

生物工程丛书



酶 工 程

熊振平等编著

化 学 工 业 出 版 社

内 容 提 要

本书是一本酶工程知识的入门书。比较系统地介绍了酶工程。全书深入浅出地叙述了酶工程的概论、酶的生产、酶的分离与纯化、固定化生物催化剂、酶的化学修饰、酶反应器以及酶工程在食品、轻化工、医学、能源、环保等方面的应用。

可作为广大读者了解酶工程知识，特别是供从事食品、医学、酶学、生物化学、发酵、化工等专业的人员学习，也可供大专院校有关的教学人员、研究生与高年级学生参考。

生 物 工 程 丛 书

酶 工 程

熊振平 等编著

责任编辑：尹建国 杨立新

封面设计：季玉芳

*

化学工业出版社出版

(北京和平里七区十六号楼)

化学工业出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

*

开本787×1092^{1/32}印张13^{1/8}字数301千字

1989年9月第1版 1989年9月北京第1次印刷

印 数 1-2,600

ISBN 7-5025-0490-7/Q·2

定 价 5.40 元

《生物工程丛书》编辑委员会

主任 焦瑞身 (中国科学院上海植物生理研究所)

委员 (按姓氏笔划排列)

李载平 (中国科学院上海生物化学研究所)

李致勋 (复旦大学遗传学研究所)

陈驹声 (上海科技大学生物工程系)

俞俊棠 (华东化工学院生化工程研究所)

熊振平 (上海医药工业研究所)

前 言

当前，以生物工程（生物技术）、微电子、新材料、新能源、海洋工程和空间技术等为主要内容的新技术革命浪潮，正在以万钧之势席卷世界各国，迅猛发展。在新技术革命中，生物工程又是各国优先发展的领域，它不仅在近期内能提供新的产业，且为解决人类社会所面临的许多重大问题，如人口和食物，能源和资源，环境和保健等问题发挥重要作用，展示美好的前景。

生物工程的发展将对各国的经济发展带来重大的影响。例如经济发达国家，正在致力于可再生能源（生物物质）利用，企图代替石油进口，这将减少对石油能源的依赖。又如各国利用固定化菌体或固定化酶大规模生产高果糖浆代替蔗糖，使世界市场糖的价格大幅度下降。再如巴西，开展以酒精代替石油的十年计划，到目前为止，全国汽车所需燃料的43%已使用酒精，而且，由于发酵法制酒精这项生物工程的发展，为巴西创造了500万人新就业机会。显然，对巴西人民生活和国家经济发展起到引人注目的作用。

我国从“六五”计划期间就把生物工程作为重点发展的新技术之一，而且在许多方面已经取得可喜的进展；“七五”计划的规模更加宏大。随着各项计划的落实，生物工程将在医药、农业、工业、食品等方面开拓新的领域，创造巨大的社会效益和经济效益，为国民经济开辟新的原料途径，甚至导致新的产业结构。例如应用农副产品，生物物质代替矿产资源等。我国

幅员广大，具有丰富的生物资源，这是发展生物工程基本条件之一。毫无疑问生物工程的发展将为我国十亿人民的物质生活和四化建设大业发挥巨大作用。

为了我国生物工程的发展，以具有一定科技知识的读者为主要对象，出版一套全面介绍生物工程的丛书是十分必要的。

《生物工程丛书》的目的就是配合这一需要，介绍当代国内外生物工程几个活跃领域的情况；既深入浅出地介绍基础知识和近期的应用，也展示今后的发展方向。当代生物工程一般分为微生物工程、酶工程、细胞工程和基因工程，本丛书均有专册分别予以介绍。为了使读者概括了解当代生物工程的内容，专有一册《生物工程概论》以飨读者。

再者，生物工程是一个知识和技术密集的技术科学，它的基础学科是微生物学，生物化学，遗传学以及生化工程等。因此，我们又邀请有经验的专家编写了《微生物学》、《生物化学》和《生化工程》，作为学习生物工程的基础，希望对读者了解生物工程各个方面是有益的。

本丛书是编辑部邀请国内活跃在生物工程各个领域的专家编写，他们或从事科研，或进行实际生产，都是在百忙之中进行写作，大家的共同愿望是希望这套丛书对有志于从事生物工程工作的读者有所裨益，为我国生物工程的发展出一份力。

焦瑞身

一九八六年

编者的话

酶工程又称酶技术，它是环绕着酶所特有的生物催化性能使其在工业、农业、保健事业及其它各方面发挥作用的应用技术。

酶的基本化学本质是蛋白质，来自生物细胞。生物体内的一切化学反应几乎都是在酶的催化下进行的。因而，生物体、生物细胞及其各种组分形成体系的功能在各行各业的应用，其本质上都是各种酶技术及酶反应的应用。生物技术中的基因操作技术、细胞融合技术、微生物细胞及动植物细胞的培养技术也都是在人工调控或通过细胞调控的以酶技术及酶反应为主的基础上进行的。

结合生物技术现阶段的发展，我们可以大致将生物技术的工作内容分为基因工程、细胞工程、酶工程及发酵工程。但从长远的发展眼光来看，酶技术将在生物技术的各个方面显得越来越重要，并逐步取代或融合于一些其它的领域。例如固定化活细胞技术就已在或将在某些领域取代一些传统的发酵技术，如酒精、酿酒、甾体激素转化及氨基酸的生产等。作为传统的生物反应器——发酵罐也将逐步地、部分地被第二代生物反应器——酶反应器所取代。

就目前来看，要对酶技术作一个全面介绍是比较困难的。且由于篇幅所限，本书仅能将当代酶技术的一些基本情况作一概述，希望读者能通过这本书对当代的酶技术有一个概括的了

解。

为此，在编写本书时，我们把它分为三大部分。第一大部分即第一章，即酶学概论。从学科的角度对酶学作一个简单的介绍，为本书后面的论述提供一些必需的基本知识。第二大部分包括五章（第二章至第六章）。按照酶技术的发展次序及酶技术中的共同点作一个系统的介绍，从酶的来源开始到分离提纯、固定化技术、化学修饰技术及酶反应器。在第二章酶的生产中，结合酶的特点，着重对作为主要酶源的微生物产生菌的筛选、育种及培养方法作了一般的介绍，并对工业性大生产中酶的提取粗制技术作了较详细的介绍。第三章酶的分离与纯化中，由于提取粗制技术已在第二章中论及，故着重在分离纯化等精制技术方面，特别是一些新技术的介绍。谈的内容虽是酶的分离提纯，事实上也就是大多数生物活性大分子的分离纯化技术。这是当前“后处理工艺”的核心，是如何能高产率、高质量地把通过“上游”工作得到的新菌株及新细胞株的发酵液或培养液中的有效物质分离出来的技术。在相当程度上，生物技术在工业上的应用有赖于这方面的技术的开发。第四章固定化生物催化剂则着重介绍酶及细胞的固定化技术及固定化后的酶学性质，特别是动力学方面的性质。固定化技术是酶技术现代化的一个重要里程碑，是克服一些天然酶在工业应用方面的不足之处而又发挥酶反应特点的突破性技术。可以说，没有固定化技术的开发，就没有现代的酶技术。酶的化学修饰及酶反应器的开发在很大程度上也是在固定化技术的带动下发展起来的。接着第五章酶的化学修饰中主要谈的是用一些化学反应修饰酶分子上的一些氨基酸残基以改变天然酶的酶学性质，使其更稳定，更能适应不同的温度及pH，更能抵抗蛋白酶及抑制剂的影响。同时，又可以改变天然酶的动力学常数（如米氏常数、

抑制常数等)及其在体内的抗原性,定向性等。这些手段是目前能应用在工业上的比较有效的技术。当然,酶结构的改造绝不仅是通过化学修饰的手段,现在已有不少研究人员利用基因操作技术,如直接使基因某个部分产生突变从而改变酶蛋白的氨基酸组成,或将两个酶的基因连结起来以产生具有多功能的酶,这些手段皆可改变天然酶的底物特异性、稳定性、pH作用曲线、催化性质以及酶分子的折叠途径和亚基组成。这类工作皆处于实验室探索阶段,暂不在第五章叙述。第六章酶反应器主要是从总的生物反应器的角度来介绍各种酶反应器的设计和类型。发酵罐是生物反应器的传统形式,它是利用细胞增殖过程中的酶反应来生产产品的,基本原理都是一样的。为了便于介绍,在反应器的设计方面,我们并没有严格区分发酵罐及酶反应器,以便读者有个整体的概念。

第三大部分也包括了五章(第七章至第十一章),介绍了酶技术在各行各业方面的应用情况,即第七章酶技术在半合成抗生素工业上的应用;第八章酶技术在食品和轻化工业方面的应用;第九章酶技术在医学方面的应用;第十章酶技术在能源开发中的应用及第十一章酶技术在环境工程上的应用。

当然,酶技术的应用不仅仅是本书已经提到的几个方面,而已提到的几方面也因篇幅所限只能着重提到比较成熟的、研究或应用得较广的方面。特别是酶技术在核酸及核酸衍生物的生产方面、在化工原料及石油化工方面及在甾体激素和维生素的生产方面都有待今后的补充。

酶技术也像生物技术中的其它领域一样,都是基于学科的发展而开发出来的应用技术,本书的编写也就着重在应用方面,对一些理论性问题则仅触及而不作深入的论述。

最后,本书系由各方面比较熟悉各专业的同志分头编写的,

风格及论述的方式自有不同，出于尊重各专家的原有风格，我们不强求统一。由于编写的时间较匆忙，难免有不足甚至出差错之处，尚希望读者谅解并不吝指教，以便在将来改正。

熊振平

一九八七年一月

目 录

第一章 酶学概论	1
1.1. 酶的结构和功能	2
1.1.1. 酶催化功能的结构基础	3
1.1.2. 酶的催化机制	8
1.2. 酶的专一性和有关学说	12
1.2.1. 专一性的分类	12
1.2.2. 锁钥学说和诱导契合学说	15
1.3. 酶反应动力学	17
1.3.1. 单底物动力学	17
1.3.2. 双底物动力学	24
1.3.3. 酶浓度对酶反应速度的影响	28
1.3.4. pH对酶反应速度的影响	28
1.3.5. 温度对酶反应速度的影响	29
1.3.6. 抑制剂对酶反应速度的影响	29
1.3.7. 激活剂对酶反应速度的影响	38
1.4. 酶的分类及命名	39
1.4.1. 习惯命名法	39
1.4.2. 国际系统命名法和酶的分类	39
1.5. 酶活的测定	41
1.5.1. 酶活单位和酶的比活	41
1.5.2. 影响酶活测定的因素	42
1.5.3. 常用的酶活测定方法原理	43
参考文献	45
第二章 酶的生产	46

2.1. 菌种的分离筛选与遗传育种 ^[1~8]	46
2.1.1. 含菌样品的采集	49
2.1.2. 富集培养	50
2.1.3. 菌种纯化	50
2.2. 菌种变异 ^[9~13]	52
2.2.1. 用物理或化学方法诱变	52
2.2.2. 用基因操作技术提高菌株的产酶能力	54
2.3. 酶的生产 ^[14~26]	55
2.3.1. 原料	56
2.3.2. 培养方法	58
2.3.3. 影响酶产生的一些因素	60
2.3.4. 酶制剂的工业提取法	65
参考文献	69
第三章 酶的分离与纯化	71
3.1. 引言 ^[1~12]	71
3.1.1. 概述	71
3.1.2. 酶分离提纯技术的分类	72
3.2. 液-液双水相抽提 ^[1~2,5,13~22]	73
3.2.1. 原则	74
3.2.2. 液-液双水相抽提技术的应用特点	79
3.2.3. 发展	81
3.3. 凝胶过滤 ^[1,2,4,23~26]	84
3.3.1. 原理	84
3.3.2. 影响分离效果的因素	87
3.3.3. 应用	92
3.4. 疏水层析 ^[1,2,27~33]	92
3.4.1. 疏水层析介质	93
3.4.2. 疏水层析应用的方法及其影响因素	95
3.4.3. 应用	99

3.5. 染料配基层析 ^[2,22,26,37,38]	100
3.5.1. 概述	100
3.5.2. 染料配基的化学结构、性质与作用机理	104
3.5.3. 影响染料层析的应用及其选择性的因素	107
3.6. 硼酸盐配基层析 ^[2,39,40]	110
3.6.1. 原理	110
3.6.2. 硼酸盐配基层析的进展——“肩背层析”(piggyback chromatography)	113
3.6.3. 应用	114
3.7. 亲和层析 ^[1,2,4,22,26,33~36]	116
3.7.1. 发展和原理	116
3.7.2. 载体介质	118
3.7.3. 配基 (ligand)	119
3.7.4. 手臂 (spacer arms)	121
参考文献	122
第四章 固定化生物催化剂	125
4.1. 酶的固定化方法 ^[1~4]	127
4.1.1. 概述	127
4.1.2. 利用天然高分子载体的固定化	136
4.1.3. 利用无机载体的固定化	142
4.1.4. 利用合成高分子载体的固定化	147
4.2. 辅酶的固定化方法 ^[2,5]	154
4.2.1. 辅基的固定化	155
4.2.2. 辅酶的固定化	158
4.3. 固定化酶的性质 ^[1,2,4,6]	165
4.3.1. 固定化酶基础动力学	166
4.3.2. 温度影响	172
4.3.3. pH的影响	174
4.3.4. 稳定性	175

参考文献	180
第五章 酶的化学修饰	181
5.1. 前言	181
5.1.1. 为什么要搞酶的化学修饰	181
5.1.2. 酶的化学修饰的发展	183
5.2. 酶化学修饰的基本原理	183
5.2.1. 如何增强酶天然构象的稳定性与耐热性	183
5.2.2. 如何保护酶活性部位与抗抑制剂	184
5.2.3. 如何维持酶功能结构的完整性与抗蛋白水解酶	185
5.2.4. 如何消除酶的抗原性及稳定酶的微环境	185
5.3. 酶化学修饰的方法及修饰剂	187
5.3.1. 糖及糖的衍生物	188
5.3.2. 聚乙二醇	193
5.3.3. 合成大分子多聚物	200
5.3.4. 具有生物活性的大分子物质	203
5.3.5. 蛋白质类与其它	205
5.3.6. 小分子修饰剂与其它	211
5.4. 修饰酶的性质特征	214
5.4.1. 热稳定性	214
5.4.2. 抗各类失活因子	216
5.4.3. 抗原性	216
5.4.4. 体内半衰期	217
5.4.5. 最适pH	218
5.4.6. 酶学性质的变化	220
5.4.7. 对组织的分布能力	220
5.5. 酶化学修饰的前景	222
参考文献	223
第六章 酶反应器	226
6.1. 引言 ^[1~6,7,12]	226

6.2. 生物反应器的特点 ^[1~6]	228
6.3. 生物反应器的设计 ^[1~6,8,9]	230
6.4. 酶反应器的类型 ^[10,11,13~21]	233
6.4.1. 膜反应器	233
6.4.2. 液固反应器	238
6.4.3. 气液固三相反应器	240
6.5. 第二代生物反应器的发展 ^[22~26]	241
6.5.1. 概述	241
6.5.2. 辅助因子的再生	244
6.5.3. 两相或多相反应器	247
6.5.4. 组合反应器	250
6.5.5. 多酶反应器	253
参考文献	255
第七章 酶技术在半合成抗生素工业上的应用	257
7.1. 在半合成青霉素方面的研究与应用	257
7.1.1. 酶法裂解青霉素制备6-氨基青霉烷酸 (6-APA) ...	257
7.1.2. 酶法缩合制备半合成青霉素	261
7.2. 在头孢菌素方面的研究与应用	263
7.2.1. 酶法制备7-ACA和7-ADCA的研究	264
7.2.2. 酶法缩合制备半合成头孢菌素	268
7.2.3. 头孢菌素C ₃ 位上脱乙酰基反应	275
7.3. 在半合成抗生素侧链制备上的应用 ^[12]	277
7.4. 其它	278
参考文献	280
第八章 酶在食品和轻化工业方面的应用	283
8.1. 概述	283
8.2. 酶用于食品加工 ^[5,11,16,20,21]	287
8.2.1. 淀粉加工	287
8.2.2. 乳品工业 ^[16,20,21]	300

8.2.3. 酶用于果蔬加工 ^[13,16,20]	302
8.2.4. 酶用于酿酒工业 ^[3,15,22,23]	305
8.2.5. 酶用于制糖工业 ^[20]	306
8.2.6. 酶用于肉类和鱼类加工	308
8.2.7. 酶用于蛋品加工	309
8.2.8. 酶用于面包烘焙食品制造 ^[20,21]	311
8.2.9. 酶用于食品保藏	312
8.2.10. 酶用于甜味剂制造 ^[11]	312
8.2.11. 固定化酶在食品工业上的应用	314
8.3. 酶在氨基酸生产上的应用 ^[11,25]	315
8.3.1. 合成DL-氨基酸的光学拆分	315
8.3.2. L-赖氨酸的酶法合成	317
8.3.3. 由富马酸酶法合成天门冬氨酸	318
8.3.4. 酶法合成L-丙氨酸	319
8.3.5. 酶法合成色氨酸	320
8.3.6. 苯丙氨酸的酶法合成	321
8.4. 有机酸的酶法合成 ^[11,27]	322
8.4.1. 苹果酸的酶法合成	322
8.4.2. 酒石酸的酶法合成	323
8.4.3. 长链二羧酸	324
8.4.4. 用酶水解腈生产相应有机酸	324
8.5. 酶在轻化工业中的应用 ^[11,3,29]	325
8.5.1. 酶用于洗涤剂制造 ^[28]	325
8.5.2. 酶用于制革毛皮工业 ^[29]	327
8.5.3. 酶在造纸和感光胶片工业上的应用	328
8.5.4. 酶用于牙膏、化妆品的生产	328
8.5.5. 酶用于制造明胶和胶原纤维	329
8.5.6. 酶用于废物废水处理和饲料加工	329
8.5.7. 酶用于纺织工业	330

8.6. 酶的工业生产与应用有关的安全法规	331
参考文献	334
第九章 酶技术在医学方面的应用	336
9.1. 引言	336
9.2. 药用酶	337
9.2.1. 药用酶分类、剂型及其给药方式	337
9.2.2. 药用酶的固定化技术	339
9.3. 酶与生物医学工程	346
9.3.1. 体外循环装置 ^[8,14]	346
9.3.2. 植入式微型输入泵 ^[10]	349
9.3.3. 医学工程中抗血栓等问题	350
9.3.4. 酶控药物释放系统 ^[13]	351
9.4. 诊断用酶 ^[18]	353
9.4.1. 酶的来源及纯度要求	353
9.4.2. 酶的反应系统的建立	358
9.4.3. 酶盒的研制	366
9.4.4. 酶电极	367
9.4.5. 酶标免疫测定试剂	370
参考文献	376
第十章 酶技术在能源开发中的应用	378
10.1. 利用酶技术从生物质生产燃料 ^[1~7]	379
10.1.1. 生产乙醇	379
10.1.2. 生成氢气	380
10.1.3. 生产甲烷	381
10.1.4. 微生物电池	383
10.2. 在石油和铀资源开发中的应用 ^[8,9]	385
10.2.1. 石油勘探	385
10.2.2. 二次采油	386
10.2.3. 石油微生物精炼	386

10.2.4. 利用细菌浸溶贫铀矿和废铀矿	387
参考文献	388
第十一章 酶技术在环境工程上的应用	389
11.1. 酶在环境净化中的作用	389
11.1.1. 生物法净化废水	389
11.1.2. 生物净化过程和机制	391
11.2. 环境工程中酶技术的应用	396
11.2.1. 用酶法提高净化效率	396
11.2.2. 应用固定化酶处理废水	397
11.2.3. 脱氢酶检测生物活性和废水可生化性	399
11.2.4. 酶电极在环境监测中的应用	401
参考文献	402