

# 超声波对酶反应的影响\*

林勤保 高大维

(华南理工大学轻工食品学院 广州·510641)

综述介绍了超声波在不同条件下对各种酶反应的影响情况。对超声波声强、频率、底物浓度、溶剂、酶的固定化等影响因素一一予以阐述。

关键词: 超声波, 酶

## Effect of ultrasound on enzyme catalysed reaction

LIN Qinbao GAO Dawei

(Light Industry and Food College, South China University of Technology, Guangzhou · 510641)

Effect of ultrasound on enzyme catalysed reaction is reviewed (9 references). The effecting factors including sonopower, frequency, density of substration, solvent and immosibiozation of enzyme are mainly discussed.

**Key word:** ultrasound, enzyme

### 1 引言

超声波是物质介质中的一种弹性机械波。近年来,超声波在高分子的降解和聚合、有机合成、提取和分离、雾化、结晶、干燥等诸多方面得到广泛研究和应用。本文将介绍超声波对酶反应影响的研究进展。

### 2 超声波对酶反应的影响

**2.1 超声波声功率大小不同,作用效果也不同。**用超声波提取细胞内酶的研究由来已久。1957年 Marr. A. G 等和 1969 年 Zetelaki. K 等先后对超声波破壁提取葡萄糖氧化酶(EC1. 1. 3. 4)进行了研究,其中后者用声功率 100W 的超声破碎机,结果导致了酶失活。1982 年 Yoshio 等用温和的超声处理条件,频率 20kHz、声功率 15W,连续处理 15 小时,提高了酶产率,而并未发现葡萄糖氧化酶的失活,他们把原因归于较低的超声波声

功率引起的空化现象较弱,并主张在所得酶活力足够高的条件下,以温和的超声波条件应用于胞内酶的连续生产<sup>[1]</sup>。与此类似,用 20kHz、10W 的超声波作用于脆壁克鲁弗氏酵母生产菊糖酶,当声功率小于 10W 时,产酶活力随声功率而增大,当声功率大于 10W 时,产酶活力下降,这是由于较弱的超声波对细胞产生的破坏很少,主要起促进可逆渗透、加强细胞的物质传输的作用,而强的超声波的空化作用使细胞破碎,酶活降低<sup>[2]</sup>。

**2.2 用超声波处理时,固定化酶的适应性**强,酶失活少。用频率 0.88kHz,声强 0.05 ~ 1W/cm<sup>2</sup> 的超声波,对肌酸激酶、乳酸盐脱氢酶、己糖激酶、丙酮酸盐激酶所催化的反应进行多次不同条件的试验,对反应速率均没有明显的直接影响。但将酶固定化以后,超声波处理使固定化酶反应速率明显增加,该研究者认为,这种增加是由于超声波的高频振荡作用,使底物和固定化酶的接触次数大大增加,同时产物的释放也加快,从而使反应速率

\* 高等学校博士学科点专项科研基金资助课题。

收稿日期: 1996- 4- 22, 修回日期: 1996- 9- 3

增加<sup>[4]</sup>。以 20~40kHz, 10~100W 的超声波作用于固定化糖化酶水解淀粉的反应, 反应效率提高 2 倍以上<sup>[5]</sup>。以酪朊作底物, 用 20kHz 的超声波处理固定于琼脂胶上的  $\alpha$ -胰凝乳蛋白酶, 可使其活性提高 2 倍。用 7MHz 超声波作用于固定于多孔聚苯乙烯上的  $\alpha$ -淀粉酶, 固定化酶活力也有提高<sup>[3]</sup>。

2.3 许多研究表明, 在有机溶剂中, 一些酶的抗失活能力增强<sup>[6,4]</sup>。例如, 枯草杆菌蛋白酶在 50mM, PH7.8 的磷酸缓冲液中, 以波长 2~10 $\mu$ m, 声功率 150W 的超声波处理 2 小时, 酶活约下降 50%, 而在含该缓冲液 1% 的 t-戊醇中, 超声处理 6 小时, 酶活几乎没有损失。在几种不同的醇溶液中, 超声波对枯草杆菌蛋白酶催化的内酯化反应的反应速率均有不同程度的提高。醇的碳链越长, 反应速率提高越多。超声波的影响取决于超声波长(频率)、反应介质中水的含量及介质的疏水性。超声波连续处理比只用超声波预处理酶效果更好<sup>[6]</sup>。再如, 在蛋白酶催化合成多肽的反应中, 以 100W, 38kHz 的超声波作用于反应, 介质是缓冲水溶液时, 超声波对反应没有促进; 当用有机溶剂时, 介质的亲水性越强, 则对反应的促进较小, 介质的疏水性越强, 则超声波对反应的促进越大。同时, 有许多研究表明, 少量的水存在于有机溶剂介质中, 对酶有保护作用<sup>[7]</sup>。

2.4 底物浓度对超声波作用也有影响。于淑娟等<sup>[8]</sup>研究了在无底物和有底物时, 超声波对纤维素酶的作用。分别以 20kHz, 40, 45, 60, 90W 的超声波作用于无底物的商品纤维素酶(用柠檬酸钠缓冲液配制成 1% 溶液), 在规定温度下作用 5 分钟后, 酶活力分别降低 7.5%、15.1%、26.5% 和 50.6%。如果酶与底物混合后再加超声波作用, 在一定条件下, 酶活力有一定程度的提高。当超声功率小于 45W 时, 酶活力随着声功率的增加而增加, 大于 45W 时, 酶活力开始下降。该论文作者认为, 超声波对有底物和无底物时纯酶

活性改变的区别在于无底物时超声波直接对酶作用而使其空间构象改变而失活; 加入底物时, 酶首先与底物形成络合物, 超声波产生的振荡施加在络合物上, 在某种程度上, 底物对酶起到支撑和保护的作用。超声振荡可以加快溶剂和产物的运动速度, 改变浓度差, 增强传质动力。

2.5 超声波处理使某些反应的产物专一化。腺甙与苯基丙氨酸在枯草杆菌蛋白酶催化下发生酰化反应。在 40 $^{\circ}$ C, 机械搅拌 120h 得到 3 种产物, 比率为 42:2:24, 总产率为 60%; 而在超声波作用下, 0 $^{\circ}$ C, 0.5h, 产率达 38%, 且只有主产物生成<sup>[9]</sup>。

### 3 小 结

超声波对酶反应的影响, 在不同的条件下结果有很大的不同, 甚至完全相反。对这些现象的解释也有不少。但目前比较统一的认识有如下几点: (1) 酶反应时所采用的超声波声功率不宜过大。否则, 将使酶失活; (2) 有机溶剂中一些酶的抗失活能力强, 超声波催化这些酶反应的效果比在水溶液中好; (3) 固定化酶的抗失活能力强, 能适应较高的频率和较大的声功率而获得较好的超声催化效果; (4) 没有底物的酶液受超声作用易失活, 较高的底物浓度对酶有保护作用, 超声催化效果好; (5) 超声波对某些反应可使产物专一化; (6) 超声波对酶反应的催化作用主要缘于超声振荡加速了底物与酶的接触和产物的释放。空化效应, 特别是瞬态空化应尽量避免。一般对酶反应来说热效应影响不大。

#### 参考文献

1 Yoshio Tshimori, Isao Karube and Shuichi Suzuki. Continuous production of glucose oxidase with aspergillus sp under ultrasound waves. *Enzyme Microb. Technol*, 1982; (4): 85~88

2 林影, 高大维, 梁宏等. 微超声波对脆壁克鲁弗氏酵母葡萄糖酶生产的促进作用. 李宝璋, 李稳宏, 范代娣编, 第六届全国生物化学学术会议论文

集,北京:化学工业出版社,1995:119~122

3 冯若,赵逸云,李化茂等. 超声在生物技术中应用的研究进展. 生物化学与生物物理进展, 1994; 21(6): 500~503

4 E P Chetverikova, T N Pashovkin, N A Rosanova, et al. Interaction of therapeutic ultrasound with purified enzymes in vitro. Ultrasonics, 1985; (7): 183~188

5 高大维,陈满香,梁宏等. 超声波催化糖化酶水解淀粉的初步研究. 华南理工大学学报, 1994; 22(1): 70~74

6 Evgeni N Vulfson, Douglas B Sarney and

Barry A Law. Enhancement of subtilism-catalysed interesterification in organic solvents by ultrasound irradiation. Enzyme Microb. Technol, 1991; (13): 123~126

7 J V Sinisterra. Application of ultrasound to biotechnology - an overview. Ultrasonics, 1992; 30(3): 180~185

8 于淑娟. 超声波催化酶法提取灵芝多糖, 华南理工大学学位论文, 广州, 1996

9 David H Bremner. Recent advances in organic synthesis utilizing ultrasound. Ultrasonics Sonochemistry. 1994; 1(2): S119~S124

## 简 讯

# 上海船舶电子设备研究所简介

上海船舶电子设备研究所(代号七二六所)隶属于中国船舶工业总公司,是国内最早从事水声、超声仪器和设备研制的专业研究所之一,1997年起加盟《声学技术》杂志主办单位之列。

本所现有建筑面积 27000 余 m<sup>2</sup>, 职工 700 余人,其中科技人员近 350 人,正付研究员近 100 人,中级研究人员 180 人。设 8 个专业研究室:水声总体室、水声设备室、水声导航室、超声室、换能器室、压电陶瓷室、防火报警及监控室、机电工程室,还有 3 个机、电加工装配车间,另有 1 个在浙江省莫干山的湖上水声综合科学试验站(有试验双体趸船一艘、试验艇两条、陆上试验用房近 2000m<sup>2</sup>),可进行各种水声设备的静态和部份动态试验及换能器的测试、校正。所内还拥有一批国内外最先进的声学测试仪器及加工设备。

水声、超声是本所的主要专业,其科研任务和研究方向主要是水声测量和信号检测理论研究、水声测量设备的研制、超声学理论和超声工程设备的研究与制造。40 年来先后为我国各种舰船的水声测量、渔用声纳、工业与医疗超声、压电陶瓷等提供了近百个型号与规格的设备和产品。经过近 10 年的专业扩展,目前已在陆上和舰船的防火报警监控、冰箱冷凝管生产流水线,消防与民用住宅的变频恒压供水等方面占有一席之地,并具有较高的研制水平。

我所目前主要产品可分两大类:水声测量和超声波设备。水声测量产品有:0~25m、100m、200m、500m、1000m、2000m、10000m 导航测量用的智能化单频系列测深仪;200m 双频测深仪,230m 海底跟踪极对计程仪,垂直和水平渔用声纳;高分辨率近场民用图像声纳。超声波产品有 50W、125W、250W、500W、1000W、2000W 超声波清洗器系列,多工位超声波气相清洗设备,150W、1000W、1500W、2000W 超声波塑料焊接机,500W 超声波铝管缝焊机,500W、1000W 超声波塑料软管封口机,1000W 超声波拉链贴布机,500W 超声波花边机,60W、250W、2000W 超声波粉碎机,50W 超声波抛光机,超声波交通流量仪、超声波高精度测厚仪等。

本所历来重视科研与生产相结合,采用先进设计和制造技术,运用先进成熟的生产工艺、质量控制严格,保证产品质量稳定可靠,注重售后服务,长期在用户中获得好评。在此向关心、支持我所的同行和用户表示衷心感谢,并欢迎各界同仁来我所洽谈业务与合作。

所长:李贵春

地址:上海市建国东路 390 号

邮政编码:200025

电话:021-63843434(总机)

传真:021-63843132

E. mail: Lpeng@stn.sh.cn

陈思忠