

博士学位论文

微生物脂肪酶的研究

STUDIES ON MICROBIAL LIPASES

无锡轻工业学院

1988.8

分类号 _____ 密级 _____

U D C _____

学 位 论 文

微生物脂肪酶的研究

STUDIES ON MICROBIAL LIPASES

陶 文 沂

指导教师姓名 汤 逢教授，无锡轻工业学院，江苏无锡

沈学源 教授，无锡轻工业学院，江苏无锡

申请学位级别 博 士 专业名称 食品工程

论文提交日期 1988.9. 论文答辩日期 1988.12.

学位授予单位和日期 无锡轻工业学院，1988.12.

答辩委员会主席 王祖农教授

评阅人 王祖农教授

檀耀辉教授

徐家立副研究员

1988年 9 月 日

本论文导师和指导小组：

导 师 冯 建 雄

〔沈学源〕 教授

指导小组 向鼎春 教授 邱显章 副教授

危世仪 教授 市光果 副教授

曹祖宁 教授

内 容 提 要

本文对微生物脂肪酶进行了微生物学、生物化学和应用等几方面的研究工作。从土壤等来源筛选了三株脂肪酶产生菌。白地霉、细菌、青霉菌。通过对酶合成的调节因素的探索,由诱变筛选琥珀酸钠、柠檬酸钠和抗菌药物耐性株,酶产量分别提高为, GB5017 Suc 2.19倍, BB84 Cit 9倍。

GB5028 α s 2倍。pB262克霉唑抗性23.1%,对变异菌株进行工艺条件优化,使pB227产量提高5.4倍,达到224.2u/ml (pH9.5),确定了温度、pH对酶作用的影响。利用水溶性酯、水不溶性脂肪酯及六种脂肪酸组成各具特色的天然油脂研究了酶的脂肪酸特异性,酶G优先作用于不饱和脂肪酸,酶P对各种油脂水解类似,对饱和酸的作用快于G,酶B作用速率慢,但最适pH和热稳定性较高,该三种酶均无位置特异性,经离子交换色谱、凝胶过滤,酶P纯化达圆盘电泳一条带,进而确定了亚基分子量35500,糖含量2.95%及由312个残基组成,确定了热力学、动力学参数,由化学修饰表明Lys、Trp为催化活性所必需,适宜条件下酶G水解茶油、豆油达97.9%和96.7%,酶B与活性剂LAS配伍可提高去污率8—40%,本文讨论了菌种筛选、调节机制、工艺条件优化、酶作用模式、特异性与底物分子结构关系、界面反应动力学、油脂水解的宏观控制、及油污去除时酶与活性剂的协同作用等方面涉及的理论问题。

Studies on Microbial Lipases

Tao Wenyi Tutors. TangFeng

Shen Xuexuan

(Abstract)

This paper shows the researches on microbiology, biochemistry and application of microbial lipases. From soil samples and other sources, several hundreds of strains which show lipolytic activity were isolated, among which three ones, *Geotrichum candidum*, a bacteria, *Penicillium* sp. were the best. By studying the regulating factors for the synthesis of lipase, and selecting the resistant mutants for succinate, citrate and antimicroorganism medicines after mutation, the lipase yield were increased in GB 5017 suc^r 2.19-, BB84 cit^r 9-, GB5028 nystatin^r 2-, and PB262 clotrimazole^r 0.231-fold. The fermentation conditions for the mutants were optimized thereby the productivity of PB227 was increased 5.4 times and attained $224.2^u/\text{ml}(\text{pH}9.5)$

The effect of pH and temperature on enzymatic lipolysis were determined. By using different water-soluble esters, water-in soluble fatty acid esters and six kinds of natural fats which have different special fatty acids composition the specificity on fatty acid chain were studied. Lipase G prefers to hydrolyze those fats containing ω -9

unsaturated fatty acids. Lipase P hydrolyzes all kinds of fats on a similar pattern, being faster than on saturated ones. Lipase B shows slower acting rate but higher on optimum pH and thermostability. These three enzymes are all non-position specific enzymes. By ion exchange and gel filtration chromatography the enzyme produced by PB227 was purified to be one band on disc-PAGE. The unit molecular of the enzyme was 35500, with sugar content 2.95% and 312 amino acid residues. The thermodynamic and kinetic parameters were determined. By chemical modification it was found that Trp, Lys are necessary for the enzyme activity. About the application, on the optimized condition tea oil can be hydrolyzed 97.9% and soybean oil 96.7% by enzyme G, and the removal of oil soil on the cloth was increased 8-40%^{by} addition of Lipase B as compared with only surfactant LAS. Some theoretical problems involved in strain isolation, regulation mechanism, process optimization, catalytic model, the relationship between specificity and molecular structure of the substrate, kinetics on surface reaction, macro-controlling on fat hydrolysis, and the coordination of enzyme and surfactant, etc, were discussed.

目 录

一、概 述

第一章 一个颇有科研和实用价值的酶种——

微生物脂肪酶 1

1. 1、脂肪酶的研究史 2

1. 1、1、脂肪酶的酶学研究 2

1. 1、2、产酶微生物的调查及酶的生产 5

1. 1、3、脂肪酶的应用 7

1. 2、立题背景及课题目标 10

二、脂肪酶的微生物学研究

第二章 中性脂肪酶产生菌白地霉的选育 21

2. 1、材料与万法 21

2. 2、结 果 23

2. 2. 1、中性脂肪酶产生菌的分离 23

2. 2、2、7203 菌株生长性状 24

2. 2、3、7203 菌株脂肪酶合成的控制因素探讨 25

2. 2、4、诱变育种 29

2. 2、5、GB5017 菌株发酵条件优化 30

2. 3、讨 论 34

第三章 耐碱性脂肪酶产生菌细菌的选育 38

3. 1、材料与万法 38

3. 2 结 果 40

3. 2. 1、碱性脂肪酶产生菌的分离 40

3. 2. 2、8013 菌株脂肪酶合成的控制因素探讨 43

3. 2. 3、诱变育种 44

3.2.4、BB84 菌株发酵条件优化	47
3.3、讨 论	51
第四章 耐碱性脂肪酶产生菌青霉菌的选育	57
4.1、材料与方 法	57
4.2、结 果	58
4.2.1、4041 菌株的形态特征及发酵基础培养基 的确定	58
4.2.2、4041 菌株脂肪酶合成的控制因素	59
4.2.3、4041 菌株的诱变育种	63
4.2.4、PB227 菌株发酵工艺条件的优化	63
4.3、讨 论	77
三、脂肪酶的生物化学研究	
第五章 不同来源脂肪酶的催化反应性质比较	85
5.1、材料与方 法	87
5.2、结 果	90
5.2.1、主要环境因素对酶催化性能的影响	90
5.2.2、底物特异性	92
5.2.3、酯合成作用	104
5.2.4、脂肪酶的催化反应机制	105
5.3、讨 论	106
第六章 青霉脂肪酶的纯化及纯化酶特性	114
6.1、材料与方 法	115
6.2、结 果	119
6.2.1、青霉脂肪酶的纯化	120
6.2.2、青霉脂肪酶的蛋白质化学性质	122
6.2.3、青霉脂肪酶的酶学性质	125

6.3、讨 论	131
四、脂肪酶的应用研究	
第七章 脂肪酶在油脂水解上的应用	138
7.1、材料与万法	142
7.2、结 果	147
7.2.1、三种微生物脂肪酶对不同类型的油脂的水解	47
7.2.2、水解过程主要条件的优化	151
7.2.3、组合酶系统的水解	156
7.2.4、油脚的酶法水解	159
7.2.5、油脂酶法水解中其它影响因素的探讨	159
7.3、讨 论	163
第八章 脂肪酶在洗涤去污上的应用	171
8.1、材料与万法	172
8.2、结 果	178
8.2.1、脂肪酶去除油污效果	178
8.2.2、脂肪酶浓度对茶油污去除率的影响	178
8.2.3、表面活性剂浓度对茶油污去除率的影响	180
8.2.4、洗涤液PH的影响	180
8.2.5、洗涤温度的影响	180
8.3、讨 论	181
五、总 结	187
六、致 谢	189

一、概 述

第一章 一个颇有科研和实用价值的酶种

——微生物脂肪酶

著名的法国科学家、生理学家 Claude Bernard⁽¹⁾在 1849 年描述过一种现象：把胰汁与橄榄油或奶油在 30—40°C 混合时，这些油很快发生化学改性并被乳化，他随后证实了产物是脂肪酸和甘油，这是关于脂肪酶的早期报导。18 年后 Kuhn e 命名这酶为 Lipase（脂肪酶）。对脂肪酶的较确切的定义是本世纪 70 年代才提出的；Brocknerhoff⁽²⁾规定脂肪酶为水解长链脂肪酸酯或能水解油酸酯类的酶；随即发现此定义对脂肪酶与酯酶的区分太粗。Huang⁽³⁾定义脂肪酶是一类催化特殊类型的酯键即甘油三酸酯的酯键水解的酶；或者从催化作用的可逆性考虑为与高级脂肪酸和三元醇（甘油）形成的甘油三酸酯的分解与合成有关的酶⁽⁴⁾；或简言之脂肪酶是催化油脂水解的酶的总称⁽⁵⁾。按照国际生化联合会的命名分类原则，脂肪酶编号 EC3.1.1.3 系统名 Triacylglycerol acylhydrolase。

尽管脂肪酶⁽⁶⁾的发现已有一百多年历史。脂肪的重要性也可与碳水化合物、蛋白质成鼎立之势，但由于脂肪酶作用的底物是非水溶性的，反应处于非均相体系中，结果较难分析，从而对它的研究和生产远落后于作用于碳水化合物的酶类。以世界酶产量看⁽⁶⁾，1981 年蛋白酶占工业酶制剂的 60%，碳水化合物酶占 28%，脂肪酶只占 3%。我国脂肪酶的年产量仅在 50 吨左右，占工业酶制剂产量的 0.3% 左右。但伴随着一些关键性问题的解决和阐明，应用领域的开拓，脂肪酶的研究工作进入了盛期，引起了世界上许多国家科学家的兴趣。

1.1. 脂肪酶的研究史

脂肪酶的研究可就脂肪酶的酶学研究、产酶微生物调查及酶的生产、和酶的应用等三个方面来讨论。

1.1.1. 脂肪酶的酶学研究

脂肪酶的酶学研究大致上包括酶的基本性质、底物特异性、催化反应性质、酶蛋白结构和功能等几个层次的工作。

脂肪酶的基本性质。如 opt pH 、 Opt T 、 pH 稳定性、热稳定性、分子量、等电点，都随酶的来源不同而有相当大的差异。许多微生物的脂肪酶的最适 pH 处于中性附近，但也有报导最适 pH 处于 5.0，或处于 9.0 的⁽⁷⁾。最适 pH 范围与微生物所属种属之间没有明显的规律性关系。有人报道细菌对环境的适应能力较强。在碱性条件下培养时可能产生对于较高 pH 有一定耐性的脂肪酶⁽⁸⁾。真菌脂肪酶的最适温度一般在 $25-35^{\circ}\text{C}$ 。热稳定性在 55°C 以下。而细菌产生的脂肪酶往往具有较高的耐热性。如荧光假单胞菌脂肪酶最适温度 60°C 。在 70°C 保持 5 小时仍残留活性 86.2%⁽⁹⁾。甚至有报道耐热性假单胞菌产生的脂肪酶在 100°C 保持稳定⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾。分子量的差异更是惊人。一般在 20,000—⁽¹²⁾ 60,000 的范围内，但也有报导高达 2000 万以上的脂肪酶。脂肪酶性质研究中最重要且实用意义大的是它的底物特异性。不同来源的脂肪酶对于不同油脂的水解能力、水解方式均有所不同。若井⁽¹³⁾报导了由四弧青霉 (*penicillium cyclopium*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、德氏根霉 (*Rhizopus delemar*) 和白地霉 (*Geotrichum candida*) 四种真菌所产脂肪酶对于不同的单一脂肪酸组成的甘油三酸酯水解活性的比较。表明四弧青霉对于短链脂肪酸甘油酯的作用活性要比对长链的高。黑曲霉、德氏根霉脂肪酶对中等长度 (C_8-12) 的甘油酯作用

活性高。白地霉脂肪酶则特异地最适作用于三油酸酯。

Marks⁽¹⁴⁾则发现白地霉脂肪酶作用于 $\omega-9$, $\omega-9$, 13不饱和脂肪酸。对 $\omega-9$ 以外的脂肪酸酰基水解能力很弱。Suh-iura⁽¹⁵⁾在研究粘质包杆菌时发现。温度对脂肪酶的底物特异性有影响。30℃时对 C_{10} 甘油酯作用强。60℃对 C_{16} 甘油酯的水解最迅速。存在温度较高脂肪酸特异性向碳链增长的万向移动的趋势。Alford⁽¹⁶⁾报道了类似的现象。在0℃以下水解猪油时比起在较高温度要释放不饱和脂肪酸。由此看来底物特异性不仅取决于底物分子的化学结构。与乳化液或其它表面的物理性质。温度等也有关系。脂肪酸链长度特异性的区分可用三丁⁽¹⁷⁾甘油酯和橄榄油作为两个标准底物。由水解结果来分析。位置特异性是指酯对油脂 α 位与 β 位脂肪酸的水解速率的差异。早就知道胰脂肪酶具有对三甘油 α 位作用的位置特异性。奥村⁽¹⁷⁾等用三油酸甘油酯。1,3-和1,2-二油酸甘油酯分别作为底物比较了四种脂肪酶的作用位置特异性。发现黑曲霉和德氏根霉脂肪酶并不作用于三油酸甘油酯的 β 位。也不再发生自发异构反应。而白地霉。圆弧青霉脂肪酶能水解三油酸甘油酯的所有酯键。脂肪酶的这两方面特异性是相互独立的。虽然有人⁽¹⁸⁾提出一种所谓特殊的位置特异性。指白地霉脂肪酶对于 $\omega-9$ 不饱和酰基优先水解而不拘其所处位置的现象。位置特异性可由脂肪酶催化三油酸甘油酯与棕榈酸进行分子间酯化反应来确定⁽¹⁹⁾。三棕榈酸酯的产生表明位置特异性。而没有三棕榈酸酯出现就表明具有1,3位置特异性。三甘油酯组成可在高压液相色谱反相柱中分析。此外。脂肪酶还有其它一些特异性⁽²⁹⁾

脂肪酶除了催化脂肪的水解反应以外。同时能催化脂肪酸与甘油的合成反应。这是在获得黑曲霉脂肪酶的结晶后才得以确证

(20) 的，可以设想在可逆反应 $TG + H_2O \rightleftharpoons DG + FA$ 中存在某一平衡点，随水量增加而正反应趋于完全，随 FA 释放浓度提高而受抑制，反之逆反应速度则随脂肪酸浓度提高而加快，不断除去体系中水份可使合成反应趋于完全。脂肪酸对某些来源的酶的钝化作用可因添加蛋白质或适宜的缓冲液而避免。(21) 酯合成反应中同样表现出脂肪酶的各种底物特异性。具有位置特异性的酶的合成产物为 1,3-二甘油酯，无位置特异性的酶才合成三甘油酯；某些酶除能合成三油酸酯以外，也能合成马来酸、琥珀酸、芳香族的苯甲酸、苯乙酸三甘油酯。但有些酶则只能合成长链脂肪酸的甘油酯；醇的特异性更能揭示某些本质。几种脂肪酶均能催化油酸与许多种伯醇的酯化，但仅白地霉脂肪酶可催化合成仲醇的油酸酯。叔醇、酚的酯均不能催化合成。乙二醇、丙二醇浓度足够高时也能催化成酯。(22) 因此，不同脂肪酶水解油脂时不同的时间过程的起因在于脂肪酶在底物特异性上的各种差异，水解过程中可逆反应速率的差异及对部分甘油酯的反应性的差异。

许多科学家试图从三甘油酯中三个酰基在油水界面上的排列方式来说明位置特异性。由三个酰基的空间障碍造成取向不同而被水解的难易程度不同，然而关键还在于酶本身。脂肪酶的所有性质与其分子结构有关。岩井²³、24 报导由德氏根霉培养液按调节 pH 4.5 沉淀，上清 65℃ 加热 10 分钟失活。存活可划分 A、B、C 三种组分，发现其比例能随所用碳源、氮源不同而发生变化。B 与 C 在许多性质上类似，比例不同与环境中的磷脂有关。用卵磷脂等对 C 进行修饰可使酶活提高达 110 倍(25) 并伴随着等电点、圆二色谱等的变化。这种修饰作用是可逆的。(26) 卵磷脂的存在可能抑制脂肪酶—辅脂肪

酶催化三羧甘油酯的水解作用 (27)。脂肪酶的催化部位可能因卵磷脂的结合而发生局部的结构变化 (28)。采用化学修饰的方法, 杉原等已经确定白地霉脂肪酶的活性中心中组氨酸、酪氨酸及羧基是必需的基团 (30-32)。采用同晶取代法, 经 X-射线衍射获得电子密度图, 已经确定白地霉脂肪酶的分子模式, 呈椭圆形, 直径 $70 \times 50 \times 50 \text{ \AA}$, 中心部位存在长 $20 \text{ \AA}$ 的凹下区域, 该区域与催化活性有关 (33)。

虽然在结构与功能方面的研究上已有这些突破, 脂肪酶的性质研究总的还是落后于其它酶, 其原因在于纯化的困难。许多研究人员发现纯的脂肪酶很不稳定, 容易在短期内失去活性。但随着分离技术和材料的发展, 现在进行酶的纯化已经不是很困难的了, 除了采用常规的盐析、有机溶剂沉淀、离子交换色谱、凝胶过滤色谱等手段已取得多种不同来源的脂肪酶的纯化的成功外, 利用含 2, 2-二(4-环氧丙基羧基苯基)丙烷和聚乙烯醇的硅胶作为高亲和性吸附剂进行亲和色谱法纯化脂肪酶 (34), 利用疏水性 Octyl-Sepharose CL4B 疏水色谱法纯化盐析后的粗酶 (35) 均得到高效率的高纯度酶。

1.1.2. 产酶微生物的调查及酶的生产

脂肪酶首先在动物的胰脏分泌液及其它器官中发现, 与体内脂类的代谢输送等有关。接着在植物种子中也发现脂肪酶的存在。对于油料种子发芽时分解油脂类物质产生糖分供生根发芽所需的养料和能量是必需的 (36)。而微生物脂肪酶则是从食品受微生物污染后发生脂肪成分分解性变质现象开始研究的。

丝状真菌脂肪酶的研究较早, 已见报导的有解脂毛霉 (37), 黑曲霉 (17), 德氏根霉 (38, 39), 米根霉 (40), 华根霉 (41), 雪白根霉 (42), 匍匐根霉 (43), 日本根霉 (44), 白地霉, 圆弧青

霉 (45, 46) 闪光须霉 (47) 腐质霉 (48) 等。其它微生物有柱状假丝酵母 (49) 拟解脂假丝酵母 (50) 丝孢酵母 (51) *pichia acaciae* (52) *Bacillus stearothermophilus* (53) *Syncephalastrum racemosum* (54) 粘质色杆菌 (55) 紫色色杆菌 (55) 荧光假单胞菌 (9) 阿氏假丝酵母 (56) 弧形假丝酵母 (57) 产碱菌 (58) 等。世界上几家产脂肪酶的主要公司大多使用柱状假丝酵母, 我国目前使用的是解脂假丝酵母 (59)。

脂肪酶的发酶活性很少见报导。从一些条件试验及纯化原液测得的酶活性一般在几十单位。如白地霉 65.66 u/ml, 黑曲霉 21.36 u/ml, 圆弧青霉 85.54 u/ml, 粘质色杆菌 4.0 u/ml, 阿氏假丝酵母 13.3 u/ml, 也有高至 300 多单位的。大多资料中以酶粉活力出现。这可能反映出发酵的不稳定性。国内解脂假丝酵母中试鉴定发酶酶活为 1200 u/ml, 目前实际生产在 700 u/ml 以下, 有关脂肪酶产生菌的选育改良的文献均只谈土壤等环境的筛选。一般采用三丁甘油酯透明圈法, Yech (60) 提出使用对一硝基苯基辛酸酯于平板, 脂肪酶分解它可产生对一硝基酚的黄色圈, 改良的常规方法及效果未见报导。近年关于脂肪酶基因工程成功的已见报导。Goetz-rich (61) 将 *Staphylococcus hyicus* 的脂肪酶基因的完整序列克隆到 *S. carnosus* 和 *E. coli* 中, 并在两个寄主中得以表达; Odera (62) 则利用质粒将 *Alcaligenes denitofaciens* HIRO-B 的脂肪酶基因转化进入 *E. coli* JAz21 菌株。据说获得的菌株能产生大量脂肪酶, 由此看来采用遗传工程改良脂肪酶产生菌已经开始了。

对于脂肪酶的合成有关的调节机制探讨最多的是酶的诱导产生及受抑制的问题。岩井 (63) 在对白地霉产酶条件试验中发现, 米糠对于白地霉脂肪酶的产生是必要的, 蛋白胨、玉米浆等有机氮源不能代替米糠, 对米糠中起作用的成分试验发现热水抽提液是无效的, 碱提液和醚提液则同样有效, 从而得到需油脂的启示, 用油脂代替米糠获得良好结果, 高级脂肪酸如油酸、亚油酸也能起良好的诱导作用, 而 C_8 饱和酸则无此作用, Jinnosuke (55) 报导动物油、植物油对产色杆菌脂肪酶形成有诱导作用, 油的最适用量为 0.5—5%。相反,

Eitenmiller (64), Chander (65) 报道了青霉菌在培养基中存在油时生长和产酶均受抑制。组分不同的油脂对白地霉生长和产酶的抑制效应不同, 奶油抑制达 55.5%,

葵花籽油仅抑制 23.8% (66), 猪油、油酸钠等对假单胞菌脂肪酶的产生和活性的抑制作用能因加入二价阳离子, 吐温等而防止 (67)。

底物类似物如吐温 20, 80, 脂肪酸与 C_{1-6} 的醇形成的酯等也能产生诱导作用 (68, 69)。

脂肪酶发酵工艺条件中葡萄糖之类碳源的降解物阻遏作用 (66, 69) 或增进作用 (70), 碳氮比对微生物酶系的影响 (71) 通风及表面活性剂的作用 (72, 73) 均受到极广泛的注意。

1.1.3. 脂肪酶的应用

脂肪酶应用的基础在于它对油脂水解, 酯合成及酯交换反应的催化作用 (77, 78)。

酶法生产脂肪酸具有条件温和设备投资低, 能耗少, 产品质量高等优点, 许多研究人员对于水解工艺条件进行了广泛的研究, 包括多段水解, 乳化液回用, 添加无机盐或二价金属氢氧化物, 融化脂肪与酶混合乳化, 不同特异性酶组合水解 (74)

等等。日本Miyoshi公司以此法生产脂肪酸制造高档粉末肥皂，水解程度已达92% (75)。用氮气保护或添加伯醇保护的方法由鱼油生产高度不饱和脂肪酸如C_{20:4}、

C_{20:5}、C_{20:6}作为制造前列腺素等的重要原料更有吸引力 (76)。而应用酶工程技术进行固定化酶柱或膜进行批式、连续式油脂水解更为酶法水解展开了前景。

酶催化油脂水解作用还可用在食品、日用化工、化工合成发酵、制库、临床分析、废水处理等许多领域。酶法制造食品增香剂可克服化工合成法产品风味不纯正、不安全的缺点。利用脂肪酶部分分解牛乳，可获得比奶油香味强许多倍的人造黄油制品 (79)。在乳酪生产中脂肪酶的作用使C₂₋₁₀酸含量提高，乳酪具有浓郁的美国乳酪香味。与普通乳酪进行不同配合可获得意大利乳酪等各种风格的产品 (80)。岩井等人 (81, 82) 对酶的使用和选择进行了研究摸索。酶制剂用于洗涤剂添加可达到降低洗涤温度，减少磷酸盐的环境污染，适应化纤类制品不耐热的特点等效果 (83)。衣物污垢中脂质是蛋白质的4~9倍，添加脂肪酶对提高去污效果肯定有效的 (84)。脂肪酶的不对称水解能力也被用于除草剂、抗植物激素、抗植物生长剂化工合成中外消旋混合原料（卤代脂肪酸酯）的光学拆分 (85)。大米、玉米硬渣之类酿酒原料中即脂肪成分会造成酒味不正，甚至恶臭，添加脂肪酶可使产品芳香大大提高，分解产生的甘油给酒以粘稠及口味平衡，脂肪酸则在发酵中形成芳香性酯类 (86, 87)。选用对β位酯键毫无作用，自动酰基移位反应不能进行，且对各种脂肪酸均能水解的脂肪酶，如德氏根霉脂肪酶 (88)，可用于油脂结构的分析。而临床使用脂肪酶处理血样测定血中中性脂含量即方法比化学法迅速简便。结果