

# 抗草甘膦大豆加工过程中基因降解研究进展

夏义苗,陈复生,郝莉花,张丽芬,辛颖

(河南工业大学 粮油食品学院,河南 郑州 450001)

**摘要:**全球范围内转基因大豆的种植和消费越来越普遍,为了保障广大消费者的知情权和自主选择权,促进大豆市场健康有序发展,应尽快完善转基因大豆及其相关产品的科学标识制度,研究不同加工操作对抗草甘膦大豆内外源基因的影响可为标识制度的完善和标识阈值的建立提供强有力的理论参考。文章分别从储藏、机械处理、热处理、酸碱处理、大豆油加工、中国传统豆制品加工等方面综述了不同加工操作对抗草甘膦大豆内外源基因的降解情况,并对内外源基因的稳定性差异进行了初步概述,以期后续研究更好地服务于科学的标识制度提供有益思路参考。

**关键词:**抗草甘膦;大豆;基因;加工;降解

**中图分类号:**TS201.6      **文献标识码:**A      **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2017.01.0150

## Process in Research on the Effect of Various Processing on Roundup-Ready Soybean Genes Degradation

XIA Yi-miao, CHEN Fu-sheng, HAO Li-hua, ZHANG Li-fen, XIN Ying  
(College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Genetically modified soybeans are increasingly grown and consumed globally. Labeling regulation aimed at transgenic soybean and its products should be set up as soon as possible to enable the right to know and guarantee the freedom of choice for consumers. Moreover, a healthy and sustainable soybean market would benefit from this work and be expected. In order to successfully provide a powerful data reference for the improvement of labeling legislation and the establishment of threshold value, it becomes necessary to identify whether the presence of glyphosate-tolerant soybean internal and external genes is influenced by various food processes. This review discussed the effect of several food processes such as storage, mechanical stress, heating, acid-base treatment, oil refining and Chinese traditional soy products processes on the DNA degradation and made a preliminary comparison about the stability differences between endogenous and exogenous genes of glyphosate-tolerant soybean to give a reference for the more systematic and in-depth study in the future. This review is advised to offer some thoughts reference and theoretical basis for the improvement of labeling legislation.

**Keywords:** Glyphosate-tolerant; Soybean; Gene; Process; Degradation

转基因大豆往往耐除草剂或同时耐除草剂和抗虫,种植成本低廉,经济效益较好,因此自1995年包括抗草甘膦大豆在内的9种转基因作物被美国批准商业化种植和食用以来<sup>[1-3]</sup>,转基因大豆的种植和生产迅速席卷全球,截止2015年底全球大豆种植面积11 100万hm<sup>2</sup>,其中转基因大豆种植面积则高达9 210万hm<sup>2</sup>,占到83%,同时转基因大豆在全球转基因作物的种植中也占到了51%<sup>[4]</sup>。转基因大豆自诞生以来,对其安全性的质疑便从未间断过,许多国家秉持谨慎的态度,要求对转基因及转基因相关产品进行标识,并建立了相关用于追溯或标识的法规制度<sup>[5]</sup>。

我国在1995年以前还是大豆的净出口国,但之后大豆进口开始逐年增加,2015年我国大豆进口量已高达8 250万t,是自产量的7倍多,因此在我国

建立完善的转基因食品标识制度已是刻不容缓,对转基因食品进行标识不仅可促进我国转基因食品产业健康有序发展,亦可保障消费者的知情权和自主选择权。当前我国对转基因食品管理实行的是强制标识制度,只要食品中含有转基因相关成分,就必须对其进行标识,但还未将阴性标识纳入管理范畴,此外当前我国亦未对转基因食品设定相关标识阈值,不同研究者建议的设定值不同,该领域还有很大空间留待探索,研究<sup>[5-7]</sup>。

具体标识制度的建立需要对转基因食品、饲料或者其相关加工制品中的外源基因进行准确定量<sup>[8-9]</sup>,而多种多样的食品加工操作均会造成DNA不同程度的水解、氧化或脱氨基等,从而影响DNA的完整性和稳定性<sup>[10]</sup>。外源基因在转基因作物原料中最完整,含量亦最高,但随着加工工艺过程的

收稿日期:2016-10-24  
基金项目:国家自然科学基金(21376064, 21676073);国家“十二五”科技支撑计划(2014BAD04B10);国家高技术研究发展计划“863计划”(2013AA102208)。  
第一作者简介:夏义苗(1989-),女,博士,主要从事转基因大豆加工安全研究。E-mail:xiayimiao1518831@126.com。  
通讯作者:陈复生(1963-),男,博士,教授,主要从事植物蛋白质资源开发与利用。E-mail:fushengc@haut.edu.cn。

延长或加工强度增大,外源基因会发生不同程度的变化或降解,掌握不同加工工艺对外源基因的降解规律将对标识阈值的科学设立及标识制度的完善产生极大助力。因此本文分别从储藏、机械处理、热处理、酸碱处理、大豆油加工、中国传统豆制品加工等方面来综述不同加工操作对抗草甘膦大豆内外源基因的降解情况,以期为我国转基因大豆相关产品标识制度的完善和科学标识阈值的确立提供理论参考。

## 1 不同加工过程对抗草甘膦大豆内外源基因降解规律

### 1.1 储藏过程中抗草甘膦大豆内外源基因降解规律

抗草甘膦大豆在储藏过程中基因存在不稳定现象,但当前该方面研究较少。周兴虎等<sup>[11]</sup>分别在4, 25和37℃下储藏抗草甘膦大豆10,30,50,70,90 d,结果发现储藏对大豆外源农杆菌CP4菌株5-烯酮丙酮莽草酸-3-磷酸合成酶(CP4-enolpyruvyl shikimate 3-phosphate synthase, CP4-EPSPS)基因完整性没有显著影响;大豆粉25℃储藏50 d时基因和外源蛋白发生明显降解,但真空储藏基因几乎不受影响,蛋白出现轻微降解,储藏环境湿度对外源基因和蛋白质的影响大于温度<sup>[12]</sup>。

### 1.2 机械处理对抗草甘膦大豆内外源基因降解的影响

大豆在加工过程中不可避免地会经历多种多样的机械处理,如研磨(干磨、湿磨)、混合、均质、压片、剪切等,这些物理操作均会不同程度地影响大豆基因完整性和结构。如Ogasawara等<sup>[13]</sup>发现大豆经烧烤后最长DNA片段为595 bp,如先将大豆磨碎,再进行烧烤,则只能测到195 bp片段。Chen等<sup>[14]</sup>研究了豆腐、豆奶和豆粉制作过程中研磨、烹调、混合、均质、灭菌和喷雾干燥等对抗草甘膦大豆内外源基因降解情况,结果发现研磨可致使内源基因从1 883 bp降解至836 bp,同时外源基因从1 512 bp降至408 bp,混合和压片又将其降至198 bp,100℃15 min加热过程并未显著改变内外源基因含量,继而121℃30 s灭菌操作使内源基因从836 bp降至162 bp,此外均质也未显著改变内外源基因,絮凝对外源基因影响不大,但却使内源基因从836 bp降至407 bp,而喷雾干燥使内源基因从836 bp降至162 bp,同时外源基因从408 bp降至190 bp,这说明中国传统豆制品加工过程中研磨、灭菌和喷雾干燥对基因降解程度较大。另有相似结论,如Kharazmi等<sup>[10]</sup>指出在豆奶和豆腐的加工过程中,湿磨过程较

热处理对DNA的降解更严重。

剪切也会引起DNA的降解,值得注意的是剪切不仅发生在食品加工过程如搅拌、离心、抽运、过滤、移液、灌装等中<sup>[15]</sup>,也存在于后续DNA的提取和纯化过程。

### 1.3 热处理对抗草甘膦大豆内外源基因降解的影响

热处理是食品加工中最常见的一种方式,如烹调、微波、焙烤、干燥、油炸、烧烤、灭菌等。高温往往会造成DNA脱嘌呤或去氨基<sup>[16-17]</sup>,致使DNA降解,正常情况下100℃以上即可使DNA发生链断裂或二级结构发生不可逆破坏<sup>[18]</sup>。

1.3.1 加热温度和时间对基因降解的影响 加热温度越高,时间越长,DNA破坏越严重,如Tian等<sup>[19]</sup>发现90℃39%水分含量挤压膨化处理后,抗草甘膦大豆粕Lectin和EPSPS基因降解率分别为0.4%和6.1%,相同水分含量下135℃时Lectin和EPSPS基因降解率分别升高至68.5%和56.7%,165℃时Lectin和EPSPS基因降解率则分别高达92.1%和84.0%,同时120℃39%水分含量挤压膨化处理可降解483 bpEPSPS基因片段,而温度升至165℃时414 bpLectin基因发生降解,DNA片段越短存在越稳定,因此温度越高,DNA降解越严重;Jeng等<sup>[20]</sup>分别在100℃下加热转基因大豆10,20,30,60,120,180 min,在121℃下加热10,20,30 min,结果发现在100℃加热120 min或者121℃加热10 min后628 bpDNA片段检测不到,继续加热,121℃、20 min后444 bpDNA片段也检测不到了,同时所有加热条件下318 bpDNA片段均可检测到,这说明加热破坏了长DNA片段,但加热形成的短链DNA片段依然可以检测到;面包中往往加入大豆粉来调节质构,Bergerova等<sup>[21]</sup>试验发现220℃下焙烤面包可极大降低大豆粉DNA片段长度,且焙烤超过30 min时,1 000 bp以上的DNA片段便检测不到;相似结论如梁克红<sup>[22]</sup>研究发现50℃干热处理转基因大豆粕3 min后1 060 bp DNA片段被降解,温度升至120℃干热3 min后DNA被降解为714 bp片段,将干热时间延长至10 min,407 bp DNA片段发生降解,这说明加热温度越高,时间越长,豆粕DNA降解程度越高。

1.3.2 加热方式对基因降解的影响 不同加热方式对DNA破坏程度不同,如Gryson等<sup>[23]</sup>分别研究了未加工、-80℃处理、焙烤、微波处理和高压蒸汽灭菌大豆粉中DNA分布情况,试验发现未加工大豆粉中DNA含量最高,-80℃处理大豆粉基因含量无明显变化,焙烤大豆粉中DNA总量高于微波处理和

高压灭菌大豆粉,同时微波处理大豆粉中 DNA 总量已降至未处理大豆粉的 70% 以下,但仍然是高压蒸汽灭菌大豆粉 DNA 总量的 5 倍,此外未加工大豆粉中 DNA 片段最长可达 3 000 bp,而焙烤大豆粉中 3 000 bp 以上的长 DNA 片段已被完全降解,微波处理大豆粉 DNA 片段长度低于 500 bp,其中可检测到 413 bpDNA 片段,而该片段在高压蒸汽灭菌大豆粉中没有测到,另 118 bpDNA 片段在所有处理条件下均可测得,由上可知,焙烤、微波处理和高压蒸汽灭菌对 DNA 破坏程度依次增强,低温则对 DNA 含量和完整度影响不大。王卫国等<sup>[24]</sup>比较了微波和超高压处理对抗草甘膦大豆外源基因的降解情况,结果发现微波处理抗草甘膦大豆 3 和 5 min 后,其 DNA 质量浓度分别降至 9 和 0  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ,同时外源基因长度降至 100 bp 以下,超高压 500 MPa 处理抗草甘膦大豆后,其 DNA 质量浓度降至 40  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ,且仍有 1 512 bp 片段被检测到,这说明微波较超高压处理对抗草甘膦大豆 DNA 降解更彻底。

水的参与会大大提升热处理对 DNA 的降解效率,因此湿热较干热处理对大豆 DNA 破坏程度更大,如 Murray 等<sup>[25]</sup>分别在 100℃ 下干热和湿热(水分含量 2  $\mu\text{L} \cdot \text{mg}^{-1}$  大豆粉)处理全脂大豆粉,结果显示处理 15 min 后干热大豆粉 DNA 含量变化不显著,而湿热大豆粉 830 和 1 022 bpDNA 片段则降解明显,另未加热的湿大豆粉和 60 min 干热处理的大豆粉 DNA 含量相似,湿热处理大豆粉中 98 和 86 bpDNA 片段含量随加热时间延长而显著下降。

大豆饲料加工一般要经过干热、高压蒸汽、挤压膨化等处理,梁克红<sup>[22]</sup>研究发现 120℃ 干热处理转基因大豆粕 10 min 后 407 bpDNA 片段发生降解,高压蒸汽(121℃、0.1 MPa)处理 1 min 后 407 bpDNA 片段被降解,5 min 后部分 162 bpDNA 片段能够检测到,与干热相比高压蒸汽处理对豆粕 DNA 降解程度远远加大;Tian 等<sup>[19]</sup>发现抗草甘膦大豆粕中 *Lectin* 基因 919 bp DNA 片段 90℃ 干热 15 min 后发生降解,干热 30 min 后 414 bp 片段发生降解,高压蒸汽(121℃、0.1 MPa)处理 20 min 后 118 bp 片段部分降解,EPSPS 基因 155 bpDNA 片段 75 和 90℃ 干热处理后部分降解,温度升高至 100℃ 以上时降解程度加大,高压蒸汽处理 15 min 后则全部降解,这说明高压蒸汽较干热处理对 DNA 降解作用更强;挤压膨化操作过程中同时出现高水分、高温和高压,该处理亦会引起 DNA 极大程度的降解,如王卫国等<sup>[26]</sup>指出挤压膨化可有效降解外源基因,其中挤压腔温度、物料水分、螺杆转速对外源基因降解作用依次减弱,挤压腔温度 130℃,物料水分 20%、螺

杆转速 72  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  时外源基因可降至 206 bp 以下。

#### 1.4 酸碱处理对抗草甘膦大豆内外源基因降解的影响

酸处理会导致基因脱嘌呤,进而在链上产生缺口乃至链断<sup>[27]</sup>,常见的酸处理如粮食的青贮过程,发酵阶段 pH 往往降至 4 左右,此时 DNA 降解严重<sup>[28]</sup>;Bauer 等<sup>[29]</sup>将抗草甘膦大豆粉置于 65℃ pH4.75 环境下,1 719 bpDNA 片段检测不到,在 pH4.75 环境中持续 40 min,1 482 bp 片段检测不到,室温下 pH4.75 也会造成基因长片段快速降解;Bergerova 等<sup>[30]</sup>分别在 pH2.25,4.25,7.6 和温度 100℃、120℃ 下处理大豆,pH 为 4.25 和 7.6 时可测到 313 bp 长度基因,当 pH 降为 2.25 时 313 bp 基因便测不到了,400 ~ 1 339 bp 片段完全降解。

碱性环境中 DNA 相对稳定,在 pH 为 8.5 ~ 9.5 时 DNA 双链发生解旋,利用碱提酸沉法提取大豆分离蛋白,大豆先后经碱液、酸中和、喷雾干燥等处理,但依然可以在终产品大豆分离蛋白中检测到 714 bp 和 1 000 bpDNA 片段<sup>[29,31]</sup>;亦有研究报道大豆分离蛋白和浓缩蛋白中基因片段平均长度为 100 ~ 400 bp<sup>[32]</sup>。

高温高压和酸复合条件下,基因降解往往出现叠加效应,基因破坏程度加大,Bergerova 等<sup>[30]</sup>发现 120℃ 0.1 MPa 作用下 DNA 可被降解至 300 bp 左右,但当物料处于酸性环境中时 DNA 含量大大下降,长度在 300 bp 以上的 DNA 完全检测不到。

#### 1.5 油脂精炼工艺对抗草甘膦大豆内外源基因降解的影响

大豆原料经过清理、破裂、压片、挤压、浸提后可得毛油,但为了提高油脂品质、保障人体健康,必须对毛油进行水化脱胶、碱炼、脱色和脱臭等来除去毛油中的磷脂、游离脂肪酸、色素、不良气味因子、不同程度氧化产物等有害杂质<sup>[33]</sup>,其中脱胶过程有大量搅拌、加热(50 ~ 80℃ 左右)操作,碱炼过程需要加入氢氧化钠和加热(90℃ 左右)处理,脱色往往利用活性炭或白土,同时加热温度升至 100℃ 左右,脱臭温度更高,往往在 240℃ 以上,油脂精炼过程的高温、机械搅拌、碱液、吸附等处理均会影响最终成品油中的 DNA 含量和片段长度。

王小花<sup>[34]</sup>认为在大豆油精炼过程中脱胶处理使得部分 DNA 转移到了水相中,而脱臭过程中高温处理则完全破坏了 DNA,并得出结论脱臭是 DNA 降解和破坏的关键步骤。但其他研究者报告称脱胶工艺才是大豆油精炼过程中 DNA 降解关键步骤,如 Gryson 等<sup>[35]</sup>在实验室模拟了大豆油的化学法和物理学精炼过程,两种方法均显示大豆毛油中 DNA

含量较高,但经脱胶处理,大豆油中 DNA 被完全移除,同时在磷脂水溶液中测到了大量 DNA,但由于物理法中所用溶剂为柠檬酸水,故其相应磷脂水溶液中 DNA 含量一段时间后下降,因此其认为脱胶是大豆油精炼过程中 DNA 丧失的关键步骤;随后 Gryson 等<sup>[36]</sup>又具体研究了脱胶温度、脱胶时间、用水量和酸添加量对油脂中 DNA 残留的影响,结果发现这些因素对 DNA 的转移没有明显影响;Pauli 等<sup>[37]</sup>将大豆毛油和水混合后离心,结果发现在 10 000 g 离心后,大豆毛油中 DNA 便充分转移到了水相中,而转基因大豆毛油工业化脱胶过程便包含了该操作,因此可认为转基因大豆油和传统大豆油安全性相似。此外,Costa 等<sup>[38]</sup>亦发现工业精炼脱胶油中几乎检测不到 DNA,之后的脱酸和脱色油亦没有 DNA 存在,但脱臭油中却含有 61.4% 的外源基因,该值已非常接近毛油 83.9% 的外源基因含量,具体原因有待研究。综上,转基因大豆油精炼过程中,内外源基因发生降解关键步骤还存有争议,有待进一步研究。

### 1.6 中国传统豆制品加工工艺对抗草甘膦大豆内外源基因降解的影响

中国传统豆制品种类较多,部分产品加工工艺繁杂,由于大豆营养丰富,功能性成分种类多、含量高,近年来国外对大豆消费越来越重视,传统豆制品如豆腐、豆奶、毛豆等国外消费量日渐增多,转基因大豆在该领域的应用也越来越受关注,相关安全性研究热度也不断上升。当前该部分研究主要集中在传统豆制品生产中关键加工步骤如研磨、均质、煮浆、盐卤、凝固、喷雾干燥等对外源基因的降解规律探讨,现对常见豆制品如豆粉、豆奶、豆腐等已有研究结果进行概述。

王媛等<sup>[39-40]</sup>具体分析了豆腐、豆奶、豆粉和酱油 4 种传统豆制品制作过程中关键加工工艺如磨浆、点浆、调配、均质、喷雾干燥、发酵、杀菌等对大豆 DNA 的影响,结果发现豆粉加工中喷雾干燥对内源基因破坏较严重,因此终产品中外源基因含量不降反升;豆奶加工中调配和均质严重破坏外源基因,杀菌对内源基因降解较严重;酱油加工中,外源基因破坏程度较内源基因严重;Gonzalez 等<sup>[41]</sup>将进口转基因大豆进行种植,并利用收获的大豆制作酸奶、豆粉和豆芽等,结果发现初磨、再研磨、干燥后的豆粉均检测到了 35S 启动子,酸奶和豆芽中亦检测到了 35S 启动子;Kharazmi 等<sup>[10]</sup>试验发现豆腐和豆奶加工工艺中对浸湿大豆的机械处理是大豆 DNA 严重破坏的关键环节,故后续的加热处理对 DNA 降解并不明显<sup>[13-14]</sup>;煮浆过程可将豆浆 DNA

片段从 1 714 bp 降至 1 339 bp,随后凝乳成豆腐过程中 DNA 并无观测到进一步降解<sup>[29]</sup>;抗草甘膦豆腐乳 180 d 储藏期内外源基因检测均为阳性<sup>[42]</sup>;发酵过程可极大程度降解大豆 DNA<sup>[20]</sup>。

### 1.7 其它加工处理对抗草甘膦大豆内外源基因降解的影响

除了机械力、酸、碱、加热和高压等会对 DNA 造成破坏,酶解、辐照等也会引起 DNA 不同程度的降解,如在青贮饲料制备过程中,原料往往易被机械力破坏,造成细胞壁和细胞膜破裂,DNA 和核酸酶便会被释放到环境中,进而引起 DNA 的降解<sup>[10]</sup>;生面团发酵过程中 DNA 的降解也多是由酶解引起<sup>[43]</sup>;杨爱萍等<sup>[44]</sup>发现转基因大豆在少孢根霉发酵过程中,外源基因相对含量变化与核酸酶、脂肪酶和蛋白酶活性变化相一致;蒋亦武<sup>[45]</sup>在对转基因大豆进行蒸煮后,接入少孢根霉和纳豆芽孢杆菌模拟发酵,结果发现蒸煮后大豆 *Lectin* 和 *EPSPS* 基因均降至 800 bp 以下,两种菌发酵 4 d 后大豆中均检测不到 400 bp 左右片段,但 200 bp 以下片段始终存在,这说明持续发酵可有效降解转基因大豆中内外源基因。辐照常被用于抑制或消除食品中的致病菌或腐败微生物,延长食品的保质期<sup>[46]</sup>,Villavicencio 等<sup>[47]</sup>分别用 0,500,800 和 1 000 Gy 剂量的钴 60 辐射巴西大豆和阿根廷大豆,发现辐射处理后依然能够检测到转基因成分,但具体 DNA 片段长度没有给出,单细胞凝胶结果显示 DNA 降解程度随着辐射剂量的上升而加大。

## 2 抗草甘膦大豆不同加工过程中内外源基因稳定性差异

大豆内源凝集素 *Lectin* 基因、35S 启动子基因、EPSPS 目标基因和 NOS 终止子基因常被用于转基因大豆的基因检测和溯源研究,但内源和外源基因间稳定性存有差异,如蒋亦武<sup>[45]</sup>试验发现抗草甘膦大豆内源 *Lectin* 基因纳豆芽孢杆菌发酵 2 d 后 402 bpDNA 片段被降解,而外源 *EPSPS* 基因发酵 3 d 后 408 bpDNA 片段才检测不到,因此认为发酵过程中外源 *EPSPS* 基因更稳定,Tian 等<sup>[19]</sup>亦有相似结论;但梁克红<sup>[22]</sup>研究发现 93℃ 干热抗草甘膦大豆粕 3 min 外源基因 807 bpDNA 片段发生降解,但仍可测得内源基因 714 bpDNA 片段,这说明内源基因对干热更稳定;王媛<sup>[39]</sup>亦发现中国传统豆制品在加工过程中外源基因稳定性较差,更容易被破坏或降解。不同种外源基因间稳定性也存有差异,如周兴虎<sup>[12]</sup>认为抗草甘膦大豆在储藏过程中,35S 启动子稳定性在外源基因中最差;但梁彬等<sup>[48]</sup>在研究高压蒸汽

处理对抗草甘膦大豆粕 35S 启动子和 NOS 终止子的影响时发现处理后的大豆粕中可测得 101,165 和 246 bp 的 35S 启动子 DNA 片段,而 NOS 终止子中只有 125 bp 片段能被检测到,并由此认为 35S 启动子较 NOS 终止子对热、高压等处理更稳定。由上可知,内外源基因稳定性存有差异,但具体结果并无定论,该部分研究还有待细化和深入。

基因存在稳定性受多因素影响,可能与试验中所选引物相关,如 GC 含量高的模板稳定性相对较好,引物序列同时跨越内源基因和外源基因的筛选基因稳定性更好,DNA 片段长度在 200 bp 以下的模板稳定性更好,另基因稳定性还可能受环境基质组成的影响。

### 3 结论与展望

物理、化学和生物方法均可不同程度地降解大豆内外源基因,未加工大豆、大豆粕、大豆粉等原料中多可检测到 1 000 bp 以上长链 DNA 片段,均质、絮凝、低温等操作对基因片段长度影响不大,研磨、100℃左右持续干热、pH > 4 酸化、持续发酵等操作可将基因片段降为中等长度 400 ~ 800 bp,121℃干热、高压蒸汽、165℃挤压膨化、pH < 4 酸化处理等对 DNA 片段降解作用最强,此时 DNA 链长度仅为 200 bp 左右,较少有操作能将 200 bp 以下的 DNA 片段彻底降解。干热、焙烤和微波加热对 DNA 片段的破坏程度不如高压蒸汽和挤压膨化处理,物理、化学和生物操作方法叠加处理对基因的降解作用往往更强;内源基因和外源基因稳定性不同,但具体结果观点不一,还存有争议。

不同加工处理对 DNA 的降解作用为后续 DNA 的提取和测定工作带来了诸多不便<sup>[49]</sup>,Vijayakumar 等<sup>[23]</sup>指出对于深加工转基因产品来说,DNA 扩增模板要求小于 200 bp 才可有效捕获转基因降解片段;亦有研究者认为对于转基因产品的溯源工作来说,DNA 扩增模板长度建议小于 300 bp<sup>[30]</sup>;Bogani 等<sup>[50]</sup>对抗草甘膦大豆原料及其不同加工产品如破碎大豆、大豆压片、大豆粉、蛋白粉、毛油、脱胶油和卵磷脂等的外源基因进行了测定,结果发现长度为 188 (CTP4),195 (35S) 和 470 bp (35S-CTP4) 的短链或中长链基因模板较适合不同大豆加工产品的基因溯源研究;综上,对转基因大豆深加工产品进行检测或溯源时,模板 DNA 长度覆盖 200 bp 以下片段为佳。

当前多数研究均集中于对热、酸、碱、高温、高压、高湿等处理对转基因大豆内外源基因降解规律的考察,但除大豆饲料外,普遍缺乏深加工大豆产

品系统性操作对转基因大豆内外源基因完整性、稳定性等降解规律的研究和报道,其中关于工业化大豆油、大豆蛋白生产的系统性研究报道尤其缺乏。当前大豆油是我国第一大消费用植物油,在我国消费量远高于其它大宗植物油如棕榈油、花生油、菜籽油和葵花籽油等,且原料多为转基因大豆,同时转基因蛋白产品,甚至包括转基因传统豆制品,对于调整国民饮食结构,提高国民植物蛋白摄入量目标的实现具有巨大潜在推动力,因此后续工作应侧重于深加工产品系统性操作对转基因大豆内外源基因降解规律的研究,大力推进大豆油精炼、大豆蛋白产品提取工艺以及传统豆制品加工工艺对转基因大豆内外源基因稳定性影响规律的探讨和研究,为转基因大豆安全性评判、转基因产品溯源和科学标识制度的建立提供数据支撑和理论参考。

### 参考文献

- [1] James C. Global status of commercialized biotech/GM Crops: 2012 (ISAAA Brief No. 44).
- [2] Invitational Essays to Celebrate the 20th Anniversary of the Commercialization of Biotech Crops (1996 to 2015): Progress and Promise.
- [3] Padgett S R, Kolacz K H, Delannay X, et al. Development, identification, and characterization of a Glyphosate-tolerant soybean line[J]. Crop Science, 1995, 35(5): 1451-1461.
- [4] [http://www.isaaa.org/resources/publications/biotech\\_crop\\_annual\\_update/download/biotech-crop-annual-update-soybean-2016.pdf](http://www.isaaa.org/resources/publications/biotech_crop_annual_update/download/biotech-crop-annual-update-soybean-2016.pdf).
- [5] Arun O O, Yilmaz F. PCR detection of genetically modified maize and soya in mildly and highly processed foods[J]. Food Control, 2013, 32(2): 525-531.
- [6] 张忠民. 转基因食品标识阈值问题研究[J]. 食品科学, 2015, 36(9): 254-259. (Zhang Z M. Studies on labeling threshold of genetically modified foods[J]. Food Science, 2015, 36(9): 254-259.)
- [7] 张忠民. 转基因食品标识豁免制度研究[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 262-269. (Zhang Z M. Labeling exemption regulation for genetically modified foods[J]. Food Science, 2016, 37(11): 262-269.)
- [8] Nicolai A, Manzo A, Veronesi F, et al. An overview of the last 10 years of genetically engineered crop safety research [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2014, 34(1): 77-88.
- [9] Ramessar K, Capell T, Twyman R M, et al. Trace and traceability—a call for regulatory harmony [J]. Nature Biotechnology, 2008, 26(9): 975-978.
- [10] Kharazmi M, Bauer T, Hammes W P, et al. Effect of Food Processing on the Fate of DNA with regard to degradation and transformation capability in *Bacillus subtilis* [J]. Systematic & Applied Microbiology, 2003, 26(4): 495-501.
- [11] 周兴虎, 祝常青, 吴洪洪, 等. 储藏温度和时间对转基因大豆外源基因及蛋白的影响[J]. 南京农业大学学报, 2012(6): 131-136. (Zhou X H, Zhu C Q, Wu H H, et al. Effects of the

- storage temperature and time on cp4-epsps gene and protein in genetically modified soybean[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2012(6): 131-136. )
- [12] 周兴虎. 转基因大豆在贮藏和加工过程中外源 epsps 成分变化规律的研究[D]. 南京:南京农业大学, 2011: 46-54. (Zhou X H. Degradation of exogenous EPSPS element in storage and processing of genetically modified soybean [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011: 46-54. )
- [13] Ogasawara T, Arakawa F, Akiyama H, et al. Fragmentation of DNAs of processed foods made from genetically modified soybeans [J]. *Japanese Journal of Food Chemistry*, 2003, 10 (3): 155-160.
- [14] Chen Y, Wang Y, Ge Y, et al. Degradation of endogenous and exogenous genes of roundup-ready soybean during food processing [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2005, 53(26): 10239-10243.
- [15] Lengsfeld C S, Anchordoquy T J. Shear - induced degradation of plasmid DNA[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2002, 91 (7): 1581-1589.
- [16] Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA [J]. *Nature*, 1993, 362(6422): 709-715.
- [17] Herman L. Detection of viable and dead *Listeria monocytogenes* by PCR [J]. *Food Microbiology*, 1997, 14(2): 103-110.
- [18] Rudi K, Naterstad K, Dromtorp S M, et al. Detection of viable and dead *Listeria monocytogenes* genes on gouda-like cheeses by real-time PCR[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2005, 40(4): 301-306.
- [19] Tian F, Guan Q, Wang X, et al. Influence of different processing treatments on the detectability of nucleic acid and protein targets in transgenic soybean meal[J]. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 2014, 172(7): 3686-3700.
- [20] Jeng S, Shyu Y, Pan T. Detection of genetically modified soybeans in processed foods, Technical Bulletin[M]. Food & Fertilizer Technology Center, 2003: 2.
- [21] Bergerová E, Hrnčirová Z, Stankovská M, et al. Effect of thermal treatment on the amplification and quantification of transgenic and non-transgenic soybean and maize DNA [J]. *Food Analytical Methods*, 2010, 3(3): 211-218.
- [22] 梁克红. 饲料加工工艺对大豆转基因成分影响规律的研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2009: 32-45. (Liang K H. Degradation of transgenic ingredients of genetically modified soybean during feed processing [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009: 32-45. )
- [23] Vijayakumar K R, Martin A, Gowda L R, et al. Detection of genetically modified soya and maize: Impact of heat processing[J]. *Food Chemistry*, 2009, 117(3): 514-521.
- [24] 王卫国, 朱占齐, 吴兴泉. 微波、超高压处理对转基因大豆外源基因降解的影响[J]. *中国粮油学报*, 2015, 30(2): 20-25. (Wang W G, Zhu Z Q, Wu X Q. The effect of microwave and ultra-high pressure parameters on the degradation of exogenous DNA of GM soybean[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2015, 30(2): 20-25. )
- [25] Murray S R, Butler R C, Timmerman-Vaughan G M. Quantitative real-time PCR assays to detect DNA degradation in soy-based food products[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2009, 89(7): 1137-1144.
- [26] 王卫国, 朱占齐, 吴兴泉. 挤压膨化参数对转基因大豆外源基因降解的影响[J]. *中国粮油学报*, 2013, 28(1): 22-26. (Wang W G, Zhu Z Q, Wu X Q. The effect of extrusion parameters on the degradation of exogenous DNA of GM soybean [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2013, 28 (1): 22-26. )
- [27] Lindahl T, Nyberg B. Rate of depurination of native deoxyribonucleic acid[J]. *Biochemistry*, 1972, 11(19): 3610-3618.
- [28] Einspanier R, Lutz B, Rief S, et al. Tracing residual recombinant feed molecules during digestion and rumen bacterial diversity in cattle fed transgene maize[J]. *European Food Research & Technology*, 2004, 218(3): 269-273.
- [29] Bauer T, Weller P, Hammes W P, et al. The effect of processing parameters on DNA degradation in food[J]. *European Food Research & Technology*, 2003, 217(4): 338-343.
- [30] Bergerov E, Godlov Z, Siekel P. Combined effects of temperature, pressure and low pH on the amplification of DNA of plant derived foods[J]. *Czech Journal of Food Sciences*, 2011, 29(4): 337-345.
- [31] Meyer R, Candrian U. PCR-based DNA analysis for the identification and characterization of food components [J]. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 1996, 29(1): 1-9.
- [32] Meyer R, Chardonnens F, Hübner P, et al. Polymerase chain reaction (PCR) in the quality and safety assurance of food: Detection of soya in processed meat products[J]. *European Food Research Technology*, 1996, 203(4): 339-344.
- [33] 姚源崑. 大豆油精炼技术的探讨[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 1984, 3(6): 35-43. (Yao Y K. Study on soybean oil refining technology [J]. *Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition)*, 1984, 3(6): 35-43. )
- [34] 王小花. 食品中抗草甘膦转基因大豆实时 PCR 检测方法的建立与应用[D]. 苏州: 苏州大学, 2009: 30-37. (Wang X H. Real-time PCR method for the detection of Roundup Ready soybean in food and its application [D]. Soochow : Soochow University, 2009: 30-37. )
- [35] Gryson N, Ronsse F, Messens K, et al. Detection of DNA during the refining of soybean oil [J]. *Journal of Oil & Fat Industries*, 2002, 79(2): 171-174.
- [36] Gryson N, Messens K, Dewettinck K. Influence of different oil-refining parameters and sampling size on the detection of genetically modified DNA in soybean oil [J]. *Journal of Oil & Fat Industries*, 2004, 81(3): 231-234.
- [37] Pauli U, Liniger M, Zimmermann A. Detection of DNA in soybean oil [J]. *European Food Research Technology*, 1998, 207 (4): 264-267.
- [38] Costa J, Mafra I, Amaral J S, et al. Transgenes monitoring in an industrial soybean oil processing by conventional and real-time polymerase chain reaction [C]. Portugal: Proceedings of the 9<sup>o</sup> Encontro de Química dos Alimentos, 2009: 1-6.
- [39] 王媛. 转基因大豆内、外源基因在食品加工过程中变化规律的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005: 45-60, 71-72. (Wang Y. Degradation of endogenous and exogenous genes of transgenic Roundup Ready soybean during its processing [D]. Beijing: China Agricultural University, 2005: 45-60, 71-72. )

[40] Ying C, Ge Y, Yuan W. Effect of critical processing procedures on transgenic components in quality and quantity level during soymilk processing of Roundup Ready Soybean [J]. European Food Research and Technology, 2007, 225(1): 119-126.

[41] González-Morales S, Cruz-Requena M, Rodríguez-Vidal A, et al. Persistence of transgenic genes and proteins during soybean food processing[J]. Food Bioscience, 2015, 11: 43-47.

[42] Huang C C, Shih T W, Pan T M. Development and application of a nested polymerase chain reaction method for the detection of genetically modified soybean in Chinese traditional fermented soy food-sufu[J]. Journal of Food & Drug Analysis, 2004, 12(3): 266-272.

[43] Nicolas G, Kathy M, Koen D. PCR detection of soy ingredients in bread[J]. European Food Research & Technology, 2008, 227(2): 345-351.

[44] 杨爱萍, 蒋义武, 祝长青, 等. 转基因大豆内外源 DNA 在少孢根霉发酵中的降解[J]. 畜牧与兽医, 2012, 44(12): 20-25. (Yang A P, Jiang Y W, Zhu C Q, et al. Degradation of endogenous and exogenous DNA in transgenic Roundup Ready soybean during fermentation with Rhizopus oligosporus[J]. Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2012, 44(12): 20-25. )

[45] 蒋亦武. 转基因大豆发酵制品在发酵过程中内、外源基因变化规律的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011: 36-47, 52-63. (Jiang Y W. Degradation of endogenous and exogenous genes of fermented transgenic Roundup Ready soybean products during fermentation processing[D]. Nanjing :Nanjing Agricultural University, 2011: 36-47, 52-63. )

[46] 青莉芳, 魏敏, 杨平华, 等.  $\gamma$  辐照食品灭菌的机理及微生物检测[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(5): 218-220. (Qing L F, Wei M, Yang P H, et al. Mechanism of  $\gamma$  irradiated food sterilization and microbial detection[J]. Food Research and Development, 2016, 37(5): 218-220. )

[47] Villavicencio A, Arauo M M, Baldasso J G, et al. Irradiation influence on the detection of genetic-modified soybeans[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2004, 71(1-2): 491-494.

[48] 梁杉, 梁宁, 蒋继志, 等. 转基因豆粕调控元件在饲料加工中降解变化的初步研究[J]. 华北农学报, 2009, 24(2): 201-205. (Liang B, Liang N, Jiang J Z, et al. Degradation of Non-target genes during feed processes of genetically modified soybean meal [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2009, 24(2): 201-205. )

[49] Onori R, Lopardo R, Giacomo M D, et al. Traceability of genetically modified Roundup Ready soybean: A case study on sampling and analytical uncertainty along processing chain[J]. Food Control, 2013, 34(2): 494-501.

[50] Bogani P, Minunni M, Spiriti M M, et al. Transgenes monitoring in an industrial soybean processing chain by DNA-based conventional approaches and biosensors[J]. Food Chemistry, 2009, 113(2): 658-664.

## 农业供给侧改革升温 玉米大豆站在价改前列

农业也搞起供给侧改革。此次中央经济工作会议和中央农村工作会议首次提出了“农业供给侧改革”的概念,并成为2017年中国经济工作重点之一,而且将长期使用的“粮食增产”一句不再使用。

业内分析师预计,根据我国已明确的中长期规划,水稻和小麦将继续执行最低收购价政策,明年农业价改的“硬仗”可能将集中在玉米和大豆两个品种上。“去库存”仍将是玉米市场的主旋律,而由于明年的不确定性,市场多数人士认为,中国正加速在大豆期货盘面点价,并锁定榨利利润。

玉米大豆迎价改硬仗

作为推动农业供给侧结构转型的最重要工具,明年农产品价格形成机制改革的方向已经露出端倪。有意思的是,中央经济工作会议不提增长,且农村工作会议不提增产,均是历史罕见情形,也在见证着中国农业发展进入了巨大转折。

我国自2004年起全面放开粮食市场,中央同时提出价格调控的主要手段,对稻谷和小麦两大品种实行最低收购价制度。国家委托符合一定资质条件的粮食企业,按国家确定的最低收购价收购农民粮食。

之后,政府扩大了价格调控的农产品种类,玉米也被纳入其中。在国家政策的支撑下,2011年下半年以来,国内粮价持续上涨,逐步超过进口粮价,产生愈发严重的倒挂趋势,极大刺激了粮食进口数量的快速增长。

多重压力下,2014年中央决定开始探索推进农产品价格形成机制与政府补贴“脱钩”的改革,从2014年起取消糖料甘蔗临时收储政策,2015年起取消油菜籽临时收储政策,2016年起取消玉米临时收储政策。

有业内人士认为,根据我国已明确的中长期规划,主要农产品中的水稻和小麦将继续执行最低收购价政策,未来五年内这两大品种的价格形成还难以与政府补贴“脱钩”。明年农业价改的“硬仗”可能将集中在玉米和大豆两个品种之上。

加速期货盘面点价

布瑞克农业咨询公司分析师梅雨认为,中央文件重点提到要“抓好玉米收储制度改革,做好政策性粮食库存消化工作”。由此可见,2017年将是玉米市场化改革进程的重要一年,“去库存”仍将是玉米市场的主旋律。

截至今年7月末,我国玉米库存达2.6亿t,接近粮食总库存的一半。分析师预测,结合近期黑龙江对出省外销玉米整车运输减免高速公路通行费的政策来看,接下来政府消化库存的举措仍会不断。对于终端用粮企业而言,临近年关粮价大跌是一个逢低择优补库的好机会。

相比玉米“去库存”,大豆明年的变数更大。上海社会科学院副院长、历史研究所所长黄仁伟认为,2017年中美经济可能面临一场恶战。美国除了加息减税外,还可能对中国的出口采取反倾销等措施,而中国则有可能对美国农产品、波音、苹果手机等采取针锋相对的措施。无论如何,作为从美国进口的大类产品—大豆,都将面临复杂的局面。

转自《证券时报》