

# 专题 4 酶的研究与应用



酶是细胞合成的生物催化剂，几乎所有的生命活动都离不开酶。随着生物科学技术的发展，酶已经走出实验室，走进人们的生产和生活。成吨的葡萄糖靠酶来生产；加酶洗衣粉、加酶牙膏在商店货架上比比皆是；药店里有助消化的多酶片；医院里有助于诊断检测的酶传感器……然而，酶的商品化生产和应用并非易事。在本专题中，我们将重点研究酶在生产生活中的实际应用，包括制作果汁、洗涤衣物以及通过细胞的固定化技术应用酶。



# 课题

# 1

## 果胶酶在果汁生产中的作用

### 课题背景

我国水果生产发展迅速，每年上市的新鲜水果品种多、数量大。但由于收获的季节性强，易造成积压滞销，腐烂变质。水果的加工技术，不仅可以缓解产销矛盾，而且能够提高产品的附加值，满足人们不同层次的需求。水果的加工包括制作果汁、果干、果粉和果酒等。在本课题中，我们将探究果胶酶在果汁生产中的应用。

制作果汁要解决两个主要问题：一是果肉的出汁率低，耗时长；二是榨取的果汁浑浊、黏度高，容易发生沉淀。在生产上，人们使用果胶酶、纤维素酶等来解决上述问题。在本课题中，我们将探究利用果胶酶制作苹果汁的适宜条件，自己动手制作苹果汁。



图 4-1 两个装有果汁的试管，右边的试管中加入了果胶酶，而左边的没有加入



图 4-2 果胶酶试剂

### 基础知识

#### （一）果胶酶的作用

果胶酶有什么作用？观察图 4-1，不难找到答案。果胶酶为什么能够提高水果的出汁率并使果汁变得澄清呢？回答这个问题，需要了解植物细胞壁和胞间层的组成成分——果胶。

果胶是植物细胞壁以及胞间层的主要组成成分之一，它是由半乳糖醛酸聚合而成的一种高分子化合物，不溶于水。在果汁加工中，果胶不仅会影响出汁率，还会使果汁浑浊。果胶酶（图 4-2）能够分解果胶，瓦解植物的细胞壁及胞间层，使榨取果汁变得更容易，而果胶分解成可溶性的半乳糖醛酸，也使得浑浊的果汁变得澄清。果胶酶并不特指某一种酶，而是分解果胶的一类酶的总称，包括多聚半乳糖醛酸酶、果胶分解酶和果胶酯酶等。

#### （二）酶的活性与影响酶活性的因素

酶的活性是指酶催化一定化学反应的能力。酶活性的高低可以用在一定条件下，酶所催化的某一化学反应的反应速度来表示。在科学研究与工业生产中，酶反应速度用单位时间内、单位体积中反应物的减少量或产物的增加量

来表示。

温度、pH和酶的抑制剂等条件会影响酶的活性，果胶酶也是这样。在本课题中，我们首先要探究温度、pH对果胶酶活性的影响。

### (三) 果胶酶的用量

生产果汁时，为了使果胶酶得到充分的利用，节约成本，需要控制好酶的用量。在本课题中，我们在探究了果胶酶催化反应的最适pH和最适温度的基础上，还要进一步探究对于一定量的苹果泥，使用多少果胶酶最合适。

## 实验设计

请你根据下面提供的两个资料进行实验设计，写出详细的实验方案。

### 〔资料一〕 探究温度和 pH 对酶活性的影响

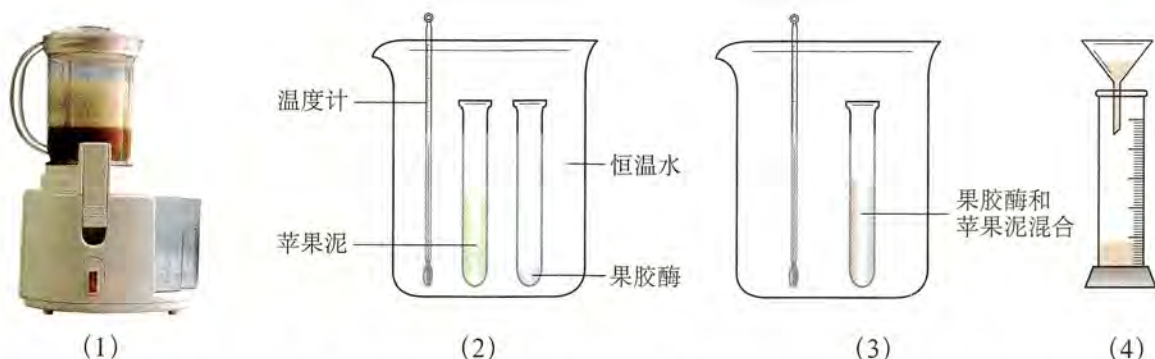
你已经研究过温度和 pH 对唾液淀粉酶活性的影响，掌握了在一恒定温度下通过设置 pH 梯度来确定酶催化反应的最适 pH，在一恒定的 pH 下通过设置温度梯度来确定酶催化反应的最适温度的方法。在本课题的研究中，你将如何设置温度梯度和 pH 梯度呢？在此基础上，你能设计出具体的实验操作方法吗？下面提供了一位同学设计的实验方案及实验流程示意图（图 4-3），请你结合有关问题评价他的实验方案，然后确定自己的方案。

选取的温度系列为：30℃、35℃、40℃、45℃、50℃、55℃、60℃、65℃和 70℃。

选取的 pH 系列为：5、6、7、8、9。

植物、霉菌、酵母菌和细菌均能产生果胶酶。由霉菌发酵生产的果胶酶是食品加工业中使用量最大的酶制剂之一，被广泛地应用于果汁加工业。

虽然实验的变量发生了变化，但通过设置梯度来确定最适值的思想方法是不变的。



(1) 搅拌机搅拌制苹果泥；(2) 将分别装有苹果泥和果胶酶的试管在恒温水浴中保温（探究最适温度时，准备一组烧杯，分别盛有不同温度的水；探究最适 pH 时，准备一组试管，将每个试管中的反应混合物调节至不同的 pH）；(3) 加入果胶酶反应一段时间；(4) 过滤果汁。

图 4-3 探究温度和 pH 对果胶酶活性影响的实验流程示意图



为什么在混合苹果泥和果胶酶之前,要将果泥和果胶酶分装在不同的试管中恒温处理?

在探究温度或 pH 对酶活性的影响时,是否需要设置对照?如果需要,又应该如何设置?为什么?

A 同学将哪个因素作为自变量,控制哪些因素不变?为什么要作这样的处理? B 同学呢?

想一想,为什么能够通过测定滤出的苹果汁的体积大小来判断果胶酶活性的高低?

当探究温度对果胶酶活性的影响时,哪个因素是自变量,哪些因素应该保持不变?

在研究温度和 pH 对唾液淀粉酶活性的影响时,通过用碘液检测反应后的溶液是否变蓝来判断酶是否具有活性。本课题的要求更进一步,需要定量测定果胶酶的活性。下面是两位同学设计的测定果胶酶活性的实验,你认为他们的方法是否正确、可行。你打算如何测定果胶酶的活性呢?

A 同学的操作方法是:在不同温度或 pH 下,将一定量的果胶酶加入一定量的苹果泥中,反应同样长时间,再将反应液过滤同样长时间,用量筒测量滤出的苹果汁的体积,比较获得的苹果汁的体积。获得的苹果汁越多,说明果胶酶的活性越高。

B 同学认为可以通过比较果汁的澄清度来判断果胶酶活性的高低。果汁越澄清,表明果胶酶的活性越高。

### 【资料二】探究果胶酶的用量

在探究了果胶酶的最适温度和最适 pH 之后,可以进一步研究果胶酶的最适用量。此时,实验的变量不再是 pH 或温度,而变为酶的用量。你打算如何设置酶用量的梯度呢?

某位同学打算通过苹果泥出汁的多少来判断果胶酶的用量是否合适,他的想法是:如果随着酶的用量增加,过滤到的果汁的体积也增加,说明酶的用量不足;当酶的用量增加到某个值后,再增加酶的用量,过滤到的果汁的体积不再改变,说明酶的用量已经足够,那么,这个值就是酶的最适用量。你同意他的想法吗?在这个实验中,除了酶的用量以外,影响果汁产量的因素还有: pH、温度、酶催化反应的时间、苹果泥的用量,你打算如何控制上述因素的影响?

### 操作提示

1. 制取苹果泥时,可先将苹果切成小块放入榨汁机中,加入适量的水后再进行搅拌;如果用橙子做实验,不必去掉橙皮。

2. 在探究不同 pH 对果胶酶活性的影响时,可以用质量分数为 0.1% 的 NaOH 溶液和盐酸进行调节。

3. 在用果胶酶处理果泥时,为了使果胶酶能够充分地催化反应,应用玻璃棒不时地搅拌反应混合物。

### 结果分析与评价

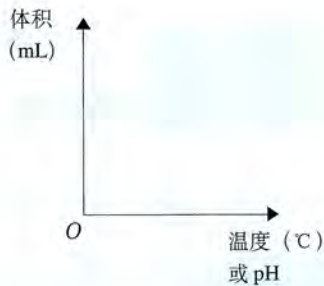
1. 温度、pH 是如何影响果胶酶的活性的? 请将你的实验数据转换成曲线图(参见下页旁栏),与同学交流。

2. 在最适温度和 pH 条件下制作 1 L 苹果汁,使用多

少果胶酶最合适？为什么？

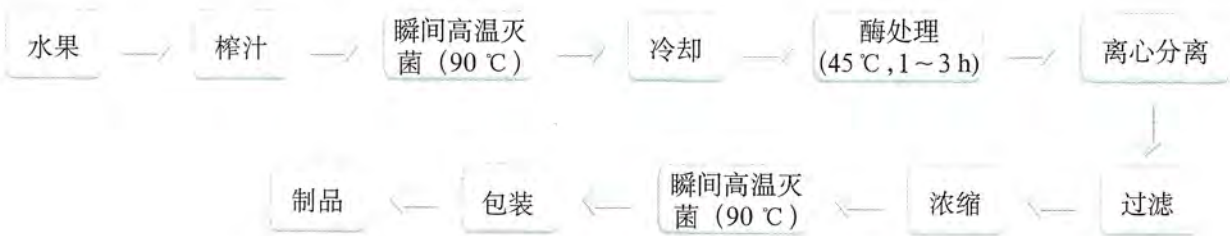
3. 你做出了澄清的苹果汁吗？粗略地估算你制作1 L 苹果汁的成本,其价格接近于市场价吗？如果有明显不同,你能分析出产生差异的原因吗？

4. 如果从你绘制的曲线图中无法判断出果胶酶的最适 pH 或温度,你将如何改进实验方法？



## 练习

比较本实验中制作果汁的方法与工业制作流程(下图),总结大规模生产与实验室制备的主要不同点。





# 课题2

## 探讨加酶洗衣粉的洗涤效果

### 课题背景

当你自己动手洗衣服的时候，会发现有油渍、汗渍或血渍的衣服很难彻底洗干净，你是如何解决这个问题的？你是否尝试过加酶洗衣粉？与普通洗衣粉相比，加酶洗衣粉能更有效地清除顽渍。在本课题中，我们将了解加酶洗衣粉的作用，探讨加酶洗衣粉使用的最适条件。



### 基础知识

加酶洗衣粉是指含有酶制剂的洗衣粉，目前常用的酶制剂有四类：蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶和纤维素酶。其中，应用最广泛、效果最明显的是碱性蛋白酶和碱性脂肪酶。碱性蛋白酶能将血渍、奶渍等含有的大分子蛋白质水解成可溶性的氨基酸或小分子的肽，使污迹容易从衣物上脱落。这是普通洗衣粉难以做到的。同样的道理，脂肪酶、淀粉酶和纤维素酶也能分别将大分子的脂肪、淀粉和纤维素水解为小分子物质，使洗衣粉具有更好的去污能力。

温度、酸碱度和表面活性剂都会影响酶的活性。如果将酶直接添加到洗衣粉中，过不了多久，酶就会失活。为了解决这个难题，科学家通过基因工程生产出了能够耐酸、耐碱、忍受表面活性剂和较高温度的酶，并且通过特殊的化学物质将酶层层包裹，与洗衣粉的其他成分隔离。这些隔离层遇到水后，就会很快溶解，包裹在其中的酶就能迅速发挥催化作用了。

### 实验设计

在本课题中，我们主要探究有关加酶洗衣粉的三个问题：一是普通洗衣粉和加酶洗衣粉对衣物污渍的洗涤效果有什么不同；二是在什么样的温度下使用加酶洗衣粉效果最好；三是添加不同种类的酶的洗衣粉，其洗涤效果有哪些区别。下面提供了三个相关资料，请你思考有关问题，针

查阅资料，看看普通洗衣粉中包含哪些化学成分。

普通洗衣粉中含有磷。含磷污水的排放可能导致微生物和藻类的大量繁殖，造成水体的污染。加酶洗衣粉可以降低表面活性剂和三聚磷酸钠的用量，使洗涤剂朝低磷无磷的方向发展，减少对环境的污染。

对要探究的三个方面写出具体的设计方案。

[资料一] 如何有效地控制变量

在本课题中，控制变量的思路与课题1类似，只是研究的具体问题发生了变化。你能借鉴课题1的方法，分析本课题的研究思路吗？

下面是两位同学设计的实验方案，请你分析这两个方案，思考相关问题。

A同学的方案：实验中使用大烧杯和固定的水量，洗涤材料使用固定大小的新布，洗涤过程通过玻璃棒搅拌来实现（图4-4），洗衣粉的用量可以通过天平称量来控制，污渍的污染程度要保持一致，这可以通过滴加在布料上的污染物的量来控制。

B同学认为洗衣粉的洗涤效果是显而易见的事情。平时用洗衣机洗衣服，如果加普通洗衣粉，衣领部分的污渍总会有些残留，如果使用加酶洗衣粉，就能完全洗干净，这已经说明加酶洗衣粉的洗涤效果更好，A同学的方案是将简单问题复杂化了。请结合两位同学的方案，思考下面的问题。

- 1. 你同意B同学的观点吗？请说明你的理由。
- 2. 你认为他们的方案是否存在问题？如果有问题，有哪些问题？你能提出一个更好的方案吗？
- 3. 你能就此例谈一谈科学实验与日常生活经验的联系与区别吗？

[资料二] 考虑实际生活中的具体情况

本课题不仅要用科学探究的方法研究日常生活中的问题，还需要将研究的结果应用到实际生活中去。因此，在探究的过程中，不仅要从理论层面去思考问题，还要充分考虑日常生活中的具体情况。某同学探究温度对加酶洗衣粉洗涤效果的影响，选择10℃、20℃、30℃、40℃、50℃、60℃和70℃来进行实验。请你分析这个方案是否完善、妥当，并提出改进建议。

[资料三] 不同类型的加酶洗衣粉的洗涤效果

下表是某位同学设计的实验表格，用来探究不同类型的加酶洗衣粉的洗涤效果。你同意他的设计方案吗？需要做怎样的改进？请拿出你的实验方案。

污染物	蛋白酶洗衣粉	复合酶洗衣粉	普通洗衣粉
油渍			
汗渍			
血渍			

科学探究中，研究变量的思路是一致的，只是在不同的问题情境下，具体做法不同。



图4-4 探究加酶洗衣粉的洗涤效果

你打算选用什么洗涤材料？

衣物的洗涤，不仅要考虑洗涤效果，还要考虑衣物的承受能力、洗涤成本等因素。

评判实验结果必须有一个客观标准。在本课题中，你打算使用什么方法和标准判断洗涤效果？请仔细考虑后确定一个方案。





常见的去污产品

## 结果分析与评价

请将你的结果写成研究报告，说明：

1. 加酶洗衣粉与普通洗衣粉洗涤效果的比较分析；
2. 使用加酶洗衣粉的最适条件；
3. 各种不同品牌的加酶洗衣粉对油渍、汗渍和血渍等的洗涤效果。

## 相关链接

1. 衣服的袖口和领口往往有较多污渍，用一般的洗衣粉很难清洗，但“衣领净”却能有效地去除这些顽渍。请你分析其中的原因。
2. 超市中有不少针对厨房油垢、马桶污垢、地面污渍的去污产品，它们是否含有酶？你能根据这些产品的去污原理，将它们进行分类吗？使用这些产品会造成环境污染吗？



## 练习

1. 请比较普通洗衣粉和加酶洗衣粉去污原理的异同。

合适吗？为什么？
2. 有位同学打算用丝绸作为实验材料，探讨含有蛋白酶的洗衣粉的洗涤效果，你认为他这样做

人的广告。
3. 请为加酶洗衣粉设计一份既科学而又吸引人的广告。



# 课题3 酵母细胞的固定化

## 课题背景

如今,酶已经大规模地应用于食品、化工、轻纺、医药等各个领域。在应用酶的过程中,人们发现了一些实际问题:酶通常对强酸、强碱、高温和有机溶剂等条件非常敏感,容易失活;溶液中的酶很难回收,不能被再次利用,提高了生产成本;反应后酶会混在产物中,可能影响产品质量。

于是,有人设想,将酶固定在不溶于水的载体上,使酶既能与反应物接触,又能与产物分离,同时,固定在载体上的酶还可以被反复利用。现代的固定化酶技术已完全实现了这一设想。高果糖浆的生产就是固定化酶技术成功地应用于工业生产的实例。

酶是由细胞合成的,于是,又有人设想,能否将合成酶的细胞直接固定?自20世纪70年代,在固定化酶技术的基础上,又发展出了细胞固定化技术。与固定化酶技术相比,固定化细胞制备的成本更低,操作更容易。在本课题中,我们将动手制备固定化酵母细胞,体会固定化酶的作用。



## 基础知识

### (一) 固定化酶的应用实例

我们以高果糖浆的生产为例来了解固定化酶技术在生产实践中的应用。高果糖浆的生产需要使用葡萄糖异构酶,它能将葡萄糖转化成果糖。这种酶的稳定性好,可以持续发挥作用。但是,酶溶解于葡萄糖溶液后,就无法从糖浆中回收,造成很大的浪费。

使用固定化酶技术,将这种酶固定在一中颗粒状的载体上,再将这些酶颗粒装到一个反应柱内(图4-5),柱子底端装上分布着许多小孔的筛板。酶颗粒无法通过筛板上的小孔,而反应溶液却可以自由出入。生产过程中,将葡萄糖溶液从反应柱的上端注入,使葡萄糖溶液流过反应柱,与固定化葡萄糖异构酶接触,转化成果糖,从反应柱的下端流出。反应柱能连续使用半年,大大降低了生产成本,提高了果糖的产量和质量。目前,用固定化葡萄糖异构酶生产高果糖浆的规模已经超过了每年1 000万吨。

高果糖浆是指果糖含量为42%左右的糖浆。作为蔗糖的替代品,高果糖浆不会像蔗糖那样诱发肥胖、糖尿病、龋齿和心血管病,对人类的健康更有益。

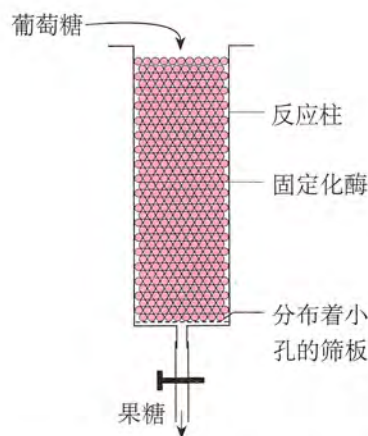
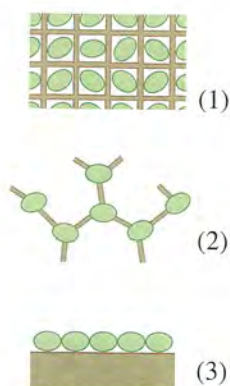


图4-5 固定化酶的反应柱示意图





- (1) 将酶包埋在细微网格里；
- (2) 将酶相互连接起来；
- (3) 将酶吸附在载体表面上。

图 4-6 酶的几种固定方式示意图



图 4-7 化学试剂海藻酸钠

**i** 在缺水状态下，微生物处于休眠状态。活化就是让处于休眠状态的微生物重新恢复正常的的生活状态。

## (二) 固定化细胞技术

固定化酶和固定化细胞技术是利用物理或化学方法将酶或细胞固定在一定空间内的技术，包括包埋法、化学结合法(将酶分子或细胞相互结合，或将其结合到载体上)和物理吸附法(图 4-6)。一般来说，酶更适合采用化学结合和物理吸附法固定化，而细胞多采用包埋法固定化。这是因为细胞体积大，而酶分子很小；体积大的细胞难以被吸附或结合，而体积小的酶容易从包埋材料中漏出。

从操作角度来考虑，你认为哪一种方法更容易？哪一种方法对酶活性的影响更小？固定化细胞固定的是一种酶还是一系列酶？如果想将微生物的发酵过程变成连续的酶反应，应该选择哪种方法？如果反应物是大分子物质，又应该采用哪种方法？

本课题使用包埋法来固定细胞，即将微生物细胞均匀地包埋在不溶于水的多孔性载体中。常用的载体有明胶、琼脂糖、海藻酸钠、醋酸纤维素和聚丙烯酰胺等。本实验选用海藻酸钠作载体包埋酵母细胞(图 4-7)。

## 实验操作

### (一) 制备固定化酵母细胞

#### 1. 酵母细胞的活化

称取 1 g 干酵母(图 4-8)，放入 50 mL 的小烧杯中，加入蒸馏水 10 mL，用玻璃棒搅拌，使酵母细胞混合均匀，成糊状，放置 1 h 左右，使其活化(图 4-9)。

#### 2. 配制物质的量浓度为 0.05 mol/L 的 $\text{CaCl}_2$ 溶液

称取无水  $\text{CaCl}_2$  0.83 g，放入 200 mL 的烧杯中，加入 150 mL 蒸馏水，使其充分溶解，待用。



图 4-8 袋装干酵母



图 4-9 活化的酵母



### 3. 配制海藻酸钠溶液

称取0.7 g海藻酸钠,放入50 mL小烧杯中,加入10 mL水,用酒精灯加热,边加热边搅拌(图4-10),将海藻酸钠调成糊状,直至完全溶化,用蒸馏水定容至10 mL。注意,加热时要用小火,或者间断加热,反复几次,直到海藻酸钠溶化为止。

### 4. 海藻酸钠溶液与酵母细胞混合

将溶化好的海藻酸钠溶液冷却至室温,加入已活化的酵母细胞,进行充分搅拌,使其混合均匀(图4-11),再转移至注射器中。

### 5. 固定化酵母细胞

以恒定的速度缓慢地将注射器中的溶液滴加到配制好的 $\text{CaCl}_2$ 溶液中,观察液滴在 $\text{CaCl}_2$ 溶液中形成凝胶珠的情形(图4-12)。将这些凝胶珠在 $\text{CaCl}_2$ 溶液中浸泡30 min左右。如果没有注射器,可以在小塑料瓶上安装一个孔径为2 mm的喷嘴来使用。

## (二) 用固定化酵母细胞发酵

1. 将固定好的酵母细胞(凝胶珠)用蒸馏水冲洗2~3次。

2. 将150 mL质量分数为10%的葡萄糖溶液转移到200 mL的锥形瓶中,再加入固定好的酵母细胞,置于25℃下发酵24 h(图4-13)。

## 操作提示

海藻酸钠在水中溶解的速度较慢,需要通过加热促进其溶解。溶解海藻酸钠,最好采用小火间断加热的方法。例如,加热几分钟后,从石棉网上取下烧杯冷却片刻,并不断搅拌,再将烧杯放回石棉网继续加热,如此重复数次,直至海藻酸钠完全溶化。如果加热太快,海藻酸钠会发生焦糊。

## 结果分析与评价

1. 观察并描述形成的凝胶珠的颜色和形状。
2. 观察利用固定化酵母细胞发酵的葡萄糖溶液,看看是否有气泡产生,闻闻是否有酒味。

## 课题延伸

如果希望反复使用固定化酵母细胞,就需要避免其他微生物的污染。在工业生产中,细胞的固定化是在严格无



图4-10 溶化海藻酸钠的过程



图4-11 海藻酸钠溶液与酵母细胞混合



图4-12 酵母细胞的固定化



图4-13 用固定化酵母细胞发酵葡萄糖溶液



菌的条件下进行的。

结合专题 2 的无菌操作技术,想一想如果要求制作反复使用的固定化酵母细胞,应该在实验过程中注意哪些问题?

### 相关链接

结合专题 1 中的课题 1,想一想,是否可以利用固定化细胞发酵制果酒和果醋,使用固定化细胞能否达到连续生产的目的?有兴趣的同学不妨试一试。



## 练 习

1. 直接使用酶、使用固定化酶和使用固定化细胞催化反应,各有哪些优点与不足?

2. 你能写一篇短文,描述葡萄糖分子通过固定化酵母细胞转变成酒精的过程吗?

3. 目前,还没有一种固定化技术能普遍适用于所有的酶。在实际应用中,需要根据各种酶的特性,探索最佳的固定化途径。你能解释为什么很难找出一种普遍适用的固定酶的方法吗?