

作为乳酸激活体—Enterococcus faecalis菌株的基因工程构建

晁雨

作者：白俄罗斯国立大学，生物系，基因教研组，

目的：利用基因工程的方法，构建加工出一种可以高效生物合成的变型E. faecalis菌株，并优化他们的培养参数，改进并完善不同培养基的发酵操作技术，使之成为乳酸激活体菌株，以达到降低生产成本，提高效率的目的。

乳酸的应用意义

乳酸的工业生产被广泛应用于很多领域，比如食品，医学，制药，化工，农畜业等领域。

(I). 在化妆品业方面

- 1) 由于L-乳酸是皮肤固有天然保湿因子的一部分被广泛用作许多护肤品的滋润剂。L-乳酸是最有效的一种AHA且刺激性甚微，因此乳酸常用来取代乙醇酸；
- 2) 由于L-乳酸天然存在于头发中，作用是使头发表面光泽亮丽，因此乳酸常作为各种护发产品的pH调节剂；
- 3) 乳酸可作为保湿剂用于各种浴洗用品中，如沐浴液，条状肥皂和润肤蜜。在液体肥皂，香皂和香波中可作为pH调节剂。此外，乳酸添加在条状肥皂中可减少储藏过程中水分的流失，因而防止肥皂的干裂。

(II). 在农畜业方面

- 1) 光学纯度高达99%以上的乳酸，在农药方面可用于生产缓释农药，例如除草剂，具有对农作物和土壤无毒无害且高效的特点；
- 2) 乳酸聚合物用于生产农用薄膜，可用其取代塑料地膜，能被细菌分解后让土壤吸收，利于环保；
- 3) 乳酸还用于青饲料贮藏剂、牧草成熟剂；
- 4) 在猪禽饲料中作为生长促进剂。乳酸可以降低胃内的pH值，起到活化消化酶、改善氨基酸消化能力的作用，并对肠道上皮的生长有好处。小猪在断乳后的几个星期喂食含有酸化剂的饲料，其在断乳期间的体重可以增加15%；
- 5) 乳酸抑制微生物的生长。哺乳期的小猪会染上由大肠杆菌和沙门氏菌引起的疾病，在饲料中加入乳酸能防止小猪下胃肠道中病原菌生长；
- 6) 乳酸可以作为饲料的防腐剂并增进饲料、谷物和肉类加工产品副产品的微生物稳定剂；

(III). 在食品行业方面

- 1) 乳酸有很强的防腐保鲜功效，可用在果酒、饮料、肉类、食品、糕点制作、蔬菜腌制以及罐头加工、粮食加工、水果的贮藏，具有调节pH值、抑菌、延长保质期、调味、保持食品色泽、提高产品质量等作用；
- 2) 调味料方面，乳酸独特的酸味可增加食物的美味，在色拉、酱油、醋等调味品中加入一定量的乳酸，可保持产品中的微生物的稳定性、安全性，同时使口味更加温和；
- 4) 在酿造啤酒时，加入适量乳酸既能调整pH值促进糖化，有利于酵母发酵，提高啤酒质，又能增加啤酒风味，延长保质期。在白酒、清酒和果酒中用于调节pH，防止杂菌生长，增强酸味和清爽口感；
- 5) 天然乳酸是乳制品中的天然固有成分，它有着乳制品的口味和良好的抗微生物作用，已广泛用于调配型酸奶奶酪、冰淇淋等食品中，成为倍受青睐的乳制品酸味剂；

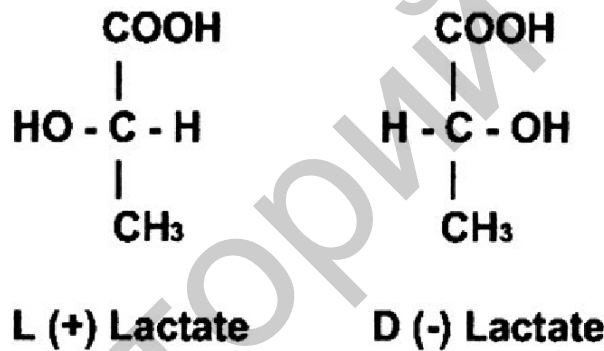
(IV) .在医学方面

- 1) 在病房、手术室、实验室等场所中采用乳酸蒸气消毒，可有效杀灭空气中的细菌，起到减少疾病，达到提高健康之目的；
- 2) 在医药方面广泛用作防腐剂、载体剂、助溶剂、药物制剂、pH 调节剂等；
- 3) 乳酸聚合得到聚乳酸，聚乳酸可以抽成丝纺成线，这种线是良好的手术缝线，缝口愈合后不用拆线，能自动降解成乳酸被人体吸收，无不良后果。尤其是体内手术缝线，免除二次手术拆线的麻烦。这种高分子化合物可做成粘接剂在器官移植和接骨中应用；

(V) .在生态环保方面的应用

上述应用中多次出现**聚乳酸**，聚乳酸是一种新型的可降解材料，是以乳酸为原料聚合而成。聚乳酸的机械性能以及物理性能良好，可以用多种方式进行加工，如纺丝，注射吹塑，挤压等。聚乳酸产品除了能被生物降解外，光泽度，透明度，手感和耐热性很好，还就具有一定的耐菌性，阻燃性和抗紫外线的特性，因此用途十分广泛，可加工成为可降解的绿色包装材料以及纤维。应用于服装布料生产，食品袋，购物袋，和免拆型可被人体自行吸收的医疗手术缝线。

乳酸分类以及结构：



L-乳酸：具有右旋光性，存在于动物的肌肉中，因为人体中含有L—乳酸脱氢酶，所以可直接参与人体代谢不会产生酸中毒。而D—乳酸进入人体后，由于不能被代谢，是血尿酸度提高，过量的摄入会导致代谢紊乱。因此世界卫生组织对D-乳酸有限制使用，而对L—乳酸无任何限制。所以，L—型乳酸可能成为世界最有潜力的食品添加剂。而聚乳酸也将成为最理想的绿色高分子材料。

乳酸的生产方式：

化学合成法，酶化法和微生物发酵法。微生物发酵法原理： $\text{丙酮} \xrightarrow{\text{乳酸脱氢酶}} \text{乳酸}$

化学合成不能得到光学纯异构体，合成出来的产物都是消旋混合物，分离和纯化后，乳酸产品的造价会非常昂贵，而且，化学合成法的原料一般具有毒性，不符合绿色化学要求。酶法工艺复杂，其工业应用还有待于进一步研究。发酵法因其工艺简单，原料充足，又可以生产出光学纯异构体，而成为比较成熟的乳酸生产方法，约占乳酸生产的70以上。

通过比较可以看出用微生物发酵法生产乳具有很大的优势，但是传统的乳酸菌发酵法生产乳酸伴随着一个含糖培养基生物转化的问题。在目前条件下缺少一种可高效生产乳酸的菌株，来适应某种特定的原料（培养基）。因此可利用基因工程的方法，构建加工出一种可以高效生物合成的变型E. faecalis菌株，并优化他们的培养参数，改进并完善不同培养基的发酵操作技术，使之成为乳酸激活体菌株，以达到提高乳酸生产的产率和效率，降低生产成本的目的。