

ROMAN PAWŁOWICZ

**WPLYW PROCEDURY TERMOSTATOWANIA ORAZ SPOSOBU  
PRZEPROWADZENIA POMIARU NA WYNIKI OCENY  
ZAWARTOŚCI FAZY STAŁEJ W WYBRANYCH TŁUSZCZACH**

Streszczenie

Pulsacyjny magnetyczny rezonans jądrowy jest metodą zalecaną przez normy międzynarodowe do oznaczania zawartości fazy stałej w tłuszczach. Przed wykonaniem tego oznaczenia tłuszcze poddaje się termostataowaniu. Procedury termostataowania uwzględniają różnice w sposobie krystalizacji tłuszczów. Czynnikiem ten był podstawą podziału tłuszczów na grupy. Zgodnie z normą ISO 8292, dotyczącą oznaczania zawartości fazy stałej, tłuszcze podzielono na cztery grupy: (1) masło kakaowe i jego równoważniki, (2) olej palmowy, (3) łój i jego frakcje oraz (4) inne tłuszcze. W innych normach (IUPAC, AOCS, PORIM) tłuszcze podzielono na dwie grupy: (1) masło kakaowe i jego równoważniki oraz (2) inne tłuszcze. W przypadku oleju palmowego oraz łoju istnieją zatem dwie różne procedury termostataowania. Norma ISO zaleca wielogodzinne termostataowanie tych tłuszczów, natomiast pozostałe normy tylko jednogodzinne chłodzenie w temp. 0°C. W niniejszej pracy oznaczono zawartość fazy stałej w tłuszczach należących, zgodnie z normą ISO, do czterech różnych grup, tj. w tłuszczu kakaowym, oleju palmowym, łoju wołowym oraz tłuszczu mlecznym. W każdym z badanych tłuszczów zawartość fazy stałej oznaczono po zastosowaniu jednogodzinnego chłodzenia oraz po wielogodzinnym termostataowaniu. Tłuszcz kakaowy, olej palmowy oraz łój termostataowano zgodnie z normą ISO. Do tłuszczu mlecznego zastosowano metodę jak do tłuszczu kakaowego. Wielogodzinne termostataowanie tłuszczu ma na celu przeprowadzenie go w trwałą formę krystaliczną. W przypadku tłuszczów, w których taka przemiana zachodzi, tzn. tłuszczu kakaowego, oleju palmowego oraz łoju, temperowanie powoduje wzrost zawartości fazy stałej. W tłuszczach niewymagających temperowania, np. w tłuszczu mlecznym, etap ten powoduje obniżenie zawartości fazy stałej poniżej temperatury, w której tłuszcz był stabilizowany. Zgodnie z normą ISO, oznaczając zawartość fazy stałej, wykonuje się pomiar równoległy. Niektóre normy (IUPAC, PORIM) przewidują również możliwość wykonania pomiarów szeregowych. Gdy zastosowana procedura nie jest odpowiednia dla danego tłuszczu, tzn. nie umożliwia przeprowadzenia tłuszczu w trwałą formę krystaliczną, wówczas stosując pomiar szeregowy otrzymuje się wyższe wyniki zawartości fazy stałej. Spowodowane to jest zachodzeniem przemian polimorficznych w trakcie termostataowania badanego tłuszczu w kolejnej, coraz wyższej temperaturze. W przypadku zastosowania prawidłowej procedury pomiar równoległy i szeregowy daje takie same wyniki.

---

*Dr inż. R. Pawłowicz, Zespół Chemii i Technologii Tłuszczów, Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, Politechnika Gdańska, ul. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk,  
e-mail:pawlowic@chem.pg.gda.pl*

**Słowa kluczowe:** zawartość fazy stałej, pulsacyjny magnetyczny rezonans jądrowy, termostatowanie tłuszczów, masło kakaowe, olej palmowy, łój wołowy, tłuszcz mleczny.

## Wstęp

Najważniejszym parametrem, który w sposób ilościowy charakteryzuje cechy użytkowe tłuszczów stałych jest zawartość fazy stałej. Wcześniej, stosując metody pośrednie, mierzono tzw. indeks fazy stałej (SFI – solid fat index). Tego typu oznaczenie wykonywano stosując metody: dylatometryczną [12], densytometryczną [14], ultradźwiękową [9], metody spektrofotometryczne [15, 17] i skaningową kalorymetrię różnicową [6, 13]. Obecnie, zgodnie z normą ISO, do oznaczania zawartości fazy stałej w tłuszczach (SFC – solid fat content) stosuje się metodę pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego [10].

Wynik indeksu lub zawartości fazy stałej zależy z jednej strony od zastosowanej metody analitycznej, a z drugiej od sposobu termostatowania próbki tłuszczu przed pomiarem. Procedury termostatowania zostały ściśle określone jedynie w przypadku metody dylatometrycznej [1] oraz metod NMR [4, 10, 11, 16]. W przypadku pozostałych metod analitycznych korzystano z ww. procedur lub przyjmowano specyficzne sposoby termostatowania.

Spośród wymienionych metod analitycznych jedynie metoda FTIR nie wymaga termostatowania tłuszczu przed pomiarem, ponieważ próbkę analizuje się w postaci stopionej. Kalibrując aparat należy jednak oznaczyć wartość SFI (dylatometria) lub wartość SFC (NMR) we wzorcach, poddanych odpowiednim procedurom termostatowania [17].

Norma dot. oznaczania SFI metodą dylatometryczną [1] zaleca procedurę przygotowania tłuszczu składającą się z następujących etapów: (1) stopienie w temp. 80°C, (2) termostatowanie 15 min w temp. 0°C, (3) termostatowanie 30 min w temp. 26,7°C, (4) kolejno 15 min w temp. 0°C, (5) 30 min w najniższej temp. pomiaru i wykonanie pomiaru, (6) następne termostatowanie 30 min w kolejnej temperaturze pomiaru i wykonanie pomiaru, ... itd.

Niektórzy autorzy taką samą procedurę stosowali przygotowując tłuszcze do oznaczania zawartości fazy stałej metodą pulsacyjnego NMR [8].

W metodzie ultradźwiękowej stosowano procedurę termostatowania charakterystyczną dla dylatometrii [9]. W metodzie densytometrycznej [14] próbka była tylko schłodzona i następnie ogrzewana ze stałą szybkością. Mimo odmiennego sposobu przygotowania próbek stwierdzono dobrą korelację metody densytometrycznej z dylatometryczną [14]. W metodzie spektrofotometrycznej [15] próbki oleju palmowego termostatowano jak w metodzie NMR [16] lub stosowano zmodyfikowaną metodę z chłodzeniem do -20°C [15]. W przypadku analiz metodą

DSC również stosowano różne procedury, np. tłuszcz termostatowano jak w dylatometrii [5] albo stosowano tylko głębokie schłodzenie do  $-30^{\circ}\text{C}$ , a następnie ogrzewanie ze stałą szybkością [13].

Największą liczbę procedur termostatowania próbek przed oznaczeniem zawartości fazy stałej opracowano w przypadku metody NMR. W zdecydowanej większości z nich uwzględniono fakt, że tłuszcze różnią się sposobem krystalizacji, w związku z tym wymagają odmiennych warunków (temperatury i czasu) termostatowania, które pozwoliłyby na uzyskanie odpowiedniej formy krystalicznej. Procedury przygotowania próbek przed oznaczeniem zawartości fazy stałej metodą NMR przedstawiono w tab. 1.

Pierwsza norma AOCS (American Oil Chemists' Society) na oznaczanie zawartości fazy stałej metodą NMR (Cd 16-81) była wielokrotnie aktualizowana. Jeszcze w wersji z 1997 r. zalecała ona stosowanie do wszystkich tłuszczów takiej samej procedury [3]. W wersji z 1999 r. wprowadzono już zasadnicze zmiany [2]. Tłuszcze zostały podzielone na dwie grupy, którym przypisano odmienne procedury, podobnie jak w innych normach [11, 16]. Norma ta opisuje pośrednią metodę pomiaru [2]. Nowsza metoda AOCS (Cd 16b-93 w wersji z 1999 r.), przy stosowaniu takich samych procedur termostatowania, zaleca metodę bezpośrednią [4].

W metodach opracowanych przez IUPAC i PORIM (Palm Oil Research Institute of Malaysia), podobnie jak w aktualnych normach AOCS, tłuszcze podzielone są na dwie grupy. Jedynie w normie ISO 8292 tłuszcze zostały podzielone na cztery grupy. Z grupy tłuszczów, które wg normy IUPAC nie wymagają termostatowania wyodrębniono dwa dodatkowe tłuszcze (olej palmowy oraz łój i jego frakcje), które również powinny być stabilizowane.

Przedstawione powyżej procedury przygotowania próbek są długotrwałe i dlatego nie mogą być stosowane do badania tłuszczów w trakcie procesów technologicznych, np. uwodornienia. W celu znacznego skrócenia czasu analizy próbuje się stosować metody przyspieszone, np. z zastosowaniem szybkiego schłodzenia tłuszczu przy użyciu ciekłego azotu [7]. Należy jednak podkreślić, że otrzymane w ten sposób zawartości fazy stałej mogą się różnić od otrzymanych z zastosowaniem procedur standardowych, co trzeba uwzględnić porównując otrzymane wyniki. Ponadto metody skrócone wydają się być nieprzydatne do analizowania tłuszczów wymagających termoperowania, gdyż jego brak uniemożliwia powstawanie odpowiedniej formy krystalicznej

Celem pracy było określenie wpływu: sposobu przygotowania próbek na zawartość fazy stałej w tłuszczach wymagających odmiennych procedur termostatowania oraz metody pomiaru na otrzymywane wyniki.

Tabela 1

Procedury przygotowania tłuszczów przed oznaczaniem zawartości fazy stałej.  
Fat preparation procedures before solid fat contents are determined

AOCS Cd 16-81 (wersja z 1997 r. / version of 1997) [3]			
1. 70°C – stopienie/ melting		5. 26,7°C – 30 min	
2. 60°C – 30 min		6. 0°C – 15 min	
3. 26,7°C – 15 min		7. t.p.* – 30 min	
4. 0°C – 15 min			
Tłuszcze niewymagające stabilizacji Fats not requiring stabilization		Tłuszcze wymagające długiej stabilizacji (masło kakaowe i jego równoważniki) Fats requiring long stabilization (cocoa butter and CBE)	
IUPAC 2.150a [11]		IUPAC 2.150b [11]	
1. 80°C – stopienie/ melting		1. 80°C – stopienie/ melting	
2. 60°C – 5 min		2. 60°C – 5 min	
3. 0°C – 60 min		3. 0°C – 0 min	
4. t. p.* – 30-35 min		4. 26°C – 40 godz.	
		5. 0°C – 90 min	
		6. t.p.* – 60-65 min	
AOCS Cd 16-81 (wersja z 1999 r. / version of 1999) [2]			
1. 100°C – stopienie/ melting		1. 100°C – stopienie/ melting	
2,3,4 jak IUPAC 2.150a/ as IUPAC 2.150a		2,3,4,5,6 jak w IUPAC 2.150b/ as IUPAC 2.150b	
AOCS Cd 16b-93 (wersja z 1999 r. / version of 1999) [4]			
1. 100°C – stopienie i 15 min/melting and 15 min		1. 100°C – stopienie i 15 min/ melting and 15 min	
2, 3, 4 jak IUPAC 2.150a/ as IUPAC 2.150a		2, 3, 4, 5, 6 jak w IUPAC 2.150b/ as IUPAC 2.150b	
PORIM methods p 4.9 (1995) [16]			
1. 70°C – 30 min		1. 70°C – 30 min	4. 0°C – 90 min
2. 0°C – 90 min		2. 0°C – 90 min	5. t.p.* – 60 min
3. t.p.* – 30 min		3. 26°C – 40 godz.	
ISO 8292 [10]			
p.1 tłuszcze nie ujęte w p.2-4 fat not included in p. 2-4	p.2 łój i frakcje łoju tallow and its fractions	p.3 olej palmowy palm oil	p.4 masło kakaowe i jego równoważniki cocoa butter and CBE

1. 80°C – stopienie / melting	1. 80°C – stopienie melting	1. 80°C – stopienie / melting	1. 80°C – stopienie / melting
2. 60°C – 5 min	2. 60°C – 15 min	2. 60°C – 5 min	2. 60°C – 5 min
3. 0°C – 60 min	3. 0°C – 24 h	3. 10°C – 16 godz.	3. 0°C – 90 min
4. t. p.* – 30-35 min	4. t. p.* – 30 min	4. t. p.* – 30 min	4. 26°C – 40 godz.
			5. 0°C – 90 min
			6. t.p.* – 60-65 min

\*- temperatura pomiaru / measurement temperature.

### Materiał i metody badań

W pracy badano tłuszcze należące do czterech różnych grup i wymagające odmiennych sposobów termostatowania: masło kakaowe (Cargill Foods Company), rafinowany olej palmowy (Zakłady Tłuszczowe „Bielmar” Sp. z o.o.), łój wołowy (wytopiony w laboratorium ze świeżej tkanki tłuszczowej) oraz tłuszcz mleczny (Mlekovita, Wysokie Mazowieckie). Zawartość fazy stałej w badanych tłuszczach oznaczano metodą pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego (pNMR), stosując spektrometr Minispec pc 120 (Bruker). Próbkę tłuszczów przed pomiarem termostatowano zgodnie z procedurami zalecanymi przez normę ISO 8292 (tab. 1), a mianowicie: masło kakaowe temperowano 40 godz. w temp. 26°C, olej palmowy – 16 godz. w temp. 10°C, łój wołowy – 24 godz. w temp. 0°C natomiast tłuszcz mleczny chłodzono tylko 1 godz. w temp. 0°C. Ta ostatnia procedura wg metody IUPAC przeznaczona jest też do oleju palmowego i łoju.

Pomiary zawartości fazy stałej wykonano metodą równoległą oraz szeregową. W metodzie równoległej przed każdym pomiarem przeprowadza się całą procedurę termostatowania, natomiast w przypadku pomiaru szeregowego tłuszcz jest raz schłodzony (ewentualnie stabilizowany), a następnie termostatowany w kolejnej, coraz wyższej temperaturze, w której mierzona jest zawartość fazy stałej.

Wykonując pomiary zawartości fazy stałej spektrometr ustawiono na 3 pomiary w odstępie 2 s. W przypadku masła kakaowego, zgodnie z uwagą zamieszczoną w normie ISO 8292 [10], dodatkowo zastosowano jeden pomiar, a odstęp między impulsami wynosił 6 s.

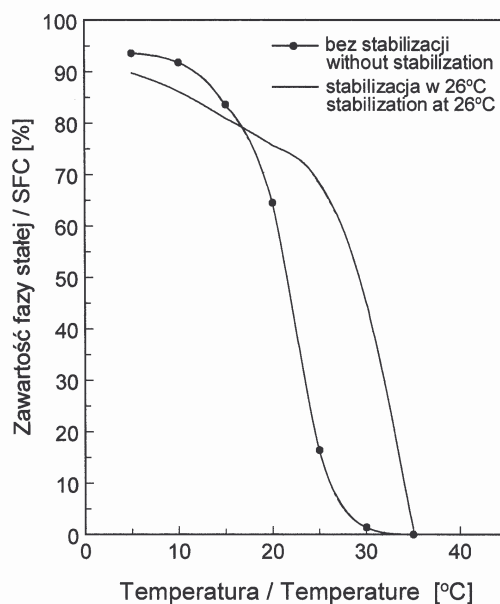
### Wyniki i dyskusja

W metodach IUPAC [11], AOCS [4] oraz PORIM [16] tłuszcze dzielone są na dwie grupy. Do pierwszej z nich należą tłuszcze, które nie wymagają długiej stabilizacji, gdyż po schłodzeniu krystalizują w odpowiedniej formie. Do tej grupy zalicza się zdecydowaną większość tłuszczów. Do drugiej grupy należy masło kakaowe oraz jęgo równoważniki (CBE), czyli tłuszcze, które do uzyskania trwałej

formy krystalicznej  $\beta$  wymagają 40-godz. stabilizacji (temperowania) w temp. 26°C. Jak duże znaczenie ma etap stabilizacji masła kakaowego w temp. 26°C, zaprezentowano na rys. 1.

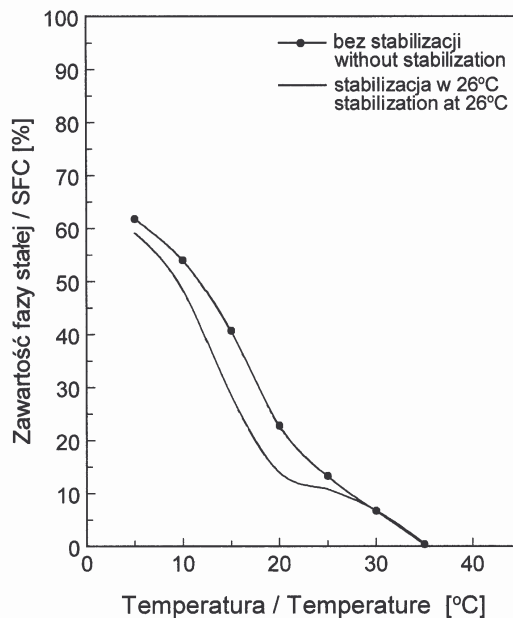
W trakcie temperowania masła kakaowego następuje krystalizacja do formy krystalicznej  $\beta$ , o najwyższej temperaturze topnienia, co w efekcie powoduje wyraźny wzrost zawartości fazy stałej.

W przypadku tłuszczów, w których nie zachodzą przemiany polimorficzne, etap stabilizacji ma odmienny wpływ na zawartość fazy stałej – przykładem może być tłuszcz mleczny. Wpływ stabilizacji tego tłuszczu na zawartość fazy stałej przedstawiono na rys. 2.



Rys. 1. Wpływ 40-godz. stabilizacji w temp. 26°C na zawartość fazy stałej w tłuszczu kakaowym.

Fig. 1. The effect of 40 hours stabilization at 26°C on the SFC in cocoa butter.



Rys.2. Wpływ 40-godz. stabilizacji w temp. 26°C na zawartość fazy stałej w tłuszczu mlecznym.

Fig. 2. The effect of 40 hours stabilization at 26°C on SFC in milk fat.

W trakcie stabilizowania tłuszczu mlecznego niskotopliwe TAG nie krystalizują i pozostają w fazie ciekłej, w efekcie czego poniżej temperatury stabilizacji zawartość fazy stałej zmniejsza się [12, 19].

W przypadku oznaczania zawartości fazy stałej w tłuszczu kakaowym lub jego równoważnikach należy zwrócić uwagę na jeszcze jeden aspekt mający bardzo duży wpływ na otrzymanie prawidłowego wyniku. W przypadku tych tłuszczów, oprócz odmiennej metody przygotowania próbek, należy również stosować inne ustawienie spektrometru NMR w czasie pomiaru. Z reguły, w czasie analizy większości tłuszczów wykonuje się 3 pomiary w odstępie 2 s, a wynik końcowy jest ich średnią. W przypadku tłuszczu kakaowego, ze względu na jego formę krystaliczną (która z kolei ma wpływ na czas relaksacji) [18], odstęp między impulsami powinien wynosić 6 s. W przypadku zastosowania 6 s odstępu i 3 pomiarów, całkowity czas pomiaru wyniósłby 18 s. Tak długie przebywanie tłuszczu w głowicy spektrometru o temp. 40°C miałyby wpływ na otrzymany wynik, szczególnie przy pomiarach zawartości fazy stałej w niskiej temperaturze. W związku z tym, w przypadku stosowania 6 s odstępu między impulsami, wynik powinien pochodzić z 1 pomiaru [10]. W tab. 2. porównano zawartości fazy stałej w próbce tłuszczu kakaowego, otrzymane z 1 pomiaru po 6 s i 3 pomiarów w odstępie 2 s.

Tabela 2

Wpływ ustawienia spektrometru pNMR na wyniki zawartości fazy stałej w tłuszczu kakaowym poddanym temperowaniu.

The effect of pNMR spectrometer settings on solid fat content in tempered cocoa butter.

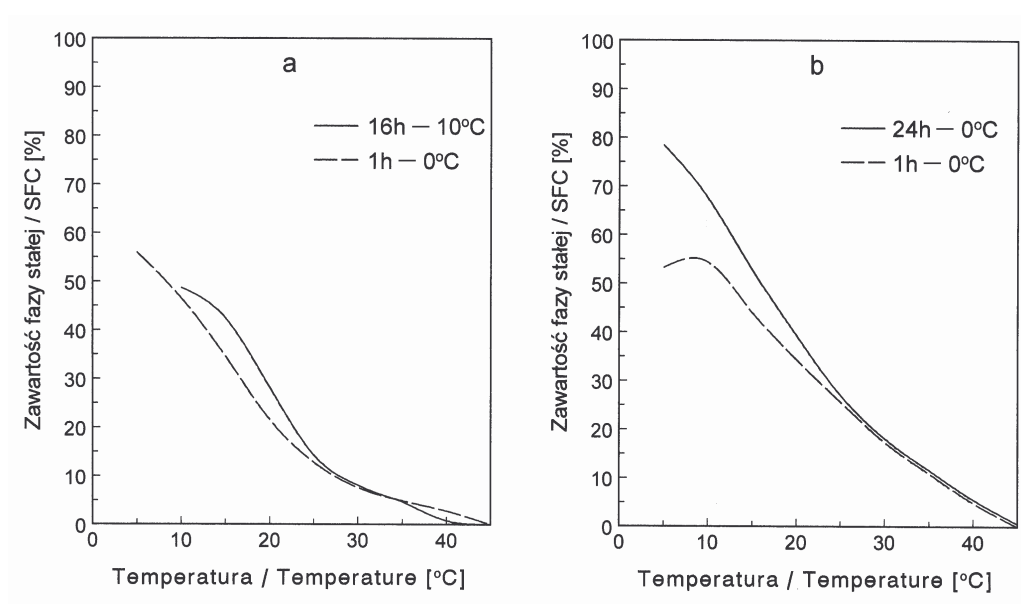
Ustawienia spektrometru NMR NMR spectrometer settings	Temperatura / Temperature [°C]						
	5	10	15	20	25	30	35
1 impuls/ 1 pulse RD* = 6 s	89,8	86,8	81,4	77,2	70,1	46,0	13,4
3 impulsy/ 3 pulses RD* = 2 s	90,0	84,4	79,5	74,4	64,1	38,3	11,0

\* – odstęp między impulsami w [s] / relaxation delay in [s].

Największa bezwzględna różnica w zawartości fazy stałej, dochodząca do 8%, wystąpiła w temp. 30°C. Zatem błąd względny, spowodowany nieodpowiednim dla masła kakaowego ustawieniem aparatu, wyniósł tu ponad 16%.

W normie ISO [10], w odróżnieniu od wcześniej omówionych metod [4, 11, 16], tłuszcze podzielono nie na dwie, lecz na cztery grupy: (1) masło kakaowe, (2) olej palmowy, (3) łój i jego frakcje, (4) pozostałe tłuszcze. Porównując normę ISO z innymi normami zauważa się, że w stosunku do oleju palmowego i łoju wołowego zalecane są różne procedury przygotowania próbek.

Odmiennej sposób termostatowania oleju palmowego oraz łoju [10] miał znaczący wpływ na otrzymaną zawartość fazy stałej, co przedstawiono na rys. 3.





Rys. 3. Wpływ sposobu termostatowania (a) oleju palmowego i (b) łoju wołowego na zawartość fazy stałej.

Fig. 3 The effect of a heat treatment method of palm oil (a) and tallow (b) on SFC.

Stabilizowanie oleju palmowego w temp. 10°C spowodowało podwyższenie zawartości fazy stałej w zakresie 10–25°C. Procedura wg normy ISO w przypadku oleju palmowego jest jedyną, która nie przewiduje chłodzenia oleju palmowego w temp. 0°C. W związku z tym zawartość fazy stałej w tym tłuszczu można w zasadzie oznaczać dopiero od temp. 10°C.

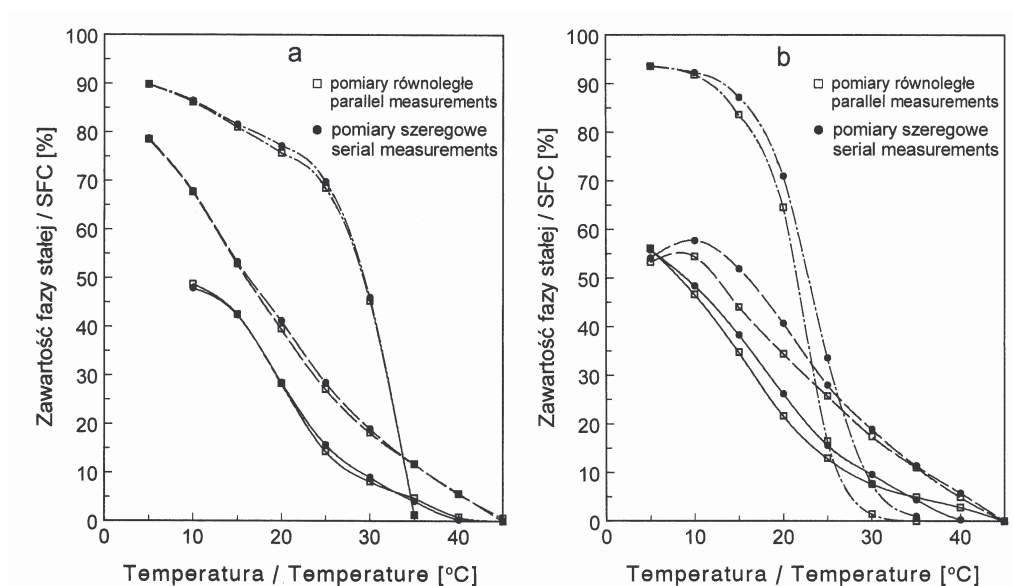
Długotrwałe stabilizowanie łoju w temp. 0°C powoduje, że w zakresie temp. 5–20°C powstaje znacznie więcej fazy stałej. W temp. powyżej 20°C wyniki są niemal identyczne. W przypadku tego tłuszczu obydwie porównywane procedury różnią się jedynie czasem termostatowania próbki w temp. 0°C. Znaczne różnice w zawartości fazy stałej, szczególnie w niskiej temperaturze, dowodzą, że aby wykrystalizowały niskotopliwe TAG potrzebne jest znacznie dłuższe chłodzenie tłuszczu niż przez 1 godz. Przy zastosowaniu 1-godz. chłodzenia można zaobserwować nietypowy przebieg zależności zawartości fazy stałej od temperatury. Wraz ze wzrostem temp. z 5 do 10°C następował nie, jak należało się spodziewać, spadek, lecz wzrost zawartości fazy stałej. Można więc stwierdzić, że po 1-godz. chłodzeniu nie nastąpiło całkowite i prawidłowe wykrystalizowanie łoju. W trakcie 30-min termostatowania przed pomiarem w temp. 10°C następowało z jednej strony częściowe stopienie niskotopliwych TAG, które wykrystalizowały w temp. 0°C, z drugiej natomiast zachodziły przemiany polimorficzne powodujące w efekcie wzrost zawartości fazy stałej.

W przedstawionych powyżej przykładach pomiar zawartości fazy stałej wykonywano w sposób równoległy. Polega on na tym, że przed każdym pomiarem SFC próbka tłuszczu poddawana jest pełnej procedurze przygotowawczej. Taki sposób pomiaru zalecają m.in. normy ISO [10] i AOCS [4]. Zawartość fazy stałej można też oznaczać stosując pomiar szeregowy [16]. W takim przypadku próbka tłuszczu jest raz schłodzona (i ewentualnie stabilizowana), a następnie termostatowana w kolejnej, coraz wyższej temperaturze i po każdym termostatowaniu wykonuje się pomiar zawartości fazy stałej. W przypadku pomiaru szeregowego, im wyższa temperatura pomiaru, tym tłuszcz jest poddany dłuższej procedurze, gdyż był on wcześniej termostatowany w niższej temperaturze, w której wykonano pomiary fazy stałej. W przypadku, gdy zastosowana procedura stabilizacji nie doprowadziła do powstania trwałej formy krystalicznej, w kolejnej coraz wyższej temperaturze mogą zachodzić dalsze przemiany mające wpływ na zawartość fazy stałej. Na rys. 4. przedstawiono zależności zawartości fazy stałej tłuszczu kakaowego, oleju palmowego i łoju wołowego od temperatury. Porównano wyniki pomiarów szeregowych i równoległych, otrzymane przy zastosowaniu procedur przeznaczonych dla każdego z tych tłuszczów;

wg normy ISO 8292 (rys. 4a) oraz procedury bez stabilizacji próbki, a jedynie po 1 godz. chłodzeniu w temp. 0°C (rys. 4b).

W przypadku zastosowania odpowiednich dla badanych tłuszczów procedur (rys. 4a) wyniki z pomiaru szeregowego i równoległego pokrywają się, natomiast po zastosowaniu procedury z 1-godz. chłodzeniem w temp. 0°C w pomiarze szeregowym uzyskuje się wyższe zawartości fazy stałej.

Powyższe wyniki dowodzą, że pomiar szeregowy może być stosowany jedynie wówczas, jeśli mamy pewność, że zastosowany sposób termostatowania jest odpowiedni dla danego tłuszczu i w efekcie uzyskuje się takie same wyniki jak w pomiarze równoległym. Z drugiej strony wykonanie pomiarów w sposób równoległy i szeregowy oraz porównanie wyników pozwala stwierdzić, czy zastosowana procedura była prawidłowa i czy badany tłuszcz uzyskał odpowiednią, niezmienną się w trakcie termostatowania, formę krystaliczną.



Rys. 4. Wpływ metody pomiaru na zawartość fazy stałej w tłuszczu kakaowym (---), oleju palmowym (—) i łożu (- - -).  
a) termostatowanie zgodnie z normą ISO 8292, b) chłodzenie 1godz. w temp. 0°C.

Fig. 4. The effect of a measuring on SFC in cocoa butte (---), palm oil (—) and tallow (- - -).  
a) termostating according to ISO 8292, b) 1 hour cooling at 0°C.

## Wnioski

1. Masło kakaowe, olej palmowy oraz łój wołowy powinny być poddawane wielogodzinnej stabilizacji przed oznaczeniem zawartości fazy stałej. Brak takiej stabilizacji powoduje otrzymywanie niższych zawartości fazy stałej, a w przypadku łożu może nawet spowodować otrzymanie nietypowych zależności, tzn. zwiększenie zawartości fazy stałej wraz ze wzrostem temperatury.
2. W przypadku oznaczania zawartości fazy stałej w tłuszczu kakaowym oraz jego równoważnikach należy pamiętać o prawidłowym ustawieniu spektrometru NMR. Wynik powinien pochodzić z jednego pomiaru, a odstęp między impulsami powinien wynosić 6 s.
3. W przypadku zastosowania prawidłowej procedury termostatowania wyniki pomiaru równoległego i szeregowego nie różnią się między sobą. W przeciwnym razie w pomiarze szeregowym uzyskuje się wyższe wyniki.

*Praca finansowana przez KBN w ramach grantu 6 P06T 071 21*

## Literatura

- [1] AOCS Official Methods: Cd 10-57, Solid fat index. Dilatometric method. 1997.
- [2] AOCS Official Methods: Cd 16-81, Solid fat content (SFC) by low resolution nuclear magnetic resonance - The indirect method. 1999.
- [3] AOCS Official Methods: Cd 16-81, Solid fat content (SFC) by nuclear magnetic resonance spectrometry (NMR). 1997.
- [4] AOCS Official Methods: Cd 16b-93, Solid fat content (SFC) by low resolution nuclear magnetic resonance - The direct method. 1999.
- [5] Bentz A.P., Breidenbach B.G.: Evaluation of the differential scanning calorimetric method for fat solids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1969, **46** (2), 60-63.
- [6] Bornaz S., Fanni J., Parmentier M.: Limit of the solid fat content modification of butter. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1994, **71** (12), 1373-1380.
- [7] Breitschuh B., Windhab E.J.: Direct measurement of thermal fat crystal properties for milk-fat fractionation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1996, **73** (11), 1603-1610.
- [8] de Man L., de Man J.M., Blackman B.: Physical and textural characteristics of some North American shortenings. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1991, **68** (2), 63-69.
- [9] Hussin A.B.B.H., Povey M.J.W.: A study of dilatation and acoustic propagation in solidifying fats and oils: II. Experimental. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1984, **61** (3), 560-564.
- [10] ISO 8292: 1991. Animal and vegetable fats and oils. Determination of solid fat content. Pulsed nuclear magnetic resonance method.
- [11] IUPAC Method 2.150: Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives, 7<sup>th</sup> edn, Blackwell Scientific Publications, Oxford 1987.
- [12] Madison B.L., Hill R.C.: Determination of the solid fat content of commercial fats by pulsed nuclear magnetic resonance. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1978, **55** (3), 328-331.

- [13] Miller W.J., Koestner W.H., Freeberg F.E.: The measurement of fatty solids by differential scanning calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1969, **46** (7), 341-343.
- [14] Mills B.L., van de Voort F.R.: Determination of solid fat index of fats and oils using the Anton Paar density meter. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1981, **58** (5), 618-621.
- [15] Ong A.S.H., Boey P.L., Ng C.M.: Spectrophotometric method for determination of solid fat content of palm oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1982, **59** (5), 223-226.
- [16] PORIM Test Methods: Determination of solid fat content by nuclear magnetic resonance: Method II by pulsed NMR (p. 4.9). Palm Oil Research Institute of Malaysia 1995.
- [17] Van de Voort F.R., Memon K.P., Sedman J., Ismail A.A.: Determination of solid fat index by Fourier transform infrared spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1996, **73** (4), 411-416.
- [18] Waddington D.: Some applications of wide-line nuclear magnetic resonance in the oils and fats industry. In: *Fats and oils: Chemistry and technology*, ed. R.J. Hamilton and A. Bahti. Applied Science Publishers Ltd, London, 1980, p. 25.
- [19] Walker R.C., Bosin W.A.: Comparison of SFI, DSC and NMR methods for determining solid-liquid ratios in fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1971, **48** (2), 50-53.

**THE EFFECT OF THERMOSTATING PROCEDURES AND METHODS  
OF MEASUREMENTS ON THE EVALUATION RESULTS OF SOLID FAT CONTENTS  
IN SOME SELECTED FATS**

S u m m a r y

Pulsed NMR is a method recommended by international standards for determination of solid fat content (SFC). Fats are thermostated before SFC are determined. Fats are divided into several groups owing to differences in their crystallization processes. Different thermostating procedures have been worked out for each group. According to the ISO 8292 standard on the determination of SFC, fats are divided into four groups: (1) cocoa butter and its equivalents, (2) palm oil, (3) tallow and its fractions, and (4) other fats. According to other standards (IUPAC, AOCS, PORIM), fats are divided into two groups: (1) cocoa butter and its equivalents, and (2) other fats. Therefore, two different procedures are used to thermostate palm oil and tallow. The ISO 8292 standard recommends that these fats are tempered for many hours, whereas other standards recommend only 1 hr cooling at 0°C. In this study, SFC in fats that, according to ISO 8292, belong to four different groups (cocoa butter, palm oil, tallow, and milk fat) were determined. Solid fat contents in samples were determined after a 1 hr cooling and many hr lasting tempering processes. With regard to cocoa butter, palm oil and tallow, ISO procedures specifically designed for these fats were used. Milk fat was tempered in a similar way as cocoa butter. Fats are tempered in order to change them into a stable crystalline form. In case of fats in which such changes occur, i.e. cocoa butter, palm oil and tallow, tempering causes an increase in SFC. In fats not requiring tempering, e.g., milk fat, this step causes a decrease in SFC at a temperature appearing lower as the temperature at which the fat was tempered. Additionally, some standards (IUPAC, PORIM) include a possibility of taking serial measurements. When procedure applied is not suitable for a given fat, i.e. when it is not possible to change the fat into a stable crystalline form, then, a higher SFC is obtained while

taking series measurements. This effect is caused by polymorphic transformations occurring during the process of thermostating samples at successively increasing temperatures. If a procedure applied is fitting, both the parallel and serial measurements supply the same results.

**Key words:** solid fat content, pulsed nuclear magnetic resonance, tempering of fats, cocoa butter, tallow, palm oil, milk fat ☒