

冷冻-复温过程中葡萄细胞结晶变化研究

张哲¹ 赵静¹ 田津津¹ 王怀文¹ 王飒飒¹ 张平²

(1. 天津商业大学天津市制冷技术重点实验室, 天津 300134;

2. 国家农产品保鲜工程技术研究中心天津市农产品采后生理与贮藏保鲜重点实验室, 天津 300384)

摘要: 利用低温显微镜系统对葡萄进行了冷冻-复温实验,研究了葡萄细胞在冷冻-复温过程的结晶变化。通过分析冷冻-复温过程的葡萄细胞显微图像、细胞体积、内压、渗透率的变化,发现:葡萄细胞的结冰温度随冷冻速率的增加而降低;葡萄细胞的体积变化总趋势是随温度的降低而减小,但由于细胞内自由水体积的变化,在 $-5\sim 0^{\circ}\text{C}$ 细胞体积会有所增大。在 $14^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 、 $50^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 冷冻速率下细胞体积分别减小了54.5%,26.3%。冷冻速率越大,细胞体积变化越小;冷冻过程中葡萄细胞的渗透系数随温度的降低而降低,随冷冻速率的降低而降低。在葡萄细胞的冷冻-复温过程中,提高复温温度能有效减少细胞的破损。

关键词: 葡萄细胞; 冷冻复温; 结晶变化; 低温显微镜

中图分类号: TS201.1; Q24 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2016)05-0211-07

Research on Crystallization Change of Grape Cells during Freezing-thawing Process

Zhang Zhe¹ Zhao Jing¹ Tian Jinjin¹ Wang Huaiwen¹ Wang Sasa¹ Zhang Ping²

(1. Tianjin Key Laboratory of Refrigeration Technology, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China

2. Tianjin Key Laboratory of Postharvest Physiology and Storage of Agricultural Products, National Engineering and Technology Research Center for Preservation of Agricultural Products, Tianjin 300384, China)

Abstract: The freezing-thawing phenomenons of fruits and vegetables are inevitable during the refrigerated transport process. The quality of fruits and vegetables will also be changed. Grapes as test objects are used to test the quality change during the freezing-thawing process. The cryomicroscope system (including CCD camera, BCS 196 cryostage, the liquid nitrogen tank, the crystate temperature control system) was used to test the grape sample during the freezing-thawing process. The temperature range of cryomicroscope system is -196°C to 125°C . The crystallization change of grape cells has been researched. The freezing-thawing rate is 2, 6, 8, 11, 14, 20, 50, $90^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Micrograph, volume, internal pressure and permeability coefficient of grape cells were analyzed during the freezing-thawing process. The result shows that the formation process of crystallization in the intercellular space depends on the freezing rate. Grape cell freezing temperatures will decrease with increasing freezing rate and the general trend of change in volume of grape cells will decrease with the decreasing of temperature. However, grape cells volume will increase at $-5\sim 0^{\circ}\text{C}$ due to the volume changes of intracellular free water. Grape cells volumes were reduced by 54.5%, 26.3% respectively at $14^{\circ}\text{C}/\text{min}$ and $50^{\circ}\text{C}/\text{min}$ freezing rates. The larger the freezing rate is, the smaller the cell volume changes to be. During the freezing process, the permeability coefficient of grape cells will decrease with the decreasing temperature and freezing rate. Increasing thawing temperature can effectively reduce the damage of the grape cells during freezing-thawing process. This research will optimize the temperature gradient of fruit and vegetable during cold storage.

Key words: grape cell; freezing-thawing; crystalline change; cryomicroscope

引言

随着生活水平的提高,人们对果蔬的要求已从数量型逐步转向质量型,对冷冻保鲜果蔬的质量要求也越来越高。国内外许多学者对细胞在冷冻过程中的变化做了大量研究^[1-10]。MERYMAN 等^[1]研究了冷冻复温对细胞的影响,指出细胞外渗透压会使细胞变形,而在复温过程中,由于冰晶的融化,水分由内向外渗透,相当于是降温过程的逆过程。BANK^[2]的再结晶研究中,将酵母细胞以快速冷却的方式使其在胞内形成很细的冰晶。在复温过程中,测量酵母细胞的再结晶过程。MACKENZIE^[3]将酵母细胞以快速冷却形成胞内冰,再快速复温到常温,测定各自的存活率。DILLER^[4-5]利用显微技术观测细胞降温过程中的体积变化。ACHARYA 等^[6]利用低温显微镜研究了细胞在不同降温速率下的体积变化,并计算出了细胞膜对水分的渗透系数。SOPHIE 等^[7]对苹果和芒果分别在不同条件下进行冷冻,得到不同条件下的品质、颜色、水分、细胞壁成分及结构、可溶性固形物的变化。在国内,樊振江等^[8]研究了速冻温度和速冻前漂烫过程对猕猴桃果丁细胞结构和品质的影响。晏绍庆等^[9]、黎继烈等^[10]研究了速冻温度和速冻前漂烫过程对猕猴桃果丁、马铃薯、板栗仁细胞结构和质构特性的影响。但现有文献对果蔬在冷冻-复温过程中细胞结晶的变化研究较少,因此本文从果蔬细胞微观角度出发,利用低温显微镜系统对果蔬冷冻-复温过程中细胞结晶的变化进行研究,以优化低温贮藏果蔬的温度梯度,完善果蔬低温贮藏保鲜产业。

1 实验材料与方法

1.1 实验设备

采用低温显微镜系统研究冷冻-复温过程中果蔬细胞结晶的变化,如图 1 所示,包括用于信息采集、储存的计算机,光学显微镜,BCS-196 型冷热台及其温度控制系统。显微镜上装有用于拍摄图片的 CCD 照相机,冷热台可实现 $-196 \sim 125^{\circ}\text{C}$ 内升降温速率的精确温度控制,精度可达到 0.01°C 。

由液氮罐中液氮提供冷源,小型液氮泵提供动力,电加热器提供热源,温度控制器控制液氮流量及加热功率。系统的关键组件冷热台由银质加热块、测温元件以及密闭腔室组成。果蔬样品放置在 0.17 mm 厚的盖玻片上,盖玻片放置在高度抛光的银质加热元件上。银质加热元件保证了极佳的热传递和温度测量,精度高于 0.1°C 的铂电阻传感器提供了非常精确和稳定的温度信号,可以有效控制果

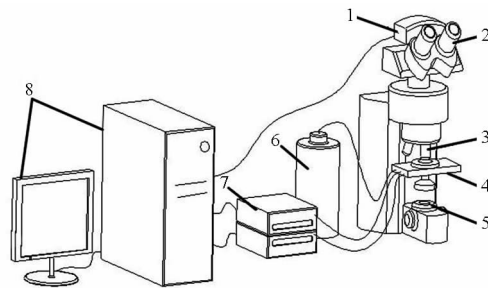


图 1 低温显微镜系统

Fig. 1 Cryomicroscope system

1. CCD 照相机 2. 目镜 3. 物镜 4. 冷热台 5. 光源 6. 液氮罐 7. 冷热台温度控制系统 8. 计算机

蔬温度。样品腔室是气密的,气体阀可以控制腔室内的环境。计算机通过 Linksys 软件控制整个实验系统。本文所有葡萄细胞图像通过显微镜放大 500 倍,由 CCD 照相机拍摄结晶变化。

1.2 实验材料

实验所用的红提葡萄采购于天津市北辰区韩家墅农产品批发市场。

1.3 实验方法

选取新鲜葡萄,剥去葡萄皮,而后利用切片机将葡萄果肉切片(厚度 $190 \sim 200\text{ }\mu\text{m}$),并放在载玻片上,用低温显微镜系统观察细胞结晶的变化。利用冷热台温度控制程序对葡萄切片进行冷冻-复温过程的温度和速率调节,设定冷冻速率分别为 $2、6、8、11、14、20、50、90^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 。利用 CCD 照相机对细胞图片进行拍摄,由存储设备记录冷冻-复温过程的时间和温度,用 Image-Pro 软件对冷冻-复温过程的细胞变化进行分析。

2 结果分析

2.1 葡萄细胞的结晶图

在冷冻过程中,当温度降到葡萄冰点以下,细胞就会结晶然后进一步结冰。细胞内部首先形成树枝状冰晶,随着温度继续降低,冰晶不断扩散,相邻冰晶不断连接直到水全部结冰为止,细胞组织的结晶以及结冰会严重破坏细胞的形状。由低温台 CCD 照相机拍摄的 $6、8、14、20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 降温速率下,葡萄细胞的冰晶生长过程如图 2 所示,为了便于观察用红线标出完整葡萄细胞的冰晶生长区域。

由图 2 葡萄细胞的冰晶生长图可知,细胞间隙会先出现细小的冰晶,随着温度降低细小的冰晶呈树枝状扩散。当形成的冰晶扩散到细胞内部由于细胞内部面积远远大于细胞间隙且没有细胞膜的阻碍,细胞内部会被结晶瞬间覆盖,显微图像会瞬间变暗。这是因为细胞结晶的瞬间,出现了光的散射,使视野下的细胞内部突然变暗,此现象与 ACKER

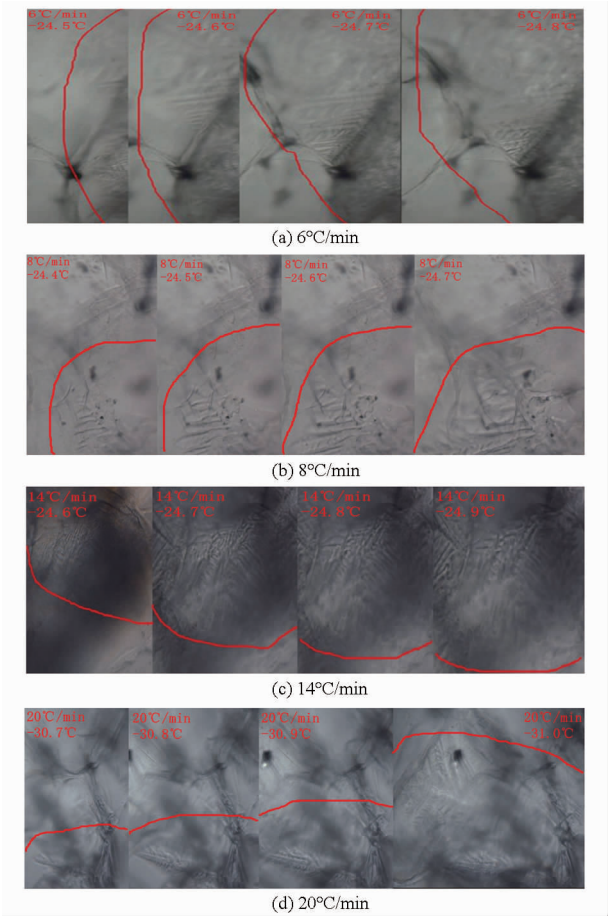


图2 葡萄细胞的冰晶生长过程图

Fig.2 Ice crystal growth pictures of grapes cell

等^[11]研究结论一致。通过对比 6、8、14、20℃/min 不同降温速率下的葡萄细胞结晶图,可以明显看出在 20℃/min 时,结晶在细胞间隙的形成过程最完整,因此,降温速率越大,对于葡萄细胞的伤害越小。

2.2 葡萄细胞的冷冻显微过程

由于细胞冷冻过程中细胞内部冰晶的瞬间形成会发生光的散射使显微视野突然变暗,因此只选择在冻结过程中保持完整形状的细胞进行观察,实验利用低温显微镜对不同冷冻速率下的葡萄细胞进行观察,以 8、14、20、50℃/min 不同冷冻速率为例对实验结果进行分析,如图 3 所示。为了清晰地表现细胞随着温度降低的变化,用红线描绘出了显微镜视野内一个完整的细胞轮廓。

图 3 表示分别以 8、14、20、50℃/min 的冷冻速率利用低温台将葡萄细胞从室温 28℃ 降温到 -50℃ 的冷冻过程显微图,由图可知,伴随着冷冻过程的进行,葡萄细胞会逐渐褶皱,变形,体积会变小,这是由于冷冻过程中冰晶首先在细胞间隙中形成,会使细胞被挤压变形,并且由于冰晶的生成细胞间隙形成高渗透压,细胞内的水分不断通过细胞膜外流,使细胞脱水、皱缩,进而细胞体积变小,由图 3 可观察到在 8、14、20、50℃/min 冷冻速率下细胞显微

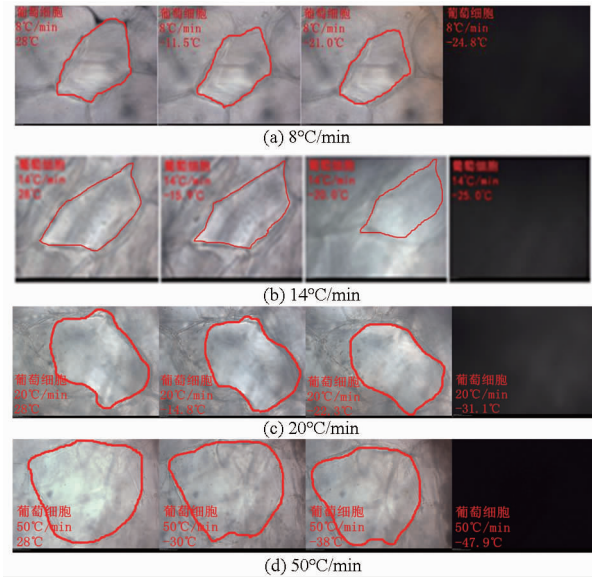


图3 葡萄细胞的冷冻过程图

Fig.3 Freezing process pictures of grape cell

图分别在 -24.8℃、-25℃、-31.1℃、-47.9℃ 时变暗,这是由于不同降温速率下葡萄细胞的结冰温度是不同的。细胞内部首先形成树枝状冰晶,随着温度继续降低,冰晶不断扩散,相邻冰晶不断连接直到水全部结冰为止,而在结冰的瞬间由于光的散射,显微视野瞬间变暗,本文将显微视野瞬间变暗的时刻温度定义为结冰温度。

2.3 葡萄细胞的结晶时间和结冰温度

在细胞冷冻过程中,观察葡萄细胞在冷冻过程中的显微图像瞬间变暗的温度点记录为细胞结冰点,并计算相应结冰时间,如表 1 所示^[12-13]。尽管大量液态水不会在远低于 0℃ 以下情况下不结冰,但是极少量的液态水却可以在远低于 0℃ 以下仍保持液态水的状态,本文所用葡萄切片的体积非常小,含有极少量的水分,因此可以实现低温下结晶,这与曾彦彰^[14]的研究结论一致。

表1 葡萄冷冻-复温过程的结冰温度与结冰时间
Tab.1 Freezing temperatures and time data during freezing-thawing process

冷冻速率/(℃·min ⁻¹)	结冰温度/℃	结冰时间/s
2	-22.9	1 527.00
6	-24.9	529.00
8	-24.8	396.00
11	-25.7	292.90
14	-25.0	227.10
20	-31.1	177.30
50	-47.9	91.08
90	-54.1	54.73

由表 1 可知,葡萄细胞的结冰温度由 2℃/min 时的 -22.9℃ 变化到 50℃/min 时的 -47.9℃,温度

下降幅度达 100%,而对应的结冰时间由 1 527.00 s 变化到 91.08 s,用时约为原来的 6%,快速降温时葡萄细胞过冷度较大,相变时间短,会形成细小的冰晶,且冰晶生长速度快,因此相变过程释放的潜热大。慢速降温葡萄细胞过冷度较小,相变时间长,会形成较大冰晶,且冰晶生长速度慢,因此相变过程释放的潜热少,这与潘见等^[15]对草莓冷冻过程中的潜热变化测定一致。结冰温度随冷冻速率增加而降低,结冰时间随冷冻速率增加而减小。由 2℃/min 到 50℃/min 冷冻速率变化过程中,当冷冻速率低于 14℃/min 时,结冰时间变化非常剧烈,最长时间变化率为 65.3%。而当冷冻速率大于 14℃/min 时,结冰时间变化较小,最长时间变化率为 48.6%。见图 4、5。

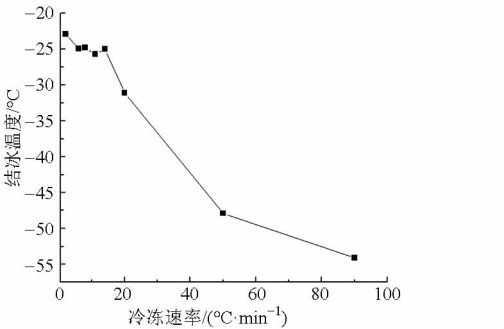


图 4 葡萄细胞结冰温度

Fig. 4 Freezing temperatures of grape cell

2.4 葡萄细胞内压、体积及渗透率计算

利用软件 Image-pro 对上述显微图像进行处理,可直接获得显微图像中的细胞面积、周长。为便于计算,对葡萄细胞进行理想化假设,假设细胞为球

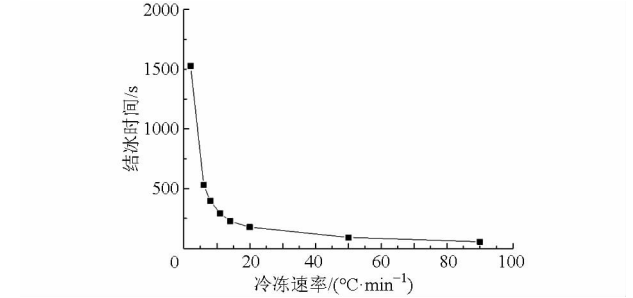
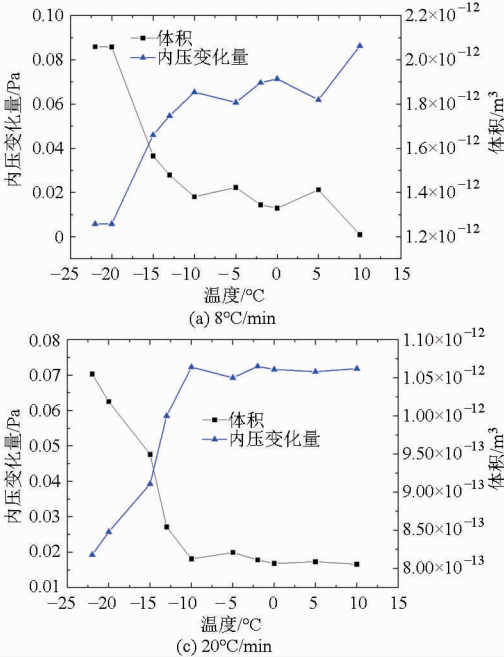


图 5 葡萄细胞结冰时间

Fig. 5 Freezing time of grape cell

形^[16],则可求细胞体积和细胞内压,由此可得到细胞体积与内压的变化关系^[17]。

假设细胞所受各向载荷均匀,植物细胞内压变化量的计算公式为

$$\Delta P = \frac{hE\Delta l}{R(1-\gamma^2)2\pi r} \tag{1}$$

- 式中 h ——细胞壁厚度,取 1.25×10^{-6} m
- E ——细胞壁弹性模量,取 2.67×10^7 N/m²
- Δl ——细胞周长的变化量, m
- γ ——细胞壁的 Poisson 比,取 0.33
- r ——初始细胞半径, m
- R ——变形后细胞的半径, m

由图 6 可知葡萄细胞体积变化的总趋势是随温度的降低而减小,而在 -5 ~ 0℃ 细胞体积会有所增大,而内压变化则相反,随体积减小而增大,这是因为在冷冻开始时,细胞组织并没有冰晶形成,细胞体积基本不变,内压很小,当温度降到 -5 ~ 0℃,细胞内的自由水体积会增大,使细胞体积增大,内压减小,随着冷冻时间的延长,温度的降低会使细胞间隙

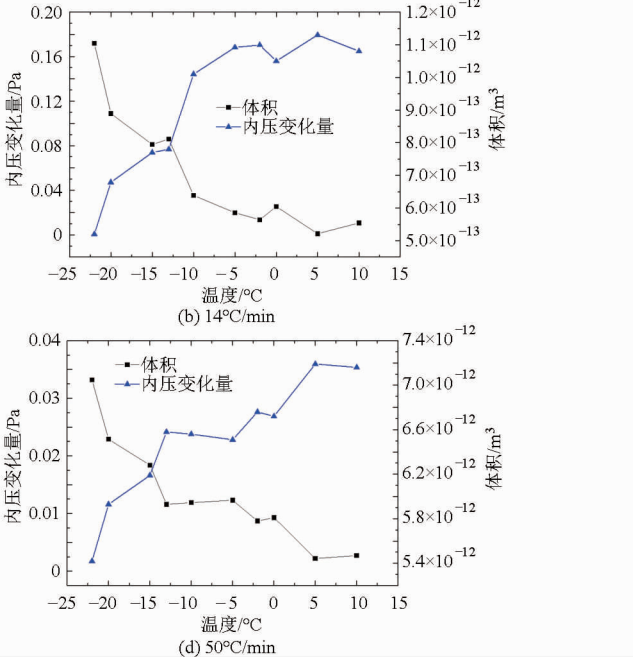


图 6 葡萄细胞体积和内压变化曲线

Fig. 6 Changing curves of cell volume and internal pressure

的水分先形成冰晶,对细胞造成挤压,细胞体积褶皱变小,而导致细胞内压升高,细胞内压的升高使细胞内的水分外流,细胞间隙冰晶体积逐渐增大,因此在冷冻过程中,细胞体积会先增大再逐渐变小,而细胞内压会随体积的减小而升高。在 14、20、50℃/min 冷冻速率下细胞体积分别减小了 54.5%、29.3%、26.3%,可以发现冷冻速率越大,细胞体积变化越小。

细胞的渗透率计算式^[18]为

$$K = -\frac{1}{A(t)(P(t) - P_i)} \frac{\Delta V(t)}{\Delta t} \tag{2}$$

式中 $A(t)$ ——细胞渗透面积, m^2
 $P(t)$ —— t 时刻细胞内压, Pa
 P_i ——初始时刻细胞内压,取 $2 \times 10^5 \text{ Pa}$ ^[19]
 $\Delta V(t)$ —— t 时刻细胞的体积变化量, m^3
 Δt ——时间间隔, min

由图 7 可知,渗透系数随温度降低而降低,渗透系数随冷冻速率降低而降低。在 8、14、20℃/min 时渗透系数变化率分别为 65%、64.1%、63.9%,这是由于在冷冻过程中,细胞间隙会先形成冰晶,冰晶使细胞间隙的渗透压高于细胞内部,此时细胞内的水分通过细胞膜流向细胞间隙,随着温度进一步降低,细胞内部也形成了大量冰晶,细胞间隙的渗透压减低,细胞内水分流入细胞间隙的速度降低,而当渗透系数降低为零时,说明冻结过程已经结束,细胞内外不再发生渗透作用。

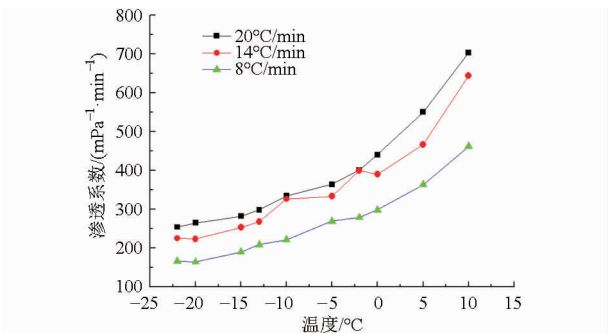


图 7 葡萄细胞渗透系数

Fig. 7 Permeability coefficient of grape cell

3 葡萄细胞的复温过程

将葡萄细胞分别以 8、14、20、50℃/min 的冷冻速率冷冻到 -50℃,再分别以相同的冷冻速率将葡萄细胞复温到室温 28℃左右,利用低温显微镜对上述不同冷冻速率下的葡萄细胞复温过程进行观察。

图 8 为分别以 8、14、20、50℃/min 的冷冻速率利用低温台将葡萄细胞从 -50℃ 升温到室温 28℃ 并保持 3 min 的复温过程显微图。可以发现,伴随着复温过程的进行葡萄细胞显微视野由模糊逐渐变

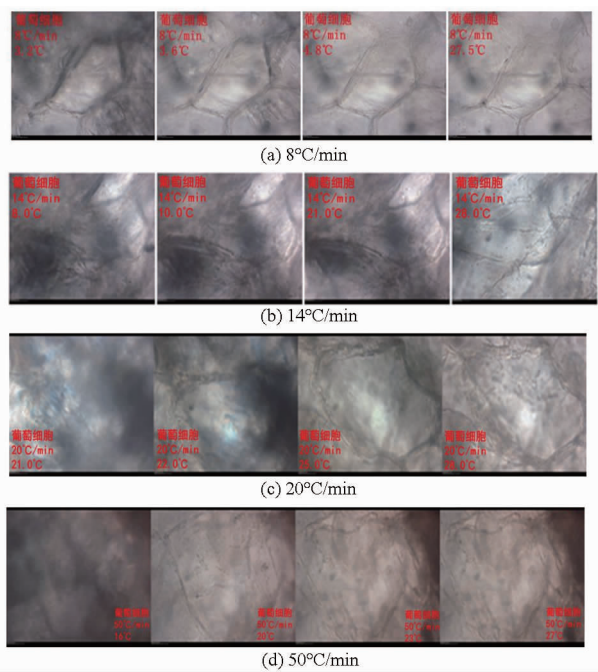


图 8 葡萄细胞的复温过程图

Fig. 8 Thawing process pictures of grape cell

清晰,并且复温到室温后的葡萄细胞已经破损,细胞的完整形态已经破坏。这是由于对葡萄细胞进行复温操作时,温度升高,冰晶融化,如果冰晶对细胞所产生的机械损伤较为严重,使细胞壁断裂,并使细胞膜产生较大缝隙,则融化后的细胞质会通过细胞膜的缝隙流失,使细胞严重破损。

复温温度也是影响葡萄细胞复温过程的重要因素。因此以 8、14、20、50℃/min 的复温速率为例,将葡萄细胞分别冷冻到结冰温度以上 5℃ 和 10℃ 继而复温到室温 28℃,观察葡萄细胞的变化。红线表示显微镜视野内一个完整的细胞轮廓。

图 9 为葡萄细胞在 8℃/min 的速率下复温过程图,图 9a、9b 分别给出了葡萄细胞的初始显微图和复温后的显微图。由表 1 可知在 8℃/min 的冷冻速率下葡萄细胞的冰点为 -24.8℃,图 9a 表示将葡萄

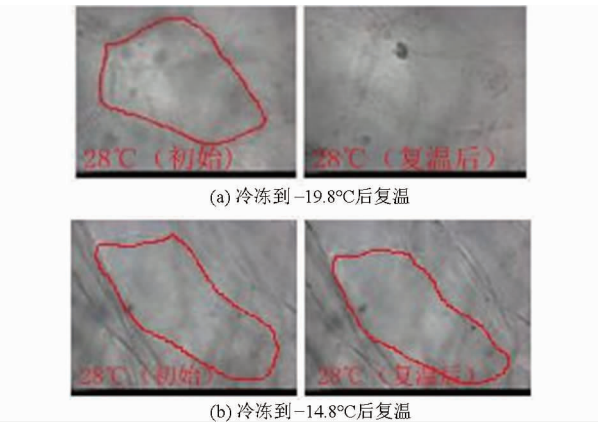


图 9 葡萄细胞在不同温度下以 8℃/min 复温对比图

Fig. 9 Grape cell pictures at different thawing temperatures under 8℃/min

细胞从 28℃ 冷冻到冰点以上 5℃ (即 -19.8℃) 后复温到室温 28℃ 左右并保持 3 min 过程的显微图, 图 9b 表示降温到冰点以上 10℃ (即 -14.8℃) 后复温到 28℃ 左右的显微图。图 10 表示在 14℃/min 速率下葡萄细胞的复温图, 由表 1 可知在 14℃/min 冷冻速率下葡萄细胞的冰点为 -25℃。图 10a、10b 分别为葡萄细胞冷冻到冰点以上 5℃ (即 -20℃) 和冰点以上 10℃ (即 -15℃) 再进行复温的显微图。可知在 8、14℃/min 速率下冷冻到结冰点以上 5℃ 后以相同速率复温^[11], 葡萄细胞细胞壁发生断裂, 细胞膜破损, 细胞内液流失, 细胞的完整形态被破坏, 虽然在此过程中没有冰晶产生, 但是由于葡萄细胞在冷冻时的过冷度过大, 使细胞壁在复温后伸缩性变差, 导致细胞壁破损。细胞处在温度低的环境下, 过冷度较大, 会影响细胞膜的流动性, 这是由于细胞膜的流动性与膜中磷脂的流动性有直接关系, 膜中的饱和磷脂和不饱和磷脂交替排列, 温度较低的情况下, 使细胞膜发生膜相分离, 使不饱和磷脂和饱和磷脂各自聚到一起, 此时细胞膜的完整性受到破坏, 因此复温后细胞膜的流动性和伸缩性变差, 导致细胞破损, 这与孙明哲^[20]在低温胁迫对玉米幼苗生理指标的影响中的结论一致。而将葡萄切片冷冻到冰点以上 10℃ 进行复温, 葡萄细胞壁没有断裂, 维持基本形态, 但细胞出现皱缩变形。

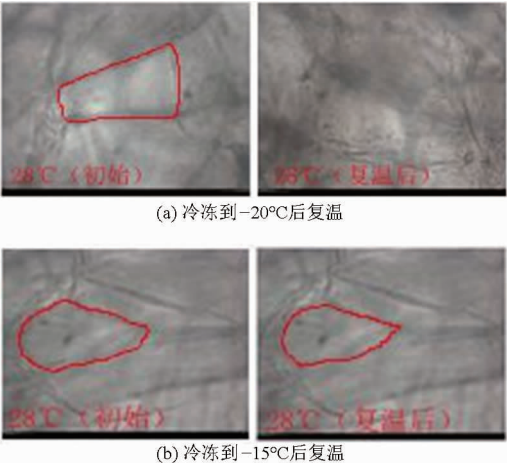


图 10 葡萄细胞在不同温度下以 14℃/min 复温对比图
Fig. 10 Grape cell pictures at different thawing temperatures under 14℃/min

图 11 为葡萄细胞在不同温度下以 20℃/min 复温的复温图, 由表 1 可知在 20℃/min 速率下将葡萄细胞的冰点为 -31.1℃, 因此将葡萄细胞冷冻到 -26.1℃ 和 -21.1℃ 后开始复温到室温 28℃ 左右, 图 12 表示在 50℃/min 下葡萄细胞的冰点为 -47.9℃, 因此将葡萄细胞冷冻到 -42.9℃ 和 -37.9℃ 后开始复温到室温 28℃ 左右, 复温后观察细胞膜严重破损, 细胞壁断裂, 汁液外流。葡萄细胞

严重破损, 对比图 9、10 和图 11、12 说明复温速率越大, 复温后对细胞的破坏越大。

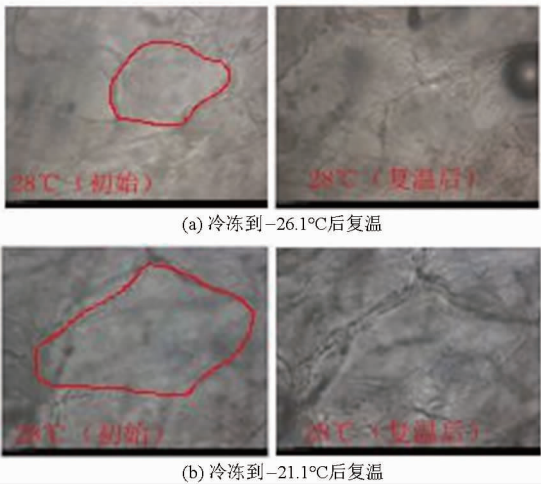


图 11 葡萄细胞在不同温度下以 20℃/min 复温对比图
Fig. 11 Grape cell pictures at different thawing temperatures under 20℃/min

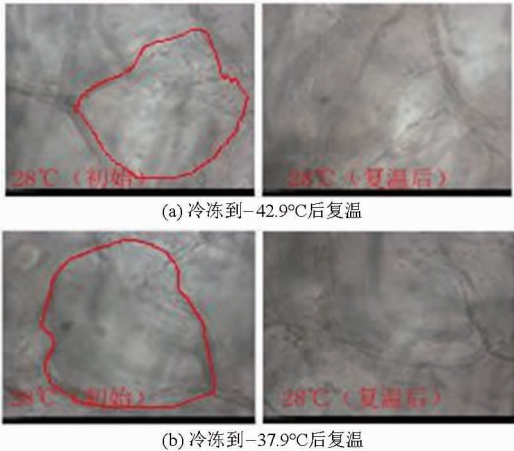


图 12 葡萄细胞在不同温度下以 50℃/min 复温对比图
Fig. 12 Grape cell pictures at different thawing temperatures under 50℃/min

4 结论

- (1) 葡萄细胞的结冰温度随冷冻速率的增加而降低, 而且速率越大, 结冰时间越短, 由 2℃/min 到 50℃/min 冷冻速率变化过程中, 细胞的结冰温度下降幅度达 100%, 而对应的结冰时间仅为原来的 6%。
- (2) 葡萄细胞体积变化的总趋势是随温度的降低而减小, 由于细胞内的自由水体积在 -5 ~ 0℃ 会增大, 使细胞体积有所增大。
- (3) 冷冻过程中葡萄细胞的渗透系数随温度的降低而降低, 随冷冻速率的降低而降低。
- (4) 在葡萄细胞的冷冻-复温过程中, 冷冻到结冰温度 10℃ 以上再进行复温过程能有效减少细胞的破损; 复温速率越大, 复温后对细胞的破坏越大。

参 考 文 献

- 1 MERYMAN H T, WOLSTENHOIME O E W, O'CONNOR M. The exceeding of a minimum tolerable cell volume in hypertonic suspension as a cause of freezing injury[C]//The Frozen Cell: A Ciba Foundation Symposium, 1970: 51 – 64.
- 2 BANK H. Visualization of freezing damage structural alterations during warming [J]. Cryobiology, 1973,10(2):157 – 170.
- 3 MACKENZIE A P. Death of frozen yeast in the course of slow warming in the frozen cell[M]//WOLSTENHOIME O E W, CHURCHILL G E W. The Frozen Cell, London: John Wiley & Sons, Ltd,2008:89 – 96.
- 4 DILLER K R. Quantitative low temperature optical microscopy of biological systems[J]. Journal of Microscopy, 1982, 126(1): 9 – 28.
- 5 DILLER K R, CRAVALHO E G. A cryô microscope for the study of freezing and thawing process in biological systems [J]. Cryobiology, 1970,7(4 – 6): 191 – 199.
- 6 ACHARYA T, DEVIREDDY R V. Cry microscopic investigations of freezing processes in cell suspensions [J]. The Open Biotechnology Journal, 2010, 4:26 – 35.
- 7 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(9):1441 – 1449.
- 8 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(2):52 – 54.
FAN Zhenjiang, GAO Yuanjun, CHANG Guangshuang, et al. Effects of different freezing temperatures on the cells structures and texture of kiwi fruit dices [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing,2008(2): 52 – 54. (in Chinese)
- 9 晏绍庆,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, 2000,22(3): 202 – 205.
YAN Shaoqing, PENG Haizhu, HUA Zezhao, et al. Effects of pretreatment, quick-freezing and straggling on potato slices' cell structure and texture[J]. Journal of University of Shanghai for Science and Technology, 2000,22(3):202 – 205. (in Chinese)
- 10 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,2002,16(2):37 – 38.
LI Jilie, CHEN Yongan, TANG Songyuan, et al. The influence of frozen cells of chestnut kernel structure and researches on the change of enzyme activity[J]. China Forestry Science and Technology, 2002,16(2):37 – 38. (in Chinese)
- 11 ACKER J P, CROTEAU I. Pre- and post-thaw assessment of intracellular ice formation [J]. Journal of Microscopy, 2004, 215(2):131 – 138.
- 12 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,2003,25(4):231 – 234.
ZHANG Shaozhi, WANG Zang, CHEN Guangming, et al. Cry microscope and its use in the observation of intracellular ice [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2003,25(4):231 – 234. (in Chinese)
- 13 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.
GAO Yongyi. Study on the mechanical behavior of plants and its application in the study of mechanical damage of fruits [D]. Beijing: China Agricultural University, 2003. (in Chinese)
- 14 曾彦彰. 预处理生物材料的差示扫描量热学研究[D]. 北京:中国科学院,2009.
ZENG Yanzhang. Differential scanning calorimetric study on pretreated biological materials [D]. Beijing: Chinese Academy of Science, 2009. (in Chinese)
- 15 潘见,陈元生,高良润. 农产品流变-热力学特性初探[J]. 江苏工学院学报,1987,8(4):17 – 24.
PAN Jian, CHEN Yuansheng, GAO Liangrun. Approach torheo – thermodynamic characteristics of farm products[J]. Journal of Jiangsu Institue of Technology,1987,8(4):17 – 24. (in Chinese)
- 16 WU N, PITTS M J. Development and validation of a finite element model of an apple fruit cell[J]. Postharvest Biology and Technology, 1999,16 (1):1 – 8.
- 17 DEVIREDDY R V, RAHA D, BISCHOF J C. Measurement of water transport during freezing in cell suspensions using a differential scanning calorimeter[J]. Cryobiology,1998,36(2):124 – 155.
- 18 MORI Shoji, CHOI Jeunghwan, DEVIREDDY R V, et al. Calorimetric measurement of water transport and intracellular ice formation during freezing in cell suspensions[J]. Cryobiology, 2012, 65(3): 242 – 255.
- 19 PITT R E, DACIS D C. Finite element analysis of fluid-filled cell response to external loading[J]. Transactions of the ASAE, 1984,27(6):1976 – 1983.
- 20 孙明哲. 低温胁迫对玉米幼苗生理指标的影响[D]. 沈阳:东北农业大学,2012.
SUN Mingzhe. Effect of low temperature stress on physiological index of maize seedlings[D]. Shenyang: Northeast Agricultural University, 2012. (in Chinese)