

## 海藻多糖降解酶的研究进展

管斌<sup>1</sup>, 倪雪朋<sup>1,2</sup>, 李悦明<sup>3</sup>, 韩建友<sup>3</sup>, 徐建春<sup>3</sup>, 孔青<sup>1</sup>

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003; 2. 日照职业技术学院, 山东日照 276826;  
3. 青岛琅琊台集团股份有限公司, 山东青岛 266400)

摘要: 本文系统阐述了海藻多糖降解酶的研究现状以及进展, 并对该酶的研究作了展望。

关键词: 海藻多糖降解酶; 褐藻胶酶; 琼胶酶; 卡拉胶酶; 褐藻糖胶酶; 研究进展

中图分类号: Q55 文献标识码: A 文章编号: 0254-5071(2010)09-0008-05

### Research progress of algal polysaccharide-degrading enzymes

GUAN Bin<sup>1</sup>, NI Xuepeng<sup>1,2</sup>, LI Yueping<sup>3</sup>, HAN Jianyou<sup>3</sup>, XU Jianchun<sup>3</sup>, KONG Qing<sup>1</sup>

(1. Institute of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Rizhao Institute of Technology, Rizhao 276826, China; 3. Qingdao Langyatai (Group) Co., Ltd, Qingdao 266400, China)

Abstract: The current study, research progress and prospects of algal polysaccharide-degrading enzymes were discussed.

Key words: algal polysaccharide-degrading enzyme; alginate lyase; agarase; fucoidanase; research progress

酶是由生物(细胞)所分泌的, 具有生物催化功能的蛋白质。海洋生物酶可定义为由海洋生物分泌产生的, 具有特殊催化功能的蛋白质。海洋生物酶应具有以下特点:

(1) 海洋是孕育生命的摇篮。在生物进化的长河中, 处于不同进化阶段的生物广泛分布于海洋中, 其已成为全球生命支持系统中一个极重要的组成部分。生命的2个最基本特征是新陈代谢和自我复制。在生物体内完成这2个过程都离不开酶的催化作用。酶和生命活动密切相关, 参与了所有生命活动和生命过程。可以说, 酶在海洋生物的生存、生长、发育及繁殖等生命活动中发挥着不可替代的作用。

(2) 在海洋中生存的生物种类繁多、数量巨大。海洋生物有41个门类, 至少16万种以上, 而且许多种类为海洋生物所独有, 如半索生物、棘皮动物、鳃足动物和栉水母等。海洋生物种类的多样性也决定了酶的种类多样性。

(3) 海洋约占地球表面的71%, 总面积为3.61亿km<sup>2</sup>, 比陆地面积大得多。海洋平均深度为4公里, 最深的海沟达10公里以上, 远超过海平面上最高山峰的高度。海洋

生物特别是海洋微生物在海洋中分布极为广泛, 几乎分布于海洋中不同的区域。海洋生物分布的广泛性决定了酶分布的广泛性。

(4) 海洋具有特殊的环境。海洋生物适应了海洋特殊环境, 产生各种特殊的酶系, 是极其丰富的新的酶资源。特别是适应了海洋特殊环境的极端微生物, 如嗜压菌、嗜冷菌、嗜热菌、嗜碱菌、嗜盐菌等, 这些菌是低温酶、高温酶、嗜碱酶、耐盐酶等极端酶的重要来源。

(5) 酶具有高度的(底物)作用专一性, 这是酶与一般催化剂最显著的区别。由于海洋的特殊环境, 使得海洋生物物质具有独特的性质。海洋生物酶适应了海洋的特殊环境, 诱导产生特殊的酶类。这些酶类作用的底物决定了海洋生物酶对其底物作用的特异性。

(6) 海洋贮藏有极丰富的生物资源, 而且还是地球上未被开发利用的处女地, 是生物技术研究获得新酶源、新基因源的取之不尽的源泉。

(7) 海洋生物资源具有可再生资源的特点。海洋生物食物链对维持海洋生态平衡起到了极重要的作用。海洋

收稿日期: 2010-03-18

作者简介: 管斌, 教授, 主要从事发酵工程、酶工程的研究工作。

celerating flavour formation by salt-tolerant yeasts in Japanese soy sauce process[J]. Trends Food Sci Tech, 2001, 12(9): 322-327.

[15] 周秉承, 论低盐固态酿制酱油生产工艺的改革[J]. 中国酿造, 2005(1): 1-3.

[16] 赵德安, 浅谈酱油酿造工艺的改革[J]. 中国调味品, 2006(1): 32-34.

[17] 李西腾, 吴沿友, 酱油稀醪低盐发酵工艺中酶制剂的应用初探[J]. 中国酿造, 2005(8): 33-35.

[18] 张宗舟, 张扬, 酱油的固态无盐与低盐混合发酵工艺研究[J]. 中国酿造, 2005(2): 15-16.

[19] 张贺迎, 武金霞, 林彦彬, 不同蛋白酶添加量对酱油成曲酶活的影响[J]. 中国酿造, 2007(11): 43-45.

[20] 包启安, 大豆发酵食品与谷氨酰胺酶[J]. 中国酿造, 2001(5): 3-4.

[21] 谢小保, 欧阳友生, 曾海燕, 等, 高盐稀醪酱油发酵原油中微生物区系研究[J]. 微生物学通报, 2007, 3: 504-505.

[22] MOON G, LEE M, LEE Y, et al. Main component of soy sauce representing antioxidative activity[J]. Int Congr S, 2002, 2: 509-510.

[23] 朱志鑫, 吴惠勤, 黄晓兰, 酱油香气成分GC/MS分析[J]. 食品研究与开发, 2007, 12: 135-137.

[24] KATAOKA S. Funcional effects of Japanese style fermented soy sauce (shoyu) and its components[J]. J Biosci Bioeng, 2005, 100(3): 227-234.

[25] 彭荣, 彭洪光, 灵芝酱油的生产工艺研究[J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2004, 6: 1073-1075.

生物资源又是人类生存所需食物的重要来源之一。海洋生物技术的研究和开发,将为创造新物质、以前无法生产的物质、具有更大利用价值的物质提供工业化生产方法。这使得海洋生物酶在海洋生物高值化过程中起着相当重要的作用。

21世纪人类面临人口增加、环境恶化和能源缺乏三大危机的严重挑战。而浩瀚的海洋蕴藏着丰富的生物资源、矿物资源及动力资源,是人类生存和发展在地球上最后一块有待开发的疆域。海洋生物技术特别是海洋酶工程已成为研究和开发海洋生物资源的重要工具。有人说“21世纪是海洋的世纪”,有理由认为海洋生物酶的研究必将在海洋生物资源的开发和利用中发挥重要的作用。海藻多糖降解酶是海洋生物酶的一个极重要的分支,是具有良好的工业化应用前景的酶类之一。现就海藻多糖降解酶的研究现状、研究进展、存在的问题以及发展前景分别进行讨论。

1 海藻多糖降解酶的研究现状

1.1 海藻多糖降解酶的分类和来源

1.1.1 海藻多糖降解酶分类

海藻多糖降解酶按其所降解多糖是否为海洋所特有的可分为2大类:一类是能降解特有的海藻多糖降解酶类(如褐藻胶酶、褐藻糖胶酶(岩藻糖胶酶)、琼胶酶、卡拉胶酶等)。这类酶所降解多糖是由2种单糖或者由一种单糖或这种单糖的衍生物构成的(可称为杂多糖),单糖有D型和L型(光学异构体)构型,并含有一定量的硫酸基。另一类是能降解非特有的海藻多糖降解酶类(如淀粉酶、纤维素酶、甘露糖酶、果胶酶等)。这类酶所降解多糖的特点是由同一单糖作为单体构成的多糖(也称为纯多糖),单糖是由D型单糖组成,多糖的空间结构比较单一。表1、表2分别列出了海藻多糖降解酶所作用多糖的组成和海藻多糖降解酶的分类。

表1 海藻多糖降解酶所作用多糖的组成  
Table 1. Composition of algal polysaccharides

糖的分类	单体	糖苷键	
褐藻胶	L-古罗糖醛酸和D-甘露糖醛酸2种单元交替组成	$\alpha$ -1,4糖苷键、 $\beta$ -1,4糖苷键	
特有的海藻多糖	琼胶	D-半乳糖和3,6-内醚-L-半乳糖2种糖组成	$\alpha$ -1,3糖苷键、 $\beta$ -1,4糖苷键
	卡拉胶	D-半乳糖-4-硫酸基和3,6-内醚-D-半乳糖2种糖组成	$\alpha$ -1,3糖苷键、 $\beta$ -1,4糖苷键
	岩藻糖胶酶	D-半乳糖和L-岩藻糖组成	$\alpha$ -1,2糖苷键、 $\beta$ -1,3糖苷键
纤维素	D-葡萄糖组成的纤维二糖	$\beta$ -1,4糖苷键	
非特有的海藻多糖	淀粉	D-葡萄糖组成的麦芽糖	$\alpha$ -1,4糖苷键、 $\alpha$ -1,6糖苷键
	甘露聚糖	D-甘露糖	$\beta$ -1,4糖苷键、 $\beta$ -1,6糖苷键或 $\beta$ -1,3糖苷键
	果胶	D-半乳糖	$\beta$ -1,4糖苷键

表2 海藻多糖降解酶类型及其酶系

Table 2 Types and enzyme systems of algal polysaccharide-degrading enzyme

酶的分类	酶系组成	
褐藻胶酶	1,4- $\alpha$ -古罗糖醛酸降解酶、1,4- $\beta$ -甘露糖醛酸降解酶及其糖苷酶	
特有的海藻多糖降解酶	琼胶酶	$\alpha$ -琼胶酶、 $\beta$ -琼胶酶及其糖苷酶
	卡拉胶酶	$\alpha$ -卡拉胶酶、 $\beta$ -卡拉胶酶及其糖苷酶
	岩藻糖胶酶	$\alpha$ -岩藻糖胶酶、 $\beta$ -岩藻糖胶酶及其糖苷酶
纤维素酶	$\beta$ -1,4葡聚糖酶、 $\beta$ -1,4纤维二糖分解酶及葡萄糖苷酶	
非特有的海藻多糖降解酶	淀粉酶	$\alpha$ -淀粉酶、糖化酶、 $\beta$ -淀粉酶及支链淀粉酶
	甘露聚糖酶	甘露聚糖酶、甘露糖苷酶
	果胶酶	半乳糖酶、半乳糖苷酶

从表2可以看出,这类酶又可分为 $\alpha$ -多糖降解酶、 $\beta$ -多糖降解酶和糖苷酶。

1.1.2 海藻多糖降解酶的来源

海藻多糖降解酶主要来源于海洋动物和海洋微生物。

海洋动物:来源于海洋动物的海藻多糖降解酶多是从新鲜的海产食藻动物(如鲍鱼、海螺、海兔等)的消化腺中提取。这些海藻多糖降解酶有褐藻胶酶、琼胶酶、纤维素酶、甘露聚糖酶以及果胶酶等。由于海产食藻动物的来源有限性以及原料保鲜的困难性,所以这些酶制剂产量很小。这使得人们更加关注由海洋微生物来制备的这类酶类。

海洋微生物:海洋具有丰富的微生物资源,现已发现许多产生海藻多糖降解酶的微生物,主要分布于海洋细菌中。如弧菌(*Vibrio sp.*)、假单胞菌(*Pseudomonas sp.*)、交替单胞菌(*Alteromonas sp.*)以及芽孢杆菌(*Bacillus sp.*)等微生物菌株。主要产生的酶类有褐藻胶酶、琼胶酶、卡拉胶酶、甘露聚糖酶等。

1.2 几种特有的海藻多糖降解酶

1.2.1 褐藻胶酶

褐藻胶酶的底物特异性,根据可降解甘露糖醛酸(M)或古罗糖醛酸(G)而分为几种底物作用形式。研究表明,假单胞菌可分泌聚M段专一性降解酶,克里伯氏菌可分泌聚G段专一性降解酶,芽孢杆菌、别单胞菌可分泌具有降解聚M段和聚G段的降解酶,弧菌有一些菌株(*Vibrio AL-128*)具有降解聚G段的能力,另一些菌株(*Vibrio ATCC 17249*)具有降解聚M段的能力。

褐藻胶酶可作用于褐藻胶底物分子,能将其裂解成2段,其中一段裂解片段含有非还原片段并具有双键。褐藻胶酶通过 $\beta$ -消去反应裂解褐藻胶的糖苷键,并在其降解产物的非还原性末端产生不饱和双键。因此,不论是

D-甘露糖醛酸还是L-古罗糖醛酸都能生成不饱和的低聚醛酸类。

褐藻胶酶可分为内切酶和外切酶。内切酶使褐藻胶溶液的黏度降低较快,还原糖生成速率较慢;外切酶使褐藻胶溶液的黏度降低较慢,还原糖生成速率较快。分泌褐藻胶酶的细菌具有褐藻胶酶的胞外酶和胞内酶2种类型。

褐藻胶酶最适pH值为7.0~7.6,酶的最适温度为30℃~40℃。一般钠离子浓度可影响该酶活力,较低的氯化钠浓度(<0.3mol/L)对该酶活力有激活作用,较高的氯化钠浓度(>1.0mol/L)对该酶活有抑制作用。 $Ca^{2+}$ 可提高该酶的耐热性。 $Mg^{2+}$ 对该酶有激活作用,而 $Zn^{2+}$ 、 $Hg^{+}$ 对该酶有抑制作用,纯化的褐藻胶酶分子量多为32kDa~40kDa单体酶。

### 1.2.2 琼胶酶

琼胶酶根据对琼胶中糖苷键的特异性分为 $\alpha$ -琼胶酶和 $\beta$ -琼胶酶。 $\alpha$ -琼胶酶对琼胶的 $\alpha$ -1,3糖苷键作用,使其酶解生成以 $\alpha$ -D-半乳糖为非还原端和以3,6-内醚- $\alpha$ -L-半乳糖为还原性末端的琼胶寡糖酶解产物。从琼脂液化弧菌(*Vibrio agariluefaciens*)中分离得到 $\alpha$ -琼胶酶,其能使琼胶在酶解初期黏度急剧下降,生成还原糖,失去凝固性,酶解最终产物为琼二糖。

从革兰氏阴性海洋细菌分泌的一种能液化琼脂的琼胶酶。经硫酸铵沉淀,DEAE-纤维素柱层析提纯。纯化的琼胶酶可作用于琼胶的 $\alpha$ -1,3糖苷键,酶解产物为琼四糖和琼六糖,后来证明这是 $\alpha$ -琼胶酶作用的缘故。

从能降解琼胶的海洋细菌*Alteromonas* GJIB分泌的琼胶酶系中分离得到 $\alpha$ -琼胶酶,对琼胶酶解的最终产物为琼四糖。该酶由2个亚基组成,每个亚基分子量为180kDa。该酶的pI为5.3。在pH6.0~9.0的范围内酶活力较高,最适pH值为7.2,酶解最终产物为琼三糖和琼四糖。

最近,从来源于海洋细菌*Vibrio* JTO107分离纯化得到 $\alpha$ -琼胶酶,该酶分子量为84kDa,由2个亚基组成。该酶最适pH值和最适温度分别为7.7和30℃。酶解最终产物为新琼五糖、新琼三糖、新琼二糖、3,6-内醚-L-半乳糖、D-半乳糖。

$\beta$ -琼胶酶对琼胶的 $\beta$ -1,4糖苷键作用,酶解生成以 $\beta$ -D-半乳糖为还原性末端和以3,6-内醚-L-半乳糖为非还原性末端的新琼寡糖混合物。

从京都假单胞菌(*Pseudomonas kyotoensis*)胞外酶中发现 $\beta$ -琼胶酶。该酶对琼胶 $\beta$ -1,4糖苷键作用,其酶解最终产物为新琼四糖和新琼二糖。另外,从大西洋假单胞菌(*Pseudomonas atlantica*)中分离得到 $\beta$ -琼胶酶,该细菌分泌的胞外酶为 $\beta$ -琼胶酶,作用于 $\beta$ -1,4糖苷键,生成新琼六糖(41.2%)、新琼四糖(49.7%)和新琼二糖(7.1%)。从该细

菌细胞壁的靠细胞质区域分离出 $\beta$ -新琼四糖水解酶和新琼二糖水解酶。可认为琼胶的酶解是细菌胞外酶 $\beta$ -琼胶酶首先作用于 $\beta$ -糖苷键,生成聚合度DP为3~4寡糖,进一步降解为单糖和二糖。这个过程可能是DP=1而后者经过新琼二糖水解酶分解生成3,6-内醚-L-半乳糖和D-半乳糖。 $\beta$ -琼胶酶是细菌的胞外酶,而 $\beta$ -新琼四糖水解酶和新琼二糖水解酶则位于细胞壁区域的原生质膜上或外边,为胞内酶。

从类假单胞菌(*Pseudomonas-Like*)培养液中得到的 $\beta$ -琼胶酶,分离纯化得到 $\beta$ -琼胶酶组分I、酶组分II a和酶组分II b。酶组分I由2个亚基组成,分子量为210kDa,酶组分II b分子量为63kDa。这2种酶组分都是糖蛋白,2种酶组分的最适pH值都为6.7。酶组分I和酶组分II的最适温度分别为38℃和43℃。酶组分I可降解新琼八糖,生成2分子的新琼四糖或1分子新琼六糖和1分子的新琼二糖。酶组分II b只降解新琼八糖的正中间 $\beta$ -1,4糖苷键,生成2分子的新琼四糖。

### 1.2.3 卡拉胶酶

从海洋细菌卡拉假单胞菌(*Pseudomonas carrageenovora*)分离得到能降解 $\kappa$ -卡拉胶的酶系,经硫酸铵浓缩,羟基磷灰石色谱分离,然后再经DEAE-纤维素色谱层析分离,可得到凝胶电泳纯的 $\kappa$ -卡拉胶酶。该 $\kappa$ -卡拉胶酶可使卡拉胶降解,使其粘度急剧下降,还原糖含量增加,降解产物用薄层色谱法确定为含硫酸寡糖同系物,即以3-0-(3,6-内醚- $\alpha$ -D-半乳糖基)-4-硫酸基- $\beta$ -9-半乳糖(也可称为4-硫酸基-新卡拉二糖)为主要酶解产物。

其后,改进了从卡拉假单胞菌分离 $\kappa$ -卡拉胶酶的方法。把培养液用硫酸铵沉淀,以CM-Sephadex CL-6B离子交换柱层析分离处理,以氯化钠梯度洗脱。洗脱液中的酶组分经电泳证实为单体的 $\kappa$ -卡拉胶酶,分子量为35kDa。该酶的降解产物为4-硫酸基-新卡拉二糖。

从刺麒麟菜提取的 $\iota$ -卡拉胶上生长的一种海洋细菌培养液中分离得到 $\iota$ -卡拉胶酶。将该酶提取液以2.0mol/L为提取液,在Sephacryl S-200离子交换柱进行层析提纯处理,用凝胶电泳验证该 $\iota$ -卡拉胶酶为单一酶组分。

将 $\kappa$ -卡拉胶和 $\iota$ -卡拉胶用 $\kappa$ -卡拉胶酶和 $\iota$ -卡拉胶酶处理,其酶解产物含硫酸基的- $\kappa$ -卡拉二糖、含硫酸基的 $\kappa$ -卡拉四糖、 $\iota$ -新卡拉二糖和 $\iota$ -新卡拉四糖。

### 1.2.4 褐藻糖胶(岩藻多糖)酶

海洋细菌大西洋假单胞菌(*P. atlantica*)可利用培养基中褐藻糖胶的31.5%,卡拉糖胶单胞菌(*P. carrageenovora*)可利用培养基中褐藻糖胶的29.9%,并从培养液中分离得到1,2- $\alpha$ -L-褐藻糖苷酶。

海洋细菌弧菌(*Vibrio* N-5)培养液具有降解褐藻糖胶能力。把该培养液分离纯化得到褐藻糖胶酶和褐藻糖胶

硫酸解酶。褐藻糖胶酶最适pH值为6.0,在pH值为5~8时较稳定,最适温度为35℃。褐藻糖胶硫酸解酶最适pH值为7.5,在pH值为4~9时较稳定,最适温度为35℃。另外,海洋细菌弧菌(*Vibrio* No 6-2-9)仅产生1,2- $\alpha$ -L-褐藻糖苷酶。

## 2 海藻多糖降解酶的发酵生产

### 2.1 海藻多糖降解酶高产菌株的选育

从海洋中分离得到的海洋细菌(如假单胞菌、产气单胞菌、弧菌、芽孢杆菌、交替单胞菌),分别以褐藻胶、琼胶、卡拉胶、褐藻糖胶为培养基进行培养,会生成相应的褐藻胶酶系、琼胶酶系、卡拉胶酶系、褐藻糖胶酶系。由于从自然界分离得到的野生型菌株分泌的各种海洋多糖降解酶活力较低,虽然优化菌株产酶条件,有可能在一定幅度范围内使酶活得到提高,但提高的幅度却非常有限。如何获得海藻多糖降解酶高产菌株是该研究领域遇到的一个难题。因此,有必要探讨获得海藻多糖降解酶高产菌株的途径:(1)利用物理因素、化学因素或者物理化学复合诱变方法,再通过高效筛选方法来获得遗传特性稳定的酶活力较高的变异菌株。常用的诱变剂有紫外线诱变、甲基磺酸乙酯等化学诱变。通常经平面皿水解圈或变色圈初筛,再经摇瓶发酵测酶活力复筛。近年来,国内外多家实验室采用以上方法,获得分泌酶活力较高的褐藻胶产生菌和琼胶产生菌,其变异菌株的酶活力较野生型菌株有较大幅度的提高。(2)优化海藻多糖降解酶的产酶条件,进一步来提高发酵酶活力和产酶稳定性,为扩大的工业化发酵实验打下基础。(3)利用分子生物学技术,克隆海藻多糖降解酶的基因,将其转化到大肠杆菌、酵母等寄主中进行表达,以大量生产海藻多糖降解酶。

1996年,CHAVAGNAT F等首先在*P. alginovora* Xo 017野生型菌株的培养液中检测到褐藻胶酶的存在,然后分离纯化得到褐藻胶酶纯样品。进行了N-端氨基酸测序。合成引物探针,利用PCR技术从Xo 017野生型菌株的基因组DNA文库中钓出褐藻胶酶的基因,测序后建立转化载体,并分别对大肠杆菌*E.coli* DH5a、*E.coli* Top10、*E.coli* B1b21 (DE3)进行转化,并实现了高效表达。

1989年,BALAS R等提出来源于*Streptomyces coelicolor*和*Alteromonas atlantica*  $\beta$ -琼脂酶存在着氨基酸序列相同的区域。并对来源于*Pseudomonas*琼胶酶的基因*agrA*进行了基因测序分析。1993年SUGANO Y等对来源于一种独特的基因进行了克隆和测序。1994年SERVIN等对来源于*Strcptomyces coelicolor* A3的琼胶酶基因*dagA*的4种启动子进行了转录调控。1997年HA JC等对来源于*Pseudomonas*的 $\beta$ -琼脂酶在大肠杆菌上进行了克隆和生产试验。

### 2.2 海藻多糖降解酶发酵生产

目前,多数海藻多糖降解酶产生菌为好气性或者兼性厌氧细菌。通过摇瓶发酵实验,在实验室中制备海藻多

糖降解酶。并在此基础上,优化培养基组成和培养条件,进一步来提高酶活力。

韩宝芹等利用埃氏交替单胞菌(*Alteromonas espejiana* CY)A-1102,在由蛋白质0.5%,酵母提取物0.1%,褐藻酸钠0.5%,氯化钠3%,pH值7.5。在300mL三角瓶中加入100mL培养基,按2%接种量,在25℃恒温培养144h,使褐藻胶酶活力有较大幅度的提高。

1975年VAN DER MEULEN等利用嗜细胞菌(*Cytophaga fllevensis*)在pH 6.0~7.0、以琼胶作为唯一碳源、硝酸铵为氮源、20℃的条件下进行间歇摇瓶培养。在一定浓度的氯化钙、水解酪蛋白、氨基酸以及诱导物(蜜二糖或者新琼低聚寡糖)存在时,胞外琼胶酶分泌的酶量最高。但是,这些酶的制备仍都停留在实验室水平,难以满足日益增加的对海藻多糖降解酶的需求。

如何提高海藻多糖降解酶的实验室摇瓶发酵水平,并在此基础上,进行扩大的发酵实验研究,实现工业化水平的海藻多糖降解酶发酵生产及海藻多糖降解酶制剂产品的开发都是目前亟待需要解决的问题。解决这一问题的途径:(1)选育海藻多糖降解酶高产菌株,这是提高发酵酶活的有效途径,可有效降低海藻多糖降解酶制剂产品成本,提高产品质量。(2)优化培养基成分和产酶条件,使海藻多糖降解酶高产菌株的产酶能力得到充分的表达。(3)开展海藻多糖降解酶产生菌发酵动力学的研究,建立起不同菌株或者酶种的发酵动力学模型。根据海藻多糖降解酶产生菌的发酵动力学模型,对该菌株发酵产酶过程进行控制,使发酵产酶能力得到进一步的提高。(4)对海藻多糖降解酶的扩大发酵技术及其生化反应器进行研究开发,使实验室摇瓶发酵水平在大型发酵罐中实现正常发酵产酶。(5)开展海藻多糖降解酶下游技术的研究开发,实现海藻多糖降解酶工业化生产,生产出各种规格的海藻多糖降解酶制剂产品。

### 2.3 海藻多糖降解酶在海洋生物技术研究中的位置

我国海洋生物酶的研究开发正处于起步阶段。在国家“九五”科技攻关项目中,酶的开发项目很多,包括酸性纤维素酶、木聚糖酶、甘露聚糖酶、几丁质酶、碱性脂肪酶;碱性蛋白酶、果胶酶、葡萄糖苷酶以及青霉素酰化酶医用酶等,极少属于海洋生物酶。

国家在“十五”海洋863计划中,海洋生物技术主题中列上了“海洋生物酶”专题,侧重对蛋白酶和海洋工具酶的研究,这也说明我国已开始认识到海洋生物酶在海洋生物技术中的作用。

美国对海洋生物技术一直非常重视。关于海洋生物酶的研究领域主要侧重:(1)耐热酶在工业上的应用;(2)海洋生物酶在缓解硫化物中毒中的作用;(3)工业中应用的海洋生物次级代谢产物及其酶的开发等。

在美国国家海洋基金的资助下,新泽西州的Rutgers大学研究了来自海底火山的嗜热菌产生的酶类,寻找具有工业应用前景的耐高温酶。从嗜热菌中分离得到了 $\alpha$ -半乳糖苷酶,并克隆了该酶的基因,极有希望应用于食品工业。另外,还研究了来自海洋微生物的低温酶,已获得几丁质酶产生菌株。目前,海洋生物特别是海洋极端微生物工业用酶已成为美国海洋生物技术的重要研究领域。

在加拿大,海洋生物科学研究所从1997年开始开展海洋嗜热菌耐热酶的研究。

日本已在海洋生物技术方面后来居上,取得了很大的成就,著名的深海环境科技高级研究计划(deep-star)已实施多年。在生物资源方面获得了嗜压、嗜冷、嗜热、嗜碱以及石油分解等多种类型的极端微生物。在海洋生物酶研究方面,对深海嗜冷菌、嗜碱菌进行了蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶等的研究。这些酶在低温合成、医药加工、食品处理和低温环境保护方面都成为有用的工具。日本海洋科学技术中心海洋微生物研究组关于酶的研究已涉及到低温酶、高温酶、碱性酶,酶的品种包括:蛋白酶、淀粉酶、木聚糖酶、褐藻胶酶、普鲁兰酶、脂肪酶等。

由于海洋生物活性物质开发和在治疗疑难病症方面海藻多糖降解酶的突出作用已日益引起国内外学者们的重视,所以在褐藻胶酶、琼胶酶研究方面已获得了令人鼓舞的成果。

### 3 展望

酶工程的发展已为工业技术的进步做出了巨大的贡献,酶制剂工业本身的发展已形成巨大的市场。到1997年为止,全球的酶销售市场约为14亿美元,并以每年5%的速度增长。已商品化的酶品种有1000多种,而食品、洗涤剂、淀粉加工工业用酶约占75%,特殊用酶约占10%,随着制药工业用酶需要量的增加,特殊用酶将会迅速增长,并将成为酶技术开发的中心。

极端微生物的酶和基因资源近来得到了广泛重视,特别是极端微生物的工业用酶,如嗜碱菌蛋白酶、纤维素酶、甘露聚糖酶、嗜热菌 $\alpha$ -淀粉酶、嗜冷菌蛋白酶、几丁质酶等已成为重要的研究领域。海洋环境包罗了高压、高盐、高温、低温、低营养、无光照等许多特殊环境,适应这些特殊环境的微生物诱导产生各种特殊酶系。这不仅为工业

特殊用酶,而且为开发生物活性物质提供了工具酶——海藻多糖降解酶等重要的酶源。海洋极端微生物及其酶的研究开发已成为海洋生物技术中的一个重要的发展方向。

随着分子生物学的发展,拓展了酶的来源和特性,克隆酶、杂交酶、修饰酶等使生物酶发展到一个新的阶段。

我国海洋生物酶的发展战略:充分利用基因操作技术,进行海洋生物酶的基因克隆,高效表达研究,构建基因工程菌。建立新酶资源的筛选方法。加强酶的应用研究,开拓新的工业应用领域,提升海洋生物产业技术水平,全面提高我国酶制剂在国际上的竞争力。实现海洋生物技术领域的持续发展,为国民经济的发展做出贡献。

### 参考文献:

- [1] 张士瑾,范晓,马英军,等.海洋生物技术原理和应用[M].北京:海洋出版社,1998.
- [2] SUGANO Y, TERADA I, ARITA M, et al, Purification and characterization of a novel enzyme,  $\alpha$ -neogarruligosaccharide hydrolase, from a marine bacterium, *Vibrio* sp. Strain JT0107[J]. *J Bacteriol*, 1994, 176(22): 6812-6818.
- [3] 纪明侯.海藻化学[M].北京:科学出版社,1992.
- [4] CHAVAGNAT F, DUEZ C, GUINAND M, et al, Cloning, sequencing and overexpression in *E. coli* of the alginate lyase-encoding a gene of *P. alginovora*: identification of three classes of alginate lyases[J]. *Biochem*, 1996, 319: 575-583.
- [5] BELAS R. Sequence analysis of the *agrA* gene encoding  $\beta$ -agarase from *P. atlantica*[J]. *J Bacteriol*, 1989, 171(1): 602-605.
- [6] SUGANO Y, MATSUMOTO T, KODAMA H, et al. Cloning and sequencing of *aga A*, a unique agarase 0107 gene from a marine bacterium, *Vibrio* sp. strain JT0107[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59 (11): 3750-3756.
- [7] HA JC, KIM GT, KIM SK, et al.  $\beta$ -Agarase from *Pseudomonas* sp. W7: purification of the recombinant enzyme from *E. coli* and the effects of salt on its activity[J]. *Biotechnol. Appl. Biochem*, 1997, 26:1-6.
- [8] SERVIN-GONZALEZ L, JENSEN MR, WHITE J, et al. Transcriptional regulation of the four promoters of the agarase gene (*dagA*) of *Streptomyces coelicolor* A3[J]. *Microbiology*, 1994, 140:2555-2565.
- [9] 韩宝芹,刘万顺.褐藻酸降解菌的发酵培养及褐藻酸酶对褐藻细胞的解离作用[J].海洋科学,1997,2:39-43.
- [10] VAN DER MEULEN HJ, HARDER W. Production and characterization of the agarase of *Cytophaga flovensis*[J]. *Anton Leeuw*, 1975, 41 (4):431-417.

行业信息

### 2010年上半年白酒实现了30%以上的销量增长


最近几年,白酒在啤酒、葡萄酒、白酒三大酒饮料中的地位上升,增速最快,作为国内独有内需消费品,未来前景良好。

经过1996年-2003年的低谷,白酒重新进入上升周期。

2007年全球金融危机后,白酒增速加快,2010年上半年,白酒实现了30%以上的销量增长,收入、利润均大幅上升。白酒行业指标健康,未来有望继续保持高增长。

作者: [管斌](#), [倪雪朋](#), [李悦明](#), [韩建友](#), [徐建春](#), [孔青](#), [GUAN Bin](#), [NI Xuepeng](#), [LI Yueming](#), [HAN Jianyou](#), [XU Jianchun](#), [KONG Qing](#)

作者单位: [管斌, GUAN Bin, KONG Qing \(中国海洋大学, 食品科学与工程学院, 山东, 青岛, 266003\)](#), [倪雪朋, NI Xuepeng \(中国海洋大学, 食品科学与工程学院, 山东, 青岛, 266003; 日照职业技术学院, 山东, 日照, 276826\)](#), [李悦明, 韩建友, 徐建春, LI Yueming, HAN Jianyou, XU Jianchun \(青岛琅琊台集团股份有限公司, 山东, 青岛, 266400\)](#)

刊名: [中国酿造](#) 

英文刊名: [CHINA BREWING](#)

年, 卷(期): 2010 (9)

## 参考文献(10条)

1. 张士瑾;范晓;马英军 [海洋生物技术原理和应用](#) 1998
2. SUGANO Y;TERADA I;ARITA M [Purification and characterization of a novel enzyme  \$\alpha\$ -neogaroooligosaccharide hydrolase from a marine bacterium Vibrio sp. Strain JT0107](#) 1994(22)
3. 纪明侯 [海藻化学](#) 1992
4. CHAVAGNAT F;DUEZ C;GUINAND M [Cloning, sequencing and overexpression in E. coli of the alginate lyase-encoding a gene of P. alginovora: identification of three classes of alginate lyases](#) 1996
5. BELAS R [Sequence analysis of the agrA gene encoding  \$\beta\$ -agarase from P. atlantica](#) 1989(01)
6. SUGANO Y;MATSUMOTO T;KODAMA H [Cloning and sequencing of aga A, a unique agarase 0107 gene from a marine bacterium, Vibrio sp. strain JT0107](#) 1993(11)
7. HA JC;KIM GT;KIM SK  [\$\beta\$ -Agarase from Pseudomonas sp. W7: purification of the recombinant enzyme from E. coli and the effects of salt on its activity](#) 1997
8. SERVIN-GONZALEZ L;JENSEN MR;WHITE J [Transcriptional regulation of the four promoters of the agarase gene \(dagA\) of Streptomyces coelicolor A3](#)[外文期刊] 1994
9. 韩宝芹;刘万顺 [褐藻酸降解菌的发酵培养及褐藻酸酶对褐藻细胞的解离作用](#) 1997
10. VAN DER MEULEN HJ;HARDER W [Production and characterization of the agarase of Cytoplaga flovensis](#) 1975(04)

## 本文读者也读过(1条)

1. [胡晓珂](#). [江晓路](#). [管华诗](#) [海藻多糖降解酶的性质和作用机理](#)[期刊论文]-[微生物学报](#)2001, 41(6)

## 引证文献(1条)

1. [单瑞芬](#). [吴茜茜](#). [蔡敬民](#) [岩藻多糖降解酶的研究进展](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2012(19)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zgnz201009003.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgnz201009003.aspx)