

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 6 月 25 日 (25.06.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/124634 A1

(51) 国际专利分类号:

A23L 33/115 (2016.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A23K 10/37 (2016.01) *A61P 39/06* (2006.01)
A61K 36/48 (2006.01) *A61P 37/04* (2006.01)
A61K 36/31 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/123845

(22) 国际申请日: 2018 年 12 月 26 日 (26.12.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

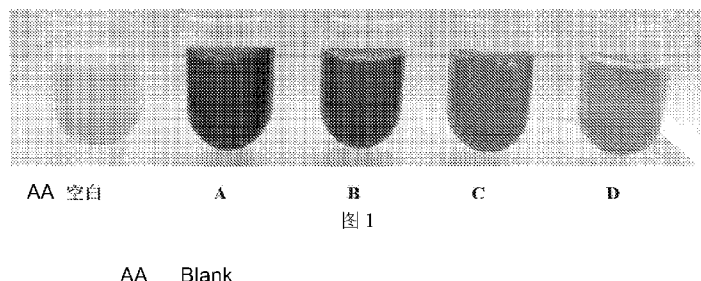
(30) 优先权:
201811561857.5 2018 年 12 月 20 日 (20.12.2018) CN

(71) 申请人: 江南大学(JIANGNAN UNIVERSITY) [CN/
CN]; 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号
张勇, Jiangsu 214122 (CN)。

(72) 发明人: 丁重阳(DING, Zhongyang); 中国江苏省无
锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。
刘元法(LIU, Yuanfa); 中国江苏省无锡市蠡湖
大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 蒋云芝
(JIANG, Yunzhi); 中国江苏省无锡市蠡湖大道
1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 徐萌萌(XU,
Mengmeng); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800
号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 赵丽婷(ZHAO,
Liting); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张
勇, Jiangsu 214122 (CN)。 曹晨(CAO, Chen); 中
国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu

(54) Title: METHOD EMPLOYING EDIBLE AND MEDICINAL FUNGI TO FERMENT SOYBEAN AND OTHER OIL CROPS

(54) 发明名称: 利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法



(57) Abstract: A method employing an edible and medicinal fungus to ferment soybean and other oil crops comprises: inoculating a fermentation medium with an edible and medicinal fungus to perform solid state fermentation so as to obtain a solid-state fermented product; and pressing the fermented product to obtain an oil and oil crop meal. The edible and medicinal fungus is an edible and medicinal fungus capable of producing a biologically active substance. The biologically active substance comprises one or more of an active polysaccharide, a flavonoid or a triterpene. Ingredients of the fermentation medium include an oil crop powder and water. The Oil crop powder comprises one or more of a soybean puffing powder, a soybean powder, a peanut powder, a vegetable seed powder, a castor bean powder or a sesame powder. The invention also relates to an oil and/or oil crop meal prepared by the above method, and products containing the oil and/or the oil crop meal. The products include feed, food, medicine or health-enhancing supplements.

(57) 摘要: 利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法, 先将食药菌接种至发酵培养基中进行固态发酵, 得到固态发酵后的发酵物, 然后将发酵物进行榨油, 得到油脂以及油料作物粕; 所述食药菌为可产生物活性物质的食药菌; 所述生物活性物质包含活性多糖、黄酮类化合物或三萜类化合物中的一种或多种; 所述发酵培养基的成分包含油料作物粉末以及水; 所述油料作物粉末包含大豆膨化粉、大豆粉、花生粉、菜籽粉、蓖麻粉或芝麻粉中的一种或多种。还涉及由上述方法制备得到的油脂和/或油料作物粕, 以及含有所述油脂和/或油料作物粕的产品, 所述产品包括饲料、食品、药品或保健品。

214122 (CN)。王琼(WANG, Qiong); 中国江苏省无锡市蠡湖大道1800号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。顾正华(GU, Zhenghua); 中国江苏省无锡市蠡湖大道1800号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。石贵阳(SHI, Guiyang); 中国江苏省无锡市蠡湖大道1800号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。

(74) 代理人: 哈尔滨市阳光惠远知识产权代理有限公司(HARBIN SHINEIP INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国黑龙江省哈尔滨市松北区科技一街99号18栋E501张勇, Heilongjiang 150028 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法

技术领域

本发明涉及利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，属于发酵技术领域。

背景技术

大豆，是世界重要的粮油兼用作物，且世界大豆产量的约 85%都用于榨油，因此，大豆是全球植物油和蛋白饲料最主要的来源。现有的制备大豆油和豆粕的大豆加工工艺主要为将大豆先膨化处理，榨油得到大豆油，然后将残渣烘干获得豆粕。其榨得的大豆油是一种优良的食用油脂，具有很高的营养价值，是人们日常生活中最为常见的食用油之一；其加工得到的大豆粕作为大豆制油后得到副产物，不仅产量巨大，且豆粕中蛋白含量高达 45%以上，其中氨基酸组成较为合理，是养殖饲料优质植物蛋白源。

对于大豆油，目前，随着生活质量的不断提高，消费者对食用油脂的质量要求也越来越高，食用油脂研究者和生产企业为获得消费者的青睐，尝试在大豆油中添加天然功能性物质（如类胡萝卜素、角鲨烯、黄酮等），以赋予大豆油一定的生物活性，其得到的产品功能性油脂不但更具市场竞争力并大幅度提高了附加值；然而，这些天然功能性物质的获得本身需要一个生产、提取、制备的过程，因此，该类油产品的生产存在着工艺流程长的缺陷或者需要以较高的成本购买天然功能性物质产品进行添加。

对于豆粕，饲料研究者和生产企业往往通过对豆粕进行微生物发酵，以进一步改善和提高豆粕的品质；但是，发酵豆粕的获得需要进行加水配料、原料灭菌，接种发酵，烘干等多个环节，在改善和提高豆粕品质的同时也大幅度增加了生产成本，这对于需要严格控制成本的饲料和养殖行业来讲，是一个重要且亟待解决的问题。

发明内容

为解决上述问题，本发明提供了一种利用食药菌对膨化大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法。此方法为通过在含如膨化大豆、花生、菜籽等的富含油脂的油料作物的发酵基质中接种如灵芝、金耳、猴头菇、蛹虫草等的可产活性多糖、黄酮类化合物、三萜类化合物等生物活性物质的食药菌进行固态发酵，以得到富含黄酮类化合物、三萜类化合物类胡萝卜素的油脂及富含活性多糖、黄酮类化合物、三萜类化合物的油料作物粕；利用此方法获得的油脂中的黄酮类化合物含量可高达 0.302 mg/g、三萜类化合物含量可高达 65.663 mg/g，油料作物粕中的活性多糖含量可高达 60.651 mg/g、黄酮类化合物含量可高达 1.599 mg/g、三

萜类化合物含量可高达 14.225 mg/g，且以上活性物质具有抗氧化、延缓衰老、增强免疫力、预防癌症等生物活性；利用此方法仅需一次发酵、一次榨油，无需额外添加即可同时得到富含生物活性成分的油脂以及油料作物粕，大幅度降低了功能性油脂及发酵油料作物粕的生产成本。

本发明的技术方案如下：

本发明提供了一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，所述方法为先将食药菌接种至发酵培养基中进行固态发酵，得到固态发酵后的发酵物，然后将发酵物进行榨油，得到油脂以及油料作物粕；

所述食药菌为可产生物活性物质的食药菌；

所述生物活性物质包含活性多糖、黄酮类化合物或三萜类化合物中的一种或多种；

所述发酵培养基的成分包含油料作物粉末以及水；

所述油料作物粉末包含大豆膨化粉、大豆粉、花生粉、菜籽粉、蓖麻粉或芝麻粉中的一种或多种。

在本发明的一种实施方式中，所述发酵培养基的成分包含占发酵培养基总质量 40~50% 的油料作物粉末以及占发酵培养基总质量 50~60% 的水。

在本发明的一种实施方式中，所述发酵培养基的成分包含占发酵培养基总质量 40% 的油料作物粉末以及占发酵培养基总质量 60% 的水。

在本发明的一种实施方式中，所述发酵培养基的成分包含大豆膨化粉以及水。

在本发明的一种实施方式中，所述食药菌包含所述食药菌包含灵芝 (*Ganoderma lucidum*)、金耳 (*Tremella aurantialba*)、猴头菇 (*Hericium erinaceus*) 或蛹虫草 (*Cordyceps sinensis*) 中的一种或多种。

在本发明的一种实施方式中，所述食药菌为灵芝。

在本发明的一种实施方式中，所述固态发酵的条件为温度 25~30℃、时间 10~20 d。

在本发明的一种实施方式中，所述固态发酵的条件为温度 30℃、时间 10 d。

在本发明的一种实施方式中，所述将食药菌接种至发酵培养基中进行固态发酵为将食药菌种子液接种至发酵培养基中进行固态发酵；所述食药菌种子液在发酵培养基中的接种量为食药菌种子液体积占油料作物粉末质量的 5~20%；所述食药菌种子液是通过将食药菌接种至种子培养基中进行培养获得的。所述 5~20% 是指每 100 g 油料作物粉末中接种了 5~20 mL 的食药菌种子液。

本发明提供了应用上述方法制备得到的油脂以及油料作物粕。

本发明提供了含有上述油脂和/或油料作物粕的产品。

在本发明的一种实施方式中，所述产品包含饲料、食品、药品或保健品。

有益效果：

(1) 利用本发明的方法制备得到的油脂富含黄酮类化合物、三萜类化合物等生物活性物质，其中，黄酮类化合物含量可高达 0.302 mg/g、三萜类化合物含量可高达 65.663 mg/g，因此，利用本发明的方法制备得到的油脂具有抗癌、抗氧化等功效，在食品、药品以及保健品领域均具有极大的应用前景；

(2) 现有的功能性油脂需先制备、提取得到营养成分，再将油脂与各种能够对人体健康起调节作用的营养成分进行调配才能得到，具有工艺复杂、成本较高的缺陷，而本发明通过直接将能够产生生物活性成分的食药菌接种至如膨化大豆、花生、菜籽等的富含油脂的油料作物粉末与水混合而成的发酵培养基中进行固态发酵，得到了富含黄酮类化合物、三萜类化合物等生物活性物质的功能性油脂，操作简单、成本低；

(3) 利用本发明的方法制备得到的如豆粕、花生粕、菜籽粕等的油料作物粕富含活性多糖、黄酮类化合物、三萜类化合物等生物活性物质，其中，活性多糖含量可高达 60.651 mg/g、黄酮类化合物含量可高达 1.599mg/g、三萜类化合物含量可高达 14.225 mg/g，因此，利用本发明的方法制备得到的油料作物粕具有抗癌、抗氧化等功效，在制备优质饲料方面具有极大的应用前景；

(4) 现有的饲料生产家常将这些榨油后油料作物灭菌后再与各种菌进行发酵以作成发酵豆粕饲料，这无疑为饲料的加工添加了灭菌、发酵等的额外工序，使得饲料的成本大幅度增加，而本发明通过直接将能够产生生物活性成分的食药菌接种至如膨化大豆、花生、菜籽等的富含油脂的油料作物粉末与水混合而成的发酵培养基中进行固态发酵，榨油所获得的油料作物粕已经达到原有对油料作物粕发酵的目的和意义，同时减少了操作工序，有利于大幅度降低成本；

(5) 为降低被饲养动物的成活率，饲料生产家常将大量的抗生素添加至饲料中，这无疑会造成大量抗生素在被饲养动物体内残留，给健康食品卫生安全造成隐患，而本发明通过直接将能够产生生物活性成分的食药菌接种至如膨化大豆、花生、菜籽等的富含油脂的油料作物粉末与水混合而成的发酵培养基中进行固态发酵，得到了富含多糖、三萜、黄酮等的活性物质的，具有抗氧化、延缓衰老、增强免疫力、预防癌症抗等功效的油料作物粕，此油料作物粕有极大潜力完全或部分取代饲料中的抗生素，起到提高被饲养动物成活率的效果。

附图说明

图 1: 不同食药菌固态发酵膨化大豆提取所得功能性油脂。

具体实施方式

下面结合具体实施例对本发明进行进一步的阐述。

下述实施例中涉及的灵芝 5.26、金耳、猴头菇、蛹虫草均购自中国普通微生物菌种保藏管理中心, 编号分别为 CGMCC No.5.26、CGMCC No.5.506、CGMCC No.5.111 以及 CGMCC No.3.15498; 下述实施例中涉及的大豆膨化粉来自山东渤海油脂工业有限公司, 花生、菜籽均购自无锡农贸市场 (上述菌株灵芝 CGMCC No.5.26、金耳 CGMCC No.5.506、猴头菇 CGMCC No.5.111、蛹虫草 CGMCC No.3.15498 均可以购买得到, 不需要进行用于专利程序的保藏)。

下述实施例中涉及的培养基如下:

食药菌的真菌的种子培养基 (m/v): 蛋白胨 1%、酵母粉 0.5%、葡萄糖 2%、磷酸二氢钾 0.1%、七水硫酸镁 0.1%、VB 0.01%。

下述实施例中涉及的检测方法如下:

功能性油脂和油料作物粕分析:

1、提取

固态发酵后的发酵物在 50℃ 下进行干燥, 烘干至含水量 5-10%; 与正己烷以 1:30 的质量比混合浸泡搅拌 24 h; 抽滤, 取滤液; 用旋转蒸发仪 50℃ 旋蒸滤液, 得到功能性油脂和油料作物粕。

2、功能性油脂中的脂肪酸种类及其含量的测定

取 50 mg 得到的功能性油脂加入 2 mL 的 0.5 mol/L 的 NaOH-CH₃OH 溶液; 65℃ 水浴皂化 30 min; 冷却至室温, 加入 2 mL 的 14% 的 BF₃-CH₃OH 溶液; 65℃ 水浴皂化 30 min; 冷却至室温, 加入 5 mL 的正己烷振荡 3~4 min 提取脂肪酸甲酯; 加入少许的无水 Na₂SO₄ 进行脱水处理; 10000 r/min 离心 5 min; 取上层有机相过 0.22 μm 的有机膜备用; 在甲酯化过膜后的溶液中以 1:1 的体积比加入 0.2 mg/mL 的十九烷酸甲酯溶液 (以正己烷作为溶剂) 作为内标; 使用 GC-MS 对提取物中的脂肪酸的含量进行测定。

3、功能性油脂中的生物活性物质的提取与含量测定

(1) 功能性油脂中黄酮类化合物的提取测定

准确称量 200 mg 功能性油脂, 加入 4 mL 的 70% 的乙醇, 在 80℃ 水浴下提取 2 h; 取 1 mL 稀释适当倍数的黄酮提取物置于 10 mL 比色管中, 依次加入 0.2 mL 5% 的 NaNO₂ 溶液摇匀,

放置 5 min; 加入 0.2 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液, 放置 6 min; 加入 7 mL 的 1 mol/L NaOH 摇匀, 用 50%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 溶液呈棕红色, 放置 15 min; 以蒸馏水作为空白对照, 在吸光波长为 510 nm 处测其 OD 值带入标曲计算黄酮的含量;

标准曲线的制作: 精密称取 120℃干燥恒重的芦丁标准品 12.5 mg, 加入 50%的乙醇溶解并定容至 50 mL, 配成浓度为 0.25 mg/mL 的标准品; 准确吸取标品溶液 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL, 分别置于 10 mL 比色管中, 依次加入 0.2 mL 5%的 NaNO_2 溶液摇匀, 放置 5 min; 加入 0.2 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液, 放置 6 min; 加入 7 mL 的 1 mol/L NaOH 摇匀, 用 50%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 溶液呈棕红色, 放置 15 min; 以 0 号作为空白对照, 在吸光波长为 510 nm 处测其 OD 值, 以吸光度 A 为横坐标, 浓度为纵坐标绘制曲线。

(2) 功能性油脂中三萜类化合物的提取测定

精密称取功能性油脂 0.2 g, 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解, 定容至刻度, 超声提取 2 h (每 20 min 摇匀一次); 取 1 mL 提取液于 1.5 mL 的离心管中, 4000 rpm 离心 10 min, 取上清备用; 取样品溶液 0.1 mL, 沸水浴蒸干, 再分别加入 0.2 mL 的 5%香草醛溶液和 0.5 mL 的高氯酸, 60℃水浴 20 min; 转移入冰水浴中冷却, 再加入 5.0 mL 的冰醋酸, 摇匀; 利用分光光度计在吸光波长为 548nm 处测其 OD 值, 带入标曲计算其含量;

标准曲线制作: 精密吸取度 0.1 mg/mL 熊果酸溶液, 0.10 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL、1.20 mL 置具塞 10 mL 比色管中, 水浴加热挥去溶剂, 加入新配制的 5%的香草醛-冰乙酸溶液 0.2 mL 和 0.8 mL 的高氯酸溶液, 在 65℃水浴加热 15 min, 取出冰浴冷却, 再加入 5.0 mL 冰乙酸, 摇匀放置 15 min, 在 548 nm 波长处测定; 以吸收度 (A) 对浓度 (C) 进行线性回归, 得回归方程。

4、油料作物粕中的生物活性物质的提取与含量测定

(1) 油料作物粕中多糖的提取测定

取 20 mg 油料作物粕加入 4 mL 的水, 在沸水浴中煮 3 h, 10000 r/min 离心 10 分钟, 取上清液定容待测; 取 100 μL 的上清溶液, 加入 1.9 mL 的去离子水, 对照组为 2 mL 的去离子水; 加入 1 mL 的 60%的苯酚溶液; 加入 5 mL 的浓硫酸, 摇匀; 冷却后在吸光波长为 490 nm 处测其 OD 值带入标曲计算多糖含量;

标准曲线制作: 配制 0.04 g/L 的葡萄糖标准溶液, 分别吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0 mL 标准品到 25 mL 比色管中, 分别加入 2.0、1.8、1.6、1.4、1.2、1.0、0.8、0.6、0.4、0.2、0 mL 的去离子水, 加入 1 mL 的 60%的苯酚溶液, 最后加入 5 mL 的浓硫酸, 摇匀, 冷却后在吸光波长为 490 nm 处测其 OD 值, 绘制标准品曲线。

(2) 油料作物粕中黄酮类化合物的提取测定

取 200 mg 油料作物粕加入 4 mL 70%乙醇, 在 80℃下提取 2 h; 取 1 mL 稀释适当倍数的黄酮提取物置于 10 mL 比色管中, 依次加入 0.2 mL 5%的 NaNO_2 溶液摇匀, 放置 5 min; 加入 0.2 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液, 放置 6 min; 加入 7 mL 的 1 mol/L NaOH 摇匀, 用 50%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 溶液呈棕红色, 放置 15 min; 以蒸馏水作为空白对照, 在吸光波长为 510 nm 处测其 OD 值带入标曲计算黄酮的含量;

标准曲线的制作: 精密称取 120℃干燥恒重的芦丁标准品 12.5 mg, 加入 50%的乙醇溶解并定容至 50 mL, 配成浓度为 0.25 mg/mL 的标准品; 准确吸取标品溶液 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL, 分别置于 10 mL 比色管中, 依次加入 0.2 mL 5%的 NaNO_2 溶液摇匀, 放置 5 min; 加入 0.2 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液, 放置 6 min; 加入 7 mL 的 1 mol/L NaOH 摇匀, 用 50%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 溶液呈棕红色, 放置 15 min; 以 0 号作为空白对照, 在吸光波长为 510 nm 处测其 OD 值, 以吸光度 A 为横坐标, 浓度为纵坐标绘制曲线。

(3) 油料作物粕中三萜类化合物的提取测定

准确称取样品 0.5 g 置于 50 mL 的容量瓶中, 加入 35 mL 乙酸乙酯溶解, 用超声震动提取 30 min, 取出放冷至室温, 用乙酸乙酯定容至刻度, 摇匀, 静置, 过滤, 弃去初滤液, 保留续滤液, 作为样品提取液备用; 稀释适当倍数, 在 548 nm 波长处测定;

标准曲线制作: 精密吸取度 0.1 mg/mL 熊果酸溶液, 0.10 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL、1.20 mL 置具塞 10 mL 比色管中, 水浴加热挥去溶剂, 加入新配制的 5% 的香草醛-冰乙酸溶液 0.2 mL 和 0.8 mL 的高氯酸溶液, 在 65℃水浴加热 15 min, 取出冰浴冷却, 再加入 5.0 mL 冰乙酸, 摇匀放置 15 min, 在 548 nm 波长处测定; 以吸收度 (A) 对浓度 (C) 进行线性回归, 得回归方程。

实施例 1: 以大豆膨化粉为原料

具体步骤如下:

(1) 取 80 mL 种子培养基置于 250 mL 三角瓶中 (121℃灭菌 30 min), 将 4℃下保存的食药用真菌菌株取 1 cm^2 的小方块接种到灭菌后液体种子培养基, 于 30℃、150 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下培养 7d, 得到种子液;

(2) 取 300g 的发酵培养基置于 2500 mL 三角瓶中 (121℃灭菌 30 min), 将种子液按照表 1 的发酵参数接种至发酵培养基中进行固态发酵, 得到发酵物。

将得到的发酵产物按照功能性油脂和油料作物粕分析的方法进行油脂提取, 得到功能性

油脂和发酵豆粕；将得到的功能性油脂和发酵豆粕按照功能性油脂和油料作物粕分析的方法进行分析，分析结果见表 2-4，其中，空白组为不进行微生物发酵的原始大豆膨化粉。

原始大豆膨化粉、A 组、B 组、C 组、D 组得到的功能性油脂见图 1，原始大豆膨化粉提取得到的油脂呈现金黄色；A 组得到的功能性油脂颜色较深，为深棕色；B 组得到的功能性油脂较 A 组浅，为浅棕色；C 组得到的功能性油脂较 B 组浅，为深橘色；D 组得到的功能性油脂颜色最浅，为浅橘色。

表 1 发酵参数

组别		菌株	接种量	培养基	发酵条件
A 组	A1 组	灵芝 5.26	18mL	大豆膨化粉 120 g、水 180 g	温度 30℃、时间 10 d
	A2 组	灵芝 5.26	7 mL	大豆膨化粉 140 g、水 160 g	温度 25℃、时间 15 d
	A3 组	灵芝 5.26	22 mL	大豆膨化粉 110 g、水 190 g	温度 28℃、时间 20 d
B 组	B1 组	金耳	12 mL	大豆膨化粉 120 g、水 180 g	温度 25℃、时间 10 d
	B2 组	金耳	21 mL	大豆膨化粉 140 g、水 160 g	温度 28℃、时间 20d
	B3 组	金耳	5.5 mL	大豆膨化粉 110 g、水 190 g	温度 30℃、时间 15 d
C 组	C1 组	蛹虫草	18 mL	大豆膨化粉 120 g、水 180 g	温度 25℃、时间 10 d
	C2 组	蛹虫草	9 mL	大豆膨化粉 140 g、水 160 g	温度 28℃、时间 20 d
	C3 组	蛹虫草	20 mL	大豆膨化粉 110 g、水 190 g	温度 30℃、时间 15 d
D 组	D1 组	猴头菇	18 mL	大豆膨化粉 120 g、水 180 g	温度 25℃、时间 15 d
	D2 组	猴头菇	10 mL	大豆膨化粉 140 g、水 160 g	温度 28℃、时间 20 d
	D3 组	猴头菇	15 mL	大豆膨化粉 110 g、水 190 g	温度 30℃、时间 10 d

表 2 功能性油脂和发酵豆粕中的生物活性物质的含量

组别		油脂（mg/g 功能性油脂）		豆粕（mg/g 发酵豆粕）		
		三萜	黄酮	三萜	黄酮	多糖
空白组		22.413	0.038	8.416	0.130	6.805
A 组	A1 组	60.270	0.047	10.259	1.599	40.486
	A2 组	62.311	0.053	9.259	1.429	39.486
	A3 组	65.663	0.062	10.457	1.468	40.107
B 组	B1 组	52.834	0.053	13.511	1.596	43.838
	B2 组	53.154	0.057	13.475	1.458	43.653
	B3 组	56.372	0.064	13.626	1.493	43.372
C 组	C1 组	48.879	0.058	13.651	1.020	35.133

	C2 组	49.135	0.061	13.443	0.988	34.031
	C3 组	51.652	0.067	13.592	1.004	33.203
	D1 组	27.913	0.247	14.028	0.291	59.983
	D2 组	29.547	0.269	13.913	0.298	58.437
	D3 组	33.215	0.302	14.225	0.304	60.651
	D 组					

表 3 功能性油脂中的脂肪酸种类及其含量 (mg/g 功能性油脂)

	空白组	A 组			B 组		
		A1 组	A2 组	A3 组	B1 组	B2 组	B3 组
C14:0	0.305	0.380	0.386	0.391	0.329	0.338	0.340
C16:0	46.976	51.397	52.479	53.267	51.593	52.835	52.673
C16:1	0.406	0.444	0.481	0.475	0.479	0.482	0.487
C18:0	18.803	19.322	22.128	21.647	19.228	20.278	20.712
C18:1	108.598	121.404	124.287	128.836	115.686	117.370	119.461
C18:2	223.761	242.842	248.537	247.365	232.802	234.672	237.019
C18:3	25.015	26.667	28.128	27.263	26.163	28.081	27.832
C20:0	1.515	1.690	1.775	1.734	1.696	1.702	1.730
C20:1	1.052	1.154	1.182	1.178	1.363	1.395	1.389
C22:0	1.713	1.800	1.934	1.866	1.829	1.914	1.891
SFA/UFA	0.191	0.190	0.195	0.194	0.198	0.201	0.200

表 4 功能性油脂中的脂肪酸种类及其含量 (mg/g 功能性油脂)

	C 组			D 组		
	C1 组	C2 组	C3 组	D1 组	D2 组	D3 组
C14:0	0.343	0.351	0.357	0.298	0.316	0.308
C16:0	52.948	53.768	53.186	45.207	46.269	46.781
C16:1	0.493	0.511	0.507	0.414	0.423	0.468
C18:0	19.637	21.070	21.379	20.927	22.078	21.145
C18:1	117.199	120.603	121.003	88.721	89.647	91.436
C18:2	240.180	242.878	242.161	226.951	229.340	230.471
C18:3	27.452	28.182	28.089	33.386	34.895	34.240
C20:0	1.736	1.790	1.801	1.460	1.503	1.521
C20:1	1.148	1.163	1.172	0.740	0.782	0.793
C22:0	1.884	1.939	1.957	1.538	1.679	1.782
SFA/UFA	0.198	0.200	0.200	0.198	0.202	0.200

注：SFA 为饱和脂肪酸；SUFA 为单不饱和脂肪酸；PUFA 为多不饱和脂肪酸；UFA 为不饱和脂肪酸。

由表 2 可知，经过食药菌发酵膨化大豆，进一步加工处理得到的功能性油脂、豆粕中均富含生物活性物质，其中，所得的功能性油脂中富含生物活性物质三萜、黄酮，所得的豆粕中富含生物活性物质三萜、黄酮和多糖，这些生物活性物质赋予油脂增加宿主免疫力、预防血管硬化及抑制肿瘤、抗氧化和抑制自由基等生理功能，也使得发酵豆粕的功能性得到改善，饲养价值得到提升；由表 3-4 可知，功能性油脂中不同脂肪酸含量变化不明显，而不饱和脂肪酸含量丰富，可见，本发明制备的功能性油脂具有更好的保健功效。

实施例 2：以花生粉为原料

具体步骤如下：

(1) 同实施例 1；

(2) 同实施例 1；

(3) 将花生放入热风循环烘箱，在 50℃ 下进行干燥，烘干至含水量为 5-10%，之后对其进行剥壳处理，把去壳后的花生磨成细粉，得到花生粉；

(4) 以花生粉替代大豆膨化粉，取 300 g 发酵培养基置于 2500 mL 三角瓶中（121℃ 灭菌 30 min），将种子液按照表 1 的发酵参数接种至发酵培养基中进行固态发酵，得到发酵物。

将得到的发酵物进行按照功能性油脂和油料作物粕分析的方法进行油脂提取，得到功能性油脂和发酵花生粕；将得到的功能性油脂和发酵花生粕按照功能性油脂和油料作物粕分析的方法进行分析后，发现功能性油脂和发酵花生粕中均富含生物活性物质，其中，所得的功能性油脂中富含生物活性物质三萜、黄酮，所得的花生粕中富含生物活性物质三萜、黄酮和多糖，生物活性物质的存在，既赋予了油脂一定的生理功能，又改良了花生粕的品质，全面提升了油脂和花生粕的营养价值。

实施例 3：以菜籽粉为原料

具体步骤如下：

(1) 同实施例 1；

(2) 同实施例 1；

(3) 将菜籽放入热风循环烘箱，在 50℃ 下进行干燥，烘干至含水量为 5-10%，之后对其进行剥壳处理，把去壳后的菜籽磨成细粉，得到菜籽粉；

(4) 以菜籽粉替代大豆膨化粉，取 300 g 发酵培养基置于 2500 mL 三角瓶中（121℃灭菌 30 min），将种子液按照表 1 的发酵参数接种至发酵培养基中进行固态发酵，得到发酵物。

将得到的发酵物进行按照功能性油脂和油料作物粕分析的方法进行油脂提取，得到功能性油脂和发酵菜籽粕；将得到的功能性油脂和发酵菜籽粕按照功能性油脂和油料作物粕分析的方法进行分析后，发现功能性油脂和发酵菜籽粕中均富含生物活性物质，其中，所得的功能性油脂中富含生物活性物质三萜、黄酮，所得的菜籽粕中富含生物活性物质三萜、黄酮和多糖，生物活性物质的存在，既赋予了油脂一定的生理功能，又改良了菜籽粕的品质，全面提升了油脂和菜籽粕的营养价值。

虽然本发明已以较佳实施例公开如上，但其并非用以限定本发明，任何熟悉此技术的人，在不脱离本发明的精神和范围内，都可做各种的改动与修饰，因此本发明的保护范围应该以权利要求书所界定的为准。

权 利 要 求 书

1.一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，其特征在于，所述方法为先将食药菌接种至发酵培养基中进行固态发酵，得到固态发酵后的发酵物，然后将发酵物进行榨油，得到油脂以及油料作物粕；

所述食药菌为可产生物活性物质的食药菌；

所述生物活性物质包含活性多糖、黄酮类化合物或三萜类化合物中的一种或多种；

所述发酵培养基的成分包含油料作物粉末以及水；

所述油料作物粉末包含大豆膨化粉、大豆粉、花生粉、菜籽粉、蓖麻粉或芝麻粉中的一种或多种；

所述发酵培养基的成分包含占发酵培养基总质量 40~50%的油料作物粉末以及占发酵培养基总质量 50~60%的水；

所述食药菌包含灵芝 (*Ganoderma lucidum*)、金耳 (*Tremella aurantialba*)、猴头菇 (*Hericium erinaceus*) 或蛹虫草 (*Cordyceps sinensis*) 中的一种或多种；

所述固态发酵的条件为温度 25~30℃、时间 10~20 d；

所述将食药菌接种至发酵培养基中进行固态发酵为将食药菌种子液接种至发酵培养基中进行固态发酵；所述食药菌种子液在发酵培养基中的接种量为食药菌菌液体积占油料作物粉末质量的 5~20%；所述食药菌种子液是通过将食药菌接种至种子培养基中进行培养获得的。

2.一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，其特征在于，所述方法为先将食药菌接种至发酵培养基中进行固态发酵，得到固态发酵后的发酵物，然后将发酵物进行榨油，得到油脂以及油料作物粕；

所述食药菌为可产生物活性物质的食药菌；

所述生物活性物质包含活性多糖、黄酮类化合物或三萜类化合物中的一种或多种；

所述发酵培养基的成分包含油料作物粉末以及水；

所述油料作物粉末包含大豆膨化粉、大豆粉、花生粉、菜籽粉、蓖麻粉或芝麻粉中的一种或多种。

3.如权利要求 2 所述的一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，其特征在于，所述发酵培养基的成分包含占发酵培养基总质量 40~50%的油料作物粉末以及占发酵培养基总质量 50~60%的水。

4.如权利要求 2 或 3 所述的一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，其特征在于，所述发酵培养基的成分包含占发酵培养基总质量 40%的油料作物粉末以及占发酵培养基总质量 60%的水。

5.如权利要求 2-4 任一所述的一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，其特征在于，所述发酵培养基的成分包含大豆膨化粉以及水。

6.如权利要求 2-5 任一所述的一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，其特征在于，所述食药用真菌包含灵芝（*Ganoderma lucidum*）、金耳（*Tremella aurantialba*）、猴头菇（*Hericium erinaceus*）或蛹虫草（*Cordyceps sinensis*）中的一种或多种。

7.如权利要求 2-6 任一所述的一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，其特征在于，所述食药菌为灵芝。

8.如权利要求 2-7 任一所述的一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，其特征在于，所述固态发酵的条件为温度 25~30℃、时间 10~20 d。

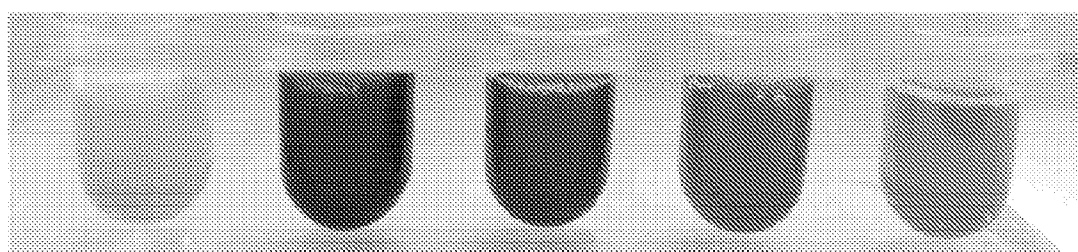
9.如权利要求 2-8 任一所述的一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，其特征在于，所述固态发酵的条件为温度 30℃、时间 10 d。

10.如权利要求 2-9 任一所述的一种利用食药菌对大豆或其他油料作物进行发酵处理的方法，其特征在于，所述将食药用真菌接种至发酵培养基中进行固态发酵为将食药用真菌种子液接种至发酵培养基中进行固态发酵；所述食药用真菌种子液在发酵培养基中的接种量为食药用真菌菌液体积占油料作物粉末质量的 5~20%；所述食药用真菌种子液是通过将食药用真菌接种至种子培养基中进行培养获得的。

11.应用权利要求 2-10 任一所述的方法制备得到的油脂以及油料作物粕。

12.含有权利要求 11 所述油脂和/或油料作物粕的产品。

13.如权利要求 12 所述产品，其特征在于，所述产品包含饲料、食品、药品或保健品。



空白

A

B

C

D

图 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/123845

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A23L 33/115(2016.01)i; A23K 10/37(2016.01)i; A61K 36/48(2006.01)i; A61K 36/31(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 39/06(2006.01)i; A61P 37/04(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC											
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A23L; A23K; A61K; A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, CNTXT, SIPOABS, DWPI, CJFD, CNKI: 真菌, 灵芝, 金耳, 猴头菇, 蛹虫草, 多糖, 黄酮, 三萜, 发酵, 油料作物, 大豆, 花生, 菜籽, 蓖麻, 芝麻, 油, 粕, fungi, fungus, Ganoderma lucidum, Tremella aurantialba, Hericium erinaceus, Cordyceps sinensis, polysaccharide, flavone, triterpene, ferment, zymosis, zymolysis, oil, cake											
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 102318864 A (BIO-AN BIOTECH. CO., LTD.) 18 January 2012 (2012-01-18) claims 1-11</td> <td>1-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 101228951 A (ZHANG, Zhenyuan) 30 July 2008 (2008-07-30) claims 1-6</td> <td>1-13</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	A	CN 102318864 A (BIO-AN BIOTECH. CO., LTD.) 18 January 2012 (2012-01-18) claims 1-11	1-13	A	CN 101228951 A (ZHANG, Zhenyuan) 30 July 2008 (2008-07-30) claims 1-6	1-13
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.									
A	CN 102318864 A (BIO-AN BIOTECH. CO., LTD.) 18 January 2012 (2012-01-18) claims 1-11	1-13									
A	CN 101228951 A (ZHANG, Zhenyuan) 30 July 2008 (2008-07-30) claims 1-6	1-13									
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.											
* Special categories of cited documents: “A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed “T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art “&” document member of the same patent family											
Date of the actual completion of the international search 05 September 2019		Date of mailing of the international search report 20 September 2019									
Name and mailing address of the ISA/CN State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088 China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.									

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2018/123845

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	102318864	A	18 January 2012	CN	102318864	B	16 January 2013
CN	101228951	A	30 July 2008	CN	101228951	B	30 November 2011

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/123845

A. 主题的分类

A23L 33/115(2016.01)i; A23K 10/37(2016.01)i; A61K 36/48(2006.01)i; A61K 36/31(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 39/06(2006.01)i; A61P 37/04(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A23L; A23K; A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, CNTXT, SIPOABS, DWPI, CJFD, CNKI:真菌, 灵芝, 金耳, 猴头菇, 蛹虫草, 多糖, 黄酮, 三萜, 发酵, 油料作物, 大豆, 花生, 菜籽, 蓖麻, 芝麻, 油, 粕, fungi, fungus, Ganoderma lucidum, Tremella aurantialba, Hericium erinaceus, Cordyceps sinensis, polysaccharide, flavone, triterpene, ferment, zymosis, zymolysis, oil, cake

C. 相关文件

类 型*

引用文件, 必要时, 指明相关段落

相关的权利要求

A

CN 102318864 A (武汉百安生物科技有限责任公司) 2012年 1月 18日 (2012 - 01 - 18)
权利要求1-11

1-13

A

CN 101228951 A (张真元) 2008年 7月 30日 (2008 - 07 - 30)
权利要求1-6

1-13

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2019年 9月 5日

国际检索报告邮寄日期

2019年 9月 20日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

受权官员

石军

电话号码 62411178

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/123845

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	102318864	A	2012年 1月 18日	CN	102318864 B 2013年 1月 16日
CN	101228951	A	2008年 7月 30日	CN	101228951 B 2011年 11月 30日