

全国“星火计划”丛书

酶制剂生产技术

陈驹声 主编

胡学智 编

化学工业出版社

全国“星火计划”丛书

酶制剂生产技术

陈驹声 主编

胡学智 编

化学工业出版社

(京)新登字 039 号

全国“星火计划”丛书
酶制剂生产技术

陈鞠声 主编

胡学智 编

责任编辑:徐力生
封面设计:任辉

*

化学工业出版社 出版发行

(北京市朝阳区惠新里3号)

通县京华印刷厂印刷

通县京华印刷厂装订

新华书店北京发行所经销

*

开本787×1092¹/₃₂ 印张14³/₄ 字数335千字

1994年1月第1版 1994年1月北京第1次印刷

印数 1—2000

ISBN 7-5025-1281-0/TQ·724

定价 15.00元

内 容 简 介

本书是《全国“星火计划”丛书》之一。从酶的基础知识讲起，对国内外主要酶制剂生产的菌种、发酵设备、工艺与后处理技术以及近年来的新成果作了详细阐述。为实用起见，本书还附了大量实例，以供生产、科研和应用有关人员参考。

《全国“星火计划”丛书》编委会

主任委员

杨 浚

副主任委员（以姓氏笔划为序）

卢鸣谷 罗见龙 徐 简

委员（以姓氏笔划为序）

王晓方 向华明 米景九 应日珽

张志强 张崇高 金耀明 赵汝霖

俞福良 柴淑敏 徐 骏 高承增

序

经党中央、国务院批准实施的“星火计划”，其目的是把科学技术引向农村，以振兴农村经济，促进农村经济结构的改革，意义深远。

实施“星火计划”的目标之一是，在农村知识青年中培训一批技术骨干和乡镇企业骨干，使之掌握一、二门先进的适用技术或基本的乡镇企业管理知识，为此，亟需出版《“星火计划”丛书》，以保证教学质量。

中国出版工作者协会科技出版工作委员会主动提出愿意组织全国各科技出版社共同协作出版《“星火计划”丛书》。为“星火计划”服务。据此，国家科委决定委托中国出版工作者协会科技出版工作委员会组织出版《全国“星火计划”丛书》，并要求出版物科学性、针对性强，覆盖面广，理论联系实际，文字通俗易懂。

愿《全国“星火计划”丛书》的出版能促进科技的“星火”在广大农村逐渐形成“燎原”之势。同时，我们也希望广大读者对《全国“星火计划”丛书》的不足之处乃至缺点、错误提出批评和建议，以便不断改进提高。

《全国“星火计划”丛书》编委会

1987年4月28日

前 言

酶制剂工业是60年代迅速发展起来的一门新兴工业，工业上使用酶催化代替需要高温高压的化学反应，在节约投资、节约能耗、降低成本、提高产品收率与质量，以及减少三废排放等方面已取得了巨大的成就，酶制剂已是许多国家国民经济中不可缺少的一个产业部门。

我国的酶制剂工业自60年代中期建立第一个专业酶制剂厂——无锡酶制剂厂以来，生产单位已发展到100多个，其品种由早期的一二种增加到现在的十多种，应用范围涉及酿造发酵、食品水产、淀粉加工、制药、制革毛皮、纺织造纸、洗涤剂生产乃至饲料加工、氨基酸、有机酸生产等许多行业，全国酶制剂的总产量约10万吨，并以每年大于5%的速度递增，已形成了轻工业部门的一个重要行业。特别是通过国家七五科技攻关，又填补了一批国家空白，研制出一批新的酶制剂品种，对老品种的发酵和后处理技术也有了进一步的提高。

本书从酶制剂生产的角度出发，结合作者多年从事酶制剂的科研、生产与应用开发的心得，对国内外主要酶制剂生产的菌种、发酵工艺与后处理技术以及近年来的新成就作了详细阐述。酶的生产与应用是密切相关的，由于酶制剂的工业应用一章作者已在本社生物工程丛书“酶工程”一书中作了详细叙述，这里不再重复。

本书可供从事酶制剂的生产、科研和应用有关人员参考或作为大专院校参考教材，希望本书之出版对我国酶制剂工业的

发展能起到添砖铺瓦的作用。

本书中第二章酶学基础由本所工程师吴弘硕士编写，第五章酶制剂发酵和后处理设备一章及第十章中纤维素酶一节由无锡轻工业学院副教授英开国博士撰写。全书25万字的稿件由凌晨及吴弘二位工程师腾写，在此一并表示致谢。

本丛书主编陈猷声先生已于本年春季不幸作古，幸而初稿在他生前已经作了审阅，并按他意见作了修改，这本书的出版也是对陈先生的一种纪念。

编者

1992.11月

目 录

第一章 序言	1
一、酶是生物催化剂	1
二、酶制剂工业发展简史	3
三、国内外酶制剂工业概况	7
四、酶制剂在工农业生产和其他方面的应用	11
五、展望	15
第二章 酶学基础知识	24
一、酶的化学本质和组成	24
二、酶的命名及分类	26
三、酶的催化特性	29
四、酶的活性中心和作用机制	35
五、影响酶催化反应速度的因素——酶促反应动力学	39
六、酶活力的测定	50
第三章 酶制剂的发酵生产	52
一、生产酶制剂的微生物	52
二、培养基的设计	75
三、酶生物合成中的代谢调节	85
四、培养条件对产酶的影响	94
五、酶制剂生产的发酵方式	99
第四章 酶的提取和商品酶制剂的制造	109
一、概述	109
二、酶的抽提和酶液的制备	114
三、酶液的固液分离与净化	119
四、酶液的浓缩与酶的提取	129

五、酶的稳定和保存	162
第五章 酶制剂发酵与后处理设备	165
一、空气除菌设备	165
二、发酵设备	173
三、过滤与离心分离设备	183
四、浓缩设备	192
五、干燥设备	200
六、发酵罐的安装和管道布置	206
第六章 淀粉酶	212
一、前言	212
二、 α -淀粉酶	214
三、淀粉葡萄糖苷酶	245
四、 β -淀粉酶	274
五、解枝酶	288
六、环麦芽糊精葡萄糖基转移酶	298
第七章 蛋白酶	306
一、蛋白酶的分类和底物专一性	307
二、微生物蛋白酶的类型与酶系组成	313
三、蛋白酶的工业生产	319
四、碱性蛋白酶	331
五、中性蛋白酶	342
六、酸性蛋白酶	356
第八章 果胶酶	370
一、果胶酶的分类	371
二、果胶酶的来源及菌种筛选方法	372
三、培养基和培养条件对果胶酶生产的影响	376
四、果胶酶的工业生产	381
第九章 葡萄糖异构酶	386
一、葡萄糖异构酶的性质	387
二、菌种来源	390

三、诱变菌种	393
四、培养基与培养条件	395
五、葡萄糖异构酶的工业生产	400
六、固定化葡萄糖异构酶	406
第十章 其他酶类	416
一、乳糖酶	416
二、葡萄糖氧化酶	423
三、脂肪酶	429
四、纤维素酶	437
参考文献	454

第一章 序 言

一、酶是生物催化剂

酶是生物细胞所产生的一种有机催化剂,其本质是蛋白质。有些酶是由蛋白质和核酸构成的,个别酶则仅仅是一种有催化作用的核酸。

生命体生命活动的大部分化学变化是在酶催化下有条不紊地进行的。如果没有酶,也就没有新陈代谢,也就没有生命现象。酶反应一旦失控,就会引起代谢紊乱,导致机体疾病甚至死亡。

自然界中每一种生物物质的形成和消失都是在相应的酶的作用下完成的。大自然中的碳循环是依靠酶反应来进行的,先由植物通过光合作用将大气中的二氧化碳和水分转变成碳水化合物,并将太阳能贮藏于碳水化合物之中,碳水化合物被动物、微生物作为食物而利用,当生物体死亡后就腐烂而分解,最后重新变为二氧化碳和水进入大气。氮循环也是如此,固氮菌将大气中的氮气转变为细胞中的氨基酸和蛋白质,蛋白质为生物所利用、分解,最后仍变为氮逸入大气,这些变化无不是各种酶催化的结果。

工业上用酶代替化学催化剂进行化学反应,至少有四大优点。

① 酶可以在常温常压下操作,催化效率极高(酶催化所需活化能极低),不需高温高压和强烈的酸碱度,故设备可以简化,投资可以减少,劳动环境得以改善。以淀粉糖化生产葡萄糖

表 1-1 以淀粉糖化生产葡萄糖

	酸 水 解	酶 水 解
原料淀粉	需精制淀粉	可用粗原料
水解率	约90%	98%以上
糖化时间	约60min	24~48h
设备	耐酸(pH2)、耐压(3~4 kgf/cm ² ①)	不需耐酸、耐压设备
糖液质量	有苦味、色素必须进行结晶	无苦味、无色素结晶
收率	结晶收率70%	收率80%以上, 粉糖收率100%

① $1\text{kgf/cm}^2 = 9.8 \times 10^4 \text{N/cm}^2$ 。

糖为例可以充分说明, 见表1-1。

② 酶反应专一性强, 一种酶只能催化一种或一类物质发生化学反应, 因此可以从复杂的原料中加工某一成分成为产品, 或者从某种原料中去除不要的成分, 例如用蛋白酶去除啤酒中引起混浊的蛋白质, 用柚苷酶去除桔汁中有苦味的柚苷而不影响食品质量与风味, 以及从消旋混合物中选择性地同某一光学异构体发生反应等等。

③ 酶本身为蛋白质, 无毒、无味、无臭, 可用于食品加工。它对化学品、温度、pH都十分敏感, 故可用简单办法控制温度、pH等来控制反应进程, 用添加化学品终止酶反应等。例如毛皮用酸性蛋白酶软化, 使胶原中球蛋白消化而使皮纤维松散, 达到软化目的, 但酶作用过度就会引起脱毛, 利用十二烷基硫酸钠可以立即中止反应。

④ 酶来源广泛, 一些动植物器官和微生物都可以作为酶的来源。如从动物胰脏可以提取胰蛋白酶、胰淀粉酶、脂肪酶等; 从木瓜、无花果、菠萝可提取蛋白酶; 麦芽可作为提取淀粉酶的原料等等。微生物酶的生产更是不受气候、季节、地域

的限制。微生物种类繁多，不少于30万种，它可以提供几乎一切来自动植物的酶类；微生物繁殖快，在短时间内可以生产大量的酶，如1L枯草杆菌培养液只需两天就可提取7~8g蛋白酶的结晶，若用牛胰为原料，则数十头牛的胰脏只能制取1g蛋白酶结晶。微生物易变异，通过人工突变或改变培养条件，可以大幅度提高产量，改进酶的性质，使之更适合人的需要。

人类利用酶的历史已非常悠久。远在5000年前巴比伦人已懂得将酒精转变为醋的方法，6000年前巴比伦人已用麦芽酿造类似啤酒的饮料。我国先民利用酶的历史也非常悠久，在古籍中留下了很多记载。如《尚书》“若作酒醴，尔唯曲蘖”，意为若要酿制酒和甘酒，必须要用曲和蘖。曲是长有霉和酵母的谷粒，蘖是发芽的谷子，二者均富含淀粉酶，可以将淀粉水解成糖，再由酵母发酵成酒精。用大豆制酱是我国先民对人类文化的又一伟大贡献。秦汉以前人们已掌握了利用微生物蛋白酶的作用制造美味的豆酱的方法了。《周礼》注曰“酱谓醯醢也”便是佐证。饴糖是利用麦芽淀粉酶作用于米淀粉使之转变成麦芽糖而成的。《诗经·大雅》在为3000多年前周文王歌功颂德时提到了“饴”字。《说文解字》中说：“饴，米蘖煎也。”意即饴糖是用米饭同麦芽一起加热煎熬而成。《齐民要术》中对饴的制法阐述尤详。以上这些说明了人们在古代还不知道酶是什么时，就早已在实际上凭着丰富的实践经验成功地运用着酶的催化反应。

二、酶制剂工业发展简史

酶的概念是19世纪前后人们通过胃肠消化作用、麦芽的糖化作用和酵母的酒精发酵作用的研究而逐渐形成的。在此之前人们以为食物在胃中的消化是靠胃壁蠕动的机械碾磨。1752年有人将鹰嘴装在金属笼笼内，给老鹰吞下，经过一定时间取出

小笼，肉片不见了。于是认识到胃液中有某种可以消化肉类的物质存在，动摇了蠕动消化的说法。19世纪科学启蒙时代的一些科学家围绕酵母酒精发酵的问题展开了一场激烈的论战。以化学家利比希（Libig, 1803~1873）为首为一派认为酵母发酵糖成为酒精纯系一种有机化学反应，而细菌学家巴斯德（1872~1895）则认为发酵是由于活酵母细胞生命活动的结果。这种争论旷日持久长达半个世纪。直到巴氏死后三年即1897年，德国化学家彪赫纳（Büchuer）兄弟偶然发现将酵母用砂磨碎后的无细胞提取液加到蔗糖溶液中同样引起发酵，这才认识到在没有细胞存在下，同样可以引起发酵的事实，才结束了这场历史上有名的争论。这是认识上的一个飞跃，它告诉我们这种引起发酵的因子虽然由活细胞所产生，但在离开细胞后仍可发挥作用。这对以后酶制剂工业的发展起了重要的作用。对于酵母中那种引起发酵的因素，早在1876年屈内（Kühne）已给它创造了一个名字，叫“Enzyme”。此字起源于希腊字，由“在（En）”和“酵母（Zyme）”二字组成，日语中译为“酵素”，我们称之为“酶”，意为酶是在酵母之中。业已证明，酵母细胞中确实存在着大量的酶。“酶”字创立至今已有100多年。

划时代的发现是宋纳（Sumner, 1926）从刀豆中提取出尿酶的结晶，并证明是一种蛋白质。这为酶化学和蛋白质化学的发展奠定了基础。酶作为商品可追溯到100年前，1833年Payen从麦芽抽提液中用酒精沉淀出白色沉淀，可使2000倍的淀粉液化，取名“Diastase”，并出售用于棉布退浆。1874年丹麦报纸出现了出售凝乳酶的广告。

酶制剂工业是在以下一些成就中揭开序幕的。

首先是1894年高峰让吉Takamin用麸皮培养米曲霉制造淀

粉酶作为消化剂，建立高峰制药厂——现Miles公司前身。

1907年德国化学家Röhm 用胰酶代替狗粪软化皮革，建立Röhm Haas酶厂。

1911年美国W allerstein 用木瓜酶澄清啤酒，建立Wallerstein制药厂。

1913年法国Bioden与Effront 发明用枯草杆菌生产 α -淀粉酶，以其耐热性好取代了麦芽淀粉酶用于棉布退浆，创建了Rapedase工厂（现并入Gist Brocades公司）。

30年代果胶酶开始用于果汁加工。

但本世纪头几十年中，酶制剂工业尚处于开发阶段，无惊人的进展。随着生化技术不断进步，新酶的不断发现和开发，人们对于酶作为工业催化剂的价值有了认识，并且了解到许多酶是可以用微生物生产的以后，特别是第二次世界大战后抗生素工业兴起，通风搅拌发酵技术也用到酶制剂生产上后，酶制剂工业才有了飞跃发展，进入了工业化大生产的阶段。

近代酶制剂工业的发展可划分为三个里程碑。第一个是50年代末糖化酶用于葡萄糖生产，革除了沿用100多年的酸水解工业；60年代中期欧洲加酶洗衣粉风行，几乎60%以上洗涤剂加酶，使碱性蛋白酶生产一哄而上。这些成就迎来了酶制剂工业的大发展。第二个里程碑是70年代末固定化酰化酶用于DL-氨基酸拆分，特别是固定化葡萄糖异构酶用于生产果葡糖浆，开创了利用淀粉生产食糖的新途径。现在美国果葡糖浆产量已达500万吨，几乎占食糖消费量的50%，全世界果葡糖浆产量已达1000万吨。果葡糖浆的兴起带动了整个食品工业和社会经济的发展。现在酶制剂工业已进入了第三个里程碑，即各种试剂酶用于遗传工程、蛋白质工程，这些应用研究的成就，将给21世纪的工农业生产、环境保护以及医药卫生事业带来重大

影响。

作为一种催化剂，在催化过程中自身不发生变化，可以反复使用。但是酶是水溶性的，不易回收，其提纯比较困难，在水溶液中也并不甚稳定，有些酶反应尚需腺三磷及辅酶，后者价格很贵，这些都限制了酶的使用范围。若用物理或化学方法将酶与不溶性载体结合而固定化，就可以从反应体系中回收而再用，并且可以装入反应器进行连续化反应，那么不仅酶不至于进入产品，而且可以节约酶的用量，有利于产品的提纯，反应器也可大大缩小。尤其对分析试剂用酶更适宜用固定化酶。这种固定化酶的研究在70年代达到了高潮，已有近十种固定化酶用于工业。特别是固定化葡萄糖异构酶，全世界一年内固定化葡萄糖异构酶生产的果葡糖浆达到了1000多万吨，成为固定化酶最成功的典范。

随着酶制剂工业的日益发展，新酶的不断开发，其应用涉及了工业生产的许多领域。1971年美国召开第一届国际酶工程会议，把酶的大规模生产，分离提纯，固定化技术，酶反应器设计以及酶的工业应用等的研究都归入酶工程的范围。

酶工程在生物技术中是发展得最快、成就最显著的生物技术，它与生物工程中的遗传工程、细胞工程以及发酵工程之间的关系如图1-1所示。

酶制剂工业是酶工程的一个经济实体，其内容也将随着酶工程的发展而不断更新，不断发展。

归纳一下当前酶的应用，可分为以下七个方面。

- ① 作为一种新的工业催化剂，
- ② 用于食品加工，
- ③ 用作医药，
- ④ 用作分析试剂，