

APPLICATION OF
ENZYMES IN THE
SOYBEAN PRODUCTS

酶在大豆 制品中的应用

江连洲◎编著



中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

APPLICATION OF
ECOTENSIN IN THE
SOYBEAN PRODUCTS

酶在大豆 制品中的应用

1997.11

酶在大豆制品中的应用

江连洲 编著



中国轻工业出版社

图书在版编目(CIP)数据

酶在大豆制品中的应用/江连洲编著. —北京:中国轻工业出版社,2015.8
ISBN 978-7-5184-0346-2

I. ①酶… II. ①江… III. ①酶—应用—大豆—豆制品加工
IV. ①TS214.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 121684 号



责任编辑:苏 杨

策划编辑:马 妍

责任终审:滕炎福

封面设计:锋尚设计

版式设计:宋振全

责任校对:晋 洁

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:北京君升印刷有限公司

经 销:各地新华书店

版 次:2015年8月第1版第1次印刷

开 本:720×1000 1/16 印张:15

字 数:300千字

书 号:ISBN 978-7-5184-0346-2 定价:70.00元

邮购电话:010-65241695 传真:65128352

发行电话:010-85119835 85119793 传真:85113293

网 址:<http://www.chlip.com.cn>

Email:club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

131200K1X101ZBW

||||| PREFACE |||||

本书共分五章,系统地论述了酶技术及其在大豆加工业中的应用,阐述了酶制剂的结构、特性、酶反应和变化规律。全书论述了酶的基础知识,酶的发酵生产,酶的提取与分离纯化,酶、细胞、原生质体固定化,催化酶及酶技术在大豆加工业中的应用等内容,可供相关领域的科研人员参考。

由于编者水平有限，书中不妥之处在所难免，恳请专家、读者批评指正，以便不断进行改进和完善。

目 录

CONTENTS

第一章 绪论	1
第一节 酶的基本概念	1
一、酶的基本概念	1
二、酶催化作用的特点	2
第二节 酶的分类与命名	4
一、酶的分类方法	5
二、蛋白类酶的分类与命名	6
三、核酸类酶的分类与命名	8
第二章 酶的生产与分离纯化	12
第一节 酶的发酵生产	12
一、产酶菌种的基本条件	12
二、产酶菌种常用的微生物	13
三、产酶菌的培养	14
四、酶发酵工艺条件及控制	18
第二节 酶的提取	29
一、细胞破碎	29
二、酶的提取	32
第三节 酶的分离纯化	35
一、沉淀分离	35
二、离心分离	38
三、过滤与膜分离	42
四、层析分离	46
五、电泳分离	58
六、萃取分离	66
七、结晶	70

第四节 酶制剂的浓缩、干燥及保存	71
一、浓缩	71
二、干燥	72
三、保存	73

第三章 酶、细胞、原生质体的固定化	75
-------------------------	----

第一节 酶的固定化方法	75
一、吸附法	76
二、包埋法	77
三、共价偶联法	79
四、交联法	82
五、热处理法	84

第二节 固定化酶的特性	84
一、固定化酶的形状	84
二、固定化酶的性质	84
三、酶活力	84
四、固定化酶的稳定性	85
五、固定化酶的反应特性	85
六、固定化酶在食品工业中的应用	87

第三节 酶催化反应器及类型	88
一、流化床反应器	88
二、固定床反应器	89
三、搅拌罐反应器	89
四、膜反应器	89

第四节 细胞固定化	90
一、细胞固定化的方法	90
二、微生物细胞固定化	93
三、植物细胞固定化	95
四、动物细胞固定化	96

第五节 原生质体固定化	99
一、原生质体的制备	99
二、原生质体固定化	100
三、固定化原生质体的特点	101
四、固定化原生质体的应用	101

第四章 催化酶	103
第一节 淀粉酶	103
一、 α -淀粉酶	103
二、 β -淀粉酶	106
三、 γ -淀粉酶	106
四、异淀粉酶	106
五、葡萄糖淀粉酶	107
第二节 纤维素酶	108
一、纤维素酶及其性质、来源	108
二、天然纤维素的结构及纤维素酶的作用方式	109
三、纤维素酶的生产	109
四、纤维素酶的应用	110
第三节 蛋白酶	111
一、蛋白酶的定義及分类	111
二、蛋白酶的特异性要求	114
三、蛋白酶的应用	116
第四节 磷酸酯水解酶	117
一、磷酸单酯水解酶	117
二、磷酸二酯水解酶	118
第五章 酶技术在大豆加工中的应用	120
第一节 水酶法预处理	120
一、油料水酶法预处理的作用机制	121
二、油料水酶法预处理的基本技术方案	121
三、影响水酶法预处理制油工艺效果的主要因素	123
四、水酶法提取大豆油基本工艺流程	125
五、水酶法油品质比较	125
六、水酶法的国内外研究进展	127
七、工业化前景及面临的主要问题	131
第二节 磷脂酶及固定化脱胶技术	131
一、油脂的酶法脱胶	132
二、大豆磷脂	132
三、磷脂酶	133
四、磷脂酶脱胶	138

五、固定化酶脱胶	139
第三节 粉末磷脂	140
一、大豆粉末磷脂的制备	141
二、大豆粉末磷脂的改性	143
第四节 生物柴油	146
一、生物柴油简介	147
二、酶法制取生物柴油	150
三、生物柴油的应用特点	155
四、国内外生物柴油发展现状与前景	155
五、我国发展生物柴油面临的主要问题	157
第五节 植物固醇	159
一、固醇的结构	159
二、固醇在油脂中的分布与含量	160
三、固醇的性质和用途	162
四、植物固醇酯	162
第六节 蛋白肽	164
一、肽的营养价值及其在食品中的应用	164
二、水酶法生产大豆肽	165
三、蛋白肽的国内外研究现状	171
第七节 大豆蛋白纤维	172
一、大豆蛋白纤维的性能	173
二、大豆蛋白纤维的生产方法	175
三、大豆蛋白纤维的应用及产品特点	177
四、大豆蛋白纤维的发展	178
第八节 大豆油墨	179
一、油墨的基本组成	179
二、油墨的类型	180
三、色料	180
四、连接料	181
五、辅助剂	183
第九节 化妆品	183
一、蛋白质	184
二、磷脂	185
三、大豆异黄酮	186
四、固醇	188

第十节 加氧酶	189
一、单加氧酶	189
二、双加氧酶	191
第十一节 保健品	192
一、大豆多肽	192
二、大豆低聚糖	193
三、大豆膳食纤维	193
四、大豆固醇	194
第十二节 酶法油脂改性技术	194
一、脂肪酶简介	195
二、油脂酶法改性的方法	195
三、油脂酶法改性的产品	195
四、油脂酶法改性的应用	201
第十三节 微生物油脂	205
一、微生物油脂的特点	205
二、微生物油脂的形成	206
三、微生物油脂形成的主要影响因素	207
四、开发微生物油脂的意义	207
五、微生物合成油脂的生物化学机制	208
六、微生物生产油脂的培养过程	213
七、产油脂微生物及其脂质特征	215
八、微生物生产的其他脂质	226
参考文献	229

第一章 绪 论

酶是指一类具有催化功能的生物大分子，具有高度专一性和高效性。利用酶的这些性质，可以催化很多生理生化反应。对酶的理化性质和催化性质理论研究的不断深入，推动了对酶的应用的研究。在日常生产生活中，酶的应用不断发展，进一步促进了对酶催化反应机制的研究。科学技术的发展不仅可以体外产业化生产酶制剂，还可以定向改造酶的催化能力。

第一节 酶的基本概念

一、酶的基本概念

酶是一种由生物活细胞产生的，以蛋白质为主要成分，具有催化作用的生物催化剂。酶存在于动物、植物、微生物中。生物体内的所有化学反应几乎都是在酶的催化下完成的。酶所催化的化学反应称为酶促反应。在酶促反应中被酶催化的物质称为底物（substrate, S），又称基质或作用物；催化反应所生成的物质称为产物（product, P）；酶所具有的催化能力称为酶的“活性”，如果酶丧失催化能力称为酶的失活。

各种细胞在适宜的条件下都可以合成各种各样的酶，因此，可以通过各种方法选育得到优良的微生物、动物或植物细胞，在人工控制条件下的生物反应器中进行生产，从而获得各种所需的酶。生命体生命活动的最主要特征是新陈代谢，一切生命活动都是由代谢的正常运转来维持的，而生物体代谢中的各种化学反应都是在各种酶的作用下进行的。酶是促进代谢反应的物质，如果没有酶，就没有新陈代谢，也就没有生命现象。如果酶反应失控，就会引起代谢紊乱，导致机体患病甚至死亡。

19 世纪 50 年代，巴斯德（Pasteur）用酵母进行酒精发酵研究，认识到在活酵母细胞内有一种可以将糖发酵生成酒精的物质。1878 年库尼（Kuhne）首次将酵母中进行酒精发酵的物质称为酶（enzyme），这个词来自希腊文，其意思是“在酵母中”。1896 年德国学者 Buchner 兄弟发现了用石英砂磨碎的酵母细胞或无细胞滤液，能和酵母细胞一样将 1 分子葡萄糖转化成 2 分子乙醇和 2 分子 CO_2 ，他把这种能发酵的蛋白质成分称为酒化酶（zymase），表明了酶能以溶解状态、有活性状态从破碎细胞中分离出来而非细胞本身，从而说

明了上述化学变化是由溶解于细胞液中的酶引起的。此项发现促进了酶的分离和对其理化性质的探讨,也促进了对有关各种生命过程中酶系统的研究。一般认为酶学研究始于1896年Buchner的发现。1926年美国生物化学家James B. Sumner首次从刀豆中提取出脲酶结晶,并证实这种结晶催化尿素水解,产生 CO_2 和氨,提出酶本身就是一种蛋白质的观点。但这个观点直到获得了胃蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶的结晶后才被普遍接受,并获得1946年的诺贝尔化学奖。现已发现生物体内存在的酶有近8 000种,而且每年都有新的酶发现。迄今为止,数百种酶已纯化达到了均一纯度,大约有200多种酶得到了结晶。由于蛋白质分析分离技术的飞速发展,特别是在运用X射线衍射分析等方法后,人们相继弄清了溶菌酶(129个氨基酸残基)、胰凝乳蛋白酶(245个氨基酸残基)、羧肽酶(307个氨基酸残基)、多元淀粉酶A(460个氨基酸残基)等的结构和作用机制。现在对于细胞基本代谢过程中的各种酶,很多已有比较清楚的认识,但有关遗传过程中的酶还有待深入研究。

1982年,切克(Thomas Cech)等人发现四膜虫(*Tetrahynena*)细胞的26SrRNA具有自我剪接(self-splicing)功能,表明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,阿尔特曼(Sidney Altman)等人发现核糖核酸酶P(RNase P)的RNA部分MIRNA具有核糖核酸酶P的催化活性,而该酶的蛋白质部分(C_5 蛋白)却没有酶活力。RNA具有生物催化活性这一发现,改变了有关酶的概念,被认为是最近二十年来生物科学领域最令人鼓舞的发现之一。为此,T. Cech和S. Altman共同获得了1989年度的诺贝尔化学奖。

近年来,科研人员高度重视DNA重组技术用于酶学的研究,用定点突变法在指定位点突变,可以改变酶的催化活性与专一性。这有助于认识酶的作用机制,并为设计特定需要的酶奠定了基础,如乳酸脱氢酶的专一性可以通过在活性部位引入3个特定的氨基酸侧链突变成苹果酸脱氢酶。

从酶研究的历程可知,对酶的研究一直是沿着两个方向发展的:理论研究方向和应用研究方向。理论研究包括酶理化性质及催化性质的研究。如酶作用的锁钥学说及诱导契合学说的提出,使人们对酶有了更深入的了解;米氏方程的建立开拓了对酶由定性到定量,以及作用机制的探讨,奠定了酶学发展的里程碑;脲酶结晶的获得,不仅弄清了酶的蛋白质本质,而且奠定了现代酶学、蛋白质化学的基础。

二、酶催化作用的特点

酶作为生物催化剂具有一般催化剂的特征,如:①微量的酶就能发挥巨大的催化作用,但其本身在化学反应前后没有质和量的改变;②只能催化热

力学上允许进行的化学反应；③只能缩短化学反应达到平衡所需的时间，而不能改变化学反应的平衡点，即不能改变反应的平衡常数；④对可逆反应的正反应和逆反应都具有催化作用。

同时，酶又具有与一般催化剂不同的个性特征。

(一) 高度的催化效率

酶具有极高的催化效率，一般而论，对于同一反应，酶催化反应的速率比非催化反应的速率高 $10^8 \sim 10^{20}$ 倍，比一般催化剂催化的反应高 $10^7 \sim 10^{13}$ 倍。例如，酵母蔗糖酶催化蔗糖水解的速度是 H^+ 催化此反应速度的 2.5×10^{12} 倍；脲酶催化尿素水解的反应速度是 H^+ 催化作用的 7×10^{12} 倍。酶高度的催化效率有赖于酶蛋白分子与底物分子之间独特的作用机制。

(二) 高度的专一性

与一般催化剂不同，酶对其所催化的底物具有较严格的选择性，即一种酶只能作用于一种或一类底物，或一定的化学键，催化一定的化学反应并生成一定的产物，因此，常将酶的这种特性称为酶的特异性或专一性 (specificity)。例如盐酸可使糖、脂肪、蛋白质等多种物质水解，而淀粉酶只能催化淀粉水解，对脂肪和蛋白质则无催化作用。酶催化作用的特异性取决于酶蛋白分子上的特定结构。根据酶对底物选择的严格程度不同，酶的特异性可大致分为如下三种类型。

1. 绝对特异性

一种酶只能催化一种底物发生一定的化学反应并生成一定的产物。如脲酶只能催化尿素水解成 NH_3 和 CO_2 。

2. 相对特异性

有些酶的特异性相对较差，这种酶可作用于一类底物或一种化学键发生化学变化。如脂肪酶不仅能催化脂肪水解，也可水解简单的酯类化合物。磷酸酶对一般的磷酸酯都有水解作用，蔗糖酶不仅能水解蔗糖，也可水解棉籽糖中的同一糖苷键。

3. 立体异构特异性

一种酶只对某一底物的一种立体异构体具有催化作用，而对其立体对映体不起催化作用。如 L-乳酸脱氢酶只催化 L-型乳酸脱氢转变为丙酮酸的反应，而对 D-型乳酸没有催化作用。 α -淀粉酶只能水解淀粉中的 $\alpha-1, 4$ 糖苷键，而不能水解纤维素中的 $\beta-1, 4$ 糖苷键。

(三) 酶催化活力的可调节性

机体通过对酶活力的调节，控制体内的各种代谢反应，以适应生理功能的需要，促进体内物质代谢的协调统一，保证生命活动的正常进行。例如，酶与代谢物在细胞内的区域化分布；代谢物对酶活力的抑制与激活，对系列

酶中关键酶的调节；酶的含量受酶合成的诱导与阻遏作用的调节等。

(四) 酶活力的不稳定性

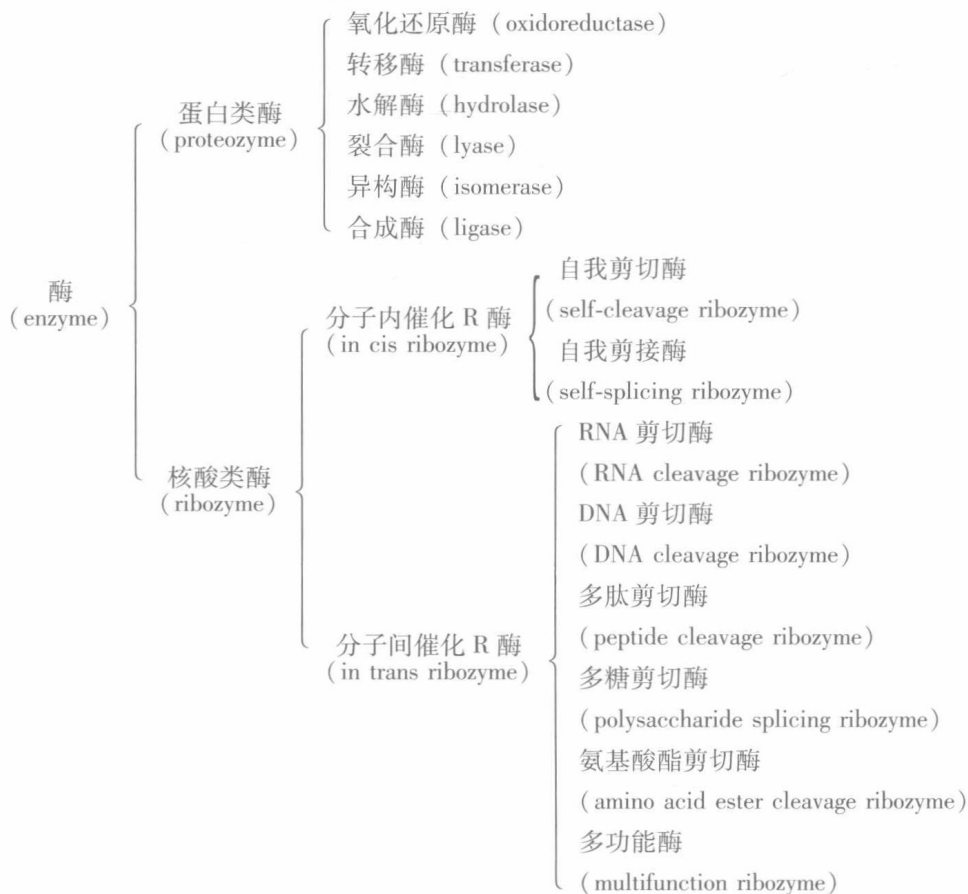
酶是蛋白质，酶促反应要求一定的 pH、温度和压力等条件，强酸、强碱、有机溶剂、重金属盐、高温、紫外线、剧烈振荡等任何使蛋白质变性的理化因素都可使酶蛋白质变性，而使其失去催化活力。

第二节 酶的分类与命名

一个典型的细胞中包含 1 000 ~ 10 000 种不同的酶，现已知的酶近 8 000 种，而且每年都有新发现的酶增加。为了准确地识别某一种酶，避免发生混乱或误解，以便更好地研究和应用酶，必须对酶进行科学的分类和命名。

按其组成不同，酶可以分为两大类型：蛋白类酶和核酸类酶。蛋白类酶指主要由蛋白质组成的酶（P 酶）；核酸类酶指主要由核糖核酸组成的酶（R 酶）。

两大类型的酶有各自的分类方法和命名原则。



一、酶的分类方法

国际酶学委员会成立于 1956 年,受国际生物化学与分子生物学联合会(International Union of Biochemistry and Molecular Biology)以及国际理论化学和应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry)领导。该委员会一成立,第一件事就是着手研究当时混乱的酶的名称问题。在当时,酶的命名没有一个普遍遵循的准则,而是由酶的发现者或其他研究者根据个人的意见给酶定名,这就不可避免地产生混乱。有时,相同的一种酶有两个或多个不同的名称。例如,催化淀粉水解生成糊精的酶,就有液化型淀粉酶(liquefacient amylase)、糊精淀粉酶(dextrine amylase)、 α -淀粉酶(α -amylase)等多个名字。相反,有时一个名称却用以表示两种或多种不同的酶。例如,琥珀酸氧化酶(succinate oxidase)这一名字,曾经用于琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase)、琥珀酸半醛脱氢酶(succinate-semialdehyde dehydrogenase)和 NAD(P)^+ 琥珀酸半醛脱氢酶(succinate-semialdehyde dehydrogenase [NAD(P)^+])等多种不同的酶。有些酶的名称则令人费解。例如,触酶(catalase)、黄酶(yellow enzyme)、间酶(zwischen ferment)等。而高峰淀粉酶(taka-diastase)则来自日本学者高峰让吉的姓氏,他于 1994 年首次从米曲霉中制备得到一种淀粉酶制剂,用作消化剂并命名为高峰淀粉酶。由此可见,确立酶的分类和命名原则,在当时是急需解决的问题。

1961 年国际生物化学联合会酶学委员会推荐了一套新的系统命名方案及分类方法,且已被国际生物化学联合会接受。他们决定每一种酶应有一个系统名称和一个习惯名称。

(一) 酶的国际分类命名系统

1961 年,国际生物化学联合会(International Union of Biochemistry, IUB)酶学委员会(Enzyme Commission, EC),根据各种酶所催化反应的类型,将蛋白质类的酶分为 6 大类:氧化还原酶、转移酶、水解酶、裂合酶、异构酶、连接酶(或合成酶),分别用 1、2、3、4、5、6 来表示。再根据底物中被作用的基团或键的特点,将每大类下分为若干亚类,每一个亚类又按顺序编成 1、2、3、4……等数字。亚类下再分若干亚亚类,仍用 1、2、3、4……编号,在亚亚类下,进而按发现先后编号。酶学委员会对每个酶的分类地位给出一个由 4 个阿拉伯数字组成的编号,每个数字依次代表上述 3 级分类和发现顺序号,数字间用圆点分开,数字前冠以“EC”。每个酶都按规则命名(学名),并推荐一个俗名。酶的俗名通常是由它们的底物名称加上酶字(英文是加后缀“-ase”)而成。例如:EC1.1.1 表示氧化还原酶,作用于 CHOH 基

团,受体是 NAD^+ 或 NADP^+ ;1.1.2表示氧化还原酶,作用于CHOH基团,受体是细胞色素;1.1.3表示氧化还原酶,作用于CHOH基团,受体是分子氧;编号中第4个数字仅表示该酶在亚亚类中的位置。这种系统命名原则及系统编号是相当严格的,一种酶只可能有一个名称和一个编号。一切新发现的酶,都能按此系统得到适当的编号。从酶的编号可了解到该酶的类型和反应性质。

(二) 习惯命名法

1961年以前使用的酶的名称都是习惯沿用的,称为习惯名。其主要依据两个原则:

(1) 根据酶作用的底物命名 如催化水解淀粉的酶称为淀粉酶,催化水解蛋白质的酶称为蛋白酶。有时还加上来源以区别来源不同的同一类酶,如胃蛋白酶、胰蛋白酶。

(2) 根据酶催化反应的性质及类型命名 如水解酶、转移酶、氧化酶等。有的酶结合上述两个原则来命名,如琥珀酸脱氢酶是催化琥珀酸脱氢反应的酶。习惯命名法比较简单,应用历史较长,尽管缺乏系统性,但现在还在被人们使用。

二、蛋白类酶的分类与命名

1961年,国际生物化学联合会(International Union of Biochemistry, IUB)酶学委员会(Enzyme Commission, EC),根据催化反应的性质,归纳出蛋白类酶的分类原则如下。

(1) 按照酶催化作用的类型,将蛋白类酶分为6大类,即第1大类,氧化还原酶;第2大类,转移酶;第3大类,水解酶;第4大类,裂合酶;第5大类,异构酶;第6大类,合成酶(或称连接酶)。

(2) 在每个大类中,按照酶作用的底物、化学键或基团的不同,分为若干亚类。

(3) 每一亚类中再分为若干小类。

(4) 每一小类中包含若干个具体的酶。

根据系统命名法,每一种具体的酶除了有一个系统名称以外,还有一个系统编号。系统编号采用四码编号方法。第1个号码表示该酶属于6大类酶中的某一大类,第2个号码表示该酶属于该大类中的某一亚类,第3个号码表示属于亚类中的某一小类,第4个号码表示这一具体的酶在该小类中的序号。每个号码之间用圆点(·)分开。例如,上述葡萄糖氧化酶的系统编号为[EC1.1.3.4],其中,EC表示国际酶学委员会(Enzyme Commission);第1个号码“1”表示该酶属于氧化还原酶(第1大类);第2个号码“1”

表示属于氧化还原酶的第1亚类,该亚类所催化的反应系在供体的CH-OH基团上进行的;第3个号码“3”表示该酶属于第1亚类的第3小类,该小类的酶所催化的反应是以氧为氢受体的;第4个号码“4”表示该酶在小类中的特定序号。

现将6大类酶简介如下。

1. 氧化还原酶

这类酶催化氧化-还原反应,主要包括脱氢酶和氧化酶。



被氧化的底物(AH₂)为氢或电子供体,被还原的底物(B)为氢或电子受体。系统命名时,将供体写在前面,受体写在后面,然后再加上氧化还原酶字样,如醇:NAD⁺氧化还原酶,表明其氢供体是醇,氢受体是NAD⁺。其推荐名采用某供体脱氢酶,如醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase)(醇+NAD⁺→醛或酮+NADH+H⁺);或某受体还原酶,如延胡索酸还原酶(fumarate reductase)(琥珀酸+NAD⁺→延胡索酸+NADH+H⁺);以氧作氢受体时则用某受体氧化酶的名称,如葡萄糖氧化酶(葡萄糖+O₂→葡萄糖酸+H₂O₂)等。

根据所作用的基团不同,该大类酶分为20个亚类。

2. 转移酶

转移酶催化基团转移反应,即将一个底物分子的基团或原子转移到另一个底物的分子上。



其系统命名是“供体:受体某基团转移酶”。例如L-丙氨酸:2-酮戊二酸氨基转移酶,表明该酶催化氢基从L-丙氨酸转移到2-酮戊二酸。推荐名为“受体(或供体)某基团转移酶”。例如,丙氨酸氨基转移酶(L-丙氨酸+α-酮戊二酸→α-丙酮酸+L-谷氨酸)等。该大类酶根据其转移的基团不同,分为8个亚类。

3. 水解酶

催化底物的加水分解反应。主要包括淀粉酶、蛋白酶、核酸酶及脂肪酶等。



该大类酶的系统命名是先写底物名称,再写发生水解作用的化学键位置,后面加上“水解酶”。例如核苷酸磷酸水解酶,表明该酶催化反应的底物是核苷酸,水解反应发生在磷酸酯键上。其推荐名则在底物名称的后面加上一个酶字,如核苷酸酶(核苷酸+H₂O→核苷+H₃PO₄)等。该大类酶根据被水解的化学键的不同分为11个亚类。