

# 我国酶与酶工程及其相关产业发展的回顾

孙万儒

(中国科学院微生物研究所 北京 100101)

**摘要:** 回顾我国近六十多年来的酶与酶工程及其相关产业发展走过的路程, 吸取历史经验教训, 走好今后的发展之路。

**关键词:** 酶, 酶学, 酶工程, 酶应用

## Review the development history of enzyme and enzyme technology as well as related industrials in China

SUN Wan-Ru

(Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract:** The development history of enzyme and enzyme technology as well as related industrials in China was reviewed for draw the experience and lesson to achieve greater development.

**Keywords:** Enzyme, Enzymology, Enzyme technology, Application of enzyme

人们将来源于生物体的具有催化功能的物质称为“酶”, 其本质是蛋白质, 但有些酶是由蛋白质和核酸构成的, 个别酶则仅仅是一种有催化作用的核酸。研究其基本属性的学科称为“酶学”。而将酶的应用研究称为“酶工程”, 其产业化的结果形成了酶制剂工业和渗透到各个工业部门的产业。本文就我国的酶与酶工程及其相关产业的发展予以回顾。

### 1 国际有关发展情况<sup>[1-3]</sup>

人类利用酶的历史已非常悠久, 远在 6 000 年前, 巴比伦人已用麦芽酿造类似啤酒的饮料, 5 000 年前, 巴比伦人已懂得将酒精转变为醋的方法, 阿拉伯人利用羊胃膜凝乳酶制造干酪。我国先民利用酶的历史也非常悠久, 如《尚书》中记载“若作酒醴, 尔唯蘖”, 蘖是发芽的谷子, 富含淀粉酶, 可

以将淀粉水解成糖, 再由酵母发酵成酒精。秦汉以前人们已掌握制造美味豆酱的方法, 《周礼》注曰“酱谓, 醯醢也”便是佐证。饴糖是利用麦芽淀粉酶作用于米淀粉使之转变成麦芽糖而成, 《诗经·大雅》在为三千多年前周文王歌功颂德时提到了“饴”字。“饴, 米蘖煎也”, 意即饴糖是用米饭同麦芽一起加热煎熬而成。《齐民要术》中对饴的制法阐述尤详。在古代人们虽然还不知道酶是什么, 但早已在实际生活中凭着丰富的实践经验成功地运用着酶的催化反应。

酶的概念是 19 世纪前后人们通过胃肠消化作用、麦芽的糖化作用和酵母的酒精发酵作用的研究而逐渐形成的。19 世纪科学启蒙时代的一些科学家围绕酵母酒精发酵的问题展开了一场长达半个

\*通讯作者: ✉: sunwr@163.com

收稿日期: 2013-12-24; 接受日期: 2014-01-21; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-01-21

世纪的激烈论战,以化学家利比希为首,认为酵母发酵糖成为酒精纯系一种有机化学反应,而细菌学家巴斯德则认为发酵是由于活酵母细胞生命活动的结果。

1878 年德国生理学家库恩(Kühne)提出“酶(Enzyme)”的概念,希腊语意为存在于酵母(Zyme)中。直到 1897 年,德国化学家毕希纳(Büchner)兄弟偶然发现将酵母用砂磨碎后的无细胞提取液加到蔗糖溶液中同样引起发酵,这才认识到在没有细胞存在下,同样可以引起发酵的事实,结束了这场历史上有名的争论。为此毕希纳获得了 1907 年诺贝尔化学奖。

酶作为商品生产已有 100 多年历史,早在 1833 年还没出现“酶”字之前已有人用酒精沉淀出麦芽淀粉酶,称为“Diastase”,可使 2 000 倍淀粉液化而用于棉布退浆。1884 年高峰让吉首先开发微生物酶的生产,在美国开厂生产高峰淀粉酶,用于棉布退浆和用作消化剂。此后在 18 世纪末和 20 世纪初,德国、法国、美国和日本先后建立了一些酶制剂工厂,生产动植物酶,如胰酶、蛋白酶、木瓜酶、麦芽淀粉酶,以及真菌细菌淀粉酶等少数品种,其应用范围还限于作为消化剂、制革工业脱灰软化剂和棉布退浆剂等,20 世纪 30 年代果胶酶开始用于果汁加工。

20 世纪 50 年代前酶制剂工业没什么惊人发展,但是青霉素的发现和工业化生产促生了现代发酵工业,从而也引发和促进了酶制剂工业和应用产业的发展。1949 年  $\alpha$ -淀粉酶实现液体深层发酵,将通风搅拌发酵技术用到酶制剂生产后,酶制剂工业有了飞跃发展,进入了工业化大规模生产阶段。随着发酵技术不断进步,新酶的不断发现和开发,人们对于酶作为工业催化剂的价值有了认识,并且在了解到许多酶是可以用微生物生产以后,现代微生物酶制剂工业和相应的应用产业迅速发展。

近代酶制剂工业的发展可划分为三个阶段。第一阶段是 20 世纪 50 年代末葡萄糖淀粉酶(糖化酶)

用于葡萄糖生产,革除了沿用 100 多年的酸水解工艺;60 年代中期欧洲加酶洗衣粉风行,60%以上洗涤剂加酶,使得碱性蛋白酶的需求量急剧增加,极大地促进了酶制剂工业的大发展。

第二阶段是 1967 年千佃一郎将固定化氨基酸酰化酶用于 DL-氨基酸拆分,生产 L-氨基酸;特别是固定化葡萄糖异构酶用于生产果葡糖浆,开创了利用淀粉生产食糖的新途径,果葡糖浆的兴起带动了整个食品工业和社会经济的发展。工业上使用酶带来许多的好处,如节约成本、改善品质、减少环境污染等,因而引起人们的广泛重视。随着新品种酶制剂的开发,以及应用领域的迅速扩展,使得世界范围内出现了酶制剂工业及相应的应用产业蓬勃发展的大好局面。

现在酶制剂工业已进入了第三个阶段,适应多种产业需求的各种酶及其制剂,用于基因工程、蛋白质工程、生化分析、临床检测等各种试剂酶的迅猛发展,将给 21 世纪的工农业生产、环境保护以及医药卫生事业带来重大改变。

而有关酶的研究也与之相应,虽然 19 世纪明确知道了酶的存在,但是直到 1926 年,美国康奈尔大学的萨姆纳(Sumner)从刀豆中提取脲酶,获得结晶,并证明为蛋白质,这为酶化学和蛋白质化学的发展奠定了基础。之后人们对酶的蛋白质本性和催化特性及催化的机制进行了深入研究,到 20 世纪中期有关酶催化理论逐渐完善。

20 世纪六七十年代,酶学研究和酶工程研究急速发展,随着酶的应用面和需求量的不断扩大,酶源的开发和产业化成为 20 世纪中后期的重要研究内容,特别是不同酶源微生物的选育、发酵和分离纯化技术取得巨大发展。现代酶制剂工业和相对应用产业逐渐形成。

限制性内切酶、DNA 聚合酶、DNA 连接酶、外切酶等工具酶的发现和应用,以及实现产业化,为人们实现基因重组、异源表达的基因工程的发展,以及蛋白质工程和代谢工程的发展奠定了牢固

基础。20 世纪六七十年代运用基因工程手段提高微生物产酶量, 已成功地应用于酶制剂的工业生产。目前, 世界上最大的工业酶制剂生产厂商丹麦诺维信公司的酶制剂约有 80% 是基因工程菌生产的。

利用基因工程和蛋白质工程可以改善原有酶的各种性能, 如提高酶的产量、增加酶的稳定性、使酶适应不同 pH 和高低温环境、提高酶在有机溶剂中的反应效率、使酶在后提取工艺和应用过程中更容易操作等。也可以将原来由有害的、未经批准的微生物产生酶的基因, 或由生长缓慢的动植物产生酶的基因克隆到安全的、生长迅速的、产量高的微生物体内, 改由微生物来生产, 大大提高酶的生产水平。特别是近些年来, 极端环境微生物资源的研究和开发, 结合基因工程和蛋白质工程, 为拓宽酶的应用范围和更方便大规模应用创造了条件。

酶蛋白的结构与功能关系的研究, 为对酶进行再设计与定向加工, 发展更优良的新酶或新功能酶奠定了基础。分子酶设计可以采用定点突变和体外分子定向进化两种方式对天然酶分子进行改造。从而使几百万年的自然进化过程在短期内得以实现。采用体外分子定向进化的方法改造酶蛋白已在短短几年内取得了令人瞩目的成就。

蛋白质的结构常常可以允许某个结构域的插入与融合。DNA 重组技术的发展与应用使不同基因或基因片段的融合可以方便地进行, 融合蛋白经合适的表达系统表达后, 即可获得由不同功能蛋白拼合在一起而形成的新型多功能蛋白。目前, 融合蛋白技术已被广泛应用于多功能酶的构建与研究中, 并已显现出较高的理论及应用价值。细胞内蛋白质的合成, 泛素酶的发现和蛋白质的相互作用研究, 以及蛋白质组学的研究使得人们越来越认识到蛋白质之间的相互作用远比我们想象的更为复杂。随着这些重要问题的不断解决, 以及基因组、后基因组时代的到来和重组酶生产技术的开发, 必将会有大量的、新的酶蛋白被人类发现, 会引起酶及其

应用的新的突破。

酶的高度催化活性以及酶在工业上应用带来的巨大经济效益, 促使人们研究化学修饰酶、人工合成的模拟酶, 以扩大和提高酶的使用性能。核酸酶和抗体酶的研究近年也取得飞速发展。与模拟酶相比, 抗体酶表现出一定程度的底物专一性和立体专一性, 抗体酶用于酶作用机理的研究, 手性药物的合成和拆分, 抗癌药物的制备, 其应用前景非常诱人。

## 2 我国的起步阶段<sup>[1,4-5]</sup>

1949 年新中国成立, 百废待兴。稳定社会, 发展经济是当务之急。建国之初, 我国一些刚刚组建的研究机构和企业开始了酶制剂的研制和生产。国内的一些科研单位和院校开始了大量的、扎实的基础研究, 如中国科学院微生物研究所(由中国菌种保藏委员会、中国科学院应用真菌研究所、中国科学院北京微生物研究室合并组成), 先后分离筛选到不少产淀粉酶和蛋白酶的细菌和霉菌菌种, 无偿提供给国内各相关单位使用。那时一些药厂还组织了胰酶、胃蛋白酶、麦芽淀粉酶及曲霉淀粉酶生产, 作为医用消化剂在临床上使用, 胰酶在制革厂用作皮革软化剂和脱灰剂。

中国菌种保藏委员会的科技人员对不同的产糖化酶的曲霉菌种进行比较筛选, 获得一株优良的曲霉菌株, 并推广应用于酿酒工业。1956-1959 年, 上海酒精厂与上海轻工业研究所和轻工业部食品发酵研究所协作, 建成了 10 000 L 发酵罐, 用于深层培养黑曲霉 NNRL330 菌株生产糖化酶, 作为酒精厂液化淀粉的糖化剂, 这是我国第一个将用于抗生素发酵的深层培养技术用于工业实例, 是酒精工业的重大革新<sup>[6]</sup>。在印染行业, 虽然国外已经采用酶法退浆, 但在我国还是空白。1952 年上海印染二厂在上海轻工业研究所的协作下, 建起 3 000 L 液体发酵罐, 生产枯草芽孢杆菌液体淀粉酶, 用于棉布退浆<sup>[7]</sup>。1959 年, 上海市轻工业研究所与上海酒精厂和制革厂合作, 采用固体培养法生产栖土曲霉 3.374 蛋白酶, 用于皮革脱毛, 替代过

去脏、累、污染严重的灰碱脱毛法<sup>[7]</sup>。

1960 年之后,上海市轻工业研究所、成都生物所、轻工业部食品发酵研究所、华南工学院、江苏轻化工厅科研所、轻工业部皮革研究所,以及上海、天津等地的皮革厂、上海溶剂厂等就细菌淀粉酶、蛋白酶、霉菌糖化酶的生产和应用进行了广泛研究,并建立车间自产自用。

为了加快纺织物酶法退浆工艺,轻工业部令江苏轻化工厅科研所进行细菌  $\alpha$ -淀粉酶产业化研究,北京纺织工业研究所在中国科学院学部委员方心芳教授的指导下,从退浆剂中分离筛选到高活力的  $\alpha$ -淀粉酶生产菌芽孢杆菌 BF-7658,在江苏省轻化工厅科研所(现在的江苏省食品发酵研究所)和无锡抗生素厂进行中试,确定工艺路线,并投入生产,1964 年通过技术鉴定。此后,在江苏省轻化工厅的支持下,开始在新组建的无锡酶制剂厂工业生产。

无锡酶制剂厂是我国最早(1965 年)建设的一个酶制剂生产厂家,他标志中国酶制剂工业的真正起步。之后该厂不断发展壮大,酶制剂产量不断增加,品种不断完善,逐步成为我国酶制剂科研、生产、应用的综合基地,也培养了一批技术人才。

1960 年因前苏联终止合作协议,致使保定胶片厂用于回收废胶片的蛋白酶车间停建,中国科学院微生物研究所于 1964 年筛选出高产蛋白酶菌株枯草芽孢杆菌 1.398,与江苏省轻化工厅科研所开展合作研究,通过鉴定,由无锡酶制剂厂生产。从此无锡酶制剂厂与中国科学院微生物研究所建立了密切的、长达 20 年的合作关系,该厂生产使用的菌种大部分由中国科学院微生物研究所无偿供给,也为微生物研究所的研究成果走向全国开辟了通道。

基于环境保护的需要,20 世纪 60 年代初开始,中国科学院微生物研究所、上海工业微生物研究所(1966 年成立)等多家院所和大学研究用于皮革生产的蛋白酶和脂肪酶。为此,连云港、温州、北京、山东、上海、天津等地相继建立酶制剂厂,到 1976

年,全国陆续建立酶制剂厂近 20 家。投入生产的有脂肪酶 1 种、蛋白酶 10 个品种,其中碱性蛋白酶 3 种,中性蛋白酶 5 种,酸性蛋白酶 2 种。经制造成本、产品性能、应用效果等综合考察和评价,其中 3 个品种(源于枯草芽孢杆菌的 1.398 中性蛋白酶、源于地衣芽孢杆菌的 2709 碱性蛋白酶和源于黑曲霉的 3.350 酸性蛋白酶)获得推广应用。

这一时期,我国酶制剂工业从无到有,从小到大,成绩是有目共睹的。但技术水平、经济效益与国外相比差距很大,存在企业小、设备差、产酶水平低、产品种类少、质量差、技术含量低、应用面不广、产品结构不合理等现象。

### 3 艰难时期

1966 年我国进入了十年的社会动荡期,经济衰退,科研和教育受到巨大冲击,基础研究纷纷下马。大批研究人员下放,到工厂车间劳动锻炼。这也为解决淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶等品种在生产和应用中存在的问题提供了机会,满足了需求。

在“抓革命促生产”的口号之下,科技人员的研发热情得到变相的发挥。在封闭、缺少有力支持的环境条件下,知识分子的爱国热情和奉献精神没有变,用自己的专业知识报效祖国的信念没有变。部分保留的研究机构和人员没有放弃开展一些研发工作,纷纷调整自己的研究方向,向应用性更强的工作转移。无疑在客观上为酶制剂和相应产业等应用性项目的发展提供了比较有利的局部环境。在这种特定的历史环境下,我国酶和酶的应用研究获得了难得的机会。

中国科学院微生物研究所酶学实验室的研究人员,如张树政院士等,将红曲霉糖化酶成功地用于葡萄糖和衣康酸的生产<sup>[8-9]</sup>。同时,实验室内也开展了扩大新酶品种的研究,诸如食品保鲜、机械防锈和临床检测使用的葡萄糖氧化酶、过氧化氢酶<sup>[10-11]</sup>,制造干扰素诱导物的多核苷酸磷酸化酶,抗白血病的注射药物 L-天冬酰胺酶,用于生产 L-天冬氨酸的天冬氨酸酶,以及制造高果糖糖浆的葡

葡萄糖异构酶等。在这种情况下影响下,有关研究迅速成为新的研究热点。在科技人员的不懈努力之下,这些研究项目都取得了不同程度的成功。

1969 年中国科学院组织了由北京、山东、新疆等地科技人员参加的纤维素酶的大会战<sup>[12]</sup>。虽然取得一定程度的进展,但由于该项目技术难度大,涉及的问题复杂,没有取得预想结果。但是,使得人们认识到纤维素转化成糖的复杂性,为以后的深入研究开发奠定了一定基础。

与此同时,固定化酶的研究也受到重视。1970 年,中国科学院上海生物化学研究所的邹承鲁等利用活性染料中间体 591 (SESA)活化葡聚糖凝胶固定磷酸二酯酶成功<sup>[13]</sup>,很快在中国科学院的微生物研究所、兰州化物所、药物所等研究单位开展了固定化酶研究<sup>[14]</sup>。继之在微生物研究所和生物化学研究所首先又开展了固定化细胞的研究。之后国内有关研究单位相继也开展了固定化酶和固定化细胞的研究。涉及的酶包括糖化酶、核糖核酸酶、葡萄糖异构酶、青霉素酰化酶、多核苷酸磷酸化酶等。由于“运动”不断,使得这些研究工作进展缓慢,但也为日后该类技术的成熟和应用打下了良好基础。

比如 1978 年中国科学院微生物研究所和上海生物化学研究所研发的固定化产青霉素酰化酶大肠杆菌细胞生产青霉素母核 6-APA 技术<sup>[15-16]</sup>,分别在太原制药厂和上海第三制药厂中试成功,并在天津力生制药厂和苏州制药厂推广应用。继而微生物研究所研究人员又在上海第四制药厂将其扩展到水解重排酸生产头孢霉素母核 7-ADCA 的中试<sup>[17]</sup>,获得成功。为以后的  $\beta$ -内酰胺类抗生素的母核生产及半合成的发展奠定了基础。为此获得了 1980 年的科技发明三等奖。

近百年来,由于封建统治,军阀混战,日寇侵略和战争,使得我国的科学技术发展远落后于国际水平。在建国后的这十多年里有了明显的改善,但是十年动乱,闭关锁国,教育停顿,思想禁锢,造

成我国与国际上迅速发展的科学技术的差距进一步加大,也为今后的发展带来了一系列的问题。

#### 4 改革开放之初<sup>[2-3,18-20]</sup>

20 世纪 70 年代末,改革开放政策改变了中国命运,为经济和科学技术的发展开创了前所未有的大好局面。1978 年全国科学大会的召开,为科技界带来了春天。《全国自然科学学科规划纲要》和《十年全国科学技术规划纲要》的制定和实施,使得处于低速发展甚至停顿的我国科学技术得以恢复生机。

酶的研究与应用都纳入了国家“六五”、“七五”国家重点科技攻关计划以及国家高技术研究发展计划。除了加强对已产业化的酶的研究,同时对一些具有重要应用价值的新酶研发给予更多的支持。比如,用于洗涤剂的低温碱性蛋白酶,在酶法生产葡萄糖和以葡萄糖为原料的发酵工业上广泛应用的高温  $\alpha$ -淀粉酶,制造高果糖糖浆的葡萄糖异构酶,生产  $\beta$ -内酰胺类抗生素母核的青霉素酰化酶,在果汁加工中使用的果胶酶,乳品加工中广泛使用的凝乳酶和乳糖酶,用于制备麦芽糖和麦芽糊精的  $\beta$ -淀粉酶,用于啤酒、饴糖、麦芽糖浆生产和作为饲料添加剂的  $\beta$ -葡聚糖酶等。

与此同时,国家自然科学基金委员会和中国科学院也将生物催化列为重大基础项目,支持中国科学院的微生物研究所和有机化学研究所开展生物催化手性化合物和手性药物的基础研究,开展了二氢嘧啶酶(海因酶)、氨甲酰基水解酶、醇酐酶、邻氨基羟化酶、环氧化物酶和环氧化物水解酶的研究。开启了国内手性化合物的生物合成研究新领域,为以后的手性化合物在医药、化工、功能材料上的应用和发展奠定了基础。

在科学的春天里,科技人员积累的研究热情和力量被激发,有关酶的研究出现了大好局面。以我国产量和使用量最大、使用广泛、影响大的糖化酶为例,中国科学院微生物研究所对该酶进行长期的大量研究,选育的糖化酶生产菌株——黑曲霉

UV-11 为全国酶制剂厂广泛使用。到 20 世纪 80 年代,在黑曲霉 UV-11 的基础上选育出新菌种 UV-11-48。其生产性能和产酶能力更强,获得使用单位的欢迎。根据 1983 年的不完全统计,从微生物研究所购买 UV-11 和 UV-11-48 菌种的单位遍布全国 28 个省市,319 个厂,几千株菌种。被广泛应用于白酒、酒精、酶法葡萄糖生产及有关发酵行业的一千多家企业。其经济和社会效益可想而知。为此,获得多项奖励,仅 1979-1985 年 7 年间,先后获得国家科技进步一等奖、中国科学院一等奖、二等奖,各省市、部委的各种奖励十几项,成为获奖大户。中国科学院微生物研究所和无锡酶制剂厂等单位的科技人员对该酶的研发做出了重大贡献。

继固定化产青霉素酰化酶大肠杆菌细胞应用于  $\beta$ -内酰胺类抗生素母核生产之后,在“七五”期间,中国科学院微生物研究所又选育了产胞外青霉素酰化酶的巨大芽孢杆菌菌种,并采用纤维素共价结合的方法将该酶固定化,经中试,在哈尔滨制药厂投入使用。之后继续改进固定化方法,分别将聚丙烯睛纤维和颗粒活化,共价结合制备成固定化青霉素酰化酶,使得酶活性、稳定性和生产性能进一步提高,并且在浙江东阳市海德尔公司实现了产业化。固定化酶生产成本、酶活性和其他技术指标均优于国际先进水平,从此将国际产品挤出我国市场。

改革开放为我国的科技发展注入了新的活力。但是,改革开放初期,由于十年与世界隔离,人们关注尽快追赶国际科学的发展,而对技术和产业的巨大变化了解不多,更多的是关注国内还没有的新酶的“上游”研究开发,而对发酵、产物分离纯化、制剂的技术、设备和材料的“下游工程”研发重视不够,造成研究成果产业化、商品化受到影响。

不论是新研发的酶,还是已经产业化的酶,科研人员最关注的是菌种选育和发酵酶产量的提高,似乎只要产酶活性高就一切问题都解决了。那时基本都是使用粗原料的液体发酵,最常使用的是玉米

粉、麸皮等,虽然成本低,液体发酵酶产量高,但是因发酵液中固体物含量高,过滤性能极差,使得酶的分离纯化非常困难,甚至像无锡酶制剂厂不得不采用最原始的吊包过滤。直接影响到后续酶制剂的剂型和质量。这一时期我国的酶制剂基本只有用硫酸铵沉淀、喷雾干燥技术生产的粗酶制剂。品种单一,三大酶——糖化酶、淀粉酶、碱性蛋白酶占总产量的 80%以上,质量不稳定、杂质多、酶活性低、稳定性差、应用范围有限。

就在这一时期,全国经济发展对酶制剂的需求不断增加。因此,全国各地纷纷建立酶制剂厂,如同雨后春笋,建立近二百家。盲目投资,低水平重复,没有技术力量,更没有研发能力,临时培养,“拷贝”一下就开始生产。重复建设、生产规模小、产品结构不合理、技术含量低、消耗大、收率低、废液不处理直接排放污染环境的现象普遍存在。

这些小企业通常有相当的灵活性,但资金紧张,又没有调研和计划,30 年来开开关关,很少坚持下去。因水平低,染菌多,既浪费物资又污染环境,有不少厂投资数百万,有的一天也没正式开过工就关门了,有的虽稍具规模又因其它原因关门,造成巨大浪费。

而此时,国际上酶制剂产业已经成熟。改革开放首先使得国际上的大型酶制剂企业的产品首先进入我国酶制剂市场,由于产品种类齐全、质量好,在我国的市场份额不断扩大,我国自产的酶制剂遭到巨大挤压,一些小的酶制剂厂纷纷关停,到 2000 年还剩不到 100 家。继之国际上大的酶制剂企业以合资或建厂的方式进入国内。1992 年江阴酶制剂厂,1993 年无锡酶制剂厂分别与美国星达公司建立合资企业,生产液体糖化酶和高温  $\alpha$ -淀粉酶制剂。1994 年,全球最大的酶制剂供应商,丹麦的诺和诺德在我国天津投资 1.65 亿美元建厂,1998 年正式生产。该公司还与苏州建立合资的苏州宏达制酶有限公司,成为亚洲生产规模最大的企业。无锡酶制剂厂几经合资与终止,1998 年,杰

能科国际与无锡酶制剂厂合资组建了无锡杰能科生物工程有限公司, 2004 年杰能科国际公司收购中方无锡酶制剂厂全部股份, 独资建厂, 2006 年投产。这些跨国公司将淀粉糖工业用酶、洗涤剂用酶、饲料用酶、食品工业用酶、纺织工业用酶、皮革工业用酶、啤酒工业用酶、果汁工业用酶等的生产技术和应用技术带入我国, 占据了巨大的市场份额。为了与之竞争, 也促使我国有关酶制剂企业不断完善更新设备、提高生产水平和产品质量, 促进了我国的酶制剂产业和酶制剂应用企业的技术进步。比如, 液体的高温  $\alpha$ -淀粉酶和糖化酶制剂的生产使用, 使得淀粉液化实现了连续化、自动化, 液化更完全; 两酶用于淀粉糖生产使得生产水平和产品质量大幅度提高。多层粒状碱性蛋白酶制剂用于洗涤剂, 改善了酶的稳定性和洗涤效果。

## 5 稳步发展期<sup>[5,18]</sup>

由于国际上大的酶制剂企业纷纷进入我国, 在激烈竞争的压力下, 如何面对已经成为有关管理和科技人员必须认真思考的问题了。

实际上, 在 20 世纪 80 年代初期, 我国发酵工业和酶制剂行业技术落后的局面已经引起了我国有关科技管理部门、相关的科研院所及科研人员的警觉。投资引进国际上先进的发酵设备和后处理设备, 建立了北方和南方的生物工程中心基地, 推动科研成果的产业化。“七五”期间, 为解决生物技术产业化和现代化工厂企业必需的生物反应器、分离纯化技术及其相关的材料、设备, 以及过程检测与控制问题, 将生物技术下游研发列入国家重点科技攻关项目。虽然起步较晚, 但在一些领域取得良好进展, 为我国结束技术、设备落后开创了新的局面, 为进一步发展打下了基础。

之后的“八五”、“九五”和“十五”国家科技攻关计划和“863”计划, 进一步加强了生物技术上游研究与下游工程技术研究及工业生产的结合, 注重实现产业化, 进一步推动了我国酶的研究与配套技术、设备、材料研究和产业的迅速发展。

随着空气绝对过滤技术、发酵自动化控制技术、膜分离技术、无菌技术、保存技术等先进技术的广泛应用, 我国酶制剂生产逐渐摒弃了传统工艺, 产品质量和品种、规格逐渐多样化, 液体酶、复合酶替代了固体酶和单一酶, 占据了市场主流。

我国酶制剂工业的发展很大程度上得益于国家对酶制剂科研开发的立项支持和资金投入。长期以来, 国家科技部、中国科学院、国家计委等有关部门对酶制剂生产和应用研发的投入累计可达数千万元, 对行业的技术进步起到了重要作用。1965–1980 年间, 我国相继开发了中温淀粉酶、糖化酶、1.398 蛋白酶、2709 蛋白酶。“六五”期间, 开发了异淀粉酶。“七五”期间开发了洗涤剂用碱性蛋白酶、 $\beta$ -淀粉酶、 $\beta$ -葡聚糖酶、高温  $\alpha$ -淀粉酶、固定化葡萄糖异构酶、凝乳酶(工程菌)、果胶酶。“八五”期间, 开发了高转化率糖化酶、常温和低温的碱性脂肪酶。“九五”期间, 开发了木聚糖酶、植酸酶(工程菌)、 $\alpha$ -乙酰乳酸脱羧酶(工程菌)、酸性纤维素酶。“十五”期间开发中性纤维素酶、碱性纤维素酶、脂化酶、谷氨酰胺转移酶。

改革开放以来, 随着国际化进程的加快, 我国科技界奋发图强, 研发了具有自主知识产权的技术成果, 受到国际酶制剂行业的认可。

植酸酶作为猪、禽类的饲料添加剂, 可以促进植酸的水解, 增加饲料利用率, 减少磷的排放, 保护环境、节约资源, 获得多重效益。国内早在 20 世纪 90 年代一些大学和研究单位就开始研发, 已取得一定进展<sup>[12-13]</sup>。

其中中国农业科学院饲料研究所在“九五”期间, 获得国家“863”计划支持, 于 1998 年取得重大突破, 在国内率先实现了植酸酶的大规模生产。第二年获得国家生产和应用安全证书, 进入产业化生产。2001 年获得国家科技进步二等奖。2005 年植酸酶又有重大进展, 开发了新一代的高活性植酸酶。在此基础上, 展开了大量的有关植酸酶基因的挖掘、分子改良、高效表达和产业化技术集成, 研发出新一代的综合性能极为优良、高效价、高比活

植酸酶的生产技术,使得酶性能大幅度提高,生产成本大幅降低,当年实现了产业化。

目前我国已经开发了较为完整的系列植酸酶产品,包括禽类、鱼类、猪等专用的植酸酶,并且技术水平持续提高和更新,每年推出换代产品和技术,始终处于国际领先地位。

植酸酶是我国第一个实现产业化生产的饲料用酶,是我国酶制剂在饲料上应用的起点,也是个示范。目前,我国已经有 10 种酶制剂在饲料中使用,并实现了利用基因工程菌进行规模化生产,如黄曲霉毒素解毒酶、木聚糖酶、 $\beta$ -葡聚糖酶、 $\beta$ -甘露聚糖酶、 $\alpha$ -半乳糖苷酶和葡萄糖氧化酶等。特别是黄曲霉毒素解毒酶的研发成功和作为饲料添加剂的应用,使得我国成为世界上饲料用酶研发和应用可以和发达国家抗衡的为数不多的国家。

黄曲霉毒素是由黄曲霉产生的次生代谢物,是强烈致癌物,也会使动物致病、死亡,是严重威胁人类健康和养殖业的剧毒物质,也是世界卫生组织和各国政府立法规定的毒物。虽然人们一直在不断地寻找降低黄曲霉毒素危害的方法,但是黄曲霉毒素对食品和饲料的污染普遍存在,成为一个世界性的公共卫生问题。

早在 20 世纪 70 年代末,就发现了寄生曲霉能够产生降解黄曲霉毒素  $B_1$  的过氧化物酶,并报道过氧化物酶的量与黄曲霉毒素  $B_1$  被降解的量之间存在着直接的关系。之后研究报道黑曲霉、寄生曲霉、绿色木霉以及少数其他真菌对黄曲霉毒素  $B_1$  也有很好的降解能力。

暨南大学从 1993 年开展了寻找能够分解黄曲霉毒素的微生物和酶的研究,1998 年发现假蜜环菌的提取物能有效地抑制黄曲霉毒素  $B_1$  引起的小鼠肝脏损伤,继而从假蜜环菌中分离纯化到能转化黄曲霉毒素  $B_1$  的酶,命名为黄曲霉毒素解毒酶<sup>[21]</sup>。随后克隆了该酶基因,经蛋白质工程方法修饰、重组表达了该酶。经 18 年的研究,黄曲霉毒素解毒酶开发成功,作为饲料添加剂,于 2010 年获得国

家颁布的饲料添加剂新产品证书。该产品的核心技术在全球 21 个国家和地区获得专利保护。我国成为国际上第一个开发和生产饲料用霉菌毒素解毒酶的国家。

黄曲霉毒素解毒酶不仅可以用于饲料加工和养殖业,还可以广泛应用于食品的脱毒精加工,食品安全监测及医药健康等领域。该成果具有巨大的市场潜力。

丙烯酰胺是种用途广泛的重要有机化工原料,主要用于制造水溶性聚合物——聚丙烯酰胺类聚合物;少量用于亲油性聚合物合成,以形成透水的亲水中心,增加粘合力,提高软化点和抗溶剂性;还有少部分用作乙烯基聚合物的交联剂。在以丙烯酰胺为单体合成的产品中,聚丙烯酰胺用途最为广泛,作为絮凝剂、增稠剂、增强剂等广泛应用于采油、煤炭、地质、冶金、纺织、化工、水处理、纸浆及造纸、土建和农业等许多经济领域。尤其是在石油工业中,聚丙烯酰胺作为灌注油井的流体,可以提高单井的石油采出率。随着这些产业的发展对生产聚丙烯酰胺的原料丙烯酰胺的需求量不断增加。

在 1954 年美国氰胺公司首先开发硫酸水合法生产丙烯酰胺技术,实现了工业化生产。此后,20 世纪 70 年代中期被铜催化法取代,80 年代中期实现了利用产脲水合酶的微生物法生产工艺。最早法国研究者发现了催化脲水解的微生物,1985 年,日本日东公司利用日本京都大学山田研究室的成果,首先在横滨建成了世界上第一个微生物法生产丙烯酰胺的工业装置,从而使日本成为首次利用微生物制备化学产品的国家。

我国从 1984 年开始,上海农药研究所和上海生物工程中心开始该技术的研究,获得“七五”、“八五”国家科技攻关项目支持。经过十余年的不懈努力,培养的菌种产酶活力达到了国际水平。1994 年,江苏如皋化肥厂利用原化工部生物化学工程研究中心技术,建成国内第一套 1 000 t 级微



生物法生产丙烯酰胺实验装置。建立了我国第一套利用生物催化生产大宗化工原料的工业化装置,开创了我国生物催化在化工行业中应用的先河,获得上海市科技进步一等奖、国家科技进步二等奖。同时,国内的一些研究单位和大学也开展了脲水合酶的高产菌株的选育、固定化、基因重组及在手性化合物合成上的应用研究。

$\alpha$ -乙酰乳酸脱羧酶用于啤酒酿造,不仅能够消除或降低啤酒发酵过程产生的破坏啤酒风味,产生不愉快的味道的代谢副产物双乙酰,改善啤酒风味,提高和稳定啤酒质量,还会缩短发酵周期,提高设备利用率,降低成本。早在20世纪80年代国际上开始研究该酶,90年代开始应用。1997年中国科学院微生物研究所重组的基因工程菌研究成功<sup>[22]</sup>,之后广西大学在“863”计划的支持下开始研发,通过蛋白质工程和基因工程、重组构建了工程菌、发酵工艺优化、分离纯化技术攻关,获取突破,在产业化生产中,发酵产酶为国外产品的5倍,降低了生产成本,打破了诺维信的市场垄断局面。该酶因此很快受到啤酒行业的欢迎,在国内占据了50%的市场,还出口欧美、亚洲,显著提高了我国酶工业的技术水平和地位。

海藻糖广泛应用于药品和食品保鲜,利用酵母发酵提取或发酵法生产海藻糖一直难以满足市场需求。2000年广西大学在国家“863”计划支持下,开始了嗜热微生物和极端酶研究,成功地筛选到耐高温的海藻糖合成酶系,采用代谢工程方法构建了以木薯淀粉为原料的高产海藻糖的工程菌,对发酵条件和分离纯化技术进行了优化研究,设计和优化了工艺,成功地实现了工业化。致使我国继日本之后成为世界上第二个利用酶法转化淀粉,大规模、低成本生产海藻糖的国家。因该产品质量优于国际同类产品,远销亚洲及欧美市场。

改革开放激活了我国科技人员的研发热情,奋力追赶国际科学技术的发展,在激烈竞争的压力之下取得了一个又一个的突破性的科研成果,不仅满足了国内需求,促进了我国酶产业与相关应用产业

的发展,也为我国出口开辟了市场,提高了我国的竞争地位。

## 6 把握时机,再接再厉

改革开放三十多年来,我国的酶制剂种类和剂型逐渐提升发展,有的基本接近或达到国际上的基本应用范围和水平。我国的分析用酶、临床诊断用酶、试剂酶和药物用酶已经起步,初具规模,但种类和产品质量还有待提高。随着国际上酶的研究开发和应用范围的不断扩大,我国还需要更加努力。今后要特别关注酶在新能源开发、手性化合物和药物的生产、环境处理、检测和保护、临床检测和分析等各个领域的应用与开发。

随着政府机构的改革和企业机制的转变,国家对酶的科研支持力度在减弱。国内曾经形成的多个工业酶制剂研发基地都已经不同程度地退出了酶制剂领域,人才真空现象在酶制剂行业尤为明显突出。同时,酶制剂生产企业规模普遍偏小,没有经济实力和人才投入科研开发,创建企业研发中心。资金、基地和人才断层问题造成国内酶制剂产业的研发实力和水平不足,使得我国在酶制剂新技术的研究和开发方面后劲乏力,落后于世界先进水平。

在激烈的国际竞争下要不断发展,占领一席之地,保障我国的科学技术和经济的持续发展和进步,只要在政策、经费和人才培养上予以大力支持,鼓励自主研发,突破常规思维,充分利用强有力的先进科学技术、方法、手段和设备,给予科技人员宽松的政策和环境保障,我国的酶与酶工程及相应产业就会蓬勃发展,赶超国际。

## 参 考 文 献

- [1] 胡学智. 酶制剂工业概况及其应用进展[J]. 工业微生物, 2003, 33(4): 32-41.
- [2] 黎海彬, 郭宝江. 酶工程的研究进展[J]. 现代化工, 2006, 26(增刊): 40-43.
- [3] 熊吉敏, 武晋娴. 酶工程的新研究及应用进展[J]. 科技信息, 2008, 26: 45-47.
- [4] 居乃琥. 酶工程研究及酶工程产业的新进展[J]. 食品发

- 酵工业, 2000, 26(4): 38-43.
- [5] 程池. 中国酶制剂产业发展现状和前景. 中国酶制剂网, 2006-11-8.
- [6] 上海市轻工业研究所. 应用液体曲制造酒精研究. 上海市技术革新成果汇编[M]. 上海: 上海科技出版社, 1959: 128.
- [7] 上海市轻工业研究所. 细菌淀粉酶的生产和应用. 上海市技术革新成果汇编[M]. 上海: 上海科技出版社, 1960.
- [8] 上海葡萄糖厂, 上海工业微生物研究所, 中国科学院微生物研究所. 工人阶级必须领导科学实验——酶法(液体曲)制取葡萄糖的新工艺[J]. 微生物学革命, 1970, 第一集: 1-8.
- [9] 北京纤维素酶菌种筛选小分队. 纤维素酶、半纤维素酶和果胶酶的菌种筛选[J]. 微生物革命, 第四集: 45-51.
- [10] 北京化工厂, 江苏清江蛋品厂, 江苏化工研究所, 中国科学院微生物研究所. 点青霉 P87葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶混合酶制剂的生产和应用[J]. 微生物革命, 第七集: 6-13.
- [11] 中国科学院上海生物化学研究所, 上海啤酒厂. 固相5'磷酸二酯酶及其应用研究[J]. 微生物资料汇编, 第六集: 70-84.
- [12] 赵允麟, 金其荣. 无花果曲霉与黑曲霉植酸酶产酶条件的研究[J]. 食品与发酵工业, 1996, 32(3): 42-47.
- [13] 陈红歌, 苗雪霞, 张世敏, 等. 植酸酶高产菌株的诱变选育[J]. 微生物学通报, 1997, 24(5): 272-274.
- [14] 黎高翔, 张绍愷, 孙万儒, 等. 固定化酶的研究[J]. 微生物学报, 1973, 13(1): 31-37.
- [15] 中国科学院微生物研究所青霉素酰化酶组. 青霉素酰化酶水解青霉素-G 生产6-氨基青霉烷酸(6-APA)[J]. 微生物学通报, 1978, 5(6): 42.
- [16] 孙万儒, 王祯祥, 张渝英, 等. 产青霉素酰化酶的大肠杆菌 AS1.76的固定化[J]. 微生物学报, 1980, 20(4): 407-414.
- [17] 王祯祥, 乐华爱, 王嫩芝, 等. 固定化细胞生产7-氨基脱乙酰基头孢烷酸[J]. 微生物学报, 1981, 21(4): 477-481.
- [18] 钱世钧, 侯炳炎. 新中国工业生物技术发展史略[M]. 北京: 化学工业出版社, 2013: 44-55.
- [19] 张晓静, 李利红, 尹士海, 等. 我国酶制剂工业发展现状、问题及对策[J]. 郑州牧业工程高等专科学校学报, 2003, 23(4): 265-267.
- [20] 马晓健, 白净, 任珂, 等. 酶工程研究的新进展[J]. 化工进展, 2003, 22(8): 813-817.
- [21] 刘大岭, 姚冬生, 陈敏峰. 真菌提取液对黄曲霉毒素解毒作用的研究[J]. 广东药学院学报, 1995, 11(2): 92-94.
- [22] 陈炜, 何秉旺, 张建华, 等. 短芽孢杆菌  $\alpha$ -乙酰乳酸脱羧酶基因在大肠杆菌中的克隆和表达[J]. 微生物学报, 1997, 37(4): 270-275.