

挤压处理灵芝孢子粉提取灵芝多糖

焦艳丽¹, 温升南², 杜冰¹, 杨公明^{1,*}

(1. 华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642; 2. 广州市美益香料有限公司, 广东 广州 510642)

摘要: 以挤压喷爆为处理方法, 孢子破壁率和灵芝多糖得率为研究对象, 分析水分含量、螺杆转速、温度、进料速度对灵芝孢子的破壁率和灵芝多糖得率的影响。采用正交试验优化挤压工艺条件得出: 水分含量 15%、螺杆转速 223r/min、温度 125℃、进料速度 155g/min, 在此条件下灵芝孢子破壁率为 78.6%, 多糖得率为 2.219%, 通过在最佳条件下进行二次挤压, 灵芝孢子破壁率提高为 83.48%, 多糖得率为 2.37%。

关键词: 灵芝孢子粉; 双螺杆挤压; 破壁; 灵芝多糖

Effect of Twin-screw Extrusion Conditions on Polysaccharide Extraction from *Ganoderma lucidum* Spore Powder

JIAO Yan-li¹, WEN Sheng-nan², DU Bing¹, YANG Gong-ming^{1,*}

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Guangzhou Meiyi Flavours and Fragrances Co. Ltd., Guangzhou 510642, China)

Abstract: *Ganoderma lucidum* spore powder was subjected to twin-screw extrusion before polysaccharide extraction. The effects of material moisture content, screw rotary speed, temperature and feeding speed on the cell wall disruption rate of *Ganoderma lucidum* spore and polysaccharide yield were explored. The four process conditions were optimized by orthogonal array design method as follows: material moisture content 15%, screw rotary speed 223 r/min, temperature 125 °C and feeding speed 155 g/min. The resulting cell wall disruption rate and polysaccharide yield were 78.6% and 2.219%, respectively, which were increased to 83.48% and 2.37% after the second twin-screw extrusion.

Key words: *Ganoderma lucidum* spore; twin-screw extrusion; cell wall disruption; *Ganoderma lucidum* polysaccharides

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)16-0067-04

灵芝孢子粉是灵芝(*Ganoderma lucidum*)在生长成熟期, 从灵芝菌褶中弹射出来的极其微小的卵形生殖细胞, 生物学上称作担孢子, 集中起来呈粉末状, 通称灵芝孢子粉。灵芝孢子粉含有丰富的蛋白质、氨基酸、多糖、糖肽、三萜、脂肪酸和生物碱等生理活性物质^[1], 在调节免疫功能、抗肿瘤、抗病毒、清除体内自由基、降血脂等方面有着极其重要的医学作用^[2-5]。随着近年来对灵芝研究的不断深入, 发现灵芝多糖是灵芝的主要活性物质之一^[6], 能促进蛋白质形成, 改善造血功能, 具有提高机体免疫力和消除自由基的能力^[2], 在体内、体外条件下对四氧嘧啶诱导的胰岛损伤均有一定程度的保护作用^[7], 是现代入理想的天然保健食品, 它的开发与应用具有广阔市场空间。研究报告显示: 灵芝多糖已经成为衡量灵芝产品质量优劣的最重要指标之一^[8-9]。灵芝孢子粉的细胞壁由几丁质、葡聚糖和木质素组成, 有

很强的耐腐蚀性, 而灵芝多糖主要存在孢子粉的细胞壁内层中, 导致灵芝多糖难于提取加工。因此, 破壁是孢子粉功能成分有效利用的首要前提。

挤压技术是集混合、搅拌、破碎、加热、喷爆、杀菌、成型为一体的高新技术^[10]。挤压技术目前已研究应用于蛋白质组织化、膳食纤维加工、油脂浸提、休闲食品的加工等方面^[11]。挤压过程中, 通过挤压、摩擦、剪切等作用, 加上高温高压蒸汽, 可以使细胞间及细胞壁内各层间的木质素熔化, 部分氢键断裂, 木质素、纤维素、半纤维素发生高温水解, 从而使细胞壁破碎疏松, 呈现蜂窝状结构, 功能有效物质裸露在外, 而且物料挤压喷爆后呈现蜂窝状结构, 表面积增大。在食品工业中广泛用于粮油加工、食品制作、纤维和淀粉降解、谷物和大豆蛋白组织化、谷物细胞壁破壁等方面^[12]。本研究利用挤压喷爆对灵芝孢子进行破

收稿日期: 2010-10-29

作者简介: 焦艳丽(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品加工。E-mail: jiaoyanli0303@163.com

* 通信作者: 杨公明(1950—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品及农产品安全。E-mail: ygm@scau.edu.cn

壁预处理研究,提取其中灵芝孢子粉多糖。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

灵芝粉 南方李锦记有限公司,品种为赤芝,干燥后粉碎备用;浓硫酸、苯酚均为分析纯。

1.2 仪器与设备

752紫外可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;BS110S精密电子天平 北京赛多利斯天平有限公司;光学显微镜 上海沪南科学仪器有限公司;TDL-5-A型低速台式离心机 上海安亭科学仪器厂;SPJ-400双螺杆挤出机 陕西得爱食品科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 提取工艺流程

灵芝孢子粉→除杂(过40目筛)→加50%玉米粉混合→挤压喷爆破壁处理→按料液比1:20加水混合→80℃搅拌1h→3000r/min离心10min→上清液→测定多糖含量
↓
滤渣→测定破壁率

1.3.2 灵芝多糖的测定

采用硫酸-苯酚法^[13],以葡萄糖为标准品,并按如下公式计算:

$$\text{多糖得率}/\% = \frac{\text{测得多糖含量} \times \text{总体积}}{\text{灵芝样品干质量}} \times 100$$

1.3.3 灵芝孢子破壁率测定

采用血球计数板法^[14]。

$$A/\% = \frac{Y - n}{Y} \times 100$$

式中: A 为灵芝孢子破壁率; Y 为破壁前完整孢子数; n 为破壁后完整孢子数。

2 结果与分析

2.1 双螺杆挤压喷爆灵芝孢子破壁效果图

通过400倍光学显微镜和8000倍扫描电镜观察挤压喷爆破壁前后的灵芝孢子,结果如图1~2所示。

从图1A可看出,未经挤压喷爆处理物料中的灵芝孢子结构完整,颗粒均匀,未见灵芝孢子细胞壁的残片;图1B反映了经破壁处理后灵芝孢子的状态,除了个别完整孢子颗粒存在之外,有许多结构不完整的孢子细胞、内容物已经溶出的完整细胞壁残核以及许多细胞壁碎片。从图2A、2B扫描电镜拍摄照片可以看出,未经破壁灵芝孢子微观结构完整,表面光滑,经挤压喷爆处理后灵芝孢子的细胞壁结构已被显著破坏,内容物

暴露。上述表明,双螺杆挤压喷爆法对灵芝孢子破壁效果明显,有利于后续的功能成分提取。

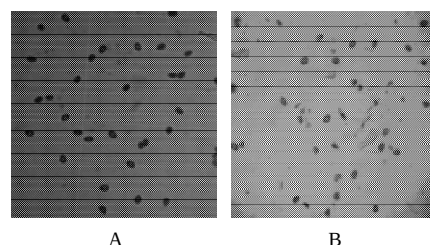


图1 灵芝孢子物料(A)和挤压喷爆后孢子(B)显微镜照片(×400)
Fig.1 Optical microscope photographs of original (A) and extruded (B) *Ganoderma lucidum* spores (×400)

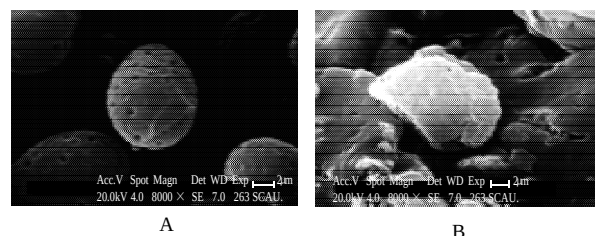


图2 灵芝孢子物料(A)和挤压喷爆后灵芝孢子(B)扫描电镜照片(×8000)
Fig.2 Scanning electron microscopic photographs of original (A) and extruded (B) *Ganoderma lucidum* spores (×8000)

2.2 单因素试验结果

2.2.1 温度对灵芝孢子破壁率和多糖得率的影响

在物料水分含量18%、螺杆转速223r/min、进料速度126g/min条件下,研究挤压温度对灵芝孢子粉破壁率和多糖得率的影响,结果图3所示。挤压机机筒温度是保证挤出效果的一个重要因素,温度升高能够加快物料的熔融程度,在螺杆的搅拌、剪切作用下物料中的颗粒容易被破坏,机械强度降低,易被膨化^[15]。但是,机筒温度过高会使物料“焦化”,还原糖还会与氨基酸作用产生美拉德反应^[16],造成营养成分的损失,影响产品质量。因此挤压温度的最佳选择范围在125~135℃。

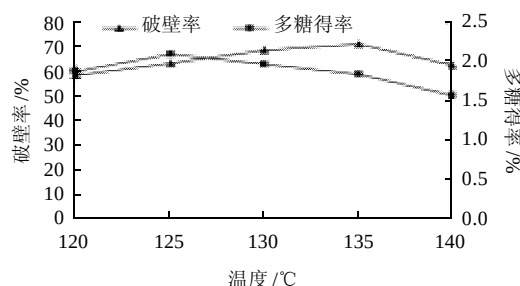


图3 温度对灵芝孢子破壁率和多糖得率的影响
Fig.3 Effect of extrusion temperature on cell wall disruption rate of *Ganoderma lucidum* spore and polysaccharide yield

2.2.2 螺杆转速对灵芝孢子破壁率和多糖得率的影响

在物料水分含量 18%、温度 125~130℃、进料速度 126g/min 条件下, 改变螺杆转速对灵芝孢子粉进行挤压。螺杆转速较低时, 物料所承受的剪切作用低, 随着螺杆转速的增加, 物料与螺杆以及机筒之间的摩擦和剪切作用增强, 加速了物料颗粒的分解和糊化; 但是螺杆转速过大, 物料在机筒内停留时间变短, 物料生化反应不彻底^[17]。由图 4 表明, 试验条件下螺杆转速变化对孢子破壁率和多糖得率的影响, 随着螺杆转速的增加, 孢子破壁率与多糖得率都呈先上升后下降趋势, 破壁率在螺杆转速为 179r/min 时呈现最大值, 多糖得率在螺杆转速为 223r/min 时最高。因而, 螺杆转速的最佳选择范围在 179~223r/min。

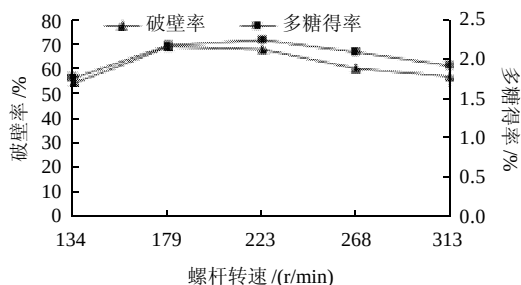


图 4 螺杆转速对灵芝孢子破壁率和多糖得率的影响

Fig.4 Effects of screw speed on cell wall disruption rate of *Ganoderma lucidum* spore and polysaccharide yield

2.2.3 进料速度对灵芝孢子破壁率和多糖得率的影响

由图 5 可以看出, 进料速度与灵芝孢子破壁率、多糖得率之间呈抛物线关系, 且有一最大值。进料速度决定了物料在挤出机反应腔中停留时间的长短, 进料速度过快, 物料在挤出腔中受到熔融、剪切、摩擦作用时间过短, 降解程度低^[18], 破壁效果差。进料速度过慢则导致生产效率低, 另外会由于局部高温致使物料被快速干燥, 输送与蒸汽喷爆剪切作用降低甚至停止^[19], 破壁率和多糖得率都会相应降低。结果表明, 多糖得率曲线以及破壁率曲线在一定速度范围内随温度变化趋势大致相同, 都在进料速度为 155g/min 处达到最大值。

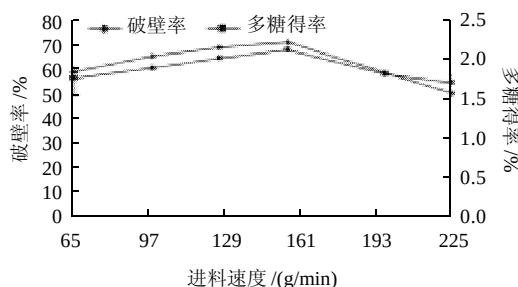


图 5 进料速度对灵芝孢子破壁率和多糖得率的影响

Fig.5 Effects of feeding rate on cell wall disruption rate of *Ganoderma lucidum* spore and polysaccharide yield

2.2.4 物料水分含量对灵芝孢子破壁率和多糖得率的影响

在挤压过程中, 适当的含水量可以使物料充分润湿、膨松, 有助于物料中高分子缠绕结构在外力作用下的打开、断裂与分子重组。物料挤出时, 水在挤出机的反应腔内受热急剧汽化, 产生强大的冲击力, 对物料分子进行切割、混合, 可改变物料的化学成分^[16]。含水量过低, 挤出过程中挤压和剪切力较低, 物料过于紧密, 输送滞缓, 物料在机筒内很难熔融, 甚至发生焦糊现象。含水量过高, 使物料在机筒内所受剪切摩擦作用减弱, 挤出温度降低, 挤出阻力使模口处压力降低, 大分子物质未经适当降解处理即被挤出机器模孔^[14], 难以达到处理的目的。用蒸馏水调整挤压物料水分含量, 然后利用双螺杆挤压机挤出。图 6 表明破壁率随水分含量增加而降低, 多糖得率的变化曲线呈先升后降趋势, 多糖得率在水分含量 15%~21% 间达到最大。

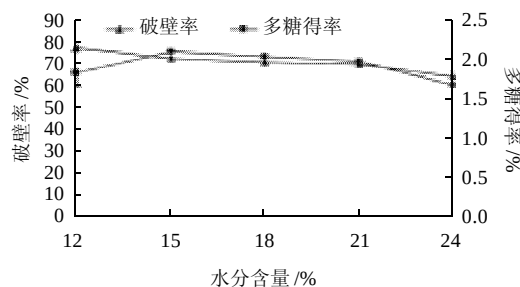


图 6 水分含量对灵芝孢子破壁率和多糖得率的影响

Fig.6 Effects of water content on cell wall disruption rate of *Ganoderma lucidum* spore and polysaccharide yield

2.3 挤压喷爆灵芝孢子粉的工艺优化

表 1 灵芝孢子粉挤压 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

试验号	A 水分含量/%	B 螺杆转速/(r/min)	C 温度/℃	D 进料速度/(g/min)	破壁率/%	多糖得率/%
1	15	179	125	98	76.5	2.16
2	15	223	130	126	78.4	1.97
3	15	268	135	155	73.8	1.75
4	18	179	130	155	77.3	1.94
5	18	223	135	98	69.5	1.63
6	18	268	125	126	78.6	1.97
7	21	179	135	126	67.3	1.58
8	21	223	125	155	76.0	2.20
9	21	268	130	98	80.8	1.89
K_1	76.2	73.7	77.0	75.6		
K_2	75.1	74.6	78.8	74.8		
K_3	74.7	77.7	70.2	75.7		
R	1.5	4.0	8.6	0.9		
k_1	1.961	1.894	2.110	1.894		
k_2	1.847	1.931	1.933	1.842		
k_3	1.891	1.872	1.655	1.962		
R'	0.114	0.122	0.455	0.120		

表2 灵芝孢子粉挤压方差分析表

Table 2 Analysis of variance for *Ganoderma lucidum* spore polysaccharide yield with various extrusion conditions

因素	偏差平方和	自由度	F 值	F 临界值($\alpha=0.05$)	显著性
水分	0.02	2	2	19.00	
螺杆转速	0.005	2	0.5	19.00	
温度	0.316	2	31.6	19.00	*
进料速度	0.022	2	2.2	19.00	
误差	0.01	2			

由表1可知,对破壁率各因素的影响大小顺序为 $C > B > A > D$,极差分析结果得到的最佳组合为 $A_1B_3C_2D_3$,即水分含量15%、螺杆转速268r/min、温度130℃、进料速度155g/min。破壁主要是为了营养物质更好的提取,本研究以多糖得率作为主要的试验指标,进行方差分析。由表1、2得出温度对多糖得率影响显著,影响最小的是水分含量,各因素的影响大小顺序是 $C > B > D > A$,即温度>进料速度>螺杆转速>水分含量,极差分析结果得到的最佳组合是 $A_1B_2C_1D_3$,即水分含量15%、螺杆转速223r/min、温度125℃、进料速度155g/min。选择此条件为最佳参数,通过验证实验灵芝孢子破壁率可达78.6%,多糖得率2.22%。为提高灵芝孢子破壁率和多糖得率,对物料在最佳条件下进行二次挤压,挤压结果为灵芝孢子破壁率提高为83.48%,多糖得率为2.37%。

3 结 论

灵芝孢子细胞壁质地坚韧,耐酸碱,极难氧化分解,普遍认为,灵芝孢子不经过破壁处理很难提取有效成分。本研究以灵芝孢子粉为物料,经双螺杆挤压破壁后获得灵芝多糖。双螺杆挤压破壁的最佳工艺条件为:水分含量15%,螺杆转速268r/min,温度130℃,进料速度155g/min;以灵芝多糖得率为主要指标,通过正交试验筛选最佳挤出工艺条件:水分含量15%,螺杆转速223r/min,温度125℃,进料速度155g/min。在此条件下通过验证实验灵芝孢子破壁率可达78.6%,多糖得率2.22%,通过在最佳条件下进行二次挤压,灵芝孢子破壁率提高为83.48%,多糖得率为2.37%。结果表明通过挤压处理灵芝孢子粉,细胞破壁明显,内容物暴露,有利于后续的功能成分提取。

参考文献:

- [1] ZHAO Dongxu, YANG Xinling, ZHU Hesun, et al. Progress in the studies of *Ganoderma* spore[J]. Chinese Traditional Drug, 1999, 30(4): 305-307.
- [2] YOU Yuhong, LIN Zhibin. Protective effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide on injury of macrophages induced by reactive oxygen species[J]. Acta Pharmacol Sinica, 2002, 23(9): 787-791.
- [3] BAO Xingfeng, DONG Qun, FANG Jinian. Structure and conformation behavior of a glucan from spores of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst[J]. Acta Biochemica et Biophysica Sinica, 2000, 32(6): 557-561.
- [4] KIM Y S, EO S K, OH K W, et al. Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with acyclovir and vidarabine[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2000, 72(1/2): 221-227.
- [5] EO S K, KIM Y S, LEE C K, et al. Possible mode of antiviral activity of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* on herpes simplex viruses[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2000, 72(3): 475-481.
- [6] 毛健, 马海乐. 灵芝多糖的研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 295-299.
- [7] ZHANG Huina, HE Jinghua, YUAN Lan, et al. In vitro and in vivo protective effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on alloxan-induced pancreatic islets damage[J]. Life Sciences, 2003, 73(18): 2307-2319.
- [8] 董艳红, 李妹婧, 郑惠华, 等. 响应曲面优化超声波提取灵芝多糖工艺研究[J]. 食品科学, 2009, 30(16): 98-101.
- [9] BENDAHO A, DUFRESNE A, KADDAMI H, et al. Isolation and structural characterization of hemicelluloses from palm of *Phoenix dactylifera* L.[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 68(3): 601-608.
- [10] 刘兴信. 挤压技术在谷物加工中的应用[J]. 粮油食品科技, 2011, 22(2): 1-5.
- [11] 杨涛, 辛建美, 徐青, 等. 双螺杆挤压技术在食品工业中的应用现状[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(6): 733-740.
- [12] DING Q B, AINSWORTH P, TUCKER G, et al. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks[J]. J Food Eng, 2005, 66(3): 283-289.
- [13] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 2版. 杭州: 浙江大学出版社, 1999: 11-12.
- [14] 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.
- [15] 徐克非, 李德溥. 双螺杆挤压机操作参数对加工质量影响的研究[J]. 包装工程, 2006, 27(4): 77-78; 83.
- [16] 卢焘. 双螺杆挤压重组鱼肉加工新技术研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2007.
- [17] 杨绮云, 李德溥, 徐克非. 操作参数对双螺杆挤压机挤压效果影响的研究[J]. 食品科学, 2001, 22(2): 14-17.
- [18] 苏晓琳. 双螺杆挤压膨化对豆粕营养品质影响规律的研究[D]. 吉林: 东北农业大学, 2009.
- [19] 王大为, 张娜, 刘婷婷. 玉米皮多糖挤出低聚化的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(2): 138-141.