

速冻速率对胡萝卜细胞结构参数的影响

王鹏飞, 邸倩倩, 刘 斌, 周晓静

(天津市制冷技术重点实验室, 天津商业大学, 天津 300134)

摘要:为研究速冻过程中不同速冻速率对果蔬细胞结构的影响,将胡萝卜样本分别在不同的速冻速率下进行了冻结实验,研究比较胡萝卜未漂烫组与漂烫处理组的细胞结冰点随速冻速率的变化情况,并建立植物细胞圆柱体模型,还对其内压、体积与渗透系数进行计算。结果表明:漂烫处理组样品的细胞结冰点低于未漂烫组,细胞结冰点随速冻速率的增大而降低;细胞体积随细胞内压的增大而减小,随温度的降低呈先增大后减小的趋势;渗透系数总体随冻结过程的延长而减小,其变化的激烈程度也随冻结速率的增大而减小。

关键词:速冻速率,胡萝卜,细胞结构,细胞体积,渗透系数

Effect of freezing rate on some structural parameters of carrot cells

WANG Peng-fei, DI Qian-qian, LIU Bin, ZHOU Xiao-jing

(Tianjin Key Lab of Refrigeration Technology, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China)

Abstract: In order to study the effect of different freezing rates on the cell structure of fruits and vegetables, the carrot tissue samples were selected and frozen under different freezing rates respectively. For both of the blanched and fresh carrot tissue, the relationship between the freezing temperatures and the freezing rates was studied. A cylindrical model for plant cell was established. With this model, the cell volume, turgor pressure and permeability coefficients were calculated. The results showed that the freezing temperatures of the blanched carrots were lower than that of the fresh ones, and the freezing temperatures decreased with the increase of the freezing rates, the cell volume decreased as the turgor pressure rose, and the development tendency of the volume increased at first, then decreased when the temperature dropped. As for the permeability coefficient, it decreased with prolonged freezing process and its changing amplitude also decreased as the freezing rates increased.

Key words: freezing rate; carrot; cell structure; cell volume; permeability coefficient

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)10-0125-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.10.017

速冻是果蔬食品长期贮存的重要手段之一,我国每年速冻蔬菜的出口可创汇额达2亿多美元,速冻水果则是生产果汁、饮品、冰淇淋等的原材料,在消费市场中占重要地位^[1]。然而,速冻过程中的品质下降会导致巨大的经济损失,原因在于其细胞结构在冻结过程中发生变化所致。因此,开展速冻期间果蔬细胞结构相关参数的研究显得尤为重要。目前,已有部分研究学者对果蔬速冻过程中细胞组织的变化开展了若干研究。Maria Paciulli, Tommaso Ganino等^[2]对芦笋、四季豆和西葫芦冻结过程中的组织失水及细胞壁结构变形等相关细胞结构参数的变化进行了比较研究。Sophie Chassagne-Berces等^[3-4]对两种苹果和一种芒果分别在-20、-80℃和液氮浸泡三种条件下进行速冻,得到三种条件下质地、颜色、水分、细胞壁组成及可溶性固形物的变化,并利用低温SEM对其细胞结冰现象进行了观察和对

比。R G M van der Sman等^[5]对食品和生物材料速冻过程中的冰晶生长进行了研究,指出冰晶生长与冶金中金属的固化非常相似。国内有樊振江、高愿军等,晏绍庆等,以及黎继烈等分别研究了速冻温度以及漂烫处理工艺对猕猴桃、土豆、板栗细胞结构以及质构特性的影响^[6-8]。以上研究对速冻过程中果蔬细胞形态变化和冰晶形成及生长理论提供了宝贵的素材和结论,但对细胞形态、体积、内压与渗透系数等影响细胞结构变化的参数研究较少,且不能反映速冻过程中细胞的动态变化。本文以胡萝卜为研究对象,通过液氮供冷冷台对胡萝卜细胞分别进行9种降温速率的速冻处理,利用显微镜与高清摄像机记录降温过程中细胞组织的动态变化过程,并跟踪单个细胞的变化情况,还对上述细胞结构参数的变化规律进行了研究,以为果蔬的贮藏加工提供相应的理论依据。

收稿日期: 2014-09-10

作者简介: 王鹏飞(1989-),男,硕士研究生,研究方向:冷链过程中的热质传递及强化。

基金项目: 天津市科技支撑项目(14ZCZDNC00016);教育部重点基础研究资助项目(21109)。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

胡萝卜若干 选取无病害、无机械损伤、大小均一的市售。

BX51型显微镜、Micro Publisher 5.0 RTV显微镜用摄像机 日本奥林巴斯株式会社, 传感器Sony ICX282 Progressive Scan Interline CCD, 分辨率2560×1920@36bit; BCS196低温台 英国Linkam Scientific Instruments, 液氮降温, 温度范围: -196~125℃, 加热/冷冻速率: 0.01~150℃/min, 温度精度: 0.01℃; VT1000S型振动切片机 德国Leica Biosystems, 振动频率: 0~100Hz, 进刀速度: 0.025~2.5mm/s, 振幅: 0.2~1mm; DC-4006型恒温水浴锅 宁波新芝生物科技股份有限公司, -40~100℃, ±0.1℃; 图像处理软件Image-Pro Plus和AutoCAD。

1.2 实验方法

1.2.1 材料预处理 选取外观完好的新鲜胡萝卜, 用清水洗净, 用刀片切成约1cm×1cm×1cm的小立方体作为样本。用样本切片机将胡萝卜样本切成厚度为60μm的切片, 将切片置于玻片作为未漂烫处理组。制取若干组样本, 在显微镜下观察, 选取能清晰地看到细胞完整轮廓的标本待用。取新鲜完好的胡萝卜, 用清水洗净, 切成如上样本, 后置于90℃恒温水浴锅中进行1min漂烫处理, 其余处理步骤同上, 作为漂烫处理组。

1.2.2 速冻处理与图像获取 将上述切片标本分别置于低温显微镜下的冷台内进行速冻观察, 并用显微镜自带摄像机拍摄胡萝卜细胞形态及在冻结过程中的变化情况。其中, 速冻降温速率分别选取1、3、6、9、12、15、25、50、80℃/min。

1.2.3 细胞结冰温度的获得 利用摄像机对胡萝卜细胞的速冻过程进行拍摄时, 生成的图片自动记录速冻时间和当前温度。根据文献[9], 细胞组织结冰过程会使显微图像明显变暗, 通过观察细胞组织的明暗状况可以直接判断出结冰点温度。

1.2.4 细胞体积和内压的计算 利用软件Image-Pro Plus对上述显微图片进行后处理, 可直接获得显微图像中的细胞面积。为便于计算, 通过文献[10]对胡萝卜细胞进行理想化假设。由Image-Pro Plus软件可直接获得胡萝卜细胞的二维平面面积, 利用圆柱体关

系式, 可分别计算出直径D, 高H, 圆柱表面积A与体积V(即细胞体积)。

而对于细胞的内压变化, 假设细胞所受各向载荷均匀, 那么可由文献[11]植物细胞内压的计算公式计算细胞内压的变化:

$$\Delta p = \frac{hE\Delta l}{R(1-\gamma^2)2\pi r} \quad \text{式(1)}$$

其中, h—细胞壁厚度 (m), 0.125×10^{-5} m; E—细胞壁弹性模量 (N/m²), 2.67×10^7 N/m²; Δl —细胞周长的变化量 (m); γ —细胞壁的Poisson比, 0.33; r—初始细胞半径 (m); R—变形后细胞的半径 (m)。

由于细胞采用圆柱体模型, 投影面为矩形, 则对于式中的半径R和r可采用当量直径de来求解计算:

$$\Delta p = \frac{hE}{1-\gamma^2} \cdot \left[\frac{D_0+H_0}{D_0 \cdot H_0} - \frac{D+H}{D \cdot H} \right] \quad \text{式(2)}$$

其中, D₀—冻结过程开始时刻的细胞圆柱体直径, H₀—冻结过程开始时刻的细胞圆柱体高。p₀= 2×10^{11} Pa, 则可计算得出任何状态下细胞内压值p。

1.2.5 细胞渗透系数的计算 植物细胞水分传质系数(即渗透系数)可通过下式[12]来计算:

$$L_p = -\frac{1}{A(t)[P(t)-P_i]} \frac{\Delta V(t)}{\Delta t} \quad \text{式(3)}$$

式中, L_p—渗透系数 (m/Pa·s); A(t)—细胞膜表面积 (m²); P(t)—t时刻细胞的内压值 (Pa); P_i—速冻过程开始时刻的细胞内压值 (Pa); $\frac{\Delta V(t)}{\Delta t}$ —细胞排出液体的体积流量速率 (m³/s)。

对各种速率下渗透系数进行多项式拟合, 可得到渗透系数随温度的变化趋势。另外, 漂烫组因其细胞结构遭到破坏, 不再进行细胞大小、内压以及渗透系数的计算对比。

2 结果与分析

2.1 速冻速率对胡萝卜细胞形态结构的影响

分别以速冻速率为3℃/min(慢冻)和50℃/min(速冻)的胡萝卜显微图片为例来说明速冻速率对胡萝卜细胞形态结构的作用, 如图2所示。

从图2可知, 首先, 冻结过程细胞图像是一个逐渐变暗的过程(尤其是细胞间隙部分), 这是由于结冰以及细胞壁边缘发生位置变化使得光线透射发生偏折, 进入目镜的光线能量减少所致^[9]; 其次, 不管是慢速冻结还是快速冻结, 其间细胞形态结构都会发生变化(即由平坦光滑的表面变得皱缩、不规则), 这是由于冻结使得细胞组织中的自由水结晶形成固体, 细胞壁受力发生变化从而改变了形态; 再次, 不管是图中用线条选取的目标细胞还是从其周围的其他细胞来看, 慢速冻结相比快速冻结都会使细胞形态结构发生更大程度的变化: 褶皱更深、形状更不规则(图2)。这是由于慢冻时, 细胞间隙的水分先结冰, 此时细胞内还是液态, 外部冰晶结构应力作用于细胞壁, 使其发生了褶皱变形; 而快冻时, 细胞间隙和细胞内部几乎同时结冰, 且冰晶细小, 细胞壁不会发生大的形变。这与文献[13]提出的食品冻结过程中的冰晶形成理论一致。另外, 由图中标记的时间来看, 3℃/min下细胞组织冻结时间是50℃/min的11倍

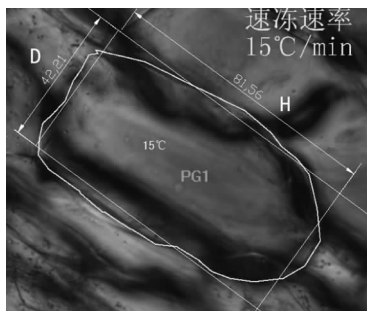


图1 用AutoCAD获取圆柱体细胞高径比

Fig.1 The acquisition of height-diameter ratio with AutoCAD software

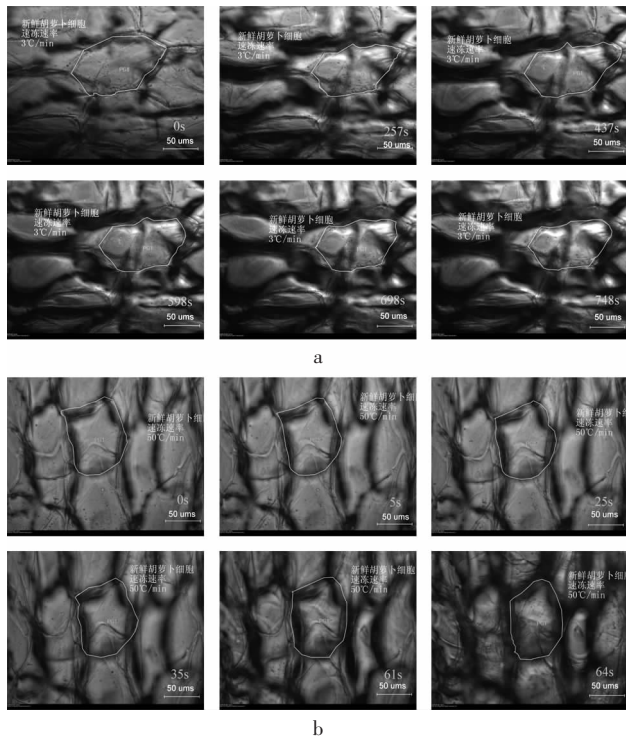


图2 胡萝卜细胞冻结过程显微图像

Fig.2 The microscopic images of the carrot cells during frozen
注：a、b分别为胡萝卜细胞3、50°C/min冻结过程。

还多。

2.2 速冻速率对不同处理组胡萝卜细胞结冰温度的影响

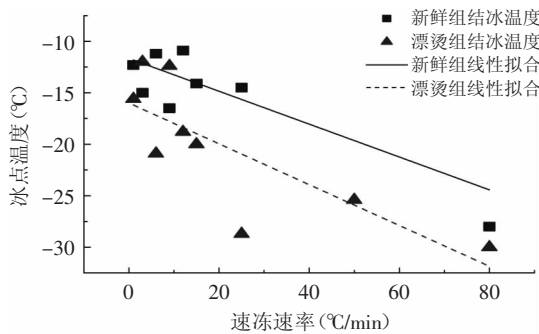


图3 速冻速率对胡萝卜细胞组织结冰温度的影响

Fig.3 The effects of freezing rates on freezing temperatures in carrot tissues

由图3可知,漂烫组和新鲜组胡萝卜细胞速冻过程中均呈现出速冻速率越大,胡萝卜细胞组织结冰点越低的特点。这是由于慢冻时,细胞间隙中的自由水先冻结,这使得细胞间隙水势下降,导致细胞内自由水渗出到细胞间隙中。形成冰晶的过程中,由于慢冻时温度梯度较小,再加上相变释放出的潜热使冻结过程温度下降缓慢,在这个缓慢的相变过程中伴随着细胞内水分不断地渗出,渗出的水分继续结晶,这样就在细胞间隙形成较大冰晶,而且形成冰晶的温度偏高。而快速冻结时,由于温度梯度很大使得相变潜热的影响变得相对微弱,此时细胞组织内冰晶

推进速度非常快,水分来不及向细胞外扩散就在细胞内迅速形成了细小的冰晶,速冻时形成冰晶的温度相对较低^[14]。漂烫处理是果蔬贮存的一种常用预处理方式,主要用来灭菌和抑制PPO、POD酶的活性,从而减少贮存过程中营养成分的损失^[15]。但由于漂烫会导致细胞失活,所以会影响细胞组织的结冰。从图3可以看出,漂烫组细胞组织的结冰点明显低于新鲜胡萝卜细胞组织的结冰点,约低5~10°C。可能由于漂烫组经高温漂烫处理后细胞膜破裂^[16-17],失去选择透过性,原生质内水分、无机盐和有机物等成分流出细胞^[18],进入细胞间隙,导致细胞间隙内的液体浓度比新鲜组高,从而降低了细胞组织结冰点,结果出现了图中漂烫组细胞组织的结冰点要低于新鲜组细胞组织的结冰点的现象。图4给出了新鲜果蔬(芦笋)细胞组织和经漂烫(90°C, 30s)处理后的细胞组织的对比。由图可知,新鲜组细胞圆润饱满,而漂烫组细胞大部分都已坍塌、变形,有相当一部分细胞体积严重萎缩,细胞形状呈现出条状或点状。这些现象更加验证了高温漂烫会导致细胞膜破损,引起原生质成分外流,从而为漂烫组细胞组织结冰点更低提供了证据。

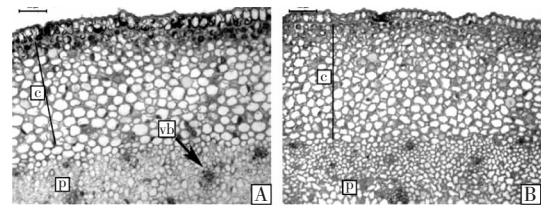


图4 芦笋茎横断面:新鲜细胞组织(A)和漂烫处理后的细胞组织(B)^[2]

Fig.4 Transverse sections of asparagus stem samples: A.raw; B.blanched^[2]

注:c-角质层;vb-维管束;p-薄壁组织。

2.3 速冻速率对不同处理组细胞内压与体积的影响

根据前述细胞体积V和细胞内压p的计算方法可得出细胞内压和体积之间的变化关系,现选取降温速率分别为6、12、15、80°C/min的过程为例,分别如图5(a、b、c、d)所示。

由图5(a、b、c、d)可以看出,胡萝卜细胞体积大体上随速冻过程的进行先略增大后减小,且在-10~0°C之间细胞体积出现最大值;而细胞内压的变化则与细胞体积的变化趋势恰恰相反,即体积随内压增大而减小。这种现象的出现,推测是由于冻结过程进行到0°C以下时,水发生相变结冰,结冰后的体积约为液态水体积的10/9倍,因此会出现体积增大现象;然而体积最大值点不在0°C这一点,一是因为细胞液和细胞间隙的组织液浓度高于纯水使得结冰温度要低于0°C,二是因为冻结过程存在过冷现象。而随后体积急速减小的现象,可能是由细胞组织水分结晶导致细胞壁所受应力变化,以及内压激增引起水分渗出细胞的共同作用,使得细胞框架坍塌所致。Naiqiang Wu等^[12]提出苹果薄壁组织细胞的体积在 $1.2 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ 左右,细胞初始内压(即在没有施加载荷的情况下)

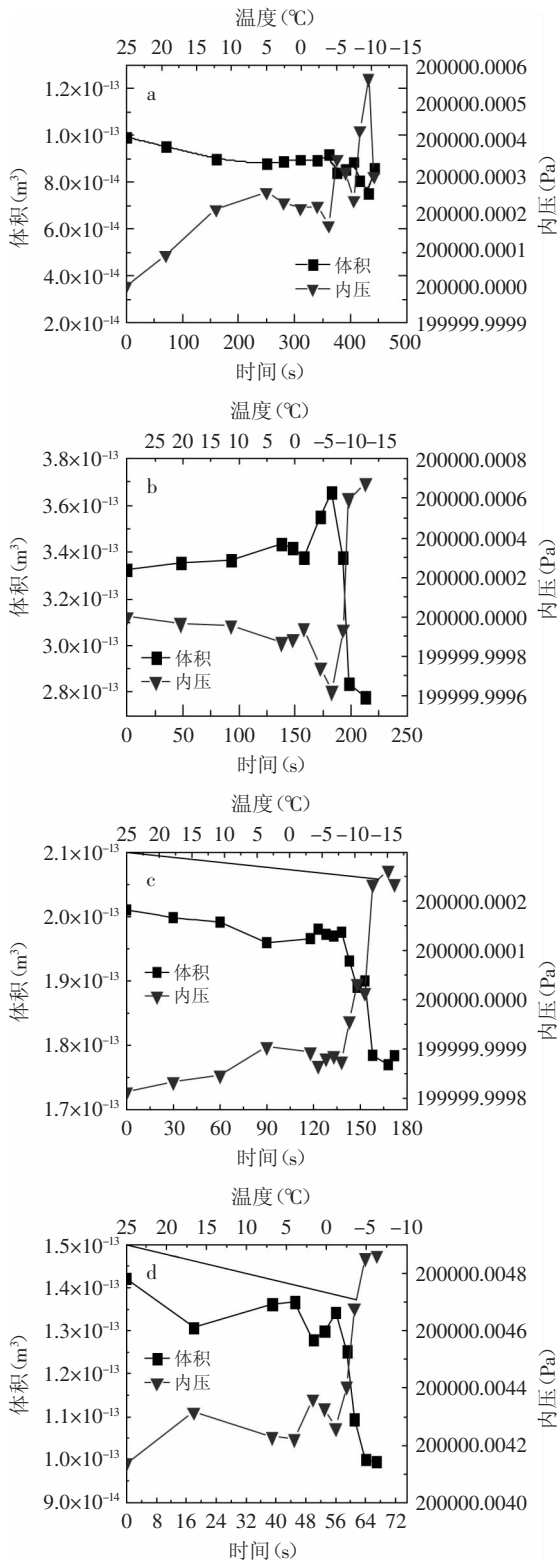


图5 速冻过程中胡萝卜细胞内压与体积的变化关系

Fig.5 The turgor pressure and volume changes of carrot cell during frozen

注:图5a、b、c、d分别是6、12、15、80°C/min下胡萝卜细胞内压与体积关系。

为200kPa,且细胞实际内压与所受载荷符合胡克定律。文献[19]在研究了10种常见的甲藻类细胞体积后,指出常见甲藻体积介于 $2.97 \times 10^{-2} \sim 4.5 \times 10^{-4} \mu\text{m}^3$ 之间。本文所得细胞体积范围大致处于 $0.8 \times 10^{-13} \sim 4.0 \times 10^{-13} \text{m}^3$ (即

$0.8 \times 10^5 \sim 4.0 \times 10^5 \mu\text{m}^3$)之间,内压初始值及采用的计算方法均来自文献[11]。考虑到植物品种不同、细胞种类不同(薄壁组织细胞以具有大液泡著称,体积较大),因此计算所得细胞体积和内压在合理范围内。

2.4 速冻速率对不同处理组细胞渗透系数的影响

现选取速冻速率分别为6、12、15、80°C/min的新鲜胡萝卜细胞渗透系数变化趋势图为例,分别如图6(a、b、c、d)所示。

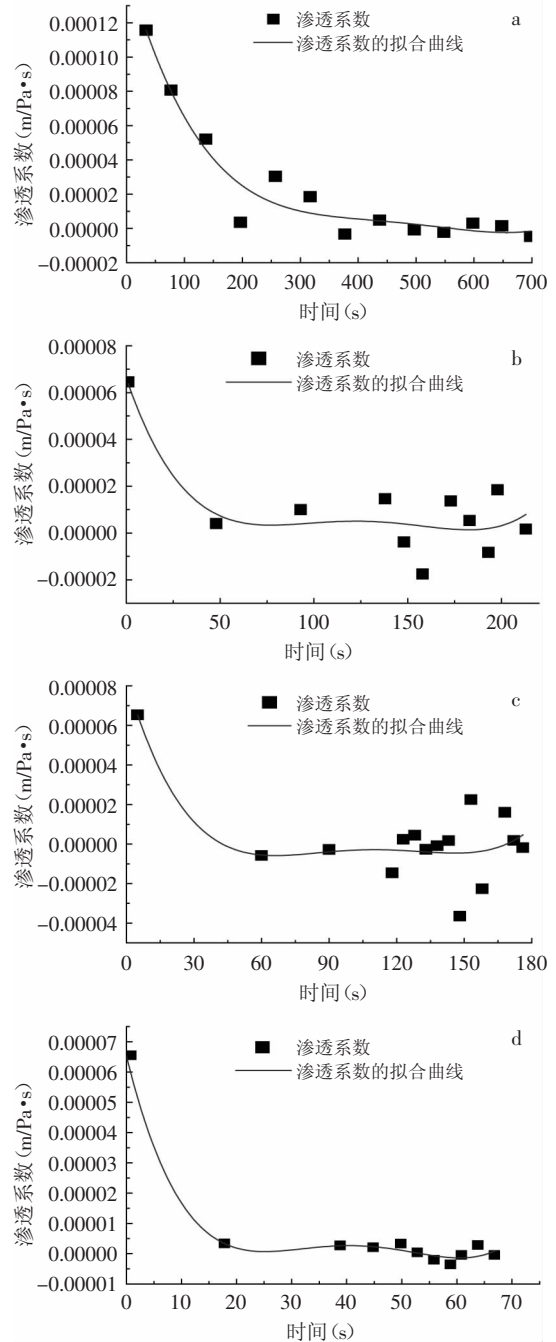


图6 冻结过程中胡萝卜细胞渗透系数的变化

Fig.6 The permeability changes of carrot cells during frozen

注:图6(a、b、c、d)分别是6、12、15、80°C/min下胡萝卜细胞渗透系数变化情况。

由图6(a、b、c、d)的拟合曲线可以看出,渗透系数大体上随着速冻过程的进行而降低;在速冻过程

进行的后半段:渗透系数发生波动;且速冻速率越小波动越激烈,速冻速率越大波动越平缓。造成这种结果的原因除了误差之外可能是由于冻结的后半段是结冰过程:快冻(80℃/min)时,细胞内外在短时间内基本同时结冰,所以渗透系数基本不变。而慢速冻结时,细胞外先形成冰晶水分减少,使得细胞内渗透系数为负,向外渗水;而此时细胞外部本身形成的冰晶温度就比较高,随着细胞内水分的渗出,胞外冰晶吸收渗出水的能量,有可能变为液态水,与此同时,细胞内由于向外渗水浓度升高,具有吸水能力,渗透系数为正,如果此时冻结速率足够慢,胞间水分理论上会再次进入细胞。上述过程经过反复几次,直至最终细胞内外完全冻结为止,从而呈现出图中6、12、15℃/min速冻速率下的变化特点。以上理论分析与文献[20]中所述细胞冻结过程中有关水分渗透的“IIF”模型一致。按照上述理论,最终冻结点渗透系数为0,此时冻结过程已结束,细胞内外不再发生渗流现象。本文计算得出的渗透系数变化范围的数量级总体分布在 10^{-8} ~ 10^{-6} 之间,考虑到细胞种类和大小的不同以及本实验施加了冻结过程,对比E. Dintwa等^[21]给出的细胞渗透系数 2×10^{-9} 以及Wang等^[22]给出的 10^{-8} ~ 2×10^{-5} 范围内的渗透系数来说,本文渗透系数的计算在合理范围之内。

3 结论

3.1 慢冻与快冻都会使细胞形态结构发生变化,但慢冻较快冻会使细胞形态结构发生更大程度的变化,呈现出褶皱加深、形状更不规则的特点。

3.2 漂烫组 and 新鲜组细胞组织结冰点都随冻结速率的增大而降低,但由于漂烫组细胞膜遭高温破坏失去选择透过性,汁液流入细胞间隙,使得细胞间隙溶液浓度上升,从而使漂烫组细胞组织结冰点整体低于新鲜组5~10℃。

3.3 随着冻结过程的进行,细胞体积先增大后减小;细胞体积的最大值出现在0~-10℃之间,与过冷度相关;细胞体积变化范围分布在 0.8×10^{-13} ~ $4.0 \times 10^{-13} \text{m}^3$ 之间;内压的变化则与体积的变化相反内压基本在200kPa附近变化,变化幅度不大。

3.4 渗透系数随冻结过程的进行而降低;结冰期间,渗透系数在慢冻时变化剧烈,快冻时基本不变,最终都趋于0;计算所得的胡萝卜细胞速冻过程中的渗透系数变化的数量级在 10^{-8} ~ 10^{-6} 之间。

参考文献

[1] 吴锦铸,黄苇. 速冻果蔬的生产工艺及产品品质控制[J]. 冷饮与速冻食品工业,2003,9(1):31-34.
[2] Maria Paciulli, Tommaso Ganino, Nicoletta Pellegrini, et al. Impact of the industrial freezing process on selected vegetables—Part I. Structure, texture and antioxidant capacity[J]. Food Research International, 2014, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.>

2014.04.019.

[3] Sophie Chassagne-Berces, Fernanda Fonseca, Morgane Citeau, et al. Freezing protocol effect on quality properties of fruit tissue according to the fruit, the variety and the stage of maturity[J]. LWT—Food Science and Technology, 2010(43):1441-1449.
[4] Sophie Chassagne-Berces, Cécile Poirier, Marie-Françoise Devaux, et al. Changes in texture, cellular structure and cell wall composition in apple tissue as a result of freezing[J]. Food Research International, 2009, 42(7):788-797.
[5] R G M van der Sman, A Voda, G van Dalen. Ice crystal interspacing in frozen foods[J]. Journal of Food Engineering, 2013(116):622-626.
[6] 樊振江,高愿军,常广双,等. 冻结温度对猕猴桃果丁细胞结构和质构特性的影响[J]. 农产品加工·学刊,2008(3):52-54.
[7] 黎继烈,陈永安,唐松元,等. 速冻对板栗仁细胞结构的影响与酶活性变化的研究[J]. 林业科技开发,2002(2):37-38.
[8] 晏绍志,彭海柱,华泽钊,等. 预处理和速冻贮藏对马铃薯片质构特性的影响[J]. 上海理工大学学报,2000(2):202-205.
[9] 张绍志,王藏,陈光明,等. 低温显微装置及其对细胞胞内冰晶形成现象的观察[J]. 细胞生物学杂志,2003(4):231-234.
[10] 魏德强,王燕. 水果细胞的内压和应力与变形之间关系的研究[J]. 农机化研究,2005(2):92-94,137-145.
[11] 高永毅. 植物的细胞力学行为研究及在水果机械损伤研究中的应用[D]. 北京:中国农业大学,2003.
[12] Naiqiang Wu, Marvin J Pitts. Development and validation of a finite element model of an apple fruit cell[J]. Postharvest Biology and Technology, 1999(16):1-8.
[13] 关志强,蒋小强,李敏,等. 冻结速率和冻藏温度对文蛤蛋白冷变性的影响[J]. 食品与发酵工业,2005,31(11):137-140.
[14] 张懋平. 速冻食品冰晶体形成特性规律的研究[J]. 制冷,1993(1):46-52.
[15] 彭丹,邓洁红,谭兴和,等. 果蔬速冻保鲜技术研究进展[J]. 保鲜与加工,2009(2):5-9.
[16] 韩涛,李丽萍,艾启俊. 漂烫对蔬菜果实质地的影响及低温漂烫作用的机理[J]. 食品工业科技,2003,24(2):89-92.
[17] 李余霞. 藕带的低温贮藏保鲜研究[D]. 武汉:华中农业大学,2011.
[18] 赵天瑞,樊建,李永生,等. 漂烫及冻结对青头菌营养价值的影响[J]. 中国食用菌,2005,24(3):64-66.
[19] 王燕,李瑞香,董双林,等. 10种常见甲藻细胞体积与细胞碳、氮含量的关系[J]. 生态学报,2011,31(21):6540-6550.
[20] 王沛涛,何立群,舒志全,等. 细胞低温生物学研究进展[J]. 齐鲁医学杂志,2005,20(1):1-4.
[21] E Dintwa, P Jancsó, H K Mebatsion, et al. A finite element model for mechanical deformation of single tomato suspension cells[J]. Journal of Food Engineering, 2011(103):265-272.
[22] Wang C X, Wang L, Thomas C R. Modelling the mechanical properties of single suspension-cultured tomato cells[J]. Annals of Botany, 2004(93):443-453.

权威·核心·领先·实用·全面