

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
KATEDRA FYZIKÁLNÍ CHEMIE

**KRYSTALIZACE VODY
V PODCHLAZENÝCH ROZTOCÍCH
CUKRŮ**

Simona Martinková

Bakalářská práce

2012

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

**CRYSTALLIZATION OF WATER IN
UNDERCOOLED SUGAR SOLUTIONS**

Simona Martinková

Bachelor's thesis

2012

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Simona Martinková**
Osobní číslo: **C09139**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Název tématu: **Krystalizace vody v podchlazených roztocích cukrů**
Zadávající katedra: **Katedra fyzikální chemie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Zpracujte literární rešerši na krystalizaci vody v jídle během chlazení a následného ohřevu. Zaměřte se zejména na roztoky cukrů.
 2. Popište experimentální metody používané při výzkumu tvorby krystalů ledu v podchlazených roztocích cukrů.
 3. Proveďte studium růstu krystalů ledu ve vodných roztocích sacharózy a glukózy během podchlazení.
 4. Zpracujte získané výsledky a diskutujte je v bakalářské práci.
-

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce:

Shánělová
Ing. Jana Shánělová, Ph.D.

Katedra fyzikální chemie

Datum zadání bakalářské práce: **24. února 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce: **22. června 2012**

Petr Lošťák
prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.

Roman Bulánek
doc. Ing. Roman Bulánek, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 24. února 2012

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem k práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

V Pardubicích dne 5.6. 2012.

Simona Martinková

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucí bakalářské práce Ing. Janě Shánělové, PhD. za věnovaný čas a cenné rady při psaní mé bakalářské práce. Děkuji také rodině a přátelům za podporu během mého bakalářského studia.

Obsah

1	ÚVOD.....	9
2	TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1	Krystalizace	10
2.1.1	Nukleace- vznik zárodků nové fáze.....	10
2.1.1.1	Homogenní nukleace.....	11
2.1.1.2	Heterogenní nukleace.....	12
2.1.2	Růst zárodků nové fáze.....	14
2.1.3	Rekrystalizace.....	14
2.1.3.1	Rekrystalizace ve zmrzlině.....	15
2.1.4	Vliv sacharidů na krystalizaci	16
2.1.5	Vliv rychlosti mražení a podchlazení na krystalizaci	17
2.2	Struktura ledu a polymorfismus	18
2.2.1	Morfologie krystalu ledu ve vodě a roztocích	18
2.2.2	Vliv rozpuštěných látek na morfologii krystalu ledu	19
2.3	Experimentální metody používané při výzkumu tvorby krystalů ledu v podchlazených vodných roztocích.....	21
2.3.1	Optická mikroskopie	21
2.3.2	Optická interferometrie.....	22
2.3.3	Mikroskop atomárních sil (AFM).....	23
2.3.4	Diferenční skenovací kalorimetrie	24
2.3.5	Rentgenová difrakční analýza	25
2.3.6	Infračervená spektroskopie.....	26
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	28
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	30
4.1	Nukleace	30
4.2	Růst krystalů	31
4.3	Teplota tání	39
4.4	Závislost rychlosti růstu na podchlazení	40
5	ZÁVĚR.....	42
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	43

Souhrn

Tato bakalářská práce se zabývá studiem krystalizace vody v podchlazených roztocích cukrů (30 hmot.% sacharózy a 30 hmot.% glukózy). V teoretické části jsou popsány vznik, růst a rekrystalizace krystalů ledu, vliv sacharidů a podchlazení na krystalizaci, morfologie krystalů ledu a některé experimentální metody používané při výzkumu krystalizace ledu v podchlazených vodných roztocích sacharidů. Experimentální část práce je zaměřena na studium růstu krystalů ledu ve vodných roztocích sacharózy a glukózy a teploty tání v těchto roztocích.

klíčová slova: krystalizace, podchlazení, sacharóza, glukóza

Summary

This bachelor's thesis is focused on crystallization of water in undercooled sugar solutions (30 % w/w sucrose and 30 % w/w glucose). The theoretical part describes a genesis, growth and recrystallization of ice crystals, an influence of saccharides and undercooling on crystallization, a morphology of ice crystals and some experimental methods using in research of ice crystallization in undercooled sugar solutions. The experimental part is aimed at the study of growth ice crystals and their melting points in water solutions of sucrose and glucose.

Keywords: crystallization, undercooling, sucrose, glucose

1 ÚVOD

Mražení potravin je tradiční postup uchovávání potravin, při kterém by se měly dodržet dvě základní podmínky, aby bylo dosaženo vysoké kvality produktu.

První podmínkou je velká rychlost mražení. Rychlost mražení je velmi důležitý faktor, který určuje velikost a distribuci krystalů ledu v produktu. Při pomalém mražení potravin, které obsahují pletiva nebo tkáň, dochází k růstu velkých krystalů ledu v extracelulárním prostoru, buňka se pak nachází v hypertonickém prostředí, což způsobí přesun vody z intracelulárního prostoru do extracelulárního, scvrknutí buňky a nízkou kvalitu mražené potraviny. Při rychlém mražení vznikají malé krystaly ledu uvnitř i vně buňky. Dochází k rovnoměrné krystalizaci a kvalita produktu je lepší než v případě pomalého mražení.

Druhou podmínkou je skladování při nízké konstantní teplotě. Teplota skladování také ovlivňuje kvalitu mražených potravin. Jakákoli kladná odchylka od navržené teploty skladování vede ke snížení kvality produktu.

Špatné mražení potravin s rostlinným pletivem způsobuje narušení jejich metabolických systémů, enzymů, změnu turgoru díky poškození buněčné stěny a buněčné membrány. Pozitivní efekt rychlého mražení na finální texturu čerstvých produktů byl zdokumentován např. u brambor, mrkve, brusinek a ostružin, hub, fazolí, hrášku [1].

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Krystalizace

Při krystalizaci dochází ke vzniku pevné fáze, v případě mražení potravin se tvoří krystaly ledu. Experimenty ukazují, že za přítomnosti cukrů dochází ke snížení bodu mrznutí vody. Molekuly cukru totiž brání uspořádání molekul vody do krystalové mřížky ledu. Velikost krystalů také ovlivňuje bod mrznutí, menší krystaly ho snižují, protože mají větší objemovou povrchovou energii.

Proces krystalizace je složen ze čtyř kroků. Prvním je podchlazení- teplota kapaliny klesne pod teplotu mrznutí. Molekuly vody se shlukují, k sobě jsou poutány vodíkovými vazbami. Tyto shluky jsou neustále rozbíjeny díky vibracím molekul. V určitém stupni podchlazení shluky získají dostatek molekul vody, takže mají šanci k přežití jako zárodek krystalu. Musí být překročen kritický poloměr, aby vznikl zárodek (nukleus).

Dalšími kroky krystalizace jsou nukleace, růst zárodku a rekrystalizace [2].

2.1.1 Nukleace- vznik zárodků nové fáze

Ve druhém kroku krystalizačního procesu se vytváří zárodky nové fáze, poté jejich počet roste a roste i jejich velikost [3, 4]. Nukleace začíná tím, že se vytvoří počáteční shluk molekul (volná agregace molekul), molekuly začínají být více uspořádané, začíná se formovat struktura mřížky, shluk se stává zárodkem. Když zárodek dosáhne termodynamické rovnováhy s roztokem a překoná energetickou bariéru, stává se nukleem; tj. nejmenším souborem molekul mřížky, které již nebudou rozpuštěny.

Rychlost nukleace je důležitý faktor, který má vliv na počet krystalů v produktu, což má v důsledku vliv na konečnou velikost krystalů. Nukleaci ovlivňuje rychlost chlazení i ostatní látky přítomné v potravinách, např. tuky, cukry, proteiny, stabilizátory, emulzifikátory. Sacharóza ji může zpomalovat. Hybnou silou procesu je podchlazení, tj. mezi teplotou roztoku a rovnovážným bodem mrznutí.

Nukleace může být primární nebo sekundární. Při primární nukleaci dochází ke spontánnímu vytvoření nukleí z roztoku mechanismem homogenní nebo heterogenní

nukleace. V případě sekundární (kontaktní) nukleace dochází k tvoření nukleí z krystalu a fragmentu krystalu, který již existuje, nebo po střetu krystalu se stěnou (např. při výrobě zmrzliny- střet se stěnou freezeru) [2].

2.1.1.1 Homogenní nukleace

V případě homogenní nukleace vznikají zárodky nové fáze náhodně v celém objemu. Předpokládá se, že vzniká zárodek kulového tvaru. Velikost jeho povrchu i objemu je funkcí poloměru r . Zárodek nové fáze se liší od výchozí fáze hodnotou enthalpie a entropie, specifickým objemem a krystalovou strukturou. Změna Helmholtzovy energie spojená se vznikem nuklea nové fáze se dá vyjádřit následovně:

$$\Delta F = \Delta F^V + \Delta F^S = V_2 \cdot (f_2 - f_1) + S_2 \cdot \sigma \quad (1)$$

kde ΔF^V je změna volné energie související s objemem zárodku, ΔF^S je změna volné energie spojená s povrchem zárodku, f_2 a f_1 jsou volné (Helmholtzovy) energie jednotkového objemu vznikajícího zárodku a původní fáze a σ je energie jednotky povrchu vznikající fáze. Pro kulový tvar nuklea platí:

$$\Delta F = \Delta F^V + \Delta F^S = (4/3 \cdot \pi \cdot r^3) \cdot (f_2 - f_1) + 4\pi \cdot r^2 \cdot \sigma. \quad (2)$$

Za předpokladu, že f_i ani σ nezávisí na poloměru zárodku r , je změna volné energie ΔF při tvorbě zárodku pouze funkcí poloměru r . Pro $(f_2 - f_1) > 0$ je ΔF monotónně rostoucí funkcí, protože $\sigma > 0$. Vznik nové fáze je v tomto případě spojen s růstem hodnoty F a tento proces nemůže probíhat samovolně. Jestliže $(f_2 - f_1) < 0$, vznikající fáze má menší hodnotu volné energie f_2 než fáze původní, pak hodnota ΔF může být záporná a proces fázové přeměny (tuhnutí) může probíhat samovolně. Při teplotě fázového přechodu T_c jsou fáze v rovnováze, $f_1 = f_2$.

Při podchlazení systému ΔT , $\Delta T = T_c - T$, $T < T_c$, $\Delta T > 0$, bude hodnota volné energie vznikající fáze $f_2(T)$ nižší než hodnota volné energie původní fáze $f_1(T)$, neboť při teplotách pod T_c je stabilnější fáze 2, $f_2(T) < f_1(T)$.

Pro velmi malé poloměry zárodků ($r \ll 1$) je člen obsahující r^3 menší než člen obsahující r^2 a hodnoty funkce $\Delta F = \Delta F(r)$ jsou kladné. Až při vyšších hodnotách poloměru r , ($r > 1$) je výraz obsahující r^3 větší než výraz obsahující r^2 a hodnota ΔF začíná klesat. Od tohoto okamžiku každé zvětšení poloměru zárodku r vede k poklesu hodnoty funkce F a děj začíná být samovolný. Při kritické velikosti zárodku r^* má ΔF maximum:

$$r^* = 2\sigma / (f_1 - f_2) > 0 \quad (3)$$

$$\Delta F(r^*) = 16\pi\sigma^3 / 3(f_2 - f_1)^2 \quad (4)$$

Hodnota $\Delta F(r^*)$ představuje výšku energetické bariéry, která musí být překonána, aby byl další růst zárodku samovolný. Pro $T = T_c$ a tedy $f_2 = f_1$ zárodek nevzniká. Při mechanismu homogenní nukleace dojde ke vzniku zárodků až při určitém kritickém podchlazení $\Delta T = \Delta T_k$, kdy $\Delta F \neq 0$. Velikost energetické bariéry podchlazením klesá. Současně se zmenšuje i kritická velikost zárodků nové fáze [3, 4].

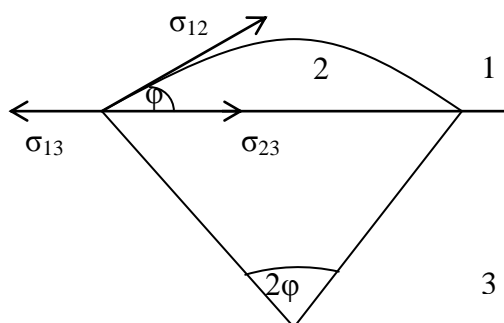
2.1.1.2 Heterogenní nukleace

Přítomnost poruch nebo cizí fáze mohou usnadňovat vznik zárodků a sloužit jako krystalizační centra. To může vést ke snížení hodnoty energetické bariéry $\Delta F(r^*)$ a tedy k usnadnění tvorby nukleí. Nukleace neprobíhá jako náhodný proces v celém objemu, ale v blízkosti nehomogenit, tzv. nukleačních center (např. prachové částice).

Máme nukleační centrum 3, zárodek 2 a taveninu 1 (Obr. 1). Předpokládá se, že zárodek nové fáze má tvar kulové úseče z pomyslné koule o poloměru r a úhlu výseče 2φ . Úhel smáčení φ mezi povrchem zárodku a rovinou krystalizačního centra 3 je výsledkem působení povrchových napětí na tomto rozhraní. Velikost povrchového napětí se rovná velikosti povrchové energie. V rovnováze platí:

$$\sigma_{13} = \sigma_{23} + \sigma_{12} \cdot \cos \varphi, \quad (5)$$

kde σ_{13} je povrchové energie na rozhraní taveniny 1 a krystalizačního centra 3, σ_{23} je povrchové energie na rozhraní zárodku 2 a krystalizačního centra 3, σ_{12} je povrchové energie na rozhraní taveniny 1 a zárodku 2.



Obr. 1: Zárodek nové fáze.

Před vznikem zárodku byla energie fázového rozhraní krystalizační centrum-tavenina:

$$E_{p0} = P_3\sigma_{13} = (P_{13} + P_{23})\sigma_{13}, \quad (6)$$

kde P_3 je velikost povrchu krystalizačního centra 3, P_{13} je velikost povrchu fázového rozhraní tavenina – krystalizační centrum, P_{23} je velikost povrchu rozhraní zárodek-krystalizační centrum. Po vzniku zárodku se energie fázových rozhraní změní na E_p . Rozdíl energií $E_p - E_{p0} = \Delta E_p$:

$$\Delta E_p = (P_{13}\sigma_{13} + P_{23}\sigma_{23} + P_{12}\sigma_{12}) - (P_{13}\sigma_{13} + P_{23}\sigma_{23}). \quad (7)$$

Po dosazení rovnice (5):

$$\Delta E_p = P_{23}(\sigma_{23} - \sigma_{13}) + P_{12}\sigma_{12} = P_{12}\sigma_{12} - P_{23}\sigma_{12} \cos \varphi \quad (8)$$

Volná energie povrchu závisí na jeho velikosti a na velikosti povrchové energie:

$$F^S = P \cdot \sigma = E_p \quad (9)$$

Celková změna volné energie při vzniku zárodku je rovna součtu změny spojené s objemem ΔF^V a změnou energie fázových rozhraní ΔF^S .

$$\Delta F = \Delta F^V + \Delta F^S = V_z(f_2 - f_1) + \sigma_{12}P_{12} - P_{23}\sigma_{12} \cos \varphi, \quad (10)$$

kde V_z je objem vznikajícího zárodku, f_2 a f_1 jsou volné energie objemové jednotky.

Po dosazení výrazů pro objem kulové úseče V_z , pro velikost kulové sečné plochy P_{23} a povrch kulového vrchlíku P_{12} do rovnice (10), dostaneme:

$$\Delta F = [(f_2 - f_1)(\pi/3)r^3(1 - \cos \varphi)^2(2 + \cos \varphi)] + [2\sigma_{12}r^2(1 - \cos \varphi) - \sigma_{12}r^2 \sin^2 \varphi \cos \varphi] \quad (11)$$

I zde existuje kritická velikost zárodku r^* . Velikost energetické bariéry:

$$\Delta F(r^*) = [(16\pi\sigma_{12}^3/3(f_2 - f_1)^2)] [(2 + \cos \varphi)(1 - \cos \varphi)^2/4] \quad (12)$$

Na začátku růstu zárodku je φ velmi malé, výraz $(1 - \cos \varphi)^2$ je také velmi malý. Celková výška bariéry $F(r^*)$ je v případě heterogenní nukleace o několik řádů menší než v případě homogenní nukleace. Pravděpodobnost vzniku zárodku nové fáze o velikosti r^* je při heterogenní nukleaci za jinak stejných podmínek mnohem větší než při nukleaci homogenní. Tuhnutí v tomto případě probíhá při teplotě, která je málo odlišná od T_c [3, 4].

2.1.2 Růst zárodků nové fáze

Růst zárodků nové fáze je třetí etapa fázové přeměny. Při tomto ději jsou důležité dva pochody: transport hmoty přes vzniklé fázové rozhraní a transport hmoty k tomuto rozhraní. Nejpomalejší z obou dějů určuje výslednou rychlost růstu krystalů.

První proces se uskutečňuje tepelně aktivovanými přeskoky atomů přes fázové rozhraní. Při takovém přechodu atomů (molekul) je třeba přerušit vazby poutající atomy nebo molekuly k výchozí fázi. K překonání této energetické bariéry je nutné vydat určitou energii. Pro $T = T_c$ krystal neroste. Pro teploty značně nižší než T_c je rychlost růstu zárodku určována difuzním koeficientem difuze přes fázové rozhraní, který s klesající teplotou exponenciálně klesá. Rychlost růstu zárodku je malá při teplotách těsně pod T_c i při teplotách hluboko pod T_c . Při středním podchlazení prochází rychlost růstu zárodků maximem.

Druhý proces se uskutečňuje difuzí atomů k rozhraní. Složení zárodku nově vznikající fáze je často odlišné od složení výchozí fáze, proto musí být k zárodku transportována hmota ze vzdálenějších míst původní fáze. Pokud je difuze pomalá, může se stát řídicím dějem růstu zárodků. Rychlost růstu se zmenšuje s rostoucím časem a poloměrem zárodku [3]. Molekuly vody difundují k povrchu rostoucího krystalu a začlení se do mřížky krystalu [2].

2.1.3 Rekrystalizace

Rekrystalizace (zrání) je posledním krokem krystalizace, který popisuje změny tvaru a velikosti jednotlivých krystalů vlivem teplotních fluktuací. Dochází k ní, protože systém směřuje do rovnovážného stavu s minimální energií. Tento proces je funkcí transportu tepla a hmoty. Malé krystaly a ostré body na krystalech tají při dané teplotě rychleji než větší a kulatější krystaly. Rychlost rekrystalizace není pouze funkcí času, ale také funkcí vlastností systému, jako je složení, teplota a distribuce velikosti krystalů. Pokud se každý krystal liší od rovnovážného poloměru jen o několik μm , dochází k velmi pomalému zrání [2].

Existují tři mechanismy rekrystalizace. Při prvním mechanismu, který se označuje jako migrační, dochází k růstu větších krystalů na úkor menších. Menší krystaly nemůžou

na svůj povrch vázat molekuly tak silně jako velké krystaly, což je způsobeno větším zakřivením a tím větší povrchovou energií. Molekuly pak mají tendenci migrovat na povrch větších krystalů. Větší krystaly rostou a malé krystaly mizí. Podobným procesem je druhý mechanismus rekrystalizace, který je v anglické literatuře označován jako „isomass“. Rozdíl je, že tento proces probíhá na jednom krystalu s drsným povrchem. Část povrchu s velkým zakřivením nemůže vázat molekuly tak silně jako hladší povrch s menším zakřivením. V důsledku tohoto děje se drsnější povrch stává hladším. Třetím mechanismem rekrystalizace je srůstání, kdy dva krystaly dotýkající se v jednom bodě srostou v jeden krystal. Bod dotyku má větší zakřivení a není tak stabilní jako jeho okolí. Do této oblasti se transportují molekuly a krystaly srůstají v jeden [5].

Rychlost rekrystalizace je ovlivněna mobilitou molekul vody a sacharidů. Aby krystal mohl růst, nesmí být na jeho povrchu rozpuštěné látky (sacharidy). Molekuly vody migrují z povrchu malých krystalů k větším difuzí. Zvýšení mobility molekul vody způsobí zvýšení rychlosti rekrystalizace. Mobilita molekul vody je ovlivněna typem rozpuštěných látek, jejich koncentrací a teplotou. Se zvyšující se koncentrací cukru ve vodném roztoku dochází ke snížení rychlosti rekrystalizace. Při stejném podchlazení a koncentraci roztoků sacharózy a fruktózy je difuzní koeficient roztoku sacharózy menší než difuzní koeficient roztoku fruktózy. Tento rozdíl je způsoben odlišnými interakcemi mezi vodou a rozpuštěnými sacharidy. Se zvyšující se teplotou se zvětšuje difuzní koeficient a tedy i rychlost rekrystalizace [5, 6].

V případě potravin probíhá rekrystalizace během skladování. Jestliže dochází ke kladným odchylkám od navržené teploty skladování, dochází k tání menších krystalů a množství nezamrzlé vody se zvyšuje. Následné snížení teploty nezpůsobí další nukleaci, ale volná voda znovu mrzne a to na povrchu větších krystalů, tzn. že celkový počet krystalů se snižuje a průměrná velikost krystalu se zvyšuje.

Někdy se rekrystalizace v potravinách vyskytuje i při konstantních teplotách, protože vodní pára má tendenci přecházet z oblasti o vyšší hodnotě tenze páry (na povrchu kulatého malého krystalu) do oblasti, kde je tenze páry nižší (na povrchu velkých krystalů). Tomuto ději se říká Ostwaldovo zrání [1].

2.1.3.1 Rekrystalizace ve zmrzlíně

Při mražení zmrzliny dochází nejprve k tvorbě dendritické struktury krystalů ledu, která se poté mění na diskovitý tvar. Zrání dendritů probíhá ve třech krocích. V prvním

kroku rostou velká ramena dendritů na úkor malých ramen. Ve druhém kroku se ramena spojí, prostor mezi dendrity se zaplňuje, dendrity se stávají sférickými. Ve třetím kroku se zvyšuje počet dendritů tím, že se krystaly lámou. Pohyb tekutiny způsobuje rozpad dendritů. Dendrity se oddělují v místech větvení, kde je velký poloměr zakřivení a krystal má tendenci tát. Potom co se ramena separují, se stávají diskovitými [2].

2.1.4 Vliv sacharidů na krystalizaci

Obrovské hydratované klustry sacharidů tvoří struktury, které brání objemové difuzi molekul vody [1]. Sacharidy připomínají svou strukturou vodu, mají také hydroxylové skupiny. Glykosylické kruhy jsou schopny narušit vodíkové vazby voda-voda a reagovat s vrstvou vody, která je obklopuje [7]. Hydroxylové skupiny jednotlivých monosacharidů jsou jinak lokálně hydratovány. Výsledky současných prací ukazují, že hydroxylové skupiny jsou méně hydratovány (v průměru 2,08 vazeb na hydroxylovou skupinu) a jsou méně kompatibilní s lokální tetraedrální sítí H-vazeb, než se dříve myslelo. Glukóza tvoří v průměru 11,15 H-vazeb s molekulami vody [8].

Přítomnost rozpuštěných látek, zvláště těch, které mají vysokou molekulovou hmotnost a nízký difuzní koeficient, ovlivňuje nukleaci ledu. Hodnota standardní Gibbsovy energie, která může být využita, souvisí s nejpomaleji difundující složkou roztoku. Rychlost nukleace se snižuje, protože množství vody k dispozici je zmenšeno. Poloměr kritického nuklea se zvyšuje, což je s největší pravděpodobností doprovázeno změnou povrchového napětí [1]. Sacharidy potlačují homogenní nukleaci ledu a růst krystalu je uskutečněn při nižší teplotě. Bod mrznutí a teplota nukleace ledu se snižuje [9]. Gram glukózy snižuje bod mrznutí vody dvakrát více než gram sacharózy, protože gram glukózy obsahuje dvakrát více molekul, které brání molekulám vody se uspořádat do krystalové mřížky ledu [2]. Snížení bodu mrznutí má vliv na podíl zmrzlé vody a tím ovlivňuje konzistenci mražených výrobků, především zmrzliny. Vzniká větší množství nezmrzlé vody, která se účastní rekrystalizace ledu [1]. Monosacharidy, které mají nižší molekulovou hmotnost, více snižují podíl zmrzlé vody [10]. Teplota homogenní nukleace v roztocích monosacharidů a disacharidů se snižuje s rostoucí koncentrací cukrů. Teplota nukleace není závislá na druhu sacharidu [9, 11].

Když nukleus ledu začíná růst v roztoku, rozpuštěné látky (sacharidy) se hromadí na rozhraní pevná látka-kapalina. To vede ke koncentračnímu gradientu rozpuštěných látek

v kapalině, která obklopuje led, a tím ke změnám v rovnovážných teplotách. Rovnovážné teploty se snižují se vzrůstající se koncentrací sacharidů [1]. Gonda a Sei [9, 11] zjistili, že bod tání ledu roztoku trehalózy a sacharózy je stejný. To znamená, že rovnovážná teplota nesouvisí s difuzí molekul vody a teplem krystalizace, ale závisí pouze na koncentraci sacharidu. Se zvyšující se koncentrací sacharidu se bod tání snižuje.

Rychlost růstu krystalu ledu je závislá na koncentraci sacharidu i jeho druhu. Je větší v roztoku sacharózy než v roztoku trehalózy. Trehalóza má totiž větší hydratační číslo než sacharóza (trehalóza obsahuje více ekvatoriálních hydroxylových skupin). Trehalóza je přibližně dvakrát účinnější než sacharóza při potlačování rychlosti růstu krystalu [9, 12]. Rychlost růstu krystalu se při daném podchlazení snižuje s rostoucí koncentrací sacharidu. Při nízkých koncentracích je růst řízen difuzí tepla, zvětšuje se rychlost růstu a výběžky krystalu jsou zašpičatělé. Při vysokých koncentracích je rychlost určujícím krokem difuze sacharidů od rozhraní. Rychlost růstu se snižuje. Snížení rychlosti růstu je způsobeno snížením difuzního koeficientu sacharidu. Tohoto snížení se dosáhne zvýšením koncentrace sacharidu nebo zvýšením jeho molekulové hmotnosti [13].

2.1.5 Vliv rychlosti mražení a podchlazení na krystalizaci

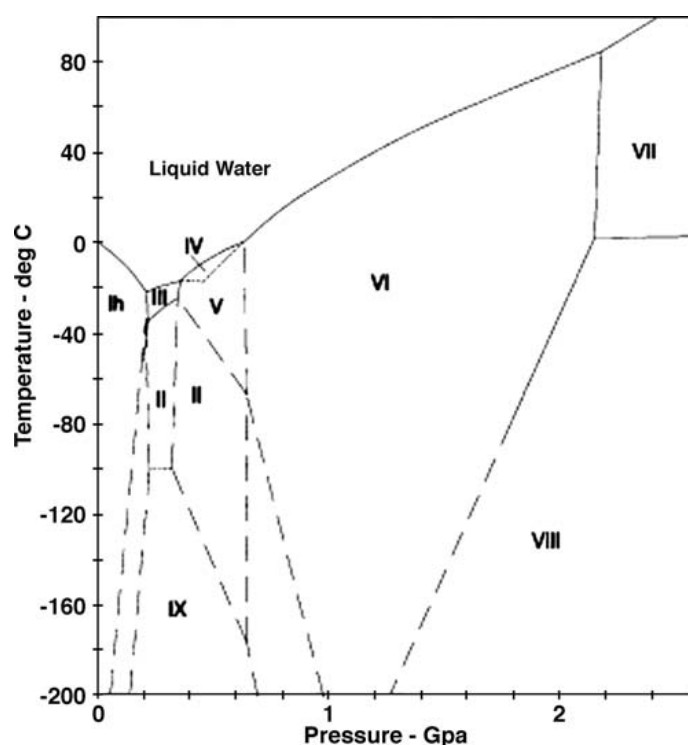
Při pomalém mražení dochází k pomalému transportu tepla z rozhraní. Vzniká méně nukleí, která mají více místa na svůj růst, tvoří se větší krystaly. Při rychlém mražení je rychlost nukleace větší, dochází k tvorbě většího počtu malých krystalů ledu [2].

Rychlost růstu krystalu ledu ve vodných roztocích sacharidů se zvyšuje se zvyšujícím se podchlazením. Morfologie ledu se mění ze stabilní na nestabilní. Rychlost růstu krystalu v roztoku sacharózy se zvyšuje mnohem více s rostoucím podchlazením než v roztoku trehalózy [9]. V oblasti koncentrací trehalózy pod 41,7 hm.% bylo zjištěno, že rychlost růstu krystalu ledu podél a-osy se úměrně zvyšuje druhé mocnině podchlazení [12].

Povrch krystalu ledu rostoucího ve vodném roztoku sacharidů je sférický při velkém podchlazení. To znamená, že molekuly vody sousedící s krystalem ledu jsou do krystalové mřížky zabudovány přímo [9].

2.2 Struktura ledu a polymorfismus

Stabilní led I (Ih) je rovnovážným stavem vody při 0°C a 1 atm. Je to jedna z devíti známých krystalických polymorfních struktur ledu, viz. Obr. 2. Každá z nich je stabilní při určité teplotě a tlaku.



Obr. 2: Fázový diagram ledu ([1]).

Většina látek má větší hustotu ve zmrzlém (pevném) stavu než v kapalném. V případě vody má menší hustotu led, zvětšuje se jeho objem. Tato expanze ledu způsobuje poškození tkání a pletiv při mražení potravin [1].

2.2.1 Morfologie krystalu ledu ve vodě a roztocích

Finální morfologie krystalu ledu závisí na podmínkách, za kterých byl krystal formován a rostl, rychlosti růstu krystalu, teplotě a přítomnosti rozpuštěných látek. Přirozená orientace ledu Ih vede k rozdílné rychlosti růstu na odlišných místech povrchu krystalu, tzv. anizotropní růst.

Důležitou podmínkou, za které je krystal formován, je podchlazení. Při nízkém stupni podchlazení dochází k tvorbě krystalů tvaru disku. Pokud se podchlazení zvyšuje od 0,1°C do 30°C, struktura rostoucího krystalu se postupně mění z disku na větvenou morfologii. Prstovité výběžky se štěpí na dendrity, na stabilní jehličky, jehličkovitou větev a nakonec na tvar destičky.

Růst krystalu v roztoku probíhá jedním ze tří schémat. V prvním případě mají molekuly vody dostatek času, aby se uspořádaly do pravidelné hexagonální krystalizační jednotky zvané dendrit. Ve druhém případě se molekuly vody do krystalu začleňují velkou rychlostí. Jsou inkorporovány na náhodné místo a vznikají jednotky zvané nepravidelné dendrity nebo axiální pilíře, které se vytvářejí z centra krystalizace. Ve třetím případě, při vyšší rychlosti chlazení, se z centra krystalu tvoří mnoho jehlic bez postranních větví. Tyto jednotky se nazývají sférolity [1, 13].

Bylo dokázáno [14], že pokud dochází ke krystalizaci ledu v silně podchlazené vodě (pod 200 K), tvoří se hybridní krystal, který obsahuje kubické a hexagonální vrstvy, přičemž kubické vrstvy převládají. Hexagonální vrstvy jsou chyby deformace (dvě hexagonální vrstvy jsou obklopeny kubickými vrstvami) nebo chyby růstové (jedna hexagonální vrstva je obklopena kubickými). Tento tzv. kubický led je méně stabilní než hexagonální. Kubický led převládá, protože má nižší povrchovou energii.

2.2.2 Vliv rozpuštěných látek na morfologii krystalu ledu

Přítomnost sacharidů způsobuje snížení rovnovážných teplot a tak mezi fázemi (s-l) vzniká zóna, kde se zvyšuje podchlazení, které se označuje jako konstituční podchlazení. Díky existenci tohoto podchlazení je rovinný krystal ledu náchylný k tvorbě malých odchylek. Když výčnělek krystalu mírně vystupuje dopředu z roviny, rychlost jeho růstu se zvyšuje. Taková nestabilita roste díky oblasti podchlazení; sousedící jednotky ledu srůstají odstraňováním rozpuštěných látek (sacharidů) vyskytujících se mezi nimi. Tvoří se krystaly ve tvaru sloupů. Po dosažení morfologické stability se tvoří dendrity (výčnělky s postranními větvemi) [1].

Bylo zjištěno [13], že dendrity vznikající ve vodném roztoku sacharidů nejsou axiálně symetrické, ale mají parabolický profil paralelní s basální rovinou a jsou obklopeny paraboloidním koncentračním polem sacharidů. Růst dendritů je ovlivněn především

transportem tepla a molekul sacharidu z povrchu krystalu, povrchovým napětím a prouděním. Dendrity nejsou jehlicovité, ale zploštělé, zvláště v blízkosti vrcholu.

Při velmi nízkém podchlazení se diskovitý krystal stává hexagonálním. Při nízkém podchlazení jsou hlavní větve dendritů velké a oblé a postranní větve nejsou dobře vyvinuty. Při vyšším podchlazení rychle rostou terciární větve, které jsou paralelní s těmi primárními. Při všech podchlazeních může příležitostně docházet k rozdělení primárního výběžku na dvě větve.

Hexagonální struktura krystalu ledu má tři a-osy v jedné rovině a jednu c-osu kolmou k této rovině. Experimenty týkající se tvorby krystalů ledu v roztocích sacharidů ukazují, že a-osy rostou rychleji než c-osa. Hexagonální krystal roste nejprve laterálně a až poté vertikálně [2].

Pokud se vodný roztok glukosy podchladí pod teplotu skelné transformace (230 K) a níže, dochází k tvorbě kubického ledu na místo očekávaného hexagonálního [15].

2.3 Experimentální metody používané při výzkumu tvorby krystalů ledu v podchlazených vodných roztocích

Při studiu tvorby, růstu krystalů ledu a jejich morfologie je využíváno mnoho technik. Tyto techniky můžeme rozdělit na přímé a nepřímé. Mezi přímé metody patří například optická mikroskopie, fluorescenční mikroskopie, magnetická rezonance, optická interferometrie, diferenční skenovací kalorimetrie, mikroskopie atomárních sil, rentgenová difrakce a infračervená spektroskopie. Mezi nepřímé metody patří například mrazová substituce, mrazová fixace a sušení mrazem. Principem těchto nepřímých metod je nahrazení krystalů ledu rozpouštědlem nebo vzduchem (sublimace krystalů ledu) a pozorování prostorů, které předtím tyto krystaly zaujímaly. Výhodou těchto metod je jednoduchost provedení. Jejich nevýhodou je invazivnost v přípravných krocích a možný vznik artefaktů.

V následujících kapitolách jsou popsány některé z přímých metod využívaných při studiu chování vodných roztoků během chlazení [1].

2.3.1 Optická mikroskopie

Optický mikroskop je centrovaná soustava čoček; objektivu, okuláru a kondenzoru. Objektiv zajišťuje zvětšení a rozlišení, okulár zvětšení a kondenzor maximální osvětlení objektu. Schopnost objektivu zachytit co nejširší kužel paprsků má vliv na rozlišení co největších detailů. Zvětšení mikroskopu je součinem zvětšení objektivu a okuláru [16]. Optický mikroskop zpravidla pracuje se zvětšením 50x až 500x, což umožňuje sledování objektů od velikosti několika mikrometrů. Objekty je možné sledovat za průchodu světla nebo pomocí světla odraženého. Všechny sledované objekty musí být odlišitelné od svého okolí na základě rozdílné barevnosti nebo morfologie v případě použití odraženého světla. Pro zvýraznění objektů se používají různé techniky jako je fluorescence nebo polarizované světlo.

Při studiu tvorby a růstu krystalů v mražených potravinách se používá tzv. kryomikroskopie. Kryoskopickou jednotku tvoří klasický optický mikroskop

s temperačním stolcem umožňujícím chlazení tekutým dusíkem. Tato metoda byla použita k pozorování krystalizace a rekrystalizace při mražení a tání vodného roztoku glukózy [15], studiu rychlosti růstu a morfologie krystalů ledu rostoucích ve vodném roztoku trehalózy [12], zjišťování bodu tání ledu ve vodných roztocích sacharidů [11] a studiu inhibičního vlivu sacharidů na růst krystalů ledu ve vodných roztocích [9].

2.3.2 Optická interferometrie

Touto metodou lze pozorovat fázové preparáty, které nemění intenzitu prošlého nebo odraženého světla (nejsou kontrastní), ale jejich části se navzájem liší indexem lomu, což způsobuje fázové změny prošlého nebo odraženého světla.

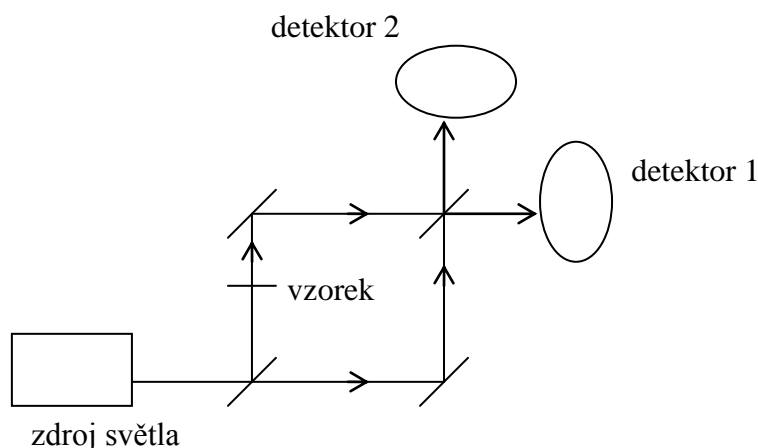
Vstupní paprsek je nejprve rozdělen na dva, jeden z nich prochází preparátem. Poté jsou oba paprsky spojeny, interferují spolu. Výsledek interference závisí na optických vlastnostech paprsků. Pokud nejsou obě dráhy stejné, vzniká mezi paprsky určitý fázový rozdíl $\Delta\phi$, který určuje výslednou amplitudu, resp. intenzitu světla. Ke vzniku pozorovatelných interferenčních obrazců dochází jen za určitých podmínek. Jednou z podmínek je koherence paprsků. Další pak, aby kmitoměry paprsků byly rovnoběžné (pokud jsou kmitoměry kolmé, dochází ke skládání kmitů a ne k interferenci). Interferují jen paprsky o stejné frekvenci. Paprsky pocházející ze stejného zdroje se označují jako koherentní a výsledkem jejich interference je časově stálý obraz.

Pokud se mezi oběma paprsky úmyslně vytvoří fázový rozdíl $\Delta\phi = \pi$ (tj. $\delta = \lambda/2$), je splněna podmínka vzniku minima a intenzita výsledného světla je rovna nule. Zorné pole je tmavé. Jestliže se do cesty jednoho paprsku vloží preparát, jehož jednotlivá místa způsobují fázová zpoždění, nebude již toto místo zobrazeno po interferenci temně, ale světleji. Výsledkem je světlý obraz předmětu na tmavém pozadí.

Příkladem interferenčního dvoupaprskového mikroskopu je uspořádání podle Linnika. Paprsek světla je rozdělen na dva a poté znovu spojen pomocí polopropustné destičky skloněné pod úhlem 45° .

Další uspořádání je takové, že destičky nejsou rovnoběžné, ale tvoří klín o velmi malém úhlu (Fabry-Perotův interferometr). Vznikají tzv. Fizeaurovy proužky o stejné optické tloušťce, tvar proužků je rovnoběžný s hranou klínu. Přítomnost fázového preparátu se projeví deformací těchto proužků, fázové posunutí způsobené preparátem má za následek, že podmínka maxima je splněna jen v určitém místě vzorku [16].

Butler [13] použil Mach-Zenderův interferometr ke studiu růstu a morfologie dendritů a koncentračního pole sacharidů kolem výběžků dendritů. Mach-Zenderův interferometr se skládá ze zdroje paprsku, čtyř zrcadel a dvou detektorů (Obr. 3). Dvě zrcadla jsou upraveny tak, že rozdělují paprsek na dva paprsky. Tato zrcadla jsou tvořena skleněnou destičkou, jejíž jedna polovina je pokryta tenkou vrstvou hliníku. Umístěním vzorku do dráhy jednoho z paprsků dochází k fázovému posunu [17, 18].



Obr. 3: Schéma Mach-Zenderova interferometru.

V případě mnohopaprskové interference vycházejí interferující paprsky z mnoha koherentních zdrojů. To lze uskutečnit na dvou rovnoběžných a velmi blízkých destičkách, jejichž povrchy, obrácené k sobě, jsou pokryty polopropustnou vrstvou. Dopadá-li na ně téměř kolmo paprsek, pak následkem odrazu na polopropustných vrstvách vznikají nové koherentní zdroje, z nichž vycházejí paprsky. Tyto paprsky mohou po uvedení do společného prostoru interferovat. Při interferenci paprsků vzniká řada hlavních maxim o intenzitě větší než byla původní. [16]

2.3.3 Mikroskop atomárních sil (AFM)

Tento mikroskop je jedním ze základních typů mikroskopů s elektromechanickou sondou (Scanning Probe Mikroskopy- SPM). SPM vytvářejí zvětšený trojrozměrný obraz povrchu preparátu. Sonda v podobě velmi ostrého hrotu rastruje zkoumaný povrch buď v přímém kontaktu při extrémně malém přitlaku nebo v konstantní velmi malé

vzdálenosti od povrchu. Mikroskopy SPM mají vysokou rozlišovací schopnost, lze s nimi pozorovat detaily na úrovni jednotlivých molekul nebo atomů.

V případě AFM je sonda mikroskopu v přímém kontaktu se zkoumaným povrchem, její poloha je určována silami působícími mezi atomy hrotu a povrchu vzorku. Trojrozměrný obraz povrchu je vytvářen vyhodnocováním polohy velmi ostrého hrotu (např. štípaný diamant), který je uchycen na výkyvném ohybném rameni, při jeho pohybu po povrchu vzorku pod velmi malou konstantní přitlačnou silou (řádově 10^{-9} N). Výkyvné rameno sondy je osvětlováno laserovým paprskem, který po odrazu dopadá na fotodiodu. Tím je změna vertikální polohy hrotu převáděna na elektrický signál. Konstantní přitlačná síla je zajišťována zpětnou vazbou, která upravuje vertikální polohu vzorku tak, aby signál z fotodiody zůstal konstantní. Extrémně nízká přitlačná síla vyžaduje pečlivou přípravu preparátu, aby byl potlačen vliv meniskových sil způsobených naadsorbovanou vlhkostí případně jinými nečistotami. AFM umožňuje generovat topografické obrazy s velmi vysokým rozlišením, které závisí na kvalitě hrotu sondy. Nevýhodou je možné narušení velmi měkkých vzorků a špatné zobrazování strmých stěn [16].

Pomocí této metody byly pozorovány změny v povrchové topologii krystalů ledu během mražení vodných roztoků sacharidů [19]. Hrot byl v přímém kontaktu se vzorkem a síla působící na vzorek byla konstantní nebo sinusoidálně modulovaná. Součástí tohoto AFM byl chladicí stolek, který umožnil ochlazení vzorku na teplotu -60°C a následný ohřev. Problémem použití běžně užívané silikonové sondy bylo poškozování povrchu vzorku a nemožnost zjištění, zda je teplota u hrotu sondy stejná jako v celém objemu vzorku. Tyto problémy byly vyřešeny použitím polyimidové teplotní sondy. Její nevýhodou je však větší poloměr zakřivení hrotu a tím zhoršení prostorového rozlišení.

2.3.4 Diferenční skenovací kalorimetrie

Tato metoda se používá pro studium tepelně zabarvených dějů. Rozlišují se dva typy diferenční skenovací kalorimetrie, kompenzační a s tepelným tokem. U DSC s tepelným tokem se měří tepelný tok mezi vzorkem a referenční látkou v závislosti na teplotě vzorku. Principem kompenzační metody DSC je udržování stejné teploty ve vzorku a referenční látce pomocí kompenzace přihřevem. Měření dodávané energie je velmi přesné. Teplotní oblast využití metody DSC může být od teplot hluboko

pod nulou -50°C až do 700°C . Vzorek se během experimentu zpravidla podrobuje lineárnímu ohřevu nebo se využívá izotermního měření. V pracovní komůrce jsou dva nosiče, jeden pro vzorek a druhý pro referenční látku. Oba nosiče mají zabudovaná teplotní čidla i topná tělíska (tzv. mikropříhřev), která vnějším vstupním napětím umožňují ovlivňovat teplotu vzorku a referenční látky. Probíhá-li ve vzorku endotermní děj, je absorbovaná energie kompenzována zvýšeným příkonem topného tělesa a naopak. DSC křivka je závislost tepelného toku dq/dt na teplotě vzorku. Měřený tepelný děj (např. fázový přechod, dehydratace, chemická reakce) se na DSC křivce zobrazí jako pík směřující nahoru či dolů, dle endotermního nebo exotermního charakteru daného děje. Plocha píku je úměrná reakční enthalpii a množství látky. [16].

Tato metoda byla použita ke studiu mražení a tání vodného roztoku glukosy [15] a ke studiu tepelných vlastností vodných roztoků sacharidů během mražení [19]. Byly pozorovány exotermní a endotermní píky popisující děje (vznik krystalů ledu, rekrytalizace a tání) probíhající při mražení vodných roztoků sacharidů a následném ohřevu.

2.3.5 Rentgenová difrakční analýza

Tato metoda sleduje rozptýlené rentgenové záření po odrazu od atomů krystalové mřížky a jeho následné interferenci, tj. difrakci. Atomy krystalové mřížky lze za určitých podmínek (předpoklad rovnoběžných krystalových rovin a konstantní mezirovinná vzdálenost) považovat za bodové zdroje rozptýleného záření, které se šíří všemi směry v kulových vlnoplochách. Interferencí se záření zesiluje ve směrech splňujících Braggovu podmínku (13), v ostatních směrech je potlačeno. Pro difrakci monochromatického svazku paprsků rentgenového záření na krystalu tedy platí:

$$m\lambda = 2d \sin \Theta, \quad (13)$$

kde m je řád refrakce monochromatického záření s vlnovou délkou λ , d je vzdálenost dvou sousedních rovin krystalové mřížky a Θ je úhel dopadu svazku rovnoběžných paprsků monochromatického rentgenového záření. Aby došlo k zesílení odraženého paprsku, musí být dráhový rozdíl dvou paprsků roven celistvému násobku vlnové délky záření. Platí, že čím je větší vlnová délka použitého záření, tím méně difrakcí se naměří. Na intenzitu difrakcí má vliv druh, počet a rozmístění atomů v mřížce [16, 20].

Při studiu dějů probíhajících během mražení a tání vodného roztoku glukosy [15] byla použita rentgenová difrakce samostatně nebo ve spojení s DSC. Během ohřevu bylo z difraktogramů určováno, zda se jednalo o led hexagonální, kubický nebo směs obou.

2.3.6 Infračervená spektroskopie

Principem je absorpce infračerveného záření molekulami látek. Infračervené záření má větší vlnovou délku (760 nm až 1 mm) a nižší energii (0,0012 až 1,63 eV) než záření ultrafialové a viditelné. Energie infračerveného záření nestačí na změny elektronových stavů, dochází pouze ke změnám vibračních a rotačních stavů molekul. Energetické hladiny rotačních stavů jsou si blíže než energetické hladiny vibračních stavů. Změny vibračních stavů jsou tedy doprovázeny změnami rotačních stavů. Molekula rotuje kolem svého těžiště. Energie rotace závisí na hmotnosti vázaných atomů a na délce vazby. Vazba mezi atomy se chová jako pružina, na které vázané atomy vibrují. Při valenčních vibracích se mění délka vazby, při deformačních se mění vazebný úhel. Energie vibrací závisí na hmotnosti vázaných atomů a na pevnosti vazby.

Infračervená absorpční spektra jsou tedy spektra vibračně-rotační. Absorbovat se může jen záření, jehož energie odpovídá příslušným vibračním a rotačním přechodům. Změna vibračně-rotačního stavu molekuly absorpcí infračerveného záření může nastat jen tehdy, když tím dojde ke změně dipólmomentu molekuly (součin velikosti náboje jednoho z pólů dipólu a vzdálenosti pólů). Sleduje se závislost transmitance nebo absorbance na vlnočet absorbovaného záření.

Infračervená spektra se měří ve spektrometrech. Jedna z možných konstrukcí je taková, že pomocí rotujících zrcadlových segmentů je záření ze zdroje střídavě pouštěno přes kyvetu se vzorkem a přes srovnávací prostředí. V monochromátoru (odrazové mřížce) se vymezuje vlnočet záření, které se měří v detektoru. Jako zdroj záření se používají tuhé zářiče z polovodičových materiálů. Nejběžnější je elektricky žhavená tyčinka z karbidu křemíku (globalar). Kyvety musí být z materiálu, který je propustný pro infračervené záření, např. z NaCl nebo KBr. V současné době se k detekci nejvíce používá pyroelektrický detektor (DTGS). Absorpcí záření se změní teplota pyroelektrického krystalu a tím se změní stupeň orientace polárních molekul a to vyvolá elektrický náboj. Výsledkem je měřitelný elektrický proud. Jako krystal se používá triglycinsulfát, který je aplikovatelný

za běžných teplot. Některé detektory obsahují deuterovaný triglycinsulfát. Deuterací se zvyšuje teplota, za které lze detektor použít. Z teplotních čidel se používají bolometry, které sledují změnu elektrického odporu s teplotou [20, 21].

Infračervená spektroskopie byla použita k prokázání přítomnosti ledu a studiu jeho tání ve vodných roztocích trehalózy, maltózy a glukózy [7]. Metoda je založena na teplotní závislosti rotace a vibrace OH vazeb molekul vody. Při tání dochází k výrazné změně v absorbanci.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Pro experimentální část práce byly vybrány modelové vodné roztoky sacharózy a glukózy, které se používají jako základ pro výzkum chování některých potravin při chlazení (např. zmrzlin, šťáv a džusů). Během práce byla studována nukleace a růst krystalů ve vybraných cukerných roztocích v průběhu chlazení. Byla sledována také morfologie vzniklých krystalů a jejich teplota tání.

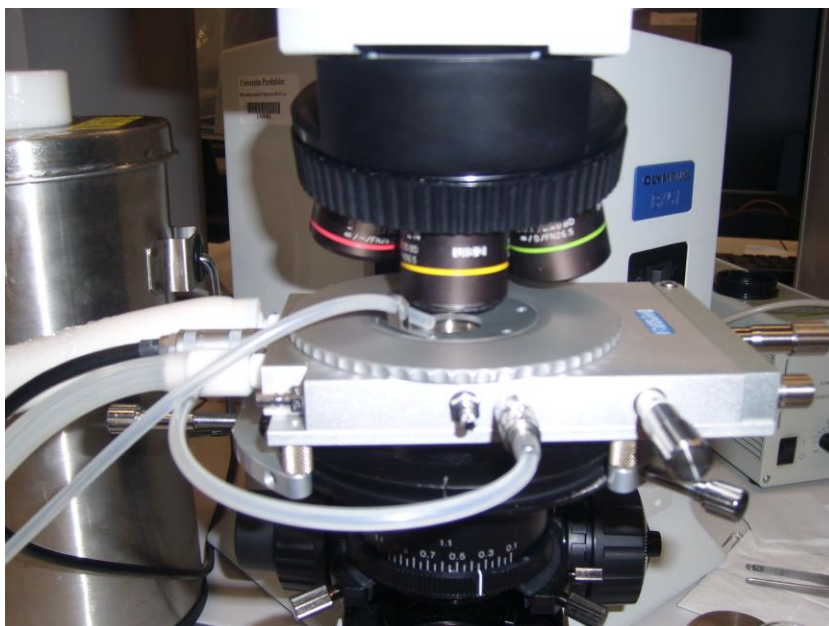
Pro přípravu byly vybrány roztoky sacharózy a glukózy o koncentraci 30 hmot.%, protože není možné připravit koncentrovanější roztoky glukózy. Vzorky byly připraveny rozpuštěním 1,5 g sacharidu (D-(+)-glukosa, Sigma-Aldrich, čistota 99,5 %, $M_r = 180,155$ g/mol; sacharóza, Sigma-Aldrich, čistota 99,5 %, $M_r = 342,296$ g/mol) ve 3,5 ml redestilované vody. Výsledný roztok sacharózy měl molalitu 1,252 mol/kg (molární zlomek 0,022) a glukózy 2,379 mol/kg (molární zlomek 0,041). Před každým měřením byl připraven nový roztok. Pro měření bylo použito vždy 5 μ l roztoku.



Obr. 4: Aparatura použitá při měřeních.

Vzorky byly pozorovány pomocí optického mikroskopu Olympus BX51 s kamerou Olympus DP72 a temperačním stolcem Linkam (Obr. 4,5). Temperační stolek byl chlazen tekutým dusíkem. Chlazení a ohřev vzorku byly řízeny pomocí programu Linksys 32. Měření růstu krystalů ledu v roztocích bylo provedeno během chlazení rychlostí 1 K/min

z teploty 25°C na teplotu až -50°C. Při zjišťování teploty tání byly zkrystalizované vzorky následně ohřívány rychlostí 5 K/min do -15°C a dále rychlostí 1 K/min do 0°C. Vzhledem k velmi vysoké rychlosti růstu bylo využito techniky snímání videosekvencí. Z takto vytvořených videosekvencí byly v programu SUPER vytvořeny série fotografií postupně mapující růst krystalů. Velikost krystalů byla stanovena v programu QuickPhoto Industrial 2.3, kde byla velikost kalibrována na délkový standard.



Obr. 5: Temperační stolek.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Práce byla zaměřena na studium růstu krystalů vody v podchlazených roztocích cukrů, které jsou modelovými systémy pro studium mražení zmrzliny, šťáv a džusů. Pro experiment byly vybrány dva roztoky o stejné hmotnostní koncentraci 30 %. Jako sacharidy byly zvoleny sacharóza (disacharid) a glukóza (monosacharid). Bylo předpokládáno odlišné chování těchto roztoků na základě rozdílné velikosti molekul obou sacharidů a odlišné viskozity obou připravených roztoků. Během studia byla sledována nukleační rychlost, růst a tání krystalů ledu v roztocích pod teplotou 0°C.

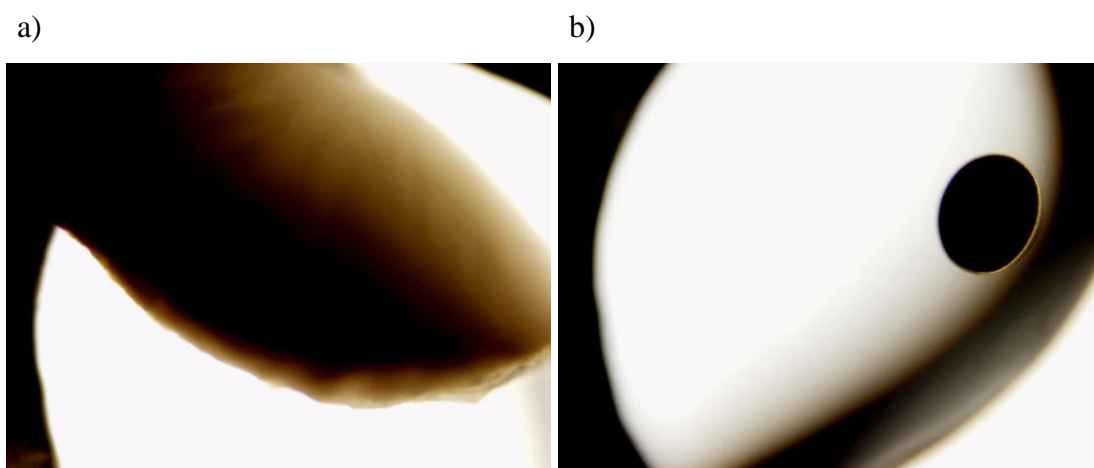
4.1 Nukleace

Při chlazení připravených roztoků bylo zjištěno, že ve vzorcích nedochází ke krystalizaci vody při teplotách, které by odpovídaly příslušným fázovým diagramům (koncentrace 30 hmot.%, systém sacharóza-voda: $T_{cr} = -2.6^{\circ}\text{C}$, systém glukóza-voda [22]: $T_{cr} = -4,74^{\circ}\text{C}$ [23]). Naopak bylo možné roztoky cukrů podchladit na nízké teploty, aniž by došlo ke vzniku krystalů. Při použité rychlosti chlazení 1 K/min byly zaznamenány první krystaly při teplotách kolem -19°C pro vodný roztok sacharózy (30 hmot.%) a -25°C pro roztok glukózy (30 hmot.%). Nejnižší teplota, které bylo během experimentů dosaženo bez vzniku krystalů v roztoku byla -28°C pro roztok sacharózy a -43°C pro roztok glukózy. Z uvedených údajů vyplývá, že stanovená oblast nukleace je -19°C až -28°C pro vodný roztok se sacharózou. Tato oblast je mnohem užší než v případě roztoku s glukózou, kde docházelo k nukleaci v rozmezí teplot -25°C až -43°C . Z výsledků je zřejmé, že přítomnost stejného hmotnostního množství glukózy více zvyšuje možnost podchlazení roztoku, aniž by došlo k nukleaci.

V obou případech byl zjištěn vznik pouze jediného krystalu na celý objem vzorku (5 μl). Tento krystal vznikl v širším rozmezí teplot, jak je ukázáno v předchozím odstavci, a jeho vznik byl spíše náhodný. Toto chování naznačuje velmi pomalé rychlosti nukleace v celém sledovaném rozsahu teplot, vznik nuklea je tedy záležitostí pravděpodobnosti. Vezmeme-li v úvahu experimentální čas a rozmezí teplot, kde byl sledován vznik krystalu, můžeme odhadnout pravděpodobnou nukleační rychlost kolem 6 nukleí za hodinu

pro roztok se sacharózou. V případě roztoku s glukózou je odhadnutá rychlost nukleace ještě nižší, kolem 3 nukleí za hodinu.

Během experimentů bylo zjištěno pro oba zkoumané roztoky, že většina nukleí vznikla přímo na okraji kapky (Obr. 6a) nebo v bezprostřední blízkosti okraje (Obr. 6b), kde působící povrchové napětí usnadňuje vznik nuklea. Probíhající nukleace byla tedy heterogenní. Homogenní nukleace v objemu vzorku nebyla pozorována, dle údajů v literatuře by byla pravděpodobná pro teploty pod -40°C , kde již roztok byl zkrystalizován.



Obr. 6: Vznik krystalů na okraji (a) a v blízkosti okraje (b) kapky roztoku s glukózou.

4.2 Růst krystalů

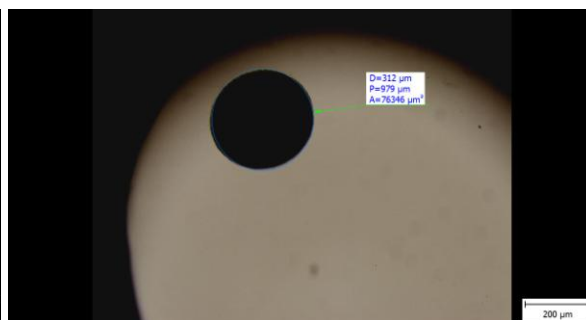
Vzhledem k malé pravděpodobnosti vzniku nukleí ve vzorcích byla měření rychlosti růstu krystalů provedena za neizotermního režimu. Kapka vzorku na skleněné podložce byla v kryokomůře chlazena rychlostí 1 K/min . Ihned po zjištění vzniku viditelného krystalu byl spuštěn videozáznam. Rychlost růstu krystalů v obou zkoumaných roztocích byla velmi vysoká a maximální měřitelné délky krystalu bylo dosaženo do 10 s od počátku snímání. Proto můžeme říci, že se teplota během růstu krystalu téměř nezměnila. Určená rychlost růstu krystalu byla přiřazena vždy teplotě na počátku snímání.

Snímky krystalů zaznamenané kamerou mikroskopu v různém čase pro danou teplotu jsou uvedeny v Obr. 7 pro vodný roztok sacharózy (30 hmot.%) a v Obr. 8 pro vodný roztok glukózy (30 hmot.%). Všechny sledované krystaly byly sférické s výraznou dendritickou strukturou pozorovatelnou zejména na okraji krystalů (Obr. 9). Velikost krystalů byla vždy měřena jako průměr kružnice opsané kolem krystalu.

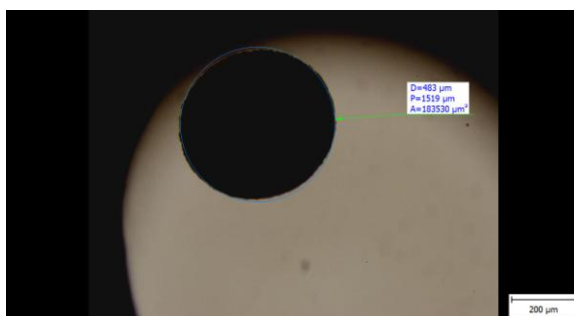
a) 1 s



b) 2 s



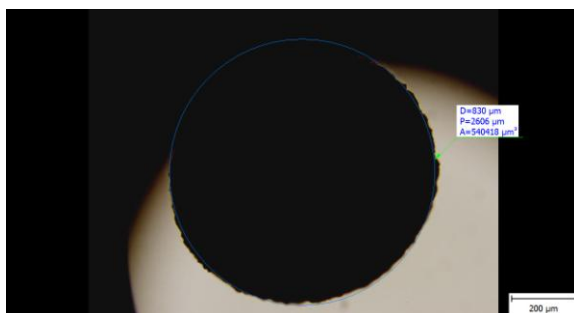
c) 3 s



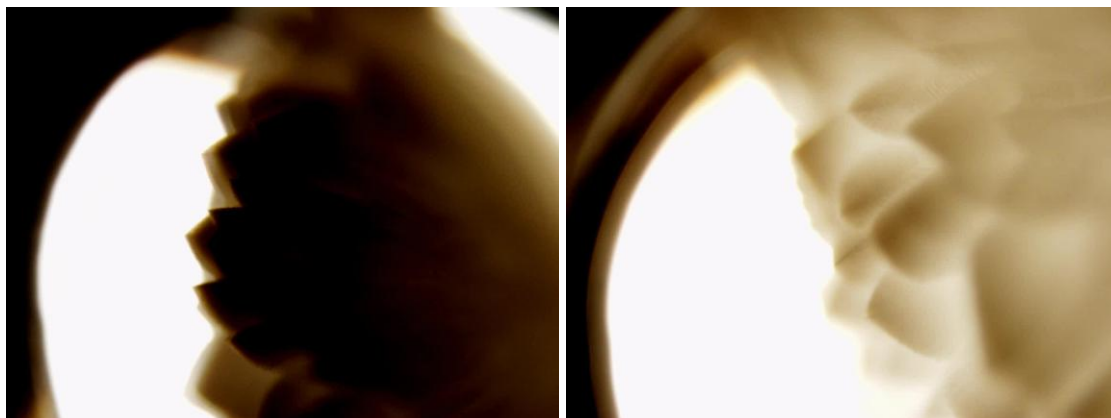
d) 4 s



e) 5 s

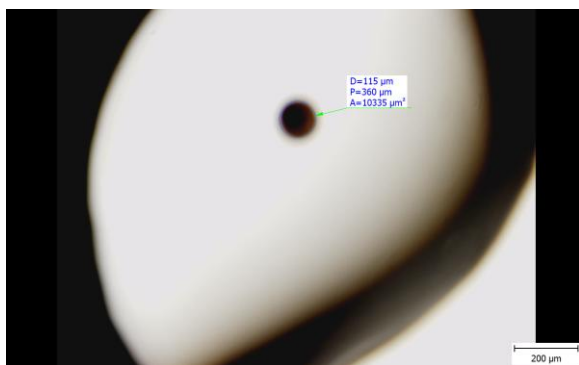


Obr. 7: Růst krystalu ledu ve vodném roztoku sacharózy při teplotě $-26,3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Snímky byly pořízeny po 1 s. Průměr krystalu: a) 146 μm ; b) 312 μm ; c) 483 μm ; d) 661 μm ; e) 830 μm .

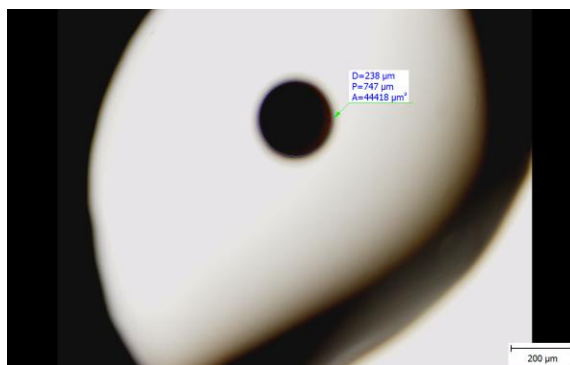


Obr. 9: Dendritická struktura krystalu ledu rostoucího ve vodném roztoku sacharózy.

a) 1 s



b) 2 s



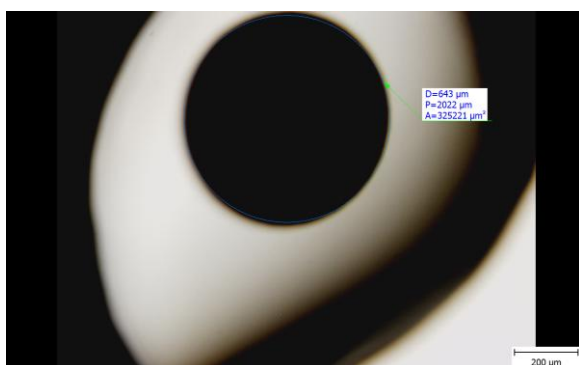
c) 3 s



d) 4 s

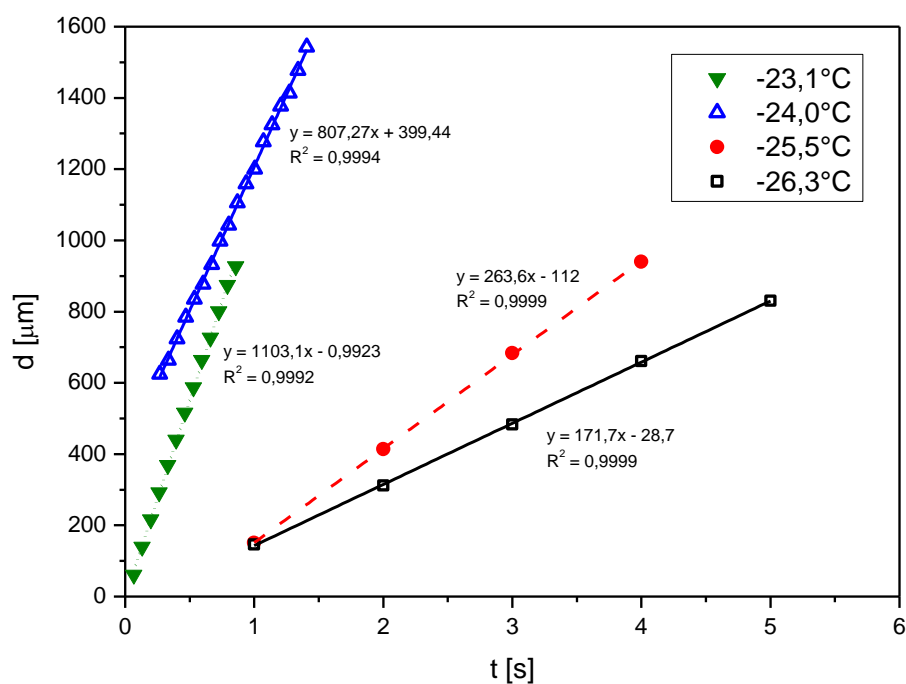


e) 5 s

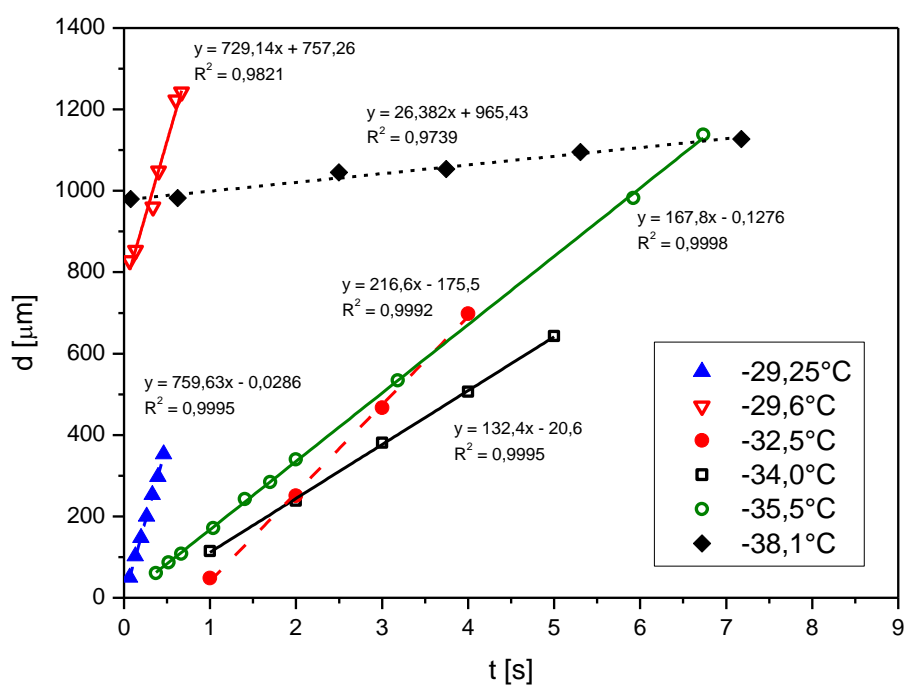


Obr. 8: Růst krystalu ledu ve vodném roztoku glukózy při teplotě $-34\text{ }^{\circ}\text{C}$. Snímky byly pořízeny po 1s. Průměr krystalu: a) 115 μm ; b) 238 μm ; c) 381 μm ; d) 506 μm ; e) 643 μm .

V obou vzorcích předpokládáme pouze růst krystalů vody tak, jak to odpovídá fázovým diagramům zkoumaných systémů [22, 23]. Vzhledem k nedostupnosti techniky vhodné pro určení povahy studovaných krystalů při teplotách pod 0°C nebylo možné náš předpoklad ověřit jiným způsobem. Po vykrystalizování větší části vody je ve vzorku přítomen stále nekrystalický koncentrovaný roztok sacharidu, který vykazuje skelný přechod při teplotách pod 245 K pro sacharózu [23] a pod 230 K pro glukózu [15].



Obr. 10: Závislost průměru krystalu ledu rostoucího ve 30 hmot.% roztoku sacharózy na čase. Směrnice přímků určují rychlost růstu krystalu.



Obr. 11: Závislost průměru krystalu ledu rostoucího ve 30 hmot.% roztoku glukózy na čase. Směrnice přímků určují rychlost růstu krystalu.

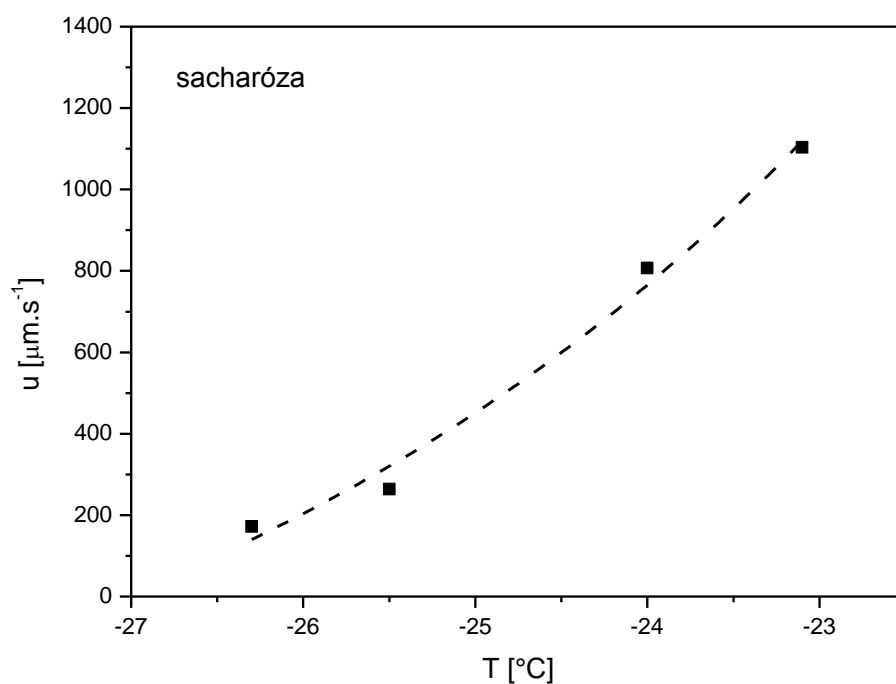
Pro vodný roztok obsahující 30 hmot.% sacharózy byla stanovena rychlost růstu krystalů v úzkém teplotním rozmezí $-23,1^{\circ}\text{C}$ až $-26,3^{\circ}\text{C}$. V případě roztoku 30 hmot.% glukózy měření proběhlo při teplotách $-29,25^{\circ}\text{C}$ až $-38,1^{\circ}\text{C}$. Při velmi nízkém podchlazení nelze rychlost měřit, protože při tomto podchlazení nedochází k nukleaci. Při velkém podchlazení opět nemohla být rychlost růstu krystalů stanovena, protože vzorky byly již zcela krystalické.

Velikost krystalů v závislosti na čase je zakreslena na předchozí stránce v Obr. 10 pro vodný roztok sacharózy a v Obr. 11 pro vodný roztok glukózy. Z grafů je patrné, že růst krystalu je při dané teplotě lineární. Rychlosti růstu byly stanoveny pomocí lineární regrese naměřených dat. Hodnoty spočtených lineárních regresí jsou zapsány v grafech u jednotlivých křivek. Rychlosti růstu krystalů stanovené ze směrnic uvedených regresí jsou sumarizovány v Tab. I. Naměřené rychlosti růstu krystalů ledu z vodných roztoků cukrů se pohybují v rozmezí $172 - 1103 \mu\text{m/s}$ pro sacharózu a $26 - 760 \mu\text{m/s}$ pro glukózu.

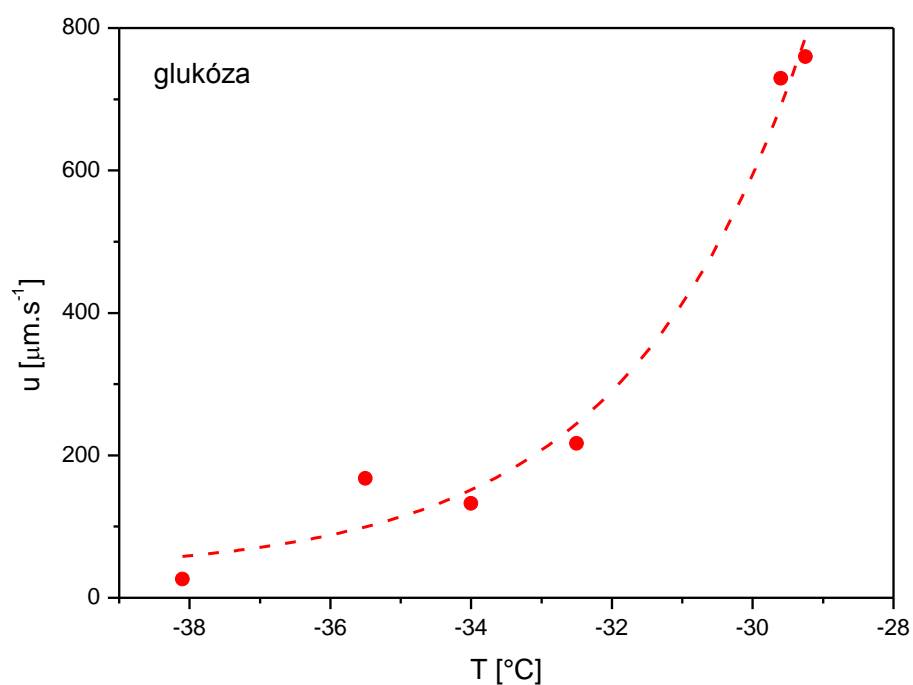
Tabulka I: Rychlosti růstu krystalu ledu a teploty, při kterých rostl.

	u [$\mu\text{m/s}$]	T [$^{\circ}\text{C}$]		u [$\mu\text{m/s}$]	T [$^{\circ}\text{C}$]
	759,6	-29,3		1103,1	-23,1
Glukóza	729,1	-29,6	Sacharóza	807,3	-24,0
	216,6	-32,5		263,6	-25,5
	132,4	-34,0		171,7	-26,3
	167,8	-35,5			
	26,38	-38,1			

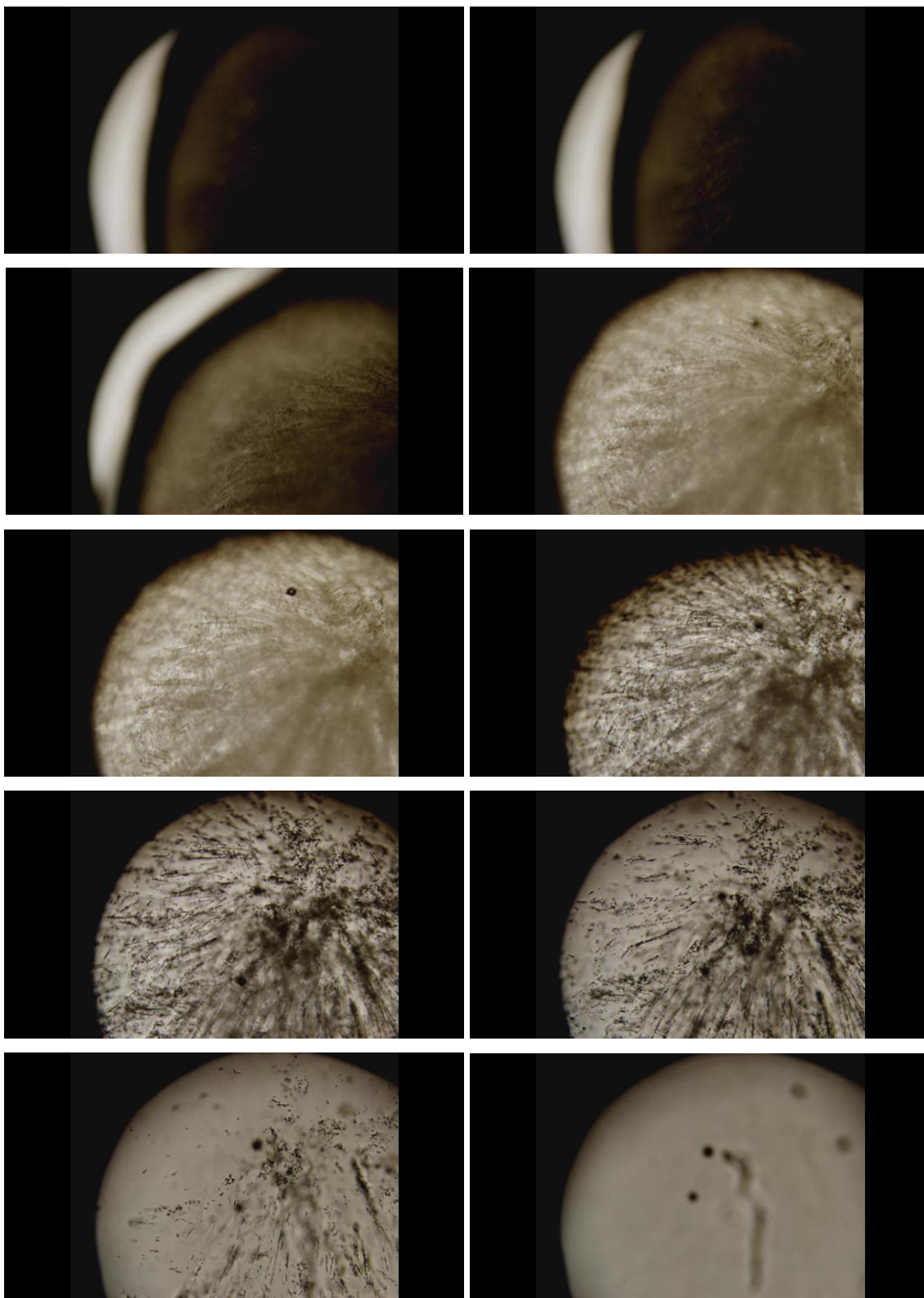
Byly vyneseny závislosti rychlosti růstu krystalů ledu na teplotě pro oba roztoky (Obr. 12, 13). Měřená data jsou zobrazena body. Linie v grafech jsou exponenciální křivky, které nejlépe svým charakterem odpovídají nalezeným závislostem, nemají však fyzikální význam a pouze naznačují předpokládaný průběh. Pro velmi nízké teploty, kdy je podchlazení velké, limitují rychlosti růstu krystalů ledu v obou roztocích k nule. Naopak pro vyšší teploty, nižší podchlazení, rychlost růstu výrazně stoupá až k hodnotám, které již neumožňuje použitá měřicí technika zaznamenat. Rychlost by měla procházet maximem a s postupným přibližováním ke skutečné teplotě tání by měla opět klesat k nule. Tato část křivky opět nebyla během měření zaznamenána kvůli velmi nízkým nukleačním rychlostem při těchto teplotách. Z grafů je dále patrný rozptyl bodů, který naznačuje skutečnou chybu měření a reprodukovatelnost.



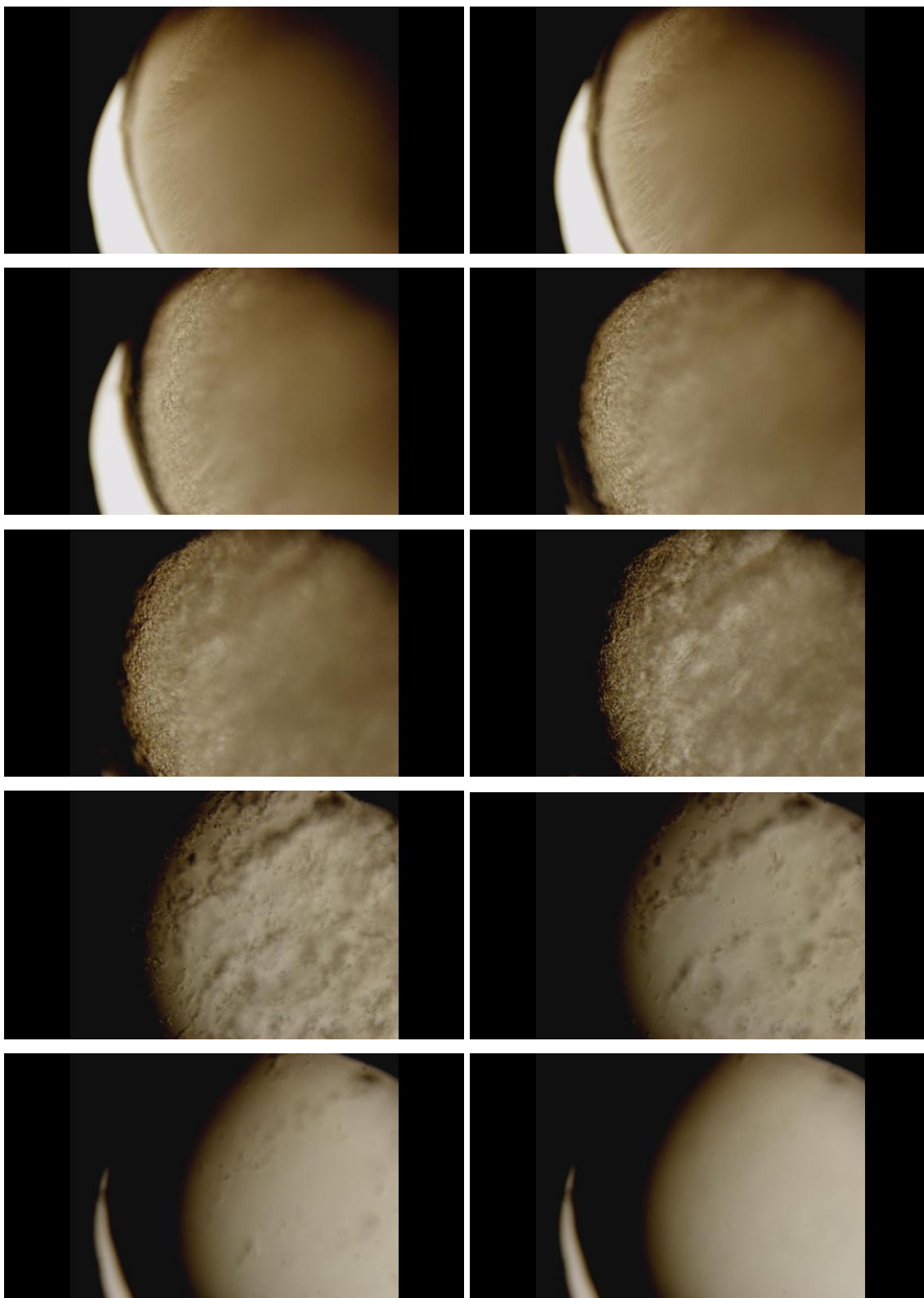
Obr. 12: Závislost rychlosti růstu krystalu ledu z podchlazeného roztoku obsahujícího 30 hmot.% sacharózy na teplotě.



Obr. 13: Závislost rychlosti růstu krystalu ledu z podchlazeného roztoku obsahujícího 30 hmot.% glukózy na teplotě.



Obr. 14: Tání krystalu ledu v 30 hmot.% roztoku sacharózy. Poslední fotografie při $-3,2^{\circ}\text{C}$, při této teplotě krystal celý roztál.



Obr. 15: Tání krystalu ledu v 30 hmot.% roztoku glukózy. Poslední fotografie při $-6,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, při této teplotě krystal celý roztál.

4.3 Teplota tání

Kromě nukleace a růstu krystalů byl sledován i průběh tání ledu ve zkoumaných roztocích. V obou případech bylo pozorováno postupné odtávání krystalu. Tento proces je vidět na snímcích Obr. 14 (předcházející str. 37) pro roztok sacharózy (30 hmot.%) a na Obr. 15 (předcházející str. 38) pro roztok glukózy (30 hmot.%). Vzhledem k neexistenci jediné teploty tání byly vyhodnoceny dvě význačné teploty: a) teplota T_{t1} , kdy krystal začal tát, b) teplota T_{t2} , kdy krystal celý roztál. Průměrná teplota, kdy krystal začal tát v roztoku sacharózy, byla $-3,73\text{ }^{\circ}\text{C}$, v roztoku glukózy $-7,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tab. II). Průměrná teplota, kdy krystal v roztoku sacharózy celý roztál, byla $-3,33\text{ }^{\circ}\text{C}$, v roztoku glukózy $-6,4^{\circ}\text{C}$. Pozorované postupné odtávání je v souladu s fázovými diagramy obou systémů [22, 23], které vykazují hypotetické eutektické body. V takovém systému pak tání může probíhat od teploty eutektické až do teploty, kdy z roztoku vypadávají první krystaly jedné z látek (v tomto případě vody). Toto chování bylo ukázáno v řadě studií pro tyto systémy [22, 23].

Tabulka II: Teploty tání krystalů ledu v 30 hmot.% roztocích sacharidů.

T_{t1} je teplota tání, kdy krystal začal tát, T_{t2} je teplota tání, kdy krystal zmizel, T_{kalk} je teoretická hodnota, která byla vypočítána a T_{exp} jsou data z literatury.

		T_{t1}	T_{t2}	$\overline{T_{t1}}$	$\overline{T_{t2}}$	T_{kalk}	T_{exp}
sacharóza	sachar-1	-3,6	-3,3	-3,73	-3,33	-2,33	-2,6 [23]
	sachar-2	-3,7	-3,2				
	sachar-3	-3,9	-3,5				
glukóza	glu-1	-7,6	-6,3	-7,8	-6,4	-4,43	-4,74 [22]
	glu-2	-7,8	-6,4				
	glu-3	-8	-6,5				

Námi stanovené teploty tání můžeme porovnat s daty uvedenými v literatuře, jak je uvedeno v Tabulce II (hodnoty T_{exp}). A dále můžeme pro srovnání použít i teoreticky vypočtené hodnoty T_{kalk} z rovnice pro snížení teploty tání čisté vody v přítomnosti malého množství rozpuštěné látky:

$$\Delta T_t = K_k \cdot c_m, \quad (14)$$

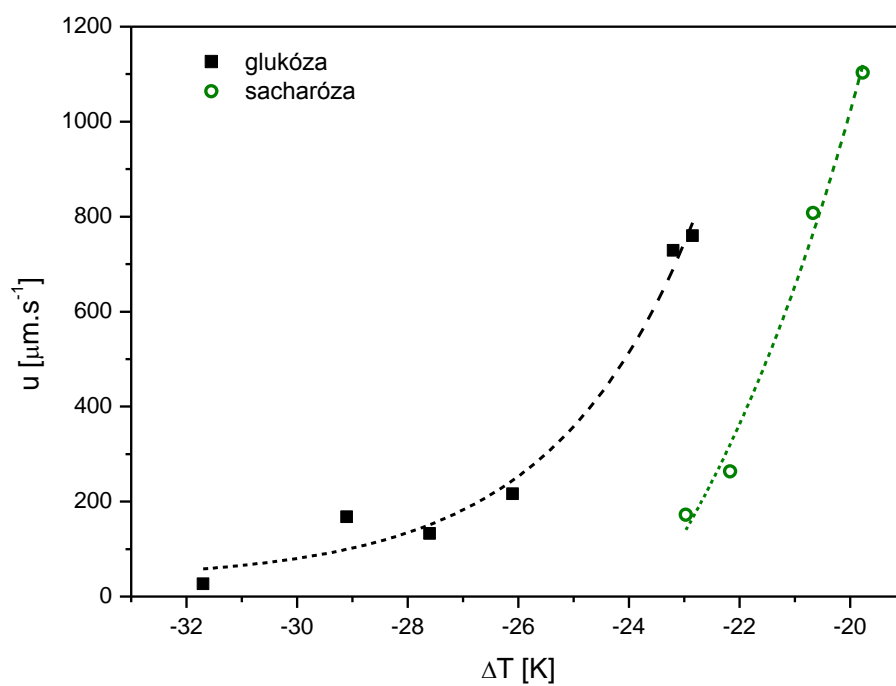
kde ΔT_t je teplota tání, K_k je kryoskopická konstanta vody a c_m je molalita v mol/kg. Kryoskopická konstanta vody je $1,86\text{ K} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{kg}$. Drobná odchylka mezi vypočtenou

hodnotou T_{kalk} a experimentálními hodnotami z literatury T_{exp} mohla být způsobena tím, že roztok obsahoval mnoho molekul cukru. Rovnice, podle které byla vypočtena teoretická hodnota teploty tání, se běžně používá pro mnohem méně koncentrované roztoky, kdy snížení teploty tání dosahuje pouze desetin stupně Celsia. Naopak námi stanovená teplota tání T_{t2} sledovaných krystalů v obou roztocích se liší o mnohem více. Je nižší proti oběma dříve zmíněným o 1°C v případě 30 hmot.% sacharózy a o 2°C v případě 30 hmot.% glukózy. Toto je časté v případě stanovení teplot tání krystalů vzniklých v podchlazených roztocích. Je to pravděpodobně důsledek nerovnovážného stavu, ve kterém se nachází zbytek roztoku. Navíc v případě roztoků sacharidů je v nekystalické fázi kolem krystalu ledu přítomno určité množství různých hydrátů sacharidů, čímž se problematika fázového chování ještě více komplikuje.

Přestože zjištěné hodnoty tání neodpovídají přesně tabelovaným hodnotám pro krystaly ledu v roztoku sacharózy a glukózy o dané koncentraci, je pravděpodobné, že jde skutečně o čistý led, který je pouze obklopen již mnohem více koncentrovaným roztokem cukru, což může vést právě ke snížení sledované teploty tání. Tento předpoklad byl prokázán Thanatuksoornem a kol. při jejich studiu krystalizace ledu ve vodném roztoku glukózy [15].

4.4 Závislost rychlosti růstu na podchlazení

Díky přítomnosti sacharidů dochází ke snížení bodu mrznutí vody [2], protože sacharidy brání objemové difuzi molekul vody a tím zabudování molekul vody do krystalové mřížky ledu [1]. To bylo potvrzeno i v této experimentální práci. V 30 hmot.% roztoku sacharózy docházelo k tvorbě krystalů ledu při teplotách -19°C až -28°C , v 30 hmot.% roztoku glukózy docházelo k tvorbě krystalu při nižších teplotách, -25°C až -43°C . Bylo pozorováno, že glukóza snižuje bod mrznutí vody více než sacharóza. Toto chování je ukázáno v následujícím grafu (Obr. 16), kde je zakreslena závislost rychlosti růstu krystalů ledu na podchlazení. Daná podchlazení byla vypočtena jako rozdíl teploty růstu krystalu a stanovené teploty tání $\Delta T = T - T_{t2}$. Z grafu je patrné, že rychlost růstu krystalu s rostoucím podchlazením klesá.



Obr. 16: Závislost rychlosti růstu krystalu ledu z 30 hmot.% roztoků cukrů na podchlazení. (Body představují naměřená data, křivky jsou znázorněny pouze pro vedení očí.)

5 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce je zaměřena na studium růstu krystalů ledu ve vodných roztocích sacharidů, především glukózy a sacharózy. Experimenty bylo zjištěno, že:

- V těchto systémech dochází k heterogenní nukleaci. Vznikal pouze jediný krystal v širokém rozmezí teplot, což naznačuje velmi malé rychlosti nukleace. Vznik nuklea je záležitostí pravděpodobnosti. Nukleační rychlost v 30 hmot.% roztoku sacharózy byla 6 nukleí za hodinu, v roztoku glukózy byla 3 nuklea za hodinu. Oblast nukleace v roztoku sacharózy byla -19 až -28°C, v roztoku glukózy byla -25 až -43°C.
- Rychlost růstu krystalu ledu ve vodných roztocích sacharidů byla velmi vysoká. Naměřené rychlosti růstu se pohybují v rozmezí 172-1103 $\mu\text{m/s}$ pro sacharózu a 26-760 $\mu\text{m/s}$ pro glukózu.
- Při tání krystalu ledu v 30 hmot.% roztocích sacharózy a glukózy docházelo k postupnému odtávání krystalu. Průměrná teplota, kdy krystal ledu začal tát, byla -3,73°C v roztoku sacharózy a -7,8°C v roztoku glukózy. Průměrná teplota, kdy krystal ledu celý roztál, byla -3,33°C v roztoku sacharózy a -6,4°C v roztoku glukózy.
- Vlivem přítomnosti sacharidů dochází ke snížení bodu mrznutí vody. Krystaly ledu nevznikají při 0 °C jako v případě čisté vody, ale při mnohem nižších teplotách. Glukóza snižuje bod mrznutí více než sacharóza. S rostoucím podchlazením rychlost růstu krystalu ledu klesala.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] G. Petzold, J. M. Aguilera, Ice Morphology: Fundamentals and Technological Applications in Foods. Food Biophysics 4, 378-396 (2009)
- [2] K. L. K. Cook, R. W. Hartel, Mechanisms of Ice Crystallization in Ice Cream Production. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 9, 213-221 (2010)
- [3] M. Frumar, Chemie pevných látek I., VŠCHT v Pardubicích, Pardubice, (1992)
- [4] Daniel Švadlák, Diplomová práce, Studium kinetiky krystalizace amorfního TiO₂ (2002)
- [5] T. Hagiwara, R. W. Hartel, S. Matsukawa, Relationship between Recrystallization Rate of Ice Crystals in Sugar Solutions and Water Mobility in Freeze-Concentrated Matrix. FOBI 1, 74-82 (2006)
- [6] D. Martin, S. Ablett, M. Izzard, Molecular Mobility in Frozen Sugar Solutions. Magnetic Resonance in Food Science: A View to the Future, Royal Society of Chemistry Special Publications 262, 172-178 (2001)
- [7] B. Zelent, J. M. Vanderkooi, Infrared spectroscopy used to study ice formation: The effect of trehalose, maltose, and glucose on melting. Analytical Biochemistry 390, 215-217 (2009)
- [8] T. Suzuki, The hydration of glucose: the local configurations in sugar-water hydrogen bonds. Physical Chemistry Chemical Physics 10, 96-105 (2008)
- [9] T. Gonda, T. Sei, The inhibitory growth mechanism of saccharides on the growth of ice crystals from aqueous solutions. Progress in Crystal and Characterization of Materials 51, 70-80 (2005)
- [10] P. Kadlec a kol., Technologie potravin II. VŠCHT v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie (2002)
- [11] T. Sei, T. Gonda, Melting point of ice in aqueous saccharide solutions. Journal of Crystal Growth 293, 110-112 (2006)
- [12] T. Sei, T. Gonda, Y. Arima, Growth rate and morphology of ice crystals growing in a solution of trehalose and water. Journal of Crystal Growth 240, 218-229 (2002)
- [13] M. F. Butler, Growth of Solutal Ice Dendrites Studied by Optical Interferometry. Crystal Growth and Design vol. 2, no. 1, 59-66 (2002)
- [14] E. B. Moore, V. Moliniers, Is it cubic? Ice crystallization from deeply supercooled water. Physical Chemistry Chemical Physics 13, 20008-20016 (2011)

- [15] P. Thanatuksorn, K. Kajiwara, N. Murase, F. Franks, Freeze-thaw behavior of aqueous glucose solutions- the crystallization of cubic ice. *Physical Chemistry Chemical Physics* 10, 5452-5458 (2008)
- [16] P. Šulcová, L. Beneš, Experimentální metody v anorganické technologii. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Pardubice (2002)
- [17] R. Paschotta, *Encyklopedia of Laser Physics and Technology*, Interferometers, poslední revize: 21. 3. 2012 [cit. 2012-05-06],
dostupné z: <http://www.rp-photonics.com/interferometers.html>
- [18] Wikipedia, The free encyclopedia, Mach-Zehnder interferometer, poslední revize 28. 4. 2012 [cit. 2012-05-06],
dostupné z: http://en.wikipedia.org/wiki/Mach-Zehnder_interferometer
- [19] J. Wu, M. Reading, D. Q. M. Craig, Application of Calorimetry, Sub-Ambient Atomic Force Microscopy and Dynamic Mechanical Analysis to the Study of Frozen Aqueous Trehalose Solutions. *Pharmaceutical Research*, vol. 25, no. 6, 1396-1404 (2008)
- [20] Z. Holzbecher, J. Churáček a kol., *Analytická chemie*. SNTL- Nakladatelství technické literatury, Praha, 663 s. (1987)
- [21] P. Klouda, *Moderní analytické metody*. Nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava, 132 s. (2003)
- [22] F. E. Young, D-Glucose – Water Phase Diagram. *The Journal of Physical Chemistry* 61 (5), 616-619 (1957)
- [23] F. E. Young, F. T. Jones, Sucrose Hydrates. The Sucrose – Water Phase Diagram. *The Journal of Physical Chemistry* 53 (9), 1334-1350 (1949)