

Mgr inż. Katarzyna ŻONTAŁA
Mgr inż. Joanna ŁOPACKA
Mgr inż. Aleksandra LIPIŃSKA
Mgr inż. Anna SAKOWSKA

Samodzielny Zakład Techniki w Żywieniu, SGGW w Warszawie

ZASTOSOWANIE RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ W ANALIZIE ŻYWNOŚCI®

Use differential scanning calorimetry in food analysis®

Słowa kluczowe: analiza termiczna, właściwości cieplne, żywność, różnicowa kalorymetria skaningowa, DSC.

Celem artykułu jest było przedstawienie możliwości zastosowania różnicowej kalorymetrii skaningowej przy badaniu właściwości cieplnych wybranych półproduktów i produktów spożywczych. Różnicowa kalorymetria skaningowa jest jedną z technik analizy termicznej, która znalazła wiele zastosowań w analizie żywności. Jest to metoda badająca ruchy ciepła pomiędzy próbką badaną i aparaturą (w porównaniu do wzorca) w warunkach zaprogramowanej temperatury. Za jej pomocą można badać właściwości fizyczne i chemiczne głównie tłuszczów, węglowodanów, białek, wody oraz wykrywać zafałszowania żywności.

Key words: thermal analysis, thermal properties, food, differential scanning calorimetry, DSC.

Present review is aimed on presentation of potential applications of differential scanning calorimetry for thermal properties research of selected food products. Differential scanning calorimetry is one of the thermal analysis methods and it can be used in food analysis in many ways. It explores heat movements between sample and apparatus (in comparison to standard) under programmed temperature. This method may be used for examination of physical and chemical properties of fats, carbohydrates, proteins and water, as well as for detection of food adulterations.

WPROWADZENIE

Poznanie wpływu temperatury na właściwości żywności znacząco pomaga producentom dostosowywać warunki obróbki surowców spożywczych i poprawiać jakość produktów końcowych. Różnicowa kalorymetria skaningowa (ang. differential scanning calorimetry, DSC) jest jedną z metod analizy termicznej, która daje możliwość wglądu w zmiany zachodzące w żywności w warunkach podwyższonej i obniżonej temperatury, zarówno w środowisku tlenowym, jak i beztlenowym. Pozwala na analizę poszczególnych składników żywności (białka, sacharydy, tłuszcze), jak i złożonych struktur, co jest szczególnie ważne w badaniu żywności [27]. Może być także stosowana do wykrywania jej zafałszowań [2]. Analiza DSC może być stosowana zarówno do próbek stałych, jak i płynnych, co czyni ją praktyczną podczas badania produktów spożywczych.

DSC stanowi efektywne narzędzie monitorowania zarówno termodynamicznych, jak i kinetycznych właściwości składników surowca wbudowanych w zróżnicowane macierze produktów [8]. Dzięki technice DSC możliwa jest symulacja warunków obróbki i przechowywania żywności oraz obserwowanie jej zachowania pod wpływem zmieniającej się w czasie temperatury. Przemiany cieplne zachodzące w układach żywnościowych, które mogą być mierzone za pomocą DSC, dotyczą zjawisk endotermicznych (topnienia, denaturacji, żelowania, parowania) i egzotermicznych (zamarzania, krystalizacji i utleniania).

Pomiary za pomocą aparatury DSC mogą być zarówno jakościowe (np. identyfikacja i charakterystyka substancji na podstawie jej termicznego „odcisku palca”, ang. thermal

fingerprint), jak i ilościowe (np. ciepło przemiany, stopień ogólnej reakcji, parametry termokinetyczne) [8, 28].

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI BIAŁEK

Za pomocą DSC badano denaturację termiczną białek mleka sojowego [18], izolatów białka sojowego i mieszanek ze skrobią kukurydzianą [26], zmiany zachodzące w mięsie, np. zmiany w białkach mięsa rybnego wywołane wysokim ciśnieniem hydrostatycznym [24], termiczną denaturację mięsa wieprzowego w trakcie obróbki cieplnej [3], denaturację białek mięsa wołowego podczas gotowania, z wykorzystaniem właściwości dielektrycznych i innych analiz fizycznych [9].

Najczęściej obserwowanym zjawiskiem termicznym zachodzącym z udziałem białek jest denaturacja, gdy białka są składnikiem roztworu, lub utlenianie i przemiany szkliste, gdy białka występują w postaci proszku [23]. Na całkowitą entalpię procesu denaturacji białek składają się entalpie dwóch procesów – egzotermicznego rozpadu oddziaływań hydrofobowych białek, obniżającego entalpię całkowitą i endotermicznego rozkładu oddziaływań elektrostatycznych, sił van der Waals'a i wiązań wodorowych.

Na zjawisko denaturacji nakłada się zjawisko agregacji białek, w wyniku którego ciepło jest emitowane. Entalpia obliczana na podstawie pola powierzchni pod krzywą procesu przedstawia całkowitą zmianę energii cieplnej zjawiska denaturacji i agregacji białek. W celu rozdzielenia tych dwóch zjawisk należy zastosować działania matematyczne opierające się na pochodnych funkcji strumienia cieplnego od czasu lub temperatury badanej próbki [7]. Stopień denaturacji

białek mięśniowych, zarówno w przypadku mięsa czerwonego [17], jak i ryb oraz owoców morza [25, 29], wpływa na właściwości końcowe produktu, tj. na barwę, teksturę, soczystość czy akceptację ogólną.

Przykładowo, podczas analizy surowego mięsa wołowego za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej widoczne są trzy piki endotermiczne występujące w temperaturach 59, 66 oraz 82°C, które odpowiadają temperaturom denaturacji poszczególnych białek występujących w mięsie (rys. 1). W temperaturze 59°C denaturacji ulega miozyna, w 66°C kolagen i białka sarkoplazmatyczne, w 82°C aktyna [9]. Dzięki zmianie szybkości ogrzewania próbki możliwe jest wyznaczenie parametrów kinetycznych, tj. energii aktywacji oraz stałej szybkości zachodzącego procesu denaturacji [19], co jest istotne podczas planowania procesów technologicznych uwzględniających wykorzystanie wymiany ciepłej.

DSC jako metoda wspomagająca wyjaśnienie interakcji między wodą i białkiem w wieprzowym mięsniu *Longissimus dorsi* podczas obróbki w niskiej temperaturze przez długi czas (20 godzin) została wykorzystana również w badaniach Christensen i wsp. [13].

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI SACHARYDÓW

Zjawiska termiczne zachodzące w sacharydach obejmują uwalnianie wody krystalizacyjnej, topnienie, rozkład, galaretowacenie skrobi w obecności wody, retrogradację, przemiany szkliste i krystalizację próbek amorficznych [23]. Przemiana szklista oznacza przejście twardych amorficznych sacharydów pod wpływem temperatury ze stanu szklistego w postać miękką, gumowatą. Jest to zjawisko odwracalne, co na wykresach DSC przejawia się zmianą poziomu linii bazowej (ang. baseline). Poznanie mechanizmu i parametrów przemiany szklistej jest szczególnie ważne w odniesieniu do przechowywania mrożonych produktów i żywności w formie proszków, gdzie szczególnie często zachodzi ta przemiana [22]. Zastosowanie odpowiednich warunków przechowywania, poznanych na podstawie analiz termicznych, może zapobiegać zbrylaniu i brązowieniu, np. mleka w proszku [20]. Także niektóre zmiany mechaniczne pojawiające się w żywności w czasie przechowywania mogą dotyczyć przemiany szklistej. Na przykład chrupkość artykułów piekarniczych zawierających cukier i skrobię, zawdzięcza się przemianie szklistej cukru i skrobi, która zachodzi w temperaturze wyższej niż temperatura pokojowa, w jakiej najczęściej są przechowywane [8].

Kleikowanie układu skrobia-woda jest nieodwracalnym zjawiskiem endotermicznym. Wraz ze wzrostem temperatury roztworu wodnego skrobi, cząsteczki skrobi drgają, następuje rozerwanie wiązań międzycząsteczkowych i absorpcja cząsteczki wody. W miarę dalszego ogrzewania struktura cząsteczek różnicuje się, tracą one właściwości krystaliczne, powiększają się i tworzą lepką papkę, co potocznie nazywa się kleikowaniem [8]. Kleikowanie skrobi jest jednym z najczęściej zachodzących i najczęściej opisywanych procesów w trakcie obróbki żywności. Za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej możliwe jest wyznaczenie następujących parametrów tego procesu [4]:

- temperatury kleikowania (T_g), czyli punktu, w którym połowa granulek skrobi traci dwójłomność (zdolność do podwójnego załamania światła), co obrazuje punkt w środku krzywej przemiany na wykresie DSC,
- temperatury początku przemiany (T_{on}), czyli punktu, w którym rozpoczyna się utrata dwójłomności lub punktu przecięcia linii bazowej wykresu ze styczną poprowadzoną do piku DSC przemiany w pierwszej połowie przebiegu krzywej,
- temperatury końca przemiany (T_{end}), czyli temperatury, w której 90% granulek skrobi nie ma właściwości podwójnego załamania światła lub temperatury w punkcie przecięcia linii bazowej wykresu i stycznej poprowadzonej do drugiej połowy piku DSC na krzywej kleikowania.

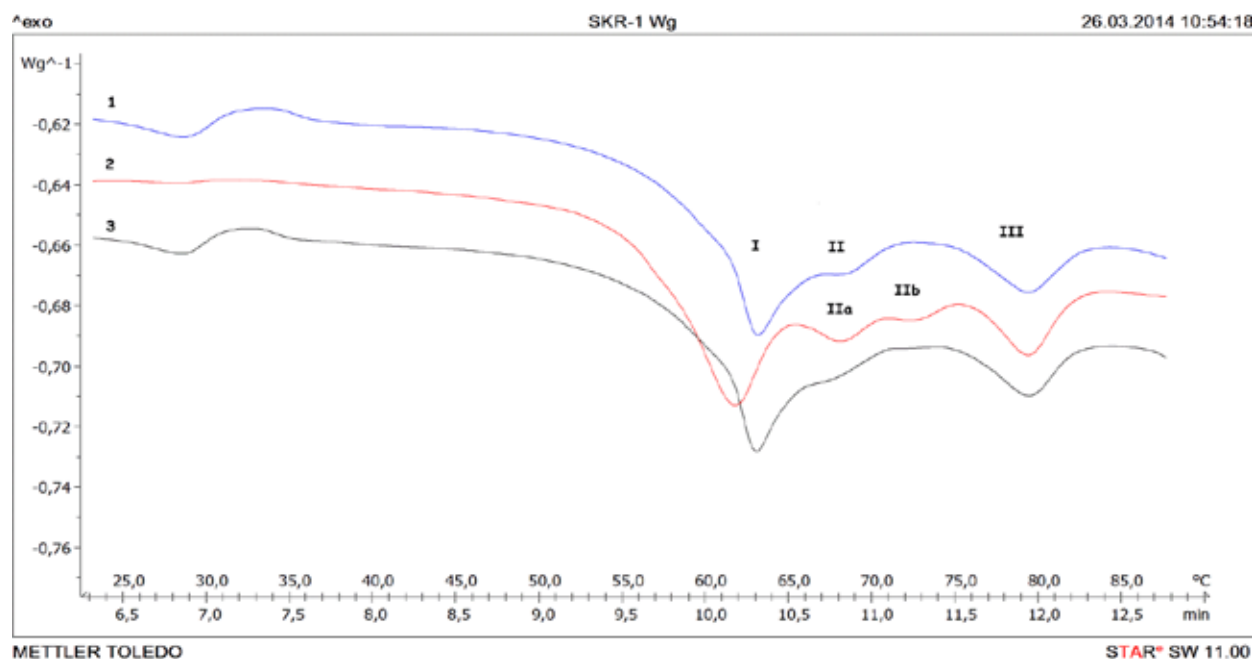
W badaniu Aparicio i wsp. [4] przeprowadzono analizę DSC 15% zawiesiny skrobi w wodzie, stosując różne szybkości nagrzewania. Wyniki pokazały wyraźną zależność dokładności pomiaru od szybkości nagrzewania pieca. Wartość temperatury kleikowania (T_g) wzrastała wraz ze wzrostem szybkości nagrzewania.

Retrogradacja jest to powolny i niskoenergetyczny proces rekrytalizacji skrobi poprzez wyłączenie cząsteczek wody ze struktury związku. Zjawisko to zachodzi w następstwie kleikowania, z początkowego stanu amorficznego do stanu uporządkowanego lub krystalicznego. Czerstwienie pieczywa jest częściowo spowodowane retrogradacją skrobi [8]. Chen i wsp. [12] zbadali za pomocą DSC zjawisko retrogradacji skrobi kukurydzianej poddanej obróbce termicznej w różnych temperaturach, w zależności od czasu przechowywania w warunkach chłodniczych. Próbkę zawiesiny skrobi poddali obróbce termicznej w temperaturze 81°C, 105°C, 125°C i 155°C, a następnie ponownej analizie DSC. Wraz ze wzrostem czasu przechowywania zwiększała się wielkość piku odpowiadającego zjawisku retrogradacji oraz zaobserwowano znaczną zmianę entalpii. Podobne wartości temperatury poszczególnych endoterm wskazują na przebieg przemiany termicznej. Obróbka w temperaturze wyższej niż 81°C powoduje zanik wszystkich endoterm poniżej tej temperatury, co oznacza, że wszystkie uporządkowane struktury ulegają degradacji termicznej.

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI TŁUSZCZÓW

Badania właściwości termicznych tłuszczów opierają się głównie na analizie najczęściej występujących w tłuszczach zjawisk termicznych, takich jak krystalizacja, topnienie, utlenianie termiczne [23]. Lipidy często są polimorficzne (wielopostaciowe). Identyfikacja polimorfizmu jest popularnym tematem analiz, zwykle przeprowadzanych za pomocą DSC [11].

Większość tłuszczów jadalnych (np. tłuszcz mleczny i masło kakaowe) występuje w odpowiedniej formie polimorficznej. Zjawisko to wynika ze zróżnicowanej zdolności dołączania łańcuchów bocznych i podłużnego formowania się cząsteczek lipidów w lamelle [8]. Najczęściej w celu zidentyfikowania polimorfizmu dokonuje się pomiaru entalpii topnienia i temperatury topnienia (w przypadku czystych olejów) lub zakresu temperatur. Na podstawie uzyskanych wyników możliwe jest rozróżnienie poszczególnych



Rys. 1. Termogramy DSC wieprzowego mięśnia *Biceps femoris*, przedstawiające strumień ciepła znormalizowany do wielkości próbki w zależności od temperatury. Cyfry 1-3 oznaczają powtórzenia pomiaru. Cyfry rzymskie określają piki endotermiczne denaturacji białek, I – miozyny, IIa – kolagenu, IIb – białek sarkoplazmatycznych, III – aktyny. Piki IIa i IIb bardzo często występują w formie jednego, nie rozdzielonego piku II lub pik IIb nie jest wykrywany.

Fig. 1. Normalized heat flow DSC thermograms of pork *Biceps femoris*. Numbers from 1 to 3 indicate repetitions. Roman numerals indicate endothermic protein denaturation peaks, I – myosin, IIa – collagen, IIb – sarcoplasmic proteins, III – actin. Peaks IIa and IIb are very often found as one peak marked as II or peak IIb is not detected.

Źródło: Badania własne

odmian polimorficznych [16]. Analiza termiczna olejów jadalnych przeprowadzana w atmosferze tlenu za pomocą DSC może zostać wykorzystana do przewidywania ich stabilności [20, 30]. DSC jest jedną z metod termooanalitycznych umożliwiającą wyznaczanie parametrów utleniania bez udziału środków chemicznych [21]. Technikę tą zastosowano np. do oceny zmian oksydacyjnych tłuszczów roślinnych [11]. Badanie Kowalskiego i wsp. [21] wykazało, iż wraz ze wzrostem szybkości ogrzewania rośnie wartość temperatury rozpoczęcia procesu utleniania oraz temperatury maksymalnej procesu utleniania tłuszczu.

W badaniu Araújo i wsp. [5] wyodrębniono trzy etapy rozpadu termicznego oleju. Pierwszy z nich odnosi się do rozpadu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i jest najważniejszym z etapów określających stabilność termiczną oleju. Drugi, zachodzący w temperaturze 380-480°C, wskazuje na rozpad jednonienasyconych kwasów tłuszczowych. W trzecim etapie zachodzi rozpad nasyconych kwasów tłuszczowych i całkowity rozkład oleju. Krzywe endotermiczne, które przeważają na wykresie DSC, odpowiadają termicznemu rozkładowi kwasów tłuszczowych. Sygnały egzotermiczne są prawdopodobnie wynikiem polimeryzacji kwasów tłuszczowych, z których zbudowany jest olej.

Połączenie metod DSC i TGA/DTG umożliwia wyznaczenie temperatury początku rozkładu termicznego, która jest wartością charakterystyczną dla poszczególnych rodzajów olejów. Na podstawie tego parametru możliwe jest uszerego-

wanie olejów pod względem ich stabilności termicznej. Zestawienie DSC i TGA/DTG umożliwia także m.in. wyznaczenie ciepła właściwego substancji oraz entalpii rozkładu [5].

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI WODY ZAWARTEJ W ŻYWNOSCI

Analiza termiczna i kalorymetria umożliwia badanie krystalizacji (w czasie przechładzania), topnienia lodu i parowania wody z żywności [23]. Zastosowano ją m.in. do wyznaczania różnic w zawartości wody wolnej i związanej w mięsie wołowym w różnych warunkach zamrażania [1]. Ilość wody związanej obliczano jako maksymalną zawartość wody, dla której nie odnotowano piku entalpii, ale otrzymano ją jako punkt przecięcia krzywej z osią współrzędnych w punkcie $\Delta H = 0$ entalpii topnienia w stosunku do procentowej zawartości wody [15].

Badanie Aktas i wsp. [1] polegało na wielokrotnym zamrażaniu i rozmrażaniu nieprzetworzonego mięsa wołowego do temperatury -40, -50 lub -65°C za pomocą kalorymetru. Obniżanie i podwyższanie temperatury miało na celu wyznaczenie krzywych topnienia i zamarzania dla wody wolnej zawartej w tkankach. Na podstawie obliczenia pola powierzchni pików przemian wyznaczono zawartość wody wolnej dla poszczególnych temperatur. Zawartość wody związanej obliczono z różnicy wody zawartej ogółem i wyznaczonej za pomocą DSC wody wolnej.

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI EMULSJI

Dzięki zastosowaniu różnicowej kalorymetrii skaningowej możliwe jest wyznaczanie punktów krzepnięcia kropelek stanowiących emulsję – na podstawie temperatury i energii ich topnienia, wyznaczanie stopnia przenikania masy, określanie wpływu zamrażania i rozmrażania, rodzaju użytego oleju, proporcji między składnikami emulsji wpływającymi na jej stabilność. DSC dostarcza użytecznych informacji na temat granulometrii emulsji oraz charakterystyki stopnia polidispersji emulsji [14].

BADANIE ZAFALSZOWAŃ ŻYWNOSCI

Zafalszowania produktów żywnościowych obejmują dodatek substancji chemicznych do produktu, w którym naturalnie występują podobne substancje [10]. Zróżnicowany skład tłuszczów i odmienne zachowanie w określonych warunkach temperaturowych pozwalają na identyfikację i rozróżnianie poszczególnych rodzajów tłuszczów. Zależność tę wykorzystali Aktaş i Kaya [2] w badaniu zafalszowań olejów jadalnych, tłuszczów i produktów o dużej zawartości tłuszczu. Dzięki zastosowaniu DSC możliwe było wykrycie obecności np. łożu i margaryny w maśle. Przedmiotem badania było wyznaczenie temperatur topnienia i krystalizacji masła, margaryny i tłuszczu wołowego oraz ich mieszanek. Krzywa topnienia tłuszczu wołowego wykazuje pik endotermiczny między 10 i 50°C, podczas gdy masło i margaryna są całkowicie stopione już w temperaturze 40°C. Te różnice stanowią bazę do badania zafalszowania masła margaryną i tłuszczem wołowym. Dodatek 5, 10 i 20% margaryny i tłuszczu wołowego do masła wywołał znaczące różnice w wyglądzie krzywych topnienia masła.

Zafalszowanie oliwy z oliwek extra virgin olejem z orzechów laskowych jest dosyć częstą praktyką stosowaną przez producentów w krajach Europy Zachodniej ze względu na niskie koszty pozyskiwania oleju z orzechów w porównaniu do kosztów pozyskiwania oliwy z oliwek. Dodatek oleju z orzechów laskowych jest trudny do wykrycia, szczególnie w stężeniach niższych niż 20%, ze względu na jego podobieństwo chemiczne do oliwy z oliwek. Bendini i wsp. [6] wykorzystali DSC do zbadania zafalszowania oliwy z oliwek extra virgin rafinowanym olejem z orzechów laskowych. W analizie wykorzystano różnice temperatur wrzenia i krzepnięcia poszczególnych rodzajów olejów. Na podstawie uzyskanych danych obliczono m.in. entalpię topnienia i krystalizacji poszczególnych olejów i ich mieszanek. Cabrol-Bass i wsp. [10] badali za pomocą DSC termiczne zachowanie miodów i syropów cukrowych oraz wpływ zafalszowania miodów syropami cukrowymi na ich zachowanie termiczne. W tym celu oznaczono temperaturę przemiany szklistej i zjawiska endotermicznego występującego w przedziale między 20°C i 100°C w miodach lawendowym, jodłowym i w miodzie z kwiatów robinii oraz syropach cukrowych (buraczanym i trzcinowym). Analiza za pomocą różnicowego kalorymetru skaningowego pozwoliła zaobserwować trzy zjawiska termiczne. Temperatury, w jakich zachodziły, różniły się znacząco dla miodów i syropów cukrowych, co pozwoliło na rozróżnienie poszczególnych rodzajów badanych próbek. Także porównanie wartości entalpii do temperatury rozpoczęcia procesu termicznego może służyć jako przydatne narzędzie w identyfikacji zafalszowań żywności.

PODSUMOWANIE

Współczesne metody analizy termicznej pozwalają na precyzyjne obserwowanie wielu fizycznych i chemicznych właściwości żywności, bezpośrednio związanych ze zmianami temperatury. Różnicowa kalorymetria skaningowa jest metodą szybką, nie wymagającą skomplikowanego przygotowania próbki, umożliwiającą badanie materiałów płynnych i stałych, dlatego pozostaje najczęściej stosowaną techniką analizy termicznej. DSC zapewnia szeroki wachlarz zastosowań w odniesieniu do substancji organicznych i nieorganicznych, więc idealnie nadaje się do badania żywności. Różnicowa kalorymetria skaningowa pozwala na badanie kleikowania i retrogradacji skrobi, rozpadu tłuszczów jadalnych pod wpływem utleniania, badanie wpływu zamrażania i suszenia produktów na ich właściwości, analizę denaturacji białek mięsa oraz na wyznaczanie wskaźnika fazy stałej tłuszczu i wykrywanie zafalszowań żywności.

Za pomocą DSC możliwe jest wyznaczenie charakterystycznych parametrów temperaturowych, dzięki czemu mogą być usprawniane procesy technologiczne, a wytworzona żywność może charakteryzować się lepszą jakością i właściwościami fizykochemicznymi.

LITERATURA

- [1] AKTAŞ N., GÖKALP H. Y., TÜLEK Y. 1997. *Determination of differences in free and bound water contents of beef muscle by DSC under various freezing conditions*. Journal of Thermal Analysis, 50, 617-624.
- [2] AKTAŞ N., KAYA M. 2001. *Detection of beef body FAT and margarine in butterfat by differential scanning calorimetry*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 66, 795-801.
- [3] ANDERSEN H. J., BERTRAM H. C., VAN DER BERG F., WU Z. 2006. *NMR relaxometry and differential scanning calorimetry during meat cooking*. Meat Science, 74, 684-689.
- [4] APARICIO C., ELVIRA L., MARTINO M., MOLINA-GARCÍA A. D., RESA P., SANZ P. D. 2009. *Assesment of starch gelatinization by ultrasonic and calorimetric techniques*. Journal of Food Engineering, 94, 295-299.
- [5] ARAÚJO A. S., CONCEIÇÃO M. M., FERNANDES JR. V. J., PORTO S. L., PRASAD S., SANTOS I. M. G., SANTOS J. C. O., SOUZA A. G., TRINDADE M. F. S. 2004. *Thermoanalytical, kinetic and rheological parameters of commercial edible vegetable oils*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 75, 419-428.
- [6] BENDINI A., CERRETANI L., CHIAVARO E., RODRIGUEZ-ESTRADA M. T., VITTADINI E. 2008. *Differential scanning calorimeter application to the detection of refined hazelnut oil in extra virgin olive oil*. Food Chemistry, 110, 248-256.
- [7] BOUZIDI L., BOODHOO M., HUMPHREY K.L., NARINE S. S. 2005. *Use of first and second derivatives to accurately determine key parameters of DSC thermographs in lipid crystallization studies*. Thermochemica Acta, 439, 94-102.

- [8] **BOYE J. I. 2004.** *Differential Scanning Calorimetry in the Analysis of Foods.* [w:] Nollet L.M.L. (Red.): Handbook of Food Analysis. Methods and Instruments in Applied Food Analysis. Second Edition, Revised and Expanded. T. 3. Marcel Dekker Inc., Nowy Jork.
- [9] **BRUNTON N. P., JACQUIER J. C., LYG J. G., ZHANG L. 2006.** *The use of dielectric properties and other physical analyses for assessing protein denaturation in beef biceps femoris muscle during cooking from 5 to 85°C.* Meat Science, 72, 236-244.
- [10] **CABROL-BASS D., CORDELLA C., FAUCON J.-P., SBIRRAZZUOLI N. 2003.** *Application of DSC as a tool for honey floral species characterization and adulteration detection.* Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 71, 279-290.
- [11] **CHE MAN Y. B., TAN C. P. 2000.** *Differential Scanning Calorimetric Analysis of Edible Oils: Comparison of Thermal Properties and Chemical Composition.* JA-OCS, 77, 143-155.
- [12] **CHEN L., LI L., LIU H., YU L. 2007.** *Retrogradation of corn starch after thermal treatment at different temperatures.* Carbohydrate Polymers, 69, 756-762.
- [13] **CHRISTENSEN L., BERTRAM H. C., AASLYNG M. D., CHRISTENSEN M. 2011.** *Protein denaturation and water-protein interactions as affected by low temperature long time treatment of porcine Longissimus dorsi.* Meat Science, 88, 718-722.
- [14] **CLAUSE D., DALMAZZONE C., GOMEZ F., KOMUNJER L., PEZRON I. 2005.** *Morphology characterization of emulsions by differential scanning calorimetry.* Advances in Colloid and Interface Science, 117, 59-74.
- [15] **CREMONINI M., DALLA ROSA M., PITTIA P., ROCCULI P., SACCHETTI G., VANTURI L. 2010.** *Water State and Mobility Affect the Mechanical Properties of Coffee Beans.* [w:] Charoenrein S., Lillford P.J., Reid D.S., Sajjaanantakul T. (Red.): Water Properties in Food, Health, Pharmaceutical and Biological Systems: ISOPOW 10. Blackwell Publishing, Ames (USA).
- [16] **GROCHOWSKA-NIEDWOROK E., KARDAS M. 2009.** *Różnicowa kalorymetria skaningowa jako metoda termoanalityczna stosowana w farmacji i analizie żywności.* Bromat. Chem. Toksykol. – XLII, 2, 224-230.
- [17] **ISHIWATARI N., FUKUOKA M., SAKAI N. 2013.** *Effect of protein denaturation degree on texture and water state of cooked meat.* Journal of Food Engineering, 117, 361-369.
- [18] **ISOBE S., TAKENAKA M., ZHANG H. 2004.** *DSC and Electrophoretic Studies on Soymilk Protein Denaturation.* Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 75, 719-726.
- [19] **KAJITANI S., FUKUOKA M., SAKAI N. 2011.** *Kinetics of Thermal Denaturation of Protein in cured pork meat.* Japan Journal of Food Engineering, 12, 19-26.
- [20] **KALETUŃ G. 2009.** *Calorimetry in food processing: analysis and design of food systems.* Wiley-Blackwell, Ames (USA).
- [21] **KOWALSKI B., OSTROWSKA-LIGEŻA E., WIRKOWSKA M. 2006.** *Termokinetyczna analiza tłuszczu z kukurydzy z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej.* Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1, 128-139.
- [22] **LAMBELET P., RAEMY A., ROUSSET P. 2004.** *Calorimetric information about food and food constituents.* [w:] Lőrinczy D. (red.): The Nature of Biological Systems as Revealed by Thermal Methods. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- [23] **RAEMY A. 2003.** *Behavior of Foods Studied by Thermal Analysis. Introduction.* Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 71, 273-278.
- [24] **SCHUBRING R. 2005.** *Characterizing Protein Changes Caused by Application of High Hydrostatic Pressure on Muscle Food by Means of DSC.* Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 82, 229-237.
- [25] **SCHUBRING R. 2009.** *Comparative study of DSC pattern, colour and texture of shrimps during heating.* Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 95, 749-757.
- [26] **SHUJING L., YIMIN W., FANG Y., ZHANG W., ZHANG B. 2013.** *DSC study on the thermal properties of soybean protein isolates/corn starch mixture.* Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 115, 1633-1638. DOI 10.1007/S 10973-013-3433-4.
- [27] **TOMASZEWSKA-GRAS J. 2012.** *Detection of butter adulteration with water using differential scanning calorimetry.* Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 108, 433-438.
- [28] **WEN J., ARTHUR K., CHEMMALIL L., MUZAMMIL S., GABRIELSON J., JIANG Y. 2011.** *Applications of Differential Scanning Calorimetry for thermal stability analysis of proteins: Qualification of DSC.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 101, 955-964.
- [29] **XINGYI Y., LLAVE Y., FUKUOKA M., SAKAI N. 2014.** *Estimation of color changes in fish surface at the beginning of grilling based on the degree of protein denaturation.* Journal of Food Engineering, 129, 12-20.
- [30] **ZHANG Z.-S., LI D., ZHANG L.-X., LIU Y.-I., WANG X.-D. 2013.** *Heating effect on the DSC melting curve of flaxseed oil.* Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 115, 2129-2135, DOI 10.1007/S 10973-013-3270-5.