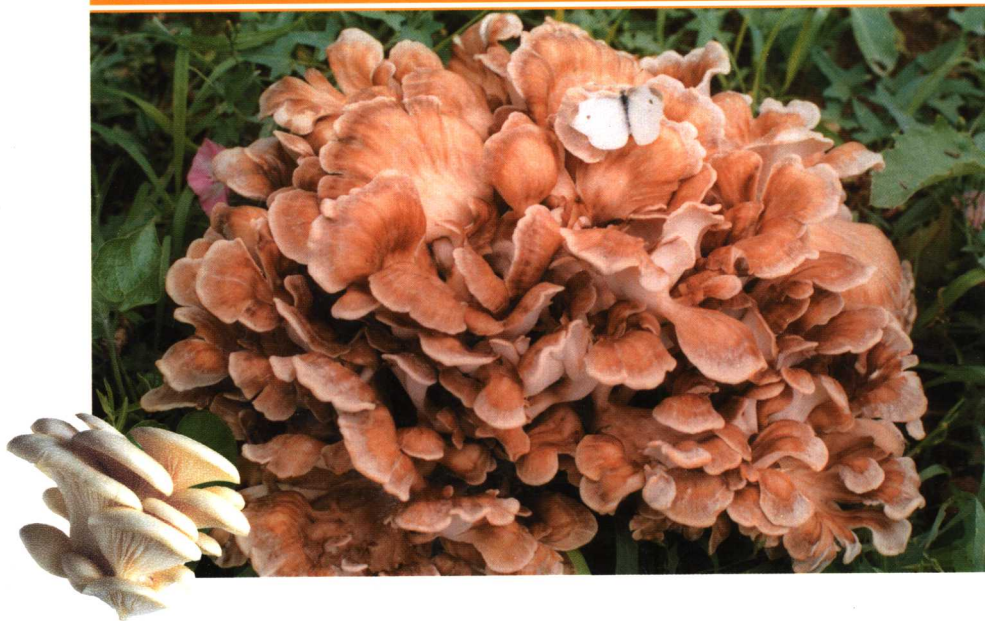




药食用真菌 生物技术

Yaoshiyong Zhenjun Shengwu Jishu

陶文沂 敖宗华 许泓瑜 许正宏 编著



化学工业出版社
生物·医药出版分社





药食用真菌 生物技术

Yaoshiyong Zhenjun Shengwu Jishu

陶文沂 敖宗华 许泓瑜 许正宏 编著



化学工业出版社

生物·医药出版分社

·北京·



本书分两篇 14 章。上篇介绍现代生物技术在药食用真菌开发中的应用、药食用真菌生物技术的原理、发酵法生产、生理活性物质的研究及现代药理学研究。下篇分灰树花、姬松茸、云芝、灵芝、樟芝、松口蘑、冬虫夏草、香菇及其他药食用真菌介绍了研究概况、人工培养、产物分离、药理研究进展、生理活性物质研究情况等。

图书在版编目(CIP)数据

药食用真菌生物技术/陶文沂等编著. —北京: 化学工业出版社, 2007. 7

ISBN 978-7-122-00749-0

I. 药… II. 陶… III. 药用菌类: 真菌-生物技术
IV. Q949.32

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 104338 号

责任编辑: 孟 嘉 梁静丽 郎红旗
责任校对: 吴 静

文字编辑: 何 芳
装帧设计: 郑小红

出版发行: 化学工业出版社 生物·医药出版分社
(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京云浩印刷有限责任公司

装 订: 三河市前程装订厂

720mm×1000mm 1/16 印张 19 字数 287 千字 2007 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 37.00 元

版权所有 违者必究

前 言

人们食用、药用和栽培药食用真菌的历史悠久。在中国，真菌食用的历史有6000~7000年，真菌药用的历史有4000多年。药用真菌在中国传统医药中起着重要的作用，是中草药的重要组成部分。早在东汉末年的《神农本草经》中就记载了10余种药用真菌。明代《本草纲目》中记载了40多种药用真菌。当前，灵芝、虫草等传统药用真菌仍在被广泛使用。这些传统药用真菌作为中医药的代表之一，在向世界弘扬中华文化中发挥着重要作用。现代疾病对人类的威胁正在改变着疾病谱，要求医疗模式由单纯的疾病治疗向预防、保健、治疗、康复相结合的模式转变，各种替代医学和传统医学将发挥越来越大的作用，在这种背景下形成的“回归自然”的世界潮流正推动着国际社会对天然药物和营养药物需求的日益增长。因此，具有丰富营养、味道鲜美且兼有保健和药用价值的真菌的开发具有很好的前景。

本书分两篇14章。上篇对现代生物技术在药食用真菌开发中的应用、药食用真菌有效成分及其现代药理学等方面作了较为全面的阐述，下篇对当前研究及开发应用较广泛的药食用真菌品种及其研究进展等分别作了介绍。

本书的编者们都具有多年的一线药食用真菌研究和开发的工作经历。全书由陶文沂、敖宗华、许泓瑜和许正宏编写。同时江南大学生物工程学院生物制药研究室的崔凤杰、陆震鸣、许虹、陆奕宇、孙军恩以及钱华丽等同学在本书撰写中提供了大力帮助，在此表示诚挚的谢意。化学工业出版社的编辑也为本书的出版付出了辛勤的劳动，对于上述所有人在百忙之中完成这一写作任务及促成本书的出版表示深切的感谢！在本书的编写过程中参考大量的文献资料及有关参考书，在此对为本书提供帮助的作者表示衷心感谢。

书中引用了较多的新近发表的科技文献和编者所在研究小组的研究成果，使本书能较好地反映生物工程技术在药食用真菌领域的最新研究成果，期望对从事药食用真菌及相关专业的研究、生产人员具有一定的参考价值。

药食用真菌的生物技术、现代药理学研究和药物化学研究发展较快，由于编者自身业务水平的局限，不足之处在所难免，希望有关专家和读者在使用中提出宝贵的批评和建议。

编者

2007年7月于江南大学

目 录

上 篇

第 1 章 绪论	1
1.1 生物技术在药食用真菌资源利用中的应用研究	1
1.1.1 基因工程技术	2
1.1.2 细胞工程技术	3
1.1.3 发酵工程技术	4
1.1.4 酶工程技术	5
1.2 世界各国对药食用真菌开发的现状与前景展望	6
1.2.1 中国药食用真菌开发现状和政策	7
1.2.2 亚洲其他国家、地区对药食用真菌开发现状和政策	10
1.2.3 前景与展望	13
参考文献	13
第 2 章 药食用真菌生物技术的原理	15
2.1 生物技术在药食用真菌分类及鉴定中的应用原理	15
2.1.1 真菌在分类学中的地位	15
2.1.2 真菌分类的依据与方法	26
2.1.3 真菌鉴定的依据与方法	26
2.2 生物工程技术在药食用真菌育种中的应用原理	29
2.2.1 微生物育种学的基本原理	29
2.2.2 药食用真菌生物工程技术育种的应用	34
2.3 药食用真菌的营养与生长	36
2.3.1 药食用真菌的营养	36
2.3.2 药食用真菌的生长	39

参考文献	44
第3章 药食用真菌的发酵法生产	45
3.1 发酵技术的基本原理及设备	45
3.1.1 固态发酵技术	45
3.1.2 液态发酵技术	55
3.2 药食用真菌的发酵技术	61
3.2.1 固态发酵生产药食用真菌	61
3.2.2 液态发酵生产药食用真菌	66
3.3 液体发酵真菌 HACCP 计划的制订与实施	74
参考文献	83
第4章 药食用真菌生理活性物质的研究	84
4.1 药食用真菌中的生理活性物质	84
4.1.1 多糖类	84
4.1.2 生物碱	85
4.1.3 萜类化合物	85
4.1.4 色素类物质	86
4.2 药食用真菌活性多糖的提取与纯化	87
4.2.1 真菌多糖的提取	87
4.2.2 真菌多糖的分离	88
4.2.3 真菌多糖的纯化	89
4.2.4 真菌多糖提取物纯度检测	90
4.2.5 超滤法在多糖纯化中的运用	90
4.3 药食用真菌活性多糖的结构与功效研究	92
4.3.1 真菌多糖的分子量测定	92
4.3.2 真菌多糖的结构分析	93
4.3.3 真菌多糖构效关系	94
4.4 其他药食用真菌生理活性物质研究	96
4.4.1 虫草菌素的研究	96
4.4.2 灵芝三萜类提取纯化工艺	99
4.4.3 竹红菌素提取纯化研究	101

参考文献	103
第 5 章 药食用真菌的现代药理学研究	104
5.1 药食用真菌在临床上的治疗作用	105
5.1.1 药食用真菌对心血管系统的作用	105
5.1.2 药食用真菌对消化系统的影响	106
5.1.3 药食用真菌对呼吸系统的作用	107
5.1.4 药食用真菌对神经系统的作用	107
5.1.5 药食用真菌对凝血纤溶系统的作用	108
5.1.6 药食用真菌的抗生素作用	109
5.1.7 药食用真菌的其他药用	109
5.2 真菌活性成分及其作用机制研究	110
5.2.1 真菌多糖及其衍生物的抗肿瘤活性以及机制研究	110
5.2.2 真菌微量元素的抗肿瘤活性以及机制研究	117
5.2.3 真菌中小分子化合物的抗肿瘤活性以及机制研究	117
5.3 真菌多糖免疫调节的药理学研究	131
5.3.1 对小鼠巨噬细胞的体外作用	131
5.3.2 对小鼠巨噬细胞的体内作用	133
5.3.3 对人类单核/巨噬细胞的体内作用	134
5.3.4 对 T 细胞、NK 细胞和 LAK 细胞的影响	134
5.3.5 真菌多糖免疫调节的其他机制	138
参考文献	139

下 篇

第 6 章 灰树花	144
6.1 灰树花简介	144
6.1.1 灰树花的分类	144
6.1.2 灰树花的形态特性	144
6.1.3 灰树花的营养成分	145
6.2 灰树花的人工培养	146

6.2.1 灰树花子实体的固体培养	146
6.2.2 灰树花的深层发酵研究	148
6.3 灰树花生理活性物质	151
6.3.1 灰树花多糖	151
6.3.2 其他生理活性物质	155
参考文献	156
第7章 姬松茸	158
7.1 姬松茸的研究概况	159
7.1.1 姬松茸的生物学特性	159
7.1.2 营养成分	161
7.1.3 姬松茸的重金属污染	162
7.2 姬松茸的培养与产物分离	164
7.2.1 姬松茸的固体培养	164
7.2.2 姬松茸液体深层发酵	165
7.2.3 多糖提取分离	172
7.3 姬松茸生理活性物质与药用价值	173
7.3.1 生理活性物质简介	173
7.3.2 药用价值	174
7.4 姬松茸多糖研究进展	177
7.4.1 国外姬松茸多糖研究现状	177
7.4.2 国内姬松茸多糖研究现状	178
7.4.3 目前姬松茸多糖研究存在的问题	181
参考文献	182
第8章 云芝	184
8.1 云芝的研究概况	184
8.1.1 云芝的生物学特性研究	185
8.1.2 云芝的药用功效研究	189
8.2 云芝的发酵工艺及产物分离	189
8.2.1 云芝的发酵工艺	189
8.2.2 云芝糖肽的提取、分离及纯化	193

8.3 云芝生理活性物质	195
8.3.1 云芝糖肽的化学组成	196
8.3.2 云芝糖肽的生理活性和作用机制	196
8.3.3 云芝糖肽的毒性实验	198
8.3.4 药理作用	199
参考文献	200
第9章 灵芝	201
9.1 灵芝的研究概况	201
9.2 灵芝的培养方法	203
9.3 灵芝化学成分与药理作用	206
9.3.1 灵芝的化学成分	206
9.3.2 灵芝药理作用	209
参考文献	213
第10章 樟芝	216
10.1 樟芝的研究概况	216
10.2 樟芝的培养方法	219
10.3 樟芝的化学成分与药理作用	222
10.3.1 樟芝的化学成分	222
10.3.2 樟芝的药理作用	226
参考文献	231
第11章 松口蘑	234
11.1 松口蘑的研究概况	234
11.1.1 松口蘑的生物学特性	234
11.1.2 松口蘑的人工栽培	235
11.1.3 药理功效研究进展	236
11.1.4 松口蘑基因工程与DNA指纹技术	236
11.2 松口蘑的液体发酵工艺	236
11.3 松口蘑生理活性物质	238
参考文献	241
第12章 冬虫夏草	244

12.1 冬虫夏草研究概况	244
12.1.1 青海冬虫夏草寄主昆虫种类调查	244
12.1.2 生态学研究	245
12.2 冬虫夏草的培养及产物分离	246
12.2.1 冬虫夏草子实体的人工培育	246
12.2.2 冬虫夏草菌丝体的液体深层发酵	247
12.2.3 发酵产物	248
12.3 冬虫夏草生理活性物质与药理研究进展	248
12.3.1 生理活性物质简介	249
12.3.2 药理功效研究进展	252
12.4 冬虫夏草研究开发趋势	254
参考文献	255
第13章 香菇	257
13.1 香菇的研究概况	257
13.1.1 香菇的分类	257
13.1.2 香菇的形态特性	257
13.1.3 香菇的营养成分	258
13.1.4 香菇的开发前景	259
13.2 香菇的人工培养	260
13.2.1 香菇的固体栽培	260
13.2.2 香菇的液体发酵培养及产物分离	262
13.3 香菇的药理功效研究进展	265
13.3.1 对机体免疫系统的影响	266
13.3.2 抗肿瘤作用	267
13.3.3 抗衰老作用	268
13.3.4 保肝作用	268
13.3.5 抗呼吸道感染	269
13.3.6 降血脂、抗血栓	269
13.3.7 其他作用	269
13.4 香菇的生理活性物质	269

13.4.1	香菇多糖	269
13.4.2	香菇嘌呤	273
13.4.3	核酸	274
13.4.4	氨基酸与微量元素	274
13.4.5	维生素	274
参考文献		275
第 14 章 其他药食用真菌		278
14.1	亮菌	278
14.2	槐耳菌	280
14.3	鸡枞	282
14.4	乌灵参	284
参考文献		286
附录 真菌类保健食品申报与审评规定（试行）		288

上 篇

第1章 绪论

药食用真菌是指能治疗疾病、具有药用价值的一类真菌，即在菌丝体、子实体、菌核或孢子中能生产诸如氨基酸、蛋白质、维生素、多糖、苷类、生物碱、甾醇类、黄酮类、抗生素及多种矿物质，对人体有保健作用，对疾病有预防、抑制或治疗作用的真菌。它可分为两大类：一类是药食兼用型，如香菇、姬松茸、木耳、猴头菌、金针菇、竹荪等；另一类是医药专用型，如灵芝、云芝、猪苓、麦角菌、冬虫夏草等。

药食用真菌的开发利用，目前主要体现在两个方面：一是把药食用真菌开发成药品，直接用于疾病的治疗；二是把药食用真菌开发成保健品，用于调节或改善机体功能。近年来随着科技发展和研究手段的不断更新，在真菌中发现了许多具有药用价值的次生代谢产物，这为人类开发新型的药物、农药、保健食品、化妆品等提供了重要的新资源。在药物方面，随着微生物研究的深入以及分离和结构鉴定技术不断发展，在真菌中发现了许多酶、抗生素或其他具有药物活性的产物。菌物界（Mycosystema）的真菌种类大约有150万种，被描述的约有20万种，其中真菌门（Eumycota）占相当比例，若按估计的40万种计算，已开发入药的种类仅占0.01%~0.1%。因此利用药食用真菌开发新药以服务于人类生活具有十分巨大的发展潜力。

1.1 生物技术在药食用真菌资源利用中的应用研究

1

生物工程技术已经广泛应用于很多领域。尽管生物工程技术在药食用真



菌方面起步较晚,但是,随着基础理论研究和应用技术研究的不断深入发展,已取得了可喜的进步,必定具有广阔的应用前景和巨大的发展潜力。

1.1.1 基因工程技术

基因工程或称重组 DNA 技术,是 20 世纪 70 年代初发展起来的一门技术。概括来说,基因工程是指在基因水平上,采用与工程设计十分类似的方法,按照人类的需要进行设计,然后按设计方案创建出具有某种新的性状的生物新品系,并使之能稳定地遗传给后代。基因工程技术包括:目的基因的克隆、转基因载体系统的构建、遗传转化、外源基因的检测以及品种培育等技术。其核心技术是 DNA 的重组技术,也就是基因克隆(gene cloning)技术。

近年来,基因工程的发展逐渐由原核生物转到真核生物,由细菌、噬菌体发展到真菌和高等动植物。真菌的基因工程以简单的酵母菌发展较快,丝状真菌虽然比较复杂,但由于其在理论和实践上的重要性,近年来也在迅速地发展。固然,药食用真菌的基因工程研究起步较晚,目前仍由于缺乏合适的载体,不能发展有效的克隆体系而受到一定的限制,但基因操作将给药食用真菌的遗传育种研究注入无限的生机,具有美好的前景,同时药食用真菌可作为一种新的易培养又更安全的基因工程受体菌,因此,药食用真菌的基因工程研究受到了广泛的重视。近年来,对药食用真菌的基因工程研究主要集中在其 DNA 特征的确定、基因的克隆、克隆载体的构建及转化系统的建立这几个方面。

基因工程在药食用真菌中的应用主要包括以下两个方面:一是利用药食用真菌作为新的基因工程的受体菌,即作为生物反应器(bioreactor)来生产人们所期望的外源基因编码的产品。由于药食用真菌还具有很强的外泌蛋白能力,利用药食用真菌作为新的受体菌将更为安全,更易被消费者接受。二是利用基因工程技术定向培育药食用真菌的新品种,包括抗虫、抗病、优质(富含蛋白质、必需氨基酸或延长寿命等)的新品种,以及将编码纤维素或木质素降解酶基因导入药食用真菌体内,以提高真菌菌丝对栽培基质的利用率或开拓新的栽培基质,最终提高药食用真菌产量和质量。此外,随着分子生物学技术的发展,基于 DNA 多态性的分子标记,如限制性酶切长度多态(restriction fragment length polymorphism, RFLP)、随机扩增多态性



DNA (random amplified poly-morphism DNA, RAPD)、扩增片段长度多态性 (amplified fragment length polymorphism, AFLP)、序列标记位点 (sequence tagged sites, STS)、可变数目串联重复 (variable number of tandem repeat, VNTR)、序列特征扩增区段 (sequence characterized amplified region, SCAR) 等, 在药食用真菌的遗传育种、开发产品的鉴定中也逐步得到了应用。

1.1.2 细胞工程技术

细胞工程技术主要是指通过人为的方法, 使遗传性状不同的两种细胞的原生质体在融合剂的诱导下发生融合 (细胞融合、原生质体融合), 并进而发生遗传重组, 以产生同时带有双亲性状的、遗传稳定的新类型。这一技术不仅能使不同菌株间或种间进行原生质体融合, 而且还能做到属间、科间甚至更远缘的微生物或高等生物细胞间的杂交融合, 从而达到产生性状更为优良的新物种。该技术在真菌方面的探索最早始于 1957 年 Eddy 等用蜗牛酶溶解酵母菌细胞壁, 分离原生质体。在高等担子菌方面, 原生质体融合研究还要晚些。

自 1965 年 Strunk 等首次成功地分离到采绒革盖菌 (*Coriolus versicolor*) 的原生质体, 到今日分离获得的食用菌原生质体, 约有五六十种之多。其中研究得比较深入的有平菇、金针菇、草菇、木耳、双孢蘑菇、大肥菇和香菇等。对上述这些菇种, 以其菌丝体或担孢子为材料, 进行原生质体制备过程中所使用培养基的成分、菌龄、酶的种类与浓度、酶解温度与时间以及渗透压稳定剂等因素对原生质体释放量的影响都作了探讨, 并探索了原生质体分离与再生的最佳条件以及原生质体融合等。其中对侧耳属、木耳属种间原生质体融合已获得了初步的成功。对糙皮侧耳、鸽形侧耳、肺形侧耳、漏斗状侧耳、佛罗里达侧耳、白黄侧耳和桃红侧耳等 7 个种进行了原生质体制备及种内和种间原生质体营养缺陷型突变体的融合研究, 得到了种内和种间融合子。而且试验知桃红侧耳种内和糙皮侧耳、鸽形侧耳的种间杂种双核化菌丝有结实能力。凤尾菇和侧耳耐药性突变株种间原生质体融合, 也获得了融合菌株, 并证明其具有结实性。

细胞融合技术在食用菌方面的应用成效显著, 技术规程也不过分复杂,



其基本步骤有以下几点：首先，要依据育种目标，选择具有遗传标记的菌株作为亲本。通常可作为遗传标记的类型有营养缺陷型、耐药突变型和温度敏感型，也有用形态或颜色作标记的。亲本菌多以菌丝体作为制备原生质体的材料。其次，是原生质体的制备。由于食用真菌细胞壁的成分主要是纤维素和壳多糖等多糖物质，因而常选用相应的酶类如纤维素酶、蜗牛酶、溶壁酶、壳多糖酶或 β -1,3-葡聚糖酶来进行脱壁，而且发现用两种酶的混合作用效果比用单一酶类效果好。当然各种酶的最佳使用浓度、温度、pH值不完全相同，也与菌丝的菌龄和生理状态有关，这些使用前都要进行试验。再次，是原生质体融合细胞壁再生。原生质体的融合，需要融合剂进行诱导融合。食用菌原生质体融合剂有PEG（聚乙二醇）和PVG（聚乙烯醇）等，但以PEG效果为好。PEG是酶的沉淀或蛋白质结晶的特殊脱水剂，而且在低浓度下可作为原生质体的稳定剂，并能促进核的分裂和细胞壁的形成。常用的PEG的相对分子质量为4000或6000，浓度为30%~40%，pH在6~7左右，融合时加入 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 可促进融合。融合了的原生质体细胞壁再生，是在添加渗透压稳定剂的培养基中进行的。再生培养基是一种含有 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等离子的完全培养基，固体、液体都可用。最后，要对融合子进行检测。融合后会产生两种情况，一是真正的融合，产生杂合二倍体或单倍重组体；二是暂时融合，形成异核体。融合后会出现各种类型，其性状、产量和质量都有所不同，所以要依原来的遗传标记先将融合子检出，进行生物学性状及生化特性鉴定，从中去劣选优，获得优质、稳产、高产的生产性菌株。

1.1.3 发酵工程技术

发酵工程的定义是：利用微生物生长速度快、生长条件简单以及代谢过程特殊等特点，在合适条件下，通过现代化工程技术手段，由微生物的某种特定功能，进行工业规模生产的技术，有时也称为微生物工程。其主要内容包括工业生产菌菌株的选育、最佳发酵条件的选择和控制、生化反应器（发酵罐）的设计和产品的分离、提取和精制等过程。药食用真菌的发酵生产有固体发酵和液体发酵之分。

固体发酵（solid fermentation）又称为“固体培养”，国外也曾有这种



工艺,称为 solid substrate fermentation (SSF),即固体基质发酵。国内目前固体发酵的基质多采用农副产品,工艺有两类:①有渣型工艺,用甘蔗渣、玉米芯、麦麸、米糠等作为基质,如猴头等多数药食用真菌的发酵产品采用此工艺生产;②无渣型工艺,以发酵后直接烘干的玉米粉作为基质,如亮菌、蜜环菌等固体发酵的产品采用此工艺生产。在当前条件下,虽然多种药食用真菌的固体发酵制剂疗效并不亚于液体深层发酵制剂,但有些部门由于对它的理解不足而难以接受,严重影响了它的发展。尽管如此,药食用真菌如猴头、云芝、蜜环菌等仍采取固体发酵的生产方式。

液体发酵 (liquid fermentation) 也称液体深层发酵 (liquid submerged fermentation),是在抗生素发酵技术基础上发展起来的,沿用了传统发酵生产工艺。1948年 Humfeld 首先提出用发酵法来培养蘑菇。1958年 Szuecs 第一个用发酵罐培养羊肚菌并获得成功。从此药食用真菌的生产跨入了大规模工业化生产领域。国内较早报道的是1960年中国科学院上海生理研究所的陈美聿等人进行的香菇深层发酵研究。进入20世纪80年代以来,国内如江南大学(原无锡轻工大学)、上海市农业科学院、广东省微生物研究所、福建省三明真菌研究所、河北省微生物研究所、辽宁省微生物研究所、青岛农业大学(原山东莱阳农学院)等单位在药食用真菌深层培养方面的研究也取得了丰硕的成果。目前适合液体发酵的药食用真菌有70余种。药食用真菌的液体发酵既可快速大量生产制备出多糖、多肽、生物碱、萜类化合物、甾醇、苷类、酚类、酶、核酸、氨基酸、蛋白质、维生素等多种生化物质,又可生产出菌龄整齐一致、生活力强、数量巨大的液体菌种,满足扩大生产的需要。药食用真菌深层发酵生产工艺流程沿用了传统的发酵生产工艺,即试管斜面菌种→一级摇瓶种→二级种→三级种→发酵罐。有关培养基配方方面的研究包括碳源、氮源、碳氮比、pH值、无机盐、微量元素、维生素、生长因子、增黏剂等。有关发酵过程中参数控制的研究包括接种量、温度、搅拌速度、空气流量、糖含量、pH值、纯度、活力、菌丝形状、发酵液中菌丝体个数和质量等。

1.1.4 酶工程技术

所谓酶工程是利用酶、细胞器或细胞所具有的特异催化功能,或对酶进