

# 硼酸盐对细菌 $\alpha$ -淀粉酶的稳定作用

李庆余 高才昌\*

(河北大学生物系,保定)

近年来微生物酶制剂生产剂型多采用液体酶<sup>[1]</sup>,但液体酶容易失活。为了长期而有效的保持液体酶的酶活力,国内外多采用浓缩酶液,添加钙、钠、多元醇等稳定剂<sup>[2,3]</sup>。在过去工作的基础上<sup>[2]</sup>,进一步试验了硼酸盐和硼酸盐、钙、钠等同时作用于细菌  $\alpha$ -淀粉酶时对酶活力稳定性的影响。酶活力的测定和酶活力单位计算按常规的碘-淀粉呈色反应法进行<sup>[4]</sup>。现报道如下。

## 试验结果

### 一、硼酸盐对酶热稳定性的影响

(一) 不同 pH 的硼酸盐缓冲液对酶活力的影响

取 20 毫升 2% 的可溶性淀粉加不同 pH 的

0.2M 硼酸-四硼酸钠缓冲溶液 5 毫升, 60°C 预热 10 分钟, 加 1% 的酶液 (用粗酶粉配制) 0.5 毫升, 测定酶活力, 结果见图 1。

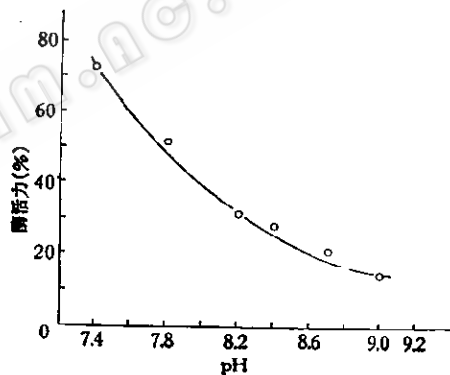


图 1 不同 pH 的硼酸-四硼酸钠缓冲液对酶活力的影响

图 1 表明, 酶在加入硼酸-四硼酸钠缓冲液

\* 天津南开大学分子生物学研究所。

后,在 pH 7.4—9.0 范围内,酶活力随 pH 增加由 72.3% 下降为 14.3%。

(二) 不同 pH 的硼酸盐缓冲液对酶热稳定性的影响

酶浓度 1%, 硼酸-四硼酸钠缓冲液 0.1 M, pH 分别为 7.4、7.8、8.2、8.4、8.7、9.0。反应体积 10 毫升, 70℃ 水浴保温 10 分钟, 取出冷却后测定剩余酶活力, 结果见图 2。

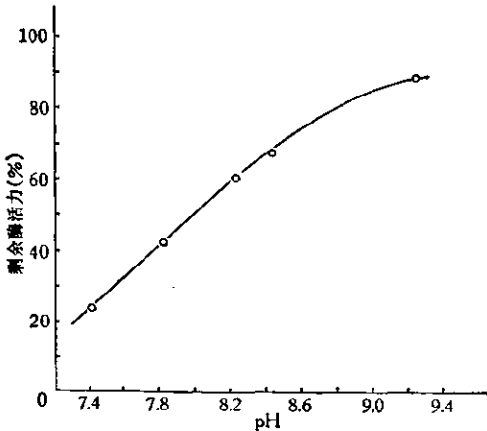


图 2 不同 pH 的硼酸-四硼酸钠缓冲液对酶热稳定性的影响

图 2 表明,用不同 pH 的 0.1 M 硼酸缓冲液配制的酶液在 70℃ 保温 10 分钟, 随 pH 上升剩余酶活力由 23.8% 提高到 79.6%。

(三) 硼酸-四硼酸钠缓冲液浓度对酶热稳定性的影响

酶浓度 1%, 硼酸-四硼酸钠缓冲液 pH 8.7, 浓度 0.01—0.1 M, 总体积 10 毫升, 置于试管中 70℃ 水浴保温 15 分钟, 立即取出于冷水中冷却后测定剩余酶活力, 结果见图 3。

图 3 表明,当硼酸-四硼酸钠缓冲液浓度由 0.01 M 提高到 0.1 M 时, 酶的剩余活力可由 14.1% 提高到 68.6%。

## 二、钙、钠对酶热稳定性的影响

酶浓度 1%, 0.04 M 硼酸-四硼酸钠缓冲液 pH 8.7, 分别用氯化钙浓度 0—0.4%; 氯化钠浓度 0—3%, 反应体积 10 毫升, 置于试管中摇匀, 加玻璃塞, 70℃ 水浴保温 15 分钟, 取出后冷却测定剩余酶活力, 结果见图 4、5。

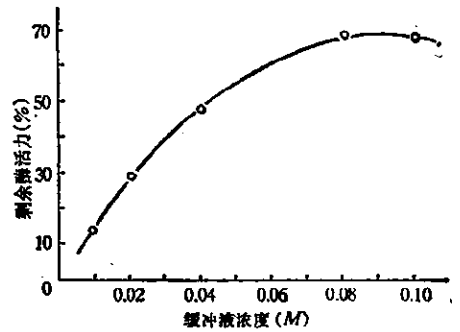


图 3 硼酸-四硼酸钠缓冲液对酶热稳定性的影响

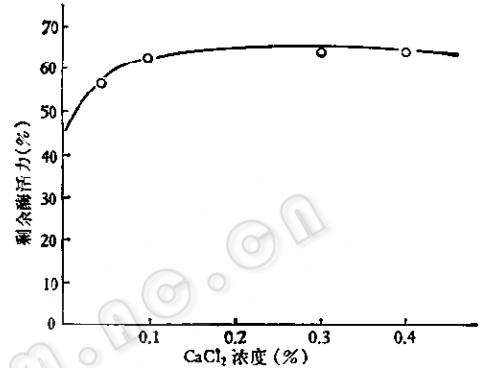


图 4 CaCl<sub>2</sub> 对热稳定性的影响

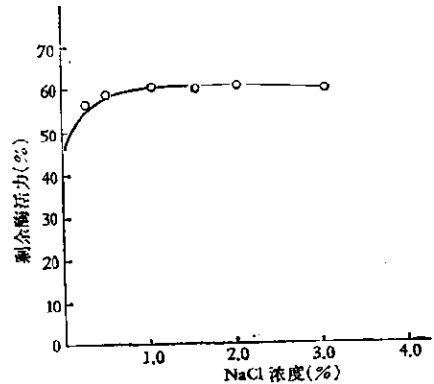


图 5 NaCl 对热稳定性的影响

由图 4、5 可看出, 在氯化钙浓度由 0 提高到 0.1% 时剩余酶活力由 47.2% 提高到 62.5%, 氯化钠浓度由 0 提高到 0.3%, 剩余酶活力由 44.4% 提高到 58.6%。

## 三、硼酸盐、钙和钠共同作用于酶对提高酶的热稳定性作用

在上述工作的基础上, 我们进行了硼酸盐、

表1 硼酸盐、钙和钠共同作用于酶对酶热稳定性的影响

酶活力 处理		保温时间(分)								
		0	5	30	74	100	180	240	300	360
对 照	酶活力单位	1290	270	—	—	—	—	—	—	—
	剩余酶活力(%)	100	20.9	0	0	0	0	0	0	0
加硼、 钙、钠	酶活力单位	1270	1200	1230	1230	1135	1075	1010	1005	900
	剩余酶活力(%)	100	94.5	96.7	96.7	89.0	84.6	79.5	79.1	70.9

钙和钠共同作用时对酶的热稳定性试验；酶浓度为1%，氯化钙0.1%，氯化钠1%，0.07 M pH 8.7的硼酸-四硼酸钠缓冲液，反应体积30毫升，置于大试管中摇匀、加玻璃塞70℃水浴保温，不同时间取样测酶活力，结果见表1。

表1表明，采用0.07 M 硼酸-四硼酸钠缓冲液，1%氯化钠和0.1%氯化钙的酶液反应体系，70℃保温6小时剩余酶活力仍有70.9%，而对照在5分钟后，剩余酶活力仅有20.9%，说明硼酸盐、钙和钠共同作用，对提高酶的热稳定性有明显作用。

#### 四、硼酸盐对酶液长期贮存中酶活力稳定性的影响

结果表明，酶液在碱性条件下，加硼酸盐、钙、钠等均有提高酶的热稳定性作用，以硼酸盐最为突出，在1978年4月到6月中旬，于酶液

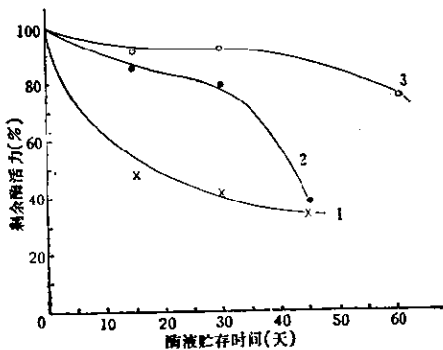


图6 四硼酸钠对酶液长期贮存中酶活力稳定性的影响

1: 对照; 2: 0.5% 硼酸盐; 3: 1% 硼酸盐。

中加四硼酸钠进行较长期的贮存，结果见图6。

图6表明，贮存二个月后的酶液，对照已无酶活力，加1%四硼酸钠者剩余酶活力尚有73%。

## 讨 论

大島泰郎1973年曾指出钙和氨基酸残基的联结是酶热稳定性的主要机制<sup>[4]</sup>，国内外多用钙作为酶的稳定剂，本试验结果表明，细菌α-淀粉酶加入硼酸盐后有利于提高酶的热稳定性，硼酸-四硼酸钠缓冲液在pH 7.4—9.0范围时，pH降低酶活力高，但热稳定性下降；而pH升高酶活力下降，但热稳定性明显提高，说明了酶的抗变性能力的提高和酶结构的稳定。

Mosely等1970年曾报道钙和钠共同存在时在tris缓冲液(pH 7.0)中70℃下45分钟，剩余酶活力为81%<sup>[5]</sup>。本试验的结果，当用pH 8.7的0.07 M的硼酸-四硼酸钠缓冲液加入1%氯化钠和0.1%氯化钙后酶的热稳定性有显著的提高，70℃保温3小时剩余酶活力为84.6%，6小时后为70.9%，而对照在70℃下仅5分钟后剩余酶活力为20.9%。钙、锌、钠等对酶活力稳定性的影响已有较多报道<sup>[6,7]</sup>。本试验表明，硼酸盐对酶活力的稳定性较之钙、锌和钠等有更好的影响，其作用机制有待进一步的研究。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 李庆余等: 植物生理学通讯, 1: 19—23, 1980。  
[ 2 ] Lloyd, N. E.: U. S. patent, 3524789, 1970。  
[ 3 ] 谷口卓见: 特許公报, 昭 45—30192, 1970。

- [ 4 ] 大岛泰郎: 蛋白质 核酸 酵素, 18(6): 454—458, 1973。  
[ 5 ] Mosely, M. H. and L. Keay: *Biotech. and Bioeng.*, 12: 263, 1970。  
[ 6 ] Hiramatsu, A.: *J. Biochem.*, 62(3): 353—363, 1967。  
[ 7 ] Tsuru, D.: *Agr. Biol. Chem.*, 30(9): 856—862, 1966。