

Mgr inż. Katarzyna ŻONTAŁA
 Mgr inż. Joanna ŁOPACKA
 Mgr inż. Aleksandra LIPIŃSKA
 Mgr inż. Urszula RAFALSKA

Samodzielny Zakład Techniki w Żywieniu, SGGW w Warszawie

METODY TERMICZNEJ ANALIZY ŻYWNOŚCI ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ®

Methods of thermal analysis of food with particular emphasis on differential scanning calorimetry®

Słowa kluczowe: analiza termogravimetryczna, analiza termomechaniczna, dynamiczna analiza mechaniczna, dynamiczna sorpcja pary, różnicowa kalorymetria skaningowa.

W niniejszym artykule scharakteryzowano wybrane metody analizy termicznej, w tym analizę termogravimetryczną, analizę termomechaniczną, dynamiczną analizę mechaniczną oraz dynamiczną sorpcję pary. Opisano różnicową kalorymetrię skaningową oraz jej warianty, różnicową kalorymetrię skaningową z modulowaną temperaturą oraz różnicową mikrokalorymetrię skaningową. Przedstawiono sposoby analizy i interpretacji danych oraz wyznaczania pojemności cieplnej i ciepła właściwego za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej. Scharakteryzowano także możliwości zastosowania omawianych metod w analizie właściwości termicznych wybranych produktów spożywczych.

Key words: thermogravimetric analysis, thermomechanical analysis, dynamic mechanical analysis, dynamic vapour sorption differential scanning calorimetry.

Presented work describes methods of thermal analysis, including thermogravimetric analysis, thermomechanical analysis, dynamic mechanical analysis, and dynamic vapor sorption and differential scanning calorimetry. The work also characterizes scanning calorimetry method and its variations: modulated temperature differential scanning calorimetry and micro differential scanning calorimetry. The interpretation methods of data provided by DSC, including determination of heat capacity and specific heat of foods is described, as well as potential uses of these methods in thermal analysis of food.

WPROWADZENIE

Analiza termiczna obejmuje grupę technik analitycznych, za pomocą których właściwości fizyczne badanych substancji mierzone są w funkcji temperatury, podczas gdy badana próbka substancji (np. żywność) poddawana jest działaniu kontrolowanej, zaprogramowanej temperatury [35]. W zależności od techniki, temperatura, w której może być przeprowadzana analiza mieści się w granicach – 180 - 1800°C. Dzięki takiej rozpiętości temperatury możliwe jest przeprowadzanie badań w bardzo szerokim zakresie, od badania stabilności żywności w niskich temperaturach, przez zachowanie podczas obróbki niskotemperaturowej (np. chłodzenie, zamrażanie) do obróbki w wysokich temperaturach (np. suszenie rozpyłowe, smażenie) [49].

Badanie żywności pod względem jej właściwości termicznych stanowi wyzwanie dla badaczy. Przyczyną występujących problemów jest polimorfizm żywności, który utrudnia jednoznaczny interpretację wyników analiz. Przykładem substancji polimorficznych będących składnikami żywności są masło kakaowe oraz tłuszcz mleczny. Substancje takie są bardzo złożonymi mieszaninami o zmiennym składzie [42]. Struktura fizyczna materiałów (amorfizm, polimorfizm, krystaliczność, półkrystaliczność) wpływa na ich właściwości fizyczne, takie jak tekstura czy stabilność przechowalnicza, które wyznaczają ostateczne właściwości, z którymi spotyka

Tabela 1. Główne techniki wykorzystywane w badaniu właściwości termicznych żywności

Table 1. Main techniques used for thermal analysis of food

Przedmiot badania	Stosowane techniki
Skrobia	DSC, DMA, TGA, DTG, RVA
Sacharydy	DSC, DVS
Tłuszcze i utlenianie lipidów	DSC
Białka	DSC, DMA, DSM
Hydrokoloidy	DSM, reologia
Układy mrożone	DSC
Wzrost mikroorganizmów	DSM,
Termodynamika i szybkość reakcji	ITC, DSM, DSN
Żywność	DSC

DSC – różnicowa kalorymetria skaningowa, DMA – dynamiczna analiza mechaniczna, TGA – analiza termogravimetryczna, DTG – różnicowa analiza termogravimetryczna, RVA – szybka analiza lepkości, DVS – dynamiczna sorpcja pary, DSM – różnicowa mikrokalorymetria skaningowa, DSN – różnicowa nanokalorymetria skaningowa, ITC – izotermiczna kalorymetria miareczkowa.

Źródło: Opracowanie własne na podstawie [18]

Source: Own study on the basis of the [18]

się docelowo konsument. Metody analizy termicznej żywności mają zastosowanie w badaniu i zapewnianiu jakości sensorycznej i żywieniowej produktów, w rozwoju i projektowaniu produktów, badaniach nowych materiałów, nowych receptur i warunków obróbki technologicznej. Analiza termiczna umożliwia wgląd w struktury i jakość surowców, jak i produktów końcowych [49]. W tabeli 1 przedstawiono najczęściej stosowane techniki analizy termicznej stosowane w badaniu żywności i poszczególnych składników żywności.

ANALIZA TERMOGRAWIMETRYCZNA (TGA)

Analiza termograwimetryczna (ang. *thermogravimetric analysis*, TGA) jest techniką badawczą, w której zmiany masy próbki mierzone są w funkcji czasu lub temperatury. Metoda ta umożliwia analizę zmian masy próbki w różnych warunkach temperaturowych i polega na podgrzewaniu próbki w cyklach temperaturowych o równych przyrostach temperatury (tzw. pomiar dynamiczny), badaniu próbki w stałej temperaturze (pomiar izotermiczny) lub prowadzeniu badania w programach o nieliniowych przyrostach temperatury (ang. *sample controlled TGA*, SCTA) [9].

TGA umożliwia uzyskanie informacji na temat składu (liczby składników) materiału badawczego, jego stabilności termicznej lub oksydacyjnej (rozkład, w atmosferze gazu obojętnego - np. azotu, argonu, helu, i gazu utleniającego - tlenu lub powietrza) [28].

Aparatura stosowana w TGA wyposażona jest w specjalnie zaprojektowany i czuły układ wagowy, który mierzy zmiany masy próbki podczas jej podgrzewania nawet do temperatury powyżej 1000°C. Termopara zlokalizowana jest w pobliżu próbki w celu ciągłego rejestrowania temperatury w trakcie zmian masy zachodzących podczas analizy. Komora, w której znajduje się badana próbka, jest zwykle podłączona do źródła gazu obojętnego, takiego jak azot, argon lub hel. Możliwe jest także podłączenie powietrza lub tlenu w celu badania stabilności oksydacyjnej próbki. Powodem większości ubytków masy próbki jest wyparowanie wody lub rozkład próbki. Przyrosty masy obserwowane są we wczesnych stadiach utleniania. Specjalna wersja aparatów do analizy termograwimetrycznej wyposażona jest w regulator wilgotności, dzięki czemu szybkość sorpcji wilgotności (zarówno absorpcji, jak i desorpcji) mierzona jest w funkcji czasu, temperatury i wilgotności względnej. Na wadze umieszcza się tygiel z badaną próbką i tygiel referencyjny. Tygiel referencyjny powinien pozostać pusty, ponieważ jego zadaniem jest kompensacja masy tygla z badaną próbką. W konwencjonalnych aparatach do TGA tygiel referencyjny zwykle nie jest podgrzewany. W analizie sorpcyjnej naczynko referencyjne poddawane jest takim samym warunkom temperatury i wilgotności jak naczynko z próbką. Działanie to w znacznym stopniu poprawia powtarzalność i podstawową jakość pomiaru [49].

Chociaż TGA zapewnia pomiar ilościowy zmian masy badanego materiału, mogą wystąpić trudności w określaniu masy konkretnego związku, gdyż najczęściej straty masy (ubytki związków) nakładają się na siebie w miarę zmian temperatury. Poprzez zmniejszenie szybkości nagrzewania się pieca i próbki oraz poprzez zmniejszenie masy próbki,

można uzyskać dokładniejsze wyniki, które pozwoliłyby na oszacowanie masy konkretnych związków. Innym ograniczeniem jest brak możliwości identyfikacji składu gazów uwalnianych się z podgrzewanej próbki w czasie analizy. Znajomość składu gazów pozwala na rozróżnianie utraty wody od utraty niskocząsteczkowych związków organicznych [49].

Wynik analizy termograwimetrycznej przedstawiany jest w formie krzywej, w której masa lub procentowa zmiana masy próbki wykreślona jest w zależności od temperatury i/lub czasu. Alternatywną i uzupełniającą formą prezentacji danych może być także wykres pierwszej pochodnej krzywej TGA w stosunku do temperatury lub czasu procesu. Pochodna krzywej TGA demonstruje szybkość zmian masy próbki i znana jest jako krzywa różnicowa termograwimetryczna, (krzywa DTG, ang. *differential thermogravimetric curve*) [9].

Metoda termograwimetryczna jest przydatna m.in. w badaniu uwalniania wody hydratacyjnej z żywności poprzez wskazywanie zjawiska endotermicznego, któremu towarzyszy utrata masy [41]. Inne zastosowania tej metody w analizie żywności przedstawia tabela 2.

Tabela 2. Możliwości wykorzystania TGA do oceny żywności

Table 2. Possible use of TGA for food analysis

Autor	Badany produkt	Analizowany parametr jakości
Saldo i wsp. [45]	Ser dojrzewający z mleka owczego	Wiązanie wody – utrata masy
Santos i wsp. [47]	Oleje roślinne	Stabilność oksydacyjna w warunkach podwyższonej temperatury
Stawski [52]	Skrobia wyizolowana z ziemniaków	Zawartość amylozy i amylopektyny
Tian i wsp. [54]	Skrobia wyizolowana z ryżu	Retrogradacja skrobi
Araujo i wsp. [5]	Olej rybi	Stabilność oksydacyjna w warunkach podwyższonej temperatury
Juhász i wsp. [29]	Próbki witaminy C	Stabilność

Źródło: Opracowanie własne

Source: Own study

ANALIZA TERMOMECHANICZNA (TMA)

Analiza termomechaniczna (ang. *thermomechanical analysis*, TMA) jest metodą opierającą się na pomiarze zmian wymiarów materiału (takich jak rozszerzalność, kurczliwość, wygięcie, wydłużenie oraz rozszerzalność i kurczliwość objętościową) poprzez badanie przemieszczenia sondy stykającej się z próbką w celu określenia związanego z temperaturą zachowania mechanicznego materiału. Analiza przeprowadzana jest w zakresie temperatur od -180 do 800°C (ogrzewanie, chłodzenie - wykresy temperaturowe) lub w stałej temperaturze (wykresy w funkcji czasu). TMA mierzy także zmiany liniowe i objętościowe wymiarów próby w funkcji czasu i mocy [40].

Najważniejszym elementem aparatu do analizy termomechanicznej jest sonda wykonana np. z kwarcu (w zależności od rodzaju aparatu), monitorująca zmiany wymiarów badanej próbki. Położenie sondy jest w sposób ciągły kontrolowany przez przetwornik o wysokiej wrażliwości na zmienne przemieszczenia liniowe. Temperatura przetwornika jest kontrolowana w celu zapewnienia doskonałej dokładności i powtarzalności wyników pomiaru. Mechanizm sondy kontrolowany jest za pomocą obwodu elektromagnetycznego w kształcie zamkniętej pętli. Taka konstrukcja pozwala na precyzyjną kontrolę sondy, na komputerowe sterowanie wartością siły przykładaną do próbki oraz na stałe obciążanie próbki przez cały okres trwania pomiaru. Nowoczesne aparaty do analizy termomechanicznej mają zdolność do ogrzewania lub chłodzenia próby w zakresie przyrostu temperatury od 0,1 do 100°C/min [14].

DYNAMICZNA ANALIZA MECHANICZNA (DMA)

Dynamiczna analiza mechaniczna (ang. *dynamic mechanical analysis*, DMA), jest techniką badającą lepko-sprężystość substancji, w szczególności polimerów, lecz przydatna jest także w badaniach żywności (tab. 3). Technika ta jest bardzo zbliżona do analizy termomechanicznej (TMA). Za pomocą DMA mierzy się współczynnik dynamiczny i/lub tłumienie substancji pod wpływem działania ładunku oscylacyjnego o różnych częstotliwościach w funkcji temperatury lub czasu. Badane próbki mogą mieć różną formę, np. włókien, błon, płytek lub arkuszy ułożonych w stosy o grubości od 1 do 200 mm [31]. W dynamicznej analizie mechanicznej próbka poddawana jest okresowo zmieniającym się naprężeniom (zwykle o częstotliwości sinusoidalnej lub kątowej, ω). Reakcja próbki na te działania może dostarczyć informacji na temat jej sztywności (liczonej za pomocą współczynnika elastyczności) i jej zdolności do rozpraszania energii (mierzonej za pomocą wskaźnika tłumienia) [11].

Tabela 3. Przykładowe zastosowania wykorzystania DMA do analizy żywności

Table 3. Sample usages of DMA for food analysis

Autor	Przedmiot badania	Analizowany parametr jakości
Chinachoti [13]	określenie wpływu właściwości wody na właściwości termiczne chleba	analiza właściwości mechanicznych, badanie zjawiska czerstwienia
Laaksonen i Roos [33]	określenie wpływu mrożenia ciasta na przemianę szklaną	stan zamrożenia ciasta, właściwości mechaniczne zamrożonego ciasta, wyznaczenie punktu przemiany szklistej
Vodovotz i Chinachoti [55]	określenie przemian termicznych zachodzących w żelowanej skrobi pszenicznej o różnej wilgotności	stopień żelowania skrobi

Źródło: Opracowanie własne

Source: Own study

Technika ta jest szczególnie przydatna do badania układów amorficznych żywności. Substancje amorficzne są dość stabilne w stanie stałym, szklanym. Na przykład odwodniona, szklista żywność zachowuje się jak kruche ciała stałe, podczas gdy powyżej punktu przemiany szklistej (np. żywność liofilizowana) może charakteryzować się przepływem podobnym do syropów lub stać się rozmokła. Zmianom tym towarzyszy spadek współczynnika mierzzonego przy pomocy DMA, jak również spadek wartości stałej dielektrycznej danej substancji [30].

Zastosowanie metody DMA może dostarczać uzupełniających danych z zakresu zjawiska galaretowacenia (żelowania) i retrogradacji, które prowadzą do zmian właściwości reologicznych produktów [41]. Oprócz tego, DMA najlepiej jest stosować do badań zmiany właściwości reologicznych produktów, takich jak na przykład suszone białka. W przypadku suszonych białek zmiany cieplne zachodzące w czasie przemiany szklistej i utleniania są zbyt małe, by móc zastosować inne metody pomiaru, a ponieważ zmiany cieplne i reologiczne są ze sobą powiązane, możliwe jest zastosowanie tej metody do ich oszacowania. Niemniej jednak temperatura przemiany szklistej (T_g) wyznaczona za pomocą DMA nie zawsze pokrywa się z wartością temperatury uzyskaną za pomocą DSC (różnicowej kalorymetrii skaningowej) [34].

DYNAMICZNA SORPCJA PARY (DVS)

Dynamiczna sorpcja pary (ang. *dynamic vapour sorption*, DVS) jest metodą opierającą się na pomiarze zmiany masy próbki w funkcji czasu z uwzględnieniem wartości wilgotności względnej uzyskanej poprzez zmieszanie suchego i nasyconego gazu przepływającego przez aparat w czasie analizy. Celem tej metody jest uzyskanie wykresu izotermy zjawiska sorpcji oraz doprowadzenie do równowagi wilgotności poprzez kontrolowanie aktywności wody [3].

Aparat do dynamicznej sorpcji pary wyposażony jest w mikrowagę i mikroskop z możliwością wyświetlania obrazu na monitorze komputera. Mikrowaga Cahn mieści się w inkubatorze ze stale monitorowaną zaprogramowaną temperaturą. Wymagane wartości wilgotności względnej gazów uzyskiwane są za pomocą mieszania suchego i nasyconego parą gazu w odpowiednich proporcjach, podtrzymywanych dzięki obecności kontrolerów przepływu gazów. Jeden z kontrolerów mierzy przepływ suchego gazu nośnego (najczęściej azotu), podczas gdy drugi kontroluje przepływ gazu nasyconego parą wodną. Sondy mierzące wilgotność i temperaturę procesu, zlokalizowane pod próbką i uchwytami referencyjnymi, zapewniają niezależną weryfikację sprawności układu [15, 38]. Masa próbek mierzonych za pomocą DVS mieści się w zakresie od 1,5 do 10 g, natomiast precyzja pomiaru od 0,1 do 1 μ g. Temperatury analiz mieszczą się w zakresie od 5° do 85°C [3].

W trakcie analizy mierzone są zmiany masy próbki w zależności od temperatury oraz czasu trwania analizy. W wyniku badania otrzymuje się wykres sorpcji badanego materiału (izotermy). Abecassis i wsp. [2] wykorzystali tę metodę do zbadania właściwości hydratacyjnych pszenicy twardej w celu lepszego kontrolowania i poznania mechanizmu aglomeracji kaszy z pszenicy twardej w zależności od wielkości cząstek kaszy i temperatury hydratacji. Inne przykłady wykorzystania tej metody obrazuje tabela 4.

Tabela 4. Przykłady zastosowania DVS w analizie żywności**Tabela 4. Examples of use of DVS in food analysis**

Autor	Przedmiot badania	Analizowany parametr jakości
Bingol i wsp. [8]	zbadanie sorpcji dwóch odmian ryżu	zachowanie sorpcyjne różnych odmian ryżu, wyznaczenie krzywych absorpcji
Argyropoulos i wsp. [6]	zbadanie zachowania sorpcji wilgoci liści i łodyg melisy lekarskiej	wyznaczenie izoterm adsorpcji próbek, określenie wpływu składu i struktury tkanek na zachowanie sorpcji wilgoci
Abdillahi i wsp. [1]	wykazanie wpływu dodatku kwasu cytrynowego na właściwości sorpcyjne oraz termoplastyczne mąki pszennej z dodatkiem kwasu mlekowego (PLA)	pomiar izoterm sorpcji wody, wyznaczenie krzywych sorpcji mąki pszennej z dodatkiem mieszaniny kwasu mlekowego
Saad i wsp. [43]	wykazanie wpływu ponownego szlifowania ziaren mąki na jej właściwości uwadniające	wyznaczenie izoterm sorpcji wody, monitorowanie zdolności sorpcji wilgoci
Murrieta-Pazos i wsp. [37]	zbadanie wpływu uziarnienia semoliny z pszenicy twardej durum o określonym współczynniku dyfuzji wody i rozwoju jej mikrostruktury podczas procesu hydratacji	wyznaczenie dynamicznego współczynnika dyfuzji wody, określenie izoterm sorpcji w mące w zależności od uziarnienia semoliny

Źródło: Opracowanie własne

Source: Own study

RÓŻNICOWA KALORYMETRIA SKANINGOWA

Różnicowa kalorymetria skaningowa (ang. *differential scanning calorimetry*, DSC) jest jedną z metod analizy termicznej, polegającą na pomiarze zmian różnic szybkości przepływu ciepła między materiałem badanym i próbą referencyjną, poddawanych takim samym kontrolowanym zmianom temperatury [20]. Metoda polega także na pomiarze ilości energii pochłoniętej lub wyemitowanej podczas ogrzewania próbki, chłodzenia lub utrzymywania jej w stałej, zaprogramowanej temperaturze [14].

Technika DSC jest szeroko wykorzystywana w farmacji, inżynierii materiałowej oraz badaniu jakości i czystości materiałów. Za pomocą DSC można badać właściwości metali, wosków, mydeł, tłuszczów i smarów, jak również wytrzymałość powyższych materiałów na trudne warunki środowiska oraz na określanie ich tolerancji na ekstrema temperatury [10]. Metoda DSC jest także bardzo często stosowana do badania właściwości fizycznych żywności, które wynikają z właściwości termicznych, czemu poświęcona jest dalsza część artykułu. Różnicową kalorymetrię skaningową najczęściej stosuje się do badania kleikowania i retrogradacji skrobi,

analizy denaturacji białek mięsa, badania rozpadu tłuszczów jadalnych pod wpływem reakcji utleniania, badania wpływu zamrażania i suszenia produktów na ich właściwości, wyznaczania wskaźnika fazy stałej tłuszczu, wykrywania zafałszowań żywności (tab. 5).

Tabela 5. Przykładowe sposoby wykorzystania DSC w analizie żywności**Tabela 5. Examples of use of DSC in food analysis**

Autor	Przedmiot badania	Analizowany parametr jakości
Dahimi i wsp. [16]	ocena krzyżowego zanieczyszczenia smalcem w stężeniu 0,5 - 5 % w mieszaninie toju wołowego i tłuszczu z kurczaka	oznaczanie zafałszowania tłuszczów zwierzęcych
Serowik [50]	ocena wpływu temperatury i poziomu wilgotności na wybrane parametry termiczne pieczarek	wyznaczenie i charakterystyka ciepła właściwego pieczarek w zależności od ich wilgotności i temperatury w czasie suszenia
Serowik [51]	ocena wpływu procesu liofilizacji na wybrane parametry termiczne pieczarek	wyznaczenia krzywych przemian, temperatury zeszklenia i wilgotności krytycznej wyznaczającej początek okresu dosuszania
Hu i wsp. [26]	wyznaczenie ciepła właściwego mleka o różnej zawartości tłuszczu: 0,1 % - 35%	wyznaczenie ciepła właściwego mleka, pomiar zmian cieplnych tłuszczu mleka
Santana i wsp. [46]	zbadanie wpływu kwasów tłuszczowych w utwardzonym oleju słonecznikowym na jego termiczne właściwości w warunkach nadkrytycznych	oznaczenie właściwości termicznych tłuszczów w warunkach nadkrytycznych - informacja na temat charakteru zmian termodynamicznych związanych z przejściem olejów i tłuszczów jadalnych z jednego stanu fizycznego do drugiego
Tan i wsp. [53]	zbadanie zachowania termicznego oleju palmowego i oleju kokosowego	badanie właściwości termicznych olejów, wyznaczenie entalpii przejścia, monitorowanie maksymalnej temperatury przemiany
Ostrowska-Liğeza i wsp [39]	analiza tłuszczu wyekstrahowanego z ziaren kukurydzy	określenie parametrów termokinetycznych tłuszczu, zbadanie i charakterystyka stabilności oksydacyjnej tłuszczu
Górska i wsp. [21]	określenie parametrów termokinetycznych kwasu linolowego oraz ocena stabilności oksydacyjnej.	pomiar niezotermicznego utleniania kwasu linolowego, wyznaczenie energii aktywacji oraz stałej szybkości reakcji, określenie parametrów termokinetycznych

Źródło: Opracowanie własne

Source: Own study

Tak dużą popularność techniki tłumaczy fakt, iż DSC jest metodą szybszą niż bardziej klasyczne metody identyfikacji zafałszowań żywności, ponadto nie wymaga specjalnego przygotowania próbki lub wykorzystania rozpuszczalników [7]. Z jej pomocą można badać zarówno próbki w postaci płynnej, jak i stałej, co decyduje o wykorzystaniu metody w analizie żywności [48].

Ponieważ każda zmiana struktury (przemiana) powoduje absorpcję lub emisję ciepła, DSC jest uniwersalną techniką badającą struktury materiałów. Jedynym ograniczeniem tej metody jest czułość aparatury, czyli zdolność detekcji małych przemian lub bardzo powoli przebiegających procesów kinetycznych, w których szybkość przepływu ciepła jest zbliżona lub niższa od sygnału szumu aparatu pomiarowego [49].

Często pomiary za pomocą DSC nie są wystarczająco dokładne. Badacze stykają się z problemem odpowiedniego dopasowania warunków analiz do oczekiwanych rezultatów. Najczęstszym problemem jest niedostateczna czułość pomiaru (zdolność do wykrywania słabych sygnałów przemian) oraz niedostateczna rozdzielczość aparatury pomiarowej (zdolność do rozróżniania przemian termicznych zachodzących w zbliżonych temperaturach). Zwiększenie czułości pomiaru przemian o niewielkiej wymianie ciepłej można uzyskać poprzez zwiększenie masy próbki lub wzrost szybkości przyrostu temperatury. Aby poprawić rozdzielczość osobnych przemian zachodzących w zbliżonych temperaturach zaleca się zmniejszenie masy próbek lub zmniejszenie szybkości zmiany temperatury. Zwiększenie czułości odbywa się więc kosztem zmniejszonej rozdzielczości [17].

Podstawowym składnikiem aparatu jest piec, którego temperatura jest kontrolowana przez sterownik temperatury. W piecu ogrzewana bądź oziębiana jest próbka badana oraz wzorzec. W skład aparatury wchodzi także przetwornik, wzmacniacz sygnału i system komputerowy służący do programowania analiz, przechowywania i analizy danych. Istnieją dwa zasadnicze rodzaje aparatów do analizy DSC: o konstrukcji przewodzącej, tj. przepływu ciepła, ang. *heat flux design*, oraz o konstrukcji kompensacji energii, ang. *power compensation design* [10, 49].

W kalorymetrycznej analizie żywności najczęściej wykorzystuje się aparaty typu *heat flux*. Obie próbki, właściwa i referencyjna, umieszczane są w jednym piecu, który zwykle połączony jest ze źródłem azotu o wysokiej czystości. Piec i system chłodzenia zapewniają uzyskanie szerokiego zakresu temperatury (-180° do 725°C). Jako czujniki temperatury stosuje się zwykle termopary, stopy termoelektryczne lub platynowe termometry oporowe [49].

Kompensacyjne kalometry skaningowe składają się z dwóch pieców, w których oddzielnie umieszczane są badana próbka i wzorzec. Piece wyposażone są w grzejniki elektryczne i termometry oporowe, oddzielone od siebie i umieszczone w osłonie o stałej lub programowo zmiennej temperaturze. W czasie pomiaru do grzejników obu pieców dostarczana jest taka moc, aby zmieniać ich temperaturę zgodnie z założonym programem (szybkością) ogrzewania [22].

Tygle, na których umieszczane są próbki, mogą być wykonane z różnych materiałów (np. z miedzi, aluminium, tlenku glinu, połączanej stali, złota, platyny) i mogą mieć różną objętość (20 - 900 μ l) [36]. Do analizy żywności

wykorzystuje się głównie tygielki wykonane z aluminium. Wyjątkowo, gdy istnieje niebezpieczeństwo reakcji między składnikami próbki i aluminium lub gdy analiza prowadzona jest w temperaturach spoza zakresu zalecanego dla tygli aluminiowych (-180° - 600°C), można stosować tygielki wykonane z grafitu, tlenku glinu oraz z metali, takich jak platyna, miedź czy złoto [10]. Puste tygielki referencyjne poddawane są takim samym warunkom termicznym jak tygielki z próbką, wobec czego mierzona jest różnica między próbką i naczynkiem referencyjnym. Dzięki temu uzyskuje się bardziej miarodajne wyniki na skutek eliminacji szumów i zmian wartości sygnału (dryftów) spowodowanych wymianą ciepła ze środowiskiem lub atmosferą wokół badanych próbek [49]. Analiza przeprowadzana jest w hermetycznie zamkniętych tyglach lub w naczynkach otwartych, zwłaszcza podczas badania wpływu atmosfery zawierającej tlen na właściwości fizyczne próbki. Dla efektywnej wymiany ciepłej i zminimalizowania gradientów termicznych, zaleca się umieszczanie próbek badanych w tygielkach w taki sposób, by w jak największym stopniu stykały się z powierzchnią tygielka [44].

Metoda DSC nie jest pozbawiona wad. Wyznaczanie ciepła właściwego substancji przy zastosowaniu tej techniki to proces złożony i czasochłonny. Nie można za jej pomocą bezpośrednio wyznaczyć pojemności i przewodności cieplnej materiałów. Bardzo trudno jest też zinterpretować krzywe, gdy w tym samym przedziale temperaturowym równocześnie zachodzi kilka przemian. W badanych substancjach wieloskładnikowych przemiany termiczne różnych składników mogą na siebie nachodzić, wzmacniając się wzajemnie lub tłumiąc. Zwykle aparatura do różnicowej kalorymetrii skaningowej nie jest w stanie rozdzielić tych zjawisk [48]. Rozwiązaniem problemów może być wykorzystanie modyfikacji – różnicowej kalorymetrii skaningowej z modulowaną temperaturą (MTDSC).

RÓŻNICOWA KALORYMETRIA SKANINGOWA Z MODULOWANĄ TEMPERATURĄ (MTDSC)

Różnicowa kalorymetria skaningowa z modulowaną temperaturą (ang. *modulated temperature differential scanning calorimetry*, MTDSC) jest metodą uzupełniającą niedociągnięcia klasycznej techniki DSC. Za pomocą MTDSC możliwe jest bezpośrednie wyznaczenie pojemności cieplnej badanej próbki [25, 32], ciepła właściwego badanej substancji [19], rozróżnianie nachodzących na siebie przemian termicznych, na przykład topnienia i rekryształizacji substancji półkryształicznych (np. miódów) [12].

Różnica między tradycyjnym DSC i MTDSC polega na modyfikacji sposobu ogrzewania lub oziębiania próbki. W DSC próbka poddawana jest liniowym zmianom temperatury, podczas gdy w MTDSC na linię pochyłą nałożona jest modulacja sinusoidalna temperatury [48]. W wyniku modulacji temperatury szybkość jej zmiany nie jest stała, zmienia się okresowo. Średnia szybkość zmiany temperatury, właściwa szybkości przyrostu temperatury w tradycyjnym DSC, określana jest jako zasadnicza szybkość przyrostu temperatury (ang. *underlying heating rate*) [27]. Przyrost temperatury oscyluje między wartościami maksimum i minimum, które wyznaczane są przez szybkość przyrostu temperatury, okres lub częstotliwość oraz amplitudę fali temperatury [48].

Wypadkowa szybkości przyrostu temperatury między próbką badaną i wzorcem zarówno w DSC, jak i MTDSC, opisywana jest równaniem:

$$dQ/dt = C_p b + f(T, t) \quad (1)$$

gdzie: dQ/dt – średnia szybkości przepływu ciepła,
 C_p – pojemność cieplna próbki,
 b – współczynnik zmiany temperatury (dT/dt)
 $f(T, t)$ – wartość przepływu ciepła procesu kinetycznego [12, 48].

Program temperaturowy dla sinusoidalnej modulacji przyrostu temperatury można opisać jako:

$$T(t) = T_0 + qt + A_T \sin(\omega t) \quad (2)$$

gdzie: T_0 – temperatura początkowa,
 q – zasadnicza szybkość przyrostu temperatury,
 A_T – właściwa amplituda drgania.
 Częstotliwość drgania wynosi $\omega = 2\pi/p$, gdzie p jest okresem drgania [38].

Przy pomocy różnicowej kalorymetrii skaningowej o modulowanej temperaturze badano m.in. pojemność cieplną, entalpię zamarzania i temperatury przemian termicznych oliwy z oliwek [4], właściwości roztworów wodnych trehalozy i innych cukrów [23], wyznaczono specyficzną pojemność cieplną oleju z suma [32], pojemność cieplną różnych rodzajów sera [25].

ANALIZA I INTERPRETACJA DANYCH POZYSKANYCH W WYNIKU ANALIZY DSC

W wyniku przeprowadzonej analizy za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej uzyskuje się wykres zwany termogramem. Termogram to wykres zależności przepływu ciepła od czasu lub temperatury. Można z niego odczytać kilka parametrów przydatnych do scharakteryzowania zachowania termicznego badanej próbki. Parametry widoczne na termogramie to temperatura rozpoczęcia się przemiany (ang. *onset temperature*, T_{on}), maksymalna temperatura przemiany (T_m , T_p , T_{max} lub T_d), entalpia przemiany (ΔH), szerokość pików w połowie wysokości pików (T_w lub $T_{1/2}$) oraz pojemność cieplna (C_p). Na podstawie tych danych możliwe jest wyznaczenie temperatury denaturacji, temperatury przemiany szklistej, temperatury galaretowacenia, podatności na rozkład, procentowej denaturacji i czystości materiału [10].

Czynnikiem, od którego w głównej mierze zależy czytelność uzyskanych krzywych jest przebieg linii bazowej (ang. *baseline* lub *zeroline*). W warunkach idealnych linia bazowa jest prosta. Wykrywanie subtelnych przemian termicznych, które bardzo często zachodzą w żywności, jest o wiele trudniejsze, gdy znajdują się na zakrzywionej linii bazowej. Zakrzywienia powstają na skutek parowania próbki, różnic w powierzchni styku, które zachodzą podczas procesów termicznych (np. wrzenie, kurczenie się próbki na skutek zamarzania czy wysuszania) między próbką i tyglami DSC [48].

Temperatura początku przemiany (ang. *onset temperature*, T_{on})

Temperatura początku przemiany termicznej jest obliczana jako temperatura, w której styczna do nachylenia linii bazowej wykresu termogramu przecina styczną do krzywej prowadzącej do środka pików przemiany. Temperatura ta opisuje początek przemiany stanu skupienia materiału badanego [24].

Temperatura w maksimum pików (T_m , T_p , T_{max} lub T_d)

Temperatura przemiany wskazywana przez maksimum pików (T_m , T_p , T_{max} lub T_d) stanowi maksymalną wartość temperatury danej przemiany. Teoretycznie, temperatura ta wyznacza koniec przemiany [10]. Posługując się tym parametrem możliwe jest oszacowanie ilościowej zawartości danego składnika w mieszaninie lub roztworze badanym, składającym się z dwóch lub więcej substancji.

Entalpia przemiany (ΔH)

Zmiana entalpii przemiany termicznej definiowana jako całkowita ilość energii niezbędna do zajścia przemiany termicznej, obliczana jest z równania Van't Hoffa:

$$\Delta H = 4 RT_D^2 (\Delta C_p / Q_d) \quad (3)$$

gdzie: R – stała gazowa,
 T_D – środkowa wartość temperatury przemiany,
 ΔC_p – pojemność cieplna,
 Q_d – entalpia całkowita [10].

Wartość entalpii wyrażana jest w kaloriach lub dżulach na gram próbki (w układzie SI), można ją także obliczyć jako pole powierzchni pod krzywą przepływu ciepła DSC [44].

Szerokość pików w połowie jego wysokości (T_w lub $T_{1/2}$)

Wartość szerokości pików DSC w połowie jego wysokości stosowana jest do szacowania podatności materiału na przemianę cieplną. Niska wartość T_w wskazuje na materiał o bardzo wysokiej podatności na przemianę. Szerokość pików może być także stosowana do oceniania czystości próbki. Wyższa wartość T_w w stosunku do wartości T_w materiału czystego wskazuje na jej zanieczyszczenie [10].

PODSUMOWANIE

Współczesne metody analizy termicznej stanowią liczną grupę metod pozwalających na precyzyjne obserwowanie wielu fizycznych i chemicznych właściwości żywności, które bezpośrednio związane są ze zmianami temperatury. Za ich pośrednictwem możliwe jest zbadanie cech jakościowych kształtowanych przez przemiany podstawowych składników żywności – białka, tłuszczu, węglowodanów i wody. Postęp techniczny i nowe aparaty służące do termicznej analizy żywności mogą w przyszłości wyeliminować aktualnie występujące niedogodności analityczne.

LITERATURA

- [1] **ABDILLAH H., CHABRAT E., ROUILLY A., RIGALL L. 2013.** „Influence of citric acid on thermoplastic wheat flour/poly(lactic acid) blends. II. Barrier properties and water vapor sorption isotherms”. *Ind. Crop. Prod.* 50: 104–111.
- [2] **ABECASSIS J., CUQ B., FAGES J., GALET L., HÉBRARD A., OULAHNA D. 2003.** „Hydration properties of durum wheat semolina: influence of particle size and temperature”. *Powder Technol.* 130: 211–218.
- [3] **ADHIKARI B.P., BHANDARI B.R. 2008.** Water activity in food processing and preservation. [w:] Chen X.D., Mujumdar A.S. (Red.): *Drying Technologies in Food Processing*. Blackwell Publishing, Oxford.
- [4] **ANGIULI M., BANTI A., FERRARI C., LEPORI L., MATTEOLI E., MINNAJA N., SALVETTI G., TOMBARI E. 2006.** „On testing quality and traceability of virgin olive oil by calorimetry”. *J. Therm. Anal. Calorim.* 84: 105–112.
- [5] **ARAUJO K. L. G. V., EPAMINONDAS P. S., SILVA M. C. D., DE LIMA A. E. A., ROSENHAIM R., MAIA A. S., SOLEDADE L. E. B., SOUZA A. L., SANTOS I. M. G., SOUZA A. G., QUEIROZ N. 2011.** „Influence of thermal degradation in the physicochemical properties of fish oil”. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 106: 557–561.
- [6] **ARGYROPOULOS D., ALEXANDROPOULOS R., KOHLER J. 2012.** „Moisture sorption isotherms and isosteric heat of sorption of leaves and stems of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) established by dynamic vapor sorption”. *LWT - Food Sci. Technol.* 47(2): 324–331.
- [7] **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 oil”. *Food Chem.* 110: 248–256.
- [8] **BINGOL G., PRAKASH B., PAN Z. 2012.** „Dynamic vapor sorption isotherms of medium grain rice varieties”. *LWT - Food Sci. Technol.* 48(2): 156–163.
- [9] **BOTTOM R. 2008.** Thermogravimetric analysis. [w:] Gabbott P. (red.): *Principles and Applications of Thermal Analysis*. Blackwell Publishing, Oxford.
- [10] **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.
- [11] **BROWN M.E. 2001.** Introduction to Thermal Analysis. Techniques and Applications. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- [12] **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”. *J. Therm. Anal. Calorim.* 71: 279–290.
- [13] **CHINACHOTI P. 1998.** „NMR dynamics properties of water in relation to thermal characteristics in bread”. *The Properties of Water in Foods* 6: 139–159.
- [14] **CROMPTON, T.R. 2006.** Polymer Reference Book. Smithers Rapra Technology, Shawbury, Shropshire.
- [15] **CUQ B., GUILBERT S., ROMAN-GUTIERREZ A.D. 2002.** „Components: A Dynamic Water Vapour Adsorption Study”. *J. Cereal Sci.* 36: 347–355.
- [16] **DAHIMI O., ABDUL RAHIM A., ABDULKARIM S.M., HASSAN M.S., SHAZAMAWATI B.T., HASHARI Z., MASHITOH A.S., SAADI S. 2014.** „Multivariate statistical analysis treatment of DSC thermal properties for animal fat adulteration”. *Food Chem.* 158: 132–138.
- [17] **EMMERICH W.-D., KAISERSBERGER E., MARTINI E. 2004.** „New aspects of thermal analysis. Part I. resolution of DSC and means for its optimization”. *J. Therm. Anal. Calorim.* 77: 905–934.
- [18] **FARHAT I.A., MACNAUGHTAN B. 2008.** Thermal Methods in the Study of Foods and Food Ingredients. [w:] Gabbott P. (red.): *Principles and Applications of Thermal Analysis*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford.
- [19] **FENG Y.P., LI Y., XU S.X. 2000.** „Study of temperature profile and specific heat capacity in temperature modulated DSC with low sample heat diffusivity”. *Termochimica Acta* 360: 131–140.
- [20] **FLAMMERSHEIM H.J., HEMMINGER W.F., HÖHNE G.W.H. 2003.** Differential Scanning Calorimetry. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- [21] **GÓRSKA A., OSTROWSKA-LIĞĘZA E., WIRKOWSKA M., BRYŚ J. 2011.** „Ocena parametrów utleniania kwasu linolowego z wykorzystaniem różnicowej kolorymetrii skaningowej”. *Żywność. Nauk. Technol. Ja.* 2 (75): 106 – 114.
- [22] **GROCHOWSKA-NIEDWOROK E., KARDAS M. 2009.** „Różnicowa kalorymetria skaningowa jako metoda termooanalityczna stosowana w farmacji i analizie żywności”. *Bromat. Chem. Toksykol.* – XLII, 2: 224–230.
- [23] **HAYMET A.D., WANG G.M. 1998.** „Threhalose and other sugar solutions at low temperature: Modulated Differential Scanning Calorimetry (MDSC)”. *J. Phys. Chem. B.* 102: 5341–5347.
- [24] **HEAL G.R. 2002.** Thermogravimetry and Derivative Thermogravimetry. [w:] Haines P.J. (Red.): *Principles of Thermal Analysis and Calorimetry*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- [25] **HEIDENREICH S., LANGNER T., ROHM H. 2007.** „Heat capacity of cheese. Determination or calculation?” *J. Therm. Anal. Calorim.* 89: 815–819.
- [26] **HU J., SARI O., EICHER S., RAKOTOZANAKAJY A. R. 2009.** „Determination of specific heat of milk at different fat content between 1 °C and 59 °C using micro DSC”. *J. Food Eng.* 90(3): 395–399.
- [27] **HUTCHINSON J.M., IMRIE C.T., JIANG Z. 2001.** „An introduction to temperature modulated differential scanning calorimetry (TMDSC): a relatively non-mathematical approach”. *Termochimica Acta* 387: 75–93.

- [28] **JAYADAS N.H., NAIR P. K. 2005.** „Coconut oil as base oil for industrial lubricants – evaluation and modification of thermal, oxidative and low temperature properties”. *Tribol. Int.* 39: 873-878.
- [29] **JUHÁSZ M., KITAHARA Y., TAKAHASHI S., FUJII T. 2012.** „Thermal stability of vitamin C: Thermogravimetric analysis and use of total ion monitoring chromatograms”. *J Pharmaceut. Biomed.* 59: 190–193
- [30] **KALETUŃ G. 2009.** *Calorimetry in food processing: analysis and design of food systems.* Wiley-Blackwell, Ames (USA).
- [31] **KHANNAY.P. 1996.** *Thermal Characterization of Materials. Dynamic Mechanical Analysis and Sonic Modulus.* [w:] Sibilja J.P. (red.): *A Guide to Materials Characterization and Chemical Analysis.* Wiley-VCH, Nowy Jork.
- [32] **KING J.M., NEGULESCU I.I., PRINYAWIWATKUL W., SUBRAMANIAM S. 2008.** „Determination of melting points, specific heat capacity and enthalpy of catfish visceral oil during the purification process”. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85: 291-296.
- [33] **LAAKSONEN T. J., ROOS Y. H. 2000.** „Thermal, Dynamic-mechanical, and Dielectric Analysis of Phase and State Transitions of Frozen Wheat Doughs”. *J. Cereal Sci.* 32(3): 281–292.
- [34] **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.
- [35] **MELOAN C.E., POMERANZ Y. 2000.** *Food Analysis. Theory and Practice.* Aspen Publishers, Maryland.
- [36] **METTLER TOLEDO.** *Różnicowa Kalorymetria Skaningowa spełniająca wszystkie wymagania. Broszura dla użytkowników aparatu DSC1.* www.mt.com. Data korzystania: 29.03.2014 r.
- [37] **MURRIETA-PAZOS I., GALET L., PATRY S., GAIANI C., SCHER J. 2014.** „Evolution of particle structure during water sorption observed on different size fractions of durum wheat semolina”. *Powder Techn.* 255: 66–73.
- [38] **NAGARAJAN K., VENKATA K. R. 2010.** „Evaluation of heat capacity measurements by temperature-modulated differential scanning calorimetry”. *J. Therm. Anal. Calorim.* 102: 1135-1140.
- [39] **OSTROWSKA-LIGEŻA E., WIRKOWSKA M., KOWALSKI B. 2009.** „Termokinetyczna analiza tłuszczu z kukurydzy z wykorzystaniem różnicowej kolorymetrii skaningowej”. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość* 1 (62): 128-139.
- [40] **PRICE D.M. 2002.** *Thermomechanical, Dynamic Mechanical and Dielectric Methods.* [w:] Haines P.J. (Red.): *Principles of Thermal Analysis and Calorimetry.* The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- [41] **RAEMY A. 2003.** „Behavior of Foods Studied by Thermal Analysis. Introduction”. *J. Therm. Anal. Calorim.* T. 71: 273-278.
- [42] **ROUX M.V., TEMPRADO M. 2008.** *Thermochemistry.* [w:] Brown M.E., Gallagher P.K. (red.): *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry.* Vol 5. *Recent Advances, Techniques and Applications.* Elsevier, Oxford.
- [43] **SAAD M. M., GAIANI C., SCHER J., CUQ B., EHRHARDT J.J., DESOBRY S. 2009.** „Impact of re-grinding on hydration properties and surface composition of wheat flour”. *J Cereal Sci.* 49(1): 134–140.
- [44] **SAHIN S., SUMNU S.G. 2006.** *Physical Properties of Food.* Springer Science, LLC, Nowy Jork.
- [45] **SALDO J., SENDRA E., GUAMIS B. 2002.** „Changes in water binding in high-pressure treated cheese, measured by TGA (thermogravimetric analysis)”. *Innov Food Sci Emerg.* 3(3): 203–207.
- [46] **SANTANA A., FERNÁNDEZ X., LARRAYOZ M.A., RECASENS F. 2008.** „Vegetable fat hydrogenation in supercritical-fluid solvents: Melting behavior analysis by DSC and NMR”. *J Supercrit Fluid.* 46(3): 322–328.
- [47] **SANTOS J. C. O., SANTOS I. M. G., CONCEIÇÃO M. M., PORTO S. L., TRINDADE M. F. S., SOUZA A. G., PRASAD S., FERNANDES JR. V. J., ARAÚJO A. S. 2004.** „Thermoanalytical, kinetic and rheological parameters of commercial edible vegetable oils”. *J. Therm. Anal. Calorim.* 75: 419-428.
- [48] **SCHAAP K., THOMAS L.C., VERDONCK E. 1999.** „A discussion of the principles and applications of Modulated Temperature DSC (MTDSC)”. *Int Pharm.* 192: 3-20.
- [49] **SCHMIDT S.J., THOMAS L.C. 2010.** *Thermal Analysis.* [w:] Nielsen S.S.(red.) : *Food Analysis.* Fourth edition. Springer, Nowy Jork.
- [50] **SEROWIK M. 2012a.** „Wpływ temperatury i wilgotności na wartość ciepła właściwego pieczarek”. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 571: 99–106.
- [51] **SEROWIK M. 2012b.** „Procesowa charakterystyka liofilizacji pieczarek wykonana z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej”. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 570: 79–85.
- [52] **STAWSKI D. 2008.** „New determination method of amylose content in potato starch”. *Food Chem.* 110: 777–781.
- [53] **TAN C.P., CHE MAN Y.B. 2002.** „Differential scanning calorimetric analysis of palm oil, palm oil based products and coconut oil: effects of scanning rate variation”. *Food Chem.* 76(1): 89–102.
- [54] **TIAN Y., LI Y., XU X., JIN Z. 2011.** „Starch retrogradation studied by thermogravimetric analysis (TGA)”. *Carbohydrate Polym* 84 (3): 1165–1168.
- [55] **VODOVOTZ Y., CHINACHOTI P. 2006.** „Thermal Transitions in Gelatinized Wheat Starch at Different Moisture Contents by Dynamic Mechanical Analysis”. *J Food Sci.* 61(5): 932–938.