

ANALIZA MOŻLIWOŚCI OKREŚLANIA UDZIAŁU MASOWEGO KRystalicznej GLUKOZY W MIODZIE METODĄ STEREOLOGICZNĄ

Sławomir Bakier

Katedra Maszyn i Urządzeń Przemysłu Spożywczego, Politechnika Białostocka
ul. Wiejska 45c, 15-351 Białystok
e-mail: miodek@pb.bialystok.pl

Streszczenie. W pracy przedstawiono wyniki analiz możliwości określania udziału masowego krystalicznej glukozy w miodzie metodą stereologiczną na bazie „analizy cienkich folii”. Wykorzystano do tego celu fotografie preparowanych zawiesin glukozy w miodzie wykonywane w warunkach interferometrii birefrakcyjnej oraz komputerową analizę obrazu. Wyznaczono zależności empiryczne pomiędzy udziałem masowym kryształów α -D glukozy i monohydratu glukozy a powierzchnią względną określaną na fotografiach próbek tych zawiesin. Przeprowadzono dyskusję możliwości praktycznego zastosowania przedstawionej metodyki badawczej.

Słowa kluczowe: miód, zawiesiny krystaliczne glukozy, metoda stereologiczna, analiza cienkich folii

WYKAZ OZNACZEŃ

- a – współczynnik liczbowy,
- A_A – udział powierzchniowy (powierzchnia względna) frakcji krystalicznej,
- A_{kr} – powierzchnia frakcji krystalicznej (μm^2),
- A_T – powierzchnia referencyjna (μm^2),
- C_{kr} – ułamek masowy kryształów w zawiesinie,
- \underline{g} – średnia grubość kryształów glukozy (μm),
- \underline{l} – średnia cięciwa (μm),
- m – masa zawiesiny (kg),
- m_{kr} – masa fazy krystalicznej w zawiesinie (kg),
- t – grubość próbki (μm),
- V – objętość zawiesiny (μm^3),
- V_{kr} – objętość frakcji krystalicznej w zawiesinie (μm^3),
- V_V – udział objętościowy frakcji krystalicznej w zawiesinie,
- ρ – gęstość zawiesiny ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$),
- ρ_{kr} – gęstość kryształów ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$).

WSTĘP

Komputerowa analiza obrazu coraz powszechniej jest stosowana do oceny jakości produktów rolno-spożywczych i badania struktury żywności. Wykorzystuje się ją tak w aspekcie powszechnej praktyki przemysłowej, jak i analizy naukowej [7]. Jest to wynik rozwoju i dostępności sprzętu komputerowego (hardware-u) jak i specjalistycznego oprogramowania (software-u) oraz szerokich możliwości związanych z otrzymaniem i akwizycją obrazów cyfrowych. W praktyce przemysłowej umożliwia to automatyzowanie prostych, lecz uciążliwych procesów takich jak np. klasyfikacja mięsa [10], czy owoców na podstawie cech zewnętrznych [8]. W ujęciu naukowym poprzez wykorzystanie zaawansowanych technik otrzymywania obrazu daje możliwość analizy ilościowej mikrostruktury materiałów i mikroorganizmów. Pozwala na prowadzenie pomiarów ilościowych mikroflory [14], szczegółowych badań mikrostruktury oraz złożonych zjawisk występujących przy krystalizacji związków organicznych [1,6,11].

Efektywną metodą obserwacji struktur krystalicznych o budowie anizotropowej jest zastosowanie światła spolaryzowanego [1]. Fotografie wykonywane w warunkach interferometrii birefrakcyjnej są szczególnie przydatne do badania kryształów glukozy [4]. W ten sposób uzyskuje się, bowiem kontrastowe obrazy, w postaci jasnych obiektów na ciemnym tle, które można stosunkowo łatwo analizować z wykorzystaniem typowego oprogramowania [5]. W efekcie daje to możliwość pozyskania szeregu cennych informacji nie tylko o morfologii kryształów glukozy, lecz również o kinetyce krystalizacji [2]. Można tą metodą badać również przemiany występujące w miodzie skryształizowanym podczas ogrzewania [3]. Kluczem do tego jest określenie pola powierzchni kryształów identyfikowanych na fotografiach wykonanych w ściśle określonych warunkach. Pomiarów takie umożliwiają bardzo precyzyjne określenie wymiarów geometrycznych mikroobektów krystalicznych, natomiast przebiegające przemiany charakteryzują tylko w sposób jakościowy. Obrazy struktury krystalicznej glukozy w miodzie w warunkach interferometrii birefrakcyjnej stanowią płaski obraz zawieszony znajdującej się pomiędzy szkiełkami mikroskopowymi (a więc układu przestrzennego) w postaci rzutu [5]. Przy opracowaniu takich fotografii nie można, więc stosować podstawowej zasady stereologicznej Cavalierii-Hacquerta, gdyż dotyczy ona analizy na podstawie obrazu przekrojów [16]. W stereologii wnioskowanie na podstawie obrazów w postaci rzutów określa się mianem „analizy cienkich folii” [15]. W stosunku do analiz prowadzonych na bazie przekrojów wymaga szeregu dodatkowych informacji. Konieczna jest znajomość grubości warstwy fotografowanej, kształtu struktur, czy też uwzględnienia nakładania się obiektów na siebie [17]. Analiza taka wykorzystywana jest na szeroką skalę w materiałoznawstwie do charakterystyki głównie stopów metali z wykorzystaniem np. transmisyjnej mikroskopii elektronowej, promieni Rentgena czy też mikroskopii sił atomowych [9,12].

Wnioskowanie ilościowe na podstawie fotografii struktur glukozy wykonanych w warunkach interferometrii birefrakcyjnej a prowadzone na bazie „analizy cienkich folii” wymaga indywidualnego podejścia. Wynika to głównie ze specyficznych warunków otrzymywania obrazu interferometrycznego oraz morfologii struktury krystalicznej glukozy. Wcześniejsze badania wskazywały na istnienie liniowej zależności pomiędzy stężeniem masowym a udziałem powierzchniowym frakcji krystalicznej α -D glukozy, co określono przypadkowo przy badaniu właściwości reologicznych zawiesin α -D glukozy [5].

Celem poniższej pracy było przeprowadzenie weryfikacji empirycznej kwantytatywnych zależności stereologicznych, zaadaptowanych z analizy stopów metalicznych do fotografii zawiesin krystalicznej glukozy w miodzie wykonywanych w warunkach interferometrii birefrakcyjnej. Badania prowadzono zwracając szczególną uwagę na proces rejestracji obrazu i przeprowadzenia binaryzacji. W wyniku realizacji pracy szukano odpowiedzi na pytanie: „czy istnieje możliwość oznaczenia ilości krystalicznej glukozy w zawiesinach w miodzie metodą stereologiczną?”

MATERIAŁY I METODYKA

Badania przeprowadzono wykorzystując preparowane zawiesiny krystalicznej glukozy o znanym stężeniu masowym fazy stałej. Zawiesiny sporządzano poprzez wymieszanie płynnego miodu o masie 2 g (bez fazy stałej) z odważoną porcją kryształów. Masę kryształów odważano z dokładnością do 0,01 g. Jako fazę krystaliczną wykorzystano bezwodną glukozę o masie molowej 180,2 g·mol⁻¹, wyprodukowaną przez CHEMPUR z Piekar Śląskich oraz monohydrat glukozy o masie molowej 198,2 g·mol⁻¹, wyprodukowany przez Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH z Seelze (Niemcy). Miód stosowany do sporządzenia zawiesin dzień wcześniej poddano dekrystalizacji i dokładnemu filtrowaniu. Zawartość wody w miodzie wynosiła 18,4%. W trakcie mieszania temperatura miodu i kryształów była równa temperaturze otoczenia, wynosiła około 20°C. Zawartość fazy krystalicznej w zawiesinach wyrażona za pomocą ułamka masowego zmieniała się od 0,005 do 0,091.

Próbki fotografowano w warunkach interferometrii birefrakcyjnej na mikrointerferometrze Biolar PI. Akwizycji obrazu dokonywano przy użyciu cyfrowego rejestratora obrazu Casio QV-2900UX w formacie (jpg). Fotografowanie prowadzono przy stałym powiększeniu z zablokowanym automatycznym zoomem. Analizę komputerową realizowano z wykorzystaniem komputerowego analizatora obrazu o nazwie MicroScan.

Należy zwrócić uwagę na staranne przygotowanie próbek do fotografowania. Grubość warstwy fotografowanej wyznaczała okrągła przekładka teflonowa umie-

szczona pomiędzy szkiełkami mikroskopowymi. Próbka była otrzymywana przez delikatne zgniecenie a następnie obrócenie względem siebie szkiełek. Miało to na celu równoległe ustawienie kryształów względem powierzchni ograniczających.

Fotografie struktury kryształów glukozy uzyskane za pomocą mikrointerferometru były barwne. Pierwszym etapem ich obróbki było więc przetworzenie obrazu barwnego na monochromatyczny 8-bitowy. Segmentację progową tak wygenerowanego obrazu dokonywano na podstawie histogramu jasności. Kontrastowy charakter tych obrazów, w postaci jasnych krystalicznych obiektów na tle ciemnego pola ułatwiał ten proces. Następnie przeprowadzano operację morfologiczną polegającą na zalewaniu dziur na obrazie binarnym. Wyodrębnione tą drogą obiekty krystaliczne automatycznie zliczano, mierzono ich parametry geometryczne i określano ich sumaryczną powierzchnię. Odniesienie jej wartości do pola powierzchni referencyjnej – A_T , na której prowadzono pomiary pozwoliło wyznaczyć udział powierzchniowy A_A frakcji krystalicznej na obrazach, zwany również powierzchniową względną [15,16] wg wzoru:

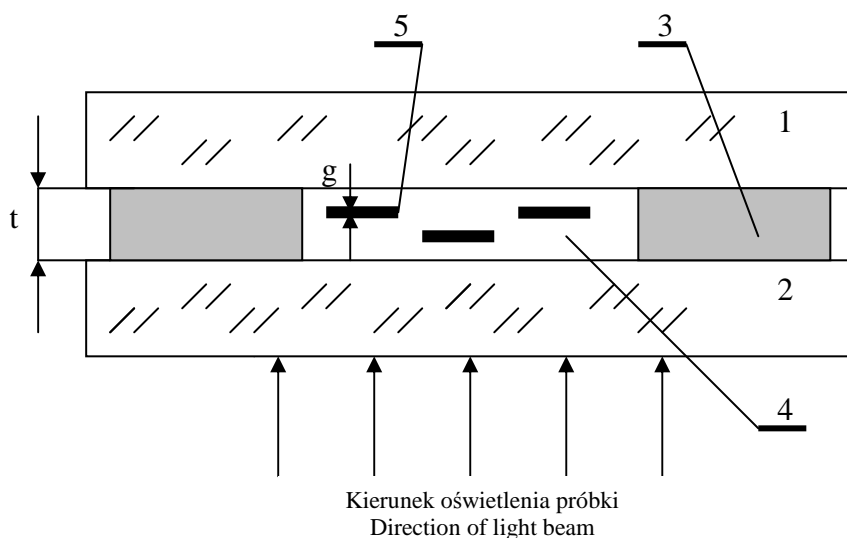
$$A_A = \frac{A_{kr}}{A_T}. \quad (1)$$

Dla każdej próbki zawiesiny o różnym stężeniu określano udział powierzchniowy jako średnią z dziesięciu pomiarów. Powiększenie, przy którym wykonywano fotografie było stałe i wynosiło około 500X, a pole powierzchni referencyjnej 502000 μm^2 . Parametry te dobrano doświadczalnie. Wynikały one z możliwości uzyskania ostrego i kontrastowego obrazu za pomocą interferometru Biolar PI o możliwie dużym polu widzenia.

Zależności empiryczne pomiędzy znanym udziałem masowym kryształów w zawiesinie i określoną empirycznie gęstością powierzchniową otrzymywano poprzez aproksymację z wykorzystaniem programu Statistica. Wyniki przedstawiono w formie równań uzyskanych w wyniku analizy regresji z podaniem wartości współczynnika determinacji R^2 .

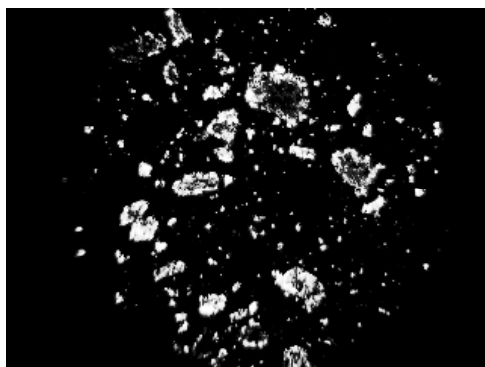
Analiza ilościowa udziału masowego fazy krystalicznej w zawiesinie

Schemat układu, w którym wykonywano fotografie, przedstawiono na rysunku 1. Należy podkreślić, że rysunek ten jest symboliczny i nie odzwierciedla proporcji geometrycznych poszczególnych elementów zastosowanego układu, niemniej jest bardzo wygodny do prezentacji problemu. Przykładowe fotografie zawiesiny krystalicznej glukozy w miodzie wykonane w tych warunkach przedstawiono na fotografiach 1-4.



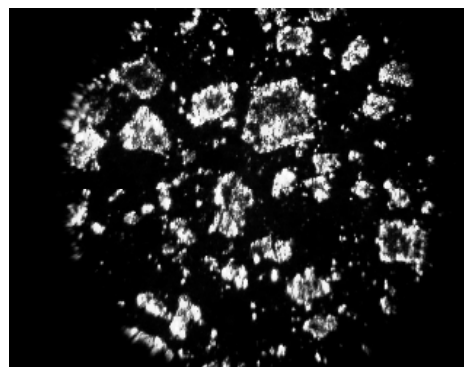
Rys. 1. Schemat układu, w którym prowadzono obserwacje zawiesin: 1 i 2 – szkiełka mikroskopowe, 3 – przekładka o grubości $t = 20 \mu\text{m}$, 4 – próbka zawiesiny, 5 – kryształ o grubości g zawieszony w miodzie

Fig. 1. Schematic diagram of apparatus for the observations of suspensions: 1 and 2 – glass slides, 3 – insert of the thickness $t = 20 \mu\text{m}$, 4 – suspension sample 5 – crystal of the thickness g suspended in honey



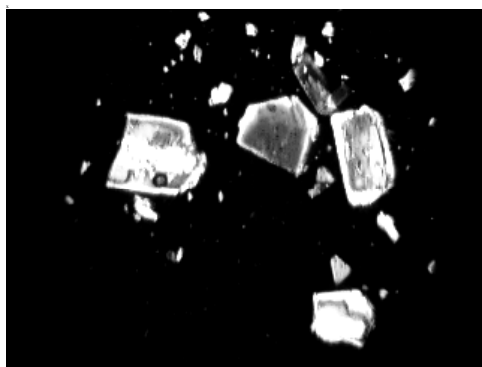
Fot. 1. Fotografia zawiesiny α -D glukozy o stężeniu 0,048

Photo 1. Photo of the suspension of α -D glucose of 0.048 concentration



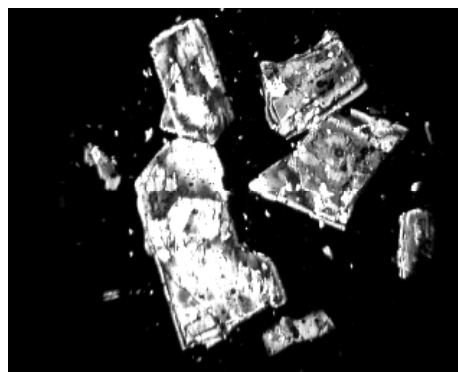
Fot. 2. Fotografia zawiesiny α -D glukozy o stężeniu 0,083

Photo 2. Photo of the suspension of α -D glucose of 0.083 concentration



Fot. 3. Fotografia zawiesiny monohydratu glukozy o stężeniu 0,048

Photo 3. Photo of the suspension of glucose monohydrate of 0.048 concentration



Fot. 4. Obraz zawiesiny monohydratu glukozy o stężeniu 0,083

Photo 4. Photo of the suspension of glucose monohydrate of 0.083 concentration

Zależność stereologiczna wiążąca udział powierzchniowy z objętością względną (udziałem objętościowym) V_V dla cienkich folii przy założeniu, że nie występuje ekranowanie i ścinanie cząstek ma postać [15]:

$$V_V = \frac{A_A \cdot \bar{l}}{t} \quad (2)$$

Ponieważ kryształy glukozy charakteryzują się budową w postaci płaskich płytek średnią cięciwą w powyższym wzorze można zastąpić średnią grubością kryształu – g . W zastosowanym układzie „ścinanie cząstek” jako takie nie występuje [15]. Wynika to ze sposobu otrzymywania próbki. Próbkę zawiesiny jest ściskana pomiędzy szkiełkami do określonej grubości. W efekcie może dojść tylko do pęknięć kryształów, co jest istotne przy określaniu wymiarów poszczególnych obiektów i ich gęstości powierzchniowej, lecz nie wpływa na aspekt pomiaru ilości fazy krystalicznej, a ten był przedmiotem poniższej analizy. Oddzielnym problemem jest ekranowanie, czyli przysłanianie jednej cząstki przez inną. Zjawisko to zależy od ilości fazy stałej, jej morfologii oraz grubości warstwy badanej zawiesiny. Ma charakter stochastyczny i jego wystąpienie jest tym bardziej prawdopodobne im większe jest stężenie fazy stałej i większa grubość próbki oraz mniejsza grubość kryształów. W takich warunkach może powodować istotne błędy w przeprowadzonych analizach. Dlatego też w celu jego ograniczenia w doświadczeniu zastosowano stosunkowo cieką warstwę próbki, bo wynoszącą zaledwie $t = 20 \mu\text{m}$, a badania prowadzono dla stężenia fazy stałej w zawieszynie od 0,005 do 0,091.

Udział objętościowy fazy krystalicznej w badanych zawiesinach można przedstawić jako [15]:

$$V_V = \frac{V_{kr}}{V} = \frac{\rho}{\rho_{kr}} \cdot \frac{m_{kr}}{m} = \frac{\rho}{\rho_{kr}} \cdot C_{kr} \quad (3)$$

Po wstawieniu zależności (3) do wzoru (2) i przekształceniu uzyskuje się:

$$C_{kr} = \frac{\rho_{kr}}{\rho} \cdot \frac{g}{t} \cdot A_A \quad (4)$$

Ze względu na fakt, że wszystkie parametry występujące we wzorze (4) są w trakcie realizacji doświadczenia stałe zależność ta przyjmuje charakter liniowy, który można wyrazić jako:

$$C_{kr} = a \cdot A_A \quad (5)$$

Powyższy wzór pokazuje, że pomiędzy udziałem powierzchniowym kryształów na fotografii i ich udziałem masowym w zawiesinie występuje ścisła liniowa zależność. Na jej podstawie istnieje potencjalna możliwość określenia udziału masowego fazy stałej poprzez pomiar udziału powierzchniowego fazy krystalicznej na fotografii. W poniższym doświadczeniu badano zależność odwrotną tzn.:

$$A_A = \frac{1}{a} \cdot C_{kr} \quad (6)$$

Sprawdzano czy rzeczywiście występuje liniowa korelacja pomiędzy znanym udziałem masowym kryształów w preparowanych zawiesinach glukozy a ich udziałem powierzchniowym na fotografiach wykonanych w układzie opisanym wyżej w warunkach interferometrii birefrakcyjnej.

WYNIKI I DYSKUSJA

Na fotografii 1 i fotografii 2 przedstawiono obraz rzeczywisty zawiesiny bezwodnej glukozy uzyskane za pomocą Biolaru PI, a na fotografii 3 i fotografii 4 zawiesiny monohydratu glukozy. Przedstawiają one struktury krystaliczne w postaci kolorowych obiektów na tle ciemnego pola.

Zestawienia wartości pola powierzchni zidentyfikowanych kryształów zamieszczono w tabeli 1. Zostały tu przedstawione średnie arytmetyczne wartości uzyskane na podstawie analizy 10 fotografii wykonanych dla zawiesin o tym samym stężeniu wyrażonym za pomocą ułamka masowego. W oddzielnych

kolumnach przedstawiono wyniki pomiarów dla zawiesin krystalicznych glukozy bezwodnej i monohydratów glukozy.

Tabela 1. Wyniki pomiarów średniej powierzchni względnej zawiesin krystalicznych glukozy w miodzie w funkcji stężenia masowego fazy stałej.

Table 1. Results of measurements of average relative surface of crystalline suspensions of glucose in honey in the function of mass concentration of solid phase

Numer pomiaru Measurement number	Stężenie kryształów w zawiesinie Concentration of crystals in suspension ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Średnia wartość pola powierzchni kryształów α -D – glukozy z 10 pomiarów Average value of surface area of α - D glucose crystals from 10 measurements (μm^2)	Średnia wartość pola powierzchni kryształów monohydratu glukozy z 10 pomiarów Average value of surface area of glucose monohydrate crystals from 10 measurements (μm^2)	Powierzchnia względna A_A dla zawiesi α -D glukozy Relative surface area A_A for suspensions of α -D glucose ($\mu\text{m}^2\cdot\mu\text{m}^{-2}$)	Powierzchnia względna A_A dla zawiesin monohydratu glukozy Relative surface area A_A for suspensions of glucose monohydrate ($\mu\text{m}^2\cdot\mu\text{m}^{-2}$)
1	0,005	26096	29126	0,060	0,058
2	0,010	37495	38829	0,075	0,077
3	0,015	45873	46994	0,091	0,094
4	0,020	59145	59638	0,118	0,119
5	0,024	63299	68654	0,126	0,137
6	0,029	78157	79380	0,156	0,158
7	0,034	84211	85965	0,168	0,171
8	0,039	93762	99163	0,187	0,198
9	0,043	95813	103647	0,191	0,207
10	0,048	107190	107886	0,214	0,215
11	0,052	115597	127231	0,230	0,253
12	0,057	120854	138412	0,241	0,276
13	0,061	125807	142735	0,251	0,284
14	0,065	129891	165544	0,259	0,330
15	0,070	137485	163489	0,274	0,326
16	0,074	143576	169743	0,286	0,338
17	0,078	147531	184365	0,294	0,367
18	0,083	165453	201651	0,330	0,402
19	0,087	169237	201959	0,337	0,402
20	0,091	172245	203270	0,343	0,405

Analiza regresji uzyskanych wyników pozwoliła wyznaczyć zależności empiryczne wiążące udział powierzchniowy z ułamkiem masowym kryształów w zawiesinie tzn. równania $A_A = f(C_{kr})$. Poniżej przedstawiono uzyskane w wyniku aproksymacji rozwiązania w przedziale ułamka masowego kryształów w zawiesinach $C_{kr} \in (0;0,1)$, z jednoczesnym podaniem współczynnika determinacji R^2 .

W przypadku zawiesin α -D glukozy zależność ma postać:

$$A_A = 0,049 + 3,298 \cdot C_{kr}, \quad (7)$$

przy wartości współczynnika $R^2 = 0,992$.

W zawiesinach monohydratu glukozy uzyskano równanie:

$$A_A = 0,032 + 4,238 \cdot C_{kr}, \quad (8)$$

a wartość współczynnika determinacji wyniosła: $R^2 = 0,994$

Uzyskane równania regresji mają charakter linii prostych, ze stosunkowo wysoką wartością współczynnika determinacji R^2 . Wszystkie punkty pomiarowe znalazły się w obszarze regresji na poziomie ufności 0,95. Przy czym daje się zauważyć, że wraz ze wzrostem ułamka masowego następuje wzrost rozrzutu uzyskanych wyników. Charakterystycznym elementem obu zależności jest fakt, że proste nie wychodzą z początku układu współrzędnych a przecinają oś rzędnych przy dodatnich wartościach udziału powierzchniowego kryształów glukozy określonego na fotografiach. Zjawiska to nie jest przypadkowe. Dostrzeżono je wcześniej przy badaniu mikrostruktury zawiesin glukozy [5]. Nie dało się go wyeliminować pomimo zwracania szczególnej uwagi na wykonywanie fotografii i sposób binaryzacji. Wystąpiło ono również w przypadku zawiesin monohydratu glukozy. Przyczyny jego wystąpienia należy doszukiwać się w sposobie otrzymywania obrazu interferometrycznego. Obraz kryształu w warunkach interferometrii birefrakcyjnej powstaje bowiem w wyniku interferencji dwóch promieni świetlnych: zwyczajnego i nadzwyczajnego, uzyskanych po przejściu przez kryształ. Charakteryzuje się on dużym natężeniem oświetlenia obiektu, który znajduje się praktycznie na czarnym tle. Należy przypuszczać, że szczególnie przy małych stężeniach intensywne „świecenie” kryształów oświetla też obszary przyległe do kryształu, co podczas binaryzacji powoduje przeszacowanie pola powierzchni fazy krystalicznej. Natomiast przy wysokich wartościach udziału masowego fazy krystalicznej w zawiesinach punkty pomiarowe zaczynają układać się poniżej linii regresji, co wskazuje, na wystąpienie już znaczących efektów przysłaniania się wzajemnego kryształów. Zaniżone wartości udziału powierzchniowego uzyskane przy najwyższych wartościach stężenia „swoją wagą” w procesie aproksymacji – w połączeniu z przeszacowaniem udziału powierzchniowego przy niskich stęże-

niach – podwyższają miejsce przecięcia prostej z osią rzędnych. Uwzględniając powyższe uwagi wydaje się, że w przypadku zawiesin kryształów α -D glukozy powyższa metoda daje dobre wyniki przy poziomie stężenia fazy krystalicznej wynoszącym od 0,01 do 0,06. W przypadku zawiesin monohydratu glukozy uzyskuje nieco większe rozrzuty punktów pomiarowych w pasie regresji, niemniej współczynnik determinacji wskazuje, że zależność liniowa jest zachowana praktycznie w całym badanym zakresie. Przyczyny tego zjawiska należy upatrywać w morfologii kryształów monohydratu glukozy. Charakteryzują się one większymi wymiarami geometrycznymi oraz większą i bardziej regularną grubością. Szczególnie „dobra” korelacja liniowa występuje pomiędzy udziałem masowym a gęstością powierzchniową do stężenia $C_{kr} = 0,04$. W przedziale tym punkty pomiarowe znajdują się praktycznie na linii regresji. Punkt przecięcia linii regresji z osią rzędną dla zawiesin monohydratu glukozy ma również niższą wartość jak dla zawiesin α -D glukozy. W tym przypadku bardziej regularna budowa oraz większa grubość kryształów wydaje się być powodem mniejszych błędów popełnianych, przy binaryzacji obrazu interferometrycznego przy małych stężeniach fazy krystalicznej oraz przy aproksymacji.

PODSUMOWANIE

Badania doświadczalne przeprowadzone na preparowanych zawiesinach α -D glukozy i monohydratu glukozy potwierdziły, że pomiędzy stężeniem masowym i udziałem powierzchniowym fazy krystalicznej występuje zależność liniowa. Daje to możliwość określenia udziału masowego kryształów w zawiesinach glukozy na podstawie fotografii wykonanych w warunkach interferometrii birefrakcyjnej. Najlepsze wyniki uzyskuje się w przedziale ułamka masowego kryształów w zawieszynie $C_{kr} \in \langle 0,01; 0,06 \rangle$. Przy małych stężeniach – $C_{kr} < 0,01$ powstaje dodatni błąd wyznaczenia udziału masowego frakcji krystalicznej (przeszacowanie) spowodowane charakterem obrazu interferometrycznego. Przy wyższych wartościach, powyżej stężenia $C_{kr} > 0,06$ daje się natomiast zauważyć efekt odwrotny – zaniżenie wartości stężenia, wywołane ekranowaniem cząstek.

Naturalne zawiesiny krystalicznej glukozy powstają przy krystalizacji miodu pszczelego. Przedstawiona metodyka może być więc wykorzystana do określania ilości fazy krystalicznej w tym produkcie po krystalizacji. Daje to szereg możliwości badania miodu pszczelego. Można np. tą drogą wyznaczyć w alternatywny sposób ilość glukozy w produkcie, gdyż fazę krystaliczną tworzy tylko glukoza krystalizująca w postaci monohydratu. Inną możliwością jest badanie ilościowe kinetyki krystalizacji miodu i zmian ilości fazy krystalicznej w zależności od

warunków krystalizacji. Oddzielnym problemem są badania właściwości reologicznych miodu skryształizowanego w zależności od ilości fazy stałej i jej morfologii. Wydaje się, że w tym względzie przedstawiona metodyka jest bardzo obiecująca.

PIŚMIENNICTWO

1. **Aguilera J.M., Stanley D.W., Baker K.W.:** New dimensions in microstructure of food products. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 3-9, 2000.
2. **Bakier S.:** Charakterystyka procesu krystalizacji miodu pszczelego. *Inżynieria Rolnicza*, 8(50), 11-18, 2003.
3. **Bakier S.:** Description of phenomena occurring during the heating of crystallized honey. *Acta Agrophysica*, 3(3), 415-424, 2004.
4. **Bakier S.:** Badanie kinetyki mieszania szczepu krystalicznego z cieczą newtonowską o dużej lepkości. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, 3 s, IZACAX, 43 (35), 9-10, 2004.
5. **Bakier S.:** Badanie wpływu mikrostruktury na konsystencję zawiesin krystalicznej glukozy. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2, 30-33, 2004.
6. **Bard J., Ercolani K., Svenson K., Olland A., Somers W.:** Automated systems for protein crystallization. *Methods*, 34, 329-347, 2004.
7. **Da-Wen S.:** Computer vision an objective, rapid and non-contact quality evaluation tool for the food industry. *J. of Food Eng.*, 61, 1-2, 2004.
8. **Diaz R., Gil L., Blasco M., Serrano C., Molt E., Blasco J.:** Comparison of three algorithms in the classification of table olives by means of computer vision. *Journal of Food Engineering* 61, 101-107, 2004.
9. **Ducki K.J., Hetmańczyk M., Kuc D.:** Analysis of the precipitation process of the intermetallic phases in high-temperature Fe-Ni austenitic alloy. *Materials Chemistry and Physics*, 81, 490-492, 2003.
10. **Hwang H., Park B., Nguyen M., Chen Y-R.:** Hybrid image processing for robust extraction of lean tissue on beef cut surfaces. *Computers and Electronics in Agriculture*, 17, 281-294, 1997.
11. **Malkin A.J., Thorne Robert E.:** Growth and disorder of macromolecular crystals: insights from atomic force microscopy and X-ray diffraction studies. *Methods*, 34, 273-299, 2004.
12. **Penkalla H-J., Wosik J., Czarska-Filemonowicz A.:** Quantitative microstructural characterization of Ni-base superalloys. *Materials Chemistry and Physics*, 81, 417-423, 2003.
13. **Pluta M.:** *Mikroskopia optyczna*. PWN Warszawa, 767-777, 1982
14. **Pons M.N., Drouin J.F., Louvel L., Vanhoutte. B., Vivier H., Germain P.:** Physiological investigations by image analysis. *Journal of Biotechnology*, 65, 3-14, 1998.
15. **Ryś J.:** *Stereologia ogólna*. Fotobit Design, Kraków, 1995.
16. **Wojnar L., Kurzydłowski K.J., Szala J.:** *Praktyka analizy obrazu*. Polskie Towarzystwo Stereologiczne, Kraków, 2002.
17. **Wosik J., Dubiel B., Kruk A., Penkalla H-J., Schubert F., Czarska-Filemonowicz A.:** Stereological estimation of microstructural parameters of nickel-based superalloy Waspaloy using TEM methods. *Materials Characterization*, 46, 119-123, 2001.

ANALYSIS OF THE POSSIBILITY OF DETERMINING MASS FRACTION
OF CRYSTALLINE GLUCOSE IN HONEY BY THE STEREOLOGICAL
METHOD

Sławomir Bakier

Food Industry Engineering, Białystok Technical University, ul. Wiejska 45c, 15-351 Białystok
e-mail: miodek@pb.bialystok.pl

Abstract. This paper presents the results of measurements determining the contribution of solid phase in glucose suspensions using the stereological method on the basis of the "analysis of thin foils". For this purpose, photographs of glucose suspensions in honey taken in the conditions of shearing interferometry and computer image analysis were used. Empirical dependences were determined between the mass fraction of both α -D glucose crystals and glucose monohydrate and the relative surface defined on photos of samples of these suspensions. Finally, the possibility of practical applications of the introduced research methodology was discussed.

Key words: honey, suspensions of crystalline glucose, stereological method, analysis of thin foils