



高职高专“十二五”规划教材

生物技术系列

酶制剂技术

韦平和 李冰峰 闵玉涛 主编



化学工业出版社

高职高专“十二五”规划教材
生物技术系列

酶制剂技术

韦平和 李冰峰 闵玉涛 主 编



化学工业出版社

· 北 京 ·

本教材按酶制剂基础知识、酶制剂生产技术、常见酶制剂生产和应用技术实例三个模块组织章节，主要内容包括酶制剂概述、酶学基础、酶制剂的应用、酶的发酵生产、酶的提取和分离、酶的纯化和精制、酶的固定化、新型酶制剂的开发、蛋白酶类的生产、淀粉酶类的生产和其他酶类的生产，每章均设置相应的实训项目。全书内容丰富，实训项目代表性强，图文并茂，突出培养学生的实际应用和动手操作能力，体现项目载体、任务驱动的行动导向教学。

本书可供生物技术及应用、生物制药技术、食品生物技术、工业生物技术等专业作为教材使用，亦可供相关技术人员参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

酶制剂技术/韦平和, 李冰峰, 闵玉涛主编. —北京:
化学工业出版社, 2012.8
高职高专“十二五”规划教材. 生物技术系列
ISBN 978-7-122-14903-9

I. 酶… II. ①韦…②李…③闵… III. 酶制剂-高等
职业教育-教材 IV. TQ464.8

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 163079 号

责任编辑: 刘阿娜 李植峰 梁静丽
责任校对: 徐贞珍

文字编辑: 李 瑾
装帧设计: 关 飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 刷: 北京市振南印刷有限责任公司
装 订: 三河市宇新装订厂
787mm×1092mm 1/16 印张 16 字数 413 千字 2012 年 10 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 30.00 元

版权所有 违者必究

本书编写人员

主 编 韦平和 李冰峰 闵玉涛

副 主 编 赵 扬 赵美琳 陈红霞

编写人员 (按姓名笔画排列)

韦平和 (常州工程职业技术学院)

许 彦 (江西生物职业技术学院)

李冰峰 (南京化工职业技术学院)

闵玉涛 (中州大学)

张 伟 (济宁职业技术学院)

陈书明 (三门峡职业技术学院)

陈红霞 (济宁职业技术学院)

孟 滕 (黑龙江农业职业技术学院)

孟泉科 (三门峡职业技术学院)

赵 扬 (河南化工职业学院)

赵美琳 (漯河职业技术学院)

主 审 杨昌鹏 (广西农业职业技术学院)

前言

高等职业教育是我国高等教育的重要组成部分。新世纪以来,高职教育努力为经济社会发展服务,培养了千余万高素质技能型专门人才。近年来,国家加快经济发展方式转变、产业结构调整和优化升级,对高职教育提出了更新、更高的要求。因而,迫切需要与之相适应、专业与产业对接、课程内容与职业标准对接、教学过程与生产过程对接、适合高端技能型人才培养使用的教材和教学资源库。为此,我们在化学工业出版社的组织下编写了高职《酶制剂技术》教材。

我国酶制剂工业始于1965年。半个世纪来,该产业从无到有、由小变大,迅速发展。产量从当初的几百吨,发展到现在的近80万吨,年产值达100亿元;品种从当初只有一种淀粉酶,到现在9大类、20多个品种;应用领域从当初的淀粉和纺织等少数领域,发展到现在涉及食品、饲料、纺织、造纸、皮革、医药、洗涤剂、化工、酿造、环保等十几个行业,成为国民经济发展的“催化剂”。目前,逐步成熟的酶制剂研究及应用技术使我国酶制剂产业正向“高档次、高活性、高质量、高水平、多领域”方向发展。

本教材按酶制剂基础知识、酶制剂生产技术以及常见酶制剂生产和应用技术实例三个模块组织章节,共设十一章,每章均包含相应的实训项目,涉及的酶制剂生产技术主要有产酶微生物的发酵技术、酶的分离纯化技术、酶的固定化技术以及新型酶制剂的开发技术等。教材力求结构合理、内容丰富、深入浅出、图文并茂、实训项目代表性强、工艺流程符合生产实际,突出培养学生的实际应用能力和动手操作能力。为促进课程内容与职业标准的对接,教材引用、介绍了相关酶制剂国家和行业标准。

三门峡职业技术学院孟泉科、陈书明,济宁职业技术学院陈红霞、张伟,河南化工职业学院赵扬,漯河职业技术学院赵美琳,南京化工职业技术学院李冰峰,中州大学闵玉涛,黑龙江农业职业技术学院孟滕,江西生物职业技术学院许彦参加了教材编写,常州工程职业技术学院韦平和负责全书的统稿和定稿,全书由广西农业职业技术学院杨昌鹏主审。在教材编写过程中,常州工程职业技术学院彭加平老师亦协助做了许多工作,谨此表示谢意。

本教材可供高职生物技术及应用、生物制药技术、食品生物技术等专业作为教材使用,亦可供相关技术人员参考。

由于编者水平有限、经验不足,加之成稿时间仓促,书中疏漏之处在所难免,敬请读者和同仁批评指正。

编者
2012年5月

目 录

模块一 酶制剂基础知识 / 1

第一章 酶制剂概述 / 1

第一节 酶制剂工业发展概况	1	评价	12
一、世界酶制剂工业发展概况	1	二、我国酶制剂的管理与安全评价	17
二、我国酶制剂工业发展概况	3	第四节 我国食品加工用酶制剂企业良好 生产规范	19
第二节 酶制剂的概念、分类与来源	7	一、适用范围	19
一、酶制剂的相关概念	7	二、基本要求	19
二、酶制剂的分类、命名和编号	9	本章小结	27
三、酶制剂的来源与开发	10	实践练习	27
第三节 酶制剂的管理与安全评价	12		
一、国外食品用酶制剂的管理与安全			

第二章 酶 学 基 础 / 28

第一节 酶的分类与命名	28	四、pH 对反应速度的影响	37
一、习惯命名	28	五、温度对反应速度的影响	38
二、系统命名	30	六、抑制剂对反应速度的影响	38
第二节 酶的催化特性	31	七、激活剂对反应速度的影响	40
一、酶的高效性	31	第五节 酶活力及其测定	41
二、酶的专一性	32	一、酶活力	41
三、酶的不稳定性	33	二、酶的比活力	41
四、酶的可调节性	33	三、测定酶活力应注意的问题	41
第三节 酶的结构和功能	34	技能实训 2-1 酶促反应与时间的关系—— 初速度时间范围测定	42
一、酶的活性中心	34	技能实训 2-2 pH 对酶活力的影响——最适 pH 的测定	44
二、酶的结构与功能	34	技能实训 2-3 影响唾液淀粉酶活力的 因素	44
三、酶原激活	35	本章小结	46
第四节 酶促反应动力学	35	实践练习	46
一、酶促反应速度的测定	36		
二、酶浓度对反应速度的影响	36		
三、底物浓度对反应速度的影响	36		

第三章 酶制剂的应用 / 47

第一节 酶制剂在医药行业中的应用	47	三、饲料用酶制剂的要求	58
一、酶在疾病诊断方面的应用	47	第四节 酶制剂在轻化工业中的应用	59
二、酶在疾病治疗方面的应用	49	一、酶在洗涤剂工业中的应用	59
三、酶在药物制造方面的应用	51	二、酶在有机酸工业中的应用	60
第二节 酶制剂在食品行业中的应用	52	三、酶在纺织、皮革、造纸工业中的 应用	61
一、酶在食品保鲜方面的应用	52	第五节 酶制剂在环境保护中的应用	62
二、酶在淀粉类食品工业中的应用	53	一、酶在环境监测方面的应用	63
三、酶在乳品工业中的应用	54	二、酶在废水处理方面的应用	63
四、酶在酿酒工业中的应用	54	三、酶在可生物降解材料开发方面的 应用	63
五、酶在果蔬类食品加工中的应用	55	四、其他方面	63
六、酶在焙烤食品中的应用	55	本章小结	64
七、酶在食品添加剂生产中的应用	55	实践练习	64
第三节 酶制剂在饲料行业中的应用	57		
一、饲料用酶制剂的作用	57		
二、饲料用酶制剂的应用	57		

模块二 酶制剂生产技术 / 65

第四章 酶的发酵生产 / 65

第一节 酶制剂工业常用菌种与选育	65	一、大肠杆菌工程菌高密度发酵	73
一、酶制剂工业常用菌种	65	二、酵母工程菌的高密度发酵	74
二、产酶微生物的选育	67	第四节 发酵染菌及检查、控制方法	76
第二节 酶的发酵方法、工艺条件及优化 控制	69	一、种子培养和发酵的异常现象	76
一、细胞活化与扩大培养	69	二、染菌的检查和判断	78
二、培养基的配制	69	三、染菌控制及预防	79
三、pH 调节	69	技能实训 4-1 微生物菌种保藏方法	79
四、温度的调节控制	70	技能实训 4-2 植酸酶高产菌株的筛选	83
五、溶解氧的调节控制	70	技能实训 4-3 啤酒酵母发酵力的测定	84
六、提高酶产量的措施	71	技能实训 4-4 麦麸发酵生产混合酶制剂的 培养基条件优化	85
第三节 大肠杆菌和酵母工程菌的高密度 发酵	73	本章小结	86
		实践练习	86

第五章 酶的提取和分离 / 87

第一节 一般原则及基本工艺流程	87	二、沉降	94
一、酶分离纯化的一般原则	87	三、离心分离	95
二、酶分离纯化的基本工艺流程	88	第四节 细胞破碎	98
第二节 发酵液的预处理	88	一、机械破碎法	98
一、常用的预处理方法	89	二、物理破碎法	99
二、杂质的去除	90	三、化学破碎法	100
三、脱色	91	四、生物破碎法	100
第三节 固液分离	91	第五节 抽提	101
一、过滤	91	一、水溶液提取法	101

二、有机溶剂提取法	101	技能实训 5-3 胰凝乳蛋白酶的制备	109
第六节 浓缩	102	技能实训 5-4 大蒜细胞 SOD 的制备及活力测定	111
一、基本原理	102	技能实训 5-5 鸡蛋溶菌酶的制备及活力测定	112
二、常用的浓缩方法	102	本章小结	113
技能实训 5-1 酵母细胞的破碎及破碎率的测定	106	实践练习	114
技能实训 5-2 枯草芽孢杆菌碱性磷酸酶的制备	107		

第六章 酶的纯化和精制 / 115

第一节 盐析法	115	四、亲和色谱的特点	130
一、基本原理	115	第六节 凝胶电泳法	130
二、盐析剂的选择	116	一、基本原理	131
三、硫酸铵饱和度	117	二、影响凝胶聚合的因素	131
四、盐析的影响因素	118	三、凝胶电泳操作要点	132
五、脱盐	118	四、聚丙烯酰胺凝胶电泳的特点	134
第二节 有机溶剂法	120	第七节 干燥	134
一、基本原理	120	一、真空干燥	134
二、有机溶剂的选择	120	二、冷冻干燥	136
三、有机溶剂的添加量	121	三、喷雾干燥	136
四、影响有机溶剂沉淀的因素	121	四、气流干燥	137
五、盐析和有机溶剂沉淀的比较	121	五、吸附干燥	137
第三节 离子交换色谱法	122	第八节 稳定性和保存	138
一、基本原理	122	一、影响酶的稳定性因素	138
二、离子交换剂的组成	123	二、稳定酶的办法	139
三、离子交换剂的选择	123	技能实训 6-1 琼脂糖凝胶电泳法分离乳酸脱氢酶同工酶	139
四、离子交换色谱的基本操作	123	技能实训 6-2 离子交换柱色谱分离香蕉多酚氧化酶	141
第四节 凝胶过滤法	125	技能实训 6-3 疏水色谱法分离纯化 α -淀粉酶	142
一、基本原理	125	技能实训 6-4 木聚糖酶的精制及活力测定	144
二、凝胶的种类	125	技能实训 6-5 植酸酶的分离、纯化及活力测定	146
三、凝胶特性的参数	126	本章小结	148
四、凝胶过滤的操作	127	实践练习	148
五、凝胶过滤的特点	128		
第五节 亲和色谱法	128		
一、基本原理	128		
二、亲和吸附介质	128		
三、亲和色谱的操作	129		

第七章 酶的固定化 / 150

第一节 固定化酶的概念和优缺点	150	一、固定化酶活力的变化	157
一、固定化酶的概念	150	二、固定化酶的稳定性	157
二、固定化酶的优缺点	150	三、固定化酶的反应特性	158
第二节 固定化酶的制备方法	151	第四节 固定化酶的评价指标	159
一、固定化酶的制备原则	151	一、固定化酶的活力	159
二、酶的固定化方法	152	二、偶联率及相对活力	160
三、各种固定化酶方法的优缺点比较	156	三、半衰期	160
第三节 固定化酶的特性	157	第五节 固定化酶反应器	161

一、固定化酶反应器的类型及特点 161

二、固定化酶反应器的选择与使用 164

三、固定化酶反应器的操作及注意
事项 165

技能实训 7-1 果胶酶的固定化 166

技能实训 7-2 糖化酶的固定化 168

技能实训 7-3 固定化酵母细胞的制备及
酒精发酵 169

本章小结 171

实践练习 171

第八章 新型酶制剂的开发 / 172

第一节 基因工程技术构建产酶工程菌 172

一、基因工程技术 172

二、酶基因克隆表达实例 173

第二节 蛋白质工程技术提高酶的活力和
稳定性 175

一、定点突变技术 175

二、体外定向进化技术 176

三、蛋白质工程技术在改造天然酶中的
应用 179

第三节 手性化合物生产用酶的开发 180

一、手性化合物及其生产方法 180

二、酶法拆分手性化合物 181

三、酶催化不对称合成手性化合物 182

四、手性化合物生产用酶的开发实例 183

第四节 环境净化用酶和极端酶 185

一、环境净化用酶 185

二、极端酶 186

技能实训 8-1 质粒的小量制备及电泳
鉴定 187

技能实训 8-2 胆绿素还原酶的修饰与活性
基团的鉴定 190

本章小结 192

实践练习 192

模块三 常见酶制剂生产和应用技术实例 / 193

第九章 蛋白酶类的生产 / 193

第一节 蛋白酶的分类与专一性 194

一、蛋白酶的分类 194

二、蛋白酶的专一性 195

第二节 酸性蛋白酶 195

一、性质 195

二、酸性蛋白酶的生产 195

第三节 中性蛋白酶 197

一、性质和分类 197

二、生产菌种 198

三、培养基 198

四、生产实例 198

第四节 碱性蛋白酶 199

一、碱性蛋白酶的性质与分类 199

二、生产菌种 199

三、生产实例 200

第五节 工业用蛋白酶制剂标准及蛋白酶
活力测定方法 200

一、工业用蛋白酶制剂标准 200

二、工业用蛋白酶活力测定方法 201

技能实训 9-1 木瓜蛋白酶的制备及活力
测定 204

技能实训 9-2 菠萝蛋白酶的制备及活力
测定 206

技能实训 9-3 毛霉蛋白酶的制备及活力
测定 208

技能实训 9-4 猪胰蛋白酶的制备及活力
测定 210

本章小结 213

实践练习 213

第十章 淀粉酶类的生产 / 215

第一节 α -淀粉酶 215

一、 α -淀粉酶的性质与特点 215

二、 α -淀粉酶对底物的水解作用 216

三、 α -淀粉酶的来源 217

四、 α -淀粉酶的生产工艺 217

第二节 β -淀粉酶 220

一、 β -淀粉酶的性质 220

二、 β -淀粉酶对底物的水解作用 220

三、 β -淀粉酶的来源 221

四、 β -淀粉酶的工业生产 221

第三节 葡萄糖淀粉酶 222

一、葡萄糖淀粉酶的性质 223

二、葡萄糖淀粉酶对底物的水解作用 223

三、葡萄糖淀粉酶的来源 223

四、葡萄糖淀粉酶的工业生产 224

第四节 脱支酶 225

一、脱支酶的性质 225

二、脱支酶的来源 226

三、脱支酶的生产工艺 226

技能实训 10-1 α -淀粉酶的活力测定 227

技能实训 10-2 葡萄糖淀粉酶的活力测定 229

技能实训 10-3 普鲁兰酶的活力测定 232

本章小结 233

实践练习 233

第十一章 其他酶类的生产 / 234

第一节 纤维素酶 234

一、纤维素酶的特性 234

二、纤维素酶的来源 235

三、纤维素酶生产工艺 235

四、酶活测定 236

第二节 植酸酶 236

一、植酸酶的特性 236

二、植酸酶的作用 237

三、植酸酶的来源 237

四、植酸酶生产工艺 237

五、植酸酶活力测定 238

第三节 木聚糖酶 238

一、木聚糖酶的特性 238

二、木聚糖酶的生产 239

三、木聚糖酶活力测定 239

四、木聚糖酶的应用 239

第四节 脂肪酶 240

一、脂肪酶的特性 240

二、脂肪酶的来源 240

三、脂肪酶生产工艺 240

四、酶活测定 241

五、脂肪酶的应用 241

技能实训 11-1 纤维素酶水解纤维素生产生物乙醇 242

技能实训 11-2 脂肪酶催化生产生物柴油 243

本章小结 245

实践练习 245

参考文献 / 246

模块一 酶制剂基础知识

第一章

酶制剂概述

学习目标

■【学习目的】

通过学习酶制剂的概念、分类、来源，以及食品用酶制剂的管理、安全评价和良好生产规范，掌握酶制剂的基本知识及行业概况。

1. 了解酶制剂的工业发展概况。
2. 掌握酶制剂的概念、分类和来源。
3. 理解酶制剂的管理与安全评价。
4. 熟悉食品加工用酶制剂的良好生产规范。

第一节

酶制剂工业发展概况

一、世界酶制剂工业发展概况

酶从生物材料中被分离出来并制成一种制剂，最早的报道是 1833 年法国化学家 Payen 和 Peroz 在麦芽抽提物的酒精沉淀内发现一种对热不稳定的物质，它具有从不溶性的淀粉颗粒内分离出可溶性的糊精和糖的能力，命名为 diastase（淀粉酶制剂），可使 2000 倍淀粉液化而用于棉布退浆。这是酶制剂制备的萌芽。他们首创的 ase 作为酶的词尾，一直被沿用至今。1874 年，丹麦出现凝乳酶的广告，它是由小牛第 4 胃的胃液和黏膜制备的，用于制造干酪，这是酶制剂商品化的开始。

1884 年，日本人 Takamine 以麸皮培养米曲霉，用水提取和酒精沉淀获得淀粉酶，并在美国开设 Takamine 制药厂生产高峰（他卡）淀粉酶，用于棉布退浆和作消化剂，首先实现了微生物酶制剂的工业化生产。此后，在欧洲、美国和日本先后建立了一些酶制剂工厂生产动、植物酶，如胰酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、麦芽淀粉酶，以及真菌、细菌淀粉酶等少数品种，其应用范围也仅限于用作消化剂、制革工业脱灰软化剂和棉布退浆剂等。

1949年,采用液体深层发酵法首先在日本成功地生产出细菌 α -淀粉酶,揭开了近代酶工业的序幕。20世纪50年代前,酶制剂工业发展比较缓慢,直到60年代以后,抗生素深层发酵技术和菌种选育技术的进步,带动了微生物酶制剂工业的快速发展。1963年,丹麦诺维信公司(Novozymes,20世纪90年代中期由Novo Nordisk公司改组而成)开发的碱性蛋白酶Alcalase上市,欧洲加酶洗涤剂开始流行。1969年日本田边制药厂利用固定化氨基酰化酶,由乙酰化-DL-氨基酸连续生产L-氨基酸获得成功,使L-氨基酸生产成本降低40%。1975年,诺维信公司推出葡萄糖异构酶,酶法生产果葡糖浆获得成功,打破了蔗糖在食糖中的垄断地位,带动了淀粉深加工工业的兴起,工业用酶需求量开始增加。工业用酶具有经济、高效、用途广以及与环境友好等优点,因而受到人们的广泛重视。

80年代以后,基因工程、蛋白质工程技术被广泛应用于产酶菌种的构建和酶分子的结构改造,诺维信公司用于生产酶制剂和生物转化的工业微生物大约80%是工程菌,这些工程菌显著提高了酶的表达量和活力,赋予了工业用酶新的功能和特性,因而大大促进了酶制剂工业的发展。

世界酶制剂市场于1970年以后迅速增长,从1978年不到1亿美元增加到1990年的5亿美元,1993年达10亿美元,1996年为13.5亿美元,1999年为19.2亿美元,2002年达25.7亿美元,在1996~2002年的7年中世界酶制剂平均年增长率为11.4%。就1997~2002年酶制剂在各个应用领域的分配来说,食品和饲料用酶占总额的45.0%~47.0%,洗涤剂用酶占31.8%~33.0%,纺织、制革、毛皮工业用酶占10.0%~11.0%,造纸、纸浆业用酶占6.5%~7.5%,化学工业用酶占3.7%~4.0%。与1985年食品工业用酶占酶制剂市场62%、洗涤剂用酶占33%、纺织制革用酶占5%相比,洗涤剂用酶所占份额基本不变,纺织、制革用酶成倍增长,造纸、纸浆业用酶增长更快,而食品和饲料用酶则相对下降。这主要是因为植物纤维加工用酶,如纤维素酶和半纤维素酶,在棉布加工、纸浆漂白、废纸脱墨等方面有了较大发展,反映了人们对环境保护意识的增强。

2009年,全世界酶制剂市场总规模达到30.18亿美元,而酶制剂下游支撑产业的产值超过3000亿美元,据美国弗里多尼亚集团的最新研究报告显示,2012~2015年全球酶市场需求将以年均6.8%的速度快速增长。就酶的应用领域而言,受过去10年DNA测序成本大幅下降的刺激,用于诊断、研究和生物技术的酶需求将引领全球酶需求快速增长;受发展中国家和美国医疗保健改革的影响,制药业对酶的需求也将快速增长。此外,清洁产品对酶的需求也将强劲增长。在工业用酶市场中,动物饲料以及食品和饮料用酶的需求增长速度将超过平均增速。就全球各个地区的增速而言,非洲、中东、拉美和东欧等较小的市场对酶的需求增速最快,以中国和印度为首的亚太市场也将快速增长。北美和西欧市场的需求增速将低于全球平均水平,主要是受生物燃料增长趋缓以及债务危机的影响。

当今世界酶制剂工业的研究和发展动向,可归结为以下几个方面。

(1) 研究开发投入大,高新技术应用广 国外酶制剂公司研发经费一般占产品销售额的10%~15%,诺维信公司近几年的研发投入一直维持在销售总额的13%以上,2010年研发投入2.5亿美元,从事研发工作的人员占公司总雇员的23%。由于经费充足,科研力量雄厚,早已把基因工程、蛋白质工程等现代生物技术用于产酶菌种的改良和新型酶的开发。1991年15%的工业用酶采用基因工程菌生产,1996年达50%,1998年达到80%。由于高新技术的应用,提高了酶的产量,增加了酶的稳定性,使酶能适应应用环境,提高了酶在有机溶剂中的反应效率,使酶在后提取工艺和应用过程中更容易操作。

(2) 大力研制、开发新酶种 随着酶制剂在食品、医药、轻工、化工、农业、能源和环境保护等领域的广泛应用以及实际工作需要,大力研发新型酶、特殊酶、极端酶以及剂型多

样化是酶制剂研究和发展的重要方向。在工业酶制剂市场,长期以来水解酶类一直处于主导地位,约占市场销售总额的75%以上,而目前也注意开发非水解酶类,特别是氧化还原酶类,它们所占的市场份额不断扩大。

(3) 不断拓宽酶制剂的新用途 长期以来,酶制剂的应用领域主要集中在淀粉加工、食品加工和洗涤剂工业,而随着人类所面临的食物和营养、健康和长寿、资源和能源、环境保护和生态平衡等各种重大问题的不断产生,酶制剂的应用范围也越来越宽。不断拓宽酶制剂的新用途将对人类的经济和社会生活产生重大影响。

(4) 酶制剂工业发展趋向垄断化 就像其他新兴工业发展趋势一样,酶制剂市场竞争日趋激烈,各大公司收购、兼并、重组继续进行,酶制剂行业垄断已逐步形成,世界上具有一定规模的制剂企业已由20世纪80年代初的80多家减少到90年代中期的20多家。诺维信公司继续处于龙头老大位置,占世界市场份额的47%;美国杰能科公司(Genencor)占21%的市场份额;后起之秀的帝斯曼公司(DSM)占6%的市场份额。

二、我国酶制剂工业发展概况

1. 我国酶制剂工业发展阶段

1965年,无锡酶制剂厂首次将生产的BF-7658淀粉酶用在淀粉加工和纺织退浆上。

1979年,利用黑曲UV-II糖化酶菌种进行糖化酶生产,首先在白酒、酒精行业推广应用,提高了出酒率。

1990年,2709碱性蛋白酶在洗涤剂行业上应用,当时由于这种颗粒酶的出现,使加酶洗衣粉开始在全国风行。

1992年,1.398中性蛋白酶、166中性蛋白酶在毛皮制革行业上推广应用,提高了产品质量和效率,减轻了劳动强度。

1995年,无锡酶制剂厂首先引进了耐高温 α -淀粉酶和高转化率液体糖化酶,在国家科委成果办公室的推动下,将完成的“新双酶法在淀粉质原料深加工工业中应用”这一科研项目在酒精、味精、制糖、啤酒等行业进行了推广,从此“双酶法”技术在全国迅速得以发展,为淀粉质原料深加工行业的迅速崛起作出了贡献。

1998年,国外酶制剂大公司纷纷到中国建厂和合资,引进了国外的先进设备、优良菌种和新型酶制剂,给我国酶制剂产业带来了机遇和挑战。诺维信公司在天津建立工厂,美国最大的酶制剂公司——杰能科国际公司和中国最大的酶制剂公司无锡酶制剂厂合资,成立了无锡杰能科生物工程有限公司。国外酶制剂进入中国市场,由于竞争需要,促进了中国酶制剂质量的改进和提高。新型酶制剂的出现,酶制剂应用技术的不断提高,促进了我国发酵行业及相关应用领域的飞速发展。

目前,逐步成熟的酶制剂研究及应用技术使中国酶制剂产业正向“高档次、高活性、高质量、高水平、多领域”方向发展。

我国酶制剂工业起步于20世纪中叶。半个世纪来,我国的酶制剂产业从无到有、由小到大,迅速发展,取得了令人鼓舞的成就。

(1) 产量逐年增加 我国酶制剂产量1977年为0.4万吨,1985年为2.4万吨,1991年为9.2万吨,1995年为19.6万吨,2001年为32.0万吨,2005年为48.0万吨,2010年达到77.5万吨,年产值近100亿元,一直保持10%左右的快速增长。我国酶制剂出口增加值持续扩大,2004年我国的酶制剂出口量已占世界总出口量的30%,2010年出口总量达到8.2万吨,出口额达到2.3亿美元。

(2) 品种不断丰富 1965年我国生产的酶制剂只有中温淀粉酶1个品种。1977年有3

个酶系,以淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶三大酶系为主,具体品种有糖化酶、7658 中温淀粉酶、1398 蛋白酶、209 蛋白酶、166 蛋白酶、3942 蛋白酶、3350 酸性蛋白酶、289 蛋白酶、中性脂肪酶、固定化葡萄糖异构酶和果胶酶等。1979 年,中科院微生物所成功研制出 UV-II 糖化酶新菌种,发酵酶活可达 4000U/mL 以上。1995 年,引进了耐高温 α -淀粉酶和高转化率液体糖化酶。此后,又增加了 β -葡聚糖酶、异淀粉酶、碱性脂肪酶、啤酒用复合酶、纤维素酶、葡萄糖氧化酶以及饲料用复合酶等品种。现在我国酶制剂产品主要包括糖化酶、淀粉酶、纤维素酶、蛋白酶、植酸酶、半纤维素酶、果胶酶、饲用复合酶、啤酒复合酶等九大类,能实现规模化生产的酶制剂近 30 种。

(3) 技术水平显著提高 以国内生产较早和产量较大的糖化酶、中温淀粉酶和酸性蛋白酶 3 种酶为例,糖化酶最初发酵活力不足 100U/mL,1979 年达到 4000U/mL,1985 年为 8289U/mL,1990 年为 9380U/mL,1995 年达到 $2.5 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^4$ U/mL,2000 年达到 4×10^4 U/mL,目前高达 $5 \times 10^4 \sim 6 \times 10^4$ U/mL 以上。中温淀粉酶 1965 年发酵活力为 109U/mL,1980 年为 300~350U/mL,1995 年达到 400~500U/mL,2006 年国内高的发酵水平可达 800~900U/mL,40 多年时间提高了 8 倍。酸性蛋白酶在 20 世纪 70 年代液体深层发酵的生产水平为 4000U/mL,目前已高达 8000U/mL,增长了 1 倍,且生产工艺为我国拥有自主知识产权的技术。目前,大部分工厂已采用先进的分离纯化技术,采用膜过滤的液体酶制剂工艺,使用方便,不需干燥,节约了能源,生产出的产品达到食品级要求,使得高酶活精制酶能大批量生产,酶的收率也明显提高,成本不断下降。

(4) 应用领域不断拓宽 应用领域也从当初的淀粉和纺织等少数领域,发展到现在涉及食品、饲料、纺织、造纸、皮革、医药、洗涤剂、化工、酿造、环保等十几个行业。酶制剂产业在中国正逐步成为独立行业,促进了国民经济的发展。

2. 我国食品用酶制剂发展状况

食品工业已经成为我国国民经济的支柱产业。2010 年我国食品工业总产值达 6.2 万亿元,占中国生产总值的 15.57%。2000~2010 年中国食品工业总产值的年平均增长率达 20%。伴随着我国食品工业的持续、稳定、快速发展,食品用酶制剂的市场空间也在迅猛增长,广泛应用于食品行业的各个领域。

我国食品用酶制剂种类较多,主要包括酿造酶、乳品酶、淀粉酶、蛋白酶、油脂酶、风味酶、果品酶等。其中,碳水化合物用酶、蛋白质用酶、乳品用酶占食品酶制剂的比重较大,所占比例为 81.7%。在食品加工过程中常用的酶制剂主要有以下几种:木瓜蛋白酶、谷氨酰胺转氨酶、弹性蛋白酶、溶菌酶、脂肪酶、葡萄糖氧化酶、异淀粉酶、纤维素酶、超氧化物歧化酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶、生姜蛋白酶等。我国已批准使用于食品工业的酶制剂有 α -淀粉酶、糖化酶、固定化葡萄糖异构酶、木瓜蛋白酶、果胶酶、 β -葡聚糖酶、葡萄糖氧化酶、 α -乙酰乳酸脱羧酶等,主要应用于果蔬加工、焙烤、乳制品加工等方面。我国啤酒业发展迅速,啤酒总产量已跃居世界第一位,2006 年总产量超过 3000 万吨,这与食品酶在啤酒酿造过程中的应用有密不可分的联系。淀粉酶行业发展快速,产量成倍增长,品种逐渐增多,至 2006 年产量已超过 500 万吨。新型酶制剂正应用于针剂葡萄糖、液体葡萄糖浆、高麦芽糖浆、果葡糖浆以及各种低聚糖的生产中。淀粉糖替代蔗糖已应用于食品加工、糖果、啤酒及饮料生产中。功能性低聚糖已被人们所接受,淀粉糖对酶制剂的品种和质量提出了更高的要求,新型酶制剂的推出为这些行业提供了发展所需的条件。

我国食品用酶制剂发展迅速,2010 年食品用酶总产值达到 80 亿元,而且每年正以 15% 的速度呈递增趋势。目前我国已建立了较为完备的食品用酶制剂生产体系,可以大规模生产

包括碳水化合物、蛋白质、乳品深加工酶制剂在内的食品酶制剂。但伴随着食品工业的快速发展,我国酶制剂种类已不能满足食品工业的需要,酶制剂工业正不断推出新型酶制剂、复合酶制剂、高活力和高纯度特殊酶制剂来满足日益发展的食品工业需要。

3. 我国饲料用酶制剂发展状况

饲料用酶制剂是近年来伴随饲料工业和酶制剂工业不断发展而出现的一种新型饲料添加剂,具有提高养分消化率、提高配合饲料质量稳定性、降低环境污染等作用。作为一类高效、无毒、无副作用和环保的绿色饲料添加剂,饲料用酶制剂已成为世界工业酶产业中增长速度最快、势头最强劲的一部分,其应用效果已在世界范围内得到公认。我国饲料用酶制剂自20世纪80年代开始在饲料中添加应用,90年代我国最早生产的饲料用酶制剂商品开始进入市场,2000年我国饲料用酶制剂的年销售量达到8000吨以上。近年来,我国饲料用酶制剂市场规模逐渐扩大,由2006年的4.64亿元增加到2010年的6.82亿元,2009年国内用于动物饲料添加剂的酶制剂总量超过1万吨,且增长速度迅猛。开发饲料用酶制剂可缓解饲料资源短缺、人畜争粮的局面,有利于保障粮食安全;提供更为安全、优质的动物产品,有利于保障食品安全;减轻环境污染,保障养殖业的可持续发展。

目前我国饲料用酶种类有20多种,主要包括淀粉酶、蛋白酶、木聚糖酶、 β -甘露聚糖酶、纤维素酶、 β -葡聚糖酶、植酸酶和各种复合酶等。但我国饲料用酶制剂在应用发展过程中仍存在的问题:①复合酶制剂生产大多为固态发酵,生产的复合酶制剂质量不稳定,发酵水平和酶蛋白的产量较低;②颗粒饲料制粒温度普遍较高,制粒后复合酶的各种酶活力都有不同程度的降低,影响了酶制剂的作用效果;③微生物发酵生产饲料用酶的活力不高。

4. 我国纺织用酶制剂发展状况

纺织工业是我国的传统产业和支柱产业,在国内生产总值和外贸出口总值中占有重要比例。我国纺织工业总产值占国民生产总值的12%~15%,是一个对国民经济有突出贡献的制造行业。但我国纺织工业总体存在污染严重的问题,尤其是在印染加工过程中,传统工艺消耗大量的水和化学品,造成环境污染并破坏生态平衡[图1-1(a)]。因此,实现生态整理、绿色染整成为印染行业的当务之急,此时生物酶退浆处理工艺应运而生[图1-1(b)]。但普通淀粉酶耐碱性能较差,生物退浆和生物精炼工艺不能同时进行,导

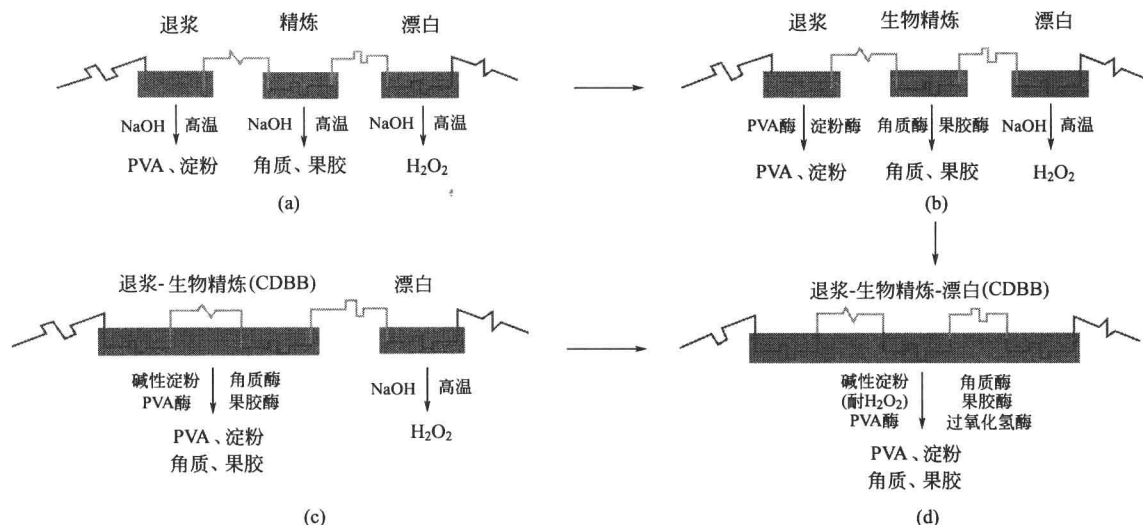


图 1-1 纺织物前处理工艺变化及发展趋势

致工艺复杂、劳动强度大、生产效率低、水耗和能耗较高,降低了产品的市场竞争力。在纺织物处理过程中,应用碱性淀粉酶可使退浆与精炼工艺合并 [图 1-1 (c)],此工艺具有如下优点:高预洗涤效果,高织物质量,高预处理效益,高纤维表面效果,低污染,省时间,更小的织物损坏,提高了产品的市场竞争力和经济效益。对织物前处理进行进一步分析发现,将退浆与精炼两步合并,成本并没有降至最低。若碱性淀粉酶具有一定的抗过氧化氢能力,则退浆、精炼与漂白可合为一步 [图 1-1 (d)],进一步节省了时间,对织物造成的损坏会降至最低,可极大地提高经济效益,是下一步棉织物前处理的发展趋势。目前,无论是学术界还是工业界,开发新型高效复合酶制剂用于染整前处理(碱性果胶裂解酶、角质酶等)、织物后整理(脲水合酶、角质酶等)、棉织物漂白(过氧化氢酶)和麻类生物脱胶(果胶酶、木聚糖酶、甘露聚糖酶等)为主导,包括原料改造、工艺改进、材料改性等内涵的纺织生物技术在国际上形成了新的热潮。

20 世纪 80 年代,以淀粉酶、蛋白酶和纤维素酶等为代表的纺织用酶制剂,主要用于织物退浆、牛仔布整理和真丝脱胶等。进入 21 世纪以来,我国酶制剂在纺织工业中的应用领域逐步扩大,包括纤维改性、原麻脱胶、印染前处理、印染废水处理、服装成衣加工等领域。目前,纺织用酶制剂加工工艺已涉及几乎所有的纺织湿加工领域,市场规模呈稳定递增趋势。但我国纺织用酶制剂加工技术在加工理论、加工工艺以及酶制剂的性能方面与世界先进水平相比仍存在较大差距,主要表现在以下几个方面:①国内酶制剂研究、生产单位缺乏对纺织加工领域的认识,不熟悉各种纺织加工的特点,对纺织加工中可能用到的酶处理技术并未引起足够的重视和兴趣;②纺织行业无法自行开发相应的纺织专用酶制剂,主要采用传统食品领域的生化试剂,而该类试剂不适合纺织纤维加工的特点和要求,性能上尚存在较大差距,难以实际应用;③国内纺织用酶品种少、生产水平低,与纺织工业生产处理适应性差,缺少工业应用研究。市场长期被国外酶制剂公司垄断,价格居高不下,纺织用酶处理工艺在国内并没有得到大规模的推广应用。

近年来,我国酶制剂工业发展速度迅猛,取得了明显进步。但从世界酶制剂工业来看,基因工程、蛋白质工程和定向进化等高新技术在酶制剂工业中的广泛应用,进一步拉大了我国酶制剂工业和世界先进水平的差距。整个行业生产规模小,技术研发力量薄弱,产品品种单一、质量不高、结构不合理等问题突出。我国酶制剂工业的下一步快速发展需要技术创新,只有形成强有力的自主技术创新体系,才可能取得酶制剂工业的长足发展。

知识链接

加酶洗涤剂——新一代“生物洗涤剂”

加酶洗涤剂是近年来洗涤剂工业发展的热点。在洗涤剂中加入酶,一方面可降低表面活性剂和三聚磷酸钠的用量,使洗涤剂朝低磷或无磷化方向发展,减少环境污染;另一方面可提高洗涤剂的去污能力,缩短洗涤时间,降低洗涤温度和耗水量,从而对节能环保具有重要意义。浓缩型洗涤剂是洗涤剂工业发展的趋势。1997 年起,欧洲已成功地将洗衣粉浓缩了约 40%,这一措施产生的直接环境效益是每次洗涤的化学用品用量减少 16.0%、包装物减少 14.9%、难降解物质减少 30.4%、能源消耗量降低 6.3%。加酶洗涤剂一般在浓缩洗涤剂中占有很高的比例,日本为 95%,西欧为 90%,拉丁美洲为 75%,东南亚为 75%,美国为 70%。目前,我国浓缩洗衣粉仅占洗衣粉总产量的 3%,按照中国洗涤用品工业协会设定的洗衣粉浓缩化目标,也就是将洗衣粉浓缩化水平提高到 20%,浓缩洗衣粉中洗涤剂酶的用量将由 500t 增加到 3000t 以上,全行业的总需求量也将超过 8000t。因此,酶制剂在洗涤剂行业具有广阔的发展前景。

第二节 酶制剂的概念、分类与来源

一、酶制剂的相关概念

1. 酶制剂

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。酶工程, 又称酶技术, 是利用酶的催化特性, 通过生物反应器将相应原料转化为有用物质的技术, 其主要内容包括酶的生产、酶 (细胞) 的固定化、酶的分子改造和酶反应器等, 是酶制剂生产和应用的主要手段。

酶制剂 (enzyme preparation) 是按照一定的质量标准要求, 应用适当的物理、化学方法, 将酶从动、植物细胞以及微生物发酵液中提取出来, 加工成一定规格, 并能稳定发挥其催化功能的生物制品。通常, 酶制剂是一种复合物, 含有一种或多种酶成分, 以及稀释剂、稳定剂、防腐剂、抗氧化剂和其他物质。由于酶具有催化效率高、专一性强、作用条件温和以及与环境友好等优点, 酶制剂被广泛应用于食品、医药、轻工、化工、农业、能源 and 环境保护等领域, 已成为我国国民经济发展的“催化剂”。世界上已知的酶有 4000 多种, 工业化生产的酶制剂有 300 多种, 常用的有 50 多种, 其中 80% 以上为水解酶类, 它们主要用于降解自然界中的高聚物, 如淀粉、蛋白质和脂肪等物质, 因而淀粉酶、蛋白酶和脂肪酶是目前工业上应用的三大主要酶制剂。

2. 食品用酶制剂

食品用酶制剂 (enzyme preparations used in food industry) 是由动物或植物直接提取, 或由传统或通过基因修饰的微生物 (包括但不限于细菌、放线菌、真菌菌种) 发酵、提取制得, 用于食品加工, 提高食品产品质量, 具有特殊催化功能的酶制剂。最新发布的《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760—2011) 列入了食品用酶制剂 52 种, 并将其列为加工助剂范畴。加工助剂是指保证食品加工能顺利进行的各种物质, 与食品本身无关, 如助滤、澄清、吸附、脱模、脱色、脱皮、提取溶剂、发酵用营养物质等。加工助剂一般应在制成最终成品之前除去, 无法完全除去的, 应尽可能降低其残留量, 其残留量不应对人体健康产生危害, 不应在最终食品中发挥功能作用。酶制剂与一般的食品添加剂不同。一般的添加剂被添加到食品中后, 其作用是从始至终的, 并最终存在于产品中。但酶制剂作为一种加工助剂, 仅在加工过程中起作用, 即帮助一种物质完成一种转变, 当其完成使命后便从终产品中消失或失去活力。酶制剂已广泛用于淀粉糖、面食制品、氨基酸有机酸发酵、油脂加工、酒类酿造、果汁、乳制品、功能食品、酱油醋生产等食品工业。常见的食品用酶制剂约 20 多种。以酶品种分: 蛋白酶为 60%, 淀粉酶为 30%, 脂肪酶为 3%, 特殊酶为 7%。以用途分: 淀粉加工酶所占比例最大, 为 15%; 其次是乳制品工业占 14%。酶制剂以其独特的优势, 正越来越广泛地应用于食品工业, 是食品原料开发、品种改良和工艺改造的重要环节, 为食品工业的安全、优质和高效三大主题赋予新的路径。

3. 饲料用酶制剂

饲料用酶制剂 (enzyme preparations used in feed industry) 是通过产酶微生物发酵工程或含酶的动、植物组织提取技术生产加工而成, 具有一种或几种底物清楚的酶催化活性, 有助于改善动物对饲料营养成分的消化、吸收等, 并具有功效方面的生物学评定依据, 符合安全性要求, 作饲料添加剂用的酶制剂产品。目前, 饲料用酶有 20 多种, 如木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、植酸酶、 α -半乳糖苷酶、 β -甘露聚糖酶、蛋白酶和淀粉酶等。在饲料中大量添加酶