlechterung des Determinationskoeffizienten von $R^2 = 0,9977$ auf $R^2 = 0,9971$ lassen sich die Messwerte für Triarachidin auch linear beschreiben:

$$T = 351,52 K + 0,161 \frac{K}{MPa} p \quad (14)$$

[Pehl 2004] ermittelt lineare Zusammenhänge für Sonnenblumenöl bis 370 MPa und Triolein bei Drücken bis 260 MPa. Jedoch sind die von ihm ermittelten Steigungen mit $0,21$ K / MPa für Sonnenblumenöl und $0,28$ K / MPa für Triolein deutlich abweichend von den bisher vorgestellten Phasengrenzlinien. Die Verschiedenheit

der Messmethoden wird hierfür von Pehl angeführt. Neben der Steigung ist aber auch ein Vergleich mit Literaturwerten unter atmosphärischem Druck und dem Model nach Delgado problematisch. Die bei 37,5 MPa ermittelte Temperatur für den Phasenübergang liegt klar unter den sonstigen Literaturwerten [Adlof & List 2007].

Diese kontroversen Aussagen machen die Phasengrenzlinie von Triolein zu einem interessanten Forschungsgegenstand. Neben den unterschiedlichen Steigungen ist die Tatsache eines linearen Zusammenhanges bemerkenswert. Die Temperatur-Druck-Beziehung des Phasenüberganges bei Stoffen zeigt in der Regel nur bei relativ kleinen Observationsintervallen scheinbar lineare Abhängigkeiten auf [Milles & Grilly 1955]. Es ist daher davon auszugehen, dass Messungen bei höheren Drücken und Temperaturen Abweichungen von dieser Linearität aufzeigen. Die Messungen von Masberg lassen auf Grund seiner Messungenaugigkeit diesen Schluss nicht zwingend zu.

2.4 Kinetiken der Fettkristallisation

Eine Kristallisation tritt allgemein ein bei Übersättigung einer Lösung oder beim Unterkühlen einer Schmelze, dem so genannten Supercooling. Da die natürlichen Lebensmittel in der Regel eine Multi-Komponenten-Schmelze liefern und kein Reinstoff in einem Lösungsmittel vorliegt, sind konventionelle Kristallisationsbehandlungen, die auf eine Übersättigung abzielen, für den Umgang mit TAGs weniger relevant.

Eine Lösung ist dann übersättigt, wenn die Löslichkeit einer Komponente x_i kleiner ist, als es im gegenwärtigen Zustand der Fall wäre. Dabei ist $\Delta H_{m,i}$ die molare

Enthalpie der Kristallisation zu einem polymorphen Zustand i bzw. die Schmelzenthalpie, und $T_{m,i}$ die absolute Schmelztemperatur eines Polymorphen.

$$\ln x_i = \frac{\Delta H_{m,i}}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_{m,i}} - \frac{1}{T} \right) \quad (15)$$

Die eigentliche Triebkraft einer Kristallisation stellt dabei der Unterschied im chemischen Potential μ dar.

$$\Delta\mu_i = \Delta H_{m,i} \left(\frac{T_{m,i} - T}{T_{m,i}} \right) \quad (16)$$

Eine Kristallisation ist ein exothermer Prozess, welcher begleitet wird durch die Abgabe von Wärme ($\Delta H < 0$). Die Entropie einer Flüssigkeit ist größer als die eines Feststoffes und daher ist die Kristallisation mit einer Abnahme der Entropie verbunden. Die Kristallisation von Fetten infolge von Unterkühlung kann dabei in drei Stufen unterteilt werden: Unterkühlung der Schmelze, Kristallkeimbildung und Kristallwachstum.

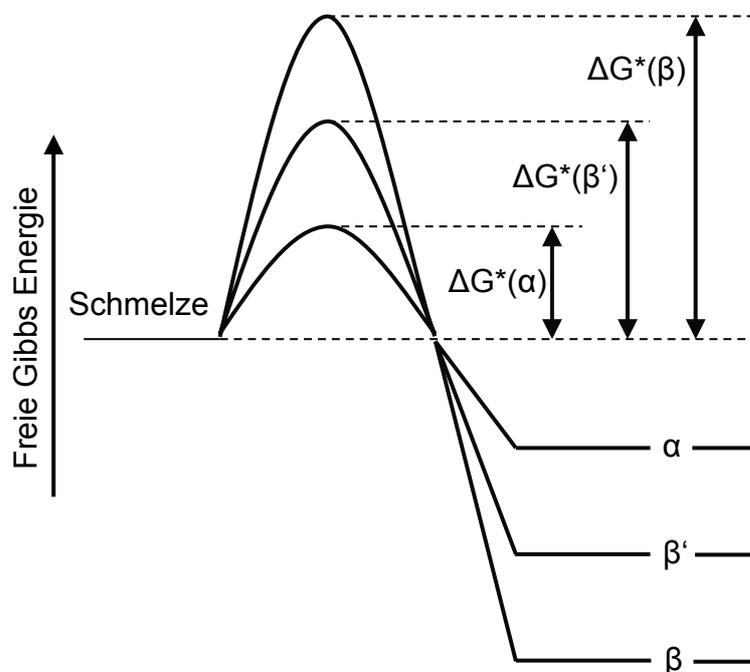


Abbildung 13: Schematische Darstellung des Verlaufes der freien Gibbs Energie bei Kristallisation eines TAGs zu verschiedenen polymorphen Zuständen mit den verschiedenen Aktivierungsenergien ΔG^* , adaptiert von [Sato 1988]

Damit die Kristallisation stattfinden kann, muss der Grad des Unterkühlens ausreichend sein um die Barriere der Aktivierungsenergie ΔG^* für die jeweilige polymorphe Form zu überwinden (Abbildung 13). Der dafür notwendige Unterkühlungsgrad hängt von vielen Faktoren ab, insbesondere von der chemischen Struktur des TAGs, der Anwesenheit fremder Materialien, der Kühlrate und der Einwirkung äußerer Kräfte (z.B. Scherung oder Druck).

Eine nur knappe Unterschreitung der Erstarrungstemperatur bedingt eine zeitliche Verzögerung bis die Kristallisation detektierbar ist. In Abbildung 14 ist dieser Zusammenhang zwischen geringem Supercooling und wesentlich längeren Induktionszeiten am Beispiel von Tripalmitin illustriert.

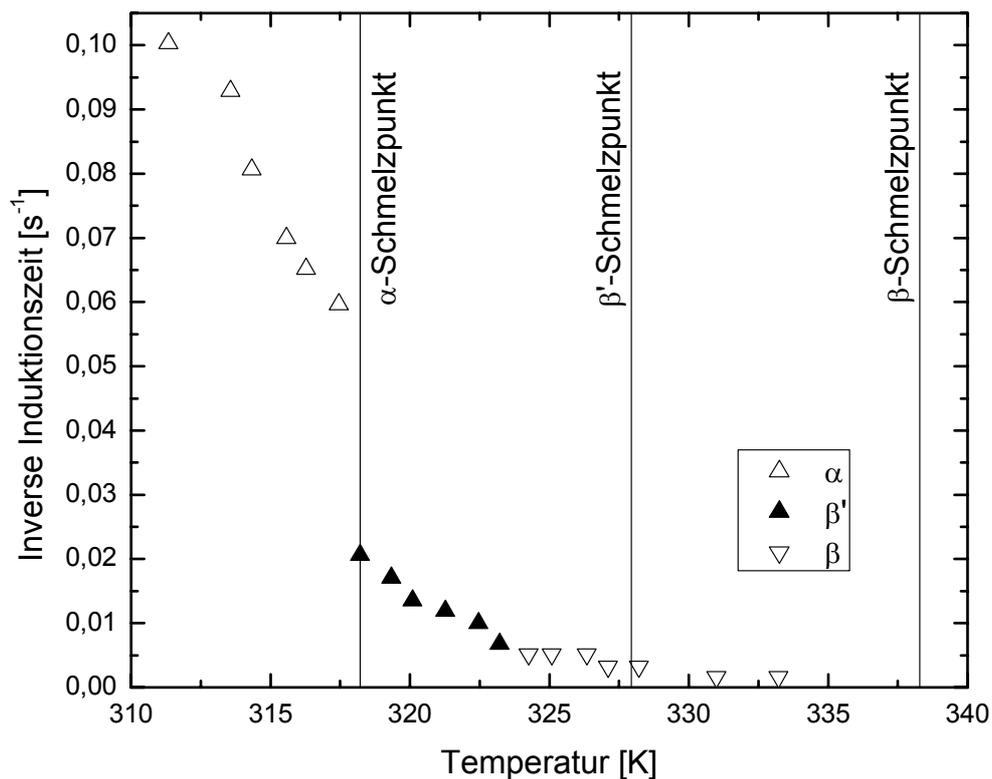


Abbildung 14: Einfluss der Supercoolingtemperatur auf die inverse Induktionszeit und den polymorphen Erstarrungszustand bei Tripalmitin unter Normaldruck, adaptiert von[Sato & Kuroda 1987]

Bei der Kristallkeimbildung treten zwei voneinander unabhängige Mechanismen auf. Die heterogene Keimbildung wird katalysiert durch die Anwesenheit fester Partikel des kristallisierenden Materials bzw. von fremden Partikeln, die eine vom kristallisierenden Material abweichende chemische Struktur aufweisen. Die Kristallisation beginnt von diesen, im geschmolzenen Lipid verteilten Zentren aus. Die Energiebarriere für die heterogene Kristallkeimbildung ist niedriger als die für die so genannte homogene Keimbildung. Beim homogenen Keimbildungsmechanismus findet die Kristallisation im gesamten Volumen gleichmäßig statt, nachdem eine kritische Temperatur unterschritten wurde. In der Lebensmittelindustrie liegt in der Regel eine heterogene Nukleation vor [Rousset 2002].

Auch unter Druck existieren verschiedene polymorphe Zustände in TAGs. [Masberg 1999] untersucht bis 170 MPa den Druck-Temperatur-Verlauf der Phasengrenze von Triarachidin in der α und β Konfiguration. Zusammen mit Masbergs Polynomen sind diese Messergebnisse in Abbildung 15 dargestellt. Dabei nimmt unter den Versuchsbedingungen mit steigendem Druck der Abstand zwischen den Schmelzpunkten der verschiedenen polymorphen Formen ab. Angesichts der von Masberg angegebenen Messunsicherheiten von $\pm 0,5$ K und $\pm 0,5$ MPa für jeden Messpunkt ist dies aber nur ein schwaches Indiz, da die Annäherung beim Maximaldruck von 170 MPa im Vergleich zum atmosphärischen Druck ungefähr 1,6 K beträgt.

$$T_{\alpha \rightarrow \beta} = 335,2 K + 0,1973 \frac{K}{MPa} p - 0,0001409 \frac{K}{MPa^2} p^2 \quad (17)$$

$$T_{\beta \rightarrow \text{flüssig}} = 350,6 K + 0,1862 \frac{K}{MPa} p - 0,0001303 \frac{K}{MPa^2} p^2 \quad (18)$$

Dabei steht T für die Schmelztemperatur der jeweiligen polymorphen Form in K und p für den Druck in MPa.

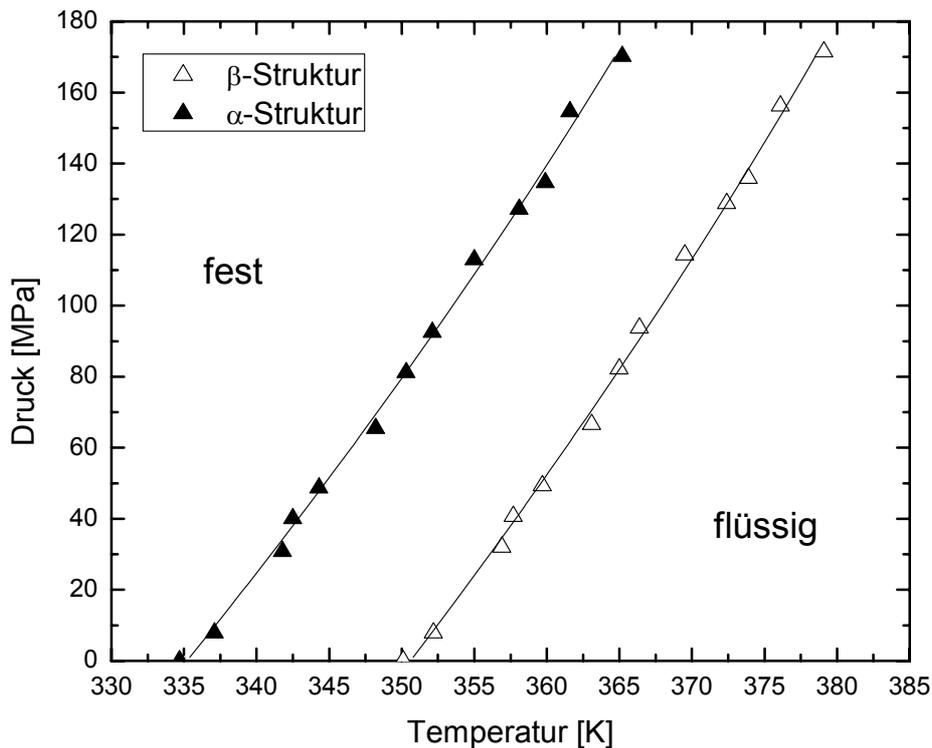


Abbildung 15: Phasengrenzen polymorpher Formen von Triarachidin nach [Masberg 1999]

Auch [Hartmann 2006] findet verschiedene Kristallformen in Kokosöl. Mit fallendem Druck und steigender Temperatur verläuft die Kristallisation langsamer. Die entstehenden Kristalle unterscheiden sich dabei in ihrer Erscheinungsform und werden in die Formen A, B1, B2, C und D klassifiziert. Die Abbildung 16 zeigt die verschiedenen Klassen und deren Auftreten, abhängig von Zeit und Druck. Bei einer isobaren Betrachtung sind verschiedene polymorphe Formen, analog zu Abbildung 14 zu erwarten. Eine Überprüfung, um welche polymorphen Formen es sich bei Hartmann handelt, erfolgt nicht. Es werden auch keine diesbezüglichen Spekulationen geäußert. Es wird aber berichtet, dass sich Kristalle der A- und B-Form augenblicklich bei Erreichen der Schmelztemperatur (vgl. Abbildung 4) verflüssigen, während die C- und D-Form erheblich langsamer schmelzen. Dies lässt unterschiedliche polymorphe Formen vermuten, wobei leider nicht erwähnt ist, ob

höhere Temperaturen für die totale Verflüssigung der C- und D- Form nötig sind. Bei allen hier gezeigten Mikroskopaufnahmen könnte es sich auch um die gleiche polymorphe Form handeln. Unterschiedliche Wachstumsbedingungen, die das Verhältnis Nukleation zu Kristallwachstum beeinflussen, wären dann für die verschiedenen Erscheinungsformen verantwortlich.

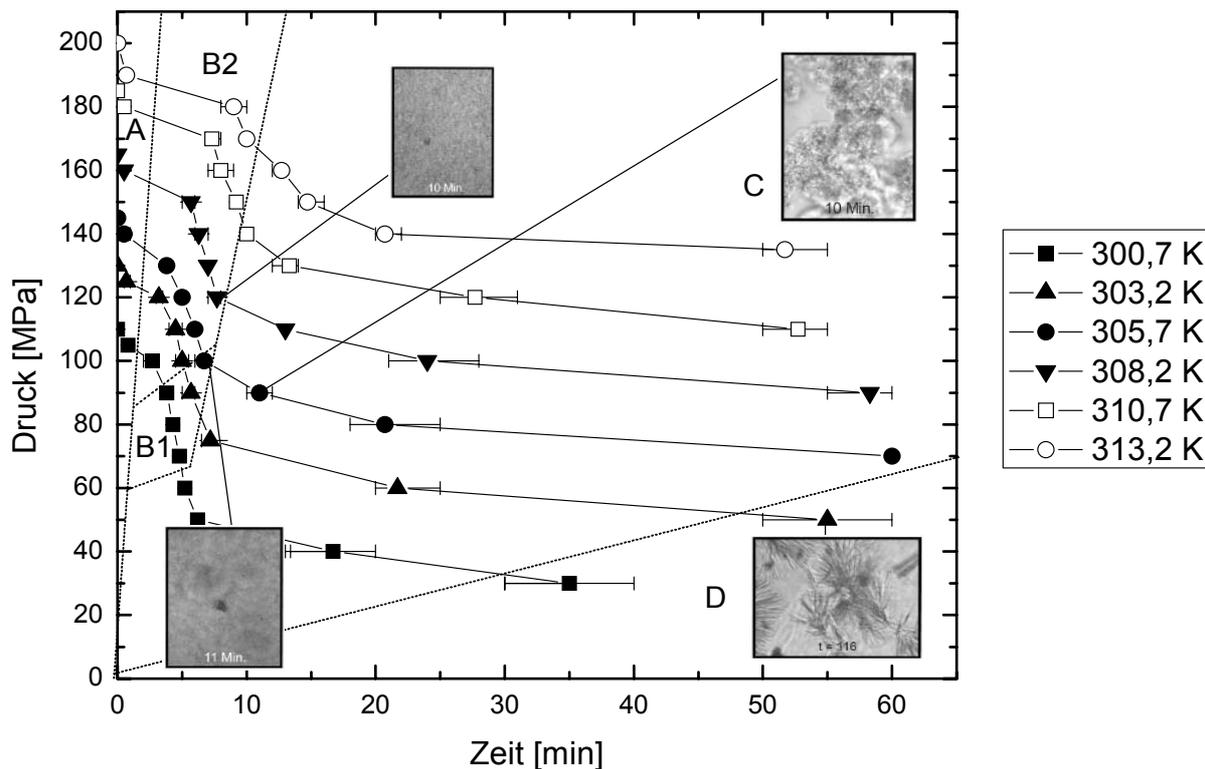


Abbildung 16: Kristallisationszeiten und -formen von Kokosöl bei verschiedenen Druck- und Temperaturbedingungen, adaptiert von [Hartmann 2006]

Nukleation ist eine geordnete Formation von Kristallisationsregionen auf nanoskaliger Ebene. Für eine gegebene Übersättigung bedeutet dies, dass sie mit der Kelvingleichung beschrieben werden kann, wobei r^* der kritische Radius, σ die Oberflächenenergie und V_m das molare Volumen in der kristallinen Phase ist.

$$r^* = \frac{2\sigma V_m}{\Delta\mu} \quad (19)$$

Die Aktivierungsenergie ist mit folgender Gleichung gegeben.

$$\Delta G^* = \frac{16\pi\sigma^3 V_m^2 T_m^2}{3(\Delta H_{m,i} \Delta T)^2} \quad (20)$$

Folglich kann auch noch die Nukleationsrate J bestimmt werden mit h als Planckkonstante, N_A als Avogadrokonstante und k_b als Boltzmannkonstante.

$$J = \frac{N_A k_b T}{h} \exp\left(\frac{-\Delta G^*}{k_b T}\right) \quad (21)$$

Haben sich stabile Kristallkeime in der unterkühlten Schmelze gebildet, beginnt das Kristallwachstum. Der Kristall wächst durch die Anlagerung von Molekülen aus der Schmelze an der Feststoff-Flüssigkeitsgrenze, wobei die Wachstumsrate durch die Diffusion der Moleküle aus der Schmelze hin zur Kristalloberfläche limitiert wird [Himawan *et al.* 2006].

Zur Beschreibung eines kristallisierenden Systems in Abhängigkeit der Zeit t formulierte [Avrami 1940] den folgenden Ansatz für das Volumen der solide Phase V_s :

$$V_s(t) = 1 - \exp(-bt^n) \quad (22)$$

Die Konstanten b und n sind dabei Materialparameter.

Zwei Extremfälle für die Nukleation von Fetten beschreibt [Rousset 2002], unter der Voraussetzung einer konstanten Wachstumsrate v der Front fest/flüssig:

Alle Nuklei erscheinen simultan zum Zeitpunkt $t=0$, wobei ihre Dichte über jede Volumeneinheit gleich verteilt ist. Ihre Anzahl entspricht der Konstanten N_f .

$$V_s(t) = 1 - \exp\left[-N_f \frac{4}{3} \pi v^3 t^3\right] \quad (23)$$

Die Nukleationsrate J_0 ist konstant.

$$V_s(t) = 1 - \exp\left[-J_0 \frac{\pi}{3} v^3 t^4\right] \quad (24)$$

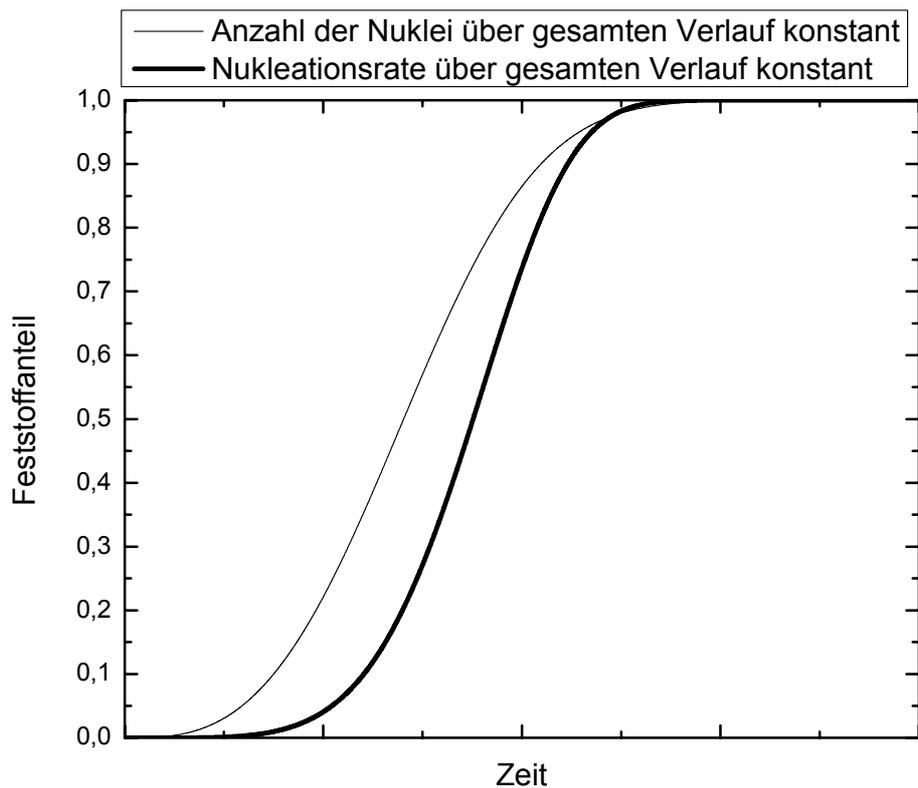


Abbildung 17: Transienter Feststoffanteil bei Kristallisationen mit verschiedenen Kristallisationsbedingungen.

Diese möglichen Kristallisationsverläufe sind in Abbildung 17 dargestellt. Unter der Annahme, dass die Gesamtzahl der gebildeten Nuklei in beiden Fällen gleich ist, erhält man als einzige Variable der Kristallisation die Nukleationsrate.

Entsprechende Untersuchungen an TAG-Lösungen unter Druck sind selten. Neben den Untersuchungen von Hartmann gibt es noch Messungen an Trilaurin bis 200 MPa [Yokoyama *et al.* 1998], Ölsäure [Siegoczyński *et al.* 2007] und die Auswirkung einer Druckbehandlung auf den Festfettanteil von Milchprodukten [Verret *et al.* 2009, Buchheim & Abou El-Nour 1992]. Der Festfettanteil wird dabei nach erfolgter Hochdruckbehandlung gemessen.

Unter Normaldruck hängt die Kinetik des Phasenüberganges von Milchfett auch von dessen Tröpfchengrößenverteilung ab. In einer o/w-Emulsion wie Milch ist die

Verfestigung des Fettanteils schneller, je größer die Fettröpfchen sind. Bei Milch mit gleichem Fettgehalt sind Kristallisationsvorgänge im Fettanteil später zu beobachten, wenn die Fettröpfchen kleiner sind. Trotz Unterschreitung der Kristallisationstemperatur liegt dann das Fett noch im flüssigen Zustand vor. Um diese Verzögerung zu verkürzen ist eine tiefere Abkühlung nötig [Frede & Buchheim 1998, Walstra & Jenness 1984]. Alternativ dazu kann die Kristallisation durch Druckbeaufschlagung beschleunigt werden.

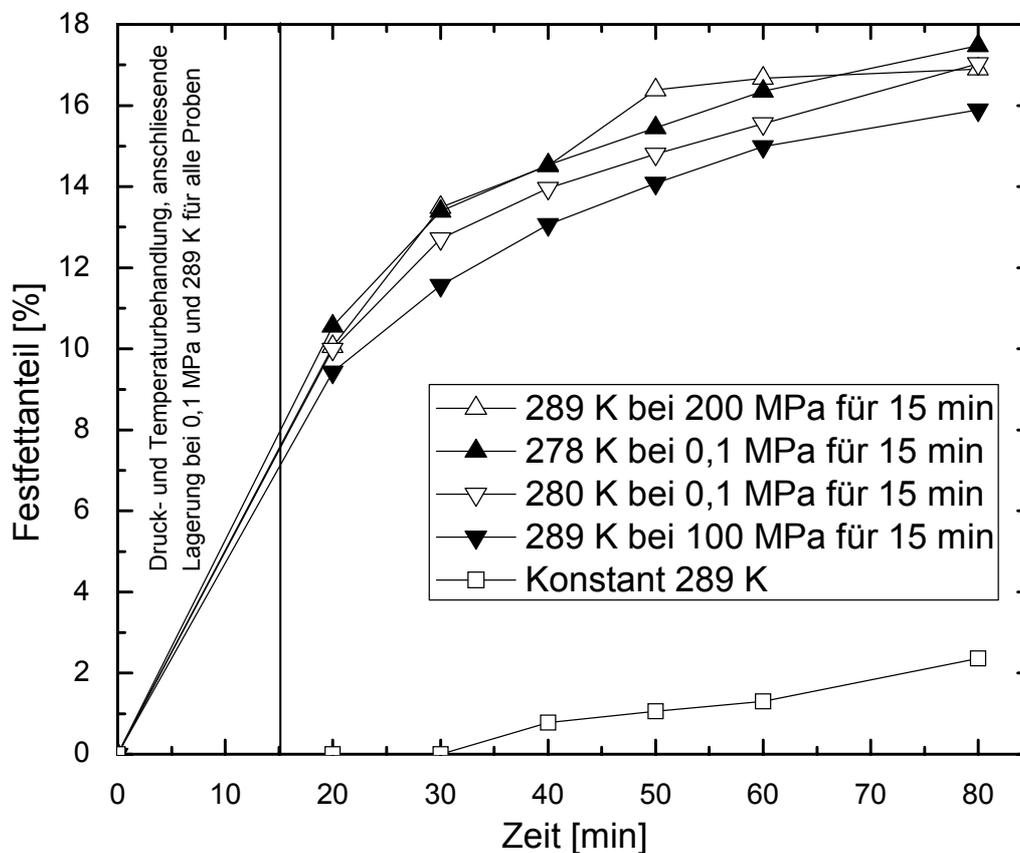


Abbildung 18: Kristallisationsverläufe von Sahne (30 % Fett) nach unterschiedlichen Druck- und Temperaturbehandlungen nach [Buchheim & Frede 1996]

Abbildung 18 zeigt die Äquivalenz von Druck- und Temperaturbehandlung am Beispiel eines Kristallisationsverlaufes einer Sahne mit 30 % Fettanteil. Wird die

Probe von ihrem Klarschmelzpunkt auf 289 K abgekühlt ist erst nach 40 Minuten ein Festfettanteil messbar. Wird die Probe für die ersten 15 Minuten tiefer abgekühlt, ist schon bei der ersten Messung nach 20 Minuten eine Verfestigung detektierbar, trotz der anschließenden Erwärmung auf 289 K. Wird für die 15-Minuten-Behandlung eine tiefere Temperatur gewählt, wird die Fettkristallisation beschleunigt. Alternativ kann der Phasenübergang auch durch eine Druckbehandlung begünstigt werden. Analog zur Temperaturbehandlung forciert hierbei ein höherer Druck die Verfestigung. Denkbar ist hier auch ein kombiniertes Druck-Temperaturprogramm, bei dem erst nach der Druckbeaufschlagung abgekühlt wird. Da Wasser im Gegensatz zu Fett unter Druck zunächst eine Schmelzpunktabsenkung zeigt, wäre eine Fettkristallisation bei Temperaturen unter 273 K möglich, die den Phasenübergang weiter beschleunigt ohne dabei störende Eiskristalle zu erzeugen [Buchheim & Abou El-Nour 1992, Frede & Buchheim 1998].

2.5 Etablierte Techniken zur Untersuchung des Phasenüberganges

Das Ziel dieser Arbeit ist die Bestimmung der Phasengrenzlinie von TAGs bis 450 MPa und damit unter höherem hydrostatischem Druck als dies bisher je erfolgt ist. Zusätzlich soll auch die Fettkristallisation unter Druck in-situ untersucht werden. Da keine etablierten Methoden für diese Druckbereiche existieren, ist die Entwicklung geeigneter Messverfahren essentiell. Diverse Techniken sind für entsprechende Untersuchungen unter Normaldruck etabliert. Teilweise wurden diese auch bei höherem Druck angewandt. Für das vorliegende Untersuchungsziel ist eine Wertung der am besten zu realisierenden Vorgehensweise nötig.

Abgesehen von der Bestimmung der Phasengrenzlinie ist vor allem die Unterscheidung von Kristallkeimbildung und Kristallwachstum eine große

Herausforderung für die experimentelle Forschung an Lipiden [Cerqueira *et al.* 2004]. Verschiedene Messmethoden sind für atmosphärischen Druck als Verfahren etabliert. Alle Methoden messen dabei eine Induktionszeit τ [Sato 1988]. Dabei handelt es sich um das Zeitintervall zwischen dem Erreichen der Kristallisationstemperatur und dem Start der Kristallisation. Abhängig von der Empfindlichkeit des Experimentes können gemessene Werte für τ in zwei Terme aufgespalten werden: τ_n für die tatsächliche Induktionszeit und τ_g für die Zeit, die der Kristallkeim benötigt, um zu einer detektierbaren Größe anzuwachsen. Beim angestrebten Superpressuring soll anstelle des Unterkühlens eine Druckbeaufschlagung erfolgen. Bei einer möglichst isothermen Versuchsdurchführung soll τ gemessen werden, die Zeit zwischen Druckbeaufschlagung und erster Detektion einer beginnenden Kristallisation. Dabei soll τ_g möglichst gering sein.

Da der Phasenübergang mit einer Viskositätsänderung einhergeht, erlaubt die Messung dieser auch Rückschlüsse auf den Kristallisationsverlauf. Mit einem Rotationsviskosimeter kann Kristallwachstum unter atmosphärischem Druck bestimmt werden. Die Untersuchung der Nukleation ist nur eingeschränkt möglich, da für die Detektion ein Feststoffanteil von mindestens 0,1 % nötig ist [Chen *et al.* 2002]. Mit einem unter Druck stehenden Kugelrollviskosimeter wird von [Först 2001] die Viskosität von Sonnenblumenöl bis 200 MPa und Trilinolein bis 350 MPa untersucht. Beide Stoffe zeigen dabei eine annähernd exponentielle Zunahme der Viskosität mit steigendem Druck. Für höhere Druckbereiche wird die Messbarkeit auf Grund der eintretenden Kristallisation ausgeschlossen. Eine diesbezügliche Auswertung erfolgt nicht. Besser geeignet wäre ein Gerät, das zur Untersuchung von Gelen unter Druck von [Kulisiewicz *et al.* 2007] vorgestellt wird und die Viskosität durch eine

Rotationsbewegung untersucht. Auf Grund der nur beschränkten Eignung zur Untersuchung des Beginns des Phasenüberganges wird dieser Ansatz für einen eigenen Versuchsaufbau nicht weiterverfolgt.

Die Kernspinresonanzspektroskopie (NMR-Spektroskopie) ist eine Methode zur Aufklärung der Struktur und Dynamik von Molekülen, insbesondere in der organischen Chemie und in der Biochemie. Sie ermöglicht die Untersuchung von Wechselwirkungen zwischen Molekülen und somit auch des Aggregatzustandes. Diese Technik ist unter Normaldruck etabliert zur Bestimmung der Zunahme des Feststoffanteils in Fetten während einer Kristallisation [Ng & Oh. 1994, Herrera *et al.* 1999a, Herrera *et al.* 1999b, Wright *et al.* 2000a, Wright *et al.* 2000b, Kloek *et al.* 2000, Puppo *et al.* 2002, Vanhouette 2002, Vanhouette *et al.* 2002]. Der hierbei ermittelte Wert für τ ist die Zeitspanne bis zur Detektion der ersten Kristalle in der Lösung, wenn der Feststoffanteil ansteigt. Dabei ist ein Feststoffanteil unter 0,1 % mit dieser Methode noch nicht nachweisbar. Handelsübliche NMR-Systeme benötigen 0,5 – 1 % Feststoffanteil zur Detektion. Die erste Kristallkeimbildung selbst ist daher damit schwer zu bestimmen und die Kernspinresonanzspektroskopie ist damit eine wenig sensitive Methode zur Ermittlung der Induktionszeit [Wright *et al.* 2000b]. Für TAGs wird diese Technik unter Druck noch nicht verwendet, aber für die Untersuchung von Proteinen und einfachen Kohlenwasserstoffen bis zu 600 MPa [Bachl 1988, Arnold 2002, Brunner *et al.* 2001]. Das Ziel dieser Arbeit, Nukleation und Kristallwachstum unter Druck gleichermassen zu untersuchen, würde sich mit Kernspinresonanzspektroskopie nur hinsichtlich des Wachstums zufriedenstellend realisieren lassen.

Bei der routinemäßigen Bestimmung des Erstarrungspunktes bei atmosphärischem Druck wird die Probe im Wasserbad abgekühlt. Beim Phasenübergang ist eine Temperaturerhöhung oder zumindest –stagnation der Probe zu beobachten. Die

Temperatur des Maximums eines vorübergehenden Temperaturanstiegs oder vorübergehenden Stillstandes des Abkühlungsverlaufes gilt als Erstarrungstemperatur. Die Variation zwischen Messungen ist nach der Einheitsmethode der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft bei der gleichen Probe hierbei mit 0,2 K akzeptabel.

Ein ähnliches Verfahren wird auch unter Hochdruck von [Yasuda & Mochizuki 1992] verwendet. Der druckinduzierte Erstarrungspunkt von Kakaobutter wird in einer temperierten Hochdruckzelle bis zu 200 MPa untersucht. Die Probe befindet sich dabei in einem Plastikröhrchen, in dem mit einem Thermoelement die Temperatur überwacht wird. Mit einem zweiten Thermoelement wird die Temperatur des umgebenden Druckübertragungsmediums gemessen. Die flüssige Probe wird mit Druck beaufschlagt und die gesamte Hochdruckzelle wird kontinuierlich abgekühlt. Die anfänglich identischen Temperaturverläufe trennen sich beim Erstarrungspunkt des Fettes, bei dem durch die Kristallisationswärme die Probe schwächer abkühlt als das Druckübertragungsmedium. Genaue Spezifikationen zur Bestimmung der Erstarrungstemperatur aus den Temperaturverläufen und die Messungsgenauigkeit sind nicht angegeben. Eine sichtbare Abweichung der Temperaturverläufe bedingt vorangegangene Nukleation und Kristallwachstum zur Temperaturerhöhung des Fettes. Durch die monoton sinkende Temperatur in der Zelle sind die realen Kristallisationstemperaturen daher höher als die angegebenen Messwerte. Idealerweise wäre die Abkühlung der Probe unendlich langsam, um auch eine unendlich lange Induktionszeit zu berücksichtigen. Durch die Abkühlung ist auch ein Temperaturgradient in der Probe zu erwarten. Je kleiner das Probenvolumen, desto geringer sollten diese Temperaturunterschiede sein, um eine genauere Messung der Kristallisationstemperatur zu ermöglichen. Aussagen über Kristallwachstum sind mit diesem Messaufbau nicht zu realisieren.

Auf die bei Phasenübergängen auftretenden Wärmeströme basiert auch die dynamische Differenzkalorimetrie. Sie stellt eine Standardtechnik zur Bestimmung von τ und zur Untersuchung von Kristallisationsvorgängen von TAGs dar [Kawamura 1979, Kawamura 1980, Ziegleder 1990, Dibildox-Alvarado & Toro-Vazquez 1997, Vanhouette *et al.* 2002, Foubert *et al.* 2003]. Dieses Verfahren bestimmt die abgegebene oder aufgenommene Wärmemenge einer Probe bei isothermer Arbeitsweise, Aufheizung oder Abkühlung. Die Integration des zeitlichen Verlaufes der Differenz der Probentemperatur zu einer identisch behandelten Referenzmessung ohne Probe ergibt die Enthalpieänderung. Alternativ können Probe und Referenz auch in thermisch isolierte Öfen gebracht werden, in denen durch elektrische Regelung identische Temperaturen eingestellt sind. Der Wärmestrom entspricht dann der dafür benötigten elektrischen Leistung. Unter Druck wird diese Technik zur Untersuchung des Phasenüberganges des TAGs Triarachidin bis 200 MPa von [Masberg 1999] verwendet. Dafür wird die Messzelle eines kommerziellen Differenzkalorimeters in einen Hochdruckautoklaven platziert. Um auch in der Messzelle den gleichen Druck wie im Hochdruckbehälter zu gewährleisten, wird die Zelle angebohrt und mit einer dynamischen Dichtung versehen. Ermittelt werden auf diese Weise Schmelzpunkte verschiedener polymorpher Formen von Triarachidin unter Druck und Phasenumwandlungsenthalpie, -entropie und -volumen. Die Induktionszeit ist nicht Forschungsgegenstand bei [Masberg 1999], wäre aber mit diesem Versuchsaufbau möglich. Bei einem isothermen Vorgehen ist τ der zeitliche Abstand zwischen dem Erreichen der gewünschten Supercooling-Temperatur und der Detektion eines exothermen Wärmeflusses, hervorgerufen durch die beginnende Kristallisation. Relativ große Messunsicherheiten für τ entstehen bei Normaldruck, wenn isotherme Bedingungen nahe am Schmelzpunkt gewählt werden [Toro-Vazquez *et al.* 2000].

Die Bestimmung des Erstarrungspunktes durch kalorimetrische Messungen ist inherent unpräzise. Bei einer schnellen Abkühlung befindet sich das Öl in einem instationären Zustand. Die Temperatur, bei der der Wärmefluß detektiert wird befindet sich immer unterhalb des eigentlichen Erstarrungspunktes. Eine möglichst langsame Annäherung an den Erstarrungspunkt ist auf Grund der großen Messunsicherheiten, die aus einem ungünstigen Signal zu Rausch-Verhältnis resultieren, auch nicht möglich. Die Standardabweichungen der so ermittelten Werte für τ sind insgesamt größer als die durch optische Messmethoden [Cerqueira *et al.* 2004]. Für den geplanten Versuchsaufbau werden daher optische Methoden favorisiert, da diese prinzipiell stationär arbeiten.

Eine optische Bestimmung wird bei Triolein bis 260 MPa und Sonnenblumenöl bis 370 MPa von [Pehl 2004] vorgenommen. Hierbei sind den Ölen Tracerpartikel zugegeben, die in der Hochdruckzelle durch einen Lichtschnitt illuminiert sind. Die Zelle ist temperiert und der Phasenübergang wird durch Druckerhöhung realisiert. Dabei gilt dieser als vollzogen, wenn sich die Tracerpartikel nicht mehr bewegen, da dann keine fließfähige Matrix mehr vorliegt. Dabei wird aber auch die Möglichkeit diskutiert, dass dieses Verfahren ungeeignet ist, wenn die Viskosität durch die Druckerhöhung sehr stark ansteigt. Die in Abbildung 12 dargestellten Messwerte für Triolein zeigen sowohl keine Übereinstimmung für den etablierten Wert bei Normaldruck, als auch einen stark von allen bisher untersuchten TAGs abweichenden Anstieg der Phasengrenzlinie. Da dieses Messverfahren auch nicht unter Normaldruck angewandt wird, ist davon auszugehen, dass diese Messtechnik gewisse Unzulänglichkeiten zur Untersuchung von druckinduzierten Phasenübergängen aufweist.

Als optische Messmethode eignet sich die Turbidimetrie zur Untersuchung des Phasenüberganges. Hierbei wird die Absorption eines durch die Probe hindurch

tretenden Lichtstrahls gemessen. Kommerzielle Geräte können einen Anstieg der Absorption, der als Beginn der Kristallisation gewertet wird, schon bei Feststoffanteilen unter 0,5 % registrieren. Noch sensitiver und reproduzierbarer sind nephelometrische Untersuchungen [Wright *et al.* 2000b]. Der Anstieg eines durch Streulicht hervorgerufenen Signals beendet dabei die Induktionszeit. Beide Techniken zusammen werden bis 300 MPa zur Untersuchung von druckinduzierten Phasenübergängen in Ölsäure von [Siegoczyński *et al.* 2007] verwendet. Als Lichtquelle dient hierbei eine Laserdiode. Für die Untersuchung von TAGs scheint dieses Verfahren sehr aussichtsreich.

Noch empfindlicher ist bei atmosphärischem Druck die Verwendung eines Polarisationsmikroskops [Cerqueira *et al.* 2004]. Zusätzlich zur Ausrüstung eines normalen Lichtmikroskops befindet sich die Probe dabei zwischen zwei Polfiltern. Nach Passieren des ersten Filters ist das Licht linear polarisiert. Der zweite Polfilter, der Analysator, ist gegenüber der ersten um 90° verdreht, so dass er für die dort eingestellte Polarisationsrichtung des Lichts undurchlässig ist. So lange die Fettprobe flüssig ist, tritt kein Licht durch den Analysator. Fettkristalle besitzen doppelbrechende Eigenschaften und verändern die Polarisationsrichtung des durchtretenden Lichtes. Dadurch können sie leicht vom dunklen Hintergrund abgegrenzt werden. Die Messmethode ist etabliert zur Untersuchung von Kristallkeimbildung und Kristallwachstum bei TAGs [Ng 1989, Ng 1990, Herrera *et al.* 1998, Wright *et al.* 2000a, Higaki *et al.* 2001]. Verschiedene Stoffe werden mit dieser Technik bei Drücken bis 14,4 GPa auch hinsichtlich ihres Phasenüberganges in Diamantstempelzellen untersucht [Salmon & Ellis 1975, Boysen *et al.* 2003, Block *et al.* 2006], bisher aber keine Nahrungsfette. Kokosfett wird bis 285 MPa von [Hartmann 2006] in einem Lichtmikroskop ohne Lichtpolarisation bei Temperaturen zwischen 298 und 323 K untersucht. Es wird eine Kristallisationslinie, eine

Schmelzlinie und für den dazwischen liegenden Bereich Induktionszeiten ermittelt. Für die Kristallisationslinie wird bei gegebener Temperatur der Druck gemessen, der nötig ist, um die Probe innerhalb von 10 s erstarren zu lassen. Dabei sind genaue Bewertungskriterien für eine erfolgte Erstarrung nicht gegeben, es drängt sich aber die Vermutung auf, dass der vollständige Verlust der Transparenz gemeint ist. Der Schmelzdruck wird anschließend durch Druckreduzierung bestimmt. Dabei erhellt sich mit sinkendem Druck das Sichtfeld, bis beim Schmelzpunkt die gleiche Helligkeit wie vor der Erstarrung erreicht ist. Der dafür nötige Druck wird als Schmelzdruck angegeben. Die Druckabsenkung erfolgt mit 50 MPa / min. Haltezeiten werden als versuchsspezifisch angegeben und nicht weiter definiert. Bei der Messung der Induktionszeiten werden Druck und Temperatur eingestellt und die Zeit gemessen, bis die erste Kristallbildung zu beobachten ist. Bewertungskriterien für die Bildauswertung hinsichtlich der Detektion dieses Zeitpunktes sind nicht angegeben. Der Aufbau eines Polarisationsmikroskops und die Verwendung standardisierter Auswerteverfahren würden dabei bessere Möglichkeiten eröffnen druckinduzierte Phasenübergänge zu untersuchen. Das Ziel dieser Arbeit, Detektion von Kristallkeimbildung und Untersuchung des Kristallwachstums unter hohen hydrostatischen Drücken scheint generell mit einem optischen Versuchsaufbau am Besten zu realisieren zu sein. Auftretende Veränderungen können dabei in-situ detektiert werden, da Fettkristalle direkt observiert werden. Im Gegensatz dazu birgt die Messung auftretender Wärmeströme die Gefahr einer inherenten Verzögerung. Da geeignete Apparate für Druckbereiche bis 450 MPa nicht kommerziell erwerblich sind, stellt die entsprechende Methodenentwicklung einen essentiellen Teil dieser Arbeit dar.

3 Material & Methoden

Im letzten Kapitel wurden etablierte Messmethoden zur Untersuchung von Nukleation und Kristallwachstum bei Fetten unter Normaldruck vorgestellt und in wie weit diese Verfahren unter hohen hydrostatischen Drücken schon eingesetzt werden. Dabei erscheinen optische Verfahren am aussichtsreichsten, beide Ziele zu realisieren. Für die eigenen Untersuchungen steht eine Hochdruckzelle zur Verfügung, die durch Saphirfenster optisch zugänglich ist.

3.1 Probenmaterial

Die Versuche werden mit kommerziellen Nahrungölen und zwei reinen TAGs, Triolein und Trilaurin durchgeführt. Triolein ist ein Bestandteil von Olivenöl und Trilaurin von Milchfett. Diese beiden TAGs haben gemeinsam, dass alle drei Fettsäurereste identisch sind. Bei Trilaurin ist dies Laurinsäure, eine gesättigte Fettsäure. Trilaurin hat den jeweiligen Schmelzpunkt bei 288,35 K für die α -Form, 307,15 K für die β' -Form, und 319,65 K für die β -Form. Im Gegensatz dazu ist Triolein ein TAG mit drei Ölsäureresten, eine einfach ungesättigte Fettsäure. Triolein hat für die drei Hauptstrukturen Schmelzpunkte von 241,15 / 261,15 / 277,65-278,85 K [Belitz *et al.* 2001]. Beide TAGs wurden bei Acros Organics erworben, in einer Reinheit von 99 % für Triolein und 98 % für Trilaurin. Eine Auflistung aller verwendeten Öle und ihre Fettsäurezusammensetzung zeigt Tabelle 3. Des Weiteren werden definierte Trübungslösungen, hergestellt nach DIN EN 27027, verwendet.

Tabelle 3: Fettsäurezusammensetzung der verwendeten Öle

Fettsäure	Struktur	Tiolein [Gew %]	Triaurin [Gew %]	Rapsöl [Gew %]	Haselnußöl [Gew %]	Walnußöl [Gew %]	Olivenöl [Gew %]
Laurin	12:0	0,000	98,964	0,026	0,000	0,000	0,000
Myristin	14:0	0,000	0,112	0,059	0,056	0,030	0,000
Palmitin	16:0	0,118	0,000	4,817	7,784	7,000	12,918
Palmitolein	16:1, 9c	0,000	0,000	0,223	0,410	0,102	1,268
Heptadecan	17:0	0,000	0,000	0,052	0,055	0,050	0,056
Heptadecen	17:1, 9c	0,000	0,000	0,061	0,077	0,028	0,087
Heptadecen	17:1, 10c	0,000	0,000	0,083	0,000	0,000	0,000
Stearin	18:0	0,235	0,000	1,838	2,431	2,144	3,242
Elaidin	18:1, 9t	0,000	0,703	0,000	0,000	0,000	0,000
Öl	18:1, 9c	99,568	0,221	59,430	68,973	19,114	70,118
Vaccen	18:1, c11	0,080	0,000	3,156	1,415	0,919	2,340
Linol	18:2, 9c, 12c	0,000	0,000	19,513	18,370	58,157	8,389
Linolen	18:3, 9c, 12c, 15c	0,000	0,000	7,817	0,104	12,118	0,675
Arachin	20:0	0,000	0,000	0,613	0,146	0,096	0,426
Eicosen	20:1, 11c	0,000	0,000	1,261	0,147	0,183	0,240
Eicosadien	20:2, 11c, 14c	0,000	0,000	0,109	0,000	0,015	0,017
Eicosatrien	20:3, 8c, 11c, 14c	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013
Behen	22:0	0,000	0,000	0,339	0,033	0,000	0,125
Eruca	22:1, 13c	0,000	0,000	0,311	0,000	0,000	0,000
Tricosan	23:0	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000	0,000
Lignozerin	24:0	0,000	0,000	0,142	0,000	0,043	0,085
Nervon	24:1, 15c	0,000	0,000	0,131	0,000	0,000	0,000

3.2 Versuchsaufbau

Die Hochdrucksichtzelle ist integriert in eine Anlage zur Regelung von Druck und Temperatur und Aufzeichnung der anfallenden Messdaten. In Abbildung 19 ist ein Fließschema der Anlage dargestellt. In Tabelle 8 im Anhang sind die einzelnen Komponenten mit Herstellerangaben aufgeführt.

Der Druckaufbau erfolgt in zwei Schritten. Zuerst wird durch eine pneumatisch betriebene Hydraulikpumpe ein Vordruck von ungefähr 40 MPa erzeugt. Höhere Drücke generiert ein ebenfalls pneumatisch betriebener Druckübersetzer, der an eine speicherprogrammierbare Steuerung angeschlossen ist. Bei allen Experimenten erfolgt der Druckaufbau mit 1000 MPa pro Minute. Der Maximaldruck beträgt 450 MPa. Pumpe und Druckübersetzer arbeiten mit Polyethylenglycol 400 als Druckübertragungsmedium. Da diese Flüssigkeit unter Druck trüb wird, ist sie für optische Messungen ungeeignet. Daher wird für die Hochdrucksichtzelle Glycerin mit einer Reinheit von 86 % gewählt. Die beiden Flüssigkeiten werden durch zwei Silikonstopfen voneinander getrennt. Diese befinden sich in einem Hochdruckautoklaven, der zwischen Druckübersetzer und Sichtzelle angebracht ist. Die Silikonstopfen sind beweglich und können damit den Druck weitergeben, ohne dass sich die Flüssigkeiten vermischen. Vor der Druckbeaufschlagung wird die Sichtzelle zur Entlüftung mit Glycerin gespült. Dafür ist hinter einem Hochdruckventil nahe dem Eingang zur Sichtzelle eine Elektromagnetpumpe angebracht. An dieser Stelle befindet sich auch ein Druckaufnehmer. Alle Messvorrichtungen sind an ein Datenakquisitionssystem angeschlossen.

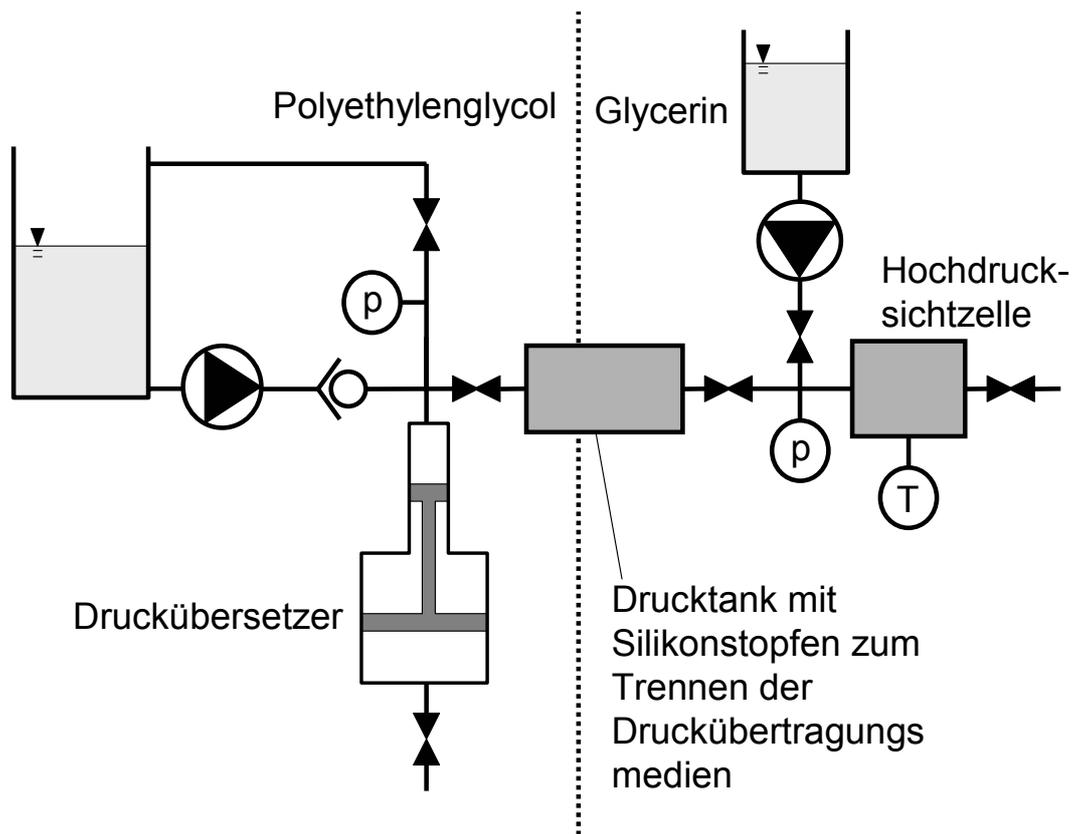


Abbildung 19: Schematische Darstellung der Anlage

Die Hochdrucksichtzelle ist ausgelegt für Drücke bis 700 MPa in einem Temperaturbereich von 253 bis 393 K. Ein Umwälzthermostat ermöglicht die Temperierung der Zelle. Dabei wird ein Wasser-Glykogen-Gemisch durch einen Temperiermantel aus Kupfer gepumpt. Dieser Mantel umgibt die ganze Zelle und hat sechs Öffnungen für die Zugänge der Zelle. Zur Umgebung hin ist das Kupfer durch eine 16 mm starke Schaumstoffschicht abgedämmt. Alle Versuche zur Kristallkeimbildung und zum Kristallwachstum werden mit einer konstanten Temperatur pro Versuch durchgeführt. Bei der Schmelzpunktbestimmung wird die Temperatur während des Versuches variiert. Die Bereiche der allgemeinen Versuchsparameter sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4: Versuchsparameter der Anlage für die Versuchsdurchführungen

Druck	0 – 500 MPa
Temperatur	263 – 343 K
Druckaufbaurrate	1000 MPa / min
Versuchsdauer bzw. Druckhaltezeit	0 – 100 h

Die Hochdrucksichtzelle besteht aus einem zylindrischen Edelstahlkörper (Werkstoff 1.4542) mit einem Durchmesser und einer Höhe von 100 mm. An den flachen Seiten befinden sich mittig Anschlüsse für Hochdruckleitungen. Von diesen führen Bohrungen mit einem Durchmesser von 1,6 mm in das Zellinnere. Eine Bohrung wird zum Druckeinlass verwendet, die andere zur Entlüftung. Zusätzlich besitzt die Zelle noch vier radiale Bohrungen. Diese sind in der Mitte des Zylindermantels angeordnet und stehen senkrecht aufeinander. Im Inneren der Zelle treffen die Bohrungen mit einem Durchmesser von 14 mm aufeinander und formen das Innenvolumen der Hochdruckzelle von ungefähr 2 ml. Alle vier Bohrungen sind durch Einsatz von einem Stopfen, Dichtungsringen und Stützschraube nach dem Bridgman System abgedichtet. Je nach Versuchsaufbau werden verschiedene Stopfen verwendet. Neben einem Blindstopfen aus Edelstahl ermöglicht der Einsatz von Saphirfenstern einen optischen Zugang zum Innenraum. Zusätzlich werden auch Edelstahlstopfen mit einem eingelötetem Thermoelement Typ T verwendet, um die Temperatur im Zellinneren zu messen.

4 Entwicklung von optischen Messmethoden zur Untersuchung von Fettkristallen unter Hochdruck

Das Ziel dieser Arbeit, Detektion von Kristallkeimbildung und Untersuchung des Kristallwachstums unter hohen hydrostatischen Drücken scheint generell mit einem optischen Versuchsaufbau am Besten zu realisieren zu sein. Auftretende Veränderungen können dabei in-situ detektiert werden, da Fettkristalle direkt observiert werden. Eine eingehendere Darstellung etablierter Techniken zur Untersuchung von Phasenübergängen in Nahrungsfetten findet sich im Kapitel 2.5. Da geeignete Messsysteme für den beabsichtigten Druckbereich bis 450 MPa nicht kommerziell erhältlich sind, ist die Entwicklung eigener Messmethoden nötig. Insgesamt werden drei optische Messprinzipien zur Untersuchung von druckinduzierten Phasenübergängen in TAGs realisiert:

- Turbidimetrie
- Nephelometrie
- Polarisationsmikroskopie

Dabei sind die Messungen von Streulicht und Transmission kombiniert in einem Versuchsaufbau möglich. Das Polarisationsmikroskop benötigt eine eigene Messanordnung.

4.1 Hochdruckpolarisationsmikroskop

Der schematische Aufbau des Hochdruckpolarisationsmikroskops ist in Abbildung 20 dargestellt. Die Druckzuleitung und Entlüftungsleitung sind dabei nicht abgebildet, sie verlaufen senkrecht zur Schnittebene. Die obere Verschraubung dient zum

Probenwechsel. Durch ein Thermoelement in der unteren Verschraubung lässt sich die Temperatur im Zellinneren aufzeichnen. Die beiden übrigen Zugänge ermöglichen eine optische Zugänglichkeit der Zelle. Der Lichtstrahl einer Laserdiode mit einer Wellenlänge von 632 nm wird durch einen Polfilter linear polarisiert, bevor er durch ein Saphirfenster in den Innenraum der Hochdruckzelle eintritt, in dem sich die Probe in einer Spezialküvette befindet. Nach dem Durchtritt durch die Probe folgt ein weiteres Saphirfenster und ein zweiter Polfilter, der als Analysator dient. Beide Polfilter befinden sich in selbst entwickelten Aufsätzen, die an die Halterungen der Saphirfenster für die Hochdruckzelle angepasst sind. Da neben den Fettkristallen auch die Saphire doppelbrechende Eigenschaften aufweisen, sind beide derart eingestellt, dass die beiden außerordentlichen Ebenen parallel zueinander liegen und dadurch die Auslöschung des polarisierten Lichtstrahls durch den Analysator erlauben. Nicht alle Saphirfenster eignen sich für diese Untersuchungen, da bei deren Herstellung nicht zwangsläufig auf die Ausrichtung der doppelbrechenden Eigenschaften geachtet wird. Beim Erwerb der verwendeten Saphire ist daher auf die Ausrichtung der außerordentlichen Ebenen zu achten. Im Rahmen dieser Arbeit werden 20 Saphirfenster eines Herstellers dahingehend untersucht. Die Verwendung von nicht doppelbrechenden Diamantfenstern ist leider aus monetären Gründen nicht möglich. Die Probe wird durch eine CCD Kamera mit einem Mikroskopobjektiv abgebildet. Dieses Objektiv erlaubt eine bis zu 25fache Vergrößerung. Bei den Versuchen wird ein Ausschnitt von ungefähr 1 mm² der Probe mit einer Auflösung von 1600 x 1200 Pixel erfasst.

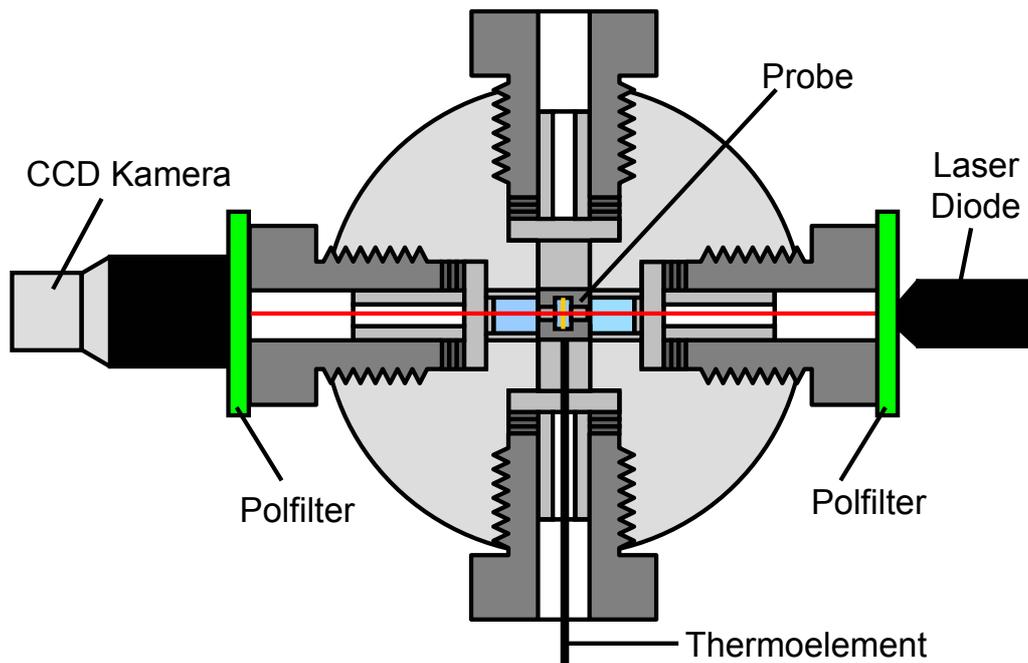


Abbildung 20: Schematischer Aufbau des Hochdruckpolarisationsmikroskop

Die Fettprobe befindet sich zur Untersuchung in einer speziell angefertigten Küvette, die in Abbildung 21 dargestellt ist. Die Küvette soll eine dünne Probenschicht parallel zum Kamerachip ausrichten. Ein 0,1 ml Tropfen der flüssigen Probe wird auf eine Plexiglasscheibe (PMMA) mit einem Durchmesser von 10 mm und einer Wandstärke von 1 mm aufgebracht. Bei der Anfertigung der Scheiben wird darauf geachtet, dass das PMMA keine doppelbrechenden Eigenschaften in Richtung des Strahlenganges aufweist. Eine zweite, baugleiche PMMA Scheibe wird durch eine Aluminiumhalterung dagegen gepresst. Diese Halterung besteht aus zwei Halbzylindern mit einer Bohrung, die den Durchgang des Laserstrahls ermöglicht und einem Absatz für die Scheiben. Durch vier Gewinde lassen sich die beiden Halbzylinder zusammenschrauben und pressen damit die Scheiben gegeneinander. Der Durchmesser und die Höhe der zusammengebauten Küvette betragen 14 mm und sind damit genau auf den Innenraum der Hochdruckzelle abgestimmt.

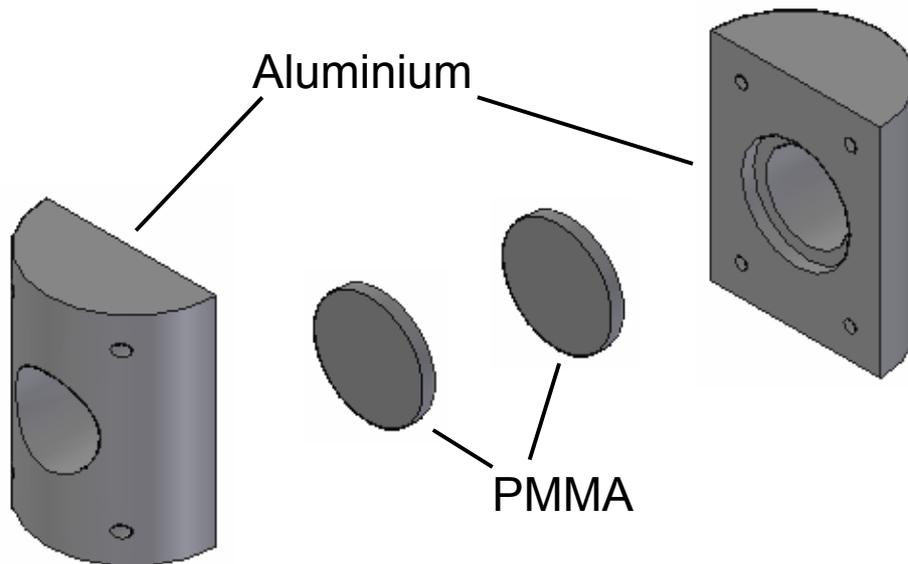


Abbildung 21: Spezialkuvette für das Hochdruckpolarisationsmikroskop

Versuche mit dieser Versuchsanordnung werden ausschließlich mit Triolein und Trilaurin durchgeführt. Zur Untersuchung von Kristallkeimbildung oder -wachstum wird eine flüssige Probe in die Hochdruckzelle eingebracht und durch Druckbeaufschlagung verfestigt. Zur Schmelzpunktbestimmung von Triolein wird die flüssige Probe in der Kuvette unter atmosphärischem Druck gezielt erstarrt. Um im Fett eine β -Struktur zu generieren, wird die Kuvette für 24 Stunden auf 263 K temperiert, 2 K über dem β' -Schmelzpunkt. Nach dem Druckaufbau in der Zelle wird diese auf 5 K unterhalb des vermuteten Schmelzpunktes aufgeheizt. Die weitere Erwärmung erfolgt in 0,5 K Schritten, wobei die jeweilige Temperatur für eine Stunde gehalten wird und die Kamera im Abstand von 5 Minuten Bilder aufnimmt.

Zusätzlich werden auch Schmelzpunkte bei druckinduzierten Phasenübergängen bestimmt. Dazu wird die Zelle auf 278 bzw. 288 K temperiert und ein Druck von 400 MPa appliziert. Nach einer Wartezeit von einer Stunde wird der beabsichtigte

Druck eingestellt, wie oben beschrieben die Temperatur erhöht und der Schmelzpunkt bestimmt.

Der Versuchsaufbau wird auch zur Untersuchung von Kristallkeimbildung und -wachstum eingesetzt. Hierbei wird die flüssige Probe in die temperierte Zelle eingebracht und Druck appliziert. Die eingestellte Bildaufzeichnungsrate ist dabei von der erwarteten Geschwindigkeit des Kristallwachstums abhängig und beträgt zwischen 60 und 6 Bilder pro Stunde.

4.2 Hochdruckturbidimetrie und -nephelometrie

Beim Versuchsaufbau für die Hochdruckturbidimetrie und -nephelometrie sind drei Saphirfenstereinheiten in die Hochdruckzelle eingesetzt. Der vierte Zugang dient dem Probewechseln und der Temperaturaufzeichnung. Ein Thermoelement Typ T misst die lokale Temperatur in der Probe. Der schematische Aufbau ist in Abbildung 22 dargestellt.

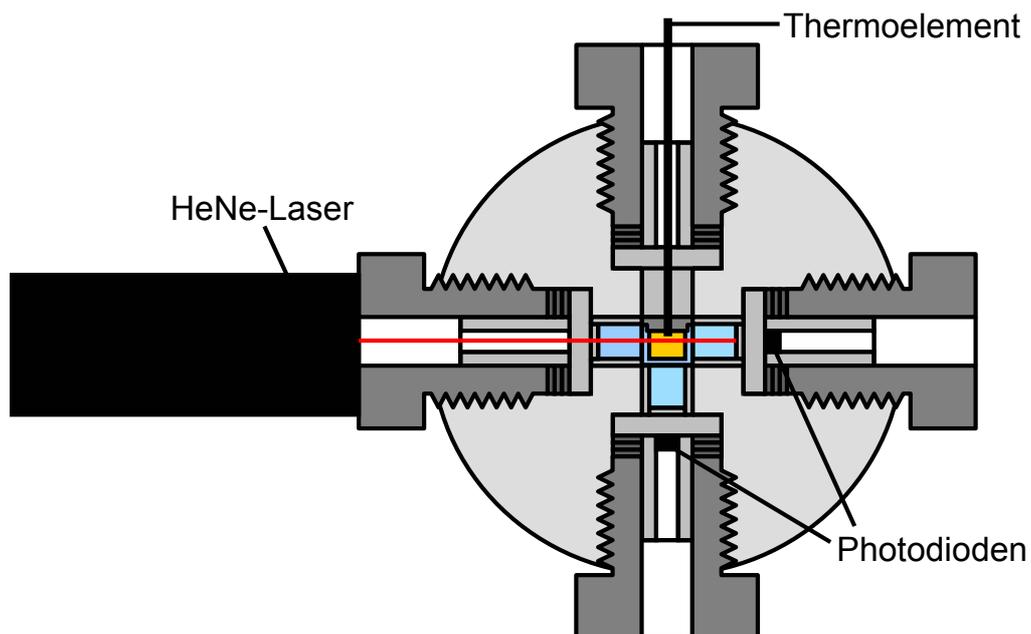


Abbildung 22: Schematischer Aufbau Hochdruckturbidimetrie und -nephelometrie

Der Strahl eines 5 mW HeNe-Lasers tritt durch ein Fenster in die Zelle ein und trifft auf die mit der Probe gefüllte Küvette. Zwei Photodioden hinter den Saphirfenstern messen die Intensität des transmittierten Lichts und die des Streulichtes bei einem Winkel von 90°. Die Photodioden sind in einer Halterung fixiert, in der beim Streulicht auch eine Sammellinse integriert ist. Die Signale werden über eine selbst gebaute Verstärkerschaltung mit Tiefpasscharakteristik, die in Abbildung 48 im Anhang näher erläutert ist, an ein Datenerfassungssystem weitergereicht.

Die zylindrische Küvette, genauso wie die Halterungen für Photodioden und Laser sind Spezialanfertigungen und sind an die Hochdruckzelle angepasst. Die genauen Abmessungen der Küvette lassen sich der Abbildung 23 entnehmen.

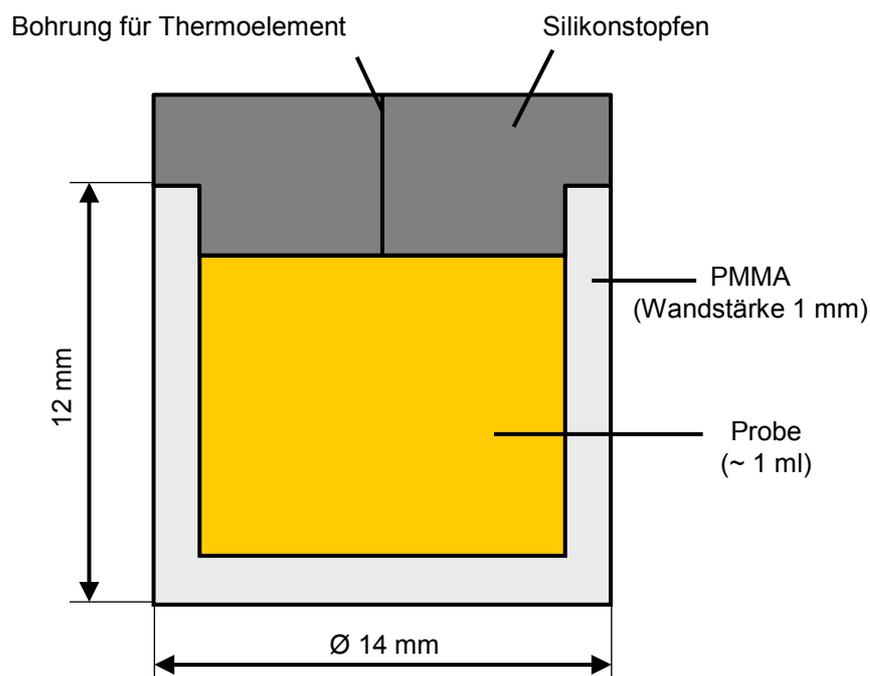


Abbildung 23: Zylinderküvette für Hochdruckturbidimetrie und -nephelometrie

Alle untersuchten Öle werden vor dem Einfüllen in die Küvette für 30 min auf 10 K über ihrem atmosphärischen Schmelzpunkt erwärmt. Da Lufteinschlüsse in der Küvette zu vermeiden sind, wird eine Befüllhilfe verwendet, die Abbildung 24 zeigt. Die Vertiefung in der Mitte der Grundhalterung dient der Zentrierung der

Probenküvette, die durch den Küvettenhalter fixiert wird. In diesen werden ungefähr 3 ml Probe eingefüllt. Durch den Überschuss an Probe kann der Silikonstopfen innerhalb der Probe gedreht werden, um damit die anhaftenden Luftbläschen zu entfernen. Der Stopfen wird über der Küvette platziert und mit dem Stopfer eingedrückt. Dabei wird eine Einmal-Injektionsnadel durch die Bohrung im Stopfer in den Stopfen gestochen, um Flüssigkeit aus der Küvette abzuführen. Die verschlossene Küvette hat ein Probenvolumen von ungefähr 1 ml. Vor dem Einsetzen in die Hochdruckzelle wird die gefüllte Küvette außen gereinigt.

Die Versuchsanlage wird zunächst mit standardisierten Trübungen nach DIN EN 27027 hinsichtlich ihrer Eignung zur Streulichtmessung untersucht. Der Zusammenhang zwischen Streulichtsignal und nephelometrischem Trübungswert bei 40 und 450 MPa ist in Abbildung 25 dargestellt. Durch die geringen Abweichungen zwischen den Messreihen wird das Streulichtsignal als druckunempfindlich angesehen.

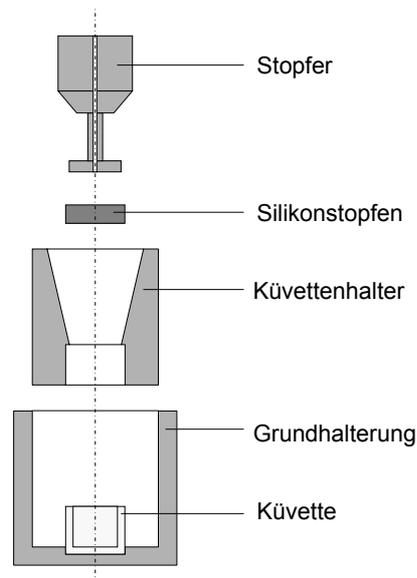


Abbildung 24: Schematische Darstellung der Befüllhilfe für die Zylinderküvette

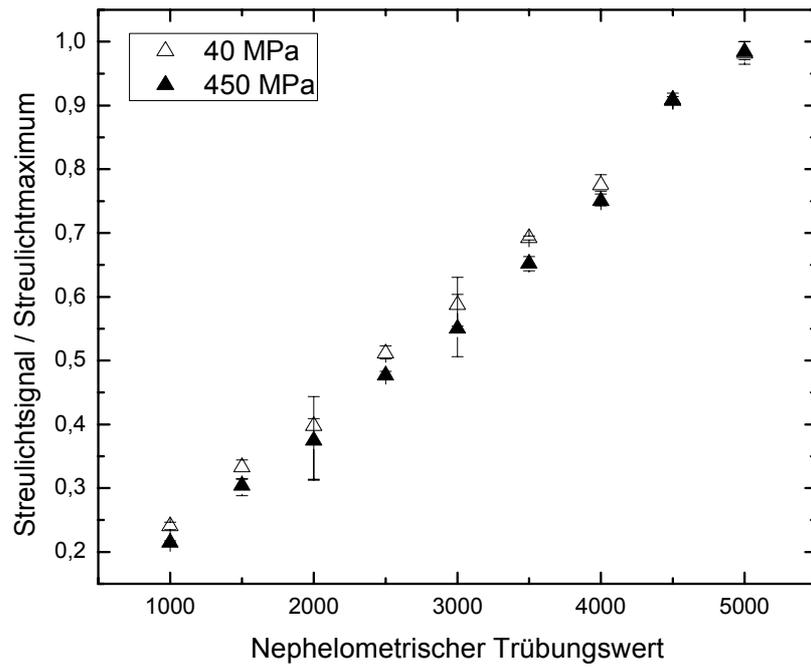


Abbildung 25: Abhängigkeit des Streulichtsignals vom nephelometrischen Trübungswert unter Druck

5 Messungen mit Hochdruckturbidimetrie, -nephelometrie und -polarisationsmikroskopie

Da die im letzten Kapitel vorgestellten Messprinzipien für TAGs bei Drücken bis 450 MPa noch nicht eingesetzt wurden, sind neue Auswertemethoden für die Messdaten zu entwickeln. Standardmethoden, die unter Normaldruck Anwendung finden, konnten nur eingeschränkt in den Hochdruckbereich übertragen werden. Die Vorstellung der Ergebnisse geht daher auch detailliert auf selbst entwickelte Auswertemethoden ein.

5.1 Schmelzpunkt

Die visuelle Bestimmung des Schmelzpunktes verlangt ein objektives Auswerteverfahren. Die Aufnahmen von festem Triolein mit dem Polarisationshochdruckmikroskop zeigen auch ohne Phasenübergang temperaturabhängige Veränderungen zueinander auf. Die Abbildung 26 ist dabei stellvertretend für alle Versuche. Bei 264,0 K sind deutliche Unterschiede der Lichtintensität zu erkennen, die auf die Existenz von Fettkristallen mit doppelbrechenden Eigenschaften schließen lassen. Mit steigender Temperatur erscheinen die Bilder dunkler, bis hin zum Schmelzpunkt bei 284,5 K. Auffallend hierbei ist das Verschwinden der weißen Pixel und der allmähliche Übergang zu einem homogenen Erscheinungsbild. Eine komplette Verdunklung ist mit dem Versuchsaufbau nicht zu realisieren, da sich die doppelbrechenden Eigenschaften der Saphirfenster unter Druck leicht ändern und dadurch dem Analysator keine komplette Verdunkelung mehr ermöglichen. Diese temperaturabhängigen

Veränderungen lassen sich auch durch die Lichtintensität der einzelnen Pixel der Aufnahmen beschreiben.

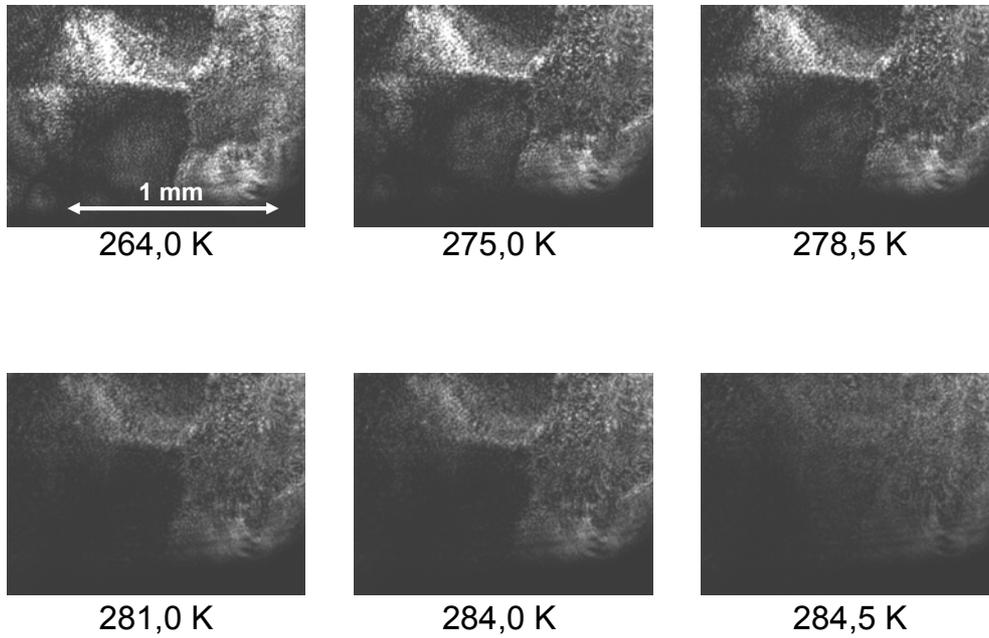


Abbildung 26: Aufnahmen von Triolein bei 285 MPa bei verschiedenen Temperaturen

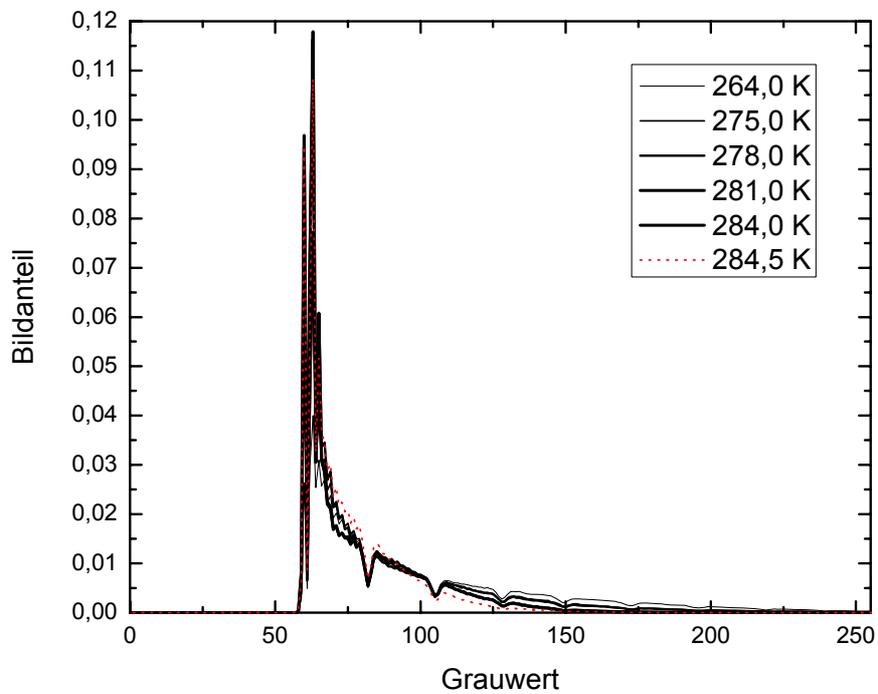


Abbildung 27: Relative Häufigkeitsverteilung der Grauwerte bei Aufnahmen von Triolein bei 285 MPa bei verschiedenen Temperaturen

Die Abbildung 27 zeigt deren Häufigkeitsverteilung. Da es sich bei den Aufnahmen um 8-bit monochrom Bilder handelt, reicht die Intensitätsskala hierbei von 0 für komplett dunkel bis 255 als Maximalwert für die Helligkeit. Das Verschwinden der weißen Pixel findet sich hierbei durch den Abbau des Bildanteils beim Maximalwert des Grauwertes von 255 wieder. Dass keine vollständige Abdunklung realisiert ist zeigt die Häufigkeitsverteilung dadurch, dass keine Pixel einen Grauwert unter 55 aufweisen.

Die Abdunklung bei der Erwärmung des TAG führt bei den Aufnahmen zu einer Erniedrigung des Mittelwertes der Grauwerte. Die Tabelle 5 listet diese zusammen mit ihren Standardabweichungen auf.

Tabelle 5: Mittelwerte der Lichtintensität der Grauwerte von Aufnahmen von Triolein bei 285 MPa bei verschiedenen Temperaturen und deren Standardabweichung

Temperatur [K]	264,0	275,0	278,0	281,0	284,0	284,5
Mittelwert der Grauwerte	102	89.5	86.7	77.7	77.8	75.1
Standardabweichung	45.4	35.7	32.6	21.1	21.3	17.3

Die Auswertung der Grauwerte erlaubt eine Bestimmung des Schmelzpunktes. Für ein möglichst einfaches und akkurates Auswerteverfahren für die Schmelzpunktbestimmung wird eine Auswertung dieser Standardabweichung verwendet. Bei der Verflüssigung fällt dieser Wert sehr markant ab und verbleibt anschließend auf einem nahezu konstanten Niveau, ohne sprunghafte Veränderungen. Die Temperatur in der Zelle beim Erreichen dieses Niveaus wird als Schmelzpunkt gewertet. Das Auswerteverfahren ist exemplarisch in Abbildung 28 illustriert.

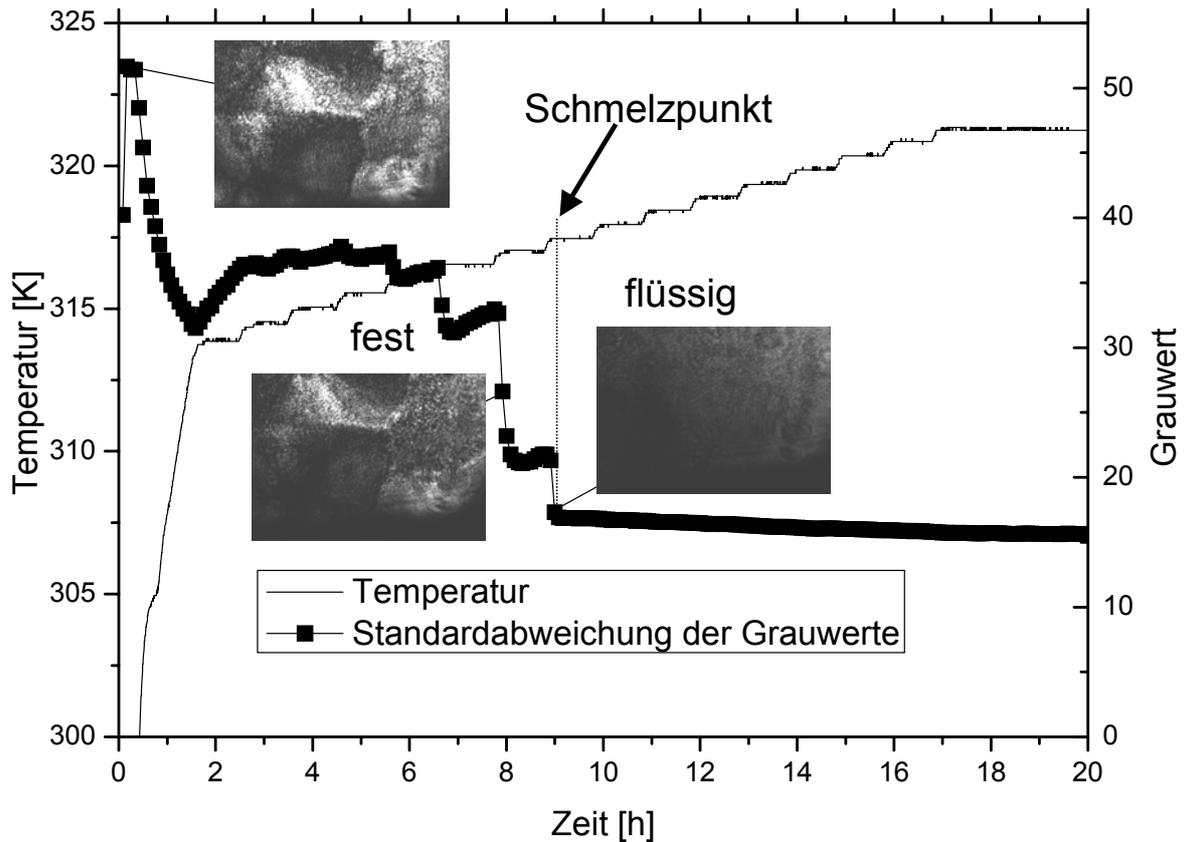


Abbildung 28: Illustrierte Darstellung der Schmelzpunktbestimmung von Triolein bei 285 MPa

Das Hochdruckpolarisationsmikroskop erlaubt mit diesem Auswerteverfahren eine präzise Bestimmung des Schmelzpunktes. Da die Temperaturerhöhung in 0,5 K Schritten erfolgt, kann die hiermit ermittelte Schmelztemperatur um diesen Betrag zu hoch angegeben sein. Zusätzlich sind noch Toleranzen der Messinstrumente zu berücksichtigen. Hierbei liegt die Temperaturbestimmung um $\pm 0,1$ K akkurat und der Druck wird mit $\pm 3,5$ MPa bestimmt.

Abbildung 29 zeigt Mittelwert und Standardabweichung aus dem Versuchslauf von Abbildung 28 aufgetragen gegen die Temperatur. Ab dem Erreichen der Schmelztemperatur von 284,5 K kommt es hierbei nicht mehr zu größeren Änderungen. Die prozentualen Änderungen sind hierbei größer beim Wert der

Standardabweichung der Grauwerte als beim Mittelwert. In Abbildung 30 sind diese Abweichungen in Abhängigkeit der Temperatur aufgetragen.

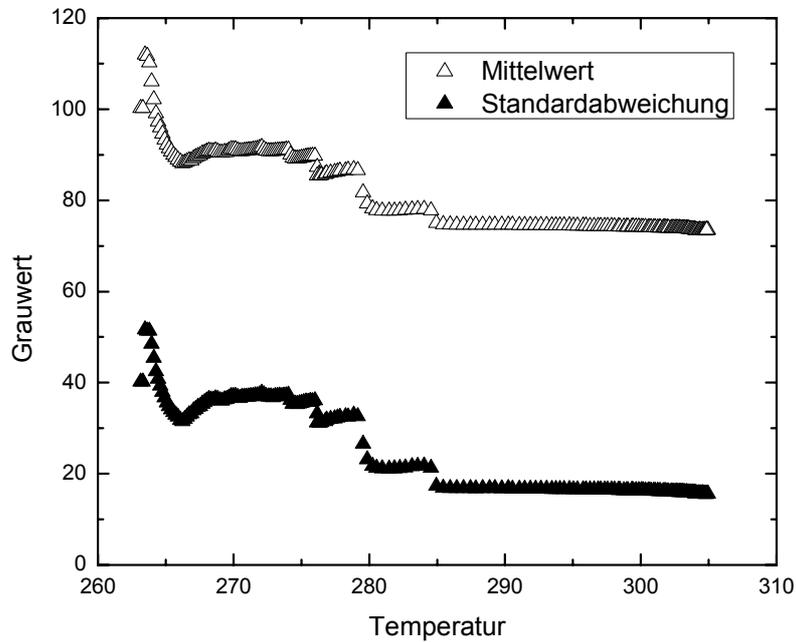


Abbildung 29: Temperaturabhängigkeit der Mittelwerte der Lichtintensität der Grauwerte von Aufnahmen von Triolein bei 285 MPa und deren Standardabweichung

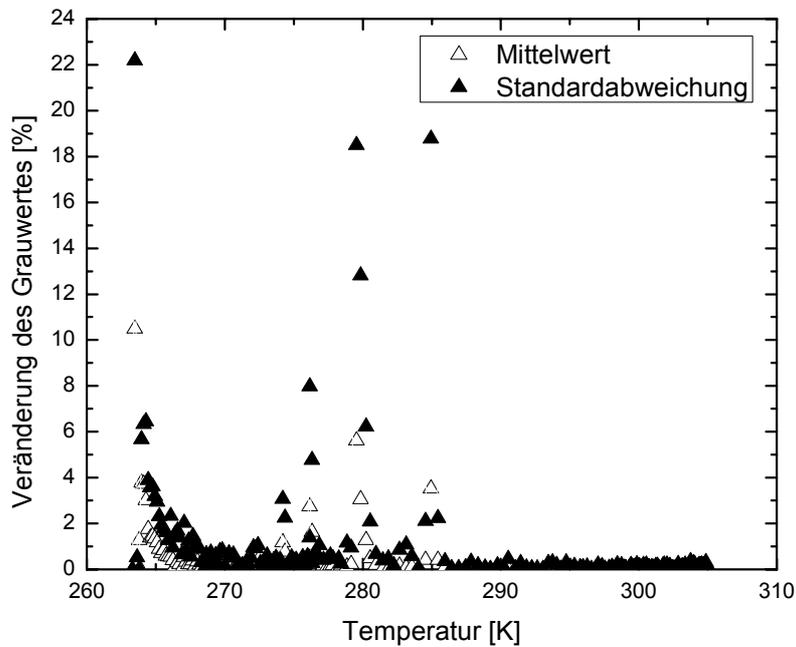


Abbildung 30: Temperaturabhängige Veränderung der Mittelwerte der Grauwerte von Aufnahmen von Triolein bei 285 MPa und deren Standardabweichung

Die Druckabhängigkeit des Schmelzpunktes der β -Struktur von Triolein ist in Abbildung 31 aufgetragen. Das untersuchte TAG zeigt einen nicht-linearen Anstieg des Schmelzpunktes unter Druck. Für atmosphärischen Druck stimmt der Schmelzpunkt mit dem Literaturwert von [Belitz *et al.* 2001] und [Adlof & List 2007] überein. Für Drücke bis 450 MPa lässt sich die Druck-Temperatur-Beziehung mit einem Polynom 2. Grades beschreiben:

$$p = 0,0559 \frac{\text{MPa}}{\text{K}^2} T^2 - 25,982 \frac{\text{MPa}}{\text{K}} T + 2901,7 \text{ MPa} \quad (25)$$

bei der p für den Druck in MPa und T für die Temperatur in K steht. Die experimentell bestimmten Werte stimmen bei einer Regressionsanalyse mit $R^2 = 0,9998$ mit dieser Gleichung überein.

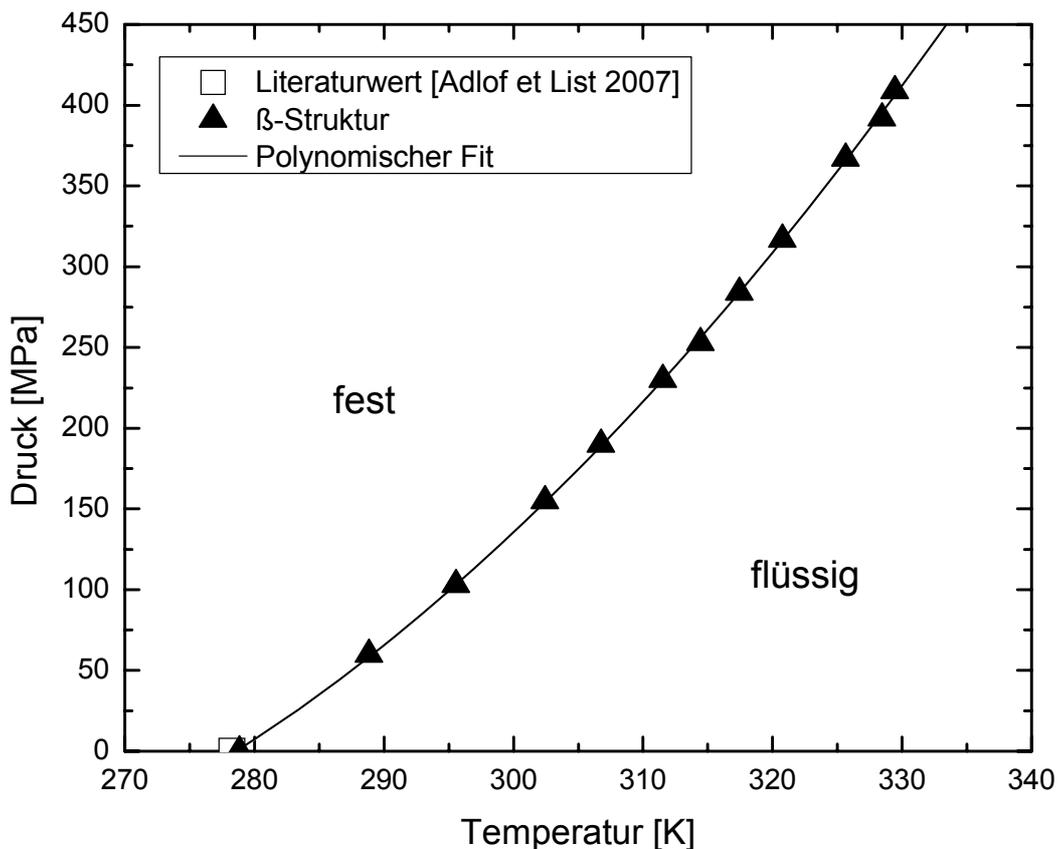


Abbildung 31: Druck-Temperaturdiagramm des Schmelzpunktes der β -Struktur von Triolein (Fehlerbalken sind kleiner als Symbole)

In Abbildung 32 werden die Schmelzpunkte von Triolein gezeigt, das durch Druckbeaufschlagung verfestigt wird. Dabei zeigen die bei 288 K behandelten Proben die gleichen Schmelzpunkte wie die β -Struktur. Gleichung 25 beschreibt auch diesen Schmelzlinienverlauf sehr präzise. Für die bei 278 K verfestigten Proben ist diese Übereinstimmung nur bis etwa 250 MPa gegeben. Bei höheren Drücken weichen die Schmelzpunkte von Gleichung 25 ab. Die Probe schmilzt bei einer niedrigeren Temperatur.

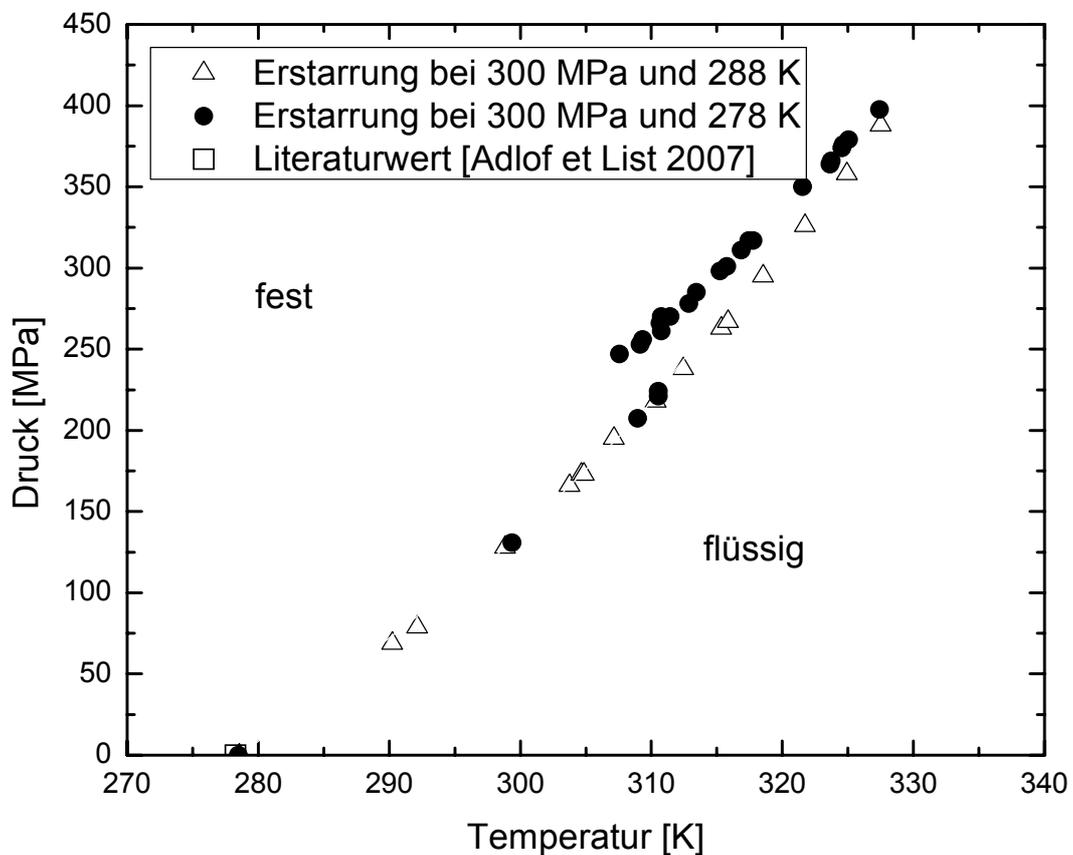


Abbildung 32: Druck-Temperatur-Diagramm des Schmelzpunktes von Triolein bei verschiedenen Erstarrungsbedingungen (Fehlerbalken sind kleiner als Symbole)

5.2 Kristallwachstum

Der Versuchsaufbau des Hochdruckpolarisationsmikroskops wird auch zur Untersuchung von Kristallkeimbildung und -wachstum eingesetzt. Abbildung 33 zeigt entsprechende Aufnahmen einer Fettkristallisation von Triolein bei 298 K und 300 MPa zu verschiedenen Zeiten.

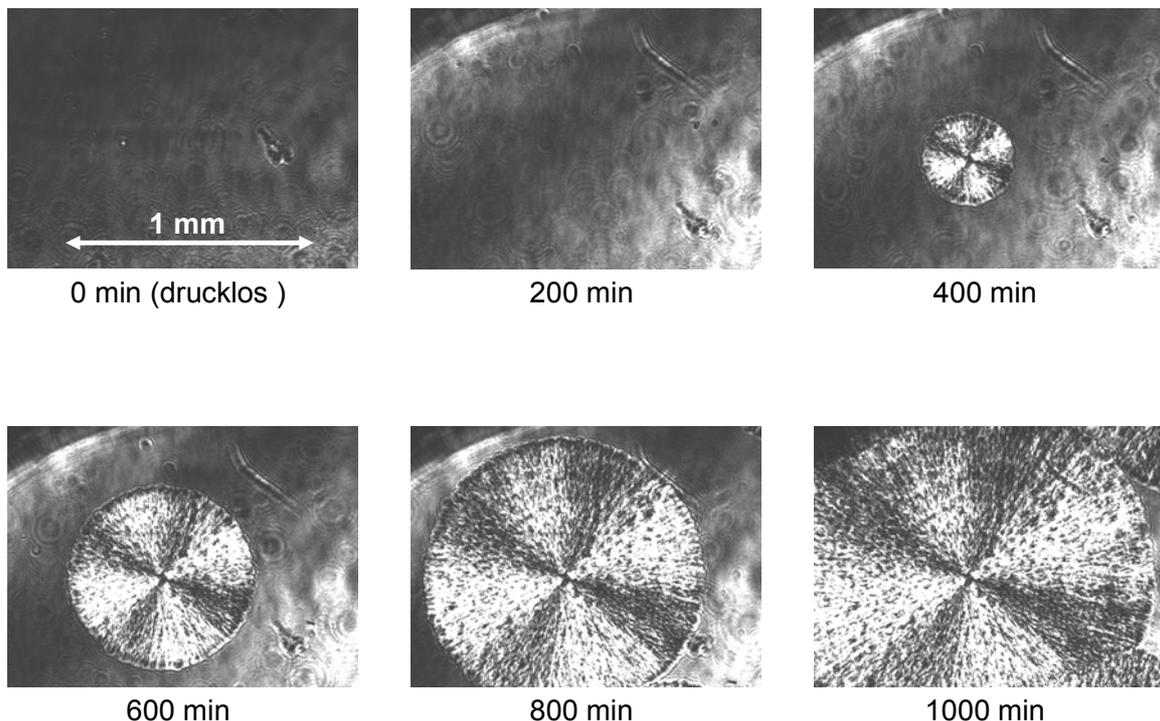


Abbildung 33: Wachstum eines Trioleinkristalls bei 298 K und 300 MPa

Die Auswertung erfolgt nach [Campos *et al.* 2005]. Die Kreisflächen der Kristalle werden mit der Bildbearbeitungssoftware Optimas vermessen. Die Bilder der Fettkristalle unter Hochdruck zeigen anstelle eines scharfen Randes mehrere Interferenzstreifen an. Allen Kristallen ist dabei aber ein sehr heller Kreis im Randbereich zueigen. Die Kreisflächen werden immer an den Innenradius dieser hellen Fläche angepasst. Dieses Vorgehen ist in Abbildung 34 gezeigt. Dabei handelt es sich um einen Bildausschnitt, in dem zwei Kristalle zusammenwachsen. Daher ist

im Kontaktgebiet auch eine Abweichung von idealen, angefitteten Kreisflächen zu erkennen.

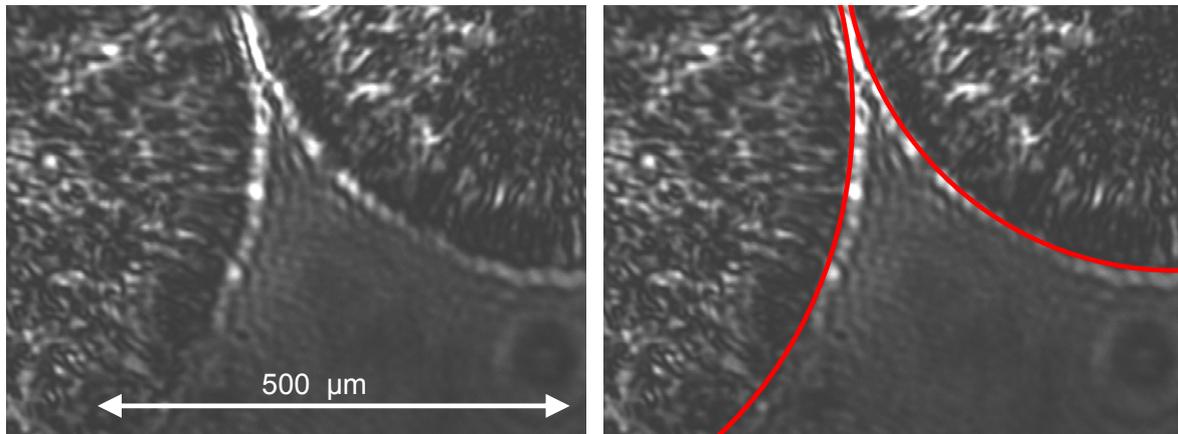


Abbildung 34: Vermessung des Kristallwachstums veranschaulicht an einem Bildausschnitt von Triolein bei 298 K und 300 MPa. Bild links Originalausschnitt, Bild rechts mit angefittetem Kreis.

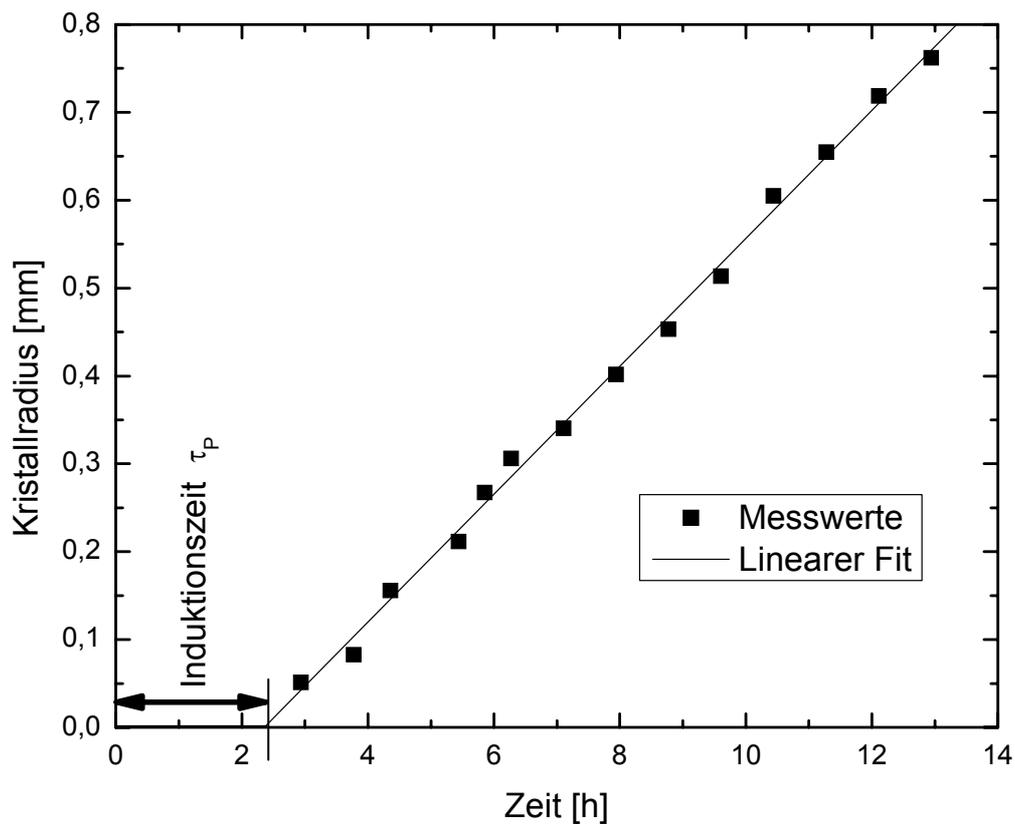


Abbildung 35: Bestimmung der Induktionszeit τ_p von Triolein bei 300 MPa und 298 K

Die daraus berechneten Radien der Kristalle werden über die Zeit aufgetragen und eine Ausgleichsgerade angefitet. Der Schnittpunkt dieser Geraden mit der Zeitachse wird als Beginn der Kristallkeimbildung gewertet. Die Zeitdauer von Druckbeaufschlagung bis zum Beginn der Kristallkeimbildung ist die Induktionszeit τ_p . Diese Auswertemethode ist in Abbildung 35 dargestellt.

Die in der Literatur geforderte Fünffachbestimmung der Induktionszeit [Cerqueira *et al.* 2004] ist für Triolein bei 300 MPa und 298 K in Abbildung 36 dargestellt. Dabei ist allen Ausgleichsgeraden eine sehr ähnliche Steigung zueigen, aber auch eine sehr deutliche Diskrepanz der daraus ermittelten Induktionszeit.

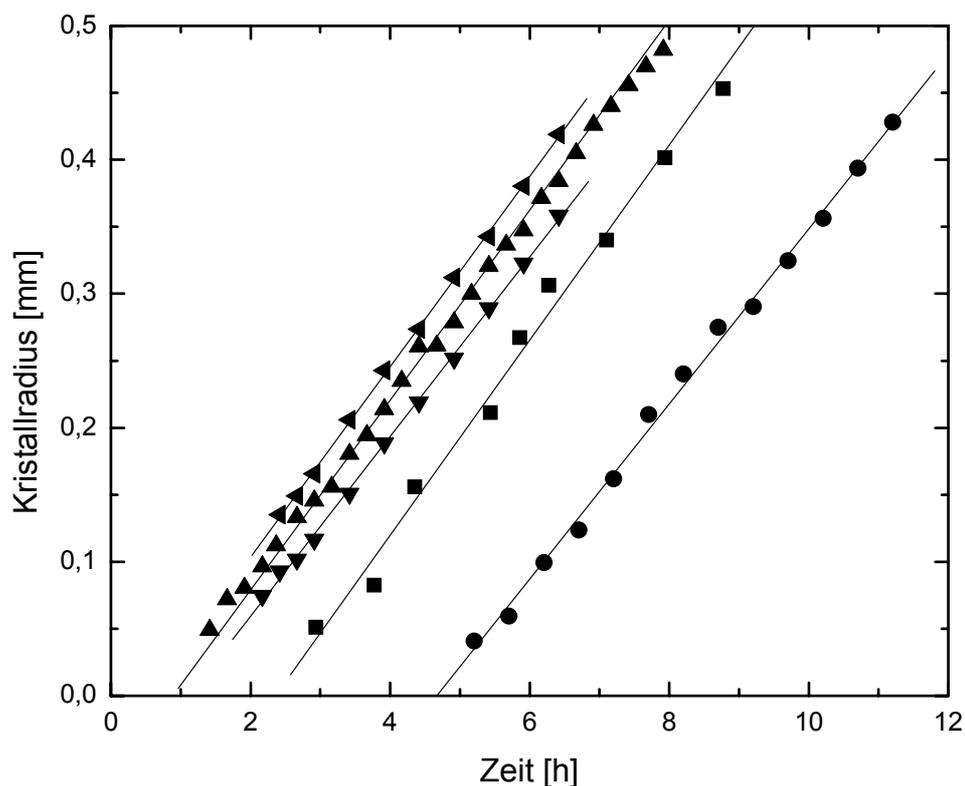


Abbildung 36: Kristallwachstum von Triolein bei 300 MPa und 298 K bei fünf Versuchen

Die Steigung der Ausgleichsgeraden entspricht der Geschwindigkeit, mit der der Radius der Fettkristalle zunimmt. In Tabelle 6 sind diese Kinetiken für verschiedene

Versuchsbedingungen für Triolein aufgetragen. Sowohl eine niedrigere Temperatur als auch ein höherer Druck beschleunigen das Kristallwachstum.

Tabelle 6: Zunahme des Radius von Trioleinkristallen in Abhängigkeit von Druck und Temperatur

Temperatur [K]	Druck [MPa]	Zunahme des Radius [mm/h]
293	200	0,0288 +0,0002
		-0,0002
293	300	0,1011 +0,0237
		-0,0183
298	300	0,0694 +0,0034
		-0,0040
298	400	0,0924 +0,0120
		-0,0126

Die Induktionszeiten τ_p von Triolein sind mit ihren Vertauensintervallen in Tabelle 7 aufgeführt. Der Zusammenhang zwischen niedrigerer Temperatur und kürzerer Induktionszeit und die verkürzende Wirkung eines höheren hydrostatischen Druckes sind anhand der Mittelwerte zu erkennen. Eine präzise Aussage über die Induktionszeit ist aber nicht möglich.

Tabelle 7: Induktionszeiten τ_p von Triolein

Temperatur [K]	Druck [MPa]	Induktionszeit τ_p [h]
293	200	5,877 +3,240
		-1,450
293	300	0,703 +0,826
		-0,646
298	300	1,914 +2,757
		-1,373
298	400	0,219 +0,154
		-0,212

Die Durchführung bzw. Auswertung von Kristallisationsversuchen unter anderen Versuchsbedingungen ist nicht erfolgreich. Bei Parametern, die eine längere Induktionszeit erwarten lassen, sind nicht genug Versuche auswertbar. Die Problematik ist hierbei eine Nukleation außerhalb des observierten Messvolumens. Das Kristallwachstum, das mit einer gewissen Verzögerung dann auch in den Aufnahmen zu erkennen ist, kann nur unzureichend ausgewertet werden. Abbildung 37 zeigt das Zusammenwachsen dreier Trioleinkristalle nach 60 h und veranschaulicht hierbei die Unzulänglichkeit des Auswertens.

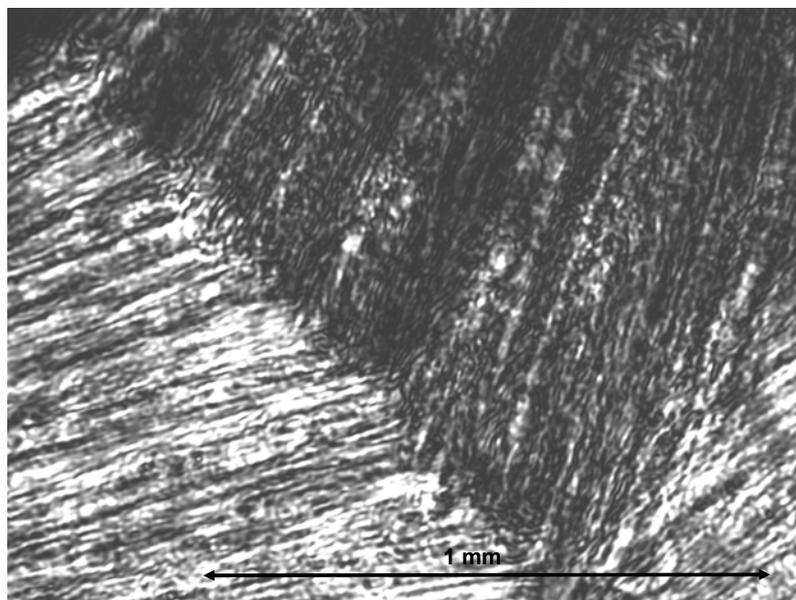


Abbildung 37: Aufnahme von Triolein bei 298 K und 250 MPa nach 60 h

Da nur kleine Ausschnitte und vor allem keine Mittelpunkte der Kristalle zu erkennen sind, ist keine akkurate Aussage über die Kristallfläche möglich. Die Nukleation im zur Verfügung stehenden Bildausschnitt zu realisieren, bedarf einer großen Anzahl an Wiederholungen des Versuches oder einer Vergrößerung des Bildausschnittes. Im Gegensatz hierzu ist bei Versuchsbedingungen, die den Phasenübergang begünstigen, eine verstärkte Nukleation zu beobachten. Abbildung 38 zeigt einen derartigen Phasenübergang. Anstelle weniger wachsender Kristalle ist hierbei eine

homogene Kristallisation über den gesamten Bildausschnitt zu beobachten. Eine Vermessung nach dem oben beschriebenen Verfahren ist hier aber nicht möglich, da die Kristalle auf Grund ihres schnellen Wachstums schnell in Wechselwirkung mit Nachbarkristallen treten und keine Kreisform mehr besitzen.

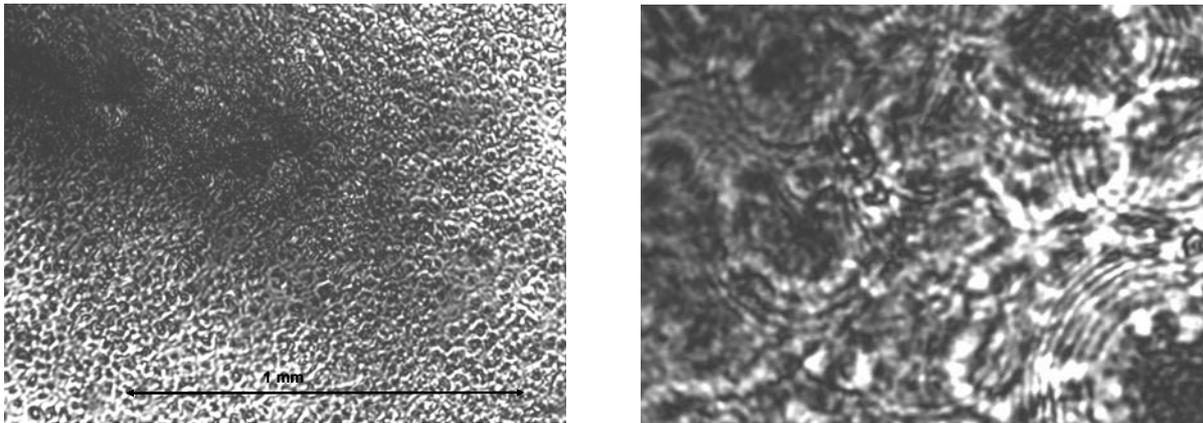


Abbildung 38: Aufnahme von Triolein bei 293 K und 450 MPa nach 20 min. Linkes Bild gesamte Aufnahme. Rechtes Bild Ausschnitt

5.3 Induktionszeit

Das Hochdruckpolarisationsmikroskop ist sehr geeignet zur Schmelzpunktbestimmung. Für weitere Untersuchungen wird ein Versuchsaufbau für Hochdruckturbidimetrie und – nephelometrie realisiert. Ein deutlich größeres Probenvolumen von 1 ml soll dabei die Beobachtung der Kristallkeimbildung auch bei niedrigen Nukleationsraten gestatten. Auf Grund des größeren Messvolumens ist bei dieser Methode die Statistik der Messwerte besser [Herrera *et al.* 1998].

Am Beispiel einer Kristallisation von Trilaurin zeigt Abbildung 39 den qualitativen Verlauf der Messungen von druckinduzierten Verfestigungen von TAGs mit dieser Methode. Abhängig von Probe, Druck und Temperatur variieren Induktionszeit, das Streulichtmaximum und der Endwert der Streulichtintensität, aber der charakteristische Verlauf bleibt. Ausgehend vom Vordruck, wird der Druck während

der eingestellten Zeit auf den Enddruck erhöht und gehalten. Während des Druckaufbaus kommt es zu einer Temperaturerhöhung, hervorgerufen durch die Kompression der Probe. Diese Erhöhung beträgt maximal 10 K und innerhalb weniger Minuten ist die Ausgangstemperatur in der Probe wieder erreicht. Das Transmissionssignal startet von einem relativ hohen Wert, da sich in der flüssigen Probe keine Partikel befinden, die das Licht streuen können. Der Druckaufbau verändert aber das Transmissionssignal.

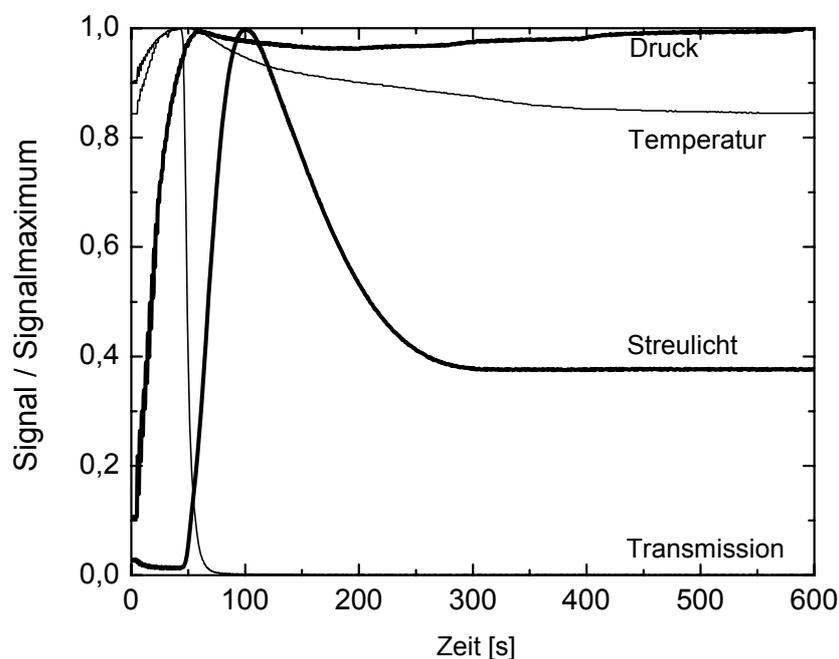


Abbildung 39: Signalverlauf bei druckinduzierter Verfestigung von Trilaurin bei 450 MPa und 333 K

Dies ist in den veränderten optischen Eigenschaften der Stoffe unter Druck begründet, in denen eine Brechungsindexanpassung erfolgt. Tritt kein Phasenübergang ein, verbleibt das Signal auf dem neuen Niveau. Die Bildung von Nukleationskeimen und das anschließende Kristallwachstum hindern das Licht am Durchgang, was in einer Abnahme der Transmission resultiert. Mit dem Beginn der Nukleation und dem anschließenden Kristallwachstum steigt das Streulichtsignal bis

zu einem Maximum an und fällt anschließend auf einen konstanten Endwert ab. Für Abbildung 40 wurde der Streulichtsensor durch eine Kamera ersetzt. Die Aufnahmen zu verschiedenen Zeitpunkten zeigen zunächst nur Reflektionen entlang des Laserstrahls, gefolgt von einer über das gesamte Bild homogen verlaufenden Helligkeitsverteilung zu späteren Zeitpunkten der Kristallisation.

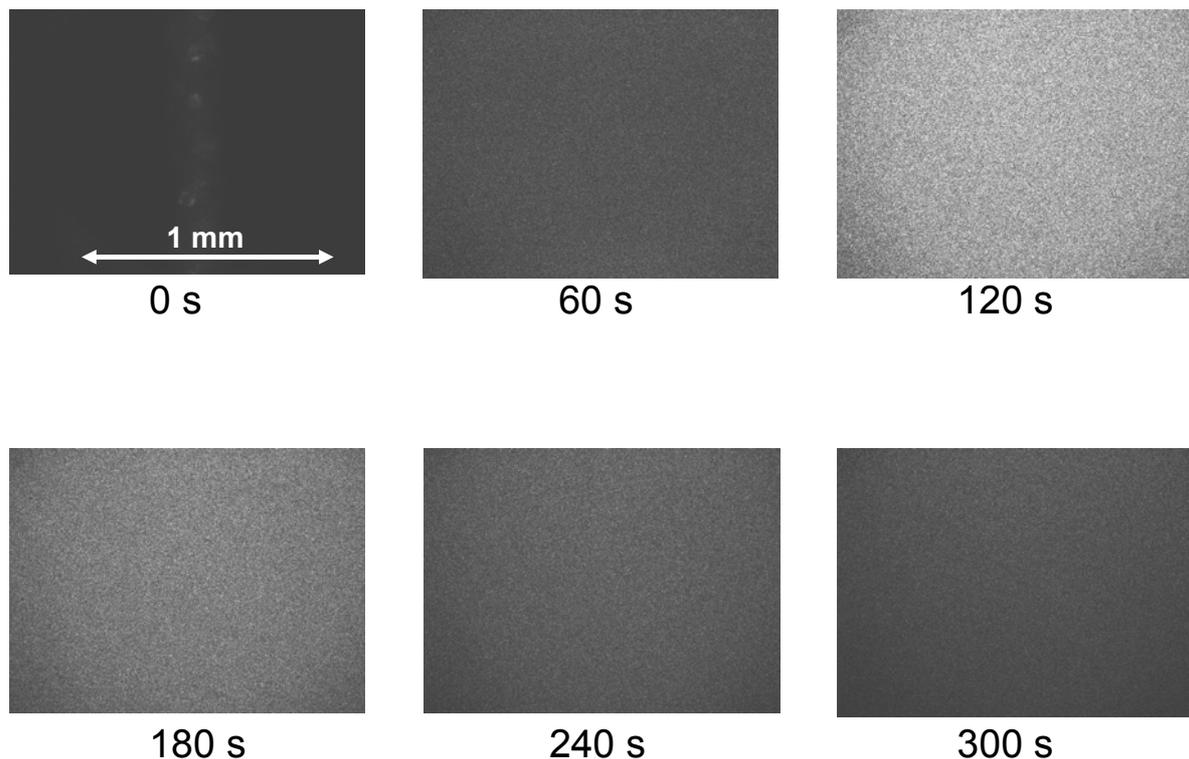


Abbildung 40: Aufnahmen einer druckinduzierten Verfestigung von Trilaurin bei 450 MPa und 333 K. Die Kamera ersetzt hierbei den Streulichtsensor.

Die Induktionszeit ist die Zeit ab Druckbeaufschlagung, die benötigt wird, bis die Nukleation der Fettkristalle detektierbar ist. Bei der Hochdrucknephelometrie wird ein Anstieg des Streulichtsignals dafür verwendet. Die Nukleation tritt dann ein, wenn sich das Streulichtsignal signifikant vom Grundrauschen der Messergebnisse abhebt. Als einheitlicher Bewertungsmaßstab wird eine 5%-Hürde verwendet. Maßgeblich ist die Differenz zwischen dem Mittelwert am Anfang und dem Maximum des Streulichts.

Von den 5% dieser Differenz wird die dazu gehörende Zeit des Streulichts bestimmt. In Abbildung 41 ist die Bestimmung der Induktionszeit τ_s illustriert. Die Hochdruckturbidimetrie bestimmt die Induktionszeit τ_t ähnlich. Dabei wird der Abfall der Transmission um 5% ermittelt und die dazugehörige Zeit bestimmt.

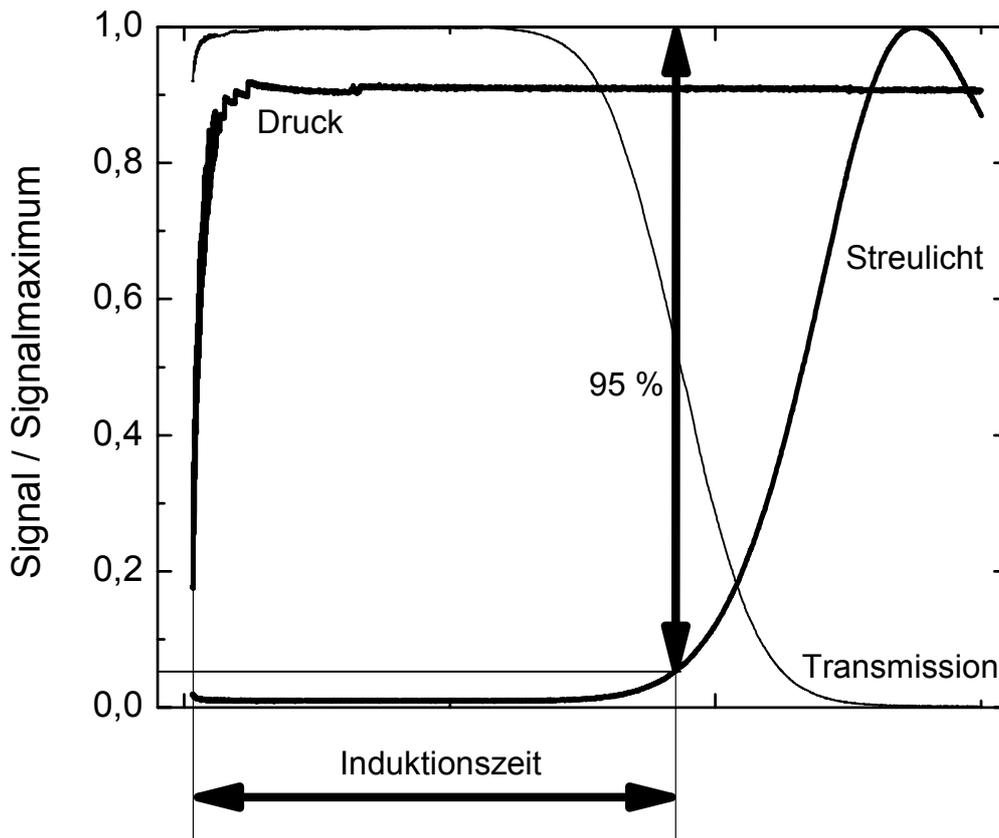


Abbildung 41: Definition der Induktionszeit τ_s anhand von Trilaurin bei 250 MPa und 333 K

Die inversen Induktionszeiten $1/\tau_s$ und $1/\tau_t$ von druckinduzierten Phasenübergängen in Trilaurin, bestimmt mit Hochdruckturbidimetrie und – nephelometrie, sind in Abbildung 42 aufgetragen. Steigender Druck verkürzt hierbei die Induktionszeit überproportional stark. Eine erhöhte Temperatur verzögert auch den Beginn der Nukleation, was die niedrigeren inversen Induktionszeiten für 343 K im Vergleich zu

333 K bei gleichem Druck zeigen. Die Auswertung der Messungen mit Triolein, aufgeführt in Abbildung 43, liefert entsprechende Ergebnisse.

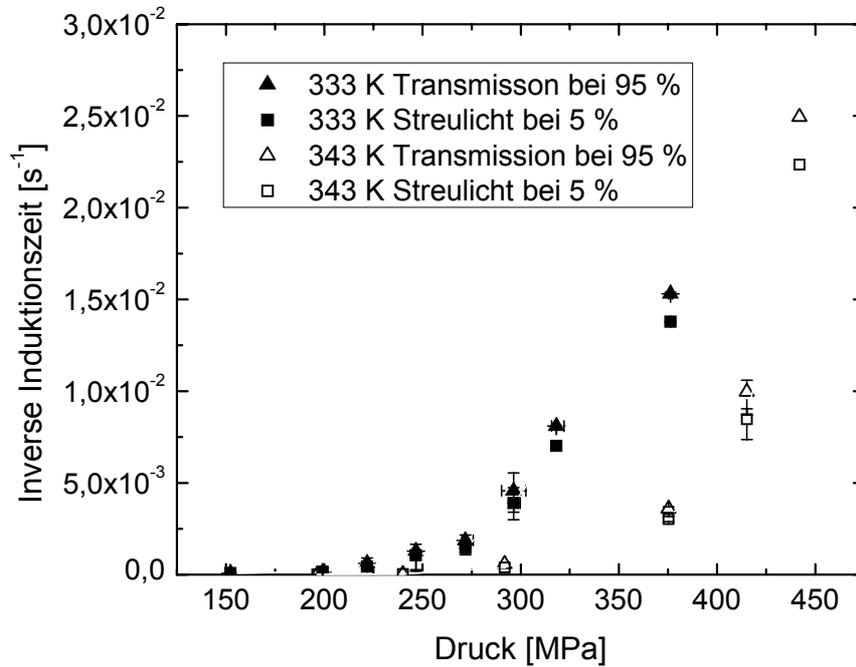


Abbildung 42: Inverse Induktionszeiten $1/\tau_s$ und $1/\tau_t$ von Trilaurin

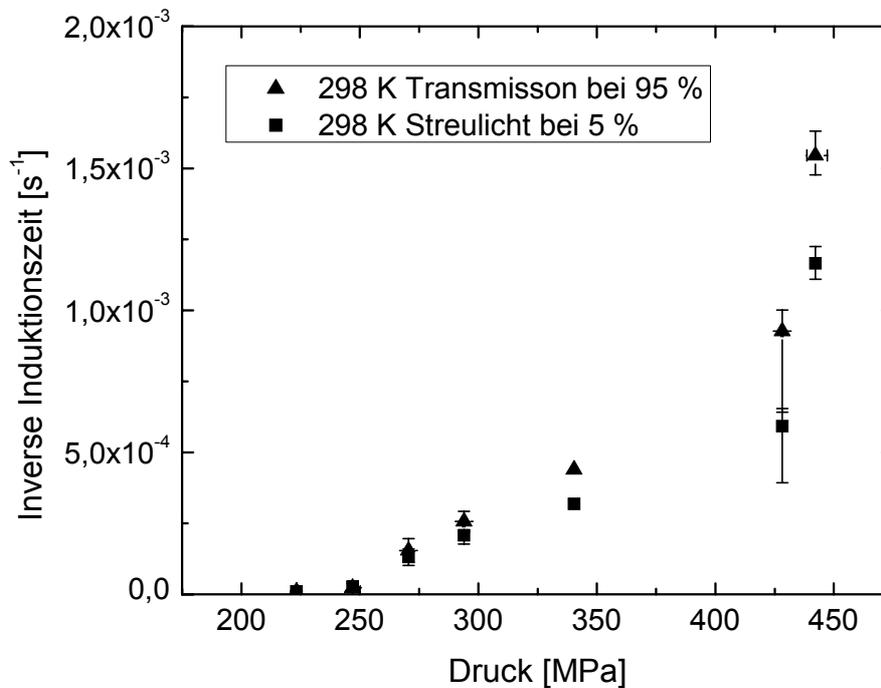


Abbildung 43: Inverse Induktionszeiten $1/\tau_s$ und $1/\tau_t$ von Triolein

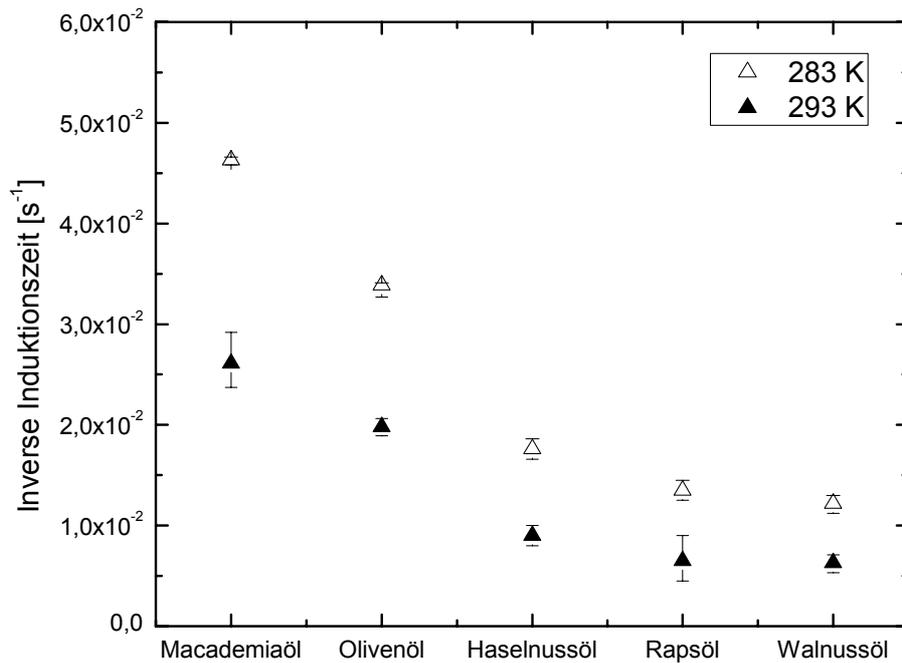
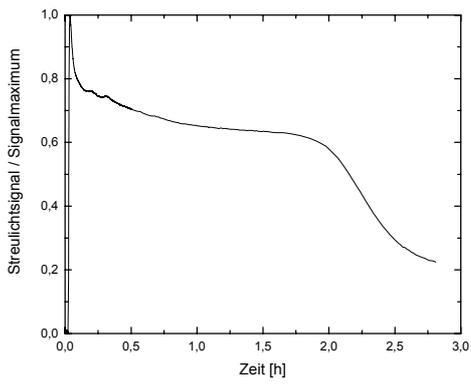
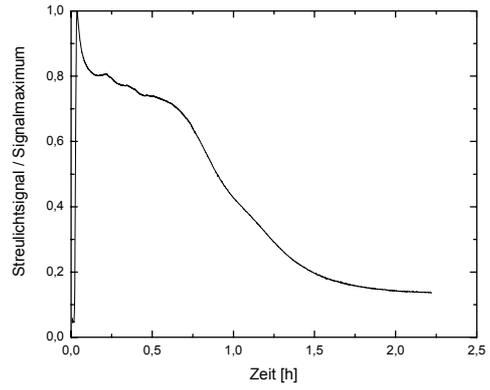


Abbildung 44: Inverse Induktionszeit $1/\tau_s$ verschiedener Öle bei 450 MPa

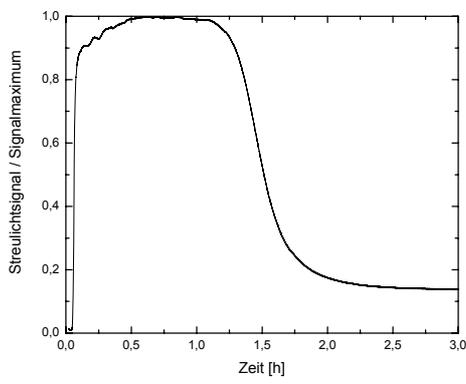
Die Fettsäurezusammensetzung der Öle hat sich durch die Druckbehandlung nicht verändert. Im Anhang sind in Tabelle 9 die Fettsäurekompositionen der Öle nach einer Druckbehandlung (3 mal 450 MPa bei 293 K für je 15 min) aufgeführt. Schwankungen gegenüber den Analysen vor der Hochdruckbehandlung (Tabelle 3) befinden sich innerhalb der Messtoleranzen. Die Abbildung 44 zeigt die inverse Induktionszeit $1/\tau_s$ verschiedener Öle. Die bisher vorgestellten Auswertungsverfahren sind prinzipiell für diese TAG-Gemische möglich. Der in Abbildung 39 dargestellte Streulichtsignalverlauf für reine TAGs trifft hier aber nicht mehr vollständig zu. Das Signal zeigt einen eher stufenartigen Charakter im Vergleich zum Transient der Reinsubstanz. Das zeitliche Verhalten der einzelnen Streulichtsignale ist in der Abbildung 45 dargestellt.



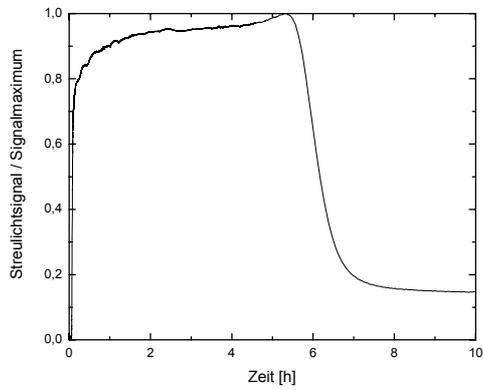
Macademiaöl



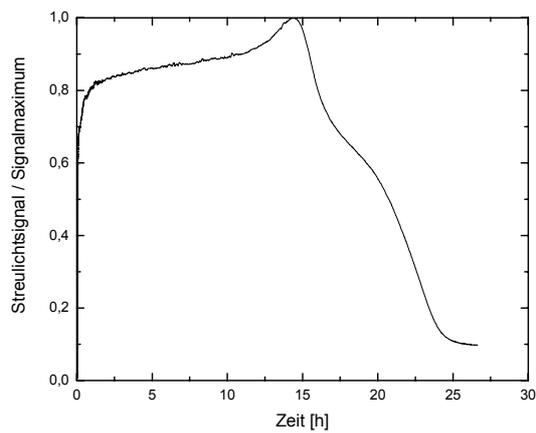
Olivenöl



Haselnußöl



Rapsöl



Walnußöl

Abbildung 45: Streulichtverhalten von verschiedenen Speiseölen bei einer Druckbeaufschlagung von 450 MPa bei 293 K

6 Diskussion

6.1 Schmelzpunkt

Das entwickelte Messverfahren ist geeignet für die Schmelzpunktbestimmung und würde bei Verwendung geringerer Temperaturintervalle und eines genaueren Drucksensors eine noch höhere Auflösung erlauben. Für noch höhere Druckbereiche empfiehlt sich der Einsatz einer Diamantstempelzelle. Im Gegensatz zu den hier verwendeten Saphiren besitzen Diamanten keine doppelbrechenden Eigenschaften und sind damit besser für den Aufbau von Polarisationslichtmikroskopen geeignet. Der einzige Nachteil von Diamanten ist in ihren nicht unerheblichen Anschaffungskosten zu sehen und den damit verbundenen Restriktionen die Größe betreffend.

Die ermittelten Schmelzpunkte der β -Struktur von Triolein zeigen keine lineare Abhängigkeit in einem Druck-Temperatur-Diagramm und stehen damit zunächst im Widerspruch zu bisherigen Veröffentlichungen [Cheftel 1992, Pehl 2004, Yasuda & Mochizuki 1992]. Die experimentelle Forschung dieser Autoren beschränkt sich aber auf einen kleineren Parameterbereich für den eine lineare Beschreibung der Messergebnisse auch sinnvoll erscheint. Auch bei den hier vorliegenden Ergebnissen ist bei der Beschreibung des druckabhängigen Schmelzpunktes der β -Struktur von Triolein durch Gleichung 25 ein ausgeprägter linearer Anteil enthalten. Um aber den in der Lebensmittelindustrie eingesetzten Drücken von 500 MPa und mehr gerecht zu werden, ist bei TAGs diese Abweichung von der Linearität zu berücksichtigen. Je höher die Druckbeaufschlagung, desto geringer ist die damit verbundene Änderung der Schmelzpunkttemperatur. Eine theoretische Erklärung hierfür liefert die Herleitung von Gleichung 7. Das von [Delgado et al. 2008]

vorgeschlagene Modell zur Beschreibung der flüssig/fest-Phasenkoexistenzlinie für Medien mit hohem molarem Volumen, angewandt an Triolein, ist nicht kongruent mit den Messdaten. Es dient aber als erste Näherung. Eine Gegenüberstellung des Modells mit den Messwerten ist in Abbildung 46 gegeben.

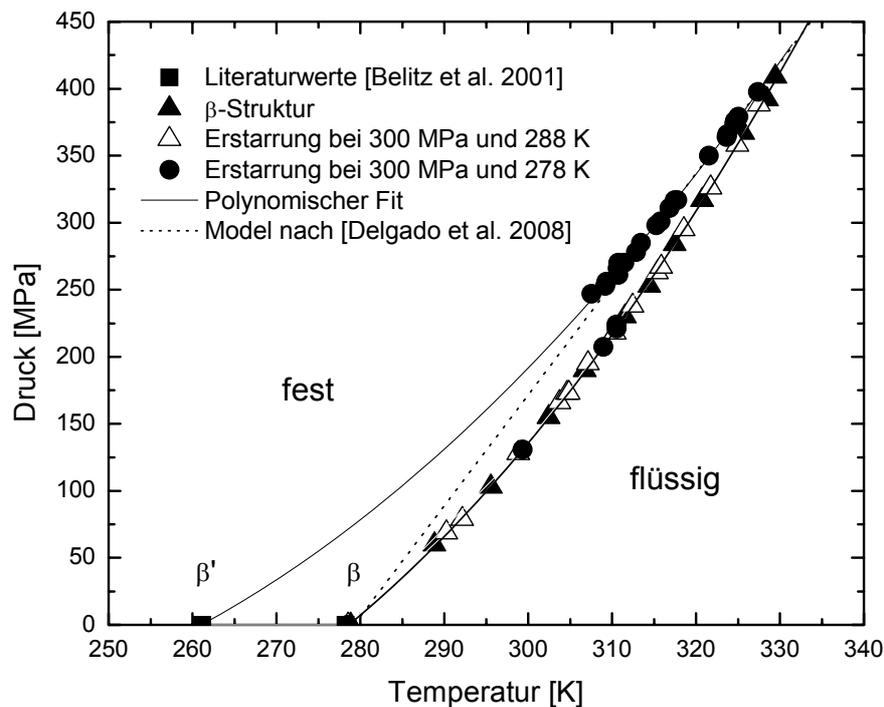


Abbildung 46: Druck- und Temperaturabhängigkeit von Trioleinschmelzpunkten

Hierbei sind die druckinduzierten Erstarrungen bei 300 MPa und 288 K mit dem gleichen Polynom zu beschreiben wie die der β -Struktur. Im Gegensatz hierzu erscheinen die Erstarrungsbedingungen bei 300 MPa und 278 K teilweise von dieser Schmelzlinie abzuweichen. Bei Drücken über 250 MPa liegt die Schmelztemperatur unterhalb der β -Struktur. Bei niedrigeren Drücken sind die Messdaten wieder sehr gut mit der Gleichung 25 zu beschreiben. Unter atmosphärischem Druck kann eine Kristallisation bei tieferen Temperaturen die Bildung einer anderen polymorphen Erstarrungsform als der β -Struktur ermöglichen. Dieser Zusammenhang ist in

Abbildung 4 veranschaulicht. Unter Druck sollte dies auch möglich sein. Der nächst höhere Schmelzpunkt, nach dem der β -Form, besitzt die β' -Struktur. Bei einer Extrapolation der Messwerte, die nicht auf der β -Schmelzlinie liegen, bis hin zum β' -Schmelzpunkt unter Normaldruck, lassen sich die Messwerte durch ein Polynom beschreiben:

$$p = 0,039 \frac{MPa}{K^2} T^2 - 16,98 \frac{MPa}{K} T + 1772,2 MPa \quad (26)$$

Dabei steht p für den Druck in MPa und T für die Temperatur in K. Die experimentell bestimmten Werte stimmen bei einer Regressionsanalyse mit $R^2 = 0,9994$ mit dieser Gleichung überein. Dies lässt vermuten, dass unter diesen Kristallisationsbedingungen β' -Kristalle entstehen. Die Existenz zweier Bereiche, mit einer scheinbaren β -Struktur unter 250 MPa muss nicht im Widerspruch dazu stehen. Unter atmosphärischen Bedingungen kann bei Erwärmung die β' -Form schmelzen und in Form von β -Kristallen rekristallisieren. Messtechnisch ist dieser Übergang in andere polymorphe Formen durch die Detektion der dabei auftretenden Wärmeströme durch ein Kalorimeter möglich. Mit dem Hochdruckpolarisationsmikroskop hingegen ist nur das vollständige Schmelzen objektiv zu bewerten. Für eine Kristallisation muss die dafür nötige Aktivierungsenergie ΔG ausreichend sein. Unter atmosphärischen Bedingungen korreliert diese mit dem Grad der Unterkühlung der Schmelze, wie in Abbildung 13 verdeutlicht. Gleichung 25 und Gleichung 26 verringern mit steigendem Druck den Temperaturunterschied zu einander, bis hin zu einem gemeinsamen Schnittpunkt bei 330 K und 419 MPa. Dieser sinkende Temperaturabstand lässt vermuten, dass bei höheren Drücken ΔG für die Rekristallisation nicht mehr ausreichend ist und somit der Schmelzpunkt der β' -Form gemessen wird. Untersuchungen an Triarchidin von [Masberg 1999] zeigen auch bei diesem TAG einen mit steigendem Druck sinkenden

Temperaturabstand dieser beiden polymorphen Formen. Unter Berücksichtigung der angegebenen Messungengenauigkeiten ist aber die Aussagekräftigkeit dieser Messdaten von Masberg durchaus kritisch zu bewerten. Hochdruck würde damit nicht wie von [Cheftel 1992] vermutet zu einer Stabilisierung der stabilsten polymorphen Form führen, sondern eine konträre Wirkung erzielen. Die Hochdruckbehandlung scheint die Bildung von β' -Kristallen gegenüber der von β -Kristallen im Vergleich zu atmosphärischem Druck zu erleichtern. Da in der Lebensmittelindustrie die Generierung von β' -Kristallen bei TAGs angestrebt wird, ist dies als sehr positiv anzusehen. Wird die Druckbehandlung zum Zwecke einer beschleunigten Kristallisation eingesetzt, bleiben die Kristalle auch nach dem Druckabbau bestehen [Buchheim & Frede 1996].

Interessant erscheint der theoretische Schnittpunkt zwischen der Gleichung 25 und der Gleichung 26 und der daran anschließende weitere Verlauf der Phasengrenzlinie. Aussagen darüber wären aber rein spekulativ und weiterer Forschungsbedarf ist hierfür nötig.

6.2 Kristallwachstum

Das Hochdruckpolarisationsmikroskop erlaubt auch Untersuchungen zum Kristallwachstum. Aufnahmen wie die Abbildung 33 sind die ersten dieser Art für TAGs unter Druck. Die erfolgten Auswertungen, aufgelistet in den Tabellen 6 und 7, zeigen, dass steigender Druck die Induktionszeit verkürzt und Kristallwachstum beschleunigt. Mit dem aufgebauten Mikroskop ergibt sich damit ein sinnvoller Arbeitsraum von etwa 100 MPa. Bei kleineren Drücken ist der Bildausschnitt zu gering. Eine sehr hohe Anzahl an Versuchen ist nötig, um eine Nukleation im Observationsraum sicher zu stellen. Bei Nukleation außerhalb des Bildausschnittes

wachsen Kristalle von außen hinein und erschweren die Auswertung, wie in Abbildung 37 illustriert. Bei größeren Drücken wachsen die Kristalle homogen über den gesamten Bildausschnitt, wie in Abbildung 38 dargestellt. Die Vermessung ist aber problematisch, da die Druckbeaufschlagung Auswirkungen auf die Bildqualität des Hochdruckpolarisationsmikroskopes hat. Mit einem kommerziellen Mikroskop können Kristalle ab einer Größe von 3 – 4 μm untersucht werden. Die theoretisch mögliche Auflösung von unter 1 μm wird in der Regel nicht erreicht [Marangoni 2005]. Auch das Hochdruckpolarisationsmikroskop leistet eine theoretische Auflösung von unter 1 μm und wäre damit prinzipiell auch für die Untersuchung solcher Kristallisationen geeignet. Die Verwendung von Saphirfenstern, die bei Druckbeaufschlagung ihre Licht polarisierenden Eigenschaften verändern, führt jedoch zu Interferenzstreifenmustern die die hier verwendete Auswertung erschweren. Bei wenigen Einzelkristallen pro Bild ist eine händische Auswertung zu realisieren. Bei höheren Drücken ist eine automatisierte Bildauswertung zu favorisieren. Neben Induktionszeit und Kristallwachstum könnte hierbei auch der zeitliche Anstieg des Feststoffanteils bestimmt werden. Der realisierte Aufbau ist einsatzfähig und erlaubt eine Erweiterung schon bestehender Hochdruckzellen zu Hochdruckmikroskopen oder Hochdruckpolarisationsmikroskopen bei überschaubarem Ressourceneinsatz.

6.3 Induktionszeit

Die Messungen, beruhend auf Turbidimetrie und Nephelometrie, erlauben die Bestimmung der Induktionszeit im gesamten Druck- und Temperaturbereich der Zelle. Sowohl für Triolein, als auch für Trilaurin ergeben sich hierbei wieder die grundsätzlichen Zusammenhänge, die auch mit dem Hochdruckpolarisations-

mikroskop ermittelt werden: Druckerhöhung und Temperaturniedrigung verkürzen die Induktionszeit. Die Beschleunigung durch höhere Druckbeaufschlagung verläuft dabei überproportional. Diese Ergebnisse, gezeigt in der Abbildung 42 und der Abbildung 43, stimmen qualitativ mit den Aufzeichnung in Abbildung 16 über den druckinduzierten Phasenübergang in Kokosöl von [Hartmann 2006], überein. Hartmann unterscheidet bei seinen Aufnahmen auch verschiedene Erscheinungsformen, die er aber nicht mit polymorphen Strukturen in Verbindung bringt. In Abbildung 14 werden Induktionszeiten in Abhängigkeit von der Supercoolingtemperatur für ein TAG bei atmosphärischem Druck aufgeführt. Der Verlauf weist dabei starke Ähnlichkeiten mit den hier ermittelten druckabhängigen Induktionszeiten auf. Bei der Arbeit über Induktionszeit und Supercooling wird zusätzlich die jeweilige polymorphe Struktur analysiert. Verschiedene polymorphe Erstarrungszustände werden erzeugt, wobei eine kürzere Induktionszeit bei größerer Supercoolingtemperatur eine instabilere Kristallstruktur hervorbringt. Dies lässt vermuten, dass Superpressuring in Abhängigkeit des Grades der Druckbeaufschlagung auch verschiedene polymorphe Formen generiert. Eine abschließende Bewertung ist aber nur durch eine strukturelle Analyse des erstarrten TAGs möglich.

Für Messungen, die sich der Phasengrenzlinie annähern, ist Turbidimetrie und Nephelometrie dem Hochdruckpolarisationsmikroskop vorzuziehen. Die Realisation mancher Messungen scheitert aber an praktischen Gesichtspunkten. Bei 298 K ist der Schmelzpunkt der β -Struktur von Triolein bei 123 MPa. Bei dieser Temperatur ist bei 225 MPa die Kristallkeimbildung erst nach über 27 h detektierbar. Versuche bei 200 MPa sind nach über drei Tagen noch ohne detektierbare Kristallkeimbildung. Entsprechende Langzeitversuche, die für eine genaue Charakterisierung des

Phasenüberganges wünschenswert sind, werden im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt.

Neben den Reinsubstanzen Triolein und Trilaurin wird auch die Kristallisation von TAG-Gemischen in Form von Speiseölen untersucht. Die Hochdruckturbidimetrie und –nephelometrie sind geeignet für diese in-situ Charakterisierungen. Der in Abbildung 41 dargestellte typische zeitliche Verlauf des Streulichtsignals eines TAGs, bestehend aus einem Signalanstieg bei Kristallisationsbeginn, einem Maximum und einem daran anschließenden Signalabfall auf ein konstantes Niveau, ist bei TAG-Gemischen nicht mehr ganz zutreffend. Der Transient des Streulichtes realer Öle, der in der Abbildung 45 zu finden ist, weist einen komplexeren Verlauf auf. Anstelle eines klar ersichtlichen Peaks tritt ein Kurvenverlauf auf, der als eine Überlagerung verschiedener Peaks erscheint. Bei Temperatur induzierten Phasenübergängen ist bei realen Ölen anstelle eines Schmelz- oder Erstarrungspunktes ein entsprechender Temperaturbereich zu finden, entsprechend der Schmelzpunkte der einzelnen Bestandteile der TAG-Komposition. Neben den unterschiedlichen Schmelzpunkten zeigen die einzelnen Bestandteile auch unterschiedliche Erstarrungskinetiken. Durch die Hochdruckapplikation auf ein TAG-Gemisch ist auch mit einer inhomogenen Erstarrung zu rechnen, in der einzelne Komponenten schneller kristallisieren als andere. Dies könnte die Erklärung für den Streulichtsignalverlauf bei den untersuchten Ölen sein, der dann eine Überlagerung verschiedener Kristallisationen darstellt. Alle TAG-Gemische haben mit den Reinsubstanzen gemein, dass am Ende ein konstanter Wert erreicht wird, der als Abschluss der Kristallisation gewertet werden kann.

Die Induktionszeit der Öle ist auch wieder temperaturabhängig und ist bei höheren Werten länger. Bei Triolein und Trilaurin ist die Induktionszeit kürzer, je größer der Abstand von der Phasengrenzlinie ist. Dies bedeutet, dass bei identischen Werten für

Temperatur und Druckbeaufschlagung die Induktionszeit eine Aussage über den Schmelzpunkt liefert bzw. zumindest eine Reihung nach auf- bzw. absteigenden Schmelzpunkt zulässt und für die hier untersuchten Öle auch zutrifft [Krist *et al.* 2008].

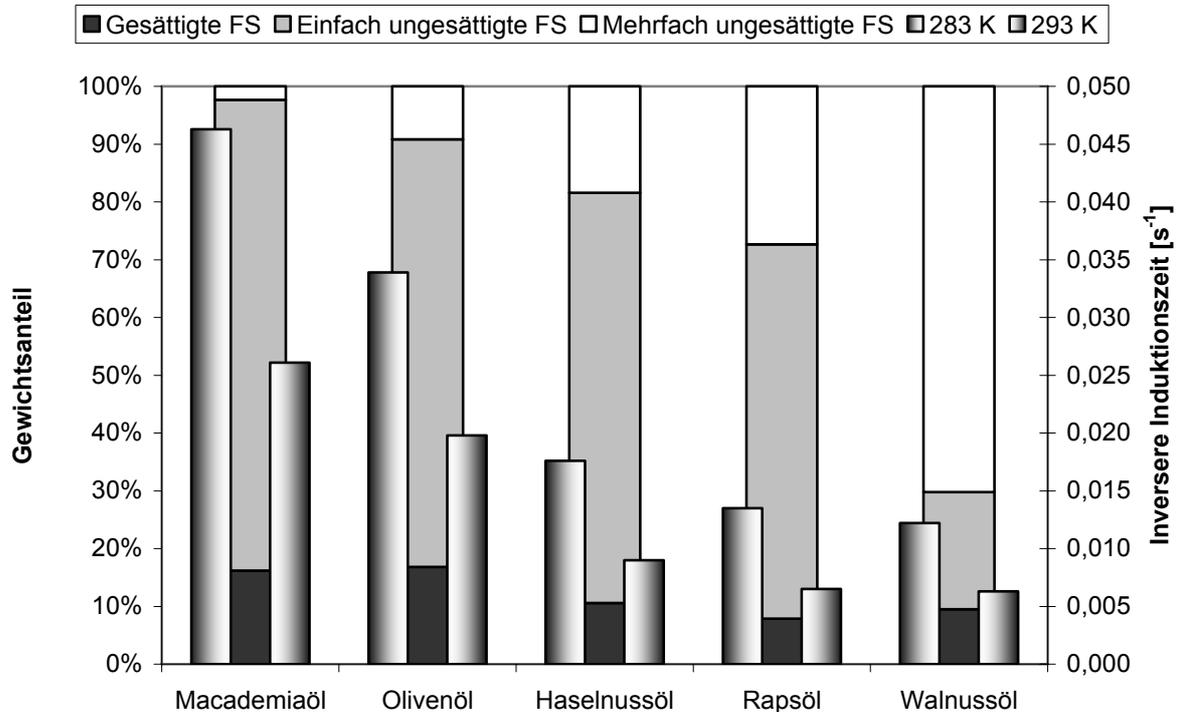


Abbildung 47: Prozentuale Massenverteilung der Öle (FS: Fettsäure) und die zugehörigen inversen Induktionszeiten bei 283 und 293 K

Der Schmelzpunkt von Ölen ist bei atmosphärischem Druck von der Fettsäurezusammensetzung abhängig. Abbildung 47 zeigt eine Gegenüberstellung von Induktionszeit und Fettsäurekomposition. Hierbei sind die Fettsäuren für eine bessere Überschaubarkeit in gesättigt, einfach ungesättigt und mehrfach ungesättigt unterteilt. Eine detaillierte Auflistung der Bestandteile ist der Tabelle 3 zu entnehmen. Generell verzögert ein steigender Anteil an ungesättigten Fettsäuren die Kristallisation, wobei mehrfach ungesättigte Fettsäuren hierbei einen stärkeren Effekt

als einfach ungesättigte Fettsäuren hervorrufen. Diese Erkenntnis ist analog zur Schmelzpunkterhöhung oder Absenkung von TAG-Gemischen bei Normaldruck.

7 Zusammenfassung

An Lebensmittel werden verschiedene, zum Teil konträre Anforderungen gestellt. Einerseits werden Produktsicherheit und lange Lagerfähigkeit erwartet, andererseits aber auch ein Maximum an Frische, Nährwert, Geschmack und Optik. Entsprechend obliegt es der Lebensmittelindustrie diesen Verbraucherwünschen durch geeignete Konservierungsmethoden gerecht zu werden. Der Einsatz verschiedener Konservierungsmittel oder -verfahren ist dabei in der Regel mit Kompromissen verbunden. Weit verbreitet in der Lebensmittelindustrie ist die Haltbarmachung durch physikalische Verfahren, wie die Pasteurisation oder Sterilisation durch Hitzeeinwirkung. Je höher die Temperatur einer Wärmebehandlung und je länger diese gehalten wird, desto größer ist hierbei auch die Wahrscheinlichkeit Verderbnis erregende Mikroorganismen abzutöten. Andererseits begünstigen diese Parameter auch chemische Reaktionen, die dem Lebensmittel die native Erscheinung nehmen. Weniger Kompromisse sind bei nicht-thermischen Konservierungsverfahren nötig, wie dem Einsatz hoher hydrostatischer Drücke bei moderaten Temperaturen. Im Gegensatz zur thermischen Behandlung werden dabei Vitamine, essentielle Aminosäuren und Farbe eines Lebensmittels kaum verändert, unter Bewahrung der gleichen Haltbarkeit. Zu beachten ist allerdings, dass hoher Druck den Aggregatzustand von Lebensmitteln bzw. deren Inhaltsstoffe beeinflusst. Anstelle von Temperaturabsenkung kann eine Verfestigung auch durch Druckerhöhung erzielt werden [Hayashi *et al.* 1987, Cheftel 1992, Otero & Sanz 2003, Torres & Velazquez 2005, Knorr *et al.* 2006].

Superpressuring, eine Druckbeaufschlagung, größer als für eine Verfestigung benötigt, soll bei Nahrungsfetten ähnliche Effekte hervorrufen wie Supercooling, eine

Abkühlung unterhalb des Erstarrungspunktes bei atmosphärischem Druck. Ein Überprüfung dieser Hypothese erfolgt in dieser Arbeit.

Da im beabsichtigten Untersuchungsbereich bis 450 MPa keine etablierten Untersuchungstechniken für Fettkristallisation existieren, liegt ein Schwerpunkt auf der Entwicklung geeigneter Messverfahren. Für eine in-situ Observation werden optische Experimente, beruhend auf Turbidimetrie, Nephelometrie und Polarisationsmikroskopie entwickelt. Diese Verfahren, zusammen mit dafür erstellten Auswertalgorithmen erlauben die Bestimmung von Schmelzpunkt, Kristallwachstum und Kristallkeimbildung von Fetten unter Druck. Dabei ist das selbst gebaute Hochdruckpolarisationslichtmikroskop besonders für Messungen bezüglich des Schmelzpunktes und des Kristallwachstums geeignet. Die Kristallkeimbildung ist besser durch Transmission und Streulicht zu detektieren.

Das resultierende Phasendiagramm von Triolein zeigt, im Gegensatz zu bisherigen Veröffentlichungen [Cheftel 1992, Pehl 2004, Yasuda & Mochizuki 1992] keine lineare Korrelation zwischen Druck- und Temperaturanstieg. Auch lässt es vermuten, dass die Hochdruckbehandlung nicht die Bildung von β -Kristallen, wie von [Cheftel 1992] angenommen begünstigt, sondern im Vergleich zu atmosphärischem Druck die Generierung von β' -Kristallen erleichtert. Analog zur Erzeugung von instabileren polymorphen Strukturen, je ausgeprägter die Supercoolingtemperatur gewählt wird, lassen die Untersuchungen vermuten, dass je ausgeprägter Superpressuring appliziert wird auch hier die instabilere β' - anstelle der β -Struktur gebildet wird. Da von der Lebensmittelindustrie die β' -Struktur bei Fetten angestrebt wird, ist dies positiv für eine Hochdruckbehandlung zu werten.

Die Induktionszeit ist die Verzögerung zwischen dem Erreichen der Kristallisationsbedingungen hinsichtlich Temperatur und Druck und der ersten

Detektion der beginnenden Kristallisation. Eine höherer Druckapplikation verkürzt bei Reinfetten und realen Lebensmittelfetten die Induktionszeit überproportional. Der druckabhängige Verlauf der Induktionszeit, bei ansonsten gleichen Reaktionsbedingungen, ist qualitativ identisch mit dem von verschiedenen starken Unterkühlungen bei Normaldruck. Der Kristallisationsantrieb Druckunterschied hat darin die gleiche Erscheinungsform wie das Resultat aus einem Temperaturunterschied. Superpressuring ist in den Auswirkungen darin dem Supercooling entsprechend. Die Generierung verschiedener polymorpher Strukturen durch Superpressuring ist nahe liegend.

8 Summary

Food has to satisfy different requirements, which are partly inconsistent. On the one hand are microbiological safety and a long shelf life. On the other hand are maxima in freshness, nutritional value, taste and appearance. The challenge for the food industry is to satisfy consumer requests with appropriate conservation techniques. The use of different preservative agents or methods is usually linked with compromises. Popular in the food industry are conservation procedures based on physical operations, like pasteurization or sterilization through heat. A temperature treatment increases food safety with increasing temperature and retention time. However, at the same time, these parameters favor chemical reactions which destroy the original appearance of the food. Fewer compromises are necessary when non-thermal conservation procedures, like high-pressure treatment of food at moderate temperatures, are used. In contrast to thermal treatment, vitamins, essential amino acids, and color of the treated food remain nearly unaltered, while insuring the same level of food safety. However, high pressure can change the state of food or its components. Rather than the application of lower temperatures to solidify foods, solidification can also be achieved through the application of high pressure [Hayashi *et al.* 1987, Cheftel 1992, Otero & Sanz 2003, Torres & Velazquez 2005, Knorr *et al.* 2006].

Superpressuring, a greater application of pressure necessary for solidification, should have similar effects on edible fats as supercooling, which involves cooling underneath the solidification point at atmospheric pressure. An investigation of this hypothesis is presented in this work.

As no techniques are established to investigate the crystallization of fat under pressures up to 450 MPa, this contribution focuses on the development of suitable measuring systems for this application. For in-situ observation, optical experiments based on turbidimetry, nephelometry and polar-light microscopy are used. These techniques, combined with specially developed evaluation algorithms, allow for the determination of the melting point, crystal growth, and crystal nucleation of fats under pressure. Thereby this self built polar-light microscope is especially suitable for measuring melting points and crystal growths. Crystal nucleation is best detected utilizing signals from light transmission and light scattering.

The resulting phase diagram of Triolein shows in contrast to other publications [Cheftel 1992, Pehl 2004, Yasuda & Mochizuki 1992] no linear correlation between pressure and temperature increase. High pressure application also seems to favor the generation of β' -crystals compared to atmospheric pressure and not of β -crystals as proposed by [Cheftel 1992]. Crystallizations driven by greater supercooling temperatures induce more unstable polymorphic structures. Similarly, experiments indicate that greater superpressuring also induces the formation of the more unstable β' - rather than the more stable β -polymorphic structure. As the β' -form is the desired structure for edible fats in the food industry, this is a positive aspect.

The induction time is the delay between attaining crystallization conditions in regards to temperature and pressure and the first detection of crystallization initiation. For fats, the induction time becomes disproportionately shorter with increasing pressure application. The pressure dependency of induction time by the same conditions in other aspects is qualitatively identical to the temperature dependency under atmospheric pressure. Pressure difference as the driving force for crystal nucleation appears to have the same result as temperature difference at atmospheric pressure.

Superpressuring achieves the same results as supercooling. Thus, the generation of different polymorphic structures through superpressuring is proposed.

9 Literaturverzeichnis

- Acosta, G. M. *et al.* 1996. High-pressure PVT Behavior of natural fats and oils, Trilaurin and n-tridecane from 303 K to 353 K from atmospheric pressure to 150 MPa. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 41(5): 961-969
- Adlof, R. O. & G. R. List. 2007. Synthesis and Physical Properties of EOE and EEO, Triacylglycerols Containing Elaidic and Oleic Fatty Acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 84(5): 427-431
- Afoakwa, E. O. *et al.* 2009. Fat bloom development and structure-appearance relationships during storage of under-tempered dark chocolates. *Journal of Food Engineering*. 91 (4): 571-581
- Arnold, M. R. 2002. Hochdruck-NMR. Dissertation. Universität Regensburg. Regensburg
- Atkins, P. W. & J. D. Paula. 2006. *Physikalische Chemie*. 4. Auflage. Wiley-VCH. Weinheim
- Avrami, M. 1940. Kinetics of Phase Change. II. Transformation-Time Relations for Random Distribution of Nuclei. *Journal of Chemical Physics*. 8: 212-224
- Bachl, F. 1988. NMR-spektroskopische Untersuchungen zur Dynamik einfacher Kohlenwasserstoffe bis 600 MPa. Dissertation. Universität Regensburg. Regensburg
- Belitz, H. D. *et al.* 2001. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 5. Auflage. Springer Verlag. Berlin.
- Biesalski, H. K. & P. Grimm. 2004. *Taschenatlas der Ernährung*. 3. Auflage. Thieme Verlag. Stuttgart.
- Blaurock, A. E. 1999. Fundamental Understanding of the Crystallization of Oils and Fats. *In: Physical Properties of Fats, Oils, and Emulsifiers*. 1-32. Herausgeber: N. Widlak. AOCS Press. Urbana
- Block, S. *et al.* 2006. Pressure-Temperature Phase Diagram of Zirconia. *Journal of the American Ceramic Society*. 68(9): 497 – 499
- Boysen, D. A. *et al.* 2003. High-Temperature Behavior of CsH_2PO_4 under Both Ambient and High Pressure Conditions. *Chemistry of Materials*. 15(3): 727-736
- Bridgman, P. W. 1911. The Action of Mercury on Steel at High Pressures. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences*. 46: 325-341

- Bridgman, P. W. 1949. *The Physics of High Pressure*. Bell & Sons. London
- Brunner, E. *et al.* 2001. Pressure-stability of phospholipid bicelles: Measurement of residual dipolar couplings under extreme conditions. *Journal of Biomolecular NMR*. 21(2): 173-176
- Buchheim, W. & A. Abou El-Nour. 1992. Induction of milkfat crystallization in the emulsified state by high hydrostatic pressure. *Fat Science Technology*. 94: 369-373
- Buchheim, W. & E. Frede. 1996. Beeinflussung der Kristallisation von emulgierten Fetten durch Hochdruckbehandlung. *Deutsche Molkerei Zeitung*. 1996(5): 228-237
- Buchheim, W., *et al.* 1999. Solidification and Melting of some Edible Fats and Model Lipid Systems under Pressure. *In: Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology*. Herausgeber H. Ludwig. Springer-Verlag. Heidelberg.
- Campos, R. 2005. Experimental Methodology. *In: Fat Crystal Networks*. 267-348. Herausgeber A. J. Marangoni. CRC Press. Boca Raton.
- Catherine V. *et al.* 2009. Effects of high pressure on anhydrous milk fat crystallization in emulsion. *High Pressure Research*. 29 (1): 57–60
- Cerdeira, M. *et al.* 2004. Analytical Techniques for Nucleation Studies in Lipids: Advantages and Disadvantages. *Journal of Food Science*. 69(9): 185-191
- Chapman, D. 1962. The Polymorphism of Glycerides. *Chemical Society Reviews*. 62: 433-456
- Cheftel, J.-C. 1992. Effects of High Hydrostatic Pressure on Food Constituents: An Overview. *In: High Pressure and Biotechnology*. 195-209. Herausgeber C. Balny *et al.* John Libbey Eurotext. Paris
- Chen, C. W. *et al.* 2002. Isothermal crystallization kinetics of refined palm oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 79(4): 403-410
- De Jong, S. 1980. Triacylglycerol crystal structures and fatty acid conformations: a theoretical approach. Dissertation. Universiteit Utrecht. Utrecht.
- Delgado, A. *et al.* 2008. Thermodynamisches Modell zum Fest/flüssig-Phasenübergang von Substanzen hohen molaren Volumens. *Chemie Ingenieur Technik*. 80(8): 1185-1192
- Dibildox-Alvarado, E. & J. F. Toro-Vazquez. 1997. Isothermal crystallization of tripalmitin in sesame oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 74(2): 69-76
- Duffy, P. 1853. On Certain Isomeric Transformations of Fats. *Journal of the Chemical Society of London*. 5: 197-212

- Eisenberg, D. S. & W. Kauzmann. 1969. The structure and properties of water. Oxford University Press. New York
- Fischer, S. 2005. Einfluss der hydrostatischen Hochdruckbehandlung auf die Filtrierbarkeit von Bier und das Verhalten von β -Glucan-Gel. Dissertation. Technische Universität München. München
- Först, P. 2001. In-situ Untersuchungen der Viskosität fluider komprimierter Lebensmittel-Modellsysteme. Dissertation. Technische Universität München. München
- Foubert, I. *et al.* 2003. A differential scanning calorimetry method to determine the isothermal crystallization kinetics of cocoa butter. *Thermochimica Acta*. 400(1-2): 131-42
- Frede, E. & Buchheim, W. 1998. Schmelz- und Erstarrungsverhalten von Nahrungsfetten, insbesondere auch unter hohen Drücken. *Angewandte Wissenschaft*. 469: 161 -179
- Gasser, U. *et al.* 2008. Das Schmelzen zweidimensionaler Kristalle. *Physik in unserer Zeit*. 39: 36-43
- Gunstone, F. D. 1997. Fatty Acids and Lipids Structure. *In: Lipid Technologies and Applications*. 1-18. Herausgeber F. D. Gunstone & F. B. Padley. Marcel Dekker. New York
- Gunstone, F. D. *et al.* 1994. The Lipid Handbook. 2. Auflage. Chapman & Hall, London
- Hamann, S. D. 1957. Physico-Chemical Effects of Pressure. Butterworth Scientific Publications. London
- Hartmann, M. 2006. In-situ-Beobachtung mikroskopisch kleiner Objekte während der Druckapplikation. Dissertation. Technische Universität München. München
- Hayashi, R. *et al.* 1987. Introduction of High Pressure to Food Processing: Preferential Proteolysis of β -Lactoglobulin in Milk Whey. *Journal of Food Science*. 52(4): 1107-1108
- Heremans, K. 1995. High Pressure Effects on Biomolecules. *In: High Pressure Processing of Foods*. 81-98. Herausgeber D. A. Ledward *et al.* Nottingham University Press. Nottingham
- Hernqvist, L. 1988. Crystal Structures of Fats and Fatty Acids. *In: Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids*. 97-137. Herausgeber: N. Garti & K. Sato. Marcel Dekker. New York
- Herrera, M. L. *et al.* 1998. Isothermal crystallization of hydrogenated sunflower oil: I—Nucleation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 75(10): 1273-1280

- Herrera, M. L. *et al.* 1999a. A kinetic analysis of crystallization of a milk fat model system. *Food Research International*. 32(4): 289-298
- Herrera, M. L. *et al.* 1999b. Isothermal crystallization of hydrogenated sunflower oil: II. growth and solid fat content. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 76(1): 1-6
- Higaki, K. *et al.* 2001. Effects of ultrasonic irradiation on crystallization behavior of tripalmitoylglycerol and cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 78(5): 513-518
- Himawan, C. *et al.* 2006. Thermodynamic and kinetic aspects of fat crystallization. *Advances in Colloid and Interface Science*. 122: 3-33
- Kawamura, K. 1979. The DSC thermal analysis of crystallization behavior in palm oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 56(8): 753-758
- Kawamura, K. 1980. The dsc thermal analysis of crystallization behavior in palm oil, II. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 57(1): 48-52
- Kloek, W. *et al.* 2000. Crystallization kinetics of fully hydrogenated palm oil in sunflower oil mixtures. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 77(4): 389-398
- Knorr, D. *et al.* 2006. *High pressure application for food biopolymers*. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1764(3): 619-631
- Kodali, D. R. *et al.* 1987. Structure and polymorphism of 18-carbon fatty acyl triacylglycerols: effect of unsaturation and substitution in the 2-position. *Journal of Lipid Research*. 28: 403-413
- Königshoff, M. & T. Brandenburger. 2007. *Kurzlehrbuch Biochemie*. 2. Auflage. Thieme Verlag. Stuttgart
- Krist, S. *et al.* 2008. *Lexikon der pflanzlichen Fette und Öle*. Springer-Verlag. Wien
- Kulisiewicz, L. *et al.* 2007. Effect of high hydrostatic pressure on structure of gelatin gels. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences. Technical Sciences*. 55(2): 239-244
- Larsson, K. 1964. The crystal structure of the β -form of trilaurin. *Arkiv för Kemi*. 23(1): 1-15
- Lobban C. *et al.* 1998. The structure of a new phase of ice. *Nature*. 391: 268-270
- Marangoni, A. J. 2005. *Fat crystal networks*. CRC Press. Boca Raton.
- Masberg, S. 1999. *Untersuchungen zum Phasenverhalten ausgewählter Triacylglycerine, Flüssigkristalle und Anthrachinonfarbstoffe bis 200 MPa*. Dissertation. Ruhr-Universität. Bochum
- Mazzanti, G. *et al.* 2009. Synchrotron study on crystallization kinetics of milk fat under shear flow. *Food Research International*. 42 (5-6): 682-694

- Mennicke, U. 1972. Zwei einfache Verfahren zur genauen Bestimmung der Dichte von festem Butterfett. Zeitung für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung. 150: 232-240
- Metin, S. et R. W. Hartel. 1998. Thermal analysis of isothermal crystallization kinetics in blends of cocoa butter with milk fat or milk fat fractions. Journal of the American Oil Chemists' Society. 75(11): 1617-1624
- Milles, R. L. & E. R. Grilly. 1955. Melting Curves of He³, He⁴, H₂, D₂, Ne, N₂, and O₂ up to 3500 kg/cm². Physical Review. 99 (2): 480-486
- N. N. 2006. Deutsche Einheitsmethoden: zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen. Abteilung C – Fett. C-IV 3 (81). Herausgeber Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft. Stuttgart.
- Nelson, D. *et al.* 2001. Lehninger Biochemie. 3. Auflage. Springer Verlag. Berlin
- Ng, W. L. & C. H. Oh. 1994. A kinetic study on isothermal crystallization of palm oil by solid fat content measurements. Journal of the American Oil Chemists' Society. 71(10): 1135-1139
- Ng, W. L. 1989. Nucleation behaviour of tripalmitin from a triolein solution. Journal of the American Oil Chemists' Society. 66(8): 1103-1106
- Ng, W. L. 1990. A study of the kinetics of nucleation in a palm oil melt. Journal of the American Oil Chemists' Society. 67(11): 879-82
- Otero, L. & P.D. Sanz, 2003. Modelling heat transfer in high pressure food processing: a review. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 4(2): 121-134
- Pehl, M. 2004. In-situ Diagnose thermofluidodynamischer Vorgänge in komprimierten Flüssigkeiten. Dissertation. Technische Universität München. München
- Puppo, M. C. *et al.* 2002. Effects of sucrose esters on isothermal crystallization and rheological behavior of blends of milk-fat fraction sunflower oil. Journal of Food Science. 67(9): 3419-3426
- Rousset, P. 2002. Modeling Crystallization Kinetics of Triacylglycerols. *In: Physical Properties of Lipids.* 1-62. Herausgeber A. G. Marangoni & S. S. Narine. Marcel Dekker. New York.
- Salmon, E. D. & G. W. Ellis. 1975. A new miniature hydrostatic pressure chamber for microscopy. Strain- free optical glass windows facilitate phase-contrast and polarized- light microscopy of living cells. Optional fixture permits simultaneous control of pressure and temperature The Journal of Cell Biology. 65: 587-602
- Sato, K. & T. Kuroda. 1987. Kinetics of melt crystallization and transformation of Tripalmitin polymorphs. Journal of the American Oil Chemists' Society. 64(1): 124-127

- Sato, K. 1988. Crystallization of fats and fatty acids. *In: Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids*. 227-266. Herausgeber N. Garti & K. Sato. Marcel Dekker. New York
- Sato, K. 2001. Crystallization behaviour of fats and lipids - a review. *Chemical Engineering Science*. 56(7): 2255-2265
- Siegoczyński, R. M. *et al.* 2007. Temperature effect upon the pressure-induced phase transformation in oleic acid. *High Pressure Research*. 27(1): 47-50
- Simpson, T. D. & J. W. Hagemann. 1982. Evidence of two β' phases in tristearin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 59(4): 169-171
- Simpson, T. D. *et al.* 1984. Specific heats of the solid-state phases of trimargarin and tristearin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 61(5): 883-886
- Torres, J. A. & G. Velazquez. 2005. Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods. *Journal of Food Engineering*. 67(1-2): 95-112
- Toro-Vazquez, J. F. *et al.* 2000. Crystallization kinetics of palm stearin in blends with sesame seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 77(3): 297-310
- Vanhouette, B. 2002. Milk fat crystallization: fractionation and texturisation. Dissertation. Universiteit Gent. Gent
- Vanhouette, B. *et al.* 2002. The effect of phospholipids and water on the isothermal crystallisation of milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104(8): 490-495
- Verret C., *et al.* 2009. Effects of high pressure on anhydrous milk fat crystallization in emulsion. *High Pressure Research*. 29(1): 57-60
- Walstra, P. & R. Jenness. 1984. *Dairy Chemistry and Physics*. John Wiley & Sons. New York
- Werner, M. 2008. Thermische Diffusion in Hochdruckprozessen. Dissertation. Technische Universität München. München
- Wesdorp, L. H. 1990. Liquid - Multiple Solid Phase Equilibria in Fats. Dissertation. Technische Universiteit Delft. Delft
- Wright, A. J. *et al.* 2000a. Comparison of experimental techniques used in lipid crystallization studies. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 77(12): 1239-1242
- Wright, A. J. *et al.* 2000b. The effect of minor components on milk fat crystallization. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 77(5): 463-475

- Yasuda, A. & K. Mochizuki. 1992. The behavior of triglycerides under high pressure: The high pressure can stably crystallize cocoa butter in chocolate. *In: High Pressure and Biotechnology*. 255-259. Herausgeber C. Balny *et al.* John Libbey Eurotext. Paris
- Yokoyama, C. *et al.* 1998 Crystal growth rates of tricaprin and trilaurin under high pressures. *Journal of Crystal Growth*. 191: 827-833
- Ziegleder, G. 1990. DSC-Thermoanalyse und Kinetik der Kristallisation von Kakaobutter. *Fat Science Technology*. 92: 481-485

10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Allgemeiner Aufbau eines Triacylglycerids (R = Fettsäurerest)	10
Abbildung 2: Schematische β -2 und β -3 Anordnung von TAGs, adaptiert von [De Jong 1980]	14
Abbildung 3: Schematische Darstellung einer TAG Baueinheit und einer Subzelle adaptiert von [Marangoni 2005].....	15
Abbildung 4: Polymorphe Kristallisationswege in TAGs mit Darstellung des jeweiligen Schmelzpunktes S.....	16
Abbildung 5: Schematische Darstellung eines α -Kristalls, adaptiert von [Wesdorp 1990]	16
Abbildung 6: Schematische Darstellung eines β' -Kristalls, adaptiert von [Wesdorp 1990]	17
Abbildung 7: Schematische Darstellung eines β -Kristalls, adaptiert von [Wesdorp 1990]	18
Abbildung 8: Druckabhängigkeit der Dichte von Triolein nach Daten von [Acosta <i>et al.</i> 1996]	20
Abbildung 9: Isothermer Kompressionskoeffizient von Triolein	21
Abbildung 10: Isobarer Ausdehnungskoeffizient von Triolein	22
Abbildung 11: Kristallisations- und Schmelztemperaturen verschiedener Kokosöle unter Druck adaptiert von [Hartmann 2006]	25
Abbildung 12: Phasengrenzen verschiedener Öle unter Druck	26
Abbildung 13: Schematische Darstellung des Verlaufes der freien Gibbs Energie bei Kristallisation eines TAGs zu verschiedenen polymorphen Zuständen mit den verschiedenen Aktivierungsenergien ΔG^* , adaptiert von [Sato 1988]	29
Abbildung 14: Einfluss der Supercoolingtemperatur auf die inverse Induktionszeit und den polymorphen Erstarrungszustand bei Tripalmitin unter Normaldruck, adaptiert von [Sato & Kuroda 1987]	30
Abbildung 15: Phasengrenzen polymorpher Formen von Triarachidin nach [Masberg 1999]	32
Abbildung 16: Kristallisationszeiten und -formen von Kokosöl bei verschiedenen Druck- und Temperaturbedingungen, adaptiert von	33

Abbildung 17: Transienter Feststoffanteil bei Kristallisationen mit verschiedenen Kristallisationsbedingungen.....	35
Abbildung 18: Kristallisationsverläufe von Sahne (30 % Fett) nach unterschiedlichen Druck- und Temperaturbehandlungen nach [Buchheim & Frede 1996]	36
Abbildung 19: Schematische Darstellung der Anlage	48
Abbildung 20: Schematischer Aufbau des Hochdruckpolarisationsmikroskop.....	52
Abbildung 21: Spezialküvette für das Hochdruckpolarisationsmikroskop	53
Abbildung 22: Schematischer Aufbau Hochdruckturbidimetrie und – nephelometrie	54
Abbildung 23: Zylinderküvette für Hochdruckturbidimetrie und – nephelometrie	55
Abbildung 24: Schematische Darstellung der Befüllhilfe für die Zylinderküvette	56
Abbildung 25: Abhängigkeit des Streulichtsignals vom nephelometrischen Trübungswert unter Druck.....	57
Abbildung 26: Aufnahmen von Triolein bei 285 MPa bei verschiedenen Temperaturen	59
Abbildung 27: Relative Häufigkeitsverteilung der Grauwerte bei Aufnahmen von Triolein bei 285 MPa bei verschiedenen Temperaturen	59
Abbildung 28: Illustrierte Darstellung der Schmelzpunktbestimmung von Triolein bei 285 MPa.....	61
Abbildung 29: Temperaturabhängigkeit der Mittelwerte der Lichtintensität der Grauwerte von Aufnahmen von Triolein bei 285 MPa und deren Standardabweichung.....	62
Abbildung 30: Temperaturabhängige Veränderung der Mittelwerte der Grauwerte von Aufnahmen von Triolein bei 285 MPa und deren Standardabweichung	62
Abbildung 31: Druck-Temperaturdiagramm des Schmelzpunktes der β -Struktur von Triolein (Fehlerbalken sind kleiner als Symbole).....	63
Abbildung 32: Druck-Temperatur-Diagramm des Schmelzpunktes von Triolein bei verschiedenen Erstarrungsbedingungen (Fehlerbalken sind kleiner als Symbole)	64
Abbildung 33: Wachstum eines Trioleinkristalls bei 298 K und 300 MPa	65
Abbildung 34: Vermessung des Kristallwachstums veranschaulicht an einem Bildausschnitt von Triolein bei 298 K und 300 MPa. Bild links Originalausschnitt, Bild rechts mit angefittetem Kreis.	66

Abbildung 35: Bestimmung der Induktionszeit τ_p von Triolein bei 300 MPa und 298 K	66
Abbildung 36: Kristallwachstum von Triolein bei 300 MPa und 298 K bei fünf Versuchen	67
Abbildung 37: Aufnahme von Triolein bei 298 K und 250 MPa nach 60 h.....	69
Abbildung 38: Aufnahme von Triolein bei 293 K und 450 MPa nach 20 min. Linkes Bild gesamte Aufnahme. Rechtes Bild Ausschnitt.....	70
Abbildung 39: Signalverlauf bei druckinduzierter Verfestigung von Trilaurin bei 450 MPa und 333 K.....	71
Abbildung 40: Aufnahmen einer druckinduzierten Verfestigung von Trilaurin bei 450 MPa und 333 K. Die Kamera ersetzt hierbei den Streulichtsensor.....	72
Abbildung 41: Definition der Induktionszeit τ_s anhand von Trilaurin bei 250 MPa und 333 K.....	73
Abbildung 42: Inverse Induktionszeiten $1/\tau_s$ und $1/\tau_t$ von Trilaurin.....	74
Abbildung 43: Inverse Induktionszeiten $1/\tau_s$ und $1/\tau_t$ von Triolein.....	74
Abbildung 44: Inverse Induktionszeit $1/\tau_s$ verschiedener Öle bei 450 MPa	75
Abbildung 45: Streulichtverhalten von verschiedenen Speiseölen bei einer Druckbeaufschlagung von 450 MPa bei 293 K	76
Abbildung 46: Druck- und Temperaturabhängigkeit von Trioleinschmelzpunkten	78
Abbildung 47: Prozentuale Massenverteilung der Öle (FS: Fettsäure) und die zugehörigen inversen Induktionszeiten bei 283 und 293 K	84
Abbildung 48: Elektrischer Schaltplan der Verstärkerschaltung mit Tiefpasscharakteristik.....	104

11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakteristische Fettsäuren in Lebensmitteln nach [Belitz <i>et al.</i> 2001] ...	11
Tabelle 2: Beziehung zwischen Anzahl Fettsäuren und Anzahl daraus möglichen synthetisierten TAGs, adaptiert von [Gunstone 1997]	12
Tabelle 3: Fettsäurezusammensetzung der verwendeten Öle.....	46
Tabelle 4: Versuchsparameter der Anlage für die Versuchsdurchführungen.....	49
Tabelle 5: Mittelwerte der Lichtintensität der Grauwerte von Aufnahmen von Triolein bei 285 MPa bei verschiedenen Temperaturen und deren Standardabweichung	60
Tabelle 6: Zunahme des Radius von Trioleinkristallen in Abhängigkeit von Druck und Temperatur.....	68
Tabelle 7: Induktionszeiten τ_p von Triolein.....	68
Tabelle 8: Bauteile der Hochdruckanlage.....	103
Tabelle 9: Fettsäurezusammensetzung der verwendeten Öle nach Hochdruckbehandlung (3 mal 450 Mpa bei 293 K für je 15 min).....	105

12 Anhang

Tabelle 8: Bauteile der Hochdruckanlage

Gerät	Hersteller	Artikelnummer
Vordruckpumpe	AZ Hydraulic Engineering / Kingman USA	AZ-1-107
Druckerzeuger	Dunze	Sonderanfertigung
Hochdruckzelle	Sitec	Sonderanfertigung
Elektromagnetpumpe	Eckerle / Malsch	111048
HeNe-Laser	Linios / Göttingen	G040-805-000
Messkarte	National Instruments / München	779066-01
Druckaufnehmer (Druckerzeuger)	Brosa / Tettnag	1001084
Druckaufnehmer (Sichtzelle)	Brosa / Tettnag	1000397
Saphirbolzen	Sitec	741.0013
Makroobjektiv	Sigma	105mm F2.8 DG MACRO
Mikroskopobjektiv	Weiss Imaging and Solutions GmbH	Spezialanfertigung (Gesamtvergößerung auf CCD: 1,9x – 25x)
Kamera	uEye	UI-2250-M
Photodiode	Siemens	BPW34
Laserdiode	Conrad	187730-62
Polarisationsfolie	Edmund optics	NT43-781
Linse	Edmund optics	32021
Kältethermostat	Thermo Scientific Fisher	P1-C25P

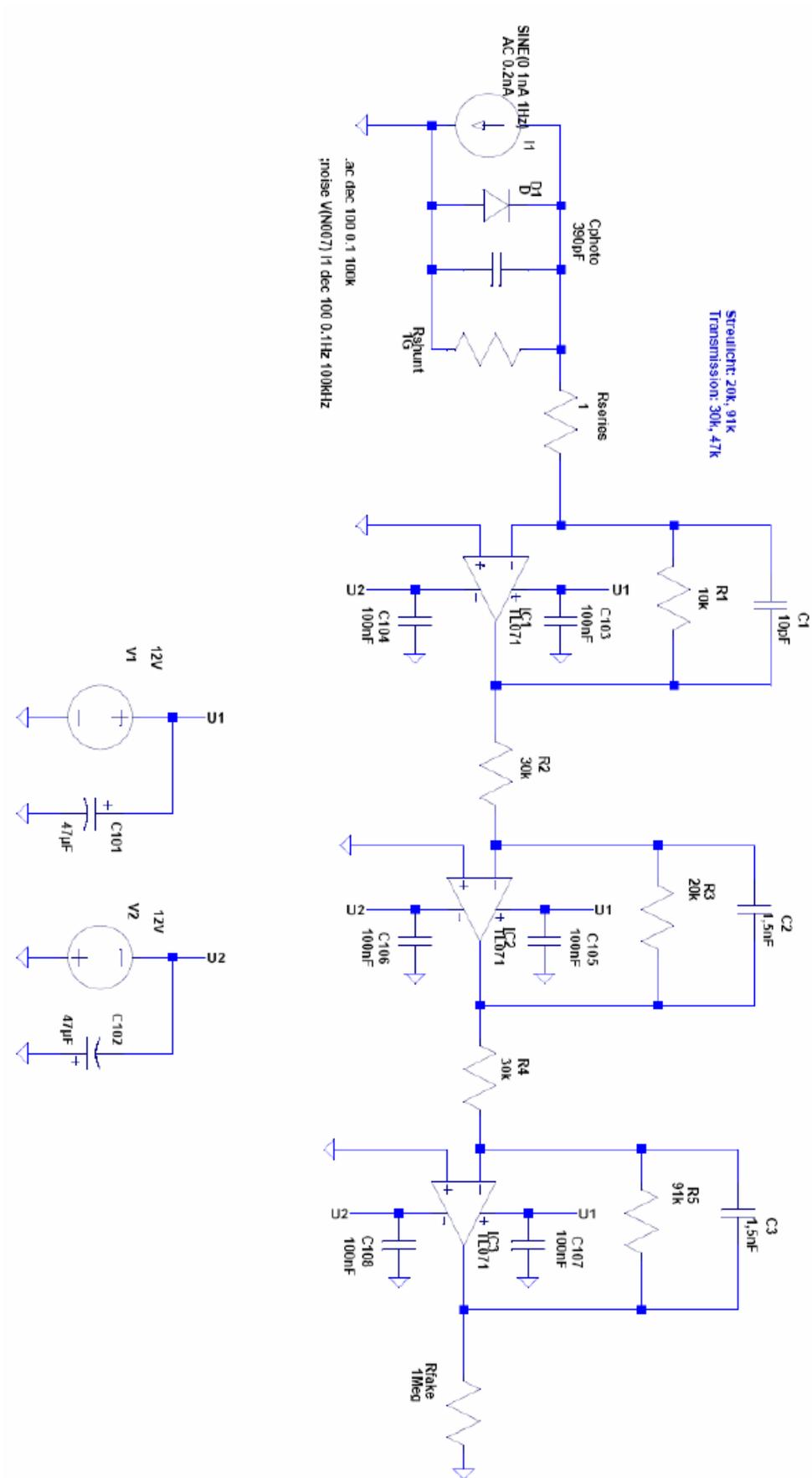


Abbildung 48: Elektrischer Schaltplan der Verstärkerschaltung mit Tiefpasscharakteristik

Tabelle 9: Fettsäurezusammensetzung der verwendeten Öle nach Hochdruckbehandlung (3 mal 450 Mpa bei 293 K für je 15 min)

Fettsäure	Struktur	Tiolein [Gew %]	Trilaurin [Gew %]	Rapsöl [Gew %]	Haselnußöl [Gew %]	Walnußöl [Gew %]	Olivenöl [Gew %]
Laurin	12:0	0,000	98,964	0,000	0,000	0,000	0,00
Myristin	14:0	0,000	0,112	0,060	0,059	0,033	0,00
Palmitin	16:0	0,118	0,000	4,792	7,829	7,088	12,92
Palmitolein	16:1, 9c	0,000	0,000	0,222	0,410	0,102	1,27
Heptadecan	17:0	0,000	0,000	0,051	0,056	0,051	0,06
Heptadecen	17:1,9c	0,000	0,000	0,063	0,000	0,030	0,09
Heptadecen	17:1,10c	0,000	0,000	0,082	0,076	0,000	0,00
Stearin	18:0	0,235	0,000	1,836	2,448	2,164	3,24
Elaidin	18:1, 9t	0,000	0,703	0,082	0,000	0,000	0,00
Öl	18:1, 9c	99,568	0,221	59,489	68,940	19,121	70,12
Vaccen	18:1, c11	0,080	0,000	3,166	1,421	0,909	2,34
Linol	18:2, 9c,12c	0,000	0,000	19,566	18,327	58,138	8,39
Linolen	18:3, 9c,12c,15c	0,000	0,000	7,685	0,099	12,059	0,67
Arachin	20:0	0,000	0,000	0,595	0,155	0,095	0,43
Eicosen	20:1, 11c	0,000	0,000	1,224	0,148	0,143	0,24
Eicosadien	20:2,	0,000	0,000	0,110	0,000	0,000	0,02
Eicosatrien	20:3,	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,01
Behen	22:0	0,000	0,000	0,336	0,031	0,036	0,13
Eruca	22:1, 13c	0,000	0,000	0,327	0,000	0,000	0,00
Tricosan	23:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00
Lignozerin	24:0	0,000	0,000	0,190	0,000	0,031	0,09
Nervon	24:1, 15c	0,000	0,000	0,124	0,000	0,000	0,00