

# 不同溶氧量下功率超声波控制成核对过氧化氢酶溶液冷冻干燥的影响

周新丽, 申炳阳, 张三强

(上海理工大学医疗器械与食品学院, 上海 200093)

**摘要:** 功率超声波是一种能有效触发溶液初始成核的方法, 能够使随机自发的冰晶成核过程转变为可预测的、易于控制的过程。本研究采用平板接触超声法对不同溶氧量的过氧化氢酶(catalase, CAT)溶液进行超声波控制成核并冷冻干燥, 考察溶液充气法用于超声波控制成核在升华干燥速率、孔隙率、酶活力回收率方面的影响。结果显示: 在4.10~13.44 mg/L溶氧范围内超声波控制成核, 随着溶液中溶氧量的增加, 升华干燥时间缩短了9.36%~41.63%; 4.10~10.24 mg/L溶氧量的CAT溶液的酶活力回收率均高于95%。充气法用于功率超声波控制成核, 辅助食品药品的真空冷冻干燥, 对于缩短冷冻干燥时间、减少能耗、提高冻干产品的品质等具有积极意义。

**关键词:** 功率超声波; 溶氧量; 控制成核; 冷冻干燥; 孔隙率

## Effect of Power Ultrasonic Controlled Nucleation on the Freeze Drying of Catalase Solutions with Different Dissolved Oxygen Levels

ZHOU Xinli, SHEN Bingyang, ZHANG Sanqiang

(School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

**Abstract:** Power ultrasound as an effective way to trigger the initial nucleation of solutions can transform the spontaneous and random process of ice crystal nucleation into a predictable and easy to control one. In this study, the nucleation of catalase solutions with different dissolved oxygen contents was controlled with contact ultrasound before freeze-drying in order to investigate the effect of air injection into the solution on the sublimation drying rate, the porosity and the enzyme activity recovery. The results showed that the sublimation drying time was reduced by 9.36%~41.63% with increasing dissolved oxygen from 4.10 to 13.44 mg/L and the enzyme activity recover was higher than 95% in the dissolved oxygen range of 4.10~10.24 mg/L. The application of controlling crystal nucleation by power ultrasonic with air injection in the vacuum freeze drying of foods and pharmaceuticals is of great significance to shorten the drying time, reduce energy consumption and improve the quality of freeze-dried products.

**Keywords:** power ultrasound; dissolved oxygen content; controlled nucleation; freeze drying; porosity

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201819014

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2018)19-0085-05

引文格式:

周新丽, 申炳阳, 张三强. 不同溶氧量下功率超声波控制成核对过氧化氢酶溶液冷冻干燥的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(19): 85-89. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201819014. <http://www.spkx.net.cn>

ZHOU Xinli, SHEN Bingyang, ZHANG Sanqiang. Effect of power ultrasonic controlled nucleation on the freeze drying of catalase solutions with different dissolved oxygen levels[J]. Food Science, 2018, 39(19): 85-89. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201819014. <http://www.spkx.net.cn>

真空冷冻干燥过程可以概括为3个主要步骤: 物料中的水分被冻结, 冰在一次干燥过程中升华, 非冷冻水在二次干燥过程中解吸<sup>[1-4]</sup>。虽然冷冻在整个冷冻干燥过程中经历时间很短, 但其决定了形成冰的形态、大小、

分布, 对后期的升华、解吸速率以及冻干产品的质量(品相、孔隙率、蛋白质聚集等)影响很大。小的冰晶不利于冰的升华干燥, 但冰晶越小, 干燥后物料质构变化越小<sup>[5-10]</sup>。

收稿日期: 2017-06-21

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(51376132)

第一作者简介: 周新丽(1979—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品冷冻冷藏与冷冻干燥。E-mail: zjulily@163.com

虽然冷冻干燥中冷冻的重要性已经受到重视,但水转化成冰这一关键点不能直接控制,成核是随机自发的过程,形成的冰晶大小具有随机分布的特点。近些年一些研究证明,功率超声波在溶液中传播时,引起的多种物理、化学效应会对冰结晶产生影响,其中空化效应对冰结晶的影响比较显著,一方面有利于冰结晶过程中晶核的生成;另一方面能够促进冻结过程中的传热、传质,进而促进冰晶体的生长<sup>[11-14]</sup>。基于此基本原理,功率超声技术在食品冷冻各方面的应用已经被报道,包括初始成核、控制冰晶体的尺寸、加快冻结速率以及改善冷冻食品的品质<sup>[15-16]</sup>。Kiani等<sup>[17]</sup>发现,超声波能在不同的温度(-5.4~-1.2℃)下触发冰晶成核,并在不同的超声波触发温度下,冰晶成核温度都具有高度的可重复性,超声波触发温度与成核温度之间呈线性关系( $R^2=0.96$ )。Nakagawa等<sup>[18]</sup>发现,超声波在较高温度下触发溶液成核可以获得较大的冰晶,利用此性质提高了冷冻干燥的干燥速率。Hu Fen<sup>[19]</sup>、Jabbari-Hichri<sup>[20]</sup>等研究超声辅助冻结含气溶液时发现,气体含量对超声波控制成核形成的冰晶大小分布有明显影响,液体中充入气泡是提高超声辐照启动成核的一种可行方法。Jabbari-Hichri等<sup>[20]</sup>在研究一系列不同含气量的甘露醇溶液经超声波控制成核时,发现在相同的超声强度下形成的冰晶大小分布和冰晶的平均大小均有显著差异,含气量高的溶液获得的冰晶较为均匀。王成会等<sup>[21]</sup>在研究空化对液体传声特性的影响时发现,液体内部预先存在的气泡会对声衰减系数和声速产生的影响很大。

本研究主要以1 mg/mL过氧化氢酶(catalase, CAT)作为模式蛋白,加入质量分数10%的蔗糖溶液和质量分数10%的甘露醇溶液(分别作为冷冻保护剂和赋形剂),将5种溶氧水平CAT溶液经超声波控制成核并冷冻干燥,分析水分质量分数、孔隙率以及酶活力回收率,探讨充气法对提高超声波控制成核辅助冷冻干燥的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

CAT(牛肝) 美国Sigma公司;超纯水 实验室自制;蔗糖、甘露醇、过氧化氢(30%)、磷酸盐缓冲液 国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

THD-2010A超声波发生器 深圳市太和达科技有限公司;2.0 EL型冷冻干燥机 美国Virtis公司;XT H 225 LC型工业X射线计算机断层扫描系统(X-ray computed tomography, X-CT) 日本尼康公司;722S型紫外-可见分光光度计 上海仪电分

析仪器有限公司;LyoResis共晶点测试仪 北京海博飞科技有限公司;34970A型数据采集仪 美国Agilent公司;AZ-8402型便携式溶氧仪 台湾衡欣科技股份有限公司;BT125D型电子分析天平 赛多利斯科学仪器有限公司;西林瓶(7 mL) 宁波正力药品包装有限公司;溶液过滤器(0.22 μm) 天津毫津科技有限公司。

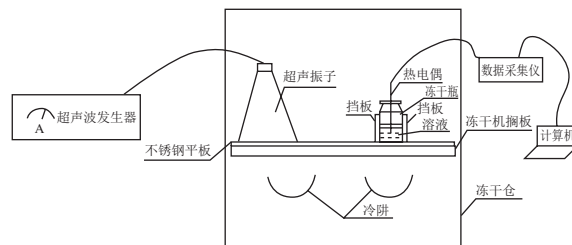


图1 超声辅助冻结装置

Fig. 1 Schematic of the ultrasonic assisted freezing device

超声波辅助冻结装置如图1所示,由超声波发生器(29 kHz)、2个超声振子(60 W)、不锈钢平板(200 mm×200 mm×1.5 mm)组成。首先用铝箔法确定超声波系统中空化作用强烈的区域,然后在此区域增加紧固西林瓶的挡板,实验时将西林瓶置于两个挡板中间(为了防止西林瓶在超声振动时滑动、跳起);温度检测系统由T型热电偶、数据采集仪和计算机组成。实验时将超声波辅助冻结系统直接置于冻干机搁板上固定位置处。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 溶液制备

选取CAT作为模式蛋白,配制1 mg/mL的CAT溶液于磷酸盐缓冲液(pH 7.2~7.4)中,依次加入质量分数10%的蔗糖溶液(冷冻保护剂)、质量分数10%的甘露醇溶液(赋形剂)。CAT溶液配制好后用0.22 μm孔径的过滤器过滤,用移液枪吸取3 mL CAT溶液移入西林瓶中。5种溶氧水平的溶液通过以下方法获取。

低溶氧水平:溶氧量为4.10 mg/L。将配制好的CAT溶液置于冻干机真空室中,控制真空室压力为10 kPa,搁板温度设置为4℃(防止酶过度失活),进行真空脱气8 h。

较低溶氧水平:溶氧量为6.36 mg/L。将配制好的CAT溶液置于冻干机真空室中,控制真空室压力为10 kPa,搁板温度设置为4℃,进行真空脱气4 h。

平衡溶氧水平:溶氧量为8.45 mg/L。将配制好的CAT溶液直接密封后放入4℃冰箱中降温待用。

较高溶氧水平:溶氧量为10.24 mg/L。将配制好的CAT溶液直接密封后放入4℃冰箱中降温至4℃后,实验前直接注入压缩空气,使溶氧量达到10.24 mg/L时停止注入。

高溶氧水平:溶氧量为13.44 mg/L。将配制好的CAT溶液直接注入压缩空气,使溶氧量达到13.44 mg/L时停止注入,用液氮快速冷却但不要冻结。

### 1.3.2 CAT溶液共晶点与共熔点的测定

取20 mL CAT溶液于烧杯中,把烧杯放置在冻干机搁板上,将共晶点测试仪的电极和热电偶插入溶液中心位置处,开启冻干机压缩机降温至 $-50^{\circ}\text{C}$ ,记录数据;当CAT溶液降温至 $-50^{\circ}\text{C}$ 时,设置冻干机搁板温度为 $0^{\circ}\text{C}$ 并开始升温。根据共晶点测试仪记录的温度曲线和电阻曲线读取CAT溶液的共晶点为 $-31.5\sim-25.5^{\circ}\text{C}$ ,共熔点为 $-27.5\sim-22.7^{\circ}\text{C}$ ;一般预冻温度低于共晶点温度 $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ ,因此预冻温度选择为 $-40^{\circ}\text{C}$ ,一次干燥温度略低于共熔点温度,因此选择一次干燥温度为 $-30^{\circ}\text{C}$ 。

### 1.3.3 CAT溶液成核温度的确定

将超声波平板放置于冻干机搁板上,开启冻干机,控制冻干机冷腔和超声平板温度至 $4^{\circ}\text{C}$ 后,用移液枪将控制好溶氧量的CAT溶液移取3 mL至西林瓶中,把西林瓶放置于两个挡板中间,热电偶插入溶液几何中心位置处。关闭冷腔舱门,设置搁板温度为 $-40^{\circ}\text{C}$ ,让冻干机搁板与超声波平板从 $4^{\circ}\text{C}$ 开始降温。开启温度采集系统,数据采集仪每隔1 s采集一次温度。当CAT溶液温度降至 $-1^{\circ}\text{C}$ 时,开启超声功率为 $0.26\text{ W}/\text{cm}^2$ 的超声波5 s;若未见成核现象,温度每降低 $1^{\circ}\text{C}$ 施加5 s超声波,直至CAT溶液成核,根据冻结曲线寻找各个溶氧量下CAT溶液的最大超声波触发成核温度。另取平衡溶氧水平的CAT溶液( $8.45\text{ mg/L}$ )进行自发成核并冷冻干燥为对照实验。

### 1.3.4 超声波辅助冷冻干燥

对不同溶氧水平的CAT溶液按照上述确定的最大超声波触发成核温度进行控制成核,超声波触发成核后取出热电偶,溶液继续冷冻至 $-40^{\circ}\text{C}$ ,取出超声波平板,让溶液在 $-40^{\circ}\text{C}$ 的冻干机搁板上低温保持2 h。设置搁板温度 $-30^{\circ}\text{C}$ 、压力10 Pa,每隔2 h取出称质量。当冻干溶液的水分质量分数降至10%以下时转为二次干燥,设置搁板温度 $10^{\circ}\text{C}$ ,压力10 Pa。每隔2 h取出称质量,当冻干溶液水分质量分数降至5%以下时,干燥结束。干燥结束后进行真空包装,待用。根据每隔2 h称的样品质量,计算其水分质量分数,并绘制水分质量分数曲线,升华干燥阶段的时间可由水分质量分数曲线读取。

### 1.3.5 孔隙率的测定

冻干样品中孔隙的形态可以看作是样品在之前冷冻过程中所形成的冰晶的形态,是一种研究结晶过程较为常用的方法<sup>[22-24]</sup>。首先将洁净的西林瓶置于X-CT载物台上,调整西林瓶位置后校正灰度;将带瓶冻干饼放入工业X-CT机进行扫描。X射线扫描电压为72 kV,扫描电流为140  $\mu\text{A}$ 。曝光时间为500 ms、拍摄张数为1 800张,即扫描结束将有1 800张二维平面(2D)扫描图;利用3CT Pro 3D软件合成三维立体(3D)图形,将2D扫描图重构组成3D图像模型;利用VGStudio MAX 2.2分析

软件对3D图像模型进行分析;在模型中选取出一个直径5 mm、高度5 mm的圆柱体,定义为一个研究区域(region of interest, ROI);将ROI放大,直至可以区分冻干饼固体与空气的边界,定义孔隙的边界;通过VGStudio MAX 2.2分析软件,统计计算得出一个ROI的孔隙率;冻干饼的孔隙率由3个ROI的孔隙率的平均值求得。

### 1.3.6 酶活力回收率的测定

CAT活力的测定方法以Beers and Sizors法<sup>[25]</sup>为基础进行一定改进。首先在每组含冻干样品的西林瓶中加入3 mL过滤后的纯水复水,然后将此复水后的CAT溶液放入 $25^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中恒温待用。以pH 7.2~7.4的磷酸盐缓冲液为空白对照,在3 mL比色皿中加入2.9 mL、体积分数2%过氧化氢,再取复水后的CAT溶液0.1 mL加入其中,记录240 nm波长处吸光度从0.45到0.40的时间( $T$ ),同时测定冷冻干燥前的CAT溶液吸光度从0.45到0.40的时间( $T_0$ )。各溶氧水平的CAT溶液冻干前后都要分别测定。酶活力回收率计算方式如下。

$$\text{酶活力回收率}/\% = \frac{T/s}{T_0/s} \times 100$$

### 1.4 数据处理

每组实验重复3次,实验数据用平均值 $\pm$ 标准差表示,采用Origin 9.0软件对数据作图,并用SPSS 13.0软件对数据进行配对样本 $t$ 检验,分析不同组间的差异性, $P<0.05$ 表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同溶氧量下超声波控制CAT溶液成核对升华干燥速率的影响

表1 不同溶氧量CAT溶液的超声波控制成核参数和成核后的升华干燥时间

Table 1 Ultrasonic control nucleation parameters of CAT solutions with different dissolved oxygen contents and sublimation drying time after nucleation

溶氧量/ (mg/L)	超声波 发生温度/ $^{\circ}\text{C}$	最大超声波触发 成核温度/ $^{\circ}\text{C}$	升华干燥 时间/h
4.10	-10	$-10.07 \pm 0.14$	$30.78 \pm 2.11$
6.36	-9	$-9.11 \pm 0.09$	$29.55 \pm 1.79$
8.45	-8	$-8.13 \pm 0.15$	$26.81 \pm 2.08$
10.24	-4	$-4.19 \pm 0.12$	$22.76 \pm 1.70$
13.44	-1	$-1.29 \pm 0.11$	$19.82 \pm 1.84$
对照		$-12.64 \pm 2.38$	$33.96 \pm 2.79$

由表1可知,溶氧量越高,最大超声波触发成核温度越高。平衡溶氧水平的CAT溶液( $8.45\text{ mg/L}$ )在超声波控制成核后的升华干燥时间是26.81 h,比对照组缩短了21.05%;而溶氧量高的CAT溶液( $10.24$ 、 $13.44\text{ mg/L}$ )在超声波控制成核后的升华冷冻干燥时间分别比对照组



缩短了32.98%、41.63%；溶氧量低的CAT溶液（4.10、6.36 mg/L）在超声波控制成核后的升华干燥时间分别缩短了9.36%、12.98%。这说明了在4.10~13.44 mg/L溶氧范围内，超声波控制成核后CAT溶液的冰晶尺寸增大，因而都能加快溶液的冷冻干燥速率，且提高溶液中溶氧量可以大幅度缩短升华干燥时间。

## 2.2 不同溶氧量下超声波控制CAT溶液成核对升华干燥过程中水分质量分数的影响

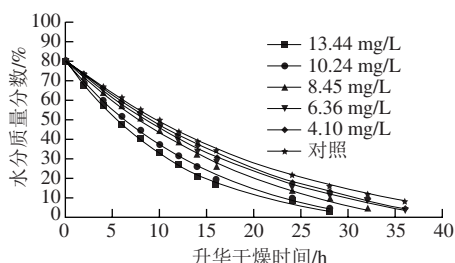


图2 不同溶氧量下超声波控制CAT溶液成核在升华干燥过程中的水分质量分数

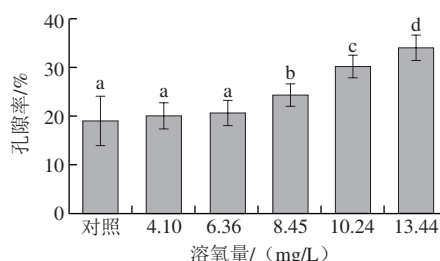
Fig. 2 Water contents of CAT solution with different dissolved oxygen contents during ultrasonic controlled nucleation and sublimation drying process

由图2可以看出，经超声波控制成核后，各溶氧量CAT溶液的水分质量分数曲线明显都在对照组的下方，由于对照组形成的冰晶较小，升华后干燥层阻力较大；因此相较于经超声波控制成核后的各溶氧量CAT溶液，其升华干燥后期阶段的干燥速率较小，干燥时间较长。此外，经过相同干燥时间，CAT溶液的溶氧量越高，其水分质量分数越低，干燥速率越大。溶氧量为10.24、13.44 mg/L的CAT溶液，在升华干燥阶段的前2 h内，它们的干燥速率与对照组并未出现显著差异，随着干燥时间的延长，其干燥速率显著大于对照组。溶氧量为4.10、6.36、8.45 mg/L的CAT溶液，在干燥阶段的前4 h内，它们的干燥速率与对照组没有显著差异；而溶氧量为4.10 mg/L的CAT溶液，它的干燥速率与对照组在前12 h内没有显著差异，随着干燥时间的延长，其干燥速率显著大于对照组。总的来说，在4.10~13.44 mg/L的溶氧范围内，溶氧量越高，干燥速率越大。

## 2.3 不同溶氧量下超声波控制CAT溶液成核对升华干燥后孔隙率的影响

溶液冻结过程中水固化成冰，冰晶升华后留下孔隙，研究孔隙的大小和分布可以反映冻结过程中冰晶固化的规律，同时孔隙大小和分布可以直接影响多孔物料中的传质过程，从而影响干燥速率<sup>[26]</sup>。由图3可知，随着CAT溶液中溶氧量的增加，冻干后的孔隙率逐渐增大，但这种规律并不呈线性关系，溶氧量从4.10 mg/L增加到6.36 mg/L时孔隙率增加不明显，而溶氧量从8.45 mg/L

增加到13.44 mg/L时孔隙率显著增加。张三强等<sup>[27]</sup>在研究中发现，溶液中的初始溶氧量会对超声波控制成核形成的冰晶产生影响，进而影响随后的冻干过程。4.10、6.36 mg/L这两种溶氧量CAT溶液的孔隙率略大于对照组，经过显著性分析，它们的孔隙率与对照组无显著差异。8.45、10.24、13.44 mg/L这三种溶氧量的CAT溶液在冻干后的孔隙率明显大于对照组，它们的孔隙率分别提高了28.53%、64.18%、80.11%；这是因为超声波在较高成核温度下触发形成的晶核能够生长成较大的冰晶，冰晶升华后可以形成较大的孔隙，因此冻干后形成的孔隙率也较大。而充气后CAT溶液（溶氧量为10.24、13.44 mg/L）的孔隙率要远大于平衡溶氧水平CAT溶液（溶氧量为8.45 mg/L）的孔隙率，说明了充气可以大幅提高孔隙率，进而提高干燥速率。



不同字母表示差异性显著 ( $P < 0.05$ )。下同。

图3 不同溶氧量CAT溶液经超声波控制成核升华干燥后的孔隙率

Fig. 3 Porosity of CAT solution with different dissolved oxygen contents during ultrasonic controlled nucleation and sublimation drying process

## 2.4 不同溶氧量下超声波控制CAT溶液成核对升华干燥后酶活力回收率的影响

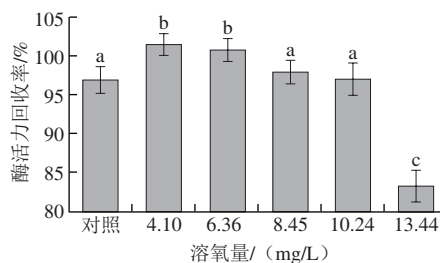


图4 不同溶氧量CAT溶液经超声波控制成核升华干燥后的酶活力回收率

Fig. 4 Enzyme activity recovery of CAT solution with different dissolved oxygen contents after ultrasonic controlled nucleation and sublimation drying

由图4可知，4.10、6.36、8.45、10.24 mg/L这4种溶氧量的CAT溶液经超声波控制成核升华干燥后的酶活力回收率都高于95%，与对照组相比酶活力没有损失。而溶氧量为13.44 mg/L的CAT溶液经超声波控制成核升华干燥后的酶活力回收率仅为83.3%，这可能一方面是因为该溶氧量下CAT溶液的最大超声波触发成核温度高（ $-1.29 \pm 0.11$ ）℃，溶液冻结过程中相变时间

长, 溶质存在浓缩现象损伤了酶活力; 另一方面在较高温度下功率超声波的空化效应比较剧烈, 产生的瞬时高温 ( $>5\,000\text{ K}$ )、高压 ( $100\text{ MPa}$ ) 和高能冲击波 (约  $10^8\text{ N/m}^2$ )<sup>[28-29]</sup> 都会对CAT的蛋白分子构象产生不利影响, 进而造成酶活力的损失。溶氧量为4.10、6.36 mg/L的CAT溶液经超声波控制成核升华干燥后的酶活力回收率要显著高于对照组, 这可能是因为脱气后溶液中的溶氧量及气泡减少, 空气在溶液冻结和升华干燥过程中对酶活力造成的损失降低了, 而且超声作用对酶活力有激发的效果<sup>[30]</sup>。

### 3 结 论

本研究对不同溶氧量的CAT溶液进行超声波控制成核并冷冻干燥, 考察溶液充气法用于超声波控制成核在升华干燥速率、孔隙率、酶活力回收率方面的影响。研究发现, 在4.10~13.44 mg/L的溶氧范围内对CAT溶液采用超声波控制成核, 随着溶液中溶氧量的增加, 最大超声波触发成核温度提高, 冻结后形成的冰晶尺寸增大, 冷冻干燥速率加快, 但溶氧量过高会降低酶活力回收率。综上所述, 超声波控制成核辅助冻干时, 在一定范围内能提高溶液含气量, 不仅可以缩短升华干燥时间, 降低真空冷冻干燥的能耗, 而且对冻干物品的质量没有显著影响; 显示了充气法用于功率超声波控制成核对冷冻干燥技术的积极意义。

### 参考文献:

- [1] 罗瑞明, 李亚蕾. 冷冻干燥技术原理及应用研究新进展[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 1-2.
- [2] 刘军, 彭润玲, 谢元华. 冷冻真空干燥[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016: 157-296.
- [3] KASPER J C, FRIESS W. The freezing step in lyophilization: physicochemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2011, 78(2): 248-263. DOI:10.1016/j.ejpb.2011.03.010.
- [4] PATAPOFF T W, OVERCASHIER D E. The importance of freezing on lyophilization cycle development[J]. Biopharm, 2002, 15(3): 16-21; 72.
- [5] BLOND G. Velocity of linear crystallization of ice in macromolecular systems[J]. Cryobiology, 1988, 25(1): 61-66. DOI:10.1016/0011-2240(88)90021-1.
- [6] KONSTANTINIDIS A K, KUU W, OTTEN L, et al. Controlled nucleation in freeze-drying: effects on pore size in the dried product layer, mass transfer resistance, and primary drying rate[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2011, 100(8): 3453-3470. DOI:10.1002/jps.22561.
- [7] SEARLES J A, CARPENTER J F, RANDOLPH T W. The ice nucleation temperature determines the primary drying rate of lyophilization for samples frozen on a temperature-controlled shelf[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2001, 90(7): 860-871. DOI:10.1002/jps.1039.
- [8] HOTTOT A, VESSOT S, ANDRIEU J. Freeze drying of pharmaceuticals in vials: influence of freezing protocol and sample configuration on ice morphology and freeze-dried cake texture[J]. Chemical Engineering and Processing, 2007, 46(7): 666-674. DOI:10.1016/j.ccep.2006.09.003.
- [9] SOUZA D S, MARQUES L G, DE BARROS GOMES E, et al. Lyophilization of avocado (*Persea americana* Mill.): effect of freezing and lyophilization pressure on antioxidant activity, texture, and browning of pulp[J]. Drying Technology, 2015, 33(2): 194-204. DOI:10.1080/07373937.2014.943766.
- [10] APLEVICZ K S, SILVA T D, MORIOKA L R I, et al. Study of fermentation growth kinetics and survival after freezing and lyophilization of microorganisms isolated from Brazilian grape sourdough[J]. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, 2015, 13: 270-283.
- [11] SACLIER M, PECZALSKI R, ANDRIEU J. Effect of ultrasonically induced nucleation on ice crystals' size and shape during freezing in vials[J]. Chemical Engineering Science, 2010, 65(10): 3064-3071. DOI:10.1016/j.ces.2010.01.035.
- [12] LI B, SUN D W. Effect of power ultrasound on freezing rate during immersion freezing of potatoes[J]. Journal of Food Engineering, 2002, 55(3): 277-282. DOI:10.1016/S0260-8774(02)00102-4.
- [13] SULAIMAN A Z, AJIT A, YUNUS R M, et al. Ultrasound-assisted fermentation enhances bioethanol productivity[J]. Biochemical Engineering Journal, 2011, 54(3): 141-150. DOI:10.1016/j.bej.2011.01.006.
- [14] ISLAM N, ZHANG M, ADHIKARI B, et al. The effect of ultrasound-assisted immersion freezing on selected physicochemical properties of mushrooms[J]. International Journal of Refrigeration, 2014, 42(3): 121-133. DOI:10.1016/j.ijrefrig.2014.02.012.
- [15] XU B, ZHANG M, BHANDARI B, et al. Influence of power ultrasound on ice nucleation of radish cylinders during ultrasound-assisted immersion freezing[J]. International Journal of Refrigeration, 2014, 46: 1-8. DOI:10.1016/j.ijrefrig.2014.07.009.
- [16] KIANI H, ZHANG Z, SUN D W. Effect of ultrasound irradiation on ice crystal size distribution in frozen agar gel samples[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2013, 18(2): 126-131. DOI:10.1016/j.ifset.2013.02.007.
- [17] KIANI H, ZHANG Z H, DELGADO A, et al. Ultrasound assisted nucleation of some liquid and solid model foods during freezing[J]. Food Research International, 2011, 44(9): 2915-2921. DOI:10.1016/j.foodres.2011.06.051.
- [18] NAKAGAWA K, HOTTOT A, VESSOT S, et al. Influence of controlled nucleation by ultrasounds on ice morphology of frozen formulations for pharmaceutical proteins freeze-drying[J]. Chemical Engineering & Processing Process Intensification, 2006, 45(9): 783-791. DOI:10.1016/j.ccep.2006.03.007.
- [19] HU Fen, SUN Dawen, GAO Wenhong, et al. Effects of pre-existing bubbles on ice nucleation and crystallization during ultrasound-assisted freezing of water and sucrose solution[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2013, 20(4): 161-166. DOI:10.1016/j.ifset.2013.08.002.
- [20] JABBARI-HICHRI A, PECZALSKI R, LAURENT P. Ultrasonically triggered freezing of aqueous solutions: influence of initial oxygen content on ice crystals' size distribution[J]. Journal of Crystal Growth, 2014, 402: 78-82. DOI:10.1016/j.jcrysgro.2014.05.010.
- [21] 王成会, 林书玉. 空化对液体传声特性的影响[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2008, 36(5): 30-34.
- [22] 付晓玲. 食品冷冻干燥速率分析[J]. 四川食品与发酵, 2003, 39: 50-53.
- [23] SAGARA Y, ICHIBA J. Measurement of transport properties for the dried layer of coffee solution undergoing freeze drying[J]. Drying Technology, 1994, 12(5): 1081-1103. DOI:10.1080/07373939408960990.
- [24] WOINET B, ANDRIEU J, LAURENT M, et al. Experimental and theoretical study of model food freezing. part II. characterization and modelling of the ice crystal size[J]. Journal of Food Engineering, 1998, 35(4): 395-407. DOI:10.1016/S0260-8774(98)00036-3.
- [25] ZHU S M, RAMASWAMY H S, LE B A. Ice-crystal formation in gelatin gel during pressure shift versus conventional freezing[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 66(1): 69-76. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2004.02.035.
- [26] 葛仕福, 施明恒. 被干燥多孔物料中孔隙大小及分布的探讨[J]. 应用科学学报, 2005, 23(1): 94-98. DOI:10.3969/j.issn.0255-8297.2005.01.020.
- [27] 张三强, 周新丽, 戴澄, 等. 初始溶氧含量对功率超声波触发过氧化氢酶溶液初始成核的影响[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(2): 48-53. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.201602009.
- [28] PASSOT S, TRÉLÉA I C, MARIN M, et al. Effect of controlled ice nucleation on primary drying stage and protein recovery in vials cooled in a modified freeze-dryer[J]. Journal of Biomechanical Engineering, 2009, 131(7): 1-5. DOI:10.1115/1.3143034.
- [29] GONG C L, HART D P. Ultrasound induced cavitation and sonochemical yields[J]. Journal of the Acoustical Society of America, 1998, 104(5): 2675-2682. DOI:10.1121/1.423851.
- [30] RASTOGI N K. Opportunities and challenges in application of ultrasound in food processing[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2011, 51(8): 705-722. DOI:10.1080/10408391003770583.