

土壤酶学

周礼恺 编著

科学出版社

土壤酶学

周礼恺 编著

科学出版社

1987

内 容 简 介

本书的内容分两部分。第一部分扼要地介绍了有关土壤酶学的酶学基础知识,包括酶的蛋白质结构,酶的性质,酶催化反应的动力学,影响酶催化反应的因素和酶的分类与命名。第二部分则比较全面、系统地介绍了土壤酶学领域中的新近研究成果和国内外有关研究的动态和趋势,内容有土壤酶学的研究简史,土壤酶的种类、来源、存在的状态,土壤酶催化反应的某些动力学特征,土壤酶在土壤过程中的作用,土壤酶与土壤污染,土壤中的重要酶类以及土壤酶活性的测定方法。

本书可供从事农业、微生物等有关的科技工作者及高等院校的教师、研究生和高年级学生参考。

土 壤 酶 学

周礼恺 编著
责任编辑 陈培林

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

1987年5月第一版 开本: 787×1092 1/32

1987年5月第一次印刷 印张: 9 3/8

印数: 0001—2,100 字数: 213,000

统一书号: 13031·3497

本社书号: 4849·13—12

定价: 2.25元

前 言

土壤酶学是土壤科学中新近发展起来的一个分支。

土壤酶的研究是从本世纪30年代开始的。50年代以来，它便得到了长足的发展。这一方面是由于人们利用近代生物化学的成就对于酶的结构、性质和功能等方面有了日益深入的了解同时酶分析方法的不断改进，给了土壤酶的研究以很大的推动；另一方面，更主要的是由于土壤学的发展使人们越来越深刻地认识到：在土壤发生与发育、土壤肥力的形成、土壤净化和生态系统的物质与能量循环等过程中，土壤酶可能起着重要的作用。70年代中期以前，国外土壤酶学研究取得的重要成果，曾在某些学者的著作中得到了一定的反映(Купревич 和 Шербакова, “Почвенная энзимология”, 1966, “Soil Enzymology”, 1971; Burns, “Soil enzymes”, 1978; Хазиев, “Системно-Экологический анализ ферментативной активности почв”, 1982)。近年来，土壤酶的研究不论在深度和广度上又都增添了许多新的内容；我国的土壤酶学工作者亦对此作出了极为有益的贡献。因此，比较全面、系统地总结土壤酶学领域中的迄今研究成果，介绍国内外有关研究的动态和趋势，赋予我国的土壤酶学研究以应有的地位，并借此推动我国土壤酶学研究的进一步发展，应是一件很有意义的工作。

近几年，我的国内、外同行曾惠赠我大量的文献和手稿，并一再建议我编写一本书，供我国有志于土壤酶学研究的同志们参考。他们的真诚支持和鼓励，使我产生了负疚感；也给我增添了进行尝试的勇气。

土壤酶学是介于土壤学和酶学之间的一门边缘学科。考

考虑到我国的土壤酶学工作者多对土壤学有较深的理解而对酶学涉及得较少。故在编写本书时，特在第一部分介绍了酶学的某些基础知识；就酶的蛋白质结构、性质、作用的动力学和影响因素以及分类与命名作了简略的论述。由于酶活性的测定是土壤酶学研究的方法学基础，也由于它将有助于阐明亚细胞水平的酶作用机理和反映类生物体（如土壤）的机能状况，故在该部分也简述了用仪器分析和自动分析的方法测定酶活性的一般原理。在第二部分里，则根据尽可能收集到的资料（专著、综述、论文、手稿等）和作者本人的工作，论述了土壤酶学的发展简史和土壤酶的种类、来源、存在状态与存在部位，作用的动力学特征及在土壤发生与发育、土壤肥力的形成、土壤净化和生态系统的物质与能量循环等过程中的功能。对土壤中广泛存在、具有重要作用、且研究得较多的酶类，亦就其特性和测定方法分别进行了论述。

我希望，本书将有益于正在从事或准备从事土壤酶学研究的科学工作者以及有关高等院校的教师、研究生和高年级的学生。然而，我的浅薄学识和拙笔，使我时时担心这本小书能否真正给读者以哪怕是些微小的助益；也担心它究竟能在多大程度上回报国内、外同行的关切。因此，真诚地期待广大读者、同行和朋友给本书提出批评和建议。但愿我能有机会将本书作进一步的补充和改写，使它不断地臻于完善。

我能写出这本小书，首先应当感谢我的导师陈恩凤先生。我在茫茫学海中的蹒跚学步，一直是在他扶持下进行的。

我要感谢中国科学院林业土壤研究所的同事。在与他们的相互切磋中，使我增长了许多宝贵的知识。

书中插图全由方汝桂同志清绘。

编著者

1984年7月

目 录

前言	(v)
----	-----

第一部分 酶学的基础知识

第一章 绪言	(1)
第二章 酶的蛋白质结构	(5)
第一节 一级结构	(5)
第二节 二级结构	(10)
第三节 三级结构	(14)
第四节 四级结构	(16)
第三章 酶的性质	(19)
第一节 酶的催化效率	(19)
第二节 酶催化的专一性	(22)
第三节 产生酶催化的专一性的原因	(24)
第四章 酶催化反应的动力学	(32)
第一节 酶催化反应动力学的一般概念	(33)
第二节 单底物酶催化反应的动力学	(35)
第三节 多底物酶催化反应的动力学	(54)
第五章 影响酶催化反应的因素	(63)
第一节 pH	(63)
第二节 温度	(65)
第三节 时间	(66)
第四节 抑制剂	(67)
第五节 激活剂	(74)
第六节 变构效应和协同效应	(81)

第六章 酶的分类与命名	(84)
第一节 国际酶学委员会酶类分类与命名方案的主要内 容	(84)
第二节 酶催化反应	(95)
第七章 酶活性的测定方法	(100)
第一节 仪器分析法	(100)
第二节 自动分析法	(108)
第一至七章参考文献	(115)

第二部分 土壤酶学

第八章 土壤酶学的研究简史	(116)
第九章 土壤酶的种类、来源、存在状态和存在部位	(123)
第一节 土壤酶的种类	(123)
第二节 土壤酶的来源	(129)
第三节 土壤酶的存在状态和存在部位	(133)
第十章 土壤酶催化反应的某些动力学特征	(138)
第十一章 土壤酶在土壤形成过程中的作用	(144)
第一节 土壤酶在腐殖物质形成中的作用	(145)
第二节 土壤酶在碳、氮、磷等有机源元素的生物地球化 学循环中的作用	(147)
第三节 土壤酶在保持土壤的生物化学稳衡中的作用	(161)
第四节 土壤酶在土壤的生物地理群落功能中的作用 ..	(163)
第五节 土壤酶在不利于微生物活动的条件下对于土壤 代谢的作用	(164)
第十二章 土壤酶与土壤肥力	(167)
第一节 土壤酶与土壤物理性状	(167)
第二节 土壤酶与土壤化学性状	(176)
第三节 土壤酶与农业技术措施	(180)

第四节	土壤酶与肥力指标·····	(201)
第十三章	土壤酶与土壤污染·····	(209)
第一节	土壤酶与农药污染·····	(209)
第二节	土壤酶与工业废弃物污染·····	(221)
第十四章	土壤中的重要酶类·····	(228)
第一节	过氧化氢酶·····	(228)
第二节	脱氢酶·····	(230)
第三节	纤维素酶·····	(232)
第四节	淀粉酶·····	(234)
第五节	蔗糖酶·····	(237)
第六节	蛋白酶·····	(239)
第七节	脲酶·····	(241)
第八节	磷酸酶·····	(254)
第九节	硫酸酯酶·····	(260)
第十五章	土壤酶活性的测定方法·····	(263)
第一节	一般原则和基本要求·····	(263)
第二节	土壤样本的采集和处理·····	(266)
第三节	酶活性的测定方法·····	(267)
第八至十五章	参考文献·····	(282)

第一部分 酶学的基础知识

第一章 绪 言

酶是一类具有专性催化作用的蛋白质（包括复合蛋白质）。它是由活的生物体合成的。除极少数例外，生物体内的一切化学反应实际上都是在酶的催化作用下进行的。生物的表型(phenotype)，决定于在酶的参与下合成的遗传基因的作用。生物细胞的形态、组织与功能、均受到酶作用的影响。因此，生命的延续与发展，取决于专性酶类催化产生的生物化学反应的复杂网络，而酶作用方式的任何改变，均能对生物体产生深远的影响。

酶学是生物学中新近迅速发展起来的一门学科。它与许多学科，特别是与生物化学、分子生物学、物理化学、细菌学、微生物学、遗传学、植物学、农学、药理学、毒理学、病理学、生理学、医学和化学工程学等有着密切的联系，并在许多重要领域里得到了实际的应用。

酶学发展的早期阶段，可追溯到19世纪初。在此以前，人们很早就感觉到了某种特殊物质的存在并利用了它：我国在周朝民间，就已经用风干磨碎的麦芽粉制饴；古希腊人发明了发酵制酒，在古籍中，还能找到利用该种特殊物质制作乳酪、发酵烤制面包和造醋等的记载。首先发现了酶的，或许是Payen和Persoz。1833年，他们往麦芽的水提出液中加入酒精，沉淀出了一种热不稳定物质，后者能使淀粉转化为糖。这种我们现在称为淀粉酶的物质，被他们命名为淀粉糖化酶

(diastase, 源自希腊文διόσρασις——意为分离), 因为这种酶能从淀粉粒的不溶性包被中分离出可溶性的糊精。稍后, 人们从胃液中提取出了能消化食物蛋白的物质——胃蛋白酶。

在发现酶的早期日子里, 许多学者认为: 酶的作用与酵母在发酵过程中的作用类似, 因而将这些具有活性的物质称作“酵母”。Berzelius在前人工作的基础上, 于1835年首次提出了催化作用的概念。他指出, 催化作用“能使复杂物质增强亲合力和反应能力, 从而使该物质更易于产生组成上的重排”。1837年, 他进而提出了生物催化作用的概念, 指出: 存在着天然生成的“酵母”; 根据完整细胞的存在与否, “酵母”可分为“活体的”与“离体的”两类; 它们均能进行他所指出的那种催化作用。由此可见, 对酶的认识, 一开始就是与它的催化作用联系在一起的。

19世纪下半叶, 围绕着Liebig与Pasteur的论点, 展开了一系列的争论。Liebig认为, 发酵过程和与其类似的诸多过程, 都是由生命细胞中的非生命物质催化产生的。而Pasteur则认为, 所述过程与酵母细胞的结构和生命有着不可分割的联系。这场争论, 直到1897年Buchner成功地从酵母的无细胞提出物中获得了能催化酒精发酵的酶类时才告结束。这是酶学研究史上一个划时代的重大事件。它清楚地证明了, 在主要放能代谢途经中起催化作用的这些酶类, 可以不依赖于细胞的结构而起作用。在所述争论进行的过程中, “酵母”一词逐渐地被“酶”这个名词所代替。该词是由Kühne于1878年首次提出的, 它源自希腊文ένζυμη, 意为“在酵母中”。

19世纪末, 随着对有生物学意义的物质的结构及其有机化学组成的日益了解, 使人们得以研究酶的作用范围或“专

性”特性。1894年，Fischer提出了酶的专性特性和酶与底物的密切的空间排列关系的概念。在对已知结构的底物进行研究的基础上，他用著名的“锁与钥匙”的比喻，形象地说明了酶和底物间的相互作用。

20世纪初，Willstätter及其同事开始进行酶的提纯工作。1926年，Sumner从刀豆提出液中分离出了脲酶，第一个得到了酶的结晶。他提出了该结晶是由蛋白质组成的证据，并作出了与当时流行的看法完全相反的结论，认为酶类本身就是一类蛋白质。这种观点，直至Northrop及其同事于1930—1936年获得了胃蛋白酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶的结晶，并用相律的方法证实了酶是一种蛋白质后，才被普遍接受。现在，已经知道生物体内存在的酶有近2000种，其中有1500余种已被一定程度地提纯，200余种得到了结晶。

如果说，在酶学研究的初期，人们的注意力主要集中在与消化作用和发酵作用有关的酶上，那么从1937年，也就是开始对胞内酶进行认真地提纯的时候起，注意力则转向了许多最基本的生命过程，特别是导致生命赖以生存的、能量的产生和利用的诸多代谢过程的机理的研究。通过对有关酶类的分离和研究，光合、呼吸、生物氧化及为生长所必需的许多有机化合物的合成和分解等过程的机理得到了很好的阐明。

酶学的最根本问题，是研究酶的作用机理和根据酶的结构阐明其具有极高的专性催化活性的原因。直到不久前，由于对酶的结构缺乏详细的了解，所述研究多仍用间接的方法进行。例如，自本世纪初Michaelis的经典工作以来有了迅速发展的酶动力学研究，使我们在许多情况下得以分析酶催化反应的连续步骤并导出它们的作用机理。现在，对酶的化学结构和物理结构都有了更深的认识，从而所述研究也有了长足的进展。

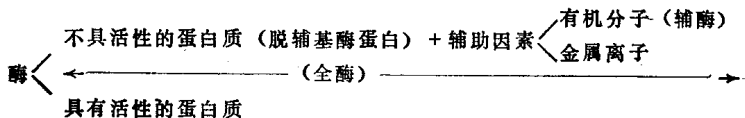
近年来，酶的应用越来越广泛，并日益为人们所关注。例如，在工业上，葡糖淀粉酶和淀粉酶正逐渐地代替强酸，使淀粉解聚为葡萄糖；在医学上，常用组织专性酶的活性测定来准确地诊断疾病和鉴别正常细胞与非正常细胞；在农业上，人们正试图根据土壤酶活性的测定来调节土壤营养物质的转化进程和残留农药的降解；在环境科学中，利用酶催化反应来控制消除污染正成为一项新的研究内容。

酶学正处在极为振奋人心的发展阶段。通过多年来的大量辛勤研究，现在开始取得丰硕的成果，进展是非常迅速的。本部分不准备详细地论及酶学研究的各个方面，而只想为读者提供学习土壤酶学所必需的酶学基础知识。为此，在这一部分里，将简略地讨论酶的蛋白质结构、性质、反应的动力学和影响因素以及分类与命名。由于酶活性的测定能阐明亚细胞水平的酶作用机理和反映生物体和类生物体（如土壤）的机能状况，我们也简述了用仪器分析和自动分析的方法测定酶活性的一般原理。

第二章 酶的蛋白质结构

所有的酶都是蛋白质。但是，许多酶蛋白在不具有称为辅助因素的非蛋白质组分时则会缺少催化活性。这时，酶的不具活性的蛋白质组分称为脱辅基酶蛋白，而包括辅助因素在内的、具有活性的酶则称为全酶。辅助因素可以是一有机分子（辅酶），也可以是一金属离子。某些酶与辅助因素的结合，要比与其他物质的结合紧密得多。当一辅助因素被结合得非常紧密而很难在不损伤酶的情况下除去时，它便被称为辅基。

以上所述，可用下列图式简要说明：



下面，我们来讨论一下酶的蛋白质结构。

第一节 一级结构

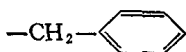
一级结构指的是多肽链的化学结构，即不同的氨基酸组合成链的次序或顺序。

一、氨基酸的性质和种类

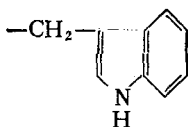
氨基酸是其分子中含有氨基 ($-NH_2$ 或 $>NH$) 和羧基

丝氨酸和苏氨酸呈中性，酪氨酸呈弱酸性。和带非极性脂族基的氨基酸相比较，它们具有较小的疏水性。

(3) 带芳基的氨基酸



苯丙氨酸 (Phe)



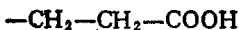
色氨酸 (Trp)

所列氨基酸均呈疏水性。

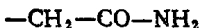
(4) 带酸性基的氨基酸



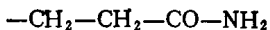
天冬氨酸 (Asp)



谷氨酸 (Glu)



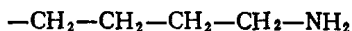
天冬酰胺 (Asn)



谷氨酰胺 (Gln)

所列氨基酸和酰胺均呈亲水性。

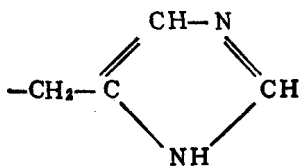
(5) 带碱性基的氨基酸



赖氨酸 (Lys)



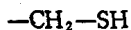
精氨酸 (Arg)



组氨酸 (His)

所列氨基酸均呈亲水性。

(6) 带含硫基的氨基酸



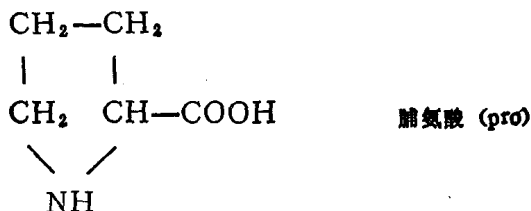
半胱氨酸 (Cys)



蛋氨酸 (Met)

半胱氨酸呈弱亲水性，蛋氨酸呈疏水性。

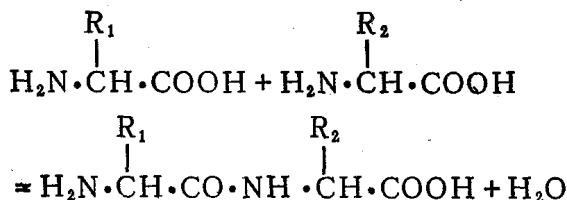
(7) 带含亚氨基的氨基酸



这一类氨基酸并不是真正的氨基酸，因为它的氨基并不是游离的，而是环结构的组成部分。

二、肽链和氨基酸的顺序

一个氨基酸分子的羧基与另一个氨基酸分子的氨基间的脱水，导致了类似于酰胺分子中的键型的键合。形成的链，称为肽链：



式中 R_1 和 R_2 代表相同的或不同的取代基。形成的分子，称为二肽。由于氨基酸既含有氨基，也含有羧基，所以键合过程可以继续下去，形成三肽、四肽等等。大量的氨基酸分子脱水缩合后，形成的产物称为多肽。多肽与蛋白质间并没有明确的区分。绝大多数的蛋白质至少有100个以上键合在一起的氨基酸分子（通常以氨基酸残基表示）并具有一定的较高级结构，而多肽通常是指含20个氨基酸残基并缺少较高级结构的分子。每一个缩合的分子仅含有一个游离的 α -氨基和一个游离的 α -羧基。因此，这两个基团的性质对蛋白质分子的性质很少影响。后者在很大程度上取决于R基的性

质。前面谈到，某些氨基酸的组成中含有另外的氨基和羧基（如4、5类）。这些基团自然是游离的，并对蛋白质的性质具有影响。

氨基酸的键合顺序，称为蛋白质的一级顺序。它与肽链的结构一道，构成了蛋白质的一级结构。目前，已测得了许多蛋白质中氨基酸的顺序。例如，从羊身上分离出来的促肾上腺皮质激素的氨基酸顺序是：

Ser·Tyr·Ser·Met·Glu·His·Phe·Arg·
Trp·Gly·Lys·Pro·Val·Gly·Lys·Lys·
Arg·Arg·Pro·Val·Lys·Val·Trp·Pro·
Ala·Gly·Glu·Asp·Asp·Glu·Ala·Ser·
Glu·Ala·Phe·Pro·Leu·Glu·Phe¹⁾

上述同样的39个氨基酸分子若以不同的顺序键合在一起，会产生什么情况呢？一般地说，形成的分子会丧失其生物学活性。因此，氨基酸的性质和顺序，对某一特定的蛋白质说来，往往是特有的。但是，不同物种中执行相同功能的蛋白质，其氨基酸顺序常有某些细微的变化。就促肾上腺皮

物种 \ 残基	25	26	27	28	29	30	31	32
猪	Asp	Gly	Ala	Glu	Asp	Gln	Leu	Ala
人	Asp	<u>Ala</u>	<u>Gly</u>	Glu	Asp	Gln	<u>Ser</u>	Ala
牛	Asp	Gly	<u>Glu</u>	<u>Ala</u>	<u>Glu</u>	<u>Asp</u>	<u>Ser</u>	Ala
羊	<u>Ala</u>	Gly	<u>Glu</u>	<u>Asp</u>	Asp	<u>Glu</u>	<u>Ala</u>	<u>Ser</u>

1) 在书写蛋白质或多肽的氨基酸顺序时，通常用氨基酸的英文名的缩写。习惯上，所述顺序由N-末端，即由游离的 α -氨基端开始。