

微波对模式蛋白自由基生成及氧化特性的影响

Effects of microwave on free radical production and oxidative properties of model protein

王婷婷¹ 原江锋^{1,2} 汪伦记^{1,2} 张彬^{1,2}

WANG Ting-ting¹ YUAN Jiang-feng^{1,2} WANG Lun-ji^{1,2} ZHANG Bin^{1,2}

邱智军^{1,2} 龚明贵^{1,2} 尹启航¹

QIU Zhi-jun^{1,2} GONG Ming-gui^{1,2} YIN Qi-hang¹

(1. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023;

2. 河南科技大学食品加工与安全国家级实验教学示范中心, 河南 洛阳 471023)

(1. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China; 2. Henan University of Science and Technology, National Experimental Teaching Demonstration Center of Food Processing and Safety, Luoyang, Henan 471023, China)

摘要:以模式蛋白牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA)为研究对象,研究 BSA 在微波场中自由基生成规律及氧化特性之间的关系。以 5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物(5,5-dimethyl-1-pyrrolin N-oxide, DMPO)为捕获剂,电子顺磁共振(Electron paramagnetic resonance, EPR)为检测手段,对不同微波处理条件下 BSA 产生的自由基进行研究。结果表明,BSA 在微波处理后产生碳自由基信号,且自由基信号强度随着微波功率、温度和时间增加逐渐增大。在不同的微波温度条件下测定 BSA 的羰基、巯基及表面疏水性蛋白氧化特性,结果表明随着微波温度的提高羰基含量增加,巯基含量降低,表面疏水性含量先增加后缓慢下降。结合微波辐射 BSA 过程自由基的生成情况和氧化特性的结果,微波处理 BSA 采用 400 W、60 °C、较长时间的条件可以降低对 BSA 氧化特性的影响。

关键词:微波;模式蛋白;自由基;电子顺磁共振;氧化特性

Abstract: Bovine Serum Albumin (BSA), a model protein, was used to study the relationship between the free radical production and oxidative properties in the microwave field. Electron paramagnetic resonance (EPR) trapping with 5, 5-dimethyl-1-pyrrolin N-oxide (DMPO) was used for the detection of free radical produced by BSA

under different microwave treatment conditions. The signal intensity of free radicals arose from BSA solution via the increasing of power, temperature, and time after microwave irradiation. By measuring the carbonyl, thiol and surface hydrophobic oxidative properties of BSA under different microwave temperatures. It was showed that the carbonyl content increased, the thiol content decreased, and the surface hydrophobic content increased first and then decreased slowly with the increase of microwave temperature. Combining the results of free radical formation and oxidative characteristics during microwave irradiation, it was suggested that the microwave treatment of BSA should be carried out under the conditions of 400 W, 60 °C, and longer time, this condition reduces the effect of BSA oxidation characteristics.

Keywords: microwave; model protein; radical; electron paramagnetic resonance; oxidative characteristics

微波技术广泛用于食品加工领域和微波辅助提取等方面。由于加热快、操作简便、高效节能等特点,微波炉已成为众多家庭必不可少的厨房用具。大多数食物中含有蛋白质,所以用微波处理富含蛋白质的食物时会产生怎样的影响是许多学术研究和应用研究关注的重点^[1]。近年来,国内外已有部分学者研究了微波对蛋白质结构、功能和品质的影响,Byaruhanga 等^[2]发现微波加热高粱醇溶蛋白后使其 β -折叠结构含量增加;Thostenson 等^[3]提出微波通过电磁场引起蛋白质内部分子间发生摩擦造成分子间共价键或非共价键的断裂;胡博等^[4]提出微波处理米蛋白后产生自由基并使米蛋白受热分解;El-Shimi^[5]发现微波烹饪及复热牛肉片时,牛肉

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31870093);青年科学基金项目(编号:31701536);河南省自然科学基金项目(编号:182300410081,182300110081)

作者简介:王婷婷,女,河南科技大学在读硕士研究生。

通信作者:原江锋(1978—),女,河南科技大学副教授,博士。

E-mail:jiangfengyuan@163.com

收稿日期:2018-09-11

片风味较传统加热得分更高。但上述研究着重关注微波技术的工艺参数优化或者对微波工艺对蛋白质结构的初步探讨,而关于不同微波条件引起蛋白质变化及引起变化的可能机制鲜有报道,Bohr等^[6]发现微波促使蛋白质折叠变性不仅仅是熵驱动的,也是扭转力和弯曲力竞争的结果,也就是说微波对蛋白质的影响存在非热效应。微波技术引起蛋白质的改变是否对食品的安全性造成威胁目前仍不确定,这也是人们对采用微波炉来加热和烹饪食物的安全性担忧的主要原因。

食品蛋白种类多,生物学功能多,结构复杂;BSA属于实验室广泛使用的简单模式蛋白,BSA的结构和功能清晰,研究微波辐射对BSA的影响,对了解微波辐射蛋白质的影响有一定的理论意义。本试验拟以模式蛋白BSA为研究对象,分析在不同微波处理条件下BSA自由基的生成规律及其氧化特性的变化,了解微波不同条件对BSA的影响,以期对微波处理富含蛋白质食物时对蛋白质特性的可能影响提供参考,为微波技术应用于食品加工中食品的安全性和食品品质的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

BSA:纯度 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司;

DMPO:纯度 $\geq 98\%$,美国Sigma公司;

L-亮氨酸、邻苯二甲醛、十二烷基硫酸钠、硼砂、 β -巯基乙醇、盐酸胍、乙醇、乙酸乙酯、三氯乙酸、盐酸、2,4-二硝基苯肼、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、无水乙醇、5,5'-二硫代双、8-苯胺-1-萘磺酸:分析纯;

其他常规试剂:AR级,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

实验室微波合成仪:XH-MC-1型,北京祥鹤科技发展有限公司;

荧光光谱仪:RF-5301PC型,日本岛津公司;

紫外可见分光光度计:UV765型,上海仪电分析仪器有限公司;

电子顺磁共振波谱仪:JES-FA200型,日本JEOL公司;

低温冷却液循环泵:DLSB-10L型,巩义市予华仪器有限责任公司;

大扭矩调速型蠕动泵:WT600S型,保定雷弗流体科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 微波功率、微波温度、微波时间对自由基的影响 微波仪具有加热速度快、效率高的特点,但具有试验温度不易控制的特点。为了使样品持续性地接受微波辐射,本试验将加热样品置于密闭的外置冷循环体系中,系统通过温度传感器实时监测,将500 mmol/L的DMPO甲苯溶液作为自由基捕获剂加入1 mg/mL的BSA溶液,微波频率2 450 kHz,温度60℃,时间3 min,功率分别为100,200,400,600,800 W;功率400 W,时间3 min,温度分别为20,40,60,80,100℃;

功率400 W,温度60℃,时间分别为3,5,8 min来处理样品;用电子顺磁共振波谱仪测定不同微波功率、微波温度、微波时间对自由基信号强度的影响。

1.2.2 EPR波谱检测 自由基捕获条件:取微波处理样品20 μ L置于EPR的共振腔中,图谱在室温20℃下测定,设置EPR中心磁场强度326 mT,扫描宽度为100 G,调制频率86 kHz,调制幅度1 G,扫场时间40 s,来捕获自由基信号。

g 值根据共振式(1)^[7]计算:

$$g = \frac{h \times \nu}{\beta \times H}, \quad (1)$$

式中:

h ——普朗克常数;

β ——玻尔磁子;

ν ——微波频率,GHz;

H ——磁场,kG(1 G=0.1 mT)。

1.2.3 羰基含量的测定 根据文献[8],修改如下:吸取经功率400 W、时间3 min、温度分别为40,60,80,90,100℃处理的1.0 mg/mL BSA溶液各1 mL于离心管中,每管中加入200 μ L含浓度为10 mmol/L的2,4-二硝基苯肼(DNPH)的2 mol/L的HCl,对照组加入200 μ L不含DNPH的2 mol/L的HCl溶液,室温下避光反应1 h(每隔10 min旋涡一次),然后加入1.2 mL质量分数为20%的TCA,静置10 min,混合溶液11 000 r/min离心15 min,弃上清。沉淀用体积分数为1:1的乙酸乙酯和乙醇的溶液1 mL洗涤,再次11 000 r/min离心5 min,弃清液。加入2 mL的6 mol/L的盐酸胍溶液,37℃下溶解沉淀20 min(每隔5 min旋涡一次),未经微波处理的样品为空白对照,试验重复3次。羰基摩尔浓度按式(2)计算:

$$C_0 = \frac{A \times D}{\epsilon \times C}, \quad (2)$$

式中:

C_0 ——羰基的摩尔浓度,mol/g;

A ——367 nm处的吸光度;

D ——稀释倍数;

C ——蛋白质浓度,mg/mL;

ϵ ——消光系数,22 000 $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ 。

1.2.4 巯基含量的测定 根据文献[9],修改如下:吸取经功率400 W、时间3 min、温度分别为40,60,80,90,100℃处理的1.0 mg/mL BSA溶液1 mL,加入50 μ L的5,5'-二硫代双-2-硝基苯甲酸溶液(DTNB)(39.6 mg DTNB溶于10 mL 100 mmol/L pH 8.0磷酸盐缓冲液),再加入2 mL pH 8.0的磷酸盐缓冲液(含有1.0 mmol/L的EDTA和1% SDS),于25℃保温60 min。412 nm处测定吸光度 A ,空白对照用水代替样品。 A_1 为有DTNB存在时样品的吸光值, A_2 为无DTNB存在时样品的吸光值,其他条件完全相同,试验重复3次。巯基含量按式(3)计算:

$$C_0 = 73.53 \times (A_1 - A_2) \times D \div C, \quad (3)$$

式中:

C_0 ——巯基的浓度,mol/g;

D ——蛋白质溶液的稀释倍数;

C ——蛋白质溶液的浓度, mg/mL。

1.2.5 表面疏水性的测定 根据文献[10],修改如下:吸取经功率 400 W、时间 3 min、温度分别为 40, 60, 80, 90, 100 °C 处理的 1.0 mg/mL BSA 溶液,用 10 mmol/L pH 7.0 磷酸盐缓冲液稀释样品浓度在 0.05~1.00 mg/mL。取样品液 2.0 mL,加入 20 μ L 的 8 mmol/L ANS 溶液,震荡,静置 3 min。设定激发波长 390 nm,发射波长 470 nm,狭缝校正 5 nm 条件下测定样品的荧光强度,试验重复 3 次。以蛋白质浓度对荧光强度作图,BSA 分子的表面疏水性指数是曲线最初阶段的斜率值。

1.2.6 数据分析 绘图采用 Origin 2017 软件;应用 SPSS 13.0 软件进行分析,试验数据用 $x \pm s$ 表示。

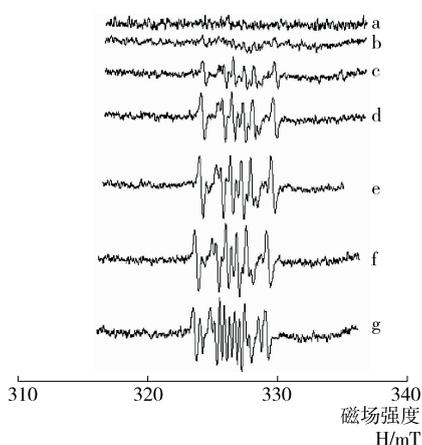
2 结果与讨论

2.1 微波处理 BSA 的 EPR 波谱

为了鉴别微波处理 BSA 产生的自由基类型以及自由基信号的相对强度,分别对不同微波条件的样品进行 EPR 检测。图 1 中谱线 a 可见,仅有 DMPO 捕获剂的试验体系几乎没有 EPR 信号,因此试验观察到的自由基信号仅在 BSA 存在的情况下才产生。图 1 谱线 b 中未经微波处理的 BSA,具有较低强度的自由基信号峰,可推测 BSA 本身含有一定数量的自由基。图 1 谱线 c~g 表明,随着微波功率的增强,自由基信号逐步增强,而且自由基信号峰的位置和峰形一致,表明不同微波功率处理 BSA 后自由基的种类没有发生明显的变化。BSA 的 EPR 波谱中源于碳原子的自由基信号,其 g 值范围为 2.004 1~2.005 4。从信号的 g 值范围、线宽及线型来看,该碳自由基或者位于蛋白质侧链的其他碳原子上,或者位于 BSA 骨架的 α -碳原子上^[11]。

2.2 微波功率对 BSA 自由基强度的影响

以 DMPO 作为捕获剂对不同功率微波条件下 BSA 的



a. 500 mmol/L DMPO EPR 谱线 b. BSA 的 500 mmol/L DMPO EPR 谱线 c~g. BSA 的 500 mmol/L DMPO 分别在 100, 200, 400, 600, 800 W 的 EPR 谱线

图 1 BSA 微波处理前后的 EPR 谱线

Figure 1 EPR spectrum of BSA before and after of microwave treatment

自由基进行分析。由图 2 可见,随着微波功率的增加,BSA 自由基信号强度也随之增大,并且自由基信号绝对误差也随着微波功率的增加而增大。在低功率自由基信号弱的原因可能是低功率微波条件下电磁能转化成热能和化学能较低,还不足以引发大量自由基的生成;并且 1.0 mg/mL BSA 溶液体系中的水分对自由基具有一定的猝灭作用,因此检测到的自由基信号较弱。高功率自由基信号强可能是高功率微波条件下电磁能转化成的热能和化学能较高,引发大量自由基的生成;且 1.0 mg/mL BSA 溶液体系中的水分对自由基的猝灭作用不足以使生成的较多自由基明显降低。微波功率是一个影响微波自由基的主要因素,可以推测微波加热富含蛋白质食物时,为了避免微波电磁能转化成热能和化学能而生成的自由基对蛋白质的氧化特性造成影响,可以选择低于 400 W 来处理食物,这样对富含蛋白质食物的影响较小。

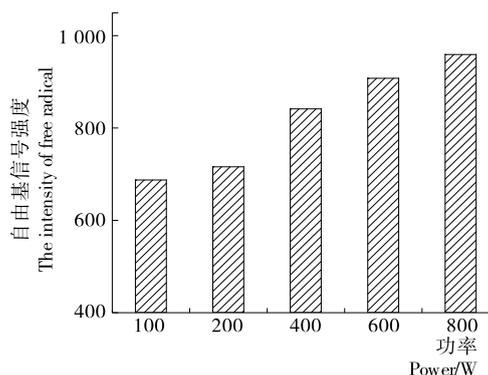


图 2 不同微波功率下 BSA 自由基信号强度

Figure 2 The intensity of free radical spin adducts treated in BSA at various microwave power

2.3 微波温度对 BSA 自由基强度的影响

如图 3 所示,在 BSA 溶液中自由基信号强度在 20~100 °C 时随微波温度的升高而增加,但是在超过 60 °C,自由基信号增幅变小。微波温度对体系的影响比较复杂,因为温度可以影响气体溶解度、表面张力和液体蒸气压^[12]。温度升高,使溶液的表面张力和黏度降低,而增加了液体蒸气压。这可能在高温下 DMPO/自由基不稳定^[13],因此在超过 60 °C 时 DMPO/碳自由基没有较大增幅,同样 Zhang 等^[14]

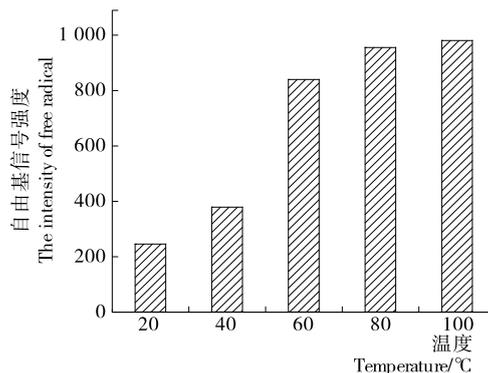


图 3 不同微波温度下 BSA 自由基信号强度

Figure 3 The intensity of free radical spin adducts treated in BSA at different various microwave temperature

也报道了 DMPO 诱导的 1-羟基乙基自由基在高温下不稳定的结果。本试验从 BSA 自由基形成的数量表明,温度也是影响自由基的主要因素,随着温度的升高,体系产生自由基数量也随之增加。综合微波温度对 BSA 碳自由基、羰基、巯基和表面疏水性的结果,采用 60 °C 处理对 BSA 的影响较小。

2.4 微波时间对 BSA 自由基强度的影响

如图 4 所示,在 BSA 溶液中自由基自旋加合物信号强度随着微波加热时间的延长逐步增加,但是超过 5 min 的微波加热时间,自由基信号强度增长缓慢。初始阶段是自由基积累的阶段,随着加热时间的延长,自由基没有较大的增幅。随着时间的延长,自由基增加的幅度远远小于功率和温度的增加而造成自由基增加的幅度,因此微波时间不是影响微波自由基的重要因素。可以推测微波加热富含蛋白质食物时,为了避免微波辐射对蛋白质结构造成的影响,可以低功率、60 °C、较长时间来处理食物,这样对富含蛋白质食物的影响最小。

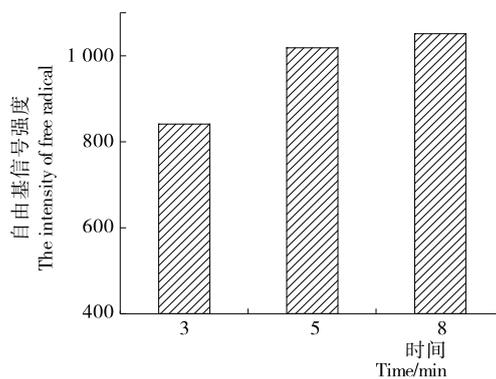


图 4 不同微波时间 BSA 自由基信号强度

Figure 4 The intensity of free radical spin adducts treated in BSA at different various microwave time

2.5 微波温度对 BSA 羰基含量的影响

蛋白质羰基含量是用来衡量蛋白质氧化程度的重要指标之一,精氨酸、赖氨酸、组氨酸和脯氨酸上带有的 NH^+ 或 NH_2^+ 对自由基非常敏感,而这些敏感基团发生美拉德反应可能引入羰基结构^[15]。如图 5 所示,对照组的羰基含量最低,随着微波处理温度的升高,BSA 体系的羰基含量随之增加,当温度达到 100 °C 时,BSA 的羰基含量最高。试验结果表明,随着温度的升高体系中的自由基增多,造成 BSA 氧化程度也随之增高。微波辐射对 BSA 羰基含量的结果进一步表明,适宜低于 80 °C 处理样品,对 BSA 羰基含量的影响较小。

2.6 微波温度对 BSA 巯基含量的影响

蛋白质中具有最高反应活性的基团是巯基和二硫键,体系中巯基被氧化转变为二硫键或者二硫键的断裂都对巯基含量的高低造成影响,因此巯基含量的测定是研究蛋白质特性的重要指标。如图 6 所示,体系温度的变化对巯基含量的影响同羰基变化趋势恰好相反。随着微波体系处理温度的升高,BSA 的巯基含量也随之下降,表明蛋白质中的巯基在

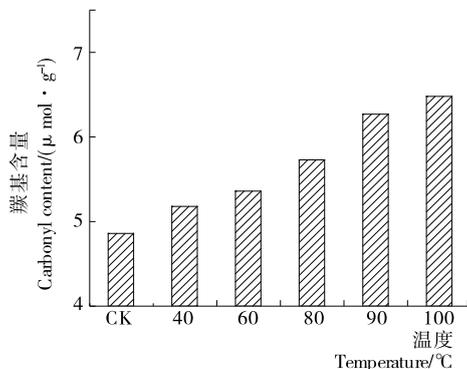


图 5 微波辐射下 BSA 的羰基含量变化

Figure 5 Changes in carbonyl content of BSA under microwave irradiation

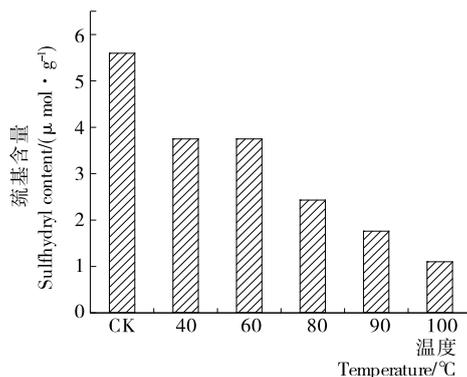


图 6 微波辐射下 BSA 的巯基含量变化

Figure 6 Changes in sulfhydryl content of BSA under microwave irradiation

微波处理条件下由于生成二硫键、亚磺酸或磺酸,导致 BSA 巯基含量下降^[16]。从试验结果表明,在低于 60 °C 条件下,巯基含量的变化不明显;当高于 60 °C 时巯基含量发生明显的下降。试验结果进一步表明高温引起 BSA 巯基含量发生变化,因此微波处理富含蛋白质的食物宜采用低于 60 °C 来减少对食物品质的影响,刘树萍等^[17]也报道了低温处理牛排的方法使牛排的品质最佳。

2.7 微波温度对 BSA 表面疏水性的变化

蛋白质的表面疏水性是蛋白质表面结构重要特性之一,对稳定蛋白质结构和发挥蛋白质功能活性起着决定性作用。研究蛋白质的表面疏水性有助于了解蛋白质在不同体系中的结构变化等^[18]。如图 7 所示,与未处理的 BSA 相比,经过微波处理后 BSA 表面疏水性增强。表面疏水性的增强可能是原来埋藏在 BSA 内部的疏水区域由于微波辐射使更多疏水区域暴露于蛋白质表面,也可能是 BSA 发生了折叠或伸展,当 BSA 折叠时,其表面疏水性降低;当 BSA 伸展时,表面疏水性增加。微波温度低于 80 °C 时,BSA 表面疏水性随微波温度上升而增大,可能是微波辐射的热效应导致 BSA 结构变得较松散,使原本处在 BSA 内部的疏水侧链暴露出来而增大了表面疏水性。然而微波温度高于 80 °C 时,随着微波温度的上升 BSA 表面疏水性缓慢下降,可能是 BSA 中羰基含量的增加造成的。试验结果表明,温度是引起 BSA 表

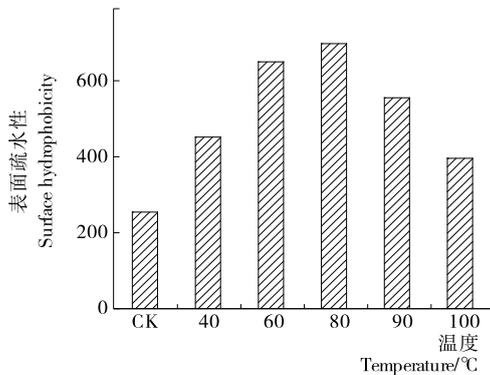


图 7 微波辐射下 BSA 的表面疏水性变化

Figure 7 Changes in surface hydrophobicity of BSA under microwave irradiation

面疏水性变化的重要因素,为防止 BSA 表面疏水性发生较大变化,建议采用低于 60 °C 对 BSA 进行处理。

2.8 自由基信号强度与 BSA 羰基与巯基含量的关系

为了分析微波辐射体系中自由基生成及 BSA 特性的关系,以微波辐射对 BSA 羰基和巯基的影响作为蛋白特性的重要指标,与微波辐射 BSA 体系中自由基信号强度进行分析。由图 8 表明,随着微波处理 BSA 体系温度的升高,捕获到的自由基信号强度也随之增大;BSA 体系中羰基含量增加,巯基含量下降。由结果可以推测,在微波辐射 BSA 体系过程中,在较低的温度下生成了少量碳原子的自由基使 BSA 发生了热解,促使 BSA 生成分子内或分子间二硫键,使巯基含量下降;而随着微波处理温度的升高,有可能造成部分肽链断裂,促使大量的自由基生成,体系中逐步增多的碳原子的自由基进一步使 BSA 中羰基和巯基含量发生变化;由于巯基是 BSA 中具有较高反应活性的基团,因此巯基与羰基比较具有更明显的变化趋势。

3 结论

本研究捕获并且鉴定微波处理 BSA 体系中的自由基为碳自由基,证实了胡博等^[4]对大米蛋白在微波处理后产生自

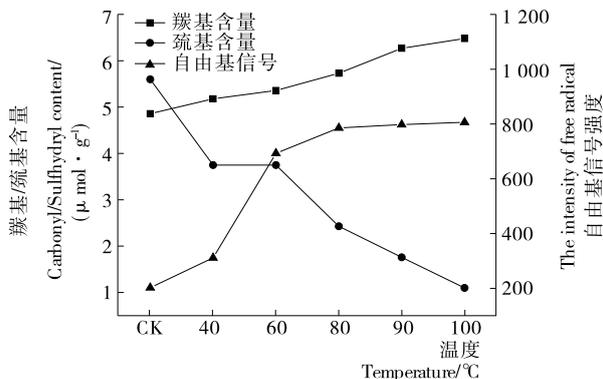


图 8 微波辐射对 BSA 中羰基、巯基含量及自由基信号强度的影响

Figure 8 Effect of carbonyl, sulfhydryl contents and signal intensities of radical during microwave irradiation in BSA

由基的看法。随着微波处理功率、温度、时间的变大,BSA 体系中的自由基强度呈增加的趋势。通过测定 BSA 的羰基、巯基和表面疏水性等氧化指标发现,微波通过电磁场使 BSA 体系内部分子间发生摩擦,使分子内和分子间形成二硫键造成巯基含量的降低,含有 N-末端的氨基酸侧链发生氧化反应形成羰基,使原本处于内部的疏水基团暴露,导致 BSA 部分展开。对模式蛋白 BSA 的研究结果表明:采用 400 W、低于 60 °C、较长时间条件对 BSA 自由基的生成影响较小,同时对 BSA 氧化特性影响小。通过微波辐射模式蛋白 BSA 的研究结果可以推测微波辐射会造成蛋白质体系中自由基的生成,生成的自由基使蛋白质发生氧化造成蛋白质结构发生变化,从而使蛋白质的功能发生变化。本试验发现微波功率也是生成自由基的重要因素,因此微波功率对 BSA 氧化特性的影响值得进一步探讨。

参考文献

- [1] 王春, 吴秋华, 王志, 等. 糊化素与牛血清白蛋白相互作用的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(9): 1 672-1 675.
- [2] BYARUHANGA Y B, EMMAMBUX M N, BELTON P S, et al. Alteration of kafirin and kafirin film structure by heating with microwave energy and tannin complexation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(12): 4 198-4 207.
- [3] THOSTENSON E T, CHOU T W. Microwave processing: fundamentals and applications[J]. Composites Part A: Applied Science and Manufacturing, 1999, 30(9): 1 055-1 071.
- [4] 胡博, 范大明, 乌斯嘎勒, 等. 微波致米蛋白的自由基生成及氧化特性研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(4): 151-156.
- [5] EL-SHIMI N M. Influence of microwave and conventional cooking and reheating on sensory and chemical characteristics of roast beef[J]. Food Chemistry, 1992, 45(1): 11-14.
- [6] BOHR H, BOHR J. Microwave-enhanced folding and denaturation of globular proteins[J]. Physical Review E, 2000, 61(4): 4 310-4 314.
- [7] DADAYLI D, SUNNETCIOGLU M M, KOKSEL H, et al. Detection of irradiated wheat using the electron paramagnetic resonance spin probe technique[J]. Cereal Chemistry, 1997, 74(4): 375-378.
- [8] LEVINE R L, GARLAND D, OLIVER C N, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins[J]. Methods Enzymol, 1990, 186(1): 464-478.
- [9] HOSHI Y, YAMAUCHI F. Determination of sulfhydryl and disulfide contents of soybean 11S globulin and their change by lyophilization[J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 2014, 47(11): 2 435-2 440.
- [10] KATO A, SASAKI Y, FURUTA R, et al. Functional protein-polysaccharide conjugate prepared by controlled dry-heating of ovalbumin-dextran mixtures[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1990, 54(1): 107-112.
- [11] ŁABANOWSKA M, WESELUCHABIRCZYNSKA A, KURDZIEL M, et al. The mechanism of thermal activated radical formation in potato starch studied by electron paramagnetic resonance and Raman spectroscopies[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 91(1): 339-347.

(下转第 74 页)

较好地验证仿真结果:谐振液位 50 mm 与非谐振液位 80 mm 相比,尽管空化域大小相似,谐振液位 50 mm 形成了与谐振声能分布相仿的远场空化效应,而非谐振液位 80 mm 只表现出声源附近的近场空化能力。谐振液位 100 mm 时不但空化域大小有所增强,更表现与谐振声能分布相仿的近场及远场的空化能力。

图 6(d)~(f)表明,谐振液位 100 mm 时,声源的不同浸入深度对空化域大小影响显著。在相同声源功率条件下,声源的不同浸入深度对场内平均声能密度分布无明显影响,即料腔声场的模态特性变化受变幅杆浸入体积的影响较小,但平均声能密度的幅值变化非常显著。随着声源浸入深度变大,平均声能密度的幅值逐渐增大,浸入深度 15 mm 时幅值接近最大,此时空化效应大大增强,如图 6(d)所示。浸入继续增加,平均声能密度的幅值呈下降趋势,当深度到达 50 mm 时平均声能密度幅值接近最小。料腔中空化分布的试验结果也较好地验证了场内声能的分布特性。

3 结论

(1) 应用有限元分析方法,分析了定容料腔声场的声模态特性。以半径 42 mm 圆柱形料腔为例,根据其工况声源频率、实际边界条件和料液材质,应用声模态法可以确定其谐振液位(一、二阶)高度分别为 50,100 mm,确定谐振液位为增强场内声能辐射效率提供了理论分析基础。

(2) 对于定容料腔声场而言,液位高度对声场内能量分布影响显著。当声源功率相同时,非谐振液位下平均声能密度幅值受限,且空化效应分布于声源附近,作用区域有限,远场空化能力弱;谐振液位下平均声能密度幅值大大增加(大约为非谐振液位的 25~60 倍),空化效应显著增强,空化区域呈现稳定的空间分布,且表现出明显的远场空化能力。

(3) 在谐振液位条件下,声源的浸入深度也是影响声能密度幅值与空化效应的重要因素。浸入深度的变化对场内声能及空化的空间分布影响较小,对声能幅值和空化域的大小影响显著。浸入深度为声波第一峰值附近时,声能幅值接近最大,空化域面积增大。浸入深度为声波第一波节处时,声能幅值接近最小,空化域面积大大地减少。

本试验研究了柱形料腔中超声空化能的空间分布,尚未涉及料腔形状、功率变化、多声源等因素的影响,后续研究在考虑上述因素基础上,对声源与容腔器形的耦合、大振幅非线性效应、多声源匹配进行深入探讨,实现超声破碎应用中

能量效率转化的高效与可控。

参考文献

- [1] BIRKIN P R, LEIGHTON T G, POWER J F, et al. Experimental and theoretical characterization of sonochemical cells Part 1: cylindrical reactors and their use to calculate the speed of sound in aqueous solutions[J]. *Journal of Physical Chemistry A*, 2003, 107(2): 306-320.
- [2] 甘露华, 张晓东, 丁艳红. 大尺寸圆锥形超声变幅杆谐振频率的瑞利修正[J]. *中国农机化学报*, 2015, 36(1): 98-101.
- [3] 杨超华. 大直径超声变幅杆端面振幅的分布与影响因素[J]. *噪声与振动控制*, 2008(3): 49-51.
- [4] 张宇宁. 大截面复合超声变幅杆振动特性研究[J]. *机械制造*, 2015, 53(1): 41-43.
- [5] KLÍMA J, FRIAS-FERRER A, GONZÁLEZ-GARCÍA J, et al. Optimisation of 20 kHz sonoreactor geometry on the basis of numerical simulation of local ultrasonic intensity and qualitative comparison with experimental results [J]. *Ultrasonics-Sonochemistry*, 2006, 14(1): 19-28.
- [6] WANG Yi-chun, YAO Ming-chung. Realization of cavitation fields based on the acoustic resonance modes in an immersion-type sonochemical reactor [J]. *Ultrasonics-Sonochemistry*, 2013, 20(1): 565-570.
- [7] 白申兰. 声在大气中的传播、折射和吸收特性[J]. *物理通报*, 1995(8): 35-37.
- [8] CAMPOS L M B C, 籍顺心, 刘良兵, 等. 位势流动和非均匀介质中声波方程的 36 种形式[J]. *力学进展*, 2009, 39(5): 598-627.
- [9] 刘丽艳, 刘芄宏, 杨洋, 等. 超声频率和液位对空化场的影响[J]. *天津大学学报: 自然科学与工程技术版*, 2016, 49(8): 802-808.
- [10] 付丽媛. 声通道上的条状障碍物对 HIFU 声场和生物学焦域的影响研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2009; 22-27.
- [11] 赵小策, 杨平, 祝海江. 光纤水听器测量聚焦换能器声压和温度分布[J]. *北京化工大学学报: 自然科学版*, 2016, 43(5): 84-88.
- [12] 杜江齐, 张树生, 卢瑞祥. 水听器法的医用超声声场参数测量不确定度分析[J]. *中国计量学院学报*, 2012, 23(3): 264-267, 10.
- [13] 卢斌. 超声波换能器谐振频率跟踪方法研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2012: 21-33.
- [12] ZHANG Qing-an, SHEN Hui, FAN Xue-hui, et al. Changes of gallic acid mediated by ultrasound in a model extraction solution[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2015, 22: 149-154.
- [13] BUETTNER G R. Spin Trapping: ESR parameters of spin adducts[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 1987, 3(4): 259-303.
- [14] ZHANG Qing-an, SHEN Yuan, FAN Xue-hui, et al. Free radical generation induced by ultrasound in red wine and model wine: An EPR spin-trapping study[J]. *Ultrasonics-Sonochemistry*, 2015, 27: 96-101.
- [15] SANTELHOUTELLIER V, AUBRY L, GATELLIER P. Effect of oxidation on in vitro digestibility of skeletal muscle myofibrillar proteins [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(13): 5 343-5 348.
- [16] THOMAS J, MALLIS R. Aging and oxidation of reactive protein sulfhydryls[J]. *Experimental Gerontology*, 2001, 36(9): 1 519-1 526.
- [17] 刘树萍, 赵钜阳. 真空低温慢煮牛排的工艺优化研究[J]. *食品工业*, 2017(11): 28-32.
- [18] HASKARD C A, ECY L C. Hydrophobicity of bovine serum albumin and ovalbumin determined using uncharged (PRODAN) and anionic (ANS-) fluorescent probes[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46(7): 2 671-2 677.

(上接第 15 页)