
第二章 基因工程与食品产业

第五节 基因工程在食品产业中的应用

第五节 基因工程在食品产业中的应用

- 一、利用基因工程改造食品微生物
 - 二、利用基因工程改善食品原料的品质
 - 三、利用基因工程改进食品生产工艺
 - 四、利用基因工程生产食品添加剂及功能性食品
-

第五节 基因工程在食品产业中的应用

一、利用基因工程改造食品微生物

(一) 改良微生物菌种

(二) 改良乳酸菌遗传特性

(三) 酶制剂的生产

第五节 基因工程在食品产业中的应用

一、利用基因工程改造食品微生物

(一) 改良微生物菌种

最早成功应用的基因工程菌(采用基因工程改造的微生物)是**面包酵母菌**。

啤酒生产中要使用啤酒酵母,但由于普通啤酒酵母菌种中不含 α -淀粉酶,所以需要利用大麦芽产生的 α -淀粉酶使谷物淀粉液化成糊精,生产过程比较复杂。

(一) 改良微生物菌种

生物技术已用于啤酒酵母的改造，如将 α -乙酰乳酸脱羧酶基因克隆到啤酒酵母中进行表达，可降低啤酒双乙酰含量而改善啤酒风味；选育出分解 β -葡聚糖和糊精的啤酒酵母，能够明显提高麦汁的分解率并改善啤酒质量；构建具有优良嗜杀其他菌类活性的嗜杀啤酒酵母已成为实现纯种发酵的重要措施。

(一) 改良微生物菌种

采用基因工程技术，将大麦中 α -淀粉酶基因转入啤酒酵母中并实现高速表达。这种酵母便可直接利用淀粉进行发酵，无需麦芽生产 α -淀粉酶的过程，可缩短生产流程，简化工序，推动啤酒生产的技术革新。

利用基因工程技术还可将霉菌的淀粉酶基因转入大肠杆菌，并将此基因进一步转入单细胞酵母中，使之直接利用淀粉生产酒精。这样，可以省掉酒精生产中的高压蒸煮工序，可节约能源60%，并且生产周期大大缩短。

(一) 改良微生物菌种

此外，食品生产中所应用的食品添加剂或加工助剂，如氨基酸、有机酸、维生素、增稠剂、乳化剂、表面活性剂、食用色素，食用香精及调味料等，也可以采用基因工程菌发酵生产而得到，基因工程对微生物菌种改良前景广阔。

（二）改良乳酸菌遗传特性

1、抗药基因

目前，利用乳酸菌发酵得到的产品很多，如酸奶、干酪、酸奶油、酸乳酒等，已应用的乳酸菌基本上为野生菌株。

有的野生菌株本身就抗多种抗生素，因而在其使用过程中，抗药基因将有可能以结合、转导和转化等形式在微生物菌群之间相互传递而发生扩散。

(二) 改良乳酸菌遗传特性

利用基因工程技术可选育无耐药基因的菌株，当然也可去除生产中已应用菌株中含有的耐药质粒，从而保证食品用乳酸菌和活菌制剂中菌株的安全性。

(二) 改良乳酸菌遗传特性

2、风味物质基因

乳酸菌发酵产物中与风味有关的物质主要有乳酸、乙醛、丁二酮、3-羟基-2-丁酮、丙酮和丁酮等。可以通过基因工程选育风味物质含量高的乳酸菌菌株。

(二) 改良乳酸菌遗传特性

3、产酶基因

乳酸菌不仅具有一般微生物所产生的酶系，而且还可以产生一些特殊的酶系，如产生有机酸的酶系、合成多糖的酶系、降低胆固醇的酶系、控制内毒素的酶系、分解脂肪的酶系、合成各种维生素的酶系和分解胆酸的酶系等，从而赋予乳酸菌特殊的生理功能。

若通过基因工程克隆这些酶系，然后导入到生产干酪、酸奶等发酵乳制品生产用乳酸菌菌株中，将会促进和加速这些产品的成熟。另外，把胆固醇氧化酶基因转到乳酸杆菌中，可降低乳中胆固醇含量。

(二) 改良乳酸菌遗传特性

4、耐氧相关基因

乳酸菌大多数属于厌氧菌，这给实验和生产带来诸多不便。从遗传学和生化角度看，厌氧菌或兼性厌氧菌几乎没有超氧化物歧化酶基因和过氧化氢酶基因或者说其活性很小。若通过生物工程改变超氧化物歧化酶的调控基因则有可能提高其耐氧活性。当然将外源SOD基因和过氧化氢酶基因转入厌氧菌中，也可以起到提高厌氧菌和兼性厌氧菌对氧的抵抗能力。

(二) 改良乳酸菌遗传特性

5、产细菌素基因

乳酸菌代谢不仅可以产生有机酸等产物，还可以产生多种细菌素，然而并不是所有的乳酸菌都产生细菌素，若通过生物工程技术将细菌素的结构基因克隆到生产用菌株中，不仅可以使不产细菌素的菌株获得产产细菌素的能力，而且为人工合成大量的细菌素提供了可能。

(三) 酶制剂的生产

利用基因工程技术不但可以成倍地提高酶的活力，而且还可以将生物酶基因克隆到微生物中，构建基因工程菌来生产酶。据1995年统计，已有50%的工业用酶是用转基因微生物生产的。

转基因微生物生产酶的优点：产量高、品质均一、稳定性好、价格低等。

(三) 酶制剂的生产

凝乳酶是第一个应用基因工程技术把小牛胃中的凝乳酶基因转移至细菌或真核微生物生产的一种酶。1990年美国FDA已批准在干酪生产中使用。

重组DNA技术生产小牛凝乳酶，首先从小牛胃中分离出对凝乳酶原专一的mRNA(内含子已被切除)，然后借助反转录酶、DNA聚合酶和St核苷酸酶的作用获得编码该酶原的双链DNA。再以质粒或噬菌体为运载体导入大肠杆菌。

(三) 酶制剂的生产

近20年来用基因工程菌发酵生产的食品酶制剂主要有：凝乳酶、 α -淀粉酶、葡萄糖氧化酶、葡萄糖异构酶、转化酶、普鲁多糖酶（茁霉多糖酶）、脂肪酶、 α -半乳糖苷酶、 β -半乳糖苷酶、 α -乙酰乳酸脱羧酶、溶菌酶、碱性蛋白酶等。

(三) 酶制剂的生产

例如，蛋白酶可以改善蛋白质的溶解性；转谷氨酰胺酶可以使蛋白质分子间发生交联，可用于增加大豆蛋白的胶凝性能，使肉制品等添加大豆蛋白后具有更好的品质。

(三) 酶制剂的生产

在食品加工过程中，通过添加一些酶类，可以改善产品的色泽、风味和质构。

如用葡萄糖氧化酶可以去除蛋液中的葡萄糖，改善蛋制品的色泽；用脂酶和蛋白酶可加速奶酪的成熟；葡萄糖苷酶可用于果汁和果酒的增香；木瓜蛋白酶可分解胶原蛋白，用于肉的嫩化。对于含有难消化成分的食品，可以通过添加一些酶类，改善这些食品的营养和消化利用性能。

第五节 基因工程在食品产业中的应用

二、利用基因工程改善食品原料的品质

(一) 改良动物食品性状

(二) 改造植物性食品原料

二、利用基因工程改善食品原料的品质

(一) 改良动物食品性状

为了提高乳牛的产奶量，可将采用基因工程技术生产的牛生长激素 (BST) 注射到母牛体内，既可达到提高母牛产奶量的目的，又不影响奶的质量。

同样，为了提高猪的瘦肉含量或降低猪脂肪含量，可将采用基因重组技术生产的猪生长激素，注射至猪体内，便可使猪瘦肉型化，有利于改善肉食品质。

(二) 改造植物性食品原料

1、提高植物性食品氨基酸含量

例如，可以对赖氨酸代谢途径中的各种酶进行修饰或加工，从而使细胞积累更大量的Lys。在植物细胞中，Lys是由Asp衍生而来的，在这个过程中有两个起重要作用的酶，天冬氨酸激酶(AK)和二氢吡啶二羧酸合成酶(DHDPS)。这两个酶都受到它们所催化的反应的终产物-Lys抑制。因此只要能够解除Lys对AK和DHDPS的抑制，就可以在细胞内积累较高含量的Lys。现在已经从玉米等植物中克隆到了对Lys的抑制作用不敏感的DHDPS的基因，并正在对转入此基因的植物进行检测。

(二) 改造植物性食品原料

1、提高植物性食品氨基酸含量

还可针对性地将富含某种特异性的氨基酸的蛋白基因转入目的植物，以提高相应植物中的特定氨基酸的含量。例如通过分析发现，玉米 β -phaseolin富含Met，将此蛋白基因转入豆科植物，就可以大大提高豆科植物种子贮存蛋白的Met含量，而Met正是豆科植物种子贮存蛋白所缺少的成分。

（二） 改造植物性食品原料

2、 增加食品的甜味

非洲有一种植物叫应乐果，研究人员在其果实中发现了一种叫做应乐果蛋白的蛋白质，咀嚼时比蔗糖大约甜1.0万倍，而它所含的蛋白质却又不会在新陈代谢中具有与蔗糖相同的作用，它的这种特性使之成为蔗糖的理想替代品。 0

(二) 改造植物性食品原料

2、增加食品的甜味

天然应乐果蛋白是有两条链通过弱的非共价键相互作用而形成的二聚体。A链由45个氨基酸残基组成，B链由50个氨基酸残基组成。但由于是由两条分离多肽链组成，烹调过程中遇到的加热、遇酸(例如醋酸、柠檬酸)等情况很容易使之解离，失去甜味。局限了它作为甜味剂的用途。

人们采用化学方法合成出应乐果蛋白基因，它可以编码同时包括A、B两条链的单链肽段。此融合蛋白在转基因番茄和莴苣中进行了表达。

(二) 改造植物性食品原料

2、增加食品的甜味

还可用基因工程的方法获得新的糖类。例如环化糊精(CD)就是一种新的糖类物质。这种物质有可能作为一种新型甜味剂用于食品工业，研究表明，环化糊精除了具有甜味外还有分解食物中的咖啡因和胆固醇等有害物质的功能。将环化糊精糖基转移酶(CGT)的基因转入植物，可以在转基因植物中获得环化糊精。

（二） 改造植物性食品原料

3、 改造油料作物

最易用基因工程方法进行改造的油料作物是油菜，迄今为止，在世界范围内种植的良好油菜有31%是转基因品种。

(二) 改造植物性食品原料

3、改造油料作物

用基因工程技术可以提高油脂中抗氧化剂的含量。

已成功地从拟南芥中克隆甲基转移酶基因并转导到了大豆中，甲基转移酶是 γ —生育酚形成生育酚的关键酶。转这种酶基因的大豆能在不降低总生育酚的前提下，使 α —生育酚的含量提高80%以上。

4、改良植物食品的蛋白质品质

如秘鲁“国际马铃薯培育中心”培育出一种蛋白质含量与肉类相当的薯类；转移扁豆蛋白基因可获得具有较高贮存蛋白质的转基因向日葵。

我国在此方面也培育出了一批作物新品种，有的已经在生产上推广应用。如山东农业大学将小牛胸腺DNA导入小麦系814527，在第二代出现了蛋白质含量高达16.51%的小麦变异株；中国农业科学院作物研究所将大米草DNA引入水稻品种早丰，出现了籽粒蛋白质含量高达12.74%的受体变异类型。

4、改良植物食品的蛋白质品质

基因工程在改善农作物种子蛋白质质量方面发挥着重要作用。

如小麦、玉米等谷物种子缺乏赖氨酸，豆类作物种子缺乏蛋氨酸，将富含赖氨酸和蛋氨酸的种子基因进行分离鉴定，并转入相应的作物中，可得到营养品质较为完全的蛋白质。

如将巴西坚果或豌豆蛋白基因转入大豆中，获得含有较高含硫氨基酸的转基因大豆。

5、改善园艺产品的采后品质

(1) 多聚半乳糖醛酸酶 (PG)

PG在果实成熟过程中合成。利用转基因技术得到的反义PG番茄，果实采后的贮藏期可延长1倍，可以减少因过熟和腐烂所造成的损失；果实抗裂、抗机械损伤、便于运输；抗真菌感染；由于果胶水解受到抑制，用其加工果酱可提高出品率。

目前已经从桃、猕猴桃、苹果、西洋梨、砂梨、鳄梨、番茄、黄瓜、甜瓜、马铃薯、玉米、水稻、大豆、烟草、甜菜、油菜、拟南芥等植物中克隆得到PG的编码基因。

5、改善园艺产品的采后品质

(2) 乙烯合成相关酶基因:

采用基因工程手段可控制乙烯生成，如导入反义ACC（1-氨基环丙烷-1-羧酸）合成酶基因；导入反义ACC氧化酶基因。

➤ ACC合成酶(简称ACS)基因:

ACC合成酶是乙烯生物合成的关键酶，由一个多基因家族所编码。

目前，已经从番茄、苹果、康乃馨、绿豆、夏南瓜、笋瓜等植物中得到了ACC合成酶基因。1995年中国农大罗云波等培育出转反义ACS的转基因的番茄，在室温下可贮存3个月。

5、改善园艺产品的采后品质

➤ ACC氧化酶基因：

又叫乙烯形成酶(EFE)，也是乙烯生物合成途径中的关键酶。在细胞中的含量比ACC合成酶还少，也是由一个多基因家族编码。

目前已经从番茄、甜瓜、苹果、鳄梨、猕猴桃以及衰老的麝香石竹花、豌豆、甜瓜等分离出ACC氧化酶基因。

利用基因工程方法延缓蔬果成熟衰老、控制果实软化，提高抗病虫和抗冷害能力等方面均有广阔的应用前景。

第五节 基因工程在食品产业中的应用

三、利用基因工程改进食品生产工艺

(一) 利用**DNA**重组技术改进果糖和乙醇生产方法

(二) 改良啤酒大麦的加工工艺

(三) 改良小麦种子贮藏蛋白的烘烤特性

(四) 改善牛乳加工特性

三、 利用基因工程改进食品生产工艺

(一) 利用DNA重组技术改进果糖和乙醇生产方法

1、 利用微生物培养技术，大量生产所需的酶

2、 利用 α -淀粉酶的高温突变体进行“高温”生产

这种突变体可在80~90℃时起作用，在这种高温下进行液化淀粉，加速淀粉的水解，同时节约正常淀粉酶水解的冷却降温所消耗的能量。

三、 利用基因工程改进食品生产工艺

3、 改变编码 α -淀粉酶和葡萄糖淀粉酶的基因

使它们具有同样的最适温度和最适pH值，使液化、糖化在同一条件下进行，减少生产步骤，降低生产成本。

4、 利用DNA重组技术获得能够直接分解粗淀粉的酶

可降低能量消耗，提高效率，降低成本。

5、 寻找或人工“创造”一种分泌葡萄糖淀粉酶发酵微生物

葡萄糖淀粉酶能将淀粉全部水解成葡萄糖。

在发酵过程中可不再添加淀粉酶，直接生产果糖或乙醇。

三、 利用基因工程改进食品生产工艺

(二) 改良啤酒大麦的加工工艺

啤酒制造对大麦醇溶蛋白含量有一定要求，如果醇溶蛋白含量过高会影响发酵，使啤酒易产生混浊，也会增加过滤的难度。采用基因工程技术，使另一蛋白基因克隆至大麦中，便可相应地降低大麦中的醇溶蛋白含量，以适应生产的要求。

三、 利用基因工程改进食品生产工艺

(三) 改良小麦种子贮藏蛋白的烘烤特性

小麦种子贮藏蛋白对面包烘烤质量有很大影响，特别是高分子谷蛋白5(x)和10(y)的亚基有助于面包质量的改善，同时谷蛋白的N—端和C端含有Cys残基，可形成分子间的二硫键，产生高分子量的聚合物，从而使面团具有较好的弹性。

利用基因工程技术，通过增加谷物蛋白的5(x)和10(y)的亚基的拷贝数、引入Cys残基以及改变交联特性等手段，可使小麦具有更理想的加工特性。

三、 利用基因工程改进食品生产工艺

(四) 改善牛乳加工特性

在牛乳加工中如何提高其热稳定性是关键问题。牛乳中的酪蛋白分子含有丝氨酸磷酸，它能结合钙离子而使酪蛋白沉淀。

采用基因操作，使酪蛋白分子中Ala-53被Ser所置换，但可提高其磷酸化，使酪蛋白分子间斥力增加，以提高牛奶的热稳定性，这对防止消毒奶沉淀和炼乳凝结起重要作用。

第五节 基因工程在食品产业中的应用

四、利用基因工程生产食品添加剂及功能性食品

(一) 生产氨基酸

(二) 生产黄原胶

(三) 超氧化物歧化酶(SOD)的基因工程

(四) 应用于生产保健食品的有效成分

四、利用基因工程生产食品添加剂及功能性食品

由于从植物中提取食品添加剂，来源有限、成本昂贵；化学合成虽成本较低，但常可能危害人体健康。因此，生物技术，特别是发酵工程技术已成为食品添加剂生产的首选方法。

目前，国内外重点研究开发的食品添加剂有：

甜味剂：木糖醇、甘露糖醇、阿拉伯糖醇、甜味多肽等；

酸味剂：L-苹果酸、L-琥珀酸等；

氨基酸：各种必需氨基酸；

增稠剂：黄原胶、普鲁兰、茁霉多糖、热凝性多糖等；

风味剂：多种核苷酸、琥珀酸钠、香茅醇、双乙酰等；

芳香剂：脂肪酸酯、异丁醇等；

色素：类胡萝卜素、红曲霉色素、虾青素、番茄红素等；

维生素：维生素C、维生素B₁₂、核黄素、肉碱等；

生物活性剂：活性多肽等；

天然食品防腐剂：如乳链菌肽、杀菌肽、瓜蟾抗菌肽、防御素等。

四、利用基因工程生产食品添加剂及功能性食品

(一) 生产氨基酸

氨基酸是我国新型的发酵工业产品之一，目前，国外已有5种氨基酸用重组菌实现了工业化生产，达到较高水平（如苏氨酸、组氨酸、脯氨酸、丝氨酸和苯丙氨酸）。

生产色氨酸，在正常的色氨酸生物合成途径中，其关键酶是邻氨基苯甲酸合成酶。把编码这种酶的基因，转化到生产色氨酸的菌株中使之正确高效表达，就会达到增加色氨酸的产量的目的。

(二) 生产黄原胶

黄原胶是一种高分子的多糖，其物理化学性质非常稳定，常被作为稳定剂、乳化剂、加浓剂、悬浮剂使用，在食品加工中用途广泛。

在奶酪的制作过程中，会产生一种叫做乳清的副产品。这种副产品乳糖含量高达3.5%~4%，还有少量的蛋白质、矿物质和小分子有机物，但牛奶场却很难处理这种乳清。研究发现，大肠杆菌的1acZ操纵子包含了半乳糖苷酶和乳糖渗透酶的基因，这两个基因置于*X. campestris*启动子的驱动下，转入宿主的质粒载体中，导入大肠杆菌，然后通过三亲交配转入*X. campestris*。本来，野生型的*X. campestris*不能利用乳糖，只能在以葡萄糖为碳源的环境中生产黄原胶，而用这两个基因转化后，*X. campestris*菌可利用乳清高水平地生产黄原胶。

(三) 超氧化物歧化酶(SOD)的基因工程

采用基因工程手段改良产酶菌株，近年来应用于超氧化物歧化酶(SOD)。Hallewell等报道了人的SOD的cDNA的核苷酸序列、分子克隆和用Tacl启动子在大肠杆菌中的高效表达。利用酵母甘油醛磷酸脱氢酶启动子指导人的SOD基因在酵母菌中高效表达，产生的人的SOD是可溶的，酶比活正常。酵母产生的人的SOD在其N—末端乙酰化，它与人红细胞的SOD物化特性相同。可见，用酵母表达生产人的SOD，具有广泛的应用前景。

（四）应用于生产保健食品的有效成分

当今，保健食品的发展有赖于基因工程这门新技术。现在，可以采用转基因手段，在动植物或其细胞中使目的基因得到表达而制造有益于人类健康的保健成分或有效因子。

例如，将一种有助于心脏病患者血液凝结溶血作用的酶基因克隆至牛或羊，便可以在牛乳或羊乳中产生这种酶。又如，把人的血红素基因克隆至猪中，那么，猪血可以用做人类血液的代用品。这些都是转基因动物生产特殊成分的例子。





思考题

- 1、什么是基因工程、食品基因工程?基因工程的操作步骤有哪些?
- 2、什么是限制性内切酶?常用的工具酶有哪些?
- 3、理想的基因工程载体应具备的特征有哪些?对质粒载体有哪些要求?常用的质粒载体有哪些?
- 4、什么叫目的基因?获得目的基因的方法有哪些?
- 5、目的基因与载体的连接方式有哪些?
6. PCR反应体系应具备的条件? PCR反应过程有哪些?

-
6. 说明重组DNA导入受体细胞的方法。
 7. 简述反义基因技术的概念、原理，反义基因技术在食品产业中的应用。
 8. 什么叫报告基因、反义RNA、cDNA?
 9. 试述基因工程在食品工业上的应用。
-