

AS 1.398 蛋白酶液体制剂的研究

蒋安生 靳秀贞 李孝山 刘庆年 王利民

(济南啤酒厂, 济南)

(济南轻工研究所, 济南)

国内蛋白酶制剂一般均为固体剂型, 生产过程需用大量硫酸铵, 因而限制了它的应用。而蛋白酶液体制剂, 是在酶液中加入防腐剂与稳定剂, 使蛋白酶液体制剂在较长时间内不变质, 并较少失活。所以蛋白酶液体制剂具有工艺简单、效率较高的优点。

本文就 AS1.398 蛋白酶液体制剂的防腐稳定剂的筛选、不同 pH 值、温度等条件对酶活的影响作了初步研究。报道如下:

材料与方 法

1. 原材料: 用本厂生产的 AS1.398 细菌蛋白酶发酵液。

2. 试剂的标准: 食盐, 酒精为工业品。其他试剂均为分析纯。

3. 酶活的测定: 用 Folin 试剂测定。

试验结果及分析

1. 防腐稳定剂的筛选: 我们试验了一些无机和有机的化合物, 并试验了其中一些化合物的不同剂量的配比, 结果见表 1。

表 1 不同防腐稳定剂对酶活的影响

残存活力* (%) 保存时间(月) 不同化合物及剂量				
	1	2	3	4
10% NaCl + 1% 山梨醇	95	85	85	70
20% NaCl + 2% 山梨醇	95	90	85	71
10% NaCl + 2% 酒精	95	95	85	65
20% NaCl + 2% 酒精	95	90	90	72
10% NaCl + 1% 甘油	95	90	85	65
20% NaCl + 2% 甘油	95	90	85	70
对 照	失活	—	—	—

* 酶液最初活力均为 3684 单位/毫升。

进一步的试验表明15%食盐+2%酒精用于酶液防腐稳定,效果较好。

2. 不同 pH 值对酶活的热稳定性的影响: AS1.398 蛋白酶酶液在不同 pH 值时,其稳定性有很大差异。在 50℃ 时,不同 pH 值对酶活的影响见表 2。

表 2 不同 pH 值对酶活热稳定性的影响

酶活力* (单位/毫升) 时间(小时)	pH			
	5.5	6.0	6.5	7.0
1	1680	2560	3760	4000
3	780	1680	3000	3080

* 最初酶活力均为 6400 单位/毫升。

表 2 结果说明,pH 值为 6.5—7.0 的蛋白酶酶液其热稳定性最好。

3. 清酶液酶活与原酶液酶活的热稳定性的比较: 我们将发酵液(以下称原酶液)与清酶液(即将原酶液滤去固形物之清液)进行酶活热稳定性的比较。结果表明,在 50℃ 条件下,清酶液酶活没有原酶液酶活稳定。从上述试验结果分析,原酶液中的一些杂蛋白,对 AS1.398 蛋白酶有一定的热保护作用。此外,考虑到“底物保护”的效应,我们在酶液中加入了 2—4% 的豆饼粉或酵母粉。经短时间加热及长期保存试验,均未发现上述两种物质有明显的热稳定作用。说明发酵过程中的杂蛋白与上述两种物质的蛋白质具有不同的作用。而发酵液中的杂蛋白具有保护蛋白酶的作用。

4. 酶液中添加食盐、酒精及金属离子对酶活力的影响: 在试验中,我们经常发现发酵液中加入食盐与酒精后,经过一段时间,酶活有增高的趋势。但是经反复试验表明,一般在放罐时酶活较低的发酵液中,这种酶活增高趋势较为明显。而放罐时酶活较高的发酵液,就未发现这种情况。同时,放罐时酶活较低之发酵液,不加食盐与酒精,自然存放 1—2 天,酶活通常亦

有上升趋势。而后才逐渐下降。而放罐时酶活较高的发酵液从一开始存放酶活即逐渐下降。

在酶液中加入不同浓度的钠,钴,镁,锌,钾,铁,锰等离子,经一段时间保存,均未发现对酶活有明显的影响。

5. 氧化和还原作用对酶活的影响: 在试验中发现,同一批酶液,如在保存过程中经常启封,酶活降低较快。而较长时间密封的,则降低较慢。经分析,这可能与氧化作用有关。故试验了没食子酸甲酯、丙酯、焦性没食子酸、醋酸异戊酯、Vc、亚硫酸钠等这些抗氧化剂。结果说明大部分上述抗氧化剂均有使酶活稳定的效果。

6. 酶液浓缩后的保存试验: 将过滤后的酶液用刮板薄膜蒸发器浓缩 2 倍。浓缩后的酶液加入 15—20% 的食盐和 2% 酒精。密闭保存,保存不同时间的酶活损失情况见表 3。

表 3 浓缩酶液保存时的酶活损失情况

酶活(单位/毫升) 加食盐、酒精量(%)	保存时间(月)			
	最初酶活	1 (6月)	2 (7月)	3 (8月)
15 食盐+2 酒精	13060	11016	11000	6500
20 食盐+2 酒精	13670	11500	11424	7752
25 食盐+2 酒精	13670	12000	8568	5304
30 食盐+2 酒精	13670	11000	8976	6100
对 照	13670	失 活	—	—

讨 论

1. 酶液与空气接触时,空气中氧的作用会使酶活损失。因此保存酶液时,应尽量避免与空气接触。有关抗氧化剂的剂量及其对酶活的影响,有待进一步的工作。

2. 在夏季,酶液的酶活损失较快,可考虑筛选耐热性蛋白酶的产生菌。

3. 试制的蛋白酶液体制剂,在济南、青岛、烟台三地的制革厂进行了猪皮面革、手套革脱毛试验,结果证明与蛋白酶的固体制剂脱毛效果相同。