

叶坤,左金,黄昊宇,等.一种新的综合法破壁灵芝孢子技术[J].江苏农业科学,2017,45(1):178-180.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.050

# 一种新的综合法破壁灵芝孢子技术

叶坤,左金,黄昊宇,高鹏

(中国空气动力研究与发展中心高速空气动力研究所,四川绵阳 622762)

**摘要:**以微波预处理对灵芝孢子进行脆化,采用正交试验法对影响灵芝孢子含水量、脆化率的因素进行了试验和分析,获得了微波的最佳工艺组合,并结合气流粉碎进行破壁。结果发现,当温度为40℃、功率为9kW、处理时间达到30min时微波预处理的效果最好。与预处理前相比,经过预处理后的灵芝孢子采用气流粉碎的破壁率明显提高,而粉碎所用时间大大缩短。气流破壁灵芝孢子的多糖和三萜含量较破壁前显著增加,同时不会引入重金属杂质。

**关键词:**灵芝孢子;微波预处理;正交试验;脆化;气流粉碎;破壁

**中图分类号:**S567.3<sup>+</sup>10.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)01-0178-03

灵芝孢子即灵芝的种子,是灵芝在生长成熟时期从菌盖弹射出来的极为细小的颗粒,内含丰富的生物活性成分,其中多糖类和三萜类化合物被看作是主要活性物质,具有抗肿瘤、抗心血管疾病、增强免疫等作用<sup>[1-2]</sup>,其有效成分含量高出灵芝75倍<sup>[3]</sup>。

灵芝孢子具有坚韧的双层外壁结构,研究表明孢壁成分中几丁质含量为52.08%~57.64%,无机元素构成以硅(19.01%)、钙(24.31%)为主,硅、钙掺入几丁质使得孢壁更加结实坚韧、耐酸碱,极难氧化分解<sup>[4]</sup>。因此,利用一般的物理、化学方法很难将灵芝孢子壁打破。研究表明,人体对不破壁孢子内的营养成分很难吸收,生物利用率低<sup>[5]</sup>。未破壁的灵芝孢子有效成分进入体内的消化利用率仅为12%,破壁后的灵芝孢子有效成分的消化吸收率可达95%,而且破壁前后孢子的活性成分是有差异的,研究结果显示,破壁灵芝孢子的

多糖与三萜含量明显高于未破壁灵芝孢子<sup>[6-7]</sup>。因此,为了充分利用灵芝孢子内的有效成分,必须对其进行破壁。目前,国内的研究人员已经对灵芝孢子的破壁方法进行了大量的研究。这些破壁方法可以归纳总结为生物法<sup>[8]</sup>、化学法<sup>[9]</sup>、物理法<sup>[10]</sup>、机械法<sup>[11]</sup>4种类型,但是这些方法普遍存在生产成本低、破壁率低、产品中的有害残留较高、生产效率较低等缺点。为了弥补灵芝孢子现有破壁技术的不足,充分利用其中的营养成分,本试验研究了一种对灵芝孢子进行预处理后采用气流粉碎破壁的综合方法,该方法易于实现、操作简单,既可以保证灵芝孢子破壁完全,又可以完整保留其中的有效成分,而且不会引入重金属杂质。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

原料来自安徽省金寨县提供的大别山灵芝孢子(未破壁),平均粒径为4~6μm,水分含量约为10%。

自制真空低温微波预处理设备;自制CP-20型超微气流粉碎分级机;XSP-24N生物显微镜,南京江南永新光学有限公司生产;S-4800扫描电子显微镜,日本日立公司生产。

收稿日期:2015-11-21

基金项目:国家自然科学基金(编号:51327804)。

作者简介:叶坤(1976—),男,湖南常德人,博士,工程师,从事超微粉碎技术的应用研究。E-mail:yekun2008313@163.com。

和铁还原力,为其作为功能性食品开发提供了参考。

## 参考文献:

- [1] 邵秋玲,李玉娟.盐地碱蓬开发前景广阔[J].植物杂志,1998(3):12.
- [2] 扈晓杰,韩冬,李铎.膳食纤维的定义、分析方法和摄入现状[J].中国食品学报,2011,11(3):133-137.
- [3] Llobera A,Canellas J. Dietary fiber content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem[J]. Food Chemistry,2007,101(2):659-666.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品中膳食纤维的测定:GB/T 5009.88—2014[S].北京:中国标准出版社,2015.
- [5] 郑毅,伍斌,邓建梅.酶-重量法测定不同品种芒果皮中膳食纤维的含量[J].热带农业工程,2013,37(1):4-7.
- [6] 王海宽,赵新淮,姜岩.甘草有效成分分离及其对自由基的清

- 除能力[J].食品与机械,2000,21(4):23-24.
- [7] 郑德勇,安鑫南.竹叶提取物清除DPPH自由基的测定方法[J].福建农林大学学报(自然科学版),2005,34(1):59-62.
- [8] 郭艳华,胡思前.葶苈皮提取物的抗氧化活性研究[J].食品与发酵工业,2007,33(10):128-130.
- [9] 杨晓宽,李汉臣,张建才,等.芦笋膳食纤维品质分析及抗氧化性研究[J].中国食品学报,2013,13(10):205-212.
- [10] 张建民,肖小年,易醒,等.车前草可溶性膳食纤维的提取及其对自由基清除能力的研究[J].天然产物研究与开发,2007,19(4):667-670.
- [11] 方敏,占才贵,官智勇.玉米须总黄酮的提取与抗氧化活性研究[J].食品科学,2009,30(18):206-208.
- [12] 吴巧攀,乔洪翔,何厚洪,等.银杏叶渣中多糖的提取及其抗氧化活性研究[J].中国现代应用药学,2014(1):9-13.
- [13] 张志旭,陈岳文,刘东波.苦瓜膳食纤维的抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2012(8):933-935.

## 1.2 试验方法

1.2.1 灵芝孢子的预处理 取1 kg 灵芝孢子原料,在真空条件下分别用3、6、9 kW 功率的微波处理10~30 min。在微波处理过程中保持相对较低的环境温度,温度调节为30~50 ℃。

1.2.2 灵芝孢子的破壁 将预处理过后已经干燥、脆化的灵芝孢子加入自制CP-20型超微气流粉碎分级机进行破壁,破壁时间控制在10~30 min。

1.2.3 灵芝孢子成品破壁率的测定 采用血球计数板法计算破壁率<sup>[12]</sup>。

1.2.4 灵芝孢子成品中所含有效成分及重金属的测定 多糖和三萜含量由中国农业部食用菌产品质量监督检验测试中心(上海)负责检测,重金属含量由绵阳市产品质量监督检验所负责检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 预处理

采用真空低温微波对灵芝孢子原料进行预处理有以下三大好处:(1)微波通过水分子的振动使灵芝孢子壁的几丁质纤维素断裂,从而达到提高灵芝孢子壁脆性的目的。(2)在预处理的过程中微波会向灵芝孢子辐射能量,从而导致温度上升,使灵芝孢子的有效成分受到破坏和流失,而低温环境有效克服了微波对灵芝孢子的加热作用产生的热破坏,保存了有效成分。(3)在真空环境下对灵芝孢子进行微波处理可以有效避免灵芝孢子的氧化,减少空气中的氧气对灵芝孢子中的营养物质的影响,同时还可以进一步提高增加孢子壁脆性的效果。

在对灵芝孢子进行气流粉碎时,其含水量越低,越容易破壁;孢子壁的脆化程度越高,破壁的效果越好。以预处理后灵芝孢子的含水量、影响破壁的脆化率作为指标,选取微波处理温度、处理时间、微波的功率3个影响因素进行正交设计优选工艺试验(表1)。

表1 真空低温微波对灵芝孢子原料预处理工艺优化因素正交试验

水平	A:微波处理温度(℃)	B:微波处理时间(min)	C:微波处理功率(kW)
1	30	10	3
2	40	20	6
3	50	30	9

脆化率测定:采集预处理后的灵芝孢子,对其进行扫描电镜分析。按照式(1)统计脆化率。

$$\text{脆化率} = \left(1 - \frac{\text{预处理后未脆化的完整灵芝孢子个数}}{\text{预处理前完整灵芝孢子个数}}\right) \times 100\% \quad (1)$$

每次分别取3组样品进行试验,结果采用3次试验的平均值(表2)。

因素A对灵芝孢子含水量的影响最为显著,经过分析可以得出,最佳干燥工艺组合为A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>;而A、B、C这3个因素对灵芝孢子脆化率的影响程度大小依次为C>B>A,对试验结果进行分析后可以确定,最佳脆化工艺组合为A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>(表2)。综合分析含水量和脆化率指标的影响因素及优水平组合,确定A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>为试验的最佳水平组合,即微波处理温度

表2 真空低温微波对灵芝孢子原料预处理工艺优化因素试验方案与结果

试验号	A	B	C	含水量(%)	脆化率(%)
1	1	1	1	8.95	69.0
2	1	2	2	8.60	78.0
3	1	3	3	8.03	86.0
4	2	1	2	7.10	79.0
5	2	2	3	6.42	90.0
6	2	3	1	6.67	80.0
7	3	1	3	5.38	82.0
8	3	2	1	5.65	73.0
9	3	3	2	5.16	81.0
含水量(%)					
k <sub>1</sub>	8.53	7.14	7.09		
k <sub>2</sub>	6.73	6.89	6.95		
k <sub>3</sub>	5.40	6.62	6.61		
R	3.13	0.52	0.48		
脆化率(%)					
k <sub>1</sub>	77.67	76.67	74.00		
k <sub>2</sub>	83.00	80.33	79.33		
k <sub>3</sub>	78.67	82.33	86.00		
R	5.33	5.66	12.00		

40 ℃、微波功率9 kW、处理时间30 min。

### 2.2 试验验证

取1 kg 灵芝孢子原料,经过测定可知其含水量为10.23%,按照最佳工艺进行3次验证试验,经过微波预处理后其含水量为4.70%,脆化率达到95%,验证试验结果与正交试验结果基本相符灵芝孢子原料在预处理前表面光滑,形态完整,萌发孔较小;而经过微波预处理后,灵芝孢子绝大部分萌发孔变大,有内容物溢出,部分已经脆化出现破裂(图1)。

### 2.3 气流粉碎

气流粉碎采用超声速气流对撞原理对灵芝孢子实现超微粉碎与破壁,整个粉碎过程在低温、瞬间条件下进行。研究发现,未经过微波预处理的灵芝孢子采用气流粉碎法进行破壁的效果不理想,经过30 min粉碎之后破壁率才达到20%左右;而经过预处理后,其破壁率明显提高,经过30 min的气流粉碎后,其破壁率可以超过99%(图2、表3)。与原料相比,破壁后的灵芝孢子多糖和三萜含量都有了显著提高,当破壁率达到99%以上时,其多糖、三萜含量分别是原料的1.6、1.42倍;而重金属Fe、Cr、Ni、Mn的含量几乎没有变化(其值的少许变化是测定过程中的误差所造成的)(图2、表1),这是由于在气流粉碎的过程中,灵芝孢子由于相互之间进行碰撞达到破壁的目的,不锈钢容器对灵芝孢子颗粒的影响基本可以忽略。

## 3 结论与讨论

以灵芝孢子为原料,采用微波进行预处理,并用正交试验法分析影响灵芝孢子含水量和脆化率的因素,结合气流粉碎进行破壁。结果表明,当处理温度为40 ℃、功率为9 kW、处理时间为30 min时,微波预处理的效果最好。与灵芝孢子原料相比,经过预处理后的灵芝孢子采用气流粉碎的破壁率明

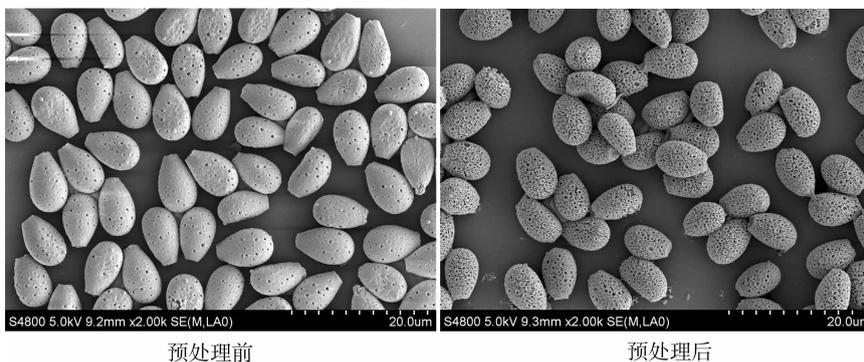


图1 预处理前后灵芝孢子的电镜照片对比

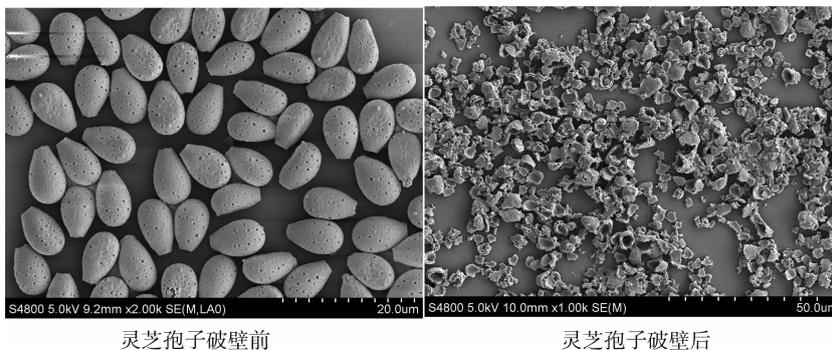


图2 破壁前后灵芝孢子的电镜照片对比

表3 不同粉碎时间条件下预处理前后灵芝孢子的破壁效果比较

试验样品	粉碎时间 (min)	破壁率 (%)	多糖含量 (%)	三萜含量 (%)	重金属含量(mg/kg)			
					Fe	Cr	Ni	Mn
预处理前灵芝孢子	0	0	1.98	1.12	1.28	0.36	0.76	5.52
	30	22.1	2.19	1.20	1.22	0.46	0.75	5.63
预处理后灵芝孢子	10	69.8	2.75	1.36	1.36	0.44	0.71	5.62
	20	83.2	3.06	1.44	1.38	0.38	0.83	5.58
	30	99.3	3.32	1.59	1.20	0.33	0.85	5.53

显著提高,而粉碎所用时间大大缩短。灵芝孢子破壁后的多糖与三萜含量较破壁前显著提高,同时由于气流粉碎的特性,不会引入重金属杂质。本试验初步研究了微波与气流粉碎相结合的破壁技术对于灵芝孢子的破壁率以及多糖、三萜和重金属含量的影响,但是灵芝孢子破壁后容易发生氧化,形成酸败生成有害物质并对人体产生危害,因此采用综合法破壁技术对灵芝孢子的过氧化值和酸值的影响有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Daniel S, Carlos L, Slivova V, et al. *Ganoderma lucidum* suppresses motility of highly invasive breast and prostate cancer cells [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 298: 603 - 612.
- [2] Sanodiya B S, Thakur G S, Baghel R K, et al. *Ganoderma lucidum*: a potent pharmacological macrofungus [J]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2009, 10(8): 717 - 742.
- [3] 张炯炯. 灵芝孢子的开发和应用[J]. *湖南中医药导报*, 2000, 6(5): 21 - 22.
- [4] 陈体强, 李开本, 陈朝旭, 等. 灵芝、紫芝担孢子及其孢壁的微超微结构[J]. *福建农业学报*, 1998, 13(4): 33 - 38.
- [5] 赵东旭, 徐建兰, 杨新林. 灵芝孢子研究进展[J]. *中草药*, 1999, 30(4): 305 - 309.
- [6] 黄晓兰, 吴惠勤, 黄芳, 等. 破壁与不破壁灵芝孢子粉多糖的分析[J]. *中草药*, 2006, 37(6): 813 - 816.
- [7] 杨小英, 竹剑平. 破壁与不破壁灵芝孢子粉三萜类化合物含量比较[J]. *药物分析杂志*, 2010, 30(11): 2227 - 2228.
- [8] 夏志兰, 王春晖, 姜性坚, 等. 灵芝孢子粉生物酶破壁技术的研究[J]. *食用菌学报*, 2005, 12(1): 14 - 18.
- [9] 张新新, 刘元法, 李进伟, 等. 不同破壁技术对灵芝孢子油提取的影响[J]. *中国油脂*, 2012, 37(7): 5 - 7.
- [10] 李琦, 李莹, 张鹏, 等. 超声-液氮冻融处理对灵芝孢子粉多糖提取的影响[J]. *辽宁大学学报(自然科学版)*, 2004, 31(1): 81 - 82.
- [11] 王春涛, 潘家祯, 崔宁. 超高压超临界冲击流技术制备破壁灵芝孢子粉的研究[J]. *化工装备技术*, 2005, 26(2): 17 - 22.
- [12] 尚晓冬, 李明容, 王南, 等. 应用血球计数板检测灵芝破壁孢子粉破壁率的研究[J]. *食用菌学报*, 2005, 12(2): 37 - 40.