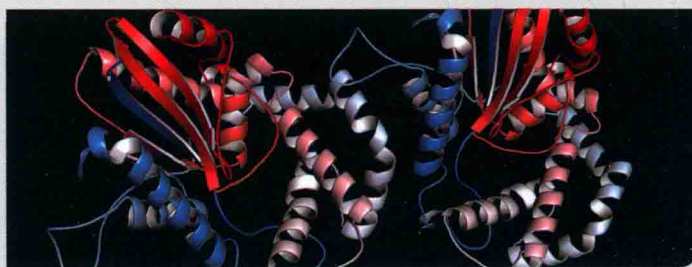




普通高等教育“十三五”规划教材

# 食品 酶工程

FOOD ENZYME ENGINEERING



王永华 宋丽军 主编  
张水华 主审

非外借




中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

普通高等教育“十三五”规划教材

# 食品酶工程

王永华 宋丽军 主编  
张水华 主审

 中国轻工业出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

食品酶工程/王永华, 宋丽军主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2018. 7  
普通高等教育“十三五”规划教材  
ISBN 978-7-5184-1251-8

I. ①食… II. ①王… ②宋… III. ①食品工艺学—酶工程—高等学校—教材 IV. ①TS201.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 036931 号

责任编辑: 马妍 王艳丽 责任终审: 张乃柬 整体设计: 锋尚设计  
策划编辑: 马妍 责任校对: 吴大鹏 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: 2018 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

开本: 787 × 1092 1/16 印张: 12.75

字数: 290 千字

书号: ISBN 978-7-5184-1251-8 定价: 38.00 元

邮购电话: 010-65241695

发行电话: 010-85119835 传真: 85113293

网址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: [club@chlip.com.cn](mailto:club@chlip.com.cn)

如发现图书残缺请与我社邮购联系调换

150482J1X101ZBW

## 本书编审委员会

主 编 王永华（华南理工大学）  
宋丽军（塔里木大学）

副主编 王方华（华南理工大学）  
张 丽（塔里木大学）  
蓝东明（华南理工大学）

参编人员（按姓氏拼音排序）

李一苇（山东省科学院）

李志刚（华南理工大学）

马宝娣（上海应用技术大学）

覃小丽（西南大学）

许建和（华东理工大学）

薛 亮（广东省微生物研究所）

杨 博（华南理工大学）

郁惠蕾（华东理工大学）

主 审 张水华（华南理工大学）

现代食品产业上牵亿万农户，与“三农问题”密切关联，下联亿万国民，是与公众膳食营养和饮食安全息息相关的“国民健康产业”。目前，全球食品加工产业正在向多领域、深层次、高技术、智能化、低能耗、高效益、可持续的方向发展。不可否认的是，随着我国新型工业化、信息化、城镇化和农业现代化同步推进，“营养、安全、美味、健康、方便、个性化、多样性”的产品新需求和“智能、节能、环保、绿色、可持续”的产业新要求已成为食品产业发展的“新常态”，也对食品产业科技发展提出了新挑战。

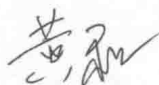
酶作为一种高效生物催化剂，具有反应条件温和、高效、专一性强的特点，而其在食品工业领域的科学应用正好与当前食品工业发展的方向和要求相适应。当前，基于酶工程技术所产生的系列酶制剂已广泛应用于食品原料的贮藏、保鲜、改性、加工工艺的改进、品质的提高以及食品安全的保障等环节，在为传统的食品加工带来新的发展思路的同时，也给食品酶工程学科的发展带来巨大的挑战。

自20世纪中叶以来，国际食品工业酶制剂市场蓬勃发展，酶制剂产量逐年增加，新技术、新酶种、新应用不断出现。但与国际水平相比，我国食品酶制剂产业总体技术开发能力较弱，产品的国际竞争力较差。为了缩短与国际先进水平的差距，优化我国酶制剂的产业结构，必须加快科技开发的步伐，提高产品的技术含量。食品酶工程作为我国极具发展潜力的新兴学科之一，受到越来越多的重视。

为了加强食品酶学与酶工程相关学科的教学和人才培养工作，来自全国7所高等院校及科研院所的13位从事食品酶工程研究的中青年科技骨干共同编写了这部《食品酶工程》教材。

本教材详细介绍了酶学及酶工程的基础理论、技术及其在食品工业中的应用，内容紧跟国际食品酶工程技术的最新进展，具有很强的科学性和系统性。

本教材对食品相关专业师生及从业人员具有很好的指导作用，值得一读。



2018年4月

随着酶学及酶工程研究的快速发展和酶制剂的应用推广，酶工程的基本原理不断与食品工程相互渗透、融合，形成了一个新兴学科——食品酶工程。在食品工业领域，酶制剂的生产和应用具有非常重要的地位，食品生产和流通的各个环节都离不开酶工程。

近年来，酶与酶工程的研究发展迅速，新概念、新理论、新方法、新应用不断涌现。为了更好地将最新的研究成果融入食品工业生产之中，同时促进食品酶工程的教学与科研工作，我们组织编写了《食品酶工程》一书。

全书共 10 章，系统地介绍了食品酶工程基础理论、酶的生产及分离纯化、酶的固定化、酶反应器、酶传感器以及酶工程在食品工业中的应用等内容，具有较强的科学性、逻辑性和实用性。

本书的编写人员都是长期从事食品酶工程教学及科研的中青年骨干，有着丰富的食品生产理论与实践经验，编写过程中力求理论精确、技术实用、体系完整。具体编写分工如下：第一章和第四章由王永华（华南理工大学）编写；第二章和第三章由王方华（华南理工大学）编写；第五章和附录由宋丽军（塔里木大学）、张丽（塔里木大学）编写；第六章由李志刚（华南理工大学）编写；第七章由杨博（华南理工大学）编写；第八章由马宝娣（上海应用技术大学）、郁惠蕾（华东理工大学）、许建和（华东理工大学）编写；第九章由李一苇（山东省科学院）编写；第十章由蓝东明（华南理工大学）、覃小丽（西南大学）、薛亮（广东省微生物研究所）编写。全书由宋丽军、张丽统稿。

本书可作为大专院校食品相关专业师生的教科书，也可供食品生产、研发、监督、管理等相关从业人员使用，是一本极具应用价值的参考书。

华南理工大学张水华教授在百忙之中对书稿进行了认真的审阅，在此深表谢意！

本书编写过程中参考了许多国内外同行的相关文献和资料，在此表示诚挚的感谢！

鉴于目前学术资料及编者水平局限，书中难免有遗漏和不当之处，恳请广大读者批评指正。

王永华  
于华南理工大学  
2018 年 4 月

<b>第一章</b>	绪论 .....	1
第一节	酶工程的发展历史及现状 .....	2
第二节	食品酶工程的研究内容与前景 .....	8
<b>第二章</b>	酶的分类及其化学组成 .....	12
第一节	酶的分类和命名 .....	13
第二节	酶的化学组成及结构 .....	18
<b>第三章</b>	酶的作用机制及活性调控 .....	25
第一节	酶的催化特性及专一性机制 .....	26
第二节	高效酶促反应的催化机制 .....	30
第三节	酶活性的调节控制 .....	37
<b>第四章</b>	酶促反应动力学 .....	43
第一节	酶活力及其测定 .....	44
第二节	酶促反应动力学 .....	49
<b>第五章</b>	酶的稳定性及酶失活动力学 .....	65
第一节	酶的稳定性 .....	66
第二节	酶失活动力学 .....	73
<b>第六章</b>	酶的发酵与分离 .....	77
第一节	酶的发酵 .....	78
第二节	酶的分离与纯化 .....	82
<b>第七章</b>	酶的固定化及其应用 .....	95
第一节	酶的固定化方法 .....	96
第二节	固定化酶的特征 .....	104
第三节	固定化酶的性质及评价指标 .....	107

第四节 固定化酶在食品工业中的应用及展望 .....	109
----------------------------	-----

<b>第八章 酶反应器 .....</b>	<b>113</b>
-----------------------	------------

第一节 概述 .....	113
--------------	-----

第二节 常见酶反应器 .....	116
------------------	-----

第三节 酶反应器的设计及放大 .....	120
----------------------	-----

第四节 酶反应器的应用案例 .....	126
---------------------	-----

<b>第九章 生物传感器通论 .....</b>	<b>134</b>
--------------------------	------------

第一节 概述 .....	134
--------------	-----

第二节 生物传感器的简介和分类 .....	137
-----------------------	-----

第三节 生物传感器在食品及发酵领域中的应用 .....	153
-----------------------------	-----

<b>第十章 常用酶制剂及其在食品工业中的应用 .....</b>	<b>159</b>
-----------------------------------	------------

第一节 概述 .....	159
--------------	-----

第二节 糖酶 .....	160
--------------	-----

第三节 蛋白酶 .....	167
---------------	-----

第四节 脂肪酶 .....	169
---------------	-----

第五节 氧化酶 .....	172
---------------	-----

<b>附录 酶的国际分类及命名举例 .....</b>	<b>178</b>
-----------------------------	------------



## [内容提要]

本章主要介绍了酶学及酶工程研究的发展历史、现状和趋势,以及食品酶工程的研究内容与应用前景。

## [学习目标]

1. 了解酶学及酶工程研究的发展历史和现状。
2. 掌握酶、酶工程及食品酶工程的概念。
3. 了解食品酶工程的研究热点和发展方向。

## [重要概念及名词]

酶、酶工程、食品酶工程、极端酶、人工合成酶、模拟酶、分子印迹酶、酶定向进化技术、核酸酶、抗体酶、杂交酶。

随着我国城市化、工业化、现代化建设步伐的加快和国民经济的持续增长,人民生活水平不断提高,我国的消费结构已经发生了重大变化。“安全、营养、健康、美味、高效”的食品已成为广大消费者的追求目标。可满足食品工业安全、优质、高效三大主题要求的,首推食品酶工程技术。酶制剂作为一种高效生物催化剂,越来越广泛地应用于食品工业的多个领域,成为当今食品工业的重要环节。

酶(enzyme)是由活细胞产生的、具有高效催化功能的生物大分子,鲜明地体现了生物体系的识别、催化、调节等功能。按照分子中起催化作用的主要组分不同,酶可分为蛋白类酶(proteozyme, P酶)和核酸类酶(ribozyme, R酶)两大类。

酶工程 (enzyme engineering) 是研究酶的生产和应用的一门技术性学科, 指在一定的生物反应器内, 利用酶的催化作用, 进行物质转化的技术。酶工程分为化学酶工程和生物酶工程, 化学酶工程主要指天然酶、化学修饰酶、固定化酶及化学人工酶的研究和应用; 生物酶工程是以酶学与基因重组等技术为主的现代分子生物学技术相结合的产物, 主要包括: 用基因工程技术大量生产酶 (克隆酶), 修改酶基因产生遗传修饰酶 (突变酶), 设计新的酶基因, 合成新酶。酶工程的主要任务是经过预先设计, 采用人工操作获得目标酶, 并通过各种方法使酶充分发挥其催化作用。

食品酶工程 (food enzyme engineering) 是将酶工程的理论与技术应用于食品工业领域, 将酶学基本原理和食品工程相结合, 为新型食品 and 食品原料的发展提供技术支持。在食品工程领域, 酶制剂的生产和应用具有非常重要的地位, 食品原料的贮藏、保鲜、改性、食品加工工艺的改进、食品品质的提高以及食品安全的保障等都离不开酶工程。

因此, 学习和研究食品酶工程的理论与技术, 具有重要的理论和实践意义。

## 第一节 酶工程的发展历史及现状

### 一、现代酶学的发展历程

人类利用酶的历史非常悠久, 对酶的认识经历了从无知到有知、从不自觉到自觉的过程。在古代, 人们虽然并不知道酶是什么, 但早已在生活中凭着丰富的实践经验成功利用着酶。

早在 6000 多年前, 巴比伦人已用麦芽酿造出类似啤酒的饮料; 5000 多年前, 巴比伦人已懂得将酒精转变为醋的方法, 阿拉伯人利用羊胃膜凝乳酶制造干酪。我国在 4000 多年前的夏禹时代就已经掌握了酿酒技术; 在约 3000 年前的周朝, 就会制造饴糖、食酱等食品; 在约 2500 年前的春秋战国时期, 就懂得用曲来治疗消化不良等疾病。

虽然人类很早就感觉到酶的存在, 但真正认识酶的存在和加以利用却始于 19 世纪 30 年代。100 多年来, 人类对酶的认识经历了一个不断发展、逐步深入的过程。

1783 年, 意大利科学家 Spallanzani 设计了“小笼盛肉喂鹰实验”, 偶然发现了胃液中可能存在某些“可以消化肉的物质”, 对当时的“蠕动消化理论”提出了挑战。

1810 年, Planche 从植物的根系中分离出了能使愈创木脂氧化变蓝的“耐热且水溶性的物质”。1814 年, Kirchoff 发现某些种子在发芽时的水提物能促使谷物发生水解反应而生成还原糖, 并且这些水溶性物质在脱离生物体后仍能发挥作用。

1833 年, Payen 和 Persoz 从麦芽的水抽提物中用乙醇沉淀得到一种可使淀粉水解生成可溶性糖的白色无定形粉末状物质, 并指出了它的热不稳定性, 初步触及了酶的一些本质问题。

1878 年, Kuhne 首次提出了“酶 (enzyme)”的概念, 该词来自希腊文, 由“En (在)”和“Zyme (酵母)”组合而成, 表示“酶包含在酵母中”。

19 世纪中叶, 围绕酒精发酵的机制问题, 科学界展开了一场持续数十年的争论, 对酶学和生物化学的产生和发展具有划时代的意义。以德国 Liebig 为代表的化学家强调: 酵母发酵生成酒精是纯化学反应, 而以法国细菌学家 Pasteur 为代表的生物学家则坚持发酵是活酵母生命

活动的结果。

这场长达半个世纪的争论，直到 Pasteur 逝世后，1897 年才由德国化学家 Buchner 兄弟画上了终止符。他们用石英磨碎酵母细胞，并制备了不含酵母细胞的抽提液，用其发酵蔗糖，从而阐明了发酵是酶作用的化学本质。这是理论上的飞跃，为 20 世纪酶学和酶工程的发展揭开了序幕，Pasteur 因此获得了 1907 年的诺贝尔化学奖。

1894 年，Emil Fisher 提出了酶与底物作用的“锁钥学说”，用以解释酶作用的专一性机制。该学说认为：酶与底物分子或底物分子的一部分之间，在结构上有严格的互补关系，当底物契合到酶蛋白的活性中心时，犹如一把钥匙插入一把锁中，从而发生催化反应。

在上述研究基础上，各国科学家开始对酶的催化特性及机制等进行了广泛研究，取得了一系列重要进展，为现代酶学和酶工程的发展奠定了坚实的理论基础。

20 世纪初，酶学进入迅速发展时期。1902 年，Henri 根据蔗糖酶催化蔗糖水解的实验结果，提出“中间产物学说”，认为底物在转化成产物之前，必须首先与酶形成中间复合物，然后再转变为产物，并重新释放出游离的酶。

1913 年，Michaelis 和 Menten 根据中间产物学说，推导出著名的酶催化反应基本动力学方程 Michaelis - Menten equation，即“米氏方程”。米氏方程的提出是酶反应机制研究的一个重要里程碑。

1925 年，George E. Briggs 和 J. B. S. Handane 对米氏方程做了重要修正，提出了“拟稳态学说”，为酶学研究奠定了理论基础，两人被称为酶动力学研究的开拓者。

1926 年，Sumner 首次从刀豆提取液中分离纯化得到脲酶结晶，并证实这种结晶催化尿素水解，产生二氧化碳和氨气，同时证明了它具有蛋白质的性质。后来对胃蛋白酶、胰凝乳等一系列酶结晶的研究，都证实酶的化学本质是蛋白质。在此后的 50 多年中，人们普遍接受了“酶是具有生物催化功能的蛋白质”这一概念。Sumner 因此获得了 1947 年的诺贝尔化学奖。

1958 年，D. E. Koshland 提出了“诱导契合学说”，认为酶分子活性中心的结构原来并非和底物的结构互相吻合，酶的活性中心是柔软的而非刚性的。当底物与酶接近时，可诱导酶活性中心的构象发生变化，达到正确的排列和定向，从而使酶和底物契合而结合成中间络合物，并引起底物发生反应。反应结束后，酶的活性中心又恢复到原来的构象。后来，科学家对羧肽酶等进行了 X 射线衍射研究，研究结果有力地支持了这个学说。

1960 年，Jacob 和 Monod 提出“操纵子学说”，阐明了酶生物合成的基本调节机制。1961 年，Monod 及其同事提出了“变构模型”，用以定量解释有些酶的活性可以通过结合小分子进行调节的机制，从而提供了认识细胞中许多酶调控作用的基础。

1969 年，Merrifield 等人首次人工合成含有 124 个氨基酸的核糖核酸酶 A，并发明“固相合成”新方法。

1982 年，Cech 等人发现四膜虫（Tetrahymena）细胞的 26S rRNA 前体具有自我剪接功能，认为 RNA 也具有催化活性，并将这种具有催化活性的 RNA 称为核酸类酶。1983 年，Altman 等人发现核糖核酸酶 P 的 RNA 部分 M1 RNA 具有核糖核酸酶 P 的催化活性。

RNA 具有生物催化活性这一发现，改变了有关酶的概念，被认为是最近 20 多年来生物学领域最令人鼓舞的发现之一。因此 Cech 和 Altman 共同获得 1989 年的诺贝尔化学奖。

现已发现生物体内存在的酶有 8000 多种。现代酶学正沿着酶的分子生物学和酶工程学两个方向发展。酶分子生物学的任务是更深入地揭示酶的结构和功能的关系，揭示酶的催化机制与调节机制，揭示酶和生命活动的关系，进一步设计和改造酶，在基因水平上进行酶的调控。

酶工程学的任务是要解决如何更经济有效地进行酶的生产、制备和应用,将基因工程、分子生物学成果应用于酶的生产,进一步开发固定化酶技术与酶反应器等。

## 二、现代酶工程的发展概况

酶工程是生物技术的一个重要组成部分,它是酶学和微生物学的基本原理和化学工程有机结合而形成的交叉学科。近年来,由于蛋白质工程、基因工程和计算机信息等新兴高科技的发展,使酶工程技术得到了迅速发展和应用,各种新成果、新技术、新发明不断涌现。

酶工程技术的主要发展历程如下:

### (一) 从动物、植物或微生物细胞和组织中提取酶

1894年,日本的高峰让吉首先从米曲霉中制得了淀粉酶并用作消化剂,开创了近代酶的生产 and 应用的先例。此后,不断有新的酶品种被发现并应用。1908年,德国的 Rohm 从动物的胰脏得到胰蛋白酶,并用于皮革软化;1908年,法国的 Boidin 制得细菌淀粉酶,并用于纺织品的退浆;1911年,美国的 Wallerstein 制得木瓜蛋白酶,并用于除去啤酒中的蛋白质浑浊等。但由于受到当时原料来源和分离纯化技术的限制,难以对酶进行大规模的工业化生产。

### (二) 利用微生物发酵大规模生产酶

1949年,用液体深层培养法进行细菌 $\alpha$ -淀粉酶的发酵生产,揭开了现代酶工业的序幕。20世纪50年代以后,由于发酵工程技术的发展,许多酶制剂都开始采用微生物发酵法进行大规模生产。尤其是1960年,“操纵子学说”的提出,阐明了酶生物合成的调节机制,为酶的生物合成提供了理论依据。根据“操纵子学说”对酶的发酵生产过程进行适当的调节控制,可显著提高酶的产率,极大促进了酶发酵生产技术的发展。

20世纪80年代出现的动植物细胞培养技术,为酶的生产提供了一条新途径。动植物细胞可以在人工控制条件的生物反应器中进行培养,通过细胞的一系列生命活动,得到人们需要的酶。如通过植物细胞培养可获得超氧化物歧化酶、木瓜蛋白酶、木瓜凝乳蛋白酶、过氧化物酶、糖苷酶、糖化酶等;通过动物细胞培养可获得血纤维蛋白溶酶原激活剂、胶原酶等。

### (三) 酶的改性

随着酶工程的发展和应用领域不断扩大,酶在应用过程中的不足也逐渐体现。例如酶活力低、稳定性差、产品分离纯化困难等。

通过各种方法对酶的催化特性进行改进的技术称为酶的改性(enzyme improving)。酶的改性技术主要有酶分子修饰(enzymatic molecular modification)、酶固定化(immobilization of enzymes)和酶的非水相催化(non-aqueous enzymatic catalysis)等。

#### 1. 酶分子修饰

通过各种方法使酶分子的结构发生某些改变,从而改变酶的某些特性和功能的过程称为酶分子修饰。它是根据酶分子的结构特点和催化特性,通过合理设计对酶进行改造,获得具有新的催化特性的酶。修饰方法主要有:酶分子主链修饰、酶分子侧链基团、酶分子组成单位位置修饰、酶分子中金属离子置换修饰和物理修饰等。

通过酶分子修饰,可以提高酶活力,增加酶的稳定性,改变酶的底物专一性,消除或降低酶的抗原性等。酶分子修饰技术已经成为酶工程中具有重要意义和应用价值的研究领域之一。

#### 2. 酶固定化

酶固定化是通过各种方法将酶固定在载体上,制备得到在一定的空间范围内进行催化活动

的固定化酶的技术过程。固定化酶具有稳定性高、易从反应系统中分离、易于控制、能反复多次使用等优点。固定化技术较为繁杂，且用于固定化的酶首先要经过分离纯化。为了省去酶分离纯化的过程，在固定化酶的基础上出现了“固定化菌体技术”（又称为固定化死细胞或固定化静止细胞）和“固定化细胞技术”（又称为固定化活细胞或固定化增殖细胞），并成功应用于 $\alpha$ -淀粉酶、蛋白酶、糖化酶、果胶酶、溶菌酶、天冬酰胺酶等酶的生产。

胞内酶等许多产物由于受到细胞壁等诸多扩散障碍的阻碍，很难向胞外扩散，若能除去细胞壁，就有可能使更多的胞内产物分泌到细胞外。为此，“固定化原生质体技术”的研究成为了一个新热点，为胞内酶连续生产开辟了新途径。

### 3. 酶的非水相催化

非水相酶催化是指酶在非水介质中进行的催化作用。与水溶液中相比，酶在非水介质中的催化具有提高非极性底物或产物的溶解度、催化在水溶液中无法进行的合成反应、减少产物对酶的反馈抑制作用、提高手性化合物不对称反应的对映体选择性等优点。

近年来，酶非水相催化的研究十分活跃，主要集中在非水介质中酶学基本理论、结构与功能以及酶催化反应的应用研究三个方面。据报道，脂肪酶、酯酶、蛋白酶、纤维素酶、淀粉酶等水解酶类，过氧化物酶、过氧化氢酶、醇脱氢酶、胆固醇氧化酶、多酚氧化酶、细胞色素氧化酶等氧化还原酶类和醛缩酶等转移酶类中的几十种酶在适宜的有机溶剂中均具有较好的催化活性。

目前，非水相中酶的催化作用已广泛应用于药物、生物大分子、肽类、手性化合物化学中间体和天然产物等物质的有机合成，引起人们的极大关注。

## （四）极端酶

极端微生物是天然极端酶的主要来源，极端微生物由于长期生活在极端的环境条件下，为适应环境，在其细胞内形成了多种具有特殊功能的酶，即极端酶。极端酶能在各种极端环境中发挥生物催化作用，它是极端微生物在极其恶劣环境中生存和繁衍的基础。根据极端酶所耐受的环境条件不同，可分为嗜热酶、嗜冷酶、嗜盐酶、嗜碱酶、嗜酸酶、嗜压酶、耐有机溶剂酶、抗代谢物酶及耐重金属酶等。

目前，有关极端酶结构和功能的统一机制尚不完全清楚，导致其广泛应用受到很大限制，目前仅有小部分极端酶被分离纯化和应用于工业生产。进一步加强对极端酶稳定机制的基础性研究，并将新的生物技术引入极端酶工程领域将是今后的主要研究方向：

（1）基础研究方面 极端酶稳定性结构因素的定性和定量研究，基因表达调控元件的研究，受体限制障碍解决方法的探讨，异源表达宿主与极端酶在辅助因子和金属离子的需求不一致的解决途径的研究等。

（2）极端酶工程研究方面 优化极端酶的筛选方法，分离和提纯更多的极端酶；开展基因重组和基因突变技术，建立极端酶基因突变文库，对极端酶进行修饰和改造，优化极端酶的稳定性和催化性能；利用蛋白质工程技术、计算机设计计算等合成新型极端酶。

（3）设计新型的生物反应器 为极端酶的工业化生产提供保障。

## （五）人工合成酶、模拟酶及分子印迹酶

模拟生物分子的分子识别和功能是当今最富挑战的课题之一，在分子水平上模拟酶对底物的识别与催化功能，也引起各国科学家的广泛关注。由于人工模拟酶在阐述酶的结构和催化机制方面所发挥的重要作用及其潜在的应用价值，人工模拟酶已经成为化学、生命科学以及信息

科学等多学科及其交叉领域共同关注的焦点。

一般来说,模拟酶的研究就是吸收酶中那些起主导作用的因素,利用有机化学、生物化学等方法设计和合成一些较天然酶简单的非蛋白质分子或蛋白质分子,并以这些分子作为模型来模拟酶对底物的结合和催化过程。模拟酶是在分子水平上模拟酶活性部位的形状、大小及其微环境的结构特征,以及酶的作用机制和立体化学特性的一门科学。

合成酶分为半合成酶和全合成酶,半合成酶是以天然蛋白质或酶为母体,用化学和生物学方法引入适当的活性部位或催化基团,或改变其结构,从而形成一种新的人工合成酶。全合成酶指通过引入酶的催化基团与控制空间构象,像自然酶那样能选择性地催化化学反应的一种有机物。

分子印迹酶是通过分子印迹技术产生类似于酶的活性中心的空腔,并在空腔内诱导产生催化基团,与底物定向排列,从而对底物实现有效结合和催化的一种“人工模拟酶”。

在人工模拟酶研究领域,分子印迹酶面临的最大挑战之一是如何利用此技术来模拟复杂的酶活性部位,使其最大程度地与天然酶相似。人工模拟酶的研究是生物与化学交叉的重要领域之一,研究人工酶模型可以比较直观地观察与酶的催化作用相关的各种因素,是实现人工合成高性能模拟酶的基础,具有重要的理论和实践意义。

## (六) 生物酶工程技术

### 1. 基因工程、蛋白质工程与酶定向进化技术

运用基因工程技术可以改善原有酶的各种性能,如提高酶的产量、增加酶的稳定性、使酶适应高温或低温环境、提高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等。还可以将原来由有害的、未经批准的微生物产生的酶的基因,或由生长缓慢的、动植物产生的酶的基因克隆到安全的、生长迅速的、产量高的微生物体内。运用基因工程技术还可以通过增加编码该酶的基因拷贝数来提高微生物产酶效率。

DNA 重组技术的发展与应用使不同基因或基因片段的融合可以方便地进行,融合蛋白经合适的表达系统表达后,即可获得由不同功能蛋白拼合在一起而形成的新型多功能蛋白。目前,融合蛋白技术已被广泛应用于多功能酶的构建与研究中,并已显现出较高的理论及应用价值。细胞内蛋白质的合成、泛素酶的发现和蛋白质的相互作用研究,以及蛋白质组学的研究使得人们越来越认识到蛋白质之间的相互作用远比我们想象的更为复杂。

酶定向进化技术(directed enzyme evolution)是模拟自然进化过程(随机突变、基因重组和自然选择),在体外进行基因的人工突变,建立突变基因文库,在人工控制条件的特殊环境下,定向选择得到具有优良催化特性的酶的突变体的技术过程。

酶蛋白的结构与功能关系的研究,为对酶进行再设计与定向加工,发展更优良的新酶或新功能酶奠定了基础。分子酶设计可以采用定点突变和体外分子定向进化两种方式对天然酶分子进行改造。从而使几百万年的自然进化过程在短期内得以实现。采用体外分子定向进化的方法改造酶蛋白已在短短几年内取得了令人瞩目的成就。

酶定向进化具有下列显著特点:①酶的定向进化不需要事先了解酶的结构、催化功能、作用机制等有关信息,应用面广;②通过 DNA 重排、易错聚合酶链反应 PCR、全基因组重排等技术,在体外人为地进行基因的随机突变,短时间内可以获得大量不同的突变基因,建立突变基因文库;③在人工控制条件的特殊环境下进行定向选择,进化方向明确,目的性强,效果显著。

随着研究的不断深入,以及基因组、后基因组时代的到来和重组酶生产技术的开发,必将会有更多的新酶蛋白被发现,并引起酶及其应用领域的新突破。

## 2. 分子酶学

酶的高度催化活性以及酶在工业上应用带来的巨大经济效益,促使人们不断对核酸酶、抗体酶和杂交酶进行深入研究,以扩大和提高酶的使用性能。

核酸酶(nuclease)同时具有信使编码功能和催化功能,实现遗传信息的复制、转录和翻译,是生命进化过程中最简单、最经济、最原始的加工方式。核酸酶具有核苷酸序列的高度专一性,具有很大的应用价值,只要知道某种核酸的核苷酸序列,就可以设计并合成出催化其自我切割和断裂的核酸酶。例如,动植物及人类许多致病病毒的基因组由核酸组成,根据这些基因组的全部序列,就可设计并合成出防治这些疾病的核酸酶,如流感、肝炎、遗传病,甚至癌症、艾滋病等。

抗体酶(abzyme)是一类具有催化能力的免疫球蛋白,其催化效率远比模拟酶高。理论上,只要能找到合适的过渡态类似物,几乎可以为任何化学反应提供全新的蛋白质催化剂——抗体酶。目前抗体酶除了能催化水解反应外,还能催化合成反应、交换反应、闭环反应、异构化反应、氧化还原反应等。此外,与模拟酶相比,抗体酶表现出一定程度的底物专一性和立体专一性,且能在体内执行催化功能,已经应用于酶作用机制的研究、手性药物的合成和拆分、抗癌药物的制备等领域。

目前人们正致力于进一步提高抗体酶的催化效率,期望在深入了解酶的作用机制,以及抗体和酶的结构和功能的基础上,能够真正按照人们的意愿,构建出具有特定催化活性和专一性的、能满足各种不同需求的抗体酶。

杂交酶(hybrid enzyme)是在蛋白质工程应用于酶学研究的基础上兴起的技术,是指由来自两种或两种以上的酶的不同结构片段构建成的新酶。杂交酶的出现及其相关技术的发展,为酶工程的研究和应用开创了一个新的领域。

## 3. 酶标药物

以往,人们只是根据某些化合物对某种疾病的治疗作用作为设计药物的线索,大量合成类似物,并从中进行广泛筛选,试图获得某种疗效最好的药物。如今,人们可以根据药物在生物体内可能的作用目标,如酶或受体,来设计药物,由此获得的药物被称为酶标药物。目前,这种方法已在新药设计中广泛使用。

## 4. 糖生物学和糖基转移酶

糖类是自然界分布最广的生物分子,复合糖类是生物体内除蛋白质和核酸以外的又一类重要的生物信息大分子。复合糖类中的糖链在受精、发育、分化、神经系统和免疫系统恒态的维持方面起着重要作用;也与机体老化、自身免疫疾病、癌细胞异常增殖和转移、病原体感染等生命现象密切相关。

糖生物学中所有重大课题都离不开糖链的生物合成,而糖链的生物合成必须有糖基转移酶(glucosyl transferase)的参与。因此,有关糖基转移酶的研究倍受人们重视,成为酶工程领域的又一个热点课题,有关糖基转移酶的分布和定位、分子结构和家族、分子克隆和表达、酶的调控和缺失等方面的研究,已经取得很多引人注目的成果。

## (七) 酶化学技术

由于酶高效和专一的催化作用,生物能够在常温、常压等温和条件下,生产出许多复杂的

化合物。近年来,随着生物化学、基因工程和发酵工程的发展,学者越来越重视利用酶和微生物细胞来从事化学有机合成,并形成了一个新的研究领域——酶化学技术(chemzyme technology)。

目前,酶在有机合成中的研究和应用的范围不断扩大,已经涉及众多类型的化学反应。例如,C—O键、C—N键、P—O键和C—C键的断裂和形成、氧化反应、还原反应、异构化反应以及分子重排反应等。其中在对映体选择性降价、非对映体选择性裂解和手性化合物的合成与拆分等方面,酶显示了巨大的潜力。在实际应用中,涉及的酶主要是水解酶类、氧化还原酶类、裂解酶类、异构酶类和转移酶类等。

### (八) 酶反应器和酶传感器

以酶或固定化酶为催化剂进行催化反应的装置称为酶反应器。酶反应器的作用是为酶提供适宜的环境,控制酶催化反应的条件和速度,使底物转化为所需要的中间产物或最终产品。酶反应器在常温常压下发挥作用,生产成本、产品质量高。酶反应器是实现工业生物转化的关键设备,广泛应用于食品加工、医药合成、临床检测、生物传感和环境治理等领域。

酶传感器是将酶作为生物敏感基元,通过各种物理、化学信号转换器捕捉目标物与敏感基元之间的反应所产生的与目标物浓度相关的可测信号,实现对目标物定量测定的分析仪器。

与传统分析方法相比,酶生物传感器是由固定化的生物敏感膜和与之密切结合的换能系统组成的,它把固化酶和电化学传感器结合在一起,因而具有独特的优点:它既有不溶性酶体系的优点,又具有电化学电极的高灵敏度和极高的选择性,能够直接在复杂试样中进行测定。因此,酶生物传感器在生物传感器领域中占有非常重要的地位。

研制具有市场潜力的新型酶生物传感器一直是科学家努力的方向。探索与合成更有效的电子介体和性能更优异的聚合物载体材料;寻找方便、高效的酶固定化方法;研究介体和载体材料的结构与性能同酶活性之间关系及电子传递机制;研究固定化酶反应器与多种仪器(HPLC、CE、MS等)联用以及其兼容性,进而开发响应快速、稳定性好、信号可靠、性能优越的酶生物传感器是这一领域重要的发展趋势。

经过100多年的发展,酶工程已经成为生物工程的主要内容,在现代工业生物技术的发展中扮演着越来越重要的角色,并将对全球科技和经济的发展产生重大的推动作用。

## 第二节 食品酶工程的研究内容与前景

### 一、食品酶工程的研究内容

食品酶工程的主要任务是经过预先设计,通过人工操作,获得食品工业所需要的酶,并通过各种方法使酶充分发挥其催化功能。食品酶工程的主要研究内容包括食品工业用酶的生产、酶的提取和分离纯化、酶分子修饰和改造、酶的固定化、酶反应器与酶传感器、酶的非水相催化、极端酶、人工模拟酶及酶的应用等。

食品酶工程研究涉及的主要技术方法有:酶的分离纯化、酶的固定化、酶蛋白的化学修饰、侧链修饰、酶的亲和修饰、酶的化学交联、酶分子的定向改造、酶反应器设计等。这些方



法旨在提高酶的催化活性,提高酶分子的稳定性、专一性和高效性,其中酶的生产、纯化、分子改造是酶工程的关键环节。层析、超离心分离、紫外红外分析、同位素标记、旋光弥散、射线衍射、核磁共振、冷冻电镜等现代大分子分离与鉴定手段的出现为酶的分离纯化奠定了技术基础,极大促进了食品酶学研究的发展。

食品加工是将食物或可食用的农副产品加工成具有营养、美味、安全、方便的食用产品的过程。由于食物都是复合物或混合物,成分随品种和地区性、季节性而各异,大多是活体,水分含量高且易腐败变质,食品在加工过程中会涉及许多复杂理化变化,受热时营养素破坏、颜色改变、质构变差、风味变坏等,这就为酶工程技术的应用提供了机会。

经过几十年的发展,酶工程技术在食品工业中的应用已经相当广泛,包括乳制品工业、肉制品工业、焙烤工业、饮料和果汁工业、淀粉和糖工业、油脂工业及安全检测等领域,促进了食品新产品的开发,有利于降低生产成本和提高产品质量,保障了食品安全。随着生物技术的日益发展,酶的潜力将进一步得到开发。

随着人们对于食品安全品质的日益注重,安全高效的酶制剂越来越受到食品生产者的青睐。不久的将来,酶技术将会更多更广泛地应用于食品领域,为食品工业的发展做出更大的贡献。

## 二、食品酶工程的关键技术与研究前景

### (一) 酶制剂与食品加工过程

食品的组织结构及风味与酶的作用密切相关。不同加工条件下,酶与底物作用效果不尽相同,从而造成食品的不同风味和口感。因此,酶在不同加工过程中的构效关系,是需要研究的关键科学问题。通过整合关键氨基酸及关键位点与酶特性及催化活性的偶联信息,阐明酶分子空间构象与酶特性及催化活性之间的构效关系,为改造酶分子的理化性质提供理论基础。

### (二) 开发食品加工新型酶制剂

食品加工业种类的增多,使酶制剂在食品中的应用越来越广,同时,食品加工过程中涉及高温、低温、高盐、高压、酸性及碱性等条件,现有的酶制剂不能很好地满足加工过程的需求,因此开发适应多种食品加工条件的新型酶具有重要的意义。

近年来在传统筛选技术基础上,宏基因组技术、宏转录组技术和基于基因组序列数据库发现新酶的数据挖掘技术得到了快速的发展。另外,来源于自然生物资源的酶,通常需对其进行分子水平的改造以满足食品加工业的应用条件。同时,加大对计算生物学、统计学、分子生物学方法的交叉结合,探索酶蛋白结构-功能的内在联系,为科学改造酶分子提供理论依据。

### (三) 建立食品酶制剂规模表达体系

表达体系的改变可明显提高酶的生产效率,然而体系内带有的抗性标记,给食品带来安全性问题。食品酶制剂生产中,要求生产菌株必须是食品级微生物,不能有非食品级菌种来源的功能性 DNA 片段。在此背景下,经自然选育获得的未经安全认证的菌株,或利用带有抗性基因的游离质粒表达生产酶制剂的菌株,均无法达到食品级的要求,不能满足食品工业应用和发展的需要。

通过分子生物学和遗传学等手段,开发新型的整合型载体和营养缺陷型载体,以及具有优良性状的新型表达宿主菌株,建立安全、高效、稳定的食品酶制剂生产体系,建立食品酶制剂发酵清洁生产工艺、过程检测、信息与控制的定向优化集成技术体系,提高发酵效率,降低酶