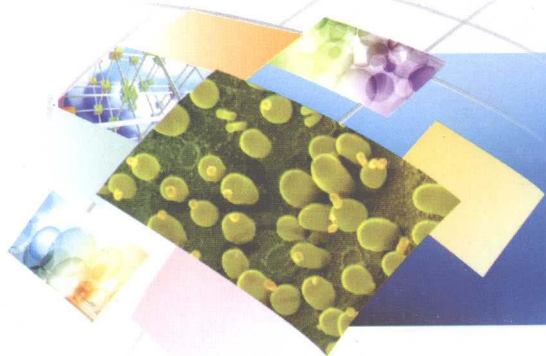





普通高等教育食品类专业“十二五”规划教材  
高等学校食品类国家特色专业建设教材

# 食品酶学

SHIPIN MEIXUE



曹健 师俊玲◎主编

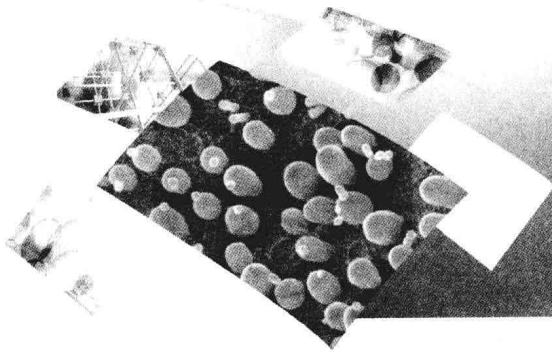
 郑州大学出版社



普通高等教育食品类专业“十二五”规划教材  
高等学校食品类国家特色专业建设教材

# 食品酶学

SHIPIN MEIXUE



曹健 师俊玲◎主编

 郑州大学出版社

## 内容提要

本书除绪论和附表以外,全书共分为四个部分。第一部分为酶学基础知识,包括酶学基础理论、酶的生产、固定化酶与固定化细胞等基本理论与技术。第二部分介绍了食品工业常用酶,包括在食品加工、储藏保鲜、改善食品品质等方面应用的主要酶类,如淀粉酶、蛋白酶、纤维素酶、果胶酶、酯酶等,并介绍了这些酶的基本特性、生产方法及应用等。第三部分为酶与食品质量安全,主要介绍了食品中酶产生的质量安全问题及其控制,酶法分析在食品安全中的应用等方面的知识。第四部分为食品酶学实验,以实验的方式介绍了食品工业中一些常用酶类酶活力的规范化测定与操作。

本书可作为高等院校生物类、食品科学类专业本科生、硕士研究生的教材或参考书,亦可供轻工、食品、粮油、生物等行业的科研人员和企业技术人员查阅参考。

## 图书在版编目(CIP)数据

食品酶学/曹健,师俊玲主编. —郑州:郑州大学出版社,2011.2  
普通高等教育食品类专业规划教材  
ISBN 978-7-5645-0305-5

I. ①食… II. ①曹…②师… III. ①酶学-应用-食品工业-高等学校-教材  
IV. ①TS201.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 235166 号

郑州大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

出版人:王 锋

全国新华书店经销

郑州文华印务有限公司印制

开本:787 mm×1 092 mm

印张:25.75

字数:625 千字

版次:2011 年 2 月第 1 版

邮政编码:450052

发行部电话:0371-66966070

1/16

印次:2011 年 2 月第 1 次印刷

---

书号:ISBN 978-7-5645-0305-5

定价:41.00 元

本书如有印装质量问题,由本社负责调换



## 编写指导委员会

(按姓氏笔画排序)

- |     |                        |
|-----|------------------------|
| 王茂增 | 河北工程大学农学院副教授           |
| 艾志录 | 河南农业大学食品科学技术学院教授       |
| 刘全德 | 徐州工程学院食品生物工程学院副教授      |
| 刘延奇 | 郑州轻工业学院食品与生物工程学院教授     |
| 孙俊良 | 河南科技学院食品学院教授           |
| 权伍荣 | 延边大学农学院食品科学系教授         |
| 张凤宽 | 吉林农业大学发展学院生物食品学院教授     |
| 张进忠 | 安阳工学院生物与食品工程学院教授       |
| 李新华 | 沈阳农业大学食品学院教授 博导        |
| 汪东风 | 中国海洋大学食品科学与工程学院教授 博导   |
| 肖安红 | 武汉工业学院食品科学与工程学院教授      |
| 邵秀芝 | 山东轻工业学院食品与生物工程学院教授     |
| 陆启玉 | 河南工业大学粮油食品学院教授 博导      |
| 陈从贵 | 合肥工业大学生物与食品工程学院教授      |
| 岳田利 | 西北农林科技大学食品科学与工程学院教授 博导 |
| 侯玉泽 | 河南科技大学食品与生物工程学院教授      |
| 胡耀辉 | 吉林农业大学食品科学与工程学院教授 博导   |
| 章超桦 | 广东海洋大学食品科技学院教授 博导      |
| 蔺毅峰 | 运城学院生命科学系教授            |
| 阚建全 | 西南大学食品科学学院教授 博导        |



Food  
本书作者

主 编 曹 健 师俊玲

副 主 编 樊明涛 杨锡洪

编写人员 (按姓氏笔画排序)

|     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|
| 师俊玲 | 安广杰 | 杜木英 | 杨锡洪 |
| 吴兴泉 | 沈汪洋 | 郑 艳 | 胡元森 |
| 夏杏洲 | 曹 健 | 樊明涛 |     |



近年来,我国高等教育事业快速发展,取得了举世瞩目的成就,为我国经济社会的快速、健康和可持续发展以及高等教育自身的改革发展做出了巨大贡献。但是,高等教育质量还不能完全适应经济社会发展的需要,迫切需要进一步深化高等学校教育教学改革,提高人才培养的能力和水平,更好地满足经济社会发展对高素质创新性人才的需要。为此,国家实施了高等学校本科教学质量与教学改革工程,进一步确立了人才培养是高等学校的根本任务,质量是高等学校的生命线,教学工作是高等学校各项工作的中心的指导思想,把深化教育教学改革,全面提高高等教育教学质量放在了更加突出的位置。

专业建设、课程建设和教材建设是“质量工程”的重要组成部分,是提高高等教育教学质量的关键。“质量工程”实施以来,在专业建设、课程建设方面取得了明显的成果,而教材是这些成果的直接体现,同时也是深化教学内容和教学方法改革的重要推动力。为此,教育部要求加强新教材和立体化教材建设,提倡和鼓励学术水平高、教学经验丰富的教师,根据教学需要编写适应不同层次、不同类型院校,具有不同风格和特点的高质量教材。郑州大学出版社按照这样的要求和精神,在教育部食品科学与工程类专业教学指导委员会的指导下,在全国范围内,对食品类专业的培养目标、规格标准、培养模式、课程体系、教学内容等,进行了广泛而深入的调研,在此基础上,组织全国二十余所学校召开了食品类专业教育教学研讨会、教材编写论证会,组织学术水平高、教学经验丰富的一线教师,吸收了近年来食品类专业教育教学经验和成果特别是各校特色专业建设成果,编写了本套系列教材。

教育教学改革是一个不断深化的过程,教材建设是一个不断推陈出新、反复锤炼的过程,希望这些教材的出版对食品类专业教育教学改革和提高教育教学质量起到积极的推动作用,也希望使用教材的师生多提意见和建议,以便及时修订、不断完善。

编写指导委员会  
2010年11月



食品酶学是研究与食品有关的酶以及酶与食品关系的一门学科,它研究的内容主要有食品中酶的性质、酶的结构与作用规律、食品中的新酶源、酶在食品加工及保藏中的应用、酶与食品质量的监控及安全卫生的关系等。20世纪80年代以来,随着生命科学研究和生物技术的迅猛发展,酶学基础理论日益丰富和深入,酶的生产技术也不断革新。生物酶与食品工业关系最为密切,已成为食品科学研究的热点之一,并推动了传统食品工业生产技术的改造和升级。食品酶的应用领域也在食品工业大发展、大革新的浪潮中不断拓宽。目前,食品酶已广泛应用于食品加工、储藏保鲜、食品分析、食品卫生和安全等多个方面,产生了巨大的经济效益与社会效益。

本书由来自国内八所高校具有丰富酶学研究经验与教学经历的学者共同编写而成。除第0章绪论和附录外,全书共分为酶学基础知识(第1~3章)、食品工业常用酶(第4~12章)、酶与食品质量安全(第13~14章)、食品酶学实验等四个部分。第0章0.1~0.4、第1章、第2章2.5.2由中原工学院曹健编写,第0章0.5、第2章2.1~2.4和2.5.1由西北农林科技大学食品学院师俊玲编写,第3章、第11章由广东海洋大学食品科技学院杨锡洪编写,第4章、实验1、附表1由河南工业大学生物工程学院胡元森编写,第5章、实验2、附表2、附表3由河南工业大学生物工程学院吴兴泉编写,第6章、实验3由西北农林科技大学食品学院樊明涛编写,第7章、第10章、实验4、实验7、实验8由武汉工业学院食品学院沈汪洋编写,第8章、实验5由广东海洋大学食品科技学院夏杏洲编写,第9章、实验6由西南大学食品科学学院杜木英编写,第12章由沈阳农业大学食品学院郑艳编写,第13~14章由郑州轻工业学院食品与生物工程学院安广杰编写。全书由中原工学院曹健统稿。

本书在编写过程中,充分采纳了前人酶学研究方面所积累的知识,并搜集了大量文献资料,补充了食品酶学的最新研究成果与进展。

由于编者水平有限,书中难免存在不当、疏漏甚至错误之处,恳请读者在使用过程中给我们提出宝贵的意见和建议。

编者

2010年7月



|                       |    |
|-----------------------|----|
| 第0章 绪论 .....          | 1  |
| 0.1 食品酶学发展简史 .....    | 2  |
| 0.2 食品酶学发展趋势 .....    | 5  |
| 0.3 食品酶学研究内容 .....    | 7  |
| 0.4 食品酶学研究方法 .....    | 8  |
| 0.5 食品酶制剂工业发展概况 ..... | 26 |

## 第一部分 酶学基础知识

|                           |     |
|---------------------------|-----|
| 第1章 酶学基础理论 .....          | 34  |
| 1.1 酶的结构与功能 .....         | 35  |
| 1.2 酶的作用机制 .....          | 43  |
| 1.3 酶的命名与分类 .....         | 50  |
| 1.4 酶促反应动力学 .....         | 54  |
| 第2章 酶的生产 .....            | 67  |
| 2.1 食品级酶生产与使用原则 .....     | 68  |
| 2.2 植物源酶生产 .....          | 70  |
| 2.3 动物源酶生产 .....          | 83  |
| 2.4 微生物发酵法产酶 .....        | 89  |
| 2.5 酶的提取与分离纯化 .....       | 96  |
| 第3章 固定化酶与固定化细胞 .....      | 111 |
| 3.1 固定化酶的概念及制备原则 .....    | 112 |
| 3.2 酶的固定化方法 .....         | 112 |
| 3.3 固定化酶载体 .....          | 116 |
| 3.4 细胞的固定化 .....          | 119 |
| 3.5 影响固定化酶(细胞)性能的因素 ..... | 121 |
| 3.6 固定化酶(细胞)的应用 .....     | 122 |

## 第二部分 食品工业常用酶

|                     |     |
|---------------------|-----|
| 第4章 淀粉酶 .....       | 130 |
| 4.1 淀粉酶的分类与来源 ..... | 131 |



|     |               |     |
|-----|---------------|-----|
| 4.2 | $\alpha$ -淀粉酶 | 133 |
| 4.3 | 葡萄糖淀粉酶        | 142 |
| 4.4 | $\beta$ -淀粉酶  | 149 |
| 4.5 | 脱支淀粉酶         | 151 |
| 第5章 | 纤维素酶          | 157 |
| 5.1 | 纤维素酶的分类与来源    | 158 |
| 5.2 | 纤维素酶的性质       | 162 |
| 5.3 | 纤维素酶的生产       | 172 |
| 5.4 | 纤维素酶在食品工业中的应用 | 174 |
| 5.5 | 纤维素酶在其他方面的应用  | 177 |
| 第6章 | 果胶酶           | 183 |
| 6.1 | 果胶酶的分类与来源     | 184 |
| 6.2 | 果胶酶的性质        | 188 |
| 6.3 | 果胶酶的生产        | 192 |
| 6.4 | 果胶酶的分离纯化      | 196 |
| 6.5 | 果胶酶活力的测定      | 196 |
| 6.6 | 果胶酶的应用        | 197 |
| 第7章 | 蛋白酶           | 202 |
| 7.1 | 蛋白酶的分类与来源     | 203 |
| 7.2 | 酸性蛋白酶         | 205 |
| 7.3 | 中性蛋白酶         | 209 |
| 7.4 | 碱性蛋白酶         | 212 |
| 7.5 | 丝氨酸蛋白酶        | 215 |
| 7.6 | 巯基蛋白酶         | 217 |
| 7.7 | 金属蛋白酶         | 218 |
| 7.8 | 羧基酸性蛋白酶       | 219 |
| 第8章 | 酯酶            | 222 |
| 8.1 | 酯酶的来源与分类      | 223 |
| 8.2 | 羧酸酯类水解酶       | 224 |
| 8.3 | 磷酸酯水解酶        | 231 |
| 8.4 | 脂肪酶           | 234 |
| 8.5 | 酯酶在食品工业中的应用   | 239 |
| 第9章 | 多酚氧化酶         | 248 |
| 9.1 | 多酚氧化酶的分类与来源   | 249 |
| 9.2 | 多酚氧化酶的性质      | 250 |
| 9.3 | 多酚氧化酶的产生和应用   | 261 |

|        |                     |     |
|--------|---------------------|-----|
| 第 10 章 | 过氧化物酶和过氧化氢酶 .....   | 265 |
| 10.1   | 过氧化物酶 .....         | 266 |
| 10.2   | 过氧化氢酶 .....         | 275 |
| 第 11 章 | 脂肪氧合酶 .....         | 282 |
| 11.1   | 脂肪氧合酶的来源 .....      | 283 |
| 11.2   | 脂肪氧合酶的底物特异性 .....   | 283 |
| 11.3   | 脂肪氧合酶的催化机制 .....    | 283 |
| 11.4   | 脂肪氧合酶活性的抑制 .....    | 285 |
| 11.5   | 脂肪氧合酶活力的测定 .....    | 287 |
| 11.6   | 脂肪氧合酶同工酶 .....      | 288 |
| 11.7   | 脂肪氧合酶的应用 .....      | 289 |
| 第 12 章 | 其他酶 .....           | 292 |
| 12.1   | 葡萄糖氧化酶 .....        | 293 |
| 12.2   | 乳糖酶 .....           | 299 |
| 12.3   | 木聚糖酶 .....          | 301 |
| 12.4   | $\beta$ -葡聚糖酶 ..... | 304 |
| 12.5   | 葡萄糖异构酶 .....        | 306 |
| 12.6   | 植酸酶 .....           | 307 |
| 12.7   | 转化酶 .....           | 311 |
| 12.8   | 谷氨酰胺转氨酶 .....       | 311 |

### 第三部分 酶与食品质量安全

|        |                             |     |
|--------|-----------------------------|-----|
| 第 13 章 | 食品中酶产生的质量安全问题及其控制 .....     | 318 |
| 13.1   | 概述 .....                    | 319 |
| 13.2   | 利用酶减少食品中的不安全因素 .....        | 326 |
| 13.3   | 酶制剂的应用引起的不安全因素 .....        | 333 |
| 13.4   | 酶的安全性评价 .....               | 336 |
| 13.5   | 酶的安全生产 .....                | 340 |
| 第 14 章 | 酶法分析在食品安全中的应用 .....         | 344 |
| 14.1   | 酶法分析方法概述 .....              | 345 |
| 14.2   | 酶法分析在药物残留检测方面的应用 .....      | 347 |
| 14.3   | 利用酶联免疫分析法检测生物毒素 .....       | 350 |
| 14.4   | 利用酶联免疫分析法检测微生物 .....        | 353 |
| 14.5   | 酶联免疫分析法在其他食品安全检测方面的应用 ..... | 354 |

### 第四部分 食品酶学实验

|      |                                      |     |
|------|--------------------------------------|-----|
| 实验 1 | 淀粉酶活力的测定 .....                       | 360 |
| 1.1  | $\alpha$ -淀粉酶活力的测定——Bernfeld 法 ..... | 360 |

|      |                                    |     |
|------|------------------------------------|-----|
| 1.2  | 细菌 $\alpha$ -淀粉酶活力的测定 .....        | 361 |
| 1.3  | 葡萄糖淀粉酶活力的测定——碘量法 .....             | 362 |
| 1.4  | 葡萄糖淀粉酶活力的测定——斐林法 .....             | 364 |
| 1.5  | $\beta$ -淀粉酶活力的测定 .....            | 365 |
| 1.6  | $\beta$ -淀粉酶制剂活力的测定——二硝基水杨酸法 ..... | 368 |
| 实验 2 | 纤维素酶活力的测定 .....                    | 369 |
| 实验 3 | 果胶酶活力的测定 .....                     | 374 |
| 3.1  | 原果胶酶的提取与活力测定——硫酸铵沉淀法 .....         | 374 |
| 3.2  | 果胶酶活力的测定——黏度法 .....                | 375 |
| 3.3  | 果胶酶活力的测定——次碘酸钠法 .....              | 376 |
| 3.4  | 果胶酶活力的测定——还原法 .....                | 377 |
| 实验 4 | 蛋白酶活力的测定 .....                     | 379 |
| 4.1  | 蛋白酶活力的测定——福林法 .....                | 379 |
| 4.2  | 蛋白酶活力的测定——甲醛法 .....                | 382 |
| 实验 5 | 脂肪酶活力的测定——分光光度法 .....              | 384 |
| 实验 6 | 多酚氧化酶活力的测定——分光光度法 .....            | 385 |
| 实验 7 | 过氧化物酶活力的测定——比色法 .....              | 387 |
| 实验 8 | 过氧化氢酶活力的测定 .....                   | 388 |
| 8.1  | 过氧化氢酶活力的测定——高锰酸钾滴定法 .....          | 388 |
| 8.2  | 过氧化氢酶活力的测定——氧电极法 .....             | 389 |
| 附录   | .....                              | 391 |

几千年前,当人们在不知不觉中应用酶技术进行发酵饮料等食品的生产时,并未意识到酶的存在。直到19世纪初期,Payen和Fersoz发现麦芽的水抽提物能将淀粉水解成糖,才提出酶的原始概念——糖化酵素。随后,法国著名的微生物学家路易·巴斯德(Louis Pasteur)对酵母菌的酒精发酵(即乙醇发酵)进行了研究,提出酶来源于生物活细胞的观点,但其对酒精发酵本质的解释在很长一段时期遭到质疑。1897年,德国学者Büchner兄弟发现,无细胞酵母的抽取物能催化糖的酒精发酵,至此,有关酶的概念得到确立,并使酶学研究进入了生化研究的阶段。随着生化技术不断进步,新酶的不断发现和开发,有关酶学理论的研究也不断深入,酶反应动力学、酶催化机制、酶结构与功能的关系等相继被提出或证实。这些理论问题的明确,极大地丰富了现代食品酶学的内容,使酶学研究逐渐成熟起来。自20世纪50年代开始,现代生物工程技术迅猛发展,使食品酶工程成为食品工业的支柱。酶及细胞固定化技术的应用促进了食品新产品的开发,进一步提高了食品质量,也使成本得以下降。基因工程与高新技术的应用加快了新酶源的开发,在不断满足食品加工新工艺要求的同时,也使功能性食品及其添加剂发展迅速,为食品工业带来巨大的社会效益。如今,酶技术已广泛应用于食品行业的各个领域,如制糖工业、酿造工业、焙烤工业、果蔬加工等方方面面。食品酶产业已发展成为当今最有发展潜力的新兴产业之一。

## 第 0 章

# 绪 论

## 0.1 食品酶学发展简史

食品酶学是有关酶学基本理论在食品科学与技术中应用的一门科学,食品酶学的发展与食品工程学科的关系十分密切,在粮油食品的生产、加工、储运、保鲜、危害控制等各个环节,食品酶都发挥着重要作用。同其他学科一样,食品酶学的发展也经历了一个相当长的历史时期。

### 0.1.1 史前时期

很早以前,人们就已经在日常生活中无意识地利用酶进行一些生产活动了。例如,早在4 000多年前我国的龙山文化时期,在考古挖掘中就发现有大量的青铜酒器,说明当时酿酒已经盛行,人们已经能利用天然霉菌和酵母酿酒。在3 000多年前的周朝,我国人民已会利用麦曲(内含丰富的淀粉酶)将淀粉降解为麦芽糖,用来制造饴糖。2 500多年前的春秋战国时期,我们的祖先已经知道利用酒曲治疗肠胃病,用鸡内金治疗消化不良,这种方法一直延续至今。在国外,公元前2000年的埃及人已经会用牛胃液(其中含凝乳酶)生产干酪。不过,在所有这些生产活动中,人们并没有意识到酶的存在,也不了解其性质,只是根据在生产和生活中所积累的经验,在无意识地进行着一些酶的应用活动,尚停留在低水平应用阶段。

### 0.1.2 酶的发现及早期研究

人们真正认识到酶的存在和作用,是从19世纪初期开始的。1810年,Joseph Gaylussac发现酵母可将糖转化为酒精。1833年,Payen和Fersoz将麦芽的水抽提物用酒精沉淀下来,发现该水提物可使淀粉水解成可溶性葡萄糖,他们把这种物质称为淀粉糖化酵素,并指出它具有热不稳定性,这已经开始触及酶的一些本质问题。1857年,Louis Pasteur详细研究了酵母菌的酒精发酵,认为酒精发酵是酵母细胞生活的结果,只有活的酵母细胞才能进行发酵。他的这一观点遭到化学家李比希(Liebig)的反对,李比希认为,发酵及其他类似过程是由于化学物质的作用,纯粹是化学过程,由此展开了关于发酵本质长达半个世纪的论战。1896年,德国学者Büchner兄弟用石英砂将酵母细胞磨碎,经过滤得到无酵母活细胞的抽提液,并无意中发现该提取液能使蔗糖发酵产生酒精。他们就此发表了《无酵母的酒精发酵》一文,把这种能发酵的成分称为酒化酶(zymase)。从他们的研究可知,酶不仅由活细胞所产生,而且与细胞分离后仍可继续发挥作用,“离体酶”的概念由此产生。这一发现在酶学研究史上具有划时代的意义,它不仅统一了巴斯德和李比希的两种观点,从理论上阐明了生命现象的本质,而且为酶制剂的开发应用奠定了科学基础,也使生物化学这一学科开始形成。

现在常用的“酶”(enzyme)的概念,是1878年德国科学家Kuhne首先提出的,用以表示此前未统一名称的已知的各种酵素。enzyme一词本身的意思是“在酵母中”,起源于希腊语,其中的“en”表示“在之内”,而“zyme”表示“酵母或酵素”。



### 0.1.3 近代食品酶学的发展

Büchner 兄弟从酵母的无细胞提取液中发现了能将葡萄糖转变成乙醇和二氧化碳的酶,这一重大发现直接促进了酶的分离纯化、理化性质、酶促动力学的研究,也促进了各种代谢过程中有关酶的系统研究。一般认为,酶学研究始于 1896 年 Büchner 兄弟的发现。

1902 年, Henri 根据蔗糖酶催化蔗糖水解的实验,提出酶的中间产物学说,该学说认为,酶在催化过程中首先与底物结合,形成酶-底物中间产物,然后再释放出产物。Henri 提出,在固定酶浓度的条件下逐步增加底物浓度,得到反应速度-底物浓度的饱和和类型曲线,是由于形成了酶-底物中间络合物的结果。1913 年, Michaelis 和 Menten 总结了前人的工作,推导出了酶催化反应的动力学方程——米氏方程,定量地描述了酶的上述性质。1925 年, Briggs 和 Handane 对米氏方程作了修正,提出了稳态学说。但至此,人们还没有搞清楚这种具有催化功能的物质究竟属于哪一类物质。

1920 年之后,酶的纯化工作取得重大突破。1926 年,美国化学家 Sumner 首先从刀豆中制得结晶的脲酶,这是第一个酶的结晶,并证明了脲酶具有蛋白质的性质。随后的 10 多年,有关酶结晶的研究成为热点,最具代表性的是 1930—1936 年, Northrop 和 Kunitz 等人先后获得了胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、羧肽酶 A 的结晶,并用相应方法证实酶是一种蛋白质。此后,科学家们又陆续证明了许多酶的化学本质。至此,酶的蛋白质属性普遍为人们所接受。

1958 年, Koshland 提出了酶催化的“诱导契合”理论,同时也明确了某些酶的催化活性与生理条件的变化有关。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。1965 年, Phillips 首次用 X 射线晶体衍射技术阐明了鸡蛋清溶菌酶的三维结构,为以后酶的结构与功能以及催化机制的研究奠定了良好的基础。

随着生化技术的不断进步,新的酶种不断被发现和开发,人们对于酶作为工业催化剂的价值有了新的认识,并且了解到许多酶可以利用微生物进行发酵生产。随后,特别是随着第二次世界大战后抗生素工业的兴起,酶制剂开始在食品、医疗、化工和环境等领域得以应用,酶制剂工业有了飞跃发展。

### 0.1.4 现代食品酶学的发展

自 20 世纪 50 年代开始,随着生物化学、遗传学及微生物学等学科的交叉融合,出现了诸如分子生物学、生物信息学等新兴学科,加之现代生物分析技术的迅速发展,极大地推动了食品科学与工程学科的进步,也使酶学的研究进入到新的发展阶段,在基础理论研究及生产应用方面取得了新突破,主要表现在以下几个方面。

#### 0.1.4.1 酶及细胞的固定化技术

从 20 世纪 50 年代起,酶的固定化研究取得了不少成果。1953 年, Crubhofer 和 Schleith 将聚氨基苯乙基树脂重氮化,然后将胃蛋白酶、淀粉酶、羧肽酶、核糖核酸酶等酶结合在这种载体上,制成了固定化酶。20 世纪 60 年代后期,固定化技术迅速发展,出现了很多新的酶固定化方法。1969 年,日本学者千畑一郎将固定化氨基酰化酶应用于 DL-氨基酸的光学拆分上,用来生产 L-氨基酸,开创了固定化酶应用于工业生产的先例。



自 20 世纪 70 年代初起,为了减少从微生物细胞中分离提纯酶的烦琐步骤,或有目的地利用微生物细胞内的复合酶系,人们开展了微生物细胞的固定化研究,并成功应用于工业生产。例如,利用固定化产氨短杆菌细胞生产 L-苹果酸,利用固定化假单胞菌细胞生产 L-丙氨酸等。动植物细胞能产生微生物难以产生的贵重药物,如乙肝病毒表面抗原、单克隆抗体、人参皂苷等,为了能完整地利用生物细胞内的酶系统,20 世纪 80 年代起,又开始研究固定化动物细胞和植物细胞。

近年来,各国固定化技术研究的重点已经转向固定化技术的实际应用,以及酶和细胞固定化后的作用机制等方面,并取得了许多重要成果,充分发挥了固定化酶和固定化细胞在改革工艺和降低成本方面的巨大潜力。

### 0.1.4.2 传统生物催化剂理论受到挑战

20 世纪 80 年代初以前,学术界一直认为,酶的化学本质是蛋白质。1982 年,Cech 等人在研究四膜虫(*Tetrahymena*)核糖体 26S rRNA 的转录加工时发现,在无外源蛋白质存在的情况下,可以去掉自身核苷酸中的一段,使两个外显子连接成为成熟的 RNA。这个过程是 RNA 分子独立催化完成的,人们将具有催化能力的 RNA 分子称为核酶。此后,人们发现了许多核酶,重新定义了酶的化学本质既可以是蛋白质,也可以是核酸,从而改变了酶化学本质的传统概念。20 多年来,研究者们陆续发现了许多核酶,并证明它不仅具有自我剪切功能,还具有剪接和催化分子间反应等多种功能。核酶的底物可能是 RNA、DNA 和糖类,与蛋白质酶相似,核酶也具有完整的空间结构和活性中心,具有底物专一性,其反应动力学亦符合米氏方程的规律。

### 0.1.4.3 利用基因工程技术促进食品酶的开发与应用

基因工程等新技术的运用正在成为食品酶学发展的推动力,并已经深刻地促进了食品酶学的发展。改良食品微生物生产菌种是基因工程应用于食品工业的常见例子。例如,用于酒精发酵的酵母和用于面包发酵的酵母虽同属酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*),但菌株间的差异很大,前者产酒精率高,对麦芽糖和葡萄糖的发酵力弱,后者则正好相反。通过基因工程技术手段,可培育出既能高产酒精,又对麦芽糖和葡萄糖有很强发酵能力的优良杂种菌株,同时发酵后的残余菌体还可作为面包厂和家用发面酵母的优良菌种加以综合利用。

利用基因工程技术改良的微生物生产凝乳酶(chymosin)是最为成功的典范。事实上,除凝乳酶外, $\alpha$ -淀粉酶、葡萄糖氧化酶、葡萄糖异构酶、转化酶、脂肪酶、溶菌酶、碱性蛋白酶等食品酶制剂都实现了转基因微生物的生产,这些酶被分别用于酿造、淀粉修饰、葡萄糖酸生产、食品保鲜、果葡糖浆生产、转化糖生产、乳制品生产、啤酒酿造、大豆制品加工等领域。

### 0.1.4.4 酶的非水相催化作用

1984 年,Kalibanov 等人在有机介质中进行了酶催化反应的研究,成功地利用酶在有机介质中的催化作用,获得酯类、肽类、手性醇等多种有机化合物,并明确指出,酶可以在水与有机溶剂的互溶体系中进行催化反应,也可以在只含有微量水的有机溶剂(又称微水介质)中进行催化反应。只要条件适合,酶可以在有机介质中催化疏水性底物进行反应,将其转化为产物。此后,人们对有机介质中酶的催化作用进行了许多研究,发现酯

酶、脂肪酶、蛋白酶、纤维素酶、淀粉酶等水解酶,过氧化氢酶、过氧化物酶、醇脱氢酶、胆固醇氧化酶等氧化还原酶,以及醛缩酶等转移酶中的十几种酶,都可以在适当的有机溶剂中起催化作用,而且酶在有机介质中的热稳定比在水溶液中显著提高。

近20年来,酶在非水相介质,特别是有机介质中的催化反应日益受到重视,发展很快。人们已经从理论上对非水相介质中酶的结构、作用机制、酶催化作用动力学等方面进行了研究,初步建立起了非水相酶学的理论体系,并进行了非水介质,特别是有机介质中酶催化作用的应用研究。例如,在食品添加剂领域,人们利用固定在有机相中的脂肪酶的催化作用,使廉价的棕榈油和乌柏脂发生反应,变成可口的类可可脂,用于巧克力糖果的生产。Okada等利用脂肪酶在微水介质中催化鱼油的酯交换反应,得到富含 $n-3$ 多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid,简称PUFA)的甘油三酯。此外,利用酶在有机介质中的催化作用进行多肽和酯类等生产,甾体转化,功能高分子的合成,手性药物的拆分等方面均取得显著成果。

#### 0.1.4.5 抗体酶的发现

1986年,美国Lerner研究小组和Schutz研究小组研究发现了一种具有催化功能的抗体分子,这种分子称为抗体酶,又称为催化性抗体。抗体酶的发现大大拓宽了酶学研究的领域。现已发现一些抗体酶的特异性达到甚至超过天然酶,催化速度有时也超过某些天然酶。目前,抗体酶已经开始应用于传统酶无法实现的活体反应,以及利用传统化学方法较难实现的反应。例如,在有机合成中,抗体酶可以解决外消旋混合物对映体的拆分等难题,也可应用于生物传感器以及食品安全检测等领域。

#### 0.1.4.6 其他方面的进展

(1)新酶源开发和极端酶的研究方面 人们已意识到,目前已经发现和正在利用的微生物种类不足自然界中微生物总量的1%,仍然有大量的微生物资源未被人们开发和利用。通过改进培养技术和培养方法,加强对极端环境微生物,特别是对耐高温、耐盐碱等微生物产生的极端酶的开发和应用,将为工农业生产带来不可估量的价值。

(2)环境保护、资源利用及“三废”处理方面 食品企业存在大量的“三废”,可通过对酶的合理利用,提高原料转化率,减少废物排出,或对废物加以回收利用,提高资源利用效率。例如,大豆蛋白制品厂加工生产分离蛋白后,剩余的“下脚料”含有丰富的可溶性膳食纤维,现在已能采用酶法分离和喷雾干燥技术,从中制取优质的可溶性膳食纤维,应用于各种保健食品的生产。又如,屠宰加工厂有大量的骨骼下脚料,同样可采用酶工程技术加以利用,制备成骨蛋白、骨奶、骨粉等食品,变废为宝。

(3)酶制剂应用领域方面 到目前为止,从世界范围而言,酶制剂总产量中的55%是糖酶,主要用于焙烤、食品、酿酒、淀粉加工、酒精等工业;35%是蛋白酶,主要用于食品洗涤剂、动植物蛋白水解产物制备、制革、乳品等行业。酶制剂的应用范围已遍及工业、医药、农业、化学分析、环境保护、能源开发和生命科学理论研究等各个方面。

## 0.2 食品酶学发展趋势

近年来,食品工业快速发展,食品生物技术也不断发展和丰富,新知识、新技术层出



## 6 食品酶学

不穷。作为食品生物技术的一部分,酶在食品工业中有着广泛的应用前景,成为研究者和食品行业从业人员研究和开发的热点,在基础理论及应用研究方面都取得了丰硕成果。从食品酶学目前的发展趋势来看,在未来一段时期,酶学研究将主要在以下几个方面取得新的突破,当然,这几个领域所涉及的研究内容互有交叉。

### 0.2.1 酶学基础研究领域

有了良好的基础研究成果,掌握了酶的性质、结构与功能、分子遗传信息等,才有可能对酶进行进一步的设计和改造,获得更适合生产需要的新型酶品种,为酶在食品领域的应用奠定基础。目前,食品酶学的基础研究更加深入,主要集中在以下几个方面:一是不同来源酶的性质、催化机制、结构与功能关系等的研究;二是对产生重要酶源的微生物进行诱变、筛选,并对其发酵条件、酶基因的克隆、酶的表达特性、酶的固定化进行研究;三是酶的非水相催化及多酶体系协同催化反应的研究;四是酶与食品品质关系的研究;五是酶在海洋生物资源开发中的应用研究等。

### 0.2.2 食品工业新酶源的研究开发

通过研究在自然界极端环境,如高温、高压、高盐、低水分活度、重金属等恶劣环境中存活的微生物,可以获得该类微生物产生的极端酶,如嗜热酶、嗜盐酶等,这些酶能够耐受食品生产过程中的一些极端条件,从而发挥一般生物酶所不具备的催化特性。此外,可以根据应用的需要,通过定点突变技术对天然酶蛋白进行改造,或通过蛋白质工程人工设计出符合生产需要的新的酶蛋白,研究开发出新的人工合成酶和模拟酶。例如,人工合成的高分子聚合物聚-4-乙烯基吡啶-烷化物,就具有蛋白酶的功能。

### 0.2.3 酶制剂工业

生物技术及食品酶学的发展,促进了酶制剂工业的进步,酶制剂工业目前已成为一个独立的行业,并且发展迅速,主要表现在以下几个方面:一是生产水平较高,规模不断扩大,产品质量不断提高;二是酶制剂的剂型趋向多样化、复合化,催化效率更高;三是研究、开发投入加大,高科技广泛应用;四是新的酶种和酶的新用途被不断开发出来。

目前,世界能源日益减少,人口却在不断增加,水资源和粮食日见短缺,使得工业界用酶来改革传统工艺的需求更为迫切。因此,提高酶的产量,降低生产成本,开发酶的新品种、新用途成为当务之急。基因工程、蛋白质工程新技术的发展,为酶制剂工业的发展创造了有利条件。开发耐热、耐酸碱、对底物有特殊作用的酶,以及将动植物生产的酶改由微生物发酵方法来生产,或者将尚不能用于生产的微生物所产的酶改由安全菌种来生产,都将逐步成为现实。

### 0.2.4 生物工程新技术在酶学研究中的应用

生物工程新技术在食品酶的生产和应用的全过程中显示出越来越重要的作用,主要集中在以下几个方面:第一,运用基因工程和蛋白质工程技术,改善原有酶的各种性能,提高酶的产率和稳定性,使其在后提取工艺和应用过程中更易操作;第二,研究开发酶的定向固定化技术,使应用过程中酶活性的损失降低到最小;第三,开发新型酶传感器和酶