

WYKORZYSTANIE SPEKTROSKOPII W BLISKIEJ PODCZERWIENI DO OKREŚLANIA ROZPUSZCZALNOŚCI GLUKOZY W ROZTWORACH WODNYCH

Streszczenie

W pracy przedstawiono oryginalną metodykę określania stężenia nasycenia glukozy w roztworze wodnym. Oparto ją na wykorzystaniu pomiaru absorbancji roztworów i zawiesin α -D glukozy w obszarze bliskiej podczerwieni a dokładnie przy liczbie falowej 8000 cm^{-1} i 9000 cm^{-1} . W przyjętej metodyce wartość stężenia nasycenia określał punkt przecięcia prostej otrzymanej z aproksymacji wartości absorbancji zawiesin o różnym stężeniu z wartością $A=0$. Wyniki pomiarów porównano z danymi opublikowanymi w literaturze światowej.

Słowa kluczowe: spektroskopia w bliskiej podczerwieni, absorbancja, stężenie nasycenia.

Oznaczenia

| | |
|-----------|---|
| A | - absorbancja; |
| c | - stężenie masowe glukozy w roztworze lub zawiesinie %; |
| c_n | - stężenie nasycenia glukozy w danej temperaturze %; |
| c_k | - stężenie fazy krystalicznej w zawiesinie %; |
| T | - temperatura °C; |
| ν | - liczba falowa cm^{-1} ; |
| λ | - długość fali świetlnej μm ; |

Wprowadzenie

Spektroskopia w bliskiej podczerwieni - NIR (near-infrared) jest techniką badawczą, która opiera się na interpretacji widm oscylacyjno-rotacyjnych substancji [Atkins 2001]. Wykorzystuje ona trzy wielkości charakteryzujące daną substancję takie jak zdolność: emisyjna (transmitancja), absorpcyjna (absorbancja) i odbijająca (reflaktancja). Bliska podczerwień jest promieniowaniem o długości fal $\lambda \in (0,8- 2,5)\ \mu\text{m}$, czyli dotyczy zakresu liczby falowej od 12500 do 4000 cm^{-1} . Wykorzystywana jest w wielu branżach przemysłowych, takich jak: spożywcza, farmaceutyczna, drzewna, chemiczna, paszowa, tworzyw sztucznych itp., przy czym głównie do oznaczania związków organicznych charakteryzujących się grupami funkcyjnymi C-H, N-H, czy O-H [Lachenal i in. 1996]. Do związków, które mogą być badane tą techniką należą również węglowodany [Rambla i in 1997] a wśród nich glukoza [Berentsen i in. 1997]. Glukoza w roztworach i zawiesinach wodnych może występować w postaci łańcuchowej jako D-glukoza oraz postaciach pierścieniowych jako α -D-gukoza lub α -D – monohydrat glukozy [Molteni i Parrinello 1997]. Istnieją doniesienia, które wskazują na możliwość wykorzystania techniki NIR do określania stężenia glukozy w roztworze [Berentsen i in. 1997]. W pracy tej do tego celu wykorzystano pomiar absorbancji przy liczbie falowej w przedziale $\nu \in (6500; 7500)\text{ cm}^{-1}$.

Produktem naturalnym o znacznej zawartości glukozy jest miód. Krystalizując tworzy w nim zawiesinę krystaliczną. Przechowywanie i obróbka miodu zależy w znacznej mierze od zawartości glukozy. Jednym z problemów badania procesu krystalizacji miodu jest określenie wartości stężenia nasycenia glukozy w roztworze. Wynika to z faktu, iż na jego wartość wpływają inne składniki obecne w tym produkcie [Assil i in. 1998].

W poniższej pracy wykorzystano badania absorbancji w bliskiej podczerwieni do określania rozpuszczalności α -D glukozy w roztworze wodnym.

Cel i zakres pracy

Celem ogólnym pracy była próba przedstawienia możliwości wykorzystania spektroskopii w bliskiej podczerwieni do badania roztworów i zawiesin wodnych glukozy, a szczegółowym zbadanie rozpuszczalności α -D glukozy w wodzie destylowanej w zależności od temperatury.

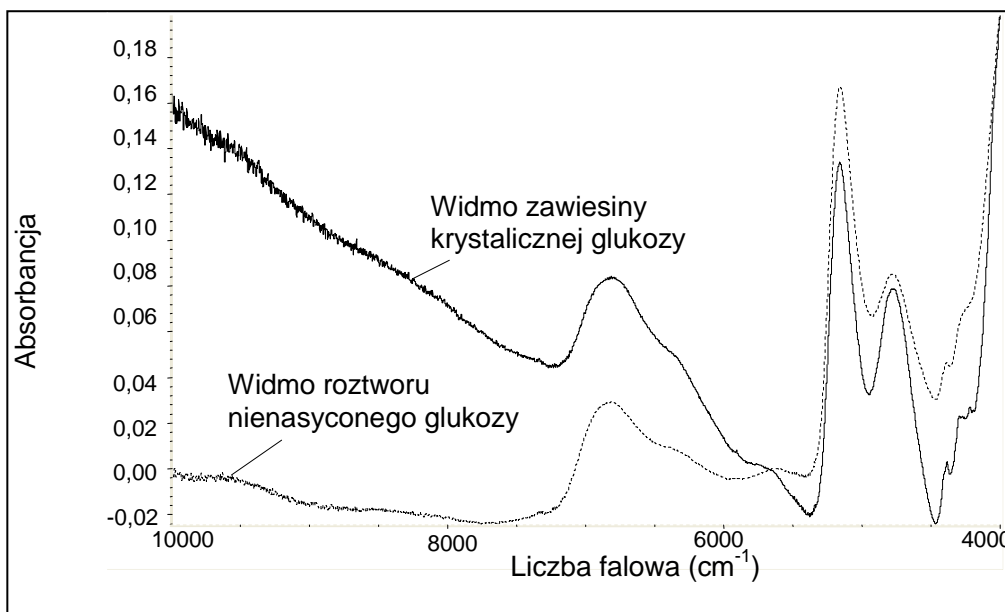
Materiały i metody

Do badań wykorzystano spektroskop Nicolet (rok produkcji 1999) firmy Nexus wyposażony w laserowe źródło światła i interferometr Michelsona. Umożliwił on badanie widma ciągłego transmitancji i absorbancji w przedziale liczby falowej $\nu \in (4000; 10000) \text{ cm}^{-1}$. Spektroskop obsługiwany był przez komputer PC Pentium II za pomocą specjalistycznego oprogramowania o nazwie OMNIC E.S.P. Do uzyskania jednego widma wykonywano 50 skanów, próbka umieszczana była pomiędzy dwiema okrągłymi kuwetami kwarcowymi a długość drogi optycznej wynosiła 0,2 mm. Stężenie nasycenia α -D glukozy badano w temperaturze, której wartość wynosiła: 20, 30, 38, 46, 50, 60, 70 lub 80°C. Stężenie masowe glukozy w preparatach zmieniało się od 0 do 87,5% (w zależności od wartości temperatury). Próby zawiesiny uzyskiwano poprzez mechaniczne wymieszanie odważonych z dokładnością do 0,01g porcji α -D glukozy i wody destylowanej. We wszystkich próbach masa wody była stała i wynosiła 1g. Następnie próby były wygrzewane w szczelnych naczyniach przez okres 2 godz. w cieplarni laboratoryjnej. W trakcie wygrzewania kilkakrotnie mieszano zawiesiny.

Metodykę badawczą wyznaczania stężenia nasycenia oparto na analizie widm roztworów nienasyconych i zawiesiny krystalicznej α -D glukozy. Zmiana struktury przestrzennej cząsteczek glukozy związana z przejściem z roztworu nienasyconego (postać łańcuchowa) w przesycony (występuje postać krystaliczna – pierścieniowa) związana jest ze zmianą widma spektroskopowego w bliskiej podczerwieni. Objawia się to szczególnie zmianą wartości absorbancji zawiesin powyżej liczby falowej 7500 cm^{-1} . W prowadzonych badaniach wartość absorbancji roztworów i zawiesin wyznaczano przy dwóch wartościach liczby falowej: $\nu_1=8000 \text{ cm}^{-1}$ i $\nu_2=9000 \text{ cm}^{-1}$. Na podstawie badań stwierdzono, że roztwory nienasycone charakteryzowały się wartością tego parametru zbliżoną do zera. Absorbancja zawiesin wykazywała zaś wartości proporcjonalne do przyrostu zawartości w nich α -D glukozy ponad stan nasycenia. Następnie przeprowadzono aproksymację uzyskanych wyników absorbancji dla zawiesin w zależności od udziału masowego fazy stałej do postaci funkcji liniowej. Wartość stężenia nasycenia wyznaczano poprzez określenie punktu przecięcia otrzymanej linii regresji z osią odciętych tzn. dla wartości $A=0$.

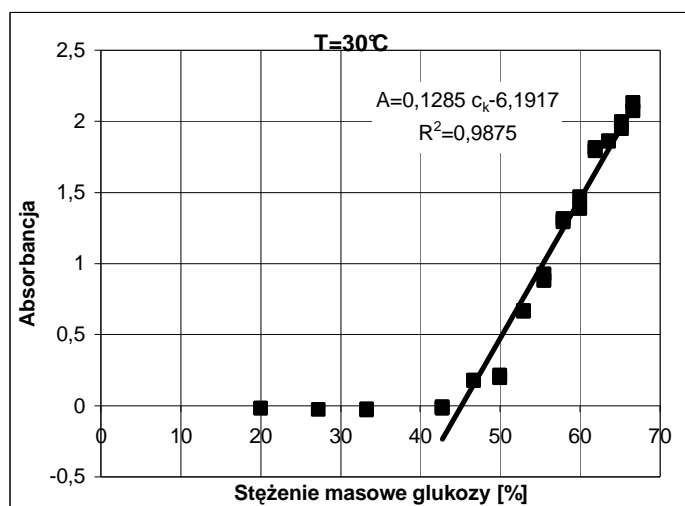
Wyniki badań i ich analiza

Na rys. 1 przedstawiono dwa charakterystyczne widma uzyskane dla roztworu nienasyconego i zawiesiny krystalicznej α -D glukozy. Widmo roztworu nienasyconego glukozy (linia przerywana – rys.1) powyżej wartości $\nu=7300 \text{ cm}^{-1}$ wykazuje absorbancję zbliżoną do zera, przy czym przy $\nu=7700 \text{ cm}^{-1}$ wartość ta jest najniższa, bo wynosi $A=-0,024$ i rośnie wraz z liczbą falową do wartości praktycznie równej zero przy $\nu=10000 \text{ cm}^{-1}$. Natomiast widmo zawiesiny glukozy w tym przedziale charakteryzuje się znacznie wyższymi wartościami absorbancji.



Rys.1. Widma roztworu nienasyconego i zawiesiny krystalicznej α -D glukozy
 Fig. 1. Spectra of α -D glucose unsaturated solution and crystalline suspension

Szczegółowy sposób wyznaczenia stężenia nasycenia glukozy w roztworze wodnym na przykładzie wyników otrzymanych w temperaturze 30°C przedstawiono na rys.2. Aproksymacja wyników powyżej wartości nasycenia pokazuje, że istnieje dobra liniowa korelacja pomiędzy wartością absorbancji a stężeniem masowym fazy krystalicznej w zawieszynie. Współczynnik determinacji dla przeprowadzonej operacji wyniósł $R^2=0,9875$. Wartość stężenia nasycenia wyznacza punkt przecięcia prostej regresji z osią odciętych (wartość $A=0$). W przypadku przedstawionym na rys.2 była to wartość $c=48,18\%$.



Rys.2. Wartości absorbancji roztworów i zawiesin glukozy w zależności od całkowitego stężenia masowego, w temperaturze 30°C
 Fig. 2. Determination of saturation concentration value at the temperature 30 deg C by using linear approximation of absorbance fir suspensions of various mass concentration percentages

Wyniki analogicznych analiz przedstawiające wartości stężenia nasycenia glukozy w wodzie destylowanej wraz z równaniami regresji i współczynnikami determinacji przy różnych

wartościach temperatury przedstawiono w tabeli 1. Przy obu liczbach falowych uzyskano wartości stężeń nasycenia glukozy w wodzie o zbliżonych wartościach. W obu przypadkach występuje liniowa zależność pomiędzy temperaturą a stężeniem nasycenia przy:

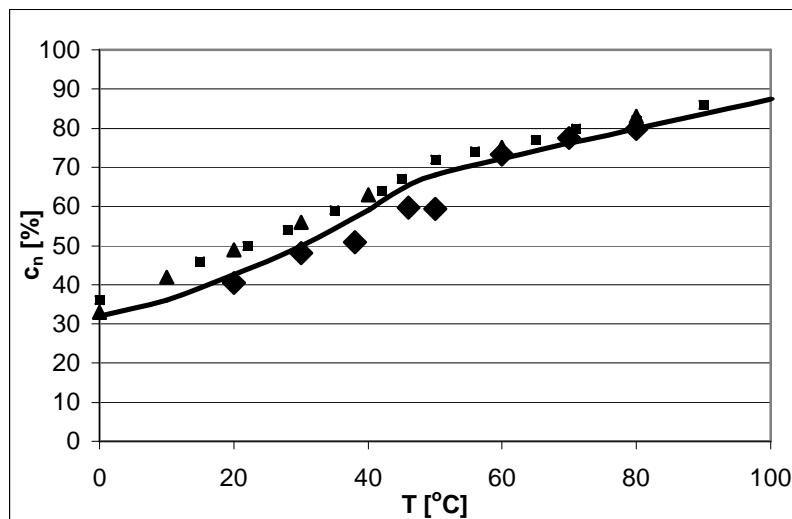
- $\nu_1=8000\text{ cm}^{-1}$ ma ona postać: $c_{n1}=0,7064T+26,331$ przy wartości współczynnika korelacji $r=0,9849$ i $R^2=0,97$;
- $\nu_2=9000\text{ cm}^{-1}$ zaś: $c_{n2}=0,7016T+26,625$ współczynnik korelacji $r=0,9862$ i $R^2 = 0,9726$.

Analiza statystyczna przeprowadzona w programie Statistica z wykorzystaniem testu istotności różnicy między dwoma współczynnikami korelacji wykazała, że komputerowy wskaźnik istotności w przeprowadzonym teście wyniósł $p=0,944$. Można, więc przyjąć, że różnice pomiędzy wartościami stężenia nasycenia przy dwóch wartościach liczby falowej są statystycznie nieistotne. Do prowadzenia oznaczeń wystarczy, więc wykonać pomiary absorbancji przy jednej wartości liczby falowej np. $\nu \in 8000\text{ cm}^{-1}$.

Tab.1. Wartości stężenia nasycenia glukozy w wodzie destylowanej uzyskane wg zaproponowanej metodyki

Table 1. Saturation concentration values for glucose solutions in distilled water, determined by using proposed method

| Lp. | T [°C] | Pomiary rozpuszczalności α -D glukozy przy $\nu_1=8000\text{ cm}^{-1}$ | | | Pomiary rozpuszczalności α -D glukozy przy $\nu_2=9000\text{ cm}^{-1}$ | | |
|-----|-----------|--|--------|-----------------|--|--------|-----------------|
| | | Równanie regresji | R^2 | c_{n1} [%] | Równanie regresji | R^2 | c_{n2} [%] |
| 1 | 20 | $A=0,0986 c_k-3,9888$ | 0,9730 | 40,45 | $A=0,0967c_k-3,851$ | 0,9763 | 39,82 |
| 2 | 30 | $A=0,1285 c_k-6,1917$ | 0,9875 | 48,18 | $A=0,1344c_k-6,5173$ | 0,9842 | 48,49 |
| 3 | 38 | $A=0,1265c_k-6,4351$ | 0,9366 | 50,87 | $A=0,1457c_k-7,5991$ | 0,9472 | 52,15 |
| 4 | 46 | $A=0,2328c_k-13,889$ | 0,8476 | 59,66 | $A=0,2591c_k-15,493$ | 0,8089 | 59,79 |
| 5 | 50 | $A=0,1301c_k-7,717$ | 0,9324 | 59,31 | $A=0,1313c_k-7,7853$ | 0,9318 | 59,29 |
| 6 | 60 | $A=0,2663c_k-19,491$ | 0,9466 | 73,19 | $A=0,269c_k-19,682$ | 0,9478 | 73,16 |
| 7 | 70 | $A=0,1902c_k-14,744$ | 0,9650 | 77,51 | $A=0,1831c_k-14,11$ | 0,95 | 77,06 |
| 8 | 80 | $A=0,2377c_k-18,975$ | 0,9834 | 79,82 | $A=0,2421c_k-19,309$ | 0,9802 | 79,75 |



Rys.3. Rozpuszczalność glukozy w wodnych roztworach w zależności od temperatury: ◆- wg badań własnych uzyskanych powyższą metodyką, ■ – wg Stephena and Stephena [Stephen and Stephen 1963], ▲ – wg Mullina [Mullin 1972], — wg obliczeń na podstawie parametrów termodynamicznych [Jónsdóttir i Rasmussen 1999]

Fig. 3. Solubility of glucose in water solutions depended of the temperature: ◆ according to own investigation results obtained by described method; ■ according to Stephen & Stephen (1963); ▲ according to Mullin (1972); — according to calculations based on thermodynamic parameters (Jónsdóttir & Rasmussen, 1999)

Na rys.3. przedstawiono porównanie uzyskanych wyników z danymi dostępnymi w literaturze przedmiotu [Jónsdóttir i Rasmussen 1999]. Zestawienie danych pokazuje, że punkty pomiarowe uzyskane powyższą metodą w temperaturze poniżej 50°C osiągają wartości niższe od otrzymanych przez innych badaczy [Stephen and Stephen 1963, Mullin 1972]. Nie uzyskano również charakterystycznego punktu „przełamania” w temperaturze 50,15°C widocznego szczególnie na krzywej określonej w wyniku obliczeń na podstawie parametrów termodynamicznych glukozy i wody. Wy tłumaczyć to zjawisko można faktem, że do pomiarów wykorzystano krystaliczną i bezwodną α -D glukozę i w związku z powyższym zjawisko rozpadu monohydratów glukozy w tej temperaturze nie wystąpiło. Potwierdzeniem tej tezy jest również praktyczne nakładanie się punktów pomiarowych w przedziale powyżej 60°C, kiedy nie występują już w zawiesinie monohydraty glukozy [Jónsdóttir i Rasmussen 1999]. Należy zwrócić jeszcze uwagę, że wartości rozpuszczalności uzyskane w temperaturze 20 i 30°C są bliższe danym uzyskanym na podstawie obliczeń od pozostałych danych wyznaczonych w wyniku eksperymentu. Można, więc przyjąć, że uzyskane wyniki dla α -D glukozy są poprawne a przedstawiona metodyka badawcza właściwa.

Wnioski

W pracy przedstawiono oryginalną metodykę wykorzystującą technikę spektroskopii w bliskiej podczerwieni do prowadzenia oznaczania stężenia nasycenia glukozy w roztworach wodnych. W wyniku przeprowadzonych badań można sformułować następujące wnioski:

1. Spektroskopia w bliskiej podczerwieni może być stosowana do badania rozpuszczalności (stężenia nasycenia) glukozy w roztworach wodnych;
2. Wyniki rozpuszczalności uzyskane w przeprowadzonych pomiarach są zbliżone do prezentowanych w doniesieniach literaturowych a w temperaturze powyżej 50°C

-
- praktycznie się pokrywają. Różnice w uzyskanych wartościach poniżej 50°C wynikają prawdopodobnie z faktu, że w badaniach zastosowano glukozę bezwodną;
3. Do wyznaczenia przybliżonych wartości rozpuszczalności α -D glukozy w wodzie destylowanej można przyjąć równanie $c_n=0,7T+26,5$;
 4. W celu zweryfikowania różnic w rozpuszczalności α -D glukozy i monohydratów glukozy celowe staje się przeprowadzenie analogicznych badań wg zaproponowanej metodyki dla monohydratów glukozy.

Bibliografia

Assil H., Sterling R., Sporns P. 1991. Crystal Control In Processed Liquid honey. Journal of food science. Vol. 56 No. 4: 1034-1041,

Atkins P.W. 2001. Chemia fizyczna. Wydawnictwa Naukowe PWN Warszawa: 431-475,

Berentsen S., Stolz T., Molt K. 1997. Analysis of aqueous solutions by near-infrared spectrometry (NIRS) IV. One- and two-component systems of organic compounds in water. Journal of Molecular Structure 410-411: 581-585,

Jónsdóttir S., Rasmussen P. 1999. Phase equilibria of carbohydrates in polar solvents. Fluid Phase Equilibria 158-160: 411-418,

Lachenal G., Pirre A., Poisson N. 1996. FT-NIR Spectroscopy: Trends and Application to the Kinetic Study of Epoxy/Triamine System (Comparison with DSC and SEC Results). Micron. Vol. 27, No 5: 329-334,

Molteni C., Parrinello M. 1997. Condensed matter effects on the structure of crystalline glucose. Chemical Physics Letters 275: 400-413,

Rambla F.J., Garrigucs S., Guardia M. 1997. PLS-NIR determination of total sugar, glucose, fructose and sucrose in aqueous solutions of fruit juices. Analytica Chimica Acta 344: 41-53,

Stephen H., Stephen T. 1963. Solubility of inorganic and Organic Compounds. Vol.1. Pergamon London,

Mullin J.W.: Crystallisation. Butterworth London 1972: 425.

Pracę wykonano w ramach W/WM/02/04

APPLICATION OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY TO DETERMINE GLUCOSE SOLUBILITY IN WATER SOLUTION

Summary

Paper presented an original method to determine the solubility – concentration of glucose saturation in water solutions. The method was based on measuring the absence of prepared α -D glucose solutions and suspensions in near infrared area, i.e. at the wave numbers 8000 and 9000 cm^{-1} . According to assumed method the value of saturation concentration was determined by intersection point of the straight line resulted from linear approximation the absorbance for suspensions of different concentrations, with value $A=0$. Obtained measurement results were compared with the data published in world literature.

Key words: near infrared spectroscopy, absorbance, saturation concentration, glucose water solutions.

Recenzent-Stanisław Matyka