

# 我国商品糖化酶制剂中分解生淀粉糖化酶活力的比较

孔显良 王俊英 姜丽萍

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

**摘要** 共收集国内有代表性酶制剂厂生产的糖化酶商品样 21 份, 测定其分解生淀粉糖化酶活力结果表明, 万单位糖化酶含分解生淀粉糖化酶活力最高样品为 10838 单位, 最低为 1039 单位, 平均为 5450 单位。

取分解生淀粉糖化酶活力高、中、低的样品, 进行了生淀粉吸附分离, 并经凝胶电泳鉴定, 其吸附的酶与测定的酶活力高低相符。

**关键词** 糖化酶制剂, 分解生淀粉糖化酶

酒精和白酒生产过程中能耗是生产成本的重要因素, 采用能分解生淀粉的酶类, 免去或降低蒸煮过程是节能的有力措施。1956年 cleda 报道了黑曲糖化酶直接糖化生淀粉<sup>[1]</sup>。还报道了不少菌种均能产生分解生淀粉酶<sup>[2,3]</sup>, 经过多年努力有关酶系统已被应用到无蒸煮淀粉的酒精发酵中<sup>[4]</sup>。为了解国内商品糖化酶制剂中分解生淀粉糖化酶的能力, 我们收集了国内有代表性的生产厂的糖化酶制剂样品, 进行了分解生淀粉糖化酶活力的测定比较。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品

从全国有代表性的 13 个省市中产量较大的 17 个工厂, 收集到 21 个商品糖化酶制剂样品供测试用。

### 1.2 主要仪器及化学试剂

高速冷冻离心机(J2-21, Beckman); 721 型分光光度计(上海第三分析仪器厂); 恒温恒压电泳仪(北京东方仪器厂)。

可溶性淀粉(浙江省菱湖化工试剂厂); 生玉米淀粉(Sigma)。丙烯酰胺(上海试剂厂); 双丙烯酰胺(Serva)。

### 1.3 酶活力测定

1. 糖化酶活力测定<sup>[5]</sup>: 在 40℃ pH4.6 的条

件下, 1h 分解可溶性淀粉产生 1mg 葡萄糖所需的酶量为一个酶活力单位。

2. 分解生淀粉糖化酶活力的测定<sup>[6]</sup>: 2.5%(W/V) 生玉米淀粉悬液 2.0ml 加入 50ml 三角瓶中, 加 pH3.5 的 0.2 mol/L 柠檬酸缓冲液 2.0ml, 40℃ 预热 10min, 加入 1.0ml 适当稀释的酶液, 在 40℃ 恒温下振荡(200 r/min) 反应 30 min 后, 加 4% 的 NaOH 溶液 0.5ml 终止反应。反应液用 3000 r/min 离心 5min, 上层清液用 DNS(3', 5'-二硝基水杨酸) 法测定还原糖量。

酶活力单位定义: 在以上分析条件下, 1 min 释放 1 μg 葡萄糖的酶量定为一个酶活力单位。

### 1.4 分解生淀粉糖化酶在生淀粉上的吸附方法

根据 Hayashida<sup>[7]</sup> 的方法, 称取生玉米淀粉 1g, 加 pH4.0 的 0.2 mol/L 柠檬酸缓冲液 2.5ml, 放 4℃ 下平衡, 加入适当稀释好的酶液 2.5ml, 于 4℃ 下静止吸附 15 min, 立即离心去上清液, 用缓冲液洗脱生淀粉, 洗液测分解生淀粉糖化酶活力和供走电泳用。

• 国家自然科学基金资助项目  
1993-09-21 收稿

## 2 结果与讨论

### 2.1 分解生淀粉糖化酶活力的比较

从国内市场和酶制剂生产厂收集到有代表性的样品 21 份,测定了糖化酶活力和分解生淀

粉糖化酶活力,从表 1 结果示明,克糖化酶制剂分解生淀粉糖化酶活力最高达 45000 单位(17 号样品),最低活力 3350 单位(19 号样品)。由于每个样品糖化酶活力差异较大,为避免糖

表 1 我国商品糖化酶制剂中分解生淀粉糖化酶活力的测定结果

样品号	糖化酶活力 (u/g)	分解生淀粉糖化酶活力 (u/g)	万单位糖化酶含分解 生淀粉糖化酶活力 (u/g)	次 序 号
1	51300	7330	1428	19
2*	45315	2170	478	21
3	33345	8330	2498	15
4	47880	15000	3132	14
5	34234	33300	9727	3
6	47205	18330	3897	13
7	41041	35000	8528	6
8	42750	41700	9754	2
9	36765	14800	4025	12
10	38475	41700	10838	1
11	45315	28300	6245	8
12	44460	10000	2249	17
13	51300	27700	5204	11
14	48735	41700	8556	5
15	39779	22300	5606	10
16	48762	35000	7177	7
17	50133	45000	8976	4
18	39123	23450	6012	9
19	19561	3350	1717	18
20	43470	4470	1039	20
21	42383	10050	2392	16

\* 食品级

化酶活力的高低影响分解生淀粉糖化酶活力的可比性,于是将克糖化酶分解生淀粉糖化酶活力折算成万单位糖化酶含分解生淀粉糖化酶活力单位,在表格中列出数字,并标明高低次序号,结果最高的酶活力 10838 单位(10 号样品),最低的 1039 单位(20 号样品),平均为 5450 单位(不含 2 号食品级样品),最高活力样品是平均值的 2 倍,是最低样品的 10 倍。另外,

2 号是粉剂食品级糖化酶,分解生淀粉糖化酶活力很低,万单位糖化酶仅含分解生淀粉糖化酶活力 478 单位,因为它同其他样品的差异悬殊,在上述比较数字中此样品均未计算在内。总之,国内糖化酶制剂中分解生淀粉糖化酶活力的差异较大,这原因是多种的。

### 2.2 生淀粉吸附分离

取分解生淀粉糖化酶活力高、中、低的样

品,进行了生淀粉吸附分离,分离液经凝胶电泳鉴定,吸附前样品在凝胶上除主带外还有几条次带,而吸附分离后的样品在凝胶上仅有一条主带,其样品间带的粗细与以上测定的分解生淀粉糖化酶的活力高低相一致。

糖化酶的多型性已有不少报道<sup>[8]</sup>,黑曲糖化酶中糖化酶 I 型具有强的分解生淀粉能力,而其他型均极差<sup>[9]</sup>。Hayashida<sup>[10]</sup>从 *Aspergillus awamori* var. *karwachi* 产生的糖化酶中分离出 3 种型,分类为糖化酶 I、II、III 型,并在不同底物水解证明,糖化酶 I 型水解生淀粉能力几乎 100%,而 II、III 型均不能水解生淀粉。

糖化酶分解生淀粉的强弱关系到它对生淀粉的吸附能力<sup>[11]</sup>,黑曲糖化酶 I 具有强的分解生淀粉和被生淀粉吸附的能力,而糖化酶 II、III 均不能被生淀粉吸附和不能分解生淀粉。

糖化酶多型性的产生与培养基组份和培养条件有关<sup>[12,13]</sup>。Hayashida<sup>[14]</sup>报道培养基组份对糖化酶产生的多型性影响很大。Saha 等<sup>[15]</sup>发现培养条件影响糖化酶产生 3 种型的量和特性。还报道了糖化酶 I 型通过酸性蛋白酶和糖苷酶类使形成糖化酶 II 型<sup>[16]</sup>,在修饰酶蛋白分子变成了种型的过程中蛋白酶可能起重要作用<sup>[17]</sup>,根据糖化酶多型形成的机制,选择不产或少产生蛋白酶和糖苷酶的突变株是获得产生糖化酶 I 型产品的有力措施。

我国生产的糖化酶制剂对产生分解生淀

粉糖化酶活力的差异较大。从表 1 结果得出同一菌种来源的产品,分解生淀粉糖化酶活力基本相似,说明各工厂采用的菌种、培养条件不同对产生该酶高、低有一定关系,为提高分解生淀粉糖化酶能力,采用优良菌种和培养条件将会改变酶产品的特性,以提高酶使用的效力。

## 参 考 文 献

- [1] Ueda S. Bull Agric Chem Soc Japan, 1956, **20**: 148.
- [2] Ueda S. Bull Agric Chem Soc Japan, 1957, **21**: 284.
- [3] Saha B C, Seinosuke U. J Ferment Technol, 1983, **61**: 67.
- [4] Ueda S, Koba Y. J Ferment Technol, 1980, **58**: 237-242.
- [5] 国家标准局颁布, GB8275-87, 1988-02-01 实施.
- [6] 谢舜珍, 严自正, 张树政. 微生物学通报, 1992, **19**(5): 267.
- [7] Hayashida S, Flor P Q. Agric Biol Chem, 1981, **45**: 2675.
- [8] Saha B C et al. Starch/Starke, 1989, **41**: 57.
- [9] Ueda S et al. Starch/Starke, 1974, **26**: 374.
- [10] Hayashida S. Amylase Symposium, 1965, 97.
- [11] Koba Y et al. J Jpn Soc Starch Sci, 1986, **33**: 199.
- [12] Lineback D R, Georgi C E, Doty R L. J Gen Appl Microbiol, 1965, **12**: 27.
- [13] Alazard D, Raimbault M. Eur J Appl Microbiol Biotechnol, 1981, **12**: 113.
- [14] Hayashida S. Agric Biol Chem, 1975, **39**: 2093.
- [15] Saha B C et al. Starch/Starke, 1979, **31**: 307.
- [16] Yoshino E, Hayashida S. J Ferment Technol, 1978, **56**: 289.
- [17] Takahashi T, Tsuchida Y, Irie M. J Biochem, 1982, **96**: 1623.