



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

Biotermékek izolálása beadandó feladat

Liofilezés

Készítették:

Goldmann Dóra

Holub Eszter

Petrovai Noémi

Száráz-Nagy Réka

Budapest, 2018. 11. 12.

A liofilezés története

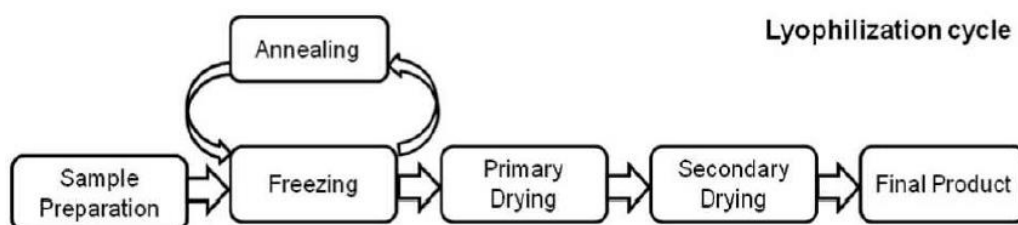
A fagyasztva szárítás múltja egészen a 19. század elejére nyúlik vissza. William H. Wollaston, a brit nemzetiségű orvos-kémikus az elsők között ismerte meg a módszer elvét, amikor egy olyan vákuumszivattyúval rendelkező berendezést tervezett, amely egy üvegcsőből és a végén két üveggömbből állt. Kísérlete során az egyik gömbben víz volt, a másikat pedig alacsony hőmérsékletű só-jég keverékbe merítette. Wollaston azt figyelte meg, hogy vákuum hatására a víz megfagy, majd olvadás nélkül eltűnik és a másik gömbben kondenzálódik.

Az első liofilező készüléket a 20. század elején mutatták be a Francia Tudományos Akadémián, az eljárás egyre inkább népszerűvé vált. Előszeretettel alkalmazták biológiai minták tartósítására, valamint a penicillin izolálás során. A II. világháború során a módszer fontossága tovább nőtt, hiszen segítségével nagy mennyiségű vérplazma előállítása vált lehetővé, amelyet elsősorban katonai célokra használtak fel.

A liofilezés technológiáját két nagy iparág, az élelmiszer- és a gyógyszeripar használja leginkább. Az élelmiszeriparban gyakran használt szárítási művelet, hiszen a termékek nedvességtartalmának csökkentésével a baktériumok és penészgombák szaporodása visszaszorítható, valamint az enzimek által katalizált reakciók sebessége csökkenhető.

A liofilezés művelete:

A liofilezés több szakaszra osztható szakaszos művelet, mely a mintaelőkészítésre, a fagyasztásra (vagy előfagyasztásra), az elsődleges szárításra (vagy szublimációs szárításra) és a másodlagos szárításra (deszorpcióra) bontható. A fagyasztva szárítás lényege, hogy az anyagokból a vizet először megfagyasztjuk, majd a jégkristályokat elpárologtatjuk a folyadék fázis kihagyásával, vagyis a szublimáción alapszik. Így egy olyan anyagot kapunk, amely szereti a száraz állapotot, melyre a liofilizálás szó is utal. Az így előállított terméket csupán víz (puffer) hozzáadásával rehidratálható és (szinte) azonnal használni lehet.



A művelet megkezdése előtt kiemelten fontos a minta megfelelő előkészítése. A mintáink általában vizes közegben oldott, diszpergált részecskék, melyek legtöbb esetben biológiai

aktivitással rendelkeznek, így kiemelten fontos a pH megfelelő beállítása. A pH beállítást pufferekkel végezzük, ám nem mindegy, hogy milyent használunk. A foszfát-pufferek pH-ja a hőmérséklet csökkenésével változik, így ezek helyett inkább citrát és hisztidin pufferek alkalmazása javasolt.. Szintén fontos figyelembe venni, hogy az ionerősség is változik a lehűtés során, így az erre érzékeny anyagok kicsapódhatnak. Egyéb adalékok hozzáadásával elősegíthető a kristályosodás, kristályképzés (ha az anyagunk koncentrációja nagyon kicsi), illetve stabilizálható a kialakuló szerkezet, meggátolható a nagy jégkristályok kialakulása fagyásgátlók hozzáadásával. A szárítandó anyag makromérete is befolyásolja a liofilizálás hatékonyságát, így az anyagot érdemes a megkívánt szemcseátmérőre beállítani már a fagyasztás előtt, vagy azt követően.

Az előfagyasztás:

A liofilezés, vagy fagyasztva szárítás első lépése a fagyasztás/előfagyasztás. Alkalmazhatunk önfagyasztást, ilyenkor nagy vákuumot adunk a rendszerre, a víz elpárolog, a párolgáshoz szükséges hőt a környezetéből veszi fel, ami így lehűl, megfagy. De végezhetjük légköri nyomáson is, ilyenkor jóval a hármas ponti hőmérséklet alá hűtjük az anyagunkat. (A hármas pont az a pont a víz hőmérséklet-nyomás fázisdiagramján, ahol a 3 fázis (gáz, folyadék, szilárd) egyensúlyban van egymással (0,01 °C; 0,00603 atm).) A fagyasztás sebességétől függően alakulnak ki az anyagban a jégkristályok. Ha gyorsan fagyasztunk, akkor sok apró kristály keletkezik, ami jó, ha fagyasztva szeretnénk tárolni sejteket, hiszen ezek a kisméretű kristályok nem roncsoľják a sejtmembránokat, ilyenkor az anyag szerkezete változás nélkül megmarad, azonban megnehezíti a liofilezést. Ha lassan végezzük a fagyasztást, nagy kristályok keletkeznek, melyek roncsoľják a membránokat, inaktiválhatják a biológiai funkciót az egyes anyagoknál, és ezek nagy csatornákat hagynak maguk után a szárítási fázisok befejeztével, ami gyorsabb szárítási folyamatot jelent, ugyanakkor roncsoľt szerkezetet is. Az anyagunk kétféle módon fagyhat meg. Leggyakrabban az oldott anyagok eutektikumot képeznek, ekkor ők később fagnak meg, mint a körülöttük lévő oldószer, vagyis a víz, ilyenkor az eutektikus pont alá kell hűteni a mintát. Másik lehetséges viselkedés, mely szuszpenziók esetében jellemző, hogy a hőmérséklet csökkenésével egyre nő a minta viszkozitása és egy üvegszerű, amorf anyag keletkezik. Ebben az esetben a liofilezés kivitelezése nehéz feladat.

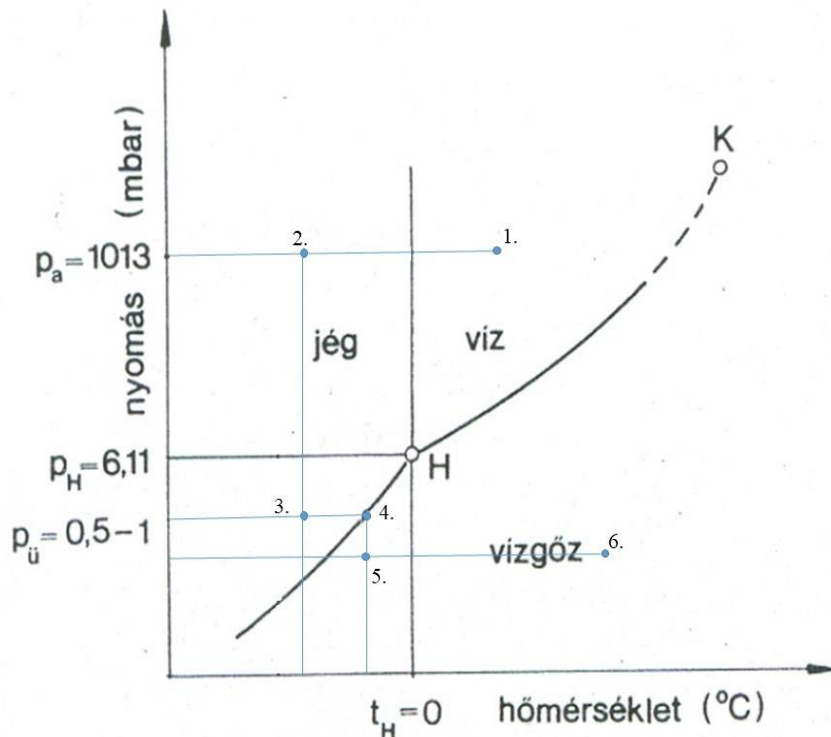
Az elsődleges szárítás/ Szublimációs szárítás:

Ebben a lépésben a már megfagyott mintából megkezdődik a víz elvonása szublimációval, mely a nyomás és hőmérséklet megfelelő összehangolt változtatásával történik. Az anyagot nagy

vákuum alá helyezzük. A művelet hajtóereje, hogy a kondenzátor felületén a víz (jég) koncentrációja kisebb, mint az anyagban, így onnan a molekulák a kondenzátorra vándorolnak. A vízgőz nyomása hőmérsékletfüggő, így kiemelten fontos, hogy a minta melegebb legyen, mint a jégkondenzátor felszíne. A hőmérsékletet úgy kell megválasztani, hogy az ne roncsolja a minta szerkezetét, még fagyott állapotú legyen, ugyanakkor minél nagyobb vízgőznyomást lehessen elérni vele. A szublimáció nagy hőt igényel, így ezt fűtőtestekkel biztosítjuk. A folyamat során kialakul egy szublimációs határréteg a már száraz külső, és a belső fagyott részek között. Ez a határréteg folyamatos mozgásban van, ide kell eljuttatni a hőt, és innen kell elvezetni a párát. Ebből következik, hogy a fagyasztva szárítás művelete egyidejű hő- és anyagtranszport. A hőátadás két részre bontható, a fűtőfelület és termék felszíne közötti, illetve a termék felszíne és a szublimációs határréteg közötti hőátadásra. Az előbbi megvalósítása leggyakrabban kontakt, konvekciós fűtéssel, vagy radiációval valósul meg. Az anyagátadás szintén két részre bontható. Először az anyag a határretegről az anyag felszínére jut, majd az anyag felszínéről a jégkondenzátorra. A szárításhoz szükséges időtartamot kísérletileg kell meghatározni.(Antal)

Az utószárítás/ másodlagos szárítás:

Bár az előző lépésben az összes vizet, mint oldószert elpárologtattuk a termékben még maradhat nedvesség (kötésben lévő víz), amitől meg kell szabadulni. Ilyen esetben van szükség erre a lépésre. Az itt lejátszódó folyamat már nem szublimáció, hanem deszorpció. Továbbra is vákuum alatt dolgozunk, miközben a hőmérsékletet folyamatosan emeljük. Mivel ebben a fázisban már nem található jég a rendszerben, így nem kell tartanunk attól, hogy túl magas hőmérsékleten megolvad a mintánk, mindössze arra kell figyelni, hogy még megfelelően alacsony legyen a termék hőérzékenységét figyelembe véve, így azt ne károsítsa. Az utószárítás időtartama általában a szublimációs szárítás idejének a fele vagy egyharmada, ezzel is védve a hődenaturálódni hajlamos anyagokat (pl.: fehérjék).(Pécs)



A víz fázisdiagramján végigkövetve a folyamatot, először az előfagyasztás során az 1.-es pontból a 2.-es pontba jutunk el. Ezt követően vákuum alá helyezzük a mintát, a 3.-as pontba jutunk, és elkezdjük melegíteni, 4.-es pontig, ez a szublimációs szárítás. Végül csökkentjük a nyomást (5.) és növeljük a hőmérsékletet (6.) az utószárítási fázisban. Végezetül visszaállítjuk az

atmoszféranyomást a készülékben (ábrán nem látható). A fagyasztva szárított termékeket szobahőmérsékleten lehet tárolni, steril körülmények között, vízmentes környezetben sokáig megőrzik minőségüket.

A liofilező berendezések

Sokféle liofilező berendezést használnak különböző célokra, ám ezek alapvető szerkezeti egységeik megegyeznek. Ezek a következők:

Kamra:

Ez egy vákuumálló tér. Általában rozsdamentes acélból készül, kívülről hőszigetelt. Belül tálcákat tartalmazhat, amire a szárítandó anyag kerül. A kamra ajtaja hidraulikusan, vagy elektronikusan záródik.

Kondenzátor:

A kondenzátor hűtő tekercseket vagy hűtő tányérokat tartalmaz. Ezek funkciója a víz megkötés. A hatékony szárítás eléréséhez a kondenzátorok hőmérséklete 20°C -al alacsonyabb kell hogy legyen a szárítandó termékénél. A kondenzátor lehet belső (ilyenkor a kamrán belül van a hűtő tekercs vagy tányér) vagy külső.

Polimer folyadék rendszer:

Az elsődleges és másodlagos szárításhoz szükséges hőenergiát egy külső hőcserélő biztosítja. Általában szilikon olajt használnak a rendszerben, melyet alacsony nyomáson keringetnek.

Hűtő rendszer:

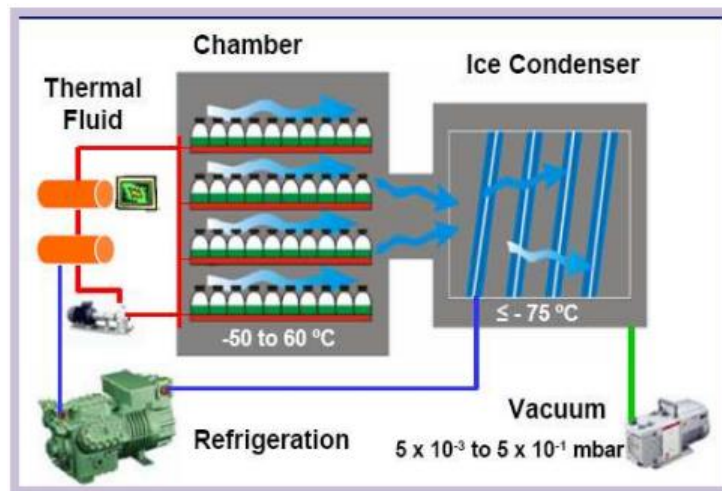
Ez a rendszer hűti a tálcákat és a kondenzátort. A hűtés egy kompresszorral, vagy folyékony nitrogénnel történik.

Vákuum rendszer:

A szárítás közben 50-100 μ Bar a nyomás a rendszerben, hogy az oldószerek el tudjanak párologni. A megfelelően alacsony nyomáshoz kétfázisú rotációs vákuumpumpát használnak. Nagyobb kamra esetén több pumpa is szükséges lehet.

Szabályozó rendszer:

Ez biztosítja a kívánt hőmérséklet és nyomás értékeket valamint a folyamat időtartamát. Mindezek a szárítandó termék minőségétől függenek. A szárítási idő néhány óra és több nap között változhat.



Három különböző fő típusú liofilező berendezést különböztetünk, melyek az alábbiakban láthatóak:

Manifold fagyasztva szárító:

Ezeknél a készülékeknél a kamra egy rövid henger amihez kívülről kapcsolhatók az egymástól elkülönülő, a szárítandó anyagot tartalmazó lombikok. Ezeket a készülékeket főleg kutató laborokban használják, ahol csak kis mennyiségekkel dolgoznak. Előnye, hogy egyszerre több minta szárítható vele egymástól függetlenül. Ezek a berendezések olcsóbbak ám a szárítási folyamat kevésbé kontrolálható. Ezzel a módszerrel 5%-nál kisebb nedvesség tartalmú terméket kaphatunk.

Rotációs fagyasztva szárító:

Ezen berendezéseknél az össze szárítandó anyag egy nagy hengeres forgó tartályban van. A rotációs liofilező berendezések darabos, kisebb gömbökből vagy kockákból álló anyagok szárítására alkalmasak.

Polcos fagyasztva szárító:

A polcos liofilezők általában négyzetes alakú kamrával rendelkeznek melyben polcok találhatóak. Ezekre helyezik a szárítandó mintát közvetlenül, vagy valamilyen tárolóban. Számos különböző anyag szárítására használhatóak Ezen készülékek biztosítják a legszárazabb, legtovább eltartható terméket.

A liofilezés gyógyszeripari felhasználása

A liofilezés technológiai jelentősége a 20. század végére vált igazán szignifikánssá a gyógyszeriparban. Az eljárás a gyógyszerkészítés szempontjából az anyagátadási műveletek közé sorolható, mivel lényege a kíméletes szárítás. A módszer fontossága abban rejlik, hogy speciális, érzékeny anyagok is száríthatóak, így például a fehérjetartalmú gyógyszerkészítmények előállításánál is elengedhetetlen.

A fagyasztva szárítás gyógyszeripari alkalmazása szerteágazó. Ezzel az eljárással készülnek a porampullák, rekombináns DNS technológiával előállított vércsökkentő készítmények, valamint különböző fehérjetartalmú tabletták is. A készítmények kiemelkedően fontosak a vér és vérképző szervek, valamint a daganatos betegségek kezelésében. A porok nedvességtartalma minden esetben kevesebb, mint 1%, ezzel biztosítható a mikrobiológiai stabilitás a tárolás során.

A fehérjetartalmú termékek előállításakor is a stabilitása fenntartása a cél. A injektálható formában lévő termékek gyártása során nehézséget okoz a fehérje hajlamossága a denaturációra, illetve aggregációra. Nem elhanyagolható a molekula dezaminálódása vizes közegben, illetve az ilyen körülmények között felgyorsuló oxidációs folyamatok hatása sem. Ezért a stabilitás megőrzéséhez elengedhetetlen a nedvességtartalom csökkentése, ugyanakkor szükség van nagyon kis mennyiségben a víz jelenlétére a molekula konformációjának fenntartása érdekében. A liofilezés során lioprotektánsokat alkalmaznak, amelyek feladata, hogy a fehérje közelében koncentráljanak annyi nedvességet, amely nélkülözhetetlen a molekula szerkezetének fenntartásához. Ilyen anyagok a cukrok, a polialkoholok, a felületaktív anyagok és az aminosavak is.

A liofilezett készítmények közé tartoznak, a még manapság is újdonságnak számító, szájbán diszpergálódó tabletták is. Ezek a termékek gyors hatóanyag-felszívódást tesznek lehetővé, illetve az alkalmazásuk is kényelmesebb, hiszen nem szükséges víz a bevételükhöz. Előállításuk különböző módon történhet.

A Zydis technológia a ható- és segédanyagokat tartalmazó oldatok készítésével kezdődik. Az oldatokat ezt követően speciális alumínium bliszterbe öntik, majd folyékony nitrogénnel fagyasztják. Az oldószer eltávolítását követően porózus tablettát kapnak, amely rendkívül érzékeny, magas páratartalom hatására elfolyósodik. Az eljárás során a hatóanyagot fizikailag beágyazzák egy diszacharid és polimer tartalmú mátrixba, amelynek oldódási tulajdonságai teszik lehetővé a készítmény diszpergálását már a szájbán.

Hasonló megoldásokat alkalmaz a Quicksolv technológia is, azzal a különbséggel, hogy ebben az esetben a mátrixot alkotó komponenseket vízben oldják, majd az oldatot fagyasztják. Liofilezéssel vagy oldószer extrakcióval távolítják el a vizet a termékből, amely ezáltal szivacszerű rendszert képez.

A Freeze-casting eljárás során a ható- és segédanyagot tartalmazó vizes szuszpenziót öntőformába töltik, majd fagyasztják. A szuszpendált részecskékre nyomást fejt ki a fagyasztás hatására kialakuló térfogatváltozás, és mivel a szuszpenzió alulról érintkezik a hűtőfelülettel, a kialakuló kristályok vertikális irányba nőnek, így dendritikus pórushálózatot alakítanak ki. Liofilezést követően a kapott termék ennek köszönhetően válik porózus szerkezetűvé.

Az előállított készítmények kedvezőbb tulajdonságainak elérésének érdekében gyakran alkalmaznak különböző segédanyagokat, amelyeket töltőanyagként, lioprotektánsként, pH beállításra vagy oldékonyság növelésére használják.

Injekciós oldatok készítése során gyakran alkalmazott töltőanyag a laktóz. Népszerűsége manapság azonban csökken, amelynek egyik oka, hogy mivel tejsavóból állítják elő, így kapcsolatba hozható a fertőző szivacsos agyvelőgyulladással, másrészt pedig fehérje és peptid termék nem készíthető jelenlétében, mivel a laktóz, reakcióba léphet az aminosóporttal.

Közkedvelt segédanyag a trehalóz is, amelynek különlegessége, hogy aminosavakkal és fehérjékkel nem lép kémiai reakcióba, éppen ezért tekinthető lioprotektánsnak, ez a legfontosabb feladata segédanyagként.

A liofilezés élelmiszeripari felhasználása

Az élelmiszeripar egyik kardinális kérdése étелеink tartósítása. Nem csupán abból a szempontból fontos ez, hogy az egyszerre elkészült étel minnél több ideig fogyasztható legyen, de az is lényeges feladat, hogy az idény-ételek, zöldség- és gyümölcsfélék fogyasztása olyan időszakokban is lehetséges legyen, amikor azokhoz friss formában éppen nem tudunk hozzájutni. Élelmiszereink tartósítására rengeteg módszer áll rendelkezésünkre: a befőzés, mely a magas hőmérséklet hatásainak kihasználásán alapul, a magas só- ill. cukorkoncentráció, a szárítás, a népszerű és élelmiszerek tekintetében széles körben alkalmazható fagyasztás vagy akár mesterséges tartósítószer hozzáadása. Minden esetben felmerülnek viszont jelentős kérdések: mennyire tartja meg adott étel az ízét, színét, szagát, állagát a kezelés után? Vitamin- és ásványi anyag tartalma milyen mértékben változik meg az eljárás hatására? Milyenek lesznek az étel mikrobiális, kémia, mechanikai stabilitásának paraméterei? Tárolási, csomagolási és szállítási tulajdonságai megfelelőek lesznek-e a kezelés után? Az első kérdés talán csak “élvezeti szempontból” kerülhet terítékre, viszont az, hogy az élelmiszereink mennyit veszítenek tápanyagtartalmukból a tartósítás hatására, igenis említésre méltó tulajdonsága az eltarthatóságnövelő módszereknek, az utóbbi kérdések pedig inkább ipari szempontból vizsgálják azokat. A főzés során az értékes tápanyagok nagy része távozik az élelmiszerből, a hőmérséklet emelésével mindinkább, elsőik között az értékes és rendkívül hőérzékeny C-vitamin. Sokan talán emiatt inkább a fagyasztás mellett döntenek, ha csak lehetséges, mely ugyan több vitamint enged tovább hasznosulni, de amellett, hogy korlátozza a fogyaszthatóság idejét, felengedve a legtöbb étel állaga és íze is megváltozik. A mai “E-mentes” világban pedig, főleg a laikusok, de alapvetően a legtöbb ember próbálja kerülni a mesterséges adalékanyagokat tartalmazó ételek fogyasztását.

A liofilezést élelmiszeripari alkalmazása a 21. században terjedt el igazán és mára a bár költséges és időigényes, de a leghatékonyabb és legkíméletesebb szárítási-tartósítási műveletek közé sorolható. Tartósító tulajdonsága legnagyobb részben nyilvánvalóan abból ered, hogy az így kezelt termékek nem tartalmaznak vizet, mely gyakorlatilag teljes mértékben lehetetlenné teszi, hogy rajta mikroorganizmusok megjelenjenek, ill. vízmentes közegben az enzimek sem működőképesek.

A fagyasztva szárítás egyik nagy előnye, pl. a hagyományos szárítással szemben, hogy az alacsony nyomás miatt jóval alacsonyabb hőmérsékleteket alkalmaz, mely különösen fehérjetartalmú élelmiszerek esetén lehet fontos. Emellett az így előállított táplálék maximálisan megőrzi a vitamin- és ásványianyag tartalmát bármiféle mesterséges adalékanyag hozzáadása nélkül. Ennek a beltartalmi-összetevő megőrzésnek okát a fagyasztás

gyorsaságában kereshetjük, amikor is a keletkező apró jégkristályok nem, vagy csak igen kis mértékben károsítják a sejtfalakat, így a szublimációval távozó gőz csak kis mennyiségű oldott anyagot képes magával vinni a sejtek belsejéből.

A konvektív szárításnál, aszalásnál a víz párolgással távozik el a termék felületéről, e víz utánpótlása a belsőbb rétegekből, diffúzióval történik, s az így diffundáló víz oldott anyagokat visz magával belülről, melyek a víz elpárolgása után visszamardnak, koncentrálnak, s így kemény réteget képezhetnek az étel felületén. Liofilezéskor nincs effajta belső diffúzió, a szublimáció a felületen indul és fokozatosan halad a mélyebb rétegek felé, s a jég közvetlenül gőzzé alakul vagyis nincs is folyékony fázis. Ebből következően a liofilezett termékeknél nem alakul ki ez a felületi réteg, az étel felszíne puhább, rugalmasabb lesz, fogyasztása kellemesebb. A fagyasztva szárítás antimikrobiális hatása a vízaktivitás csökkentésében keresendő, és a fagyasztás sebességének, valamint hőfokának függvényében eltérő lehet, és a termék összetétele is nagyban befolyásolja (a szénhidrátok és fehérjék védő hatásúak a mikrobákra nézve). További mikrobapusztulás történhet a visszanedvesítéskor, amikor is a hirtelen fellépő nagy koncentrációkülönbség miatt a sejtek szétdurranhatnak. (Itt érdemes és érdekes megjegyezni, hogy a liofilezést mikrobák tartósítására, nemhogy elpusztítására, de életbentartására is alkalmazzák kis szárítási hőmérséklet, hatásos védőanyagok és nitrogénatmoszférán való tárolás mellett.)

A visszanedvesítés nagyon egyszerűen, víz hozzáadásával történik. Ezután a termékek képesek közel eredeti víztartalmukra beállni, visszanyerni eredeti alakjukat, méretüket, melynek oka a liofilizált termékek lyukacsos, szivacsos szerkezete, mely gyors nedvességfelvételt tesz lehetővé. A nagy felület, porózus szerkezet viszont oxidációs veszély forrása is lehet, így semleges, vízgőzáró térben történő csomagolásra van szükség. A visszanedvesítés előtti állapot térfogata töredéke az eredetinek, ezért is kedvelt táplálék az ilyen a túrázók valamint az asztronauták körében. Talán nem is gondolnánk milyen sok helyen találkozunk liofilizált élelmiszerekkel. Intenzív aromájú gyümölcsöket, zöldségeket tartósítanak így pl. : banánt, epret, melyeket ezután pl. : gabonapehely keverékekhez adnak, vagy gombát, paprikát. Hús-, tojás- és tejpor állítható elő az eljárással, utóbbi pl.: fagylaltgyártáshoz. Az teagranulátum, instant kakaó és kávé, is így készül, ahol utóbbinál egyszerű tévhit az, hogy a "porkávé" mesterséges, vagy hogy nem tartalmaz annyi koffeint, mint a főzött változat. A levesporok, ételízesítők, leveskockák nagyrésze is ezzel, vagy részben ezzel az eljárással készül. Éttermekben a szakácsok előszeretettel használják a liofilezett élelmiszereket díszítésre, némelyük már-már művészi szintre emelkedve pl. : mártásokból vékony lapocskát, "papírt" liofilezve, majd azt formára vágva, hajtogatva teszi még kívánatosabbá fogásait.

Felhasznált irodalom

Aigner, Z.: Gyógyszertechnológiai műveletek középüzemi méretben steril és aszeptikus gyógyszerkészítmények JATEPress, Szeged, 130-132 (2010)

Pintye, J.: Gyógyszerészet 52, 265-267 (2008)

Pécs, M.: Fermentációs feldolgozási műveletek, előadás, Budapest (2011)

Katona, G., Laczkovich, O., Révész, P.: Fagyasztva szárítás az innovatív gyógyszerkészítmények előállításában. A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság Lapja. 2014;58(9):546–53.

Antal, Tamás. Gyümölcs- és zöldségszáritmányok minőségét befolyásoló technológiai jellemzők vizsgálata. 2010.

Pécs, Miklós. A liofilizálás szakaszai Liofilizálás a fázisdiagramon Transzportok a szárítás során BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék. o. 1–7.

Nireesha, GR; Divya, L; Sowmya, C; Venkatesan, N; Niranjana Babu, M; Lavakumar, V (30 October 2013). "Lyophilization/Freeze Drying - An Review". *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*.

Cindy Reiter: *Manifold Freeze Dryers – An Overview of Their Use, Limitations and Some Helpful Hints*. Millrock Technology 2016 June

Almási. E.: 1977. *Élelmiszerek gyorsfagyasztása - Fagyasztva szárítás (líofilezés)*, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest

Várszergi. T.: 1995. *Élelmiszer-ipari eljárások és berendezések - Fagyasztva szárítás (líofilezés)*, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest

<http://ostermelo.com/gyumolcs-es-zoldseglek-modern-szaritasi-eljarasa>

<https://sousvidechef.hu/liofilizalas-avagy-fagyasztva-szaritas/>