

Joanna PIEPIÓRKA-STEPUK¹, Katarzyna TANDECKA²

¹ POLITECHNIKA KOSZALIŃSKA, KATEDRA PROCESÓW I URZĄDZEŃ PRZEMYSŁU SPOŻYWCZEGO,

² POLITECHNIKA KOSZALIŃSKA, KATEDRA MECHANIKI PRECYZYJNEJ

Zastosowanie laserowej mikroskopii skaningowej do oceny mikrostruktury osadów mlekowych powstających podczas termicznej obróbki mleka

Dr inż. Joanna PIEPIÓRKA-STEPUK

Absolwentka Wydziału Mechanicznego Politechniki Koszalińskiej. W roku 2013, z wyróżnieniem uzyskała stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie Inżynieria Żywności. Jest adiunktem w Katedrze Procesów i Urządzeń Przemysłu Spożywczego Wydziału Mechanicznego Politechniki Koszalińskiej. W swojej działalności naukowej zajmuje się procesami mycia i dezynfekcji w zakładach przetwórstwa spożywczego, głównie techniką CIP oraz systemami jakości.

e-mail: joanna.piepiorka@tu.koszalin.pl



Mgr inż. Katarzyna TANDECKA

Od roku 2006 doktorantka, a od roku 2011 pracownik na stanowisku Samodzielny referent inżynierijno-techniczny w Katedrze Mechaniki Precyzyjnej Wydziału Mechanicznego Politechniki Koszalińskiej. W swojej działalności naukowej zajmuje się procesami mikrowygładzania z zastosowaniem folii ściernych o nieciągłej powierzchni oraz rolek dociskowych o strefowo zmiennej podatności.

e-mail: katarzyna.tandeka@tu.koszalin.pl



Streszczenie

W pracy przedstawiono zagadnienia związane z powstawaniem zanieczyszczeń mlekowych pod wpływem wysoko temperaturowej obróbki mleka. Ocenie poddano trzy płytki ze stali nierdzewnej o różnej chropowatości, zanieczyszczone gorącym mlekiem. Do oceny mikrostruktury powstających osadów wykorzystano laserowy mikroskop pomiarowy LEXT OLS4000 firmy Olympus. Analiza uzyskanych danych pomiarowych prowadzona była w środowisku TalyMap Platinum 4.0. Uzyskane wyniki badań pozwoliły określić różnice w ilości i budowie tworzących się osadach mlekowych w zależności od wykończenia powierzchni ze stali nierdzewnej. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że pomiar techniką LSCM może być z powodzeniem wykorzystany do analiz zanieczyszczeń powstających w procesach przetwórstwa żywności.

Słowa kluczowe: osady mlekowe, higiena produkcji żywności, chropowatość powierzchni, konfokalna laserowa mikroskopia skaningowa.

Confocal laser scanning microscopy used for assessment of microstructure of milk fouling formed during high-heat milk treatment

Abstract

Formation of fouling during milk heat treatment in dairy industries is still a serious problem both technically and economically. The paper presents the issues related to the formation of milk fouling. Three types of plates of different roughness, contaminated by hot milk were used in the study. The microstructure of impurities was evaluated by the LSCM method, using the laser scanning confocal microscope Olympus LEXT OLS4000. Digital image creation and image analysis were performed using Software TalyMap Platinum 4.0. The results were helpful in determining the quantity and microstructure of milk fouling created on plates depending on the finishing surface. The results showed that the increase in the surface roughness caused the increase in the amount of deposits formed on them. The analyses of the LSCM results also indicate the forming of a few layers of deposits during milk heat treatment. They may be important in the cleaning process. On the basis of the investigation results it can be stated that the measurement technique LSCM is useful for evaluation of impurities built up on surfaces of equipments during food production.

Keywords: milk fouling, hygiene of food production, surface roughness, laser scanning confocal microscopy.

1. Wstęp

Osady mlekowe tworzące się podczas obróbki termicznej mleka i ich skuteczne usuwanie stanowią duży problem w przemyśle mleczarskim. Często są one przyczyną wzrostu kosztów produkcji, wynikających z obniżenia wydajności procesu, strat energii, czasu i kosztów związanych z neutralizacją ścieków po procesie mycia charakteryzujących się dużym ładunkiem chemicznym o [2, 4]. Tworzenie zanieczyszczeń mlekowych można opisać, jako dwa następujące po sobie etapy. W pierwszym następuje adhezja

wytrąconego na skutek wysokiej temperatury białka na powierzchni wymiennika ciepła a w drugim następuje wzrost warstwy zanieczyszczeń w wyniku reakcji pomiędzy polimerami białkowymi. Związkami biorącymi udział w tworzeniu się zanieczyszczeń mlekowych są głównie β -laktoglobuliny [9]. Ulegają one denaturacji i w tej postaci łączą się ze sobą, tworząc aglomeraty zróżnicowanych wymiarach w granicach od 25 do nawet 300 nm). Utworzone aglomeraty adsorbowane są do powierzchni, gdzie następuje ich wiązanie. Gorąca powierzchnia powoduje, że narastający osad staje się gąbczasty, porowaty, mocno związany z powierzchnią i trudny do usunięcia. Sprzyja to narastaniu kolejnych warstw osadu oraz adhezji drobnoustrojów (*Bacillus stearothermophilus*), mogących w konsekwencji powodować skażenie produktów spożywczych [10]. W literaturze światowej można znaleźć wiele badań, dotyczących procesu tworzenia się osadów mlekowych [1, 2, 10]. Są one omawiane w kontekście problemów związanych z procesami mycia aparatury mleczarskiej i pozwalają zrozumieć powagę problemu, związaną z utrzymaniem higieny m.in. płytowych wymienników ciepła [3, 4]. Skupiają się głównie na opisie mechanizmów tworzenia osadów oraz ich nawarstwiania w czasie użytkowania urządzeń produkcyjnych [1, 9] a także na określeniu obszarów, w których osady tworzą się najintensywniej [5, 6].

Grubość i czas tworzenia się warstw osadów mlekowych zależą od wielu czynników, m.in. od koncentracji białek znajdujących się w warstwie mleka o podwyższonej temperaturze, temperatury obróbki termicznej mleka, warunków przepływu oraz czasu kontaktu mleka z gorącą powierzchnią. Beuf i in. [4] oraz Rosmaninho i in. [8] wykazali, że decydującym czynnikiem jest również rodzaj materiału konstrukcyjnego, z którego zostało wykonane urządzenie. Wykończenie powierzchni, mikrostruktura, ładunek i energia powierzchniowa oraz obecność powłok, to czynniki wpływające na tempo narastania osadów mlekowych. Augustin i in. [1] wskazali, że materiały konstrukcyjne przeznaczone do budowy urządzeń dla przemysłu spożywczego muszą być gładkie, wolne od pęknięć, szczelin, rys i zagłębień, gdyż mogą one być przyczyną problemów związanych z utrzymaniem odpowiedniego poziomu higieny w zakładzie produkującym żywność. Mikrostruktura materiałów konstrukcyjnych ma wpływ na powstawanie zanieczyszczeń poprodukcyjnych oraz na ich skuteczne usuwanie. Wszelkie nierówności powierzchni sprzyjają procesom tworzenia się osadów oraz ich skutecznemu usuwaniu. Ma to szczególne znaczenie w przypadku aparatury mleczarskiej, a głównie płytowych wymienników ciepła, które wykorzystywane są do pasteryzacji i sterylizacji mleka i przetworów mleczarskich. Tworzące się osady powodują zwiększenie współczynnika oporu ciepła, zmniejszając tym samym przewodność cieplną oraz sprawność wymiennika [6].

W celu określenia wpływu wykończenia powierzchni ze stali nierdzewnej na powstawanie osadów mlekowych oraz ich przestrzenne ukształtowanie, konieczne jest przeprowadzenie odpowiednich badań. W tym celu korzystne jest zastosowanie precyzyjnych i wysoko zaawansowanych metod optycznych wizualizacji

jące powyższe zależności. Odpowiednim do tego celu narzędziem może być konfokalna laserowa mikroskopia skaningowa *LSCM* (ang. *Laser Scanning Confocal Microscopy*), będąca współczesną odmianą klasycznej mikroskopii konfokalnej. Technika ta łączy tradycyjną szerokokątną mikroskopię optyczną oraz mikroskopię elektronową. Posiada wiele zalet i zastosowań, głównie do analizy różnego rodzaju powierzchni technicznych, kształtowanych za pomocą wielu współczesnych technik obróbki [7]. Nieliczne badania wskazują na wykorzystanie tej metody do identyfikacji zanieczyszczeń powstających w trakcie procesów produkcji żywności [3]. Idea pomiaru, w przeciwieństwie do klasycznej mikroskopii optycznej, polega na wyeliminowaniu obrazów pochodzących spoza płaszczyzny ogniskowania. Umożliwia to uzyskanie obrazu doskonale odwzorowującego szczegóły, charakteryzujące się bardziej ostrymi konturami, które można rejestrować bez utraty jakości, nawet przy dużych powiększeniach. Ogromną zaletą techniki *LSCM* jest również możliwość rejestrowania obrazów warstwicznych dla kolejnych przekrojów, poprzez zmianę położenia płaszczyzny ogniskowania. Na podstawie takiego zbioru obrazów uzyskuje się wysokiej jakości przestrzenne odwzorowanie powierzchni badanego obiektu [7]. Metoda ta została szeroko omówiona przez Kapłonka i in [7].

W pracy zaproponowano wykorzystanie techniki konfokalnej laserowej mikroskopii skaningowej *LSCM* do analizy mikrostruktury powstających osadów mlekowych na powierzchniach ze stali nierdzewnej o różnej chropowatości.

2. Materiał i Metoda

Do badań wykorzystano trzy płytki ze stali nierdzewnej kwasoodpornej AISI 316 o różnej chropowatości, opisaną przez następujące parametry oceny struktury geometrycznej powierzchni: średnie arytmetyczne odchylenie profilu chropowatości R_a oraz średnią arytmetyczną wysokość powierzchni S_a (tab. 1).

Tab. 1. Parametry R_a i S_a powierzchni badanych płytek
Tab. 1. Parameters R_a and S_a of the tested plates' surface

Płytki	Arytmetyczne odchylenie profilu chropowatości R_a [μm]	Średnia arytmetyczna wysokość powierzchni S_a [μm]
A	0,019	0,028
B	0,122	0,174
C	0,202	0,445

Każdą płytkę brudzono, poprzez jej zanurzenie w naczyniu z surowym mlekiem i wygrzewanie w temperaturze $T = 90^\circ\text{C}$ przez czas $t = 20$ minut. Ze względu na mechanizm powstawania zanieczyszczeń mlekowych na gorących powierzchniach, prezentowany przez Bansala i Chena [2], do badań wykorzystano pełne, surowe (niepasteryzowane) mleko. Topografię powierzchni tworzących się osadów oceniono za pomocą laserowego skaningowego mikroskopu konfokalnego LEXT OLS4000 firmy Olympus (rys. 1).

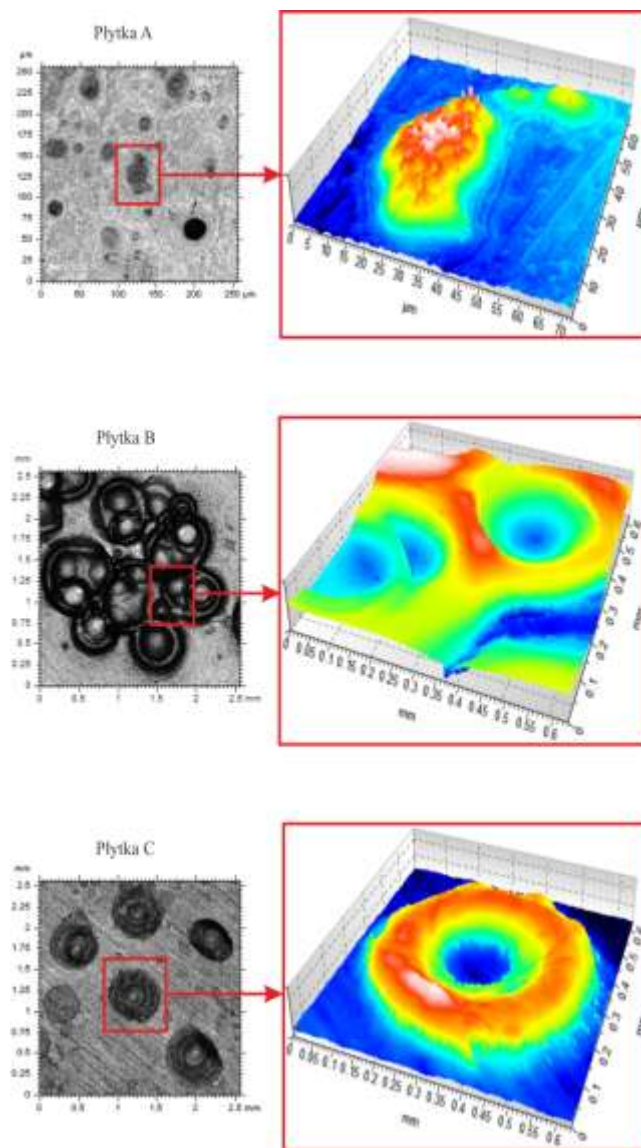


Rys. 1. Konfokalny laserowy mikroskop skaningowy LEXT OLS4000 firmy Olympus
Fig. 1. Laser scanning confocal microscope LEXT OLS4000 produced by Olympus

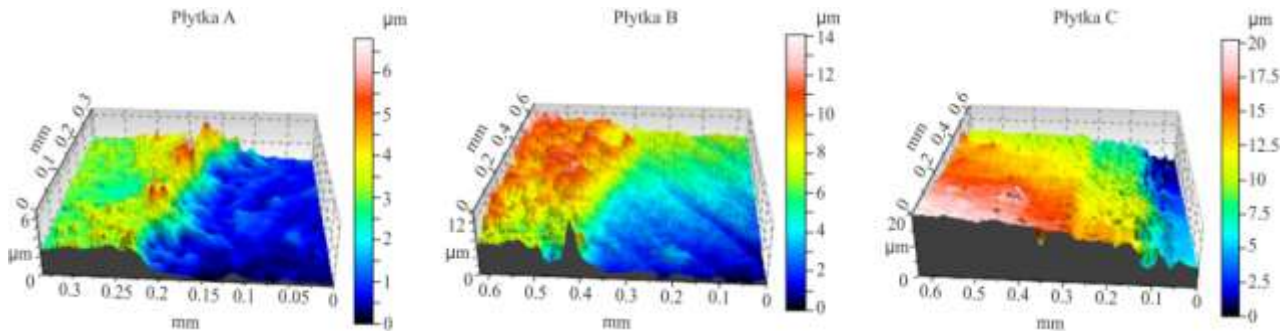
Urządzenie umożliwiło wygenerowanie obrazu na podstawie odbicia światła z płaszczyzny ogniskowania. Światło, tworzące obraz o różnej głębokości ogniskowania, było eliminowane za pomocą systemu podwójnej kołowej przesłony konfokalnej. Jego źródłem była dioda laserowa o mocy 120 mW, emitująca wiązkę światła o długości fali $\lambda = 405$ nm (barwa fioletowa). Układ wyposażony był w zestaw pięciu obiektywów mikroskopowych o różnych powiększeniach (5 \times , 10 \times , 20 \times , 50 \times , 100 \times), zamocowanych w głowicy rewolwerowej. Głowica znajdowała się w zmotoryzowanej kolumnie przesuwu pionowego, umożliwiającej realizację precyzyjnych przemieszczeń w zakresie wynoszącym 70 mm. Precyzyjne skanowanie obiektu w osiach x - y za pomocą miniatury elementu elektro-mechanicznego umożliwiło odwzorowanie obrazu przestrzennego o wysokiej jakości [7]. Przetwarzanie cyfrowe, renderowanie 3-D i analizę obrazu wykonano z zastosowaniem oprogramowania TalyMap Platinum 4.0.

3. Wyniki badań i ich analiza

Wyniki mikroskopowych pomiarów osadów, tworzących się w wyniku termicznej obróbki mleka oraz ich analizy, przedstawiono na poniższych rysunkach.



Rys. 2. Zestawienie wyników tworzących się osadów na poszczególnych płytkach
Fig. 2. Results of clusters of individual milk deposits formed on individual plates



Rys. 3. Grubość warstwy przypowierzchniowego osadu mlekowego na poszczególnych płytkach

Fig. 3. The thickness of milk sediment layer near the surface on selected plates

Na rysunkach 2 i 3 przedstawiono dwuwymiarowe i przestrzenne wyniki pomiarów LSCM, utworzonych warstw osadów mlekowych. Na podstawie analizy określono ich kształt, grubość oraz sklasyfikowano je na dwa typy. Pierwszy stanowiły pojedynczo zaadsorbowane depozyty białkowe lub ich skupiska, charakteryzujące się stożkowym kształtem, zamocowanym do powierzchni ze stali nierdzewnej i zwężającym się ku górze. Kształt ten powtarzał się na każdej z badanych płytek. Jest to zgodne z wcześniejszymi doniesieniami prezentowanymi przez Bansala i Chena [2]. Zaobserwowano również, że niektóre osady były na końcu zaokrąglone (przypominały niepęknięty pęcherzyk) a inne ścięte, budową przypominające krater (pęcherzyk uległ pęknięciu). Podobne obserwacje przeprowadzili Boyce i in. [3]. Pęcherzyki zatopione były w warstwie drugiej, stanowiącej osad przypowierzchniowy, równomiernie pokrywający badane powierzchnie.

Na podstawie przeprowadzonych analiz pomiarów LSCM możliwe było również określenie wysokości powstających osadów na poszczególnych płytkach. Uzyskane wyniki pomiarów metodą LSCM wykazały, że wraz ze wzrostem chropowatości powierzchni wzrasta grubość i ilość tworzących się osadów a ich struktura jest różna.

4. Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych badań i pomiarów LSCM można było określić wpływ chropowatości powierzchni na ilość oraz mikrostrukturę osadów mlekowych tworzących się w trakcie termicznej obróbki mleka. Wzrost chropowatości powodował wzrost ilości tworzących się na niej osadów. Uzyskane wyniki są zgodne z badaniami Beufa i in. [4] oraz Rosmaninho i in. [8], którzy wykazują, że wraz ze zwiększaniem chropowatości powierzchni zwiększają się siły adhezji wiążące zanieczyszczenia z powierzchnią, czas ich osadzania jest krótszy a proces mycia trudniejszy.

Analiza uzyskanych wyników pomiarów mikroskopowych umożliwiła również, wytypowanie kilku warstw tworzących się osadów mlekowych. Podział ten różni się od innych, prezentowanych do tej pory w światowej literaturze [1, 2]. Tworzące się warstwy osadów mogą mieć istotne znaczenie w procesach mycia powierzchni produkcyjnych, na których się tworzą. Określenie ich składu oraz sił adhezji wiążących z powierzchnią może być pomocne w doborze substancji aktywnych znajdujących się w środkach myjących oraz opracowywaniu odpowiednich procedur i programów mycia.

Przeprowadzone analizy potwierdzają, że konfokalna laserowa mikroskopia skaningowa LSCM jest doskonałą techniką pomiarową, umożliwiającą wizualizację powstających osadów poprodukcyjnych, w tym przypadku osadów tworzących się podczas wysokotemperaturowej obróbki mleka na powierzchniach o różnej chropowatości. Przeprowadzone analizy i wnioski pozwoliły określić ich ilość, grubość i mikrostrukturę. Stanowią one podstawę stwierdzenia, że zastosowana technika pomiarowa z powodzeniem może być wykorzystana do analiz w odniesieniu do tworzenia się zanieczyszczeń w innych gałęziach przetwórstwa żywności oraz analiz prowadzonych w zakresie ich mycia i usuwania z powierzchni.

5. Literatura

- [1] Augustin W., Geddert T., Scholl S.: Surface treatment for the mitigation of whey protein fouling. *Heat Exchanger Fouling and Cleaning VII*, vol. RP5/29, s. 206–214, 2007.
- [2] Bansal B., Chen X.D., Muller-Steinhagen H.: Analysis of deposits to study the effect of particles on crystallisation fouling. *Journal of Chinese Institution of Chemical Engineers*, vol. 34/3, s. 299–303, 2003.
- [3] Boyce A., Piterina A.V., Walsh G.: Assessment of the potential suitability of selected commercially available enzymes for cleaning-in-place (CIP) in the dairy industry. *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, vol. 26/7, s. 837–850, 2010.
- [4] Beuf M., Rizzo G., Leuliet J.C., Müller-Steinhagen H., Yiantsios S., Karabelas A., Benezech T.: Fouling and cleaning of modified stainless steel plate heat exchangers processing milk products. *Heat Exchanger Fouling and Cleaning: Fundamentals and Applications*, vol. RP1/14, s. 99–106, 2003.
- [5] de Bonis M.V., Ruocco G.: Conjugate fluid flow and kinetics modeling for heat exchanger fouling simulation. *International Journal of Thermal Sciences*, vol. 48, s. 2006–2012, 2009.
- [6] Jun S., Puri V. M.: 2D dynamic model for fouling performance of plate heat exchangers. *Journal of Food Engineering*, vol. 75, s. 364–374, 2006.
- [7] Kapłonek W., Łukianowicz C., Nadolny K., Tomkowski R.: Zastosowanie konfokalnej laserowej mikroskopii skaningowej do oceny cech stereometrycznych powierzchni technicznych. *Pomiar Automatyka Kontrola*, vol. 57/11, s. 1409–1413, 2011.
- [8] Rosmaninho A.R., Santos O.B., Nylander T.C., Paulsson M.B., Beuf M.D., Benezech T.D., Yiantsios S. E., Andritsos E., Karabelas E., Rizzo F., Müller-Steinhagen F., Melo L.F.: Modified stainless steel surfaces targeted to reduce fouling – evaluation of fouling by milk components. *Journal of Food Engineering*, vol. 80, s. 1176–1187, 2007.
- [9] Santos O., Nylander T., Rizzo G., Müller-Steinhagen H., Trägårdh C., Paulsson M.: Study of whey protein adsorption under turbulent flow. *Heat Exchanger Fouling and Cleaning: Fundamentals and Applications*, vol. RP1/24, s. 175–183, 2003.
- [10] Yoo J., Chen X.D.: An emission pattern of a thermophilic bacteria attached to or imbedded in porous catalyst. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 72, s. 11–21, 2002.

otrzymano / received: 27.05.2014

przyjęto do druku / accepted: 02.09.2014

artykuł recenzowany / revised paper