

蒸汽爆破法预处理制取的灵芝粗提物 安全性评价初步研究

石 敏,汪何雅,成玉梁,钱 和*

(江南大学食品科学与技术国家重点实验室,江南大学食品学院,江苏无锡 214122)

摘 要:通过比较蒸汽爆破预处理前后灵芝制取的灵芝粗提物中功能性成分的提取率变化来反映蒸汽爆破技术对灵芝提取过程的影响,并对灵芝提取物进行安全性评价初步研究。以灵芝多糖,灵芝三萜提取率的变化来反映蒸汽爆破技术对灵芝粗提物的影响,采用急性毒性实验,30d饲养实验进行安全性初步评价。结果表明:1.5MPa,150s灵芝蒸汽爆破处理后的多糖提取率是3h未处理组的10倍,蒸汽爆破2.1MPa,210s处理后灵芝粗提物中三萜的提取率增加为原来的1.95倍,本次实验初步评估表明蒸汽爆破法预处理制取的灵芝粗提物无明显的毒副作用及不良反应。

关键词:蒸汽爆破,灵芝多糖,灵芝三萜,毒理学

Study on primary safety evaluation of extractive from *Ganoderma Lucidum* pretreated by steam explosion

SHI Min, WANG He-ya, CHENG Yu-liang, QIAN He*

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The effect of steam explosion on *Ganoderma Lucidum* extractive was evaluated by comparing the difference of functional components from treated and untreated *Ganoderma Lucidum* and the toxicity of extractive from *Ganoderma Lucidum* pretreated by steam explosion was evaluated. The evaluation indicators include extraction rates of *Ganoderma Lucidum* polysaccharide and *Ganoderma Lucidum* triterpene. The toxicity of *Ganoderma Lucidum* extract treated by steam explosion was evaluated by tests of acute toxicity and 30 days feeding test. The steam explosion for 150s at a steam pressure of 1.5MPa was effective pretreatment for the extraction of *Ganoderma Lucidum* polysaccharide and the polysaccharide extraction rate of treated sample was 10 times compared with the untreated sample (3h). The steam explosion for 210s at a steam pressure of 2.1MPa was effective pretreatment for the extraction of *Ganoderma Lucidum* triterpene and the triterpene extraction rate of treated sample was 1.95 times compared with the untreated sample. The *in vivo* mouse toxicity test showed that there is no obvious toxicity of extractive from *Ganoderma Lucidum* pretreated by steam explosion.

Key words: steam explosion; *Ganoderma Lucidum* polysaccharide; *Ganoderma Lucidum* triterpene; toxicology

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)06-0338-05

灵芝(*Ganoderma Lucidum*),属于多孔菌科灵芝属,是中医药宝库中的珍品,有“仙草”、“瑞草”之称^[1]。灵芝含有对人体有益的17种氨基酸以及灵芝多糖、三萜类、生物碱、核苷类、甾醇类等有效成分,具有广泛的药理作用,如:抗肿瘤、免疫调节、降血压等作用,可用于防治冠心病、慢性支气管炎、神经衰弱、肝炎、白细胞减少,延缓衰老等^[2]。

灵芝有效成分的提取方法有热水浸提法、溶剂浸提法、酶解法^[3],但其具有提取时间长,提取率低等局

限性。蒸汽爆破是近年发展起来的一种经济且对环境友好的处理技术,该技术的原理是利用高温饱和蒸汽快速渗透到植物细胞组织中,并通过瞬间泄压实现原料的组分分离和结构变化,从而破坏植物的细胞组织,达到目的产物提取率的提高^[4]。蒸汽爆破技术一般将物料放入密闭的处理罐中,在0.6~4.6MPa的压力下维持数秒或数分钟之后,压力在0.00875s内瞬间降为大气压,物料温度也在瞬间降为室温^[5]。

灵芝子实体成熟变干后为木栓质,主要由粗大的厚壁菌丝交织排列而成,由于灵芝的功能性成分都被坚硬的细胞壁包裹,因此提取非常困难。蒸汽爆破技术通过蒸汽压的瞬间释放可以破坏纤维束之间的相互连接,使细胞壁破裂,因此在植物成分提取的过程中具有很好的效果,已有应用到食品加工的报道^[6],已有的报道表明,蒸汽爆破技术主要应用于食

收稿日期:2013-07-19 * 通讯联系人

作者简介:石敏(1988-),女,硕士研究生,研究方向:食品质量与安全控制。

基金项目:区域特产资源生态高值利用技术研究与产品开发(2011BAZ02169)。

品加工中副产物的再利用,如蒸汽爆破辅助提取高湿豆粕中的蛋白质^[7],甘蔗叶蒸汽爆破法提取木糖^[8],但至今还没有应用于灵芝加工过程的研究,本文研究了蒸汽爆破技术在灵芝制品加工中的应用,同时鉴于高温高压的处理,初步研究了蒸汽爆破处理后灵芝粗提物的安全性。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

赤灵芝 福建健神生物工程有限公司;昆明小鼠,六周龄 上海斯莱克实验动物责任有限公司;熊果酸标准品 中国食品药品检定所;98%浓硫酸、苯酚、葡萄糖、乙酸乙酯、香草醛、无水乙酸、95%乙醇、高氯酸等 均为分析纯。

QBS-80B型高密度蒸汽爆破机 鹤壁市正道生物能源有限公司;5804R型台式高速冷冻离心机 德国Eppendorf AG公司;AHH-4型数显恒温水浴锅 上海申顺生物科技有限公司;TU-1900型双光束紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器公司;Roche cobas 6000型生化分析仪 日本日立公司。

1.2 实验方法

1.2.1 蒸汽爆破处理 将灵芝放于60℃烘箱内烘至恒重,粉碎成边长0.5cm左右的碎屑。取粉碎好的灵芝90g放入高密度蒸汽爆破机的处理腔中,然后通入饱和蒸汽并保压一定时间,在极短时间内实现蒸汽爆破处理,汽爆处理强度,分为高、中、低强度,高强度蒸汽压为210MPa,维压时间210s,中处理强度为150MPa、150s,低处理强度为90MPa、90s,处理后的样品收集并保存于-20℃下,待分析。

1.2.2 灵芝多糖含量的测定 取处理过灵芝约2g(含干基1.0g),30mL蒸馏水,经过预实验确定于80℃水浴浸提1h,多糖即可完全浸提出来。未处理的灵芝,烘至恒重,分两组在水浴中分别浸提1h和3h。浸提物过滤,取滤液,向滤液中加入95%的乙醇使提取液中乙醇的含量为80%,将提取液放于4℃下,静置过夜,次日将提取液在4000r/min下离心10min,弃去上清液,取沉淀于蒸馏水中溶解成多糖溶液备用。

苯酚-硫酸法测定灵芝多糖^[9]:准确称取105℃干燥恒重后的葡萄糖标准品20μg,加水溶解并定容至100mL,准确吸取葡萄糖标准液0.1、0.2、0.3、0.4、0.5mL,分别置于具塞刻度试管中,加水至2.0mL,滴加5%苯酚溶液1.0mL混合均匀,迅速滴加浓硫酸5.0mL,摇匀后放置5min,然后于40℃下水浴20min,取出冷却至室温,另外以蒸馏水2mL同上操作作为空白对照,于490nm处,测定吸光值。多糖溶液样品按照上述方法测定,每个样品重复三次。

$$\text{多糖提取率}(\%) = \frac{c \times n \times v}{m \times 1000} \times 100$$

式中:c为从标准曲线查得的多糖的浓度,mg/mL;n为溶液稀释倍数;v为提取液体积,mL;m为灵芝原料的干重,g。

1.2.3 灵芝三萜类含量的测定 参考文献[10]中的方法,取灵芝约8g(含干基3.0g),90mL 95%乙醇,于75℃水浴浸提1h,过滤,取滤液。精确称取熊果酸标

准品5.0mg,溶解于50mL乙酸乙酯中,混合均匀得标准溶液(100μg/mL)吸取标准溶液0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL分别置于具塞试管中,加热挥干溶剂,然后加入新配制的0.4mL、5%香草醛-冰醋酸溶液和1.0mL高氯酸,在65℃恒温水浴中加热15min后冷却至室温,并加入5.0mL冰醋酸摇匀后置于室温,15min后在548nm测定其吸光度,灵芝样品按照上述方法测定,每个样品重复三次。

$$\text{三萜提取率}(\%) = \frac{c \times n \times v}{m \times 1000} \times 100$$

式中:c为从标准曲线查得的三萜的浓度,mg/mL;n为溶液稀释倍数;v为提取液体积,mL;m为灵芝原料的干重,g。

1.2.4 蒸汽爆破法预处理制取的灵芝粗提物的小鼠急性毒性实验^[11] 取昆明小鼠20只,随机分为2组,正常对照组和给药组,每组10只(雌雄各半)。实验前禁食不禁水12h,灵芝提取物为灵芝水提物,经旋转蒸发浓缩,冷冻干燥所得的固体溶解于蒸馏水的溶液,汽爆灵芝组1次灌胃给药剂量15g/kg,给药浓度300mg/mL,即给药量每10g体重给予0.5mL;共灌胃2次,间隔4h,对照组给予等量的蒸馏水。给药后连续观察14d,在同一条件下分笼饲养,普通颗粒饲料,自由饮水,室温(22±2)℃记录动物的活动及死亡情况。

1.2.5 30d喂养实验 选健康的、六周龄的昆明小鼠80只,雌雄各半。小鼠随机分为3个剂量组和1个阴性对照组,每组雌、雄小鼠各10只。成人(60kg)推荐量为每天3g灵芝提取精粉,按照成人用量的25、50、100倍,分高、中、低剂量组灌胃小鼠。经口灌胃汽爆处理的灵芝提取物,阴性对照组给予蒸馏水,连续观察30d。每天观察并记录动物的行为及毛色,每周称一次体重和食物摄入量,计算食物利用率;30d后摘眼球取血、脱颈处死,对每只动物进行脏器大体观察,并称量心、肝、脾及双肾的重量,计算相对重量;同时进行Hb、RBC、WBC计数,谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、总胆固醇(Tc)、甘油三酯(TG)、尿素氮(BUN)、血糖(GLU)的测定。

1.2.6 数据处理方法 实验数据用均值±SD表示,以SPSS 17.0统计软件进行单因子方差分析(One-Way ANOVA),各组间比较采用t检验。

2 结果与分析

2.1 蒸汽爆破处理对灵芝多糖提取率的影响

蒸汽爆破处理前后的多糖提取率比较如图1所示,样品中的测定值均相对于干基而言。由图1可知,蒸汽爆破处理后灵芝提取的灵芝多糖的含量明显高于未处理组,并且随着处理强度的增加,灵芝多糖的提取率先增加后降低,中等强度汽爆处理的灵芝多糖的提取率可以达到5.9%,而未处理a的灵芝多糖的提取率仅为0.07%,未处理b的灵芝多糖的提取率为0.56%,1.5MPa、150s灵芝汽爆处理后的多糖提取率约是未处理组b的10倍。中等强度汽爆处理组即使在1h的浸提条件下也比未处理组在3h的浸提条件下的灵芝多糖得率明显提高。

灵芝子实体是由许多排列紧密、较粗的厚壁菌丝

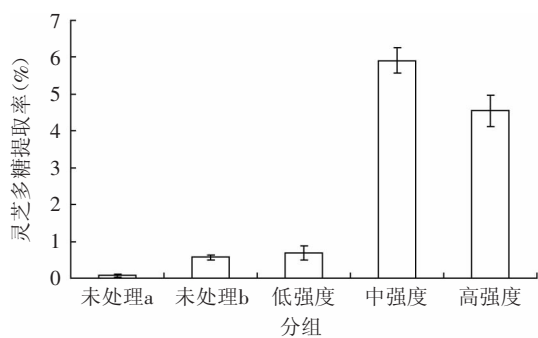


图1 蒸汽爆破处理前后灵芝多糖的提取率

Fig.1 Extraction rates of ganoderma lucidum polysaccharide from treated and untreated samples

注: 未处理a灵芝的浸提时间为1h; 未处理b灵芝的浸提时间为3h; 处理组的浸提时间均为1h; 图2同。

组成, 菌丝交织排列形成束状, 子实体成熟后细胞壁内渗入脂肪形成木栓质, 木栓质的细胞不透水和空气, 细胞内原生质与周围环境隔绝而死亡, 细胞壁分三层, 胞间层主要由果胶组成, 初生壁主要由纤维素和半纤维素组成, 次生壁主要由纤维素和木质素组成。蒸汽爆破技术中蒸汽瞬间释放所产生的强大压力使木质素和半纤维素对纤维素的保护作用遭到破坏, 纤维间的粘结被削弱。同时, 据汽爆原料热性质分析, 三大组分热解时, 放热温度分别为半纤维素是180~300℃, 纤维素是240~400℃, 木质素是280~350℃。本研究中蒸汽爆破处理的温度在180~220℃范围内, 部分半纤维素的水解使剩下的固相纤维素变得疏松多孔, 纤维束相互分离, 细胞壁破裂, 使得包裹在纤维束或细胞内的功能性成分被释放, 明显降低了传质阻力^[12-13], 提高了灵芝多糖的提取率。汽爆强度增大到一定值后, 多糖会发生降解反应和碳化, 导致多糖提取率的降低。

2.2 蒸汽爆破技术对灵芝三萜提取率的影响

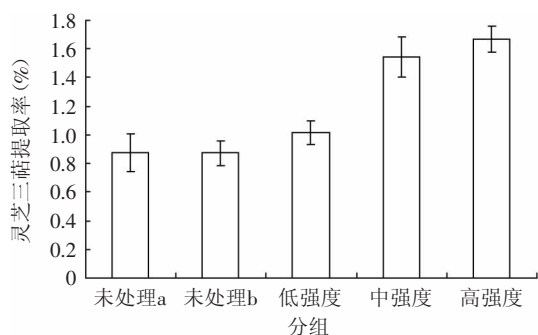


图2 蒸汽爆破处理前后灵芝三萜的提取率

Fig.2 Extraction rates of ganoderma lucidum triterpene from treated and untreated samples

表1 蒸汽爆破处理灵芝的提取物对KM小鼠的急性毒性(LD₅₀)实验结果Table 1 Results of acute toxicity LD₅₀ test in mice

性别	动物数	剂量	始重(g)	终重(g)	死亡数(只)	死亡率(%)
雌	5	15g/kg	35.60±2.54	40.0±3.18	0	0
雄	5	15g/kg	39.25±1.01	42.10±1.17	0	0
雌	5	对照	37.86±2.40	39.8±1.98	0	0
雄	5	对照	39.23±3.53	44.20±4.90	0	0

图2反映了灵芝三萜提取率随处理条件的不同而发生的变化, 样品中的测定值均相对于干基而言。由未处理a组和未处理b组比较可以看出灵芝三萜浸提1h即可提取完全, 汽爆处理灵芝前后效果明显, 灵芝三萜的提取率随汽爆强度的增加而增加, 汽爆高强度处理三萜的提取率可以达到1.70%, 而未处理组为0.87%, 三萜的提取率增加了0.95倍。汽爆的强度越大, 维管束等腔道组织膨胀, 间隙孔洞增多增大以及细胞表皮出现解离断裂的程度越大, 三萜的提取率越高, 同时由于三萜相对稳定, 所以三萜未随处理强度的增加而降低。

2.3 急性毒性实验(LD₅₀)

实验结果如表1所示。经口给予蒸汽爆破处理灵芝的浸提物后, 第1d, 小鼠食量下降, 第2~3d后小鼠的活动、食量皆恢复正常, 与对照组比较, 无明显差异, 实验期间, 小鼠存活状态良好, 均未出现明显中毒症状。第14d结束实验, 小鼠被毛整齐有光泽, 眼睛视物有神, 耳鼻口外无异常分泌物, 破溃, 肛周无排泄物附着, 解剖小鼠, 胸腔、腹腔内无积液, 肉眼观察其心、肝、脾、肺、肾、肠等脏器, 与对照组比较, 皆未发现明显病变和差异。由此可以认为, 汽爆处理灵芝的浸提物的LD₅₀应大于15g/kg, 依据国家急性毒物(LD₅₀)剂量分级标准可知汽爆处理灵芝制取的灵芝粗提物属于无毒物^[14]。

2.4 蒸汽爆破处理灵芝的提取物的30d喂养实验

实验结果如表2~表4所示。表2结果显示, 雄鼠的食物利用率都略高于雌鼠, 但灌胃组雄鼠和雌鼠与阴性对照组相比均无显著性差异($p>0.05$), 表明蒸汽爆破处理灵芝的提取物对小鼠的食物利用率无明显影响。

由于脏器比值在正常成年动物中变化范围较小, 脏器比系数的比较结果在毒性实验中被看做一项重要指标。表3为小鼠部分器官的脏器比。由表3可知, 与阴性对照组相比, 受试物各组动物的心、肝、脾、肾与体重的比值均在正常范围内, 灌胃组与阴性对照组也无显著性差异($p>0.05$), 表明受试物对小鼠的内脏器官无明显影响。同时, 病理组织学观察^[15]显示: 内脏器官大小、色泽正常, 边缘锐利, 无新生物和粘连, 其他脏器亦未见异常病理变化。

表4和表5为小鼠血清生化指标的测定结果。谷草转氨酶、谷丙转氨酶是肝功能的敏感指标, 尿素氮可以反映肾脏的损伤, 总蛋白与肝脏的合成数量和肾脏丢失量有关^[15], 由表4结果可知, 雌雄小鼠灌胃组与阴性对照组无显著性差异, 表明受试物对肝脏和肾脏无显著性损伤。血糖、总胆固醇和甘油三酯与

表2 蒸汽爆破处理灵芝的提取物对30d喂养实验小鼠食物利用率的影响

Table 2 Effect of ganoderma lucidum extract on mice increased body weight and food utilization of 30 days feeding test

组别(g/kg)	增重(g)	进食量(g)	食物利用率(%)
♀ 阴性对照	9.42±1.98	230.64	4.08±0.86
1.25	9.56±1.55	238.99	4.00±0.32
2.50	9.19±1.27	240.90	3.81±0.94
5.00	8.77±0.99	220.93	3.97±0.75
♂ 阴性对照	13.83±1.40	302.35	4.23±0.92
1.25	13.30±0.99	303.86	4.38±0.64
2.50	12.25±1.57	297.18	4.13±1.2
5.00	12.73±1.87	290.04	4.39±0.99

注:与阴性对照比较,* $p<0.05$,** $p<0.01$;表3~表6同。

表3 汽爆处理灵芝的提取物对小鼠30d喂养实验脏体比的影响

Table 3 Effect of ganoderma lucidum extract on mice viscera/body weight of 30days feeding test

组别(g/kg)	心/体(%)	肝/体(%)	脾/体(%)	肾/体(%)
♀ 阴性对照	0.59±0.08	4.85±0.32	0.32±0.04	1.27±0.10
1.25	0.69±0.07	4.61±0.46	0.30±0.05	1.25±0.12
2.50	0.55±0.09	4.39±0.56	0.29±0.04	1.21±0.11
5.00	0.60±0.04	4.53±0.35	0.32±0.06	1.25±0.14
♂ 阴性对照	0.59±0.03	4.74±0.35	0.24±0.03	1.47±0.15
1.25	0.62±0.08	4.74±0.4	0.27±0.05	1.50±0.12
2.50	0.62±0.05	4.39±0.45	0.23±0.04	1.46±0.07
5.00	0.60±0.03	4.36±0.38	0.22±0.04	1.45±0.12

体内代谢有关,表5的结果显示雌性小鼠的2.5g/kg组的血糖测定和雄性小鼠的1.25g/kg组的总胆固醇测

表5 蒸汽爆破处理灵芝的提取物对30d喂养实验小鼠生化指标的影响 II

Table 5 Effect of ganoderma lucidum extract on mice biochemical index of 30 days feeding test II

组别(g/kg)	血糖(mmol/L)	总胆固醇(mmol/L)	甘油三酯(mmol/L)
♂ 阴性对照	4.70±1.0	3.15±0.63	1.61±0.47
1.25	3.80±1.05	2.73±0.23*	1.39±0.29
2.50	3.36±0.91	2.8±0.29	1.49±0.36
5.00	3.92±0.86	3.01±0.5	1.79±0.69
♀ 阴性对照	3.73±0.92	2.49±0.50	1.57±0.42
1.25	3.70±1.09	2.13±0.52	1.40±0.31
2.50	2.86±1.06*	2.14±0.37	1.43±0.26
5.00	3.11±1.28	2.31±0.49	1.77±0.51

定与其相应的阴性对照组有显著性差异($p<0.05$),但这两组的血糖和总胆固醇的结果在正常的范围(血糖2.78~9.77mmol/L,总胆固醇:2.1~3.9mmol/L)之内,且与剂量的改变没有相应的剂量关系,此处的差异是由个体差异造成的,其余剂量组的各项指标与阴性对照组相比,均未发现显著性差异($p>0.05$)。

由表6的数据说明,雌性小鼠的淋巴细胞指标高剂量组、中剂量组与阴性对照组有极显著差异($p<0.01$),雄性小鼠的高剂量组与阴性对照组有显著性差异($p<0.05$),但测定的结果均在正常范围(54%~85%)之内,雌性小鼠低剂量组的红细胞测定指标与阴性对照组有显著性差异($p<0.05$),但雌性小鼠红细胞数量的变化趋势与饲喂样品剂量大小的趋势无相关性,且此指标的其他组未见显著性差异,可不考虑实验因素所致。白细胞和血红蛋白的测定结果未

表4 蒸汽爆破处理灵芝的提取物对30d喂养实验小鼠生化指标的影响 I

Table 4 Effect of ganoderma lucidum extract on mice biochemical index of 30 days feeding test I

组别(g/kg)	总蛋白(g/L)	谷丙转氨酶(IU/L)	谷草转氨酶(IU/L)	尿素氮(mmol/L)
♂ 阴性对照	55.22±3.69	71.58±18.07	143.49±24.4	8.69±1.17
1.25	53.12±3.45	67.53±15.71	166.85±20.03	7.99±1.19
2.50	56.03±3.75	63.39±15.11	158.18±22.76	9.18±1.36
5.00	57.18±3.67	54.9±9.81	151.11±16.78	8.62±0.98
♀ 阴性对照	54.16±3.6	37.88±4.73	129.39±16.46	7.49±1.29
1.25	52.23±3.68	43.19±6.93	139.05±22.92	7.96±1.09
2.50	52.55±2.55	40.00±5.88	143.85±26.74	7.68±1.06
5.00	54.04±2.01	42.36±5.52	135.92±27.86	8.16±1.28

表6 蒸汽爆破处理灵芝的提取物30d喂养实验小鼠血液学指标的影响

Table 6 Effect of ganoderma lucidum extract on mice blood index of 30 days feeding test

组别(g/kg)	白细胞($10^9/L$)	淋巴细胞(%)	红细胞($10^{12}/L$)	血红蛋白(g/L)
♀ 阴性对照	7.98±0.93	56.18±5.97	9.94±0.71	147.2±12.09
1.25	6.76±0.62	63.06±5.84	11.00±1.67*	171.2±20.49
2.50	8.62±1.05	72.62±3.59**	10.20±0.41	157.4±4.88
5.00	6.32±1.19	69.78±5.26**	9.95±0.63	157.6±5.59
♂ 阴性对照	7.56±1.45	54.76±9.61	10.11±0.35	152.4±5.32
1.25	6.12±1.15	48.27±3.7	9.71±0.47	146.8±4.92
2.50	7.72±0.70	59.04±4.39	10.49±0.34	156.4±2.7
5.00	6.82±1.11	66.74±4.48*	9.98±0.76	147.6±8.68

见显著性差异。

3 结论与讨论

蒸汽爆破技术应用于灵芝提取时的预处理过程中,灵芝多糖、三萜提取率明显高于未处理组,灵芝蒸汽爆破处理(1.5MPa, 150s)后提取时间1h即可将多糖完全提取出来,灵芝汽爆处理后浸提1h的多糖提取率是未处理组浸提3h后10倍,蒸汽爆破2.1MPa, 210s处理后灵芝粗提物中三萜的提取率增加了0.95倍,同时对蒸汽爆破法预处理制取的灵芝粗提物进行初步的安全性评价,经过测定得出小鼠经半数致死量(LD₅₀)均大于15g/kg BW,该样品属无毒级;小鼠30d喂养实验结果表明,与对照组比较,蒸汽爆破法预处理制取的灵芝粗提物三个剂量组除淋巴细胞在正常范围内略有增加,其他组的体重、食物利用率、血液学、血液生化学、脏器比及高剂量组织病理学检查均未见异常,蒸汽爆破法预处理制取的灵芝粗提物高剂量组的剂量是人体推荐量(50mg/kg BW)的100倍。本次实验初步评估表明蒸汽爆破法预处理制取的灵芝粗提物无明显的毒副作用及不良反应。灵芝含有多种功能性成分,在未来的研究过程中,在对汽爆所得提取物的安全性进行更全面评估的同时,也可着重研究灵芝汽爆处理后提取物结构或组分的变化;灵芝提取物功能性的变化。

蒸汽爆破技术作为近年来新兴的处理技术,在灵芝加工过程中对功能性成分提取率的增加,提取时间的缩短等方面均有显著地作用,同时此方法处理时间短,耗费能量低,仅有物理加工过程,无化学物质的污染,蒸汽爆破处理仓为罐式,可以进行大规模生产,在灵芝加工过程以及中草药提取方面具有广阔的前景。

参考文献

[1] 王爱成,李柏. 灵芝[M]. 北京:北京科学技术出版社,2003;

1-3.

[2] 林志彬. 灵芝的现代研究[M]. 北京:北京医科大学出版社,2001:284-304.

[3] 张一帆,张智,魏志艳,等. 四种方法提取灵芝粗多糖的得率比较实验[J]. 食用菌,2010,10(6):58-60.

[4] Z D Yu, B L Zhang, F Q Yu, *et al.* A real explosion:The requirement of steam explosion pretreatment[J]. Bioresource Technology, 2012, 121(8):335-341.

[5] L X Gong, L L Huang, Y Zhang. Effect of steam explosion treatment on barley bran phenolic[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60:7177-7184.

[6] Akihiro Kurosumi, Fumihisa Kobayashi, Godliving Mtui, *et al.* Development of optimal culture method of Sparassis crispa mycelia and a new extraction method of antineoplastic constituent [J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, 30:109-113.

[7] 张燕鹏,杨瑞金,华霄,等. 蒸汽爆破辅助提取高温豆粕中的蛋白质[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(1):190-193.

[8] 雷光鸿,崔素芬,柳嘉,等. 甘蔗叶蒸汽爆破法提取木糖的工艺研究[J]. 广西轻工业, 2013, 12(4):25-27.

[9] 陈凌华,程祖铎. 灵芝多糖热水提取条件的优化实验[J]. 浙江食用菌, 2009, 17(4):21-23.

[10] 张志军,朱越,罗莹,等. 灵芝中三萜化合物提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(9):81-83.

[11] GB 15193.1-15193.21 食品安全性毒理学评价程序和方法[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

[12] G Z Chen, H Z Chen. Extraction and deglycosylation of flavonoids from sumac fruits using steam explosion[J]. Food Chemistry, 2011, 126:1934-1938.

[13] 康鹏,郑宗明,董长青,等. 木质纤维素蒸汽爆破预处理技术的研究进展. 可再生能源[J]. 2010, 28(3):112-115.

[14] 郑建仙. 功能性食品:第三卷[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999:35.

[15] 袁伯俊,廖明阳,李波. 药物毒理学实验方法与技术[M]. 北京:化学工业出版社,2007:631-640.

(上接第328页)

[8] 曹建康,姜微波,赵玉梅. 果蔬菜后生理生化指导[M]. 北京:中国轻工业出版社,2007:28-30.

[9] 马庆华,王贵禧,梁丽松. 质构仪穿刺实验检测冬枣质地品质方法的建立[J]. 中国农业科学, 2011, 44(6):1210-1217.

[10] Lurie S. Postharvest heat treatments[J]. Postharvest Biology and Technology, 1998, 14(3):257-269.

[11] 李鹏霞,王贵禧,樊金栓. 热水处理对冬枣货架期品质的影响[J]. 西北林学院学报, 2004, 19(2):119-121.

[12] Hernández-Muñoz P, Almenar E, Vallea V D, *et al.* Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria × ananassa*) quality during refrigerated storage[J]. Food Chemistry, 2008, 110(2):428-435.

[13] Aguayo E, Escalona V H, Artes F. Effect of hot water treatment and various calcium salts on quality of fresh-cut Amarillo melon[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 47(3):397-406.

[14] Santonico M, Bellincontro A, Santis D D, *et al.* Electronic

nose to study postharvest dehydration of wine grapes[J]. Food Chemistry, 2010, 121(3):789-796.

[15] Benedetti S, Buratti S, Spinardi A, *et al.* Electronic nose as a non-destructive tool to characterise peach cultivars and to monitor their ripening stage during shelf-life[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 47(2):181-188.

[16] 江琳琳,潘磊庆,屠康,等. 基于电子鼻对水蜜桃货架期评价的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(12):229-232.

[17] 朱娜,毛淑波,潘磊庆,等. 电子鼻对草莓采后贮藏早期霉菌感染的检测[J]. 农业工程学报, 2013, 29(5):266-273.

[18] 陈忻,袁毅桦,蔡沂,等. 复配叶绿素铜钠对草莓的保鲜研究[J]. 食品科学, 2007, 28(9):571-573.

[19] 曹雪慧,邵悦,刘丽萍,等. 迷迭香提取液对草莓保鲜效果的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(3):325-327.

[20] Zhang H M, Wang J, Ye S. Predictions of acidity, soluble solids and firmness of pear using electronic nose technique[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 86(3):370-378.