

纤维素酶的主要酶学性质的研究

张瑞萍

方云

(南通工学院化工系,南通,226007) (无锡轻工大学化工系)

摘要:用 DNS 为显色剂,以滤纸和 CMC 为底物,测定纤维素酶 A 的滤纸酶活和 CMC 酶活(FPA 和 CMCA),探讨纤维素酶 A 的主要酶学性质。结果表明:FPA 和 CMCA 的最适温度范围为 50℃~60℃和 50℃~70℃;最适 pH 为 5.0 和 4.6~5.0。

关键词:纤维素酶 酶学性质 滤纸酶活 CMC 酶活 测定

中图分类号:TS 101.921

文献标识码:A

近年来,酶特别是纤维素酶在纺织工业上的应用已受到纺织染整和生物工程界人士的高度关注。pH 值和温度是影响纤维素酶活力的关键因素,是酶制剂应用中的一个主要参数。研究纤维素酶的温度特性及热稳定性;pH 特性及 pH 稳定性,有利于酶发挥较高的活力,以便生产中有效地加以利用。

1 实验方法

1.1 化学药品

纤维素酶 A (Novo Nordisk), DNS 试剂(自配),冰醋酸,醋酸钠,葡萄糖,羧甲基纤维素钠。

1.2 FPA 滤纸酶活和 CMC 酶活的测定

取适当稀释的酶液,分别以滤纸或 1% 的 CMC 溶液为底物,于 50℃ 恒温水解反应一小时,然后加入显色剂 DNS,沸水浴中煮沸 5min,再加入蒸馏水,于 540nm 测定吸光度 OD 值。酶活定义:每 ml 酶液 1min 产生 1mg 葡萄糖为一个单位(u)。

2 结果与讨论

2.1 纤维素酶的温度特性和热稳定性

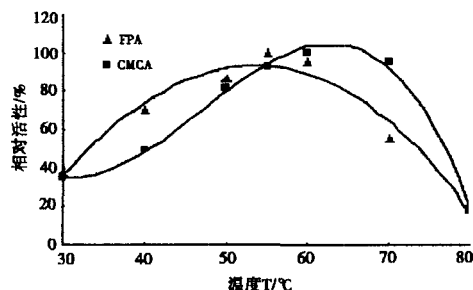


图1 酶的温度特性示意图

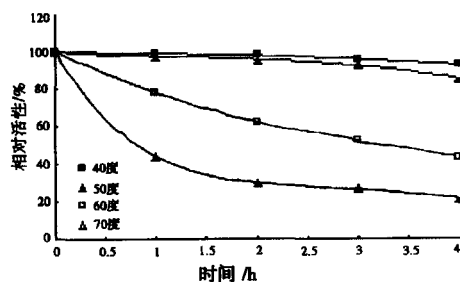


图2 酶的热稳定性示意图(FPA)

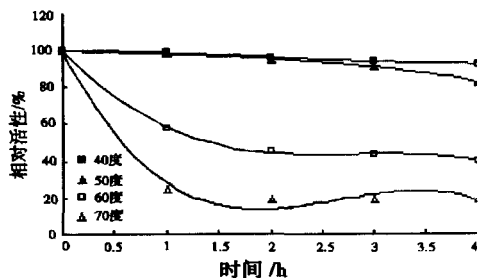


图3 酶的热稳定性示意图(CMCA)

由图1可知:纤维素酶A在一定温度范围内可发挥较高活性。在50℃~60℃之间具有较高的FPA活性。在50℃~70℃之间具有较高的CMCA活性。

由图2、图3可知,在40℃和50℃时,4h内,FPA和CMCA仍能维持较高稳定性,相对活力下降较少(分别降为92.11%和92.52%)。60℃1h的FPA和CMCA相对酶活分别为57.42%和77.88%,4小时后相对酶活分别降为40.08%和42.53%。所以,温度越高、时间越长,酶的热稳定性越差。总的来说,此酶在一定温度范围、一定时间内仍能维持较好的稳定性。

温度对酶的作用有双重影响：一方面象一般化学反应一样，随温度升高，活化分子数增加，有利于催化反应进行；另一方面，由于酶是蛋白质，随温度升高，酶蛋白会逐渐变性失活。因此，最适合的温度是这两种影响相互作用的结果。根据以上分析和纤维素酶 A 的温度特性曲线、热稳定曲线可知，此酶的最佳作用温度为 50℃ ~ 55℃，这样才能使酶发挥较高的活力，同时又保持良好的热稳定性。酶表现出最大活力的温度范围较窄，低温时，酶的抑活是可逆的，利用这一点，可在较低的温度下保存酶 (<5℃)，此时由于酶呈惰性，在较长时间内仍保持足够的活力。进行工艺处理时，升至最适温度范围。酶在高温下的失活是不可逆的，所以，酶处理完成后，也可通过升高温度的方法，使酶失去活力终止反应。

2.2 纤维素酶的 pH 特性和 pH 稳定性

由图 4 可知，在醋酸-醋酸钠缓冲体系中，纤维素酶 A 在 pH 为 5.0 左右有较高的 FPA 活性，在 pH 为 4.6 ~ 5.0 范围内有较高的 CMCA 活性。由图 5 可知，在磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲体系中，最高 FPA 和 CMCA 对应的 pH 值分别是 5.0 和 4.0。

由图 6 可知，纤维素酶 A 在 40℃、pH 为 4 ~ 6 的缓冲溶液中放置 1h 后，FPA 和 CMCA 酶活都保持在 90% 以上。结果表明，此酶在酸性条件下，特别是在 pH 为 4.6 ~ 5.5 的范围内有较好的稳定性。

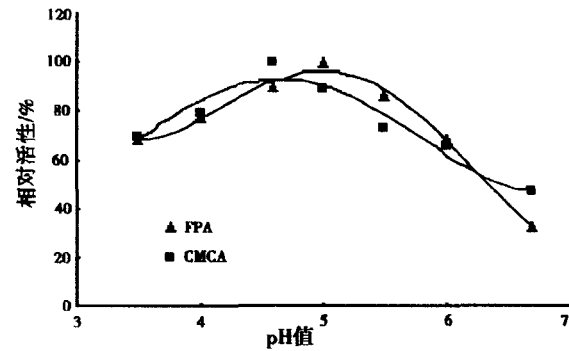


图 4 酶的 pH 特性示意图

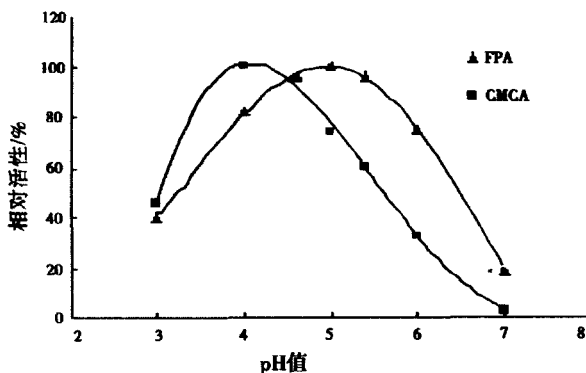


图 5 酶的 pH 特性(磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲体系)

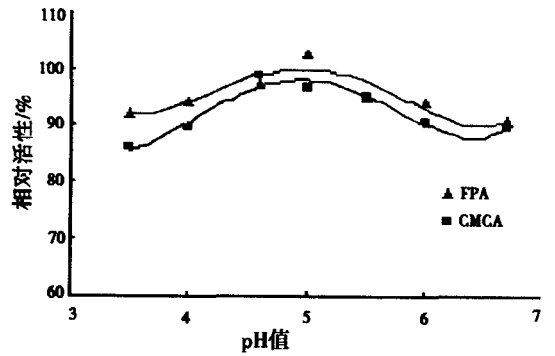


图 6 酶的 pH 稳定性示意图

不同的 pH 条件下，酶活力不同。pH 值变化虽然没有改变酶分子的化学结构，但主要是影响了酶分子的活性中心上有关基团的解离，这样就影响了酶与底物的结合。另外，酶是蛋白质，pH 值变化直接改变了氨基酸的解离状态，从而影响了离子平衡，导致了蛋白质变性。而适当的 pH 值，通过静电作用，维持了酶活性中心的最佳三维构象，促进了酶与底物结合。酶的 pH 特性也是人们在使用时应该加以注意和应用的地方。为了使酸性纤维素酶充分发挥其活力，在实际使用中，应控制 pH 为 4.5 左右，否则，酶将丧失一部分活力。同时，利用酶的 pH 特性，在酶处理完成后，可加入 Na₂CO₃ 等物质提高溶液的 pH 值，从而终止酶的反应。

3 结 论

1. 纤维素酶 A 以 FPA 确定的最适温度范围为 50℃ ~ 60℃，以 CMCA 确定的最适温度范围为 50℃ ~ 70℃；在 40℃ ~ 50℃，4h 内最适 pH 下，酶的热稳定性较好；确定此酶的最佳作用温度为 50℃ ~ 55℃，这样才能使酶发挥较高的活力，同时又保持良好的热稳定性。

2. 在醋酸-醋酸钠缓冲体系中，纤维素酶 A 在 pH 为 5.0 左右有较高的 FPA 活性，在 pH 为 4.6 ~ 5.0 范围内有较高的 CMCA 活性。在磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲体系中，最高 FPA 和 CMCA 对应的 pH 值分别是 5.0 和 4.0。此酶在酸性条件下，特别是在 pH 为 4.6 ~ 5.5 的范围内有较好的稳定性。

参 考 文 献

- 1 罗兰译, [英] C.H. 温著. 酶的结构和功能. 北京: 科学技术出版社, 1983: 150 ~ 161.
- 2 黄文海译, [日] 相尺孝亮著. 酶应用手册. 上海: 上海科技出版社, 1986: 62 ~ 80.
- 3 Ghose. T. . Measurement of Cellulase Activities. Pure Appl. Chem., 1987 (2) : 257 ~ 268.