

Sławomir BAKIER

Wydział Mechaniczny, Politechnika Białostocka

# BADANIE WPŁYWU MIKROSTRUKTURY NA KONSYSTENCJĘ ZAWIESIN KRystalicznej GLUKOZY®

*W pracy przedstawiono wyniki badań parametrów mikrostrukturalnych i właściwości reologicznych modelowych zawiesin krystalicznej  $\alpha$ -D glukozy w miodzie. Badania struktury fazy krystalicznej przeprowadzono z wykorzystaniem interferometrii birefrakcyjnej i komputerowej analizy obrazu. Scharakteryzowano geometrię kryształów  $\alpha$ -D glukozy i wykazano, że jej zawiesiny wykazują właściwości płynu Bingham'a. Wyznaczono wartości parametrów reologicznych zawiesin w zależności od stężenia procentowego fazy stałej. Przeprowadzono analizę wyników.*

**Słowa kluczowe:** zawiesina krystaliczna glukozy, konsystencja, właściwości reologiczne, interferometria birefrakcyjna, komputerowa analiza obrazu.

## WPROWADZENIE

Konsystencja jest jedną z podstawowych cech sensorycznych produktów spożywczych. Na jej percepcję wpływają niemal wszystkie inne czynniki. Można tu zwrócić uwagę na tak podstawowe parametry jak: skład chemiczny, rodzaj struktury, przeprowadzona obróbka, pochodzenie, właściwości mechaniczne surowca. W efekcie objawia się takimi cechami jak: twardość, elastyczność, plastyczność, kruchość, chrupkość, miękkość, włóknistość, gumistość, cierpkość [8]. Konsystencja produktów płynnych na ogół jest utożsamiana z cechami reologicznymi. Np. konsystencję tłuszczu określa się jako jedną z własności reologicznych charakteryzującą zachowanie się tłuszczu pod wpływem działania sił zewnętrznych [7]. Wśród produktów spożywczych występują również zawiesiny krystaliczne. Przykładem może być krupiec miodowy stanowiący zawiesinę kryształów glukozy w płynnym roztworze, przy czym kryształy te charakteryzują się stosunkowo małymi wymiarami np. w 1 mm<sup>3</sup> jest ich nawet, powyżej 300 tys [2]. Na konsystencję zawiesin glukozy wpływają: morfologia struktury krystalicznej oraz udział masowy fazy stałej. Należy podkreślić, że kryształy glukozy mogą tworzyć pojedyncze obiekty w postaci płaskich płytek jak też przestrzenne aglomeraty o różnych kształtach [4]. Właściwości reologiczne krupca miodowego są stosunkowo złożone. Charakteryzują się one między innymi silnym efektem tiksotropowym związanym ze zmianami wewnętrznej struktury krystalicznej w trakcie ścinania [1].

Charakterystyczną właściwością kryształów glukozy jest dwójłomność optyczna oraz tworzenie z fazą płynną układu fazowego - nie zmieniają amplitudy, a jedynie fazę przechodzących promieni świetlnych. Stąd też do ich obserwacji konieczne jest zastosowanie specjalnych technik mikroskopowych.

Poniższa praca stanowi próbę zweryfikowania zaproponowanych metod i technik badawczych do badania mikrostruktury krystalicznych zawiesin glukozy oraz powiązania parametrów mikrostruktury krystalicznej zawiesiny z ich właściwościami reologicznymi a więc konsystencją produktu. Przy czym badania przeprowadzono na modelowych zawiesinach glukozy uzyskiwanych poprzez wymieszanie z płynnym miodem krystalicznej  $\alpha$ -D glukozy.

## CELE I ZAKRES PRACY

Celem głównym pracy było sprawdzenie możliwości wykorzystania interferometrii birefrakcyjnej i komputerowej analizy obrazu do charakterystyki parametrów struktury krystalicznej modelowych zawiesin  $\alpha$ -D glukozy w płynnym miodzie oraz badanie wpływu procentowego udziału masowego fazy krystalicznej  $\alpha$ -D glukozy na właściwości reologiczne uzyskanych zawiesin. Cel dodatkowy stanowiła weryfikacja możliwości oceny udziału masowego fazy stałej w zawiesinie metodą stereologiczną na podstawie określenia udziału powierzchniowego frakcji krystalicznej na wykonywanych fotografiach techniką interferometrii birefrakcyjnej.

## OPIS METOD BADAWCZYCH

Zawiesiny otrzymano poprzez dodanie do płynnego miodu o lepkości

2,53 Pa.s (w temperaturze 30°C i zawartości wody 19,2%) krystalicznej  $\alpha$ -D glukozy. Badano próbki bezpośrednio po przygotowaniu o stężeniach masowych fazy stałej od 0,5 do 32%. W tak otrzymanych zawiesinach krystalicznej glukozy nie występowały przestrzenne aglomeraty krystaliczne, dzięki czemu możliwe stało się określenie wpływu udziału masowego pojedynczych kryształów na właściwości reologiczne zawiesin oraz przeprowadzenia ich charakterystyki geometrycznej.

Właściwości reologiczne określano w przepływie reometrycznym Sarle'a (Rheotest 2). Wyniki rejestrowano na rejestratorze XY i wprowadzono do komputera za pośrednictwem digitizera. Aproksymacje wyników pomiarów przeprowadzono w programie Excel.

Ze względu na właściwości optyczne zawiesin krystalicznej glukozy fotografie struktury wykonywano z wykorzystaniem interferometrii birefrakcyjnej. Obraz tą techniką uzyskuje się po umieszczeniu "obiekta" wykazującego dwójłomność pomiędzy polaryzatorem i analizatorem. W takich warunkach wiązki świetlne zwyczajna i nadzwyczajna (uzyskane na skutek rozdzielenia światła w przedmiocie dwójłomnym) są spójne i mogą ze sobą interferować tworząc kontrastowy obraz przedmiotu. Tak uzyskany obraz obiektu dwójłomnego charakteryzuje się jasnym polem na czarnym tle, przy czym jego natężenie światła zależy od różnicy drogi optycznej pomiędzy promieniem zwyczajnym i nadzwyczajnym, kąta -

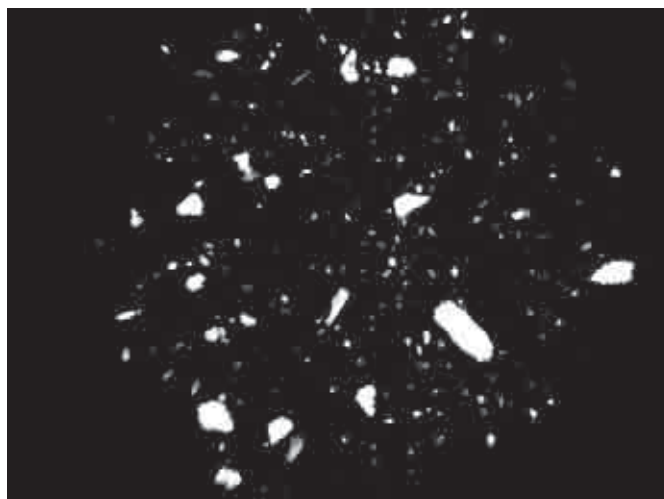
jaki tworzy oś optyczna przedmiotu z układem interferometrycznym i wzajemnej orientacji osi polaryzatora i analizatora [6]. W poniższej pracy do prowadzenia obserwacji wykorzystano mikroiinterferometr Biolar PI. Próbkę zawiesziny krystalicznej o grubości 0,02 mm umieszczano pomiędzy szkiełkami mikroskopowymi i fotografowano. Akwizycję obrazu mikroskopowego Casio QV-2900UX, przy czym do połączenia rejestratora obrazu z mikroiinterferometrem wykorzystano specjalną przystawkę z układem optycznym umożliwiającym uzyskanie możliwie dużego pola widzenia. Obrazy kolorowe pierwotnie zapisane w formacie (.jpg) przetwarzano na format (.bmp) i zapisywano jako mapa bitowa systemu windows. Obróbkę cyfrową tak uzyskanych obrazów struktury prowadzono z wykorzystaniem systemu cyfrowej analizy obrazu o nazwie MicroScan. Pierwszym zabiegiem procesu było przetworzenie obrazu barwnego na monochromatyczny - 8-bitowy. Charakter obrazów struktury kryształów  $\alpha$ -D glukozy uzyskanych techniką interferometrii charakteryzuje się stosunkowo dużym kontrastem, dzięki czemu możliwe stało się przeprowadzenie w stosunkowo prosty sposób binaryzacji uzyskanych obrazów na podstawie histogramu jasności [2]. Na obrazie binarnym przeprowadzono operację morfologiczną zalewania wszystkich dziur i likwidacji zawartych w nich obiektów. Konieczność przeprowadzenia tego zabiegu wynikała z charakteru otrzymanego obrazu interferometrycznego. Tak zidentyfikowane na fotografiach w wyniku procesu segmentacji kryształy automatycznie zliczono, mierzono ich parametry geometryczne i powierzchnię. Charakterystykę geometryczną kryształów przedstawiono jako rozkład ich liczebności (zidentyfikowanej w polu referencyjnym) wg średnicy maksymalnej za pomocą programu Statistica. Ponieważ wszystkie fotografie wykonywane były przy stałym powiększeniu (zablokowany automatyczny zoom w cyfrowym rejestratorze obrazu) powierzchnia referencyjna była stała i wynosiła 502000 mm<sup>2</sup>. Dzieląc sumę powierzchni zidentyfikowanych kryształów przez pole powierzchni referencyjnej uzyskiwano udział powierzchniowy fazy krystalicznej AA. Umożliwiło to ocenę możliwości określenia udziału masowego fazy stałej w zawieszynie metodą stereologiczną na podstawie określenia udziału powierzchniowego frakcji krystalicznej na wykonywanych fotografiach [9].

Należy zaznaczyć, iż technika wykonywania fotografii pozwalała uzyskać płaski obraz zawiesziny znajdującej się pomiędzy szkiełkami mikroskopowymi (a więc układu przestrzennego) w postaci rzutu. W stereologii analizę takich obrazów określa się mianem "analizy cienkich folii" [9]. W zastosowanych warunkach podstawowym problemem powodującym błąd w pomiarach parametrów geometrycznych i określaniu udziału powierzchniowego kryształów na fotografiach było nakładanie się rzutów poszczególnych kryształów. Nakładanie się takie może być wielokrotne, ma charakter stochastyczny, a zależy głównie od grubości warstwy, stężenia fazy krystalicznej oraz jej morfologii [9].

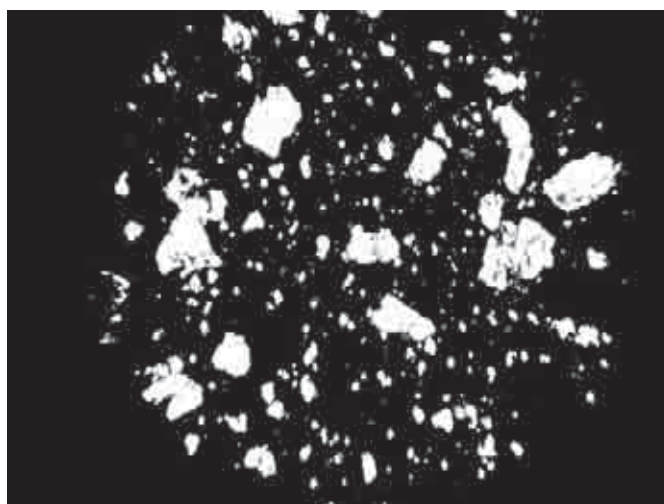
## WYNIKI BADAŃ I ICH ANALIZA

Przykładowe obrazy zawieszin  $\alpha$ -D glukozy w miodzie o stężeniu masowym 0,5 przedstawiono na (rys 1) a o stężeniu 3,85% na (rys.2).

Kryształy  $\alpha$ -D glukozy cechują się na ogół nieregularnymi "postrzępionymi" krawędziami. Kształty tych obiektów są wydłużone i mają charakter płaskich płytek, do których powierzchni jest przyłączonych szereg drobniejszych



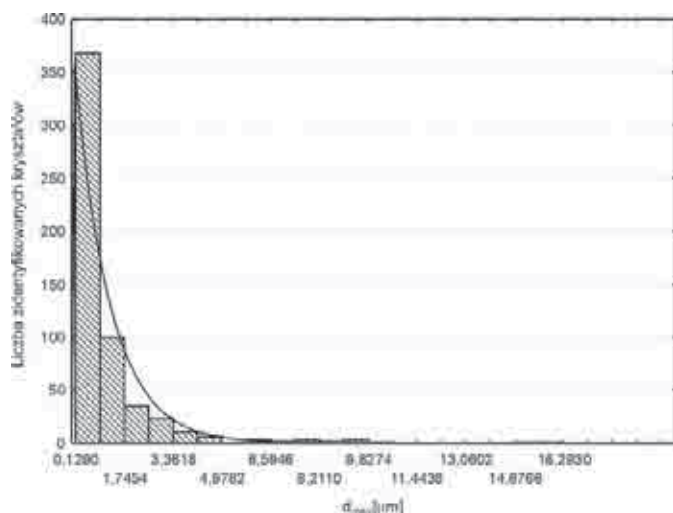
Rys. 1. Fotografia zawiesziny  $\alpha$ -D-glukozy o stężeniu masowym 0,5%, przy powiększeniu około 500X.



Rys. 2. Fotografia zawiesziny  $\alpha$ -D-glukozy o stężeniu masowym - 3,85%, przy powiększeniu około 500X.

obiektów krystalicznych. Na podstawie przedstawionych fotografii dosyć trudno jest to stwierdzić, natomiast płaski kształt tych kryształów można precyzyjnie określić obserwując pod mikroskopem przepływ zawiesziny "przeciskanej" pomiędzy szkiełkami mikroskopowymi. Wymiary liniowe kryształów sięgają kilkudziesięciu mikrometrów, przy czym dosyć trudno jest określić ich długość, czy szerokość stąd też do ich charakterystyki geometrycznej wykorzystano średnicę maksymalną zwaną również cięciwą maksymalną [10]. Na (rys.3) przedstawiono charakterystykę geometryczną kryształów  $\alpha$ -D glukozy tworzących badane zawiesziny. Ukazano to w postaci rozkładu liczebności kryształów według średnicy maksymalnej, otrzymanego za pomocą programu Statistica. Kryształy zostały zidentyfikowane na fotografii zawiesziny o stężeniu 4,76% na powierzchni 0,502000 mm<sup>2</sup>. Rozkład ten ma charakter wykładniczy. Krzywa ciągła na (rys.1) przedstawia charakter przebiegu rozkładu wykładniczego dopasowanego do wyników doświadczenia. Najbardziej liczna jest wśród kryształów tworzących zawieszinę frakcja najdrobniejsza charakteryzująca się średnicą maksymalną należącą do przedziału  $d_{max} \in (0,1290; 0,9372\text{mm})$ .

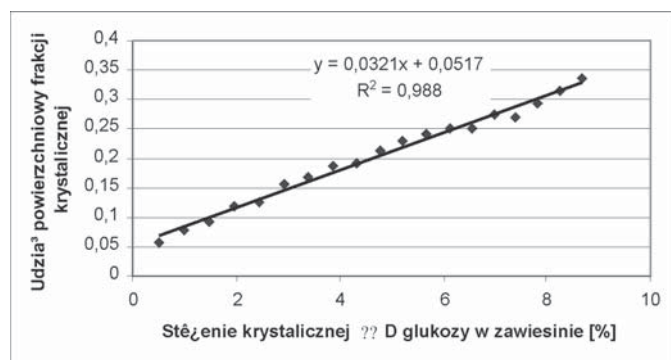
Wraz ze wzrostem udziału masowego kryształów wzrasta udział powierzchniowy fazy krystalicznej na fotografiach.



**Rys.3.** Krzywa rozkładu liczbowego kryształów  $\alpha$ -D glukozy wg średnicy maksymalnej w zawiesinie z miodem (zidentyfikowanych w polu referencyjnym o powierzchni 0,502 000mm<sup>2</sup>).

Poniżej na (rys. 4) przedstawiono zależność pomiędzy stężeniem frakcji krystalicznej  $\alpha$ -D glukozy w zawiesinie a średnim udziałem powierzchniowym kryształów zidentyfikowanych na 10 fotografiach.

Z wykresu wynika, że istnieje stosunkowo dobra korelacja liniowa pomiędzy stężeniem masowym kryształów a ich udziałem powierzchniowym określonym na fotografiach. Wartość współczynnika determinacji  $R^2$  osiągnęła wartość 0,988, co jest potwierdzeniem powyższej tezy. Niemniej należy zwrócić uwagę na czynniki zakłócające tą relację. Przy stężeniu powyżej 6% udziału frakcji krystalicznej  $\alpha$ -D glukozy w zawiesinie daje się już zauważyć wpływ nakładania się obrazu poszczególnych kryształów na siebie. Objawia się to na wykresie (rys. 4) powolniejszym przyrostem udziału powierzchniowego wraz ze wzrostem stężenia - punkty określone empirycznie leżą poniżej prostej uzyskanej w wyniku aproksymacji. Drugą "anomalią" w uzyskanym przebiegu zależności pomiędzy stężeniem masowym a udziałem powierzchniowym kryształów w zawiesinie jest fakt, że prosta po aproksymacji, jak i punkty określone doświadczalnie nie przechodzą przez początek układu współrzędnych. Jest to dowodem, że w



**Rys.4.** Zależność empiryczna pomiędzy stężeniem masowym a udziałem powierzchniowym frakcji krystalicznej w badanych zawiesinach  $\alpha$ -D glukozy

przeprowadzonych pomiarach popełniano błąd systematyczny związany z określeniem pola powierzchni kryształów. Jednym z czynników wpływających na ten efekt mogła być technika wykonywania fotografii. Kryształy glukozy charakteryzują się stosunkowo wysoką dwójłomnością optyczną [3], w związku, z czym mają tendencję (w pewnych ustawieniach względem polaryzatora i analizatora w mikroiinterferometrze) do intensywnego świecenia. Wysoki poziom jasności świecącego kryształu oświetla obszar bezpośrednio do niego przyległy i może powodować powstanie przeszacowania w trakcie procesu binaryzacji obrazu cyfrowego na podstawie histogramu jasności.

W wyniku przeprowadzonych pomiarów reologicznych wykazano, że zawiesiny  $\alpha$ -D glukozy wykazują właściwości płynu Bingham'a, można je więc scharakteryzować równaniem [5]:

$$\tau = \tau_0 + \eta_p \cdot \dot{\gamma} \quad (1)$$

Wartości poszczególnych parametrów reologicznych w zależności od stężenia procentowego po aproksymacji wyników pomiarów do powyższego modelu przedstawiono w

**Tab. 1.** Wartości parametrów reologicznych zawiesin glukozy w zależności od stężenia procentowego fazy krystalicznej po aproksymacji

Nr pom.	Stężenie fazy krystalicznej [%]	Granica płynięcia $\tau_0$ [Pa]	Lepkość plastyczna $\eta_p$ [Pa·s]	Współczynnik determinacji $R^2$
1	0 (czysty miód)	0	2,5284	0,9993
2	2	0,3919	2,9908	0,9998
3	5	1,5267	4,2729	0,9984
4	6	3,1725	5,5225	0,9998
5	10	2,8240	7,7008	0,9968
6	12	3,6639	8,9113	0,9981
7	15	4,2958	8,3077	0,9950
8	20	4,3051	14,816	0,9986
9	24	5,3297	16,484	0,9996
10	32	5,6012	18,05	0,9997

(tab. 1). Zamieszczono w niej również wartości współczynnika determinacji  $R^2$ .

Powyższe dane pokazują, że ilość fazy krystalicznej ma decydujący wpływ na właściwości reologiczne zawiesiny. Obecność w zawiesinie pojedynczych kryształów o charakterze płaskich płytek wywołuje właściwości "binghamowskie" układu. Związane jest to z oddziaływaniem pomiędzy kryształami w trakcie ścinania. Udział 10% fazy stałej w zawiesinie zwiększa lepkość plastyczną układu prawie trzykrotnie z wartości początkowej 2,5 do 7,7 Pas. Należy podkreślić, iż w trakcie pomiarów w zakresie szybkości ścinania od 1 do 145,8 s<sup>-1</sup> wszystkie zawiesiny zachowywały się stabilnie, czyli nie wykazywały zmian wraz z czasem ścinania.

## WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, iż wprowadzenie do cieczy newtonowskiej, jaką jest miód ciała stałego w postaci  $\alpha$ -D glukozy powoduje otrzymanie zawiesiny o właściwościach płynu plastyczno-lepkiego Binghama. Lepkość plastyczna takiego układu silnie zależy od stężenia fazy stałej i wzrasta w przybliżeniu proporcjonalnie do jej udziału procentowego.

Przedstawiona praca jest pewnego rodzaju testem przed wykorzystaniem zaprezentowanych metod do badania naturalnych zawiesin glukozy powstających w naturalnym miodzie w wyniku krystalizacji. Odpowiednie kierowanie tym procesem umożliwi otrzymanie produktu o z góry określonych właściwościach reologicznych - konsystencji. W ten sposób można otrzymać tzw. miód kremowy - płynny po krystalizacji, który charakteryzuje się najwyższymi parametrami jakościowymi i cenionymi cechami organoleptycznymi. Zastosowane narzędzia jednoznacznie pokazują, że możliwe jest prowadzenie szczegółowych badań wpływu geometrii mikrostruktury krystalicznej glukozy na właściwości reologiczne jej zawiesin. Możliwe jest również określanie stężenia masowego fazy stałej w zawiesinie na podstawie fotografii wykonywanych w warunkach interferometrii birefrakcyjnej. Pomiaru te wymagają jednak kalibracji na podstawie innej metody oznaczenia np. spektroskopii w bliskiej podczerwieni. Wynika to z faktu, że analizy stereologiczne przeprowadzone na podstawie obrazów otrzymanych w warunkach interferometrii birefrakcyjnej zawyżają udział powierzchniowy frakcji krystalicznej glukozy. Celowe jest, więc poszukiwanie takich warunków wykonywania fotografii, w których czynnik ten będzie minimalizowany. Wydaje się, że zaproponowana analiza stereologiczna może być alternatywą w stosunku do innych metod analitycznych określania udziału fazy krystalicznej w zawiesinie glukozy. Znając ilość krystalicznej glukozy można również wyznaczyć całkowitą jej zawartość w produkcie poprzez uwzględnienie stężenia nasycenia zależnego od temperatury. W takim ujęciu zaproponowane narzędzie może być alternatywą w stosunku do drogich metod chromatograficznych szczególnie wtedy, gdy chodzi o szybkie oszacowanie składu np. przy skupie miodu. Wymaga to jednak jeszcze przeprowadzenia szeregu prac związanych z doskonaleniem zaproponowanej metody badawczej.

## LITERATURA

- [1] Bakier S.: Właściwości reologiczne miodu pszczelego w postaci skryształizowanej. Inżynieria Rolnicza 5 (16) Warszawa 2000 (str. 23-30).
- [2] Bakier S.: Charakterystyka granulometryczna fazy krystalicznej występującej w miodzie pszczelim. Inżynieria Rolnicza 7 (49) Warszawa 2003.
- [3] Bakier S.: Właściwości optyczne kryształów występujących w miodzie pszczelim. Inżynieria Rolnicza 8 (50) Warszawa 2003 (str. 18-25).
- [4] Bakier S.: Metody stereologiczne w badaniach miodu pszczelego. LAB 5/2004 Warszawa 2004 (str. 6-10).
- [5] Kembłowski Z.: Reometria płynów nienewtonowskich. WN-T Warszawa 1973. (str 38).
- [6] Pluta M.: Mikroiinterferometria w świetle spolaryzowanym. WN-T Warszawa 1991 str34-47.
- [7] Praca zbiorowa pod red. F. Świdorskiego: Żywność wygodna i żywność funkcjonalna WN\_T Warszawa 2003.
- [8] Praca zbiorowa: Encyklopedia Techniki. Przemysł Spożywczy. WN-T Warszawa 1978 (str. 332).
- [9] Ryś J.: Stereologia ogólna. Fotobit Design Kraków 1995.
- [10] Wojnar L., Kuzydlowski K.J., Szala J.: Praktyka analizy obrazu. Kraków Polskie Towarzystwo Stereologiczne 2002.
- [11] Zieliński K.W., Strzelecki M.: Komputerowa analiza obrazu biomedycznego. Warszawa PWN 2001.

### INFLUENCE OF MICROSTRUCTURE ON CONSISTENCY CRYSTALLINE GLUCOSE SUSPENSIONS

**Key words:** *crystalline suspension of glucose, consistency, rheological properties, shearing interferometry, image computer analysis.*

#### SUMMARY

*Paper presented results of investigations of microstructural parameters and rheological properties of model suspensions crystalline  $\alpha$ -D glucose in honey. The investigations of structure of crystalline phase were conducted from utilization the shearing interferometry and image computer analysis. It the geometry of crystals was have the self - characterized was and  $\alpha$ -D the glucose and show, that her suspensions show the propriety of Bingham plastic fluid. The value of rheological parameters of suspensions was marked in dependence from concentration proportional the solid phase. The analysis of results was conducted.*