

## WPŁYW WYBRANYCH CZYNNIKÓW NA DOKŁADNOŚĆ OZNACZENIA PARAMETRÓW TERMODYNAMICZNYCH TŁUSZCZU KAKAOWEGO PRZY UŻYCIU RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ DSC

Jolanta Tomaszewska-Gras

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

**Streszczenie.** W pracy zbadano wpływ takich czynników, jak prędkość schładzania/ogrzewania oraz sposób kalibracji aparatu DSC na dokładność oznaczeń temperatury [°C], entalpii [ $\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$ ] oraz wysokości pików (bezwzględna wartość maksymalna strumienia cieplnego) [ $\text{W}\cdot\text{g}^{-1}$ ] w procesie topnienia/krystalizacji tłuszczu kakaowego. Stosowano następujące prędkości: 1, 2, 5, 10,  $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . W wyniku przeprowadzonych badań zaobserwowano, że prędkość schładzania/ogrzewania ma istotny wpływ na temperaturę, entalpię oraz wysokości pików krystalizacji/topnienia. Im większa prędkość schładzania/ogrzewania, tym mniejsza temperatura i entalpia krystalizacji/topnienia. Największe różnice w wartościach temperatur, wynoszące ok.  $9^\circ\text{C}$ , stwierdzono pomiędzy wynikami uzyskanymi dla prędkości 1 i  $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  w procesie krystalizacji tłuszczu kakaowego. Z kolei wysokość pików wzrasta wraz ze wzrostem prędkości, co ma istotne znaczenie dla czułości metody, którą można zwiększyć przez zwiększenie prędkości dla przemian o niskiej entalpii czy próbek rozcieńczonych. Istotnym aspektem analitycznym jest także sposób kalibracji aparatury. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że stosując różne prędkości ogrzewania czy chłodzenia konieczna jest kalibracja dla danej prędkości. Największe różnice w oznaczeniu wartości temperatur przy zastosowaniu różnych procedur kalibracji, wynoszące  $4^\circ\text{C}$ , stwierdzono dla procesu krystalizacji przy prędkości  $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

**Słowa kluczowe:** tłuszcz kakaowy, topnienie, krystalizacja, różnicowa kalorymetria skaningowa DSC, dokładność

---

\*Praca wykonana w ramach projektu Nr NN312 260538 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Adres do korespondencji – Corresponding author: Jolanta Tomaszewska-Gras, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Katedra Zarządzania Jakością Żywności, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, e-mail: gras@up.poznan.pl

## WSTĘP

Jakość badań naukowych w dużym stopniu zależy od rodzaju stosowanej aparatury oraz dokładności pomiarów uzyskanych przy jej użyciu. Różnicowa kalorymetria skaningowa DSC jest wykorzystywana jako metoda termoanalityczna w rutynowych badaniach np. polimerów czy farmaceutyków. Znajduje ona także zastosowanie w badaniach procesów zachodzących w żywności, takich jak np. topnienie i krystalizacja tłuszczów, zachowanie się wody w produktach [Serowik 2012], kleikowanie skrobi czy denaturacja białek. DSC jest także podstawową techniką wykorzystywaną w badaniu parametrów topnienia tłuszczów jadalnych, a szczególnie tłuszczu kakaowego, ze względu na jego polimorfizm [Cebula i in. 1992, Loisel i in. 1998, Bricknell i Hartel 1998]. Jest ona także jedną z oficjalnie przyjętych metod analitycznych przez AOCS jako metoda badania olejów i tłuszczów [AOCS, 2009]. International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry (ICTAC) definiuje DSC jako technikę badawczą, w której mierzy się zmiany różnicy strumieni cieplnych (różnicy mocy cieplnej) do próbki i do próbki odniesienia, występujące pod wpływem narzuconego próbkom reżimu temperaturowego [Hemminger i in. 1998]. Podobną definicję DSC zawiera norma PN-EN ISO 11357-1:2009.

Każdą metodę analityczną powinna cechować wysoka dokładność, rozumiana jako poprawność i precyzja [PN-ISO 5725-1]. W celu określenia stopnia przydatności metody kluczowe znaczenie ma poznanie czynników wpływających na dokładność wyników pomiaru. Dla techniki DSC można wyróżnić trzy grupy czynników wpływających na uzyskiwany sygnał:

1. Czynniki instrumentalne związane ze stosowaną aparaturą, szczegółami jej konstrukcji, sposobem przygotowania aparatury do badań.
2. Czynniki związane z metodyką badań.
3. Czynniki związane z fizyczną naturą substancji analizowanej.

Dla metody DSC czynniki instrumentalne, które są wspólne dla wszystkich badanych substancji, to: klasa dokładności zastosowanej aparatury, sposób umieszczenia próbek w komorze grzewczej/chłodzącej, rodzaj i sposób rozmieszczenia termoelementów, rodzaj zastosowanej substancji wzorcowej, rodzaj gazu wypełniającego komorę, sposób kalibracji urządzenia. Czynniki związane z metodyką pomiaru to m.in. stosowana w pomiarze prędkość ogrzewania (lub chłodzenia), masa próbki, rodzaj naczynka. W przypadku substancji niejednorodnych, organicznych o złożonym składzie, takich jak np. żywność, należy jeszcze wziąć pod uwagę czynniki związane z naturą badanej próbki. W przypadku badania tłuszczu kakaowego duże znaczenie dla wyniku analizy DSC ma polimorfizm tego tłuszczu.

W celu optymalizacji metody badania procesu topnienia i krystalizacji tłuszczu kakaowego w pracy przeanalizowano wpływ prędkości ogrzewania/chłodzenia oraz wpływ sposobu kalibracji na dokładność oznaczenia parametrów termodynamicznych tłuszczu kakaowego.

## MATERIAŁY I METODY

Materiał do badań stanowił tłuszcz kakaowy dostarczony przez firmę ADM w Szatolach, a wyprodukowany przez firmę deZaan w Holandii. Do badań wykorzystano różnicowy kalorymetr skaningowy DSC 7 firmy Perkin Elmer sprzężony z urządzeniem chłodzącym Intracooler II oraz oprogramowaniem Pyris, wersja 10.1. Kalorymetr kalibrowano dla każdej badanej prędkości (1, 2, 5, 10, 20°C·min<sup>-1</sup>) za pomocą dwóch wzorców, tj. indu (t.t. 156,6°C, ΔH<sub>f</sub> = 28,45 J·g<sup>-1</sup>) oraz n-dodekanu (t.t. -9,65°C, ΔH<sub>f</sub> = 216,73 J·g<sup>-1</sup>). Próbkę o masie 10 ± 0,5 mg naważano do naczynki o pojemności 20 μL (Perkin Elmer, Nr 0219-0062) i hermetycznie zamykano. Analizę przeprowadzano w atmosferze azotu o czystości 99,999%. Analiza DSC składała się z następujących etapów:

1. Ogrzewanie do 50°C przez 5 minut w celu stopienia wszystkich kryształów.
2. Krystalizacja w zakresie temperatur od 50 do -40°C.
3. Topnienie w zakresie temperatur od -40 do 50°C.

Wszystkie oznaczenia wykonane były w trzech powtórzeniach. Na podstawie uzyskanych krzywych topnienia i krystalizacji analizowano następujące parametry:

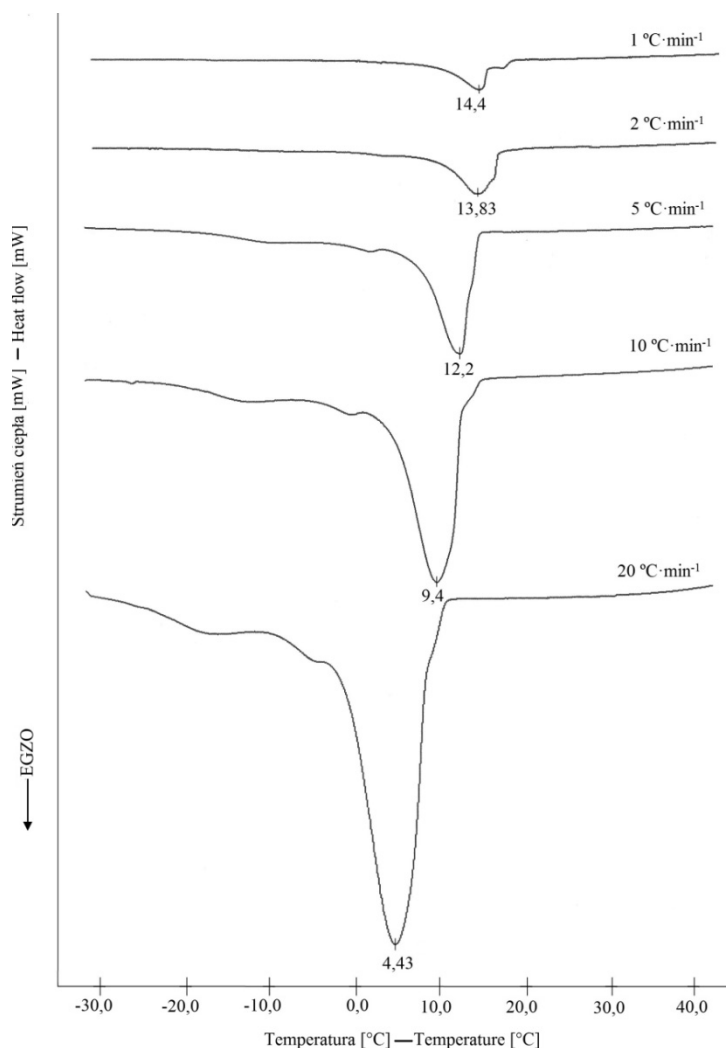
- temperaturę początku przemiany –  $T_{onset}$  (wyznaczoną jako styczną do pików), temperaturę maksimum przemiany –  $T_{peak}$ ,
- entalpię topnienia i krystalizacji ΔH (J·g<sup>-1</sup>) – wyznaczoną jako powierzchnia pików,
- wysokość pików topnienia i krystalizacji – bezwzględna wartość maksymalna strumienia cieplnego h [W·g<sup>-1</sup>].

Analiza statystyczna wyników obejmowała jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA), wykonaną przy wykorzystaniu oprogramowania Statistica (wersja 10). Jednorodność wariancji sprawdzono testem Hartleya-Cochorna-Bartletta. Istotność różnic pomiędzy średnimi zbadano za pomocą analizy wariancji jednoczynnikowej ANOVA oraz testu post hoc Tukeya przy założonym poziomie istotności α = 0,05. Przeprowadzono również analizę korelacji liniowej Pearsona, dla której wyznaczono współczynniki determinacji R<sup>2</sup>.

## WYNIKI I DYSKUSJA

### Wpływ prędkości schładzania/ogrzewania na parametry termodynamiczne procesu krystalizacji/topnienia tłuszczu kakaowego

W pierwszej kolejności wykonano doświadczenie mające wyjaśnić wpływ prędkości chłodzenia i ogrzewania na proces krystalizacji i topnienia tłuszczu kakaowego. W tym celu badano temperatury, entalpię przemiany fazowej oraz wysokości pików w zależności od zastosowanej prędkości schładzania i ogrzewania próbek tłuszczu kakaowego: 1, 2, 5, 10, 20°C·min<sup>-1</sup>. Na rysunku 1 przedstawiono krzywe DSC krystalizacji tłuszczu kakaowego, w zależności od zastosowanej prędkości schładzania. W celu wyeliminowania wpływu opóźnienia cieplnego, kalorymetr był każdorazowo kalibrowany na daną prędkość. Na uzyskanych krzywych krystalizacji zaobserwowano istotny wpływ prędkości schładzania zarówno na kształt krzywej, jak i na wartości parametrów termodynamicznych. Temperatury  $T_{peak}$  oraz  $T_{onset}$  maleją liniowo wraz ze wzrostem prędkości schładzania (rys. 2). Uzyskane wyniki wskazują, że krystalizacja mieszaniny triacylogliceroli, jaka znajduje



Rys. 1. Krzywe krystalizacji tłuszczu kakaowego uzyskane dla różnych prędkości schładzania: 1, 2, 5, 10, 20°C·min<sup>-1</sup>

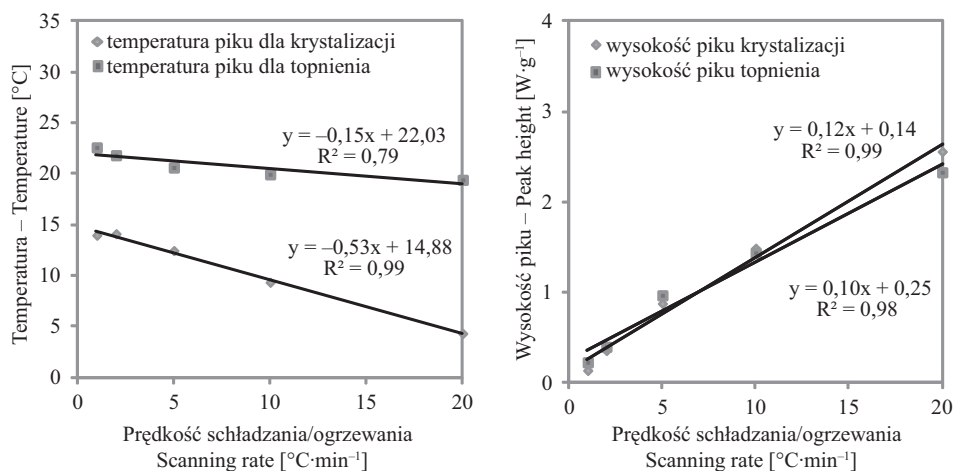
Fig. 1. DSC curves of cocoa fat crystallization with various cooling rates: 1, 2, 5, 10, 20°C·min<sup>-1</sup>

się w tłuszczu kakaowym, przebiega inaczej niż w przypadku substancji jednorodnych, gdzie temperatura  $T_{onset}$  dla różnych prędkości pozostaje taka sama, jedynie temperatura pików ulega zmianom w związku z powiększaniem się pików, jego wysokości i szerokości [Araújo i in. 2010].

Na rysunku 1 można zaobserwować również zmiany w kształcie krzywej oraz w wysokości pików topnienia, która zwiększa się liniowo wraz ze wzrostem prędkości schładzania (rys. 2). Wzrost wysokości pików wraz ze wzrostem prędkości chłodzenia wynika z następującej zależności:

$$\varphi = \frac{dQ}{dt} = C_p \cdot \frac{dT}{dt} = C_p \cdot \beta \quad (1)$$

gdzie:  $\varphi$  – strumień cieplny [ $\text{J}\cdot\text{s}^{-1}$ ],  
 $Q$  – ciepło [J],  
 $t$  – czas [s],  
 $C_p$  – pojemność cieplna [ $\text{J}\cdot^\circ\text{C}^{-1}$ ],  
 $T$  – temperatura [ $^\circ\text{C}$ ],  
 $\beta$  – prędkość ogrzewania/schładzania [ $^\circ\text{C}\cdot\text{s}^{-1}$ ].

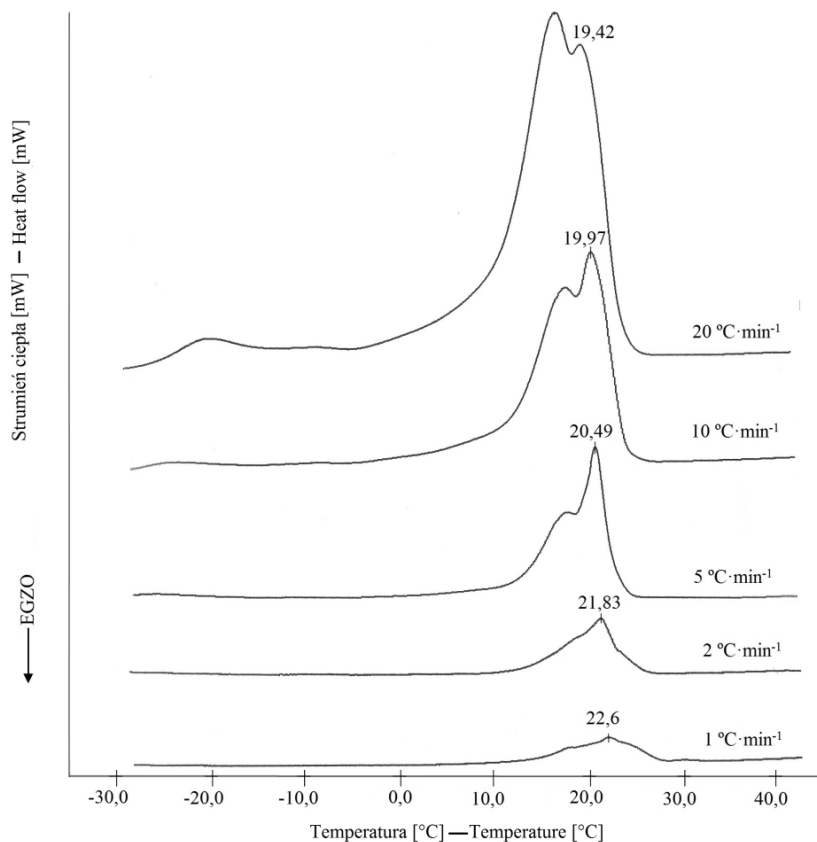


Rys. 2. Zależność temperatury krystalizacji/topnienia ( $T_{peak}$ ) oraz wysokości pików (h) od prędkości schładzania/ogrzewania

Fig. 2. Relationship between crystallization/melting temperature ( $T_{peak}$ ), peak height (h) and cooling/heating rate

Zmiana kształtu krzywej krystalizacji polegająca na pojawianiu się jednego lub dwóch pików świadczy z kolei o wpływie prędkości schładzania na proces przemiany fazowej, uwarunkowany zdolnością tłuszczu kakaowego do krystalizacji w różnych formach polimorficznych. Świadczą o tym także zmiany temperatur ( $T_{onset}$  i  $T_{peak}$ ), dla których średnia różnica między najmniejszą i największą prędkością wynosiła około  $9^\circ\text{C}$ . Różnice pomiędzy średnimi wartościami temperatur i wysokości pików dla różnych prędkości były istotne statystycznie. Jedynie średnie wartości temperatur dla prędkości 1 i  $2^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  nie różniły się istotnie.

Na rysunku 3 przedstawiono krzywe topnienia uzyskane w wyniku wcześniej przeprowadzonej krystalizacji. Próbkę tłuszczu kakaowego ogrzewano analogicznie jak w przypadku krystalizacji, tj. przy zastosowaniu prędkości ogrzewania 1, 2, 5, 10,  $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Można zaobserwować podobne jak w przypadku krystalizacji zmiany wysokości pików i kształtu krzywej topnienia. Zmiany te charakteryzują się pojawianiem się dwóch pików dla większych prędkości (5, 10,  $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) oraz jednego pików dla prędkości 1 i  $2^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Ten fakt może świadczyć także o tworzeniu się różnych form



Rys. 3. Krzywe DSC topnienia tłuszczu kakaowego uzyskane dla różnych prędkości ogrzewania 1, 2, 5, 10, 20°C·min<sup>-1</sup>

Fig. 3. DSC curves of cocoa fat melting with various heating rates: 1, 2, 5, 10, 20°C·min<sup>-1</sup>

polimorficznych. W przypadku krzywych topnienia odnotowano podobną zależność, tzn. wraz ze zwiększaniem prędkości zwiększa się wysokość piku topnienia, zgodnie z wcześniej opisanym wzorem (1).

Wszystkie wartości średnie wysokości piku różniły się pomiędzy sobą istotnie. Temperatura topnienia ( $T_{peak}$ ) z kolei malała liniowo wraz ze wzrostem prędkości ogrzewania (podobnie jak w przypadku krystalizacji), jednakże współczynnik nachylenia prostej (rys. 2) był mniejszy niż dla krystalizacji (równy  $-0,15$ ), a różnice pomiędzy średnimi wartościami temperatur nie były istotne statystycznie.

W tabeli 1 przedstawiono wyniki oznaczenia entalpii krystalizacji i topnienia w zależności od prędkości schładzania/ogrzewania. Można zaobserwować, że zarówno dla krystalizacji, jak i topnienia wartość entalpii obniża się wraz ze zwiększaniem się prędkości schładzania/ogrzewania, co może także potwierdzać fakt tworzenia się różnych form polimorficznych, tj. im większa prędkość, tym mniej stabilna forma tworzy się o mniejszej entalpii przemiany fazowej.

Tabela 1. Wpływ prędkości schładzania/ogrzewania na entalpię procesu krystalizacji i topnienia tłuszczu kakaowego

Table 1. The effect of cooling/heating rate on crystallization and melting enthalpy of cocoa fat

Prędkość Scanning rate [°C·min <sup>-1</sup> ]	Entalpia przemiany fazowej tłuszczu kakaowego [J·g <sup>-1</sup> ] Enthalpy of phase transition of cocoa fat [J·g <sup>-1</sup> ]	
	krystalizacji crystallization	topnienia melting
1	-84,28 ±0,88 <sup>a</sup>	85,62 ±3,15 <sup>a</sup>
2	-80,95 ±1,20 <sup>b</sup>	82,35 ±2,2 <sup>ab</sup>
5	-80,74 ±0,8 <sup>b</sup>	80,39 ±1,29 <sup>ab</sup>
10	-80,66 ±1,48 <sup>b</sup>	79,92 ±1,1 <sup>ab</sup>
20	-76,05 ±1,31 <sup>c</sup>	78,24 ±0,58 <sup>b</sup>

± odchylenie standardowe dla n = 3 powtórzeń.

± standard deviation n = 3.

<sup>a,b</sup> – te same litery oznaczają grupy jednorodne ( $\alpha = 0,05$ ).

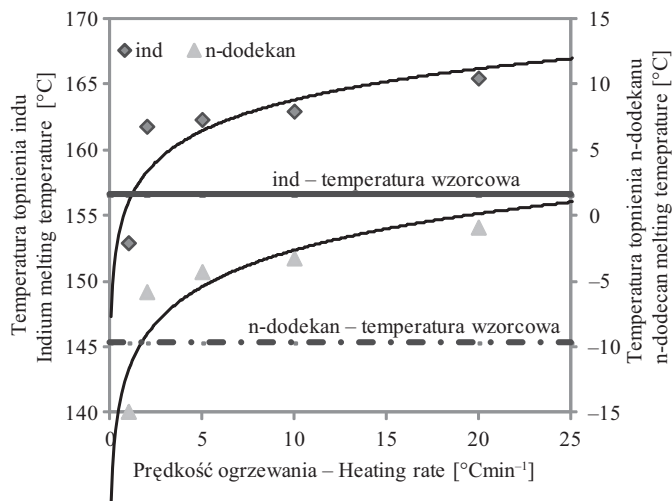
<sup>a,b</sup> – the same letters mean homogenous groups ( $\alpha = 0.05$ ).

Podsumowując, można stwierdzić, że wraz ze wzrostem prędkości schładzania/ogrzewania maleją temperatura oraz entalpia krystalizacji/topnienia triacylogliceroli zawartych w tłuszczu kakaowym. To twierdzenie jest zgodne z wynikami badań uzyskanymi dla innych tłuszczów jadalnych, np. dla tłuszczu mlecznego [Lopez i in. 2005] oraz olejów roślinnych [Herrera 1992, Che Man i Tan 2000, Tan i Che Man 2002a, b]. Powyższe wyniki dowodzą, że stosowanie jednakowej prędkości w danym eksperymencie jest ważne dla uzyskania porównywalnych wyników badań. Zastosowanie większych prędkości schładzania/ogrzewania w procedurze badawczej może mieć znaczenie w przypadku konieczności podwyższenia czułości metody DSC. Wysokość pików topnienia czy krystalizacji zwiększa się wraz ze wzrostem prędkości. Można w ten sposób wzmacniać efekty dla przemian fazowych o niskiej entalpii lub w przypadku bardzo małej ilości badanej próbki, np. próbki rozcieńczonej. Jednakże trzeba mieć na uwadze, że powiększanie pików (szczególnie szerokości) skutkuje utratą dobrej rozdzielczości pików.

### Wpływ kalibracji na pomiar parametrów termodynamicznych tłuszczu kakaowego

Przed rozpoczęciem właściwych badań priorytetem jest właściwa kalibracja aparatury. Znaczenie kalibracji pokazano na rysunku 4, gdzie przedstawiono temperatury topnienia substancji wzorcowej – indu, uzyskane na nieskalibrowanym aparacie DSC przy zastosowaniu różnych prędkości ogrzewania (1, 2, 5, 10, 20°C·min<sup>-1</sup>).

Jak można zaobserwować na wykresie 4, dla prędkości 1°C·min<sup>-1</sup> uzyskano niższe wartości temperatury topnienia ( $T_{onset}$ ) od wartości rzeczywistej (156,6°C), którą przedstawiono za pomocą ciągłej linii prostej. W przypadku pozostałych prędkości ogrzewania oznaczone wartości temperatur topnienia były wyższe od wartości prawdziwej. Analogiczne wyniki uzyskano dla drugiej substancji wzorcowej, tj. n-dodekanu, którego temperaturę topnienia (-9,65°C) przedstawiono na rysunku 4 za pomocą



Rys. 4 Wpływ prędkości ogrzewania na temperaturę topnienia indu oraz n-dodekanu dla nieskalibrowanego aparatu DSC. Linia ciągła – wartość prawidłowa temperatury topnienia indu (156,6°C), linia przerywana – wartość prawidłowa temperatury topnienia n-dodekanu (–9,65°C)

Fig. 4. Effect of heating rate on the melting temperature of indium and n-dodecane obtained by non-calibrated DSC. The solid line – the correct value for the melting point of indium (156.6°C), the dotted line – the correct value of the melting point of n-dodecane (–9.65°C)

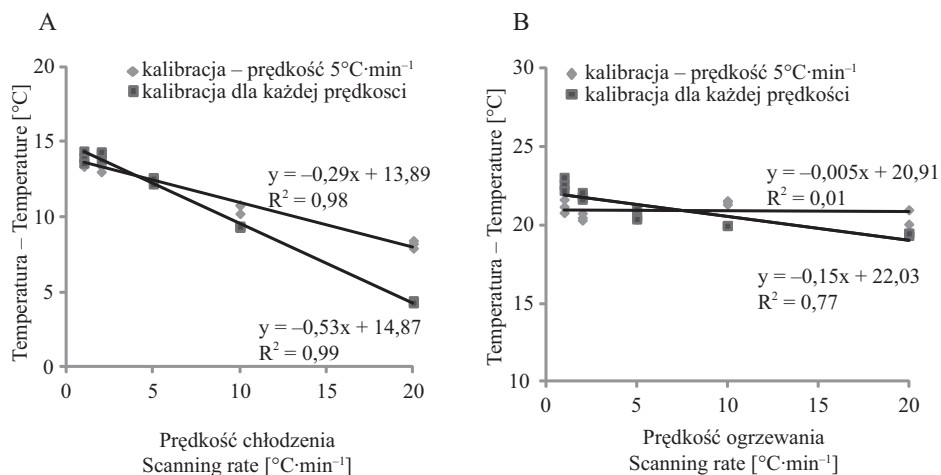
przerwanej linii prostej. Powyższe wyniki dowodzą, że bez przeprowadzenia kalibracji uzyskuje się temperatury topnienia odbiegające od wartości prawdziwej. Kolejnym problemem jest sposób kalibracji przy zmianie prędkości ogrzewania czy chłodzenia. W przypadku prowadzenia badań stale przy jednej prędkości aparat kalibruje się na stosowaną prędkość, z kolei gdy prędkości zmienia się w trakcie badań, powstaje pytanie, czy konieczna jest kalibracja przy każdej zmianie. Dlatego celem tego etapu badań było porównanie wyników oznaczenia parametrów topnienia i krystalizacji tłuszczu kakaowego przy zastosowaniu dwóch następujących procedur kalibracji:

1. Jednorazowa kalibracja dla wybranej prędkości, w tym przypadku  $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , analiza procesu topnienia i krystalizacji dla prędkości 1, 2, 5, 10,  $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .
2. Każdorazowa kalibracja oraz analiza na daną prędkość, tj. 1, 2, 5, 10,  $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Na rysunku 5 przedstawiono wykresy, gdzie porównano temperatury pików krystalizacji i topnienia uzyskane po każdorazowej kalibracji i kalibracji na jedną prędkość ( $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

Stwierdzono, że sposób kalibracji miał największe znaczenie w przypadku badania procesu krystalizacji, gdyż różnice w oznaczonych temperaturach wynosiły średnio  $4^{\circ}\text{C}$  dla próbek badanych przy prędkości chłodzenia  $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Dla niższych prędkości różnice były mniejsze, wynosiły  $1^{\circ}\text{C}$ . Dla procesu topnienia różnice pomiędzy wartościami temperatur oznaczonych przy zastosowaniu dwóch procedur kalibracji były natomiast małe dla wszystkich prędkości ogrzewania i mieściły się w zakresie od 1 do  $1,5^{\circ}\text{C}$ .





Rys. 5. Wpływ zastosowanej procedury kalibracji na wyniki oznaczenia temperatury krystalizacji (A) i topnienia (B) tłuszczu kakaowego przy zastosowaniu różnych prędkości ogrzewania/chłodzenia – 1, 2, 5, 10, 20°C·min<sup>-1</sup>

Fig. 5. Effect of the applied calibration procedure on the results of the crystallization (A) and melting point (B) of cocoa butter using various cooling/heating rates – 1, 2, 5, 10, 20°C·min<sup>-1</sup>

## WNIOSKI

Prędkość schładzania/ogrzewania ma wpływ na profil oraz wartości parametrów krystalizacji i topnienia tłuszczu kakaowego. Wraz ze wzrostem prędkości schładzania/ogrzewania maleje temperatura oraz entalpia krystalizacji/topnienia triacylogliceroli zawartych w tłuszczu kakaowym, wzrasta natomiast wysokość pików topnienia/krystalizacji, przez co zwiększa się czułość metody. Istotne znaczenie dla uzyskania dokładnych wyników badań ma kalibracja aparatu DSC. Stwierdzono, że każdorazowa kalibracja przy zmianie prędkości jest szczególnie istotna przy badaniu procesu krystalizacji, różnica w oznaczonych temperaturach wynosiła 4°C dla prędkości 20°C·min<sup>-1</sup>.

## LITERATURA

- Araújo A.A.S., Bezerra M.S., Storpirtis S., Matos J.R., 2010. Determination of the melting temperature, heat of fusion, and purity analysis of different samples of zidovudine (AZT) using DSC. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 46, 38–43.
- AOCS Official Method Cj 1-94: 2009. DSC Melting Properties of Fats and Oils
- Bricknell J., Hartel R.W., 1998. Relation of fat bloom in chocolate to polymorphic transition of cocoa butter. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 75(11), 1609–1616.
- Cebula D.J., Smith K.W., Talbot G., 1992. DSC of Confectionery Fats, Pure Triglycerides. Effects of Cooling and Heating Rate Variation. *Manufacturing Confectioner* 9, 135–139.

- Che Man Y.B.C., Tan C.P., 2002. Comparative differential scanning calorimetric analysis of vegetable oils: II. Effects of cooling rate variation. *Phytochemical Analysis* 13, 142–151.
- Hemminger W., Wilburn F.W., Gravelle P.C., Haglund B.O., Hianes P.J., Hakvoort G., Ohlyba M., Simon J., Sarge S.M., 1998. ICTAC Nomenclature Committee Report: „Recommendation for Names and Definitions in Thermal Analysis and Calorimetry”. *ICTAC News* 31(2), 107–122.
- Herrera M.L., Segura J.A., Rivarola G.J., Añón M.C., 1992. Relationship between cooling rate and crystallization behavior of hydrogenated sunflowerseed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 69, 898–905.
- Loisel C., Keller G., Lecq G., Bourgaux C., Ollivon M., 1998. Phase Transition and Polymorphism of Cocoa Butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 75, 425–439.
- Lopez C., Lesieur P., Bourgaux C., Ollivon M., 2005. Thermal and structural behavior of anhydrous milk fat. 3. Influence of Cooling Rate. *Journal of Dairy Science* 88, 511–26.
- PN-ISO 5725-1:2002. Dokładność (poprawność i precyzja) metod pomiarowych i wyników pomiarów – Część 1: Ogólne zasady i definicje.
- PN-EN ISO 11357-1:2009. Tworzywa sztuczne – Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) – Część 1: Zasady ogólne.
- Serowik M., 2012. Procesowa charakterystyka liofilizacji pieczarek wykonana z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 570, 79–85.
- Tan C.P., Che Man Y.B., 2002a. Comparative differential scanning calorimetric analysis of vegetable oils: I. Effects of heating rate variation. *Phytochemical Analysis* 13, 129–141.
- Tan C.P., Che Man Y.B., 2002b. Differential scanning calorimetric analysis of palm oil, palm oil based products and coconut oil: Effects of scanning rate variation. *Food Chemistry* 76, 89–102.

## THE EFFECT OF SELECTED FACTORS ON THE ACCURACY OF THERMODYNAMIC PARAMETERS DETERMINATION OF COCOA FAT BY USING DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY DSC

**Summary.** Each analytical method should characterize high accuracy, understood as trueness and precision, linearity and stability, i.e. resistance to various factors. Recently DSC has been proposed as an analytical technique for the analysis of food and pharmaceuticals. In food research DSC technique is a tool used, inter alia, to study the behaviour of cocoa fat, as a component of chocolate, which is subject to a number of polymorphic transitions. Precision of DSC measurement is determined by several factors such as equipment, operator, measurement procedure, sample preparation, etc. Hence the aim of this study was to investigate the effect of such factors as the cooling/heating rate and procedure of DSC calibration on the determination of temperature, enthalpy and peak height of cocoa butter crystallization/melting. The process of melting and crystallization of cocoa fat was examined using following scanning rates: 1, 2, 5, 10, 20°C·min<sup>-1</sup>. Based on the obtained results it was observed that the rate of cooling/heating has a significant influence on the temperature, enthalpy and peak height of crystallization and melting. The higher of scanning rate, the lower of crystallization/melting temperature and enthalpy of phase transition, which proves the formation of different polymorphic forms. The largest differences in temperature values, amounting to about 9°C, were found between cooling rate 1 and 20°C·min<sup>-1</sup> in the crystallization process of cocoa butter. In turn, the height of the crystallization or melting

peaks increases with increasing scanning rate. By selection of the appropriate rate it is possible to increase the sensitivity of DSC measurements, which could be important for phase transitions with low enthalpy, or in the case of a very small amount of the sample, e.g. diluted sample. However, it should be taken into account that the increase of the peaks (especially the width) results in the loss of good resolution of the peaks. An important aspect is also a procedure used for calibrating the apparatus. The experiments carried out have shown that a calibration of DSC is needed at each change of scanning rate. The greatest differences in the values of temperature, using different calibration procedures, were recorded in the case of crystallization process with high cooling rate  $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  and they amounted to about  $4^{\circ}\text{C}$ .

**Key words:** cacao fat, melting, crystallization, differential scanning calorimetry DSC, accuracy