

不同来源脂肪酶的催化反应性质比较

陶文沂 邬显章 汤逢 向瑞春

(发酵工程系) (中央研究所)

(食品科学与工程系)

摘要 研究了三种脂肪酶的催化反应性质,包括水解作用 pH、温度适宜范围,酶的酸碱稳定性和热稳定性,酶催化水解作用的底物脂肪酸特异性和酯键位置特异性,及对逆向反应的催化作用等。对三种酶的催化反应的机制进行了比较和讨论。

关键词 脂肪酶;催化反应性质

0 前 言

不同来源的脂肪酶具有多方面的不同性质,从而导致各具特色的应用范围。Yoshitaka^[1]等对 *Alcaligenes* SP697 菌株所产脂肪酶催化反应性质进行研究,并与胰脂酶进行对比,从消化辅助物的三个条件上考察,认为可取代胰脂酶。Liu^[2]等对 *Humicola lanuginosa* 所产脂肪酶研究发现,该酶的热稳定性相当高,对于高融点的牛脂、羊脂、猪油及氢化油的水解相当有利。小杉佳次^[3]发现荧光假单胞菌所产脂肪酶热稳定性高,且不需要 CaCl_2 、牛血清等,避免了工业生产中形成金属皂难以回收脂肪酸及牛血清的高成本。渡边^[4]报道 *Thermomyces lanuginosa* 所产脂肪酶的热稳定性高,对三乙酸甘油酯、三丁酸甘油酯没有水解作用,从而作为乳品增香剂生产用酶可在高温下反应,防止杂菌污染,且不产生乙酸、丁酸,不会给产品造成酸败臭味。岩井^[5]比较了四种脂肪酶后,发现 *Rhizopus delemar* 脂肪酶具有确定的位置特异性,可取代胰脂酶用于天然油脂中脂肪酸分布情况测定。具有完全水解油脂的 α 位和 β 位酯键的脂肪酶适用于油脂水解方面的各应用领域, α 位特异性的脂肪酶则在特殊油脂的合成、改良(酯交换)、特殊脂肪酸的制备上有着非常吸引人的应用前景^[6,7,8,9]。

作者对筛选的三株菌产生的脂肪酶的催化反应特性进行了研究,初步确定各自适用范围。分析了三个酶的催化水解反应和酯合成反应的位置特异性,提出了催化反应机制的模式。

1 材料与方 法

1.1 酶

收稿日期:1992-03-12

由菌株 GB5017, BB84, PB227 在各自适宜条件下摇瓶发酵, 发酵液经硫酸铵分级盐析、透析、浓缩, 得酶液备用, 分别简称酶 G. B. P. 酶活性测定按橄榄油乳化法^[10]进行。

1.2 pH 影响试验方法

所用缓冲液为 pH4.0~7.0 Mc Ilvaine 缓冲液, pH6.5~8.0 磷酸缓冲液, pH7.5~8.5 Tris-HCl 缓冲液, pH9.0~10.5 Gly-NaOH 缓冲液, 按 Gomori 方法^[11]制备。

最适 pH 试验以不同缓冲液代替测定中缓冲液, 按酶活测定方法进行。

pH 稳定性试验以酶液与不同缓冲液等量混合后 30℃ 保温 18h, 以测定用缓冲液 9 倍量稀释后按常法测定酶活。

1.3 温度影响试验方法

最适温度试验按酶活测定方法在不同水浴温度下反应 15min。

热稳定性试验以酶液放置不同温度水浴处理 15min, 立即取出置冰浴冷却, 常法测定。

1.4 酯类水解作用

水溶性酯水解按 0.1ml 酯、0.5ml 缓冲液、0.1ml 酶液的系统进行, 水不溶性酯水解按 0.1ml(0.1g)底物, 0.3ml 4%PVA 溶液乳化后, 加 0.3ml 缓冲液及 0.1ml 酶液的系统进行。

1.5 天然油脂水解及脂肪酸特异性试验

各种天然油脂按 1:3 与 4%PVA 溶液混合乳化, 水解系统包括 0.4ml 乳化液, 0.5ml 缓冲液, 0.1ml 酶液, 用酶量 80u/ml 油, 37℃ 振荡水浴中水解 0, 1, 5, 24, 46, 70h 分别取 3 支试管, 加 1.5ml 无水乙醇中止反应, 测定酸值 AV, 按照油脂标准分析方法^[12]测定各油脂的皂化值和酸值, 水解率计算按式(1)进行。

$$HR(\%) = \frac{AV_t - AV_0}{SV - AV} \times 100 \quad (1)$$

AV_t , AV_0 分别为 t 和 0h 的酸值, SV , AV 为样品油的皂化值、酸值, 均折算为相同底物量。

供脂肪酸特异性试验的样品为 0, 1, 24h 水解样, 直接以 1ml 石油醚萃取, 萃取液经硅胶 G 薄层色谱展开, 碘蒸汽显色, 拍摄展开图谱, 再刮下脂肪酸斑点区域, 甲酯化, 气相色谱分析, 按脂肪酸峰面积组成百分数及总酸值计算各脂肪酸的量。

1.6 酯合成反应试验

酯合成反应试验系统包括甘油 25ml, 油酸 1ml, pH7.5 0.25mol 磷酸缓冲液 1ml, 酶活 165u/ml, 于 30×50 扁形称量瓶中 30℃ 恒温室中搅拌反应, 反应 0, 2, 20, 27, 50, 75, 99h 分别取样于 1.5ml 乙醇试管中, NaOH 滴定, 酯合成效果以系统中油酸的消耗程度来衡量, 即

$$SR(\%) = (V_0 - V_t) / V \times 100$$

式中 V_t , V_0 为反应时间 t 和 0 时样品的 NaOH 滴定值, V 为样品空白, 反映样品中酸的总量。

进行水量对酯合成影响试验时, 乙样品反应零时加蒸馏水 10ml, 丙样品经反应 20h 取样后加入蒸馏水 10ml。

滴定后的样品经酸化后加入石油醚 1ml 萃取反应系统中油溶性成分, 石油醚萃取液经硅胶 G 薄层色谱展开, 碘蒸汽显色, 拍摄展开图谱供分析。

1.7 位置特异性试验

以纯三油酸甘油酯为底物, 薄层色谱法分析各酶对三油酸甘油酯水解产生甘油酯的形式, 根据 1,3-二油酯及 1-单油酯的存在与否判断位置特殊性。

商品三油酸甘油酯在贮藏中会产生油酸和甘油一酯、二酯,造成干扰。参照 Quinlin^[13]的方法,以硅胶柱色谱、苯洗脱获得去除了杂质的三油酸甘油酯,薄层色谱鉴定尚含微量油酸,但甘油一酯、二酯已去除干净,油酸不引起分析判断的干扰。

1.8 主要仪器及试剂

气相色谱仪 hp 5880 A 型,上海分析仪器厂出品。层析硅胶,100~200 目,上海五四化学试剂厂产品。薄层硅胶 G,青岛海洋化工厂产品。三氟化硼、三丁酯、三乙酯,上海产。

2 结 果

2.1 主要环境因素对酶催化性能的影响

2.1.1 pH 对酶作用的影响 按方法 2 研究酶作用的最适 pH 范围,由图 1 可见三种酶的最适作用 pH 范围及在碱性条件下水解速度受影响的程度是不同的,酶 G、B、P 的最适 pH 范围分别为 6.5~7.0,7.5~8.0,6.5~7.0,在 pH 9.5 时水解速度降至 45.7%,53.9%,71.9%。pH10.0 时分别为 16.7%,45.3%,58.9%。酶 P 具有较宽的适宜 pH 范围。

2.1.2 温度对酶作用的影响 温度对酶作用的影响具有双重性,其关系曲线一般是钟形,图 2 表现出酶 B 的最适作用温度(15min)最高,70°C 仍反映出 50%活性,酶 G、P 的最适温

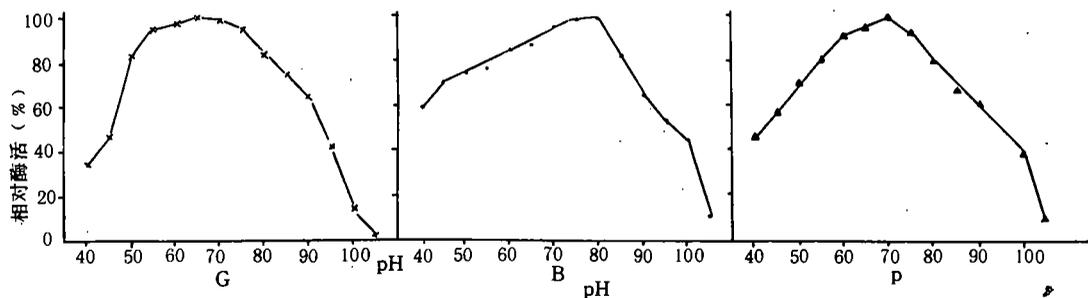


图 1 pH 对脂肪酶作用的影响

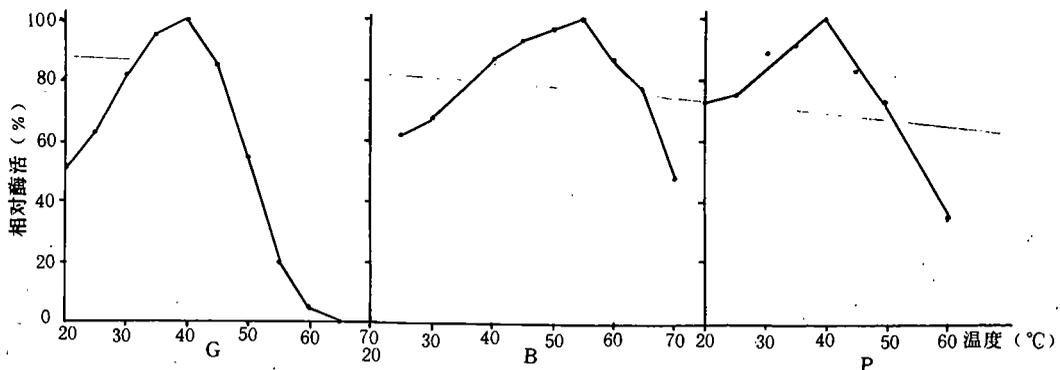


图 2 温度对脂肪酶作用的影响

度均为 40°C,但在高温下酶 G 活性剧降。

2.1.3 酶的酸碱稳定性 酸碱稳定性影响酶的保存和应用,图 3 显示出酶 P 在 5.5 以上 (~10.5) 的 pH 环境中稳定,5.5 以下失活严重,酶 G 在 pH 7.5 以下、酶 B 在 pH 8.5 以下

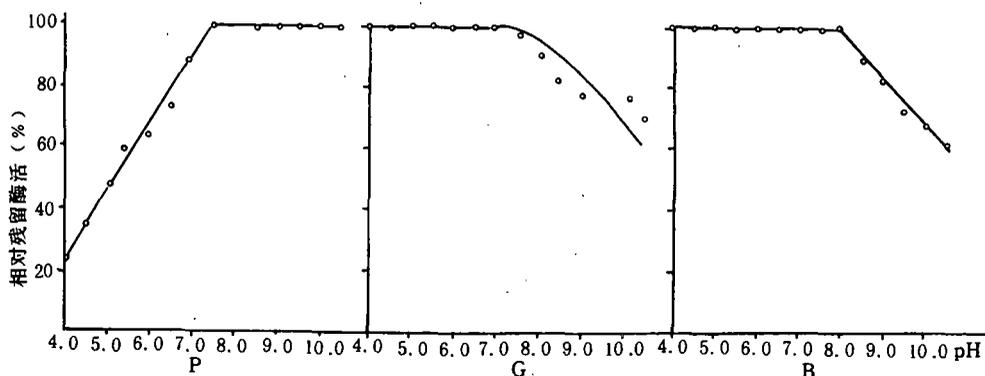


图3 脂肪酶的酸碱稳定性

稳定,此两酶对碱性敏感。

2.1.4 酶的热稳定性 热稳定性与酶蛋白结构密切相关,按方法3确定热处理与残余活性关系(图4),可见酶B热稳定性最好,酶P最差,15min处理50%残留活性的温度对酶G,B,P酶分别为48,64,38℃。

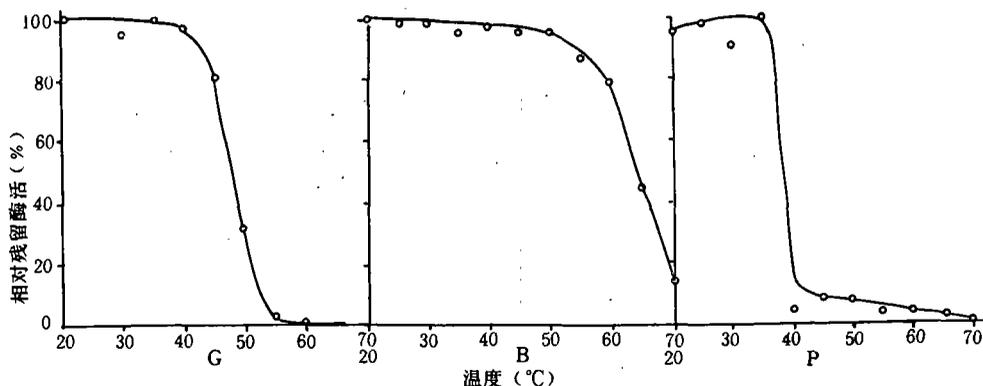


图4 脂肪酶的热稳定性

脂肪酶的以上性质比较可汇总如表1。

表1 三种脂肪酶部分性质比较

	脂肪酶 G	脂肪酶 B	脂肪酶 P
最适 pH 范围	6.5~7.0	7.5~8.0	6.5~7.0
最适温度(℃)	40	55	40
pH 稳定性	<7.5	<8.5	>5.5
热稳定性(℃)	40	50	35

2.2 底物特异性

2.2.1 各种酯的水解 选用化学构造各具特色的酯类来检查比较脂肪酶的作用特异性。表2表示对于由C₂醇与C₁~C₆脂肪酸和芳香酸形成的酯、C₂酸与C₁~C₄脂肪族醇形成的酯的水解能力。可见,水解速率与酸的碳链长度有关,C₂酸酯难水解,碳链长的易水解,碳数为偶数的易水解,具芳香环的不易水解。对于脂肪酸甘油酯、磷脂及其它酯类的试验(表3)表

明,酶 G 对三油酸甘油酯水解最快,约为对橄榄油的一半,酶 P 对三丁酸甘油酯的水解速率为对橄榄油的 5 倍,对三油酸甘油酯的水解速率为对橄榄油的 2.5 倍,说明酶 P 对于低碳数脂肪酸链具有较大的亲和力,酶的活性部位的空间构型要求碳链长度、碳数,同时需要甘油三酯的构型,而吐温所携带的聚氧乙烯长链则妨碍了酶与底物的结合,酶 G 与 P 的共同之点是对三乙酸甘油酯均无水解能力。

表 2 脂肪酶对低级酯的水解

酯类	脂肪酶 G	脂肪酶 P
乙酸甲酯	0	0
乙酸乙酯	2.62	0
乙酸丙酯	2.27	0
乙酸丁酯	1.46	0
乙酸仲丁酯	2.65	0
乙酸异丁酯	0.69	0
甲酸甲酯	1.23	0
甲酸乙酯	0	0
丙酸乙酯	3.08	0.85
丁酸乙酯	0.23	6.08
戊酸乙酯	3.88	3.92
己酸乙酯	0	4.08
苯甲酸乙酯	0.69	0
橄榄油	4.85	4.85

表 3 酶对脂肪酸酯的水解

酯类	脂肪酶 G	脂肪酶 P
三乙酸甘油酯	0	0
三丁酸甘油酯	5.39	101.65
三油酸甘油酯	10.39	51.25
三硬脂酸甘油酯	1.69	2.08
吐温 20	1.08	0.54
吐温 60	0	0.62
吐温 80	0	0.23
司班 80	8.46	14.77
曲拉通 X-100	1.42	0.92
大豆卵磷脂	3.08	0
橄榄油	20.39	20.08

2.2.2 天然油脂的水解 根据国情和实际应用出发,选用几种各具特色的天然油脂(见表 4)作为底物来讨论水解特异性。

表 4 用于酶特异性研究的天然油脂(%)

脂肪酸	椰子油	桐油	蓖麻油	橄榄油	菜油	猪油
C ₆₋₁₀	0.5					
C ₈₋₁₀	9.0					
C ₁₀₋₁₀	6.8	4.6*	2.4*			
C ₁₂₋₁₀	46.4					
C ₁₄₋₁₀	18.0				1.5	1.5
C ₁₆₋₁₀	9.0			6.9		28.3
C ₁₈₋₁₀	1.0			2.3	1.6	11.9
C ₁₈₋₁	7.6	4.1	7.4	84.4	20.2	47.5
C ₁₈₋₂	1.6	0.6	3.1	4.6	14.5	6.0
特色脂肪酸	C ₆₋₁₄ 酸	桐酸 (C _{18,3} 共轭)	蓖麻酸 (C _{18,1} -OH)	C _{18,1-18,2} 酸 89%	芥酸 (C _{22,1ω} -13)	氢化猪油 含 C _{16-18,0} 酸 ~90%
及百分数	80.7%	90.7%	87.1%		57.2%	

* C₆~C₁₈饱和脂肪酸总量

按方法用脂肪酶 G, B, P 对所选六种天然油脂水解,水解过程见图 5。可见三种酶对于不同天然油脂的水解速率和程度是不同的:酶 G 对各种油脂的水解差异很大,对具有 9-位顺式不饱和脂肪酸为主组成的油脂的水解率约为以饱和脂肪酸为主的油脂的 2~3 倍,其中以对油酸为主的油的水解迅速和彻底;酶 B 水解初速度也以不饱和油脂为高,但平衡水解率除

椰子油较低外相差不大;酶 P 对各种油脂的水解初速度及平衡水解率均相当接近,对以饱和和中级脂肪酸为主的椰子油的水解特别高;三种酶水解曲线一致之处是蓖麻酸的羟基使水解变得困难些, *c* 线总在 *d* 线下, 桐酸释放后逐步发生其它反应, 使测定的酸值下降, *b* 线向下弯曲。

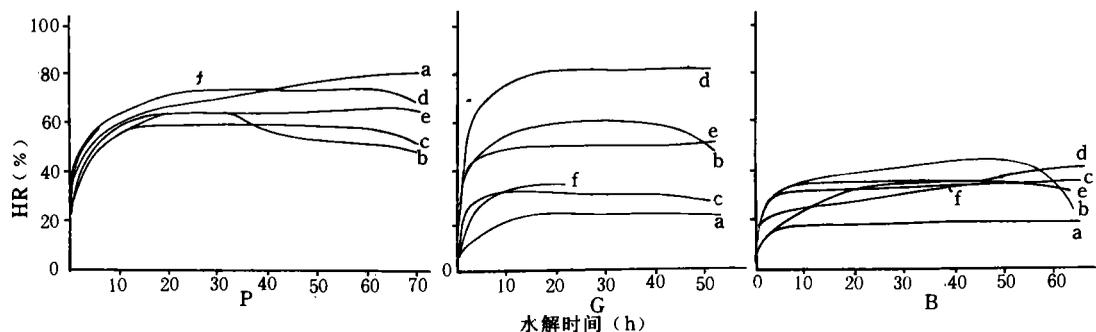


图 5 天然油脂的水解

a. 椰子油 b. 桐油 c. 蓖麻油 d. 橄榄油 e. 菜油 f. 氢化猪油

取水解 1h 及 24h 的样品按方法处理进行薄层层析, 层析图谱显示出各种酶水解产物的情况(图 6)。

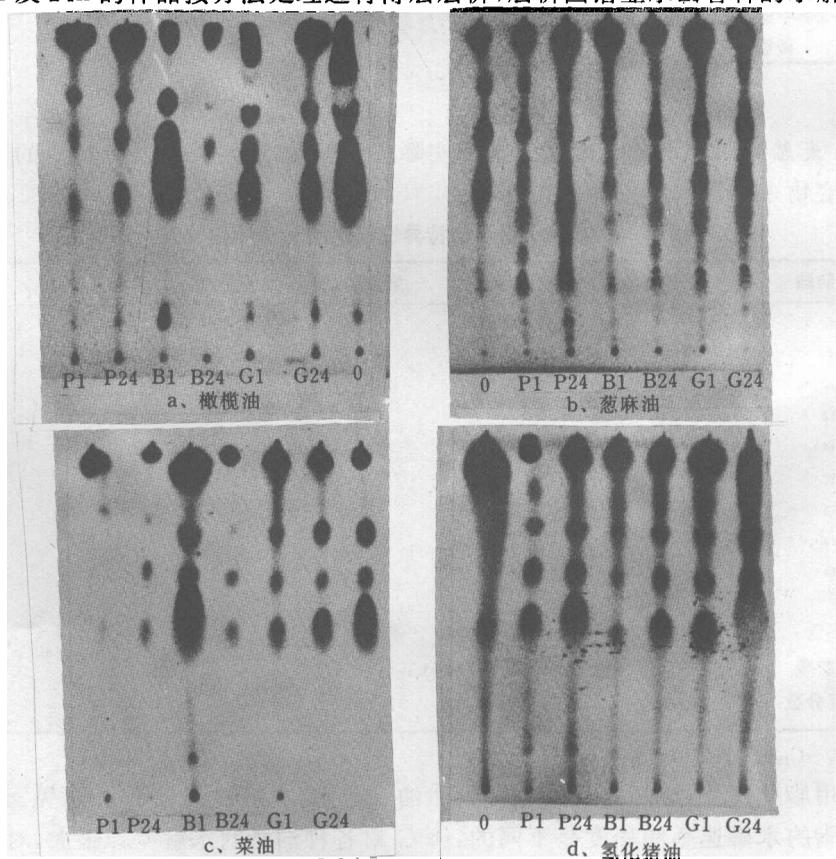


图 6 天然油脂酶水解产物的薄层层析图谱

点样顺序为 0h, 酶 P1, 24h, 酶 B1, 24h, 酶 G1, 24h

从层析板上刮下脂肪酸斑点,以石油醚萃取得游离脂肪酸,甲酯化后以气相色谱分析,得到三种酶对不同的油脂水解 1h 和 24h 的游离脂肪酸组成分析图谱,分析计算这些图谱的结果汇总于表 5.

表 5 天然油脂酶法水解产物的脂肪酸组成(脂肪酸含量:nmol)

a. 椰子油

保留时间(min)	FA	1	2	3	4	5	6
7.13		5.068	8.630	/	/		微峰
7.79	C _{10:0}	3.224	6.042	/	/		/
10.01	C _{12:0}	13.811	64.734	1.521	20.241		11.098
10.72		26.339	66.891	9.205	20.241		18.600
12.46		微峰	微峰	5.629	4.201		20.564
12.65	C _{14:0}	5.463	22.441	1.750	微峰		7.508
13.20		15.748	38.840	微峰	微峰		微峰
13.76		微峰	微峰	1.217	3.564		4.406
14.52		/	/	3.804	20.114		14.036
15.27	C _{16:0}	2.510	8.630	2.358	15.149		9.140
15.89		8.810	17.694	/	/		/
18.72	C _{18:1}	1.578	微峰	2.967	3.564		7.508
19.75	C _{18:0}	3.756	微峰	/	/		微峰

b. 桐油

保留时间(min)	FA	0	1	2	3	4	5	6
10.78		微峰	3.369	微峰	0.388	微峰	微峰	微峰
11.72		1.987	7.412	微峰	微峰	微峰	微峰	微峰
12.12		1.351	7.243	6.209	微峰	微峰	微峰	微峰
12.33		1.113	17.518	3.745	1.137	3.217	2.296	12.724
12.50	C _{14:0}	6.041	5.053	11.983	1.691	9.651	7.699	21.206
14.45		2.782	14.823	19.473	1.886	9.048	14.446	21.206
15.18		1.033	8.260	13.106	4.243	10.053	11.483	38.877
15.28	C _{16:0}	1.431	6.608	12.732	1.192	5.630	8.563	14.579
17.16	C _{18:3}	2.623	14.317	28.085	1.997	10.656	18.088	20.027
18.34	C _{18:2}	/	微峰	微峰	0.452	7.842	3.372	8.078
18.58	C _{18:1}	/	微峰	11.234	3.411	20.308	10.390	35.342
19.37	C _{18:0}	2.186	7.773	16.102	3.299	7.640	9.707	20.027
21.47		1.166	10.443	23.218	1.608	9.450	15.352	21.314
28.54		/	微峰	微峰	微峰	微峰	17.848	20.027

c. 蓖麻油

保留时间(min)	FA	0	1	2	3	4	5	6
1.53	C _{4:0}	/	4.506	6.335	1.589	2.916	/	/
1.77	C _{6:0}	/	11.757	13.355	5.532	9.784	/	/
8.98	C _{12:0}	/	微峰		0.618	1.303	/	微峰
9.64		0.925	7.818	7.327	3.737	6.143	6.182	5.643
10.17		1.086	12.503	12.744	5.711	9.724	9.677	8.897
10.24		微峰	3.790	3.739	1.855	3.124	2.613	2.847
10.58	C _{14:0}	1.000	10.325	10.684	4.780	8.215	8.169	7.474
13.47	C _{18:1-OH}	0.440	8.653	30.450	2.307	8.186	11.848	32.437
15.55	C _{18:2}	0.369	9.280	51.516	2.287	12.907	微峰	11.389
15.71	C _{18:1}	/	10.444	43.578	4.003	13.692	12.621	27.403
16.22	C _{18:0}	/	5.252	19.156	1.024	5.462	4.053	16.116

d. 橄榄油

保留时间(min)	FA	0	1	2	3	4	5	6
1.53	C _{4:0}	/	/	/	/	1.779	/	0.374
1.74	C _{6:0}	9.288	/	1.520	10.953	12.823	10.913	18.126
2.98	C _{8:0}	2.295	/	/	3.861	2.426	3.031	4.599
9.62		2.185	/	4.184	3.861	2.077	4.654	4.865
10.15		3.060	/	5.095	5.917	2.844	6.697	6.950
10.56	C _{14:0}	3.934	/	6.759	5.246	3.697	5.519	5.829
13.48	C _{16:0}	5.354	40.089	77.911	8.351	24.174	23.193	40.315
14.79		2.185	31.663	30.957	4.099	4.064	微峰	微峰
15.70	C _{18:1}	7.649	/	120.077	15.485	65.528	91.281	121.370

e. 菜油

保留时间(min)	FA	0	1	2	3	4	5	6
1.54	C _{4:0}	/	/	/	/	3.714	6.951	/
1.74	C _{6:0}	2.420	7.511	27.886	5.580	16.616	/	6.538
2.97	C _{8:0}	0.766	3.011	/	2.071	2.029	1.429	1.595
9.61		0.968	3.051	5.941	1.790	4.819	2.771	2.096
10.14		1.452	6.092	8.119	2.931	10.361	4.275	3.144
10.54	C _{14:0}	2.461	4.084	8.119	2.367	8.406	3.545	2.646
13.45	C _{16:0}	1.331	4.499	38.614	2.226	8.211	4.623	9.433
15.50	C _{18:2}	0.161	5.053	48.053	1.592	6.451	17.969	30.105
15.70	C _{18:1}	0.807	17.444	68.432	5.735	21.503	36.113	52.239

f. 氢化猪油

保留时间(min)	FA	0	1	2	3	4	5	6
1.53	C _{4:0}	0.124	0.867	0.864	2.990	1.305	0.482	0.390
1.76	C _{6:0}	1.897	6.300	7.680	8.115	5.344	4.397	3.526
10.16		0.724	2.526	2.427	1.269	1.056	3.353	1.589
10.56		0.591	3.008	1.857	1.460	1.078	2.670	1.302
11.09	C _{14:0}	0.100	1.404	4.072	/	0.990	0.436	1.745
13.18	C _{16:1}	0.089	1.277	3.820	/	1.056	2.088	3.603
13.49	C _{16:0}	0.786	16.914	45.893	6.346	20.466	6.626	26.224
15.53	C _{18:2}	0.348	1.144	3.059	1.819	3.226	2.269	1.389
15.73	C _{18:1}	1.959	29.544	50.178	8.604	35.143	31.062	35.393
16.25	C _{18:0}	0.318	25.259	41.040	3.484	21.081	2.018	10.959

注:0—未经酶水解,1~6—顺序为酶 P1,24h,酶 B1,24h,酶 G1,24h 水解样。

由此可得出一个大概的规律:

- (1) 低分子脂肪酸($<C_{12}$)的水解往往在第1个小时已基本达平衡,延长到24h增值很小,甚至有所下降,对这些酸的水解以酶P,B为佳。
- (2) 中分子脂肪酸(C_{12},C_{14})的水解以酶P为佳,酶G、B相仿,含量较高时平衡时间需长些。
- (3) 高分子饱和脂肪酸的水解以酶P为佳。
- (4) 高分子不饱和脂肪酸的水解以酶G的初速度最快,24h后酶G与P的水解效果接近。

2.3 酯合成作用

脂肪酶具催化油脂水解的能力,同时能催化甘油和脂肪酸合成甘油酯,图7显示了三种酶催化酯合成的过程。酶P催化酯合成能力最强,20h即可达70%,酶B,G在50h达酯合成平衡,平衡点在40%左右。

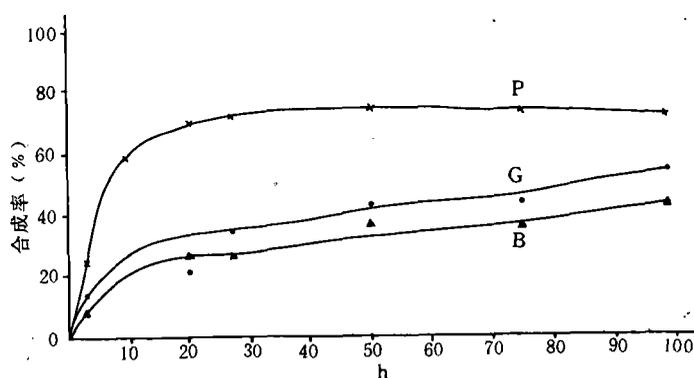


图7 脂肪酶催化甘油酯合成反应的能力

平衡点的存在是可逆反应的共同特点,酯合成反应产物是甘油酯和水,加大甘油浓度,减少反应体系中水量应有利于酯合成反应,而增加水量则影响酯合成率,图8中2线比1线多加10ml水,合成平衡浓度降低20%,3线在20h后加水,酯合成率骤降,平衡浓度比1线低约30%。

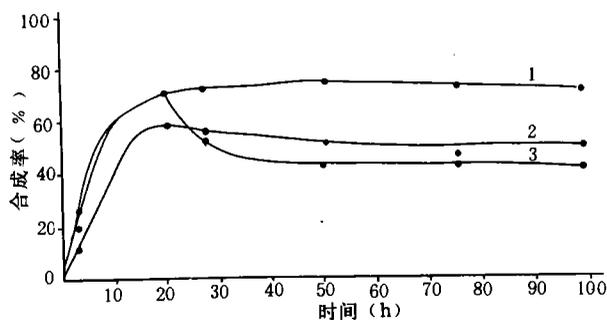


图8 甘油浓度-水量对酯合成的影响

1. 甘油 25ml, 油酸 1ml, 缓冲液 1ml, 酶液 1ml, 酶活 165u/L
2. 同曲线 1, 在 0h, 加蒸馏水 10ml
3. 20h 后加水

2.4 脂肪酶的催化反应机制

以精制的三油酸甘油酯进行酶水解, 0.5, 4, 19, 25h 分别取样作薄层层析(图 9), 酶 G 水解产生 1,3-二油酯(1,3-DO)与 1,2-DO 量接近, MO 很少; 酶 B 产生 1,2-DO 略多于 1,3-DO, 1-MO 多于 2-MO; 酶 P 产生 1,2-DO 比 1,3-DO 多得多, 1-MO 比 2-MO 多得多。由甘油与油酸经酶催化合成甘油酯的过程也反映酶的催化机制(图 10), 三种酶在催化合成反应时与水解反应一样不具有酯键位置特异性, 合成产物中 1-MO, 2-MO 斑点明显, 1,3-DO 与油酸明显分开, 在酶 P 产物中 1,2-DO 也与油酸区分开。由此分析三种酶催化三油酸甘油酯水解作用的机制模式(图 11)。

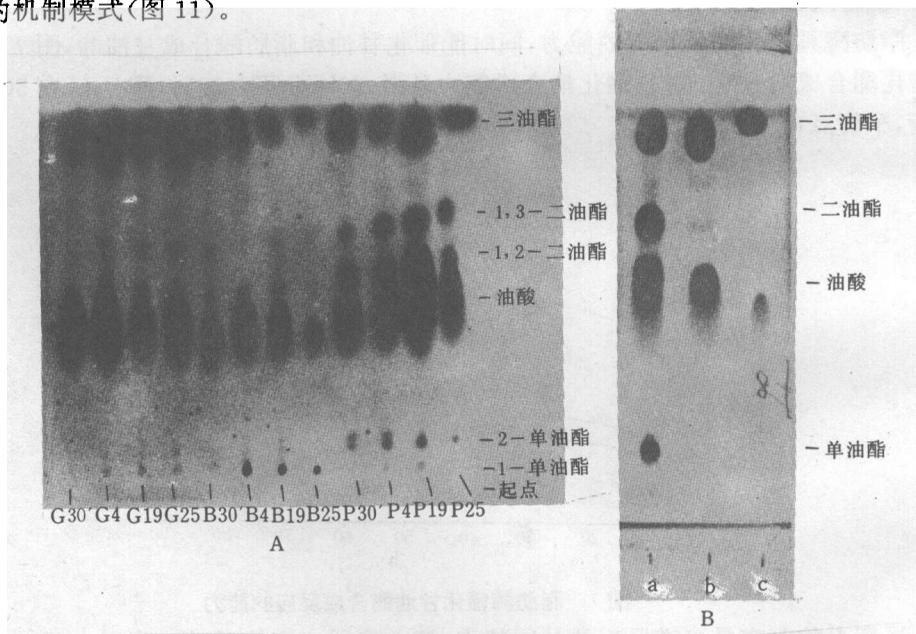


图9 三油酸甘油酯酶水解产物

- a. 不同酶不同反应时间水解产物图谱, 下标为酶及作用时间(h)
- b. 三油酸甘油酯的提纯 a. 商品 b. 中间物 c. 提纯物

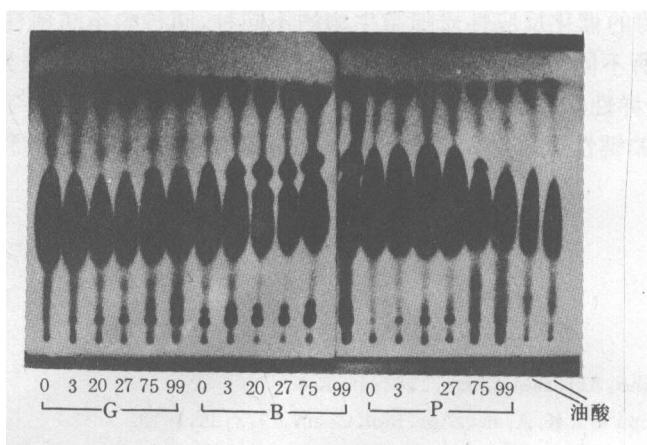


图10 脂肪酶合成的甘油酯的薄层层析图谱

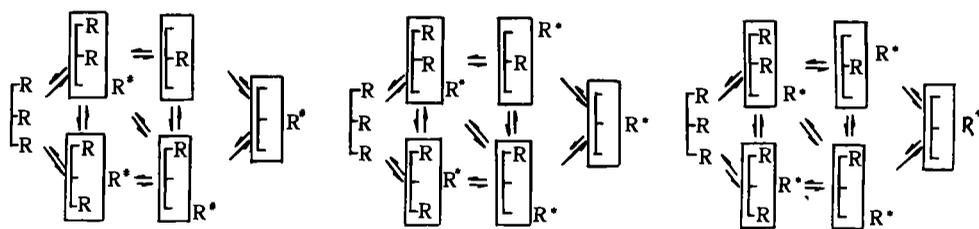


图11 三种脂肪酶催化三油酸甘油酯水解的可能顺序

3 结论及讨论

脂肪酶 G 对于以 ω -9 双键脂肪酸为主的油脂的水解速度快,水解度高;脂肪酶 P 对各种脂肪酸碳链的油脂的水解均相仿,对不饱和脂肪酸的释放速度慢于 G,对饱和脂肪酸及低中碳链脂肪酸的释放远快于 G;脂肪酶 B 的水解速度比 G、P 均低,但最适 pH 较高,热稳定性较好。

脂肪酶作用于油脂时,对于 1 位与 3 位的酰基并无区别的能力,这说明在油水界面状态下,甘油三酯的 1 位与 3 位的空间构型是等当的,而 2 位酰基则与之错开。具有位置特异性的脂肪酶仅能作用于羰基碳原子的 O—C=O 平面处于与界面几乎垂直状态的酰基,2 位酰基在伸展时羰基平面处于与界面平行状态,而不被作用。即使无位置特异性的脂肪酶,由于空间障碍,作用于 2 位酰基明显弱于对 1,3 位的作用。当 3 位酰基脱落后,1,2-二油酯却变得与界面更垂直,水解速度加快。在酶催化酯合成反应中位置特异主要由于甘油羟基的空间位置,即空间障碍。

微生物脂肪酶的催化反应性质随微生物的不同种,同种的不同菌株,甚至同一菌株的不同培养条件而有所不同^[14,15],最适反应 pH 和热的稳定性均有很大差异。底物特异性也不同,不同的位置特异性和脂肪酸特异性与油脂的分子结构紧密相关,与酶蛋白结构、活性中心的大小、形状、关键性氨基酸的排列、电性分布等有直接关系,这有待对纯酶作进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Yoshitaka Kokusho, *Agr. Biol. Chem.* 1982;46,1743
- 2 W. H. Liu, T. Beppu and K. Arima, *Agr. Biol. Chem.*, 1972;36,1919
- 3 小杉佳次,铃木英雄等. 公开特许公报,1982;昭 57-58885
- 4 渡边光雄,龟井智子等. 公开特许公报,1987;昭 62-79782
- 5 岩井美枝子,过阪好夫等. *油化学*, 1980;29,587
- 6 T Nielsen. *Fette Seifen Anstrchmittel*, 1985;87,15
- 7 Boel E et al. *GBF Monogr.* 1991;16,207
- 8 岩井美枝子. *油脂*, 1988;41,64
- 9 陶文沂等. *微生物学报*, 1990;30,216
- 10 郑寿亭. *微生物酶及其应用*. 山东人民出版社, 1973
- 11 G. Gomori, *Methods in Enzymology*, VolII, 138-146, ed, S. P. Colowick and N. O. Kaplan, Academic Press Inc, New York, NY, 1955
- 12 C. Paquot A. Hautfenne, *IUPAC, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives*, Pergamon Press; 6th edition, 1979
- 13 Patricia Quinlin and Herman. J. Weiser Jr, *JAACS*, 1958;35,325
- 14 Toshiyuki Nishio, et al, *Agr. Biol. Chen*, 1987;51,2525
- 15 岩井美枝子. *油脂*, 1988;41,82

Comparison of Catalytic Characters between Lipases from Different Sources

Tao Wenyi Wu Xianzhang Tang Feng Xiang Ruichun

(Dept. of Fermentation Eng.)

Abstract The catalytic characters of three different lipases were discussed. They were involving the optimum pH and temperature, the stability for pH condition and heat, the specificity of fatty acid chains and ester bond position for hydrolyzation and catalysis on the reverse reaction. Upon which the mechanism of catalysis for three kinds of lipases was compared and discussed.

Key-words Lipase; Catalytic Character