

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240808003

血球计数板检测破壁灵芝孢子粉破壁率方法的优化研究

简伟明*, 赵唯君, 章琼珊, 李洁仪

(广东粤微食用菌技术有限公司, 广州 510663)

摘要: **目的** 对现行常用的血球计数板检测破壁灵芝孢子粉破壁率的方法进行优化研究, 以降低检测误差, 避免人为主观判断, 并提高检测效率。**方法** 通过考察不同的悬浮液体系, 筛选出能使破壁灵芝孢子粉分散性最佳的悬浮液体系; 通过考察常用的细胞染色剂, 筛选出能是破壁灵芝孢子粉染色, 而灵芝孢子粉不被染色的最适染色剂。**结果** 优化后检测方法重复性与再现性良好, 重复性与再现性相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)均为 0.3%; 回收率良好, 不同破壁率水平的样品回收率平均值在 98.9%~100.9% 范围内; 检测效率明显提高, 单个样品的检测时间从 18.2 min 降低至 8.1 min。**结论** 本研究通过优化悬浮液体系及引用细胞染色技术与血球计数法结合, 降低了检测方法误差, 避免了人为主观判断, 建立了一种更为准确、客观、高效的破壁率检测方法, 为破壁灵芝孢子粉破壁率检测提供了可靠手段。

关键词: 血球计数板; 破壁灵芝孢子粉; 破壁率; 细胞染色技术

Optimizing the hemocytometer measurement method for determining the sporoderm-broken rate of *Ganoderma lucidum* spore powder

JIAN Wei-Ming*, ZHAO Wei-Jun, ZHANG Qiong-Shan, LI Jie-Yi

(Guangdong Yuewei Edible Fungi Technology Co., Ltd., Guangzhou 510663, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the commonly used hemocytometer measurement method for determining the sporoderm-broken rate of *Ganoderma lucidum* spore powder, reduce experimental error, avoid subjective judgment by technician and improve the detection efficiency. **Methods** By examining different suspension systems, the best one was selected that could fully disperse the sporoderm-broken *Ganoderma lucidum* spore powder. By examining commonly used cell staining agents, the most suitable staining agent was selected that could stain broken *Ganoderma lucidum* spore powder while not staining *Ganoderma lucidum* spore powder. **Results** The optimized detection method had good repeatability and reproducibility, with a relative standard deviation (RSD) of both repeatability and reproducibility were 0.3%. The recovery rate was good, and the average recovery rate of samples with different levels of sporoderm-broken rate were within the range of 98.9% to 100.9%. The detection efficiency had been significantly improved, and the detection time for a single sample had been reduced from 18.2 min to 8.1 min. **Conclusion** The article optimizes the suspension system and combines cell staining technology with hemocytometer measurement to

*通信作者: 简伟明, 工程师, 主要研究方向为食用菌加工产品的质量管理以及合规管理。E-mail: 444528912@qq.com

*Corresponding author: JIAN Wei-Ming, Engineer, Guangdong Yuewei Edible Fungi Technology Co., Ltd., 792 Shenzhou Road, Huangpu District (Guangzhou New and High-tech Industrial Development Zone), Guangzhou 510663, China. E-mail: 444528912@qq.com

reduce detection method errors, avoid subjective judgments and establish a more accurate, objective and efficient method for detecting sporoderm-broken rate of *Ganoderma lucidum* spore powder, providing a reliable means for sporoderm-broken rate detection of *Ganoderma lucidum* spore powder.

KEY WORDS: hemocytometer measurement; sporoderm-broken *Ganoderma lucidum* spore powder; sporoderm-broken rate; cell staining technology

0 引 言

灵芝孢子是从成熟灵芝的菌褶中弹射出来的, 是灵芝的生殖细胞^[1], 富含多糖、萜类、氨基酸、生物碱、有机锗等成分^[2-7], 具有增强机体免疫力、降血糖、抗氧化、抑制肿瘤等药效^[8-12]。但灵芝孢子壁主要由几丁质、纤维素、木质素等组成, 质地异常坚硬, 孢子进入肠胃后, 其有效成分不易被人体吸收利用^[13-15], 因此, 为了充分利用灵芝孢子内的有效物质, 生产上通常需要对灵芝孢子进行破壁处理^[16-18]。破壁率高低也成为判断破壁灵芝孢子粉质量优劣的重要指标之一。

2020 年破壁灵芝孢子粉被列入保健食品原料目录^[19], 其中把破壁率列为一项理化指标, 并明确了破壁率的检测方法。该方法与 GB/T 29344—2023《灵芝孢子粉采收及加工技术规范》中附录 B^[20]的测定方法相同。因此, 该方法为目前最常用的破壁率检测方法, 但其存在准确性低、重复性差等问题^[21-26], 造成破壁率检测准确性及重复性低的原因主要为: 现有标准方法中采用的悬浮液体系(蔗糖-吐温 80-水)未能将灵芝孢子充分分散, 造成孢子分布不均匀、成团重叠的现象, 导致计数重复性和准确性差; 破壁灵芝孢子粉中可能存在破壁程度并不明显的灵芝孢子, 需要技术人员凭借个人经验进行破壁与非破壁判断, 这种判断主观性较强, 也导致不同技术人员的检测结果差异较大, 重现性差。此外, 血球计数板加样后刻度线模糊, 技术人员需花费大量时间和精力寻找及判别刻度线位置, 检测效率低, 同时造成技术人员视觉疲劳。

为改善上述问题, 本研究通过对悬浮液体系的优化, 使灵芝孢子在悬浮液中充分分散, 避免了因灵芝孢子成团重叠导致的方法误差; 并引用细胞染色技术与血球计数法结合, 使破壁灵芝孢子粉得以染色, 而未破壁的灵芝孢子粉不能染色, 避免技术人员的主观判断, 并同时使血球计数板中刻度线附着染色剂, 提高检测效率, 为破壁灵芝孢子粉破壁率检测提供了一种可靠手段。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

灵芝孢子粉(未破壁)及破壁灵芝孢子粉由广东粤微食用菌技术有限公司提供。

1.2 试剂与仪器

吐温 80、蔗糖、甘油、酸性品红、次甲基蓝、结晶紫(分析纯, 广州化学试剂厂)。

血球计数板(25 个中格×16 个小格, 北京索莱宝科技有限公司); AU220 型岛津分析天平(精度 0.0001 g, 日本岛津公司); AS10200ADT 超声波清洗器(中国天津奥特赛恩斯仪器有限公司); OLYMPUS-BX41 光学显微镜[奥林巴斯(中国)有限公司]。

1.3 试验方法

本试验方法参考 GB/T 29344—2023 附录 B^[20]方法进行, 在其基础上对样品前处理操作步骤进行优化。

1.3.1 样品制备

分别取同一批次有代表性灵芝孢子粉和破壁灵芝孢子粉的样品, 各 300 g, 充分混匀, 于烘箱 60 °C 烘干 5 h, 置于密闭的容器内。

1.3.2 样品前处理

准确称取经烘干的灵芝孢子粉 A 0.10 g 和破壁灵芝孢子粉 B 0.15 g。

对照组: 分别称取 5.0 g 经过研磨后过 100 目筛的蔗糖粉末, 分别与孢子粉 A、B 充分混合至色泽均一。用蒸馏水分别溶解上述样品, 在样品溶液中加入 0.1 mL 吐温 80, 用蒸馏水定容到 100 mL 容量瓶中, 并在室温超声(40 KHz)振荡 30 min, 使孢子充分分散(依据 GB/T 29344—2023 附录 B)。

悬浮液体系优化试验组: 分别称取 5.0 g 经研磨后过 100 目筛的蔗糖粉末, 分别与孢子粉 A、B 充分混合至色泽均一, 用蒸馏水分别溶解上述样品。在样品溶液中加入悬浮液, 在室温超声振荡 30 min, 使孢子充分分散; 或在样品溶液中加入悬浮液试剂 1(吐温 80), 在室温超声振荡 30 min 后, 再加入悬浮液试剂 2(甘油), 充分摇匀, 使孢子充分分散; 再用蒸馏水定容到 100 mL 容量瓶中, 待测。

染色剂优化试验组: 分别称取 5.0 g 经研磨后过 100 目筛的蔗糖粉末, 分别与孢子粉 A、B 充分混合至色泽均一, 用蒸馏水分别溶解上述样品。按上述悬浮液体系优化后试验组的操作, 使孢子充分分散。再加入细胞染色剂, 用蒸馏水定容到 100 mL 容量瓶中, 待测。

1.3.3 样品测定

将待测孢子悬液, 用吸管吸取 1 滴置于盖玻片的边缘,

使液体缓缓渗入, 多余的液体用吸水纸吸取, 进样完成后静置约 30 s, 将血球计数板置于 400 倍数的光学显微镜下进行观察计数。

1.3.4 观察计数

使用 25 个中格×16 个小格的计数板, 应计算出血球计数板 4 个角上与中央 5 个中格中含完整灵芝孢子的数目(即以 80 个小格为 1 个计数单位)。如有部分孢子处于中格边线上, 计数时应仅统计位于中格 4 个边线的孢子数, 每个样品观察计数时应去掉离群较大的值, 每个样品有效观察计数不少于 3 次, 计算其平均数。

1.3.5 结果计算

使用 25 个中格×16 个小格的计数板时, 每 g 孢子粉中含完整灵芝孢子数按式(1)计算:

$$N=\frac{n}{80} \times 400 \times 10000 \times \frac{v}{m}$$
 (1)

式中: N 为每 g 孢子粉含完整的灵芝孢子数, 个/g; n 为 80 个小方格内含完整灵芝孢子的总数, 个; v 为孢子稀释液的体积, mL; m 为样品的质量, g; 400 为血球计数板的计数室内共有 400 个小方格; 10000 为血球计数板计数室的容积, 为 0.1 mm³, 1 mL 相当于 10000 个血球计数板计数室的容积。

破壁率按式(2)计算:

$$X=(1-N_B/N_A) \times 100\%$$
 (2)

式中: X 为破壁灵芝孢子粉的破壁率, %; N_B 为每 g 破壁灵芝孢子粉中含完整的灵芝孢子数, 个/g; N_A 为每 g 灵芝孢子粉中含完整的灵芝孢子数, 个/g。

1.4 数据处理

实验结果采用 Excel 2019 对数据进行统计分析和计算。

2 结果与分析

2.1 悬浮液体系的优化

灵芝孢子粉中脂溶性成分含量高, 占孢子粉总质量的 15%~34%^[27-29], 由于细胞壁破损后油脂性成分渗出, 使破壁灵芝孢子粉在悬浮液体系中存在一定程度的结团聚集, 影响后续显微镜下的观察和计数, 因此基于油脂类相似相溶的原则, 考虑通过调整吐温 80 的加入量, 并在悬浮液中加入适量甘油, 以优化破壁灵芝孢子的分散效果。试验中分散效果从差到优采用 0~5 分打分制, 具体加入方案及试验结果见表 1。

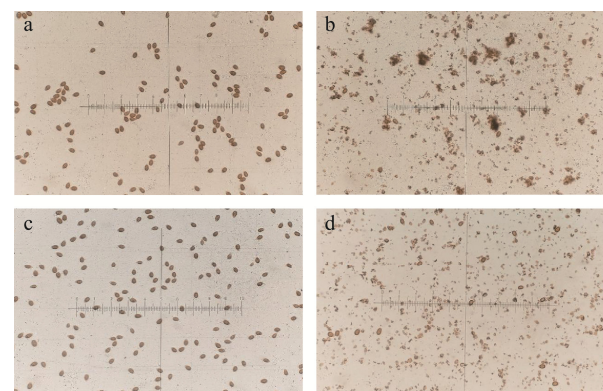
上述试验结果表明, 随着吐温 80 加入量增加, 能一定程度改善灵芝孢子分散效果, 0.3 mL 加入量较 0.1 mL 有改善, 继续增加吐温 80 加入量改善效果不明显。加入甘油后灵芝孢子分散效果亦有改善, 随着甘油加入量增加, 改善效果进一步增加, 5 mL 加入量较 3 mL 有改善, 继续增加甘油加入量改善效果不明显。由于甘油具有乳化性^[30], 加入后再超声可能难以使灵芝孢子分散效果达到最优, 因此, 将甘油于超声后加入, 试验发现灵芝孢子粉与破壁灵芝孢子粉分散效果均良好, 无重叠现象。

因此, 灵芝孢子充分分散的最适样品前处理操作为: 分别称取 5.0 g 经过研磨后过 100 目筛的蔗糖粉末, 分别与孢子粉 A、B 充分混合至色泽均一, 用蒸馏水分别溶解上述样品。在样品溶液中加入 0.3 mL 吐温 80, 在室温超声振荡 30 min 后, 再加入 5 mL 甘油, 充分摇匀, 使孢子充分分散。即样品中加入 5.0 g 蔗糖制成样品水溶液, 加入 0.3 mL 吐温 80, 超声后加入 5 mL 甘油为最适悬浮液体系。

表 1 悬浮液体系优化试验
Table 1 Optimization experiment of suspension system

	蔗糖/g	吐温 80/mL	甘油/mL	灵芝孢子粉分散效果		破壁灵芝孢子粉分散效果	
				描述	分值/分	描述	分值/分
对照组	5.0	0.1	/	部分发生聚集但无重叠, 见图 1a	3	分散性较差, 灵芝孢子有明显重叠, 见图 1b	1
试验组 X1	5.0	0.3	/	较对照组改善, 灵芝孢子几乎无聚集	4	较对照组改善, 但孢子仍有重叠	2
试验组 X2	5.0	0.5	/	与试验组 X1 接近, 灵芝孢子几乎无聚集	4	与试验组 X1 接近, 孢子仍有重叠	2
试验组 X3	5.0	0.3	3	较试验组 X1 改善, 灵芝孢子分布均匀	5	较试验组 X1 改善, 但孢子仍有重叠	3
试验组 X4	5.0	0.3	5	灵芝孢子分布均匀		较试验组 X3 改善, 但孢子仍稍有重叠	4
试验组 X5	5.0	0.3	8	灵芝孢子分布均匀	5	与试验组 X4 接近, 孢子仍有重叠。	4
试验组 X6	5.0	0.3	5(超声后加入)	灵芝孢子分布均匀, 见图 1c	5	分散效果良好, 孢子无重叠, 见图 1d	5

注: /代表无此数值, 表 4 同。



注: a 为对照组灵芝孢子粉; b 为对照组破壁灵芝孢子粉; c 为试验组 X6 灵芝孢子粉; d 为试验组 X6 破壁灵芝孢子粉。

图 1 灵芝孢子粉显微镜图像(×400)
Fig.1 Microscopic images of *Ganoderma lucidum* spore powder (×400)

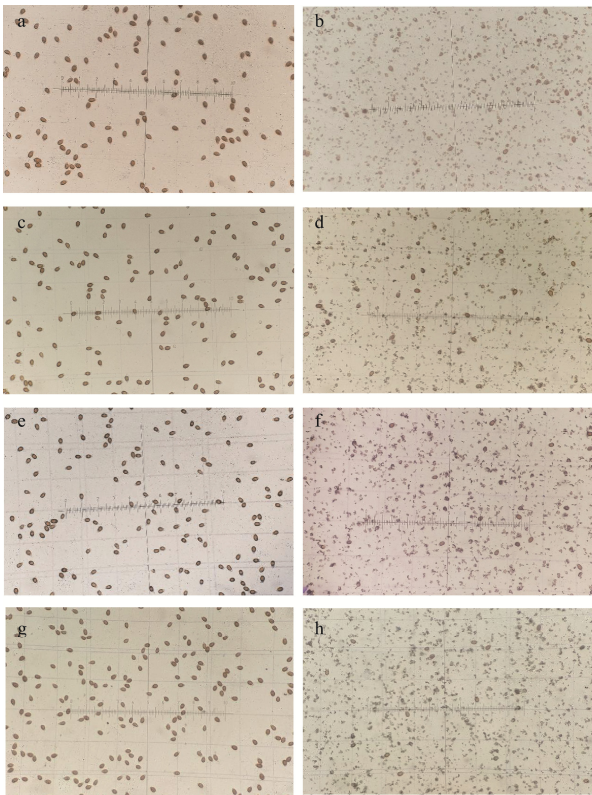
2.2 染色剂的优化

按 1.3.2 染色剂优化试验组的操作, 试验考察了常用细胞染色液(酸性品红溶液、次甲基蓝溶液、结晶紫染色液)对灵芝孢子粉细胞壁的渗透情况、破壁与否的鉴别效果, 具体试验方案及试验结果如表 2。

表 2 染色剂优化试验 Table 2 Optimization experiment of staining agent		
染色剂		试验结果
对照组	无	灵芝孢子粉与破壁灵芝孢子粉无染色 (见图 1c、1d)
试验组 R1	酸性品红溶液	灵芝孢子粉与破壁灵芝孢子粉颜色无明显变化, 破壁灵芝孢子未能染上颜色, 未达到预期染色效果(见图 2a、2b)
试验组 R2	次甲基蓝溶液	灵芝孢子粉基本未染色, 除个别破壁灵芝孢子粉染上蓝色外, 大部分破壁灵芝孢子粉无明显变化, 未达到预期染色效果(见图 2c、2d)
试验组 R3	结晶紫溶液	灵芝孢子粉与破壁灵芝孢子粉均染上明显紫色, 未达到预期染色效果(见图 2e、2f)
试验组 R4	次甲基蓝溶液+结晶紫溶液	灵芝孢子粉几乎未染色, 而破壁灵芝孢子颜色加深, 染上深蓝色, 达到预期染色效果(见图 2g、2h)

从上述试验结果可见, 酸性品红、次甲基蓝、结晶紫溶液单独使用时均未到达预期效果; 次甲基蓝和结晶紫溶液经复合使用后, 灵芝孢子粉几乎未染色, 而破壁灵芝孢子粉颜色加深, 略染上深蓝色, 从而使灵芝孢子粉颜色区别于破壁灵芝孢子粉。根据灵芝孢子染色后的颜色差异, 技术人员可直观的判断灵芝孢子破壁与否, 从而降低了技

术人员主观判断因素。此外, 添加染色剂后, 血球计数板中刻度线能较清晰显示, 大大加快了技术人员寻找刻度线的速度, 提高检测效率, 亦有效地减轻了技术人员的视觉疲劳感。因此, 最终确定次甲基蓝溶液-结晶紫溶液复合染色为最优染色剂。



注: a 为试验组 R1 灵芝孢子粉; b 为试验组 R1 破壁灵芝孢子粉; c 为试验组 R2 灵芝孢子粉; d 为试验组 R2 破壁灵芝孢子粉; e 为试验组 R3 灵芝孢子粉; f 为试验组 R3 破壁灵芝孢子粉; g 为试验组 R4 灵芝孢子粉; h 为试验组 R4 破壁灵芝孢子粉。

图 2 染色后灵芝孢子粉显微镜图像(×400)
Fig.2 Microscopic images of stained *Ganoderma lucidum* spore powder (×400)

2.3 方法性能考察

2.3.1 重复性与再现性

按照优化后的方法进行了重复性与再现性考察, 并安排 2 位技术人员分别对同一样品进行 6 次重复性试验及再现性试验。结果显示, 2 位技术人员检测结果分别为 (95.6±0.3)%、(95.9±0.3)%, 重复性相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)均为 0.3%, 双人再现性 RSD 为 0.3%, 因此表明, 优化后方法重复性与再现性良好。

2.3.2 回收率

按照优化后的方法进行回收率试验, 分别进行了 30%、50%、70% 3 个不同破壁率水平的样品制备, 每个

破壁率水平分别制备样品 3 份,并测定其破壁率,结果见表 3。

从表 3 试验结果显示,按优化后方法测试,在不同破壁率水平下的样品回收率平均值在 98.9%~100.9%范围内,表明该方法准确性良好。

2.4 实际样品测定

分别按照 GB/T 29344—2023 附录 B 及优化后的方法对市场上销售的 3 款破壁灵芝孢子粉进行破壁率测定,每个样品重复测定 3 次,并记录技术人员测定时间,结果见表 4。

表 3 破壁率回收率试验
Table 3 Recovery rate test of sporoderm-broken rate

组别	灵芝孢子粉样品量/g	破壁灵芝孢子粉样品量/g	破壁率理论值/%	破壁率实测值/%	回收率/%	平均回收率/%
1	0.1448	0.0623	29.6	28.8	97.3	100.9
	0.1456	0.0641	30.1	30.5	101.3	
	0.1455	0.0630	29.8	31.0	104.0	
2	0.1022	0.1059	50.1	51.1	102.0	98.9
	0.1033	0.1052	49.7	49.2	99.0	
	0.1018	0.1032	49.6	47.5	95.8	
3	0.0569	0.1416	70.3	71.2	101.3	100.5
	0.0578	0.1426	70.1	68.3	97.4	
	0.0553	0.1474	71.6	73.5	102.7	

注:制样用破壁灵芝孢子粉破壁率为 98.5%。

表 4 样品测定结果
Table 4 Results of sample measurement

	GB/T 29344—2023 附录 B				优化后方法			
	破壁率/%	均值/%	RSDs/%	耗时/min	破壁率/%	均值/%	RSDs/%	耗时/min
样品 A	94.8	96.0	1.4	20.0	94.6	94.7	0.6	8.0
	95.8			18.0	94.2			8.0
	97.4			17.0	95.3			9.0
样品 B	96.7	97.6	1.1	19.0	97.5	97.5	0.4	8.0
	97.8			18.0	97.8			8.0
	97.2			20.0	97.5			9.0
样品 C	97.0	98.1	1.5	15.0	97.4	97.6	0.3	7.0
	96.5			17.0	97.5			8.0
	95.4			16.0	97.7			8.0
均值	/	/	/	18.2	/	/	/	8.1

从表 4 样品测定结果可见,优化后方法较 GB/T 29344—2023 附录 B 方法单个样品的重复性偏差 RSD 更低,表明优化后方法重复性更好;优化后方法检测所耗费的时间更短,从 18.2 min 缩短至 8.1 min,大大提高检测效率。

3 讨论与结论

GB/T 29344—2023 是目前破壁灵芝孢子粉生产企业和检验机构常用的破壁率检测方法,由于该方法存在重复性差、准确性较低等缺点^[27],本研究对其悬浮液体系进行了优化,使灵芝孢子在悬浮液体系中充分分散,避免了因灵芝孢子成团重叠造成的方法误差;加入染色剂,利用细

胞染色技术使破壁灵芝孢子粉染色,而灵芝孢子粉不被染色,避免了现有方法的主观判断误差。此外,加入染色剂后的血球计数板刻度线清晰度提高,解决了加样后血球计数板刻度线模糊的问题,大大提高检测效率,减轻技术人员视觉疲劳。经方法学研究表明,优化后检测方法重复性、再现性、回收率良好,单个样品的检测时间从 18.2 min 降低至 8.1 min。本研究建立了一种更为准确、客观、高效的破壁灵芝孢子粉破壁率检测方法。

参考文献

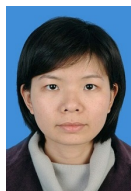
[1] 林志彬. 灵芝抗肿瘤作用的免疫学机制及其临床应用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6): 865–882.

- LIN ZB. Antitumor effect of *Ganoderma lucidum* mediated by immunological mechanism and its clinical application [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2015, 29(6): 865–882.
- [2] 柳小兰, 梁光焰, 杨莹, 等. 黔产赤灵芝不同部位无机元素和营养成分分析[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2023, 36(1): 39–45.
- LIU XL, LIANG GY, YANG Y, *et al.* Analysis of inorganic elements and nutrient components in different parts of *Ganoderma lucidum* from Guizhou [J]. J Xinyang Norm Univ (Nat Sci Ed), 2023, 36(1): 39–45.
- [3] 陈宝田, 龙亚秋, 李华, 等. 灵芝孢子粉的药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2010, 21(15): 1439–1440.
- CHEN BT, LONG YQ, LI H, *et al.* Research progress of pharmacological action about spore powder of *Ganoderma lucidum* [J]. Chin Pharm, 2010, 21(15): 1439–1440.
- [4] SANODIYA BS, THAKUR GS, BAGHEL RK, *et al.* *Ganoderma lucidum*: A potent pharmacological macrofungus [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2009, 10: 717–742.
- [5] AKIHIS T, NAKAMURA Y, TAGATA M, *et al.* Anti-inflammatory and anti-tumor-promoting effects of triterpene acids and sterols from the fungus *Ganoderma lucidum* [J]. Chem Biod, 2007, 4: 224–231.
- [6] 赵建霞, 李振宇, 张国亮, 等. 基于 CiteSpace 的灵芝孢子粉研究知识图谱分析[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(12): 1416–1425.
- ZHAO JX, LI ZY, ZHANG GL, *et al.* Knowledge mapping analysis of *Ganoderma lucidum* spore powder-related studies based on CiteSpace software [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2021, 38(12): 1416–1425.
- [7] 姚仲青, 李文林, 周俊, 等. 灵芝孢子粉的质量研究[J]. 中药材, 2007, 30(5): 607–611.
- YAO ZQ, LI WL, ZHOU J, *et al.* Research on the quality of *Ganoderma lucidum* spore powder [J]. J Chin Med Mater, 2007, 30(5): 607–611.
- [8] 张熠, 刘用国, 许娇红, 等. 破壁灵芝孢子粉对小鼠免疫功能的影响[J]. 海峡药学, 2024, 36(3): 10–13.
- ZHANG Y, LIU YG, XU JH, *et al.* Effects of the powder of broken *Ganoderma* spores on immunity of mice [J]. Strait Pharm J, 2024, 36(3): 10–13.
- [9] SHI Y, ZHENG H, HONG Z, *et al.* Antitumor effects of different *Ganoderma lucidum* spore powder in cell-and zebrafish-based bioassays [J]. J Integr Med, 2021, 19(2): 177–184.
- [10] ZHU LF, YAO YF, AHAMAD Z, *et al.* Development of *Ganoderma lucidum* spore powder based proteoglycan and its application in hyperglycemic, antitumor and antioxidant function [J]. Process Biochem, 2019, 84(C): 103–111.
- [11] 夏亚飞, 阎姝. 灵芝孢子粉中三萜类化合物的研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(6): 1183–1187.
- XIA YF, YAN S. Research progress of triterpenoids in *Ganoderma lucidum* spore powder [J]. Chin J Surg Integr Tradit West Med, 2020, 26(6): 1183–1187.
- [12] 龚世禹, 陈智仙, 彭宁, 等. 酵母 β -葡聚糖破壁灵芝孢子粉胶囊对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(13): 4368–4373.
- GONG SY, CHEN ZX, PENG Y, *et al.* Effects of yeast β -glucan shell-broken *Ganoderma lucidum* spores power capsule on immune function in mice [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(13): 4368–4373.
- [13] 蔡津生, 曹剑虹, 林数钱, 等. 灵芝孢子粉破壁工艺与装备[J]. 中国食用菌, 2000, 20(1): 35–38.
- CAI JS, CAO JH, LIN SQ, *et al.* Technology and equipment for breaking the wall of *Ganoderma lucidum* spore powder [J]. Edible Fungi China, 2000, 20(1): 35–38.
- [14] 刘俊丽. 灵芝孢子粉破壁方法及工艺试验研究[D]. 太谷: 山西农业大学, 2020.
- LIU JL. Experimental study on method and technology of sporoderm-breaking of *Ganoderma lucidum* spores powder [D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2020.
- [15] 羌校君, 胡丹, 黄甜甜, 等. 灵芝孢子粉加工工艺研究进展[J]. 中国食用菌, 2022, 41(9): 1–6, 15.
- QIANG XJ, HU D, HUANG TT, *et al.* Research progress on processing technology of *Ganoderma lucidum* spore powder [J]. Edible Fungi China, 2022, 41(9): 1–6, 15.
- [16] 严培兰, 杨志空, 唐庆九, 等. 灵芝孢子粉和孢子油脂溶性成分分析[J]. 食用菌学报, 2024, 31(3): 76–89.
- YAN PL, YANG ZK, TANG QJ, *et al.* Analysis of lipid-soluble components in *Ganoderma lucidum* spore powder and spore oil [J]. Acta Edulis Fungi, 2024, 31(3): 76–89.
- [17] 陈祖琴, 黄文丽, 金鑫, 等. 我国灵芝精深加工研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(2): 639–644.
- CHEN ZQ, HUANG WL, JIN X, *et al.* Research progress on *Ganoderma lucidum* intensive processing in China [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(2): 639–644.
- [18] 赵晓燕, 倪伟锋, 邢增涛, 等. 破壁处理对灵芝孢子粉质量的影响[J]. 食用菌学报, 2011, 18(3): 71–73.
- ZHAO XY, NI WF, XING ZT, *et al.* Effect of sporoderm breakage on the quality of *Ganoderma lucidum* spore powders [J]. Acta Edulis Fungi, 2011, 18(3): 71–73.
- [19] 国家市场监督管理总局, 国家卫生健康委员会, 国家中医药管理局. 关于发布辅酶 Q10 等五种保健食品原料目录的公告[EB/OL]. [2020-12-31]. https://www.samr.gov.cn/tssps/zcwj/art/2023/art_f22954c667fc400abddd0b7ece6155a6.html [2024-07-26].
- State Administration for Market Regulation, National Health Commission, State Administration of Traditional Chinese Medicine. Announcement on the release of the catalog of five health food ingredients, including coenzyme Q10 [EB/OL]. [2020-12-31]. https://www.samr.gov.cn/tssps/zcwj/art/2023/art_f22954c667fc400abddd0b7ece6155a6.html [2024-07-26].
- [20] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 中华人民共和国国家标准公告(2024 年第 7 号)[EB/OL]. [2024-04-29]. <https://std.sacinfo.org.cn/gnoc/queryInfo?id=7A841E20DC21CA92D7E9BAEC0CF9061F> [2024-07-26].
- State Administration for Market Regulation, National Standardization Administration. Announcement of National Standards of the People's Republic of China (No.7, 2024) [EB/OL]. [2024-04-29]. <https://std.sacinfo.org.cn/gnoc/queryInfo?id=7A841E20DC21CA92D7E9BAEC0CF9061F> [2024-07-26].
- [21] 卢敬慈, 梁启文, 莫惠凤. 灵芝孢子粉破壁率分析方法的测量不确定度评估及方法改良与优化[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(3): 554–559.
- LU JC, LIANG QW, MO HF. Evaluation of measurement uncertainty of

- sporoderm-broken rate of *Ganoderma* spores, method modification and optimization [J]. Chin J Pharm Anal, 2014, 34(3): 554–559.
- [22] 倪伟锋. 灵芝破壁孢子粉破壁率测定技术和质量安全评价的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
- NI WF. Study on sporoderm-broken rate determination method and the assessment of quality and safety of *Ganoderma lucidum* spore product [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2008.
- [23] 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): 45–49.
- NI WF, XING ZT, ZHAO XY, *et al.* Study on determination of broken sporoderm rate of *Ganoderma lucidum* spore product [J]. Acta Agric Shanghai, 2008, 24(3): 45–49.
- [24] 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.
- SHANG XD, LI MR, WANG N, *et al.* Determination of sporoderm-broken rate of *Ganoderma lucidum* by hemocytometer measurement [J]. Acta Edulis Fungi, 2005, 12(2): 37–40.
- [25] 潘在晨, 仲怿, 方玲, 等. 基于高光谱技术的灵芝孢子粉破壁率快速检测方法研究[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(6): 760–766.
- PAN ZC, ZHONG Y, FANG L, *et al.* A rapid, hyperspectral-based method for determining sporoderm-broken rate of *Ganoderma lucidum* spore powder [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2024, 41(6): 760–766.
- [26] 高志诚, 周敏, 张任广, 等. 破壁灵芝孢子粉破壁率的测定[J]. 食品工业, 2022, 43(9): 146–149.
- GAO ZC, ZHOU M, ZHANG RG, *et al.* Determination of wall breaking rate of *ganoderma lucidum* spore powder [J]. Food Ind, 2022, 43(9): 146–149.
- [27] 杨志空, 王金艳, 冯娜, 等. 灵芝孢子粉中脂溶性成分分析方法的建立[J]. 菌物学报, 2020, 39(10): 1971–1980.
- YANG ZK, WANG JY, FENG N, *et al.* Determination of liposoluble components in *Ganoderma lingzhi* spore powder [J]. Mycosystema, 2020, 39(10): 1971–1980.
- [28] 程夏倩, 周建良, 高向波, 等. HPLC-ELSD 法测定破壁灵芝孢子粉中 8 个油脂类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(3): 407–413.
- CHENG XQ, ZHOU JL, GAO XB, *et al.* Determination of eight lip in components in *Ganoderma lucidum* spore powder by HPLC-ELSD [J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(3): 407–413.
- [29] 夏凤娜, 关小莺, 陈少丹, 等. 灵芝孢子粉脂质成分 HPLC-ELSD 指纹图谱构建及含量测定[J]. 食用菌学报, 2023, 30(6): 52–59.
- XIA FN, GUAN XY, CHEN SD, *et al.* Fingerprint analysis and content determination of lipid components in *Ganoderma lucidum* spore powder by HPLC-ELSD [J]. Acta Edulis Fungi, 2023, 30(6): 52–59.
- [30] 吴文青, 钱海峰, 李言, 等. 烘焙用乳化剂研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(15): 389–397.
- WU WQ, QIAN HF, LI Y, *et al.* Research progress of emulsifiers for baking [J]. Food Ferment Ind, 2024, 50(15): 389–397.

(责任编辑: 安香玉 蔡世佳)

作者简介



简伟明, 工程师, 主要研究方向为食用菌加工产品的质量管理以及合规管理。
E-mail: 444528912@qq.com