

## 变温压差脆化破壁灵芝孢子技术考察

周萍\*, 安东, 王朝川, 冯建华, 李新胜

(中华全国供销合作总社济南果品研究院, 济南 250014)

**[摘要]** 目的:研究灵芝孢子破壁的工艺,提高灵芝孢子粉破壁率。方法:以灵芝孢子粉的含水量和影响破壁的硬度为指标,选取脆化温度、抽空干燥温度、抽空干燥时间为考察因素,采用  $L_9(3^4)$  正交设计优选变温压差脆化条件;制得的脆化样品与超微粉碎进行破壁率比较。结果:最佳脆化条件为脆化温度 100 ℃,抽空干燥温度 80 ℃,抽空干燥时间 1 h。在此条件下,灵芝孢子粉含水量 3.0%,破壁硬度 3.7 kg。脆化、干燥后的灵芝孢子粉经超微粉碎 50 min,破壁率可达 99.5%。结论:变温压差脆化结合超微粉碎技术可提高灵芝孢子破壁率。

**[关键词]** 灵芝孢子;脆化;破壁;超微粉碎;正交试验

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0016-04

## Investigation of Wall-broken Technology for *Ganoderma lucidum* by Embrittlement with Difference Temperature and Pressure

ZHOU Ping\*, AN Dong, WANG Chao-chuan, FENG Jian-hua, LI Xin-sheng

(Jinan Fruit Research Institute, China Federation of Supply and Marketing Cooperatives, Ji'nan 250014, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study on wall-broken technology of *Ganoderma lucidum* and increase broken rate of *G. lucidum* powder. **Method:** According to index of moisture content and breaking hardness of *G. lucidum* powder, effect of embrittlement temperature, vacuum drying temperature and vacuum drying time on embrittlement conditions with different temperature and pressure were studied by  $L_9(3^4)$  orthogonal experiment. And embrittlement ratio of prepared embrittlement sample and superfine grinding sample were compared. **Result:** It was found that optimum embrittlement conditions were: embrittlement temperature, vacuum drying temperature and vacuum drying time were 100 ℃, 80 ℃ and 1 h, respectively. Under these conditions, the moisture content and breaking hardness were 3.0% and 3.7 kg. After embrittled and dried, *G. lucidum* powder was broken 50 min,

**[收稿日期]** 20120529(003)

**[基金项目]** 国家“十一五”科技支撑计划重点项目(2008BADA1B06)

**[通讯作者]** \*周萍,硕士,实习研究员,从事食药菌的制剂工艺与活性研究, Tel:0531-88923142, E-mail:zhoupingg@126.com

### [参考文献]

- [1] 刘益,王玉蓉,许文博.壳聚糖絮凝沉淀法在牛膝纯化工艺中的应用性研究[J].中国中药杂志,2008,33(7):825.
- [2] 高燕,林桂涛,盛华刚.壳聚糖絮凝沉降法精制抗疲劳颗粒的研究[J].山东中医药大学学报,2011,35(6):545.
- [3] 盛华刚,朱立俏,林桂涛.壳聚糖澄清剂对枳实薤白桂枝汤颗粒提取液的纯化工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(4):15.

- [4] 楚笑辉,唐路梅,夏新华.壳聚糖絮凝澄清工艺与醇沉工艺纯化乙肝宁复方水提液的对比[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(21):1.
- [5] 王海宁,谢印芝,樊飞跃.壳聚糖及 ZTC1+1-II 澄清剂对大青叶提取液的澄清工艺研究[J].中国药房,2008,19(21):1625.
- [6] 任红莉,阿依努尔,宋达.壳聚糖用于银杏叶提取液澄清工艺的研究[J].西北药学杂志,2009,24(1):25.
- [7] 中国药典.一部[S].2010:附录 62.

[责任编辑 全燕]

broken rate of *G. lucidum* was up to 99.5%. **Conclusion:** Broken rate of *G. lucidum* could enhance by combining difference temperature and pressure embrittlement and superfine grinding technology.

**[Key words]** *Ganoderma lucidum*; embrittlement; wall-broken; superfine grinding; orthogonal test

《神农本草经》中记载灵芝有紫、赤、青、黄、白、黑 6 种,性味甘平,主治“胸中结,益心气,补中,增智慧,不忘,久食轻身不老,延年神仙”,列为上品<sup>[1-2]</sup>。灵芝孢子是灵芝的生殖细胞担孢子,是灵芝在生长成熟时期从菌盖而弹射出来的极为细小的颗粒,营养物质丰富,含有多糖类、三萜类、蛋白质和氨基酸类、维生素类、生物碱类及脂肪酸类等生物活性成分<sup>[3]</sup>,其中灵芝多糖类和三萜类化合物被看作是其主要活性物质,具有抗肿瘤、抗心血管疾病、免疫增强等作用<sup>[4-5]</sup>。

灵芝孢子具有坚韧的双层外壁结构,其成分为几丁质(52.08%~57.64%),无机元素构成以硅(19.01%)、钙(24.31%)为主,硅和钙掺入几丁质使得孢壁更加的结实坚韧,且耐酸碱,极难氧化分解。因此,利用一般的物理、化学方法很难将灵芝孢子壁打破。灵芝多糖主要是存在于灵芝孢子细胞壁其内层结构中,如果不进行破壁操作,灵芝孢子进入人体肠胃后,犹如囫圇吞枣,有效成分不易被人体吸收和利用<sup>[6-7]</sup>。研究证实未破壁的灵芝孢子其有效成分进入体内的消化利用率仅为 12%,而破壁后的灵芝孢子其有效成分的消化吸收率可达 95%。因此,破壁是充分利用灵芝孢子功效成分的重要前提。

## 1 材料

灵芝孢子(山东省冠县店子灵芝生产合作社公司,经济南果品研究院食用菌技术开发部李新胜研究员鉴定为正品),无水硫酸锌(国药集团化学试剂有限公司)。

RXH-B-1 型热风循环烘箱(江阴市宏达粉体设备有限公司),QDPH1000-4 型果蔬膨化设备(天津市勤德新材料科技有限公司),WZJ-6BI 型振动式药物超微粉碎机(济南倍力粉技术工程有限公司),FT327 型硬度计(意大利 EFFEGI),SU-70 型场发射扫描电镜(日本 Hitachi),XSP-16A 型光学显微镜(江南光华仪器厂),XB-K-25 型血球计数板(上海医用光学仪器厂),XK96-A 型快速混匀器(姜堰市新康医疗器械有限公司),ZY79820 型单道可调移液器(芬兰雷勃),BC-155H 型电冰箱(新飞电器),AE200 型精密电子天平(瑞士 METTLER)。

## 2 方法与结果

### 2.1 变温压差脆化干燥工艺流程 ①开启膨化设

备系统中的蒸气发生器,产生蒸气。当蒸气压力达到 0.4 MPa 时,打开蒸气发生器与压力罐之间的阀门,向压力罐夹层中通入蒸气加热,使压力罐中灵芝孢子的温度、压力升高,使灵芝孢子温度达到至设定的脆化温度和压力。②开启膨化设备系统中的真空泵,将膨化设备系统中的真空罐抽成真空。在压力罐保温、保压达到规定的时间后,迅速打开压力罐与真空罐之间的阀门,利用瞬间的变温、压差将灵芝孢子脆化、干燥。③关闭泄气阀,保持 5~10 min 后,打开通气的阀门,以连接大气及膨化罐,使罐内恢复至常压;开罐并取出样品,进行产品的指标测试。

**2.2 变温压差脆化干燥工艺优化<sup>[8-9]</sup>** 以灵芝孢子粉的含水量和影响破壁的硬度为指标,选取脆化温度、抽空干燥温度、抽空干燥时间 3 个影响因素,采用  $L_9(3^4)$  正交设计优选工艺,并进行验证试验。因素水平见表 1。孢子粉原料按选定条件下进行脆化,测定其脆化后的含水率和破壁硬度,运用 SPSS 软件对结果进行统计分析,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3,4。

**硬度测定:**取灵芝孢子粉样品,略大于压力计的测头面积,同时压力计的测头垂直对准样品测试部位,施加不同的压力,硬度以 kg 表示,观察施压后不同样品的破壁情况。

表 1 灵芝孢子粉变温压差脆化干燥工艺正交试验因素水平

水平	A	B	C
	脆化温度/℃	抽空干燥温度/℃	抽空干燥时间/h
1	80	70	0.5
2	90	80	1
3	100	90	1.5

由表 3 可知,A,B,C 各因素对脆化灵芝孢子的含水量均无显著性影响。结合直观分析可知,最佳工艺组合为  $A_3B_2C_3$ ;由表 4 结果可知,因素 C,B 对脆化灵芝孢子破壁硬度具显著性影响,因素 A 对破壁硬度无显著性影响,各因素作用主次为  $C > B > A$ 。结合直观分析结果,确定最佳脆化工艺为  $A_3B_2C_2$ 。综合分析 2 个指标的影响因素及优水平组合,确定  $A_3B_2C_2$  为本试验的最优水平组合,即脆化温度 100 ℃,抽空干燥温度 80 ℃,抽空时间 1 h。

### 2.3 验证试验 取未经脆化的灵芝孢子粉原样适

表 2 灵芝孢子粉变温温差脆化干燥  $L_9(3^4)$  正交试验安排

No.	A	B	C	D	含水量 /%	破壁硬度 /kg
1	1	1	1	1	20.4	10.3
2	1	2	2	2	10.1	4.7
3	1	3	3	3	3.6	5.2
4	2	1	2	3	9.6	5.8
5	2	2	3	1	2.4	4.0
6	2	3	1	2	16.9	8.5
7	3	1	3	2	4.2	6.0
8	3	2	1	3	8.8	7.0
9	3	3	2	1	3.4	4.0
含水量	$K_1$	11.37	11.4	15.37	8.73	
	$K_2$	9.63	7.1	7.7	10.4	
	$K_3$	5.47	7.97	3.4	7.33	
	R	5.9	4.3	11.97	3.07	
破壁硬度	$K_1$	6.73	7.37	8.6	6.1	
	$K_2$	6.1	5.23	4.83	6.4	
	$K_3$	5.67	5.9	5.07	6.0	
	R	1.06	2.14	3.77	0.4	

表 3 含水量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	55.18	2	27.59	3.90	>0.05
B	31.03	2	15.51	2.19	>0.05
C	220.47	2	110.23	15.59	>0.05
D(误差)	14.14	2	7.07		

注： $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99$ (表 4 同)。

表 4 破壁硬度方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	1.73	2	0.86	6.64	>0.05
B	7.15	2	3.57	27.49	<0.05
C	26.73	2	13.36	102.80	<0.01
D(误差)	0.26	2	0.13		

量,含水量 10.6%,硬度 12 kg,按最佳工艺进行 3 次验证试验,样品量均为 500 g,结果脆化灵芝孢子的平均含水量 3.0%,平均破壁硬度 3.7 kg。验证结果与正交试验结果基本一致,表明该工艺稳定可行。

**2.4 超微粉碎** 取出压力罐中已脆化、干燥的灵芝孢子粉,送入振动式超微粉碎机进行超微粉碎破壁,50 min 后取出孢子粉样品。称取一定量灵芝孢子

粉原料、脆化及脆化微粉样品,稀释至适当的浓度,置于涡旋混匀器上充分的震荡。混匀后,按照常规方法进行制片,显微镜下观察样品形态变化。通过扫描电镜,对未破壁灵芝孢子粉和经过脆化超微粉碎的孢子粉进行观察。见图 1~6。

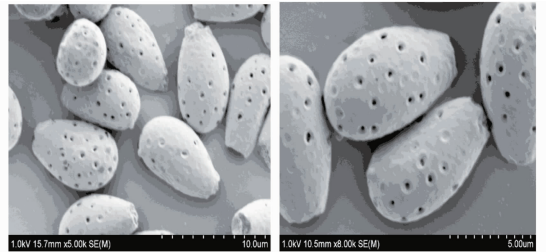


图 1 未脆化破壁灵芝孢子电镜照片(×5 000,×8 000)



图 2 灵芝孢子粉脆化照片

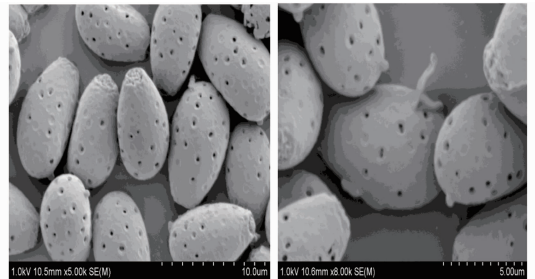


图 3 脆化灵芝孢子粉电镜照片(×5 000,×8 000)

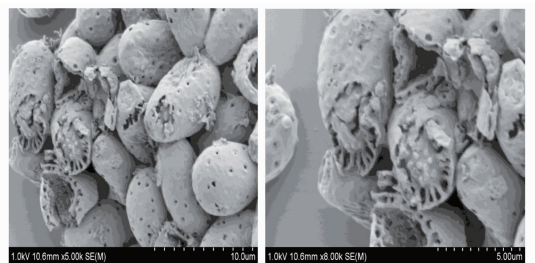


图 4 脆化加压 10 kg 外力灵芝孢子粉电镜照片(×5 000,×8 000)



图 5 脆化超微粉碎破壁灵芝孢子粉照片

由图 1 可知,灵芝孢子在破壁前表面光滑,形态完整,在扫描电子显微镜下可看到孢子表面有许多小孔,每个孢子表面都有一处凸起的小圆形物,有一

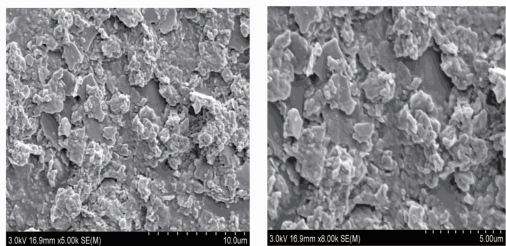


图6 脆化超微粉碎破壁灵芝孢子粉电镜照片( $\times 5\ 000$ ,  $\times 8\ 000$ )

面凹陷,顶端一个小圆形凹坑,底端卵圆形。由图2~4可知,对脆化后的灵芝孢子施加10 kg压力后发现,其水溶液中有少量的灵芝孢子油出现,证明脆化的灵芝孢子在适当的外力作用下能够破壁,后经扫描电镜验证部分脆化的灵芝孢子已经破壁。由图5,6可知,经过超微粉碎处理后,灵芝孢子破壁较多,破壁后孢子不完整、内容物呈不规则块状,且电镜下可观察到孢子双层壁结构,呈中空状,表面粗糙。

**2.5 灵芝孢子粉破壁率** 采用标准曲线法测定灵芝孢子破壁率<sup>[10]</sup>,以质量分数 $w$ 计,按照下述公式进行计算:

$$w = (N_1 - N_2) / N_1 \times 100$$

其中, $N_1$ 表示从标准曲线查到的与待测样品相同质量的未破壁孢子粉的数目; $N_2$ 表示观察统计的一定质量破壁孢子粉样品中未破壁孢子粉的数目。

测得3批脆化微粉灵芝孢子粉样品的破壁率分别为99.8%,99.4%,99.2%;未经脆化的超微粉碎灵芝孢子粉的破壁率依次为91.3%,89.8%,93.7%。

### 3 讨论

本研究以灵芝孢子为原料,优化灵芝孢子粉变温压差脆化干燥生产工艺,分析了影响脆化干燥及破壁质量的因素,结合超微粉碎进行破壁,且经过光学显微镜和电镜扫描结果观察,脆化灵芝孢子粉具

有分级去杂、纯化灵芝孢子粉原料的作用,与仅通过微粉处理的孢子进行比较,证实灵芝孢子脆化后,可提高微粉处理的破壁率,破壁率 $> 99\%$ ,为灵芝孢子的进一步研究与开发拓宽了思路。同时,脆化灵芝孢子粉原料已经熟化,破壁后功效成分、营养成分稳定,更易于人体吸收和产品贮藏。

### [参考文献]

- [1] 史俊青,张丽萍,杨春清,等.不同品种灵芝多糖含量差异研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(13):104.
- [2] 余雄涛,谢意珍,李婷,等.灵芝体外抑制猴免疫缺陷病毒作用的研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(13):155.
- [3] 林志斌.灵芝的现代研究[M].北京:北京医科大学出版社,2001:69.
- [4] 袁带秀,侯娟.灵芝活性成分、药理作用及其应用[J].中国民族民间医药杂志,2006,79(2):110.
- [5] 李明春,梁东升,许自明,等.灵芝多糖对小鼠巨噬细胞cAMP含量的影响[J].中国中药杂志,2000,35(1):41.
- [6] 郑莲英.灵芝栽培与加工[M].北京:世界图书出版公司,1995:15.
- [7] 蔡津生.灵芝孢子粉破壁工艺与装备[J].中国食用菌,2001,20(1):18.
- [8] 季巧遇,李谥光,刘旭海,等.正交试验优选健胃消食口崩片提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(24):12.
- [9] 朱莹,陈婷,赵瑞芝,等.正交试验优选复方昆丹胶囊的提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(9):66.
- [10] 倪伟锋,邢增涛,赵晓燕,等.破壁灵芝孢子粉破壁率测定的研究[J].上海农业学报,2008,24(3):45.

[责任编辑 全燕]