

Dr hab. inż. Hanna KOWALSKA, prof. SGGW

Dr hab. inż. Agata MARZEC, prof. SGGW

Dr hab. inż. Dariusz PIOTROWSKI

Dr hab. inż. Jolanta KOWALSKA

Inż. Magdalena ŁUCZKIEWICZ

Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydział Nauk o Żywności
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

ZASTOSOWANIE MIKROTOMOGRAFII DO BADANIA ZMIAN MIKROSTRUKTURY ŻYWNOSCI W PROCESIE ODWADNIANIA I ZAMRAŻANIA®

Microtomography applying to study of food microstructure
in dehydration and freezing®

*Badania wspierane finansowo z dotacji MNiSW na działalność statutową Wydziału Nauk o Żywności,
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*

Słowa kluczowe: mikrotomograf, mikrostruktura, odwadnianie osmotyczne, zamrażanie.

Badanie mikrostruktury podczas przetwarzania żywności umożliwia ulepszenie i optymalizację technologii produkcji oraz podniesienie jakości żywności. Mikrotomografia jest metodą analizy mikrostruktury, która nie wymaga określonego, często skomplikowanego przygotowania próbek, w porównaniu do innych technik.

Potrzebne jest jednak duże doświadczenie w wykonywaniu obrazów mikroskopowych w układach dwu i trójwymiarowych poprzez dostosowanie parametrów skanowania w pierwszym etapie pomiaru oraz podstaw teoretycznych przydatnych do analizy różnych produktów spożywczych.

Key words: microtomograph, microstructure, osmotic dehydration, freezing.

Examination of microstructure during food processing enables improvement and optimization of production technology and food quality improvement. Microtomography is a microstructure analysis method that does not require specific, often complicated samples, compared to other techniques.

However, a lot of experience in performing microscopic images in two and three-dimensional systems by adjusting the scanning parameters in the first stage of measurement and theoretical, foundations useful for the analysis of various food products.

WSTĘP

Obecnie istnieje wiele metod, które umożliwiają badanie mikrostruktury żywności. Poznanie zmian, jakie zachodzą w mikrostrukturze podczas przetwarzania żywności umożliwia ulepszenie i optymalizację technologii produkcji. Większość metod wykorzystywanych do badania mikrostruktury żywności wymaga odpowiedniego przygotowania próbek, co prowadzi do naruszenia ich naturalnych struktur, a pozyskane informacje nie są wystarczająco dokładne. Mikrotomografia komputerowa umożliwia analizę mikrostruktury żywności w sposób nieinwazyjny i nie wymaga wcześniejszej preparatyki próbek. Polega na skanowaniu produktu, rekonstruowaniu gotowego obrazu i analizie wybranych parametrów. Jednocześnie metoda ta jest bardzo dokładna [26].

Owoce odznaczają się dużą zawartością wody. Podczas przechowywania zachodzą w nich procesy fizjologiczne, które wpływają na ich jakość. Stanowią też idealne środowisko do rozwoju drobnoustrojów powodujących zepsucie produktu. W celu wydłużenia okresu przydatności do spożycia a także zapewnienia bezpieczeństwa ich spożycia stosuje się różne metody, które mają na celu usunięcie znacznej ilości wody. Odwadnianie osmotyczne to jedna z nich. Jest to metoda stosowana jako zabieg wstępny przed suszeniem lub zamrażaniem. W wielu badaniach wykazano, że wpływa korzystnie na właściwości mechaniczne, umożliwia zachowanie naturalnej barwy i smaku produktów [33].

Celem artykułu jest przedstawienie możliwości badania mikrostruktury żywności z zastosowaniem mikrotomografu komputerowego na przykładzie odwadniania i zamrażania.

ZNACZENIE MIKROSTRUKTURY ŻYWNOŚCI

Badanie mikrostruktury jest bardzo ważnym zagadnieniem w ocenie jakości żywności, w której mogą występować różnorodne struktury wewnętrzne. Struktury komórkowe i włókniste występują w owocach i warzywach, struktury włókniste w mięsie, a wiele produktów spożywczych zawiera sieci białkowe, węglowodanowe lub tłuszczowe [3]. Systemy te wiążą się również z nierównomiernym ich rozmieszczeniem w żywności, zwłaszcza w produktach sypkich lub płynnych (zawiesinach) tworzących układy dyspersyjne i wielofazowe dyspersje oraz układy wielofazowe. Ich badanie nie jest łatwe, ale bardzo ważne ze względu na potrzebę kontroli jakości i projektowanie właściwości produktów żywnościowych.

Znajomość właściwości termodynamicznych umożliwia wgląd w mikrostrukturę żywności, co ma istotne znaczenie w teoretycznej interpretacji zjawisk fizycznych, zachodzących m.in. zależnie od stanu wody, w tym przemiany amorficzne związane z procesami suszenia lub przechowywania [34].

Owoce, warzywa i inne produkty charakteryzują się określonymi właściwościami fizycznymi, jak porowatość, gęstość, przepuszczalność błon komórkowych i adhezyjność. W znacznym stopniu wpływają one na wymianę masy różnych substancji w procesach technologicznych, a także podczas przechowywania żywności. Parametry struktury mają istotny wpływ na właściwości żywności, szczególnie na właściwości mechaniczne [40]. Wskutek osłabienia struktur tkanki możliwe jest występowanie pęknięć, które obniżają wytrzymałość produktu i przyczyniają się do zmian biologicznych, trudnych do wykrycia we wczesnych fazach [17].

Mikrostruktura żywności jest ważnym czynnikiem w projektowaniu żywności i nadawaniu jej określonych cech strukturalnych [24]. Analiza mikrostruktury, a w szczególności rozmieszczenia przestrzennego składników żywności (ich interakcje) jest kluczem do tworzenia nowych produktów pod względem ich właściwości fizycznych i sensorycznych. Wiele informacji o mikrostrukturze można pozyskać, używając różnych technik obrazowania [6].

METODY BADANIA MIKROSTRUKTURY ŻYWNOŚCI

Powszechnie używanymi technikami obrazowania mikrostruktury jest mikroskopia świetlna (LM), skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM), mikroskopia sił atomowych (AFM), transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM), rezonans magnetyczny (MRI), a także mikrotomografia komputerowa (μ CT) [22, 27, 34].

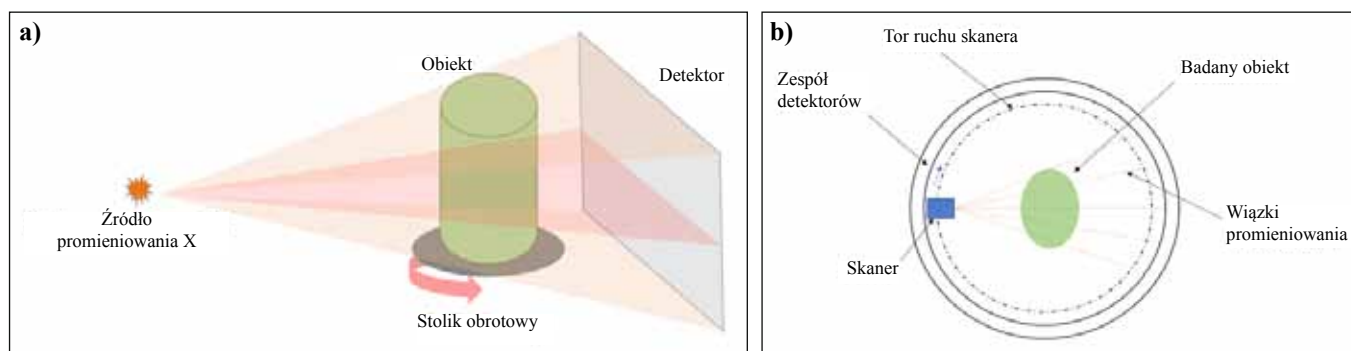
Mikroskopia świetlna (LM) jest najstarszą techniką wykorzystywaną do analizy mikrostruktury żywności. Wykorzystuje ona światło widzialne oraz system soczewek w celu powiększenia obrazu małych i cienkich próbek. Metoda ta wymaga odpowiedniego przygotowania badanego materiału. Z badanego materiału należy wykroić cienkie plastry, a w przypadku próbek płynnych należy rozproszyc lub zgnieść materiał pomiędzy szkiełkiem podstawowym a nakrywkowym. Preparat może być również barwiony w celu poprawy kontrastu pomiędzy składnikami żywności, dlatego jest to metoda odpowiednia do analizy wieloskładnikowych lub wielofazowych produktów [22, 34].

Odmianą mikroskopii świetlnej jest mikroskopia konfokalna i coraz nowocześniejsze rozwiązania w postaci laserowych mikroskopów konfokalnych z systemem Ramana [37]. Skaningowy mikroskop konfokalny (Confocal Laser Scanning Microscopy CLSM) jest stosowany do badania interakcji mikroorganizmów z żywnością, dostarczając trójwymiarowych informacji bez fizycznego dzielenia próbki [1]. W mikroskopii konfokalnej stosuje się barwniki fluorescencyjne [11, 34]. Uzyskiwany obraz odznacza się wysoką rozdzielczością i kontrastem. Ta metoda badawcza została jednak uznana za czasochłonną, wymagającą dużego doświadczenia [1, 5]. Ponadto mikroskopia świetlna umożliwia badanie tylko fragmentu badanego materiału. Nie bada produktu jako całości, a dodatkowo go niszczy. Wymaga ona bardzo dokładnego przygotowania próbki w celu uzyskania obrazu.

W zależności od tego, jakim procesom została poddana próbka, stosuje się konwencjonalną elektronową mikroskopię skaningową (conventional SEM, SEMs). W tym przypadku badaniu poddaje się próbkę wysuszoną. Natomiast w kriogenicznej skaningowej mikroskopii elektronowej (cryo-SEM, CSEM) w celu wymrożenia wody próbka jest zamrażana do temperatury poniżej -80°C . Stosuje się również skaningową mikroskopię elektronową z zastosowaniem zmiennego ciśnienia (variable pressure SEM, VP-SEM) [16, 34]. Zaletą SEMs jest uzyskanie obrazu o dużej rozdzielczości oraz wysokiej głębi ostrości, wadą natomiast konieczność poddania próbki działaniu wysokiej próżni. Metoda cryo-SEM pozwala na uniknięcie potrzeby suszenia produktu. Próbkę poddaje się procesowi bardzo szybkiego zamrożenia w celu wykształcenia się mikrokryształów lodu. Umożliwia to zachowanie struktury materiału zbliżonej do struktury pierwotnej. Badanie mikrostruktury metodą VP-SEM pozwala na wykonywanie analiz przy zastosowaniu różnych poziomów ciśnienia. Jest narzędziem do obrazowania próbek uwadnianych i próbek o niskim przewodnictwie. VP-SEM to metoda umożliwiająca zachowanie najbardziej naturalnej struktury badanego produktu [14].

Badanie żywności z użyciem mikroskopu sił atomowych (AFM) polega na tworzeniu obrazu poprzez skanowanie powierzchni oraz struktury za pomocą ostrej końcówki lub sondy. Mechanizm obrazowania umożliwia jedynie wizualizację próbki w środowisku ciekłym lub gazowym. Próbka zachowana zostaje w stanie prawie nienaruszonym, ale wymaga odpowiedniego przygotowania. Za pomocą mikroskopii sił atomowych można uzyskać obraz cząsteczek w żywności, kompleksów molekularnych, złożonych materiałów spożywczych. Umożliwia to określenie relacji między strukturą molekularną a jej funkcją [25].

Transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM) umożliwia uzyskanie dwuwymiarowego obrazu wewnętrznej struktury żywności o dużej rozdzielczości. Powstaje on na skutek ugięcia, pochłonięcia i odbicia fali elektronów od różnych części badanego obiektu. W ten sposób możliwe jest zobrazowanie dokładnego położenia atomów, zidentyfikowanie struktury krystalicznej oraz analizowanie składników chemicznych wchodzących w skład budowy obserwowanej żywności [15, 37]. Jest to metoda mikroskopowa, w której odpowiednie przygotowanie próbki jest bardzo ważne i dość skomplikowane. Związane jest to z transmisją elektronów przez materiał, dlatego próbka musi być bardzo cienka



Rys. 1. Schemat działania: a) mikrotomografu z wiązką rozbieżną, b) tomografu komputerowego.

Fig. 1. Scheme of operation: a) microtomograph with divergent beam, b) computed tomograph.

Źródło: Opracowanie własne, na podstawie [12, 13]

Source: Own study based on [12, 13]

(< 100 nm). Ponadto proces prowadzony jest w warunkach bardzo wysokiej próżni. Próbkę musi być wysuszona i dodatkowo poddana barwieniu solami metali ciężkich, takimi jak tetratlenek osmu [34]. Ze względu na trudność przygotowania preparatu do badania, transmisyjna mikroskopia elektronowa ma znaczne ograniczenia zastosowania. Odmianą transmisyjnej mikroskopii elektronowej jest cryo-TEM. Polega na badaniu próbek w temperaturach kriogenicznych, nie wymaga barwienia i utrwalenia. Pozwala nie tylko na obrazowanie zamrożonych próbek żywności, ale także materiału, który jest zbyt lotny dla metody klasycznego TEM w temperaturze pokojowej [38].

Rezonans magnetyczny (RM) jest najczęściej stosowaną metodą obrazowania w medycynie. Oparty jest na absorpcji i emisji energii przez próbkę umieszczoną w polu magnetycznym. Pomimo tego, że rezonans magnetyczny może zapewnić dużo informacji o rozmieszczeniu poszczególnych składników w badanej żywności, nie daje szczegółowego obrazu jej wewnętrznej struktury [2].

Mikrotomografia komputerowa (μ CT) jest metodą, która nie wymaga ingerencji destrukcyjnej w badany materiał w celu zobrazowania jego wewnętrznej mikrostruktury. Zasada działania i metoda oparta jest częściowo na medycznym tomografie komputerowym (Computer-Aided Tomography, CAT) lecz uzyskany obraz charakteryzuje się znacznie większą rozdzielczością. Próbkę badaną za pomocą mikrotomografu może mieć wielkości od kilku do kilkudziesięciu milimetrów, co umożliwia zobrazowanie jej w nienaruszonym i macierzystym stanie. Rozdzielczość powstałego obrazu zależna jest od badanego materiału i ustawień, ale zazwyczaj jest ona rzędu kilkudziesięciu mikrometrów. W prezentowanej metodzie próbki nie są poddawane obróbce wstępnej. Wyjątkiem jest żywność, w której trudno odróżnić poszczególne składniki, ponieważ istnieje mały kontrast między nimi. Dlatego też, próbki takie barwi się gęstym barwnikiem, np. tetratlenkiem osmu [34].

ZASADA DZIAŁANIA MIKROTOMOGRAFU

Podstawowa zasada działania mikrotomografu oparta jest na fizyce absorpcyjnej i uzyskaniu odpowiednich obrazów 2D badanego materiału oraz rekonstrukcji matematycznej tych obrazów do formy 3D [21]. Uproszczony schemat

budowy i działanie mikrotomografu przedstawiono na rysunku 1. W mikrotomografie komputerowym jednym z najważniejszych elementów jest źródło promieniowania rentgenowskiego. Jest nim lampa rentgenowska, która powinna charakteryzować się małym rozmiarem płamki oraz wykazywać odpowiednią energię i geometrię wiązki promieniowania. Kolejnym elementem jest detektor. Przetwarza on promieniowanie rentgenowskie w impulsy elektryczne. Pomiędzy detektorem a lampą rentgenowską znajduje się manipulator. Dzięki niemu możliwe jest przemieszczanie próbek w trzech prostopadłych do siebie płaszczyznach. Badany obiekt znajduje się na obrotowym stoliku, dlatego podczas skanowania badanego materiału jest on obracany o założony krok kątowy. Obraz transmisyjny próbki powstaje w każdym zadanym kroku. Im kątowy krok obrotowy jest mniejszy, tym powstaje więcej obrazów i dokładniej można odwzorować wewnętrzną strukturę badanego materiału. Podczas skanowania całkowity kąt obrotu musi wynosić minimum 180° . W kolejnym etapie, dzięki uzyskanej projekcji, za pomocą programu komputerowego tworzona jest rekonstrukcja struktury wewnętrznej [10, 39].

Zasadniczą różnicą między tomografem medycznym a mikrotomografem stosowanym do badania np. żywności jest ruchomość badanych obiektów. W tomografie stosowanym w celach medycznych podczas badania pacjent jest nieruchomy, a układ lampa-detektor ulega obrotowi, natomiast w mikrotomografie badana próbka obraca się o określony krok kątowy. Dzięki temu jego konstrukcja jest znacznie prostsza. Kolejną różnicą, wiąże się z ogniskiem źródła promieniowania, które w mikrotomografie charakteryzuje się niewielkim rozmiarem. Detektory promieniowania w mikrotomografie powinny cechować się krótkim czasem bezwładności [10].

TWORZENIE OBRAZU W MIKROTOMOGRAFIE

Zdjęcie rentgenowskie to dwuwymiarowa projekcja trójwymiarowego obiektu, na podstawie której analizuje się, w jaki sposób równoległa wiązka promieniowania X oddziałuje z próbką. Uzyskany w ten sposób obraz przedstawiony jest jako zespół punktów o odpowiednim stopniu szarości. Każdy taki punkt zawiera informacje o absorpcji, jakiej uległ promień wiązki podczas przechodzenia przez badany trójwymiarowy obiekt.



Rys. 2. Etapy powstawania obrazu w mikrotomografie komputerowym.
Fig. 2. Stages of image formation in a computer x-ray microtomography.

Źródło: Opracowanie własne na podstawie [39]

Source: Own study based on [39]

Powstawanie obrazu w mikrotomografie komputerowym podzielone jest na trzy zasadnicze etapy (Rys. 2). W pierwszym etapie tworzone są dane podstawowe. Obratowy stolik mikrotomografu obraca badany obiekt w przedziale 180 lub 360°. Przy każdym położeniu kątowym zostaje zarejestrowany jeden transmisyjny obraz rentgenowski. Każdy z nich zostaje zapisany w postaci 16 bitowego pliku TIFF (format plików graficznych). W zależności od ilości i zakresu kroków, o które układ obraca się, powstaje liczba zapisanych plików. Oprócz tego, dodatkowo tworzone są obrazy, które umożliwiają rozpoczęcie procesu reorganizacji obrazów w związku z nierównoległością wiązki promieniowania.

Detektor przekazuje informacje o pochłoniętym promieniowaniu przez tkanki badanego materiału. Kolejnym etapem jest rekonstrukcja obrazu. Powstaje ona na podstawie szeregu obliczeń matematycznych. Na tym etapie pozyskiwane są dane w postaci punktów, które powstają na matrycy, czyli obszarze, gdzie tworzony jest obraz. Każdemu punktowi przypisana jest wielkość promieniowania rentgenowskiego, jaka jest tłumiona przez poszczególne obszary materiału. Wynika to z faktu, że badany obiekt ma zróżnicowaną strukturę wewnętrzną. Wszystkim punktom w zależności od poziomu pochłaniania promieniowania przypisywane są różne odcienie szarości w 256-stopniowej skali.

Ostatni etap związany jest z konwersją danych o wielkości 16 bitów z macierzy do obrazu w skali szarości. Algorytm wyszukuje minimalną oraz maksymalną wartość osłabienia sygnału. Wartości przekraczające maksymalne wartości tłumienia przedstawiane są w barwie czarnej, natomiast te, które osiągają wartości poniżej minimalnej wartości tłumienia, w białej. Punkty znajdujące się pomiędzy wartościami brzegowymi przedstawiane są jako półtony. Końcowy obraz może być wyeksportowany do formatów BMP (8-bitowych) oraz TIFF (16-bitowych) [8].

PROCESY KSZTAŁTUJĄCE MIKROSTRUKTURĘ ŻYWNOŚCI ORAZ SPOSOBY ICH MONITOROWANIA

Odwadnianie osmotyczne

Odwadnianie osmotyczne to proces polegający na usunięciu części wody z produktu poprzez zanurzenie go w roztworze hipertonicznym o działaniu odwadniającym [20, 32, 33]. Odwadnianie osmotyczne można prowadzić w celu uzyskania nowych produktów wzbogaconych w bioskładniki [19] lub jako wstępną obróbkę przed suszeniem lub mrożeniem [29].

Większość procesów w przemyśle spożywczym wiąże się z wymianą ciepła i masy, co skutkuje pojawieniem się

fizycznych, mikrostrukturalnych i makrostrukturalnych modyfikacji żywności. W produktach o dużej porowatości, czyli w owocach lub warzywach, trudno jest wyjaśnić i przedstawić zjawiska, jakie zachodzą podczas transportu masy ze względu na złożoną morfologię budowy tkanki. Podczas odwadniania osmotycznego zachodzą zmiany w komórce ściany,

następuje rozdzielenie regularnej struktury tkankowej, liza membran, kurczenie się komórek, co prowadzi do utrudnienia transportu substancji. Możliwość obserwacji zmian, jakie zachodzą w tkankach roślinnych podczas odwadniania osmotycznego pozwala poznawać i zrozumieć mechanizm przenoszenia masy [18]. W badaniach przeprowadzonych przez Nieto i wsp. [28] w celu zobrazowania tych zmian wykorzystano mikroskopię świetlną oraz skaningowy mikroskop elektronowy (Environmental Scanning Electron Microscope, ESEM).

Suszenie

Suszenie to jedna z wielu metod utrwalania żywności. Proces ten możliwy jest dzięki ciepłu dostarczonemu z zewnątrz. Usunięcie znacznej ilości wody obniża aktywność wody materiału, co umożliwia przedłużenie trwałości produktów spożywczych [23].

Suszenie jako proces termiczny powoduje wiele zmian w żywności. Są to zmiany fizyczne, chemiczne oraz biochemiczne [9]. Kurczenie to jedna z głównych zmian fizycznych, która występuje podczas usuwania wody. Zmiana ta spowodowana jest zapadaniem się komórek podczas odparowania wilgoci. Ma to negatywny wpływ na jakość produktu. Skurcz początkowo powoduje zmianę jego kształtu, w związku z naprężeniem pojawiającym się podczas usuwania wody z materiału [4]. Tego typu zmiany fizyczne mają bezpośredni wpływ na modyfikację mikrostruktury żywności, a to generuje występowanie zmian chemicznych i biochemicznych. Związane jest to z zaburzeniem oryginalnej mikrostruktury analizowanej na poziomie komórkowym lub zmian chropowatości badanej powierzchni [7]. Zmiany te mogą oddziaływać na drogę, którą ciepło oraz woda i inne składniki żywności muszą pokonać podczas suszenia. Zmiany chemiczne i biochemiczne, jakie zachodzą w żywności, mają wpływ na dalsze procesy jej przetwarzania. Mikrostruktura i jej modyfikacje mają również wpływ na późniejszy ewentualny stopień wyekstrahowania związków bioaktywnych oraz uwalniania pożądaných substancji z suszonej żywności [9].

Możliwość modyfikacji mikrostruktury żywności oraz monitorowania tych zmian jest bardzo istotna. Można osiągnąć to poprzez zastosowanie odpowiednich technologii suszenia wraz z odpowiednią obróbką wstępną produktu. Zmiany mikrostruktury mogą być monitorowane z użyciem różnych technik mikroskopowych, które nie są łatwe i wymagają ilościowego opisu zmian mikrostrukturalnych za pomocą programów komputerowych. Z tego powodu proponowane są coraz skuteczniejsze metody w celu obrazowania zmian mikrostruktury żywności, takie jak analiza fraktalna oraz nieinwazyjna metoda monitorowania za pomocą mikrotomografu [34, 39].

Pomimo zastosowania tak zaawansowanej techniki wykorzystującej mikrotomograf, monitorowanie mikrostruktury podczas suszenia może nadal nie być adekwatne do stanu faktycznego. Informacje, jakie można pozyskać podczas tego procesu, jak np. zmiany porowatości tkanki badanego produktu, nie do końca reprezentują cechy mikrostrukturalne. Uzyskane obrazy mikroskopowe nie są łatwe do oceny. Fraktalna analiza mikrostruktury umożliwia natomiast monitorowanie zmian w żywności podczas procesu suszenia w bardziej dokładny sposób [27].

Zamrażanie

Zamrażanie to proces polegający na obniżeniu temperatury produktu poniżej temperatury krioskopowej. Towarzyszy mu przemiana fazowa wody w lód. Zamrażanie jest jedną z najskuteczniejszych metod stosowanych w celu zachowania jakości i bezpieczeństwa większości produktów spożywczych podczas długotrwałego przechowywania. Jest ono również stosowane w celu oddzielania wody podczas zagęszczania w procesie zwanym kriokoncentracją [30], suszenia sublimacyjnego oraz jako metoda niezbędna przy produkcji lodów [31]. Podczas zamrażania powstające naprężenia mechaniczne przyczyniają się do pogorszenia struktur w żywności. Naprężenia te spowodowane są procesem powstawania lodu i zmianą jego objętości, przemieszczaniem się wody podczas powolnego zamrażania, rekrytalizacją oraz gradientem temperatur wewnątrz produktu. Krytalizacja wody powoduje znaczną zmianę w mikrostrukturze żywności. Wielkość tych zmian zależy od lokalizacji i wielkości kryształów lodu, a wskazane uwarunkowania zależą od temperatury zamrażania [31].

Owoce należą do produktów łatwo psujących się, a ich jakość i stabilność zmienia się w trakcie przetwarzania oraz przechowywania. W większości owoców woda jest głównym składnikiem. Podczas zamrażania powstające kryształy lodu w dużym stopniu modyfikują mikrostrukturę tkanek. Komórki, oraz powietrzne przestrzenie wewnątrzkomórkowe wchodzące w skład mikrostruktury owoców, są różnych rozmiarów i kształtów. Podczas zamrażania ciekła woda krystalizuje, a stężenie substancji rozpuszczonej w pozostałej wodzie wzrasta. Kryształy lodu formują się w strukturach komórek [36]. Zaburzenie strukturalne tkanek prowadzi do zwiększenia kontaktu pomiędzy enzymami i ich substratami, co przyczynia się do pogorszenia jakości produktów. W celu ograniczenia tych zmian stosuje się procesy mające na celu inaktywację enzymów przed zamrażaniem, np. blanszowanie [35]. Jakość produktów mrożonych pogarsza się również z powodu dużych wahań temperatury podczas zamrażania. Wraz ze stale rosnącą amplitudą temperatur wielkość kryształów stale rośnie. Spowodowane jest to przez proces rekrytalizacji mniejszych kryształów lodu prowadzący do zwiększenia ich rozmiarów. W rezultacie ściany komórkowe i struktury komórkowe pękają, co jest przyczyną przenikania wilgoci oraz substancji rozpuszczonej z wnętrza komórek [41].

Podczas zamrażania dochodzi do mechanicznego, bezpośredniego uszkodzenia mikrostruktury. Zakres w jakim zostanie ona naruszona zależy od metody przeprowadzenia zamrażania, a dokładniej od szybkości procesu. Podczas szybkiego zamrażania dochodzi do powstania dużej liczby małych kryształów lodu. Natomiast podczas powolnego zamrażania powstaje mniej kryształów lodu, ale o większych

rozmiarach. W badaniach dotyczących jabłek mrożonych różnymi metodami, po zobrazowaniu ich tkanek za pomocą mikrotomografu dowiedziono, że duże kryształy lodu mają większy wpływ na zniekształcenie struktury tkanki niż większa liczba drobnych [36].

PODSUMOWANIE

Analiza mikrostruktury z użyciem mikrotomografu umożliwia pozyskanie informacji o właściwościach mikrostrukturalnych żywności, zawartości składników, sposobu ich rozmieszczenia w objętości materiału, a także zmianach, jakie zachodzą podczas procesów technologicznych.

W porównaniu do innych metod analizy mikrostruktury, mikrotomografia jest techniką, niewymagającą określonego, często skomplikowanego przygotowania próbek.

Podobnie jak w innych metodach analizy żywności, wymaga dużego doświadczenia w wykonywaniu obrazów poprzez dostosowanie parametrów skanowania w pierwszym etapie pomiaru oraz podstaw teoretycznych przydatnych do analizy obrazu mikrostruktury różnych produktów spożywczych.

LITERATURA

- [1] AHMED S.A., P. KARANIS. 2018. "An overview of methods/techniques for the detection of *Cryptosporidium* in food samales". *Parasitology Research* 117: 629-653.
- [2] BARIGOU M., M. DOUAIRE. 2013. "X-ray micro-computed tomography for resolving food microstructures". W: *Food Microstructures: Microscopy, Measurement and Modelling* (edited by Morris V.J., Groves K.). Woodhead Publishing: 246-267.
- [3] DEMAN J.M., J.W. FINLEY, W.J. HURST, C.Y. LEE. 2018. "Principles of Food Chemistry" Fourth Edition, Springer Press.
- [4] FANTA S. W., M.K. ABERA, W. A. AREGAWI, Q. TRI HO, P. VERBOVEN, J. CARMELIET, B. M. NICOLAI. 2014. "Microscale modeling of coupled water transport and mechanical deformation of fruit tissue during dehydration". *Journal of Food Engineering* 12: 86-96.
- [5] FAYER R., M. SANTIN, D. MACARISIN, G. BAUCHAN. 2013. "Adhesive-tape recovery combined with molecular and microscopic testing for the detection of *Cryptosporidium* oocysts on experimentally contaminated fresh produce and a food preparation surface". *Parasitology Research* 112(4):1567-1574. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3305-7>
- [6] FRISULLO P., J. LAVERSE, R. MARINO, M.A. DEL NOBILE. 2009. "X-ray computed tomography to study processed meat microstructure". *Journal of Food Engineering* 94: 283-289.
- [7] GRZEGORY P., T. PIETRZAK, D. PIOTROWSKI. 2014. "Wykorzystanie mikroskopii w analizie struktury suszonej żywności". *Przemysł Spożywczy* 68 (2): 12-15.

- [8] **GUILHERME A., G. BUZANICH, M. L. CARVALHO, 2012.** "Focusing systems for the generation of X-ray micro beam. An overview". *Spectrochimica Acta Part B* 77: 1-8.
- [9] **HIRANVARACHAT B., S. DEVAHASTIN, N. CHIEWCHAN. 2012.** "In vitro bioaccessibility of β -carotene in dried carrots pretreated by different methods". *International Journal of Food Science and Technology* 47: 535-541.
- [10] **INTERNET 1:** <http://www.badania-nieniszczace.info/Badania-Nieniszczace-Nr-01-08-2009/Serwis-Badania-Nieniszczace-01-08-2009-art-nr2.html>, dostęp w dniu 25.11.2017.
- [11] **INTERNET 2:** <https://www.microscopyu.com/techniques/confocal/introductory-confocal-concepts>, dostęp w dniu 12.12.2017.
- [12] **INTERNET 3:** www.zfm.if.uj.edu.pl, dostęp w dniu 22.01.2018.
- [13] **INTERNET 4:** www.inzynieria-biomedyczna.com.pl, dostęp w dniu 22.01.2018.
- [14] **JOUBERT L. M. 2012.** "VP-SEM: Unsung hero of SEM imaging. Application of VP-SEM to beat visualization challenges". *Imaging & Microscopy*: 1-5.
- [15] **JÓŹWIAK M.A., M. JÓŹWIAK 2009.** "Zastosowanie mikroskopii elektronowej w bioindykacji środowiska". *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 40.
- [16] **KALAB M., ALLAN- P. WOJTAS, S. S. MILLER. 1995:** "Microscopy and other imaging techniques in food structure analysis". *Trends in Food Science & Technology* 6(6):177-186.
- [17] **KONSTANKIEWICZ K., M. GANCARZ, A. KRÓL, K. PAWLAK. 2002.** "Wyznaczanie parametrów struktury tkanki miękkiej bulwy ziemniaka odmian „Danusia” i „Kuba”. *Acta Scientiarum Polonorum* 1(2): 23-32.
- [18] **KOWALSKA H., A. LENART. 2003.** "Znaczenie wymiany masy w tworzeniu żywności nowej generacji". *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2: 12-17.
- [19] **KOWALSKA H., A. MARZEC, J. KOWALSKA, A. CIURZYŃSKA, K. CZAJKOWSKA, J. CICHOWSKA, K. RYBAK, A. LENART. 2017.** Osmotic dehydration of Honeoye strawberries in solutions enriched with natural bioactive molecules. *LWT - Food Science and Technology* 85: 500-505. doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.044.
- [20] **KOWALSKA H., A. MARZEC, J. KOWALSKA, A. CIURZYŃSKA, K. SAMBORSKA, A. LENART. 2018.** "Rehydration properties of hybrid method dried fruit and enriched by natural component". *International Agrophysics* 32(2): 1-8. DOI 10.1515/intag-2016-0100.
- [21] **LANDIS E. N., D. T. KEANE. 2010.** "X-ray microtomography". *Materials Characterization* 61: 1305-1316.
- [22] **LAVERSE J., P. FRISULLO, A. CONTE A., M. A. DEL NOBILE. 2012.** "X-ray microtomography for food quality analysis". W: *Food Industrial Processes- Methods and Equipment*: 339-362.
- [23] **LEWICKI P. P. 2005.** "Suszenie". W: *Inżynieria procesowa i aparatura przemysłu spożywczego* (red. P.P. Lewicki). Warszawa: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne.
- [24] **MIRI T., S. BAKALIS, S.D. BHIMA, P. FRYER. 2006.** "Use of X-ray micro-CT to characterize structure phenomena during frying". *Materiały konferencyjne: 13th World Congress of Food Science & Technology, Nantes, Francja, 17-21.08.2006.*
- [25] **MORRIS V. J. 2007.** "Atomic force microscopy (AFM) techniques for characterising food structure". *Novel Methods to Study Food Microstructures* 2: 210-215.
- [26] **MOURADA C., K. LAPERREB, M. HALUTA, C. GALANTC, M. VAN CAUTERD, B.C. VANDE BERGA. 2018.** "Fused micro-computed tomography (μ CT) and histological images of bone specimens". *Diagnostic and Interventional Imaging*. <https://doi.org/10.1016/j.diii.2018.01.01>
- [27] **NIAMNUY C., S. DEVAHASTIN, S., SOPONRONNARIT. 2014:** "Some recent advances in microstructural modification and monitoring of foods during drying: A review". *Journal of Food Engineering* 123: 148-156.
- [28] **NIETO A. B., D.M. SALVATORI., M.A. CASTRO, S.M. ALZAMORA. 2004.** "Structural changes in apple tissue during glucose and sucrose osmotic dehydration: shrinkage, porosity, density and microscopic features". *Journal of Food Engineering* 61: 269- 278.
- [29] **OLIVER L., N. BETORET, P. FITO, M. B. J. MEINDERS. 2012.** "How to deal with visco-elastic properties of cellular tissues during osmotic dehydration". *Journal of Food Engineering* 110: 278-288.
- [30] **ORELLANA-PALMA P. 2017.** "Retention of ascorbic acid and solid concentration via centrifugal freeze concentration of orange juice". *Journal of Food Quality* 1-8. <https://doi.org/10.1155/2017/5214909>
- [31] **PAŁACHA Z. 2005.** "Zamrażanie żywności". W: *Inżynieria procesowa i aparatura przemysłu spożywczego* (red. P.P. Lewicki). Warszawa: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne.
- [32] **PIASECKA E., M. UCZCIWEK, R., KLEWICKI. 2009.** Odwadnianie osmotyczne owoców w roztworach zawierających fruktooligosacharydy, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2(63): 138-153.

- [33] **PHISUT N. 2012.** "Factors affecting mass transfer during osmotic dehydration of fruits". *International Food Research Journal* 19 (1): 7-18.
- [34] **RAO M. A., S.S. RIZVI. H., A.K. DATTA, J. AHMED. 2014.** Food microstructure analysis. W: *Engineering Properties of Foods*, IV edycja, CRC Press Taylor & Francis Group: 64- 88.
- [35] **TEREFE N. S., C. VERSTEEG. 2011.** "Texture and microstructure of fruits and vegetables". W: *Practical Food and Research*, chapter IV (part I): 89-115.
- [36] **VICENT V., P. VERBOVEN, F. NDOYE, G. ALVAREZ, B. NICOLAÏ. 2017.** "A new method developed to characterize the 3D microstructure of frozen apple using X-ray micro-CT". *Journal of Food Engineering* 212: 154-164.
- [37] **YASEEN T., DA-WEN SUN, H. PU, TING-TIAO PAN. 2018.** „Detection of Omethoate Residues in Peach with Surface-Enhanced Raman Spectroscopy". *Food Analytical Methods*: 1-10. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1233-y>. [https://link-1springer-1.com-1000750ig0598.han.bg.sggw.pl/content/pdf/10.1007%2Fs12161-018-1233-y.pdf](https://link.springer-1.com-1000750ig0598.han.bg.sggw.pl/content/pdf/10.1007%2Fs12161-018-1233-y.pdf).
- [38] **ZACHMAN M. J., E. ASENATH- SMITH, L. A. ESTROFF, L. F. KOURKOUTIS. 2016.** "Site-specific preparation of intact solid-liquid interfaces by label-free in situ localization and cryo-focused ion beam lift-out". *Microscopy and Microanalysis* 22(6): 1338-1349.
- [39] **ZALEWSKA M. 2016.** "Zastosowanie mikrotomografii komputerowej w analizie żywności". *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna* 2: 85-92.
- [40] **ZDUNEK A., K. KONSTANKIEWICZ. 2001.** "Emisja akustyczna w badaniach procesów pęknięcia tkanek roślinnych". *Acta Agrophysica* 55: 95. (str. całości 1-102).
- [41] **ZHAO Y., P. S. TAKHAR. 2017.** "Micro X-ray computed tomography and image analysis of frozen potatoes subjected to freeze-thaw cycles". *LWT-Food Science and Technology* 79: 278- 286.