



高等职业教育“十二五”规划教材



酶制剂生产与应用

焦云鹏 主编 吕军仁 主审



中国轻工业出版社 | 全国百佳图书出版单位

高等职业教育“十二五”规划教材

酶制剂生产与应用

主 编 焦云鹏

主 审 吕军仁

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

酶制剂生产与应用/焦云鹏主编. —北京: 中国轻工业出版社,
2015. 8

高等职业教育“十二五”规划教材

ISBN 978 - 7 - 5184 - 0501 - 5

I. ①酶… II. ①焦… III. ①酶制剂—生产工艺—高等职业
教育—教材 ②酶制剂—应用—高等职业教育—教材 IV. ①TQ464. 8

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 144312 号

责任编辑: 李亦兵 贾 磊 责任终审: 唐是雯 封面设计: 锋尚设计
版式设计: 王超男 责任校对: 晋 洁 责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 三河市万龙印装有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2015 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 16. 75

字 数: 330 千字

书 号: ISBN 978 - 7 - 5184 - 0501 - 5 定价: 34. 00 元

邮购电话: 010 - 65241695 传真: 65128352

发行电话: 010 - 85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

131376J2X101ZBW

本教材编写人员

主 编 焦云鹏（江苏食品药品职业技术学院）

副主编 蒋长兴（淮阴工学院）

马川兰（漯河职业技术学院）

汲臣明（江苏食品药品职业技术学院）

参 编 王婷婷（漯河职业技术学院）

万国福（江苏食品药品职业技术学院）

李西腾（江苏食品药品职业技术学院）

李松林（淮阴工学院）

主 审 吕军仁（淮安鸿玛生物科技有限公司）

前 言

根据教育部有关高职高专教材建设的文件精神,为适应目前高职高专项目化课程教学改革的要求,编写了《酶制剂生产与应用》教材。本教材的编写以项目化课程教学法为途径,以提高学生专业技能为主要目标,改变传统的知识教学方式,摸索出适合高职高专院校教学的“酶制剂生产与应用”项目化教程的“教、学、做”一体化教学方法,在教学中逐步提高学生的学习积极性、主动性和职业核心能力。

本教材共分五部分,即模块一酶制剂基础知识、模块二酶制剂生产技术、模块三酶制剂应用技术、模块四重要酶制剂生产与应用、模块五新型酶制剂开发技术。本教材以酶制剂的酶学基础知识、生产和应用为主线,由浅入深,由理论到实践再到“知识链接”,逐步培养学生酶制剂生产与应用的基本知识、技术应用能力、专业核心能力和素质拓展能力,满足了中职、高职知识的衔接要求。

本教材由焦云鹏担任主编并负责统稿工作,由蒋长兴、马川兰、汲臣明担任副主编,由淮安鸿玛生物科技有限公司总经理吕军仁博士主审。具体编写分工如下:模块一由淮阴工学院蒋长兴编写;模块二由江苏食品药品职业技术学院焦云鹏编写;模块三由漯河职业技术学院马川兰编写;模块四由漯河职业技术学院王婷婷编写;模块五由江苏食品药品职业技术学院汲臣明编写;附录由江苏食品药品职业技术学院万国福、李西腾和淮阴工学院李松林整理。

本教材可供高职高专院校食品生物技术、生物技术及应用、生物制药技术、食品加工技术等相关专业教学使用,也可供有关科技人员参考。

本教材在编写过程中参考了同行专家、学者的研究成果和著作,在此向有关专家、学者表示由衷的谢意!由于酶制剂行业发展非常迅速,加之编者知识水平有限,书中必定有不当之处,敬请读者和同仁批评指正。

编 者

目 录

模块一 酶制剂基础知识	1
项目一 酶制剂的概念、性质和来源	1
知识目标	1
技能目标	1
必备知识	1
一、酶制剂的相关概念	1
二、酶制剂的性质	2
三、酶制剂的来源	4
知识链接	5
思考题	6
项目二 酶促反应动力学	6
知识目标	6
技能目标	6
必备知识	6
一、酶催化反应速度	6
二、底物浓度对酶促反应速度的影响	7
三、温度对酶促反应速度的影响	9
四、pH 对酶促反应速度的影响	10
五、激活剂对酶促反应速度的影响	11
六、抑制剂对酶促反应速度的影响	12
实训一 认识酶的激活剂和抑制剂	14
实训二 了解 pH 对酶活力的影响	15
知识链接	17
思考题	18
项目三 酶制剂的发展概况	18
知识目标	18
技能目标	18
必备知识	19
一、酶的发现	19
二、酶的生化组成成分研究	19

三、世界酶制剂工业概况	20
四、我国酶制剂工业概况	20
五、我国酶制剂行业存在的问题	21
知识链接	22
思考题	22
项目四 酶制剂的安全性评价	22
知识目标	22
技能目标	22
必备知识	23
一、酶与食品安全	23
二、酶蛋白与致敏性	23
三、酶的不安全因素	23
知识链接	25
思考题	26
 模块二 酶制剂生产技术	 27
项目一 酶的发酵技术	27
知识目标	27
技能目标	27
必备知识	27
一、酶制剂工业常用微生物	27
二、产酶微生物的选育	28
三、酶的发酵工艺控制	29
四、酶的发酵染菌与控制	34
五、产酶菌种保藏方法	38
实训一 菌种冷冻干燥保藏	43
知识链接	44
思考题	45
项目二 酶的过滤技术	45
知识目标	45
技能目标	45
必备知识	45
一、常压过滤、加压过滤和减压过滤	46
二、常规过滤和错流过滤	47
实训二 酶的超滤分离技术	49
知识链接	51
思考题	52

项目三 酶的破碎技术	52
知识目标	52
技能目标	52
必备知识	52
一、机械法破碎	53
二、物理法破碎	55
三、化学及生物化学法破碎	56
实训三 酵母细胞的破碎及破碎率的测定	57
知识链接	58
思考题	60
项目四 酶的抽提技术	60
知识目标	60
技能目标	60
必备知识	60
一、酶的抽提及其方法	60
二、影响酶抽提的因素	61
实训四 蔗糖酶的提取	62
知识链接	63
思考题	64
项目五 酶的沉淀技术	64
知识目标	64
技能目标	64
必备知识	64
一、盐析法	65
二、有机溶剂沉淀法	68
实训五 酶的透析分离技术	69
知识链接	72
思考题	74
项目六 酶的离心技术	75
知识目标	75
技能目标	75
必备知识	75
一、低速离心	75
二、高速离心	75
三、超速离心	75
实训六 差速离心法分离纯化酶蛋白	78
知识链接	80

思考题	81
项目七 酶的层析技术	81
知识目标	81
技能目标	81
必备知识	81
一、离子交换层析	82
二、凝胶层析	85
三、亲和层析	90
实训七 凝胶层析分离蛋白质	91
知识链接	93
思考题	95
项目八 酶的浓缩技术	95
知识目标	95
技能目标	95
必备知识	95
一、真空薄膜浓缩	95
二、超滤技术	96
三、离子交换浓缩法	97
四、凝胶吸水浓缩	97
实训八 蛋白质的真空浓缩	97
知识链接	99
思考题	101
项目九 酶的干燥、结晶和保存技术	101
知识目标	101
技能目标	101
必备知识	102
一、酶的干燥技术	102
二、酶的结晶技术	104
三、酶的保存技术	105
实训九 蛋白质的冷冻干燥	106
知识链接	108
思考题	108
项目十 酶的固定化技术	109
知识目标	109
技能目标	109
必备知识	109
一、酶的固定化技术概述	109

二、固定化酶的制备	110
三、固定化酶的性质	117
四、评价固定化酶的指标	121
五、固定化酶在食品工业中的应用	121
实训十 固定化 α -淀粉酶的制备	122
知识链接	123
思考题	124
模块三 酶制剂应用技术	125
项目一 酶在食品保鲜中的应用	125
知识目标	125
技能目标	125
必备知识	125
一、酶法保鲜技术的概念	125
二、酶制剂用于食品保鲜的优点	126
三、酶法保鲜案例	126
实训一 溶菌酶在水产品保鲜中的应用	128
知识链接	130
思考题	130
项目二 酶在淀粉类食品工业中的应用	130
知识目标	130
技能目标	130
必备知识	131
一、酶在制糖工业中的应用	131
二、酶在焙烤食品中的应用	133
三、酶在面条加工中的应用	136
实训二 淀粉酶在面包生产中的应用	138
知识链接	140
思考题	140
项目三 酶在乳品工业中的应用	141
知识目标	141
技能目标	141
必备知识	141
一、乳糖酶及其应用	141
二、溶菌酶及其应用	143
实训三 乳糖酶在巴氏乳生产中的应用	144
知识链接	146

思考题	147
项目四 酶在酿酒工业中的应用	147
知识目标	147
技能目标	147
必备知识	147
一、酶在啤酒生产中的应用	147
二、酶在果酒生产中的应用	149
三、酶在白酒生产中的应用	149
实训四 果胶酶在葡萄酒生产中的应用	150
知识链接	152
思考题	153
项目五 酶在果蔬类食品加工中的应用	153
知识目标	153
技能目标	153
必备知识	154
一、果胶酶及其应用	154
二、花青素酶及其应用	156
三、柚苷酶及其应用	156
四、橙皮苷酶及其应用	156
实训五 果胶酶在香蕉果汁生产中的应用	156
知识链接	158
思考题	159
项目六 酶在食品添加剂生产中的应用	160
知识目标	160
技能目标	160
必备知识	160
一、酶在酸味剂生产中的应用	160
二、酶在增味剂生产中的应用	161
三、酶在甜味剂生产中的应用	162
四、酶在营养强化剂生产中的应用	163
五、酶在乳化剂生产中的应用	163
实训六 蛋白酶在明胶生产中的应用	164
知识链接	165
思考题	166
模块四 重要酶制剂生产与应用	167
项目一 蛋白酶的生产与应用	167

知识目标	167
技能目标	167
必备知识	167
一、蛋白酶的概念	167
二、蛋白酶的分类	167
三、代表性蛋白酶举例	168
四、微生物蛋白酶的生产	169
五、蛋白酶的应用	174
实训一 从菠萝中提取菠萝蛋白酶及其活力测定	175
知识链接	178
思考题	178
项目二 淀粉酶的生产与应用	178
知识目标	178
技能目标	178
必备知识	179
一、淀粉酶的分类	179
二、微生物淀粉酶的生产	181
三、淀粉酶的应用	185
实训二 淀粉酶的分离与纯化	186
知识链接	188
思考题	189
项目三 纤维素酶的生产与应用	189
知识目标	189
技能目标	189
必备知识	190
一、纤维素酶的组成与分类	190
二、纤维素酶的性质	191
三、纤维素酶的来源	191
四、纤维素酶活力的测定方法	192
五、微生物纤维素酶的生产	193
六、纤维素酶在食品工业中的应用	196
实训三 碱性纤维素酶产生菌的分离纯化	198
知识链接	201
思考题	201
模块五 新型酶制剂开发技术	202
项目一 基因工程	202

知识目标	202
技能目标	202
必备知识	202
一、基因和基因工程概述	202
二、基因工程的基本元件和工具酶	205
三、基因工程技术在酶制剂生产中的应用	210
知识链接	211
思考题	211
项目二 蛋白质工程	211
知识目标	211
技能目标	211
必备知识	212
一、蛋白质工程概述	212
二、蛋白质工程涉及的主要技术手段	215
三、蛋白质工程酶的应用	219
知识链接	220
思考题	220
项目三 发酵工程	221
知识目标	221
技能目标	221
必备知识	221
一、发酵工程概述	221
二、微生物酶的生物合成	223
三、提高酶产量的策略	225
知识链接	225
思考题	226
附录	227
附录一 我国食品加工用酶制剂企业良好生产规范	227
附录二 “酶制剂制造工”国家职业标准	237
参考文献	253

模块一 酶制剂基础知识

项目一 酶制剂的概念、性质和来源

知识目标

- (1) 掌握酶制剂的概念、性质。
- (2) 了解酶制剂的来源。

技能目标

能叙述酶制剂的性质。

必备知识

一、酶制剂的相关概念

(一) 酶

酶(enzyme)是由活细胞产生的具有特定催化活性的蛋白质,又称生物催化剂。在酶的催化反应体系中,反应物分子被称为底物,底物通过酶的催化转化为另一种分子。几乎所有的细胞活动进程都需要酶的参与,以提高效率。与其他非生物催化剂相似,酶通过降低化学反应的活化能来加快反应速率,大多数的酶可以将其催化的反应速率提高上百万倍;事实上,酶是提供另一条活化能需求较低的途径,使更多反应粒子能拥有不少于活化能的动能,从而加快反应速率。

酶在工业和人们的日常生活中的应用非常广泛。例如,药厂用特定的合成酶合成抗生素;加酶洗衣粉通过分解蛋白质和脂肪来帮助除去衣物上的污渍和油渍等。见图1-1。



图1-1 酶的应用实例

(二) 酶制剂

酶制剂（图 1-2）是一类从动物、植物、微生物中提取具有生物催化能力的蛋白质，具有高效性，专一性，在适宜条件（pH 和温度）下具有活性。

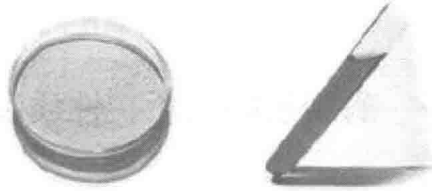


图 1-2 酶制剂样品

我国已批准生产的食品酶制剂有木瓜蛋白酶、 α -淀粉酶、精制果胶酶、 β -葡萄糖酶等（见图 1-3）。酶制剂来源于生物，一般来说较为安全，可按生产需要适量使用。

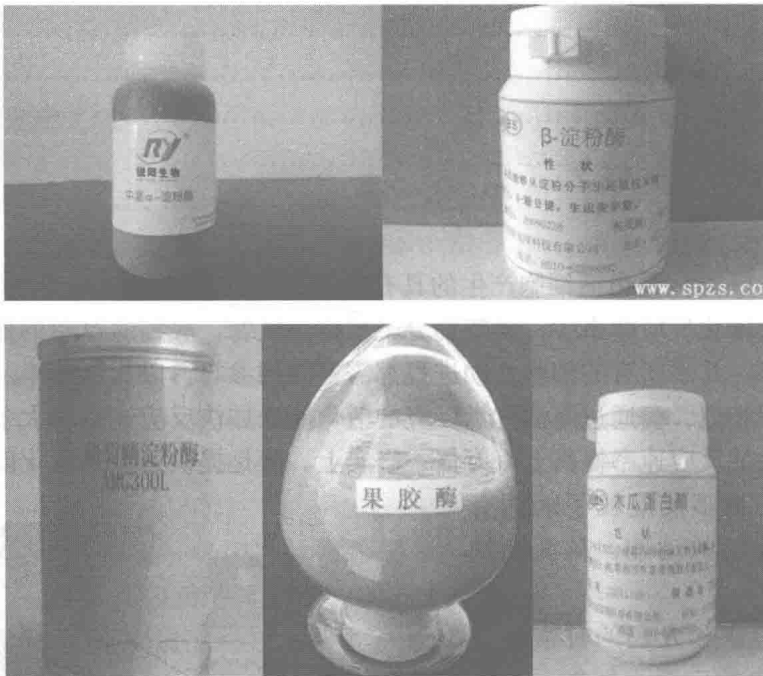


图 1-3 常用酶制剂举例

二、酶制剂的性质

(一) 高效性

酶催化反应与一般催化反应不一样，它可以在常温常压和温和的酸碱度下高

效地进行。1 个酶分子在 1min 内能引起数百万个底物分子转化为产物。

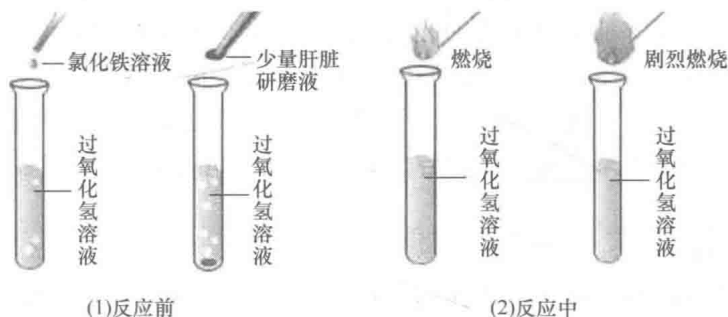


图 1-4 酶和普通催化剂的区别

比较过氧化氢酶和 Fe^{3+} 的催化效率，如图 1-4 所示，过氧化氢酶比 Fe^{3+} 的催化效率高得多，事实上，酶的催化效率一般是无机催化剂的 $10^7 \sim 10^{13}$ 倍。

酶的催化作用不但与底物一接触便发生，而且不用附加剧烈的条件，而一般催化剂往往需要辅以较高的温度、压力等条件。在看似平静的自然界中，每时每刻都在发生着无法计数的酶促反应，而参与酶促反应的酶量又是极少量的。譬如土壤中的固氮菌，把空气中的氮转化成复杂的含氮化合物，组成自身的菌体物质，并供植物利用。反应速度几乎是每秒钟有 10 万个氮分子反应，可见反应之快。

由于酶的催化效能非常大，因此人们只能相对地以酶催化了多少底物来表示它们的含量。在一定的时间、温度、酸碱度等条件下，催化了一定数量的底物转化，定为多少个“单位”，数越大，酶活力越高。

(二) 专一性

酶促反应的另一个特点是酶对底物具有高度的专一性。一种酶只能催化一种或一类物质反应，即酶是一种仅能促进特定化合物、特定化学键、特定化学变化的催化剂。如淀粉酶只能催化淀粉水解，蛋白酶只能催化蛋白质水解，而无机催化剂如酸或碱既催化淀粉水解，也催化蛋白质或其他物质水解，对作用物的选择并无专一性。

专一性主要表现在以下三种情况。

(1) 只催化一种底物起反应，专一性极高。如脲酶只催化尿素水解，对其类似物（甲基脲）无作用。

(2) 能催化一类底物起反应，专一性极低。如蔗糖酶既水解蔗糖，也水解棉子糖，因为它们有相同的化学键。

(3) 能催化底物的立体异构体之一起反应，有高度的立体专一性。如乳酸脱氢酶只能催化 L (+) - 乳酸脱氢，不能催化 D (-) - 乳酸脱氢。

(三) 不稳定性

酶是由细胞产生的生物大分子,凡能使生物大分子变性的因素,如高温、强酸、强碱、重金属等都能使酶失去催化活性。因此,酶所催化的反应往往都是在比较温和的常温、常压和接近中性酸碱度条件下进行的。例如,生物固氮在植物中是由固氮酶催化的,通常在 27℃ 和中性 pH 条件下进行,每年可从空气中将 1 亿吨左右的氮固定下来。而在工业合成氨时,需要 500℃、几百个标准大气压才能完成。

(四) 可调节性

酶是生物体的组成成分,和体内其他物质一样,不断在体内参与新陈代谢,酶的催化活性也受多方面的调控。例如,酶的生物合成的诱导和阻遏、酶的化学修饰、抑制物的调节作用、代谢物对酶的反馈调节、酶的别构调节以及神经体液因素的调节等,这些调控保证酶在体内新陈代谢中发挥其恰如其分的催化作用,使生命活动中的种种化学反应都能够有条不紊、协调一致地进行。

三、酶制剂的来源

酶制剂产品来源于动物、植物和微生物。以往常局限于动物脏器(如取自小牛第四胃的皱胃酶,由猪或牛胰腺提取的胰蛋白酶)和高等植物(如无花果蛋白酶、菠萝蛋白酶等)。随着发酵工业的迅速发展,近年来酶制剂的主要来源已被微生物所取代。微生物所产生的酶制剂的特点是不受季节、地区、数量等条件的限制,而且种类多、繁殖快、质量稳定、成本低。

来源于动植物的酶制剂一般不存在毒性问题。许多传统食品工业常用的酶制剂(如酒类、酱油等),如来源于酵母、乳杆菌、乳酸链球菌、黑曲霉、米曲霉等属的酶,和来源于非致病菌(如大肠杆菌、枯草杆菌)的酶,一般也被认为是安全的。为保证食品的安全性,FAO/WHO(联合国粮农组织/世界卫生组织)在制订每种酶制剂的 ADI(半致死剂量)值同时,还规定该酶制剂的来源,如只有来源于米曲霉、黑曲霉、根霉、枯草杆菌和地衣芽孢杆菌的酶可作为食品加工用酶制剂。 α -淀粉酶制剂的卫生要求见表 1-1。

表 1-1 α -淀粉酶制剂的卫生要求 (GB 8275—2009)

项目	指标
铅含量/(mg/kg)	≤ 5
无机砷含量/(mg/kg)	≤ 3
菌落总数/[CFU/g (mL)]	≤ 50000
大肠菌群/(MPN/g)	≤ 30
致泻大肠埃希菌 (25g)	不得检出
沙门菌 (25g)	不得检出