ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, 2 (39), 59 - 68

ROMAN PAWŁOWICZ, BRONISŁAW DROZDOWSKI

OZNACZANIE FAZY STAŁEJ W TŁUSZCZACH

S t r e s z c z e n i e

Zawartość fazy stałej jest podstawowym parametrem, który w sposób ilościowy charakteryzuje właściwości fizyczne tłuszczów stałych. Istnieje wiele metod pośrednich pozwalających określić poziom fazy stałej w tłuszczu na podstawie innych wielkości fizycznych. Oznaczona w ten sposób wielkość określana jest jako indeks fazy stałej (solid fat index – SFI). W metodzie dylatometrycznej do wyznaczania wartości SFI wykorzystuje się różnicę w objętości właściwej tłuszczu stałego i ciekłego, w metodzie densytometrycznej różnicę w gęstości tych tłuszczów, a w metodzie ultradźwiękowej różnicę w szybkości rozchodzenia się ultradźwięków w tłuszczu stałym i ciekłym. W metodzie FTIR tłuszcz analizuje się w stanie ciekłym, a indeks fazy stałej wylicza na podstawie pasm absorpcji charakterystycznych dla wybranych grup funkcyjnych, wykorzystując kalibrację wykonaną wcześniej za pomocą wzorców o znanej wartości SFI. Metodę spektrofotometryczną w zakresie światła widzialnego opracowano do oznaczania indeksu fazy stałej w oleju palmowym, a wykorzystuje się w niej różnicę w stężeniu karotenoidów w oleju ciekłym i stałym. Stosując metodę skaningowej kalorymetrii różnicowej, indeks fazy stałej oznacza się na podstawie krzywej topnienia, całkując powierzchnię pod krzywą. Spośród metod pośrednich najczęściej stosowana bywa dylatometria.

Do oznaczania zawartości fazy stałej (solid fat content – SFC) służą metody szerokopasmowego i pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego. W pierwszej z nich zawartość fazy stałej oznacza się na podstawie intensywności wąskiego sygnału rezonansowego pochodzącego od protonów znajdujących się w fazie ciekłej. W metodzie pulsacyjnego NMR próbka tłuszczu umieszczona zostaje w stałym zewnętrznym polu magnetycznym, a protony znajdujące się w tym tłuszczu, po wzbudzeniu za pomocą krótkiego impulsu elektromagnetycznego, ulegają zjawisku relaksacji. Oznaczając zawartość fazy stałej wykorzystuje się fakt, że czas relaksacji protonów w fazie stałej jest krótszy niż w fazie ciekłej. Obecnie metoda pulsacyjnego NMR jest zalecana przez normy międzynarodowe i powszechnie stosowana zarówno w laboratoriach badawczych, jak i przemysłowych.

Słowa kluczowe: zawartość fazy stałej, indeks fazy stałej, metody analityczne, pulsacyjny NMR, szerokopasmowy NMR, DSC.

Dr inż. R. Pawłowicz, prof. dr hab. inż. B. Drozdowski, 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

Wstęp

W zależności od przeznaczenia tłuszcze stałe powinny charakteryzować się różną plastycznością, konsystencją, formą krystaliczną czy też zakresem topnienia. Najważniejszym parametrem, który w sposób ilościowy charakteryzuje cechy użytkowe tłuszczów stałych jest zawartość fazy stałej w poszczególnych zakresach temperatury. Do oznaczania tej wielkości były lub są stosowane różne metody analityczne. Niektóre z nich, np. metody pośrednie, stosowano do wyznaczania indeksu fazy stałej (solid fat index – SFI), natomiast obecnie stosowane metody pozwalają bezpośrednio oznaczać w tłuszczach zawartość fazy stałej (solid fat content – SFC).

Celem niniejszej pracy było dokonanie przeglądu metod oznaczania indeksu fazy stałej oraz zawartości fazy stałej w tłuszczach. Obok metody pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego, obecnie powszechnie stosowanej i zalecanej przez normy międzynarodowe, przedstawiono też inne metody analityczne które stosowano lub stosuje się do tego typu analiz.

Oznaczanie indeksu fazy stałej (SFI)

Dylatometria

Tradycyjną i najczęściej stosowaną metodą oznaczania fazy stałej była dylatometria [1]. W metodzie tej wykorzystuje się zjawisko dylatacji, czyli termicznej rozszerzalności tłuszczu. Wzrost objętości spowodowany jest zarówno rozszerzalnością tłuszczu stałego na skutek wzrostu temperatury, jak również zmianą stanu skupienia tłuszczu (topnienie), przy czym to drugie zjawisko ma tu znaczenie decydujące [6]. Pomiar objętości wykonuje się w coraz wyższej temperaturze, również w takiej, gdy tłuszcz jest całkowicie ciekły. Na podstawie zmian objętości w funkcji temperatury można wyliczyć jaka część tłuszczu w danej temperaturze występuje w postaci stałej. Wynik podaje się w procentach, jako indeks fazy stałej (SFI).

Metoda densytometryczna

Zjawisko rozszerzalności tłuszczu wykorzystane zostało również w metodzie densytometrycznej [12]. Podczas gdy w metodzie dylatometrycznej mierzy się wzrost objętości spowodowany wzrostem temperatury, to w metodzie densytometrycznej mierzy się zmiany gęstości tłuszczu, wynikające ze wzrostu temperatury. W metodzie tej tłuszcz po schłodzeniu jest w sposób ciągły ogrzewany ze stałą szybkością i mierzona jest jego gęstość.

Metoda ultradźwiękowa

W tej metodzie [7] wykorzystuje się fakt, że inna jest szybkość rozchodzenia się ultradźwięków w tłuszczu stałym i tłuszczu ciekłym. Dlatego szybkość ta ulega zmianom, gdy następuje topnienie lub krystalizacja tłuszczu, czyli zmienia się zawartość tłuszczu stałego. Autorzy podają, że otrzymano bardzo dobrą zgodność wyników uzyskanych metodą dylatometryczną i ultradźwiękową [7]. Aparat do pomiaru fazy stałej, wykorzystujący metodę ultradźwiękową, odpowiednio zaadaptowany może być wykorzystany do pomiarów *on-line* [5]. Najnowsze badania [14] wykazały jednak, że na szybkość rozchodzenia się ultradźwięków wpływa nie tylko ilość tłuszczu stałego, ale też jego formy krystaliczne, co może w sposób znaczący wpływać na otrzymany wynik.

Metody spektrofotometryczne

Do oznaczania indeksu fazy stałej można też wykorzystać spektrofotometrię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) [18]. Zawartość fazy stałej w badanym tłuszczu oznacza się na podstawie pasm absorpcji charakterystycznych dla wybranych grup funkcyjnych, m.in. metylenowych, wiązań podwójnych *cis* i *trans* oraz wiązań estrowych. Przeprowadzając kalibrację aparatu przy użyciu wzorców o znanej wartości SFI otrzymano bardzo dobrą korelację pomiędzy wynikami otrzymanymi metodą FTIR i dylatometryczną. Autorzy twierdzą, że jeśli do kalibracji zastosuje się wzorce o znanej zawartości fazy stałej (SFC), należy się spodziewać równie dobrej korelacji wyników między wartościami otrzymanymi metodą NMR i FTIR [18].

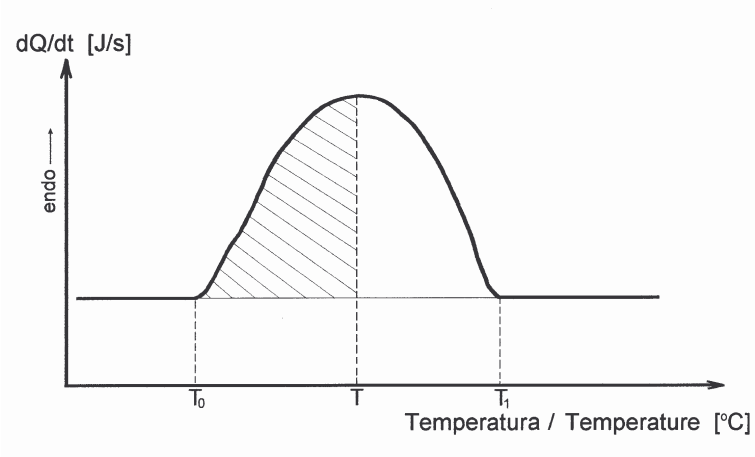
Malezyjscy badacze [13] zaproponowali do oznaczania zawartości fazy stałej w surowym oleju palmowym metodę spektrofotometryczną w zakresie światła widzialnego. W metodzie tej wykorzystuje się różnicę w stężeniu karotenoidów we frakcji ciekłej i stałej oleju palmowego. Zakłada się, że w częściowo wykrystalizowanym oleju palmowym barwniki karotenoidowe pozostają w fazie ciekłej. Pomiar absorpcji promieniowania w wydzielonej (drogą filtracji lub wirowania) frakcji ciekłej oraz w całym oleju po stopieniu pozwala wyznaczyć wartość SFI. Wyniki otrzymane w temp. poniżej 15^{o}C były niższe niż otrzymane metodą szerokopasmowego NMR. Powyżej tej temperatury wyniki były zbieżne [13].

Skaningowa kalorymetria różnicowa

Do wyznaczania indeksu fazy stałej często stosowano metodę skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) [3, 4, 10, 11, 20]. W tym celu wykorzystuje się krzywe topnienia analizowanych tłuszczów. Taką przykładową krzywą przedstawiono na rys. 1.

Wykorzystując dane eksperymentalne z analiz DSC, różni autorzy proponowali odmienne metody wyliczania wartości SFI. Lambelet i Raemy [10] przyjęli, że powierzchnia pod krzywą w zakresie temperatur T_0T_1 odpowiada ilości ciepła

potrzebnego do stopienia całego tłuszczu. W temp. T stopiona jest część tłuszczu, której odpowiada powierzchnia w zakresie T_0T, natomiast powierzchnia w zakresie TT_1 odpowiada tłuszczowi, który w temp. T jest jeszcze stały. Na tej podstawie wylicza się, jaka część tłuszczu jest stała w temp. T, a więc wartość SFI w tej temperaturze. W omawianej metodzie obliczeniowej zakłada się, że w temp. T_0 zawartość fazy stałej wynosi 100%, a w temp. $T_1 = 0\%$ [10].



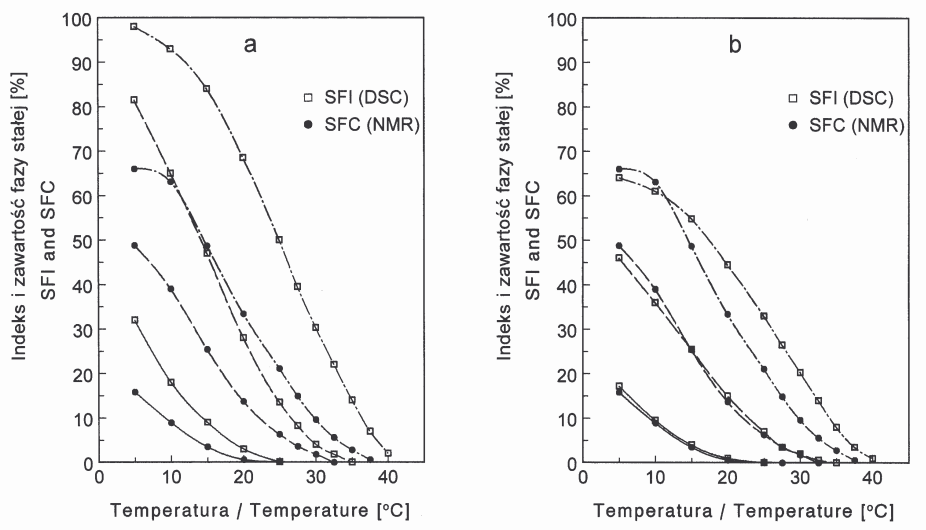
Rys. 1. Krzywa topnienia tłuszczu otrzymana metodą DSC [10].
Fig. 1. DSC melting curve [10].

Inną metodę wyliczania wartości SFI na podstawie krzywych topnienia przyjęli Bentz i Breidenbach [3]. Założyli oni, że średnie ciepło topnienia tłuszczów wynosi 35 cal/g (146,6 J/g). Wartość SFI w temp. T obliczano dzieląc ciepło odpowiadające powierzchni TT_1 przez podaną wyżej średnią wartość ciepła topnienia, natomiast w temp. T_0 dzieląc przez tę wartość ciepło odpowiadające całej powierzchni pod krzywą (T_0T_1). Przy tej metodzie obliczeniowej otrzymuje się wartość SFI, która w temp. T_0 jest z reguły niższa od 100%. Należy tu zaznaczyć, że żadna z obu wyżej omówionych metod obliczeniowych nie uwzględnia faktu, że triacyloglicerole obecne w badanym tłuszczu mogą charakteryzować się różnymi wartościami ciepła topnienia [3, 10].

Na rys. 2. przedstawiono wartości SFI otrzymane metodą DSC przy zastosowaniu obu metod obliczeniowych oraz porównanie ich z zawartością fazy stałej wyznaczoną metodą pulsacyjnego NMR [15].

Wyniki przedstawione na rys. 2. dowodzą, że wartości SFI wyliczone metodą Lambeleta-Raemy'ego są znacznie wyższe niż zawartości fazy stałej oznaczone metodą NMR. Stosując metodę Bentza-Breidenbach, w przypadku tłuszczów mniej uwodornionych (wyższe LJ) otrzymano wartości SFI identyczne z wartościami SFC. Różnice powstające w przypadku tłuszczów o niższych liczbach jodowych wynikają z

pojawiania się w tłuszczu nasyconych TAG, posiadających wyższe ciepło topnienia niż przyjęte do obliczeń (35 cal/g) [3].



Rys. 2. Porównanie wartości SFI (metoda DSC) oraz SFC (metoda NMR) uwodornionego oleju rzepakowego. Liczba jodowa: 85 (——), 75 (– – – –) i 70 (– · – · –) jednostek [15].
Obliczenia SFI wg Lambeleta-Raemy'ego (a) oraz Bentza-Breidenbach (b).

Fig. 2. Comparison of SFI (DSC method) and SFC (NMR method) values of the hydrogenated rapeseed oil. Iodine value: 85 (——), 75 (– – – –) and 70 (– · – · –) [15].
Calculations of the SFI values according to Lambelet-Raemy (a) and Bentz-Breidenbach (b).

Metoda kalorymetrii różnicowej jest metodą dynamiczną, to znaczy, że w czasie analizy w sposób ciągły zmienia się temperatura. W przypadku tłuszczów w trakcie ogrzewania, oprócz topnienia (proces endotermiczny) mogą zachodzić przemiany polimorficzne (powstawanie trwalszych form krystalicznych), które są procesami egzotermicznymi. Otrzymana krzywa jest wówczas wypadkową obu zachodzących procesów, a wyliczenie wartości SFI jest w takich przypadkach niemożliwe.

Oznaczanie zawartości fazy stałej (SFC)

Magnetyczny rezonans jądrowy (NMR)

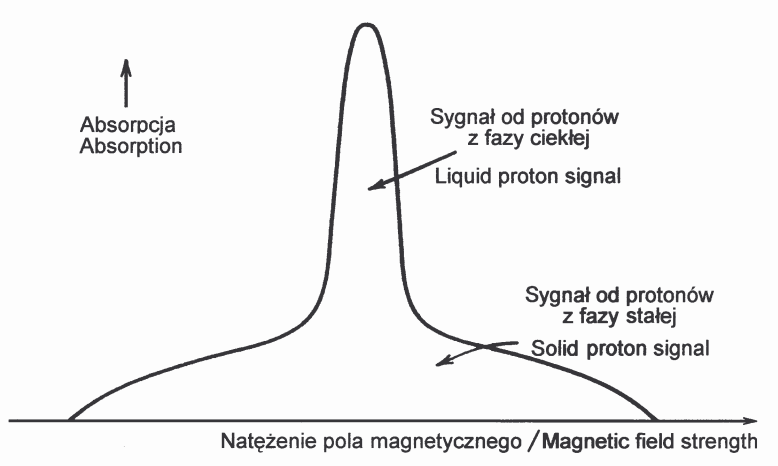
Do oznaczania zawartości fazy stałej (SFC) w tłuszczach stosuje się metody wykorzystujące niskorozdzielczy magnetyczny rezonans jądrowy (metoda szerokopasmowa i pulsacyjna).

Pierwszy aparat do szerokopasmowego NMR powstał w 1968 r. (Newport Instruments), a wkrótce potem firma Bruker wyprodukowała spektrometr do

pulsacyjnego NMR [19]. Metoda pulsacyjnego NMR, m.in. ze względu na znacznie większą czułość [17], uznawana jest za lepszą niż metoda szerokopasmowa, a normy międzynarodowe zalecają ją do oznaczanie zawartości fazy stałej [2, 8, 9]. Metoda ta jest również przyjęta do stosowania w polskiej normie PN-EN ISO 8292 [16].

W obu powyższych metodach następuje rozróżnienie protonów znajdujących się w cieczy i w fazie stałej. Dzięki temu możliwe jest oznaczenie, jaka część tłuszczu znajduje się w fazie stałej.

W przypadku ***szerokopasmowego NMR*** wykorzystuje się fakt, że sygnał rezonansowy pochodzący od protonów fazy ciekłej jest wąski (ok. 0,1 Gs) i wysoki, natomiast pochodzący od protonów fazy stałej jest szeroki (ok. 10 Gs) i płaski. Sygnał taki pochodzący od mieszaniny fazy stałej i ciekłej przedstawiono na rys. 3.

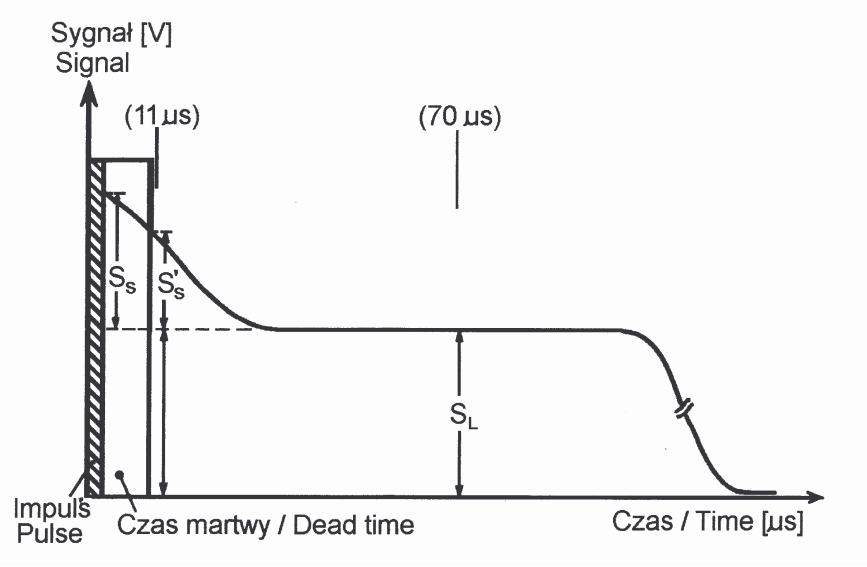


Rys. 3. Krzywa absorpcji mieszaniny fazy stałej i ciekłej w szerokopasmowym NMR [17].
Fig. 3. Wide-line NMR curve of a liquid and solid fat mixture [17].

Taki kształt sygnału wynika z faktu, że na każdy proton działa nie tylko zewnętrzne pole magnetyczne, ale również pola pochodzące od sąsiednich protonów i elektronów. W przypadku cieczy ciągły ruch cząsteczek powoduje, że ich ustawienie jest losowe, w efekcie czego niweluje się wpływ pola pochodzącego od sąsiednich protonów, a natężenie pola wokół pojedynczego protonu jest w przybliżeniu równe natężeniu zewnętrznego pola magnetycznego. W ciele stałym atomy znajdują się w ustalonych pozycjach sieci krystalicznej, przez co wpływają na zmianę lokalnego pola magnetycznego. Pole poszczególnych protonów może być zatem różne i przez to może powodować przesunięcie ich częstości rezonansowej, co w efekcie przejawia się szerokim i płaskim sygnałem.

Na podstawie pomiaru wielkości sygnału pochodzącego od fazy ciekłej w danej temperaturze oraz sygnału w temperaturze, w której próbka jest całkowicie ciekła, można oznaczyć procentową zawartość fazy ciekłej, a na tej podstawie fazy stałej.

W metodzie ***pulsacyjnego NMR*** (pNMR) próbkę umieszczoną w zewnętrznym stałym polu magnetycznym poddaje się działaniu krótkiego impulsu elektromagnetycznego o częstotliwości radiowej. Impuls ten powoduje wzbudzenie protonów, które w efekcie indukują sygnał w cewce odbiorczej aparatu. Maksymalną wartość tego sygnału uzyskuje się wówczas, gdy kąt pomiędzy stałym polem magnetycznym a polem wzbudzającym wynosi 90º. Po zaniku impulsu protony ze stanu wzbudzonego powracają do stanu podstawowego. Jest to tzw. proces relaksacji, zaś szybkość z jaką protony powracają do stanu podstawowego jest określana przez czas relaksacji. Protony w fazie stałej posiadają krótszy czas relaksacji od protonów fazy ciekłej. Jest to następstwem mniejszych odległości między tymi protonami i szybszej wymiany energii. W fazie ciekłej odległości między protonami są większe, ich ruchliwość także, zatem czas relaksacji wydłuża się. Przebieg zaindukowanego sygnału w czasie został przedstawiony na rys. 4.



Rys. 4. Sygnał pochodzący od mieszaniny tłuszczu stałego i ciekłego w metodzie pNMR [19].
Fig. 4. Pulsed NMR curve of a liquid and solid fat mixture [19].

Wartość sygnału tuż po impulsie (w czasie t_o) jest proporcjonalna do całkowitej liczby protonów w tłuszczu (w fazie ciekłej i stałej), natomiast po upływie 70 µs sygnał pochodzi już tylko od protonów fazy ciekłej. Impuls promieniowania radiowego powoduje, że pomiar wielkości sygnału w czasie t_o jest niemożliwy. Pomiaru dokonuje się zatem po upływie tzw. czasu martwego (t_m), po około 11 µs. Współczynnik

korekcyjny f, wyznaczany w czasie kalibracji aparatu, umożliwia skorygowanie otrzymanej wartości do czasu t_0. Wartość tego współczynnika wynosi około 1,4.

Znając wielkości sygnału po 11 i 70 μs oraz współczynnik korekcyjny f można obliczyć zawartość fazy stałej (SFC) z następującego równania:

$$SFC = fS_S'/(fS_S'+S_L) \cdot 100\ [\%]$$

gdzie: S_L – wartość sygnału po 70 μs, pochodząca od protonów fazy ciekłej,
S_S' – różnica wartości sygnałów po 11 μs i 70 μs,
$fS_S' = S_S$ – sygnał pochodzący od protonów fazy stałej.

Przedstawiona powyżej metoda pomiaru jest tzw. metodą bezpośrednią. Oznaczając zawartość fazy stałej można też wykonać pomiar metodą pośrednią. W tym przypadku korzysta się tylko z wartości sygnału po 70 μs, tzn. pochodzącego od protonów fazy ciekłej. Konieczne jest jednak dwukrotne przeprowadzenie pomiaru tej samej próbki. Pierwszy pomiar prowadzi się w temperaturze, w której chcemy oznaczyć zawartość fazy stałej, natomiast drugi w temperaturze, w której tłuszcz jest całkowicie stopiony. Wielkość sygnału z pierwszego pomiaru jest proporcjonalna do liczby protonów w fazie ciekłej, a z drugiego do całkowitej liczby protonów w tłuszczu. Sposób wyliczenia zawartości fazy stałej w tej metodzie jest zatem podobny jak w metodzie szerokopasmowego NMR.

Stosowanie różnych metod analitycznych do oznaczania fazy stałej powoduje, że otrzymane wyniki mogą znacznie różnić się między sobą. Ponadto podkreślić należy, że oprócz stosowanej metody, bardzo duży wpływ na otrzymany wynik ma również sposób przygotowania próbki tłuszczu przed pomiarem. Podając więc zawartość fazy stałej w tłuszczu należy podać nie tylko jaką metodą analityczną wykonano pomiar, ale też w jaki sposób przygotowywano próbkę tłuszczu przed oznaczeniem.

Podsumowanie

Spośród przedstawionych metod analitycznych najlepszą wydaje się być metoda pulsacyjnego NMR. W przypadku pośrednich metod analitycznych na otrzymany wynik wpływa nie tylko ilość fazy stałej, ale także inne właściwości analizowanego tłuszczu, np. typ formy krystalicznej czy rodzaj TAG obecnych w tłuszczu. Prawidłowe przeprowadzenie pomiaru metodą pNMR pozwala uniezależnić wynik od tych właściwości. Poza tym, metoda pNMR jest metodą powtarzalną, wykonanie oznaczenia jest bardzo proste, trwa zaledwie kilka sekund i nie wymaga wykwalifikowanego personelu. Obecnie jest to też metoda najczęściej stosowana. Jej wadą jest natomiast wysoki koszt aparatury.

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 16b-93, Solid fat content (SFC) by low resolution nuclear magnetic resonance - The direct method, 1999.

[3] 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.

[4] 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.

[5] Cygnus Instruments Ltd.: Cygnus UVM1 emulsion, oil and solution analyser. Dorchester 1993.

[6] Haighton A.J., Vermaas L.F., den Hollander C.: Determination of the solid-liquid ratio of fats by wide-line NMR. J. Am. Oil Chem. Soc, 1971, **48 (1)**, 7-10.

[7] 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.

[8] ISO 8292: Animal and vegetable fats and oils. Determination of solid fat content. Pulsed nuclear magnetic resonance method. 1991.

[9] IUPAC Method 2.150: Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives, 7th edn, Blackwell Scientific Publications, Oxford 1987.

[10] Lambelet P., Raemy A.: Iso-solid diagrams of fat blends from thermal analysis data. J.Am.Oil Chem. Soc., 1983, **60 (4)**, 845-847.

[11] 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.

[12] 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.

[13] 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.

[14] Pal Singh A., McClements D.J., Marangoni A.G.: Comparison of ultrasonic and pulsed NMR techniques for determination of solid fat content. J. Am. Oil Chem. Soc, 2002, **79 (5)**, 431-437.

[15] Pawłowicz R.: Dane niepublikowane.

[16] PN-EN ISO 8292:1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości fazy stałej. Metoda pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego.

[17] Sleeter R.T.: Instrumental analysis for quality control and quality assurance. In: Bailey's industrial oil and fat products, vol. 3, ed. T.H. Applewhite. John Wiley&Sons, New York. 1985, p. 203.

[18] 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.

[19] 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.

[20] Walker R.C., Bosin W.A.: Comparison of SFI, DSC and NMR methods for determining solid-liquid rations in fats. J. Am. Oil Chem. Soc., 1971, **48 (2)**, 50-53.

THE DETERMINATION OF SOLID FAT CONTENT IN FATS

S u m m a r y

A solid fat content (SFC) is the basic parameter, which quantitatively characterizes physical properties of solid fats. There are many indirect methods allowing for the determination of the level of solids in fats based on some other physical quantities. The quantity determined in this way is expressed as solid fat index (SFI). The difference between the specific volumes of liquid and solid fat is used to determine the SFI value using the dilatometric method, whereas the difference in the rate of sound propagation in liquid and solid fats is applied in the ultrasonic method. In the FTIR method, fat is analyzed in liquid state, and the SFI is calculated on the basis on the absorption bands characteristic for selected functional groups that were earlier determined using standard samples with the known SFI values; also, the calibration is used. The spectrophotometric method in the visible light range was developed for the purposes of determination of solid fat index in palm oil; this method utilizes differences between the concentration values of carotenoids in liquid and in solid fat. Owing to the DSC method applied, it is possible to determine a solid fat index based on the melting curves by calculating the area below the curve. Dilatometry is the most frequently used indirect method.

Wide-line and pulsed NMR methods are used to determine solid fat contents (SFC). In the wide-line method, the SFC value is determined based on the intensity of a narrow resonance signal coming from protons existing in liquid fat. In the pulsed NMR method, a fat sample is inserted in the constant external magnetic field and protons in the fat, as soon as they are excited by a short electromagnetic impulse, undergo a phenomenon known as relaxation. It is possible to determine the SFC value because the relaxation time of protons in solid fat is shorter than in liquid fat. The pulsed NMR method is currently recommended by international standards and it is commonly used both in research and industrial laboratories.

Key words: solid fat content, solid fat index, analytical methods, pulsed NMR, wide-line NMR, DSC