

微生物酶

郭杰炎 蔡武城 编著



生物学基础知识丛书

科学出版社

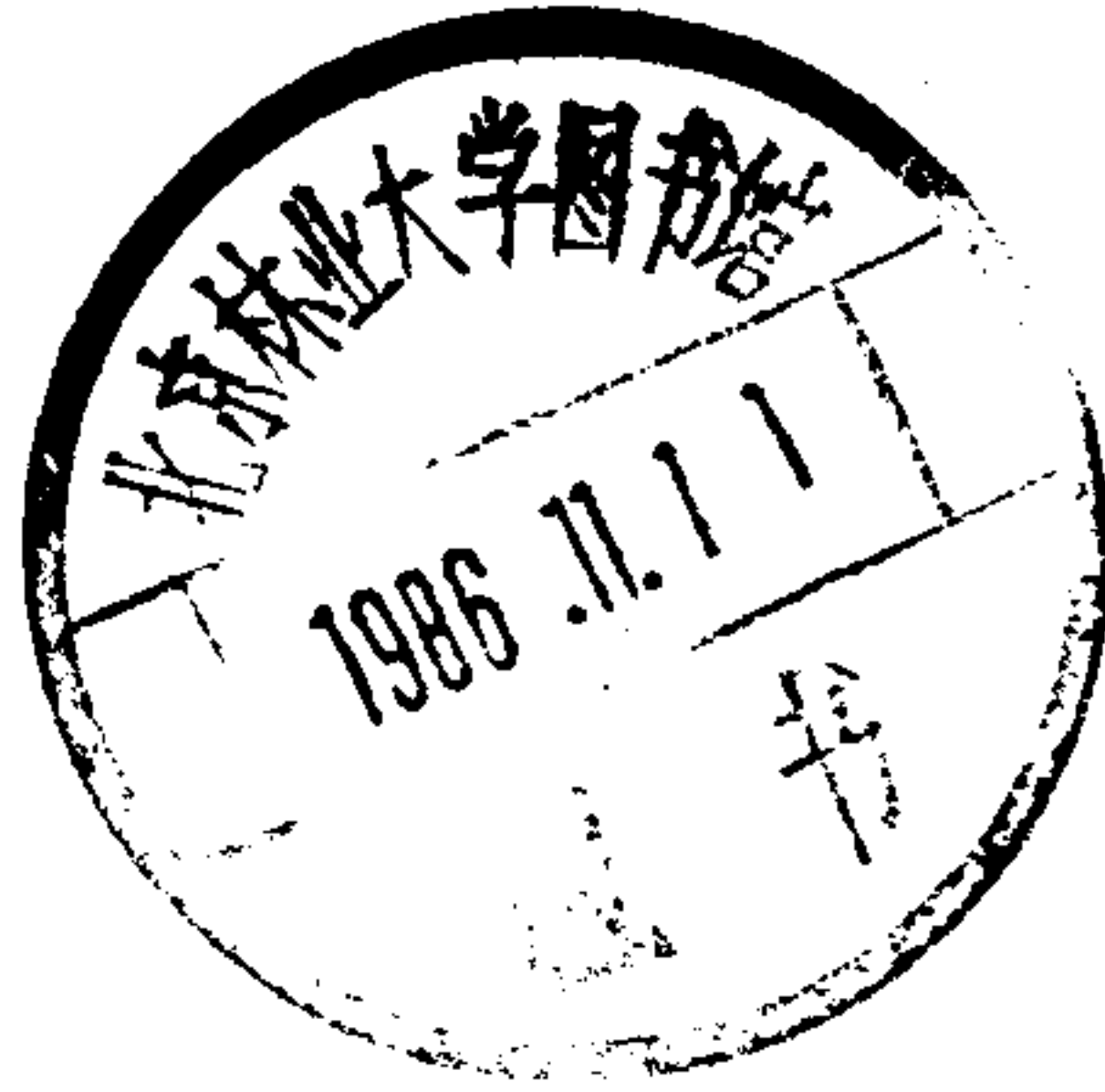
生物学基础知识丛书

微生物酶

郭杰炎 蔡武城 编著



北林图 A00061315



科学出版社

1986

371807

内 容 简 介

微生物是各种酶的丰富来源。本书主要介绍微生物是如何产生酶的,微生物酶的化学性质、分类,微生物酶的生产 and 应用,以及微生物的生物转化等。并附有工业用酶制剂的活力测定方法。

本书可供中等以上文化水平的读者阅读。

生物学基础知识丛书

微 生 物 酶

郭杰炎 蔡武城 编著

责任编辑 王伟济

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1986 年 10 月 第 一 版 开本: 787×1092 1/32

1986 年 10 月 第一次印刷 印张: 8 3/8

印数: 0001—5,000 字数: 162,000

统一书号: 13031·3306

本社书号: 5236·13—9

定 价: 1.55 元

序

勤劳勇敢的祖国各族人民，正怀着热切的心情和必胜的信念，团结在中国共产党的周围，为加速实现四个现代化而进行新的长征。在这个极不平凡的历史新时期，大力提高整个中华民族的科学文化水平具有重大的现实意义和深远的历史意义，是当前全党和全国人民的紧迫任务。为此，科学出版社组织编辑了各种自然科学基础学科的普及丛书，《生物学基础知识丛书》就是其中之一。

生物学是研究生命的科学。这一门规模宏伟、内容丰富的自然科学，近二三十年来得到了蓬勃的发展，使得它的地位越来越突出。生物学的许多新成就已经或正在引起农业、医疗卫生、工业和国防建设发生巨大的变革。由于生物学与其它一些科学互相结合、互相渗透和互相促进，衍生出许多新的分支学科，并已深入到分子和量子水平，探讨生命现象的内在规律，证明生命活动的物质性。因而，不难预料，生物学将成为认识自然、改造世界、推动国民经济和人类健康事业的强大武器，将为整个人类社会的进步作出更大的贡献。

我相信，《生物学基础知识丛书》的出版将有利于生物科学知识的进一步普及和提高，将使更多同志掌握和利用生物科学，从而在自己工作中作出更大的贡献，也将有利于培育富

有创造性的新一代生物学家。衷心希望这套丛书为加速实现祖国四个现代化增添应有的力量。

贝时璋

前 言

酶是生物催化剂，微生物是各种酶的丰富来源。数千年前，人类在生活实践中就已经不自觉地利用微生物酶来制造各种食品了。对酶的本质、特性和作用机理的研究则是近一百多年来的事。研究酶的结构和特性、酶与新陈代谢的关系、酶与发酵的关系以及酶与代谢调控和基因调控的关系，促进了生物化学、遗传学和微生物学的发展。与此同时，微生物酶的生产进入工业化规模，应用的范围越来越广。目前，轻工、食品、医药和日用化学等生产部门都已广泛应用各种微生物生产的酶。固定化酶和固定化细胞新技术的应用，使酶工程成为生物工程的四大支柱之一。核酸酶的发现和应用，促进了 DNA 重组技术的发展，它已成为分子生物学和基因工程研究中的重要工具。现在已经应用的酶种类还不够多，尚有不少种类的酶有待深入研究和开发，以造福人类。本书仅就上述某些方面作概要介绍，希望能对读者的进一步深入学习和研究有所帮助。限于我们的水平，错误和缺点在所难免，欢迎读者给予批评、指正。

在编写过程中，得到有关同志的热情帮助。胡学智高级工程师认真审阅了书稿，提出了许多宝贵意见。在此一并致

以衷心谢意。

编著者

1984年5月

期 限 表

请于下列日期前将书还回

《生物学基础知识丛书》

微生物学编委

编委 (按姓氏笔画排列)

门大鹏

方 纲

李季伦

周家炽

胡济生

秦含章

钱存柔

371807

目 录

第一章 微生物酶研究的发展概况.....	1
一、历史回顾	2
二、近代发展概况	4
三、微生物酶的特点	9
第二章 微生物酶的产生.....	13
一、从 DNA 到酶蛋白	13
二、酶蛋白合成的调控	20
三、微生物细胞能产生多少种酶	28
第三章 酶学基础.....	30
一、酶的化学本质	30
二、酶的催化特性	41
三、酶的作用原理	48
四、酶的分类和命名	60
五、酶的辅助因子	62
六、多酶体系的自我调节	65
第四章 微生物酶的发酵生产.....	71
一、寻找优良的产酶菌种	71
二、酶的发酵生产	78
三、提高酶发酵产量的措施	101
第五章 微生物酶的分离和纯化.....	105
一、提取酶的一般流程	105

二、酶分离提取的实施方案	107
三、酶的纯化方法	118
四、酶分离纯化的回收率与纯化倍数	137
第六章 工业上常用的微生物酶	140
一、淀粉水解酶类	140
二、蛋白水解酶类	150
三、葡萄糖异构酶	158
四、纤维素酶	162
五、葡萄糖氧化酶	166
六、青霉素酰化酶	168
第七章 固定化酶和固定化细胞技术	172
一、固定化酶	174
二、固定化细胞	181
三、固定化酶和固定化细胞的应用	184
第八章 微生物的生物转化	188
一、什么是生物转化	188
二、甾体化合物的生物转化	191
第九章 微生物酶的应用	213
一、微生物酶在食品工业中的应用	214
二、微生物酶在日用化学、纺织、皮革、毛皮工业方面的应用	216
三、微生物酶在医疗保健方面的应用	217
四、微生物酶在化学分析和生物传感器方面的应用	220
五、微生物酶在生物工程方面的应用	224
附录: 几种工业用酶制剂的活力测定方法	239

第一章 微生物酶研究的发展概况

人们都有这样的体验,米饭或馒头在口中咀嚼的时候,会逐渐感到甜味,咀嚼时间愈长,甜味也就愈明显。但是,若将馒头或米饭放在水里浸泡一段时间,是否也会产生甜味呢?

显然,回答是否定的。

这是什么原因呢?

究竟唾液与水有什么不同? 唾液中存在什么神秘的物质?

这是因为唾液中含有一种叫做“淀粉水解酶”的物质,它能够将米饭或馒头中的淀粉分解变成麦芽糖和葡萄糖,从而产生甜味。当然,在口中咀嚼的时间愈长,麦芽糖、葡萄糖也愈多,甜味自然也愈加明显。

那么,淀粉水解酶究竟具有什么特性的物质呢? 这还得从“酶”说起。

酶是蛋白质,是细胞产生的生物催化剂,它能够使生物体内发生各种各样的化学变化。无论是动物、植物等高等生物的体内,或者是细菌、真菌、藻类等低等生物的细胞中,在它们的生长发育、呼吸、吸收、排泄和繁殖衍生等新陈代谢时所进行的一切生物化学变化,几乎都是在酶的催化下发生的。动物的千姿百态、植物的绚丽多彩和微生物的“神通广大”,生物

界的这些令人神奇而又难以思议的景象，都是与酶的作用分不开的。我们可以毫不夸大地说，没有酶也就没有生命。

一、历史回顾

人们真正认识酶的性质和功能只有百年的历史，但是人类在日常生活和生产中利用酶类，却可追溯到距今三、四千年前的古代。从我国出土文物中发现，龙山文化时期，酒已盛行，殷墟的青铜器、陶器中，有不少是盛酒用的樽、筭、盃、高脚杯和小壶等酒器，说明我国人民早在公元前二十二世纪就已经知道利用酵母进行发酵制酒。酒是酵母发酵的产物，是微生物细胞内的酶作用于淀粉的结果。我国古书《书经》中有“若作酒醴，尔惟麴蘖”的记载，就是说，你要酿酒和甜酒，必须使用麴和蘖，麴是长霉的谷物，蘖是谷芽，两者都含有丰富的淀粉酶，可使淀粉转化为可发酵的糖类。这说明当时已经知道利用谷类的种子制作麴来进行制酒。

古埃及人在公元前二千年也已经利用麦芽制造啤酒。游牧时代的人们就开始以小牛胃液作为乳的凝固剂制造干乳酪，实际上这是利用了胃液中的凝乳蛋白酶。在我国春秋战国时期，酱已成为人们饮食的调味品。《论语》说“孔子不得其酱不食”。从现代观点看，制酱的过程实际上主要是利用霉菌蛋白酶（也包括其他酶类）分解豆类蛋白质的结果。此外，利用麦芽制作饴糖、酿醋，这些都是与微生物酶作用有关的活动，在我国早已有之。

人们对发酵产物的利用和自然界中存在的各种发酵现象，直到十九世纪才引起科学家的兴趣和探索。化学家和生物学家都在思考和研究为什么会产生发酵现象，引起糖变成酒精的原因是什么？是一种化学变化抑或是生物在起作用？这是上一个世纪科学家们争论的问题。

十九世纪初，普兰奇（Planche）发现从植物根部中提取的一种制剂，能溶于水但不耐热，并且有使愈疮木酞变蓝色的能力，这是首次从生物体中提取的粗酶制剂。1883年，佩延（Payen）和珀索茨（Persoz）从麦芽中提取出淀粉酶，施旺（Schwann）从动物胃中获得蛋白酶制剂。法国著名的微生物学家巴斯德（Pasteur）发现青霉菌只能分解外消旋酒石酸中的右旋成分，而左旋的则不受影响。这实际上是最早观察到酶作用的立体专一性；尽管当时人们还没有“酶”这个概念。

十九世纪中叶，对于发酵的认识还十分肤浅，把自然界产生气泡的现象都归之于发酵。认为酒的制造是一种发酵过程，因为这个过程能产生气泡（二氧化碳）。以李比希（Liebig）为代表的化学家认为发酵是一种无机化学过程，它与任何生物的活动无关。糖降解变成酒精和二氧化碳是一种无生命物质作用的结果。盖·吕萨克（Gay-Lussac）提出了著名的发酵方程式：



但是，生物学家则认为发酵是酵母所引起的，是活的生物作用的结果。巴斯德是最早把发酵与生物细胞联系起来的人之

一，但他认为只有完整的活细胞才能完成这一过程。后来由于德国学者巴克纳（Büchner）兄弟发现磨碎的酵母细胞或无细胞酵母抽提液也能和酵母活细胞一样，将糖转变成酒精和二氧化碳。这样才把争论统一起来。当时认为引起发酵的是酵母细胞中一种叫酵素的物质，现在称为酶。把引起酒精发酵的酵素称为酒化酵素。现在知道，酵母细胞中并不存在一种所谓酒化酵素，引起糖发酵形成酒精的是一系列酵素作用的结果。认识到发酵作用可以离开活的细胞而由酵素所引起，这无疑在思想认识上是一个极大的飞跃。

由于发酵与酵素的英文都是“Ferment”一词，为了避免“Ferment”这个具有双重意义词在使用时引起混乱，1876年德国人库尼（Kühne）首创“酶”（Enzyme）一词，从构词法看，这个词来自希腊字的 En(=in, 在)和 zyme(=yeast, 酵母)，即酶者（Enzyme），在酵母之中也。可见从“酶”字的创立开始，酶就与微生物紧密地相连在一起。

“Enzyme”一词中文翻译为“酶”，我国古书将酶解释为“酒本曰”，指出酶是制酒之本，又云：酶与媒二者音同，酶与媒通用，指它的功能是起着一种“媒介”作用。说明我国古代对酶的性质与作用已有相当的认识。

二、近代发展概况

酶制剂在工业上的应用和微生物发酵工业技术的不断发展，有力地推动着微生物酶的开发和利用。现代酶工艺的历

史开始于 1874 年,丹麦人汉森 (Hansen) 用盐溶液从牛胃中抽提凝乳酶。十九世纪末开始利用麦芽糖化淀粉供酵母发酵生产酒精。1894 年日本人高峰让吉利用米曲霉生产商品酶制剂高峰淀粉酶作为消化药物,开创了微生物酶制剂的工业化生产。1907 年德国人罗姆 (Röhm) 用胰脏提取物作为皮革脱毛剂,后来法国博伊登 (Boidin) 以枯草杆菌生产细菌淀粉酶,产品用于棉纺织品的退浆。由弗莱明(Fleming)发明的第一个抗生素青霉素而建立起来的抗生素发酵工业,在第二次世界大战后得到飞跃的发展,微生物的培养技术、发酵工艺和设备都有了根本性的革新,深层通气液体发酵技术的广泛应用,揭开了近代工业发酵的序幕。1949 年开始用深层培养进行细菌淀粉酶的生产,六十年代初日本利用淀粉酶和糖化酶糖化淀粉,确立了酶法制造葡萄糖,促进了淀粉糖工业的大发展。蛋白酶在食品加工、皮革脱毛、皮毛软化和医药方面有着广泛的用途,特别是洗涤剂中加入蛋白酶后,洗涤效果显著提高,深受消费者欢迎。七十年代利用葡萄糖异构酶将葡萄糖转化为果糖,为开辟新的糖源找到一条切实可行的途径。由于微生物酶在工、农、医各个领域的应用都取得良好的效果,使各国都竞相寻找和筛选各种各样高效的微生物来生产酶。近年来迅速发展的固定化酶和固定化细胞,被称之为第二代酶制剂,它使酶的使用效率有了进一步的提高,也给予微生物酶的发展赋予更大的生命力,成为生物工程中的组成部分。

生物化学的发展,人们愈来愈深刻地认识到酶在生物机体代谢中的重要意义;各种代谢途径的阐明,进一步了解酶在



北林图 A00061315

371807

• 5 •

体内的具体作用。本世纪以来，对酶的基础理论开展了广泛深入的研究，1926年美国萨姆纳（Sumner）成功地从刀豆种子中提纯脲酶并获得结晶，这是第一个获得结晶的酶，它不仅弄清了酶的化学本质是蛋白质，而且奠定了现代酶学和蛋白质化学的基础，萨姆纳因此获得诺贝尔奖。从此，酶学作为现代生物化学的一个重要组成部分而受到重视。近半个世纪来提纯结晶的各种酶达100多种。利用各种结构分析技术，如X射线衍射、高分辨率电子显微镜、电子计算机等研究了多种酶的空间结构，提出蛋白质多级结构的理论；利用快速测定酶活力的技术，结合酶的抑制剂、激活剂和化学修饰等方法，研究了酶反应动力学、酶的作用机制、酶的活性中心等有关酶的结构与功能的问题，提出了相应的模型和理论。对蛋白质生物合成、核酸生物学意义和基因的深入了解，对酶在生物体内作用和酶的生物合成及其调控机制的进一步认识，特别是蛋白质合成和乳糖操纵子学说的创立，这些对于提高微生物酶的生产都具有重大的现实意义。

总之，随着现代生物科学，特别是生物工程的发展和工农业生产需要，酶，主要是微生物酶在工农业生产、医疗保健、化学分析、环境保护，以及基因工程、分子生物学等方面的应用愈来愈广泛而深入（表1-1）。因此，近年来酶制剂生产已成为发展国民经济不可缺少的一部分。

与微生物酶在工业上应用密切相关物质的生物转化，如甾体化合物的微生物转化，于五十年代后期也蓬勃发展，现在，生物转化的方法已成为甾体激素、氨基酸、半合成抗生素、

表 1-1 微生物酶的应用概况

酶的名称	产酶微生物	用途
α -淀粉酶	枯草杆菌、米曲霉、黑曲霉	织物退浆,发酵工业淀粉液化,消化剂
β -淀粉酶	巨大芽孢杆菌、多粘芽孢杆菌	制造麦芽糖
糖化酶	根霉、黑曲霉、红曲霉、内孢霉	制造葡萄糖,发酵、酿造工业的糖化剂
异淀粉酶	假单胞杆菌、气杆菌属	制造麦芽糖、直链淀粉
纤维素酶	绿色木霉、曲霉	消化植物细胞壁,饲料添加剂
半纤维素酶	曲霉、根霉	同上
转化酶	啤酒酵母、假丝酵母	制造转化糖
右旋糖酐酶	青霉、曲霉、赤霉	分解右旋糖酐,防止龋齿,制糖
蜜二糖酶	紫红被孢霉、梨头霉	提高甜菜糖回收率
柚苷酶	黑曲霉	除去桔汁苦味
橙皮苷酶	黑曲霉	防止蜜桔汁混浊
花青素酶	黑曲霉	桃子、葡萄脱色
果胶酶	木质壳霉、黑曲霉	果汁澄清
β -半乳糖苷酶	曲霉、大肠杆菌	分解乳糖
放线菌蛋白酶	链霉菌	制革脱毛,食品加工
细菌蛋白酶	芽孢杆菌、链球菌	洗涤剂,皮革加工,丝绸脱胶,消化,消炎
霉菌蛋白酶	米曲霉、栖土曲霉	皮革、毛皮加工,食品加工,调味品制造
酸性蛋白酶	黑曲霉、根霉、青霉	毛皮软化,啤酒澄清,消化,消炎
凝乳酶	微小毛霉	制造干酪
链激酶	链球菌	清理创口,去血栓
脂肪酶	黑曲霉、根霉、酵母	消化,皮毛软化
核糖核酸酶	黑曲霉、枯草杆菌	试剂
磷酸二脂酶	桔青霉、米曲霉	试剂,降解核酸,制调味品,制药
核酸限制性内切酶	大肠杆菌等	试剂(基因工程工具酶)
核酸连接酶	噬菌体感染的大肠杆菌	试剂(基因工程工具酶)
过氧化氢酶	黑曲霉、青霉	去除过氧化氢