

APARATURA

BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

**Różnicowa kalorymetria skaningowa DSC,
ciśnieniowa różnicowa kalorymetria skaningowa PDSC,
StepScan DSC, temperaturowo modulowana DSC szybka
i super szybka DSC w badaniu żywności**

DOROTA KOWALSKA

SGGW, WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI, KATEDRA CHEMII

Słowa kluczowe: DSC, PDSC, StepScan DSC, TMDSC, Szybka DSC i Hyper DSC

STRESZCZENIE:

Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) opracowana na początku lat 60. ubiegłego stulecia i wdrożona do badań naukowych i technologicznych jest jedną z najczęściej stosowanych metod termoanalitycznych. Wkrótce potem opracowano i w 1970 roku wdrożono wersję wysokociśnieniową (PDSC) tej metody. Metody DSC i PDSC znalazły zastosowanie głównie w badaniu polimerów i tworzyw sztucznych oraz farmaceutyków, ale także w badaniu związków biologicznych oraz żywności (białek, węglowodanów, tłuszczów oraz wody w żywności) i innych składników. Ze względu na złożoność i różnorodność żywności i wynikające stąd trudności w prowadzeniu badań i interpretacji ich wyników opracowano i wdrożono nowe metody badawcze, w których uwzględniono stopniowe i modulowane zmiany temperatur (StepScan i TM) oraz szybkość tych zmian (szybka DSC – 100-300°C/min i superszybka Hyper DSC 300-750°C/min). W pracy przedstawiono zasady fizyczne metody i działania aparatów DSC. Podano i omówiono literaturowe przykłady badań żywności z zastosowaniem tych metod.

Differential scanning calorimetry DSC, pressure differential scanning calorimetry PDSC, StepScan DSC, temperature modulated DSC, Fast DSC and Hyper DSC in food research

Keywords: DSC, PDSC, StepScan DSC, TMDSC, Fast and Hyper DSC

ABSTRACT:

Differential scanning calorimetry (DSC) currently the most popular thermoanalytical method has been elaborated and implemented at the beginning of 1960`ties. Shortly after that in 1970 the high pressure version of the instrument (PDSC) was constructed and implemented. The DSC and PDSC methods have found wide applications mainly in research of polymers, plastics and pharmaceuticals and also in research of biological compounds and foods (proteins, carbohydrates, fats and water in food). Taking into account that food forms extremely complicated and heterogeneous systems that involved difficulties in performing the studies and in interpretations of results the new research methods have been elaborated and implemented. In those methods the step (ramp-iso-ramp – StepScan DSC) or sinusoidal (increase-decrease-increase – TMDSC) programming of temperature was used. In Fast DSC and Hyper DSC the temperature increase/decrease are in the range of 100-300°C/min and 300-750°C/min, respectively. In this paper the physical principles of the method and the DSC apparatuses are presented. The examples of papers reported the results of food research with the use thermoanalytical methods are presented and discussed.

1. WSTĘP

Różnicowa kalorymetria skaningowa jest jedną z podstawowych technik termooanalitycznych, do których tradycyjnie zaliczane są: różnicowa analiza termiczna (DTA), analiza termograwimetryczna (TG), analiza zawartości wilgoci/gazów (MEA/EGA), różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC), analiza termomechaniczna (TMA), dynamiczna analiza mechaniczna (DMA) [29]. DSC jest definiowana jako „metoda termooanalityczna, w której mierzy się zmiany różnicy szybkości przepływu ciepła do/od próbki i odnośnika, gdy próbka i odnośnik są poddawane zaprogramowanym, kontrolowanym zmianom temperatury lub znajdują się w warunkach izotermicznych” [21]. Według definicji ICTAC (Międzynarodowa Konfederacja Analizy Termicznej i Kalorymetrii; ang. International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry) DSC jest definiowana jako „Technika, w której szybkość przepływu ciepła do próbki jest monitorowana pod względem czasu lub temperatury, gdy temperatura próbki w określonej atmosferze jest zaprogramowana”. W zakresie techniki DSC obok obecnie klasycznych metod: DSC i PDSC (wersje normalnościennioowa i wysokociśnieniowa), szeroko stosowane są metody: TMDSC (temperaturowo modulowana DSC), Fast DSC lub Hyper DSC (szybka/błyskawiczna DSC). W innych,

szczegółowych podziałach wyróżniane są metody o specyficznych rozwiązaniach technologicznych, dopasowywane do określonych wymagań i zastosowań. Gill i in. [15] przytaczają i dyskutują w oparciu o zgromadzoną literaturę liczne modyfikacje, rozwiązania technologiczne i zastosowania metod DSC w biologii i nanotechnologii. Szczegółowe rozwiązania w zakresie nanokalorymetrii przedstawili Garden i Bourgeois [12]. Metody DSC są narzędziem w pozyskiwaniu danych (parametrów właściwości termofizycznych i termochemicznych) z zakresu chemii żywności [4, 7, 40], technologii żywności [24], fizyki żywności [66] i inżynierii żywności [3] wykorzystywanych w projektowaniu procesów i technologii produkcji żywności.

Celem prezentowanej pracy było przedstawienie, w oparciu o specjalistyczne publikacje naukowe, informacji dotyczących podstaw fizykochemicznych metody DSC i jej modyfikacji, rozwiązań metodycznych i aparaturowych oraz głównych zastosowań w zakresie badań żywności. W literaturze polskiej opracowania tego typu, bezpośrednio dotyczące żywności, są nieliczne. Publikowane prace zwykle koncentrują się na innych dyscyplinach naukowych, np. nauce o polimerach i tworzywach sztucznych. W znacznej mierze wynika to ze stosunkowo późnego wprowadzenia i upowszechnienia metody DSC i metod pochod-

nych do badań żywności, uwarunkowanych głównie czynnikami gospodarczymi [29, 30]. Nie bez znaczenia pozostają wysokie ceny współczesnych aparatów stosowanych w różnicowej kalorymetrii skaningowej i jej modyfikacjach.

2. DSC, PDSC, MDSC, FAST SCAN DSC i HYPER DSC – DEFINICJE, ROZWIĄZANIA METODYCZNE I APARATUROWE

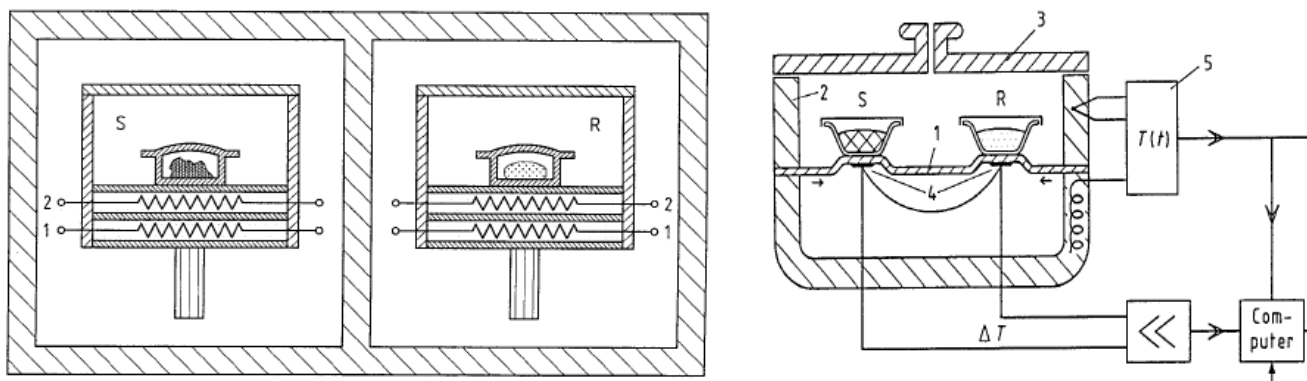
2.1 DSC i PDSC

Różnicowa Kalorymetria Skaningowa (DSC) jako odrębna technika termoanalityczna została opracowana w laboratoriach firmy PerkinElmer oraz opatentowana i wprowadzona do eksploatacji w latach 1962-1964 [67, 68]. W technice tej rejestrowane są zachodzące w badanej próbce (S) zmiany energii (ciepła) podczas programowego ogrzewania lub oziębiania (ang. scanning) czy utrzymywania próbki w stałej temperaturze, łącznie z pomiarem temperatury tej próbki i czasu trwania eksperymentu. Zmiany energetyczne zachodzące w próbce odnoszone są do „obojętnego termicznie” materiału referencyjnego (R) określanego jako układ odniesienia (odnośnik – kalorymetria różnicowa). Wynik eksperymentu (zmiany energetyczne w funkcji czasu lub temperatury) jest zapisywany graficznie i/lub numerycznie i nazywany zwykle termogramem DSC lub „krzywą DSC”. W aparatach DSC mierzących względne zmiany strumienia cieplnego (strumień cieplny $HF = \Delta q / \Delta \tau$, ciepło/czas) piki termogramów przemian egzotermicznych zapisywane są w górę osi Y, a endotermicznych w dół tej osi. W aparatach mierzących różnice w zmianach mocy prądu w niezależnych elektrycznych obwodach ogrzewających próbkę i odnośnik (tzw. kompensacja mocy) zapisy te są odwrotne – egzo-

w dół, endo- w górę osi Y. Podobne zalecenia wskazują Normy DIN 51007 i ISO 113567-1, a odwrotne (endo- w dół) podają Normy ASTM E793 i E794.

Wyróżniane są dwa systemy konstrukcji aparatów DSC: 1) działające na zasadzie pomiaru (kompensacji) mocy podawanej na niezależne elektryczne obwody ogrzewające S i R tak, aby ich temperatury były jednakowe – tzw. aparaty typu PC (ang. power compensating) i 2) działające na zasadzie pomiaru różnicy temperatur próbki i odnośnika zależnych od wartości różnicy strumieni cieplnych docierających do S i R – tzw. aparaty typu HF (ang. heat flow). R jest substancją termicznie obojętną, więc wskazania aparatów PC DSC i HF DSC zależą od przemian cieplnych (egzo- lub endotermicznych) zachodzących w S w porównaniu z R. W zależności od systemu pomiarowego aparaty typu HF dzielą się na aparaty: 1) HF z Systemem Pomiarowym „Disk Type” (DSC – DT), 2) HF z Systemem Pomiarowym „Turret Type” (DSC – TT) i 3) HF z Systemem Pomiarowym „Cylinder Type” (DSC – CT). Schematy konstrukcyjne, zasady działania i specyfikę pomiaru ww. typów aparatów podali Kodre i in. [26]. Szczegółowe opisy podstaw teoretycznych, budowy i zasad działania aparatów typu HF i aparatów typu PC DSC przedstawili między innymi Höhne i współautorzy [21].

Przykładowe schematy rozwiązań aparaturowych dla systemów PC DSC i HF DSC przedstawiono na Rysunku 1. Popularną wersją metody DSC jest prowadzenie eksperymentów pod zwiększonym ciśnieniem gazu obojętnego (azot lub hel) zapobiegającym utlenianiu próbki czy eliminacją niepożądanych efektów termicznych, np. parowania wody lub gazu reagującego (powietrze, tlen), w badaniach stabilności termoutleniającej. Modyfikacja konwencjonalnej aparatury DSC polega



Rysunek 1 Schematy komór różnicowych kalorymetrów skaningowych typu PC DSC (lewa strona rysunku) i HF DSC (prawa strona rysunku). S = próbka, R = odnośnik, 1 i 2 = obwód grzewczy i termopara w PC DSC; 1, 2, 3, 4, 5 = dysk, piec, pokrywka, termopara, regulator w HF DSC

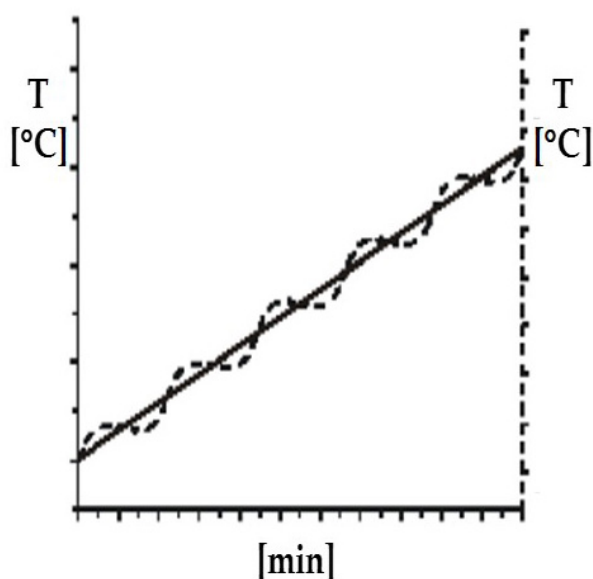
na obudowaniu komory grzejnej metalowym cylindrem i zaopatrzeniu go w dokręcaną hermetyczną pokrywę oraz przewody doprowadzające i odprowadzające gaz, zawory i miernik ciśnienia. Pierwszą konstrukcją ciśnieniowej komory DSC (PDSC) opisali Levy i in. [36] z firmy DuPont (obecnie Thermal Analyzers, TA). W Polsce pierwsze badania z użyciem takiej komory (utlenianie tłuszczów) przeprowadził Kowalski [28]. Szczegółowe informacje na temat metody PDSC podają Höhne i Kaletunç [22].

2.2 Temperaturowo modulowana DSC (TMDSC)

DSC jest metodą, którą obok niewątpliwych zalet charakteryzują pewne niedogodności. Należą do nich między innymi występujące nakładanie się pików odpowiadających przemianom termicznym zachodzącym w bliskich temperaturach, niewygodna metodologia oznaczania ciepła właściwych i temperatur przemiany szklistej, badanie współistniejących faz: amorficznej i krystalicznej, badania postaci polimorficznych.

Wiele z tych niedogodności można pokonać poprzez zastosowanie Temperaturowo Modulowanej Różnicowej Kalorymetrii Skaningowej (TMDSC). Jest to odmiana metody DSC, w której program liniowego wzrostu lub spadku czy izotermicznej stabilizacji temperatury został zastąpiony programem sinusoidalnym (Rys. 2).

Wypadkowe wartości temperatury pozostają takie jak w tradycyjnej DSC. Bez zmian pozostają stosowane w DSC rozwiązania aparaturowe. Me-



Rysunek 2 Typowa sinusoidalna modulacja temperaturowa nałożona na liniową szybkość ogrzewania w TMDSC

todo TMDSC została opracowana na początku lat 90. ubiegłego stulecia [16, 50]. Zależność zmian temperatury (T) od czasu (τ) w metodzie TMDSC wyraża równanie $T = T_0 + \beta\tau + B \sin \omega \tau$, gdzie: β jest liniową szybkością ogrzewania, B i ω są odpowiednio amplitudą i kątową szybkością modulacji. Rejestrowany efekt termiczny (ΔH) może być podzielony na dwie składowe: zależną od szybkości zmian temperatury i drugą zależną od kinetyki przemian fizycznych i chemicznych zachodzących w ogrzewanej próbce

$$\Delta H = C_p dT/d\tau + f^o(\tau, T) \quad (1)$$

gdzie C_p jest pojemnością cieplną (ciepłem właściwym) próbki, a f^o jest funkcją opisującą kinetykę transformacji. Po rozwinięciu w szereg Taylora otrzymuje się wyrażenie:

$$\Delta H = C_p (\beta + B\omega \cos \omega\tau) + f^o(\tau, T) + C \sin \omega\tau \quad (2)$$

gdzie C jest amplitudą efektu kinetycznego. Wyrażenie to przedstawia matematyczną zależność zachodzących w czasie τ zmian przepływu ciepła. Analiza matematyczna Fouriera wskazuje, że człony zawierające $\cos \omega\tau$ i $\sin \omega\tau$ związane są odpowiednio z procesami odwracalnymi i nieodwracalnymi.

Szczegółowe informacje dotyczące metody TMDSC, jej podstaw teoretycznych i stosowanego aparatu matematycznego można znaleźć w pracach [14, 44, 48, 54, 55, 60, 65]. Ocenę metody pomiaru ciepła właściwego sposobem TMDSC przedstawili Venkata Krishnan i Nagarajan [64]. Z innych sposobów temperaturowego modulowania na uwagę zasługuje metoda STEPSCAN DSC. Polega ona na wprowadzeniu do liniowo wzrastającej temperatury w klasycznym rozwiązaniu DSC okresowych zmian wzrostu i stabilizacji temperatury. Pozwala to na rozdzielanie nakładających się efektów endo- i egzotermicznych rejestrowanych w tradycyjnym DSC na składniki odwracalne (szybkie) i nieodwracalne (wolne) odpowiadające np. topnieniu i rekrytalizacji. Ma to szczególne znaczenie w badaniu polimorfizmu układów, dla których otrzymywanie produktu w wybranej postaci polimorficznej, np. czekolady (V postać polimorficzna masła kakaowego), jest wysoce pożądane [2]. Metoda STEPSCAN DSC stosowana jest również w badaniu układów z fazami amorficzną i krystaliczną oraz temperatur przemiany szklistej, a także w pośrednim oznaczaniu małych ilości (1-10%) fazy amorficznej, np. w cukrach [31, 32].

2.3 Szybka DSC (Fast DSC) i ultraszybka DSC (Hyper DSC)

W badaniach termooanalitycznych prowadzonych w latach 1965-1985 eksperymenty DSC zwykle wykonywane były przy programowanych szybkościach wzrostu temperatury w granicach 1-20°C/min., najczęściej 10°C/min. Obecnie wiadomo, że przy takich szybkościach skaningu niewielkie efekty termiczne wynikające z obecności fazy amorficznej, temperatury przejścia szklistego, rozdzielania blisko położonych pików czy przemian polimorficznych były trudne do rejestracji i interpretacji. Sytuacja zmieniła się diametralnie po wprowadzeniu metod i rozwiązań aparaturowych w systemie szybkiej (Fast DSC, skaning z szybkością 200 ±50°C/min) bądź bardzo szybkiej (wysokosprawnej, High Performance) Hyper DSC. Szybkości skaningu w Hyper DSC mieszczą się w granicach 300-750°C/min [11, 31]. Metoda Hyper DSC wraz z rozwiązaniami aparaturowymi została opracowana w firmie PerkinElmer na bazie kalorymetrów PC DSC i po raz pierwszy opisana przez Pijpersa i in. [45]. W rozwiązaniach aparaturowych metody Hyper DSC kluczowym problemem jest miniaturyzacja i sprawność systemów elektronicznych kontroli ogrzewania i rejestracji sygnałów. Współczesne metody szybkich skaningu (Fast i Hyper DSC) oraz stosowanych rozwiązań aparaturowych zmierzają w kierunku nanokalorymetrii [69, 70]. Podstawy teoretyczne i najważniejsze zasady metod szybkich skaningu DSC (Fast i Hyper DSC) przedstawił Gabbott [10]. Fast i Hyper DSC stosowane są głównie w badaniu farmaceutyków [8, 11, 17] i polimerów [44]. W zakresie badań produktów spożywczych FDSC i Hyper DSC są stosowane do oznaczania fazy amorficznej i przejścia szklistego skrobi i cukrów [32, 33, 38], badania mechanizmu i oznaczania termodynamicznych temperatur topnienia cukrów [34], denaturacji protein [41, 57], przemian fazowych i zafałszowań olejów roślinnych [1, 62, 63].

3. KALIBRACJA SYSTEMÓW TERMOANALITYCZNYCH

Stosowane w konstrukcji aparatów DSC czujniki nie znajdują się bezpośrednio w próbce. Powoduje to konieczność przeprowadzania okresowych kontroli ich działania w zakresie dokładności i powtarzalności pomiarów. Wymagane jest przeprowadzanie regularnych przeglądów i kalibracji

używanych instrumentów termooanalitycznych zgodnie z procedurami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP). Dla aparatury DSC powinny być przeprowadzane kalibracje w zakresie: a) przepływu ciepła (HF) i b) temperatury w aparatach działających na zasadzie rejestracji zmian HF lub kontroli mocy przykładanej do obwodów grzejnych komór próbki (S) i odnośnika (R) w aparatach działających na zasadzie kompensacji energii przekazywanej do S i R. Odbywa się to zwykle na podstawie pomiaru temperatur i ciepła topnienia lub krystalizacji wzorców termooanalitycznych. W planowanych eksperymentach obejmujących ogrzewanie lub oziębianie badanej próbki kalibracje (topnienie lub krystalizacja wzorca) powinny być przeprowadzane w takich samych procedurach ogrzewania lub oziębiania [9, 18, 19]. Procedury kalibracyjne zależą od typu aparatu DSC i oprzyrządowania i są zwykle różne u różnych producentów aparatury, a rekomendowane postępowania zmieniają się w czasie. Pishchur i Drebuschak [46] podają przykłady takich zmian dla procedur stosowanych w latach 80. i obecnie. Odrębnym problemem jest kalibracja temperaturowa funkcjonowania komory grzejnej (pieca) aparatu, która powinna być przeprowadzana przez autoryzowany serwis. W praktyce laboratoryjnej funkcjonuje zasada, że wskazania (temperatura i powtarzalność) aparatu DSC powinny zostać sprawdzone każdego dnia przed rozpoczęciem pracy, a kalibracja powinna być przeprowadzana w określonym odstępie czasu, zwykle raz w miesiącu.

3.1 Wzorce do kalibracji aparatów DSC

Rekomendacje dotyczące stosowania legalnych wzorców kalibracji aparatów DSC są prawnie uregulowane i mają charakter otwartych (okresowo uzupełnianych) zaleceń amerykańskiego Narodowego Instytutu Standaryzacji i Technologii (NIST – National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, USA).

Zagadnieniami dotyczącymi standaryzacji i nomenklatury (definicje, nazwy, skróty), a także wzorcami termooanalitycznymi zajmuje się Międzynarodowa Konfederacja Analizy Termicznej i Kalorymetrii (International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry, ICTAC) [20, 25]. Wyniki i decyzje wypracowane przez ICTAC stają się podstawą rekomendacji [35] wydawanych przez IUPAC (Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej; ang. International Union of Pure

and Applied Chemistry). Wzorce termooanalityczne dzielą się na pierwotne (uzyskane z uprawnionych instytucji) oraz wtórne, otrzymane przez rekaliibrację względem wzorców pierwotnych. Kalibracje przeprowadzane są zwykle z użyciem materiałów o wysokiej czystości, charakteryzujących się ostro zaznaczonym występowaniem w danym zakresie temperatur tylko jednej temperaturowo zdefiniowanej przemiany I rzędu (topnienie, krzepnięcie, parowanie, przemiana polimorficzna itp.) Najczęściej stosowane są metale oraz związki organiczne, dla których w ustalonych procedurach kalibracyjnych zwykle wyznaczane są ekstrapolowane temperatury (ton) początku pików przemiany fazowej oraz ciepła (ΔH , entalpii) wykazywane na wynikowym termogramie. Dla procedur ochładzania próbek w postępowaniach kalibracyjnych poniżej 0°C najczęściej jako wzorce rekomendowane są węglowodory: oktan, dekan, dodekan, cykloheksan. W praktyce laboratoryjnej, szczególnie w laboratoriach przemysłowych, funkcjonuje zasada „kalibruj na podobne”, co oznacza stosowanie wzorców zbliżonych charakterem chemicznym do badanych później próbek. Przykłady stosowanych wzorców kalibracyjnych i ich dane fizykochemiczne (temperatura i entalpia przemiany) są podawane w literaturze naukowej [19, 47] i informacjach producentów aparatury. W Tabeli 1 zestawiono parametry wybranych wzorców termooanalitycznych. Tygielki (ang. crucibles) do kalibracji powinny być tego samego kształtu i rozmiaru, jak tygielki stosowane do badań. Materiał,

z którego wykonany jest tygiel, wpływa na wyniki oznaczeń DSC [9], stąd tygle referencyjne i próbki powinny być wykonane z tego samego materiału. Używane są najczęściej tygielki (naczynka) aluminiowe, ale także złote, platynowe, grafitowe i kwarcowe. Niektóre wzorce (rtęć, gal, cynk) mogą reagować z aluminium; wysokotemperaturowa (~500°C) pasywacja prowadząca do pokrycia powierzchni tygla aluminiowego warstwą $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ zapobiega, aczkolwiek nie zawsze (cynk), niepożądanym reakcjom. W przypadku planowanych badań przemian termodynamicznych II rzędu, np. przejścia szklistego, monitorowane są zmiany wartości ciepła właściwego w warunkach stałego ciśnienia (C_p ; $\text{J g}^{-1} \text{K}^{-1}$). Kalibrację przeprowadza się zwykle na syntetyczny szafir $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$, mierząc przesunięcie linii bazowej w eksperymentach z wzorcem i bez wzorca (naczynka puste).

W ten sam sposób przeprowadza się pomiary C_p badanych materiałów, np. tłuszczów [27]. Syntetyczny szafir ($C_p = 768,9 \text{ J kg}^{-1} \text{K}^{-1}$ w 295 K) jest referencyjnym wzorcem kalibracyjnym rekomendowanym przez NIST od 1970 r. [43]. Stosując wersję temperaturowo modulowanej (TMDSC) metody DSC, można bezpośrednio zmierzyć temperaturę przejścia szklistego oraz wartości C_p układu.

Szczególnie ważne informacje i rekomendacje oraz procedury dotyczące kalibracji aparatów DSC do badań w systemie ogrzewania (nawet do 1300°C) z opisem właściwości stosowanych wzorców przedstawili Gmelin i Sarge [13] oraz Sarge i in. [52]. W podobnej pracy z tego ośrodka [53]

Tabela 1 Wzorce kalibracyjne (topn./krystaliz.[#], ton w °C, ΔH w J/g) dla aparatów DSC

Table 1 Calibration standards (melt./crystal.[#], ton at °C, ΔH at J/g) for DSC instruments

Wzorzec/Standard	ton	ΔH	Wzorzec/Standard	ton	ΔH	Wzorzec/Standard	ton	ΔH
rtęć/mercury	-38,8	11,62	gal/gallium**	29,8	79,87	ind/indium	156,6	28,45
cyna/tin**	231,9	58,27	bizmut/bismuth	271,4	52,16	ołów/lead	327,5	23,02
cynk/zinc ***	356,5	111,97	woda/water**	0,0	333,5	mocznik/urea	133,0	241,8
adamantan/(e)	-64,5	24,78	oktan/octane	-56,8	216,2	dekan/decane	29,6	194,0
dodekan/dodecane	-9,6	216,0	cykloheksan/	6,7	31,8	kw. benzoowy/	122,3	147,3
antracen/antracene	216,0	161,9	cycloheksane*	-87,1		benzoic acid		

Kalibracje na ind można przeprowadzać do 10 razy dla tej samej próbki (2-10 mg) metalu pod warunkiem, że nie został on ogrzany powyżej 180°C. Dla innych wzorców każdą kalibrację należy wykonywać tylko jeden raz dla danej naważki wzorca. Wskazania aparatu zależą od szybkości zmian temperatury (dla indu przy ogrzewaniu 2°C/min ton = 156,49°C, a przy 10°C/min i 20°C/min ton wynosi odpowiednio 156,61°C i 156,75°C). Wartości ΔH w tym zakresie szybkości zmian temperatury indu są praktycznie stałe ($\Delta H = 28,45 \pm 0,01 \text{ J/g}$). *Cykloheksan i cyna wykazują dwie przemiany termiczne. Istnieją dwie odmiany alotropowe cyny: β -cyna szara (trwała do 13,2°C) i α -cyna biała (t. topn. 231,9°C). **Niektóre wzorce (woda, gal, cyna) w procedurach chłodzenia mogą ulegać znaczącemu przechłodzeniu. ***Cynk może reagować z aluminium nawet po pasywacji. Objawem jest zmiana wyglądu pików topnienia (ogrzewanie) lub krystalizacji (chłodzenie); należy zmienić naważkę wzorca i tygielek.

przedstawione zostały zasady, rekomendacje, procedury i wzorce dotyczące kalibracji aparatury DSC do badań niskotemperaturowych nawet do -200°C .

4. ZASTOSOWANIA DSC W BADANIACH ŻYWNOSCI

Metoda DSC jest znana od około 60 lat. W początkowej fazie jej rozwoju większość badań dotyczyła takich dziedzin jak polimery i tworzywa sztuczne, związki nieorganiczne, minerały, związki biologicznie czynne i farmaceutyki. Badania składników żywności rozpoczęto znacznie później, a pierwsza przeglądowa publikacja ukazała się w 1983 r. [4]. Wkrótce potem ogłoszono inne prace podsumowujące osiągnięcia w zakresie badań żywności i jej składników [7, 29, 30, 39, 49]. W wymienionych publikacjach omówiono zastosowanie techniki DSC do badania białek, węglowodanów, lipidów i roli wody w żywności. Jak podają Farkas i Mohacsi-Farkas [7], prowadzone do 1996 roku badania obejmowały oparte o układy modelowe problemy stabilności i denaturacji białek, przemian fazowych i termicznego żelowania skrobi oraz innych poliwęglowodanów, przemian fazowych zamrażanych produktów węglowodanowych, stanu szklistego i tzw. wody niezamarzającej, polimorfizmu lipidów i ich stabilności przeciwutleniającej. Należy zwrócić uwagę na ukazanie się redagowanego przez Schiraldiego [56] specjalnego zeszytu *Thermochemica Acta* zawierającego 14 prac poświęconych termooanalitycznym badaniom składników żywności. Z nowych źródeł na uwagę zasługuje książka [24] złożona z 15 rozdziałów obejmujących opis fizykochemicznych podstaw metod kalorymetrycznych oraz zastosowanie tych metod w pozyskiwaniu danych (efekty cieplne przemian fazowych, przewodnictwo cieplne układu, temperatura przejścia szklistego, temperatury denaturacji układów białkowych i kleikowania układów skrobiowych, zawartość wody i inne parametry) niezbędnych w projektowaniu procesów technologicznych produkcji i utrwalania żywności. Biologiczne mechanizmy psucia się żywności są szczególnie niebezpieczne. Według raportu WHO z 2007 roku w USA zanotowano około 325 000 przypadków hospitalizacji i 5000 zgonów z powodu zatruc biologicznie skażoną żywnością [61]. Metoda DSC stosowana jest również do badań mikrobiologicznych mechanizmów psucia się przechowywanej

żywności [61]. Inną szczególnie cenną pozycją jest napisany przez Mac Naughtan i Farhat [40] rozdział w książce pt. *Principles and Application of Thermal Analysis*, edit. P. Gabbott. Autorzy szczegółowo analizują zastosowania DSC do badania mechanizmów przemian i procesów zachodzących w skrobi (kleikowanie i retrogradacja, przemiana szklista, ekstruzja). W wyodrębnionym podrozdziale obszernie omówiono cukry. W przypadku lipidów analizowano stosowanie techniki DSC do konstrukcji diagramów fazowych, badania przemian polimorficznych oraz utleniania tłuszczów. Następny podrozdział to białka – przedstawiono tam zastosowanie DSC w badaniu mechanizmów denaturacji i żelowania, agregacji, przemiany szklistej, starzenia białek i ich oddziaływanie z innymi składnikami żywności. W kolejnych podrozdziałach zwrócono uwagę na hydrokoloidy spożywcze i zamrażanie żywności. Nowe publikacje książkowe [5] i przeglądowe [51] dotyczą zastosowania DSC do badań lipidów i uzupełniają informacje zawarte we wcześniejszych publikacjach przeglądowych [37, 59]. W innych pracach opisano zaawansowane badania DSC dotyczące żelowania skrobi z tkanek roślinnych po obróbce hydrotermicznej [6], badania mechanizmów procesów denaturacji złożonych mieszanin białek zwierzęcych [23] oraz badania DSC mięsa i wyrobów mięsnych [58]. Od niedawna dostępna jest przeglądowa praca [42] dotycząca badań żywności metodą DSC. Globalna roczna produkcja światowego przemysłu spożywczego wg wartości sprzedaży wynosi około 10^{12} USD [24]. Nie może zatem dziwić fakt, że dla tak wielkiej skali produkcji poszukiwanie i stosowanie nowoczesnych metod kontroli jakości wyrobów i angażowanie nowoczesnych technik i technologii w wytwarzanie i utrwalanie żywności staje się działaniem niezbędnym i wysoce opłacalnym. Do tych technik należą ciągle rozwijające się metody analizy termicznej, a w szczególności różnicowa kalorymetria skaningowa. Jest to metoda niezwykle użyteczna w badaniach żywności. Do jej głównych zalet należą: szybkość i precyzja wykonywania oznaczeń, niewielkie masy (miligramy) próbek bez konieczności ich specjalnego przygotowywania oraz prowadzenie eksperymentów w warunkach odpowiadających rzeczywistym procesom produkcji czy utrwalania żywności. Należy zwrócić uwagę, że wynikowe termogramy DSC uzyskiwane dla danych rodzajów żywności mają charakter „netto” (wypadkowy),

co czasem ogranicza możliwości ich wykorzystania w badaniach dotyczących „poziomu molekularnego”, ale pozwala na dokonywanie ogólnych bilansów materiałowych i energetycznych oraz przeprowadzanie czasowych i temperaturowych ekstrapolacji właściwości i zachowań (przydatność do spożycia) różnych rodzajów żywności.

Termoanalityczne badania żywności połączone z wykorzystaniem innych technik badawczych, jak badania strukturalne (rentgenowskie, spektroskopie NMR, IR, UV) i wykorzystanie osiągnięć nanotechnologii, będą stanowiły ważne elementy rozwoju nauki o żywności i technologii żywności.

LITERATURA

- [1] Abdulkarim S. M., Ghazali H. M., Comparison of melting behaviours of edible oils using conventional and HyperDifferential Scanning Calorimetric Scan Rates. *ASEAN Food Journal* 14 (1), (2007), 25-35.
- [2] Baichoo N., MacNaughtan W., Mitchel J. R., Farhat I. A., A STEPSCAN Differential Scanning Calorimetry study of the thermal behavior of chocolate. *Food Biophysics* 1 (4), (2006), 169-177.
- [3] Barbosa-Canovas G. V., Juliano P., Peleg M., 2004/Rev. Engineering Properties of Foods, in Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), (2006), 1-32. Developed under the Auspices of the UNESCO, EOLSS Publishers, Oxford, UK. <http://www.eolss.net>.
- [4] Biliaderis C. G., Differential scanning calorimetry in food research – a review. *Food Chem.* 10, (1983), 239-265.
- [5] Chiavaro E., Differential Scanning Calorimetry. Applications in fats and oil technology. CRC Press, Taylor and Francis Groups, Boca Raton, FL, USA, (2014), 1-301.
- [6] Edwards C. H., Warren F. J., Campbell G. M., Gaisford S., Royall P. G., Butterworth P. J., Ellis P. R., A study of starch gelatinisation behaviour in hydrothermally-processed plant food tissues and implications for in vitro digestibility. *Food and Function* 6, (2015), 3634-3641.
- [7] Farkas J., Mohacsi-Farkas C., Application of differential scanning calorimetry in food research and food quality assurance. *J. Thermal Anal.* 47, (1996), 1787-1803.
- [8] Ford J. L., Mann T. E., Fast-scan DSC and its role in pharmaceutical physical form characterisation and selection. *Adv. Drug Delivery Reviews* 64, (2012), 422-430.
- [9] Gabbott P., A Practical Introduction to Differential Scanning Calorimetry, Chapter 1, Principles and Applications of Thermal Analysis. Editor P. Gabbott, Blackwell Publishing, (2008), 1-50.
- [10] Gabbott P., Fast Scanning DSC, Chapter 2, Principles and Applications of Thermal Analysis. Editor P. Gabbott, Blackwell Publishing, (2008), 51-86.
- [11] Gaisford S., Buanz A. B. M., Pharmaceutical physical form characterisation with fast (>200°C/min⁻¹) DSC heating rates. *J. Thermal. Anal. Calorim.* 106 (1), (2011), 221-226.
- [12] Garden J.-L., Bourgeois O., Nanocalorimetry. Springer. Encyclopedia of nanotechnology. Bhushan Bharat (Ed), (2012), 1491-1504.
- [13] Gmelin E., Sarge St. M., Calibration of differential scanning calorimeters. *Pure and Appl. Chem.* 11, (1995), 1789-1800.
- [14] Gmelin E., Classical temperature-modulated calorimetry: A review. *Thermochim. Acta* 304/305, (1997), 1-26.
- [15] Gill P., Moghadam T. T., Ranjbar B., Differential Scanning Calorimetry Techniques: Applications in Biology and Nanoscience. *J. Biomolecular Techniques* 21, (2010), 167-193.

- [16] Gill P. S., Sauerbrunn S. R., Reading M., Modulated differential scanning calorimetry. *J. Therm. Anal. Calorim.* 40, (1993), 931-939.
- [17] Gramaglia D., Conway B. R., Kett V. L., Malcolm R. K., Batchelor H. K., High speed DSC (hyper-DSC) as a tool to measure the solubility of a drug within a solid or semi-solid matrix. *Intern. J. Pharmaceutics* 301 (1-2), (2005), 1-5.
- [18] Hakvoort G., Hol C. M., DSC calibration during cooling. *J. Thermal Anal. Calorim.* 56, (1999), 717-722.
- [19] Hakvoort G., Hol C. M., Van Ekerten P. J., DSC calibration during cooling. A survey of possible compounds. *J. Therm. Anal. Calorim.* 64 (1), (2001), 367-375.
- [20] Hemminger W., Wilburn F. W., Gravelle P. C., Haglund B. O., Haines P. J., Hakvoort G., Ohlyba M., Simon J., Sarge S. M., ICTAC Nomenclature Committee Report: Recommendation for Names and Definition in Thermal Analysis and Calorimetry, *ICTAC News* 31/2, (1998), 107-122.
- [21] Hőhne G. W. H., Hemminger W. F., Flammershein H.-J., *Differential scanning calorimetry*. Springer-Verlag, (2003).
- [22] Hőhne G. W. H., Kaletunç G., *High-Pressure Differential Scanning Calorimetry*, Chapter 3, w: *Calorimetry in Food Processing: Analysis and Design of Food Systems*, Editor G. Kaletunç, Wiley-Blackwell, (2009), 51-66.
- [23] Johnson C. M., *Differential scanning calorimetry as a tool for protein folding and stability*. *Archives Biochemistry and Biophysics* 531, (2013), 100-109.
- [24] Kaletunç G., *Calorimetry in Food Processing: Analysis and Design of Food Systems*. Editor G. Kaletunç, Wiley-Blackwell and IFT Press, (2009).
- [25] Kardas M., Grochowska-Niedworok E., Różnicowa kalorymetria skaningowa jako metoda termooanalityczna stosowana w farmacji i analizie żywności. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 42 (2), (2009), 224-230.
- [26] Kodre K. V., Attarde S. R., Yendhe P. R., Patil R. Y., Barge V. U., *Differential Scanning Calorimetry: A Review*. *Research and Reviews: J. Pharmaceutical Analysis (RRJPA)* 3 (3), (2014), 11-22.
- [27] Kowalski B., Determination of specific heats of some edible oils and fats by differential scanning calorimetry. *J. Therm. Anal.* 34, (1988), 1321-1326.
- [28] Kowalski B., Determination of oxidative stability of edible vegetable oils by pressure differential scanning calorimetry. *Thermochim. Acta* 156, (1989), 347-358.
- [29] Kowalski B., *Analiza termiczna i jej zastosowanie w badaniu żywności. Część I. Metody, aparatura, badanie białek i węglowodanów, oznaczanie wody*. *Przem. Spoż.* 2-3, (1990), 41-44.
- [30] Kowalski B., *Analiza termiczna i jej zastosowanie w badaniu żywności. Część II. Termoanalityczne badania lipidów*, *Przem. Spoż.* 11, (1990), 263-267.
- [31] Lappalainen M., *Melting behaviour and quantification of low amorphous levels in sugars and sugar alcohols with DSC techniques*. Doctoral dissertation, (2010), 1-49.
- [32] Lappalainen M., Karpinnen M., *Techniques of differential scanning calorimetry for quantification of low contents of amorphous phases*. *J. Thermal. Anal. Calorim.* 102 (1), (2010), 171-180.
- [33] Lappalainen M., Pitkanen I., Harjunen P., *Quantification of low levels of amorphous content in sucrose by hyper DSC*. *Intern. J. Pharmaceutics* 307, (2006), 150-155.
- [34] Lee J. W., Thomas L. C., Schmidt S. J., *Can the Thermodynamic Melting Temperature of Sucrose, Glucose, and Fructose Be Measured Using Rapid-Scanning Differential Scanning Calorimetry (DSC)?* *J. Agricultural & Food Chem.* 59, (2011), 3306-3310.
- [35] Lever T., Haines P., Rouquerol J., Charsley E. L., Van Eckerens P., Burlett D. J., *ICTAC nomenclature of thermal analysis (IUPAC Recommendations 2014)*.
- [36] Levy P. F., Nieuweboer G., Semanski L. G., *Pressure differential scanning calorimetry*. *Thermochim. Acta* 1, (1970), 429-436.
- [37] Litwinienko G., *Analysis of Lipid Oxidation by Differential Scanning Calorimetry*, w: *Analysis of Lipid Oxidation*, Kamal-Eldin A., Pokorny J., (Eds.) *JAOCS Press*, Champaign, IL, (2005), 152-193.
- [38] Liu P., Yu L., Liu H., Chen L., Li L., *Glass transition temperature of starch studied by a high-speed DSC*. *Carbohydrate Polymers* 77, (2009), 250-253.

- [39] Ma C. Y., Harwalkar V. P., Thermal analysis of food proteins. *Adv. Food Nutr. Res.* 35, (1991), 317-366.
- [40] Mac Naughtan B., Farhat I. A., Thermal Methods in the Study of Foods and Food Ingredients. Chapter 9, w: Principles and Applications of Thermal Analysis. Editor P. Gabbott, Blackwell Publishing, (2008), 330-409.
- [41] Munoz V., Cerminara M., When fast is better: protein: folding fundamentals and mechanisms from ultrafast approaches. *Biochem. J.* 473, (2016), 2545-2559.
- [42] Parniakov O., Bals O., Barba F. J., Mykhailiuk V., Lebovka N., Vorobiev E., 2016. Application of differential scanning calorimetry to estimate quality and nutritional properties of food products. *Critical Review Food Science Nutrition*. DOI: 10.1080/10408398.2016.1180502; <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2016.1180502>.
- [43] Picard S., Burns D. T., Roger P., Measurement of the specific heat capacity of synthetic sapphire (α -Al₂O₃) from 293 K to 301 K. Rapport BIMP-08/05. International Bureau of Weights and Measures. F-92312 Sevres Cedex France, (2008).
- [44] Pielichowski K., Flejtuch K., Zastosowanie modulowanej różnicowej kalorymetrii skaningowej (MDSC) w badaniach właściwości polimerów. *Polimery* 47, (11-12), (2002), 784-792.
- [45] Pijpers T. F. J., Mathot V. B. F., Goderis B., Scherrenberg R. L., Van Vegte E. W., High-Speed Calorimetry for the Study of the Kinetics of (De)vitrification, Crystallization, and Melting of Macromolecules. *Macromolecul.* 35, (2002), 3601-3613.
- [46] Pishchur D. P., Drebuschak V. A., Recommendation on DSC calibration. *J. Therm. Anal. Calorim.* 124, (2016), 951-958.
- [47] Price D. M., Temperature calibration of differential scanning calorimeters. *J. Therm. Anal. Calorim.* 45, (1995), 1285-1296.
- [48] Pyda M., Temperature-Modulated Differential Scanning Calorimetry. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, (2014), 1-31.
- [49] Raemy A., Lambelet P., Thermal behaviour of foods. *Thermochim. Acta* 193, (1991), 417-439.
- [50] Reading M., Luget A., Wilson R., Modulated differential scanning calorimetry. *Thermochim. Acta* 238, (1994), 295-307.
- [51] Saldana M. D. A., Martinez-Monteagudo S. I., Oxidative stability of fats and oils measured by Differential Scanning Calorimetry for food and industrial applications, w: Applications of Calorimetry in a Wide Context – Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry edited by Amal Ali Elkordy, ISBN 978-953-51-0947-1 In Tech, January 1, (2013).
- [52] Sarge S. M., Gmelin E., Höhne G. W. H., Cammenga H. K., Hemminger W., Eysel W., 1994. The calorimetric calibration of scanning calorimeters. *Thermochim. Acta* 247, 129-168.
- [53] Sarge S. M., Höhne G. W. H., Cammenga H. K., Eysel W., Gmelin E., Temperature, heat and heat flow rate calibration of scanning calorimeters in the cooling mode. *Thermochim. Acta* 361, (2000), 1-20.
- [54] Schawe J. E. K., Principles for the interpretation of temperature-modulated DSC measurements. Part 2. A thermodynamic approach. *Thermochim. Acta* 304-305, (1997), 111-119.
- [55] Samyn P., Schoukens G., Vonck L., Stanssens D., Van den Abbeele H., Quality of Brazilian vegetable oils evaluated by (modulated) differential scanning calorimetry. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 110 (3), (2012), 1353-1365.
- [56] Schiraldi A., *Thermochim. Acta*, 246 (2), (1994), 249-435.
- [57] Splinter R., Van Herwaarden A. W., Iervolino E., Vanden Poel G., Istrate D., Sarro P. M., Analysing protein denaturation using Fast Differential Scanning Calorimetry. *Procedia Engineering* 47, (2012), 140-143.
- [58] Tamilmani P., Pandey M. C., Thermal analysis of meat and meat products. *J. Therm. Anal. Calorim.* 123 (3), (2016), 1899-1917.
- [59] Tan C. P., Man Y. B. C., Recent developments in differential scanning calorimetry for assessing oxidative deterioration of vegetable oils. *Trends Food Sci. Technol.* 13, (2002), 312-318.
- [60] Thomas L. C., Modulated DSC Paper #1. Why Modulated DSC?; An Overview and Summary of Advantages and Disadvantages Relative to Traditional DSC. TA Instruments, TP 006, (2005), 1-8.

- [61] Tunick M. H., Novak J. S., Bayles D. O., Lee J., Kaletunç G., Analysis of foodborne bacteria by Differential Scanning Calorimetry, Chapter 7, w: Calorimetry in Food Processing: Analysis and Design of Food Systems, Editor G. Kaletunç. Wiley-Blackwell and IFT Press, (2009), 147-167.
- [62] Van Wetten I. A., Van Herwaarden A. W., Splinter R., Van Ruth S. M., Oil analysis by Fast DSC. *Procedia Engineering* 87, (2014), 280-283.
- [63] Van Wetten I. A., Van Herwaarden A. W., Splinter R., Boerrigter-Eenling R., Van Ruth S. M., Detection of sunflower oil in extra virgin olive oil by fast differential scanning calorimetry. *Thermochim. Acta* 603, (2014), 237-243.
- [64] Venkata Krishnan R., Nagarajan K., Evaluation of heat capacity measurements by temperature-modulated differential scanning calorimetry. *J. Therm. Anal. Calorim.* 102 (3), (2010), 1135-1140.
- [65] Verdonck E., Schaap K., Thomas L. C., A discussion of the principles and applications of Modulated Temperature DSC (MTDSC). *Intern. J. Pharmaceutics* 192, (1999), 3-20.
- [66] Vilgis T. A., Soft matter food physics – the physics of food and cooking. *Rep. Prog. Phys.* 78, (2015), 1-82.
- [67] Watson E. S., O`Neill M. J., Differential Microcalorimeter. U.S. Patent, Filled Apr. 4, 1962. Ser. No. 185, 499, (1962).
- [68] Watson E. S., O`Neill M. J., Justin J., Brenner N., A differential scanning calorimeter for quantitative differential thermal analysis. *Anal. Chem.* 36 (7), (1964), 1233-1238.
- [69] Zhuravlev E., Schick C., Fast scanning power compensated differential scanning nano-calorimeter: 1. The device. *Thermochim. Acta* 505, (2010), 1-13.
- [70] Zhuravlev E., Schick C., Fast scanning power compensated differential scanning nano-calorimeter: 2. Heat capacity analysis. *Thermochim. Acta* 505, (2010), 14-21.