

# 黄曲霉毒素脱毒方法专利技术综述

王慧林, 樊海涛\*, 卢文英 (国家知识产权局专利局专利审查与协作江苏中心, 江苏苏州 215163)

**摘要** 黄曲霉毒素是一种毒性极强的剧毒物质, 它可诱发肝癌等多种疾病, 采取有效措施防止食品或饲料制品黄曲霉毒素污染, 并对已经污染黄曲霉毒素的食品或饲料采取有效的脱毒措施, 将对保证食品安全和减少经济损失具有极其重要的意义, 黄曲霉毒素脱毒近年来也是国内研究的热点。对黄曲霉毒素脱毒方法技术领域的专利的申请量趋势、专利申请产出国、申请人分布、脱毒方法技术分支进行了统计分析, 并重点针对目前研究比较多的微生物去除黄曲霉毒素专利的技术发展脉络进行了梳理。

**关键词** 黄曲霉毒素; 专利分析; 技术综述

**中图分类号** S509.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)17-291-03

## Patent Technology of Aflatoxin Detoxification Method

WANG Hui-lin, FAN Hai-tao\*, LU Wen-ying (Patent Examination Cooperation Center of the Patent Office Sipo, Suzhou, Jiangsu 215163)

**Abstract** Aflatoxin is a kind of highly toxic substance, it may induce a variety of diseases such as cancer of the liver, to take effective measures to prevent aflatoxin contamination of the food or feed products and to detoxification of pollution of food or feed has great significance to ensure food safety and reduce the economic loss. Aflatoxin detoxification is a hot spot in domestic research in recent years. The method of aflatoxin detoxification technology trend of the number of patent applications, countries of patent applications, branch of detoxification method has carried on the statistical analysis, and more emphasis on the present study, the technology development of microbial removal of aflatoxin has been concluded

**Key words** Aflatoxin; Patent analysis; Technology review

## 1 曲霉脱毒技术概述

黄曲霉毒素简称 AFT, 是黄曲霉、寄生曲霉及特曲霉等真菌产生的次级代谢产物的总称, 常见的有 AFB1、AFB2、AFG1、AFG2、AFM1、AFM2、AFB2a、AFG2a、AFBM2a、AFGM2a 等, 其中 AFB1 的毒性最强。大量的流行病学调查研究表明, 黄曲霉毒素毒性极强, 其毒性比氰化钾大 10 倍, 比砒霜大 68 倍。黄曲霉毒素在 1993 年被世界卫生组织 (WHO) 的癌症研究认定为已知强烈致癌化学物质之一。我国花生制品、油料饼粕、食用油、玉米、大米等农产品的黄曲霉毒素污染较严重, 其中以花生、玉米最为严重, 使之成为一些地区肝癌发病率较高的主要原因, 并已引发多宗因黄曲霉毒素超标导致的农产品国际贸易纠纷。因此, 采取积极有效的措施防止食品制品黄曲霉毒素污染, 并对已经污染黄曲霉毒素的食品制品采取有效的脱毒措施, 将对保证食品安全和减少经济损失具有极其重要的意义。

根据黄曲霉毒素的性质, 理论上 3 种脱毒途径, 即脱除毒素、把毒素转变成无毒化合物、使黄曲霉毒素降解为无毒的小分子“碎片”。目前脱毒的方法主要有物理法, 其包括挑选法、暴晒法、加热法、加工法、吸附法、辐射法、粉碎水洗法等; 化学法, 其包括有机溶剂处理法、碱炼法、氨处理法、氧化法、亚硫酸氢钠法; 生物法, 其包括酶法、微生物发酵法、添加营养素法、添加防腐剂法。

传统的物理、化学脱毒方法在实际应用中可能对食品制品的色、香、味有不同程度的破坏, 且容易产生残留, 导致食品制品的营养价值降低, 最重要的截止到目前, 没有研究充分证明经过物理、化学方法处理后的食品制品的安全性。酶法脱毒中由于酶价格昂贵, 反应过程中酶容易失活, 且酶重

复利用的次数较低, 从而使生产成本增高。笔者通过专利信息分析对黄曲霉毒素的脱毒进行梳理和展望<sup>[1-2]</sup>。

## 2 数据库的选择和检索情况

根据黄曲霉毒素脱毒技术领域以及前期的初步检索, 选取合适的检索词结合分类号在中文专利数据库和英文专利数据库进行全面的检索, 其中中文专利数据库选择 CNABS 数据库、CPRABS 数据库, 外文数据库选择 DWPI、SIPOABS、USTXT、WOTXT、EPTXT 数据库。

通过对现有技术了解确定的中文关键词为黄曲霉毒素、黄曲霉、毒素, 英文关键词为: aflatoxin、bflatoxin、aspergillus 1d flavus 1d toxin, 结合的分类号包括: A23L1/015、A23K1、A23L1, 但分类号并不十分准确, 因此, 在检索过程中采用关键词结合分类号以及单独使用关键词的形式, 文献分析的时间截止到 2013 年 12 月 31 日。

## 3 黄曲霉毒素脱毒专利技术的整体情况

**3.1 专利申请量的分析** 图 1~2 为黄曲霉毒素脱毒专利申请国内与国外申请量趋势。由图 1、2 可知, 检索到的专利文献国内最早出现在 1989 年, 而国外为 1966 年, 国外较国内领先 23 年, 国内 2002 年后, 申请量出现持续增长, 2011 年后增长极为迅速, 并在 2012 年达到峰值, 2013 年有稍微下降, 这可能是近一年申请的专利还有大量的未公开。另一方面, 国外在 2000 年后增长较为迅速, 且一直到现在黄曲霉毒素的脱毒都是研究的热点, 专利申请量也在稳步的上升, 国内 2013 年的申请量和国外 2005 年的申请量相当。由此也可以看出, 国内与国外对黄曲霉毒素脱毒存在 8 年左右的代差。

**3.2 专利申请产出国和申请人分布** 通过对检索到的专利文件进行产出国统计分析 (表 1), 申请量由大到小依次为中国、美国、日本、德国, 并且中国的申请量远高于其他国家。这可能是由于我国是传统的农业大国, 而黄曲霉毒素一般存在于稻谷、玉米等粮食作物中, 因而该类研究活跃度较高。

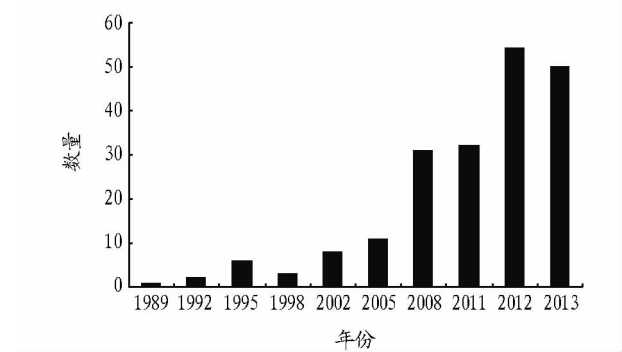


图1 黄曲霉毒素专利国内申请量趋势

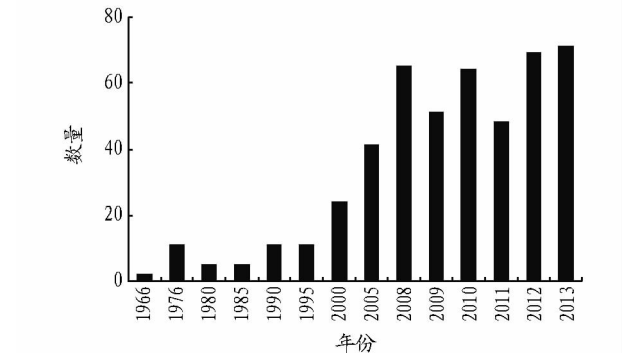


图2 国外黄曲霉毒素专利申请量趋势

| 表1 专利产出国分布 |     |    |     | % |
|------------|-----|----|-----|---|
| 国家         | 百分数 | 国家 | 百分数 |   |
| 中国         | 51  | 德国 | 6   |   |
| 美国         | 26  | 法国 | 3   |   |
| 日本         | 10  | 英国 | 2   |   |
| 韩国         | 2   |    |     |   |

由于我国申请量较多,进一步统计了在我国进行申请的申请人分布状况,如表2和图3所示,约46%的申请来自高校以及科研院所,其和企业所占比例相当,而个人的申请量仅占约12%。由此也可以看出,黄曲霉毒素的脱毒研究在高校、科研院所以及企业中较活跃。

虽然高校以及科研院所和企业的专利申请量所占的比例相差不大,但进一步统计分析,发现申请人靠前的均是高校以及科研院所,中国农业科学院油料作物研究所位居第1位,其申请量为115件,江南大学和中国农业大学分别为60件和36件,中国农业科学院农产品加工研究所为15件,其他高校以及科研院所的申请量相对较少。

| 表2 专利在我国申请分布 |     | % |
|--------------|-----|---|
| 我国申请人分布      | 百分数 |   |
| 高校/科研院所      | 46  |   |
| 公司           | 42  |   |
| 个人           | 12  |   |

**3.3 主要技术分支** 从表3可以看出,微生物法脱毒、吸附脱毒、酶法以及碱处理和氧化法为黄曲霉毒素的主要脱毒方法,其中微生物法、吸附法为两大主要研究方法,微生物法脱

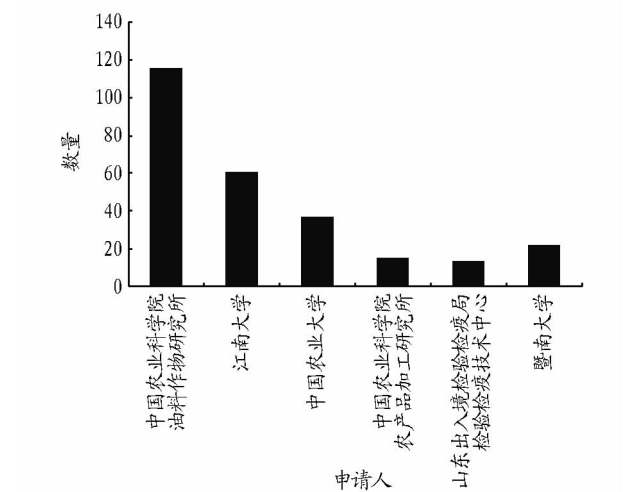


图3 专利申请人在我国分布

除黄曲霉毒素占了整个申请量的27%。这可能在于微生物脱毒的处理条件相对温和,微生物发酵处理法对饲料营养成分的损失和影响较小,只要能筛选出或通过基因功能改造出相适应的菌株即可,而吸附法操作较简单,只需将吸附剂与待处理的物质在某一特定的条件下混合即可。

| 表3 专利技术分支申请量分布 |     |      |     | % |
|----------------|-----|------|-----|---|
| 技术分支           | 百分数 | 技术分支 | 百分数 |   |
| 吸附以及吸附剂的改进     | 20  | 酶    | 14  |   |
| 辐射以及电磁波        | 5   | 微生物  | 27  |   |
| 次氯酸、过氧化氢等氧化法   | 14  | 基因   | 6   |   |
| 氨水等碱处理         | 14  |      |     |   |

**4 微生物法脱除黄曲霉毒素的专利技术发展脉络图**

由于微生物是研究的热点以及主要方向,因而梳理了以微生物进行黄曲霉毒素脱毒的专利技术发展脉络(图4)。

对于筛选特定的菌种,最早的专利(申请号US19660463339)是由SEC OFAGRIC公司提出的,该专利通过将污染的物料与含NRRL B-184菌株的溶液培养小于4 h来去除黄曲霉毒素,之后筛选出抑制黄曲霉生长、使黄曲霉毒素沉淀、抑制毒素吸收等手段来脱除黄曲霉毒素的菌株以及通过突变来增强脱毒效果的菌株。

1997年之后,出现了通过改变菌株的基因来改良菌株,使其产生更多的分解黄曲霉毒素的酶来降解毒素,2009年之后,国内出现大量的复合微生物以及微生物与其他脱毒手段的结合来降解黄曲霉毒素的专利,如CN201310442236公开了将枯草芽孢杆菌、嗜酸乳杆菌冻干粉和蒙脱石、改良水合硅铝酸盐、葡甘露聚糖结合来脱毒的手段。这些专利以江南大学和中国农业大学居多。

**5 技术综述应用示例**

对于黄曲霉毒素脱毒专利技术的了解,可以帮助相关领域的审查员快速准确地理解发明的技术方案,提高检索和审查的效能,下面以一件实审案例来说明。

申请号:CN201310442236。

发明名称:一种动物用饲料脱霉剂及其制备方法和应用。

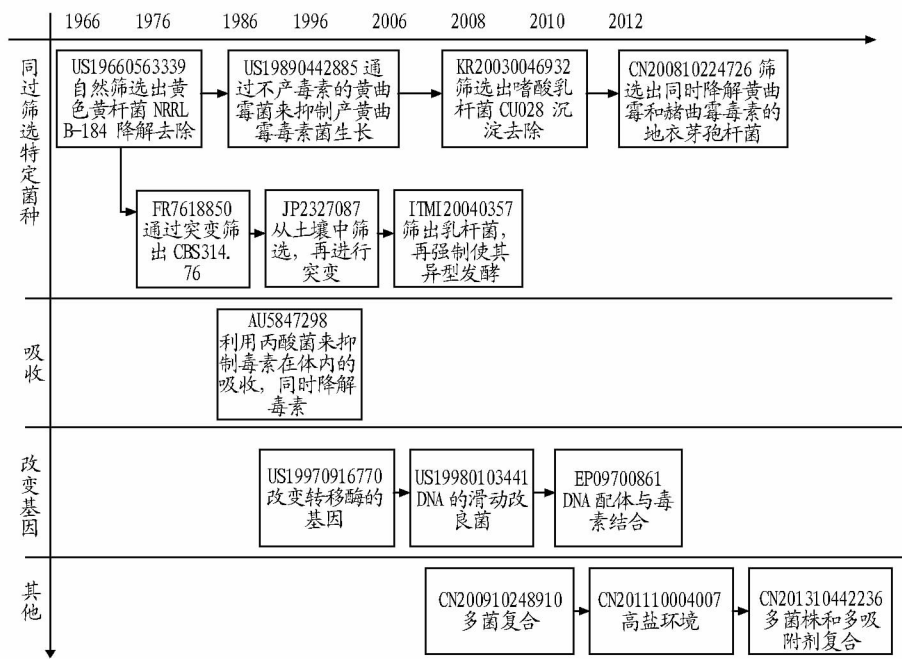


图4 通过微生物来脱除黄曲霉毒素的专利技术发展脉络

技术方案:权利要求1是一种动物用饲料脱毒剂的制备方法。其特征在于包括以下步骤:①制备改良水合硅铝酸盐。将水合硅铝酸盐矿物,经过细碎机破碎并过筛得粒径为3~10 mm 矿物,然后在玛瑙球磨罐上进行研磨,装载体积与罐体积比为1:1.5~3,采用干-湿球磨的方式,前25~35 h 采用干式球磨法研磨,后25~35 h 加入无水乙醇采用湿式球磨法研磨,研磨之后将样品烘干即得改良水合硅铝酸盐。②将枯草芽孢杆菌(CICC20872)、嗜酸乳杆菌冻干粉(CICC6074)、亚硒酸钠、维生素E、饲用活性干酵母、葡甘露聚糖、蒙脱石和步骤①制备的改良水合硅铝酸盐按比例混合。

分析说明:该申请的目的在于用多种具有吸附毒素功能的吸附剂加上多种活性菌来脱毒饲料中的黄曲霉毒素。通过上述综述的分析,不难看出该申请的发明点为:①吸附剂的选择、改性和吸附剂联合使用,具体为蒙脱石、葡甘露聚糖和硅铝酸盐吸附剂的联合,且将硅铝酸盐吸附剂进行了改

良,以增加其吸附效果。②加入了嗜酸乳杆菌冻干粉、活性干酵母,该类微生物可以降解黄曲霉毒素和抑制黄曲霉毒素的产生。而经过初步检索发现,没有将上述吸附剂和微生物混合来脱除饲料中的黄曲霉毒素,但存多种吸附剂和单种微生物联合使用来脱除黄曲霉毒素(CN101181008A),再结合上述技术分支中多菌如CN102550815A或CN200910248910可评述权利要求1的创造性。

通过检索确定的对比文件1:CN101181008A,对比文件2:CN102550815A,可评述所有权利要求的创造性。对于发明点理解准确,检索思路清晰,很容易获得了很好用的对比文件,提高了检索效率。

### 参考文献

- [1] 杨丰利,汤蕾妍,何宝祥. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 广西畜牧兽医,2006,22(5):233-235.
- [2] 李培武,张道宏,杨扬,等. 粮油制品中黄曲霉毒素脱毒研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [3] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [4] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [5] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [6] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [7] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [8] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [9] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [10] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [11] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [12] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [13] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [14] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [15] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [16] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [17] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [18] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [19] 王慧林,王慧芳,王慧芳,等. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 中国油料作物学报,2010,32(2):315-319.
- [20] ICHINOSE K,TOCHIHARA M,WADA T,et al. Effect of common carp on apple snail in a rice field evaluated by a predator-prey logistic model[J]. International Journal of Pest Management,2002, 48(2):133-138.
- [21] 张承元,单志芬,赵连胜. 略论稻田养鱼与农田生态[J]. 生态学杂志,2001,20(3):24-26.
- [22] 周云龙,谷彦君,赵臣强. 稻田养鱼除草试验报告[J]. 黑龙江水产,2002(3):16-17.
- [23] 栾浩文,辛国芹. 稻田养鱼除草试验[J]. 现代化农业,2003(10):11-12.
- [24] PATRA B C. Weeds in rainfed lowland rice-fish systems[J]. Oryza,1995, 32:121-124.
- [25] ROTHUIS A J,VROMANT N, XUAN V T,et al. The effect of rice seedling rate on rice and fish production, and weed abundance in direct seeded rice-fish culture[J]. Aquaculture,1999,172:255-274.
- [26] CHAPMAN G,FERNANDO C H. The diets and related aspects of feeding of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and common carp (*Cyprinus carpio*) in lowland rice fields in northeast Thailand[J]. Aquaculture,1994,123:281-307.

(上接第262页)