

# A DSC-termoanalitikai módszer néhány élelmiszertudományi alkalmazása

*Farkas József*

Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Hűtő- és Állattermék  
Technológiai Tanszéke, Budapest

Érkezett: 1994. március 31.

A differenciál scanning kalorimetria (DSC-módszer) olyan termoanalitikai technika, amely anyagátalakulási folyamatok hőáramának (a mintában bekövetkező hőenergia-fejlődés vagy -elnyelődés sebességének) a mérését teszi lehetővé a hőmérséklet, ill. az idő függvényében. A mért hőáram az átalakulási folyamat endoterm vagy exoterm voltának, ill. a hőkapacitás változásának a függvénye.

Tanszékünk 1991. végén jutott hozzá egy SETARAM gyártmányú DSC-mikrokaloriméterhez. A DSC-mikrokaloriméterekkel megvalósítható vizsgálat a DSC-technika nagyérzékenységű, igen csekély hőárammal járó folyamatok mérésére kidolgozott változata. Mintatartója viszonylag nagy, 1 cm<sup>3</sup> térfogatú. Ezért igen alkalmas híg oldatok, élelmiszerek vagy más biológiai anyagok termoanalitikai vizsgálatára. Készülékünk 0 és közel 100 °C közötti hőmérséklettartományon belül dolgozik

- időben lineárisan változó hőmérséklet-program szerint melegítve vagy hűtve, illetőleg
- állandó hőmérsékleten tartva és az idő függvényében vizsgálva a mintát.

A vizsgálandó és az inert (referencia) mintát vagy hermetikusan zárt (gáz-záró) mintatartóban ("batch"-üzemmód) vagy olyan mintatartóban mérik, amelybe a vizsgálat mindenkori hőmérsékletének megfelelő hőmérsékletű gáz vagy folyadék vezethető be a mérés közben ("flow"-üzemmód). A mintatartók a vizsgálatához egy nagy pontossággal hőmérséklet-szabályozott kalorimetriás mérőcella belsejébe vannak süllyesztve, amivel egy jól szabályozható termikus ellenálláson keresztül egy stacioner állapotú, homogén hőmérsékletű, nagy hőkapacitású termosztát ("kemence") van kapcsolatban. A termosztát és a mintatartók között azonos termikus ellenállású hővezető elemek vannak.

A DSC készülék működésére jellemző, hogy a vizsgálandó minta és a referencia hőmérséklete a mérés teljes ideje alatt egyenlő. Amennyiben adott átalakulás során a minta hőelnyelőként viselkedik, a segéd fűtőellenállás egy, a hőmérséklet-különbséggel vezérelt differenciál-erősítő segítségével elektromos energiát közöl a mintával olyan

mértékben, hogy a minta és a referencia-cella hőmérséklete minden időpontban megegyezzen. Exoterm átalakulás esetén a referencia-oldat felé történik ugyanígy elektromos energia közlés. Ez a kompenzációs hőfluxus elektromos teljesítményként mérhető és regisztrálható a programozott hőmérséklet (ill. az idő) függvényében. Az entalpiaváltozás, valamint az átalakulás(ok)hoz tartozó, jellemző hőmérsékletek ily módon meghatározhatók. A kaloriméterhez mikroszámítógép van kapcsolva az adatfeldolgozás és a hőmérsékletprogramozó irányítása végett.

## **Alkalmazási lehetőségek**

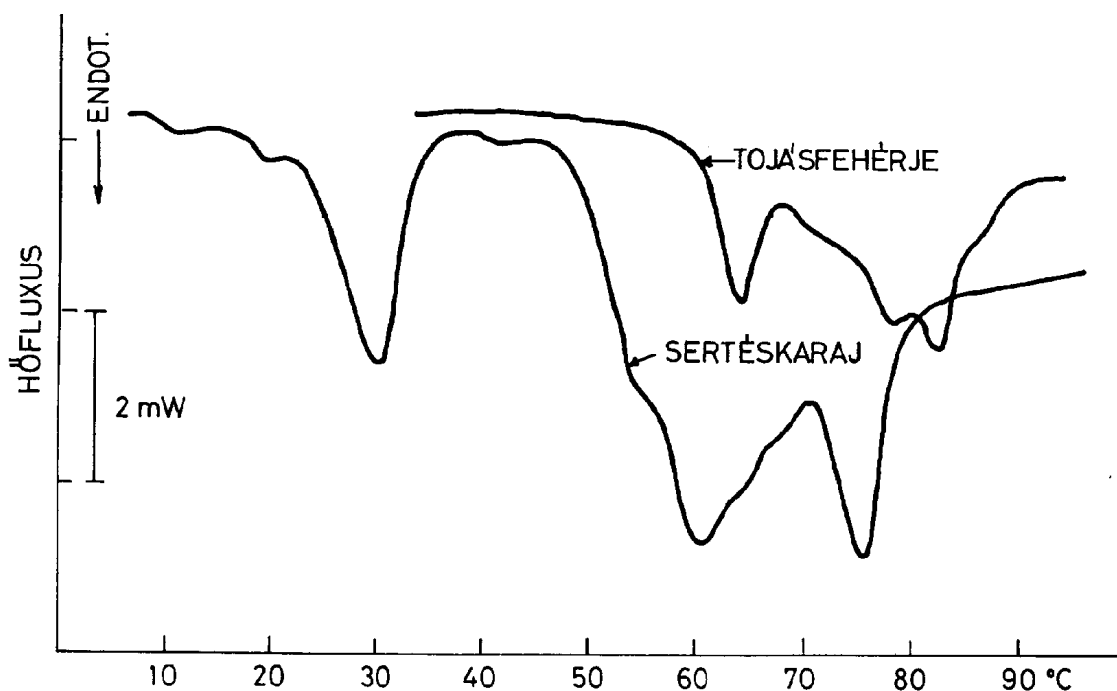
A DSC-, ill. a mikro-DSC-technika sokirányú alkalmazási lehetőséget ígér az élelmiszertudományi diszciplínák területén is. Kvalitatív és kvantitatív módon, s érzékenyen vizsgálhatók vele az élelmiszer-összetevők különféle hőszínezetű átalakulási folyamatainak (pl. zsiradékok olvadása, fehérjék denaturációja, keményítő elcsirizesedése, átkristályosodási, aggregálódási vagy bomlási, ill. oxidációs folyamatok) hőáramai. Izoterm üzemmódot használva mód van pl. mikrobatenyészetek anyagcsere-aktivitásának (hőtermelésének) mérésére a környezeti tényezők függvényében. Az élelmiszer-minták lényegében előkészítés nélkül, eredeti fizikai állapotukban vizsgálhatók, a mikrobapopulációkban végbemenő, hőáramot eredményező folyamatok ép, feltáratlan sejtek szuszpenzióval (is) vizsgálhatók, tehát a mérés "in vivo" jellegű. Emellett a méréssel hőkezelési technológiák mintegy modellezhetők, s un. "real-time", azaz a vizsgálandó változással egyidejű mérés valósítható meg.

E közleményben csupán néhány példát tudok az érdeklődés felkeltése végett felvillantani az elmúlt, mintegy két évnyi "tanulási időszakunkban" végzett, ill. megkezdett, eddig csupán a "batch" típusú (zárt mintatartós) tájékozódó vizsgálataink közül.

## **Élelmiszerek és adalékanyagok DSC-vizsgálata**

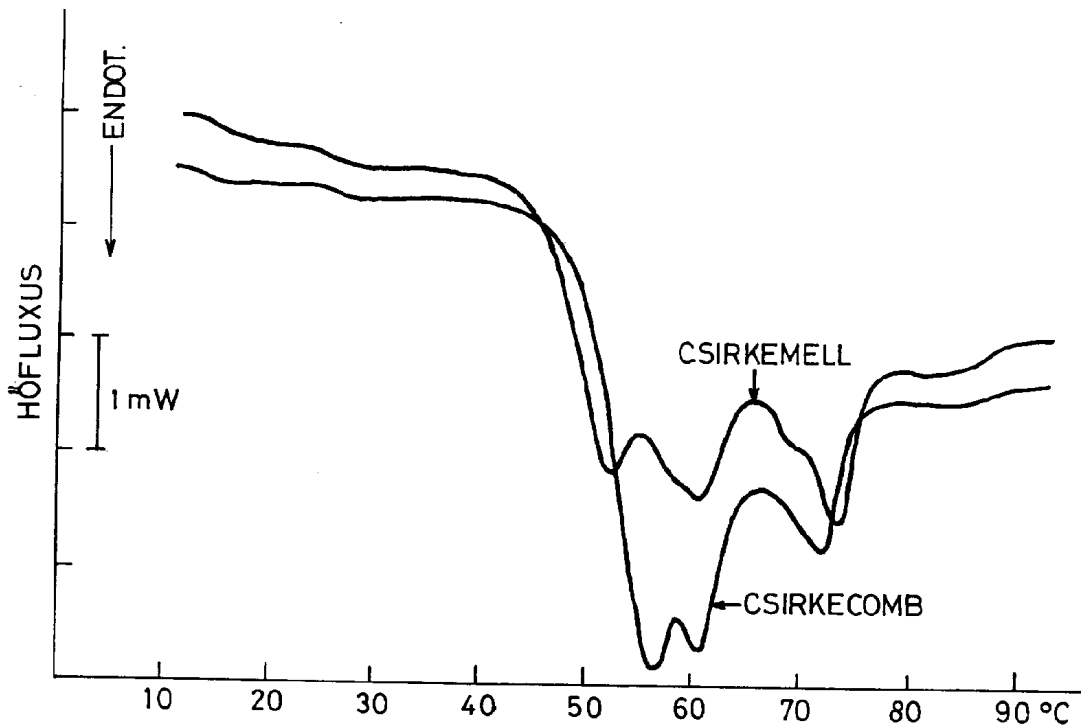
Tapasztalataink szerint a mikro-DSC módszer jól beválik élelmiszerfehérjék hő okozta átalakulási folyamatai vizsgálatára. Az 1. ábra egyik diagramja például egy intakt sertéskaraj minta termogramját mutatja, melyen jól elkülönülnek a lipidek 40 °C alatti olvadási és a főbb húsfehérjék 50 és 80 °C közötti hőmérséklettartományban észlelhető denaturációs endoterm folyamatai. Az utóbbiakat illetően, az itt 55 °C körüli válszakasszal jelzett átalakulás a miozin, az 57 és 70 °C közötti, komplex csúcs a kötőszöveti és a szarkoplazma-fehérjék egymástól nem jól elkülönülő denaturációs folyamatait, a 76 °C-nál mutatkozó csúcs pedig az aktin denaturációját mutatja (MA & HARWALKAR, 1991). Az

1. ábra másik görbéje tojásfehérje DSC-termogramja. Az ezen 63 °C körül mutatkozó csúcs koalbumin, a 82 °C körüli az ovalbumin átalakulása, míg az ezzel a csúccsal átlapolódó jelek irodalmi adatok szerint feltehetőleg a lizozim, az ovomukoid, a globulin vagy az avidin átalakulását jelzik (DONOVAN et al., 1975). Ilyen, és ezekhez hasonlóan nagy fehérjekoncentrációjú, komplex élelmiszerminták DSC-termogramjainak értelmezésénél tekintettel kell lenni arra is, hogy ilyen esetekben a DSC-mérés valójában a fehérjedenaturációhoz szükséges aktivációs energia endoterm jelének és az ellentétes hőszínezetű, aggregálódási-koagulálódási exoterm folyamatoknak az eredőjét regisztrálja. A koagulálódás tényét bizonyította, hogy a visszahűtött és újra felmelegített mintákban már nem jelentkezett endoterm jel, mutatva a fehérjedenaturáció irreverzibilis voltát.



**1.ábra:** Sertéskaraj és tojásfehérje DSC-termogramjai

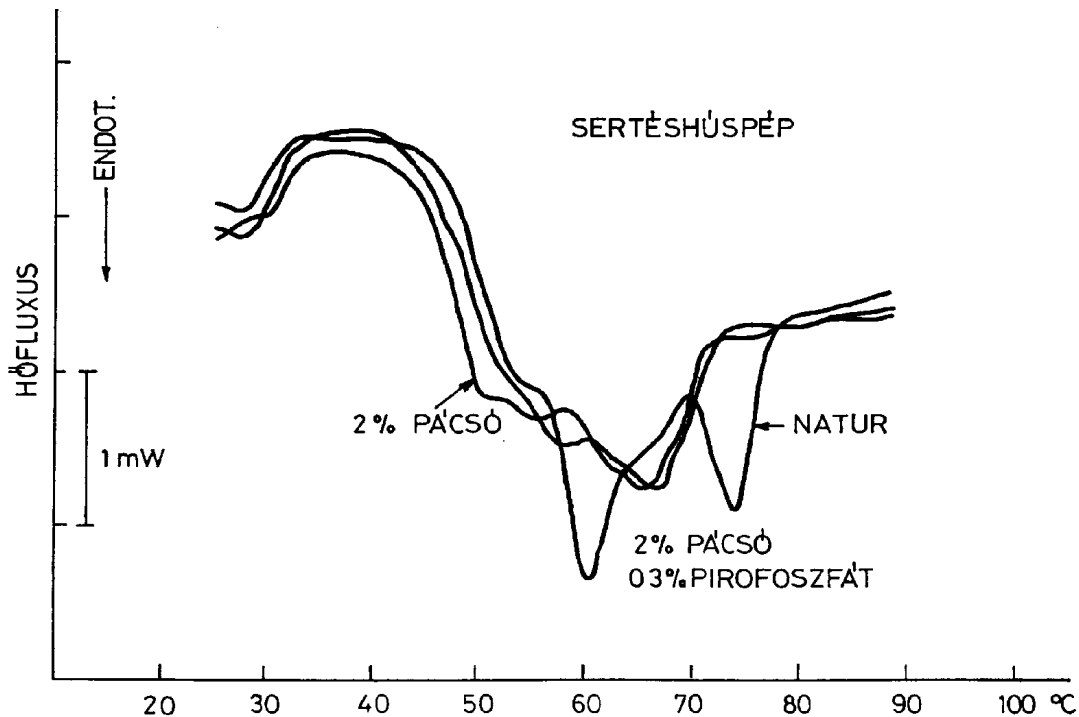
Érdekes összehasonlítani csirkemell- és csirkecomb-minták azonos körülmények között felvett DSC-termogramjait (2. ábra). A csirkemellből származó izomszövet - külföldi vizsgálatok (KIJOWSKI és MAST, 1988) eredményeivel összhangban - legalább öt endoterm folyamatra utaló termogrammot mutatott és a miozin és az aktin denaturációja mintegy 3-3 °C-kal kisebb hőmérsékleten jelentkezett, mint a sertéskaraj vizsgálata esetén. A csirkecomb izomszövetéből vett minta termogramja által mutatott átalakulási folyamatok csúcshőmérsékletei közül csupán a 61 °C körüli esik egybe a csirkemell-izomszöveténél is észlelhetőével és erőteljes endoterm jel reprezentál egy 57 °C körül legnagyobb sebességgel zajlott átalakulást.



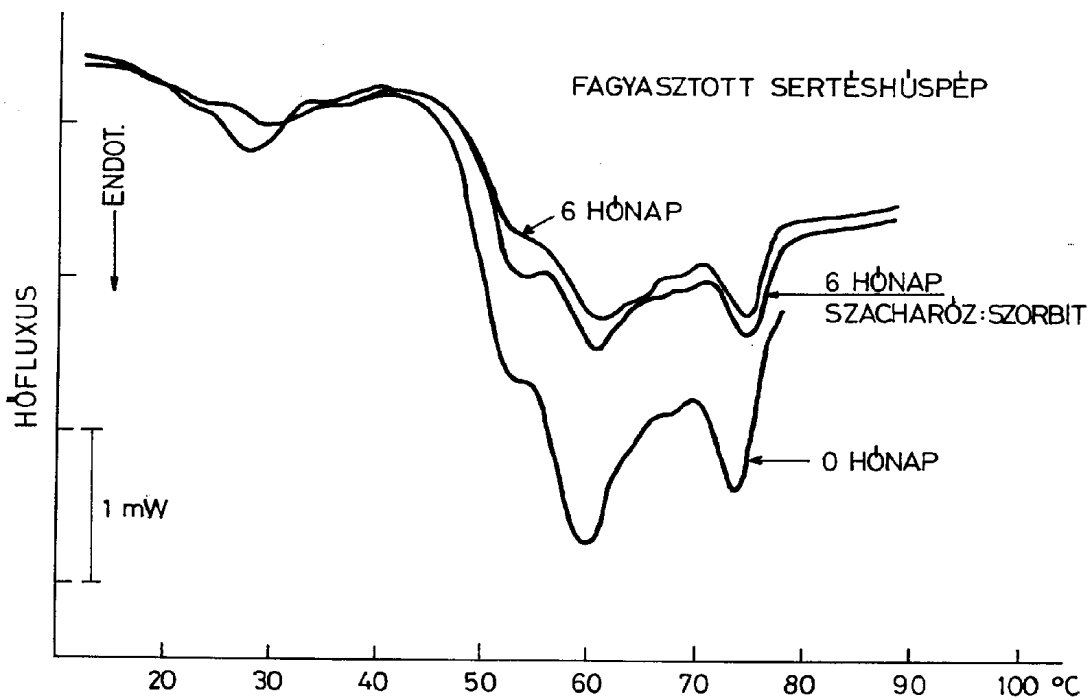
**2.ábra:** Csirkemell- és csirkecomb-izomszövetek fehérjedenaturációs DSC-termogramjai

Egy, a különböző foszfátoknak a vízkötő-képességre gyakorolt hatásával kapcsolatos, tanszéki diplomamunka keretében Csapó Judit és Simon Anna vizsgálták sovány sertéscombból készített modell húspép DSC termogramjait a hústra számítva 0,3 %-nyi nátrium-pirofoszfát és/vagy 2 %-nyi pácsó adagolásának a függvényében. Mint a következő ábra mutatja, a sóadagolás (azaz az ionerősség növelése) csökkentette a húsfehérjék denaturációs hőmérsékletét, különösen nagymértékben a leghőtűrőbb komponensét, az aktinét és a denaturációs folyamat entalpiáját (3. ábra). Ha a pácsón kívül pirofoszfát is volt a húspépben, az a termogram tanúsága szerint a fehérjék, különösen a hőérzékenyebb komponensek hőstabilitásának növekedését eredményezte a megnövelt ionerősségű mintában is.

Egy másik, különféle krioprotektív anyagok fagyasztott húspépek vízkötőképességére gyakorolt hatásával foglalkozó diplomamunka keretében Incze Zoltán mérnökjelölt és Simon Anna végeztek mikro-DSC méréseket Tanszékünkön. A sovány sertéscombból (pH 5,95) készített, fagyasztott húspép kezdeti és 6 hónapos, -20 °C-on végzett tárolása utáni termogramjait mutatja a következő ábra (4. ábra). Szembetűnő a hődenaturációs entalpia csökkenése, ami a húsfehérjék fagyasztva tárolása közbeni részleges denaturációját jelzi. A krioprotektív adalékanyagok a fagyasztva tárolás alatti denaturációt jól mérhetően lassították. A "krioprotektáns" szacharóz-szorbit elegy a változást csak kissé mérsékelte.

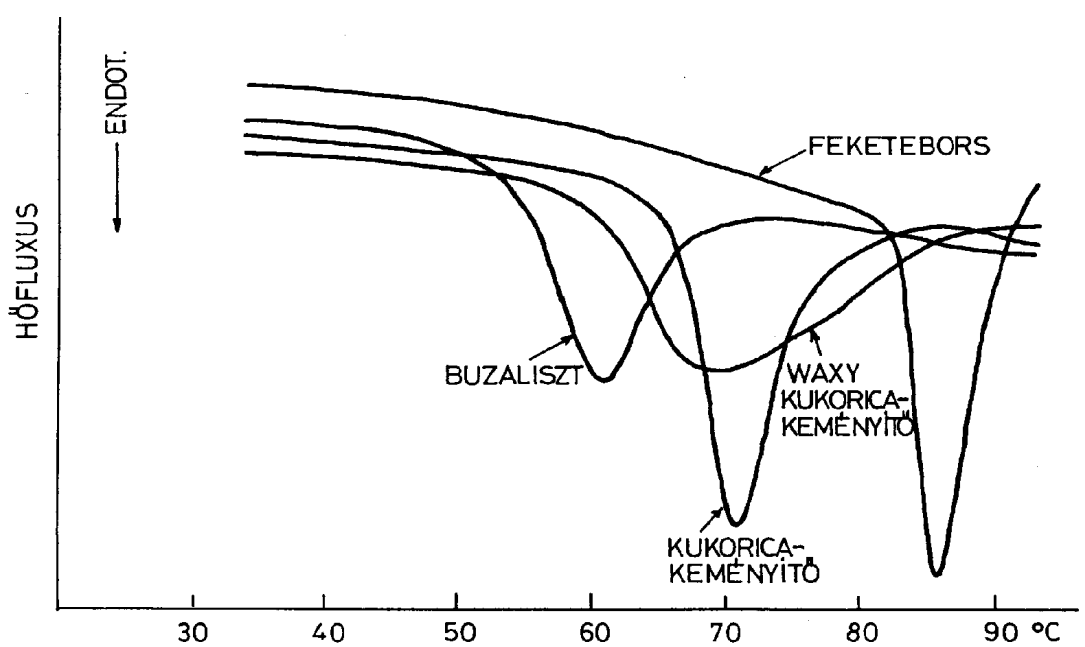


**3.ábra:** Pácsó és Na-pirofoszfát adagolásának hatása sertéshúspép fehérjedenaturációs DSC-termogramjaira



**4.ábra:** A fehérjedenaturációs endoterm csúcsok területének (a hődenaturációs entalpiának) csökkenése sertéshúspép fagyasztva tárolásának hatására

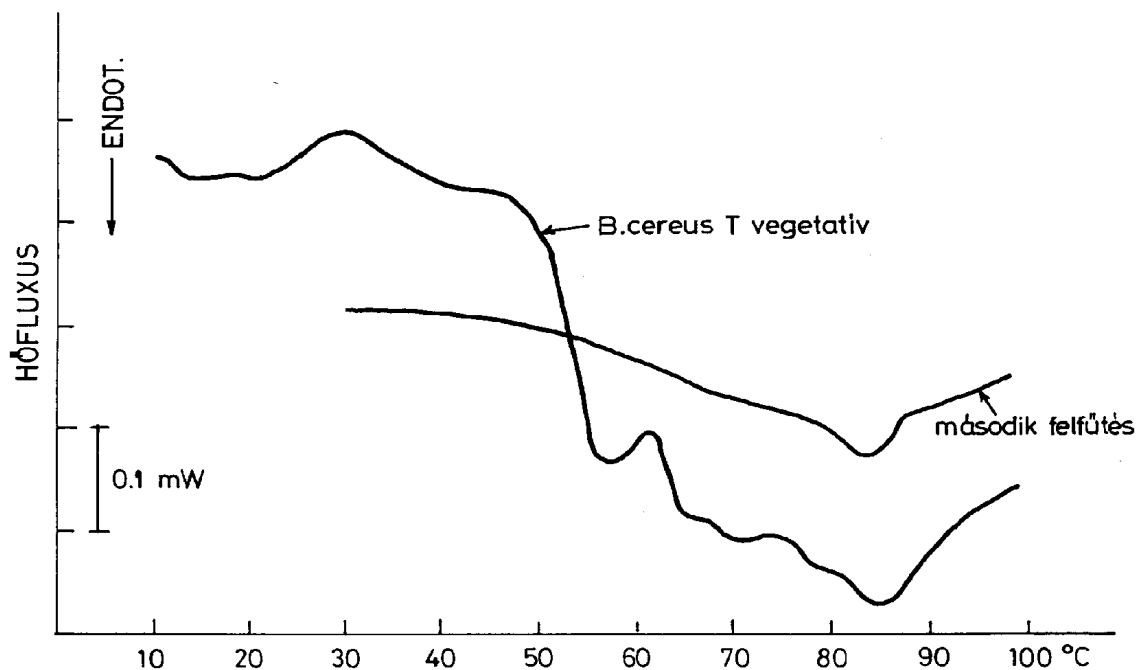
Jól tanulmányozható a DSC-technikával a keményítő elcsirizésének hőmérsékleti karakterisztikája is, amit a kukoricakeményítő és a waxy kukorica keményítője, ill. a búzaliszt és feketebors-őrlemény vizes tömény szuszpenzióival készített termogramok összehasonlítása mutat (5. ábra).



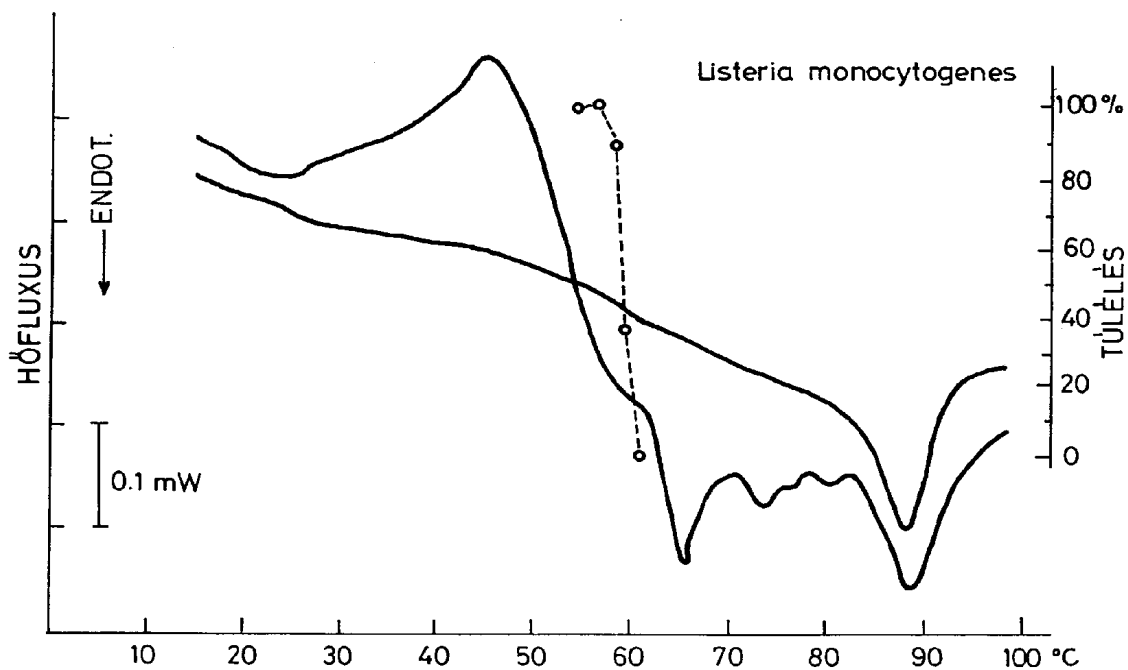
**5.ábra:** Különböző eredetű keményítők elcsirizedésének DSC-termogramjai

Mikrobiológiai alapozó kutatómunkánkhoz kapcsolódó mikro-DSC vizsgálatainkból elsőként a baktériumszuszpenziók programozott hőkezelése közbeni változások termogramjait említem meg. Ezek közül a Konzervipari Kutató Intézettel együttműködésben végzett vizsgálatok, amelyek Mohácsiné Farkas Csilla folyamatban lévő doktori témájának részét képezik és a vegetatív baktériumsejtek hőpusztulási mechanizmusa tanulmányozására irányulnak, felkeltették hasonló témával foglalkozó angliai kutatóintézetek együttműködési készségét is. Példaként legyen szabad bemutatni a *Bacillus cereus* T törzs és egy *Listeria monocytogenes* törzs sejtjei pufferolt tömény szuszpenzióinak DSC-termogramjait (6. és 7. ábra). E termogrammok egyik jellegzetessége, hogy a törzsre jellemző vitális hőmérséklettartományban exoterm jelet kapunk exogén tápanyagot gyakorlatilag nem tartalmazó szuszpendáló közegben is, valószínűleg endogén oxidatív anyagcsere-folyamatokra utalva (6. ábra). A legkisebb letális hőmérséklethez közeledve és azt túllépve endoterm jelek sorozata jelentkezik. Ezek közül a párhuzamos élőcsíraszámvizsgálatok eredményei szerint, amilyeneket a *Listeria*-vizsgálatokról készített ábrán (7. ábra) jelöltünk be, a baktériumpopuláció túlnyomó többségének hőpusztulásával az első denaturációs endoterm esik egybe. Az angliai vizsgálatok (ANDERSON et al., 1991; MACKEY et al., 1991) alapján ez nagy valószínűséggel a 30 S üledékesi állandójú riboszóma alegység hődenaturációját jelenti. A vegetatív baktériumsejtek leghőérzékenyebb életfontosságú alkotórészeinek ezek a ribonukleo-proteid részecskék látszanak. Figyelemre méltó, hogy a poszt-mortem folyamatok között, 80 és 90 °C közötti endoterm csúccsal jelentkezik az az átalakulás, amely a hőkezelt, visszahűtött szuszpenzió ismételt "felfűtések" felvett termogrammon is újra észlelhető. Ez, az irreverzibilis fehérjedenaturációs

folyamatokkal ellentétben reverzibilis változást jelző csúcs valószínűleg a DNS "olvadását" reprezentálja (MILES et al., 1986).



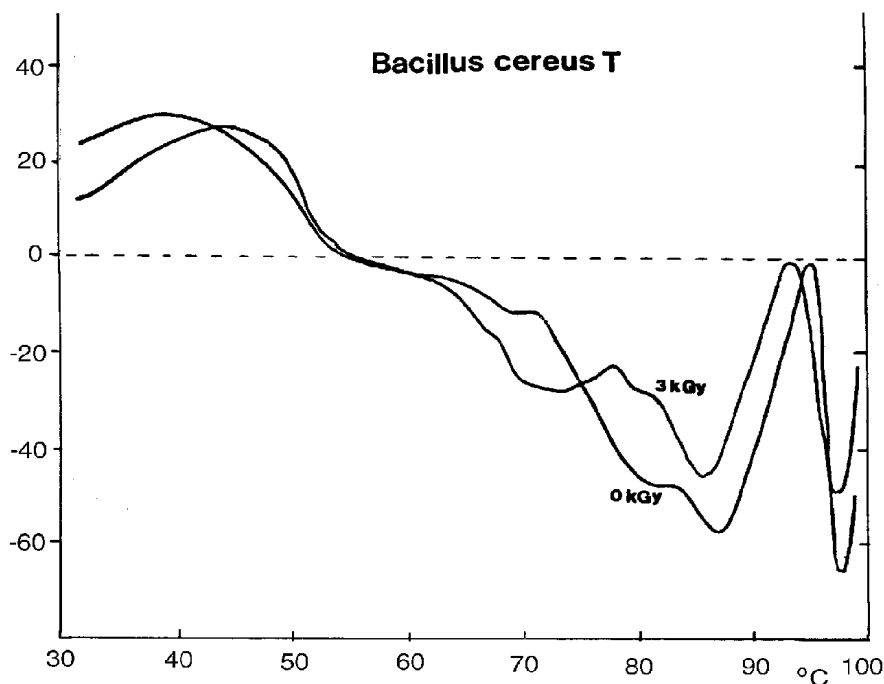
6.ábra: *Bacillus cereus* T vegetatív sejtjei szuszpenziójának DSC-termogramjai az első és a második "felfűtéskor"



7.ábra: *Listeria monocytogenes* szuszpenziójának DSC-termogramja az első (1) és a második (2) "felfűtéskor", a szaggatott görbe az élőcsíraszám-csökkenés hőmérséklet-függését mutatja

Hasonlóképpen érdekes lehetőséget ígér a DSC-technika a közismerten hőtűrő baktériumspórák hőinaktiválása, valamint a besugárzás hőérzékenyítő hatása mechanizmusának a tanulmányozására. Ehhez a műszerünkkel vizsgálható hőmérséklet-tartomány korlátozott volta miatt viszonylag nem túlzottan hőrezisztens, *Bacillus cereus* T spórákat választottunk. Az Andrásy Évával együtt végzett ilyen, tájékoztató vizsgálatainkból illusztrációképpen

kiragadom azt, amelyik kezeletlen, valamint 3 kGy gamma sugárdózissal előzetesen besugárzott spórapopuláció tömény szuszpenzióinak termogramjait mutatja (8. ábra). E spórák esetén a vegetatív sejtekénél mintegy 30 °C-kal nagyobb hőmérsékleten, 80 és 90 °C között kezdődik meg vizes szuszpenzióban a hőpusztulás. Ezzel az általunk vizsgált hőmérséklettartományon belül az egyik legnagyobb csúcsot adó endoterm folyamat van szinkronban. A 60 és 80 °C közötti endoterm változások lehetnek kapcsolatban a spórák hőaktiválása néven ismeretes, szubletális, a spóracsírázást lehetővé tevő, valószínűleg fehérjedenaturációs jellegű folyamattal (BELLIVEAU et al., 1991).



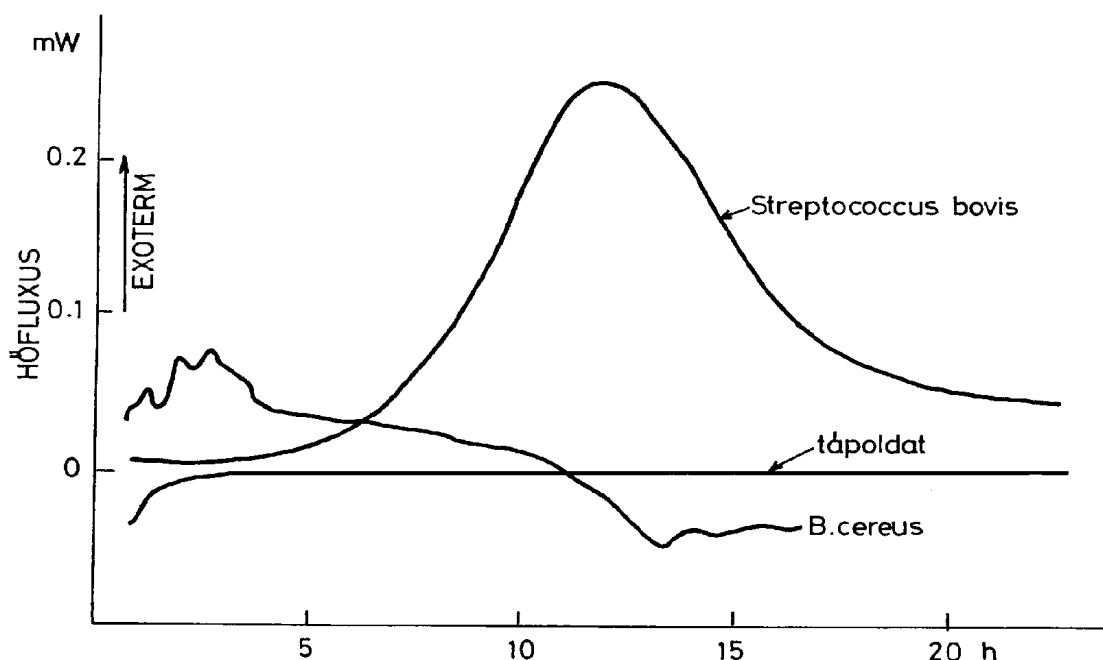
8. ábra: *Bacillus cereus* T spórák besugározatlan (0 kGy) és sugárkezelt (3 kGy) szuszpenzióinak DSC-termogramjai.

A besugárzott spórapopulációban hőkezelés közbeni élőcsíraszám-vizsgálatokkal észlelhető, megnövekedett hőérzékenység a termogrammon az endoterm folyamatok jelének kisebb hőmérsékletre eltolódásában nyilvánul meg. Ezt a hőérzékenyedést valószínűleg a besugárzott spórák protoplasztjának bizonyos mérvű rehidratációja okozza, ami a spóramagot körülvevő peptidoglikán réteg, az ún. cortex sugárkárosodása következtében csökkent ozmoregulációs képessége miatt megy végbe.

Utolsóként megemlítendő példa a mikroorganizmusok tenyészetének izotermikus üzemmódban végzett DSC-vizsgálata. A következő ábra (9. ábra) egyik diagramja *Streptococcus bovis* tenyészet 35 °C hőmérsékleten, zárt mintatartóban végzett inkubációja során mért exoterm jelét mutatja. A szemi-anaerob vizsgálati körülmények között jól szaporodó sztreptokokkuszos tenyészetének Gauss-görbeszerű termogramja valószínűleg arra utal, hogy jól észlelhető lappangási szakasz után a tenyészet anyagcsere-aktivitása a "szabályos" szigmoid szaporodási görbe szerint képződő biotermikus gyarapodásával együttjáró hőfejlődésben is megnyilvánul, ahol a termogram maximumának időpontja feltehetőleg a szaporodási görbe inflexiós pontjához tartozó időponttal esik egybe. Egy *Bacillus cereus* inokulummal oltott másik



tenyészet gyorsan meginduló, de hamar "szaggatottá" váló termogramja a szaporodáshoz nem megfelelő körülményekre és a folytatódó inkubáció során már denaturációs, bomlási folyamatokra utal.



9.ábra: A hőfluxus változása *Bacillus cereus* és *Streptococcus bovis* sejtjeivel beoltott és a beoltatlan táploldatban az izoterm (35 °C hőmérsékletű) inkubáció időtartamának a függvényében.

## Irodalom

1. Anderson, W. A., Hedges, N. D., Jones, M. V., M. B. (1991): Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* studied by differential scanning calorimetry. *J. Gen. Microbiol.*, **137**, 1419-1424.
2. Belliveau, B. H., Beaman, H. S., Pankratz, H. S., Gerhardt, P. (1991): Heat inactivation mechanisms in spores of differential scanning calorimetry. Abstracts of the 1991 ASM Annual Meeting, Dallas, Texas, 5. May 1991.
3. Donovan, J. W., Mapes, C. J., Davis, J. G., Garibaldi, J. A. (1975): A differential scanning calorimetric study of the stability of egg white to heat denaturation. *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 73-83.
4. Kijowski, J. M., Mast, M. G. (1988): Thermal properties in chicken broiler tissues. *J. Food sci.*, **53**, 363-366.
5. Ma, C.-Y., Harwalkar, V. R. (1991): Thermal analysis of food protein. In: J. E. Kinsella (ed.) *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 35, pp. 317-366. Academic Press, Inc., San Diego, etc.
6. Mackey, B. M., Miles, C. A., Parsons, S. E., Seymour, D. A. (1991): Thermal denaturation of whole cells and cell components of *Escherichia coli* examined by differential scanning calorimetry. *J. Gen. Microbiol.*, **137**, 2361-2374.
7. Miles, C. A., Mackey, B. M., Parsons, S.E. (1986): Differential scanning calorimetry of bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, **132**, 939-952.

# **A DSC termoanalitikai módszer néhány élelmiszertudományi alkalmazása**

*Farkas J.*

A közlemény ismerteti a SETARAM gyártmányú mikro-DSC készülék jellemzőit és működésmódját. Az elvégzett tájékoztató vizsgálatok kiterjedtek többek között sertés- és csirke-izomszövetek, húspépek és tojás fehérjéinek különféle fizikai és kémiai behatások által befolyásolt hődenaturációs folyamatainak tanulmányozására, valamint különböző keményítők elcsirizedése hőmérséklet-karakterisztikájának meghatározására. A mikrobiológiai alapozó kutatásokhoz kapcsolódóan a DSC módszer hasznos eszköznek bizonyult a baktériumsejtek hőpusztulási mechanizmusának, ill. a besugárzott baktériumspórák megnövekedett hőérzékenysége mibenlétének, izoterm üzemmódban pedig mikrobatenyészeteknek az inkubációs körülményektől függő hőtermelése és annak kinetikája tanulmányozásához.

## **Several Food Scientific Applications of DSC-Thermoanalytical Method**

*Farkas, J.*

The paper outlines the characteristics and performance of a SETARAM micro-DSC equipment. The exploratory examinations performed covered among others the study of thermal denaturation processes of pork and chicken muscle tissues, meat pulp and different egg white proteins influenced by different physical and chemical impacts as well as the determination of temperature-characteristics of gelatinisation of several starches. In connection with microbiological basic research, DSC method proved to be a useful tool in studying the mechanism of thermal destruction of bacterial cells, the nature of enhanced heat sensitivity of irradiated bacterial spores, while in isotherm mode it renders possible to investigate the heat production and kinetics of microbial cultures depending on incubation circumstances.

## **Einige lebensmittelwissenschaftliche Anwendungsmöglichkeiten der thermoanalytischen DSC-Methode**

*Farkas, J.*

Die Kennwerte und die Funktionsweise des Micro-DSC-Gerätes vom Typ SETARAM werden beschrieben. Die durchgeführten Untersuchungen erstrecken sich u. a. auf das Studium der durch verschiedene physikalische und chemische Faktoren beeinflussten Wärmedenaturationsprozesse der Eiweißstoffe von Schweine- und Geflügelmuskelgeweben, Fleischpasteten und Eiern sowie auf die Bestimmung der Temperaturcharakteristik der Verkleisterung von verschiedener Stärke. Die mit der mikrobiologischen Grundlagenforschung verbundene DSC-Methode erwies sich als nützliches Mittel zum Studium des Wärmeabstötungsmechanismus von Bakterienzellen, des Wesens der erhöhten Wärmeempfindlichkeit von bestrahlten Bakteriensporen sowie der von den Inkubationsbedingungen abhängigen Wärmeproduktion der Mikrobenzüchtungen und deren Kinetik.