

Untersuchung der kristallinen Strukturen in Depotfetten von Tieren mittels Röntgenbeugungsmethoden

Investigation of Crystalline Structures in Fats of Animals by X-Ray Scattering

H. Wawra, Graz

Z. Naturforsch. 33 e, 28–38 (1978); eingegangen am 7. Oktober 1977

Small-Angle-X-Ray-Scattering, Fats

Fat-präparates of cow and pork have been investigated by small-angle X-ray scattering methods. Dependent on the temperature these fats show distinct X-ray interference patterns in the small-angle region. Hence complete phasediagrams of the fats in the temperature region between -20°C and 55°C could be estimated. Using the intensity distribution of the X-ray scattering the electron-density distribution along one direction of the ground-cells of the fat crystals were calculated.

Einleitung

Elektronenmikroskopische Befunde haben ergeben, daß Neutralfettgemische aus tierischen Depotfetten bei Verwendung der Gefrierätztechnik eine durchgehende Schichtung zeigen [1]. Es tritt die Frage auf, ob diese Schichtung nur bei der Abkühlung (in Freon) zustande kommt, oder ob die Präparate auch bei Zimmertemperatur oder sogar bei Körpertemperatur zumindest teilweise geordnet sind. Die Antwort konnte mit Hilfe von Röntgenbeugungsaufnahmen leicht gegeben werden: Die erwähnten Depotfette ergeben im Röntgenkleinwinkelbereich zumindest bei Zimmertemperatur verhältnismäßig scharfe Debye-Scherrer-Ringe, die bei Erwärmung des Präparates allmählich schwächer werden und bei etwa 45°C verschwunden sind. Dabei zeigt das Rinderfett-Präparat ein Beugungsringsystem entsprechend einem langen Abstand von etwa 44 Å, das Schweinefettpräparat zwei Beugungsringsysteme, welche Identitätsabständen von 43,5 Å und 69 Å entsprechen (Abbn. 1 u. 2). Beide Ringsysteme des zuletzt genannten Präparates werden mit zunehmender Temperatur ebenfalls schwächer und gehören zu zwei verschiedenen, voneinander unabhängigen Ordnungszuständen. Die dem inneren intensiven Beugungsrings entsprechende Ordnung verschwindet bei etwa 45°C , während die Kristalle, welche das zweite Beugungsringsystem hervorrufen, bei einer Temperatur zwischen 36 und 37°C bereits vollständig geschmolzen sind. In der Abb. 3 ist die radiale Intensitätsverteilung der Beugungsaufnahme von

Abb. 1 angegeben. Sie zeigt den Reflex 1. Ordnung, dazwischen einen breiten, gelegentlich mehr einer Flüssigkeitsinterferenz entsprechenden Bereich und schließlich noch die Interferenz 3. Ordnung. Man kann diese Intensitätsverteilung durch Mischen

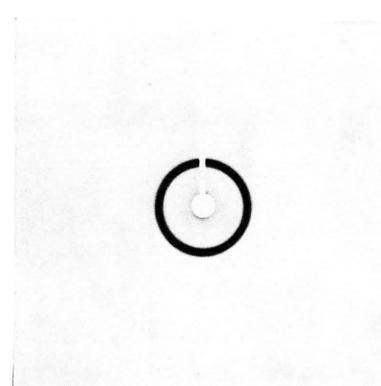


Abb. 1. Röntgenbeugungsaufnahme von Rinderfett bei 20°C mit einer evakuierbaren Pinhole-Kamera. Präparat-Film Distanz 335 mm.

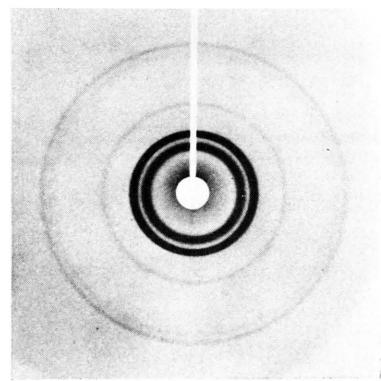


Abb. 2. Röntgenbeugungsaufnahme eines Schweinefettpräparates. Aufnahmebedingungen wie in Abb. 1.

Diese Untersuchung geht noch auf eine Anregung von Prof. Helmut Ruska, Düsseldorf, zurück.

Sonderdruckanforderungen an Dr. H. Wawra, Mariatrosterstrasse 10, A-8043 Graz.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

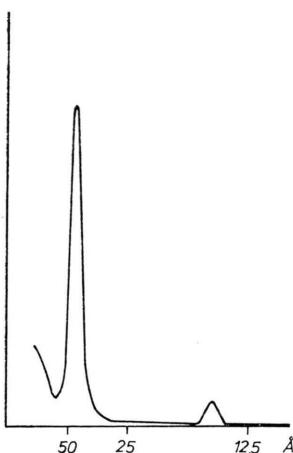


Abb. 3. Intensitätsverteilung eines unter den Bedingungen der Abb. 1 aufgenommenen Rinderfettpräparates. Die Fotometrierung erfolgte längs eines Radius der Aufnahme.

zweier Komponenten, und zwar eines aus drei Säureresten von gesättigten Fettsäuren zusammengesetzten Triglycerides sowie von Triolein als flüssiger Komponente nachahmen. Daraus ist zu schließen, daß beide Fettarten aus zumindest einer kristallinen Komponente und einer weiteren ungeordneten, jedoch nicht zwangsläufig flüssigen Komponente bestehen (amorpher Anteil). Lediglich die Abhängigkeit der Streukurvenform von der Temperatur ist beim natürlichen und dem künstlichen Präparat verschieden. Während das natürliche Präparat das bereits erwähnte Temperaturverhalten zeigt, besitzt der kristalline Anteil des künstlichen Gemisches wegen seiner Einheitlichkeit einen wesentlich höheren Schmelzpunkt. Wird z. B. Glycerintristearat als kristalliner Anteil und Triolein als bei Zimmertemperatur flüssige Komponente verwendet, dann liegt der Schmelzpunkt des kristallinen Anteiles immer noch in der Nähe von 70°C , während der Schmelzpunkt des reinen Tristearins $72,5^{\circ}\text{C}$ beträgt. Man kann daraus schließen, daß die kristallinen Anteile der natürlichen Präparate sehr uneinheitlich zusammengesetzt sein müssen. Das Beugungssystem des Rinderfettpräparates kann als Schichtung von Triglyceriden mit nur gesättigten Fettsäureresten gedeutet werden, an die sich mit abnehmender Temperatur mehr ölsäurehaltige Triglyceride anlagern. Etwas komplizierter ist die Interpretation der Röntgenbeugungsinterferenzen bei dem Schweinfettpräparat. Bei Zimmertemperatur handelt es sich hier, wie bereits erwähnt, um zwei Kristallarten mit unterschiedlichen Schmelzbereichen. Durch geeignete

Trennverfahren war es möglich, beide Kristallarten zu separieren. Die Abb. 4 zeigt eine Röntgenbeugungsaufnahme der im höheren Temperaturbereich schmelzenden Komponente, die weitgehend dem kristallinen Anteil des Rinderfettes entspricht, während Abb. 5 die Beugungsfigur der zweiten kristallinen Komponente wiedergibt. Beide Präparate sehen auch äußerlich sehr verschieden aus. Während die bei höherer Temperatur schmelzende Komponente ähnlich dem Rinderfettpräparat völlig undurchsichtig und weiß ist, erscheint die zweite Kristallart nach dem Erstarren glasartig und auch in großer Schichtdicke noch durchsichtig.

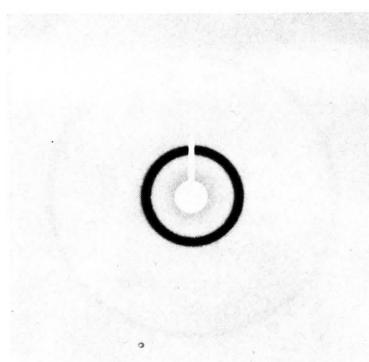


Abb. 4. Röntgenbeugungsaufnahme der Kristallart I von Schweinfett. Aufnahmebedingungen wie in Abb. 1.

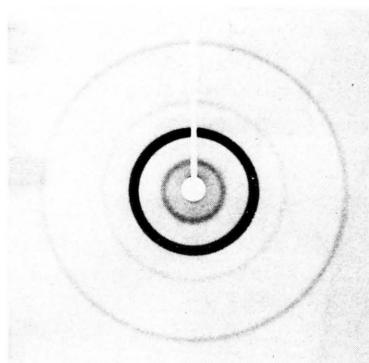


Abb. 5. Röntgenbeugungsaufnahme der Kristallart II von Schweinfett. Aufnahmebedingungen wie in Abb. 1.

Bezeichnungen

In dieser Arbeit wird für die Angabe des Beugungswinkels eine Angström-Skala benutzt, d. h. es wird mittels der Braggschen Formel für einen Beugungswinkel der zugehörige Identitätsabstand (in \AA) berechnet und als Abszisse eingetragen. Die Ang-

strömskala ist also eine zum Beugungswinkel reziproke Skala. Da hier durchwegs Kristallgitterinterferenzen behandelt werden, hat die erwähnte Skala den Vorteil, für einen gegebenen Röntgenbeugungsreflex 1. Ordnung sofort die diesen hervorruhende Identitätsperiode — also die Länge der Elementarzelle des Kristalles — aufzuzeigen. Diese Länge der Elementarzelle wird bei Triglyceridkristallen als langer Abstand bezeichnet und ist identisch mit der Schichtdicke bei Triglyceridschichtkristallen.

Für die Zusammensetzung von Triglyceriden aus gesättigten bzw. einfach oder mehrfach ungesättigten Fettsäureresten wird folgende Bezeichnungsweise verwendet: Für alle gesättigten Fettsäurereste wird S (saturated) geschrieben, die ungesättigten Fettsäurereste werden jedoch genau bezeichnet. Es steht also O für Ölsäurerest, L für Linolsäurerest.

In den Abbildungen wurde für alle mit dem Zählrohr gemessenen Beugungskurven auf die Wiedergabe der einzelnen Meßpunkte verzichtet. Es wurden stets soviele Meßpunkte gewählt, daß der Kurvenverlauf eindeutig bestimmt ist. Die Schwankungen durch die Zählstatistik sind so niedrig gehalten, daß die verwendete Strichstärke der Kurvenzeichnungen nicht überschritten wird. Bei den als Ordinate angegebenen Intensitätswerten handelt es sich im allgemeinen um relative Einheiten, die Ordinaten der beiden Aufnahmeserien zur Ermittlung der Temperaturabhängigkeit der Kristallanteile sind für jede Serie getrennt in der richtigen Relation zueinander verwendet. Der Abstand Präparat – Registrierebene bei einer mit dem Zählrohr arbeitenden Röntgenkleinwinkelkamera entspricht dem Präparat – Film Abstand einer fotografischen Röntgenkamera.

Material und Methoden

Präparate

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an ausgelassenem Rinder- bzw. Schweinfett durchgeführt. Für die im folgenden erwähnten Auf trennungen in verschiedene kristalline Anteile wurde das Ausgangsmaterial in einem Methylalkohol-Aceton-Gemisch (Verhältnis 1 : 8) bei etwa 60 °C vollständig gelöst. Durch langsames Abkühlen mit einem Temperaturgradienten von etwa 1 °C pro Stunde konnten Kristallfraktionen gewonnen werden, die bei Schweinfett einzeln dieselben Röntgenbeugungsreflexe liefern, wie sie das Ausgangsmaterial in Summe aufweist (Abb. 2). Speziell ist es darauf angekom-

men, die Fraktion mit den Röntgenbeugungsreflexen entsprechend einer Gitterkonstanten von 43,5 Å (Fraktion I) von der Fraktion mit einer Gitterkonstanten des kristallinen Anteiles von 69 Å (Fraktion II) zu trennen. Mit den angegebenen Versuchsbedingungen konnte die Fraktion I im Temperaturbereich von 42 °C bis 35 °C gewonnen werden, während die Fraktion II im Bereich von 30 °C bis etwa 20 °C und darunter auskristallisiert. Fettsäureanalysen, durchgeführt vom Laboratorium Dr. Wiertz, Hamburg, zeigen, daß die Fraktion I aus Triglyceriden besteht, die überwiegend gesättigte Fettsäurereste enthalten. Die Fraktion II ist stets verbunden mit Triglyceriden, die wenigstens einen Linolsäurerest besitzen (Tabn. I und II).

Tab. I. Fettsäureanalyse von Schweinfett, Fraktion 1.

Myristinsäure	0,67%
Myristoleinsäure	—
Palmitinsäure	35,55%
Palmitoleinsäure	0,41%
Stearinsäure	61,49%
Ölsäure	weniger als 1,00%
Linolsäure	1,01%

Tab. II. Fettsäureanalyse von Schweinfett, Fraktion 2.

Myristinsäure	0,74%
Myristoleinsäure	—
Palmitinsäure	28,35%
Palmitoleinsäure	0,68%
Stearinsäure	28,78%
Ölsäure	31,56%
Linolsäure	8,24%

Röntgenaufnahmen

Für die fotografischen Übersichtsaufnahmen wurde eine evakuierbare Pinhole-Kamera mit einer Präparat – Film Distanz von 335 mm verwendet. Die Präparate befanden sich dabei in etwa 1 mm dicken Mark-Kapillaren, die ihrerseits wiederum in kleine Messingzylinder eingebettet waren. Das Präparat konnte für die Röntgenbeugungsaufnahmen durch Umspülen des Messingzyinders mit Thermostaten-Flüssigkeit auf jede gewünschte Temperatur zwischen +60 ° und –20 ° gebracht werden. Für die quantitativen Untersuchungen wurde stets die Zählrohrmethode in Verbindung mit einer neuartigen Röntgenkleinwinkelkamera verwendet, die auch am langen Fokus einer Röntgenröhre unmittelbar verschmierungsfreie Röntgenkleinwinkelkurven liefert [3]. Die Aufnahmen erfolgten dabei an Röntgen-

röhren mit Cu-Anode und einer Leistung von 2 kW. Dazu wurde für die Monochromatisierung der Röntgenstrahlung das bewährte Meßverfahren mit Proportionalzählrohr, Linearverstärker und Einkanal-diskriminatator gewählt, wobei zusätzlich durch ein 10 μm dickes Ni-Filter eine entsprechende Schwächung der Cu-K β Linie erfolgt.

Für die Ermittlung der Temperaturabhängigkeit des Kristallisationsvorganges an beiden untersuchten Fettarten wurde so vorgegangen, daß, ausgehend vom vollständig geschmolzenen Präparat, die Röntgenbeugungskurven in Schritten von 5 °C Temperaturabnahme gemessen wurden. Um dabei jeweils die Einstellung des Temperaturgleichgewichtes festzustellen, wurde die Messung der Streukurve so oft wiederholt, bis Reproduzierbarkeit gegeben war. Diese so erhaltene Streukurve kann dann als repräsentative für den kristallinen Zustand des Fettpräparates bei der betreffenden Aufnahmetemperatur gelten. Dazu muß allerdings auch gewährleistet sein, daß die gewünschte Temperatur während der Röntgenaufnahme tatsächlich am Präparat vorhanden ist. Es wurden daher bei Probeläufen die zu bestimmten Badtemperaturen am Umlaufthermostaten gehörenden tatsächlichen Präparat-Temperaturen durch Einführen eines Thermoelementes in die Präparat-Kapillare direkt gemessen.

Diese Arbeit enthält nur Kristallisationskurven, es wurde also die Zunahme des kristallinen Anteiles des Präparates in Abhängigkeit von der fallenden Temperatur ermittelt, denn nur diese Röntgenbeugungskurven konnten bei gleichem Präparat stets reproduziert werden. Dagegen waren die mit steigender Präparattemperatur anfallenden Schmelzdiagramme bei keinem einzigen der untersuchten Präparate reproduzierbar zu erhalten. Offenbar ist in diesem Fall die Empfindlichkeit des Präparates gegenüber Zufälligkeiten bei der Temperatureinstellung wesentlich größer als bei der Aufnahme der Kristallisationskurven.

Auswertung der Röntgenaufnahmen

Die verwendete Röntgenkleinwinkelkamera liefert unmittelbar die unverschmierte Röntgenkleinwinkelkurve, d. h. eine Intensitätsverteilung, wie sie z. B. bei einer entsprechenden fotografischen Röntgenbeugungsaufnahme mit einer Pinhole-Kamera längs des Radius der Filmaufnahme auftreten würde. Somit konnten alle für eine Entschmierung notwendigen Rechnungen unterbleiben.

Für die Bestimmung der kristallinen Anteile wurden die integralen Intensitäten aller zu einer Kristallart gehörenden Ordnungen der Röntgenbeugungsreflexe summiert, wobei jedoch wegen der in guter Näherung konstanten Halbwertsbreite der Reflexe an Stelle der Flächen unter den Reflexprofilen der Einfachheit halber die Reflexhöhen benutzt wurden.

Um nun eine Aussage über die Anordnung der Triglyceride in den einzelnen Kristallarten zu gewinnen, mußten für jede Kristallart aus den ermittelten Röntgenbeugungskurven eindimensionale Fourier-Transformationen gerechnet werden, obwohl dafür weder die exakte Größe der Elektronendichte noch die Stellen bekannt waren, an denen in der Elementarzelle eine Änderung der Elektronendichte erfolgt. Es wurde daher folgendes Verfahren angewendet: Ausgehend von einer plausiblen Annahme über eine Elektronendichteverteilung in Richtung des langen Abstandes einer Elementarzelle wurden mittels Fourier-Transformation Beugungsreflexe berechnet und mit den experimentell gewonnenen Beugungsmaxima verglichen. Die ursprünglich angenommene Elektronendichteverteilung wurde dann so lange variiert, bis eine befriedigende Übereinstimmung der theoretisch erhaltenen Beugungsreflexe mit den experimentell gewonnenen zustande kam. Zum Vergleich dienten dabei die integralen Intensitäten der gemessenen Kristallgitterinterferenzen.

Resultate

Rinderfett

Dieses Fett zeigt nur eine einzige Kristallart mit einem langen Abstand von 44 Å. Die Abb. 6 gibt die Röntgenbeugungskurve dieses Präparates bei einer Temperatur von –20 °C an. Es sind im Röntgenkleinwinkelbereich die Kristallgitterinterferenzen bis zur 3. Ordnung zu sehen, die 4. Ordnung ist null. Zur Ermittlung des kristallinen Anteiles des Fettes in Abhängigkeit von der Temperatur ist die Röntgenbeugungskurve für gegebene Präparattemperaturen zu messen. Dabei wurde vom vollständig geschmolzenen Präparat bei 55 °C ausgegangen und der Bereich bis –20 °C in Schritten von 5 °C überstrichen, wobei jedesmal die Einstellung des Gleichgewichtes im Präparat nach der Temperaturänderung abgewartet wurde. Um nun diese Abhängigkeit des kristallinen Anteiles von der Temperatur aufzuzeichnen, wurden jeweils die Höhen der ge-

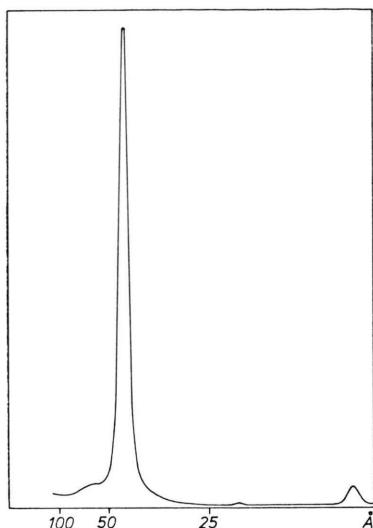


Abb. 6. Unverschmierte Röntgenkleinwinkelstreukurve von Rinderfett bei -20°C . Aufnahme mit Proportionalzählrohr und Impulsdiskriminatoren. Abstand Präparat — Registrier-ebene 200 mm.

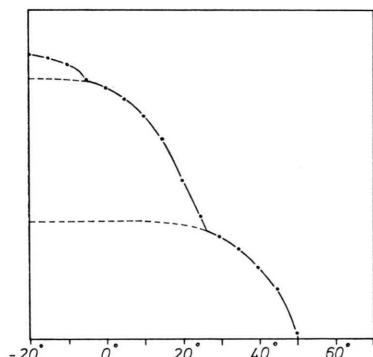


Abb. 7. Kristalliner Anteil des Rinderfettes als Funktion der Temperatur.

messenen Röntgenreflexe 1. Ordnung als Maß für den kristallinen Anteil herangezogen und das Resultat in Abb. 7 wiedergegeben. Wie zu sehen ist, beginnt mit einer Temperatur von 50°C das be-reichsweise stetige Wachsen des kristallinen Anteiles, wobei in der Nähe der Temperaturen von $26,5^{\circ}\text{C}$ und -5°C Knickpunkte im Kurvenverlauf auftreten. Möglicherweise deutet auch der gegenüber dem gezeichneten geraden Kurvenverlauf oft etwas niedrigere Ordinatenwert bei 20°C auf einen nur schwach ausgeprägten Knick. Man wird diese Knickstellen mit dem Beginn des Auskristallisierens neuer, von den bei höheren Temperaturen auskristallisierten Triglyceridarten verschiedenen Triglyceride deuten müssen.

Der Verlauf der Kurve für den kristallinen Anteil in Abhängigkeit von der Temperatur würde im Falle des Rinderfettes auf drei, möglicherweise vier verschiedene Triglyceridarten hinweisen. Dabei ist es vermutlich der Ölsäuregehalt, welcher den Unterschied in den einzelnen Triglyceridarten und damit im Temperaturbereich der Kristallisation ausmacht. Es besteht kein Zweifel, daß die bei den höchsten Temperaturen zuerst gebildeten Kristalle — und das läßt sich durch Fettsäureanalysen beweisen (Tab. III) — in der Hauptsache aus Triglyceriden mit drei gesättigten Fettsäureresten bestehen. Die weiteren Fraktionen wären dann die Triglyceride mit vorwiegend einem, zwei und schließlich drei Ölsäureresten. Dabei ist es jedoch so, daß alle Fraktionen tatsächlich Mischkristalle darstellen, wobei die zuerst auskristallisierende Fraktion die Gitterkonstante für alle folgenden Fraktionen bestimmt. Das heißt, es werden an bereits vorhandene Kristallite mit zunehmender Abkühlung unter Beibehaltung der gegebenen Schichtdicke weitere Triglyceridmoleküle angelagert. Die Position der Kristallgitterinterferenzen in der Streukurve bleibt also erhalten, wenn auch geringe Verschiebungen um wenige Zehntel Angström im Verlauf der Abkühlung zu beobachten sind.

Tab. III. Fettsäureanalyse von Rinderfett, Fraktion 1.

Myristinsäure	1,6%
Myristoleinsäure	0,1%
Palmitinsäure	26,9%
Palmitoleinsäure	2,3%
Stearinsäure	55,3%
Ölsäure	13,2%
Linolsäure	—

Um Auskunft über die Anordnung der Triglyceride im Kristall zu erhalten, wurden eindimensionale Fourier-Transformationen gerechnet und die resultierenden berechneten Reflexe mit den experimentell gewonnenen verglichen. Die beste erzielbare Übereinstimmung mit den Beugungsmaxima der Rinderfettpräparate stammt von einer Elektronendichteverteilung, wie sie in Abb. 8 a angegeben ist. Ein Vergleich der damit berechneten Kristallgitterinterferenzen mit den experimentell gewonnenen ist in Abb. 9 dargestellt. Für diesen Vergleich wurden die Intensitäten der Hauptmaxima auf gleichen Wert gebracht. Wie ersichtlich, ist es lediglich beim theoretisch berechneten Reflex 4. Ordnung nicht gelungen, ihn auf den experimentell erhaltenen Wert null herabzu-

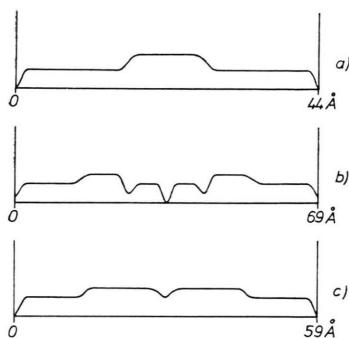


Abb. 8. Elektronendichtheverteilung über den langen Abstand von Elementarzellen der Kristalle von a) Rinderfett bzw. Kristallart I von Schweinefett, b) Kristallart II von Schweinefett und c) Kristallart III von Schweinefett.

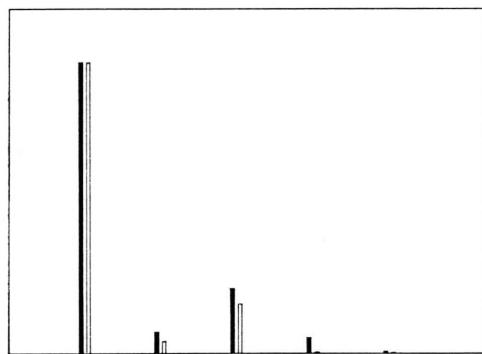


Abb. 9. Vergleich der integralen Intensitäten der Röntgenbeugungsreflexe 1. bis 5. Ordnung von Kristallart I von Schweinefett mit gerechneten Kristallgitterinterferenzen, wobei die Elektronendichtheverteilung in Abb. 8 a der Rechnung zugrunde liegt.

drücken. Man wird jedoch wegen der großen Empfindlichkeit der Intensitätsverteilung der Reflexe gegenüber Änderungen an der Elektronendichtheverteilung der Abb. 8 a die dort angegebene Elektronendichtheverteilung als richtig ansehen müssen. Das bedeutet, daß sich wegen der Konzentration der Sauerstoffatome im Bereich des Glycerinrestes eines Triglycerides eine Zone höherer Elektronendichte in der Mitte jeder Elementarzelle befindet. Die Schichtdicke der Triglyceridkristalle von Rinderfett beträgt somit etwa zwei Fettsäurerestlängen.

Schweinefett

Im Gegensatz zum Rinderfettpräparat entstehen bei der Abkühlung von Schweinefett bis zu einer Temperatur von -20°C insgesamt drei von einander verschiedene Kristallarten. Die Gitterkonstanten sind (in der Reihenfolge des Auskristallisierens)

$43,5 \text{ \AA}$ (Kristallart I), 69 \AA (Kristallart II) und 59 \AA (Kristallart III). Dabei ist mit der Reihenfolge des Auskristallisierens das jeweils erstmalige Auftreten eines Reflexes der entsprechenden Gitterkonstanten zu verstehen. Das Wachstum dieser Kristallarten vollzieht sich in weiterer Folge stark unterschiedlich, d. h. die Kristallarten wachsen z. Teil gleichzeitig, jedoch mit wechselnder Geschwindigkeit. Die Kristallart I weist Gitterinterferenzen bis zur dritten Ordnung auf, wobei die erste Ordnung das weit überwiegende Maximum darstellt (Abb. 10). Kristallart I entspricht damit weitgehend den Kristallen des Rinderfettes. Die Abb. 11 zeigt die integrale Intensität der Kristallart I in Abhängigkeit von der Temperatur während des Abkühlvorganges vom vollständig geschmolzenen Präparat bei etwa 55°C bis zur Endtemperatur von -20°C . Diese Erstarrungskurve wurde, ähnlich wie bei dem Rinderfettpräparat, durch schrittweises Abkühlen in Stufen von jeweils 5°C erhalten, wobei auch hier stets das Einstellen des Temperaturgleichgewichtes im Präparat abgewartet wurde. Dabei sieht man im Gegensatz zum Rinderfettpräparat an dieser Erstarrungskurve wesentlich deutlicher die Unterteilung in insgesamt vier Kristallfraktionen mit derselben Gitterkonstante. Prinzipiell wäre es möglich, daß an Stelle der gezeichneten Knickstellen die Übergänge zwischen den einzelnen Kurventeilen der Fraktionen bei dichterer Folge der Meßpunkte einen etwas gerundeten Verlauf erhalten. Es besteht jedoch kein Zweifel, daß in dem überstrichenen Tempera-

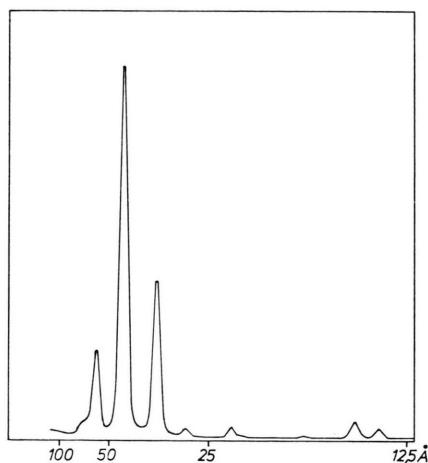


Abb. 10. Komplette Röntgenkleinwinkelstreukurve von Schweinefett bei -20°C . Es sind insgesamt drei Serien von Kristallgitterinterferenzen festzustellen, welche den drei Kristallarten von Schweinefett entsprechen.

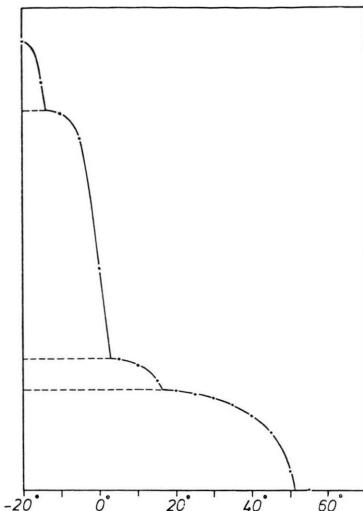


Abb. 11. Anteil der Kristallart I von Schweinefett als Funktion der Temperatur. Es wurde jeweils die Summe der integralen Intensitäten aller zur Kristallart I gehörenden Ordnungen verwendet. Strichulierte Kurventeile: Durch den Kurvenverlauf nahegelegte Unterteilung in Kristallfraktionen.

turbereich in der Kristallart I insgesamt vier Fraktionen enthalten sind. Um eine Erklärung für diese Fraktionierung zu finden, wurde mit der bereits beschriebenen Trennmethode eine Abtrennung der bei hohen Temperaturen zuerst auskristallisierenden Triglyceride vorgenommen und diese Fraktion einer gaschromatografischen Fettsäureanalyse unterzogen. Wie die in Tab. I angegebenen Analysenwerte zeigen, besteht diese Fraktion fast zur Gänze aus Triglyceriden mit nur gesättigten Fettsäureresten. Es erscheint daher plausibel, diese vier Fraktionen der Kristallart I so zu deuten, daß man die erste Fraktion vorwiegend als aus Triglyceriden der Form SSS bestehend anzusehen hat. In logischer Folge würden die drei weiteren, bei jeweils niedrigerer Temperatur auskristallisierenden Fraktionen aus Triglyceriden der Form SSO, SOO und schließlich OOO bestehen. Dabei soll die angegebene Buchstabenfolge nichts über die tatsächliche Reihenfolge der Fettsäurereste im Triglycerid aussagen, sondern lediglich die Anteile an gesättigten bzw. ungesättigten Fettsäureresten angeben.

Zu einer ähnlichen Deutung kommt man auch bei der Kristallisationskurve des Rinderfettpräparates, wenn man berücksichtigt, daß dort die Übergänge zwischen den einzelnen Fraktionen stärker verwischt sind als bei dem Schweinefettpräparat. So könnte man aus dem Kurvenverlauf in Abb. 7 schließen, daß die Kristallfraktion 2 von Rinderfett tatsächlich

nicht nur eine einzige Fraktion darstellt, sondern aus zwei Fraktionen besteht, deren Übergang im Bereich des zweiten Meßpunktes von Fraktion 2 liegt.

Die Röntgenbeugungsmaxima der Kristallart I von Schweinefett sind ebenfalls wie bei den Triglyceridkristallen des Rinderfettes bis zur dritten Ordnung vorhanden, wobei eine ähnliche Intensitätsverteilung in beiden Fetten gegeben ist. Man wird also dieselbe Elektronendichtevertteilung, wie sie für die Kristalle des Rinderfettes ermittelt worden ist, auch für die Kristallart I von Schweinefett als richtig ansehen müssen, d. h. es sind auch hier Triglyceride so angeordnet, daß die Gitterkonstante – der sogenannte lange Abstand – etwa die Länge von zwei Fettsäureresten beträgt. Die hohe Elektronendichte in der Mitte der Elementarzelle ist wiederum durch den Glycerinrest bzw. durch die in dessen unmittelbarer Umgebung liegenden Sauerstoffatome der Fettsäurereste verursacht.

Die Kristallart II beginnt bei Abkühlung des Präparates im Temperaturbereich zwischen 35 °C und 30 °C auszukristallisieren und besitzt eine Gitterkonstante von 69 Å. Die Intensitätsverteilung der zugehörigen Röntgenbeugungsreflexe in Abhängigkeit von der Temperatur ist in Abb. 12 angegeben. Wie zu sehen ist, treten hier im Gegensatz zu Kristallart I keine Fraktionen auf, lediglich im Temperaturbereich von 0° bis -20°C erfolgt eine Verringerung dieses Kristallanteiles. Offenbar hängt das mit der gleichzeitigen Bildung von Kristallart III zusammen, die zumindest teilweise auf Kosten der

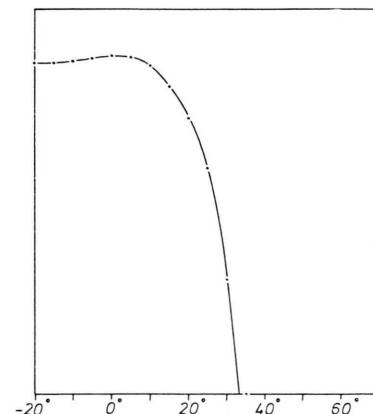


Abb. 12. Anteil der Kristallart II von Schweinefett als Funktion der Temperatur. Diese Kristallart zeigt keine Unterteilung in einzelne Fraktionen, jedoch erfolgt im Bereich von 0° bis -20°C durch Umkristallisation eine Verringerung des Anteiles.

Kristallart II entsteht. Im Gegensatz zu Kristallart I sind nun Kristallgitterinterferenzen bis zur fünften Ordnung zu beobachten, wobei das größte Maximum diesmal jedoch von der 2. Ordnung gebildet wird (Abb. 10). Ähnlich wie bei Kristallart I wurde auch hier versucht, durch Berechnen einer eindimensionalen Fourier-Transformation die Elektronendichtevertteilung in Richtung des langen Abstandes zu ermitteln. Die gefundene Elektronendichtevertteilung ist in Abb. 8 b angegeben, ein Vergleich der daraus berechneten Kristallgitterinterferenzen mit den experimentell gewonnenen Reflexintensitäten in Abb. 13 dargestellt. Wie entsprechende Fettsäureanalysen zeigen, ist die Bildung der Kristallart II stets mit dem Vorhandensein von Triglyceriden mit Linolsäurerest verbunden. Dabei muß man aufgrund der ermittelten Elektronendichtevertteilung annehmen, daß z. B. ein Triglycerid mit einem Linolsäurerest und zwei gesättigten Fettsäureresten eine Form besitzt, wie sie in Abb. 14 durch ein entsprechendes Kalottenmodell dargestellt ist. Nimmt man einen bei Triglyceridkristallen üblichen Neigungswinkel der Triglyceride zwischen 65° und 69° gegenüber der Netzebene an, dann ergeben zwei solche Triglyceride mit den Linolsäureresten gegeneinander gestellt, genau die Gitterkonstante von 69 \AA . Im Modell ist berücksichtigt, daß Linolsäure ein 49.12 cis-cis Kohlenwasserstoff ist. Wegen der sehr guten Übereinstimmung zwischen berechneten und gemessenen Reflexintensitäten erscheint die eben gegebene Deutung für die Kristallfraktion II gerechtfertigt. Die Gitterkonstante der Kristallart II entspricht einer Länge von etwa drei Fettsäureresten.

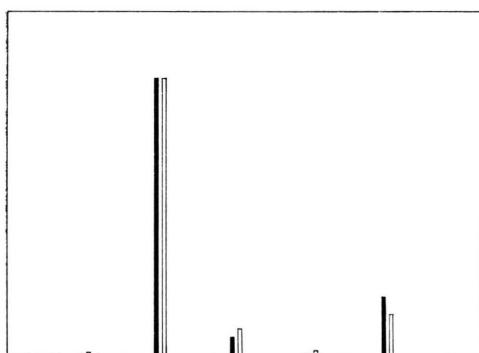


Abb. 13. Vergleich der integralen Intensitäten der Röntgenbeugungsreflexe 1. bis 5. Ordnung von Kristallart II des Schweinefettes mit gerechneten Kristallgitterinterferenzen. Der Rechnung wurde die Elektronendichtevertteilung von Abb. 8 b zugrunde gelegt.

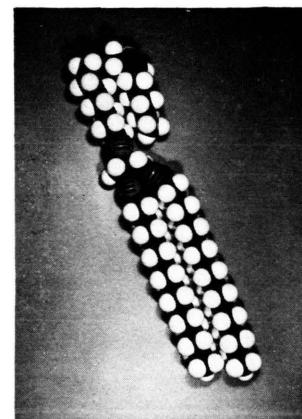


Abb. 14. Kalottenmodell eines Triglycerides mit zwei gesättigten Fettsäureresten und einem Linolsäurerest. Die Gitterkonstante von 69 \AA wird erzielt, indem jeweils zwei Moleküle unter Einhalten eines Neigungswinkels von 65° bis 69° mit ihren Linolsäureresten aneinander gefügt werden.

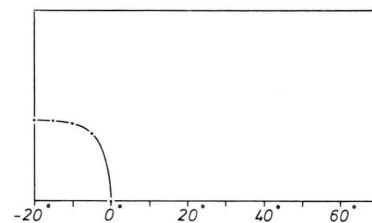


Abb. 15. Anteil der Kristallart III von Schweinefett als Funktion der Temperatur.

Schließlich entsteht im Bereich zwischen 0°C und -5°C noch die Kristallart III. Von diesen Kristallen sind experimentell nur zwei Beugungsmaxima bekannt, die 3. Ordnung ist null, während die 4. Ordnung mit der 3. Ordnung von Kristallart I zusammenfällt und daher wegen ihres geringen Anteiles experimentell nicht ermittelt werden kann. Wie erwähnt, wird die Kristallart III zum Teil auf Kosten von Kristallart II gebildet. Trotz der geringen Zahl von beobachteten Beugungsmaxima wurde versucht, eine Elektronendichtevertteilung über den langen Abstand von 59 \AA zu ermitteln. Das Resultat ist in Abb. 8 c angegeben, der zugehörige Vergleich zwischen den mittels Fourier-Transformation berechneten Reflexintensitäten und den experimentell bestimmten Intensitäten in Abb. 16 dargestellt. Die Elektronendichtevertteilung ist insofern überraschend, als wohl zwei Zonen höherer Elektronendichte auftreten, jedoch nicht drei Fettsäurerestlängen in der Elementarzelle unterzubringen sind. Es wird daher vorgeschlagen, diese Elektronendichtevertteilung als

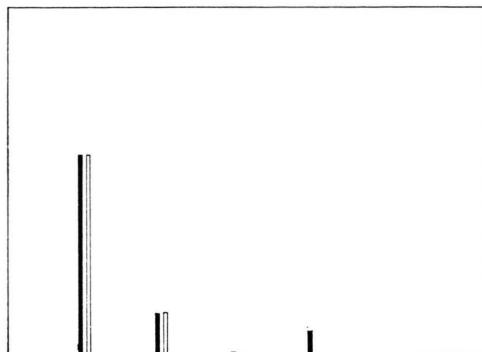


Abb. 16. Vergleich der Röntgenbeugungsinterferenzen der Kristallart III von Schweinefett mit berechneten Kristallgitterinterferenzen. Der Rechnung wurde die Elektronendichtevertteilung von Abb. 8 c zugrunde gelegt.

von Diglyceriden herrührend zu deuten. Diglyceride kristallisieren in der hier angegebenen Weise, indem beide Glycerinreste mit den beiden OH-Gruppen unmittelbar gegeneinander stehend angeordnet sind.

Diskussion

Nach einer Untersuchung temperaturabhängiger Eigenschaften von Fetten erhebt sich die Frage, wodurch das bekannte, unterschiedliche Verhalten der beiden untersuchten Fettarten bedingt ist. Bisher ist in der Literatur darauf hingewiesen worden, daß die bei gleicher Temperatur härtere Konsistenz von Rinderfett auf einen offensichtlich geringeren Ölsäuregehalt des Rinderfettes gegenüber dem Schweinefett zurückzuführen ist. Im Gegensatz dazu konnten Fettsäureanalysen an normalen, d. h. nicht fraktionierten Depotfetten diese Ansicht nicht bestä-

Tab. IV. Fettsäureanalyse von Rinderfett.

Myristinsäure	3,6%
Myristoleinsäure	1,5%
Palmitsäure	31,2%
Palmitoleinsäure	6,3%
Stearinsäure	9,0%
Ölsäure	48,5%
Linolsäure	—

Tab. V. Fettsäureanalyse von Schweinefett.

Myristinsäure	1,2%
Myristoleinsäure	—
Palmitsäure	28,4%
Palmitoleinsäure	2,6%
Stearinsäure	19,7%
Ölsäure	43,5%
Linolsäure	4,6%

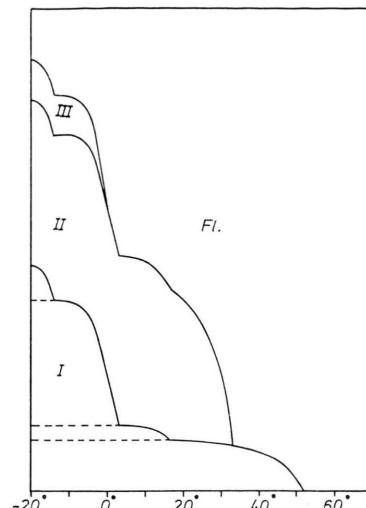


Abb. 17. Summe aller Kristallanteile von Schweinefett als Funktion der Temperatur. Mit I, II und III sind die Existenzbereiche der entsprechenden Kristallarten bezeichnet, mit Fl wird der Bereich des vollständig geschmolzenen Fettes angegeben.

tigen, denn wie in den Tabn. IV u. V angegebene Fettsäureanalysen zeigen, hat man bei Rinderfett mit demselben Ölsäuregehalt, manchmal sogar mit einem höheren als bei Schweinefett zu rechnen. Da aufgrund der Untersuchungen der wesentliche Unterschied zwischen beiden Fetten in dem Auftreten der Kristallart II bei Schweinefett zu erblicken ist, wird man wohl diesen schon bei niedrigeren Temperaturen schmelzenden Kristallanteil für die unterschiedliche Konsistenz dieses Fettes im Vergleich zum Rinderfett verantwortlichen machen müssen. In Abb. 17 ist die Summe aller Kristallanteile des Schweinefettes in Abhängigkeit von der Temperatur angegeben, d. h. die Kristallarten I, II und III. Darin stellen die Ordinaten die relativen Anteile der einzelnen Kristallarten dar. So ist zu entnehmen, daß die in Rede stehende Kristallart II des untersuchten Präparates bei einer Temperatur von -20°C rund 40% des gesamten Kristallanteiles des Fettes ausmacht.

Wie aus den Kristallgitterinterferenzen des Rinderfettes zu ersehen ist, wird bei der Kristallisation von Triglyceridgemischen generell die einmal erzeugte Gitterkonstante beibehalten, wenn weitere Triglyceridarten an die ursprünglichen Kristallite angelagert werden. Sobald Triglyceride jedoch nur Kristalle bilden können, deren langer Abstand unter gar keinen Umständen in die vorgegebene

Schichtdicke der bereits vorhandenen Kristalle paßt, werden Kristalle mit anderem langen Abstand, also anderer Gitterkonstante gebildet. Letzteres trifft jedenfalls auf die Kristalle mit linolsäurehaltigen Triglyceriden zu, die ja erst nach Entstehen von Kristallen mit der Gitterkonstante von 43,5 Å auftreten. Etwas Ähnliches gilt für Kristallart III, wobei jedoch bemerkt werden muß, daß diese Kristallart von Glyceriden gebildet wird, die vor allem bei rascher Abkühlung des Präparates ohne weiteres in Kristallart II aufgenommen werden.

Von den beiden untersuchten Fettarten enthält das Rinderfett im allgemeinen keine Linolsäureanteile. Wegen der speziellen Verdauungsvorgänge bei Rindern wird die mit der Nahrung aufgenommene Linolsäure oxydiert, d. h. es werden C=C Doppelbindungen der Linolsäurereste in Einfachbindungen umgewandelt. Dem Säugetierorganismus ist es nicht möglich, Linolsäure zu synthetisieren.

Die Ansicht, daß für das Entstehen der Kristallart II tatsächlich die linolsäureresthaltigen Triglyceride verantwortlich sind, konnte außer durch die Fettsäureanalysen dieser Kristallart auch durch weitere Röntgenbeugungsuntersuchungen bestätigt werden. In den Abb. 18 a, b, c sind auf fotografischem Wege gewonnene Röntgenbeugungskurven angegeben, die von Triglyceridpräparaten mit unterschiedlichem Linolsäuregehalt stammen. Bei gleicher Gitterkonstante ist eine jeweils charakteristische Intensitätsverteilung der zum langen Abstand von 69 Å gehörenden Röntgenbeugungsreflexe zu erkennen. Die Abbildungen sind nach zunehmendem Linolsäuregehalt geordnet, wobei die erste Abbildung von einem Präparat stammt, dessen Linolsäuregehalt verschwindend klein ist. Dementsprechend ist auch in der Elektronendichtevertteilung der Elementarzelle von Kristallart II (Abb. 8 b) das Elektronendichteminimum in der Mitte der Elementarzelle nicht mehr vorhanden.

In Tab. VI sind nun Röntgenbeugungsreflexe bis zur 5. Ordnung angegeben, welche unter Verwen-

Tab. VI. Mit Elektronendichtevertteilungen der Form von Abb. 8 b gerechnete Röntgenbeugungsreflexe 1. bis 5. Ordnung.

	1,0	0,75	0,5	0,1
1. Ordnung	874	502	338	110
2. Ordnung	1263	1570	2060	2990
3. Ordnung	22	70	158	373
4. Ordnung	20	0	0	85
5. Ordnung	595	340	365	203

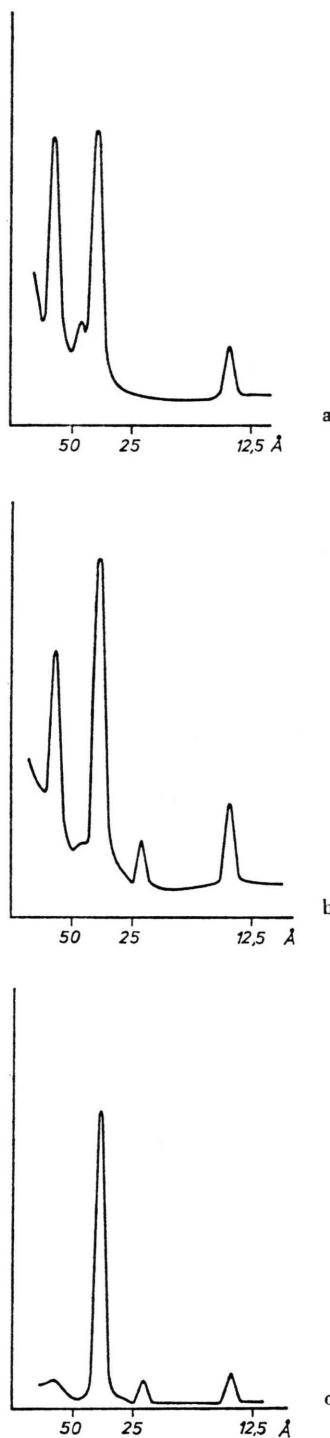


Abb. 18. Röntgenbeugungsreflexe im Röntgenkleinwinkelbereich von Präparaten der Kristallart II des Schweinefettes. Der Linolsäuregehalt der Präparate nimmt von a nach c zu. Das Präparat mit der Kurve a enthält praktisch keine Linolsäure mehr.

dung der Elektronendichteverteilung von Abb. 8 b gerechnet worden sind. Dabei ist nur die Tiefe des in der Mitte der Verteilung liegenden Minimums variiert worden, so daß die unter 1,0 stehende Kolonne die gerechneten Röntgenbeugungsreflexe wiedergibt, welche bei völliger Einebnung dieses Minimums in der Elektronendichteverteilung erhalten werden. Analog sind in den weiteren drei Kolonnen die berechneten Röntgenbeugungsreflexe für abnehmende Elektronendichte an dieser Stelle angegeben, und zwar für Dreiviertel, die Hälfte und ein Zehntel dieses ursprünglichen Wertes. Der übrige Verlauf der Elektronendichteverteilung von Abb. 8 b wurde beibehalten. Man kann nun die Röntgenbeugungskurven von Abb. 18 zumindest näherungsweise deuten, indem man versucht, sie zwischen die Werte von Tab. VI einzuordnen. Man erkennt, daß die Kurve von Abb. 18 a – Präparat mit dem geringsten Linolsäuregehalt – gut mit der Intensitätsverteilung der Reflexe von Kolonne 1,0 übereinstimmt. Lediglich der Reflex 5. Ordnung ist zu groß. Die Kurve von Abb. 18 b wäre zwischen die Kolonnen 0,75 und 0,5 einzuordnen. Schließlich würde die Röntgenbeugungskurve von Abb. 18 c – das Präparat mit dem höchsten Linolsäuregehalt – sehr gut mit der Reflexfolge aus einer Elektronendichteverteilung übereinstimmen, welche im zentralen Minimum einen Betrag in der Nähe von 0,1 des ursprünglichen Wertes besitzt.

Unterschiedlicher Linolsäuregehalt in Triglyceridkristallen verändert die Elektronendichteverteilung von Abb. 8 b nur an einer Stelle, nämlich dem Minimum in der Mitte der Elementarzelle. Diese vergleichsweise geringfügige Änderung hat jedoch

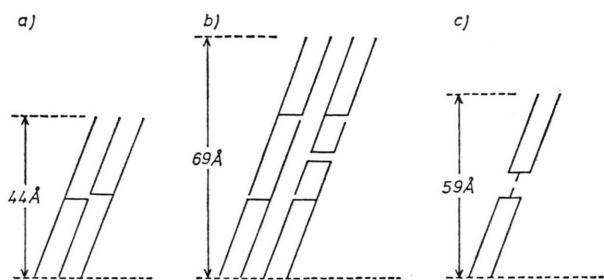


Abb. 19. a) Schematische Anordnung der Triglyceride in Kristallen von Rinderfett bzw. in der Kristallart I des Schweinefettes.

b) Schematische Anordnung der Triglyceride in Kristallart II des Schweinefettes.

c) Schematische Anordnung der Glyceride in Kristallart III des Schweinefettes.

beträchtliche Unterschiede in der Intensitätsverteilung der zugehörigen Röntgenbeugungsreflexe zur Folge.

Würde in den Abb. 7 und 17 nicht der kristalline Anteil in Abhängigkeit von der Temperatur aufgetragen sein, sondern umgekehrt als Ordinate die Temperatur und längs der Abszisse die kristallinen Anteile, so hätte man die übliche Darstellung eines Phasendiagrammes. Die in diesem Diagramm aufscheinende Kristallart I – Gitterkonstante 44 Å für Rinderfett bzw. 43,5 Å für Schweinefett – zeigt schematisch eine Triglyceridanordnung wie in Abb. 19a, die Kristallart II des Schweinefettes – Gitterkonstante 69 Å – eine Triglyceridanordnung wie in Abb. 19b, und schließlich die Kristallart III, wenn die früher gegebene Deutung richtig sein sollte, eine Anordnung der Diglyceride wie in Abb. 19 c.

[1] Carla Ruska u. Helmut Ruska, Beobachtungen über Strukturen in zellulären Neutralfetten bei der Darstellung durch die Gefrierätztechnik. In: Auwärter, Ergebnisse der Hochvakuumtechnik und der Physik dünner Schichten, Bd. II, S. 59–80, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1971.

[2] Kaufmann, Analyse der Fette und Fettprodukte, Bd. I u. II, Springer, Berlin.

[3] H. Wawra, Eine Röntgenkleinwinkelkamera mittleren Auflösungsvermögens ohne Spaltlängsverschmierung, Z. Naturforsch. 31 e, 635–640 (1976).